

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 759**

51 Int. Cl.:

C07D 471/08 (2006.01)

A61K 31/4178 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.06.2013 PCT/US2013/044138**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.12.2013 WO13184698**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2013 E 13729569 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018 EP 2855478**

54 Título: **D-tratrato de ledipasvir**

30 Prioridad:

05.06.2012 US 201261655934 P

31.01.2013 US 201361759295 P

13.03.2013 US 201313800374

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.12.2018

73 Titular/es:

GILEAD PHARMASSET LLC (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City, CA 94404, US

72 Inventor/es:

SCOTT, ROBERT WILLIAM;
WANG, FANG;
SHI, BING y
MOGALIAN, ERIK

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 694 759 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

D-tratado de ledipasvir

5 REFERENCIA CRUZADA A APLICACIONES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad a la Solicitud Provisional de EE.UU. N° 61/655.934 presentada el 5 de junio de 2012 y la Solicitud Provisional de EE.UU. N° 61/759.295, presentada el 31 de enero de 2013, solicitud de EE.UU. N° 13/800,374, presentada el 13 de marzo de 2013.

10

ANTECEDENTES

[0002] La presente divulgación se refiere en general a una forma sólida cristalina del compuesto antiviral éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico, un proceso para hacer la forma, y su uso en métodos terapéuticos.

15

[0003] La hepatitis C se reconoce como una enfermedad viral crónica del hígado que se caracteriza por una enfermedad hepática. Aunque los fármacos dirigidos al hígado se usan ampliamente y han demostrado efectividad, la toxicidad y otros efectos secundarios han limitado su utilidad. Los inhibidores del virus de la hepatitis C (VHC) son útiles para limitar el establecimiento y la progresión de la infección por el VHC, así como en los ensayos de diagnóstico para el VHC.

20

[0004] Se sabe que el compuesto éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilbutiril)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico, también conocido como ledipasvir, designado aquí como Compuesto I, es un agente anti-VHC efectivo, como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2010/132601. Una síntesis del compuesto I se describe en la patente de EE.UU. n° 8.088.368. Sin embargo, el Compuesto I no se conocía hasta ahora en ninguna forma cristalina sólida.

25

30

[0005] El documento WO 2011/156757 A1 describe compuestos antiviricos que incluyen el Compuesto I, y su uso en métodos de terapia de VHC basada en ribavirina. Lawitz EJ y otros, Journal of Hepatology, vol. 57, n° 1, (2012), páginas 24-31, describe un estudio de fase 1 que evalúa el inhibidor de NS5A GS-5885 (Compuesto I) en pacientes con el genotipo 1 del VHC.

35

[0006] El documento WO 2013/184702 A1 (publicado el 12 de diciembre de 2013) describe procesos para la preparación de compuestos antivirales, incluido el Compuesto I y su sal D-tartrato. El documento WO 2014/120981 A1 (publicado el 7 de agosto de 2014) describe propiedades, por ejemplo, solubilidad, del Compuesto I D-tartrato.

40 RESUMEN

[0007] La presente invención proporciona D-tartrato de éster metílico del ácido carbónico cristalino (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilpropilo) (Compuesto I D-tartrato), caracterizado por un difractograma de rayos X en polvo que comprende los siguientes picos: 4.0, 10.3 y 19.7 °2θ ± 0.2 °2θ, según lo determinado en un difractómetro que usa radiación Cu-Kα en una longitud de onda de 1.54178 Å. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina del D-tartrato del Compuesto I. La invención también proporciona la forma cristalina de D-tartrato de Compuesto I para uso en el tratamiento del VHC.

50

[0008] La invención también proporciona un proceso para hacer la forma cristalina del D-tartrato del Compuesto I como se describe anteriormente. El proceso comprende la etapa de poner en contacto el ácido D-tartárico con ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarb-onilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico en un disolvente, con lo que se forma D-tartrato de compuesto I.

55

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0009]

60

FIG. 1 es una comparación entre los patrones de XRPD del Compuesto I amorfo (curva inferior) y el Compuesto I Forma I (curva superior), respectivamente, como referencia.

FIG. 2 es un patrón de difracción de rayos X en polvo del Compuesto I Forma I, para referencia.

FIG. 3 es la curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) del Compuesto I Forma I, para referencia.

65

FIG. 4 es un patrón de difracción de rayos X en polvo del Compuesto I Forma II, como referencia.

FIG. 5 es una curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) del Compuesto I Forma II, como referencia.

FIG. 6 compara los comportamientos de fotodegradación del Compuesto I amorfo (franjas verticales), del Compuesto I Forma II (franjas horizontales) y de una sal de clorhidrato parcialmente amorfa del Compuesto I (franjas diagonales) durante la exposición a 0,9 M Lux-hrs, como referencia. El grupo de barras más a la izquierda representa la disminución general en HPLC %AN de estas tres formas del Compuesto I. El grupo de barras más a la derecha representa de manera similar la formación de una impureza secundaria de fotodegradación que se eluye en HPLC en tiempo de retención relativo (RRT) 1.67.

FIG. 7 es un patrón de difracción de rayos X en polvo del Compuesto I Forma III, como referencia.

FIG. 8 es una gráfica de calorimetría de barrido diferencial (DSC; curva inferior) y análisis termogravimétrico (TGA; curva superior) del Compuesto I Forma III, para referencia.

FIG. 9 es un patrón de difracción de rayos X en polvo del D-tartrato de compuesto I.

FIG. 10 es un gráfico de calorimetría diferencial de barrido (DSC; curva superior) y análisis termogravimétrico (TGA; curva inferior) del D-tartrato de Compuesto I.

FIG. 11 es un gráfico que compara las tasas de disolución entre el Compuesto I amorfo (♦), la Forma II del Compuesto I (d), la Forma III del Compuesto I (j) y el D-tartrato del Compuesto I (m).

FIG. 12 es un gráfico que compara las velocidades de disolución entre muestras acuosas (pH 6) del Compuesto I amorfo (j), una mezcla del Compuesto I amorfo y 0,1% (p/p) HPMC (h), D-tartrato de Compuesto I (d), y D-tartrato de compuesto I con HPMC (s) al 0,1% (p/p). Las gráficas para el Compuesto I (j) y el Compuesto I D-tartrato (d) se superponen esencialmente en la escala vertical mostrada.

FIG. 13 compara los comportamientos de fotodegradación del Compuesto I amorfo (franjas verticales), del Compuesto I Forma III (franjas horizontales), del Compuesto I Forma II (franjas diagonales) y del D-tartrato del Compuesto I (tablero de ajedrez) durante la exposición fotográfica a 1,2 M Lux-hrs. El grupo de barras que se encuentra más a la izquierda representa la disminución general en HPLC% AN de estas cuatro formas del Compuesto I. El grupo de barras del centro representa la formación de una impureza de fotodegradación primaria, que resulta de cada forma del Compuesto I. El grupo de barras que está más a la derecha representa de manera similar la formación de una impureza de fotodegradación secundaria que se eluyó en HPLC en el tiempo de retención relativo (RRT) 1.67.

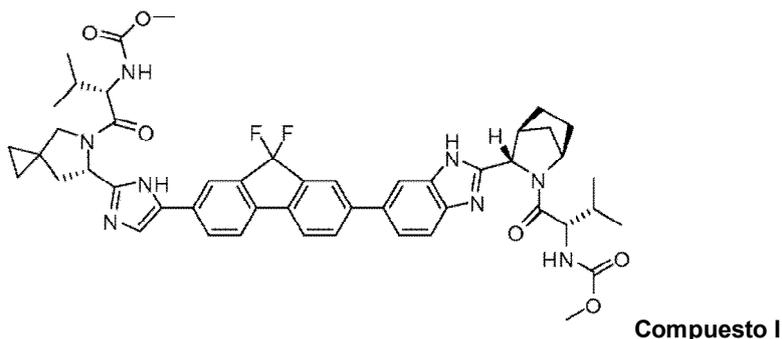
FIG. 34 es una comparación entre los espectros de RMN en estado sólido ^{13}C (ssRMN) del Compuesto I amorfo (curva superior) y D-tartrato del Compuesto I (curva inferior), respectivamente.

FIG. 35 es una curva de calorimetría diferencial de barrido (mDSC) del Compuesto amorfo I, para referencia.

FIG. 36 es un espectro de Raman transformado por Fourier (FT-Raman) del Compuesto I amorfo, como referencia.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0010] El compuesto éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilbutirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo]-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico (Compuesto I) es un inhibidor selectivo y potente del HCV NS5A.



[0011] En algunos casos, es deseable emplear una versión amorfa del fármaco para mejorar las propiedades de solubilidad y biodisponibilidad. En otros casos, es deseable tener el medicamento en forma cristalina para mejorar la estabilidad.

Definiciones

[0012] Como se usa en la presente memoria descriptiva, las siguientes palabras y frases generalmente tienen el significado que se establece a continuación, excepto en la medida en que el contexto en el que se usan indica lo contrario.

[0013] El término "solvato" se refiere a un complejo formado por la combinación del Compuesto I y un disolvente.

[0014] El término "desolvatado" se refiere a una forma del Compuesto I que es un solvato como se describe en el

presente documento, y de cuyo disolvente las moléculas se han eliminado parcial o totalmente. Las técnicas de desolvatación para producir formas desolvatadas incluyen, sin limitación, la exposición de una forma del Compuesto I (solvato) a vacío, someter el solvato a temperatura elevada, exponiendo el solvato a una corriente de gas, como aire o nitrógeno, o cualquier combinación de los mismos. Por lo tanto, una forma del Compuesto I desolvatado puede ser anhidra, es decir, completamente sin moléculas de disolvente, o parcialmente solvatada en donde las moléculas de disolvente están presentes en cantidades estequiométricas o no estequiométricas.

[0015] El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad que es suficiente para efectuar el tratamiento, como se define a continuación, cuando se administra a un mamífero que necesita dicho tratamiento. La cantidad terapéuticamente efectiva variará dependiendo del sujeto que se trate, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad, la forma de administración y similares, que pueden determinar fácilmente los expertos en la materia. Art °.

[0016] El término "aproximadamente" se refiere a un rango del 610%, a menos que se especifique lo contrario.

[0017] Además, las abreviaturas como se usan en este documento tienen los significados respectivos de la siguiente manera:

2-Me THF	2 metilo tetrahidrofurano
ACN o MeCN	acetonitrilo
AcOH	ácido acético
UN	area normalizada
Boc	terc-butoxicarbonilo
Bu	butilo
re	doblete
DCM	diclorometano
dd	doblete de dobletes
ddd	doblete de doblete de dobletes
DMAC	dimetilacetamida
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
DVS	Sorción dinámica de vapor
EDC	1-etilo-3-(3-dimetilaminopropilo) carbodiimida
eq o equiv	equivalentes
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
sol	gramo
VHC	Virus de la hepatitis c
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
HPMC	metilcelulosa de hidroxipropilo
HRMS	espectroscopia de masas de alta resolución
IPAc o iPrOAc	acetato de isopropilo
i-PrMgCl o iPrMgCl	cloruro de isopropilo magnesio
iPrOH	isopropanol
L	litro
LiHMDS	hexametildisilazida de litio
metro	multiplete
MEK	metilo etilo cetona
MeOH	metanol
MIBK	metilo iso-butilo cetona
ml	mililitro
MTBE	metilo terc butilo éter
NH ₄ OAc	acetato de amonio
RMN	resonancia magnética nuclear
Ph	fenilo
PPh ₃	trifenilfosfina
PLM	microscopia de luz polarizada
RH	humedad relativa
RRT	tiempo de retención relativo
s	singlete
t	tresillo
tBuok	terc-butóxido de potasio
AFT	ácido trifluoroacético
TGA	análisis termogravimétrico
THF	tetrahidrofurano
µL	microlitro
XRPD	difracción de polvo de rayos X
wt	peso

Formas sólidas del compuesto I

[0018] Como se describe en general anteriormente, la presente invención proporciona una forma cristalina sólida del Compuesto I designado como D-tartrato. Los inventores sorprendentemente descubrieron que esta forma da lugar a una serie de ventajas técnicas sobre la forma amorfa del Compuesto I como se explica, por ejemplo, a través de los ejemplos de trabajo y las figuras de este documento.

[0019] La Forma I del Compuesto I (para referencia) se caracteriza por su difractograma de rayos X en polvo que

comprende picos en 6,8, 12,5 y 19,8 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$, según lo determinado en un difractómetro que usa radiación Cu-K α en una longitud de onda de 1.54178 Å. El difractograma comprende picos adicionales en 10,2, 11,1 y 23,8 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. La Forma I también se caracteriza por su difractograma de rayos X en polvo, como se muestra sustancialmente en la Figura 2.

5 **[0020]** En algunas realizaciones, la Forma I se caracteriza por su curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) que comprende una endoterma menor a aproximadamente 124 °C y una endoterma principal a aproximadamente 162 °C. La forma I también se caracteriza por su curva DSC completa, tal como se muestra en la Figura 3.

10 **[0021]** La Forma II del Compuesto I (para referencia) se caracteriza de manera similar por su difractograma de rayos X en polvo que alcanza su punto máximo en 12,2, 12,7 y 20,5 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$, según lo determinado en un difractómetro que usa radiación Cu-K α en una longitud de onda de 1.54178 Å. El difractograma comprende picos característicos adicionales en 7,5, 11,4 y 20,0 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. Alternativamente, la Forma II se caracteriza por su difractograma de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 4.

15 **[0022]** En algunas realizaciones, la Forma II se caracteriza por su curva DSC que comprende una endoterma a aproximadamente 130°C. En otras realizaciones, la Forma II se caracteriza por su curva DSC completa sustancialmente como se muestra en la Figura 5.

20 **[0023]** La Forma III del Compuesto I (para referencia) se caracteriza por su difractograma de rayos X en polvo que comprende picos en 12,4, 14,2 y 21,6 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$, según lo determinado en un difractómetro que usa radiación Cu-K α en una longitud de onda de 1.54178 Å. El difractograma para la Forma III comprende picos característicos adicionales en 8,3, 15,0 y 20,4 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. La Forma III también se caracteriza por su difractograma de rayos X en polvo que es sustancialmente como se muestra en la Figura 7.

25 **[0024]** En algunas realizaciones, la Forma III se caracteriza por su curva DSC que comprende una endoterma a aproximadamente 176°C. Alternativamente, la Forma III se caracteriza por su curva DSC completa como se muestra sustancialmente en la Figura 8.

30 **[0025]** El D-tartrato de compuesto cristalino según esta invención se caracteriza en una realización por su difractograma de rayos X en polvo que comprende picos en 4,0, 10,3 y 19,7 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$, según se determina en un difractómetro utilizando Cu- Radiación de K α a una longitud de onda de 1.54178 Å. Los picos de caracterización adicionales se producen en 9,1, 12,7 y 24,0 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. Alternativamente, el D-tartrato de compuesto I se caracteriza por su difractograma de polvo de rayos X completo, como se muestra sustancialmente en la Figura 9.

35 **[0026]** En algunas realizaciones, el D-tartrato de compuesto I se caracteriza por su curva DSC que comprende una endoterma a unos 221 °C. Alternativamente, el D-tartrato de Compuesto I se caracteriza por su curva de DSC completa como se muestra sustancialmente en la Figura 10.

40 **[0027]** El Compuesto amorfo I (para referencia) se caracteriza por una temperatura de transición vítrea (T_g) de aproximadamente 160 °C. El Compuesto I amorfo no tiene un punto de fusión definido y la descomposición se produce a temperaturas superiores a 200 °C. Es higroscópico según lo determinado por la absorción dinámica de vapor, mostrando un aumento de peso máximo de 5,4% a 90% de humedad relativa. No sufre transformación de fase inducida por la humedad en ningún nivel de humedad.

45 **[0028]** Alternativamente, el Compuesto I amorfo se caracteriza por espectros de RMN en estado sólido ¹³C (ssRMN) como se muestra sustancialmente por la curva superior en la Figura 34.

50 **[0029]** Alternativamente, el Compuesto I amorfo se caracteriza por una curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) que comprende una temperatura de transición vítrea de aproximadamente 160 °C. El Compuesto I amorfo también se caracteriza por su curva DSC completa sustancialmente como se muestra en la Figura 35.

55 **[0030]** Alternativamente, el Compuesto I amorfo se caracteriza por espectros de Raman transformados por Fourier (FT-Raman) que comprenden picos a 939 y 1552 cm⁻¹. El Compuesto I amorfo también se caracteriza por sus espectros FT-Raman completos sustancialmente como se muestra en la Figura 36.

Formulaciones farmaceuticas

60 **[0031]** La forma de D-tartrato del Compuesto I de esta invención se formula con portadores y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica habitual. Las tabletas contendrán excipientes, deslizantes, rellenos, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril y, cuando están destinadas a ser administradas por una administración diferente a la oral, generalmente serán isotónicas. Todas las formulaciones contendrán opcionalmente excipientes tales como, por ejemplo, los expuestos en el Handbook of Pharmaceutical Excipients (1986). Los excipientes incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como, por ejemplo, EDTA, carbohidratos tales como, por ejemplo, dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmethylcelulosa, ácido esteárico y similares. El pH de las formulaciones varía de

aproximadamente 3 a aproximadamente 11, pero generalmente es de aproximadamente 7 a 10. Normalmente, la forma de D-tartrato del Compuesto I se administrará en una dosis de 0,01 miligramos a 2 gramos. En una realización, la dosis será de aproximadamente 10 miligramos a 450 miligramos. Se contempla que el D-tartrato de Compuesto I puede administrarse una, dos o tres veces al día.

[0032] Si bien es posible que los ingredientes activos se administren solos, puede ser preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para uso veterinario como para uso humano, de la divulgación comprenden al menos un ingrediente activo, como se definió anteriormente, junto con uno o más portadores aceptables, por lo tanto, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El (los) portador(es) debe(n) ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con los otros ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuo(s) para el receptor de los mismos.

[0033] Las formulaciones incluyen aquellas adecuadas para las vías de administración anteriores. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Las técnicas y formulaciones generalmente se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

[0034] Las formulaciones de la presente divulgación adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas, tales como, por ejemplo, cápsulas, sellos o comprimidos que contienen cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El ingrediente activo también puede administrarse como un bolo, electuario o pasta.

[0035] Una tableta se fabrica por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos comprimidos pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma de flujo libre como, por ejemplo, un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte o conservante. Las tabletas moldeadas pueden fabricarse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del ingrediente activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden opcionalmente recubrirse o marcarse y opcionalmente se formulan para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo de los mismos.

[0036] Para la administración al ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las formulaciones se aplican preferiblemente como una pomada o crema tópica que contiene el (los) ingrediente(s) activo(s) en una cantidad de, por ejemplo, 0,075 a 20% p/p (incluyendo ingrediente(s) activo(s) en un rango entre 0,1% y 20% en incrementos de 0,1% p/p como, por ejemplo, 0,6% p/p, 0,7% p/p, etc.), preferiblemente 0,2 a 15% p/p, y más preferiblemente 0,5 a 10% p/p. Cuando se formulan en una pomada, los ingredientes activos pueden emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Alternativamente, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

[0037] Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos el 30% p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como, por ejemplo, propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente la forma de D-tartrato del Compuesto I que mejora la absorción o penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

[0038] La fase oleosa de las emulsiones de esta descripción puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante (también conocido como un agente emulgente), deseablemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con una grasa y un aceite. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el (los) emulsionante(s) con o sin estabilizador(es) forma(n) la llamada cera emulsionante, y la cera, junto con el aceite y la grasa, forman la llamada base de ungüento emulsionante que forma la fase oleosa dispersada de las formulaciones de crema.

[0039] Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados para uso en la formulación de la divulgación incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetosteárico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

[0040] La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas deseadas. La crema debe ser preferiblemente un producto no graso, que no manche y lavable con una consistencia adecuada para evitar fugas de los tubos u otros recipientes. Éster alquílico mono o dibásico de cadena lineal o ramificada como, por ejemplo, di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de

coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilo-hexilo o se puede usar una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, los tres últimos son ésteres preferidos. Estos se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Alternativamente, se utilizan lípidos de alto punto de fusión como, por ejemplo, parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

[0041] Las formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención comprenden la forma de D-tartrato del Compuesto I de la invención junto con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Las formulaciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración deseado. Cuando se usan para uso oral, por ejemplo, pueden prepararse tabletas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas o en aceite, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes que incluyen agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar un sabor agradable. preparación. Las tabletas que contienen el ingrediente activo en mezcla con un excipiente farmacéuticamente aceptable no tóxico que son adecuados para la fabricación de tabletas son aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como, por ejemplo, carbonato de calcio o sodio, lactosa, monohidrato de lactosa, croscarmelosa de sodio, povidona, calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, tales como, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como, por ejemplo, celulosa, celulosa microcristalina, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, tales como, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas, incluida la microencapsulación para retrasar la desintegración y la adsorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

[0042] Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un aceite. medio, tal como, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

[0043] Las suspensiones acuosas de la divulgación contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de mascar y goma de acacia, y agentes dispersantes o humectantes como, por ejemplo, un fosfátido de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetileno etilcetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes tales como, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como, por ejemplo, sacarosa o sacarina.

[0044] Las suspensiones de aceite pueden formularse suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral como, por ejemplo, parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante, como, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Agentes edulcorantes, tales como, por ejemplo, los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes pueden agregarse para proporcionar una preparación oral sabrosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como, por ejemplo, ácido ascórbico.

[0045] Los gránulos de la divulgación adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican por los descritos anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes.

[0046] Las composiciones farmacéuticas de la divulgación también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, un aceite mineral, tal como, por ejemplo, parafina líquida, o una mezcla de estos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, tales como, por ejemplo, goma arábiga y goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, tales como, por ejemplo, lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como ejemplo, monooleato de sorbitán y productos de condensación de estos ésteres parciales de óxido de etileno, tales como, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes o elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, como, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden

contener un demulcente, un conservante, un saborizante o un agente colorante.

- 5 **[0047]** Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden estar en forma de una preparación inyectable estéril, tal como, por ejemplo, una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como, por ejemplo, una solución en 1,3-butano-diol o preparada como un polvo liofilizado. Entre los portadores y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles pueden emplearse convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo insípido, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como, por ejemplo, ácido oleico se pueden usar igualmente en la preparación de inyectables.
- 10
- 15 **[0048]** La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con el material portador para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Por ejemplo, una formulación de liberación prolongada destinada a la administración oral a humanos puede contener aproximadamente de 1 a 1.000 mg de material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material portador que puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% del total de composiciones (peso:peso). La composición farmacéutica se puede preparar para proporcionar cantidades fácilmente medibles para administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg del ingrediente activo por mililitro de solución para que pueda producirse la infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 mL/h.
- 20
- 25 **[0049]** Las formulaciones adecuadas para la administración en el ojo incluyen gotas oculares en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo está presente preferiblemente en tales formulaciones en una concentración de 0,5 a 20%, ventajosamente de 0,5 a 10%, particularmente alrededor de 1,5% p/p.
- 30 **[0050]** Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base con sabor, usualmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como, por ejemplo, gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.
- 35 **[0051]** Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.
- 40 **[0052]** Las formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 a 500 micras (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo de 0,1 a 500 micras en incrementos de micras tales como, por ejemplo, 0,5, 1, 30). micras, 35 micras, etc.), que se administra por inhalación rápida a través del conducto nasal o por inhalación por la boca para llegar a los sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para la administración de aerosol o polvo seco pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos tales como, por ejemplo, compuestos utilizados hasta ahora en el tratamiento o profilaxis de afecciones asociadas con la actividad del VHC.
- 45
- 50 **[0053]** Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen además del ingrediente activo, portadores que se conocen en la técnica como apropiados.
- 55 **[0054]** Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.
- 60 **[0055]** Las formulaciones se presentan en contenedores de dosis unitarias o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado liofilizado que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua. Para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se preparan a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una dosis parcial diaria, como se cita aquí anteriormente, o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo.
- 65 **[0056]** Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones de esta descripción pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica, teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, para los ejemplos adecuados para la administración oral pueden incluir agentes

saborizantes.

[0057] La descripción proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se define anteriormente junto con un portador veterinario.

[0058] Los portadores veterinarios son materiales útiles para el fin de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que, de otro modo, son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o por cualquier otra vía deseada.

[0059] La forma de D-tartrato del Compuesto I de la invención también se puede formular para proporcionar una liberación controlada del ingrediente activo para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad del ingrediente activo. Por consiguiente, la descripción también proporciona composiciones que comprenden la forma de D-tartrato del Compuesto I de la invención formulada para liberación sostenida o controlada.

[0060] La dosis efectiva de ingrediente activo depende al menos de la naturaleza de la condición tratada, la toxicidad, si el compuesto se usa profilácticamente (dosis más bajas), el método de administración y la formulación farmacéutica, y estará determinado por el clínico utilizando estudios de dosis convencionales.

[0061] En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende D-tartrato de compuesto I y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0062] Los ejemplos representativos de formulaciones farmacéuticas de la forma de D-tartrato de Compuesto I se discuten en el Ejemplo 8.

Métodos de uso

[0063] La forma sólida del D-tartrato de Compuesto I descrita en el presente documento se puede administrar a un sujeto que padece virus de la hepatitis C (VHC) en dosis únicas o múltiples mediante cualquiera de los modos de administración aceptados por los expertos en la técnica. Las vías de administración incluyen, por ejemplo, las vías rectal, bucal, intranasal y transdérmica, mediante inyección intraarterial, intravenosa, intraperitoneal, parenteral, intramuscular, subcutánea, oral, tópica, como inhalante, o mediante un dispositivo impregnado o recubierto como stent, por ejemplo, o un polímero cilíndrico insertado en la arteria.

[0064] La administración oral se puede llevar a cabo administrando la forma de D-tartrato del Compuesto I mediante cápsulas o comprimidos con recubrimiento entérico, o similares.

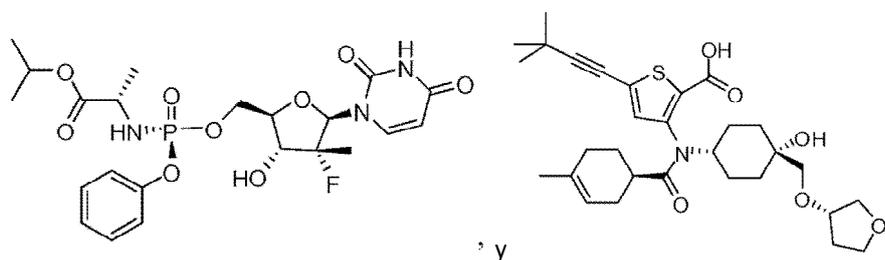
[0065] La forma del D-tartrato del Compuesto I también puede administrarse mediante dispositivos de administración transdérmica ("parches"). Dichos parches transdérmicos se pueden usar para proporcionar una infusión continua o discontinua de los compuestos de la presente descripción en cantidades controladas. La construcción y el uso de parches transdérmicos para el suministro de agentes farmacéuticos es bien conocido en la técnica. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 5.023.252, 4.992.445 y 5.001.139. Dichos parches pueden construirse para la administración continua, pulsátil o bajo demanda de agentes farmacéuticos.

[0066] Los compuestos se formulan preferiblemente en una forma de dosificación unitaria. El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado. Los compuestos se administran generalmente en una cantidad farmacéuticamente eficaz.

[0067] Para la administración oral, cada unidad de dosificación contiene típicamente de 1 mg a 2 g de un compuesto descrito en el presente documento. Sin embargo, se entenderá que la cantidad del compuesto realmente administrado generalmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluida la condición a tratar, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, y su actividad relativa, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

Terapia de combinación

[0068] Los sujetos tratados mediante la administración de la forma del D-tartrato del Compuesto I descrita en la presente divulgación pueden beneficiarse del tratamiento con agentes terapéuticos adicionales que son efectivos en el tratamiento del VHC, o que aumentan el efecto terapéutico anti-VHC de la Forma de tartrato D del Compuesto I, de acuerdo con algunas realizaciones. Los agentes terapéuticos adicionales que son útiles para este propósito incluyen, pero no se limitan a, ribavirina,

5
10

EJEMPLOS

15 **Ejemplo 1 (referencia): Preparación de disolvato de diacetona del éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo]-1H-benzimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo)-2-metilo-propilo)-carbámico (Compuesto I Forma I).**

20 **[0069]** Aproximadamente 15-60 mg de éster metílico del ácido amorfo (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo]-1H-benzimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo)-2-metilpropilo)-carbámico (HPLC de 99,3% de pureza) se pesaron y se transfirieron a un vial equipado con una mini barra de agitación magnética. Se añadió acetona en incrementos de 200 μ L que dieron como resultado la formación de una suspensión. La suspensión se dejó agitar durante dos semanas a temperatura ambiente (aproximadamente 22 $^{\circ}$ C) y se examinó periódicamente.

