

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 467**

51 Int. Cl.:

**C07F 5/02** (2006.01)  
**C07F 5/04** (2006.01)  
**C07F 5/06** (2006.01)  
**A61K 38/05** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**C07K 5/06** (2006.01)  
**C07K 5/078** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA  
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2009 PCT/US2009/003602**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2009 WO09154737**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2009 E 09767050 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **30.10.2024 EP 2318419**

54 Título: **Compuestos de ésteres boronato y composiciones farmacéuticas de los mismos**

30 Prioridad:

**17.06.2008 US 132244 P**  
**31.03.2009 US 211499 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente modificada:  
**31.03.2025**

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**  
**(100.00%)**  
**1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku**  
**Osaka 540-8645, JP**

72 Inventor/es:

**ELLIOTT, ERIC, L.;**  
**FERDOUS, ABU, J.;**  
**KAUFMAN, MICHAEL, J.;**  
**KOMAR, SONJA, A.;**  
**MAZAIK, DEBRA, L.;**  
**MCCUBBIN, QUENTIN, J.;**  
**NGUYEN, PHOUNG, M.;**  
**PALANIAPPAN, VAITHIANATHAN;**  
**SKWIERCZYNSKI, RAYMOND, D.;**  
**TRUONG, NOBEL, T.;**  
**VARGA, CSANAD, M. y**  
**ZAWANEH, PETER, N.**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 541 467 T5

## DESCRIPCIÓN

Compuestos de ésteres boronato y composiciones farmacéuticas de los mismos

5 Prioridad

Esta solicitud reivindica prioridad de la Solicitud de Patente Provisional U.S. No. de Serie 61/132.244, presentada el 17 de junio 2008, y la Solicitud de Patente Provisional U.S. No. de Serie 61/211.499, presentada el 31 de marzo 2009.

10 Campo de la Invención

La presente invención se refiere a compuestos de ésteres boronato útiles como inhibidores del proteasoma. La invención proporciona también composición farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención, y métodos de utilización de las composiciones en el tratamiento de diversas enfermedades.

15 Antecedentes de la Invención

El ácido borónico y los compuestos de ésteres boronato exhiben una diversidad de actividades biológicas farmacéuticamente útiles. Shenvi et al., Patente U.S. 4.499.082 (1985), da a conocer que los ácidos péptido- borónicos son inhibidores de ciertas enzimas proteolíticas. Kettner y Shenvi, Patente U.S. No. 5,187,157 (1993), Patente U.S. No. 5,242,904 (1993), y Patente U.S. No. 5,250,720 (1993), describen una clase de ácidos péptido-borónicos que inhiben proteasas semejantes a la tripsina. Kleeman et al., U.S. Pat. No. 5,169,841 (1992), describe ácidos péptido-borónicos modificados en el terminal N que inhiben la acción de la renina. Kinder et al., Patente U.S. No. 5.10peso a 25 peso948 (1192), describe que ciertos compuestos de ácido borónico inhiben el crecimiento de células de cáncer. Magde et al., WO 04/022.070 da a conocer compuestos de ácido péptido-borónico que inhiben la trombina. Boucher, Publicación de Solicitud de Patente U.S. No. 2006/0084.592 da a conocer diversas sales básicas de adición de compuestos de ácido péptido-borónico. Bachovchin et al., WO 07/005991 describe compuestos de ácido péptido-borónico que inhiben la proteína activadora de los fibroblastos.

El ácido borónico y sus compuestos éster son particularmente prometedores como inhibidores del proteasoma, una proteasa multi catalítica responsable de la mayor parte de la renovación de las proteínas intracelulares. Adams et al., Patente U.S. No. 5.780.454 (1998), describe compuestos ésteres y ácidos péptido-borónicos útiles como inhibidores del proteasoma. La referencia describe también el uso de compuestos éster y ácidos borónicos útiles como inhibidores del proteasoma. La referencia describe también el uso de compuestos ésteres y ácidos borónicos para reducir la tasa de degradación de proteínas musculares, reducir la actividad de NF-κB en una célula, reducir la tasa de degradación de la proteína p53 en una célula, inhibir la degradación de las ciclinas en una célula, inhibir el crecimiento de una célula de cáncer, e inhibir la adhesión de células dependiente de NF-κB. Furet et al., WO 02/0peso a 35 peso933, Chatterjee et al., WO 05/016859, y Bernadini et al., WO 05/021.558 y WO 06/08660 describen compuestos ésteres y ácidos borónicos adicionales que, según se dice, tienen actividad inhibidora del proteasoma.

Ciechanover, Cell, 79:13-21 (1994), da a conocer que el proteasoma es el Componente proteolítico del camino ubiquitina-proteasoma, en el cual las proteínas se direccionan para degradación por conjugación con moléculas múltiples de ubiquitina. Ciechanover describe también que el camino ubiquitina-proteasoma juega un papel fundamental en una diversidad de procesos fisiológicos importantes. Rivett et al., Biochem. J. 291:1 (1993) describe que el proteasoma exhibe actividades de peptidasa trípica, quimotríptica, y peptidil-glutamílica. Como constituyente del núcleo catalítico del proteasoma 26S se encuentra el proteasoma 20S. McCormack et al., Biochemistry 37:7792 (1998), expone que una diversidad de sustratos peptídicos con inclusión de Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC, Z-Leu-Leu-Arg-AMC, y Z-Leu-Leu-Glu-2NA, en donde Suc es *N*-succinilo, AMC es 7-amino-4-metilcumarina, y 2NA es 2-naftilamina, son escindidos por el proteasoma 20S.

La inhibición del proteasoma representa una importante y nueva estrategia el tratamiento del cáncer. King et al., Science 274:1652-1659 (1996), describe un papel esencial para el camino ubiquitina-proteasoma en la regulación del ciclo celular, el crecimiento neoplástico y la metástasis. Los autores enseñan que cierto número de proteínas reguladoras fundamentales, que incluyen ciclinas, y las quinasas p21 y p27<sup>KIP1</sup> dependientes de ciclinas, son degradadas temporalmente durante el ciclo celular por el camino ubiquitina-proteasoma. La degradación ordenada de estas proteínas es necesaria para que la célula progrese a lo largo del ciclo celular y sufra la mitosis.

Adicionalmente, el camino ubiquitina-proteasoma es necesario para la regulación de la transcripción. Palombella et al., Cell, 78:773 (1994), expone que la activación del factor de transcripción NF-κB está regulada por degradación mediada por el proteasoma de la proteína inhibidora IκB. A su vez, NF-κB juega un papel fundamental en la regulación de genes implicados en las respuestas inmune e inflamatoria. Read et al., Immunity 2: 493-506 (1995), expone que el camino ubiquitina-proteasoma es necesario para la expresión de moléculas de adhesión celular, tales como E-selectina, ICAM-1, y VCAM-1. Zetter, Seminars in Cancer Biology 4:219-229 (1993), expone que moléculas de adhesión celular están implicadas en la metástasis de los tumores y la angiogénesis *in vivo* por dirigir la adhesión y extravasación de células tumorales a y desde la vasculatura a sitios tisulares distantes en el cuerpo. Además, Beg y

Baltimore, Science 274:782 (1996), exponen que NF- $\kappa$ B es un factor controlador anti-apoptótico y la inhibición de la activación de NF- $\kappa$ B hace las células más sensibles al estrés ambiental y los agentes citotóxicos.

El inhibidor del proteasoma VELCADE® (bortezomib; ácido *N*-2-pirazinacarbonil-L-fenilalanina-L-leucinaborónico es el primer inhibidor del proteasoma que ha conseguido la aprobación reglamentaria. Mitsiades et al., Current Drug Targets, 7:1341 (2006), revisa los estudios clínicos que han conducido a la aprobación de bortezomib para el tratamiento de pacientes de mieloma múltiple que han recibido al menos una terapia previa. Fisher et al., J. Clin. Oncol., 30:4867 (2006), describe un estudio internacional multicentro en Fase II que confirma la actividad de bortezomib en pacientes con linfoma relapsado o refractario de las células del manto. Ishii et al., Anti-Cancer Agents en Medicinal Chemistry, 7:359 (2007), y Roccaro et al., Curr. Pharm. Biotech., 7:1341 (2006), discuten diversos mecanismos moleculares que pueden contribuir a las actividades antitumorales de bortezomib.

La actividad inhibidora del proteasoma del ácido (R)-1-((2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutilborónico, también denominado en el presente documento compuesto de fórmula (VIII-1), se divulga en el documento WO 09/020448. El documento WO 09/020448 también divulga compuestos de una fórmula general, cubriendo la fórmula general ésteres borónicos del compuesto de fórmula (VIII-1) incluidos los compuestos reivindicados.

El análisis estructural expuesto por Voges et al., Annu. Rev. Biochem., 68:1015 (1999) revela que el proteasoma 20S comprende 28 subunidades, siendo las subunidades catalíticas  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 5 responsables de la actividad de las peptidasas peptidilglutamilica, triptica y quimotriptica, respectivamente. Rivett et al., Curr. Protein Pept. Sci., 5:153 (2004) dan a conocer que cuando el proteasoma se expone a ciertas citocinas, con inclusión de IFN- $\gamma$  TNF- $\alpha$ , las subunidades  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 5 se reemplazan con subunidades catalíticas alternativas,  $\beta$ 1i,  $\beta$ 2i y  $\beta$ 5i, para producir una forma variante del proteasoma conocida como el inmunoproteasoma.

Orlowski, Hematology (Am. Soc. Hematol. Educ. Program) 220 (2005), expone que el inmunoproteasoma se expresa también constitutivamente en algunas células derivadas de precursores hematopoyéticos. El autor sugiere que inhibidores específicos para el inmunoproteasoma pueden permitir una terapia direccionada contra cánceres derivados de orígenes hematológicos, salvando con ello potencialmente los tejidos normales, tales como los tejidos gastrointestinal y neurológico, de los efectos secundarios.

Lamentablemente, los compuestos de ácido borónico son relativamente difíciles de obtener en forma analíticamente pura. Por ejemplo, Snyder et al., J. Am. Chem. Soc. 80: 3611 (1958), enseña que los compuestos de ácido arilborónico forman fácilmente anhídridos cíclicos trímeros en condiciones deshidratantes. Asimismo, los ácidos alquilborónicos y sus boroxinas son en muchos casos sensibles al aire. Korcek et al., J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 242 (1972), enseña que el ácido butilborónico es oxidado fácilmente por el aire para generar 1-butanol y ácido bórico. Estas dificultades limitan la utilidad farmacéutica de los compuestos de ácido borónico, complicando la caracterización de los agentes farmacéuticos que comprenden compuestos de ácido borónico y limitando su vida útil.

Plamondon et al., WO 02/059131 describe composiciones estables farmacéuticamente aceptables preparadas a partir de compuestos de ácido borónico y azúcares. Persiste la necesidad de formulaciones adicionales estables de compuestos de ácido borónico.

#### Breve Descripción de los Dibujos

La FIGURA 1 es un difractograma en polvo de rayos X del ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido) acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 1.

La FIGURA 2 es un perfil de calorimetría de barrido diferencial (DSC)/análisis termogravimétrico (TGA) para el ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 1.

La FIGURA 3 es un difractograma en polvo de rayos X del ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido) acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2.

La FIGURA 4 es un perfil de calorimetría de barrido diferencial (DSC)/análisis termogravimétrico (TGA) para el ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2.

La FIGURA 5 es un difractograma en polvo de rayos X de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-3-metil-1-[(4S)-4-metil-5-oxo-1,3,2] dioxaborolan -2-il]butil]amino)-2-oxoetil]benzamida (I-7).

La FIGURA 6 es un difractograma en polvo de rayos X de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-3-metil-1-(4-oxo-4H-1,3,2-benzodioxaborinin-2-il]butil]amino)-2-oxoetil]benzamida (1-13).

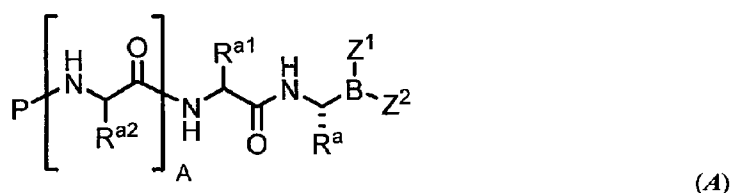
La FIGURA 7 es un difractograma en polvo de rayos X del ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido) acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (1-1) Forma 2.

La FIGURA 8 es un perfil de calorimetría de barrido diferencial (DSC) del ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2.

## Descripción de la Invención

La presente invención proporciona nuevos compuestos de ésteres boronato y composiciones estables farmacéuticamente aceptables que los comprenden. Estos compuestos y composiciones son útiles para inhibir la actividad del proteasoma *in vitro* e *in vivo*, y son especialmente útiles en el tratamiento de diversas enfermedades proliferativas celulares.

La memoria descriptiva se define a compuestos comprendidos en la fórmula general (A):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde

A es 0, 1, o 2;

P es hidrógeno o un resto bloqueador del grupo amino;

R<sup>a</sup> es hidrógeno, C<sub>1-6</sub> alifático, C<sub>1-6</sub> fluoroalifático, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-R<sup>B</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-NHC(=NR<sup>4</sup>)NH-Y, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-CON(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-N(R<sup>4</sup>)CON(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>6</sup>)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>5a</sup>)-OR<sup>5b</sup>, o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>5</sup>)-SR<sup>5</sup>;

R<sup>a1</sup> es hidrógeno, C<sub>1-6</sub> alifático, C<sub>1-6</sub> fluoroalifático, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-R<sup>B</sup>,

-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-NHC(=NR<sup>4</sup>)NH-Y, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-CON(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-N(R<sup>4</sup>)CON(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>,

-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>6</sup>)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>5a</sup>)-OR<sup>5b</sup>, o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>5</sup>)-SR<sup>5</sup>;

cada R<sup>a2</sup> es independientemente hidrógeno, C<sub>1-6</sub> alifático, C<sub>1-6</sub> fluoroalifático, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-R<sup>B</sup>,

-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-NHC(=NR<sup>4</sup>)NH-Y, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-CON(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>-N(R<sup>4</sup>)CON(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>,

-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>6</sup>)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>5a</sup>)-OR<sup>5b</sup>, o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>5</sup>)-SR<sup>5</sup>;

cada R<sup>B</sup> es independientemente un sistema de anillos mono-o bicclico sustituido o insustituido;

cada R<sup>4</sup> es independientemente hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo, o heterocíclico sustituido o insustituido; o dos R<sup>4</sup> en el mismo átomo de nitrógeno, considerados junto con el átomo de nitrógeno, forman un anillo heterocíclico de 4 a 8 miembros, sustituido o insustituido que tiene, además del átomo de nitrógeno, 0-2 heteroátomos de anillo seleccionados independientemente del grupo constituido por N, O, y S;

cada R<sup>5</sup> es independientemente hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo, o heterocíclico sustituido o insustituido;

cada R<sup>5a</sup> es independientemente hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo, o heterocíclico sustituido o insustituido;

cada R<sup>5b</sup> es independientemente hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo, o heterocíclico sustituido o insustituido;

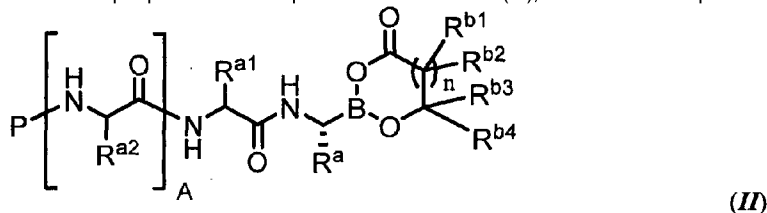
cada R<sup>6</sup> es independientemente un grupo alifático, arilo, o heteroarilo sustituido o insustituido;

Y es hidrógeno, -CN, o -NO<sub>2</sub>;

m es 0, 1, o 2; y

Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> forman juntos un resto derivado de un ácido alfa-hidroxicarboxílico, en donde el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno; o Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> forman juntos un resto derivado de un ácido beta-hidroxicarboxílico, en donde el átomo unido al boro es en cada caso un átomo de oxígeno.

En un aspecto, la invención proporciona compuestos de fórmula (A), caracterizado por la fórmula (II):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde: A es 0; R<sup>a</sup> es isobutilo; R<sup>a1</sup> es hidrógeno; P es R<sup>c</sup>-C(O)-; R<sup>c</sup> es -R<sup>D</sup>; -R<sup>D</sup> es 2,5-diclorofenilo; y en donde las variables R<sup>b1</sup>, R<sup>b2</sup>, R<sup>b3</sup>, R<sup>b4</sup> y n tienen los valores descritos en esta memoria, y en donde -OC(O)(CR<sup>b1</sup>R<sup>b2</sup>)<sub>n</sub>CR<sup>b3</sup>R<sup>b4</sup>O- es un resto derivado del ácido cítrico.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, y excipientes adicionales descritos en esta memoria, adecuados para la producción de una forma de dosificación farmacéutica oral.

- 5 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, y excipientes adicionales descritos en esta memoria, adecuados para la producción de una forma de dosificación farmacéutica liofilizada en polvo.

- 10 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, y excipientes adicionales descritos en esta memoria, adecuados para la producción de una forma de dosificación farmacéutica líquida.

- 15 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, y opcionalmente un lubricante.

- En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, opcionalmente un lubricante, opcionalmente un adyuvante de fluidez, y opcionalmente un tampón.

- 20 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, un agente de aumento de volumen, y un tampón.

- 25 En otro aspecto, la invención proporciona procesos para la producción de las composiciones farmacéuticas de la invención.

- Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden utilizarse para tratamiento de un paciente que padece, o corre riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia de un trastorno mediado por el proteasoma.

- 30 En otro aspecto, la invención proporciona las composiciones farmacéuticas de la invención para uso en el tratamiento del cáncer.

#### Definiciones

- 35 A no ser que se estipule explícitamente otra cosa, debe entenderse que el término "proteasoma" se refiere tanto al proteasoma constitutivo como al inmunoproteasoma.

- 40 El término "alifático" o "grupo alifático", como se utiliza en esta memoria, significa un hidrocarburo C<sub>1-12</sub> sustituido o insustituido de cadena lineal, ramificado, o cíclico que es totalmente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático. Por ejemplo, grupos alifáticos adecuados incluyen grupos alquilo, alquenilo, o alquinilo sustituidos o insustituidos lineales, ramificados o cíclicos e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alquenilo.

- 45 Los términos "alquilo", "alquenilo", y "alquinilo", utilizados solos o como parte de un resto mayor, se refieren a un grupo alifático de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono. Para los propósitos de la presente invención, el término "alquilo" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula es un átomo de carbono saturado. Sin embargo, un grupo alquilo puede incluir insaturación en otros átomos de carbono. Así, grupos alquilo incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo, alilo, propargilo, butilo, pentilo, y hexilo.

- 50 Para los propósitos de la presente invención, el término "alquenilo" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula forma parte de un enlace doble carbono-carbono. Grupos alquenilo incluyen, sin limitación, vinilo, 1-propenilo, 1-butenilo, 1-pentenilo, y 1-hexenilo.

- 55 Para los propósitos de la presente invención, el término "alquinilo" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula forma parte de un enlace triple carbono-carbono. Grupos alquinilo incluyen, sin limitación, etinilo, 1-propinilo, 1-butinilo, 1-pentinilo, y 1-hexinilo.

- 60 El término "ciclo-alifático", utilizado solo o como parte de un resto mayor, se refiere a un sistema de anillos cíclico-alifático saturado o parcialmente insaturado que tiene de 3 a aproximadamente 14 miembros, en donde el sistema de anillos alifático está sustituido opcionalmente. En algunas realizaciones, el ciclo-alifático es un hidrocarburo monocíclico que tiene 3-8 ó 3-6 átomos de carbono en el anillo. Ejemplos no limitantes incluyen ciclopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, cicloheptenilo, ciclooctilo, ciclooctenilo, y ciclooctadienilo. En algunas realizaciones, el cicloalifático es un hidrocarburo bicíclico puenteado o condensado que tiene 6-12, 6-10 ó 6-8 átomos de carbono en el anillo, en donde cualquier anillo individual en el sistema de anillos bicíclico tiene 3-8 miembros.
- 65

En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en el anillo cicloalifático, considerados junto con los átomos del anillo intermedios, forman un anillo aromático de 5 a 6 miembros o no aromático de 3 a 8 miembros condensado y opcionalmente sustituido que tiene 0-3 heteroátomos en el anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S. Así, el término "cicloalifático" incluye anillos alifáticos que están condensados a uno o más anillos arilo, hetero-arilo, o heterociclilo. Ejemplos no limitantes incluyen indanilo, 5,6,7,8-tetrahidro-quinoxalinilo, decahidronaftilo, o tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo alifático.

Los términos "arilo" y "ar-", utilizados solos o como parte de un resto mayor, v.g., "aralquilo", "aralcoxi", o "ariloxi-alquilo", se refieren a un hidrocarburo aromático  $C_6$  a  $C_{14}$ , que comprende de 1 a 3 anillos, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido. Preferiblemente, el grupo arilo es un grupo arilo  $C_{6-10}$ . Grupos arilo incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo, y antracenilo. En algunas realizaciones, 2 sustituyentes adyacentes en el anillo arilo, considerados junto con los átomos del anillo intermedios, forman un anillo aromático condensado opcionalmente sustituido de 5 a 6 miembros o un anillo no aromático de 4 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos en el anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S. Así, el término "arilo", como se utiliza en esta memoria, incluye grupos en los cuales un anillo arilo está condensado a uno o más anillos heteroarilo, cicloalifático, o heterociclilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo aromático. Ejemplos no limitantes de tales sistemas de anillo condensados incluyen indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, fluorenilo, indanilo, fenantridinilo, tetrahidronaftilo, indolinilo, fenoxazinilo, benzodioxanilo, y benzodioxolilo. Un grupo arilo puede ser mono-, bi-, tri-, o policíclico, preferiblemente mono-, bi-, o tricíclico, más preferiblemente mono- o bicíclico. El término "arilo" puede utilizarse intercambiabilmente con los términos "grupo arilo", "resto arilo", y "anillo arilo".

Un grupo "aralquilo" o "aril-alquilo" comprende un grupo arilo unido covalentemente a un grupo alquilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido. Preferiblemente, el grupo aralquilo es  $C_{6-10}$  aril( $C_{1-6}$ )alquilo,  $C_{6-10}$  aril( $C_{1-4}$ )alquilo, o  $C_{6-10}$  aril( $C_{1-3}$ )alquilo, incluyendo, sin limitación, bencilo, fenetilo, y naftilmetilo.

Los términos "heteroarilo" y "heteroar-", utilizados solos o como parte de un resto mayor, v.g., heteroaralquilo, o "heteroaralcoxi", se refieren a grupos que tienen 5 a 14 átomos de anillo, preferiblemente 5, 6, 9 ó 10 átomos de anillo; que tienen 6, 10 ó 14 electrones  $\pi$  compartidos en un sistema cíclico; y que tienen, además de átomos de carbono, de 1 a 4 heteroátomos. El término "heteroátomo" se refiere a nitrógeno, oxígeno o azufre, e incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno o azufre, y cualquier forma cuaternizada de un nitrógeno básico. Así, cuando se utiliza con referencia a un átomo de anillo de un heteroarilo, el término "nitrógeno" incluye un nitrógeno oxidado (como en N-óxido de piridina). Ciertos átomos de nitrógeno de grupos heteroarilo de 5 miembros son también sustituibles, como se define con mayor detalle más adelante. Los grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, radicales derivados de tiofeno, furano, pirrol, imidazol, pirazol, triazol, tetrazol, oxazol, isoxazol, oxadiazol, tiazol, isotiazol, tiadiazol, piridina, piridazina, pirimidina, pirazina, indolizina, naftiridina, pteridina, pirrolopiridina, imidazopiridina, oxazolopiridina, tiazolopiridina, triazolopiridina, pirrolopirimidina, purina, y triazolopirimidina. Como se utiliza en esta memoria, la frase "radical derivado de" significa un radical monovalente producido por la eliminación de un radical hidrógeno del sistema de anillos heteroaromático parental. El radical (es decir, el punto de fijación del anillo heteroarilo al resto de la molécula) puede crearse en cualquier posición sustituible en cualquier anillo del sistema de anillos heteroarilo parental.

En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en el heteroarilo, considerados junto con los átomos del anillo interpuestos, forman un anillo opcionalmente sustituido condensado aromático de 5 a 6 miembros o no aromático de 4 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados del grupo constituido por O, N y S. Así, los términos "heteroarilo" y "heteroar-", como se utilizan en esta memoria, incluyen también grupos en los cuales un anillo heteroaromático está condensado a uno o más anillos arilo, cicloalifático o heterociclilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo heteroaromático. Ejemplos no limitantes incluyen indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizínilo, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, y pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-one. Un grupo heteroarilo puede ser mono-, bi-, tri-, o policíclico, preferiblemente mono-, bi-, o tricíclico, más preferiblemente mono- o bicíclico. El término "heteroarilo" puede utilizarse intercambiabilmente con los términos "anillo heteroarilo", o "grupo heteroarilo", cualquiera de cuyos términos incluye anillos que están sustituidos opcionalmente. El término "heteroaralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heteroarilo, en donde las porciones alquilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidas de modo independiente.

Como se utilizan en esta memoria, los términos "anillo aromático" y "sistema de anillos aromáticos" se refieren a un grupo opcionalmente sustituido bi-, o tricíclico que tiene 0-6, preferiblemente 0-4 heteroátomos en el anillo, y que tiene 6, 10, o 14 electrones  $\pi$  compartidos en un sistema cíclico. Así, los términos "anillo aromático" y "sistema de anillos aromáticos" abarcan tanto grupos arilo como grupos heteroarilo.

Como se utilizan en esta memoria, los términos "heterociclo", "heterociclilo", "radical heterocíclico", y "radical heterociclilo" se utilizan intercambiabilmente y se refieren a un resto estable de 3 a 7 miembros monocíclico, o a un sistema heterocíclico de 7 a 10 miembros condensado o bicíclico de 6 a 10 miembros puenteado que es saturado o

parcialmente insaturado y que tiene, además de átomos de carbono, uno o más, preferiblemente 1 a 4 heteroátomos, como se definen arriba. Cuando se utiliza con referencia a un átomo del anillo de un heterociclo, el término "nitrógeno" incluye un nitrógeno sustituido. Como ejemplo, en un anillo heterocíclico que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados del grupo constituido por oxígeno, azufre o nitrógeno, el nitrógeno puede ser N (como en 3,4-dihidro-2*H*-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo), o \*NR (como en pirrolidinilo N-sustituido). Un anillo heterocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que conduzca a una estructura estable, y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido. Ejemplos de tales radicales heterocíclicos saturados o parcialmente insaturados incluyen, sin limitación, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, pirrolidinilo, pirrolidonilo, piperidinilo, pirrolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, dioxanilo, dioxolanilo, diazepinilo, oxazepinilo, tiazepinilo, morfolinilo, y quinuclidinilo.

En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en un anillo heterocíclico, considerados junto con los átomos intermedios del anillo, forman un anillo aromático de 5 a 6 miembros o un anillo no aromático de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido condensado que tiene 0-3 heteroátomos del anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S. Así, los términos "heterociclo", "heterocicilo", "anillo heterocíclico", "grupo heterocíclico", "resto heterocíclico", y "radical heterocíclico", se utilizan intercambiabilmente en esta memoria, e incluyen grupos en los cuales un radical heterocíclico está condensado a uno o más anillos arilo, heteroarilo, o cicloalifático, tales como indolinilo, 3*H*-indolilo, cromanilo, fenantridinilo, o tetrahidroquinolinilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo heterocíclico. Un grupo heterocíclico puede ser mono-, bi-, tri-, o policíclico, preferiblemente mono-, bi-, o tricíclico, más preferiblemente mono- o bicíclico. El término "heterocicilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heterocíclico, en donde las porciones alquilo y heterocíclico están sustituidos opcionalmente de modo independiente.

Como se utiliza en esta memoria, el término "parcialmente insaturado" se refiere a un resto de anillo que incluye al menos un enlace doble o triple entre los átomos del anillo. Debe entenderse que el término "parcialmente insaturado" abarca anillos que tienen sitios de insaturación múltiples, pero no debe entenderse que incluye restos arilo o heteroarilo, como se definen en esta memoria.

Los términos "haloalifático", "haloalquilo", "haloalquenilo" y "haloalcoxi" se refieren a un grupo alifático, alquilo, alquenilo o alcoxi, dependiendo del caso, que está sustituido con uno o más átomos de halógeno. Como se utiliza en esta memoria, el término "halógeno" o "halo" significa F, Cl, Br, o I. El término "fluoroalifático" se refiere a un haloalifático en el cual el halógeno es fluoro, con inclusión de grupos alifáticos perfluorados. Ejemplos de grupos fluoroalifáticos incluyen, sin limitación, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 1,1,2-trifluoroetilo, 1,2,2-trifluoroetilo, y pentafluoroetilo.

El término "grupo enlazador" o "enlazador" significa un resto orgánico que une 2 partes de un compuesto. Los enlazadores comprenden típicamente un átomo tal como oxígeno o azufre, una unidad tal como, -NH-, -CH<sub>2</sub>-, -C(O)-, -C(O)NH-, o una cadena de átomos, tal como una cadena alquilenos. La masa molecular de un enlazador está comprendida típicamente en el intervalo de aproximadamente 14 a 200, preferiblemente en el intervalo de 14 a 96 con una longitud de hasta aproximadamente 6 átomos. En algunas realizaciones, el enlazador es una cadena alquilenos C<sub>1-6</sub>.