25 **[0070]** Después de dos semanas, se retiró una muestra de 300 μ L de la suspensión del vial, se transfirió a un filtro de centrifuga (Costar, 0,45 micrones) y se centrifugó a 1.000 rpm durante 2 minutos. El sólido en forma de torta húmeda se analizó mediante análisis XRPD (difractómetro de polvo de rayos X PANalytical X'Pert PRO). Este difractómetro usa radiación Cu-K α a una longitud de onda de 1.54178 Å , y opera en modo de reflexión. El rango de escaneo es de 2 a 40 grados 2 theta. El tamaño del escalón es de 0,008 $^{\circ}$ a una velocidad de escaneo de 0,13 $^{\circ}$ /s, lo que da aproximadamente 5 minutos por escaneo. Después de secar al aire la pequeña muestra, se realizó nuevamente el análisis de XRPD para monitorear cualquier cambio en el patrón de difracción entre el material húmedo y seco. Se realizó un análisis termimétrico (TGA) sobre la solución saturada para determinar la solubilidad de los sólidos de equilibrio en el disolvente cuando el sólido parecía ser cristalino.

30 **[0071]** Los resultados de estos análisis revelaron que el Compuesto I se transformó de un sólido amorfo a un material cristalino después de agitarse en acetona durante aproximadamente 11 días. Como se muestra en la Figura 1, el material sólido que está en equilibrio con la solución de acetona, cuando se filtra y se seca suavemente durante menos de 1 hora, tiene un patrón de XRPD distinto en comparación con el halo amplio para el material de partida amorfo. El patrón de XRPD para la Forma I del Compuesto I se muestra en la Figura 2 y los picos principales y sus intensidades relacionadas en el patrón de XRPD se muestran en la Tabla 1 a continuación.

45 **Tabla 1. Principales picos en el patrón de XRPD para el Compuesto I Forma I**

45

Posición de pico ($^{\circ}2\theta$)	Intensidad relativa (%)
3,4	53,3
6,8	100,0
8,8	34,4
9,3	37,7
10,2	34,8
11,0	49,7
12,5	76,8
19,8	72,7
21,6	14,4
23,8	41,6

60

[0072] La cristalinidad de la Forma I se confirmó adicionalmente mediante una imagen de los cristales con Microscopía de Luz Polarizada (PLM).

65 **[0073]** El análisis de HPLC mostró que la transformación del Compuesto I de forma amorfa a la Forma I mejoró el % de pureza AN del 99,3% al 99,8%. Una investigación adicional demostró que el solvato de acetona ofrece una capacidad de purga de impurezas significativa, ya que la mezcla de reacción con 96-97,5% de AN antes de la

crystalización se elevó a aproximadamente 99,6% de AN cuando se aisló la Forma I. Por consiguiente, la cristalización de la Forma I se utilizó a escala para purificar el Compuesto I bruto antes de que se produzca el Compuesto I final.

5 **[0074]** La curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de la Forma I mostró que al calentar este material cristalino tiene una endoterma menor a 124,20 °C, lo que indica una desolvatación de acetona del cristal de solvato (Figura 3). Después de la endoterma de desolvatación, hubo una endoterma principal a 162,43 °C, lo que indica la fusión del sólido desolvatado. La curva de análisis termogravimétrico (TGA) de la Forma I mostró una pérdida de peso de 12,20% en un amplio rango de temperatura de 50-130 °C, lo que indica que la Forma I probablemente tenga algo de acetona unida ligeramente mezclada con acetona fuertemente unida. La cantidad de pérdida de peso también indicó que la Forma I es un solvato de diacetona porque el contenido teórico de acetona para un solvato de monoacetona es 6,1%.

15 **Ejemplo 2 (referencia): Preparación del disolvato de monoacetona del éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo}-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico (Compuesto I Forma II).**

20 **[0075]** La Forma II del Compuesto I se preparó mediante la desolvatación parcial de la Forma I, como se describe más detalladamente a continuación. Los expertos en la técnica conocen bien los métodos de desolvatación. Estos incluyen, por ejemplo, la aplicación de un vacío, la exposición prolongada a condiciones ambientales, someter la Forma I a temperatura elevada, y someter la Forma I a un flujo de gas, como aire o nitrógeno, y cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la preparación de la Forma I del Compuesto I como se describe anteriormente en el Ejemplo 1 da como resultado la formación de cantidades detectables de la Forma II del Compuesto I. Por lo tanto, en estas realizaciones, es posible preparar mezclas de la Forma I y la Forma II.

25 **[0076]** Como un ejemplo, los cristales de la Forma I del Compuesto I se secaron a vacío a aproximadamente 21°C durante 5 días, después de lo cual se formó la Forma II del Compuesto I. El patrón de XRPD para la Forma II es distinto del de la Forma I, como se muestra en la Figura 4. Los picos principales y sus intensidades relacionadas en el patrón de XRPD se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Principales picos en el patrón de XRPD para la Forma II del Compuesto I

Posición de pico (°2θ)	Intensidad relativa (%)
7,5	36,9
9,3	34,8
11,4	55,6
12,2	94,6
12,7	59,0
13,4	35,4
14,1	22,5
14,9	17,2
17,8	29,3
18,6	17,5
20,0	58,7
20,5	100,0
22,7	31,0
26,2	26,5

35 **[0077]** La curva de DSC de la Forma II mostró una amplia endoterma a 130,27 °C, que indicaba una desolvatación de la acetona del cristal solvatado junto con la fusión en el mismo rango de temperatura (Figura 5). La curva TGA de la Forma II mostró una pérdida de peso del 7,7% en un amplio rango de temperatura de 70-150 °C, lo que indicó que la Forma II tiene algo de acetona unida ligeramente mezclada con acetona fuertemente unida. La cantidad de pérdida de peso también indicó que la Forma II es un solvato de monoacetona porque el contenido teórico de acetona para un monosolvato de acetona es de 6,1%. Los datos TGA y DSC muestran que la Forma II tiene una estructura razonablemente estable hacia el estrés térmico.

40 **[0078]** La Forma II exhibe sorprendentemente una fotoestabilidad mejorada en comparación con el Compuesto I amorfo y una sal parcialmente amorfa de HCl del Compuesto I. Por lo tanto, muestras separadas de la Forma II, Compuesto I amorfo y sal parcialmente amorfa de HCl del Compuesto I fueron fotoexpuestas en una cantidad de 0,9 M Lux-hrs. Los análisis de HPLC de las muestras compararon las cantidades de productos de fotodegradación en cada muestra. Como se muestra en la Figura 6, el grupo de barras que se encuentra más a la izquierda representa

la disminución general del % de HPLC AN para el Compuesto I en las tres formas sólidas diferentes mencionadas anteriormente. Por ejemplo, la Forma II del Compuesto I dio lugar a la cantidad más baja (2,24% AN) de fotodegradación en este experimento.

5 **[0079]** El grupo intermedio y el grupo de barras a la derecha representan las cantidades de dos de las principales impurezas de fotodegradación formadas después de la fotoexposición de las tres formas sólidas del Compuesto I. Estas comparaciones demuestran que, en general, la Forma II exhibió la mejor fotoestabilidad entre las tres formas comparadas.

10 **Ejemplo 3 (referencia): Preparación de éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo}-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico (Forma III del Compuesto I).**

15 **[0080]** A pesar de las ventajas sorprendentes que ofrecen la Forma II sobre el Compuesto I amorfo, todavía tiene una cantidad significativa de acetona estrechamente unida en su estructura. El propósito de este ejemplo es romper el solvato y generar una forma cristalina anhidra.

20 **[0081]** De este modo, los cristales de la Forma II se calentaron para secarse completamente o para desolvatarse a aproximadamente 115°C, lo que dio como resultado el descubrimiento de una tercera forma cristalina, la Forma III.

25 **[0082]** La formación de la Forma III se reveló mediante un experimento de XRPD de temperatura variable. En este experimento, una muestra de la Forma II se calentó a 10 °C/min a partir de 25 °C. Después de cada aumento de temperatura de 10 °C, la muestra se mantuvo a la temperatura elevada durante 20 minutos para permitir que se generara un patrón de XRPD a esa temperatura. Este período de calentamiento y mantenimiento continuó hasta que la temperatura alcanzó los 205 °C. Algunos patrones de XRPD a temperaturas seleccionadas en comparación con los patrones de referencia de XRPD para Forma I, Forma II y Forma III. Esta comparación mostró que la Forma II comienza a mostrar una transformación sólido-sólido, al calentarse, a temperaturas superiores a 85 °C, y logró una conversión significativa a 115 °C, mientras que la conversión a la Forma III se completó a 145 °C. El patrón XRPD de la Forma III se muestra en la Figura 7. Los picos principales y sus intensidades relacionadas en el patrón XRPD se muestran en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3. Principales picos en el patrón de XRPD para la Forma III del Compuesto I

35

Posición de pico (°2θ)	Intensidad relativa (%)
8,3	53,2
12,4	100,0
14,2	69,3
15,0	47,8
20,4	43,0
21,6	84,7
23,3	26,5

40

45

50 **[0083]** La Forma III comenzó a fundirse a 175 °C, lo que fue confirmado por la curva DSC de la forma III (Figura 8). La curva TGA de la Forma III, que también se muestra en la Figura 8, indica que esta forma de cristal es anhidra. Los datos de la absorción dinámica de vapor (DVS) muestran que la Forma III no es higroscópica y ocupa menos del 0,3% de humedad con un 90% de humedad relativa, en comparación con el 5,6% de absorción de humedad del Compuesto I amorfo.

55 **Ejemplo 4: Preparación de D-tartrato de éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo}-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico (D-tartrato de Compuesto I)**

60 **[0084]** Se transfirieron aproximadamente 100-500 mg de la Forma I del Compuesto I a cada uno de un conjunto de viales que contenían una barra de agitación magnética. A cada vial se le agregaron aproximadamente 1,0-20 mL de acetonitrilo (ACN) o alcohol isopropílico (IPA) hasta que se logró una solución clara. En un conjunto separado de viales, se prepararon soluciones claras de ACN o IPA de los ácidos enumerados en la Tabla 4 a continuación.

65 **[0085]** Cada una de las soluciones ácidas se añadió a una solución correspondiente del Compuesto I gota a gota hasta que se obtuvo 1 equivalente de ácido. Si se observaron suspensiones resultantes, se dejaron enfriar desde temperatura ambiente hasta ~0 °C. Si se observaban soluciones claras, se dejaron evaporar lentamente para evaluar la posible cristalización.

[0086] Entre los ácidos seleccionados, el ácido L-tartárico y el HCl parecieron reaccionar por separado con la Forma I del Compuesto I y dio signos débiles de cristalinidad, según lo determinado por PLM. Sin embargo, los productos sólidos de estas dos reacciones demostraron ser inestables y perdieron cristalinidad fácilmente al exponerse a la atmósfera ambiente.

5

Tabla 4. Criba de sal para el compuesto I

Ácido	pK _a	Observaciones
HCl	-6	Sal desordenada formada
Ácido cítrico	triácido, 3.1; 4.8; 6.4	Ningún producto formado
Acido maleico	diácido 1.92; 6.23	Producto amorfo
Ácido l-tartárico	diácido 3.02; 4.36	Producto amorfo formado
Ácido D-tartárico	diácido 2,93; 4.23	Producto cristalino formado.
ácido fumárico	diácido, 3,03; 4,38	Ningún producto formado
Ácido toluensulfónico monohidrato	-1.34	Ningún producto formado
Ácido benceno sulfónico	0.7	Ningún producto formado
Ácido sulfúrico	-3	Ningún producto formado
Acido succinico	diácido, 4.2; 5.6	Ningún producto formado
Ácido l-málico	diácido, 3,46; 5.1	Ningún producto formado
Ácido D-málico	diácido, 3,46; 5.1	Ningún producto formado
Ácido malónico	diácido, 2,83; 5.69	Ningún producto formado
Ácido oxálico	diácido, 1,27; 4.28	producto amorfo

[0087] Incluso con un examen de forma cristalina completo para L-tartrato, no se produjo con éxito un producto cristalino estable, como se resume a continuación en la Tabla 5. La caracterización por XRPD de varias muestras resultantes del examen de forma estable para L-tartrato mostró que las muestras permanecieron como sólidos amorfos en la mayoría de los solventes. En la acetona, el Compuesto I volvió a la Forma I del solvato de acetona como se describió anteriormente.

35

Tabla 5. Resumen de la pantalla en forma cristalina para el L-tartrato del compuesto I

Solvente	24 horas XRPD	2 semanas de XRPD	Observación
Agua	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
IPAc	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
MTBE	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
2-propanol	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
THF	N/A	N/A	Solucion clara
Acetona	Compuesto I Forma I	Compuesto I Forma I	Suspensión
Metanol	N/A	N/A	Solucion clara
can	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
Etanol	N/A	N/A	Solucion clara
Acetato de etilo	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
2-MeTHF	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
MEK	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
MIBK	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
n-heptano	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
Tolueno	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
DCM	Sólido amorfo	Sólido amorfo	Suspensión
a _w de 0,8 (EtOH/agua)	N/A	N/A	Solucion clara

[0088] Según estas observaciones, se añadió ácido D-tartárico a la lista de ácidos. Así, cuando una solución de IPA de ácido D-tartárico se añadió a una solución de Compuesto I en IPA, se generó una suspensión blanca inmediatamente. Se filtró una muestra y se caracterizó con XRPD, de acuerdo con los parámetros descritos anteriormente, que mostraban claramente un producto cristalino, D-tartrato de éster metílico del ácido (1-{3-[6-(9,9-

65

difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino)-3-metilo-butirilo]-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo}-9H-fluoreno-2-ilo)-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonilo}-2-metilo-propilo)-carbámico (Compuesto I D-tartrato).

5 **[0089]** La Figura 9 muestra el patrón XRPD del D-tartrato de Compuesto I. Los picos principales y las intensidades relativas correspondientes en el diagrama del patrón XRPD se enumeran a continuación en la Tabla 6

Tabla 6. Principales picos de XRPD para el D-tartrato de Compuesto I

Posición (°2 θ)	Intensidad relativa
4,0	87,8%
7,9	17,7%
9,1	38,9%
10,3	47,8%
12,7	30,6%
14,8	14,9%
15,8	13,2%
16,2	16,8%
16,9	15,4%
17,5	18,2%
18,3	26,4%
19,2	16,4%
19,7	100,0%
20,8	20,0%
21,0	27,2%
22,8	19,7%
24,0	30,9%
27,4	10,6%
28,2	5,6%

35 **[0090]** La cristalinidad del D-tartrato de Compuesto I se confirmó adicionalmente mediante una imagen de Microscopio de Luz Polarizada (PLM) de los cristales.

40 **[0091]** La curva de DSC del D-tartrato de Compuesto I muestra que al calentar este material cristalino tiene una endoterma afilada a 221,08 °C, lo que indica un evento de fusión transparente (Figura 10). La curva TGA muestra una pérdida de peso mínima, lo que indica que el D-tartrato de compuesto I es anhidro. Los datos de la absorción dinámica de vapor (DVS) demostraron que el D-tartrato de compuesto I absorbe menos del 3% de humedad con un 90% de HR.

45 **Ejemplo 5. Pantalla de forma estable para D-tartrato de compuesto I**

50 **[0092]** Las muestras de D-tartrato de Compuesto I se sometieron a un tamiz de una manera análoga al procedimiento descrito anteriormente en el Ejemplo 1. Los resultados para el cribado de forma estable del D-tartrato de Compuesto I se resumen en la Tabla 7 a continuación. La caracterización por XRPD de varias muestras después de 2 semanas mostró que la forma física no cambió, y solo se perdió algo de cristalinidad en la muestra de agua después de 2 semanas.

55

60

65

Tabla 7. Resumen de pantalla de formulario estable para D-tartrato de compuesto I

Solvente	XRPD 24 horas	2 semanas de XRPD	Observación
Agua	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
IPAc	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
MTBE	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
2-propanol	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
THF	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
Metanol	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
can	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
Etanol	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
Acetato de etilo	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
2-MeTHF	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
MEK	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
MIBK	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
n-heptano	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
DCM	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión
a_w de 0,8 (EtOH/agua)	D-tartrato del Compuesto I	D-tartrato del Compuesto I	Suspensión

Ejemplo 6. Evaluación de la solubilidad cinética y la fotoestabilidad del D-tartrato de compuesto I en comparación con otras formas

[0093] La velocidad de disolución del D-tartrato de Compuesto I en agua a pH 3 es de 5 a 10 veces más rápida que cualquier otra forma de Compuesto I que se describe en este documento. D-tartrato del Compuesto I también dio lugar a aumentos de solubilidad sostenida (~ 2x) para un período de tiempo extendido. En contraste, la Forma II del Compuesto I resultó en la tasa de disolución más lenta. Estos y otros resultados se muestran en la Figura 11. Estos resultados muestran que el D-tartrato del Compuesto I exhibe propiedades de disolución mejoradas en medios acuosos moderadamente ácidos.

[0094] Debido a que la solubilidad del Compuesto I en un rango de pH mayor es menor que aproximadamente 1 µg/ml, se realizó un experimento adicional para evaluar la solubilidad cinética del Compuesto I a un pH más alto, aquí pH 6. En este experimento, las tasas de disolución se midieron las muestras de Compuesto I amorfo y D-tartrato del Compuesto I, y las muestras de cada forma se mezclaron con celulosa de hidroxipropilmetilo (HPMC) al 0,1% (p/p) en medios acuosos a pH 6. Como se muestra en la Figura 12, la presencia de HPMC mejoró la disolución y la solubilidad en un período de 60 minutos. Específicamente, se observó una mejora de aproximadamente 100 veces la mezcla de D-tartrato de compuesto I y HPMC (solubilidad en estado estable = 0,02 µg/ml). Los resultados demostraron la ventaja potencial del D-tartrato sobre todas las formas libres del Compuesto I usando ciertas técnicas de formulación.

[0095] La degradación fotoquímica del Compuesto I se evaluó en una cámara SUNtest durante 8 horas (1,2 M lux-hrs). Los resultados mostraron la presencia de un fotodegradante primario en solución, y menos como un sólido (Figura 13). Se formó un fotodegradante secundario en el tiempo de retención relativo (RRT) 1,67 por exposición a la luz o exposición a oxidantes químicos (degradante primario de DP). Los resultados mostraron que la cristalización del Compuesto I generalmente produce una estabilidad más robusta en presencia de luz. En particular, los resultados demuestran que el D-tartrato del Compuesto I es la forma más robusta en presencia de luz en relación con otras formas del Compuesto I que se describen aquí.

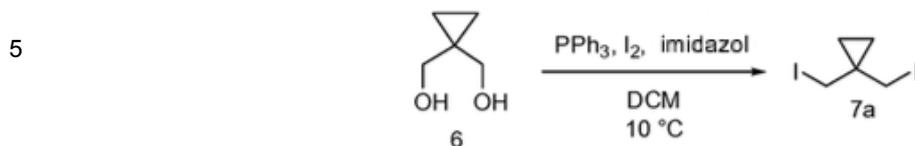
Ejemplo 7 (referencia): Síntesis del Compuesto I amorfo

[0096] Los siguientes pasos discuten la síntesis del Compuesto I amorfo. La síntesis del solvato de acetona del Compuesto I también se describe en la Solicitud de EE.UU. N° de serie 61/655.935 presentada el 5 de junio de 2012, y en la Solicitud de EE.UU. N° de serie 13/800.202 presentada el 13 de marzo de 2013.

I. Síntesis de materiales de partida

A. Yodación del diol 6 para preparar 7a

[0097]

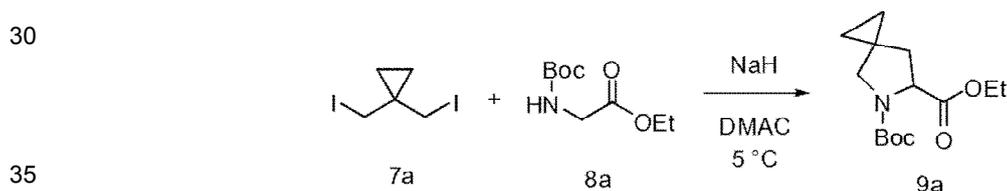


15 [0098] Se cargaron trifenilfosfina (257,2 g) e imidazol (66,7 g) en un reactor. Se cargó DCM (490 ml), se inició la agitación y la solución se enfrió a 0°C. Se añadió yodo (249,2 g) como un sólido en porciones durante 1 h mientras que se mantenía la temperatura interna por debajo de 10 °C. Una vez completada la adición, se cargó lentamente una solución de 6 (50 g) en DCM (113 mL) en el reactor durante 0,5 h mientras que se mantenía la temperatura interna por debajo de 10°C. Después de agitarse durante 2,5 h, se cargó en el reactor una solución acuosa de NaCl (25 g) en agua (225 mL). Después de la separación de fases, la capa orgánica inferior se diluyó con n-heptano (550 mL). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de sulfito de sodio (21 g) en agua (190 mL). Después de la separación de la capa, la fase orgánica se concentró a 600 mL mediante destilación al vacío. Se cargó n-heptano adicional (550 mL) y la mezcla se concentró de nuevo a 600 mL mediante destilación al vacío. La suspensión resultante se filtró sobre un tapón de gel de sílice (85 g) que se había empaquetado en suspensión con n-heptano. El tapón de gel de sílice se enjuagó con n-heptano adicional (1 L) y el filtrado se concentró luego por destilación al vacío para proporcionar el producto deseado 7a en forma de un líquido incoloro (114 g, 70%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 3,33 (s, 2H), 0,95 (s, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): 19,1, 22,7, 26,0.

20

25 B. Alquilación de 8 para preparar 9

[0099]



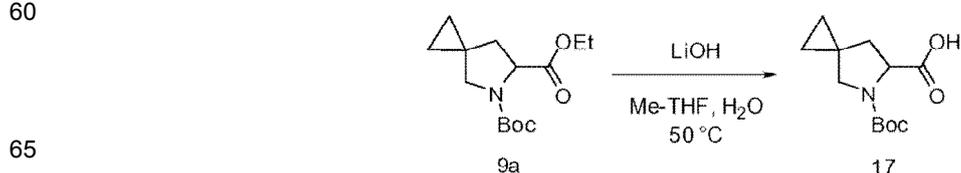
40 [0100] Se cargaron hidruro de sodio (60,0 g, 3 equivalentes, 60% de dispersión en aceite mineral) y dimetilacetamida (600 mL) en un matraz y la temperatura de reacción se redujo a 0-10 °C. El compuesto 7a (191,6 g, 1 equivalente) se cargó en la solución de NaH una vez que la temperatura interna fue de aproximadamente 5 °C. Se añadió una solución del compuesto 8a (121,0 g, 1 equivalente) en DMAC (600 mL) durante 3.5 h, manteniendo la temperatura interna entre 0-11 °C. La solución se agitó a 0-10 °C y se tomaron muestras para completar la reacción después de 1 h. La reacción se consideró completa cuando la cantidad restante de 8a era inferior al 3%. Al finalizar, se añadió lentamente AcOH (50 mL, 1,5 equivalentes) durante 2-3 h mientras que se mantenía la temperatura entre 4-9 °C. La solución se agitó durante 12 h a 0-10°C. Se añadieron MTBE (1.000 mL) y agua (700 mL) a la solución inactivada. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con MTBE (400 mL). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con una solución de NaCl al 15% (1.000 mL), una vez con una solución de bicarbonato de sodio al 5% (900 mL) y una vez con una solución de salmuera (600 mL). La solución de MTBE se concentró a un volumen mínimo. El aceite se volvió a disolver en ACN (400 mL) y se lavó con hexanos (200 mL). Las fases se separaron, la capa de ACN se concentró hasta un volumen mínimo y la capa de hexanos se descartó. El producto 9a se aisló como un aceite amarillo (98 g, 61%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4,45 (dd, J = 8,5, 3,7 Hz, 0,5H rotámero 1), 4,35 (dd, J = 8,4, 4,4 Hz, 0,5H rotámero 2), 4,27 - 4,11 (m, 2H), 3,44 - 3,29 (m, 2H), 2,26 (ddd, J = 12,7, 8,4, 4,1 Hz, 1H), 1,80 (ddd, J = 23,5, 12,6, 4,0 Hz, 1H), 1,58, 1,48 - 1,40 (m, 9H), 1,32 - 1,21 (m, 3H), 0,68 - 0,44 (m, 4H).

50

55

60 C. Hidrólisis del éster etílico 9a.

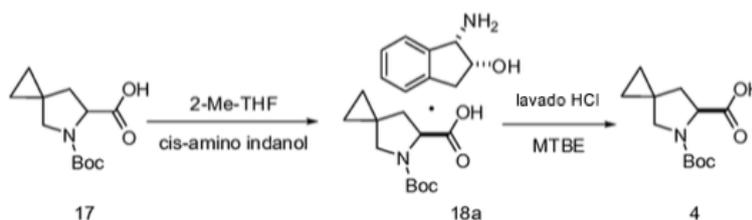
[0101]



[0102] Se agregaron agua (910 mL), hidróxido de litio (284 g, 2,0 eq) y 2-MeTHF (2,0 L) a un matraz equipado con agitación superior, un termómetro interno y una línea de nitrógeno. Se transfirió una solución del compuesto **9a** (911 g) en 2-MeTHF (1,0 L) al matraz que contenía el hidróxido de litio. La reacción se calentó a 50°C hasta que la reacción se consideró completa según se determinó mediante análisis de HPLC. La reacción se enfrió a 22°C y se añadió agua (3,6 L) a la reacción. Las capas se dividieron y la capa acuosa inferior se retuvo mientras que la capa orgánica superior se eliminó. Se añadieron 2-MeTHF (4 L) y HCl concentrado (420 mL) a la capa acuosa. Las capas se separaron y la capa acuosa del fondo se eliminó. La capa orgánica superior se concentró y el producto **17** se aisló como un sólido blanco (596 g, 71%). Los datos de caracterización para **17** son los mismos que para el compuesto **4** descrito anteriormente.

D. Resolución clásica

[0103]

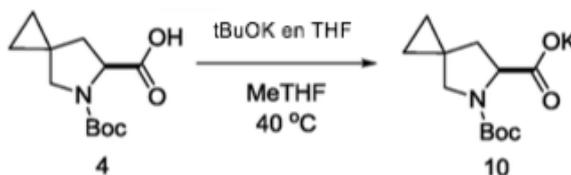


[0104] El ácido carboxílico racémico **17** (596 g) se disolvió en 2-Me-THF (6 L) y luego la solución homogénea se calentó a 55°C. Se añadió a la reacción (1S, 2R)-indino-indanol (221 g, 0,6 eq) en 3 porciones iguales separadas por 10 minutos. La solución se sembró con sal **18a** (0,6 g) después de haber agregado la primera porción. Después de añadir la última porción de amina, la solución se envejeció a 55 °C durante 1 h. La suspensión se enfrió luego a 22°C a una velocidad de ~15 grados por hora. Una vez que la suspensión alcanzó la temperatura ambiente, se filtró y la torta se lavó una vez con 2-Me-THF (1,2 L). Los sólidos se secaron a 45°C en un horno de vacío durante 24 h. El compuesto **18a** se aisló como un sólido blanco (320 g, 33%).

[0105] Los sólidos **18a** se disolvieron en MeTHF (1,5 L), se añadió 1M HCl (1,0 L) y la mezcla bifásica se agitó durante 30 minutos hasta que se disolvieron los sólidos. La capa acuosa inferior se eliminó y la capa orgánica se lavó con 1M HCl (1 L) y luego con H₂O (500 mL). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ (250 g cada uno) durante 20 minutos, se filtró y la torta se lavó con MeTHF. Este mismo procedimiento de secado se repitió una segunda vez y luego la solución se concentró hasta obtener un aceite para producir **4** (197 g, 100%).

E. Formación de sal de potasio

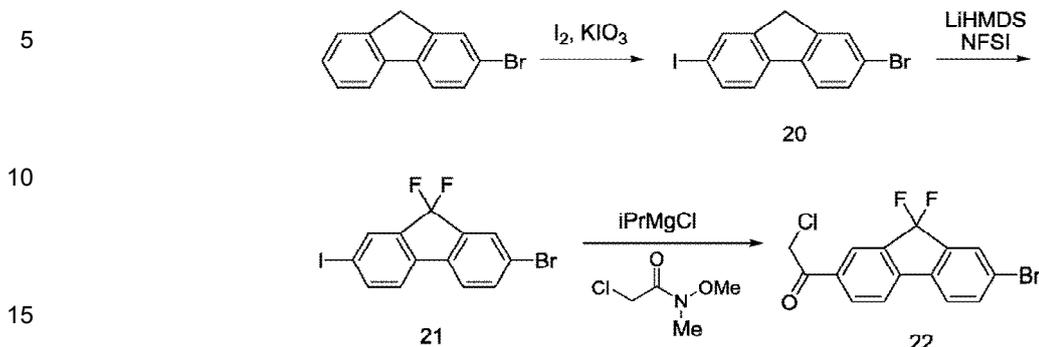
[0106]



[0107] El ácido carboxílico **4** (219 g) se disolvió en 2-MeTHF (880 mL) y luego la solución se calentó a aproximadamente 35°C. Se añadió lentamente una solución de T_BuOK 1,0 M en THF (1,05 L) de manera que la temperatura interna no excediera los 40 °C. La suspensión se agitó durante aproximadamente 30 minutos y luego se enfrió lentamente hasta aproximadamente 20°C durante aproximadamente 2 horas. La suspensión se envejeció a 20°C durante 1 h y luego se filtró. La torta se lavó con 2-MeTHF (715 mL). Los sólidos se secaron en un horno de vacío durante 24 horas a 40°C. El producto final **10** se aisló como un sólido blanco (212 g, 86%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4,07 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 3,44 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,35 (s, 1H), 3,10 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,03 (dd, J = 12,3, 6,9 Hz, 1H), 1,89 (dd, J = 12,3, 8,0 Hz, 1H), 1,38 (s, 9H), 0,71 - 0,27 (m, 4H), ¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO, δ): 3,89 (dd, J = 8,6, 4,1 Hz, 0,4H rotámero 1), 3,85 (dd, J = 8,6, 4,3 Hz, 0,6H rotámero 2), 3,21 - 3,07 (m, 2H), 2,00 - 1,92 (m, 1H), 1,75 - 1,71 (m, 1H) 1,36 (s, 4H rotámero 1), 1,32 (s, 5H rotámero 2), 0,46 - 0,37 (m, 4H), ¹³C RMN (100 MHz, d₆-DMSO) δ 174,5, 174,4, 154,1, 153,4, 77,2, 76,9, 62,3, 62,0, 54,1, 53,8, 38,7, 28,4, 28,3, 20,6, 19,9, 11,8, 11,6, 10,5, 10,2.

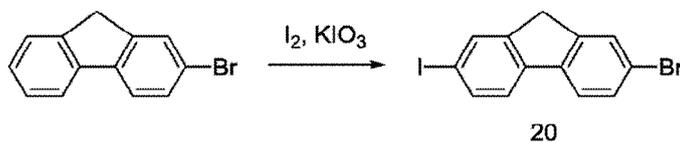
II. Ruta al intermedio 22

[0108]



A. Síntesis del intermedio 20

[0109]



[0110] Un matraz de 3 bocas se cargó con 2-bromofluoreno (100 g) y ácido acético (2100 g). Los contenidos se calentaron a 40-45 °C y se agitaron durante aproximadamente 30 minutos para obtener una solución transparente. Después de ajustar la temperatura interna a 20-30 °C, 20% (v/v) ac. Se añadió H₂SO₄ (200 g, preparado con 64,0 g de H₂SO₄ y 136 g de agua), seguido de I₂ (53,0 g, 0,512 mol equivalente) seguido de KIO₃ (17,5 g, 0,200 mol equivalente). La suspensión se calentó a 58 °C (56-60 °C) durante aproximadamente 4 horas. La suspensión se enfrió luego a 20-25 °C y se cargó una solución de Na₂SO₃ al 9% (Na₂SO₃, 47,0 g; agua, 500 g) a la mezcla de reacción mientras que se mantenía la temperatura interna a 20-30 °C. La suspensión se agitó a 25°C durante 1 hora y se filtró. La torta del filtro se enjuagó con 85% en peso de HOAc (200 g, preparado con 170 g de HOAc y 30 g de agua), seguido de agua (200 g, 2,0% en peso equivalente). La torta del filtro se descargó y se lavó en suspensión en agua (1.500 g) durante aproximadamente 1 hora, luego se filtró y se enjuagó con agua hasta que el pH del enjuague es 6-7 y luego se enjuagó con heptanos (200 g). Los sólidos se secaron al vacío produciendo 143 g (95% de rendimiento, 96% de pureza AN por HPLC) del producto 20 como un sólido blanco.

B. Síntesis del Intermedio 21

[0111]

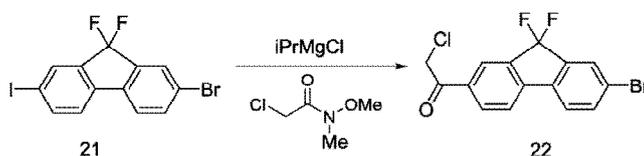


[0112] El material de partida (20, 100 g) y la N-fluorobencenosulfonimida (NFSI, 251 g, 2,95 mol equiv) se agregaron como sólidos al matraz. A la mezcla se le añadió THF (1.000 g) y, con agitación, los sólidos se disolvieron. La solución se desgasificó tres veces aplicando lentamente el vacío, seguido de la ruptura del vacío con nitrógeno. La solución se enfrió en un baño a -78 °C hasta una temperatura interna de -68 °C. Al enfriarse, se formó una suspensión de color blanco a blanquecino. Se añadió una solución de la base (LiHMDS 1,0 M en THF, 720 g, 3,00 moles equivalentes) a una velocidad tal que la temperatura interna se mantuvo por debajo de -55 °C. La temperatura interna fue <-60 °C para la mayoría de la adición, el tiempo total de adición fue de aproximadamente 1 h. La finalización de la reacción se controló mediante análisis de HPLC. La reacción se detuvo mediante la adición de NH₃/MeOH (7N NH₃ en MeOH, 8 g) y se retiró el baño frío. Después de calentarse la temperatura interna a -20 °C, el análisis por HPLC mostró un consumo completo del exceso de N-fluorobencenosulfonimida. La temperatura interna se ajustó a 0 °C. Se añadieron heptanos (342 g) y la solución se agitó durante 10 minutos. Si es necesario, la temperatura se ajustó a 20-25 °C. La suspensión se filtró y los sólidos se enjuagaron con una mezcla de THF/heptanos dos veces (para cada enjuague: THF, 89,0 g; heptanos: 205 g). El filtrado se almacenó a 5 °C (2-8

°C) durante aprox. 20 horas. La solución se filtró luego en un matraz y se concentró a 2,5-3,0 volúmenes a vacío a una temperatura interna máxima de 35 °C. Se cargó CH₂Cl₂ (1.500 g) y la suspensión se agitó a reflujo (aprox. 40 °C) durante 30 minutos. Después de ajustar la temperatura interna a 20-25 °C, la suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite y la torta del filtro se enjuagó con DCM (400 g, 4,0 wt equiv). El filtrado se concentró hasta aproximadamente 3,0 volúmenes a vacío. Se añadió metanol (600 g) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 4,0 volúmenes, se añadió metanol adicional (300 g) y la mezcla se concentró nuevamente hasta aproximadamente 4,0 volúmenes (300 volúmenes). La suspensión se filtró y se enjuagó con metanol dos veces (para cada enjuague, 100 g). El producto 21 se secó al vacío produciendo 90 g (82% de rendimiento, 97-98% de pureza AN por HPLC) del producto como un sólido blanquecino a amarillo pálido. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 7,94 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 8,0 Hz, 1H). ¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -111,0 (s, 2F).

C. Síntesis del Intermedio 22

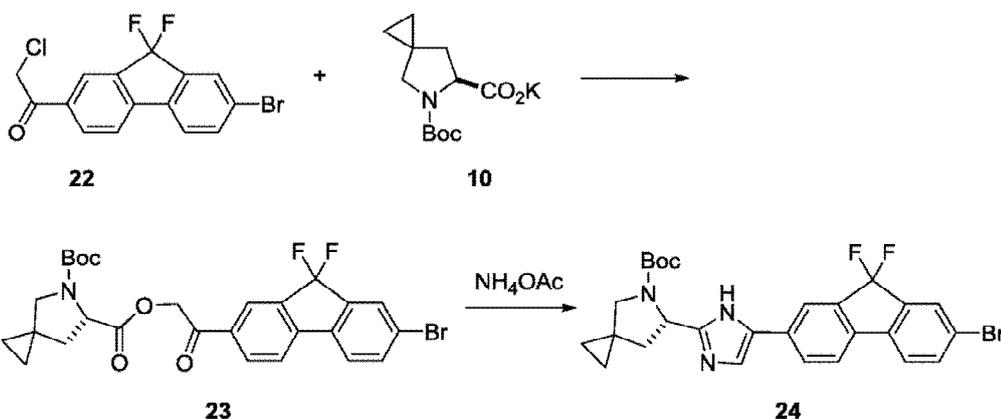
[0113]



[0114] Se cargó un matraz de 3 bocas con **21** (100 g) y THF (800 mL). La solución se desgasificó tres veces aplicando lentamente el vacío, seguido de la ruptura del vacío con nitrógeno. La solución se enfrió a una temperatura interna de -10°C. Se añadió lentamente una solución de 2N *i*-PrMgCl en THF (125 g, 1,04 moles equivalente) mientras que se mantenía la temperatura interna de -10 °C a 0 °C. La mezcla resultante se agitó luego durante 30 minutos a -10°C hasta que se completó la reacción. Se disolvió 2-cloro-N-metoxi-N-metilacetamida (40,6 g, 1,20 moles de equivocación) en MTBE (122 g, 1,22 wt de equivocación) y se filtró a través de un filtro de 1 mm. La solución de MTBE de la acetamida se añadió luego lentamente al matraz manteniendo la temperatura interna de -10 °C a 0 °C. Una vez completada la adición, la temperatura interna se ajustó a 0°C y se agitó durante 2 horas. Una vez completada la reacción, se añadió lentamente 1N HCl (750 g) de modo que la temperatura interna no excediera los 20 °C. Si es necesario, la temperatura interna se ajustó a 20 °C. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con MTBE (410 g). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre MgSO₄. El MgSO₄ se separó por filtración y se enjuagó con THF (200 g). El filtrado y el enjuague se concentraron a vacío 10 volúmenes (1000 mL). Se añadió isopropanol (785 g) y comenzaron a formarse pequeñas cantidades de cristales. Esta suspensión se concentró de nuevo a vacío hasta 10 volúmenes (1.000 mL). Se añadió una vez más isopropanol (785 g) y la suspensión se concentró a vacío hasta 10 volúmenes (1.000 mL). La temperatura interna se ajustó a 20-25 °C y se agitó durante aprox. 30 minutos. La suspensión se filtró y se enjuagó con isopropanol (100 g), luego se secó al vacío para proporcionar 62,28 g (70,8%, 98% de pureza por HPLC) del producto 22 en forma de un sólido blanquecino a amarillo pálido. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 8,19 (s, 1H), 8,12 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,67 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,52 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,71 (s, 2H). ¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -111,4 (s, 2F).

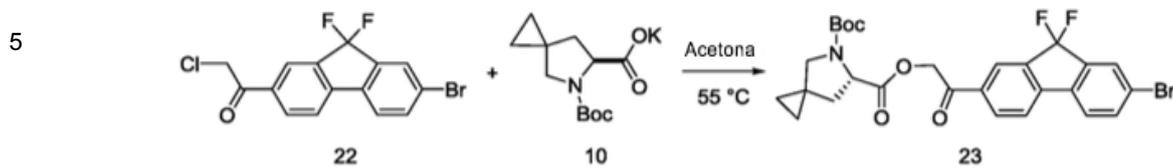
III. Síntesis del Intermedio 24

[0115]



A. Preparación de 23

[0116]



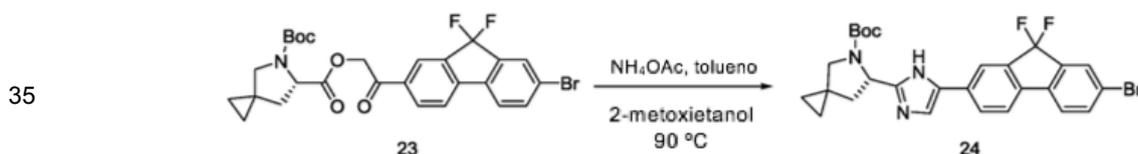
[0117] El compuesto **22** (10.8 g, 1,05 eq) y el compuesto **10** (8,0 g, 1,0 eq) se disolvieron en acetona (106 mL). La mezcla heterogénea se calentó a 55°C y se envejeció hasta que la reacción se consideró completa según se determinó mediante análisis de HPLC. Se añadió agua (22 mL) lentamente y la solución se mantuvo a 55 °C durante 15 30 minutos. La solución se enfrió a 50°C y se añadieron cristales de siembra de **23**. Se añadió lentamente otra porción de agua (11 mL). La solución se envejeció a 50 °C durante 1 h y luego se enfrió a 20 °C (15-25 °C) durante un período de 2 horas. La suspensión se filtró a 20°C (15-25°C) y la torta del filtro se lavó con una mezcla de acetona (18 mL) y agua (6 mL). El producto se secó para dar **23** como un sólido amarillo (12,8 g, 95%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, mezcla de rotámetros,): 8,13 (s, 1H), 8,07 - 7,97 (m, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,67 - 7,56 (m, 2H), 7,53 - 7,44 (m, 1H), 5,61 (d, J = 16,3 Hz, 0,5H), 5,47 (d, J = 16,2 Hz, 0,5H), 5,29 (d, J = 16,2 Hz, 0,5H), 5,15 (d, J = 16,3 Hz, 0,5H), 4,62 (dd, J = 8,7, 3,5 Hz, 0,5H), 4,55 (dd, J = 8,7, 4,0 Hz, 0,5H), 3,48 - 3,28 (m, 2H), 2,43 - 2,35 (m, 1H), 2,17 - 2,07 (m, 1H), 1,48 (s, 9H) 0,77 - 0,55 (m, 4H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 190,8, 190,3, 172,2, 172,0, 154,4, 153,7, 143,7 - 143,4 (m), 140,3 (t, J = 25,9 Hz), 138,2 (t, J = 25,4 Hz), 136,9 - 136,5 (m), 135,5, 135,4, 134,7, 134,6, 132,4, 127,7, 124,2, 124,1, 123,2, 123,2, 122,7, 121,6 (t, J = 244 Hz), 120,8, 120,8, 80,1, 80,0, 66,0, 65,9, 59,4, 59,0, 54,3, 53,7, 38,9, 38,0, 28,4, 28,3, 20,7, 20,0, 12,9, 12,3, 8,8, 8,3. ¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -111,41 (s), -111,43 (s).

20

25

B. Formación de imidazol **24**

[0118]



[0119] En el compuesto **23** (7,0 g) y acetato de amonio (4,8 g, 5,0 eq) se añadieron tolueno (62 mL) y 2-metoxietanol (3,5 mL). La mezcla heterogénea/bifásica se calentó a 90°C y se envejeció hasta que la reacción se consideró completa según se determinó mediante análisis de HPLC. La solución se enfrió a 55 °C y se agitó hasta que se formó una suspensión de **24** (si es necesario, se pueden agregar semillas). Se cargó heptano (104 mL) a 55 °C durante 1 h y luego la suspensión se enfrió a 22 °C durante 3 h. Una vez que la suspensión alcanzó la temperatura ambiente, se envejeció durante 1 h. La suspensión se filtró y se lavó con heptano (15 mL). Los sólidos se disolvieron luego en DMAc (42 mL). La solución se calentó a 45°C y se cargó agua (7 mL) en la solución. La temperatura de la solución se aumentó a 50 °C y se cargaron cristales de siembra de **24**. La suspensión se envejeció durante 30 minutos y luego se cargó una segunda porción de agua (9,1 mL) durante 1 hora. Al finalizar, la suspensión se enfrió a 22°C durante 3 h y se envejeció a temperatura ambiente durante 1 h. Los sólidos se filtraron y se lavaron con una solución de DMAc (5 mL) y agua (2 mL). Se aplicó un lavado final de heptano (23 mL) para desplazar el DMAc y el agua. Los sólidos se secaron a 45°C en un horno de vacío. El producto final **24** se aisló como un sólido marrón (5,2 g, 77%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO, mezcla de rotámetros,): 12,31 - 11,78 (m, 1H), 8,15 - 8,03 (m, 1H), 8,02 - 7,84 (m, 2H), 7,84 - 7,43 (m, 4H), 5,04 - 4,84 (m, 1H), 3,62 - 3,21 (m, 2H), 2,42 - 2,09 (m, 1H), 2,08 - 1,78 (m, 1H), 1,40 (s, 4H), 1,17 (s, 5H), 0,75 - 0,31 (m, 4H); ¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -103,85 (s), -104,03 (s). MS-ESI +: [M+H]⁺ calculado para C₂₇H₂₇BrF₂N₃O₂, 542,1, 544,1; encontrado, 542,1, 544,1.

40

45

50

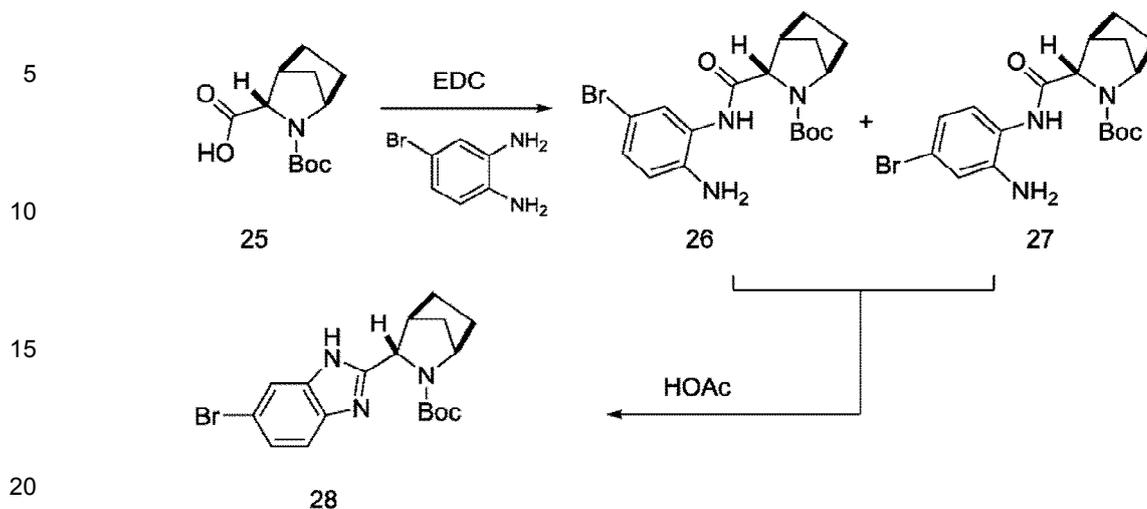
55

IV. Síntesis del Intermedio **28**

[0120]

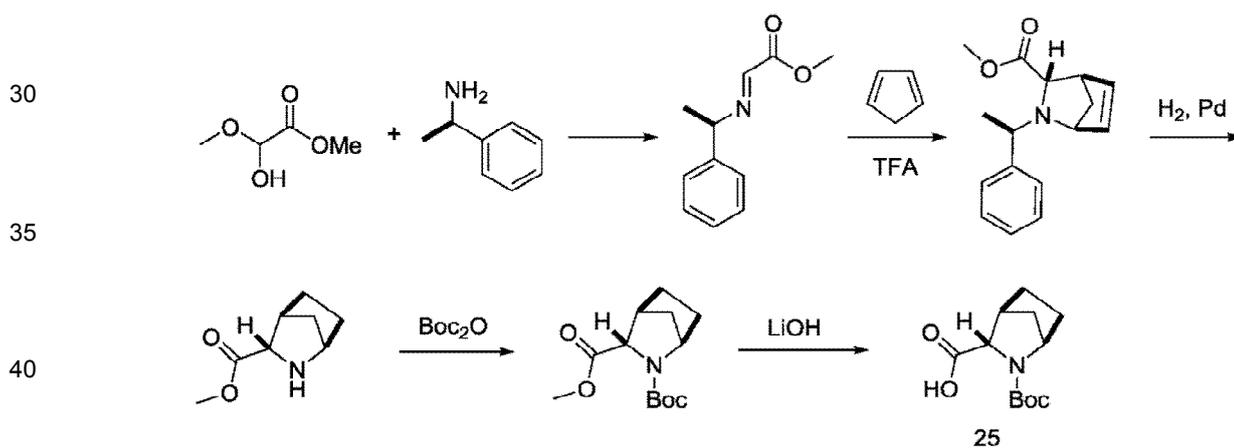
60

65



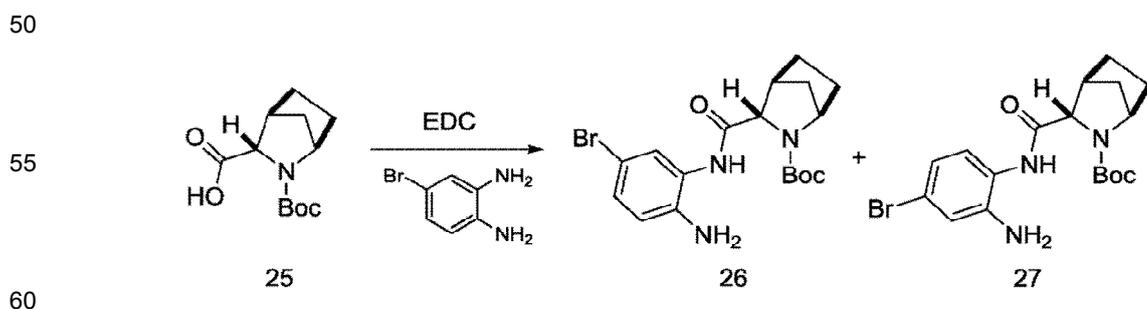
A. Síntesis de 25

[0121]



B. Síntesis de 26 y 27

[0122]



[0123] En un matraz se cargaron **25** (20,00 g, 0,083 mol), 4-bromo-1,2-benzenodiamina (16,74 g, 0,089 mol, 1,08 equiv.), hidroxibenzotriazol (HOBT) (13,96 g, 0,091 mol, 1,1 equiv.), y 1-etilo-3-(3-dimetilaminopropilo) carbodiimida HCl (EDC-HCl) (17,48 g, 0,091 mol, 1,1 equiv.). El matraz se enfrió en un baño de hielo y se cargó con N,N-dimetilacetamida (DMAC, 80 mL). La reacción se dejó enfriar a ca. 10 °C con agitación. Se añadió N-metilmorfolina (NMM) (27,34 mL, 0,249 mol, 3 equiv.) Durante 5 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de 20 °C.

65

La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se añadió a MTBE (200 mL) y agua (600 mL) en un embudo de decantación y se agitó suavemente. Las capas se dejaron separar y la capa acuosa se retiró. La capa acuosa se extrajo dos veces con MTBE (50 mL) y los extractos orgánicos se combinaron. Los extractos orgánicos combinados se extrajeron luego con agua (500 mL), formando una mezcla que no se separó bien. La mezcla se filtró sobre un soporte sólido apropiado y las capas se separaron. La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo resultante se disolvió en éter de diisopropilo (100 mL). La solución se enfrió a ca. 5 °C con agitación. Se añadió lentamente ácido acético (5,22 mL, 0,091 mol, 1,1 equiv.) manteniendo la temperatura interna por debajo de 10 °C, y la suspensión resultante se agitó 2 h a 5 °C. La suspensión espesa se filtró luego, y el sólido se enjuagó con éter de diisopropilo (100 mL), seguido de heptano (100 mL). La torta se secó al vacío para dar el producto en forma de un sólido de color beige claro como una mezcla de regioisómeros **26** y **27** (28,19 g, 72%, >99% AN). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) mezcla de **26** y **27** (los datos son para los dos rotámeros del regioisómero principal): δ 9,25 (s, 0,5H), 9,13 (s, 0,5H), 7,08 (d, J = 8,3) Hz, 0,5H); 7,06 (d, J = 8,2 Hz, 0,5H), 6,92 (d, J = 2,2 Hz, 0,5H), 6,89 (d, J = 2,1 Hz, 0,5H), 6,71 (dd, J = 8,4, 2,2, 0,5 H), 6,66 (dd, J = 8,4, 2,2, 0,5H), 5,10 (br s, 1H), 5,05 (br s, 1H), 4,15 (br s, 0,5H), 4,10 (br s, 0,5H), 3,76 (s, 1H), 2,64 (br s, 1H), 1,96-1,88 (m, 1H), 1,77-1,67 (m, 1H), 1,67-1,19 (m, 4H), 1,41 (s, 4,5H), 1,33 (s, 4,5H). MS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₅BrO₃N₃, 410,1, 412,1; encontrado, 410,0, 412,0.

C. Síntesis del intermedio **28**

[0124] En un reactor se cargó la mezcla **26/27** (50,0 g, 0,106 mol). Se cargó MTBE (200 mL, 4 V) y a la suspensión se le añadió ácido acético glacial (30,4 mL, 0,532 mol, 5 equiv.). La mezcla se calentó a 55°C dando como resultado una solución homogénea de color marrón, y se agitó a esta temperatura durante 18 h. Una vez completada la reacción según se determinó mediante HPLC, la solución se enfrió a aprox. 10 °C y luego se detuvo con KOH acuoso (35 g en 200 ml de H₂O) manteniendo la temperatura interna por debajo de 20 °C. La mezcla bifásica se agitó vigorosamente durante 15 min. La agitación se detuvo y las capas se dejaron separar. La capa acuosa se drenó y se extrajo de nuevo con MTBE (50 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se cargó H₂O (300 mL) y la mezcla bifásica se agitó vigorosamente durante 15 minutos. La agitación se detuvo y las capas se dejaron separar. La capa acuosa se drenó y la capa orgánica de color canela se filtró con pulimento. El disolvente se destiló a un volumen de ca. 50 mL. Se añadió éter de diisopropilo (IPE, 150 mL) mientras que se mantenía la temperatura interna por encima de 48 °C y la solución se destiló a un volumen total de aprox. 80 mL. Se añadió nuevamente IPE (150 mL) y la solución se destiló a ca. 120 mL. Este proceso se continuó hasta que el disolvente fue principalmente éter de diisopropilo, según lo indicado por una temperatura interna durante la destilación de aproximadamente 69 °C o según lo determinado por ¹H RMN. El volumen total se ajustó entonces a ca. 120 mL, y la solución se dejó enfriar lentamente (10 °C/h) durante la noche a 0 °C dando como resultado la formación de suspensión. La suspensión se filtró y se enjuagó con IPE frío (100 mL). Los sólidos se recogieron y se secaron en un horno de vacío para dar **28** (39,23 g, 94% de rendimiento, >99,5% de AN). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, δ): 10,70 (s, 1H), 7,86 (s, 0,5H), 7,58 (d, J = 8,6 Hz, 0,5H), 7,54 (s, 0,5H), 7,30 (d, 8,3Hz, 1H), 7,25 (d, J = 8,0 Hz, 0,5H), 4,52 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,43 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 2,03 - 1,94 (m, 1H), 1,93 - 1,81 (m, 1H), 1,80 - 1,55 (m, 4H), 1,52 (s, 9H). MS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₃BrO₂N₃, 392,1, 394,1; encontrado, 392,1, 393,9.