El término "alquilenos" se refiere a un grupo alquilo bivalente. Una "cadena alquilenos", es un grupo polimetileno, es decir, -(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>, en donde y es un número entero positivo, preferiblemente de 1 a 6, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, o de 2 a 3. Una cadena alquilenos sustituida es un grupo polimetileno en el cual uno o más átomos de hidrógeno del metileno está(n) reemplazados con un sustituyente. Sustituyentes adecuados incluyen los descritos a continuación para un grupo alifático sustituido. Una cadena alquilenos puede estar sustituida también en una o más posiciones con un grupo alifático o un grupo alifático sustituido.

Una cadena alquilenos puede estar interrumpida también opcionalmente por un grupo funcional. Una cadena alquilenos está "interrumpida" por un grupo funcional cuando una unidad metileno interna está reemplazada con el grupo funcional. Ejemplos de "grupos funcionales de interrupción" adecuados incluyen -C(R\*)=C(R\*)-, -C≡C-, -O-, -S-, -S(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-, -S(O)<sub>2</sub>N(R\*)-, -N(R\*)-, -N(R\*)CO-, -N(R\*)C(O)N(R\*)-, -N(R\*)C(=NR\*)-N(R\*)-, -N(R\*)-C(=NR\*)-, -N(R\*)CO<sub>2</sub>-, -N(R\*)SO<sub>2</sub>-, -N(R\*)SO<sub>2</sub>N(R\*)-, -OC(O)-, -OC(O)O-, -OC(O)N(R\*)-, -C(O)-, -CO<sub>2</sub>-, -C(O)N(R\*)-, -C(O)-C(O)-, -C(=NR\*)-N(R\*)-, -C(NR\*)=N-, -C(=NR\*)-O-, -C(OR\*)=N-, -C(R°)=N-O-, o -N(R\*)-N(R\*)-. Cada R\* es independientemente hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo, o heterocíclico opcionalmente sustituido, o dos R\* en el mismo átomo de nitrógeno, considerados junto con el átomo de nitrógeno, forman un anillo aromático o no aromático de 5-8 miembros que tiene, además del átomo de nitrógeno, 0-2 heteroátomos del anillo seleccionados del grupo constituido por N, O, y S. Cada R° es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido alifático, arilo, heteroarilo, o heterocíclico. Cada R° es independientemente un grupo alifático, arilo, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

Ejemplos de cadenas alquilenos C<sub>3-6</sub> que han sido "interrumpidas" con -O- incluyen -CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O(CH<sub>2</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, y -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>O(CH<sub>2</sub>)-. Otros ejemplos de cadenas alquilenos que están "interrumpidas" con grupos funcionales incluyen -CH<sub>2</sub>Z\*CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>Z\*(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>Z\*(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -CH<sub>2</sub>Z\*(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Z\*CH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Z\*(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Z\*(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -

$(\text{CH}_2)_3\text{Z}^*(\text{CH}_2)-$ ,  $-(\text{CH}_2)_3\text{Z}^*(\text{CH}_2)_2-$ , y  $-(\text{CH}_2)_4\text{Z}^*(\text{CH}_2)-$ , en donde  $\text{Z}^*$  es uno de los grupos funcionales "de interrupción" arriba enumerados.

Una persona con experiencia ordinaria en la técnica reconocerá que cuando una cadena alquileo que tiene una interrupción está unida a un grupo funcional, ciertas combinaciones no serían suficientemente estables para uso farmacéutico. Únicamente compuestos estables o químicamente factibles están dentro del alcance de la presente invención. Un compuesto estable o químicamente factible es uno que mantiene su integridad durante un tiempo suficientemente largo para ser útil para administración terapéutica o profiláctica a un paciente. Con preferencia, la estructura química no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura inferior a  $-70^\circ\text{C}$ , inferior a  $-50^\circ\text{C}$ , inferior a  $-20^\circ\text{C}$ , inferior a  $0^\circ\text{C}$ , o inferior a  $20^\circ\text{C}$ , en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas durante al menos una semana.

El término "sustituido", como se utiliza en esta memoria, significa que un radical hidrógeno del resto designado está reemplazado con el radical de un sustituyente especificado, con tal que la sustitución conduzca a un compuesto estable o químicamente factible. El término "sustituible", cuando se utiliza con referencia a un átomo designado, significa que unido al átomo existe un radical hidrógeno, que puede reemplazarse con el radical de un sustituyente adecuado.

La frase "uno o más sustituyentes", como se utiliza en esta memoria, se refiere a un número de sustituyentes que es igual a uno hasta el número máximo de sustituyentes posibles basado en el número de sitios de enlace disponibles, con la condición de que se cumplan las condiciones anteriores de estabilidad y factibilidad química. A no ser que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes.

Como se utilizan en esta memoria, los términos "independientemente" o "seleccionado independientemente" significan que pueden seleccionarse los mismos valores o valores diferentes para casos múltiples de una variable dada en un mismo compuesto.

Un grupo arilo (con inclusión del resto arilo en aralquilo, aralcoxi, ariloxialquilo y análogos) o heteroarilo (con inclusión del resto heteroarilo en heteroaralquilo y heteroaralcoxi y análogos) puede contener uno o más sustituyentes. Ejemplos de sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo incluyen -halo,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{R}^*$ ,  $-\text{C}(\text{R}^*)=\text{C}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^*$ ,  $-\text{OR}^*$ ,  $-\text{SR}^\circ$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^\circ$ ,  $-\text{SO}_3\text{R}^*$ ,  $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{NR}^+\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{NR}^+\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^+)\text{C}(=\text{NR}^+)\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^+)\text{C}(=\text{NR}^+)\text{R}^\circ$ ,  $-\text{NR}^+\text{CO}_2\text{R}^\circ$ ,  $-\text{NR}^+\text{SO}_2\text{R}^\circ$ ,  $-\text{NR}^+\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{O}-\text{CO}_2\text{R}^*$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^*$ ,  $-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^+)\text{OR}^*$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^+)\text{C}(=\text{NR}^+)\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^+)\text{C}(=\text{NR}^+)\text{N}(\text{R}^+)\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{C}(=\text{NR}^+)\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NR}^+)\text{OR}^*$ ,  $-\text{N}(\text{R}^+)\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NR}^+)\text{N}(\text{R}^+)\text{OR}^*$ ,  $-\text{C}(\text{R}^\circ)=\text{N}-\text{OR}^*$ ,  $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^*)_2$ ,  $-\text{O}-\text{P}(\text{O})-\text{OR}^*$ , y  $-\text{P}(\text{O})(\text{NR}^+)\text{N}(\text{R}^*)_2$ , en donde  $\text{R}^\circ$ ,  $\text{R}^+$ , y  $\text{R}^*$  son como se define arriba, o 2 sustituyentes adyacentes, considerados junto con sus átomos intermedios, forman un anillo de 5-6 miembros insaturado o parcialmente insaturado que tiene 0-3 átomos del anillo seleccionados del grupo constituido por N, O, y S.

Un grupo alifático o un anillo heterocíclico no aromático puede estar sustituido con uno o más sustituyentes. Ejemplos de sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o de un anillo heterocíclico no aromático incluyen, sin limitación, los arriba enumerados para el carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo y los siguientes:  $=\text{O}$ ,  $=\text{S}$ ,  $=\text{C}(\text{R}^*)_2$ ,  $=\text{N}-\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $=\text{N}-\text{OR}^*$ ,  $=\text{N}-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $=\text{N}-\text{NHCO}_2\text{R}^\circ$ ,  $=\text{N}-\text{NHSO}_2\text{R}^\circ$ , o  $=\text{N}-\text{R}^*$ , donde cada uno de  $\text{R}^*$  y  $\text{R}^\circ$  es como se ha definido arriba.

Sustituyentes adecuados en un átomo de nitrógeno sustituible de un anillo heteroarilo o heterocíclico no aromático incluyen  $-\text{R}^*$ ,  $-\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^*$ ,  $-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^*$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}^*$ ,  $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{R}^*)_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NH})\text{N}(\text{R}^*)_2$ , y  $-\text{NR}^+\text{SO}_2\text{R}^*$ ; en donde cada  $\text{R}^*$  es como se ha definido arriba. Un átomo de nitrógeno del anillo de un anillo heteroarilo o heterocíclico no aromático puede estar también oxidado para formar el compuesto *N*-hidroxi o *N*-óxido correspondiente. Un ejemplo no limitante de un heteroarilo de este tipo que tiene un átomo de nitrógeno del anillo oxidado es *N*-óxido-piridilo.

En esta memoria se utiliza el término "aproximadamente" para significar más o menos, en la región de, en torno a, o alrededor de. Cuando se utiliza el término "aproximadamente" en asociación con un intervalo numérico, el mismo modifica dicho intervalo ampliando los límites superior e inferior de los valores numéricos indicados. En general, el término "aproximadamente" se utiliza en esta memoria para modificar un valor numérico superior e inferior al valor numérico indicado por una varianza de 10%.

Como se utiliza en esta memoria, el término "comprende" significa "incluye, pero sin carácter limitante".

Será evidente para un experto en la técnica que ciertos compuestos de esta invención pueden existir en formas tautómeras, estando la totalidad de dichas formas tautómeras de los compuestos dentro del alcance de la invención. A no ser que se indique otra cosa, debe entenderse que las estructuras representadas en esta memoria incluyen también todos los isómeros geométricos (o de conformación), es decir, los isómeros geométricos (*Z*) y (*E*) del enlace doble y los isómeros de conformación (*Z*) y (*E*), así como todas las formas estereoquímicas de la estructura; es decir las configuraciones *R* y *S* para cada centro asimétrico. Por tanto, están dentro del alcance de la invención tanto los



isómeros estereoquímicos simples como las mezclas de enantiómeros y diastereoisómeros de los presentes compuestos. Cuando una mezcla está enriquecida en un estereoisómero con relación a otro estereoisómero, la mezcla puede contener, por ejemplo, un exceso enantiomérico de al menos 50%, 75%, 90%, 99%, o 99.5%.

5

A no ser que se indique otra cosa, debe entenderse también que las estructuras representadas en esta memoria incluyen compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen la presente estructura excepto en lo que respecta al reemplazamiento de un átomo de hidrógeno por un deuterio o tritio, o el reemplazamiento de un átomo de carbono por un carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$  están dentro del alcance de la invención.

10

Como se utiliza en esta memoria, el término "siembra" se emplea para referirse a la adición de un material cristalino para iniciar la cristalización o recristalización.

15

Cuando un compuesto cristaliza a partir de una solución o papilla, el mismo puede cristalizar con diferentes configuraciones de la red espacial, una propiedad a la que se hace referencia como "polimorfismo". Cada una de las formas cristalinas es un "polimorfo". Si bien los polimorfos de una sustancia dada tienen la misma composición química, pueden diferir unos de otros con respecto a una o más propiedades físicas, tales como solubilidad y disociación, densidad verdadera, punto de fusión, forma del cristal, comportamiento de compactación, propiedades de flujo, y/o estabilidad en estado sólido.

20

Como se utiliza en esta memoria, el término "solvato" o "solvatado" significa una asociación física de un compuesto con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física incluye enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato será susceptible de aislamiento, por ejemplo cuando están incorporadas una o más moléculas de disolvente en la red del cristal del sólido cristalino. "Solvato" o "solvatado" abarca tanto solvatos en fase de solución como solvatos aislables. Solvatos representativos incluyen, por ejemplo, hidratos, etanolatos, o metanolatos. Las propiedades físicas de un solvato difieren típicamente de otros solvatos, y de las formas no solvatadas del compuesto. Dado que la composición química difiere también entre los solvatos, se hace referencia a estas formas como "pseudo-polimorfos".

25

30

Como se utiliza en esta memoria, el término "hidrato" es un solvato en el que la molécula del disolvente es  $\text{H}_2\text{O}$  que está presente en una cantidad estequiométrica definida, y puede incluir, por ejemplo, semihidrato, monohidrato, dihidrato, o trihidrato. Como se utiliza en esta memoria, el término "anhidrato" es un compuesto de la invención que no contiene cantidad alguna de  $\text{H}_2\text{O}$  incorporada en su red cristalina.

35

Como se utiliza en esta memoria, "cristalino" hace referencia a un sólido que tiene una estructura química muy regular. En particular, un compuesto cristalino puede producirse como una o más formas cristalinas simples del compuesto. Para los propósitos de esta solicitud, los términos "forma cristalina simple" o "forma cristalina" se utilizan de modo intercambiable y distinguen entre cristales que tienen propiedades diferentes (v.g., patrones XRPD diferentes, resultados de escaneo DSC diferentes). Así, en esta memoria se considera que cada polimorfo y pseudopolimorfo distinto de un compuesto es una forma cristalina simple distinta.

40

"Sustancialmente cristalino" se refiere a un compuesto que puede ser cristalino al menos en un porcentaje en peso particular. Porcentajes en peso particulares son 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9%, o cualquier porcentaje entre 10 % y 100%. En algunas realizaciones, sustancialmente cristalino se refiere a compuestos que son al menos 70% cristalinos. En otras realizaciones, sustancialmente cristalino se refiere a compuestos que son al menos 90% cristalinos.

45

"Sustancialmente puro" se refiere a un compuesto que puede tener al menos una pureza de porcentaje en peso particular del compuesto. Porcentajes en peso particulares son aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o aproximadamente 99.5%.

50

A no ser que se indique explícitamente otra cosa, se entenderá que las estructuras representadas en esta memoria incluyen todos los hidratos, anhidratos, solvatos y polimorfos de las mismas.

55

Como se utilizan en esta memoria, los términos "compuesto (I-1)" y "ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico" se utilizan intercambiamente, e incluyen todas las formas cristalinas. Ambos términos hacen referencia a los compuestos producidos en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 1A en los ejemplos siguientes que incluyen a la vez la Forma 1 y la Forma 2.

60

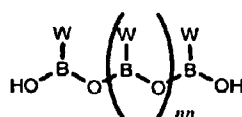
Como se utilizan en esta memoria, los términos "compuesto (I-1) Forma 2" y "ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico Forma 2" se utilizan intercambiamente. Ambos términos se refieren a la forma cristalina 2 producida en el Ejemplo 1 Forma 2 y el Ejemplo 1A en los Ejemplos que siguen.

65

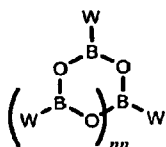
Como se utilizan en esta memoria, los términos "compuesto de fórmula (VIII-1)", y "ácido (R)-1-((2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutilborónico" se utilizan intercambiabilmente. El compuesto de fórmula (VIII-1) se describe en U.S. Pat. No. 7,442,830 y WO 09/020448.

Como se utilizan en esta memoria, los términos "compuesto de fórmula (1-15)", "compuesto (I-15)" y "(1-15)" se utilizan intercambiabilmente y se emplean para hacer referencia al éster citrato del compuesto (VIII-15), y el compuesto producido en el Ejemplo 15 de los Ejemplos siguientes.

Como se utiliza en esta memoria, el término "anhídrido" utilizado con referencia a un ácido borónico tal como el compuesto de fórmula (VIII), se refiere a un compuesto químico formado por combinación de 2 o más moléculas de un compuesto de ácido borónico con pérdida de una o más moléculas de agua. Cuando se mezcla con agua, el compuesto anhídrido de ácido borónico se hidrata para liberar el compuesto ácido borónico libre. En diversas realizaciones, el anhídrido de ácido borónico puede comprender 2, 3, 4 o más unidades de ácido borónico, y puede tener una configuración cíclica o lineal. Ejemplos no limitantes de anhídridos de ácido borónico oligómeros de compuestos peptídicos de ácido borónico de la invención se ilustran a continuación:

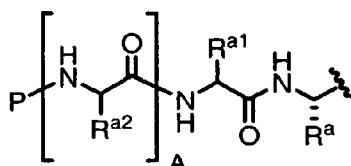


(1)



(2)

En las fórmulas (1) y (2), la variable nn es un número entero de 0 a aproximadamente 10, preferiblemente 0, 1, 2, 3, o 4. En algunas realizaciones, el compuesto anhídrido de ácido borónico comprende un trímero cíclico ("boroxina") de fórmula (2), en donde nn es 1. La variable W tiene la fórmula (3):



(3);

en donde P, R<sup>a2</sup>, A, R<sup>a1</sup> y R<sup>a</sup> son como se define en esta memoria.

Como se utiliza en esta memoria, el peso total de una forma de dosificación farmacéutica oral simple se determina por suma de todos los pesos de los Componentees en la forma de dosificación farmacéutica oral, y no incluye el peso de ningún revestimiento que pueda aplicarse opcionalmente a la forma de dosificación farmacéutica oral después que se forma la misma. El peso total de una forma de dosificación farmacéutica oral simple se utiliza como la base para calcular el porcentaje en peso de cada uno de los Componentes que comprenden la forma de dosificación farmacéutica oral.

Como se utiliza en esta memoria, "humedad baja" utilizada con referencia a un excipiente tal como una carga, se refiere a un excipiente que tiene un contenido de agua de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 4%. El término "humedad baja" puede utilizarse intercambiabilmente con el término "bajo en agua".

Como se utiliza en esta memoria, el término "polvo liofilizado", "torta", o "torta liofilizada" se refiere a cualquier material sólido obtenido por liofilización de una mezcla acuosa.

Como se utiliza en esta memoria, el término "modificador de la tonicidad" se refiere a agentes que contribuyen a la osmolalidad de un líquido o una solución.

Como se utilizan en esta memoria, los términos "éster boronato" y "éster borónico" se utilizan intercambiabilmente y se refieren a un compuesto químico que contiene un resto -B(Z<sup>1</sup>)(Z<sup>2</sup>), en donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> forman juntos un resto en el que el átomo unido al boro en cada caso es un átomo de oxígeno.

En algunas realizaciones, el resto éster boronato es un anillo de 5 miembros. En algunas otras realizaciones, el resto éster boronato es un anillo de 6 miembros. En algunas otras realizaciones, el resto éster boronato es una mezcla de un anillo de 5 miembros y un anillo de 6 miembros.

- 5 Como se utiliza en esta memoria, el término "ácido alfa-hidroxicarboxílico" se refiere a un compuesto que contiene un grupo hidroxilo unido directamente a un átomo de carbono en una posición alfa con relación a un grupo ácido carboxílico. Como se utiliza en esta memoria, el término "ácido alfa-hidroxicarboxílico" no debe considerarse limitado a compuestos que tienen un solo grupo hidroxilo y un solo grupo ácido carboxílico.
- 10 Como se utiliza en esta memoria, el término "ácido beta-hidroxicarboxílico" se refiere a un compuesto que contiene un grupo hidroxilo unido directamente a un átomo de carbono en una posición beta con relación a un grupo ácido carboxílico. Como se utiliza en esta memoria, el término "ácido beta-hidroxicarboxílico" no debe considerarse limitado a compuestos que tienen un solo grupo hidroxilo y un solo grupo ácido carboxílico.
- 15 Como se utiliza en esta memoria, el término "resto derivado de un ácido alfa-hidroxicarboxílico" se refiere a un resto formado por eliminación de un átomo de hidrógeno de un ácido carboxílico dentro de un ácido alfa-hidroxicarboxílico y por eliminación de un átomo de hidrógeno de un grupo hidroxilo unido directamente a un átomo de carbono en una posición alfa con relación al grupo ácido carboxílico. Como se utiliza en esta memoria, el término "resto derivado de un ácido beta-hidroxicarboxílico" se refiere a un resto formado por eliminación de un átomo de hidrógeno de un ácido carboxílico dentro de un ácido beta-hidroxicarboxílico y por eliminación de un átomo de hidrógeno de un grupo hidroxilo directamente unido a un átomo de carbono en una posición beta con relación al grupo ácido carboxílico.
- 20

#### Descripción Detallada de la Invención

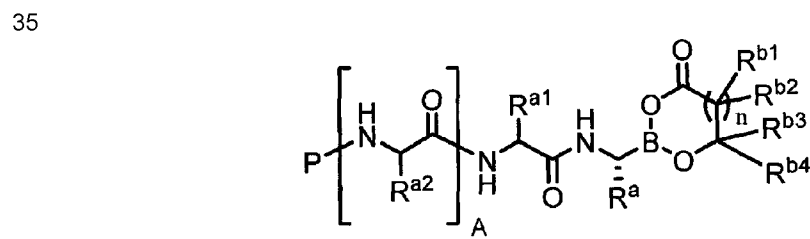
- 25 La definición se define exclusivamente por las reivindicaciones adjuntas.

El ácido alfa-hidroxicarboxílico es el ácido cítrico.

El ácido beta-hidroxicarboxílico es el ácido cítrico.

- 30 El alfa-hidroxiácido o beta-hidroxiácido es el ácido cítrico.

En algunas realizaciones, los compuestos de la fórmula general (A) se caracterizan por la fórmula (II):



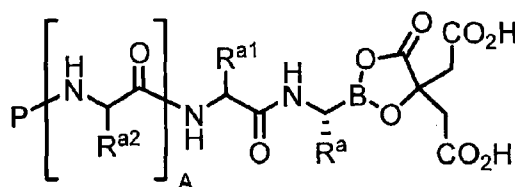
(II)

en donde:

- 40 A es 0,  $R_a$  es isobutilo,  $R^{a1}$  es hidrógeno, P es  $R^c-C(O)-$ ,  $R^c$  es  $R^D$ ,  $R^D$  es 2,5-diclorofenilo, n es 0 o 1, y las variables  $R^{b1}$ ,  $R^{b2}$ ,  $R^{b3}$  y  $R^{b4}$  tienen los valores arriba descritos, y en donde  $-OC(O)(CR^{b1}R^{b2})_nCR^{b3}R^{b4}O-$  es un resto derivado del ácido cítrico.

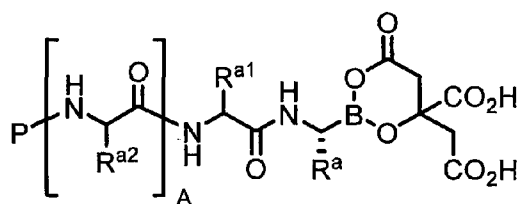
$R^{b3}$  y  $R^{b4}$  contienen un grupo funcional que puede formar un enlace adicional con el átomo de boro. El grupo funcional es un ácido carboxílico.

- 45 El ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico es ácido cítrico y, en algunas realizaciones, el compuesto de la fórmula general (II) se caracteriza por la fórmula (III) o (IV):



(III);

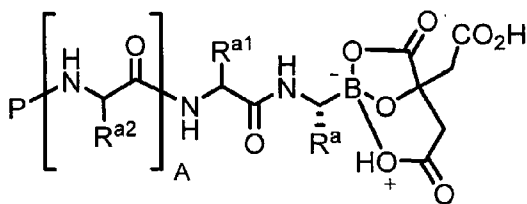
50



(IV);

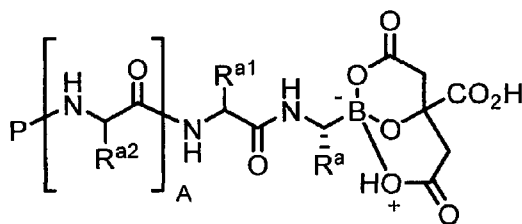
o una mezcla de las mismas, en donde las variables P, A, R<sup>a</sup>, R<sup>a1</sup>, y R<sup>a2</sup> tienen los valores arriba descritos.

- 5 El ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico es ácido cítrico, y puede formarse un enlace adicional entre el ácido carboxílico de la fórmula (III) o (IV) y el átomo de boro. Sin limitarse a ninguna teoría de enlaces químicos, en tales realizaciones, el compuesto de la fórmula general (II) puede representarse por la fórmula (IIIa) o (IVa):



(IIIa);

10



(IVa);

o una mezcla de las mismas, en donde las variables P, A, R<sup>a</sup>, R<sup>a1</sup>, y R<sup>a2</sup> tienen los valores arriba descritos.

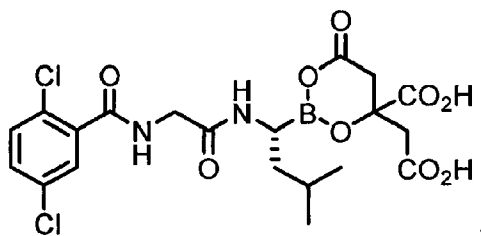
- 15 Se reconoce que, sin estar limitado por ninguna teoría de enlaces químicos, existen otras representaciones que podrían utilizarse para representar este enlace adicional del ácido carboxílico con el átomo de boro en las fórmulas (IIIa) y (IVa).

Se describen los valores siguientes para las variables en cualquiera de las fórmulas (II), (III), (IIIa), (IV), o (IVa).

20

La variable *n* es 0, o 1. En ciertas realizaciones, *n* es 0. En ciertas otras realizaciones, *n* es 1.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) se caracteriza por la fórmula (I-1):



;

25

(I-1)

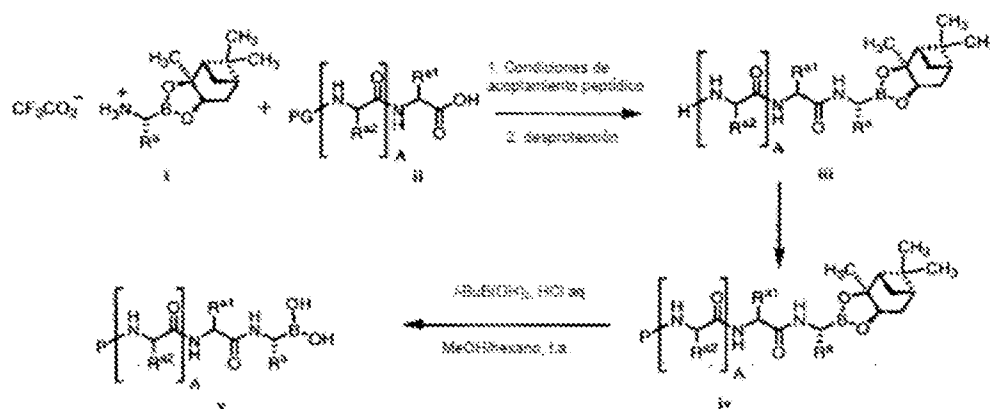
o una forma cristalina del mismo.

#### Metodología General de la Síntesis

30

Los compuestos de fórmula (A) se pueden preparar por esterificación de los ácidos borónicos correspondientes. Tales compuestos de ácido borónico se pueden preparar por métodos conocidos por una persona con experiencia ordinaria en la técnica. Véase, v.g., Adams et. al., Patente U.S. No. 5,780,454; Pickersgill et al., Publicación de Patente Internacional WO 2005/097809. Una ruta ilustrativa de síntesis se expone a continuación en el Esquema 1.

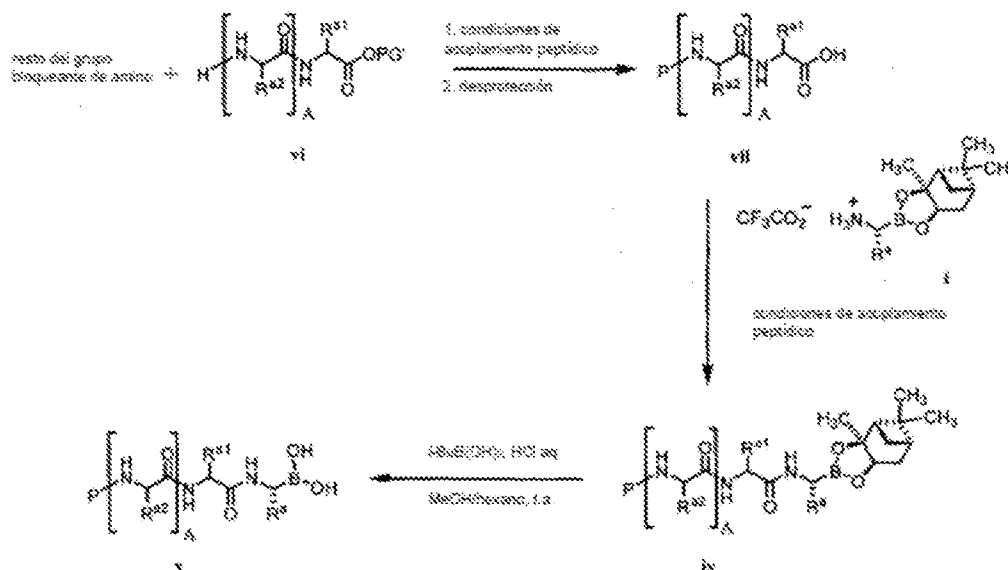
Esquema 1:



- 5 El acoplamiento del compuesto **i** con un aminoácido protegido en *N* **ii**, seguido por desprotección terminal en *N*, proporciona el compuesto **iii** o una sal del mismo. Ejemplos de grupos protectores (PG) adecuados incluyen, sin limitación, grupos protectores acilo, v.g., formilo, acetilo (Ac), succinilo (Suc), y metoxisuccinilo; y grupos protectores uretano, v.g., *ter*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Cbz), y fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc). Opcionalmente, PG es hidrógeno y no es necesaria desprotección. La reacción de acoplamiento peptídico puede conducirse por
- 10 conversión previa del resto ácido carboxílico del compuesto **ii** en un éster o haluro de ácido activado, v.g., un éster de *O*-(*N*-hidroxisuccinimida), seguido por tratamiento con el compuesto **i**. Alternativamente, el éster activado puede generarse *in situ* por contacto del ácido carboxílico con un reactivo de acoplamiento peptídico. Ejemplos de reactivos de acoplamiento peptídico adecuados incluyen, sin limitación, reactivos carbodiimida, v.g., dicitohexilcarbodiimida (DCC) o 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC); reactivos de fosfonio, v.g., hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-il)tris(dimetil-amino)fosfonio (BOP); y reactivos de uronio, v.g. tetrafluoroborato de *O*-(1H-benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (TBTU).