V. Síntesis del Compuesto I amorfo del Intermedio **28**

A. Formación del Compuesto **29**

1a. Acoplamiento de compuestos **28 y **24**.**

[0125]

65

5

10

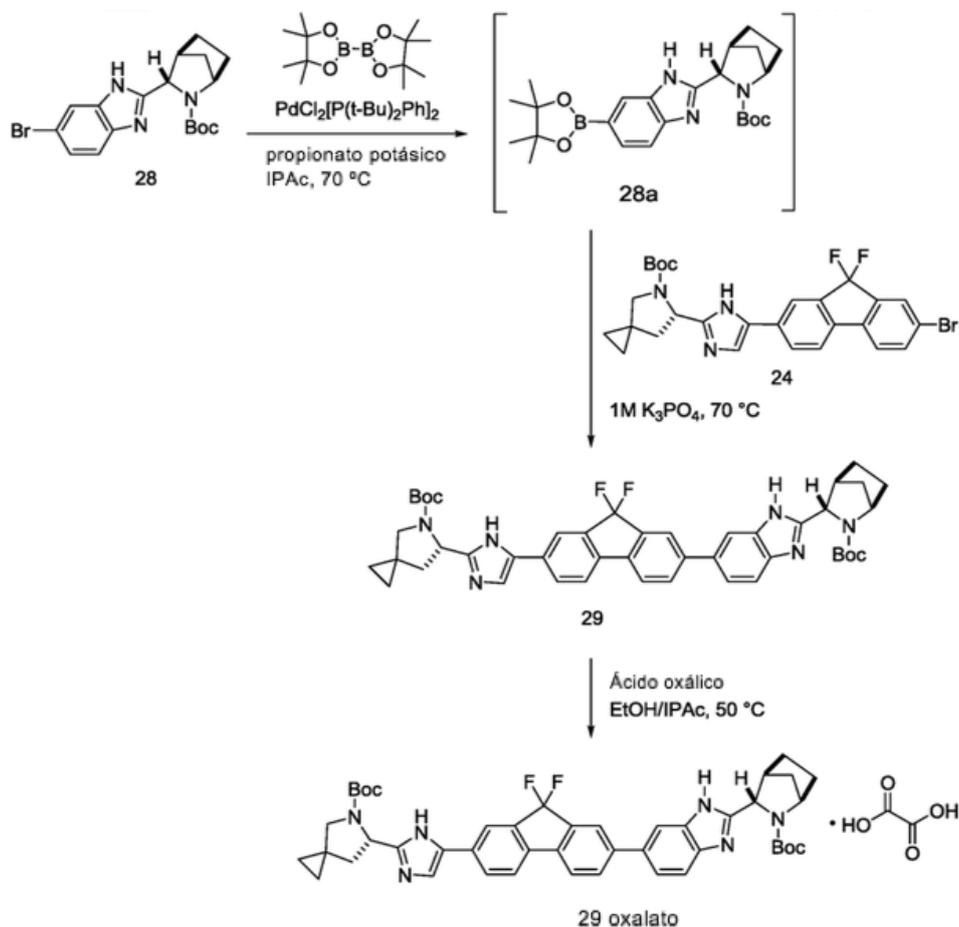
15

20

25

30

35



40

45

50

55

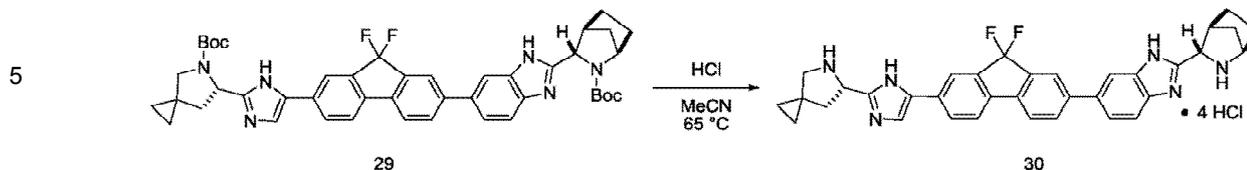
60

[0126] El Compuesto **28** (24,98 g), bis(pinacolato)diboron (19,40 g), propionato de potasio (21,40 g) y PdCl₂[P(t-Bu)₂Ph]₂ (2,04 g) se cargaron en un reactor, y el reactor estaba inerte. Se cargó acetato de isopropilo (250 mL), se inició la agitación y se volvió a inertar el reactor. La mezcla de reacción se calentó a 75°C y se agitó durante 3,5 h. Después de enfriarse a 25°C, se cargó el compuesto **24** (29,31 g) a la mezcla de reacción, y se volvió inerte el reactor. Se cargó 1 M K₃PO₄ acuoso desgasificado (223 mL) al reactor, y la mezcla de reacción se calentó a 75°C. La mezcla de reacción se mantuvo a esta temperatura durante 1 h y luego se enfrió a 35-40 °C. Se cargó N-acetilo-L-cisteína (6,27 g) y la mezcla se agitó a 35-40 °C durante 15 h. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C, se detuvo la agitación y las capas se dejaron dividir. Las fases se separaron y se cargó N-acetilo-L-cisteína (6,27 g) en la capa orgánica. La mezcla de reacción se calentó a 45-50°C. Después de agitarse la mezcla a 45-50°C durante 2 h, la reacción se enfrió a 20°C y se añadió NaOH acuoso al 5% (250 mL). Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con NaCl acuoso al 5% (125 mL). La fase orgánica se trató luego con NaCl acuoso al 5% (125 mL) y se transfirió a un embudo de decantación mediante filtración a través de papel de filtro. Las capas estaban separadas. La fase orgánica se transfirió a un reactor y se concentró hasta aproximadamente 160 mL por destilación al vacío. Se cargó iPrOAc (20 mL) para llevar el volumen final a aprox. 180 mL. Se cargó etanol (100 mL) y los contenidos se calentaron a aproximadamente 50 °C. Luego se cargó una solución de ácido oxálico (9,3 g) en etanol (40 mL) a la mezcla. La solución se sembró con oxalato 29 (200 mg) y se envejeció a 50°C durante 72 h. Se cargó acetato de isopropilo (240 mL) durante 5 h, y la suspensión se enfrió a 15°C durante 4 h y se agitó a esta temperatura durante 20 h. El producto se recogió por filtración, se lavó con una solución de etanol en acetato de isopropilo (48 mL de EtOH, 191 mL de iPrAc) y se secó al vacío a 45 °C para proporcionar oxalato 29 en forma de un sólido blanquecino (41,46 g, 81% de rendimiento). ¹H RMN (400 MH, DMSO-d₆,) 11,80 (br s, 4H), 8,11 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 8,00 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,90 (s, 2H), 7,87, (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,60 (dd, J = 8,4, 1,2 Hz, 1H), 7,56 (dd, J = 7,6, 1,6 Hz, 1H), 5,03 (m, 0,5H), 4,99 (m, 0,5H), 4,52 (s, 0,5H), 4,50 (s, 0,5H), 4,28 (br s, 0,5H), 4,19 (br s, 0,5H), 3,48 (m, 1H), 3,34 (m, 1H), 2,66 (br d, J = 12,7 Hz, 1H), 2,38 (m, 0,5H), 2,26 (m, 0,5H), 2,04 (m, 1H), 1,96 (m, 0,5H), 1,86 (d, J = 11,6 Hz, 0,5H), 1,77 (m, 1H), 1,70 (m, 1H), 1,64 (2H, m), 1,43 (s, 6H) 1,41 (s, 3H), 1,35 (m, 1H), 1,19 (s, 5H), 1,14 (s, 4H), 0,65 (m, 2H) 0,54 (m, 1H), 0,42 (m, 1H). HRMS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₄₅H₄₉O₄N₆F₂, 775,3778; encontrado, 775,3773.

65

B. Desprotección de Bis-Boc del Compuesto 29

[0127]



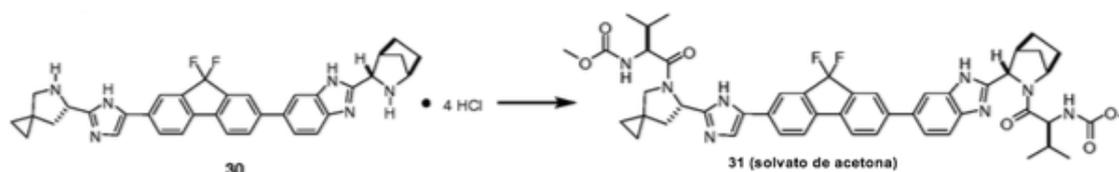
10
15
20
25

[0128] A una solución de **29** (92,5 g, 119 mmol) en MeCN (324 mL) a 65 °C se cargó una solución acuosa de HCl 1,5 N (398 mL, 5,0 moles equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 2 horas a 65°C y se controló para completarla mediante análisis de HPLC. Tras determinar el consumo de material de partida, la temperatura de la mezcla de reacción se ajustó a 45 °C. Se cargó acetonitrilo (648 mL) a lo largo de un ciclo de ≥ 30 minutos para mantener una temperatura interna de 40-50 °C. Una vez completada esta adición de antisolvente, se cargaron cristales seminales de sal de clorhidrato (0,103 g). La suspensión se envejeció a 45 °C durante ≥ 1 h. Se cargó MeCN adicional (1.480 mL) a lo largo de un curso de ≥ 30 min para mantener una temperatura interna de 40-50 °C. La suspensión se enfrió a 20 °C durante ≥ 2 h y luego se filtró. La torta húmeda se secó para proporcionar 84,6 g de **30** (como su sal tetra-HCl, que también incluye $\sim 6\%$ de contenido de H₂O, 80,4% de rendimiento). El contenido típico de agua varía de aproximadamente 4 a aproximadamente 13%. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 10,83 (br s, 2H), 10,44 (br s, 2H), 10,33 (br s, 1H), 9,33 (br s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,26 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,01 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,98 (dd, J = 8,0, 1,2 Hz, 1H), 7,79 (dd, J = 8,4, 0,4 Hz, 1H), 7,75 (dd, J = 8,4, 1,2 Hz, 1H), 5,29 (dd, J = 8,0, 7,6 Hz, 1H), 4,82 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,19 (s, 1H), 3,65 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 3,14 (s, 1H), 3,12 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 2,85 (dd, J = 13,2, 9,6 Hz, 1H), 2,23 (dd, J = 12,8, 7,6 Hz, 1H), 2,11 (m, 1H), 1,99 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,76 (m, 1H), 1,71 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 1,67 (m, 1H), 0,84 (m, 2H), 0,70 (m, 2H). HRMS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₃₅H₃₃N₆F₂, 575,2729; encontrado, 575,2729.

30
[0129] El compuesto **30** se aisló como un sólido cristalino a partir de una mezcla de CH₃CN y HCl. ac.

C. Acoplamiento de amida

[0130]



45
50
55
60
65

[0131] EDC-HCl (4,39 g), HOBt (2,06 g), Moc-valina (4-(1-metiletilo)-2,5-dioxo-, metoxicarbonilo) (4,02 g) y DMF (50 mL) fueron cargados a un matraz. La mezcla de reacción se agitó durante 20 min a 23°C. La solución se enfrió luego a 0°C. Se cargaron sal de 30-HCl (5,0 g) y N-metilmorfolina (5,03 mL) a la mezcla de reacción. Los contenidos se calentaron a temperatura ambiente y se agitaron durante 4 horas a 23°C. Se añadió agua (2,5 mL) a la mezcla de reacción y los contenidos se agitaron durante 15 horas a 23°C. Se agregaron EtOAc (70 mL) y agua (100 mL) y se separaron las capas. A la capa orgánica se le añadió EtOAc (50 mL) y agua (50 mL), las capas se mezclaron y luego se separaron. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ al 5% (50 mL) y agua (2 x 25 mL). La capa orgánica se destiló luego a 2,5 volúmenes (12,5 mL) y se enfrió a 23°C. Se añadió acetona (70 mL) a la capa orgánica. Los contenidos de la reacción se sembraron con el compuesto **31** (solvato de acetona) y se agitaron durante 15 horas. Los contenidos se filtraron, la torta húmeda se lavó con acetona (5 mL) y la torta se secó para proporcionar 4,78 g de **31** como solvato de acetona (73%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 12,29 (s, 0,1H), 12,19 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 12,14 (s, 0,2H), 11,85 (s, 1H), 8,10 (s, 0,1H), 8,08 (s, 1H), 8,01 (s, 0,1H), 7,963 (m, 1H), 7,955 (s, 1H), 7,89 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,83 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,79 (dd, J = 7,2, 2,8 Hz, 1H), 7,78-7,90 (misc, 0,9H), 7,70 (s, 1H), 7,61 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,51 (dd, J = 8,8, 1,6 Hz, 1H), 7,44 (m, 0,1H), 7,31 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,0 Hz, 0,2H), 6,77 (m, 0,2H), 5,34 (d, J = 7,6 Hz, 0,1H), 5,20 (dd, J = 8,0, 5,2 Hz, 1H), 5,18 (m, 0,1H), 4,88 (s, 0,1H), 4,67 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,55 (s, 1H), 4,17 (dd, J = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 4,10 (m, 0,2H), 4,01 (dd, J = 8,4, 8,0 Hz, 1H), 3,97 (m, 0,1H), 3,82 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,77 (s, 0,2H), 3,71 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,554 (s, 3H), 3,548 (s, 3H), 3,43 (s, 0,4H), 3,20 (d, J = 7,6 Hz, 0,3H), 2,77 (s, 0,1H), 2,66 (s, 1H), 2,41 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 2,22 (dd, J = 12,4, 8,0 Hz, 1H), 2,13 (m, 0,4H), 2,08 (s, 6H), 2,05 (dd, J = 13,2, 5,2 Hz, 1H), 1,99 (m, 2H), 1,92 (m, 1H), 1,77 (m, 2H), 1,61 (m, 0,3H), 1,56 (m, 1H), 1,46 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 10,0 Hz, 0,1H), 0,97 (dd, J = 6,4, 2,0 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,87 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,80-1,05 (misc, 2H), 0,70 (m, 1H), 0,59 (m, 2H), 0,54 (m, 1H), 0,33 (m, 0,1H). HRMS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₅₅O₆N₈F₂, 889,4207; encontrado, 889,4205.

C. Aislamiento del Compuesto I amorfo

[0132] El solvato de acetona del Compuesto I, Compuesto 31 (191,4 g), se combinó con acetonitrilo (1.356 g) en un recipiente de reacción y se mezcló hasta que se formó una solución. Esta solución se añadió lentamente a otro recipiente de reacción que contenía agua agitada vigorosamente (7.870 g). La mezcla de reacción combinada se agitó a aproximadamente 23°C durante aproximadamente 30 minutos. Después, el sólido se filtró y se secó a aproximadamente 40-45°C para proporcionar el Compuesto I amorfo (146,4 g, 82% de rendimiento).

Ejemplo 8: Formulaciones de D-tartrato de compuesto I

[0133] Los comprimidos que contenían 10 mg de D-tartrato de compuesto I se prepararon usando el proceso de granulación en seco como se ha indicado abajo.

Proceso de granulación en seco

[0134] Un aspecto crítico importante del proceso fue una etapa de molienda cónica de alta velocidad, que fue necesaria para dispersar aglomerados pequeños pero relativamente duros del D-tartrato de Compuesto I. El procedimiento de molienda también se empleó para mantener una uniformidad aceptable del contenido de la mezcla y la tableta dada la carga relativamente baja de fármaco de las tabletas. Además, las tabletas de 10 mg de D-tartrato de compuesto I se recubrieron con película con Opadry White YS-1-18202A a base de hipromelosa y sus composiciones se presentan en la Tabla 28.

Tabla 28. Composición cuantitativa de comprimidos de D-tartrato de compuesto 10 mg

Ingrediente	10 mg Tableta	
	% p/p	Formula de unidad (mg/tableta)
Compuesto ID-tartrato	0,40-8,0	11,7
Monohidrato de lactosa	50,0-75,0	129,3
Celulosa microcristalina	0,0-35,0	50,0
Sodio de croscarmelosa	0,0-5,0	6,0
Estearato de magnesio	0,0-2,0	3,0
Peso total del núcleo de tableta	100,0	200,0
Opadry blanco YS-1-18202-A	5,0	10
Peso total de la tableta recubierta	210,0	

[0135] Los comprimidos que contenían 10 mg de D-tartrato de compuesto I con una composición diferente a la descrita en la Tabla 28 y los comprimidos que contenían 30 mg de D-tartrato de Compuesto I se prepararon usando el proceso de granulación en seco descrito anteriormente. Sus composiciones se presentan en la tabla 29.

Tabla 29. Composición cuantitativa de comprimidos de D-tartrato de 10 mg y 30 mg del Compuesto I

Ingrediente	10 mg Tableta		30 mg Tableta	
	% p/p	Fórmula de unidad (mg/tableta)	% p/p	Fórmula de unidad (mg/tableta)
Sal de D-tartrato de compuesto I	0,40-8,0	11,7	0,40-8,0	35,1
Monohidrato de lactosa	50,0-75,0	408,3	50,0-75,0	384,9
Celulosa microcristalina	0,0-35,0	150,0	0,0-35,0	150,0
Sodio de croscarmelosa	0,0-5,0	18,0	0,0-5,0	18,0
Estearato de magnesio	0,0-2,0	12,0	0,0-2,0	12,0
Peso total del núcleo de tableta	100,0	600,0	100,0	600,0
Opadry blanco YS-1-18202-A	5,00	30,0	5,00	30,0
Peso total de la tableta recubierta	630,0		630,0	

secado en un horno de vacío a 50 °C, confirmando que la pérdida de peso fue causada por la pérdida de agua. Se cree que la fuente de agua es la humedad en el aire durante la transferencia de material. Una prueba de suspensión en agua mostró que la Forma VIII es estable en agua. Los datos de DVS mostraron que la Forma VIII absorbe aproximadamente un equivalente de agua, lo que sugiere que la Forma VIII existe como un monohidrato en agua. Por lo tanto, una ventaja de la Forma VIII es que puede obtenerse desolvatando la forma VII a una temperatura más baja, incluso a temperatura ambiente en condiciones de vacío.

D. Forma IX

[0136] La Forma IX del Compuesto I es una forma de solvato que se obtiene en formato de etilo. El difractograma XRPD se muestra en la Figura 22; Tabla 17 a continuación tabula los picos e intensidades relativas de XRPD.

Tabla 17. Picos e intensidades relativas de XRPD para la Forma IX del Compuesto I

Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
8,2	21,7
9,4	13,3
11,0	37,4
12,6	12,5
13,8	100,0
16,1	17,2
17,1	50,8
17,7	13,7
18,4	18,7
19,2	54,5
19,6	15,1
20,4	21,5
21,9	98,4
24,7	20,1

[0137] Los datos TGA muestran que la Forma IX pierde un 5,9% de masa antes de fundirse; la curva DSC se muestra en la Figura 23. XRPD (Figura 27) muestra que esta forma se disuelve para convertirse en la Forma VIII.

E. Formas X y XIV

[0138] La Forma X del Compuesto I es un solvato de acetonitrilo y la Forma XIV es un solvato de MTBE. Las formas X y XIV exhiben patrones XRPD muy similares, como se muestra en las Figuras 24 y 31, respectivamente. Los datos TGA para estas formas, sin embargo, son bastante diferentes. Al secarse, la Forma X se convirtió en la Forma XV, una forma anhidra del Compuesto I como se describe más detalladamente a continuación, y la Forma XIV se convirtió en la Forma VIII como se describió anteriormente. Las tablas 18 y 19 a continuación tabulan los picos e intensidades relativas de XRPD para las Formas X y XIV, respectivamente.

Tabla 18. Picos e intensidades relativas de XRPD para el Compuesto I Forma X

Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
3,4	7,8
6,9	100,0
10,3	46,5
11,2	3,6
20,0	5,6
22,4	7,3

Tabla 19. Picos e intensidades relativas de XRPD para el Compuesto I Forma XIV

	Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
5	3,4	10,8
	6,9	100,0
	10,3	40,6
	11,2	9,4
10	12,3	5,3
	12,6	3,9
	12,9	4,1
	14,2	3,2
15	17,3	4,2
	20,1	11,6
	21,3	4,1
	22,4	11,7
20	24,1	6,1

F. Formas XI, XII y XIII

25 **[0139]** La forma XI es un solvato de THF y la forma XII es un solvato de MEK. Las dos formas tienen patrones XRPD muy similares, como se muestra en las Figuras 24 y 25, respectivamente. Las tablas 20 y 21 a continuación tabulan los picos e intensidades relativas de XRPD para las Formas XI y XII, respectivamente.

Tabla 20. Picos e intensidades relativas de XRPD para la Forma XI del Compuesto I

	Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
30	3,2	66,2
	6,3	100,0
35	9,5	78,4
	11,8	9,1
	12,3	15,9
	12,9	6,4
40	14,7	7,2
	15,4	14,7
	16,1	9,2
	18,2	12,7
45	19,1	25,8
	20,3	17,5
	20,6	26,7
	21,0	14,2
50	22,5	32,8
	23,2	16,9
	24,7	14,6

55

60

65

Tabla 21. Picos e intensidades relativas de XRPD para la Forma XII del Compuesto I

Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
3,2	88,9
6,4	100,0
8,6	29,0
9,6	47,5
12,2	35,6
18,1	40,8
18,4	22,1
19,3	33,5
19,7	32,5
20,6	84,3
21,0	32,5
22,5	47,2

[0140] Al secarse en un horno de vacío a temperatura ambiente, las Formas XI y XII perdieron parcialmente sus disolventes y se convirtieron en la Forma XIII-THF y la Forma XIII-MEK, respectivamente. El análisis de RMN de muestras secadas en horno de vacío de la Forma XIII-THF y la Forma XIII-MEK mostró la existencia de disolventes en estas formas, ~0,9 y ~1,1 molar equivalente, respectivamente. Además, las curvas DSC para la Forma XIII-THF y la Forma XIII-MEK son diferentes, como se muestra en las Figuras 28 y 30, respectivamente. Por lo tanto, se concluyó que las Formas XIII-THF y XIII-MEK son solvatos parciales de THF y MEK, respectivamente. Los análisis de XRPD demostraron que los solvatos parciales de THF y MEK son idénticos, como se muestra en las Figuras 27 y 29, respectivamente. Los picos e intensidades relativas de XRPD para las Formas XIII-THF y XIII-MEK se tabulan a continuación en la tabla 22.

Tabla 22. Picos e intensidades relativas de XRPD para las Formas del Compuesto I XIII-THF y XIII-MEK

Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
3,2	44,1
3,5	46,5
7,0	19,0
8,6	36,3
12,1	100,0
19,8	92,9
20,2	69,3
22,6	34,2
24,4	20,7

[0141] Como se mencionó anteriormente, la Forma X del Compuesto I se convirtió en Forma XV después de secarse a temperatura ambiente bajo vacío. La Forma XV es una forma cristalina anhidra y no higroscópica del Compuesto I, como lo demuestran los experimentos TGA y DVS. La Figura 32 muestra el difractograma de XRPD y la Tabla 23 a continuación resume los picos principales y sus intensidades relativas.

Tabla 23. Picos e intensidades relativas de XRPD para el Compuesto I Forma XV

Posición (°2θ)	Intensidad relativa (%)
7,6	34,7
9,1	45,1
10,9	38,4
11,4	27,2
12,1	100,0
12,8	53,0
13,5	19,4
15,1	17,0
16,7	18,2
17,4	22,9
18,0	23,5
19,4	34,4
20,8	70,8
21,3	43,1

[0142] La forma XV exhibe un punto de fusión ligeramente más alto que otras formas de compuesto I descritas en este documento, de acuerdo con los datos de DSC (Figura 38).

Ejemplo 9: Comparación de las Formas I - XV del Compuesto I

[0143] En la Tabla 24 a continuación, los datos de TGA y DSC se compilan para todas las formas cristalinas del Compuesto I como se describe en el presente documento. El punto de fusión de las formas anhidras, III, V, VIII, XIV está en el intervalo de 160-172 °C. Las temperaturas de desolvatación difieren enormemente.

Tabla 24. Comparación de datos térmicos para las Formas I - XV del Compuesto I

Forma	Descripción	Punto de fusión (°C)	Pérdida de peso (%)	Forma desolvatada
I	Solvato de diacetona		12,2% @ 160 °C	II
II	Solvato de monoacetona		7,7% @ 150 °C	III
III	Anhidro	170,7		-
IV	Solvato de EtOAc		15% 100 °C	V
V	Solvato de EtOAc parcial	160,7	2,7 @ 115 °C	amorfa
VI	Solvato IPAc		22,80% @ 135 °C	amorfa
VII	Solvato de MeOAc		8,8 % @ 100 °C	VIII
VIII	Anhidro	164~ 169	1,11% @ 75 °C	-
IX	Solvato de formiato de etilo		7% @ 110 °C	VIII
X	Solvato de ACN		2,9% @ 90 °C, 13% @ 170 °C (ACN)	XV
XI	Solvato de THF	142,3	11,6% at 150 °C (THF)	Forma XIII
XII	Solvato MEK	146	9,7% at 150 °C (MEK)	
XIII	Solvato parcial de THF o MEK			
XIV	Solvato MTBE		5,9% @ 160 °C (MTBE)	VIII
XV	Anhidro	168~ 172		-

[0144] Los datos de microscopía de luz polarizada (PLM) se adquirieron para la mayoría de las formas del Compuesto descrito aquí. Por ejemplo, los datos de PLM para las Formas I, IV, VI, VII, IX, X, XI y XII confirmaron que cada una de las formas existe como un sólido cristalino.

Ejemplo 10: Síntesis del Compuesto I amorfo

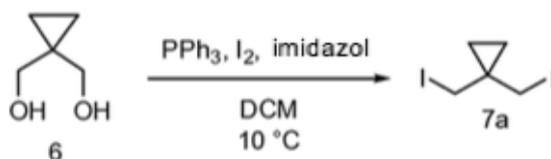
[0145] Los siguientes pasos discuten la síntesis del Compuesto I amorfo. La síntesis del solvato de acetona del Compuesto I también se describe en la Solicitud de EE.UU. N° de serie 61/655.935 presentada el 5 de junio de

2012, y en la Solicitud de EE.UU. N° de serie 13/800.202 presentada el 13 de marzo de 2013, las cuales se incorporan aquí por referencia.

I. Síntesis de materiales de partida

A. Yodación del diol **6** para preparar **7a**

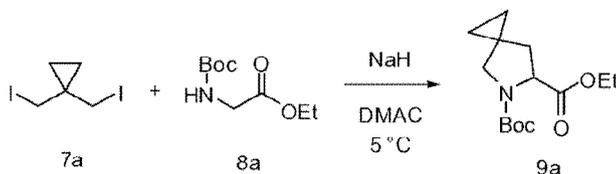
[0146]



[0147] Se cargaron trifenilfosfina (257,2 g) e imidazol (66,7 g) en un reactor. Se cargó DCM (490 mL), se inició la agitación y la solución se enfrió a 0°C. Se añadió yodo (249,2 g) como un sólido en porciones durante 1 h mientras que se mantenía la temperatura interna por debajo de 10 °C. Una vez completada la adición, se cargó lentamente una solución de **6** (50 g) en DCM (113 mL) en el reactor durante 0,5 h mientras que se mantenía la temperatura interna por debajo de 10°C. Después de agitarse durante 2,5 h, se cargó en el reactor una solución acuosa de NaCl (25 g) en agua (225 mL). Después de la separación de fases, la capa orgánica inferior se diluyó con n-heptano (550 mL). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de sulfito de sodio (21 g) en agua (190 mL). Después de la separación de la capa, la fase orgánica se concentró a 600 mL mediante destilación al vacío. Se cargó n-heptano adicional (550 mL) y la mezcla se concentró de nuevo a 600 mL mediante destilación al vacío. La suspensión resultante se filtró sobre un tapón de gel de sílice (85 g) que se había empaquetado en suspensión con n-heptano. El tapón de gel de sílice se enjuagó con n-heptano adicional (1 L) y el filtrado se concentró luego por destilación al vacío para proporcionar el producto deseado **7a** en forma de un líquido incoloro (114 g, 70%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 3,33 (s, 2H), 0,95 (s, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): 19,1, 22,7, 26,0.

B. Alquilación de **8** para preparar **9**

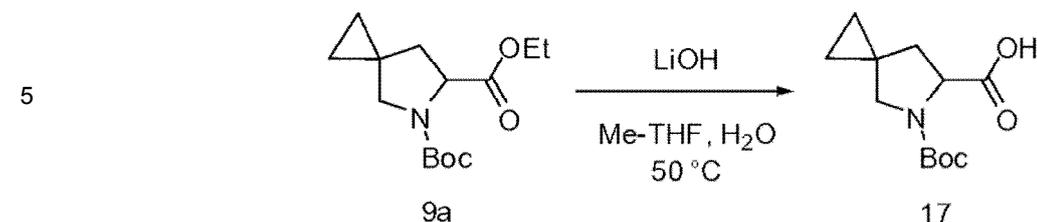
[0148]



[0149] Se cargaron hidruro de sodio (60,0 g, 3 equivalentes, 60% de dispersión en aceite mineral) y dimetilacetamida (600 mL) en un matraz y la temperatura de reacción se redujo a 0-10 °C. El compuesto **7a** (191,6 g, 1 equivalente) se cargó en la solución de NaH una vez que la temperatura interna fue de aproximadamente 5 °C. Se añadió una solución del compuesto **8a** (121,0 g, 1 equivalente) en DMAC (600 mL) durante 3,5 h, manteniendo la temperatura interna entre 0-11 °C. La solución se agitó a 0-10 °C y se tomaron muestras para completar la reacción después de 1 h. La reacción se consideró completa cuando la cantidad restante de **8a** era inferior al 3%. Al finalizar, se añadió lentamente AcOH (50 mL, 1,5 equivalentes) durante 2-3 h mientras que se mantenía la temperatura entre 4-9 °C. La solución se agitó durante 12 h a 0-10°C. Se añadieron MTBE (1.000 mL) y agua (700 mL) a la solución inactivada. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con MTBE (400 mL). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con una solución de NaCl al 15% (1.000 mL), una vez con una solución de bicarbonato de sodio al 5% (900 mL) y una vez con una solución de salmuera (600 mL). La solución de MTBE se concentró a un volumen mínimo. El aceite se volvió a disolver en ACN (400 mL) y se lavó con hexanos (200 mL). Las fases se separaron, la capa de ACN se concentró hasta un volumen mínimo y la capa de hexanos se descartó. El producto **9a** se aisló como un aceite amarillo (98 g, 61%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4,45 (dd, J = 8,5, 3,7 Hz, 0,5H rotámero 1), 4,35 (dd, J = 8,4, 4,4 Hz, 0,5H rotámero 2), 4,27 - 4,11 (m, 2H), 3,44 - 3,29 (m, 2H), 2,26 (ddd, J = 12,7, 8,4, 4,1 Hz, 1H), 1,80 (ddd, J = 23,5, 12,6, 4,0 Hz, 1H), 1,58, 1,48 - 1,40 (m, 9H), 1,32-1,21 (m, 3H), 0,68 - 0,44 (m, 4H).