- 20 El compuesto **iii** se acopla luego con un resto bloqueante del grupo amino, para producir un compuesto **iv**. Las condiciones de acoplamiento peptídico arriba descritas para el acoplamiento de los compuestos **i** y **ii** son adecuadas también para acoplamiento del compuesto **iii** con el compuesto bloqueante del grupo amino. La desprotección del resto ácido borónico proporciona luego el compuesto **v**. El paso de desprotección se realiza preferiblemente por transesterificación en una mezcla bifásica que comprende el compuesto éster borónico **iv**, un aceptor orgánico de ácido borónico, un alcohol inferior, un disolvente hidrocarbonado  $\text{C}_{5-8}$ , y ácido acuoso mineral. Otros reactivos que
- 25 pueden utilizarse para desprotección del resto ácido borónico incluyen, sin limitación,  $\text{BCl}_3$ , hidruro de litio y aluminio y  $\text{NaIO}_4$ .

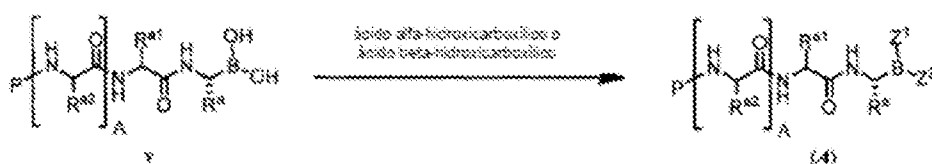
Esquema 2:



Alternativamente, el orden de las reacciones de acoplamiento puede invertirse, como se muestra en el Esquema 2. Así, un aminoácido vi protegido en O se acopla primeramente con un resto bloqueante del grupo amino, seguido por hidrólisis del éster, para formar el compuesto vii. Opcionalmente, PG' es H y la hidrólisis del éster no es necesaria, conduciendo directamente al compuesto vii. El acoplamiento con el compuesto i y la desprotección del ácido borónico se realizan entonces como se describe arriba para el Esquema 1 fin de proporcionar el compuesto v.

El compuesto v se hace reaccionar con el ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico apropiado para proporcionar el compuesto de fórmula (A) como se muestra en el Esquema 3.

Esquema 3:



La conversión de v en el compuesto de fórmula (A) puede realizarse en condiciones de esterificación empleando aproximadamente un equivalente molar del ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico en un disolvente tal como acetato de etilo a una temperatura comprendida entre aproximadamente 40 °C y aproximadamente 80 °C. La conversión de v en el compuesto de fórmula (A) puede realizarse también como se ha descrito arriba empleando un exceso molar del ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico. Ejemplos de otros disolventes adecuados para esta conversión incluyen, pero sin carácter limitante, metil-isobutil-cetona, acetona, acetonitrilo, 2-metil tetrahydrofurano, anisol, acetato de isopropilo, dimetoxietano, tetrahydrofurano, dioxano, diclorometano, tolueno, heptano, metil-ciclohexano, *ter*-butilmetiléter, y mezclas de los mismos. La elección del disolvente dependerá parcialmente de la solubilidad del ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico utilizado. La temperatura seleccionada para la conversión de v en el compuesto de fórmula (A) dependerá en parte del punto de ebullición del disolvente o mezcla disolventes utilizado(a).

La conversión de v en el compuesto de fórmula (A) puede ser catalizada por una base de amina orgánica tal como, pero sin carácter limitante, trietilamina, trietilendiamina, piridina, colidina, 2,6-lutidina, 4-dimetilaminopiridina, di-*ter*-butilpiridina, *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina, tetrametilguanidina, diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), 1,4-*ter*-butilEl compuesto de fórmula v y el ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico se calientan juntos en el disolvente de elección durante cierto periodo de tiempo. Después de este periodo de tiempo, la mezcla de reacción se deja enfriar durante cierto periodo de tiempo y el compuesto de fórmula (A) que precipita por enfriamiento se recoge por filtración. El enfriamiento puede ser descontrolado o puede controlarse por el uso de un aparato de refrigeración. La mezcla de reacción puede agitarse durante este periodo de enfriamiento. Alternativamente, el compuesto de

fórmula (A) puede aislarse también de la mezcla de reacción por enfriamiento seguido por evaporación del disolvente. La mezcla de reacción puede sembrarse con cristales del compuesto de fórmula (A) para efectuar la precipitación.

Un co-disolvente tal como, pero sin carácter limitante, heptano, metilciclohexano, tolueno, *ter*-butilmetiléter, acetato de etilo, o una mezcla de los mismos, puede añadirse durante el periodo de enfriamiento. Después de la adición del co-disolvente, la mezcla de reacción puede enfriarse adicionalmente, conduciendo a la precipitación del compuesto de fórmula (A). Alternativamente, una vez que se ha añadido el co-disolvente, la mezcla de reacción puede calentarse nuevamente luego para generar una solución homogénea, que se enfría a continuación conduciendo a la precipitación del compuesto de fórmula (A). La mezcla de reacción puede sembrarse con cristales del compuesto de fórmula (A) a fin de producir la precipitación.

En otras realizaciones, el compuesto de fórmula (A) se aísla en forma sustancialmente pura. En tales realizaciones, la pureza es aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o aproximadamente 99,5%.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (A) se aísla en forma cristalina. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (A) se aísla en forma sustancialmente cristalina. En algunas otras realizaciones, el compuesto de fórmula (A) se aísla en forma amorfa.

El compuesto de fórmula (A) puede generarse también por la co-liofilización del compuesto v y el ácido alfa-hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico. Esto se realiza sometiendo una solución acuosa que comprende el compuesto de fórmula v y un exceso molar del ácido alfa-hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico a un procedimiento de liofilización. En algunas realizaciones, la solución acuosa comprende adicionalmente un co-disolvente miscible con el agua. Ejemplos de co-disolventes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, alcohol *ter*-butílico, metanol, etanol, y mezclas de los mismos. La co-liofilización da como resultado una composición que contiene el compuesto de fórmula (A) y el exceso de ácido alfa-hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico.

#### *Usos, Formulación, y Administración*

La presente invención proporciona compuestos que son inhibidores potentes del proteasoma. Los compuestos pueden ensayarse *in vitro* o *in vivo* respecto a su capacidad para inhibir la hidrólisis de los péptidos o degradación de las proteínas mediada por el proteasoma.

En otro aspecto, por tanto, la invención proporciona un método para inhibir una o más actividades de peptidasa de un proteasoma en una célula, que comprende poner en contacto una célula en donde se desea la inhibición del proteasoma con un compuesto descrito en esta memoria, o una sal, éster borónico, o anhídrido de ácido borónico farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención proporciona también un método para inhibir la proliferación celular, que comprende poner en contacto una célula en donde se desea dicha inhibición con un compuesto descrito en esta memoria. La frase "inhibición de la proliferación celular" se utiliza para denotar la capacidad de un compuesto de la invención para inhibir el número de células o el crecimiento celular en las células puestas en contacto en comparación con las células que no se han puesto en contacto con el inhibidor. Una evaluación de la proliferación celular puede hacerse contando las células utilizando un contador de células o por un ensayo de viabilidad celular, v.g., un ensayo MTT o WST. En el caso en que las células se encuentran en crecimiento sólido (v.g., un tumor u órgano sólido), puede hacerse una evaluación de la proliferación celular de este tipo por medida del crecimiento, v.g., con calibres, y comparación de la magnitud del crecimiento de las células puestas en contacto con las células que no se han puesto en contacto.

Preferiblemente, el crecimiento de las células puestas en contacto con el inhibidor se retarda al menos aproximadamente un 50% en comparación con el crecimiento de las células que no se han puesto en contacto. En diversas realizaciones, la proliferación de las células puestas en contacto se inhibe al menos aproximadamente un 75%, al menos aproximadamente 90%, o al menos aproximadamente 95% en comparación con las células que no se han puesto en contacto. En algunas realizaciones, la frase "inhibición de la proliferación celular" incluye una reducción en el número de células puestas en contacto, comparado con las células que no se han puesto en contacto. Así, un inhibidor del proteasoma que inhibe la proliferación celular en una célula puesta en contacto puede conducir a que la célula puesta en contacto sufra retardo del crecimiento, sufra detención del crecimiento, sufra muerte celular programada (es decir, apoptosis), o sufra muerte celular por necrosis.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, la composición comprende también ácido cítrico o una sal del mismo. En tales realizaciones, el ácido cítrico o una sal del mismo y el compuesto de fórmula (II) están presentes en una ratio molar comprendida entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 200:1. En diversas realizaciones, el ácido cítrico o una sal del mismo y el compuesto de fórmula (II) están presentes en una ratio que va desde aproximadamente 2:1 a aproximadamente

200:1, desde aproximadamente 15:1 a aproximadamente 80:1, o desde aproximadamente 20:1 a aproximadamente 40:1.

Si se utiliza una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención en estas composiciones, la sal se deriva preferiblemente de un ácido o base inorgánico(a) u orgánico(a). Para revisiones de sales adecuadas, véase, v.g., Berge et al, J. Pharm. Sci. 66:1-19 (1977) y Remington: The Science y Practice de Pharmacy, Ed. 20ª, A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

Ejemplos no limitantes de sales de adición de ácido adecuadas incluyen las siguientes: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canfosulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenil-propionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato.

Sales de adición de base adecuadas incluyen, sin limitación, sales de amonio, sales de metal alcalino, tales como sales de litio, sodio y potasio; sales de metal alcalinotérreo, tales como sales de calcio y magnesio; otras sales de metales multivalentes, tales como sales de zinc; sales con bases orgánicas, tales como diciclohexilamina, *N*-metil-D-glucamina, *t*-butilamina, etilendiamina, etanolamina, y colina; y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina, etcétera.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" se incluye en esta memoria para hacer referencia a un material que es compatible con un individuo receptor, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano, y es adecuado para suministrar un agente activo al sitio diana sin terminar la actividad del agente. La toxicidad o efectos adversos, en su caso, asociados con el portador son preferiblemente conmensurables con una ratio razonable riesgo/beneficio para el uso propuesto del agente activo.

Los términos "portador", "excipiente", o "vehículo", se utilizan intercambiabilmente en esta memoria, e incluyen cualquiera y la totalidad de disolventes, diluyentes, y otros vehículos líquidos, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, modificadores del pH, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglomerantes sólidos, lubricantes y análogos, según sean adecuados para la forma de dosificación particular deseada. Remington: The Science y Practice de Pharmacy, Ed. 20ª, ed. A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000 describe diversos portadores utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de las mismas. Strickley, Pharmaceutical Research, 21(2) 201-230 (2004) revisa excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados en productos comerciales para solubilizar compuestos para administración oral o parenteral. Excepto en el caso de que cualquier medio portador convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, por ejemplo por producir un efecto biológico indeseable o interaccionar de otro modo de manera deletérea con cualquier o cualesquiera otro(s) Componente(s) de la composición farmacéuticamente aceptable, se contempla que su utilización está dentro del alcance de esta invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden seguir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin carácter limitante, cambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero, tales como seroalbúmina humana, sustancias tampón tales como fosfatos, carbonatos, hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio, glicina, ácido sórbico, o sorbato de potasio, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, agua, agua exenta de pirógenos, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, y sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinil-pirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloques polietileno-polioxiopropileno, lanolina, azúcares tales como lactosa, glucosa, sacarosa, y manitol, almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata, celulosa y sus derivados tales como carboximetil-celulosa sódica, etil-celulosa y acetato de celulosa, tragacanto en polvo; malta, gelatina, talco, excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorios, aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, glicoles tales como propilenglicol y polietilenglicol, ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo, agar, ácido alginico, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcoholes tales como etanol, alcohol isopropílico, alcohol hexadecílico, y glicerol, ciclodextrinas tales como hidroxipropil-β-ciclodextrina y sulfobutiléter-β-ciclodextrina, lubricantes tales como lauril-sulfato de sodio y estearato de magnesio, hidrocarburos del petróleo tales como aceite mineral y petrolatum. Agentes colorantes, agentes de desmoldeo, agentes de recubrimiento, edulcorantes, agentes saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden estar presentes también en la composición, conforme al criterio del formulador.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden fabricarse por métodos bien conocidos en la técnica tales como granulación convencional, mezcladura, disolución, encapsulación, liofilización, o procesos de emulsionamiento, entre otros. Las composiciones pueden producirse en diversas formas, que incluyen gránulos, precipitados, o partículas, polvos, con inclusión de polvos liofilizados, secados por rotación o secados por pulverización, polvos amorfos, tabletas, cápsulas, jarabes, supositorios, inyecciones, emulsiones, elixires, suspensiones o soluciones.

Conforme a una realización preferida, las composiciones de esta invención se formulan para administración farmacéutica a un mamífero, preferiblemente un ser humano. Tales composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, por pulverización mediante inhalación, o por vía tópica, rectal,



nasal, bucal, vaginal, o por un depósito implantado. El término "parenteral", como se utiliza en esta memoria, incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intra-esternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía oral, intravenosa, o subcutánea. Las formulaciones de la invención pueden diseñarse para ser de acción breve, liberación

5 rápida, o acción prolongada. Todavía adicionalmente, los compuestos pueden administrarse por medios locales en vez de sistémicos, tales como administración (v.g., por inyección) en un sitio de tumor.

Formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero sin carácter limitante, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los

10 compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, ciclodextrinas, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino, y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles

15 y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, saborizantes y agentes perfumantes.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones inyectables estériles acuosas u oleaginosas pueden formularse conforme a la técnica conocida utilizando agentes adecuados de dispersión o humectantes y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución, suspensión o emulsión estéril inyectable en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3- butanodiol. Entre los

20 vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución isotónica de cloruro de sodio. Se emplean también convencionalmente aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito se puede emplear cualquier aceite fijo no irritante, con inclusión de mono- o diglicéridos sintéticos. Se emplean también ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables. Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo por filtración a través de un filtro que retenga las bacterias, o por incorporación de aceites esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden

25 estar disueltas o dispersadas en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de utilizarlas. Las composiciones formuladas para administración parenteral pueden inyectarse por inyección tipo bolus o por inyección temporizada, o se pueden administrar por infusión continua.

Formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o portador inerte

35 farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o

a) cargas o extendedores tales como almidones, lactosa, celulosa, sacarosa, glucosa, manitol, y ácido silícico, b) aglomerantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinil-pirrolidona, sacarosa, y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos, crospovidona, celulosa, croscarmelosa sódica, almidón-glicolato de sodio, y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonítica, e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, estearil-fumarato de sodio, ácido

40 esteárico, polietilenglicoles sólidos, lauril-sulfato de sodio, behenato de glicerilo, y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de dosificación puede comprender también agentes tampón tales como fosfatos o carbonatos.

Composiciones sólidas de un tipo similar pueden emplearse también como cargas en cápsulas de gelatina duras y blandas rellenas utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de peso molecular alto y análogos. Las formas de dosificación sólida de tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y envolturas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Las mismas pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y pueden tener también una composición tal que liberen el o los ingredientes activos única o

50 preferentemente en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones de imbibición que pueden utilizarse incluyen sustancias polímeras y ceras. Composiciones sólidas de un tipo similar pueden emplearse también como cargas en cápsulas de gelatina duras y blandas rellenas utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de peso molecular alto y análogos.

Los compuestos activos pueden encontrarse también en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado arriba. Las formas de dosificación sólidas de tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y envolturas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos controladores de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas de dosificación sólidas el compuesto activo puede estar mezclado con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden comprender también, como ocurre en la práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, v.g., lubricantes de fabricación de tabletas y otros adyuvantes

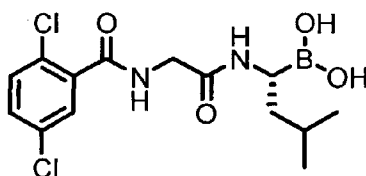
60 65

de fabricación de tabletas tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender también agentes tampón. Las mismas pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y pueden tener también una composición tal que liberen el o los ingredientes activos única o preferentemente en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente de manera retardada.

Ejemplos de composiciones de imbibición que pueden utilizarse incluyen sustancias polímeras y ceras. En algunas realizaciones, los excipientes o portadores pueden incluir, pero sin carácter limitante, estearil-fumarato de sodio, carboximetilcelulosa, estearato de magnesio, crospovidona, etilcelulosa, talco, y celulosa microcristalina silicificada.

Formas de dosificación para administración local o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen ungüentos, papillas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalaciones o parches. El Componente activo se mezcla en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualesquiera conservantes o tampones necesarios que puedan ser necesarios. Se consideran también dentro del alcance de esta invención formulaciones oftálmicas, gotas para los oídos, y gotas para los ojos. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tiene la ventaja añadida de proporcionar suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Tales formas de dosificación pueden producirse por disolución o dispersión del compuesto en el medio apropiado. También pueden utilizarse intensificadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana controladora de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz o gel de polímero.

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el éster citrato del compuesto (VIII-1), y excipientes adicionales descritos en esta memoria.



(VIII-1)

La descripción siguiente de composiciones farmacéuticas y métodos para preparación de dichas composiciones farmacéuticas son aplicables a los compuestos de fórmulas (II), (III), (IIIa), (IV), o (IVa) y diversas realizaciones de estas fórmulas como se describen en esta memoria. La descripción que sigue de composiciones farmacéuticas y métodos para preparación de dichas composiciones farmacéuticas es aplicable también al compuesto (I-1).

En una realización, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), en donde el compuesto de fórmula (II) es sustancialmente cristalino. En otra realización, el compuesto de fórmula (II) en la composición farmacéutica es al menos aproximadamente 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% de una forma cristalina. En otra realización adicional, el compuesto de fórmula (II) en la composición farmacéutica es una forma cristalina.

En algunas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas de la invención proporcionan formas de dosificación oral sólidas estables de compuesto activo, utilizando excipientes que tienen contenido bajo de agua o de humedad, y se fabrican utilizando procesos de formulación secos o no acuosos.

En una realización, la composición farmacéutica es una forma de dosificación farmacéutica oral, seleccionada del grupo constituido por cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, y gránulos. En otra realización, la forma de dosificación farmacéutica oral es una cápsula, en donde la cápsula es una cápsula basada en polímero seleccionada del grupo constituido por gelatina, hidroxipropilmetil-celulosa (HPMC), gelatina de pescado, y pululano. En otra realización adicional, la cápsula basada en polímero se selecciona del grupo constituido por gelatina e hidroxipropilmetil-celulosa. En todavía otra realización adicional, la cápsula basada en polímero es una cápsula de gelatina dura.

En una realización, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, y opcionalmente un lubricante. En otra realización, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,2% a aproximadamente 3% del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo; aproximadamente 97% a aproximadamente 99,8% de una carga, y opcionalmente hasta aproximadamente 1,5% de un lubricante. En otra realización adicional, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1,5% de un lubricante. En otra realización adicional, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,25% a aproximadamente 2% del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo; y aproximadamente 98% a aproximadamente 99,75% de una carga.

En otra realización, la composición farmacéutica comprende además un adyuvante de flujo opcional, y un tampón opcional. En otra realización adicional, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,2% a aproximadamente 3% del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, aproximadamente 86,5% a aproximadamente 99,8% de una carga, opcionalmente hasta aproximadamente 1,5% de un lubricante, opcionalmente

hasta aproximadamente 5% de un adyuvante de flujo, y opcionalmente hasta aproximadamente 5% de un tampón, en peso como porcentaje del peso total.

5 En otra realización, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,2 % a aproximadamente 12% del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, aproximadamente 76,5% a aproximadamente 99,8% de una carga, opcionalmente hasta aproximadamente 1,5% de un lubricante, opcionalmente hasta aproximadamente 5% de un adyuvante de flujo, y opcionalmente hasta aproximadamente 5% de un tampón, en peso como porcentaje del peso total.

10 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, está presente en la composición farmacéutica en una cantidad de aproximadamente 0,2% a aproximadamente 3%, en peso como porcentaje del peso total. En algunas otras realizaciones, el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, está presente en la composición farmacéutica, en una cantidad de aproximadamente 0,25% a aproximadamente 2%, en peso como porcentaje del peso total.

15 Cargas adecuadas incluyen, pero sin carácter limitante, celulosa pulverizada, celulosa microcristalina, celulosa microcristalina silicificada, celulosa microcristalina de alta densidad, celulosa microcristalina de baja humedad, almidón pregelatinizado, almidón-glicolato de sodio, y mezclas de los mismos. En algunas otras realizaciones, la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa pulverizada, celulosa microcristalina, celulosa cristalina silicificada, 20 celulosa microcristalina de baja humedad, y mezclas de las mismas. En todavía algunas otras realizaciones, la carga es celulosa microcristalina de baja humedad. En algunas realizaciones adicionales, la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos.

25 En otras realizaciones, la carga está presente en una cantidad de aproximadamente 97% a aproximadamente 99,8%, en peso como porcentaje del peso total. En algunas otras realizaciones, la carga está presente en una cantidad de aproximadamente 98% a aproximadamente 99,75% en peso como porcentaje del peso total. En todavía algunas otras realizaciones, cuando está presente un lubricante, la cantidad de carga se reduce en la cantidad porcentual correspondiente de lubricante presente. En algunas realizaciones adicionales, la carga está presente en una cantidad 30 de aproximadamente 86,5% a aproximadamente 99,8%, en peso como porcentaje del peso total.

En algunas realizaciones, la carga comprende una primera carga y una segunda carga. La primera carga está presente en una cantidad de 0% a aproximadamente 99,8%, en peso como porcentaje del peso total, y la segunda carga está presente en una cantidad de 0% a aproximadamente 99,8% en peso como porcentaje de peso total, siempre que la 35 cantidad total de carga no sea mayor que aproximadamente 99,8%. En algunas realizaciones, la primera carga está presente en una cantidad de aproximadamente 40% a aproximadamente 60% en peso como porcentaje del peso total, y la segunda carga está presente en una cantidad de aproximadamente 40% a aproximadamente 60% en peso como porcentaje del peso total, siempre que la cantidad total de carga no sea mayor que aproximadamente 99,8%, en peso como porcentaje del peso total.

40 En algunas realizaciones, la primera carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la segunda carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos.

45 Lubricantes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, estearato de magnesio, behenato de glicerilo, aceite vegetal hidrogenado, talco, estearato de zinc, estearato de calcio, estearato de sacarosa, estearil-fumarato de sodio, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el lubricante es estearato de magnesio. En otras realizaciones, el lubricante está presente en una cantidad de hasta aproximadamente 1,5%, en peso como porcentaje del peso total. 50 En todavía algunas otras realizaciones, el lubricante está presente en una cantidad de aproximadamente 1%, en peso como porcentaje del peso total.

Adyuvantes de flujo adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, dióxido de silicio, talco, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el adyuvante de flujo es talco. En otras realizaciones, el adyuvante de flujo está presente en 55 una cantidad de hasta aproximadamente 5%, en peso como porcentaje del peso total. En algunas otras realizaciones, el adyuvante de flujo está presente en una cantidad que aproximadamente 1%, en peso como porcentaje de peso total. En todavía algunas otras realizaciones, el adyuvante de flujo está presente en una cantidad de aproximadamente 2%, en peso con porcentaje del peso total.

60 Tampones adecuados incluyen citrato de sodio, ácido cítrico, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón es citrato de sodio. En algunas otras realizaciones, el tampón está presente en una cantidad de hasta aproximadamente 5%, en peso como porcentaje del peso total. En todavía algunas otras realizaciones, el tampón está presente en una cantidad de aproximadamente 2%, en peso como porcentaje del peso total.

65 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, y opcionalmente un lubricante; en donde:

la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos; y el lubricante, cuando está presente, es estearato de magnesio.

5 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, y opcionalmente un lubricante; en donde:

el compuesto de fórmula (II) es (I-1),

10 la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos; y el lubricante, cuando está presente, es estearato de magnesio.

15 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,25% a aproximadamente 2% del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo; y aproximadamente 98% a aproximadamente 99,75% de una carga; en donde:

el compuesto de fórmula (II) es (I-1), y

20 la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, opcionalmente un lubricante; opcionalmente un adyuvante de flujo; y opcionalmente un tampón; en donde:

25 la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos; el lubricante, cuando está presente, es estearato de magnesio; el adyuvante de flujo, cuando está presente, es talco; y el tampón, cuando está presente, es citrato de sodio.

30 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, opcionalmente un lubricante; opcionalmente un adyuvante de flujo; y opcionalmente un tampón, en donde:

35 el compuesto de fórmula (II) es (I-1);

la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos.

el lubricante, cuando está presente, es estearato de magnesio;

el adyuvante de flujo, cuando está presente, es talco; y

40 el tampón, cuando está presente, es citrato de sodio.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,2% a aproximadamente 3% del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, aproximadamente 86,5% a aproximadamente 99,8% de una carga, opcionalmente hasta aproximadamente 1,5% de un lubricante, opcionalmente hasta aproximadamente 5% de un adyuvante de flujo, y opcionalmente hasta aproximadamente 5% de un tampón, en peso como porcentaje de peso total, en donde:

50 el compuesto de fórmula (II) es (I-1);

la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos.

el lubricante, cuando está presente, es estearato de magnesio;

el adyuvante de flujo, cuando está presente, es talco; y

el tampón, cuando está presente, es citrato de sodio.

55 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, y opcionalmente un lubricante; en donde el compuesto de fórmula (II) es (I-1). En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, una carga, y opcionalmente un lubricante; en donde el compuesto de fórmula (II) es (I-1); la carga se selecciona del grupo constituido por celulosa microcristalina de baja humedad, almidón-glicolato de sodio, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos; y el lubricante, cuando está presente, es estearato de magnesio.

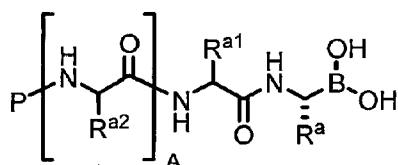
60 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo; en donde el compuesto de fórmula (II) es (I-1); y la forma cristalina es la Forma 2.

65 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 y celulosa microcristalina de baja humedad. En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el

compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 y celulosa microcristalina silicificada. En todavía algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina de baja humedad, y estearato de magnesio. En todavía algunas otras realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina, y estearato de magnesio.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina de baja humedad, y talco. En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 y almidón pregelatinizado. En todavía algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 almidón pregelatinizado, talco, y estearato de magnesio. En todavía algunas otras realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina de baja humedad, talco, y estearato de magnesio. En algunas realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina de baja humedad, talco, estearato de magnesio, y citrato de sodio. En algunas otras realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina de baja humedad, talco, estearato de magnesio, y almidón pregelatinizado. En todavía algunas otras realizaciones adicionales, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 celulosa microcristalina de baja humedad, talco, estearato de magnesio, y almidón-glicolato de sodio.

Cuando el compuesto de fórmula (II) se somete a condiciones hidrolíticas, la porción éster de la molécula se hidroliza para dar el compuesto de fórmula (VIII) en una ratio molecular 1:1.



(VIII)

Utilizando un método analítico que implica condiciones hidrolíticas para la preparación de la muestra, se mide la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) presente en una muestra de test (véase v.g. Método Analítico de Test 1, más adelante), por comparación con un estándar de referencia de pureza conocida. Cuando se utiliza un método analítico que no somete a la muestra a condiciones hidrolíticas, la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) presente en la muestra del compuesto de fórmula (II) se mide por comparación con un estándar de referencia de pureza conocida (véase v.g. Método Analítico de Test 2, más adelante). Para ello, la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) medida en el Método Analítico de Test 1 menos la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) medida en el Método Analítico de Test 2, da la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) en la muestra que se deriva de la hidrólisis del compuesto de fórmula (II). Basándose en una ratio molecular 1:1 para la conversión del compuesto de fórmula (II) en el compuesto de fórmula (VIII), una conversión de peso molecular da la cantidad de compuesto de fórmula (II) presente en la muestra de test.

Se reconocerá que tales métodos analíticos que se escriben inmediatamente arriba, y en la Sección Experimental que sigue son aplicables de manera similar a cualquiera de los compuestos de las fórmulas (II), (III), (IIIa), (IV), o (IVa) y diversas realizaciones de estas fórmulas que se describen en esta memoria. Tales métodos analíticos que se describen inmediatamente arriba y en la Sección Experimental siguiente son aplicables de manera similar al compuesto (I-1).

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) presente en una composición farmacéutica se determina por medida de la cantidad del compuesto de fórmula (VIII) que está presente después de someter la muestra a condiciones en las cuales el compuesto de fórmula (II) se hidroliza para dar el compuesto de fórmula (VIII).

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, presente en una composición farmacéutica se expresa como la cantidad equivalente sobre una base molar en peso del compuesto de fórmula (VIII-1).

En algunas realizaciones, la invención se refiere a una composición farmacéutica de dosis unitaria que comprende el compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo.

En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, en donde el compuesto de fórmula (I-1), está presente en una cantidad equivalente a una base molar en peso de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3,0 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En todavía algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, en donde el compuesto de fórmula (I-1) está presente en una cantidad equivalente a una base molar en peso de aproximadamente 0,15 mg a aproximadamente 2,2 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En todavía algunas otras realizaciones adicionales, la composición farmacéutica de

dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, en donde el compuesto de fórmula (I-1) está presente en una cantidad equivalente a una base molar el peso de aproximadamente 0,18 mg a aproximadamente 0,22 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En algunas realizaciones adicionales, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, en donde el compuesto de fórmula (I-1) está presente en una cantidad equivalente a una base molar en peso de aproximadamente 0,46 mg a aproximadamente 0,54 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En todavía algunas realizaciones adicionales, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, en donde el compuesto de fórmula (I-1) está presente en una cantidad equivalente a una base molar en peso de aproximadamente 1,80 mg a aproximadamente 2,20 mg del compuesto de fórmula (VIII-1).

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, presente en una composición farmacéutica, se expresa como la cantidad equivalente del compuesto de fórmula (VIII-1), basada en los pesos moleculares relativos del compuesto de fórmula (I-1) y el compuesto de fórmula (VIII-1).

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende aproximadamente 0,143 mg a aproximadamente 4,3 mg del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, medida como aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3,0 mg del compuesto de fórmula (VIII-1), sobre una base de peso por peso.

En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende aproximadamente 0,214 mg a aproximadamente 3,15 mg del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, medida como aproximadamente 0,15 mg a aproximadamente 2,2 mg del compuesto de fórmula (VIII-1), sobre una base de peso por peso.

En todavía algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende aproximadamente 0,258 mg a aproximadamente 0,315 mg del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, medida como aproximadamente 0,18 mg a aproximadamente 0,22 mg del compuesto de fórmula (VIII-1), sobre una base de peso por peso.

En todavía algunas otras realizaciones adicionales, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende aproximadamente 0,659 mg a aproximadamente 0,773 mg del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, medida como aproximadamente 0,46 mg a aproximadamente 0,54 mg del compuesto de fórmula (VIII-1), sobre una base de peso por peso.

En algunas realizaciones adicionales, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende aproximadamente 2,58 mg a aproximadamente 3,15 mg del compuesto de fórmula (I-1), o una forma cristalina del mismo, medida como aproximadamente 1,80 mg a aproximadamente 2,20 mg del compuesto de fórmula (VIII-1), sobre una base de peso por peso.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un proceso para la producción de una forma de dosificación farmacéutica oral del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, en donde la forma de dosificación farmacéutica oral es una cápsula, que comprende los pasos de:

- (a-1) mezclar uno con otro la carga tamizada y el compuesto tamizado de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, en una bolsa;
- (a-2) pasar la mezcla resultante del paso (a-1) por un tamiz, y mezclar a continuación;
- (a-3) tamizar carga adicional a través del mismo tamiz, hacerla pasar a la misma bolsa, y mezclar en el mismo aparato mezclador;
- (a-4) repetir el paso (a-3) hasta 2 veces;
- (a-5) tomar la mezcla resultante del paso (a-4), y encapsularla utilizando un sistema de llenado de cápsulas;
- y
- (a-6) clasificar por peso las cápsulas resultantes del paso (a-5).

En algunas realizaciones, el paso (a-3) puede repetirse 3 o más veces.

Cuando está presente un lubricante en la composición farmacéutica, la invención proporciona un proceso para la producción de una forma de dosificación farmacéutica oral del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, en donde la forma de dosificación farmacéutica oral es una cápsula, que comprende los pasos de:

- (b-1) mezclar uno con otro la carga tamizada, y el compuesto tamizado de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, en una bolsa;
- (b-2) pasar la mezcla resultante del paso (b-1) por un tamiz, y mezclar a continuación;
- (b-3) tamizar carga adicional a través del mismo tamiz, hacerla pasar a la misma bolsa, y mezclar en el mismo aparato mezclador;

(b-4) repetir el paso (b-3) hasta 2 veces;

(b-5) mezclar uno con otro la mezcla del paso (b-4), y lubricante tamizado;

(b-6) tomar la mezcla resultante del paso (b-5), y encapsularla utilizando un sistema de llenado de cápsulas;

y

(b-7) clasificar por peso las cápsulas resultantes del paso (b-6).

En algunas realizaciones, el paso (b-3) puede repetirse tres o más veces. Cuando están presentes Componentes adicionales en la composición farmacéutica, tales como tampón, segunda carga, o adyuvante de flujo, los mismos pueden añadirse en cualquiera de los pasos (b-1) o (b-3). La cantidad total de cada Componente de la composición farmacéutica puede añadirse en un solo paso o puede descomponerse en varias cantidades, que pueden ser o no del mismo peso, y añadirse en ocasiones o pasos individuales (b-1) o (b-3).

En algunas realizaciones, la invención proporciona un proceso para la producción de una forma de dosificación farmacéutica oral del compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, en donde la forma de dosificación farmacéutica oral es una cápsula, que comprende los pasos de

(c-1) pasar la carga por un tamiz, y ponerla luego en un aparato mezclador de alta cizalladura;

(c-2) pasar el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, por un tamiz, y ponerlo luego en el mismo aparato mezclador de alta cizalladura;

(c-3) pasar la carga por un tamiz y ponerla luego en el mismo aparato mezclador de alta cizalladura;

(c-4) mezclar utilizando el mismo aparato mezclador de alta cizalladura durante menos de 10 min; (c-5)

recoger la mezcla resultante del paso (c-4), y encapsularla utilizando un sistema de llenado de cápsulas, y

(c-6) clasificar por peso las cápsulas resultantes del paso (c-5).

En algunas realizaciones, cuando se utiliza el aparato mezclador de alta cizalladura, pueden añadirse Componentes adicionales que están presentes en la composición farmacéutica por repetición del paso (c-1) o el paso (c-3).

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) utilizado en los procesos para preparación de formas de dosificación orales sólidas descritas anteriormente es (I-1).

Los pasos de proceso reseñados anteriormente pueden realizarse utilizando aparatos y equipo convencionales. Para una revisión, véase: v.g. Remington: The Science y Practice de Pharmacy, edición 21ª, Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Los pasos de mezclado arriba reseñados pueden realizarse en cualquier aparato mezclador convencional. En algunas realizaciones, el tiempo de mezclado para cada paso de mezclado individual está comprendido entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 45 min. En algunas otras realizaciones, el tiempo de mezclado para cada paso de mezclado individual está comprendido entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 20 min. En todavía algunas otras realizaciones, el tiempo de mezclado para cada paso de mezclado individual está comprendido entre aproximadamente 2 min y aproximadamente 15 min.

El paso de mezclado arriba reseñado puede realizarse en cualquier bolsa de polietileno convencional. En algunas realizaciones, el paso de mezclado requiere entre aproximadamente 30 s y 5 min. En algunas realizaciones, el paso de mezclado arriba reseñado puede realizarse en un contenedor de acero inoxidable.

El paso de mezclado que utiliza el aparato mezclador de alta cizalladura puede realizarse en cualquier aparato mezclador convencional de alta cizalladura. Un ejemplo de un aparato mezclador de alta cizalladura de este tipo es vendido como Lab High Shear Granulator (Key International, Inc., Englishtown, NJ). En algunas realizaciones, la mezclado se realiza durante menos de aproximadamente 10 min. En algunas otras realizaciones, la mezclado se efectúa durante menos de aproximadamente 5 min.

El paso de llenado de las cápsulas arriba reseñado puede realizarse en cualquier sistema o aparato de llenado de cápsulas convencional. En algunas realizaciones, el sistema de llenado de cápsulas es semiautomático, y puede manipular tamaños de lote pequeños. Un ejemplo de un sistema de llenado de cápsulas de este tipo se vende como In-Cap (Isopak Limited, Lincolnshire, Stamford, Reino Unido). En algunas realizaciones, el sistema de llenado de cápsulas es manual. Un ejemplo de un aparato de llenado de cápsulas de este tipo es vendido como ProFill 100 (Torpac, Inc., Fairfield, NJ, EE.UU.).

En algunas realizaciones, las cápsulas son cápsulas de gelatina dura, vendidas como Coni-Snap® (Capsugel, Peapack, NJ). Un experto en la técnica podrá seleccionar el tamaño y color de las cápsulas apropiados. En algunas realizaciones, las cápsulas tienen un peso de llenado de 85 mg, 120 mg, o 150 mg.

El paso de clasificación por peso arriba reseñado puede realizarse utilizando cualquier aparato o máquina convencional de clasificación por peso. Un ejemplo de un aparato o máquina de clasificación por peso es vendido como el SADE SP Bench Top Tablet y Capsule Weight Sorter (AC Compacting LLC, North Brunswick, NJ, EE.UU.).

En algunas realizaciones, las cápsulas se envasan en botellas, bolsas de papel metalizado o envases burbuja. En algunas otras realizaciones, las cápsulas se envasan en botellas de polietileno de alta densidad (HDPE) selladas por

inducción térmica. En otra realización, las cápsulas se envasan en bolsas de papel metalizado selladas y herméticas. En otra realización adicional, las cápsulas se envasan en envases burbuja de papel metalizado. En algunas otras realizaciones, las cápsulas se envasan con un desecante.

5 La estabilidad física y química de la forma de dosificación farmacéutica oral pueden ensayarse de manera convencional, por ejemplo, la medida de disolución, tiempo de desintegración, pureza para los productos de degradación del compuesto de fórmula (II), después de almacenamiento a temperaturas diferentes y durante periodos de tiempo diferentes.

10 En algunas otras realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para uso parenteral. En todavía algunas otras realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas líquidas para uso parenteral u oral.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) se formula como un polvo liofilizado, de manera análoga a la descrita en Plamondon et al., WO 02/059131. En tales realizaciones, una mezcla acuosa que comprende ácido cítrico se liofiliza para formar el compuesto de fórmula (II).

15 En algunas realizaciones, el polvo liofilizado comprende también ácido cítrico libre. Preferiblemente, el ácido cítrico libre y el compuesto de fórmula (II) están presentes en la mezcla en una ratio molar que oscila desde aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 100:1, más preferiblemente desde aproximadamente 5:1 a aproximadamente 100:1. El compuesto ácido alfa-hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico es ácido cítrico y, en diversas realizaciones, el polvo liofilizado comprende ácido cítrico libre, y el éster boronato correspondiente en una ratio molar que va desde aproximadamente 10:1 a aproximadamente 100:1, desde aproximadamente 20:1 a aproximadamente 100:1, o desde aproximadamente 40:1 a aproximadamente 100:1.

25 En algunas realizaciones, el polvo liofilizado comprende ácido cítrico y un compuesto de fórmula (II) sustancialmente exento de otros Componentes. Sin embargo, la composición puede comprender además uno o varios otros excipientes, portadores, diluyentes, cargas, sales, tampones, agentes de aumento de volumen, estabilizadores, solubilizadores, y otros materiales farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. La preparación de formulaciones farmacéuticamente aceptables que contienen estos materiales se describe, v.g., en Remington: The Science y Practice of Pharmacy, edición 20ª, editor A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, o última edición, y Strickley, Pharmaceutical Research, 21(2) 201-230 (2004).

Después de la disolución en medio acuoso, se establece el equilibrio entre el compuesto éster boronato de fórmula (II) y el compuesto de ácido borónico libre correspondiente. En algunas realizaciones, el equilibrio se alcanza rápidamente, v.g., en el transcurso de 1-15 min, después de la adición del medio acuoso. Las concentraciones relativas de éster boronato, ácido borónico, y cualquier especie química intermedia presente en el equilibrio dependen de parámetros tales como, v.g., pH de la solución, temperatura, naturaleza del ácido cítrico, y la ratio del ácido cítrico al compuesto éster boronato de fórmula (II) presente en el polvo liofilizado.

40 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), un agente de aumento de volumen, y un tampón. En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), un agente de aumento de volumen, y un tampón en un polvo liofilizado.

45 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) está preformado. En algunas otras realizaciones, el compuesto de fórmula (II) se forma *in situ*, a partir del compuesto de ácido borónico correspondiente de fórmula (VIII). En todavía algunas otras realizaciones, el compuesto (I-1) está preformado.

Agentes adecuados de aumento de volumen incluyen glicina. En algunas realizaciones, la cantidad del agente de aumento de volumen presente es aproximadamente 1% peso/volumen (p/v) a aproximadamente 5% p/v. En algunas otras realizaciones, la cantidad del agente de aumento de volumen presente es aproximadamente 3% p/v.

50 Tampones adecuados incluyen citrato de sodio, ácido cítrico, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón es citrato de sodio, y ácido cítrico.

55 En algunas realizaciones, el tampón está presente en una concentración de aproximadamente 45 mM a aproximadamente 65 mM. En algunas otras realizaciones, el tampón está presente en una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 60 mM.

60 En algunas realizaciones, la ratio del tampón al compuesto de fórmula (II) es desde aproximadamente 50:1 a aproximadamente 10:1. En algunas otras realizaciones, la ratio del tampón al compuesto de fórmula (II) es de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 10:1. En todavía algunas otras realizaciones, la ratio del tampón al compuesto de fórmula (II) es aproximadamente 20:1.

65 En algunas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica está comprendido entre aproximadamente pH 4,7 y pH 6,1. El pH de la composición farmacéutica puede ajustarse utilizando cualquier ácido inorgánico o ácido orgánico adecuado.



En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), un agente de aumento de volumen, y un tampón; en donde:

el agente de aumento de volumen es glicina, y  
el tampón es citrato de sodio, y ácido cítrico.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), un agente de aumento de volumen, y un tampón; en donde:

el compuesto de fórmula (II) está representado por el compuesto (I-1);  
el agente de aumento de volumen es glicina, y  
el tampón es citrato de sodio, y ácido cítrico.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), un agente de aumento de volumen, y un tampón en un polvo liofilizado; en donde:

el agente de aumento de volumen es glicina, y  
el tampón es citrato de sodio y ácido cítrico.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (II), un agente de aumento de volumen, y un tampón en un polvo liofilizado; en donde:

el compuesto de fórmula (II) está representado por el compuesto (I-1);  
el agente de aumento de volumen es glicina, y  
el tampón es citrato de sodio y ácido cítrico.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto (I-1) en un polvo liofilizado. En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende el compuesto (I-1), glicina, citrato de sodio, y ácido cítrico en un polvo liofilizado.

En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica de dosis unitaria que comprende el compuesto de fórmula (I-1), un agente de aumento de volumen, y un tampón en un polvo liofilizado. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (I-1), glicina, citrato de sodio, y ácido cítrico en un polvo liofilizado.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I-1) está presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria en una cantidad equivalente sobre una base molar en peso de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I-1) está presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria en una cantidad equivalente sobre una base molar en peso de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I-1) está presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria en una cantidad equivalente sobre una base molar en peso de aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 2,5 mg, aproximadamente 3,5 mg, aproximadamente 4,0 mg, aproximadamente 4,5 mg, o aproximadamente 5,0 mg del compuesto de fórmula (VIII-1). En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I-1) está presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria en una cantidad equivalente sobre una base molar en peso de aproximadamente 3,5 mg del compuesto de fórmula (VIII-1).

En algunas realizaciones, la cantidad de glicina presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria es aproximadamente 0,01 g a aproximadamente 0,50 g. En algunas realizaciones, la cantidad de glicina presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria es aproximadamente 0,03 g a aproximadamente 0,250 g. En algunas realizaciones, la cantidad de glicina presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria es aproximadamente 0,06 g a aproximadamente 0,125 g.

En algunas realizaciones, el citrato de sodio y ácido cítrico está presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria en una cantidad equivalente a aproximadamente 0,005 g hasta aproximadamente 0,250 g de ion citrato. En algunas realizaciones, el citrato de sodio y ácido cítrico está presente en la composición farmacéutica de dosis unitaria en una cantidad equivalente a aproximadamente 0,025 g hasta aproximadamente 0,125 g de ion citrato.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para preparación del compuesto de fórmula (II) como un polvo liofilizado; comprendiendo el método los pasos:

(d-1) combinar:

- i. una mezcla disolvente acuosa;
- ii. El compuesto de fórmula (II);
- iii. Un agente de aumento de volumen; y
- iv. Un tampón; para formar una mezcla; y

(d-2) liofilizar la mezcla.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) se forma in situ a partir del compuesto correspondiente de fórmula (VIII). Así, la invención proporciona también un método para preparación del compuesto de fórmula (II) como un polvo liofilizado; comprendiendo el método los pasos:

(e-1) combinar:

- i. una mezcla disolvente acuosa;
- ii. El compuesto de fórmula (VIII);
- iii. Un agente de aumento de volumen; y
- iv. Un ácido cítrico, o una sal del mismo; o una combinación de los mismos; para formar una mezcla;

y

(e-2) liofilizar la mezcla.

En algunas realizaciones, la mezcla disolvente acuosa comprende uno o más co-disolventes además de agua. En algunas realizaciones, el co-disolvente es miscible con el agua. En algunas otras realizaciones, el codisolvente es un alcohol con inclusión, pero sin carácter limitante, de etanol, alcohol ter-butilico y mezclas de los mismos. En algunas otras realizaciones, el codisolvente es alcohol ter-butilico.

En algunas realizaciones, en la mezcla disolvente acuosa comprende aproximadamente 1% v/v a aproximadamente 40% v/v de alcohol. En algunas otras realizaciones, la mezcla disolvente acuosa comprende aproximadamente 3% v/v a aproximadamente 10% v/v de alcohol. En algunas otras realizaciones, la mezcla disolvente acuosa comprende aproximadamente 3% v/v a aproximadamente 6% v/v de alcohol ter-butilico. En todavía algunas otras realizaciones, la mezcla disolvente comprende aproximadamente 3% v/v a aproximadamente 6% v/v de alcohol ter-butilico. En todavía algunas otras realizaciones adicionales, la mezcla disolvente comprende aproximadamente 5% v/v de alcohol ter-butilico.

En algunas realizaciones, se proporciona un método para preparación del compuesto (I-1) como un polvo liofilizado, comprendiendo el método los pasos:

(f-1) combinar:

- i. agua;
- ii. El compuesto (I-1);
- iii. glicina;
- iv. citrato de sodio; y
- v. ácido cítrico; para formar una mezcla; y

(f-2) liofilizar la mezcla.

La liofilización o secado por congelación puede realizarse utilizando cualesquiera liofilizadores o secadores por congelación convencionales. En algunas realizaciones, la liofilización comprende los pasos: (i) carga de la mezcla líquida como se ha preparado anteriormente, y congelación; (ii) recocado; (iii) segundo ciclo de congelación; (iv) secado a vacío; y (v) secado secundario. Las temperaturas y tiempos para cada paso dependerán del liofilizador o secador por congelación que se emplee.

En algunas realizaciones, el polvo liofilizado resultante tiene un contenido residual de humedad menor que aproximadamente 2%. En algunas otras realizaciones, el polvo liofilizado resultante tiene un contenido residual de humedad menor que aproximadamente 1%.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para la preparación de una composición farmacéutica del compuesto de fórmula (II) como una forma de dosificación farmacéutica líquida, comprendiendo dicho método el paso de reconstituir un polvo liofilizado del compuesto de fórmula (II) con un disolvente acuoso adecuado para administración farmacéutica. Disolventes de reconstitución adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, agua, solución salina, solución salina tamponada de fosfato (PBS), y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el disolvente de reconstitución es agua, agua para inyección, solución salina, y mezcla de los mismos. En algunas realizaciones, disolvente de reconstitución es agua para inyección. Después de la reconstitución, la forma de dosificación farmacéutica líquida puede contener concentraciones del compuesto de fórmula (II) como se describen en esta memoria.

En algunas realizaciones, se proporciona un método para la preparación de una composición farmacéutica del compuesto (I-1) como una forma de dosificación farmacéutica líquida, comprendiendo dicho método el paso de reconstituir un polvo liofilizado del compuesto (I-1) como se describe en esta memoria, con un disolvente acuoso adecuado para administración farmacéutica. En algunas realizaciones, se proporciona un método para la preparación de una composición farmacéutica del compuesto (I-1) como una forma de dosificación farmacéutica líquida, comprendiendo dicho método el paso de reconstituir un polvo liofilizado del compuesto (I-1) como se describe en esta memoria con agua para inyección, o solución salina normal. En algunas realizaciones, se proporciona un método para la preparación de una composición farmacéutica del compuesto (I-1) como una forma de dosificación farmacéutica líquida, comprendiendo dicho método el paso de reconstituir un polvo liofilizado del compuesto (I-1) como se describe en esta memoria con agua para inyección.

Después de la reconstitución en un disolvente de reconstitución, se establece un equilibrio entre el compuesto de fórmula (II) y el ácido borónico correspondiente de fórmula (VIII). Típicamente, el equilibrio se alcanza en seguida dentro de aproximadamente 10-15 min después de la adición del disolvente de reconstitución. Las concentraciones relativas del éster boronato y el ácido borónico presentes en el equilibrio dependen del pH de la solución, la temperatura, y la ratio de ácido cítrico a compuesto ácido borónico.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica líquida que comprende el compuesto de fórmula (II), y excipientes adicionales descritos en esta memoria. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida es adecuada para uso parenteral. En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica líquida es adecuada por uso oral.

En tales realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende el compuesto de fórmula (II), un tampón, y opcionalmente un modificador de la tonicidad.

En algunas realizaciones, la ratio del tampón al compuesto de fórmula (II) es de aproximadamente 50:1 a aproximadamente 10:1. En algunas otras realizaciones, la ratio del tampón a compuesto de fórmula (II) es de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 10:1. En todavía algunas otras realizaciones, la ratio del tampón al compuesto de fórmula (II) es aproximadamente 20:1.

En otras realizaciones, el tampón está presente en una concentración de aproximadamente 45 mM a aproximadamente 65 mM. En algunas otras realizaciones, el tampón está presente en una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 60 mM.

Tampones adecuados incluyen citrato de sodio, ácido cítrico, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón es citrato de sodio, y ácido cítrico.

Modificadores de la tonicidad adecuada incluyen, pero sin carácter limitante, aminoácidos tales como arginina, histidina, y glicina; sales tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio, citrato de sodio, propilenglicol; y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el modificador de la tonicidad es propilenglicol. En algunas otras realizaciones, el modificador de la tonicidad es cloruro de sodio.

Después de la disolución en una mezcla acuosa de disolventes, se establece un equilibrio entre el compuesto de fórmula (II) y el ácido borónico correspondiente de fórmula (VIII). Así, un compuesto de fórmula (II) o un compuesto de fórmula (VIII) pueden utilizarse en la preparación de la composición farmacéutica líquida. Típicamente, el equilibrio se alcanza en seguida dentro de aproximadamente 10-15 min después de la adición de la mezcla acuosa de disolventes. Las concentraciones relativas del éster boronato y el ácido borónico presentes en el equilibrio dependen del pH de la solución, la temperatura, y la ratio de ácido cítrico a compuesto de ácido borónico. En algunas realizaciones, el exceso de ácido cítrico puede actuar como estabilizador, que desplaza el equilibrio hacia el éster boronato. En algunas realizaciones, el modificador de la tonicidad puede actuar también como estabilizador.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende además opcionalmente un conservante.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende el compuesto de fórmula (II), un tampón, y opcionalmente un modificador de la tonicidad; en donde:

el tampón es citrato de sodio y ácido cítrico; y  
el modificador de la tonicidad, cuando está presente, es cloruro de sodio.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende el compuesto de fórmula (II), un tampón, y opcionalmente un modificador de la tonicidad; en donde:

el compuesto de fórmula (II) está representado por el compuesto (I-1);  
el tampón es citrato de sodio y ácido cítrico; y  
el modificador de la tonicidad, cuando está presente, es cloruro de sodio.

El ácido alfa-hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico es ácido cítrico y, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del compuesto de fórmula (II) comprende el compuesto de fórmula (II), agua, ácido cítrico, citrato de sodio, y cloruro de sodio. El ácido alfa-hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico es ácido cítrico y, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende el compuesto de fórmula (II), agua, ácido cítrico y propilenglicol. En todavía algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende el compuesto de fórmula (II), ...en donde el compuesto de fórmula (II) es el compuesto (I-1), agua, ácido cítrico, citrato de sodio y cloruro de sodio.

El ácido alfa hidroxycarboxílico o ácido beta-hidroxycarboxílico es ácido cítrico y, en algunas realizaciones, la forma de dosificación farmacéutica líquida del compuesto de fórmula (II) tiene un pH comprendido entre aproximadamente pH 3 y aproximadamente pH 7. En algunas de tales realizaciones, el pH está entre aproximadamente pH 4,9 y aproximadamente pH 6,7. En ciertas otras de tales realizaciones, el pH se encuentra entre aproximadamente pH 5,5 y aproximadamente pH 6,5.

El ácido alfa-hidroxicarboxílico o ácido beta-hidroxicarboxílico es ácido cítrico y, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del compuesto de fórmula (II) se prepara in situ a partir de una solución vehículo de stock y el compuesto de fórmula (VIII). En algunas realizaciones, la solución vehículo de stock comprende agua, ácido cítrico, citrato de sodio y propilenglicol. En tales realizaciones, la solución resultante puede diluirse ulteriormente con solución vehículo de stock o con una solución de cloruro de sodio para generar composiciones farmacéuticas líquidas del compuesto de fórmula (II) de concentraciones deseadas.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica líquida de dosis unitaria, que comprende el compuesto de fórmula (II), un tampón, y opcionalmente un modificador de la tonicidad. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria comprende el compuesto de fórmula (II), un tampón, y opcionalmente un modificador de la tonicidad, en donde el compuesto de fórmula (II) es el compuesto (I-1). En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) está presente en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria en una concentración de aproximadamente 0,5 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL del compuesto de fórmula (VIII). En algunas otras realizaciones, el compuesto de fórmula (II) está presente en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria en una concentración de aproximadamente 1 mg/mL del compuesto de fórmula (VIII). En algunas otras realizaciones, en donde el compuesto de fórmula (II) es el compuesto (I-1), el compuesto (I-1) en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria está presente en una concentración de aproximadamente 0,5 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL del compuesto de fórmula (VIII-1). En algunas otras realizaciones adicionales, en donde el compuesto de fórmula (II), es el compuesto (I-1), el compuesto (I-1) en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria está presente en una concentración de aproximadamente 1 mg/mL del compuesto de fórmula (VIII-1).

En algunas realizaciones en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria, el citrato de sodio y ácido cítrico están presentes en una cantidad equivalente a aproximadamente 0,005 g hasta aproximadamente 0,250 g de ion citrato. En algunas realizaciones en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria, el citrato de sodio y el ácido cítrico están presentes en una cantidad equivalente a aproximadamente 0,025 g hasta aproximadamente 0,125 g de ion citrato.

En algunas realizaciones en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria, el cloruro de sodio está presente en una cantidad de aproximadamente 0,0045 g hasta aproximadamente 0,09 g. En algunas realizaciones de la unidad composición farmacéutica líquida de dosis unitaria, el cloruro de sodio está presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 g hasta aproximadamente 0,04 g.

En algunas realizaciones en la composición farmacéutica líquida de dosis unitaria, la composición farmacéutica se almacena congelada hasta su utilización.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para preparar el compuesto de fórmula (II), como una composición farmacéutica líquida de dosis unitaria; comprendiendo el método los pasos:

- (h-1) disolver el tampón en un disolvente acuoso;
- (h-2) disolver el compuesto de fórmula (II), o una forma cristalina del mismo, en la mezcla obtenida en el paso (h-1);
- (h-3) disolver el modificador de la tonicidad en la mezcla obtenida en el paso (h-2);
- (h-4) añadir adicionalmente disolvente acuoso al volumen de lote requerido; y
- (h-5) llenar viales con una cantidad de la mezcla obtenida en el paso (h-4).

En algunas realizaciones, los viales se tapan después del paso (h-5). En algunas otras realizaciones, se borbotea nitrógeno a través de la mezcla antes del paso (h-5). En algunas otras realizaciones, después del paso (h-5), el líquido de los viales puede cubrirse con nitrógeno antes de taparlos.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (II) se forma in situ a partir del compuesto de fórmula (VIII). En tales realizaciones, en el paso (h-2), se añade a la mezcla el compuesto de fórmula (VIII), o una forma cristalina del mismo. En algunas realizaciones, el ácido cítrico se añade en el paso (h-2). En algunas otras realizaciones, el ácido cítrico está presente el paso (h-1) como el tampón.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan preferiblemente para administración a un paciente que sufre, o se halla en riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia de un trastorno mediado por el proteasoma. El término "paciente", como se utiliza en esta memoria, significa un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano. Las composiciones farmacéuticas preferidas de la invención son las formuladas para administración oral, intravenosa, o subcutánea. Sin embargo, cualquiera de las formas de dosificación anteriores que contenga una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención está plenamente dentro de los límites de experimentación de rutina y por tanto, plenamente dentro del alcance de la presente invención. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la invención puede comprender además otro agente terapéutico. En algunas realizaciones, dicho otro agente terapéutico es uno que se administran normalmente a pacientes con la enfermedad o afección de que se trata.