C. Hidrólisis del éster etílico **9a**

[0150]



15

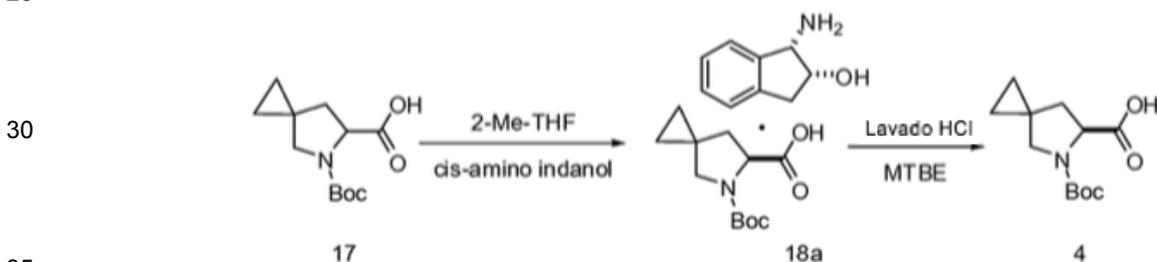
20

[0151] Se agregaron agua (910 mL), hidróxido de litio (284 g, 2,0 eq) y 2-MeTHF (2,0 L) a un matraz equipado con agitación superior, un termómetro interno y una línea de nitrógeno. Se transfirió una solución del compuesto **9a** (911 g) en 2-MeTHF (1,0 L) al matraz que contenía el hidróxido de litio. La reacción se calentó a 50°C hasta que la reacción se consideró completa según se determinó mediante análisis de HPLC. La reacción se enfrió a 22°C y se añadió agua (3,6 L) a la reacción. Las capas se dividieron y la capa acuosa inferior se retuvo mientras que se eliminó la capa orgánica superior. Se añadieron 2-MeTHF (4 L) y HCl concentrado (420 mL) a la capa acuosa. Las capas se separaron y se eliminó la capa acuosa del fondo. La capa orgánica superior se concentró y el producto **17** se aisló como un sólido blanco (596 g, 71%). Los datos de caracterización para **17** son los mismos que para el compuesto **4** descrito anteriormente.

D. Resolución clásica

25

[0152]



40

[0153] El ácido carboxílico racémico **17** (596 g) se disolvió en 2-Me-THF (6 L) y luego la solución homogénea se calentó a 55°C. Se añadió a la reacción (1S, 2R)-indino-indanol (221 g, 0,6 eq) en 3 porciones iguales separadas por 10 minutos. La solución se sembró con sal **18a** (0,6 g) después de haber agregado la primera porción. Después de añadir la última porción de amina, la solución se envejeció a 55 °C durante 1 h. La suspensión se enfrió luego a 22°C a una velocidad de ~15 grados por hora. Una vez que la suspensión alcanzó la temperatura ambiente, se filtró y la torta se lavó una vez con 2-Me-THF (1,2 L). Los sólidos se secaron a 45°C en un horno de vacío durante 24 h. El compuesto **18a** se aisló como un sólido blanco (320 g, 33%).

45

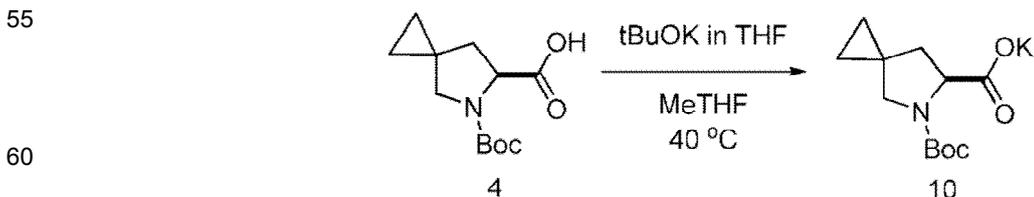
50

[0154] Los sólidos **18a** se disolvieron en MeTHF (1,5 L), se añadió 1M HCl (1,0 L) y la mezcla bifásica se agitó durante 30 minutos hasta que se disolvieron los sólidos. La capa acuosa inferior se eliminó y la capa orgánica se lavó con 1M HCl (1 L) y luego con H₂O (500 mL). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ (250 g cada uno) durante 20 minutos, se filtró y la torta se lavó con MeTHF. Este mismo procedimiento de secado se repitió una segunda vez y luego la solución se concentró hasta obtener un aceite para producir **4** (197 g, 100%).

E. Formación de sal de potasio

55

[0155]



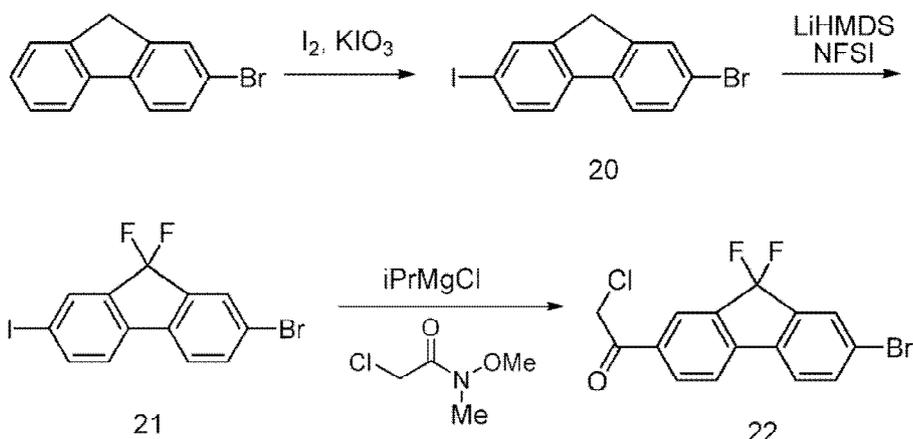
65

[0156] El ácido carboxílico **4** (219 g) se disolvió en 2-MeTHF (880 mL) y luego la solución se calentó a aproximadamente 35°C. Se añadió lentamente una solución de TBuOK 1,0 M en THF (1,05 L) de manera que la temperatura interna no excediera los 40 °C. La suspensión se agitó durante aproximadamente 30 minutos y luego se

enfrió lentamente hasta aproximadamente 20°C durante aproximadamente 2 horas. La suspensión se envejeció a 20°C durante 1 h y luego se filtró. La torta se lavó con 2-MeTHF (715 mL). Los sólidos se secaron en un horno de vacío durante 24 horas a 40°C. El producto final **10** se aisló como un sólido blanco (212 g, 86%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4,07 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 3,44 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,35 (s, 1H), 3,10 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,03 (dd, J = 12,3, 6,9 Hz, 1H), 1,89 (dd, J = 12,3, 8,0 Hz, 1H), 1,38 (s, 9H), 0,71 - 0,27 (m, 4H). ¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO): 3,89 (dd, J = 8,6, 4,1 Hz, 0,4H rotámero 1), 3,85 (dd, J = 8,6, 4,3 Hz, 0,6H rotámero 2), 3,21 - 3,07 (m, 2H), 2,00 - 1,92 (m, 1H), 1,75 - 1,71 (m, 1H) 1,36 (s, 4H rotámero 1), 1,32 (s, 5H rotámero 2), 0,46 - 0,37 (m, 4H). ¹³C RMN (100 MHz, d₆-DMSO) δ 174,5, 174,4, 154,1, 153,4, 77,2, 76,9, 62,3, 62,0, 54,1, 53,8, 38,7, 28,4, 28,3, 20,6, 19,9, 11,8, 11,6, 10,5, 10,2.

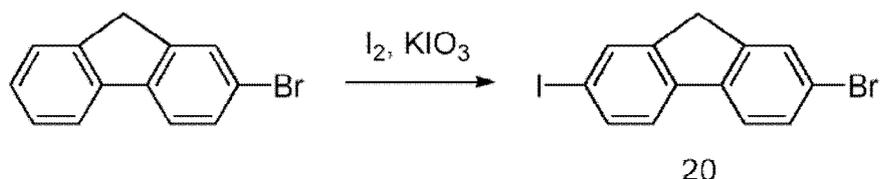
II. Ruta al intermedio 22

[0157]



A. Síntesis del Intermedio 20

[0158]

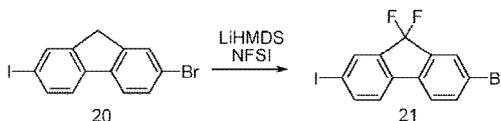


[0159] Un matraz de 3 bocas se cargó con 2-bromofluoreno (100 g) y ácido acético (2100 g). Los contenidos se calentaron a 40-45 °C y se agitaron durante aproximadamente 30 minutos para obtener una solución transparente. Después de ajustar la temperatura interna a 20-30 °C, 20% (v/v) ac. Se añadió H₂SO₄ (200 g, preparado con 64,0 g de H₂SO₄ y 136 g de agua), seguido de I₂ (53,0 g, 0,512 mol equivalente) seguido de KIO₃ (17,5 g, 0,200 mol equivalente). La suspensión se calentó a 58 °C (56-60 °C) durante aproximadamente 4 horas. La suspensión se enfrió luego a 20-25 °C y se cargó una solución de Na₂SO₃ al 9% (Na₂SO₃, 47,0 g; agua, 500 g) a la mezcla de reacción mientras que se mantenía la temperatura interna a 20-30 °C. La suspensión se agitó a 25°C durante 1 hora y se filtró. La torta del filtro se enjuagó con 85% en peso de HOAc (200 g, preparado con 170 g de HOAc y 30 g de agua), seguido de agua (200 g, 2,0% en peso equivalente). La torta del filtro se descargó y se lavó en suspensión en agua (1.500 g) durante aproximadamente 1 hora, luego se filtró y se enjuagó con agua hasta que el pH del enjuague es 6-7 y luego se enjuagó con heptanos (200 g). Los sólidos se secaron al vacío produciendo 143 g (95% de rendimiento, 96% de pureza AN por HPLC) del producto 20 como un sólido blanco.

B. Síntesis del Intermedio 21

[0160]

5



10

15

20

25

30

[0161] El material de partida (20, 100 g) y la N-fluorobencenosulfonimida (NFSI, 251 g, 2,95 moles equivalentes) se agregaron como sólidos al matraz. A la mezcla se le añadió THF (1.000 g) y, con agitación, los sólidos se disolvieron. La solución se desgasificó tres veces aplicando lentamente el vacío, seguido de la ruptura del vacío con nitrógeno. La solución se enfrió en un baño a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta una temperatura interna de $-68\text{ }^{\circ}\text{C}$. Al enfriarse, se formó una suspensión de color blanco a blanquecino. Se añadió una solución de la base (1,0 M LiHMDS en THF, 720 g, 3,00 moles equivalentes) a una velocidad tal que la temperatura interna se mantuvo por debajo de $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$. La temperatura interna fue $<-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la mayoría de la adición, el tiempo total de adición fue de aproximadamente 1 h. La finalización de la reacción se controló mediante análisis de HPLC. La reacción se detuvo mediante la adición de NH_3/MeOH (7N NH_3 en MeOH, 8 g) y se retiró el baño frío. Después de calentarse la temperatura interna a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, el análisis por HPLC mostró un consumo completo del exceso de N-fluorobencenosulfonimida. La temperatura interna se ajustó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añadieron heptanos (342 g) y la solución se agitó durante 10 minutos. Si es necesario, la temperatura se ajustó a $20\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$. La suspensión se filtró y los sólidos se enjuagaron con una mezcla de THF/heptanos dos veces (para cada enjuague: THF, 89,0 g; heptanos: 205 g). El filtrado se almacenó a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($2\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante aprox. 20 horas. La solución se filtró luego en un matraz y se concentró a 2,5-3,0 volúmenes a una temperatura interna máxima de $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se cargó CH_2Cl_2 (1.500 g) y la suspensión se agitó a reflujo (aprox. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos. Después de ajustar la temperatura interna a $20\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$, la suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite y la torta del filtro se enjuagó con DCM (400 g, 4,0 wt equiv). El filtrado se concentró hasta aproximadamente 3,0 volúmenes a vacío. Se añadió metanol (600 g) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 4,0 volúmenes, se añadió metanol adicional (300 g) y la mezcla se concentró nuevamente hasta aproximadamente 4,0 volúmenes (300 volúmenes). La suspensión se filtró y se enjuagó con metanol dos veces (para cada enjuague, 100 g). El producto 21 se secó al vacío produciendo 90 g (82% de rendimiento, 97-98% de pureza AN por HPLC) del producto como un sólido blanquecino a amarillo pálido. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 7,94 (d, $J = 1,2\text{ Hz}$, 1H), 7,81 (d, $J = 7,8\text{ Hz}$, 1H), 7,74 (d, $J = 1,4\text{ Hz}$, 1H), 7,60 (d, $J = 8,3\text{ Hz}$, 1H), 7,41 (d, $J = 8,1\text{ Hz}$, 1H), 7,29 (d, $J = 8,0\text{ Hz}$, 1H). ^{19}F RMN (376 MHz, CDCl_3) δ -111,0 (s, 2F).

35

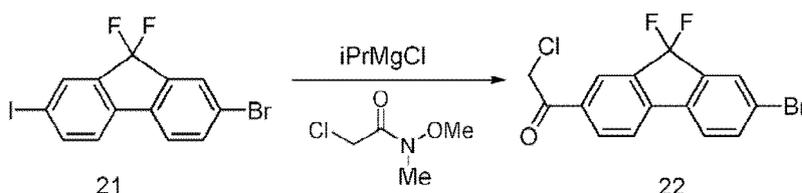
C. Síntesis del Intermedio 22

35

[0162]

40

45



50

55

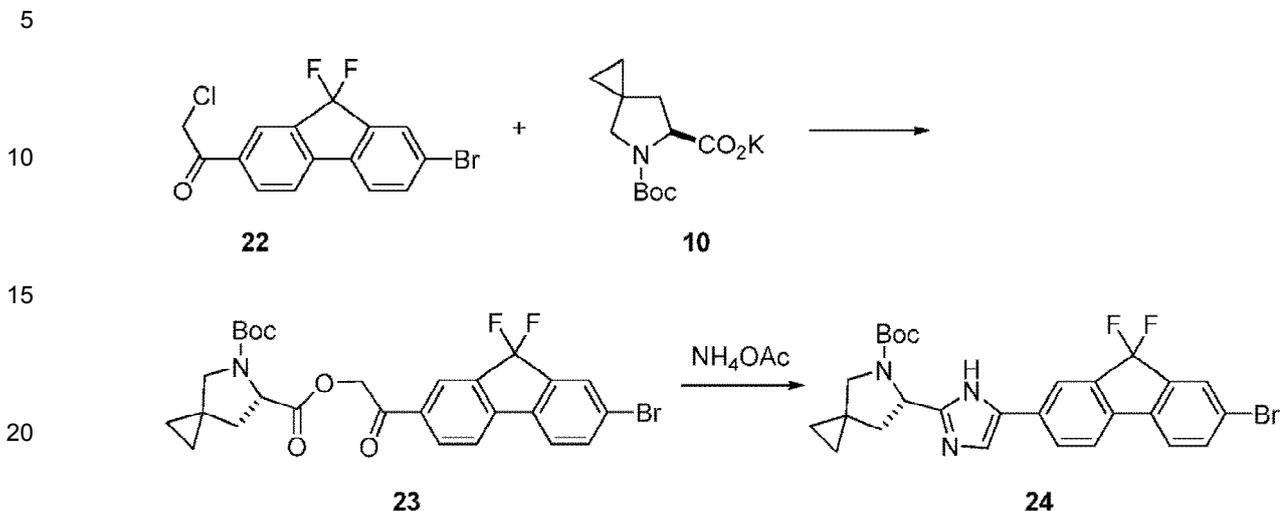
60

65

[0163] Se cargó un matraz de 3 bocas con 21 (100 g) y THF (800 mL). La solución se desgasificó tres veces aplicando lentamente el vacío, seguido de la ruptura del vacío con nitrógeno. La solución se enfrió a una temperatura interna de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añadió lentamente una solución de 2N *i*-PrMgCl en THF (125 g, 1,04 moles equivalente) mientras que se mantenía la temperatura interna de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla resultante se agitó luego durante 30 minutos a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se completó la reacción. Se disolvió 2-cloro-N-metoxi-N-metilacetamida (40,6 g, 1,20 moles de equivocación) en MTBE (122 g, 1,22 wt de equivocación) y se filtró a través de un filtro de $1\text{ }\mu\text{m}$. La solución de MTBE de la acetamida se añadió luego lentamente al matraz manteniendo la temperatura interna de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una vez completada la adición, la temperatura interna se ajustó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó durante 2 horas. Una vez completada la reacción, se añadió 1N HCl (750 g) lentamente, de modo que la temperatura interna no excediera los $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Si es necesario, la temperatura interna se ajustó a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con MTBE (410 g). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre MgSO_4 . El MgSO_4 se separó por filtración y se enjuagó con THF (200 g). El filtrado y el enjuague se concentraron a vacío 10 volúmenes (1.000 mL). Se añadió isopropanol (785 g) y comenzaron a formarse pequeñas cantidades de cristales. Esta suspensión se concentró de nuevo a vacío hasta 10 volúmenes (1.000 mL). Se añadió una vez más isopropanol (785 g) y la suspensión se concentró a vacío hasta 10 volúmenes (1.000 mL). La temperatura interna se ajustó a $20\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó durante aprox. 30 minutos. La suspensión se filtró y se enjuagó con isopropanol (100 g), luego se secó al vacío para proporcionar 62,28 g (70,8%, 98% de pureza por HPLC) del producto 22 en forma de un sólido blanquecino a amarillo pálido. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 8,19 (s, 1H), 8,12 (d, $J = 7,8\text{ Hz}$, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,67 (d, $J = 8,0\text{ Hz}$, 2H), 7,52 (d, $J = 7,8\text{ Hz}$, 1H), 4,71 (s, 2H). ^{19}F RMN (376 MHz, CDCl_3) δ -111,4 (s, 2F).

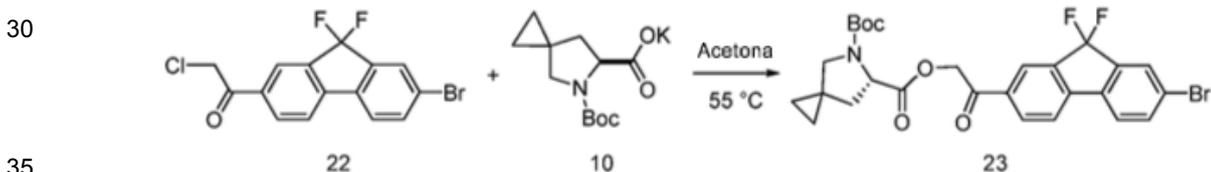
III. Síntesis del Intermedio 24

[0164]



Preparación de 23

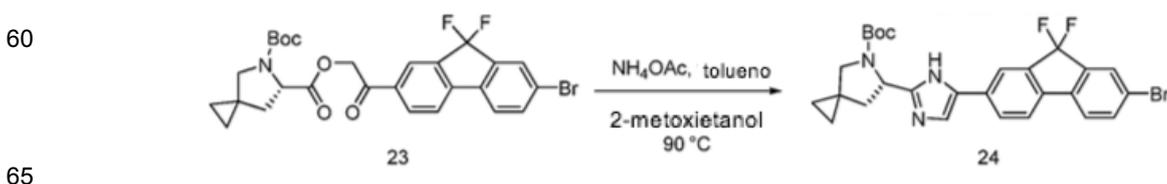
[0165]



[0166] El compuesto **22** (10,8 g, 1,05 eq) y el compuesto **10** (8,0 g, 1,0 eq) se disolvieron en acetona (106 mL). La mezcla heterogénea se calentó a 55°C y se envejeció hasta que la reacción se consideró completa según se determinó mediante análisis de HPLC. Se añadió agua (22 mL) lentamente y la solución se mantuvo a 55 °C durante 30 minutos. La solución se enfrió a 50°C y se añadieron cristales de siembra de **23**. Se añadió lentamente otra porción de agua (11 mL). La solución se envejeció a 50 °C durante 1 h y luego se enfrió a 20 °C (15-25 °C) durante un período de 2 horas. La suspensión se filtró a 20°C (15-25°C) y la torta del filtro se lavó con una mezcla de acetona (18 mL) y agua (6 mL). El producto se secó para dar **23** como un sólido amarillo (12,8 g, 95%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, mezcla de rotámeros): 8,13 (s, 1H), 8,07 - 7,97 (m, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,67 - 7,56 (m, 2H), 7,53 - 7,44 (m, 1H), 5,61 (d, J = 16,3 Hz, 0,5H), 5,47 (d, J = 16,2 Hz, 0,5H), 5,29 (d, J = 16,2 Hz, 0,5H), 5,15 (d, J = 16,3 Hz, 0,5H), 4,62 (dd, J = 8,7, 3,5 Hz, 0,5H), 4,55 (dd, J = 8,7, 4,0 Hz, 0,5H), 3,48 - 3,28 (m, 2H), 2,43 - 2,35 (m, 1H), 2,17 - 2,07 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 0,77 - 0,55 (m, 4H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 190,8, 190,3, 172,2, 172,0, 154,4, 153,7, 143,7 - 143,4 (m), 140,3 (t, J = 25,9 Hz), 138,2 (t, J = 25,4 Hz), 136,9 - 136,5 (m), 135,5, 135,4, 134,7, 134,6, 132,4, 127,7, 124,2, 124,1, 123,2, 123,2, 122,7, 121,6 (t, J = 244 Hz), 120,8, 80,1, 80,0, 66,0, 65,9, 59,4, 59,0, 54,3, 53,7, 38,9, 38,0, 28,4, 28,3, 20,7, 20,0, 12,9, 12,3, 8,8, 8,3. ¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -111,41 (s), -111,43 (s).

B. Formación de imidazol 24

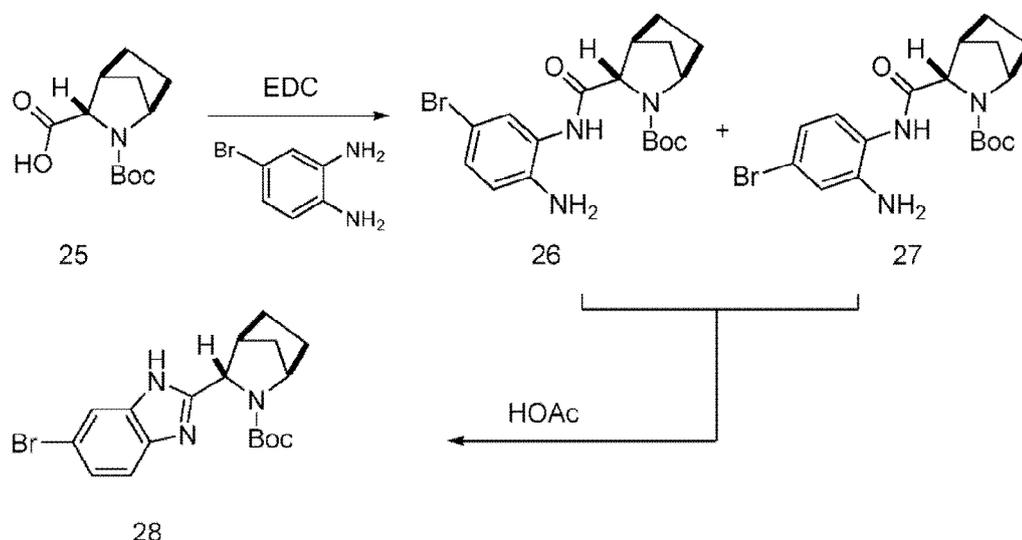
[0167]



[0168] En el compuesto **23** (7,0 g) y acetato de amonio (4,8 g, 5,0 eq) se añadieron tolueno (62 mL) y 2-metoxietanol (3,5 mL). La mezcla heterogénea/bifásica se calentó a 90 °C y se envejeció hasta que se consideró completa la reacción según lo determinado por el análisis de HPLC. La solución se enfrió a 55 °C y se agitó hasta que se formó una suspensión de **24** (si es necesario, se pueden agregar semillas). Se cargó heptano (104 mL) a 55 °C durante 1 h y luego la suspensión se enfrió a 22 °C durante 3 h. Una vez que la suspensión alcanzó la temperatura ambiente, se envejeció durante 1 h. La suspensión se filtró y se lavó con heptano (15 mL). Los sólidos se disolvieron luego en DMAc (42 mL). La solución se calentó a 45°C y se cargó agua (7 mL) en la solución. La temperatura de la solución se aumentó a 50 °C y se cargaron cristales de siembra de **24**. La suspensión se envejeció durante 30 minutos y luego se cargó una segunda porción de agua (9,1 mL) durante 1 hora. Al finalizar, la suspensión se enfrió a 22°C durante 3 h y se envejeció a temperatura ambiente durante 1 h. Los sólidos se filtraron y se lavaron con una solución de DMAc (5 mL) y agua (2 mL). Se aplicó un lavado final de heptano (23 mL) para desplazar el DMAc y el agua. Los sólidos se secaron a 45°C en un horno de vacío. El producto final **24** se aisló como un sólido marrón (5,2 g, 77%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO, mezcla de rotómeros): 12,31 - 11,78 (m, 1H), 8,15 - 8,03 (m, 1H), 8,02 - 7,84 (m, 2H), 7,84 - 7,43 (m, 4H), 5,04 - 4,84 (m, 1H), 3,62 - 3,21 (m, 2H), 2,42 - 2,09 (m, 1H), 2,08 - 1,78 (m, 1H), 1,40 (s, 4H), 1,17 (s, 5H), 0,75 - 0,31 (m, 4H); ¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -103,85 (s), -104,03 (s). MS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₂₇H₂₇BrF₂N₃O₂, 542,1, 544,1; encontrado, 542,1, 544,1.

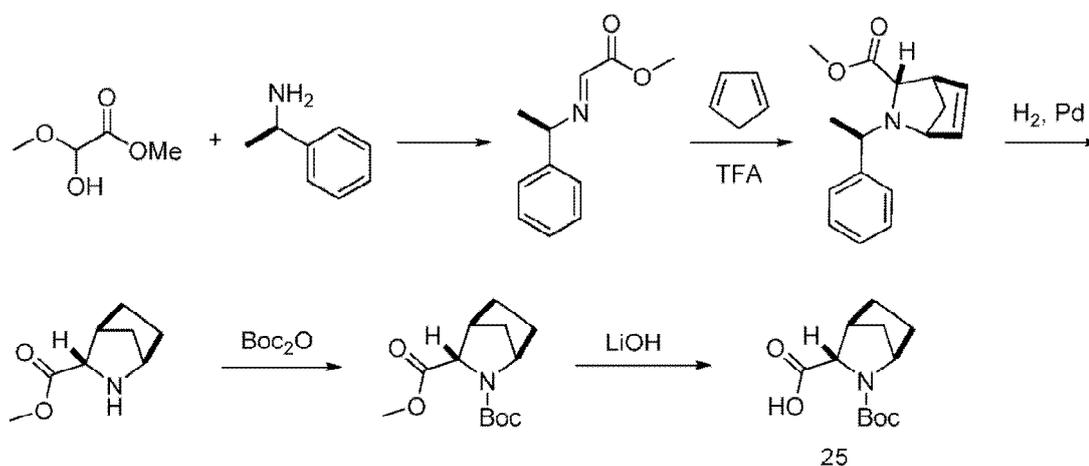
IV. Síntesis del intermedio 28

[0169]



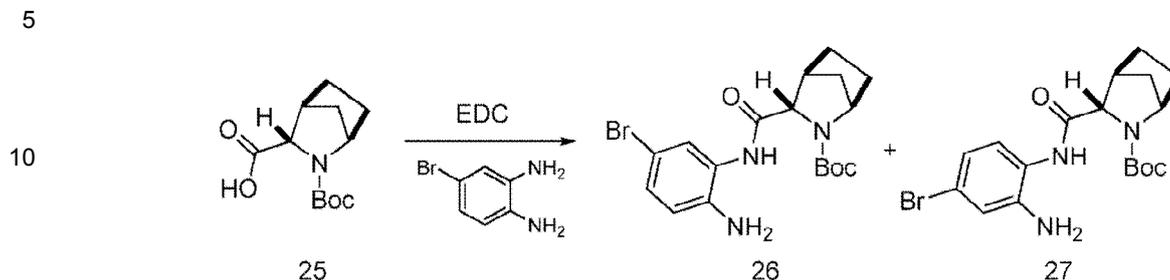
A. Síntesis de 25

[0170]



B. Síntesis de 26 y 27

[0171]



[0172] En un matraz se cargó **25** (20,00 g, 0,083 mol), 4-bromo-1,2-benzenodiamina (16,74 g, 0,089 mol, 1,08 equiv.), hidroxibenzotriazol (HOBt) (13,96 g, 0,091 mol, 1,1 equiv.), y 1-etilo-3-(3-dimetilaminopropilo) carbodiimida HCl (EDC-HCl) (17,48 g, 0,091 mol, 1,1 equiv.). El matraz se enfrió en un baño de hielo y se cargó con N,N-dimetilacetamida (DMAC, 80 mL). La reacción se dejó enfriar a ca. 10 °C con agitación. Se añadió N-metilmorfolina (NMM) (27,34 mL, 0,249 mol, 3 equiv.) Durante 5 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de 20 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se añadió a MTBE (200 mL) y agua (600 mL) en un embudo de decantación y se agitó suavemente. Las capas se dejaron separar y la capa acuosa se retiró. La capa acuosa se extrajo dos veces con MTBE (50 mL) y los extractos orgánicos se combinaron. Los extractos orgánicos combinados se extrajeron luego con agua (500 mL), formando una mezcla que no se separó bien. La mezcla se filtró sobre un soporte sólido apropiado y las capas se separaron. La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo resultante se disolvió en éter de diisopropilo (100 mL). La solución se enfrió a ca. 5 °C con agitación. Se añadió lentamente ácido acético (5,22 mL, 0,091 mol, 1,1 equiv.) Manteniendo la temperatura interna por debajo de 10 °C, y la suspensión resultante se agitó 2 h a 5 °C. La suspensión espesa se filtró luego, y el sólido se enjuagó con éter de diisopropilo (100 mL), seguido de heptano (100 mL). La torta se secó al vacío para dar el producto como un sólido de color beige claro como una mezcla de regioisómeros **26** y **27** (28,19 g, 72%, >99% AN). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) mezcla de **26** y **27** (los datos son para los dos rotámeros del regioisómero principal): δ 9,25 (s, 0,5H), 9,13 (s, 0,5H), 7,08 (d, J = 8,3) Hz, 0,5H); 7,06 (d, J = 8,2 Hz, 0,5H), 6,92 (d, J = 2,2 Hz, 0,5H), 6,89 (d, J = 2,1 Hz, 0,5H), 6,71 (dd, J = 8,4, 2,2, 0,5 H), 6,66 (dd, J = 8,4, 2,2, 0,5H), 5,10 (br s, 1H), 5,05 (br s, 1H), 4,15 (br s, 0,5H), 4,10 (br s, 0,5H), 3,76 (s, 1H), 2,64 (br s, 1H), 1,96-1,88 (m, 1H), 1,77-1,67 (m, 1H), 1,67-1,19 (m, 4H), 1,41 (s, 4,5H), 1,33 (s, 4,5H). MS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₅BrO₃N₃, 410,1, 412,1; encontrado, 410,0, 412,0.