Por “cantidad terapéuticamente eficaz” se entiende una cantidad suficiente para causar una disminución detectable en la actividad del proteasoma o la gravedad de trastorno mediado por el proteasoma. La cantidad de inhibidor del proteasoma necesaria dependerá de la eficacia del inhibidor para el tipo de célula dado y el período de tiempo requerido para tratar el trastorno. Debería entenderse también que una dosificación específica y un régimen de tratamiento para cualquier paciente particular dependerán de una diversidad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo, y la dieta del paciente, el tiempo de administración, la tasa de excreción, las combinaciones de fármacos, el criterio del médico encargado el tratamiento, y la gravedad de la enfermedad particular de que se trate. Típicamente, la cantidad de agente terapéutico adicional presente en una composición de esta invención no será mayor que la cantidad que se administraría normalmente en una composición que comprenda dicho agente terapéutico como el único agente activo. Preferiblemente, la cantidad de agente terapéutico adicional estará comprendida entre aproximadamente 50% y aproximadamente 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprenda dicho agente como el único agente terapéuticamente activo.

Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser útiles en un método para tratar un paciente que sufre, o se encuentra en riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia de un trastorno mediado por el proteasoma. Como se utiliza en esta memoria, el término “trastorno mediado por el proteasoma” incluye cualquier trastorno, enfermedad o afección que está causado o caracterizado por un aumento en la expresión o actividad del proteasoma, o que requiere actividad del proteasoma. El término “trastorno mediado por el proteasoma” incluye también cualquier trastorno, enfermedad o afección en el cual es beneficiosa la inhibición de la actividad del proteasoma.

Por ejemplo, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención son útiles en el tratamiento de trastornos mediados por proteínas (v.g., NF $\kappa$ B, p27<sup>Kip</sup>, p21<sup>WAF/CIP1</sup>, p53) que están reguladas por la actividad del proteasoma. Trastornos relevantes incluyen trastornos inflamatorios (v.g., artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), osteoartritis, dermatosis (v.g., dermatitis atópica, psoriasis)), trastornos vasculares proliferativos (v.g., aterosclerosis, restenosis), trastornos proliferativos oculares (v.g., retinopatía diabética), trastornos proliferativos benignos (v.g., hemangiomas), enfermedades autoinmunes (v.g., esclerosis múltiple, rechazo de tejidos y órganos), así como inflamación asociada con infección (v.g., respuestas inmunes), trastornos neurodegenerativos (v.g., enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de las neuronas motoras, dolor neuropático, trastornos de repetición de triplete, astrocitomas, y neurodegeneración como resultado de enfermedad alcohólica del hígado), lesión isquémica (v.g., derrame cerebral), y caquexia (v.g., descomposición acelerada de proteínas musculares que acompaña a diversos estados fisiológicos y patológicos, (v.g., lesión de nervios, ayuno, fiebre, acidosis, infección de HIV, aflicción de cáncer, y ciertas endocrinopatías)).

Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención son particularmente útiles para el tratamiento del cáncer. Como se utiliza en esta memoria, el término “cáncer” se refiere a un trastorno celular caracterizado por proliferación celular incontrolada o no regulada, diferenciación celular disminuida, capacidad inadecuada para invadir tejido circundante, y/o capacidad para establecer nuevo crecimiento en sitios ectópicos. El término “cáncer” incluye, pero sin carácter limitante, tumores sólidos y tumores transportados por la sangre. El término “cáncer” abarca enfermedades de la piel, tejidos, órganos, huesos, cartílagos, sangre, y vasos. El término “cáncer” abarca adicionalmente cánceres primarios y metastásicos.

Ejemplos no limitantes de tumores sólidos que pueden tratarse con los inhibidores del proteasoma o composiciones farmacéuticas descritos incluyen cáncer de páncreas; cáncer de vejiga; cáncer colorrectal; cáncer de mama, con inclusión de cáncer de mama metastásico; cáncer de próstata, con inclusión de cáncer de próstata dependiente de andrógenos e independiente de andrógenos; cáncer renal, con inclusión, v.g., de carcinoma metastásico de células renales; cáncer hepatocelular; cáncer de pulmón, con inclusión, v.g., de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), carcinoma bronquiolo-alveolar (BAC), y adenocarcinoma del pulmón; cáncer ovárico, con inclusión, v.g., de cáncer epitelial progresivo o peritoneal primario; cáncer cervical; cáncer gástrico; cáncer de esófago; cáncer de cabeza y cuello, con inclusión, v.g., de carcinoma de células escamosas de la cabeza y el cuello; melanoma; cáncer neuroendocrino, con inclusión de tumores neuroendocrinos metastásicos; tumores cerebrales, con inclusión, v.g., de glioma, oligodendroglioma anaplástico, glioblastoma multiforme de los adultos, y astrocitoma anaplástico de los adultos; cáncer de huesos, y sarcoma de tejidos blandos.

Ejemplos no limitantes de enfermedades malignas hematológicas que pueden tratarse con los inhibidores del proteasoma o las composiciones farmacéuticas descritas incluyen leucemia mieloide aguda (AML); leucemia mielógena crónica (CML), con inclusión de CML acelerada y CML en fase de blastos (CML-BP); leucemia linfoblástica aguda (ALL); leucemia linfocítica crónica (CLL); enfermedad de Hodgkin (HD); linfoma no-Hodgkin (NHL), con inclusión de linfoma folicular y linfoma de las células del manto; linfoma de células B; linfoma de células T; mieloma múltiple (MM); macroglobulinemia de Waldenstrom; síndromes mielodisplásicos (MDS), con inclusión de anemia refractaria (RA), anemia refractaria con sideroblastos anulares (RARS), anemia refractaria con exceso de blastos (RAEB), y RAEB en transformación (RAEB-T); y síndromes mieloproliferativos.

En algunas realizaciones, el compuesto o las composiciones farmacéuticas de la invención se utilizan para tratar un paciente que sufre o se encuentra en riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia en un cáncer seleccionado del grupo constituido por mieloma múltiple y linfoma de las células del manto.

5 En algunas realizaciones, el inhibidor del proteasoma o las composiciones farmacéuticas de la invención se administra en asociación con otro agente terapéutico. El otro agente terapéutico puede inhibir también el proteasoma, o puede operar por un mecanismo diferente. En algunas realizaciones, el otro agente terapéutico es uno que se administra normalmente a pacientes con la enfermedad o afección de que se trata. El inhibidor del proteasoma de la invención se puede administrar con el otro agente terapéutico en una sola forma de dosificación o como una forma de dosificación separada. Cuando se administra como una forma de dosificación separada, el otro agente terapéutico puede administrarse antes de, al mismo tiempo que, o después de la administración del inhibidor del proteasoma de la invención.

15 En algunas realizaciones, un inhibidor del proteasoma de fórmula (II), o composición farmacéutica del compuesto de fórmula (II) se administra en asociación con un agente anticáncer. Como se utiliza en esta memoria, el término "agente anticáncer" se refiere a cualquier agente que se administra a un individuo con cáncer para propósitos de tratamiento del cáncer.

20 Ejemplos no limitantes de agentes quimioterapéuticos deteriorantes del DNA incluyen inhibidores de la topoisomerasa I (v.g., irinotecán, topotecán, camptotecina y análogos o metabolitos de los mismos, y doxorubicina); inhibidores de la topoisomerasa II (v.g., etoposido, teniposido, y daunorrubicina); agentes alquilantes (v.g., melfalán, clorambucil, busulfán, tiotepa, ifosfamida, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, decarbazina, metotrexato, mitomicina C, y ciclofosfamida); intercaladores de DNA (v.g., cisplatino, oxaliplatino, y carboplatino); intercaladores de DNA y generadores de radicales libres tales como bleomicina; y miméticos de nucleósidos (v.g., 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, fludarabina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatín, e hidroxiurea).

30 Agentes quimioterapéuticos que interrumpen la replicación celular incluyen: paclitaxel, docetaxel, y análogos afines; vincristina, vinblastina, y análogos afines; talidomida, lenalidomida, y análogos afines (v.g., CC-5013 y CC-4047); inhibidores de proteínas tirosina-quinasa (v.g., imatinib mesilato y gefitinib); inhibidores del proteasoma (v.g., bortezomib); inhibidores de NF- $\kappa$ B, con inclusión de inhibidores de la quinasa I $\kappa$ B; anticuerpos que se fijan a proteínas sobreexpresadas en los cánceres y regulan por tanto en sentido decreciente la replicación celular (v.g., trastuzumab, rituximab, cetuximab y bevacizumab); y otros inhibidores de proteínas o enzimas que se sabe están reguladas en sentido creciente, sobreexpresadas o activas en los cánceres, cuya inhibición regula la replicación celular en sentido decreciente.

35 Con objeto de que esta invención se comprenda más plenamente, se exponen los ejemplos preparativos y de test siguientes. Estos ejemplos ilustran el modo de producir o ensayar compuestos específicos, y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención en modo alguno.

## 40 EJEMPLOS

### Abreviaturas

DCM	Cloruro de metileno
DIPEA	N,N'-diisopropil-etilamina
DMF	N,N'-Dimetilformamida
EDCI	N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida hidrocloreto
EtOAc	Acetato de etilo
H	Horas
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
MIBK	Metil-isobutil-cetona
PES	Polietersulfona
TBTU	Tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
LCMS	Cromatografía líquida-espectrometría de masas
min	minutos

## 45 Métodos Generales

<sup>1</sup>H NMR: Los espectros se adquieren a la temperatura ambiente en un espectrómetro JOEL ECX-400 NMR que opera a 400 MHz para <sup>1</sup>H NMR. Los FID's resultantes se transfieren a un PC y se procesan utilizando software de procesamiento NUTS NMR de Acorn NMR Inc. Los desplazamientos químicos se referencian al disolvente DMSO,

2,50 ppm. Se prepara un blanco de disolvente por adición de -0,75 mL de DMSO-d6 al tubo de NMR. Después que se adquiere un espectro  $^1\text{H}$  en el blanco de disolvente, se añade la muestra y se disuelve completamente.

Espectrometría de Masas: Los estudios de espectrometría de masas se realizan en un espectrómetro de masas de trampa iónica Thermo-Finnigan LCQ Deca-XP. La fuente de iones de electropulverización se utilizó en ambos modos positivo y negativo con un voltaje alto de 5 kV, tasa de flujo del gas envolvente de 35 arb, temperatura del capilar de 275 °C, voltaje del capilar de 9 V y compensación de la lente del tubo de 35 V. Se disolvió un analito en acetonitrilo para generar una solución de 0,5 mg/mL. Se utilizó un sistema HPLC Agilent 1100 para el análisis de flujo de la LC-espectrometría de masas. El caudal de la bomba era 1,0 mL/min. Se inyectaron 10  $\mu\text{L}$  de cada solución de muestra desde el tomamuestras automático en una junta T. Se infundió aproximadamente 2% de la solución desde la junta T en el espectrómetro de masas.

Difractometría en Polvo de Rayos X (XRPD): Los patrones de difracción en polvo de rayos X se adquieren en:

i) un difractómetro Bruker AXS D8Advance. Los datos se recogen en un intervalo de ángulo de  $2,9^\circ$  a  $29,6^\circ$   $2\theta$  en modo de escaneo continuo utilizando un tamaño de paso de  $0,05^\circ$   $2\theta$  y un tiempo de paso de 2 s. La muestra se pasa en las condiciones del ambiente y se prepara como un espécimen de placa lisa utilizando polvo tal como se recibe sin molienda; o

ii) un difractómetro PANalytical X'pert Pro. Cada espécimen se analiza utilizando radiación Cu producida utilizando una fuente de foco fino Optix-long. Se utiliza un espejo multicapa graduado elípticamente para enfocar los rayos X Cu K  $\alpha$  de la fuente a través del espécimen y al detector. El espécimen se estratifica entre films de 3  $\mu\text{m}$  de espesor. Se analiza en geometría de transmisión, y se hace girar para optimizar las estadísticas de orientación. Se utiliza una parada de haz para minimizar el ruido de fondo generado por la dispersión en el aire. No se utilizan helio ni la extensión anti-dispersión. Se utilizan rendijas Soller para los haces incidente y difractado fin de minimizar la divergencia axial. Los patrones de difracción se recogen utilizando una divergencia axial de minimización de la posición de escaneo. Los patrones de difracción se recogen utilizando un detector sensible a la posición de escaneo (X'Celerator) localizado a 240 mm del espécimen. Antes de los análisis, se analiza un espécimen de silicio (material de referencia estándar NIST 640 c) para verificar la posición del pico 111 del silicio.

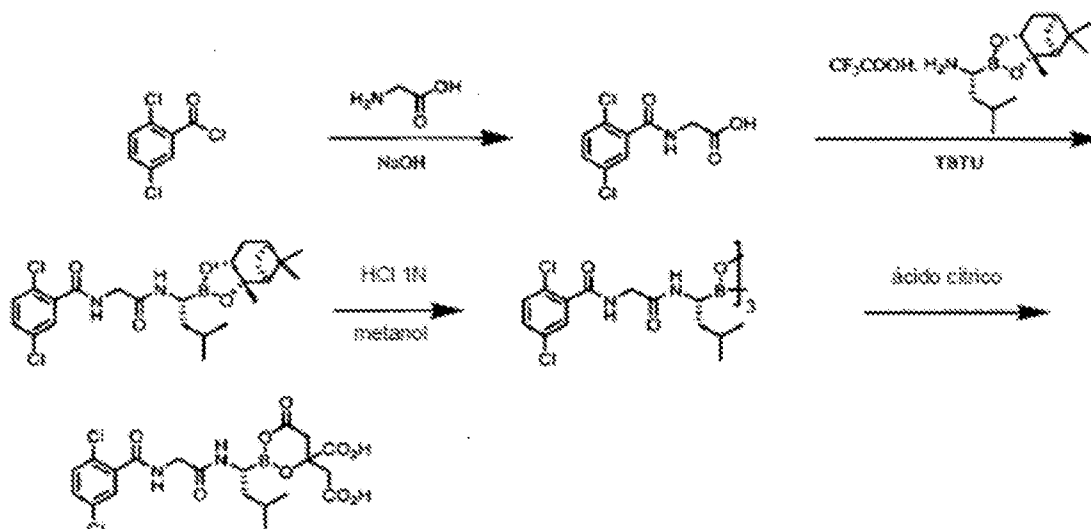
Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC): Los datos de calorimetría de barrido diferencial (DSC) se recogen en:

i) un calorímetro de barrido diferencial Q100 de TA Instruments equipado con un tomamuestras automático de 50 posiciones. El estándar de calibración de energía y temperatura es indio. Las muestras se calientan a una tasa de 10 °C por minuto entre 25 °C y 300 °C. Se mantiene una purga de nitrógeno que fluye a 50 mL/min sobre la muestra durante un escaneo. Se analizan entre 1 mg y 3 mg de muestra. Todas las muestras se sellan en una bandeja de aluminio herméticamente cerrada con un orificio para aliviar la presión acumulada por el vapor del disolvente; o

ii) un calorímetro de barrido diferencial 2920 de TA Instruments. La muestra se pone en una bandeja DSC de aluminio y se registra el peso con exactitud. La bandeja abierta se cubre con una tapa y se sella a continuación. La cubeta de la muestra se equilibra a 25 °C, y se calienta bajo una purga de nitrógeno a una tasa de 10 °C/minuto. Se utilizó indio metálico como el estándar de calibración.

Análisis Termogravimétrico (TGA): Los datos del análisis termogravimétrico (TGA) se recogen en un analizador termogravimétrico Q500 de TA Instruments, calibrado con Níquel/Alumel y que opera a una tasa de escaneo de 10 °C por minuto. Se mantiene una purga de nitrógeno que fluye a 60 mL/min sobre la muestra durante las medidas. Típicamente, se cargan 5 mg a 15 mg de muestra en un crisol de platino previamente tarado.

Ejemplo 1: Síntesis de ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metil butil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1)



#### Paso 1: Ácido 2,5-[(diclorobenzoyl)amino]acético

- 5 A una mezcla de NaOH (12 g, 300 mmol) y glicina (18 g, 239 mmol) en agua (120 mL) se añadió gota a gota durante 45 min una solución de cloruro de 2,5-diclorobenzoyl (10 g, 48 mmol) en THF (15 mL) manteniendo la temperatura interna por debajo de aproximadamente 25 °C. Después de una hora, la mezcla se acidificó con HCl 2,0 M (125 mL) manteniendo la temperatura interna por debajo de aproximadamente 5 °C. El precipitado resultante se recogió por filtración a vacío. El producto bruto se recrystalizó en agua para dar ácido 2,5-[(diclorobenzoyl)amino]acético como un sólido blanco cristalino (6,1 g, 52%). pf 173,3 °C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 12,72 (bs, 1H), 8,89 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 7,54 (m, 2H), 7,48 (m, 1H), 3,93 (d, J = 6,0 Hz), <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 41,6, 129,3, 129,6, 131,4, 132,2, 138,2, 171,4, 165,9. MS (m/z): [M+H] calculado para C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>, 248,0; encontrado, 248,0; [M+Na] calculado para C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>2</sub>NNaO<sub>3</sub>, 270,0; encontrado 270,2.
- 10
- 15 El ácido 2,5-[(diclorobenzoyl)amino]acético pudo prepararse también por el procedimiento siguiente: A una mezcla de glicina (21,5 g, 286 mmol) en agua (437 mL), se añadió NaOH 2,0 molar (130 mL) y la solución resultante se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de 2,5-diclorobenzoyl (50,0 g, 239 mmol) en THF (75 mL) a una tasa tal que la temperatura interna se mantuvo a 0 ± 1 °C. Durante la adición, el pH se controló a 11,0 ± 0,2 utilizando un controlador del pH titulado con NaOH 2,0 molar. Después de completar la adición, la mezcla se agitó a 0 ± 1 °C durante 2 horas más. La mezcla se acidificó luego con HCl 2,0 M (176 mL) hasta un pH final de 2,5. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua fría (125 mL), y secó a 45°C en un horno de vacío para proporcionar ácido 2,5-[(diclorobenzoyl) amino]acético como un sólido blanco (57,6 g, 97,3%).
- 20

#### Paso 2: 2,5-Dicloro-N-[2-({(1R)-3-metil-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-trimetilhexahidro-4,6-metano-1,3,2-benzodioxaborol-2-il]butil]amino)-2-oxoetil]benzamida

- 25 A una solución de ácido 2,5-[(diclorobenzoyl)amino]acético (6,10 g, 24,6 mmol) y TBTU (8,34 g, 26,0 mmol) en DMF (40 mL) con una temperatura interna inferior a aproximadamente 5 °C se añadió (1R)-3-metil-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-trimetilhexahidro-4,6-metano-1,3,2-benzodioxaborol-2-il]butan-1-amina•TFA (9,35 g, 24,7 mmol). Se añadió luego DIPEA (13 mL, 75 mmol) gota a gota durante 2 horas, manteniendo la temperatura interna por debajo de aproximadamente 5 °C. Después de 40 min, la mezcla se diluyó con EtOAc (90 mL), se lavó con NaCl al 5% (150 mL), 2 veces con NaCl al 10% (2 x 40 mL), una vez con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2% (1 x 40 mL), una vez con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 1% (1 x 40 mL), y una vez con NaCl al 10% (1 x 40 mL). La capa orgánica resultante se concentró para dar un aceite espeso, se diluyó con heptano (40 mL) y se evaporó para dar 2,5-dicloro-N-[2-({(1R)-3-metil-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-trimetilhexahidro-4,6-metano-1,3,2-benzodioxaborol-2-il]butil]amino)-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco que se utilizó en el paso siguiente sin purificación.
- 30
- 35

#### Paso 3: N,N',N''-[boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-dicloro-benzamida)

- 40 A una solución de 2,5-dicloro-N-[2-({(1R)-3-metil-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-trimetilhexahidro-4,6-metano-1,3,2-benzodioxaborol-2-il]butil]amino)-2-oxoetil]benzamida (12,2 g, 24,6 milimoles) en metanol/hexano (1:1) (250 mL) se añadieron HCl 1N (30 mL, 30 milimoles) y ácido (2-metilpropil)borónico (6,5 g, 64 milimoles). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante una noche. Se separaron las fases y la capa de metanol se lavó dos veces con heptano adicional (2 x 55 mL). La capa orgánica resultante se concentró a aproximadamente 10 mL y se repartió entre NaOH 2,0 M (30 mL) y DCM (25 mL). La capa de DCM se lavó una sola vez con NaOH 2,0 M adicional (5 mL). Las capas acuosas básicas se combinaron luego, se lavaron dos veces con DCM (2 x 25 mL) y se acidificaron con HCl 1 M (60
- 45



mL). La mezcla resultante se diluyó con DCM (40 mL), se separaron las capas, y la capa acuosa resultante se lavó 3 veces con DCM (3 x 10 mL). Los extractos en DCM combinados se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> (25 g) y se evaporaron para dar un aceite espeso. El producto se precipitó con heptano (50 mL) y se recogió por filtración para dar N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]}tris(2,5-diclorobenzamida) como un sólido blanco (6,6 g, 74%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 8,93 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 8,68 (bs, 1H), 7,63 (m, 1H), 7,52 (m, 2H), 4,00 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,62 (m, 1H), 1,59 (m, 1H), 1,33 (m, 1H), 1,24 (m, 1H), 0,81 (d, J = 5,9 Hz, 6H), <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 23,2, 25,8, 40,1, 40,7, 43,0, 129,0, 130,0, 131,0, 137,5, 165,0, 172,5. MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>42</sub>H<sub>52</sub>B<sub>3</sub>Cl<sub>6</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>, 1027,2; encontrado, 1027,3; [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>42</sub>H<sub>51</sub>B<sub>3</sub>Cl<sub>6</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>9</sub>, 1049,2; encontrado 1049,5.

Paso 4: Ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-carboxílico (I-1))

Forma 1: A una solución de ácido cítrico (2,75 g, 14,3 milimoles) en EtOAc (85 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 74°C se añadió N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]}tris(2,5-diclorobenzamida) (5,00 g, 4,87 milimoles) como un sólido. La solución se enfrió de modo descontrolado hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y la mezcla se agitó durante una noche. El precipitado resultante se recogió por filtración para dar ácido 2,2'-[2-[(1R)-1-[[[diclorobenzoil]amino]acetil]amino]-3-metilbutil]-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4,4-diil]diacético Forma 1 como un sólido cristalino (6,65 g, 88%). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ 110 °C): 10,08 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,52 (d, J = 1,3 Hz, 2H), 4,26 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 2,70 (q, J = 14,5 Hz, 4H), 2,70 (bs, 1H), 1,72 (sept, J = 6,5 Hz, 1H), 1,42 (ddd, J = 5,2 Hz, J = 8,6 Hz, J = 13,9 Hz, 1H), 1,28 (ddd, J = 5,3, J = 9,4 Hz, J = 14,3 Hz, 1H), 0,91 (dd, J = 3,3 Hz, J = 6,6 Hz, 6H). MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>, 539,1; encontrado, 539,1.

Los datos XRPD para I-1 Forma 1 se muestran en la FIGURA 1 y en la Tabla 1.

Tabla 1: Datos XRPD para I-1 Forma 1

Ángulo 2θ °	Intensidad %
6,441	100
8,304	29,5
10,35	19
11,619	5,1
12,695	13,6
15,077	28,2
16,352	28,7
17,504	16,3
18,231	6
19,086	21,4
20,405	11,7
21,231	7,6
21,916	7,6
25,371	15,2
27,588	6,2

Los datos de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) para I-1 Forma 1 se muestran en la FIGURA 2. El perfil se caracteriza por una transición endotérmica con una temperatura de comienzo de 191,8°C y una fusión de 198,8°C. Una segunda transición endotérmica correspondiente a descomposición tiene una temperatura de comienzo de 225°C. Estas temperaturas tienen un error de ± 5°C.

Los datos de Análisis Termogravimétrico (TGA) para I-1 Forma 1 se muestran en la FIGURA 2. El perfil representa gráficamente la pérdida porcentual de peso de la muestra en función de la temperatura, siendo el cambio de tasa de temperatura aproximadamente 10°C/min. La pérdida de peso representa una pérdida de aproximadamente 0,72% del peso de la muestra cuando la temperatura cambia desde 50°C a 200°C. Estas temperaturas tienen un error de ± 5°C.

Forma 2: A una solución de ácido cítrico (10,1 g, 52,6 milimoles) en EtOAc (300 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 74°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-

oxoetano-2,1-diil)]}tris(2,5-diclorobenzamida) (20,0 g, 19,5 milimoles) en EtOAc (60 mL). La solución se enfrió lentamente (aproximadamente 0,33°C/min) hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 60°C y la mezcla se agitó durante 3 horas. La papilla resultante se enfrió lentamente (tasa de aproximadamente 0,12°C/min) hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y la mezcla se agitó durante una noche. El precipitado resultante se recogió por filtración para dar ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico Forma 2 como un sólido cristalino (26,7 g, 98%). <sup>1</sup>H NMR ((500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ 110 °C): 10,08 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 1,3 Hz, 2H), 4,26 (d, *J* = 5,5 Hz, 2H), 2,70 (q, *J* = 14,5 Hz, 4H), 2,70 (bs, 1H), 1,72 (sept, *J* = 6,5 Hz, 1H), 1,42 (ddd, *J* = 5,2 Hz, *J* = 8,6 Hz, *J* = 13,9 Hz, 1H), 1,28 (ddd, *J* = 5,3, *J* = 9,4 Hz, *J* = 14,3 Hz, 1H), 0,91 (dd, *J* = 3,3 Hz, *J* = 6,6 Hz, 6H), <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ 100 °C): 21,65, 23,34, 25,09, 38,39, 38,98, 42,07, 76,25, 128,97, 129,14, 130,94, 131,48, 131,73, 137,05, 165,44, 170,23, 175,74, 177,43. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Na] calculado para C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>, 539,1; encontrado, 539,1.

El ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico Forma 2 se preparó también por adición de una solución de ácido cítrico (21 g, 0,11 milimoles) en THF (80 mL) a una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1*R*)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]}tris(2,5-diclorobenzamida) (40 g, 0,11 milimoles) en THF (80 mL) a 60°C. La solución se sembró luego con cristales de la Forma 2 (400 mg). Después de agitar durante 30 minutos a 60°C, se añadió EtOAc (400 mL) durante un periodo de 9 horas. Después de completada la adición del EtOAc, la temperatura se redujo a 20°C durante 5 horas. La suspensión resultante se filtró para recoger ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico Forma 2 como un sólido cristalino (40 g, 70%).

El ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico Forma 2 se preparó también de la misma manera general utilizando las condiciones descritas en la Tabla 2.

Tabla 2: Condiciones adicionales para preparación de I-1 Forma 2

Disolvente	Temperatura Inicial	Temperatura de Siembra	Rendimiento Aislado de I-1 Forma 2
acetonitrilo	80 °C	Sin siembra	77 %
MIBK	80 °C	Sin siembra	80%
2-metiltetrahydrofurano	80 °C	60 °C	72%

El ácido 4-(*R,S*)-(carboximetil)-2-((*R*)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico Forma 2 se preparó también por disolución en acetona seguida por adición de EtOAc como antidisolvente.

Los datos XRPD para I-1 Forma 2 se muestran en la FIGURA 3 y en la Tabla 3.

Tabla 3: Datos XRPD de I-1 Forma 2

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
5,817	100
7,614	93,4
11,575	71,1
11,896	67,1
12,571	24,3
14,43	32,2
16,689	65,8
17,362	17,8
18,232	53,9
19,596	77,6
19,959	63,8
20,376	36,2
20,998	32,2
21,5	40,1
21,764	43,4

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
22,407	77,6
23,12	33,6
23,901	26,3
24,402	20,4
24,882	19,7
25,764	19,1
26,464	39,5
27,347	21,7
27,65	17,1
27,979	16,4
29,41	20,4

Los datos de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) para I-1 Forma 2 se muestran en la FIGURA 4. El perfil se caracteriza por una transición endotérmica con una temperatura de comienzo de 206,5°C y una fusión de 219,9°C. Una segunda transición endotérmica correspondiente a descomposición tiene una temperatura de comienzo de 225°C. Estas temperaturas tienen un error de  $\pm 5^\circ\text{C}$ .

Los datos de Análisis Termogravimétrico (TGA) para I-1 Forma 2 se muestran en la FIGURA 4. El perfil representa gráficamente la pérdida porcentual de peso de la muestra en función de la temperatura, siendo el cambio de tasa de temperatura aproximadamente 10°C/min. La pérdida de peso representa una pérdida de aproximadamente 1,1% del peso de la muestra cuando la temperatura cambia desde 50°C a 200°C. Estas temperaturas tienen un error de  $\pm 5^\circ\text{C}$ .

Ejemplo 1A: Síntesis alternativa de ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2

Un reactor de vidrio de 50 L equipado con agitador mecánico, embudo de goteo, indicador de temperatura, y unidad de control calentamiento/enfriamiento (bajo nitrógeno) se cargó con EtOAc filtrado a través de un filtro de 1,2 micrómetros (18,9 kg) y ácido cítrico anhidro (0,561 kg, 2,9 moles). La mezcla se calentó a 71°C y dio como resultado una solución. N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (1,109 kg, 3,1 moles), disuelta en EtOAc (4,9 kg) se clarificó utilizando un filtro en línea (1,2 micrómetros), y la solución se añadió a la mezcla de reacción con agitación (193 rpm) durante un periodo de 20 min mientras se mantenía una temperatura de 73°C a 75°C. La agitación se redujo a 96 rpm y la mezcla se enfrió como sigue: (1) se mantuvo la mezcla a 73°C-75°C durante 25 min; (2) la mezcla se enfrió gradualmente a 40°C a la tasa de aproximadamente 5°C/30 min; (3) la mezcla se dejó enfriar sin control durante una noche a la temperatura ambiente con agitación. El producto se aisló luego por filtración, se lavó en el filtro con EtOAc con un filtro de 1,2 micrómetros (2 x 1,2 kg), y se secó a vacío a 40-41°C durante una noche (22 horas) para dar 1,458 kg (92%) del compuesto del título. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 12,13 (s, 2H), 10,69 (s, 1H), 9,11 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 7,66 (t, J = 1,2 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 1,2 Hz, 2H), 4,27 (bs, 2H), 2,9 - 2,55 (m, 5H), 1,67 (bs, 1H), 1,4 - 1,15 (bs, 2H), 0,86 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

Los datos XRPD para el compuesto (I-1) Forma 2 se muestran en la FIGURA 7 y en la Tabla 6.