20

25

30

35

C. Síntesis del intermedio 28

[0173] En un reactor se cargó la mezcla **26/27** (50,0 g, 0,106 mol). Se cargó MTBE (200 mL, 4 V) y a la suspensión se le añadió ácido acético glacial (30,4 mL, 0,532 mol, 5 equiv.). La mezcla se calentó a 55°C dando como resultado una solución homogénea de color marrón, y se agitó a esta temperatura durante 18 h. Una vez completada la reacción según se determinó mediante HPLC, la solución se enfrió a aprox. 10 °C y luego se detuvo con KOH acuoso (35 g en 200 mL H₂O) manteniendo la temperatura interna por debajo de 20 °C. La mezcla bifásica se agitó vigorosamente durante 15 min. La agitación se detuvo y las capas se dejaron separar. La capa acuosa se drenó y se extrajo de nuevo con MTBE (50 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se cargó H₂O (300 mL) y la mezcla bifásica se agitó vigorosamente durante 15 minutos. La agitación se detuvo y las capas se dejaron separar. La capa acuosa se drenó y la capa orgánica de color canela se filtró con pulimento. El disolvente se destiló a un volumen de ca. 50 ml. Se añadió éter de diisopropilo (IPE, 150 mL) mientras que se mantenía la temperatura interna por encima de 48 °C y la solución se destiló a un volumen total de aprox. 80 ml. Se añadió nuevamente IPE (150 mL) y la solución se destiló a ca. 120 mL. Este proceso se continuó hasta que el disolvente fue principalmente éter de diisopropilo, según lo indicado por una temperatura interna durante la destilación de aproximadamente 69 °C o según lo determinado por ¹H RMN. El volumen total se ajustó entonces a ca. 120 mL, y la solución se dejó enfriar lentamente (10 °C/h) durante la noche a 0 °C dando como resultado la formación de suspensión. La suspensión se filtró y se enjuagó con IPE frío (100 mL). Los sólidos se recogieron y se secaron en un horno de vacío para dar **28** (39,23 g, 94% de rendimiento, >99,5% de AN). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 10,70 (s, 1H), 7,86 (s, 0,5H), 7,58 (d, J = 8,6 Hz, 0,5H), 7,54 (s, 0,5H), 7,30 (d, 8,3Hz, 1H), 7,25 (d, J = 8,0 Hz, 0,5H), 4,52 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,43 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 2,03 - 1,94 (m, 1H), 1,93 - 1,81 (m, 1H), 1,80 - 1,55 (m, 4H), 1,52 (s, 9H). MS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₃BrO₂N₃, 392,1, 394,1; encontrado, 392,1, 393,9.

40

45

50

55

60

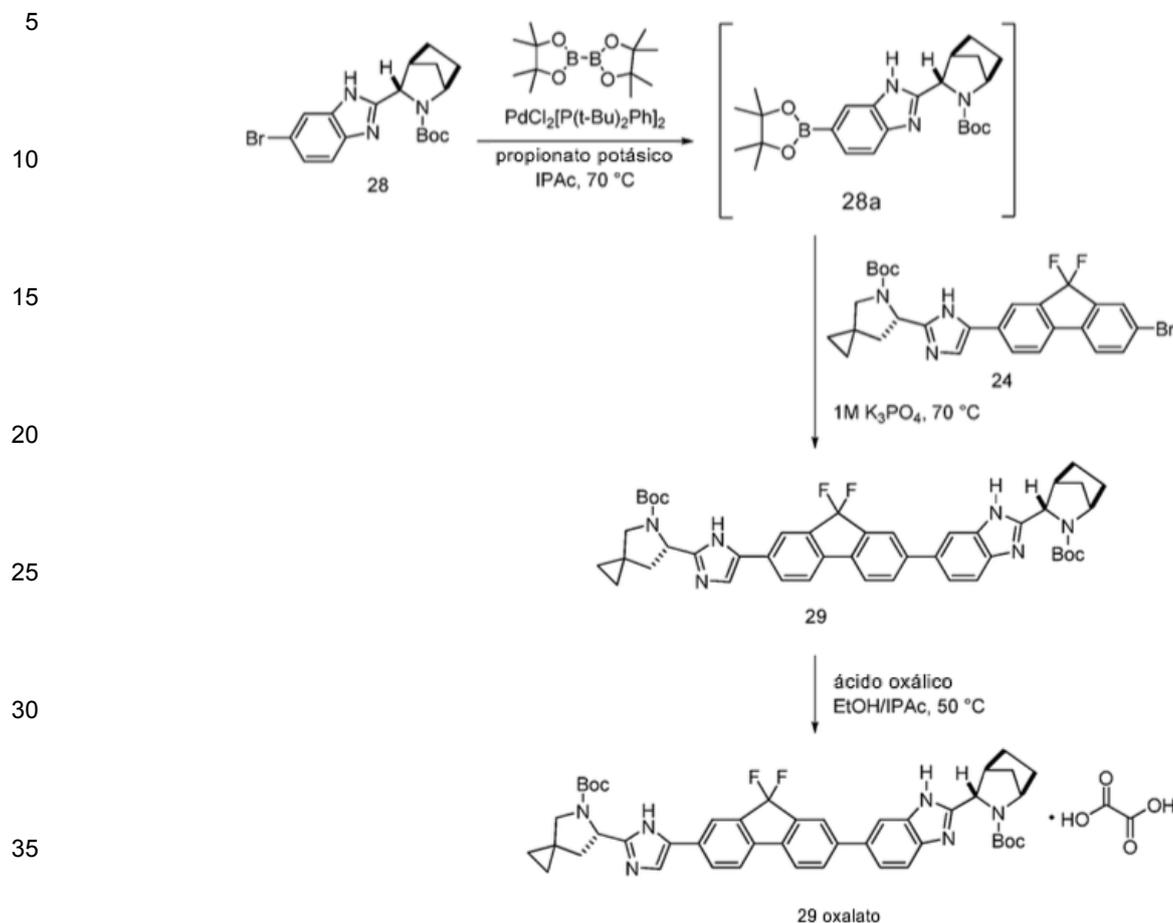
V. Síntesis del Compuesto I amorfo del Intermedio 28 A.

A. Formación del Compuesto 29

1a. Acoplamiento de compuestos 28 y 24.

65

[0174]



40 [0175] El compuesto **28** (24,98 g), bis(pinacolato)diboron (19,40 g), propionato de potasio (21,40 g) y $\text{PdCl}_2[\text{P}(t\text{-Bu})_2\text{Ph}]_2$ (2,04 g) se cargaron en un reactor, y el reactor estaba inerte. Se cargó acetato de isopropilo (250 mL), se inició la agitación y se volvió a inertar el reactor. La mezcla de reacción se calentó a 75°C y se agitó durante 3,5 h. Después de enfriarse a 25°C, se cargó el compuesto **24** (29,31 g) a la mezcla de reacción, y se inertó el reactor. Se cargó 1 M K_3PO_4 acuoso desgasificado (223 mL) al reactor, y la mezcla de reacción se calentó a 75°C. La mezcla de reacción se mantuvo a esta temperatura durante 1 h y luego se enfrió a 35-40 °C. Se cargó N-acetilo-L-cisteína (6,27 g) y la mezcla se agitó a 35-40 °C durante 15 h. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C, se detuvo la agitación y las capas se dejaron dividir. Las fases se separaron y se cargó N-acetilo-L-cisteína (6,27 g) en la capa orgánica. La mezcla de reacción se calentó a 45-50°C. Después de agitarse la mezcla a 45-50°C durante 2 h, la reacción se enfrió a 20°C y se añadió NaOH acuoso al 5% (250 mL). Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con NaCl acuoso al 5% (125 mL). La fase orgánica se trató luego con NaCl acuoso al 5% (125 mL) y se transfirió a un embudo de separación mediante filtración a través de papel de filtro. Las capas estaban separadas. La fase orgánica se transfirió a un reactor y se concentró hasta aproximadamente 160 mL por destilación al vacío. Se cargó iPrOAc (20 mL) para llevar el volumen final a aprox. 180 ml. Se cargó etanol (100 mL) y los contenidos se calentaron a aproximadamente 50 °C. Luego se cargó una solución de ácido oxálico (9,3 g) en etanol (40 mL) a la mezcla. La solución se sembró con oxalato **29** (200 mg) y se envejeció a 50°C durante 72 h. Se cargó acetato de isopropilo (240 mL) durante 5 h, y la suspensión se enfrió a 15°C durante 4 h y se agitó a esta temperatura durante 20 h. El producto se recogió por filtración, se lavó con una solución de etanol en acetato de isopropilo (48 ml de EtOH, 191 ml de iPrAc) y se secó al vacío a 45 °C para proporcionar oxalato **29** en forma de un sólido blanquecino (41,46 g, 81% de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 11,80 (br s, 4H), 8,11 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 8,00 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,90 (s, 2H), 7,87, (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,60 (dd, $J = 8,4, 1,2$ Hz, 1H), 7,56 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H), 5,03 (m, 0,5H), 4,99 (m, 0,5H), 4,52 (s, 0,5H), 4,50 (s, 0,5H), 4,28 (br s, 0,5H), 4,19 (br s, 0,5H), 3,48 (m, 1H), 3,34 (m, 1H), 2,66 (br d, $J = 12,7$ Hz, 1H), 2,38 (m, 0,5H), 2,26 (m, 0,5H), 2,04 (m, 1H), 1,96 (m, 0,5H), 1,86 (d, $J = 11,6$ Hz, 0,5H), 1,77 (m, 1H), 1,70 (m, 1H), 1,64 (2H, m), 1,43 (s, 6H), 1,41 (s, 3H), 1,35 (m, 1H), 1,19 (s, 5H), 1,14 (s, 4H), 0,65 (m, 2H) 0,54 (m, 1H), 0,42 (m, 1H). HRMS-ESI⁺: $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{45}\text{H}_{49}\text{O}_4\text{N}_6\text{F}_2$, 775,3778; encontrado, 775,3773.

50

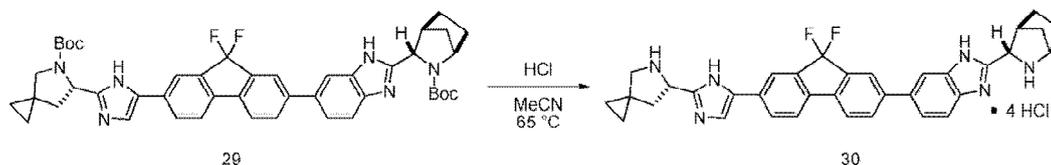
55

60

65

B. Desprotección de Bis-Boc del Compuesto 29

[0176]

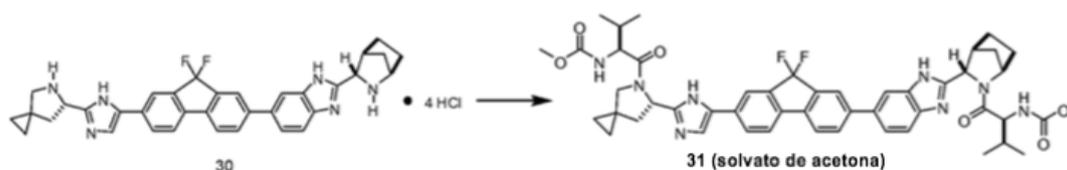


[0177] A una solución de **29** (92,5 g, 119 mmol) en MeCN (324 mL) a 65 °C se cargó una solución acuosa de HCl 1,5 N (398 mL, 5,0 moles equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 2 horas a 65°C y se controló para completarla mediante análisis de HPLC. Tras determinar el consumo de material de partida, la temperatura de la mezcla de reacción se ajustó a 45 °C. Se cargó acetonitrilo (648 mL) a lo largo de un ciclo de ≥ 30 minutos para mantener una temperatura interna de 40-50 °C. Una vez completada esta adición de antidisolvente, se cargaron cristales seminales de sal de clorhidrato (0,103 g). La suspensión se envejeció a 45 °C durante ≥ 1 h. Se cargó MeCN adicional (1.480 mL) a lo largo de un curso de ≥ 30 min para mantener una temperatura interna de 40-50 °C. La suspensión se enfrió a 20 °C durante ≥ 2 h y luego se filtró. La torta húmeda se secó para proporcionar 84,6 g de **30** (como su sal tetra-HCl, que también incluye $\sim 6\%$ de contenido de H₂O, 80,4% de rendimiento). El contenido típico de agua varía de aproximadamente 4 a aproximadamente 13%. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 10,83 (br s, 2H), 10,44 (br s, 2H), 10,33 (br s, 1H), 9,33 (br s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,26 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,01 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,98 (dd, J = 8,0, 1,2 Hz, 1H), 7,79 (dd, J = 8,4, 0,4 Hz, 1H), 7,75 (dd, J = 8,4, 1,2 Hz, 1H), 5,29 (dd, J = 8,0, 7,6 Hz, 1H), 4,82 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,19 (s, 1H), 3,65 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 3,14 (s, 1H), 3,12 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 2,85 (dd, J = 13,2, 9,6 Hz, 1H), 2,23 (dd, J = 12,8, 7,6 Hz, 1H), 2,11 (m, 1H), 1,99 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,76 (m, 1H), 1,71 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 1,67 (m, 1H), 0,84 (m, 2H), 0,70 (m, 2H). HRMS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₃₅H₃₃N₆F₂, 575,2729; encontrado, 575,2729.

[0178] El compuesto **30** se aisló como un sólido cristalino a partir de una mezcla de CH₃CN y ac. HCl.

C. Acoplamiento de amida

[0179]



[0180] EDCI-HCl (4,39 g), HOBt (2,06 g), Moc-valina (4-(1-metiletilo)-2,5-dioxo-metoxicarbonilo) (4,02 g) y DMF (50 mL) fueron cargados a un matraz. La mezcla de reacción se agitó durante 20 min a 23°C. La solución se enfrió luego a 0°C. Se cargaron sal de **30**-HCl (5,0 g) y N-metilmorfolina (5,03 mL) a la mezcla de reacción. Los contenidos se calentaron a temperatura ambiente y se agitaron durante 4 horas a 23°C. Se añadió agua (2,5 mL) a la mezcla de reacción y se agitaron los contenidos durante 15 horas a 23°C. Se agregaron EtOAc (70 mL) y agua (100 mL) y se separaron las capas. A la capa orgánica se le añadió EtOAc (50 mL) y agua (50 mL), las capas se mezclaron y luego se separaron. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ al 5% (50 mL) y agua (2 x 25 mL). La capa orgánica se destiló luego a 2,5 volúmenes (12,5 mL) y se enfrió a 23°C. Se añadió acetona (70 mL) a la capa orgánica. Los contenidos de la reacción se sembraron con el compuesto **31** (solvato de acetona) y se agitaron durante 15 horas. Los contenidos se filtraron, la torta húmeda se lavó con acetona (5 mL) y la torta se secó para proporcionar 4,78 g de **31** como solvato de acetona (73%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 12,29 (s, 0,1H), 12,19 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 12,14 (s, 0,2H), 11,85 (s, 1H), 8,10 (s, 0,1H), 8,08 (s, 1H), 8,01 (s, 0,1H), 7,963 (m, 1H), 7,955 (s, 1H), 7,89 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,83 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,79 (dd, J = 7,2, 2,8 Hz, 1H), 7,78-7,90 (misc, 0,9H), 7,70 (s, 1H), 7,61 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,51 (dd, J = 8,8, 1,6 Hz, 1H), 7,44 (m, 0,1H), 7,31 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,0 Hz, 0,2H), 6,77 (m, 0,2H), 5,34 (d, J = 7,6 Hz, 0,1H), 5,20 (dd, J = 8,0, 5,2 Hz, 1H), 5,18 (m, 0,1H), 4,88 (s, 0,1H), 4,67 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,55 (s, 1H), 4,17 (dd, J = 8,0, 8,0 Hz, 1H), 4,10 (m, 0,2H), 4,01 (dd, J = 8,4, 8,0 Hz, 1H), 3,97 (m, 0,1H), 3,82 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,77 (s, 0,2H), 3,71 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,554 (s, 3H), 3,548 (s, 3H), 3,43 (s, 0,4H), 3,20 (d, J = 7,6 Hz, 0,3H), 2,77 (s, 0,1H), 2,66 (s, 1H), 2,41 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 2,22 (dd, J = 12,4, 8,0 Hz, 1H), 2,13 (m, 0,4H), 2,08 (s, 6H), 2,05 (dd, J = 13,2, 5,2 Hz, 1H), 1,99 (m, 2H), 1,92 (m, 1H), 1,77 (m, 2H), 1,61 (m, 0,3H), 1,56 (m, 1H), 1,46 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 10,0 Hz, 0,1H), 0,97 (dd, J = 6,4, 2,0 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,87 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,80-1,05 (misc, 2H), 0,70 (m, 1H), 0,59 (m, 2H), 0,54 (m, 1H), 0,33 (m, 0,1H). HRMS-ESI⁺: [M+H]⁺ calculado para C₄₉H₅₅O₆N₆F₂, 889,4207;

encontrado, 889,4205.

C. Aislamiento del Compuesto I amorfo

5 [0181] El solvato de acetona del Compuesto I, Compuesto 31 (191,4 g), se combinó con acetonitrilo (1356 g) en un recipiente de reacción y se mezcló hasta que se formó una solución. Esta solución se añadió lentamente a otro recipiente de reacción que contenía agua agitada vigorosamente (7870 g). La mezcla de reacción combinada se agitó a aproximadamente 23°C durante aproximadamente 30 minutos. Después, el sólido se filtró y se secó a aproximadamente 40-45°C para proporcionar el Compuesto I amorfo (146,4 g, 82% de rendimiento).

Ejemplo 11: Formulaciones de Compuesto I amorfo

15 [0182] Se prepararon comprimidos que contenían 1 mg y 10 mg de Compuesto I amorfo (base libre) utilizando procesos de granulación húmedos y secs como se discute a continuación.

Proceso de granulación húmeda de alto cizallamiento

20 [0183] Las formulaciones granuladas en húmedo contenían excipientes de uso común e incluían rellenos (lactosa y celulosa microcristalina), un desintegrante, un aglutinante y un lubricante. Las composiciones de las formulaciones preparadas mediante un proceso de granulación húmeda de alto cizallamiento se presentan en la Tabla 25.

Tabla 25. Composición cuantitativa de comprimidos de 10 mg de compuesto amorfo

Ingrediente	Fórmula de unidad	
	(% p/p)	(mg/tableta)
Compuesto I (Base Libre Amorfa)	0,0-80,0	0,0-200,0
Monohidrato de Lactosa	0,0-80,0	0,0-200,0
Celulosa Microcristalina	0,5-10,0	1,25-25,0
Crospovidona	0,0-5,0	0,0-12,5
Copovidona	0,0-5,0	0,0-12,5
Poloxámero 188 Micro	0,0-5,0	0,012,5
Cremaphor EL	0,0-2,0	0,0-5,0
Estearato de magnesio	100	250
Peso de núcleo total	0,0-80,0	0,0-200,0

Proceso de granulación en seco

40 [0184] Las formulaciones de granulación en seco también se evaluaron, y sus composiciones se presentan en la Tabla 26. La biodisponibilidad Oral del Compuesto I amorfo a partir de granulaciones secas fue equivalente a un surfactante que contenía formulación de granulación húmeda. Los excipientes típicos se utilizaron en el proceso de granulación en seco, e incluyeron lactosa y celulosa microcristalina como cargas, un desintegrante y un lubricante. Se usó lactosa anhidra en lugar del monohidrato de lactosa más típico para minimizar la presencia de agua en estrecha proximidad con la base libre amorfa. La estabilidad química y física de la formulación principal fue aceptable, así como la uniformidad de la mezcla en polvo y la métrica de la tableta.

Tabla 26. Composición cuantitativa de comprimidos de 10 mg de compuesto amorfo

Ingrediente	Fórmula de unidad	
	(% p/p)	(% p/p)
Compuesto I (Base Libre Amorfa)	4,0	10,0
Monohidrato de Lactosa	0,0-80,0	0,0-200,0
Celulosa Microcristalina	0,0-80,0	0,0-200,0
Crospovidona	0,0-10,0	0,0-25,0
Copovidona	0,0-5,0	0,0-12,5
Poloxámero 188 Micro	0,0-5,0	0,0-12,5
Cremaphor EL	0,0-8,0	0,0-20,0
Estearato de magnesio	0,0-2,0	0,0-5,0
Peso de núcleo total	100	250

65 [0185] Además, los comprimidos de 1 mg y 10 mg del Compuesto I amorfo se recubrieron con película con Opardy White YS-1-18202A a base de hipromelosa y sus composiciones se presentan en la Tabla 27.

Tabla 27. Composición cuantitativa de comprimidos de Compuesto I amorfo 1 mg y 10 mg

Ingrediente	1 mg Tableta		10 mg Tableta	
	% p/p	Fórmula de unidad (mg/ tableta)	% p/p	Fórmula de unidad (mg/ tableta)
Compuesto I (base libre amorfa)	0,40	1,0	4,00	10,0
Lactosa anhidra	50,0-75,0	175,25	50,0-75,0	166,25
Celulosa Microcristalina	0,0-35,0	62,5	0,0-35,0	62,5
Sodio de croscarmelosa	0,0-5,0	7,5	0,0-5,0	7,5
Estearato de magnesio	0,0-2,0	3,75	0,0-2,0	3,75
Peso de núcleo de tableta total	100,0	250,0	100,0	250,0
Opadry blanco YS-1-18202-A	3,0-5,0	12,5	3,0-5,0	12,5
Peso de tableta recubierta total	262,5		262,5	

Ejemplo 12: Formulaciones de D-tartrato de compuesto I

[0186] Los comprimidos que contenían 10 mg de D-tartrato de compuesto I se prepararon usando el proceso de granulación en seco que se menciona abajo.

Proceso de granulación en seco

[0187] Un aspecto crítico importante del proceso fue una etapa de molienda cónica de alta velocidad, que fue necesaria para dispersar aglomerados pequeños pero relativamente duros del D-tartrato de Compuesto I. El procedimiento de molienda también se empleó para mantener una uniformidad aceptable del contenido de la mezcla y la tableta dada la carga relativamente baja de fármaco de las tabletas. Además, las tabletas de 10 mg de D-tartrato de compuesto I se recubrieron con película con Opadry blanco YS-1-18202A a base de hipromelosa y sus composiciones se presentan en la Tabla 28.

Tabla 28. Composición cuantitativa de comprimidos de D-tartrato de compuesto 10 mg

Ingrediente	10 mg Tableta	
	% p/p	Fórmula de unidad (mg/tableta)
Compuesto I (base libre amorfa)	0,40-8,0	11,7
Lactosa anhidra	50,0-75,0	129,3
Celulosa Microcristalina	0,0-35,0	50,0
Sodio de croscarmelosa	0,0-5,0	6,0
Estearato de magnesio	0,0-2,0	3,0
Peso de núcleo de tableta total	100,0	200,0
Opadry blanco YS-1-18202-A	5,0	10
Peso de tableta recubierta total	210,0	

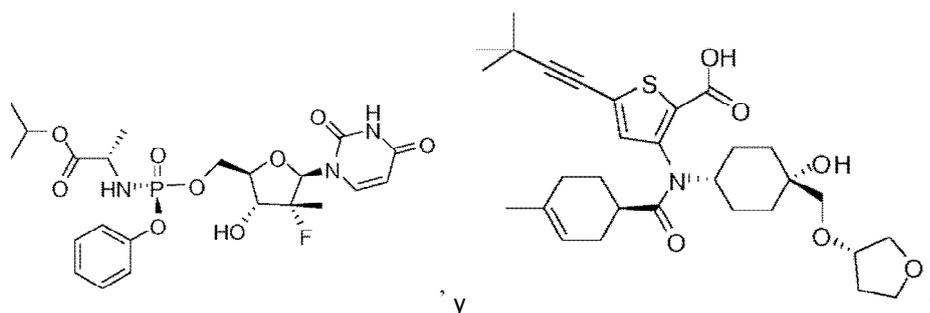
[0188] Los comprimidos que contenían 10 mg de D-tartrato de compuesto I con una composición diferente a la descrita en la Tabla 28 y los comprimidos que contenían 30 mg de D-tartrato de compuesto I se prepararon usando el proceso de granulación en seco descrito anteriormente. Sus composiciones se presentan en la tabla 29.

Tabla 29. Composición cuantitativa de comprimidos de D-tartrato de 10 mg y 30 mg del Compuesto I

Ingrediente	10 mg Tableta		30 mg Tableta	
	% p/p	Fórmula de unidad (mg/ tableta)	% p/p	Fórmula de unidad (mg/ tableta)
Compuesto I (base libre amorfa)	0,40-8,0	11,7	0,40-8,0	35,1
Lactosa anhidra	50,0-75,0	408,3	50,0-75,0	384,9
Celulosa Microcristalina	0,0-35,0	150,0	0,0-35,0	150,0
Sodio de croscarmelosa	0,0-5,0	18,0	0,0-5,0	18,0
Estearato de magnesio	0,0-2,0	12,0	0,0-2,0	12,0
Peso de núcleo de tableta total	100,0	600,0	100,0	600,0
Opadry blanco YS-1-18202-A	5,00	30,0	5,00	30,0
Peso de tableta recubierta total	630,0		630,0	

REIVINDICACIONES

1. D-tartrato de éster metílico cristalino de ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo]-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2,2.1]heptano-2-carbonilo)-2-metilo-propilo)-carbámico (D-tartrato del Compuesto I), **caracterizado por** un difractograma de rayos X en polvo que comprende los siguientes picos: 4,0, 10,3 y 19,7 °2θ ± 0,2 °2θ, según lo determinado en difractómetro usando radiación de Cu-Kα a una longitud de onda de 1.54178 Å.
2. D-tartrato del Compuesto I según la reivindicación 1, en el que el difractograma comprende además picos de 9,1, 12,7 y 24,0 °2θ ± 0,2 °2θ.
3. D-tartrato del Compuesto I según la reivindicación 1, caracterizado por una curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) que comprende una endoterma a aproximadamente 221 °C.
4. Una composición farmacéutica que comprende D-tartrato de compuesto I de acuerdo con la reivindicación 1, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
5. D-tartrato del Compuesto I según la reivindicación 1, para uso en un método para tratar a un sujeto que padece el virus de la hepatitis C (VHC).
6. El D-tartrato de Compuesto I para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con al menos un agente anti-VHC,
7. El D-tartrato de Compuesto I para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el agente anti-VHC es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ribavirina,



8. Un proceso para hacer D-tartrato de éster metílico cristalino de ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo]-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2,2.1]heptano-2-carbonilo)-2-metilo-propilo)-carbámico (D-tartrato del Compuesto I), **caracterizado por** un difractograma de rayos X en polvo que comprende los siguientes picos: 4,0, 10,3 y 19,7 °2θ ± 0,2 °2θ, según lo determinado en un difractómetro que usa radiación Cu-Kα a una longitud de onda de 1.54178 Å, que comprende la etapa de
- (1) poner en contacto el ácido D-tartárico con ácido (1-{3-[6-(9,9-difluoro-7-{2-[5-(2-metoxicarbonilamino-3-metilo-butirilo)-5-aza-espiro[2.4]hept-6-ilo]-3H-imidazol-4-ilo]-9H-fluoreno-2-ilo]-1H-benzoimidazol-2-ilo]-2-aza-biciclo[2,2.1]heptano-2-carbonilo)-2-metilo-propilo)-carbámico en un disolvente,
- por el que se forma D-tartrato de compuesto I.
9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende además la etapa de
- (2) aislamiento del D-tartrato del Compuesto I.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el disolvente se selecciona del grupo que consiste en un alcohol, un éter, un acetato de alquilo y combinaciones de los mismos.
11. El proceso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el disolvente se selecciona de alcohol isopropílico, acetato de etilo, etanol, tetrahidrofurano, metanol y combinaciones de los mismos.
12. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el disolvente es alcohol isopropílico.
13. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el disolvente es etanol.