Tabla 6

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
5,69	100
7,64	66
9,66	4
11,22	23
11,42	51
11,79	37
12,41	15
14,23	15
15,60	6

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
16,53	32
17,15	4
18,07	31
19,39	55
19,79	41
20,24	21
20,79	15
21,36	20
21,61	22
22,23	63
22,55	14
22,97	20
23,22	7
23,67	10
23,90	7
24,19	10
24,74	7
24,97	3
25,64	8
26,31	24
26,64	10
27,21	7
27,40	7
27,88	5
28,25	4
29,27	11
29,72	10

Los datos de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) para el compuesto (I-1) Forma 2 se muestran en la FIGURA 8. El perfil se caracteriza por dos transiciones endotérmicas; la primera con una fusión a aproximadamente 231,3°C, y la segunda con una fusión a aproximadamente 239,9°C. Estas temperaturas tienen un error de  $\pm 5^\circ\text{C}$ .

5

Ejemplo de Referencia 2: Síntesis de 2,5-dicloro-N-(2-[[[(1R)-3-metil-1-(4-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il)butil]amino]-2-oxoetil]-benzamida (I-2)

10 A una solución de ácido glicólico (0,041 g, 0,54 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,199 g, 0,19 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-(2-[[[(1R)-3-metil-1-(4-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il)butil]amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,215 g, 95%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 502,2; encontrado, 502,0.

15 MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 399,1; encontrado, 399,0.

Ejemplo de Referencia 3: Síntesis de ácido {(4S)-2-[(1R)-1-({[(2,5-diclorobenzoyl)amino]-acetil}amino)-3-metilbutil]-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il}acético (I-3)

20 A una solución de ácido L-málico (0,0958 g, 0,714 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,239 g, 0,233 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin

control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar ácido {(4S)-2-[(1R)-1-[(2,5-diclorobenzoil)amino]acetil]amino)-3-metilbutil]-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il}acético como un sólido blanco (0,307 g, 96%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>24</sub>H<sub>37</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> 560,1; encontrado, 560,1. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 457,1; encontrado, 457,1.

Ejemplo de Referencia 4: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-1-[(4S)-4-ciclohexil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil]amino]-2-oxoetil]benzamida (I-4)

A una solución de ácido (S)-hexahidromandélico (0,881 g, 0,557 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-1-[(4S)-4-ciclohexil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil]amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,251 g, 93%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>45</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 584,3; encontrado, 584,1. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 481,1; encontrado 481,1.

Ejemplo de Referencia 5: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-1-(4,4-dimetil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-metilbutil]amino]-2-oxoetil]benzamida (I-5)

A una solución de ácido 2-hidroxiisobutírico (0,0567 g, 0,545 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-1-(4,4-dimetil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-metilbutil]amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,225 g, 96%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 530,2; encontrado, 530,0. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 427,1; encontrado, 427,0.

Ejemplo de Referencia 6: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-3-metil-1-[(5R)-4-oxo-5-fenil-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-butil]amino]-2-oxoetil]benzamida (I-6)

A una solución de ácido (R)-mandélico (0,168 g, 1,10 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,382 g, 0,37 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el precipitado resultante se recogió por filtración para dar 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-3-metil-1-[(5R)-4-oxo-5-fenil-1,3,2-dioxaborolan-2-il]butil]amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,343 g, 65%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 10,88 (s, 1H), 9,22 (m, 1H), 7,68 - 7,27 (m, 8H), 5,15 (s, 1H), 4,33 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,8 - 2,76 (m, 1H), 1,71 - 1,62 (m, 1H), 1,50 - 1,28 (m, 2H), 0,89 (m, 6H). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 578,2; encontrado, 578,1. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 475,1; encontrado 475,1.

Ejemplo de Referencia 7: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-3-metil-1-[(4S)-4-metil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-butil]amino]-2-oxoetil]benzamida (I-7)

A una solución de ácido L-láctico (0,675 g, 7,34 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 70°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (2,50 g, 2,43 milimoles) en EtOAc (7,5 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 60°C. Después de 30 min, se añadió heptano (11,5 mL) hasta que la solución se volvió turbia. Se calentó la suspensión hasta que la temperatura interna era o estaba próxima a 70°C, en cuyo punto resultó una solución homogénea. La solución se enfrió a una tasa de 0,17°C/min hasta que la temperatura interna era aproximadamente 30°C, después de lo cual se enfrió sin control hasta que la temperatura interna era aproximadamente 0°C. El precipitado resultante se recogió por filtración para dar 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-3-metil-1-[(4S)-4-metil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-butil]amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco cristalino (2,32 g, 81%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>23</sub>H<sub>37</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 515,9; encontrado, 516,0. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 413,1; encontrado 413,0.

Los datos XRPD para I-7 se muestran en la FIGURA 5 y en la Tabla 4.

Tabla 4: Datos XRPD para I-7

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
7,404	46
8,783	63,5

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
9,402	16,1
11,9	20,6
12,195	100
13,71	7,3
14,594	26,5
15,302	8,3
15,772	31
17,299	26,8
17,859	25,8
*18,549	22,7
19,943	55,5
20,214	33,9
20,606	50
21,48	15,6
21,887	23
22,75	30,1
23,028	53,1
23,334	28,9
24,243	18,2
25,2	13,3
25,566	37,7
27,221	10
29,103	9,2
29,383	12,6

Ejemplo de Referencia 8: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-3-metil-1-[(4S)-4-metil-6-oxo-1,3,2-dioxaborinan-2-il]-butil)amino]-2-oxoetil]benzamida (I-8)

- 5 A una solución de ácido (S)-3-hidroxiisovalérico (0,0598 g, 0,566 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]}tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-3-metil-1-[(4S)-4-metil-6-oxo-1,3,2-dioxaborinan-2-il]butil)amino]-2-oxoetil]-benzamida como un sólido blanco (0,225 g, 95%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 10,45 (s, 1H), 9,11 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,55 (m, 2H), 4,21 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,98 - 3,90 (m, 1H), 2,51 (m, 1H), 2,33 (dd, J<sub>1</sub> = 19,2 Hz, J = 2,7 Hz, 1H), 2,24 - 2,21 (m, 1H), 1,61 - 1,52 (m, 1H), 1,33 - 1,19 (m, 2H), 1,07 - 1,04 (m, 3H), 0,84 (m, 6H). MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M+ Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 530,2; encontrado, 530,0. MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 427,1; encontrado, 427,1.

Ejemplo de Referencia 9: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-(4,4-dimetil-6-oxo-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]benzamida (I-9)

- 20 A una solución de ácido β-hidroxiisovalérico (0,0841 g, 0,712 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]}tris(2,5-diclorobenzamida) (0,260 g, 0,253 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-(4,4-dimetil-6-oxo-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]-benzamida como un sólido blanco (0,296 g, 95%). MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 544,3; encontrado, 544,0. MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 441,1; encontrado, 441,0.

Ejemplo de Referencia 10: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-[(4S)-4-terc-butil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]-2,5-diclorobenzamida (I-10)

A una solución de ácido (S)-2-hidroxi-3,3-dimetilbutírico (0,0712 g, 0,553 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-[(4S)-4-terc-butil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]-2,5-diclorobenzamida como un sólido blanco (0,245 g, 97%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 558,3; encontrado, 558,0. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 455,1; encontrado, 455,0.

Ejemplo de Referencia 11: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-[(4S)-4-isopropil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]benzamida (I-11)

A una solución de ácido (S)-2-hidroxi-3-metilbutírico (0,0659 g, 0,558 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-[(4S)-4-isopropil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,246 g, 99%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Na] calculado para C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>, 465,1; encontrado, 465,1. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 441,1; encontrado, 441,0.

Ejemplo de Referencia 12: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-[(4S)-4-isobutil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]benzamida (I-12)

A una solución de ácido 2-hidroxiisocaproico (0,0752 g, 0,569 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-((1R)-1-[(4S)-4-isobutil-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-2-il]-3-metilbutil)amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,253 g, 95%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>, 479,1; encontrado, 479,1. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 455,1; encontrado, 455,1.

Ejemplo de Referencia 13: Síntesis de 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-3-metil-1-(4-oxo-4H-1,3,2-benzodioxaborinin-2-il)butil]amino]-2-oxoetil]benzamida (I-13)

A una solución de ácido salicílico (0,0758 g, 0,549 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-[2-[(1R)-3-metil-1-(4-oxo-4H-1,3,2-benzodioxaborinin-2-il)butil]amino]-2-oxoetil]benzamida como un sólido blanco (0,198 g, 78%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>, 485,1; encontrado, 485,1, MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 461,1; encontrado, 461,0.

Los datos XRPD para I-13 se muestran en la FIGURA 6 y en la Tabla 5.

Tabla 5: Datos XRPD de I-13

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
6,784	88,1
8,372	100
11,855	66,6
13,18	85,2
14,118	7,7
14,546	19,3
15,614	9,6
16,123	19,3

Ángulo 2-θ °	Intensidad %
16,417	14,1
16,738	7,7
17,29	43,7
19,05	17,4
19,28	28,9
19,726	52,1
20,401	60,8
20,591	37,6
21,233	43,7
21,658	16,7
22,029	18,6
22,718	30,9
23,557	41,5
24,236	22,2
24,717	62,1
25,309	26
25,648	13,5
26,186	69,1
26,653	17,4
26,995	36,3
27,956	25,4
28,898	8,4
29,47	8,7

Ejemplo de Referencia 14: Síntesis de 2,5-dicloro-N-(2-((1R)-3-metil-1-(5-oxo-4,4-difenil-1,3,2-benzodioxaborolan-2-il)butil)amino)-2-oxoetil)benzamida (I-14)

- 5 A una solución de ácido bencílico (0,126 g, 0,552 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió una solución de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triilitris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]]tris(2,5-diclorobenzamida) (0,200 g, 0,195 milimoles) en EtOAc (1,0 mL). La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar 2,5-dicloro-N-(2-((1R)-3-metil-1-(5-oxo-4,4-difenil-1,3,2-benzodioxaborolan-2-il)butil)amino)-2-oxoetil)benzamida como un sólido blanco (0,291 g, 95%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Na] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>, 575,1; encontrado, 575,2. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>BCl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 551,1; encontrado, 551,1.

Ejemplo de Referencia 15: Síntesis de ácido 2,2'-[2-((1R)-3-metil-1-((2S)-3-fenil-2-((pirazin-2-ilcarbonil)-amino)propanoil)amino)butil]-5-oxo-1,3,2-benzodioxaborolan-4,4-diil]diacético (I-15)

- 15 A una solución de ácido cítrico (0,257 g, 1,34 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 74°C se añadió N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triilitris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino[(2S)-1-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil]]]tripirazina-2-carboxamida) (0,500 g, 0,455 milimoles) como un sólido. La solución resultante se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y se evaporó para dar ácido 2,2'-[2-((1R)-3-metil-1-((2S)-3-fenil-2-((pirazin-2-ilcarbonil)amino)propanoil)amino)butil]-5-oxo-1,3,2-benzodioxaborolan-4,4-diil]-diacético como un sólido blanco (0,730 g, 99%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>31</sub>H<sub>45</sub>BN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>, 642,3; encontrado, 642,2. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>, 539,2; encontrado, 539,2.

Ejemplo de Referencia 16: Síntesis de N-[(1S)-1-bencil-2-((1R)-3-metil-1-[(5R)-4-oxo-5-fenil-1,3,2-dioxaborolan-2-il]butil)amino)-2-oxoetil]pirazina-2-carboxamida (I-16)

- 25 A una solución de ácido (*R*)-mandélico (0,0738 g, 0,485 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triilitris[[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino[(2S)-1-oxo-3-



fenilpropano-1,2-diil]]tripirazina-2-carboxamida (0,178 g, 0,162 milimoles) como un sólido. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el precipitado resultante se recogió por filtración para dar N-[(1S)-1-bencil-2-(((1R)-3-metil-1-[(5R)-4-oxo-5-fenil-1,3,2-dioxaborolan-2-il]butil)amino)-2-oxoetil]pirazina-2-carboxamida como un sólido blanco (0,195 g, 80%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Et<sub>3</sub>N+H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>BN<sub>4</sub>NaO<sub>5</sub>, 523,2; encontrado, 523,2. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, 499,2; encontrado, 499,2.

Ejemplo de Referencia 17: Síntesis de N-[(1S)-1-bencil-2-(((1R)-3-metil-1-[(5R)-4-oxo-5-fenil-1,3,2-dioxaborolan-2-il]butil)amino)-2-oxoetil]pirazina-2-carboxamida (I-17)

A una solución de ácido (S)-3-hidroxi-butírico (0,0509 g, 0,489 milimoles) en EtOAc (2,0 mL) con una temperatura interna de aproximadamente 60°C se añadió N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino[(2S)-1-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil]]tripirazina-2-carboxamida (0,179 g, 0,163 milimoles) como un sólido. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C, y el disolvente se eliminó por evaporación para dar N-[(1S)-1-bencil-2-(((1R)-3-metil-1-[(4S)-4-metil-6-oxo-1,3,2-dioxaborinan-2-il]butil)amino)-2-oxoetil]pirazina-2-carboxamida como un sólido blanco (0,213 g, 96%). MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M+Na] calculado para C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>BN<sub>4</sub>NaO<sub>5</sub>, 475,2; encontrado, 475,2. MS (*m/z*) en CH<sub>3</sub>CN: [M-H] calculado para C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, 451,2; encontrado, 451,1.

Ejemplo 18: Preparación de formulaciones de ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)-acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) para administración par5enteral u oral

Formulación A: Se cargó un vaso con 90 mL de agua y se añadieron ácido cítrico monohidratado (0,08 g) y citrato de sodio dihidratado (1,5 g) y se agitó hasta disolución. Se añadió a esta solución ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2 (0,142 g), y la mezcla se agitó hasta que se obtuvo una solución. Se añadió a esta solución cloruro de sodio (0,45 g) y se ajustó el pH a pH 5,45 utilizando HCl 2 N. El volumen final de la solución resultante se ajustó a 100 mL con agua y se filtró a través de una membrana PES de 0,2 µm para dar una Formulación A que se guardó a -20°C.

Se preparó una formulación B como para la formulación A, excepto que el pH se ajustó a pH 6,2 utilizando NaOH 2N.

Formulación C: Se cargó un vaso con 90 mL de agua y se añadieron ácido cítrico monohidratado (0,08 g), citrato de sodio dihidratado (1,5 g), y propilenglicol (1,0 g) y se agitó hasta disolución. Se añadió a esta solución ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2 (0,142 g), y la mezcla se agitó hasta que se obtuvo una solución. El pH se ajustó a 6,2 utilizando HCl 2 N, y el volumen final de la solución resultante se ajustó a 100 mL con agua y se filtró a través de una membrana PES de 0,2 µm para dar la Formulación C, que se guardó a -20°C.

Ejemplo 19: Preparación en situ de formulaciones de ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) para administración parenteral u oral

Vehículo de Formulación Stock: Se cargó un vaso con aproximadamente 160 mL de agua y se añadieron ácido cítrico monohidratado (0,714 g) y citrato de sodio dihidratado (2,24 g), y se agitó hasta disolución. Se añadió a esta solución propilenglicol (2,0 g), y la mezcla se agitó hasta que se obtuvo una solución homogénea. El pH final era pH 5,14. El peso final de la solución resultante se ajustó a 200 g (suponiendo una densidad de 1 g/mL) con agua y se filtró a través de un filtro de membrana PES de 0,2 µm y se guardó a una temperatura comprendida entre aproximadamente 2°C y aproximadamente 8°C.

Formulación Stock (1 mg/mL): Se añadieron a un vaso 0,105 gramos (aproximadamente 95,4% de pureza) de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxoetano-2,1-diil)]tris(2,5-diclorobenzamida)}. Se añadieron a esto aproximadamente 90 g del Vehículo de Formulación Stock, y la mezcla resultante se agitó durante Formulación Stock (suponiendo una densidad de 1 g/mL) con Vehículo de Formulación Stock y se filtró a través de una unidad de filtro de membrana PES de 0,2 µm, después de lo cual se guardó protegido de la luz a una temperatura comprendida entre aproximadamente 2°C y aproximadamente 8°C.

Formulación D: La Formulación Stock se diluyó a concentraciones de 0,05 mg/mL y 0,1 mg/mL con Vehículo de Formulación Stock antes de su utilización.

Formulación E: La Formulación Stock se diluyó a concentraciones de 0,05 mg/mL y 0,1 mg/mL con una solución de cloruro de sodio al 0,9% antes de su utilización.

Ejemplo 20: Ensayo del Proteasoma 20S

A 1 µL de compuesto de test disuelto en DMSO en una placa negra de microtitulación de 384 pocillos se añaden 25 µL de tampón de ensayo a 37°C que contiene el activador PA28 humano (Boston Biochem, 12 nM final) con Ac-VLA-AMC (sustrato selectivo β5) (15 µM final), seguido por 25 µL de tampón de ensayo a 37°C que contiene el proteasoma

20S humano (Boston Biochem, 0,25 nM final). El tampón de ensayo se compone de HEPES 20 mM, EDTA 0,5 mM y PSA al 0,01%, pH 7,4. La reacción se sigue en un lector de placas BMG Galaxy (37°C, excitación a 380 nm, emisión a 460 nm, ganancia 20). El porcentaje de inhibición se calcula con relación a controles de inhibición 0% (DMSO) e inhibición 100% (bortezomib 10 µM).

#### Ejemplo 21: Ensayo Antiproliferación

HCT-116 (1000) u otras células tumorales en 100 µL de medio de cultivo de células apropiado (McCoy's 5A para HCT-116, Invitrogen) suplementado con suero bovino fetal al 10% (Invitrogen) se siembran en pocillos de una placa de cultivo de células de 96 pocillos y se incuban durante una noche a 37°C. Se añaden los compuestos de test a los pocillos y las placas se incuban durante 96 horas a 37°C. Se añaden a cada pocillo los reactivos MTT o WST (10 µL, Roche) y se incuban durante 4 horas a 37°C como se describe por el fabricante. Para MTT, el tinte metabolizado se solubiliza durante una noche conforme a las instrucciones del fabricante (Roche). La densidad óptica para cada pocillo se lee a 595 nm (primaria) y 690 nm (referencia) para el MTT y 450 nm para el WST utilizando un espectrofotómetro (Molecular Devices). Para el MTT, los valores de densidad óptica de referencia se sustraen de los valores de la longitud de onda primaria. La inhibición porcentual se calcula utilizando los valores de un control de DMSO ajustados a 100%.

#### Ejemplo 22: Modelo de Eficacia Tumoral en vivo

Células HCT-116 recién disociadas ( $2-5 \times 10^6$ ) u otras células tumorales en 100 µL de medio RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) se inyectan asepticamente en el espacio subcutáneo en el flanco dorsal derecho de ratones hembra lampiños CD-1 (edad 5-8 semanas, Charles River) utilizando una aguja de 1 ml de calibre 26 3/8 (Becton Dickinson Ref #309625). Alternativamente, algunos modelos de xenoinjerto requieren la pasada en serie de fragmentos de tumor. En estos casos, se implantan subcutáneamente fragmentos pequeños de tejido tumoral (aproximadamente 1 mm<sup>3</sup>) en el flanco dorsal derecho de ratones anestesiados (mezcla isoflurano/oxígeno al 3-5%) P.B-17/SCID (edad 5-8 semanas, Charles River) mediante un trocar de calibre 13 (Popper & Sons 7927). Comenzando el día 7 después de la inoculación, se miden los tumores dos veces por semana utilizando un calibre vernier. Los volúmenes de tumor se calculan utilizando procedimientos estándar ( $0,5 \times (\text{longitud} \times \text{anchura}^2)$ ). Cuando los tumores alcanzan un volumen de aproximadamente 200 mm<sup>3</sup>, los ratones se distribuyen aleatoriamente en grupos de tratamiento y comienzan a recibir el tratamiento de fármaco. La dosificación y los protocolos se determinan para cada experimento basándose en resultados previos obtenidos a partir de estudios farmacocinéticos/farmacodinámicos y de dosis máxima tolerada. El grupo de control recibirá vehículo sin fármaco alguno. Típicamente, el compuesto de test (100-200 µL) se administra por rutas intravenosa (aguja de calibre 27), oral (aguja de sonda de calibre 20) o subcutánea (aguja de calibre 27) con diversas dosis y protocolos. El tamaño del tumor y el peso corporal se miden dos veces por semana y el estudio se da por terminado cuando los tumores de control alcanzan aproximadamente 2000 mm<sup>3</sup>.

#### Ejemplo de Referencia 23: Síntesis de N-((S)-1-((R)-3-metil-1-(4-oxo-4H-benzo[d][1,3,2]dioxaborinin-2-il)-butil-amino)-1-oxo-3-fenilpropan-3-il)pirazina-3-carboxamida (I-19)

Una mezcla de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(1-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil)]}-tripirazina-2-carboxamida (0,250 g, 0,228 milimoles) y ácido salicílico (269,6 mg, 0,68 milimoles) se mezclaron en EtOAc (10 mL). La mezcla se calentó para formar una solución. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C. Se añadió heptano (16 mL). Se produjo un precipitado sólido blanco, y la papilla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante 3 horas. Se filtró la papilla para recoger N-((S)-1-((R)-3-metil-1-(4-oxo-4H-benzo[d][1,3,2]dioxaborinin-2-il)butilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)-pirazina-2-carboxamida (0,249 g, 75%). MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M+H] calculado para C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, 487,2153; encontrado, 487,3.

#### Ejemplo de Referencia 24: Síntesis de ácido 2-((S)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)-propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (I-20)

Una mezcla de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(1-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil)]}-tripirazina-2-carboxamida (0,500 g, 0,455 milimoles) y ácido L-málico (213,6 mg, 0,55 milimoles) se mezclaron en THF (5 mL). La mezcla se calentó para formar una solución. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C. Se produjo un precipitado sólido blanco, y la papilla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante 1 hora. Se filtró la papilla para recoger ácido 2-((S)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (0,625 g, 95%). MS (m/z) en CH<sub>3</sub>CN: [M+H] calculado para C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 483,2051; encontrado, 483,2.

#### Ejemplo de Referencia 25: Síntesis de ácido 2-((R)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)-propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (I-21)

Una mezcla de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris[[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino(2-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil)]}-tripirazina-2-carboxamida (0,305 g, 0,278 milimoles) y ácido D-málico (130,3 mg, 0,33 milimoles) se mezclaron en acetona (3 mL). La mezcla se calentó para formar una solución. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C. Se produjo un precipitado sólido blanco, y la papilla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante 3 horas. Se filtró la papilla para recoger ácido 2-((R)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-

fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (0,410 g, 100%). [M+H] calculado para  $C_{23}H_{28}BN_4O_7$ , 483,2051; encontrado, 483,2.

Ejemplo de Referencia 26: Síntesis de ácido (R)-2-hidroxi-2-((R)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (I-22)

Una mezcla de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris{[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino[(2S)-1-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil]}}-tripirazina-2-carboxamida (0,270 g, 0,246 milimoles) y ácido L-tartárico (149,5 mg, 0,33 milimoles) se mezclaron en acetona (10 mL). La mezcla se calentó para formar una solución. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C. Se añadió heptano (2,5 mL). Se produjo un precipitado sólido blanco, y la papilla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se filtró la papilla para recoger ácido (R)-2-hidroxi-2-((R)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (0,388 g), que contenía también una especie dímera. MS (*m/z*) en  $CH_3CN$ : [M+H] calculado para  $C_{23}H_{28}BN_4O_8$ , 499,2000; encontrado, 499,2.

Ejemplo de Referencia 27: Síntesis de ácido (S)-2-hidroxi-2-((S)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (I-23)

Una mezcla de N,N',N''-{boroxin-2,4,6-triiltris{[(1R)-3-metilbutano-1,1-diil]imino[(2S)-1-oxo-3-fenilpropano-1,2-diil]}}-tripirazina-2-carboxamida (0,180 g, 0,164 milimoles) y ácido D-tartárico (147,5 mg, 0,33 milimoles) se mezclaron en acetona (4 mL). La mezcla se calentó para formar una solución. La solución se enfrió sin control hasta que la temperatura interna fue aproximadamente 25°C. Se añadió heptano (8 mL). La mezcla se evaporó para proporcionar ácido (S)-2-hidroxi-2-((S)-2-((R)-3-metil-1-((S)-3-fenil-2-(pirazina-2-carboxamido)propanamido)butil)-5-oxo-1,3,2-dioxaborolan-4-il)acético (0,447 g) que contenía también una especie dímera. MS (*m/z*) en  $CH_3CN$ : [M+H] calculado para  $C_{23}H_{28}BN_4O_8$ , 499,2000; encontrado, 499,2.

Ejemplo 28: Composición Farmacéutica 1

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,29
Celulosa microcristalina (humedad baja)	Carga	89,71
Peso del contenido total de la cápsula, mg, mg		90,00
Cápsulas de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 29: Composición Farmacéutica 2

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,29
Celulosa microcristalina silicificada	Carga	109,71
Peso del contenido total de la cápsula, mg		110,00
Cápsulas de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 30: Composición Farmacéutica 3

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 9.

Tabla 9: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,29
Celulosa microcristalina (humedad baja)	Carga	88,81
Estearato de magnesio	Lubricante	0,90

Componente	Función	mg/Cápsula
Peso del contenido total de la cápsula, mg		90,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 31: Composición Farmacéutica 4

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 10.

5

Tabla 10: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,29
Celulosa microcristalina	Carga	78,91
Estearato de magnesio	Lubricante	0,80
Peso del contenido total de la cápsula, mg		80,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 32: Composición Farmacéutica 5

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 11.

10

Tabla 11: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (1-1) Forma 2		0,29
Celulosa microcristalina (humedad baja)	Carga	84,71
Peso del contenido total de la cápsula, mg		85,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 33: Composición Farmacéutica 6

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 12.

15

Tabla 12: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,72
Celulosa microcristalina (humedad baja)	Carga	119,28
Peso del contenido total de la cápsula, mg		120,00
Cápsula de gelatina verde oscura tamaño 3		

Ejemplo 34: Composición Farmacéutica 7

La composición de la cápsula se muestra a continuación en la Tabla 13.

20

Tabla 13: Composición de la cápsula

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		2,89
Celulosa microcristalina (humedad baja)	Carga	147,11
Peso del contenido total de la cápsula, mg		150,00
Cápsula de gelatina sueca anaranjada tamaño 2		

25

Ejemplo 35: Composición Farmacéutica 8

La composición se muestra a continuación en la Tabla 14.

Tabla 14: Composición del lote

Número de Artículo	Componente	g/Lote	mg/Cápsula
1	Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2	7,06	0,30
2	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	100	4,25
3	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	192,9	8,20
4	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	300	12,75
5	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	500	21,25
6	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	900	38,25
	Peso total	2000,0	85,00
	Cápsulas de gelatina opaca blanca tamaño 4		

5 El lote se preparó conforme al proceso siguiente:

1) Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #2) se tamizó a través de un tamiz de malla 40 micrómetros.

10 2) El material tamizado del paso 1) se añadió al mezclador PK y se mezcló durante 2 minutos.

3) El compuesto de fórmula I-1 Forma 2 que se había tamizado a través de un tamiz de malla 60 micrómetros se pesó (artículo #1).

15 4) El compuesto de fórmula I-1 Forma 2 del paso 3), y la celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #3) se combinaron en una bolsa de polietileno, y la bolsa de polietileno se sacudió; después de ello, los contenidos de la bolsa de polietileno se pasaron a través del mismo tamiz de 40 micrómetros que se utilizó en el paso 1).

20 5) El material del paso 4) se añadió al mezclador PK y se mezcló durante 15 minutos.

6) La celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #4) se tamizó a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, y se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en el paso 4) y se sacudió en la bolsa de polietileno.

25 7) El material del paso 6) se añadió al mezclador PK, que contenía todavía el material del paso 5) y se mezcló durante 10 minutos.

30 8) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #5) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en los pasos 4) y 6), y se sacudió en la bolsa de polietileno.

35 9) El material procedente del paso 8) se añadió al mezclador PK, que contenía todavía el material de los pasos 5) y 7), y se mezcló durante 10 minutos.

10) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #6) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en los pasos 4), 6), y 8), y se sacudió en la bolsa de polietileno.

40 11) El material procedente del paso 10) se añadió al mezclador PK, que contenía todavía el material de los pasos 5), 7), y 9), y se mezcló durante 10 minutos.

12) El material del mezclador se encapsuló en cápsulas de gelatina opacas blancas de tamaño 4 utilizando el sistema In-Cap.