FIGURA 1

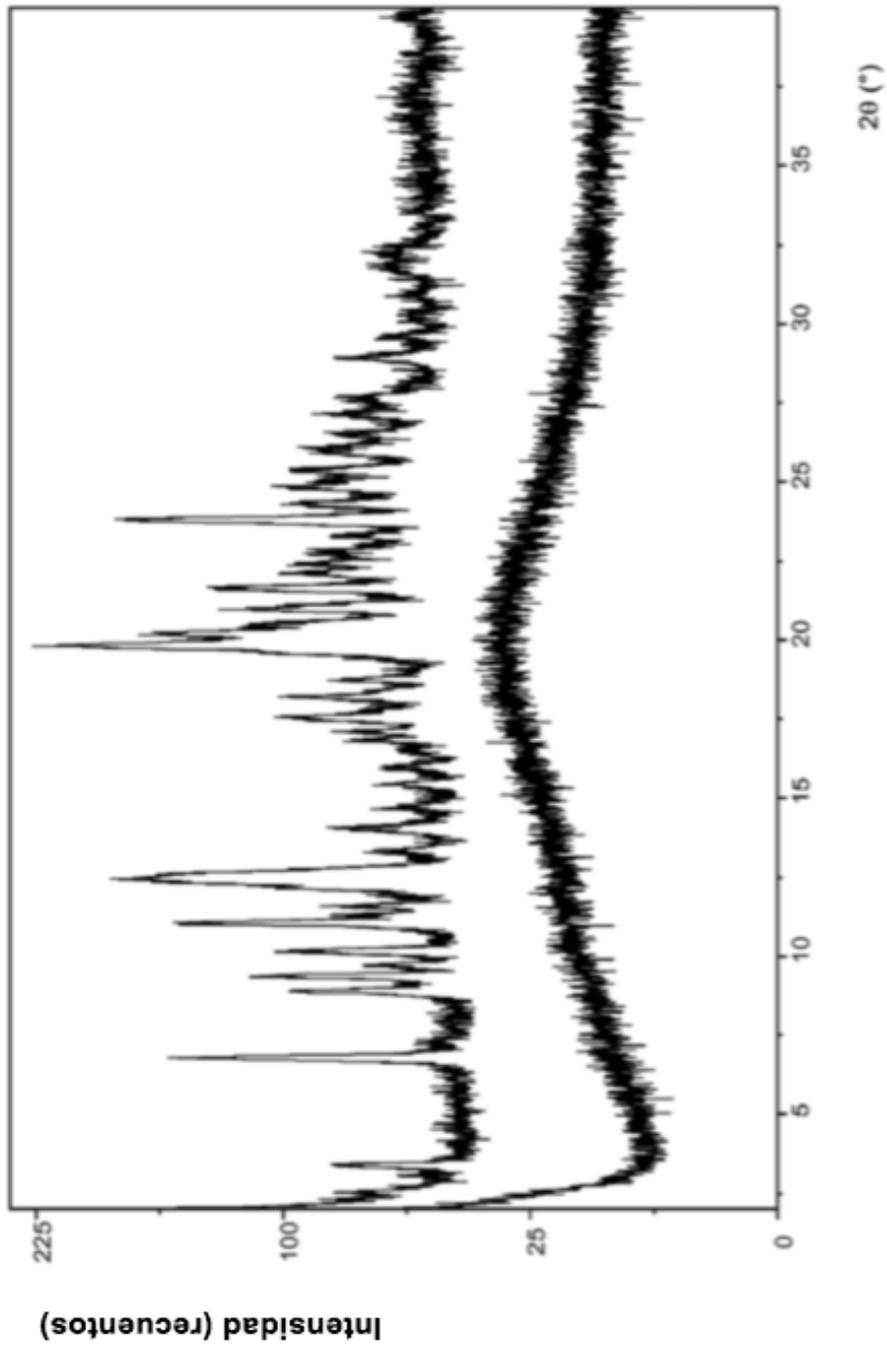


FIGURA 2

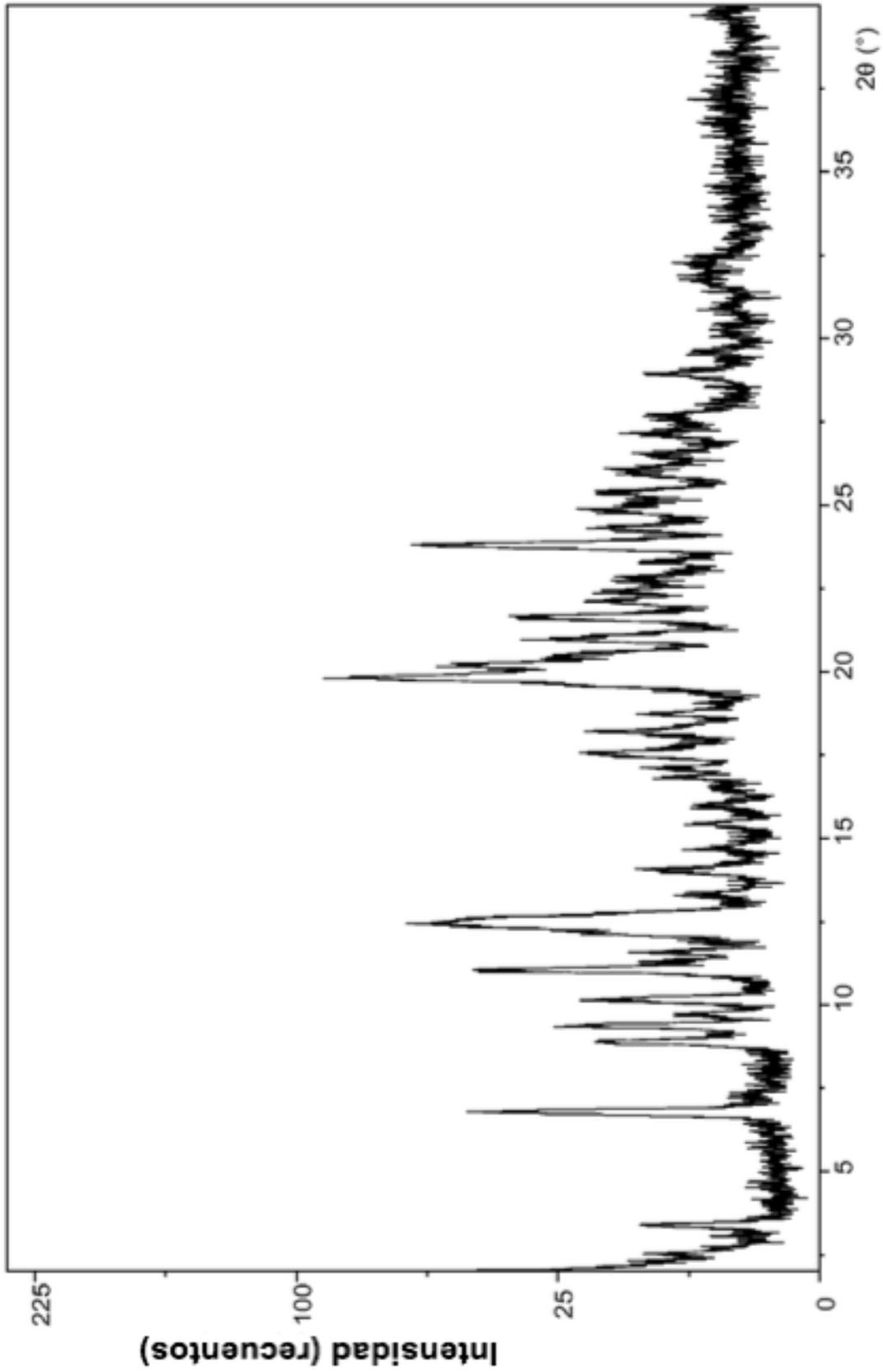


FIGURA 3

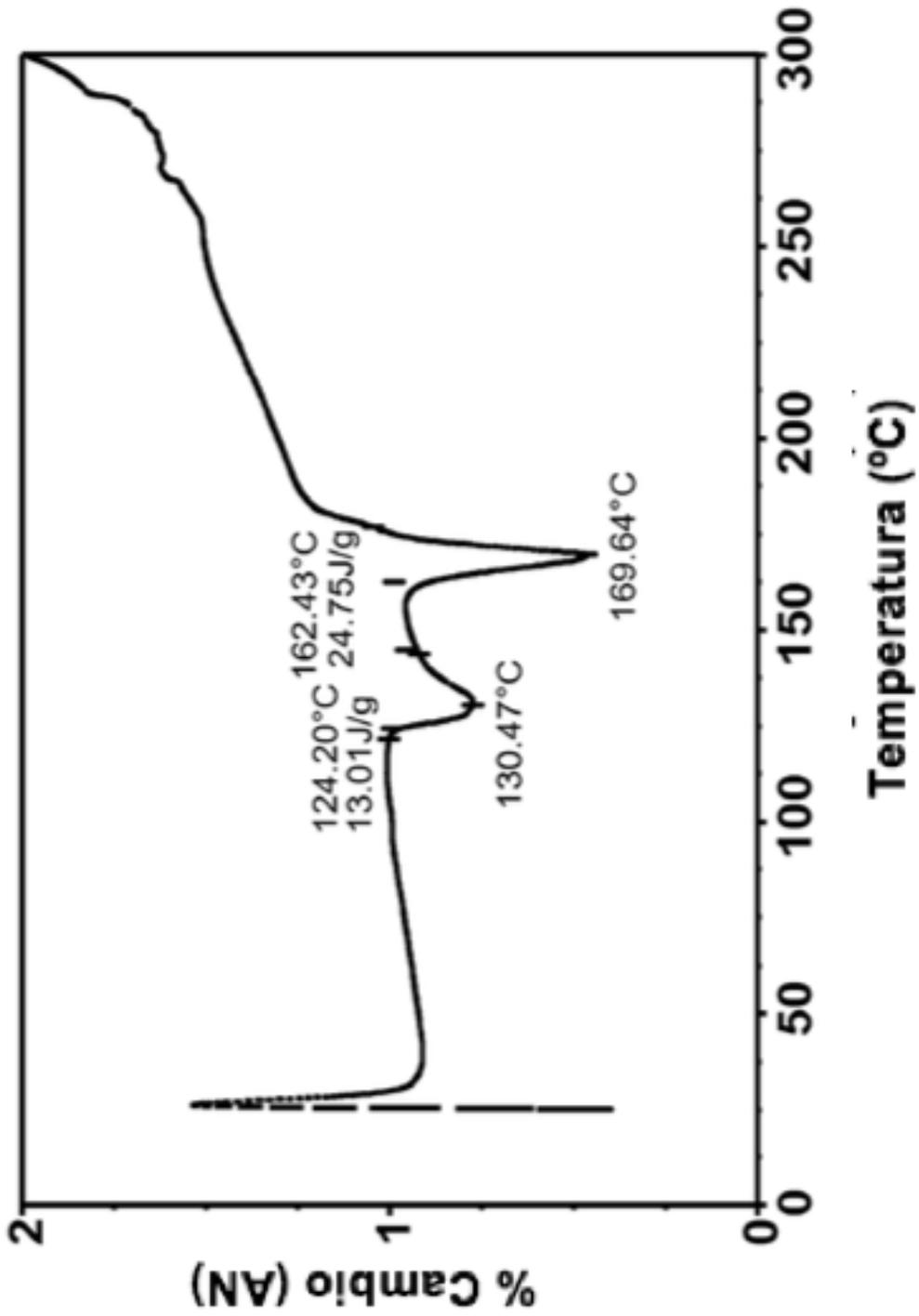


FIGURA 4

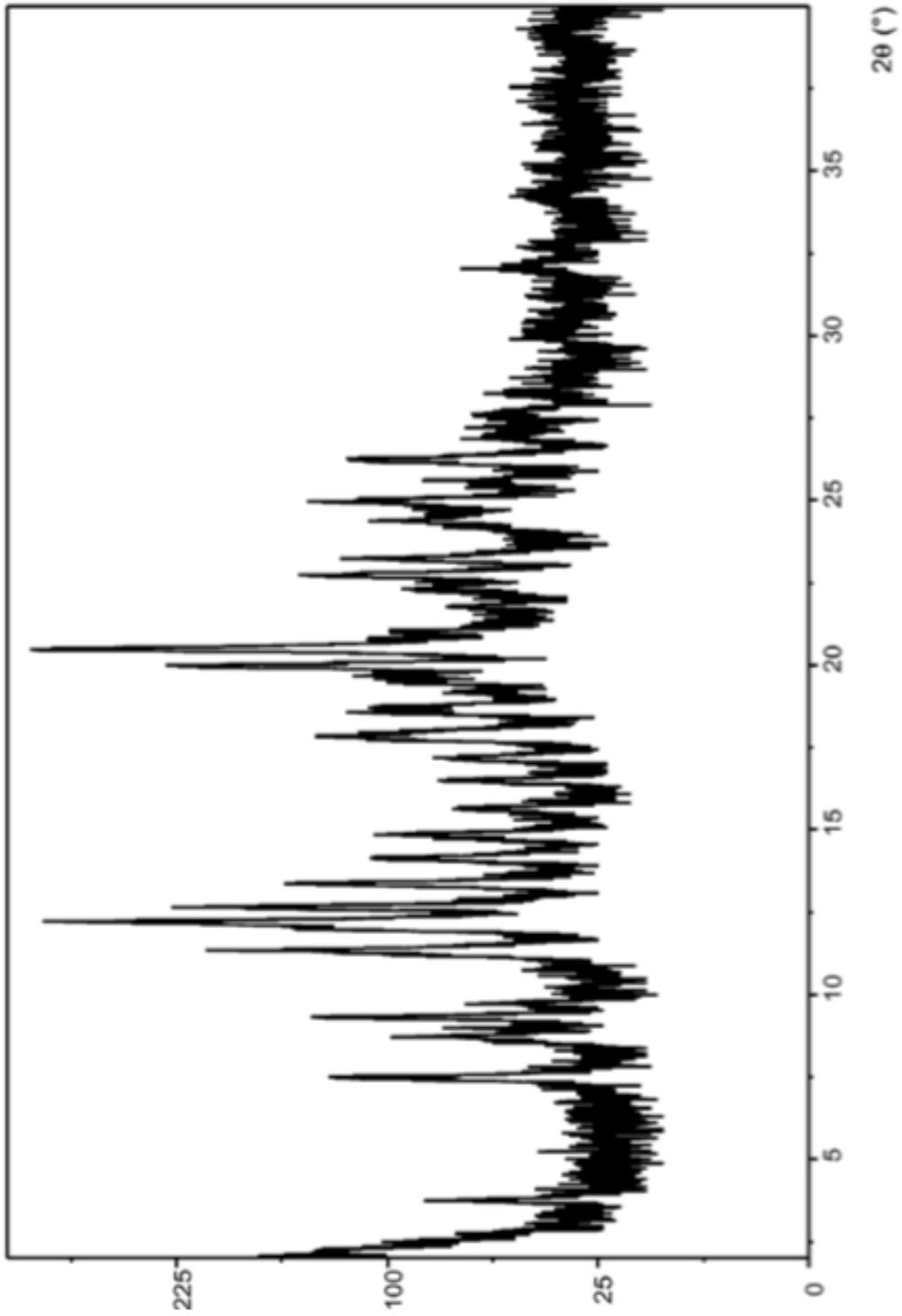


FIGURA 5

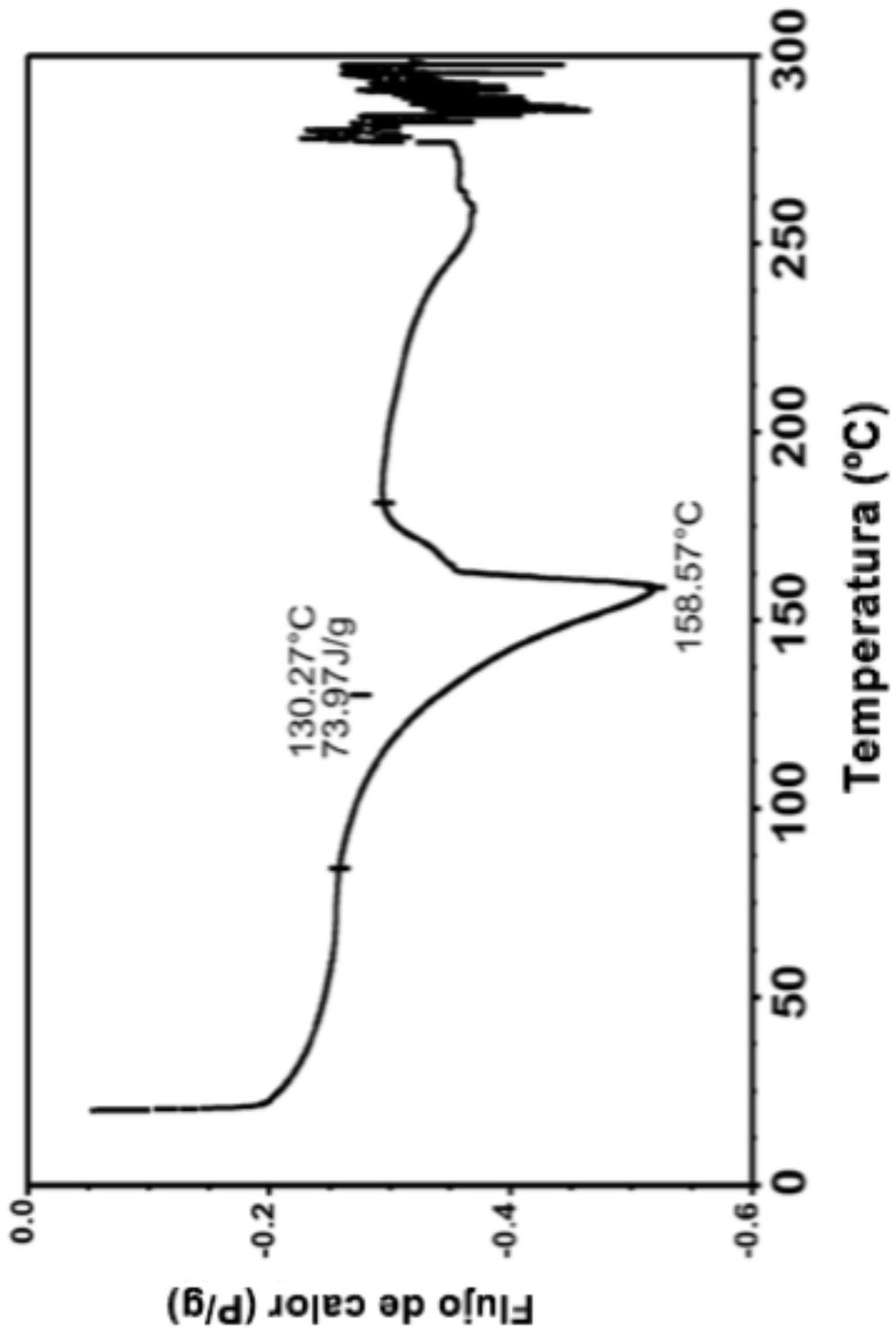


FIGURA 6

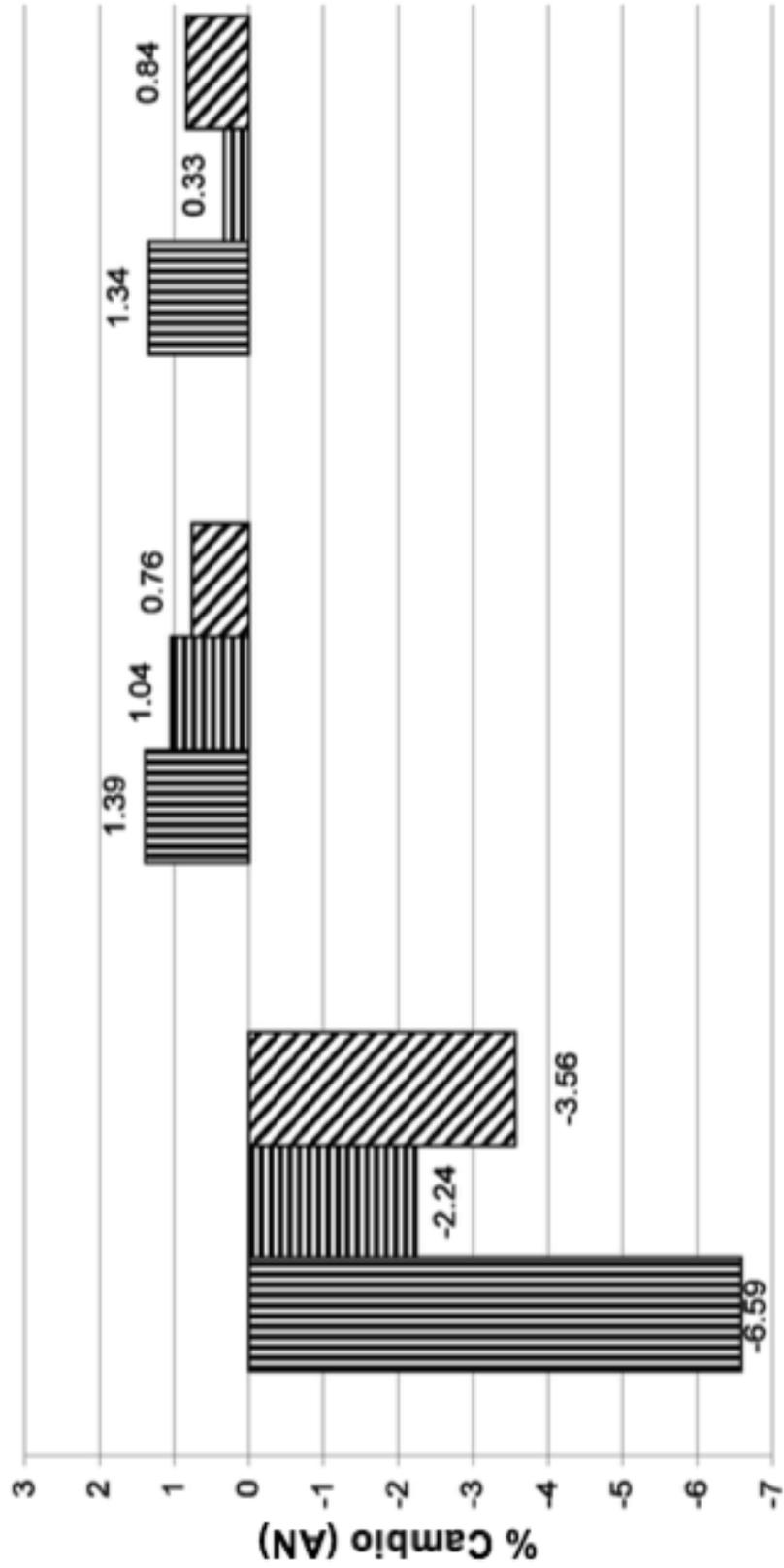


FIGURA 7

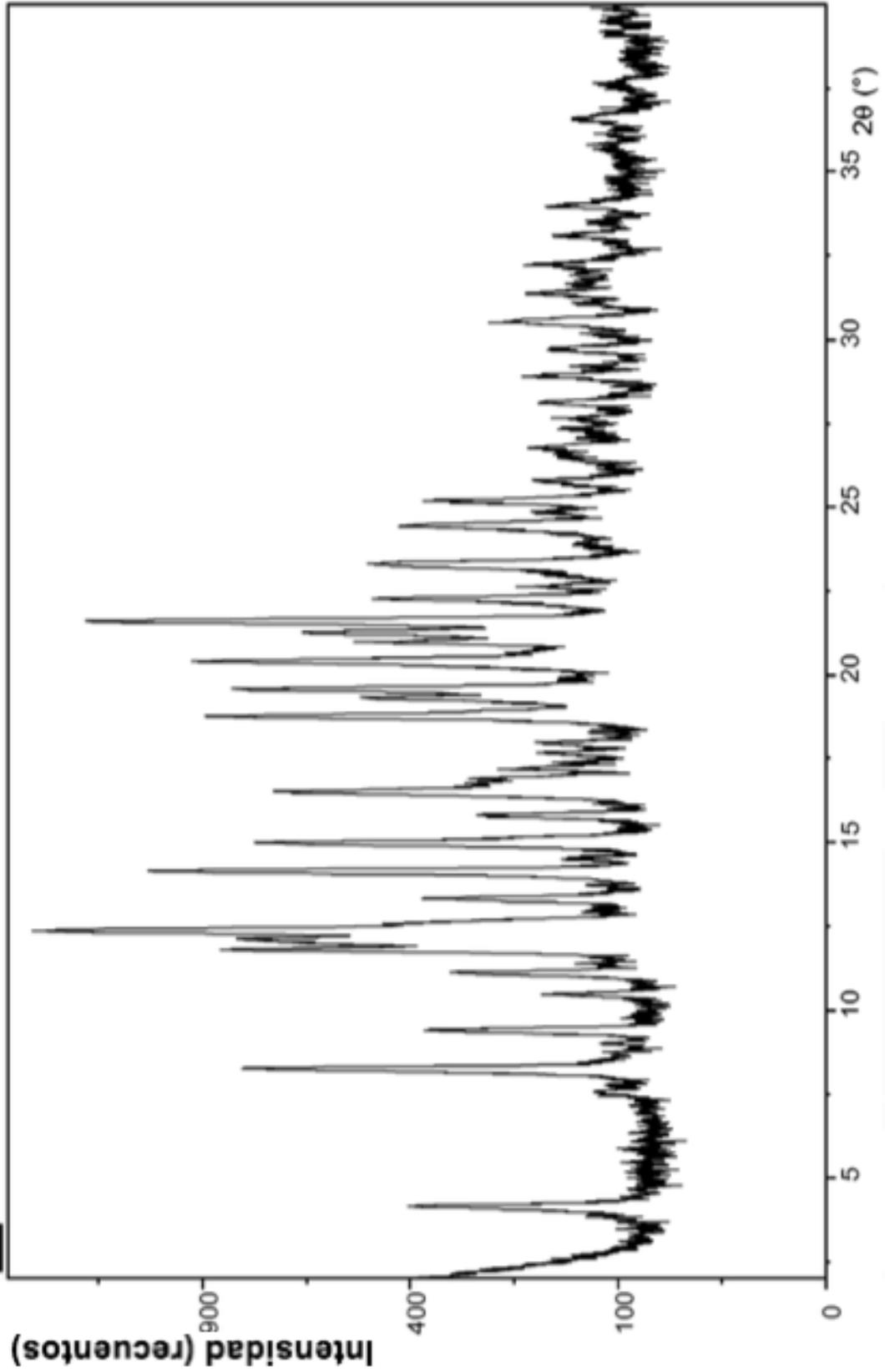


FIGURA 8

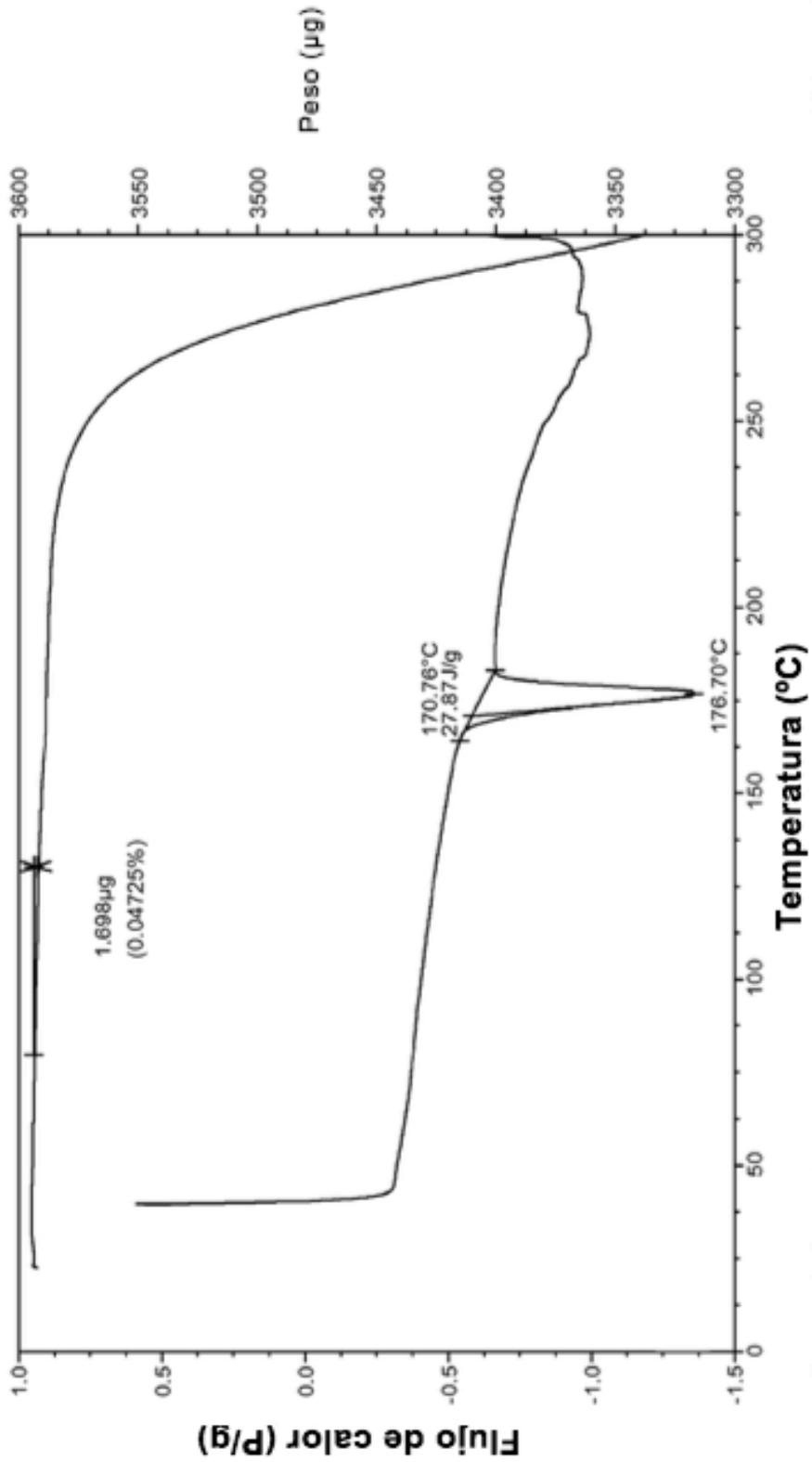