45 13) Las cápsulas se desempolvieron, y se clasificaron por pesos.

#### Ejemplo 36: Composición Farmacéutica 9

50 La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 15.

Tabla 15: Composición de las Cápsulas

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Almidón Pregelatinizado (Almidón1500)	Carga	122,825
Talco	Adyuvante de flujo	1,25
Estearato de magnesio	Lubricante	0,625
Peso del contenido total de la cápsula, mg		125,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 37: Composición Farmacéutica 10

- 5 La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 16.

Tabla 16: Composición de las Cápsulas

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Almidón Pregelatinizado (Almidón1500)	Carga	124,7
Peso del contenido total de la cápsula, mg		125,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 38: Composición Farmacéutica 11

- 10 La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 17.

Tabla 17: Composición de las Cápsulas

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Celulosa microcristalina (Emcocel® XLM90; humedad baja)	Carga	124,7
Talco	Adyuvante de flujo	1,25
Peso del contenido total de la cápsula, mg		125,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 39: Composición Farmacéutica 12

- 15 La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 18.

Tabla 18: Composición de las Cápsulas

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Celulosa microcristalina (Emcocel® XLM90; humedad baja)	Carga	89,25
Estearato de magnesio	Lubricante	0,45
Peso del contenido total de la cápsula, mg		90,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 40: Composición Farmacéutica 13

- 20 La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 19.

Tabla 19: Composición de las Cápsulas

25

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Celulosa microcristalina (Emcocel® XLM90; humedad baja)	Carga	88,35
Talco	Adyuvante de flujo	0,9
Estearato de magnesio	Lubricante	0,45
Peso del contenido total de la cápsula, mg		90,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 41: Composición Farmacéutica 14

La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 20.

5

Tabla 20: Composición de las Cápsulas

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Celulosa microcristalina (Emcocel® XLM90; humedad baja)	Carga	51,15
Talco	Adyuvante de flujo	0,98
Estearato de magnesio	Lubricante	0,49
Almidón Pregelatinizado (Starcap)		45,08
Peso del contenido total de la cápsula, mg		98,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 42: Composición Farmacéutica 15

La composición de las cápsulas se muestra a continuación en la Tabla 21.

10

Tabla 21: Composición de las Cápsulas

Componente	Función	mg/Cápsula
Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2		0,3
Celulosa microcristalina (Emcocel® XLM90; humedad baja)	Carga	61,65
Talco	Adyuvante de flujo	1,18
Estearato de magnesio	Lubricante	0,59
Almidón-glicolato de sodio (Explotab)		54,28
Peso del contenido total de la cápsula, mg		118,00
Cápsula de gelatina opaca blanca tamaño 4		

Ejemplo 43: Composición Farmacéutica 16

La composición del lote se muestra a continuación en la Tabla 22.

15

Tabla 22: Composición del lote

Número de Artículo	Componente	g/Lote	mg/Cápsula
1	Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2	0,33	0,30
2	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	5,00	4,50
3	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	8,17	7,35
4	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	14,00	12,60
5	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	25,00	22,50
6	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	44,00	39,60

## ES 2 541 467 T5

Número de Artículo	Componente	g/Lote	mg/Cápsula
7	Talco	1,00	0,90
8	Citrato de sodio	2,00	1,80
9	Estearato de magnesio	0,50	0,45
	Peso total	100,00	90,00
	Cápsulas de gelatina opaca blanca tamaño 4		

El lote se preparó conforme al proceso siguiente:

- 5           1) Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #2) se tamizó a través de un tamiz de malla 40 micrómetros.
- 2) El material tamizado del paso 1) se añadió al mezclador PK y se mezcló durante 2 minutos.
- 10       3) Se pesó el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 que se había tamizado a través de un tamiz de malla 60 micrómetros, (artículo #1).
- 15       4) El compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 del paso 3), y la celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #3) se combinaron en una bolsa de polietileno, y la bolsa de polietileno se sacudió; después de ello, los contenidos de la bolsa de polietileno se pasaron a través del mismo tamiz de 40 micrómetros que se utilizó en el paso 1).
- 20       5) El material del paso 4) se añadió al mezclador PK y se mezcló durante 15 minutos.
- 6) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #4) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en el paso 4) y se sacudió en la bolsa de polietileno.
- 25       7) Se tamizaron talco (artículo #7) y citrato de sodio (artículo #8) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros.
- 8) Los materiales del paso 6) y 7) se añadieron al mezclador PK, que contenía todavía el material del paso 5) y se mezclaron durante 3 minutos.
- 30       9) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #5) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en los pasos 4) y 6), y se sacudió en la bolsa de polietileno.
- 35       10) El material del paso 9) se añadió al mezclador PK, que contenía todavía el material de los pasos 5) y 8), y se mezcló durante 10 minutos.
- 40       11) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #6) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en los pasos 4), 6), y 9), y se sacudió en la bolsa de polietileno.
- 12) El material del paso 11) se añadió al mezclador PK, que contenía todavía el material de los pasos 5), 8), y 10), y se mezcló durante 10 minutos.
- 45       13) Se tamizó estearato de magnesio (artículo #9) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros.
- 14) El material del paso 13) se añadió al mezclador PK, que contenía todavía el material de los pasos 5), 8), 10) y 12) y se mezcló durante 15 minutos.
- 50       15) El material del mezclador se encapsuló en cápsulas de gelatina opacas blancas de tamaño 4 utilizando el sistema Profill.
- 16) Las cápsulas se desempolvieron, y se clasificaron por peso.

### Ejemplo 44: Composición Farmacéutica 17

- 55       La composición del lote se muestra a continuación en la Tabla 23.



Tabla 23: Composición del lote

Número de Artículo	Componente	g/Lote	mg/Cápsula
1	Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2	7,06	0,30
2	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	4,94	0,21
3	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	25,00	1,06
4	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	53,00	2,25
5	Talco	10,00	0,43
6	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	90	3,83
7	Talco	30	1,28
8	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	170	7,23
9	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	300	12,75
10	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	500	21,25
11	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	800	34
12	Estearato de magnesio	10	0,43
	Peso total	2000	85
	Cápsulas de gelatina opaca blanca tamaño 4		

El lote se preparó conforme al proceso siguiente:

- 5 1) Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #2) se tamizó a través de un tamiz de malla 40 micrómetros.
- 2) El material tamizado del paso 1) se añadió al mezclador PK y se mezcló durante 2 minutos.
- 10 3) Se pesó el compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 que se había tamizado a través de un tamiz de malla 60 micrómetros (artículo #1).
- 15 4) El compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 del paso 3), y la celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #3) se combinaron, y se pasaron luego al mismo tamiz de 40 micrómetros que se utilizó en el paso 1).
- 5) El material del paso 4) se añadió al mezclador PK y se mezcló durante 30 minutos.
- 20 6) Se tamizaron celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #4) y talco (artículo #5) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros.
- 7) El material del paso 6) se añadió al pequeño mezclador PK, que contenía todavía el material del paso 5) y se mezcló durante 15 minutos.
- 25 8) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #6) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, se transfirió a un segundo mezclador PK mayor, y se mezcló durante 2 minutos.
- 30 9) El contenido del mezclador PK pequeño de los pasos 5) y 7), se vació en una bolsa de polietileno, y se transfirió luego al mezclador PK mayor del paso 8).
- 35 10) Se tamizaron talco (artículo #7) y celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #8) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros.
- 11) La mitad del material del paso 10) se añadió al mezclador PK pequeño de los pasos 5) y 7), se mezcló durante 3 minutos, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en el paso 9, y se sacudió en la bolsa de polietileno.
- 40 12) El material del paso 11) se añadió al mezclador PK mayor, que contenía todavía el material de los pasos 8) y 9).

13) La segunda mitad del material del paso 10) se añadió al mezclador PK pequeño de los pasos 5) y 7), y 11), se mezcló durante 3 min, se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en los pasos 9) y 11), y se sacudió en la bolsa de polietileno.

14) El material del paso 13) se añadió al mezclador PK mayor, que contenía todavía el material de los pasos 8), 9), y 12), y se mezcló durante 10 minutos.

15) Se tamizó luego celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #9) a través del mismo tamiz de malla de 40 µm; se transfirió a la misma bolsa de polietileno utilizada en los pasos 9), 11), y 13), y se sacudió en la bolsa de polietileno.

16) El material del paso 15) se añadió al mismo mezclador PK mayor, que contenía todavía material de los pasos 8), 9), 12), y 14), y se mezcló durante 10 minutos.

17) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #10) a través del mismo tamiz de malla de 40 µm.

18) El material del paso 17) se añadió al mismo mezclador PK mayor, que contenía todavía material de los pasos 8), 9), 12), 14) y 16), y se mezcló durante 10 minutos.

19) Se tamizó celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #11) a través del mismo tamiz de malla de 40 µm.

20) El material del paso 17) se añadió al mismo mezclador PK mayor, que contenía todavía material de los pasos 8), 9), 12), 14), 16) y 18), y se mezcló durante 10 minutos.

21) Se tamizó estearato de magnesio (artículo #12) a través del abismo del mismo tamiz de malla de 40 µm.

22) El material del paso 21) se añadió al mismo mezclador PK mayor, que contenía todavía material de los pasos 8), 9), 12), 14), 16), 18) y 20), y se mezcló durante 5 minutos.

23) El material del mezclador se encapsuló en cápsulas de gelatina blancas opacas de tamaño 4 utilizando el sistema Incap.

24) se desempolvieron las cápsulas, y se clasificaron por peso.

#### Ejemplo 45: Composición Farmacéutica 18

La composición del lote se muestra a continuación en la Tabla 24.

Tabla 24: Composición del lote

Número de Artículo	Componente	g/Lote	mg/Cápsula
1	Compuesto de fórmula (I-1) Forma 2	3,53	0,30
2	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	496,5	4,50
3	Celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja)	500	7,35
	Peso total	1000	85
	Cápsulas de gelatina opaca blanca tamaño 4		

El lote se preparó conforme al proceso siguiente:

1) Se tamiza celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #2) a través de un tamiz de malla 40 micrómetros y se añade a un mezclador de alta cizalladura.

2) El compuesto de fórmula (I-1) Forma 2 se tamiza a través de un tamiz de malla 60 micrómetros, se pesa (artículo #1) y se añade al mismo mezclador de alta cizalladura del paso 1).

3) Se tamiza celulosa microcristalina, NF (Emcocel® XLM90; humedad baja) (artículo #3) a través del mismo tamiz de malla 40 micrómetros, y se añade al mismo mezclador de alta cizalladura de los pasos 1) y 2).

4) El mezclador de alta cizalladura de los pasos 1), 2), y 3) y se hace funcionar durante 4 minutos.

5) El material del mezclador de alta cizalladura se encapsula en cápsulas opacas de gelatina blanda de tamaño 4 utilizando el sistema Incap.

6) Las cápsulas se desempolvan, y se clasifican por peso.

#### Ejemplo de Referencia 46: Polvo Liofilizado 1.

En un recipiente limpio, se preparó una solución de 40% alcohol ter-butílico/60% agua para inyección por calentamiento de la cantidad requerida de alcohol ter-butílico a 35°C y adición de agua para inyección. La solución se enfrió a 15-30°C. Se añadió una porción de la cantidad requerida (60% del lote total) de la solución alcohol ter-butílico/agua a un recipiente de preparación previa. Se reservó aproximadamente 40% de la solución para uso en enjuagado. Se añadió ácido cítrico (30% de la cantidad del lote) al recipiente de preparación previa con agitación. El recipiente se enjuagó con la solución reservada de alcohol ter-butílico/agua, y los enjuagados se añadieron al recipiente de preparación previa. La mezcla se agitó hasta que el ácido cítrico se disolvió por completo. Se añadió citrato de sodio (30% de la cantidad del lote) al recipiente de preparación previa con agitación. El recipiente se enjuagó con la solución reservada de alcohol ter-butílico/agua, y los enjuagados se añadieron al recipiente de preparación previa. La mezcla se agitó hasta que el citrato de sodio se hubo disuelto por completo. Se añadió ácido N-(2-pirazina)carbonil-L-fenil-L-leucina-borónico (VIII-15) al recipiente de preparación previa con agitación. El recipiente se enjuagó con la solución reservada de alcohol ter-butílico/agua, y los enjuagados se añadieron al recipiente de preparación previa. La mezcla se agitó hasta que el ácido borónico se hubo disuelto por completo. La mezcla de ácido cítrico, citrato de sodio, y ácido borónico concerniente del recipiente de preparación previa se transfirió al recipiente de preparación principal. El recipiente de preparación previa se enjuagó con agua para inyección y los enjuagados se añadieron al recipiente de preparación principal. Se añadió ácido cítrico (70% de la cantidad del lote) al recipiente principal con agitación. El recipiente se enjuagó con el agua, y los enjuagados se añadieron al vaso principal. La mezcla se agitó hasta que el ácido cítrico se hubo disuelto por completo. Se añadió citrato de sodio (70% de la de la cantidad del lote) al vaso principal con agitación. El recipiente se enjuagó con agua, y los enjuagados se añadieron al recipiente de preparación previa. La mezcla se agitó hasta que el citrato de sodio se hubo disuelto por completo. Se añadió glicina al vaso principal y la glicina residual se enjuagó con agua, y se añadieron los enjuagados al vaso principal. La mezcla se agitó hasta que la glicina se hubo disuelto por completo. Se añadió agua suficiente para reducir el contenido total de alcohol a 4,7% v/v. La mezcla se filtró a través de un filtro de 0,22 µm. Partes alícuotas de la solución filtrada se pusieron en viales. Los viales se cerraron herméticamente con tapones de liofilización y se pusieron en estantes de la cámara de un liofilizador mantenidos a 20°C. Los estantes de la cámara de liofilización se enfriaron a -45°C utilizando la tasa de enfriamiento apropiada y se mantuvieron a dicha temperatura durante 200 minutos. El estante se calentó a -20°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada y se mantuvo a dicha temperatura durante 480 minutos. El estante se enfrió de nuevo a -45°C utilizando una tasa de enfriamiento apropiada y se mantuvo a dicha temperatura. Después de 200 minutos, se evacuó la cámara de liofilización, y la presión de la cámara se ajustó a 150 micrómetros con nitrógeno. Los estantes de la cámara se calentaron hasta -25°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada, y se mantuvieron a dicha temperatura durante 3000 minutos. Después que cada uno de los termopares de producto arrojó una lectura de -25°C o más caliente, el estante se calentó a 27°C y se mantuvo a dicha temperatura durante 600 minutos. Al final de la última fase de secado, la presión en la cámara se restableció utilizando nitrógeno, y los viales se sellaron y se retiraron. La solución pre-liofilizada contenía: citrato 52 mM, 3% glicina, 4,7% alcohol ter-butílico (como se muestra en la Tabla 25 a continuación).

Tabla 25: Composición del lote

No.	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (VIII-15)	0,001 g	2,6	0,300 g	3,5 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,00382 g	18,2	1,147 g	13,37 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,00994 g	33,8	2,982 g	34,79 mg
4.	Glicina, USP/EP	0,03 g	399,6	9,0 g	105 mg
5.	Alcohol ter-butílico, grado ACS	n/a	n/a	14,1 mL	0,1645 mL
6.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
7.	Volumen total	n/a	n/a	300 mL	3,5 mL
8.	pH final medido	n/a	n/a	5,08	n/a

#### Ejemplo de Referencia 47: Polvo liofilizado 2

Se preparó como se describe en el Ejemplo 46. La solución pre-liofilizada contenía: citrato 52 mM; glicina 3%; y alcohol ter-butílico 4,7% (como se muestra en la Tabla 26 a continuación).

Tabla 26: Composición del lote

No.	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (VIII-15)	0,001 g	2,6	0,300 g	3,5 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,00168 g	8,0	0,504 g	5,88 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,0129 g	44,0	3,882 g	45,15 mg
4.	Glicina, USP/EP	0,03 g	399,6	9,0 g	105 mg
5.	Alcohol ter-butílico, grado ACS	n/a	n/a	14,1 mL	0,1645 mL
6.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
7.	Volumen total	n/a	n/a	300 mL	3,5 mL
8.	pH final medido	n/a	n/a	5,84	n/a

Ejemplo de Referencia 48: Polvo liofilizado 3

La formulación se preparó como se describe en el Ejemplo 46, excepto que se modificó el ciclo de liofilización. Los pellets se sellaron con tapones de liofilización y se pusieron en estantes de la cámara del liofilizador mantenidos a 20°C. Los estantes de la cámara de liofilización se enfriaron a -45°C utilizando la tasa de enfriamiento apropiada y se mantuvieron a dicha temperatura durante 200 minutos. El estante se calentó a -20°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada y se mantuvo a dicha temperatura durante 480 minutos. El estante se enfrió de nuevo a -45°C utilizando una tasa de enfriamiento apropiada y se mantuvo a dicha temperatura. Después de 200 minutos, la cámara de liofilización se evacuó, y la presión en la cámara se ajustó a 150 micrómetros con nitrógeno. Los estantes de la cámara se calentaron hasta -15°C utilizando la tasa de calentamiento apropiada, y se mantuvieron a dicha temperatura durante 2700 minutos. Después que cada uno de los termopares del producto arrojó una lectura de -15°C o más caliente, el estante se calentó a 37°C y se mantuvo a dicha temperatura durante 300 minutos. Al final de la última fase de secado, la presión en la cámara se restableció utilizando nitrógeno, y los viales se sellaron y se retiraron. La solución pre-liofilizada contenía: citrato 52 mM; 3% glicina; y 4,7% alcohol ter-butílico (como se muestra en la Tabla 27 a continuación).

Tabla 27: Composición del lote

No.	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (VIII-15)	0,001 g	2,6	1,0 g	3,5 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,00382 g	18,2	3,82 g	13,37 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,00994 g	33,8	9,94 g	34,79 mg
4.	Glicina, USP/EP	0,03 g	399,6	30,0 g	105 mg
5.	Alcohol ter-butílico, grado ACS	n/a	n/a	47,0 mL	0,1645 mL
6.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
7.	Volumen total	n/a	n/a	1000 mL	3,5 mL
8.	pH final medido	n/a	n/a	5,05	n/a

Ejemplo de Referencia 49: Polvo liofilizado 4

Un vaso limpio se cargó con agua para inyección. Se añadieron ácido cítrico y citrato de sodio y se agitaron hasta disolución. Se añadió a esta solución ácido N-(2-pirazina)carbonil-L-fenil-L-leucina-borónico (VIII-15) y se agitó hasta disolución. Se añadió glicina al vaso y la glicina residual se enjuagó con agua, después de lo cual los enjuagados se añadieron al vaso principal. La mezcla se agitó hasta que la glicina se hubo disuelto por completo. Se añadió agua suficiente al volumen del lote. La mezcla se filtró a través de un filtro de 0,22 µm. Se pusieron partes alícuotas de la solución filtrada en viales. Los viales se sellaron con tapones de liofilización y se pusieron en estantes de la cámara del liofilizador mantenidos a 20°C. Los estantes de la cámara de liofilización se enfriaron a -45°C utilizando la tasa de enfriamiento apropiada y se mantuvieron a dicha temperatura durante 200 minutos. El estante se calentó a -20°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada y se mantuvo a dicha temperatura durante 480 minutos. El estante se enfrió de nuevo a -45°C utilizando la tasa de enfriamiento apropiada y se mantuvo a dicha temperatura. Después de

200 minutos, la cámara de liofilización se evacuó y la presión de la cámara se ajustó a 150 micrómetros con nitrógeno. Los estantes de la cámara se calentaron hasta -25°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada, y se mantuvieron a dicha temperatura durante 3000 minutos. Después que cada uno de los termopares del producto arrojó una lectura de -25°C o más caliente, el estante se calentó a 27°C y se mantuvo a dicha temperatura durante 600 minutos. Al final de la última fase de secado, la presión de la cámara se restableció utilizando nitrógeno, y los viales se sellaron y retiraron. La solución pre-liofilizada contenía: citrato 52 mM, y 3% glicina (como se muestra a continuación en la Tabla 28).

Tabla 28: Composición del lote

	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (VIII-15)	0,001 g	2,6	0,30 g	3,5 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,004097 g	19,5	1,229 g	14,34 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,009557 g	32,5	2,867 g	33,45 mg
4.	Glicina, USP/EP	0,03 g	399,6	9,0 g	105 mg
5.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
6.	Volumen total	n/a	n/a	300 mL	3,5 mL
7.	pH final medido	n/a	n/a	4,90	n/a

#### Ejemplo de Referencia 50: Polvo liofilizado 5

Se preparó como se describe en el Ejemplo 49. La solución pre-liofilizada contenía: citrato 52 mM; y 3% glicina (como se muestra a continuación en la Tabla 29). En este ejemplo, el pH de la solución pre-liofilizada se ajustó al pH final medido por adición de HCl 2 N.

Tabla 29: Composición del lote

No.	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (VIII-15)	0,001 g	2,6	0,30 g	3,5 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,00168 g	8,0	0,504 g	5,88 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,01294 g	44,0	3,882 g	45,29 mg
4.	Glicina, USP/EP	0,03 g	399,6	9,0 g	105 mg
5.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
6.	Volumen total del lote	n/a	n/a	300 mL	3,5 mL
7.	pH final medido	n/a	n/a	5,84	n/a

#### Ejemplo 50: Polvo liofilizado 6

Se carga un vaso limpio con agua para inyección. Se añaden ácido cítrico y citrato de sodio y se agita hasta disolución. Se añade a esta solución ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) y se agita hasta disolución. Se añade glicina al vaso y la glicina residual se enjuaga con agua, después de lo cual se añaden los enjuagados al vaso principal. La mezcla se agita hasta que la glicina se ha disuelto por completo. Se añade agua suficiente al volumen del lote. La mezcla se filtra a través de un filtro de 0,22 µm. Se ponen partes alícuotas de la solución filtrada en viales esterilizados. Los viales se sellan con tapones de liofilización y se ponen en estantes de la cámara del liofilizador mantenidos a 20°C. Los estantes de la cámara de liofilización se enfrían a -45°C utilizando una tasa de enfriamiento apropiada y se mantienen luego a dicha temperatura durante 200 minutos. El estante se calienta a -20°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada y se mantiene luego a dicha temperatura durante 480 minutos. El estante se enfría de nuevo a -45°C utilizando una tasa de enfriamiento apropiada y se mantiene a dicha temperatura. Después de 200 minutos, la cámara de liofilización se evacua, y la presión de la cámara se ajusta a 150 micrómetros con nitrógeno. Los estantes de la cámara se calientan hasta -25°C utilizando una tasa de calentamiento apropiada, y se mantienen a dicha temperatura durante 3000 minutos. Después que cada uno de los termopares del producto arroja una lectura de -25°C o más caliente, se calienta el estante a 27°C y se mantiene a dicha temperatura durante 600 minutos. Al final de la última fase de secado, la presión de la cámara se restablece utilizando nitrógeno, y los viales se sellan y se retiran. La composición de la solución pre-liofilizada es citrato 55 mM y 3% glicina (como se muestra en la Tabla 30 a continuación).

Tabla 30: Composición del lote

No.	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (I-1) [expresado como cantidad de Compuesto (VIII-1)]	0,001 g	2,75	0,50 g	3,5 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,0012 g	5,5	0,578 g	4,2 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,0147 g	49,5	7,279 g	51,45 mg
4.	Glicina, USP/EP	0,03 g	399,6	15,0 g	105 mg
5.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
6.	Volumen total	n/a	n/a	500 mL	3,5 mL

Ejemplo 51: Reconstitución de polvos liofilizados

- 5 Los polvos liofilizados (v.g. como se preparan en los Ejemplos 46-50) se analizan utilizando XRPD, DSC, cromatografía de gases y Karl Fisher para estructura de la torta, estabilidad de la torta, disolvente residual, y humedad residual, respectivamente. Los polvos liofilizados se reconstituyen con una cantidad apropiada de agua estéril para inyección o con solución de cloruro de sodio estéril al 0,9% para inyección. Las soluciones reconstituidas se analizan utilizando HPLC, y NMR, en lo que respecta a pureza y porcentaje de éster.

10 Ejemplo de Referencia 52: Preparación de una formulación de ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2 para administración parenteral u oral

- 15 Se cargó un vaso con agua, se añadieron ácido cítrico monohidratado y citrato de sodio dihidratado, y se agitó hasta disolución. Se añadió a esta solución ácido 4-(R,S)-(carboximetil)-2-((R)-1-(2-(2,5-diclorobenzamido)acetamido)-3-metilbutil)-6-oxo-1,3,2-dioxaborinano-4-carboxílico (I-1) Forma 2 y la mezcla se agitó hasta que se obtuvo una solución. Se añadió a esta solución cloruro de sodio y se agitó hasta disolución. Se añadió agua suficiente al volumen del lote y la solución se filtró a través de una membrana PES de 0,2 µm. Se pusieron en viales partes alícuotas de la solución filtrada. Los viales se sellaron con tapones y se guardaron a -20°C. La composición del lote y los viales es como se describe a continuación en la Tabla 31.

Tabla 31: Composición del lote

No.	Componente	Cantidad/mL	mM	Lote	Cantidad por vial
1.	Compuesto (I-1) [expresado como cantidad de Compuesto (VIII-1)]	0,001 g	2,75	20 g	3,3 mg
2.	Ácido Cítrico Monohidratado, USP/EP	0,0012 g	5,5	23,198 g	3,282 mg
3.	Citrato de Sodio Dihidratado, USP/EP	0,0147 g	49,5	291,183 g	48,05 mg
4.	Cloruro de Sodio, USP/EP	0,0045 g	77	89,991 g	14,85 mg
5.	Agua para Inyección, USP/EP	n/a	n/a	Llenar hasta el volumen del lote	n/a
6.	Volumen total	n/a	n/a	20 L	3,3 mL
7.	pH final medido	n/a	n/a	5,72	n/a

Ejemplo 53: Método Analítico de Test 1

HPLC en fase inversa utilizando una columna C8 a 25°C con detección ultravioleta (UV) a 225 nm.

- 30 Fase móvil: el sistema de gradiente se inicia con 85% fase móvil A (ácido trifluoroacético al 0,01% en agua) y 15% fase móvil B (ácido trifluoroacético al 0,01% en acetonitrilo) y termina a 75% fase móvil B después de 40 minutos.

- 35 La muestra de test se prepara por disolución del contenido de las cápsulas en diluyente que es 15:85 (v/v) acetonitrilo:tampón de citrato 20 mM. En estas condiciones acuosas, el compuesto de fórmula (I-1) hidroliza completamente la porción de éster citrato de la molécula para dar el compuesto de fórmula (VIII-1) en una ratio molecular 1:1. La presencia del compuesto de fórmula (VIII-1) en la muestra de test se confirma por comparación del tiempo de retención de la muestra con el del estándar de referencia. La cantidad del compuesto de fórmula (VIII-1)

presente en una muestra se calcula a partir del área bajo el pico, en una comparación peso a peso incluyendo la conversión de pesos moleculares, con el área bajo el pico del estándar de referencia. El estándar de referencia empleado es una cantidad conocida del compuesto de fórmula (I-1), de pureza conocida, que se prepara en las mismas condiciones de hidrólisis que la muestra de test. El límite de cuantificación para el método es 0,05%, y el límite de detección calculado es 0,02%.

#### Ejemplo 54: Método Analítico de Test 2

HPLC en fase normal utilizando elución isocrática con una fase móvil de 40/60/0,1 (v/v/v) THF/n-hexano/TFA en una columna ciano de HPLC a 25°C durante 8 minutos, con detección UV a 230 nm.

La muestra de test se prepara por disolución del contenido de las cápsulas en 40/60 (v/v) THF/n-hexano. En estas condiciones, el compuesto de fórmula (I-1) no se hidroliza al compuesto de fórmula (VIII-1). La cantidad del compuesto de fórmula (VIII-1) presente en la muestra de test se calcula a partir del área bajo el pico, sobre una comparación peso a peso, con el área bajo el pico del estándar de referencia. El estándar de referencia empleado es una cantidad conocida del compuesto de fórmula (VIII-1) de pureza conocida, que se prepara en las mismas condiciones que la muestra de test. El límite de cuantificación para la detección del compuesto de fórmula (I-1) es 0,2%.

Para calcular la cantidad de compuesto de fórmula (I-1) presente en una muestra de test, se utilizan tanto el Método Analítico de Test 1 como el Método Analítico de Test 2. El Método Analítico de Test 1 se utiliza para calcular la cantidad basada en peso del compuesto de fórmula (VIII-1) que está presente en una muestra de test, que contiene el compuesto de fórmula (I-1). El Método Analítico de Test 2 se utiliza también para calcular la cantidad del compuesto de fórmula (VIII-1) presente en la muestra del compuesto de fórmula (I-1) obtenido sin hidrólisis inducida.

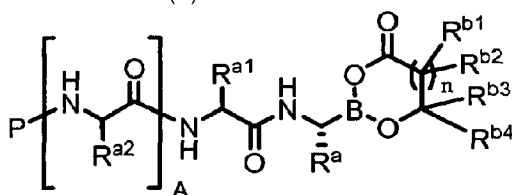
La cantidad del compuesto de fórmula (VIII-1) obtenido por el Método Analítico de Test 1 menos la cantidad del compuesto de fórmula (VIII-1) obtenido por el Método Analítico de Test 2 da la cantidad medida del compuesto de fórmula (VIII-1) que se produce por la hidrólisis inducida del compuesto de fórmula (I-1) presente en la muestra de test. Basándose en una ratio molecular 1:1, un cálculo de pesos moleculares da la cantidad del compuesto de fórmula (I-1) presente en la muestra de test.

Si bien la presente invención se ha descrito con algún detalle para propósitos de claridad y comprensión, estas realizaciones particulares deben considerarse como ilustrativas y no restrictivas. Será apreciado por un experto en la técnica a partir de la lectura de esta descripción que pueden hacerse diversos cambios en forma y detalle sin desviarse del alcance real de la invención, que debe definirse por las reivindicaciones adjuntas en lugar de por las realizaciones específicas.

La literatura de Patentes y científica a que se hace referencia en esta memoria establece conocimientos que están disponibles para quienes poseen experiencia en la técnica. A no ser que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que es entendido comúnmente por una persona con experiencia ordinaria en la técnica a la que pertenece esta invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente del mismo, en donde:

A es 0;

R<sup>a</sup> es isobutilo;

R<sup>a1</sup> es hidrógeno;

P es R<sup>c</sup>-C(O)-;

R<sup>c</sup> es -R<sup>D</sup>;

-R<sup>D</sup> es 2,5-diclorofenilo;

cada uno de R<sup>b1</sup> y R<sup>b2</sup> es independientemente hidrógeno, -CO<sub>2</sub>H, -OH o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo sustituido o no sustituido;

cada uno de R<sup>b3</sup> y R<sup>b4</sup> es independientemente hidrógeno, -CO<sub>2</sub>H, o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo sustituido o no sustituido;

o R<sup>b2</sup> y R<sup>b4</sup> son cada uno independientemente hidrógeno, y R<sup>b1</sup> y R<sup>b3</sup>, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo no aromático condensado de 4 a 8 miembros insustituido o sustituido que tiene 0-3 heteroátomos de anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S, en donde dicho anillo puede estar opcionalmente condensado a un anillo no aromático de 4 a 8 miembros insustituido o sustituido, o anillo aromático de 5 a 6 miembros que tiene 0-3 heteroátomos de anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S;

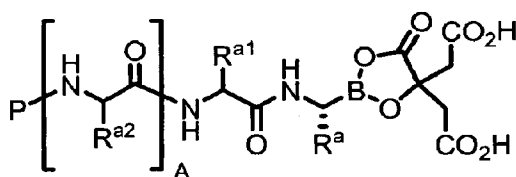
o R<sup>b2</sup> y R<sup>b4</sup> están ausentes, y R<sup>b1</sup> y R<sup>b3</sup>, considerados junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo aromático condensado de 5 a 6 miembros insustituido o sustituido que tiene 0-3 heteroátomos de anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S, en donde dicho anillo puede estar opcionalmente condensado a un anillo no aromático insustituido o sustituido de 4 a 8 miembros, o anillo aromático de 5 a 6 miembros que tiene 0-3 heteroátomos de anillo seleccionados del grupo constituido por O, N, y S;

n es 0 ó 1,

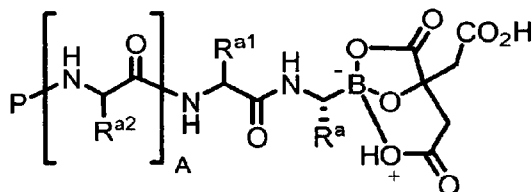
en donde cada uno de R<sup>b3</sup> y R<sup>b4</sup> es independientemente hidrógeno, C<sub>1-6</sub> alifático, o -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-CO<sub>2</sub>H; y p es 0, 1, ó 2, y en donde -OC(O)(CR<sup>b1</sup>R<sup>b2</sup>)<sub>n</sub>CR<sup>b3</sup>R<sup>b4</sup>O- es un resto derivado de ácido cítrico.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en una forma sustancialmente cristalina.

3. El compuesto de la reivindicación 1, caracterizado por la fórmula (III), (IIIa), (IV), y (IVa):

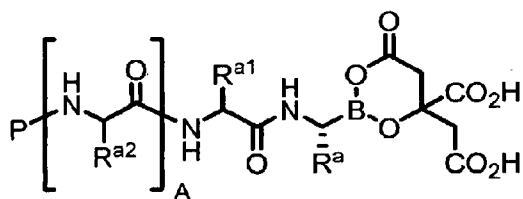


(III);

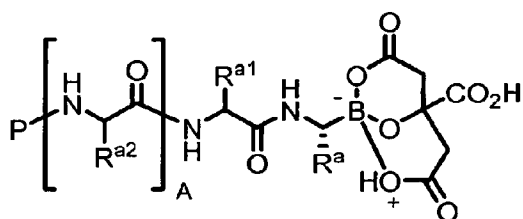


(IIIa);





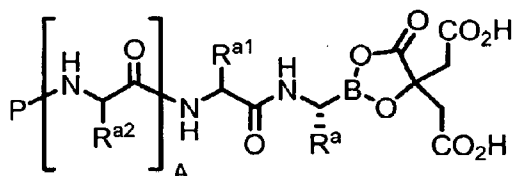
(IV);



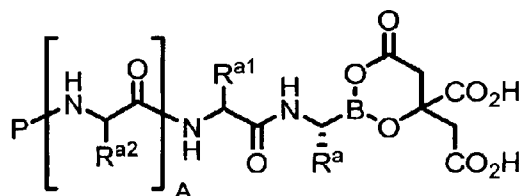
(IVa);

5 o una mezcla de los mismos

4. El compuesto de la reivindicación 1, caracterizado por la fórmula (III) o (IV):



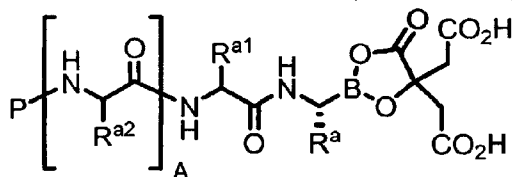
(III);



(IV);

o una mezcla de los mismos.

5. El compuesto de la reivindicación 4, caracterizado por la fórmula (III):



(III);

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable.

FIGURA 1

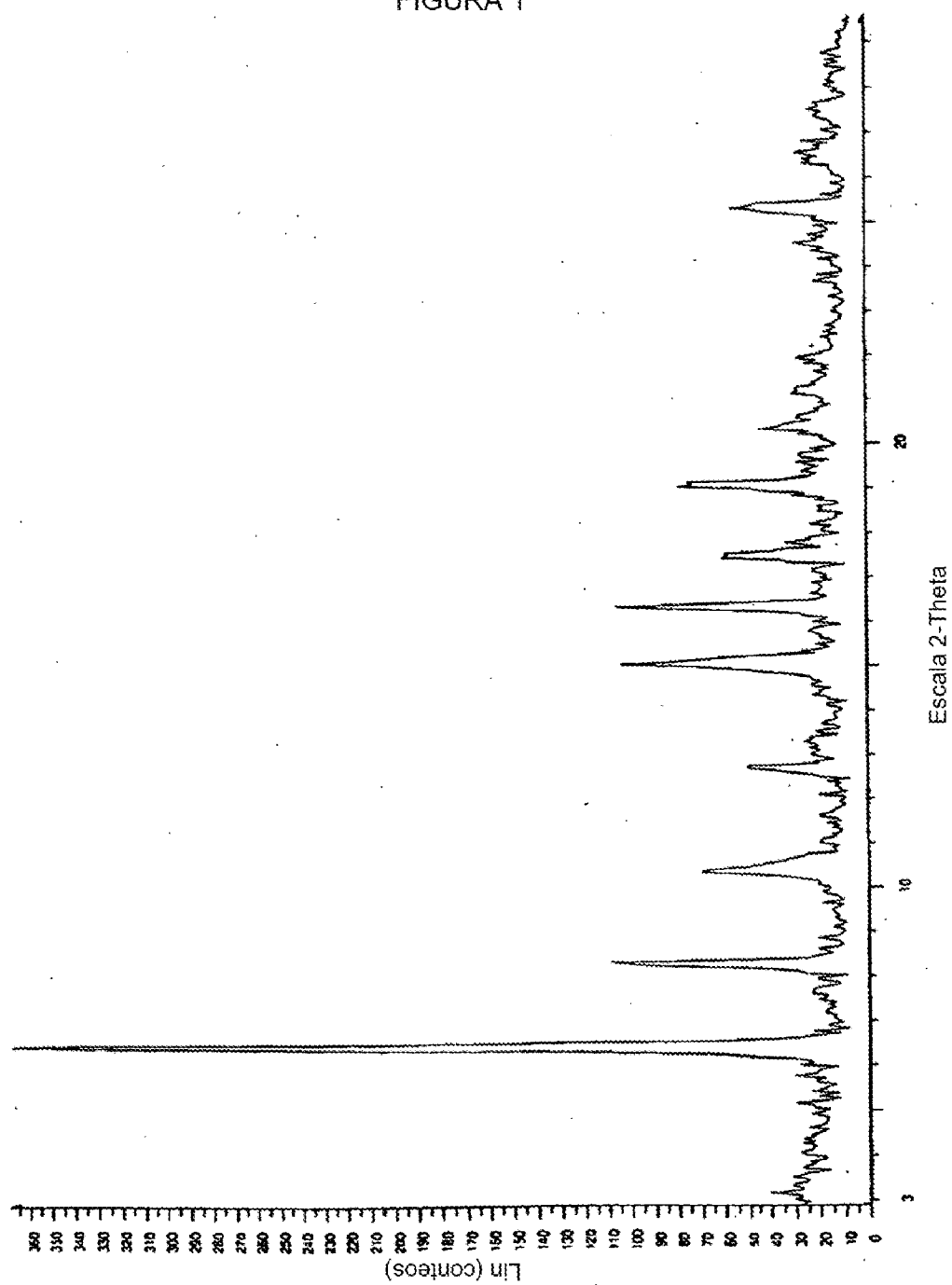


FIGURA 2

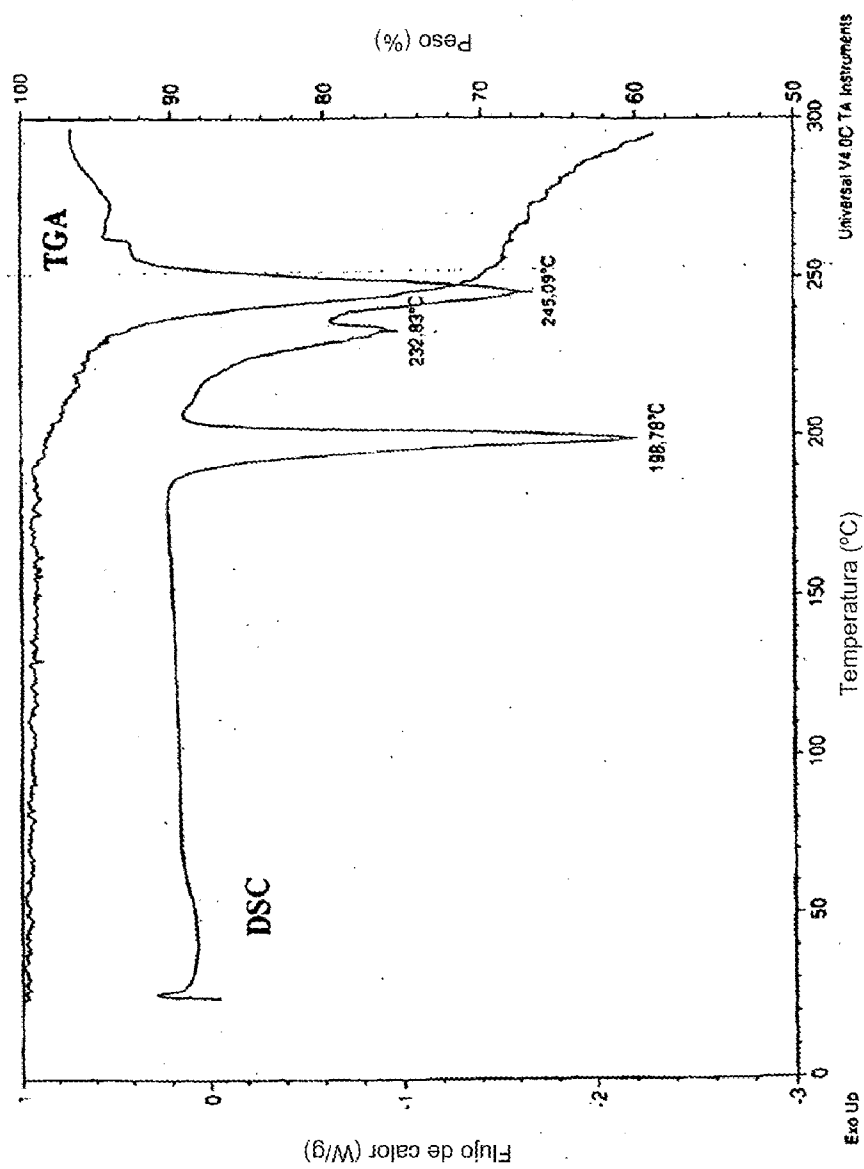


FIGURA 3

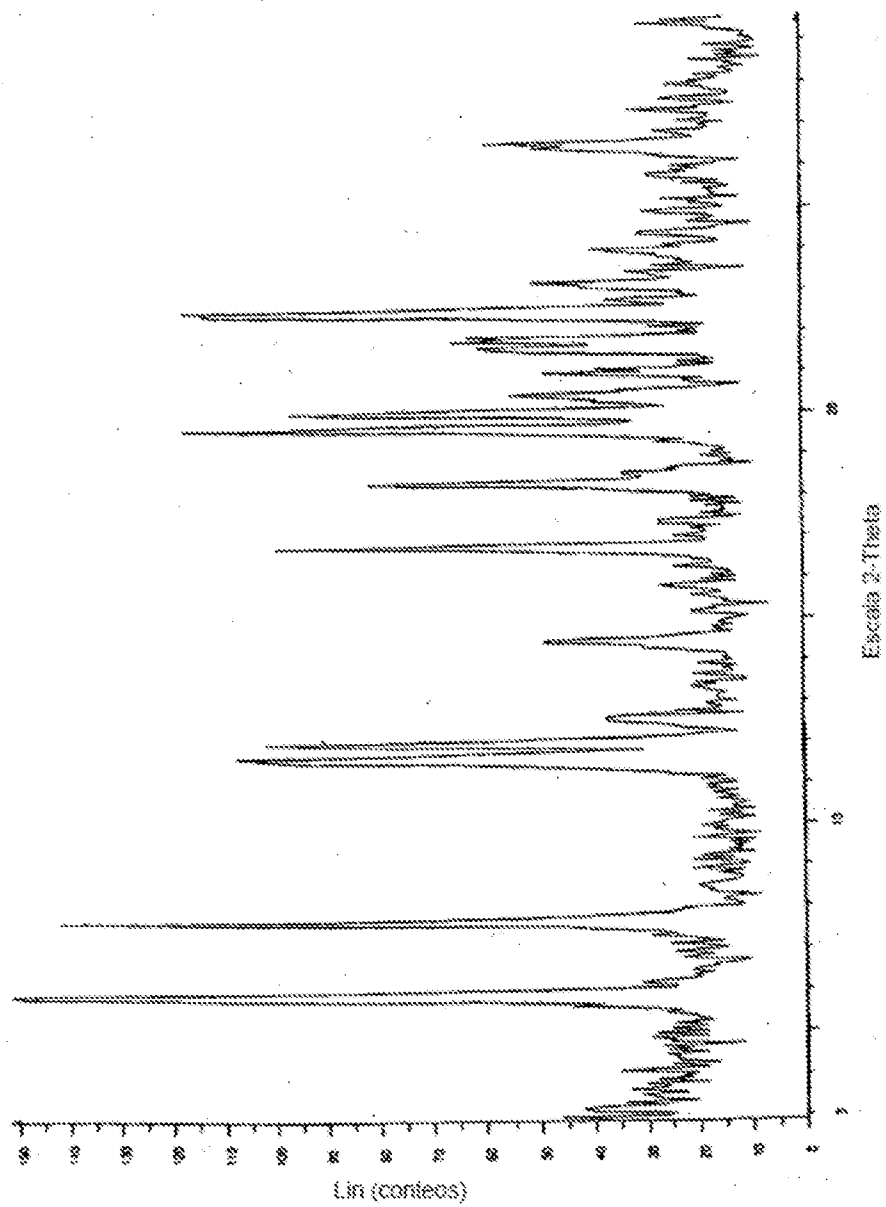


FIGURA 4

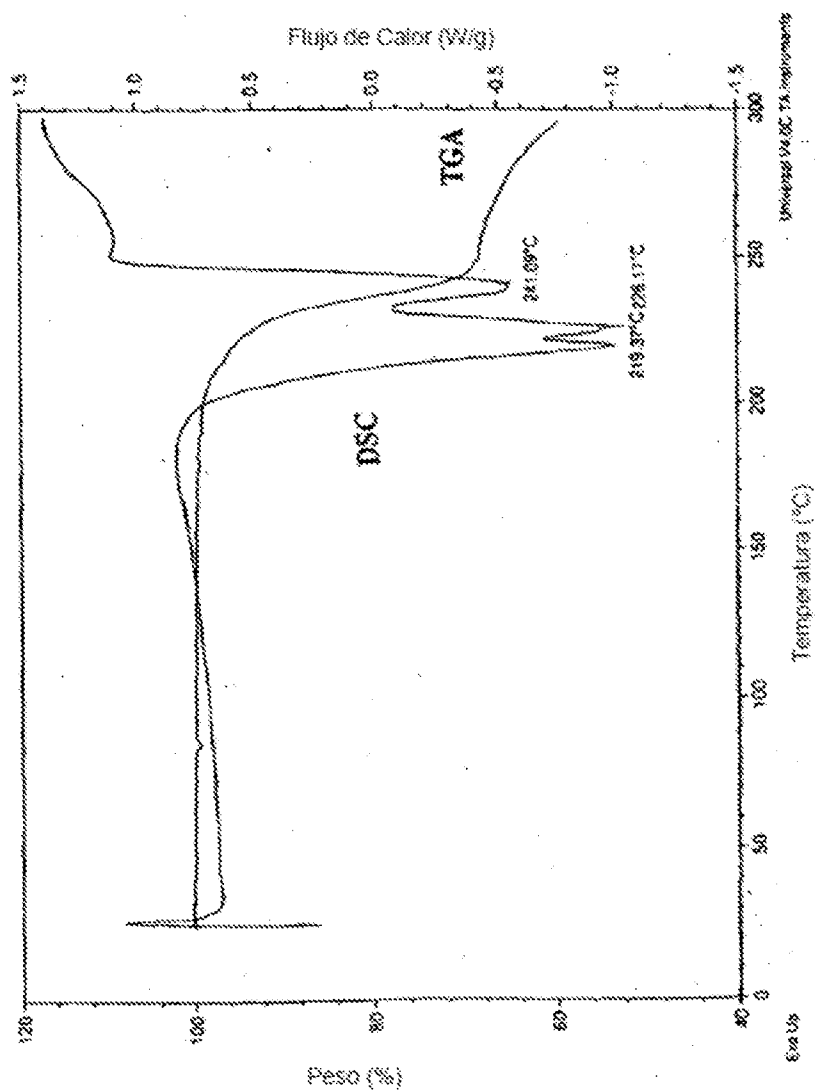
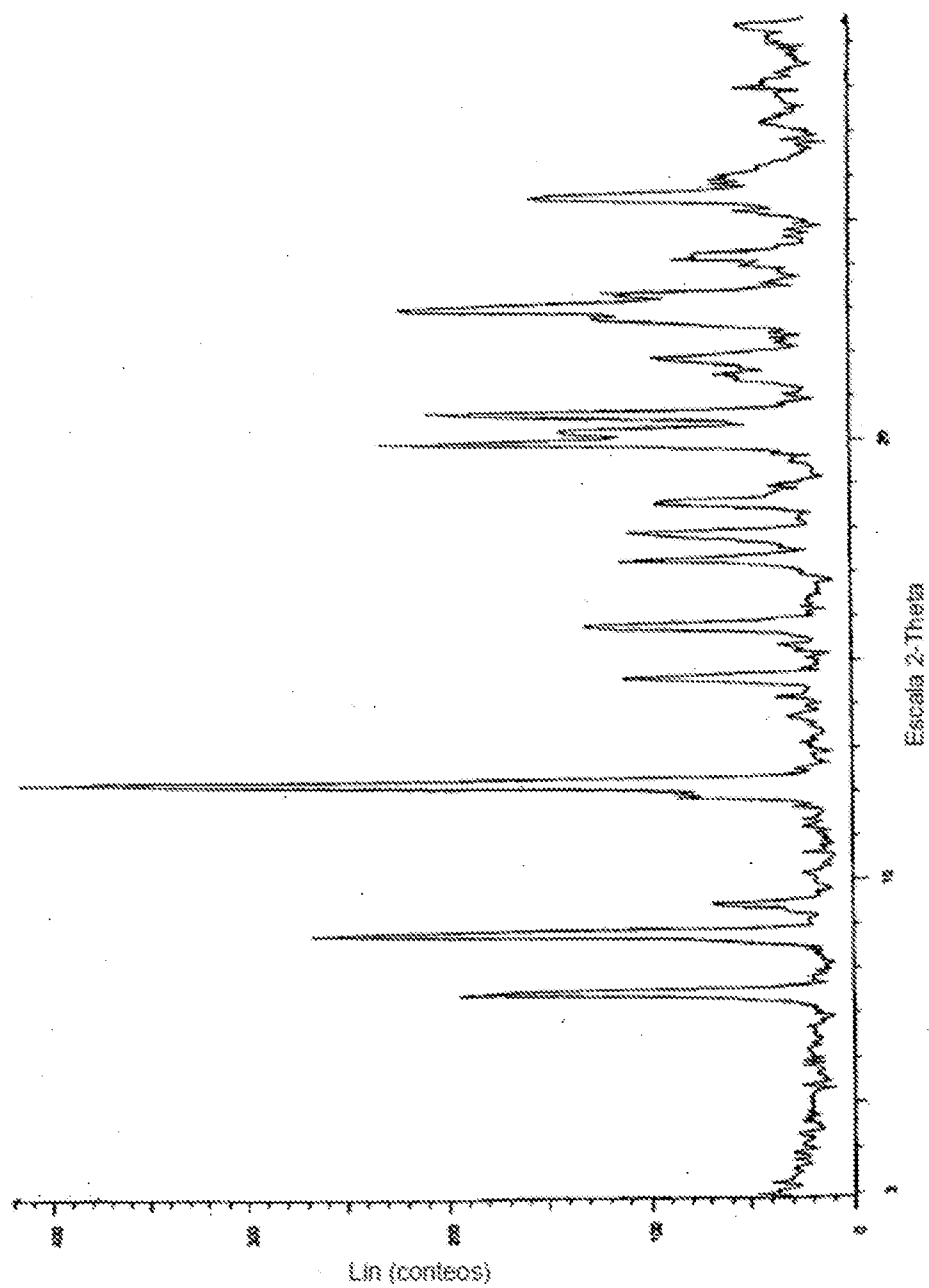


FIGURA 5



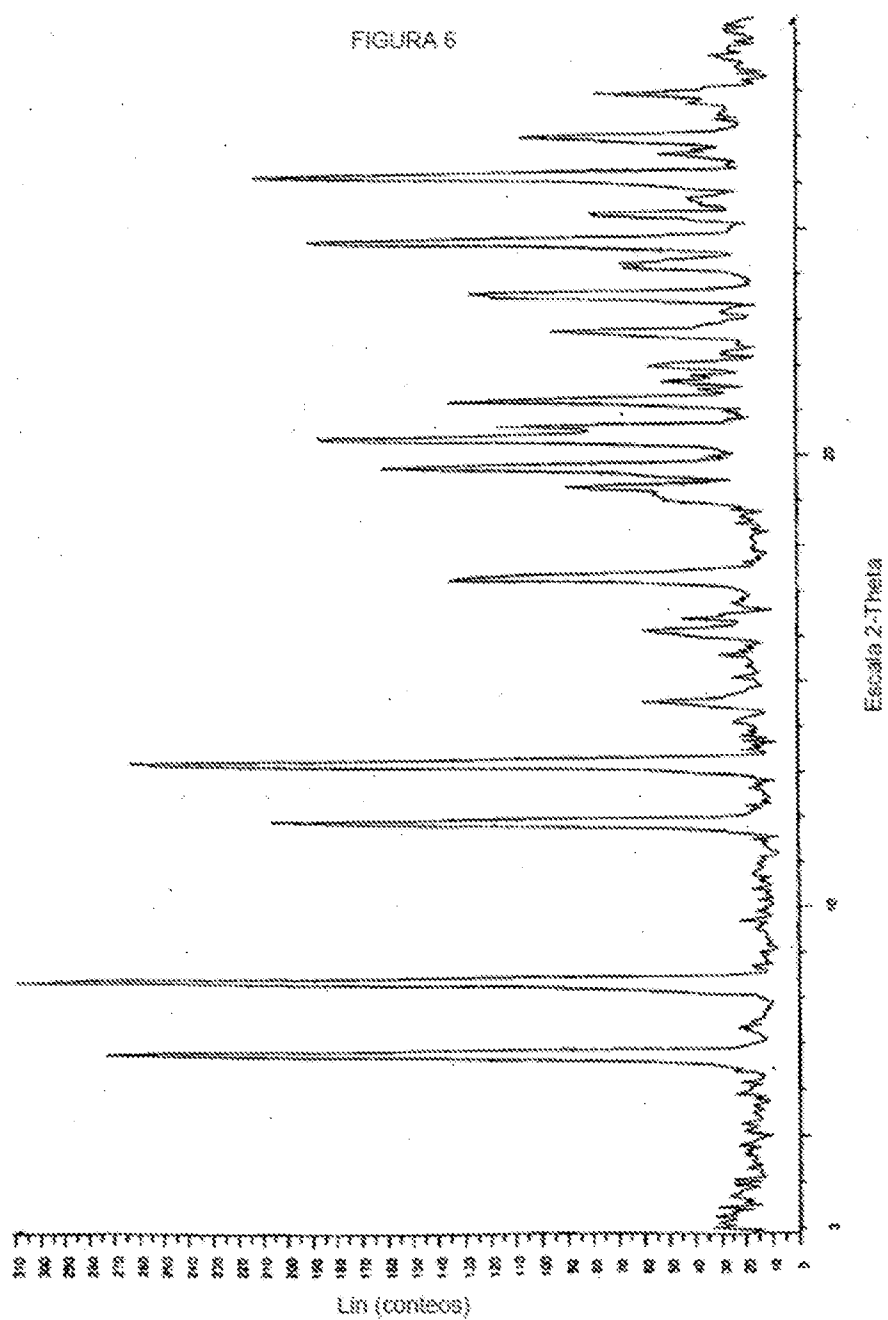


FIGURA 7

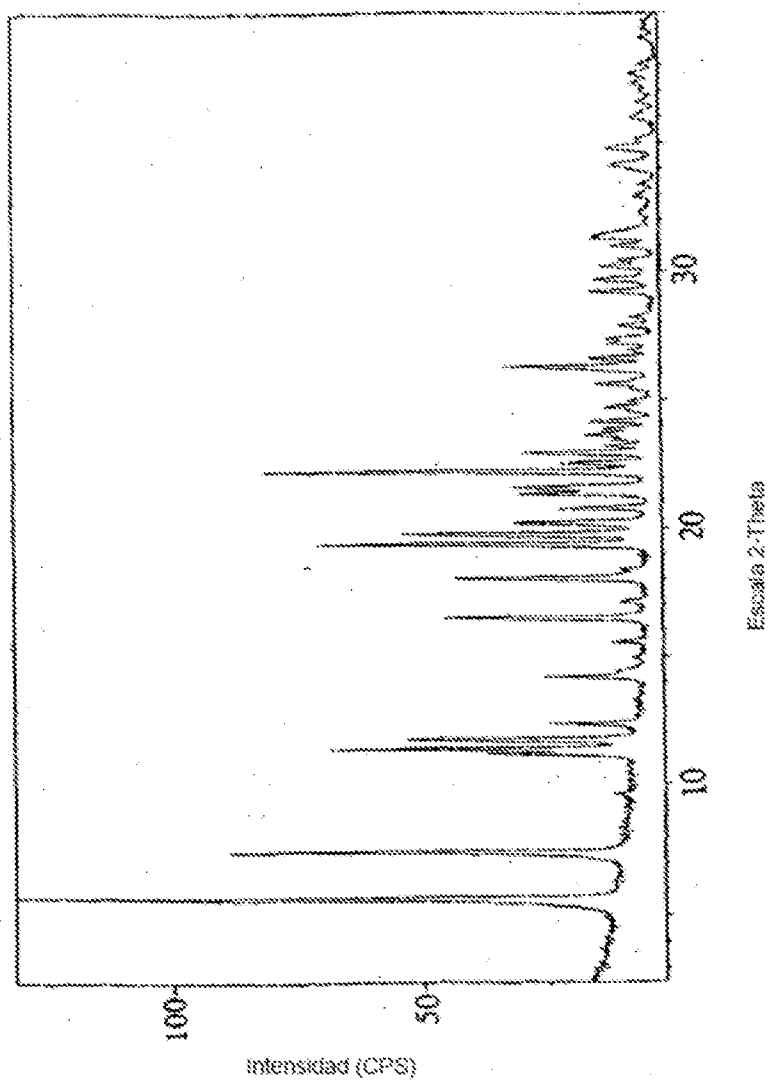




FIGURA 8