FIGURA 9

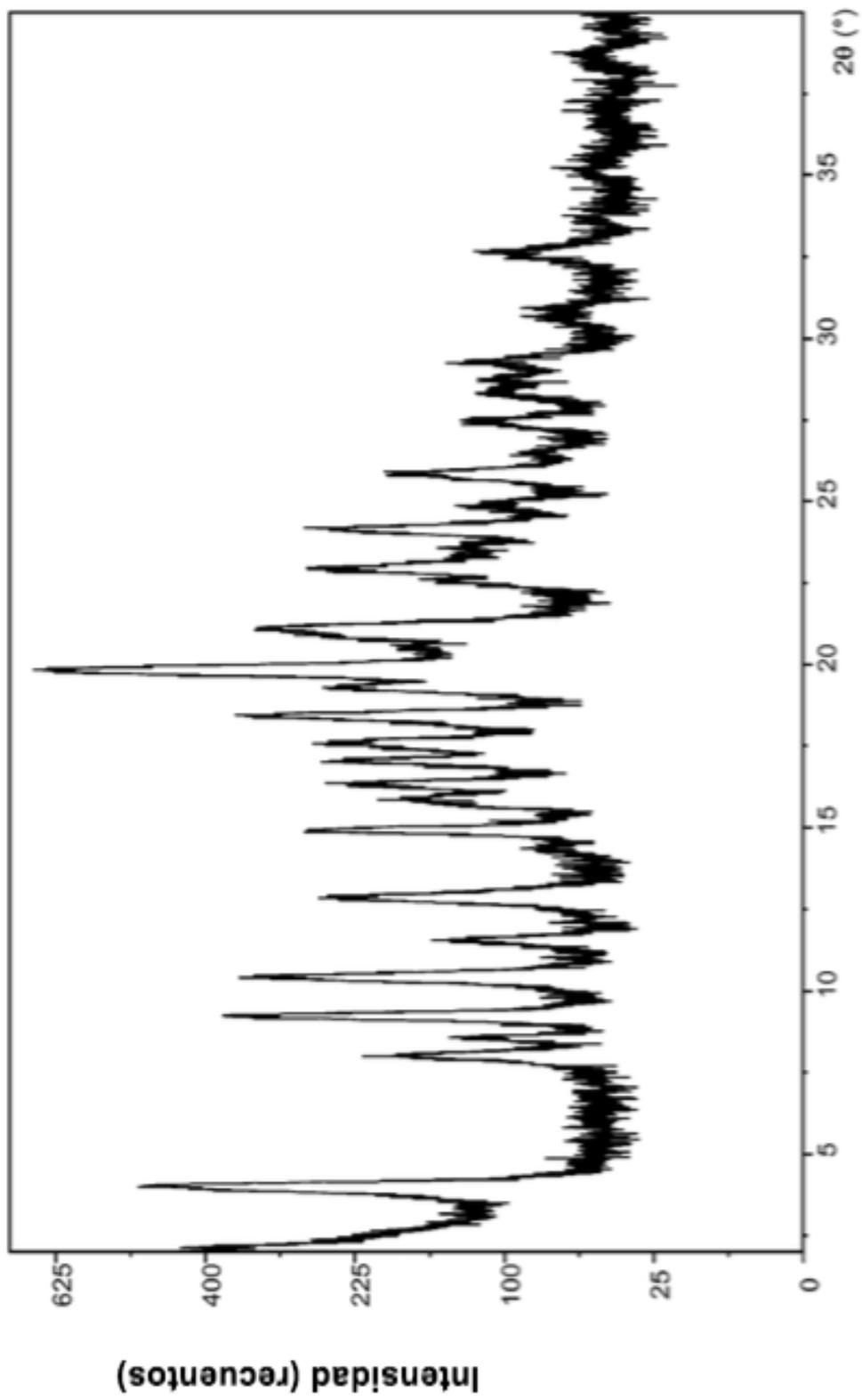


FIGURA 10

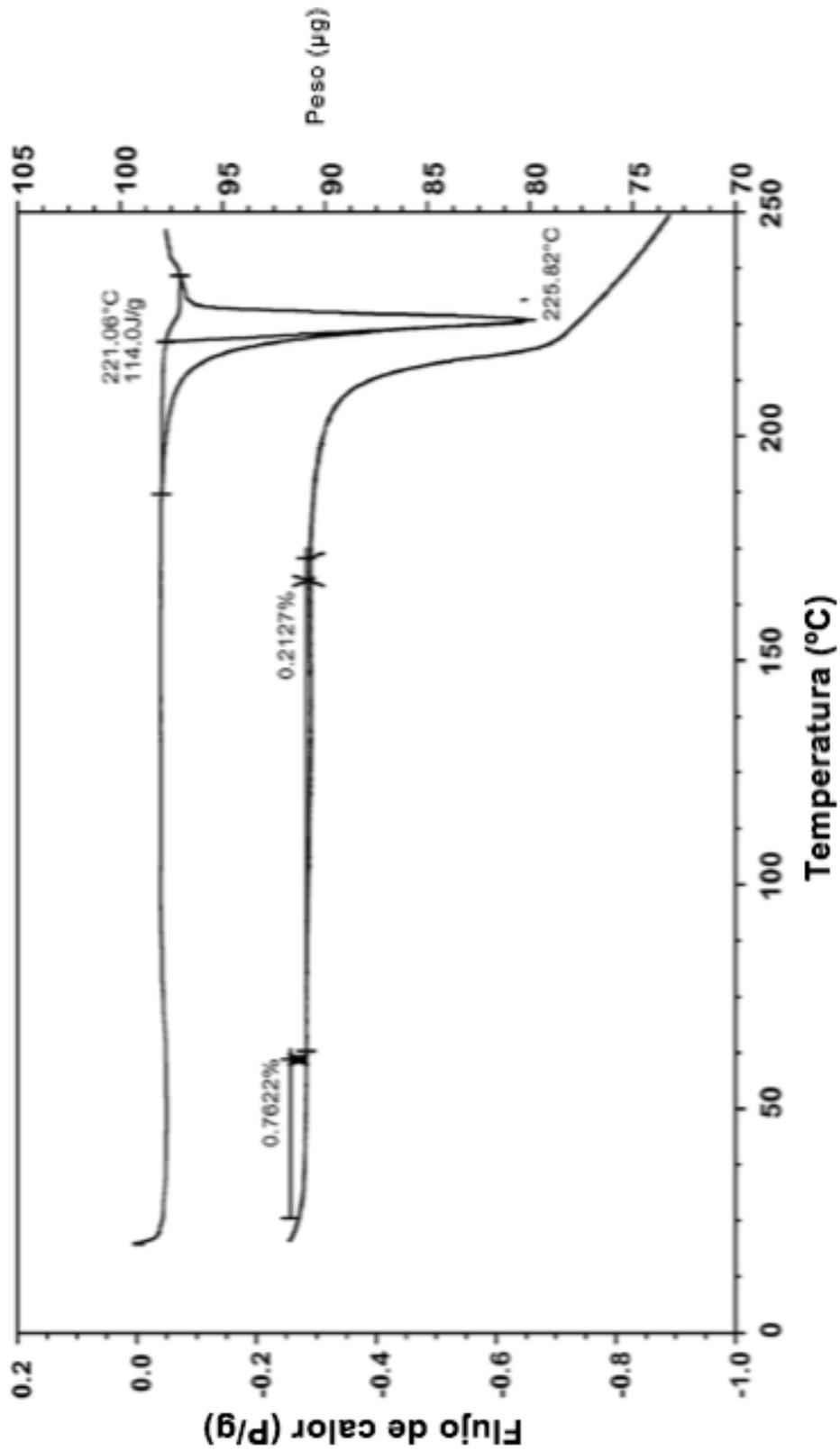


FIGURA 11

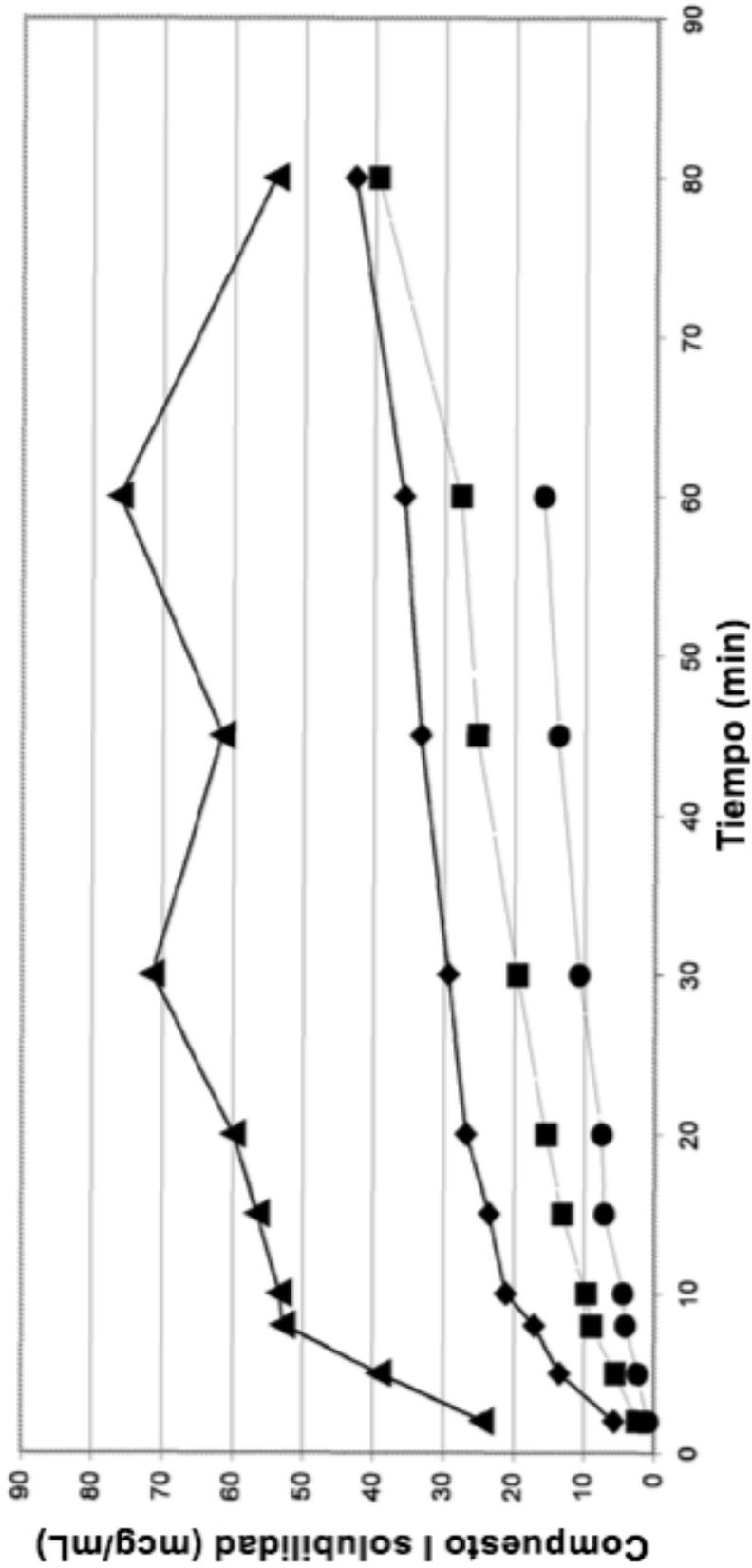


FIGURA 12

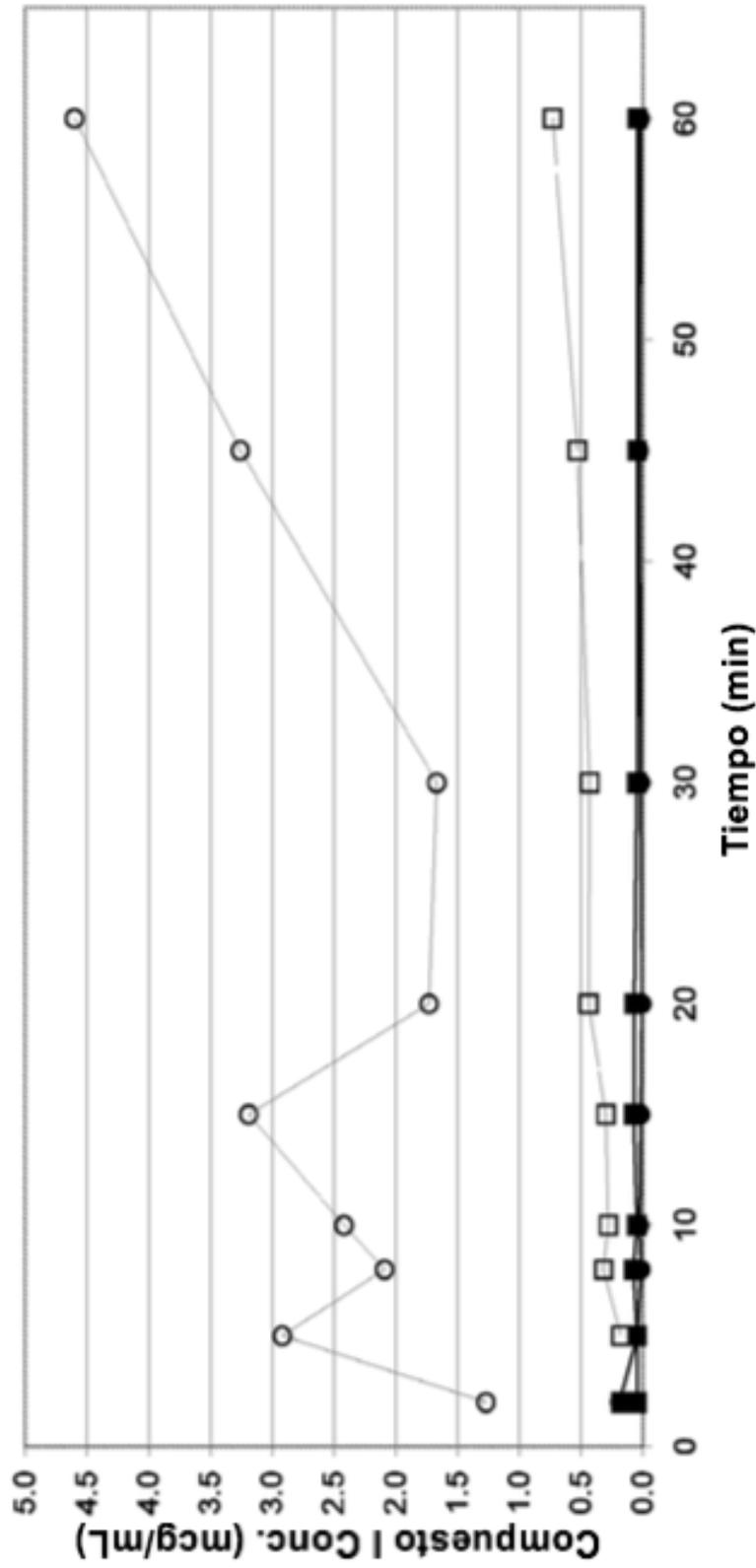


FIGURA 13

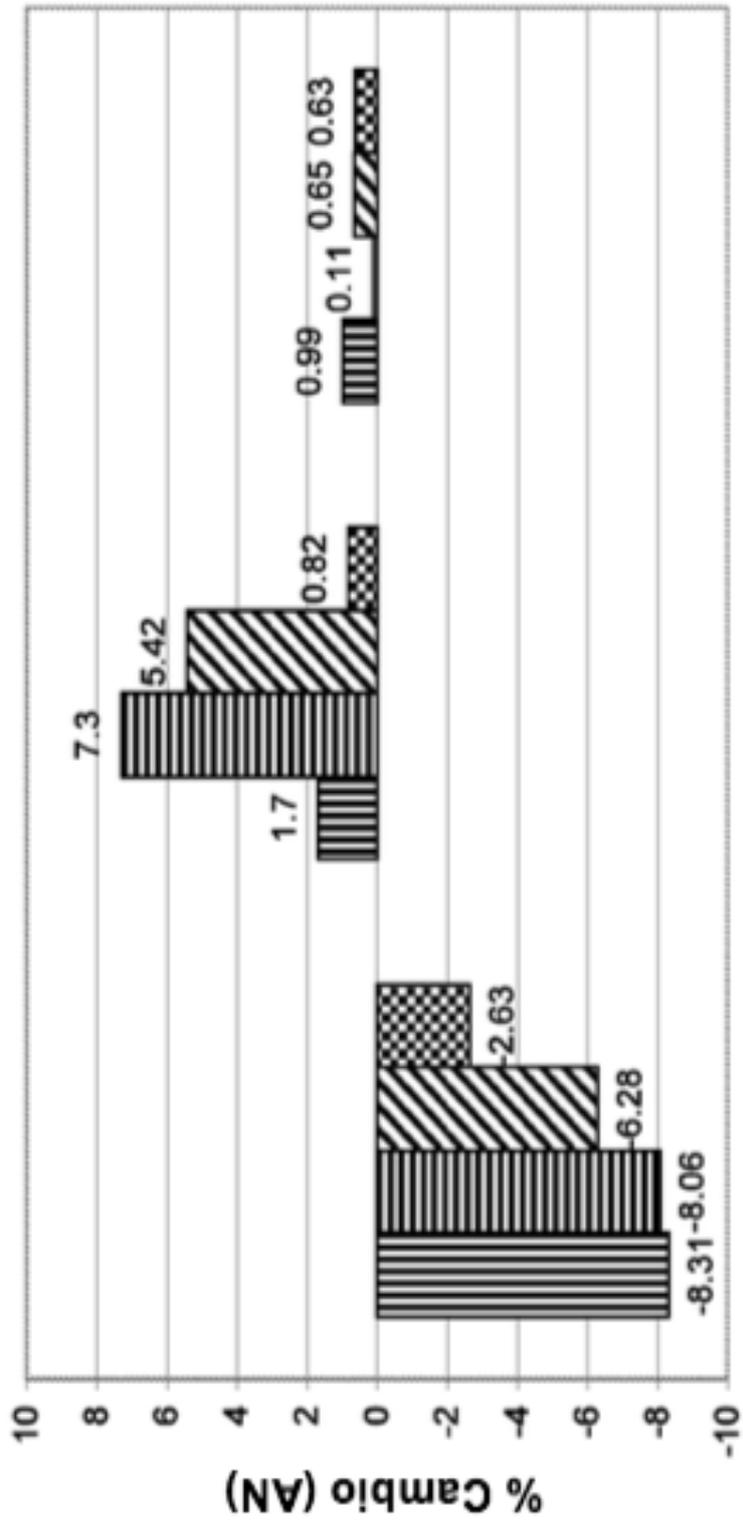


FIGURA 34

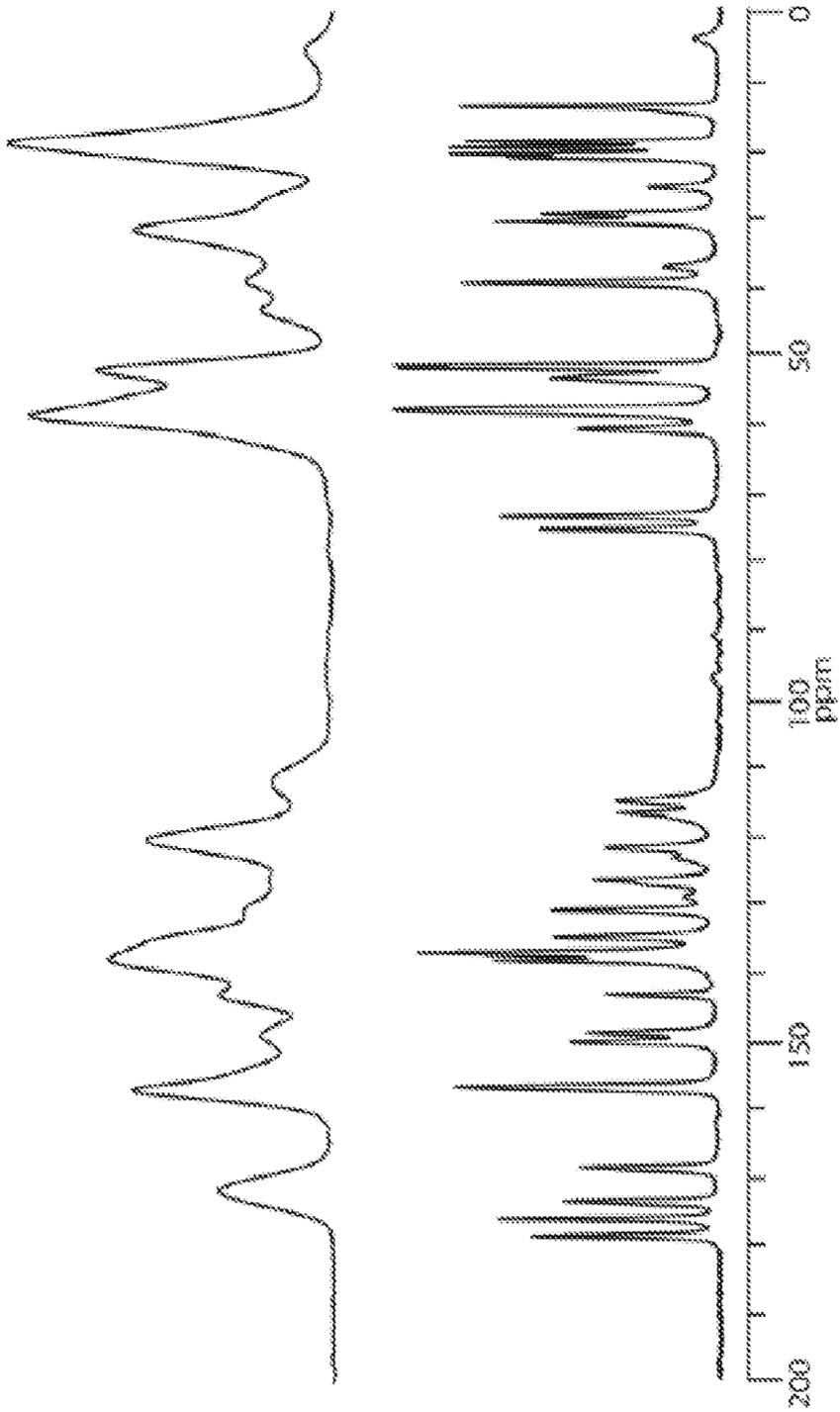


FIGURA 35

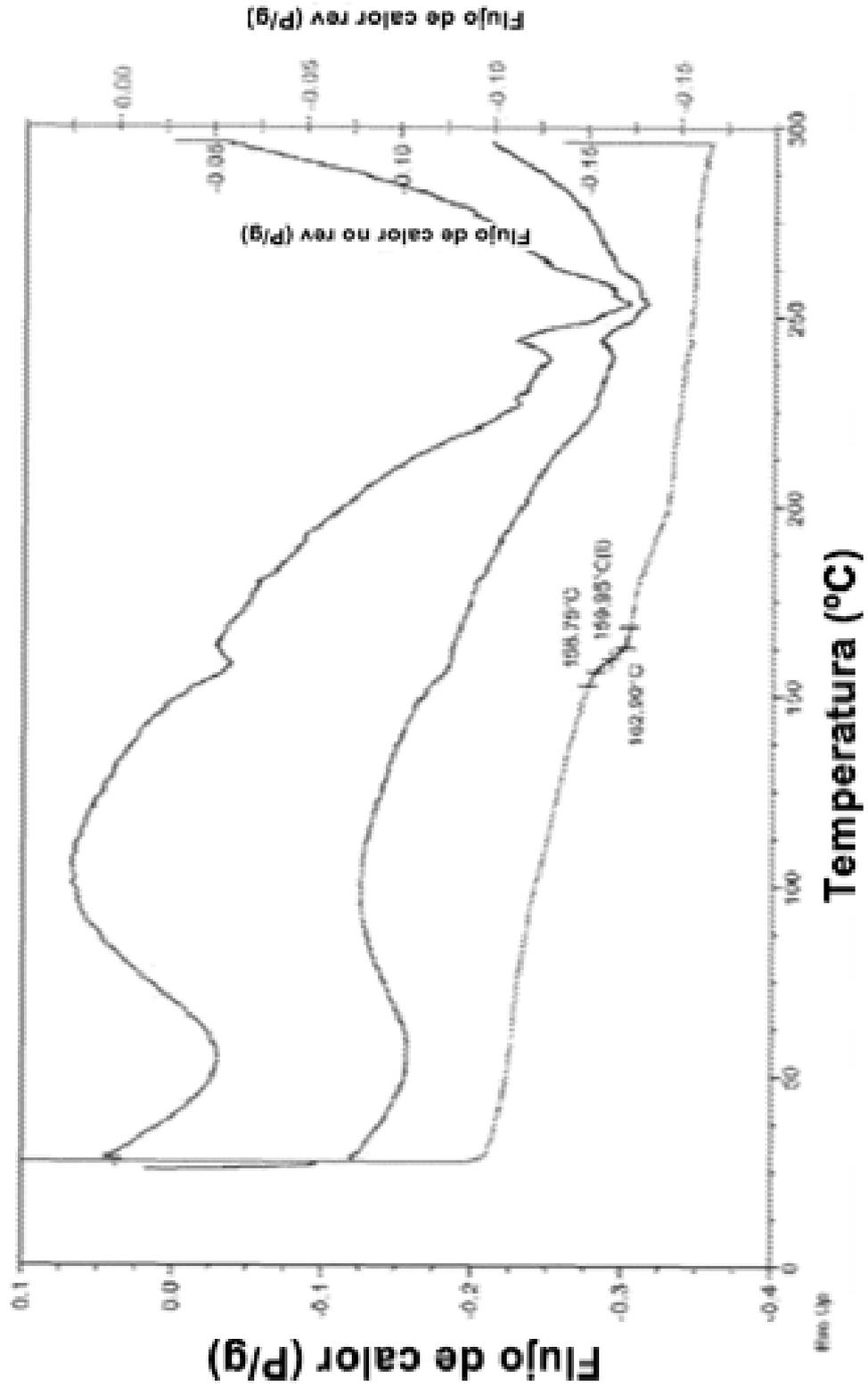


FIGURA 36

