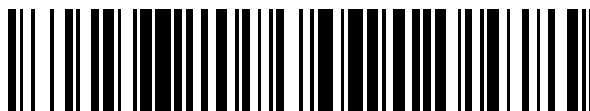


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 811**

51 Int. Cl.:

C07D 471/10 (2006.01)

A61K 31/438 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2013 E 13720079 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.02.2016 EP 2828261**

54 Título: **Forma cristalina de una sal de succinato**

30 Prioridad:

19.03.2012 US 201261612727 P

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

07.04.2016

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**HOWSHAM, CATHERINE;
LINDENBERG, CHRISTIAN;
PERLBERG, ANETT y
TUFILLI, NICOLA**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 565 811 T3

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

DESCRIPCIÓN

Forma cristalina de una sal de succinato

Campo técnico

- 5 Esta invención se relaciona con una nueva forma cristalina de la sal de succinato del bloqueador del canal epitelial de sodio (ENaC) dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico, composiciones farmacéuticas que comprenden dicha forma cristalina, los usos de dicha forma cristalina y composiciones farmacéuticas, y métodos para la preparación de dicha forma cristalina.

Antecedentes

- 10 La publicación de solicitud de patente internacional WO 2009/074575 divulga compuestos relacionados estructuralmente con la fórmula descrita en la reivindicación 1, siendo también descrito activo como bloqueadores de ENaC.

- 15 La publicación de la solicitud de patente internacional WO 2012/035158 (PCT/EP2011/066151) divulga métodos para preparar el bloqueador de ENaC dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico y su sal de succinato.

- 20 Enfermedades mediadas por el bloqueo del canal epitelial de sodio, incluyen enfermedades asociadas con la regulación de los volúmenes de fluido a través de membranas epiteliales. Por ejemplo, el volumen de líquido de la superficie de las vías respiratorias es un regulador clave del aclaramiento mucociliar y el mantenimiento de la salud pulmonar. El bloqueo del canal epitelial de sodio promoverá la acumulación de fluido en el lado de la mucosa del epitelio de las vías respiratorias promoviendo con ello la eliminación del moco y previniendo la acumulación de moco y esputo en los tejidos respiratorios (incluyendo las vías respiratorias pulmonares). Tales enfermedades incluyen enfermedades respiratorias, tales como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; virales y bacterianas) y carcinoma de pulmón. Enfermedades mediadas por el bloqueo del canal epitelial de sodio también incluyen enfermedades distintas de las enfermedades respiratorias que están asociadas con la regulación anormal de fluido a través de un epitelio, tal vez involucrados con la fisiología anormal de los líquidos de superficie protectores en su superficie, por ejemplo, xerostomía (boca seca) o queratoconjuntivitis sicca (ojo seco). Adicionalmente, el bloqueo del canal epitelial de sodio en el riñón podría usarse para promover la diuresis y con ello inducir un efecto hipotensor.

- 30 Descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra el patrón de difracción de polvo de rayos x registrado para la Forma A (Ejemplo 3) y se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α (λ = 1.5418 Å).

- 35 La Figura 2 muestra la traza de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma A (Ejemplo 3) y se registró en un instrumento Perkin Elmer Diamond DSC con bandeja de aluminio (Perkin Elmer, tipo BO14-3018); rata de calentamiento 20 K/min, rango de temperatura: 30 a 250°C.

La Figura 3 muestra un espectro infrarrojo de la Forma A (Ejemplo 3) y se registró en un instrumento Bruker Alfa en el modo de reflexión total atenuada (ATR). Los parámetros de medición fueron los siguientes: Rango de 400-4000 cm⁻¹, resolución de 2 cm⁻¹, 64 barridos, velocidad de 7.5 kHz, Apodización: Blackman-Harris 3 términos.

- 40 La Figura 4 muestra el patrón de difracción de polvo de rayos x registrado para la Forma A (Ejemplo 1, 2) y se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α (λ = 1.5418 Å).

La Figura 5 muestra la traza de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma A (Ejemplo 1, 2) y se registró en un instrumento Perkin Elmer Diamond DSC con bandeja de aluminio (Perkin Elmer, tipo BO14-3018); rata de calentamiento 20 K/min, rango de temperatura: 30 a 250°C.

- 45 La Figura 6 muestra el patrón de difracción de polvo de rayos x registrado para la Forma B (Ejemplo 4, 5, 6, 7) y se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α (λ = 1.5418 Å).

La Figura 7 muestra el patrón de difracción de polvo de rayos x registrado para la Forma C (Ejemplo 10) y se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α (λ = 1.5418 Å).

- 50 La Figura 8 muestra la traza de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma C (Ejemplo 10) y se registró en un instrumento Perkin Elmer Diamond DSC con bandeja de aluminio (Perkin Elmer, tipo BO14-3018); rata de calentamiento 20 K/min, rango de temperatura: 30 a 250°C.

La Figura 9 muestra un espectro infrarrojo de la Forma C (Ejemplo 10) y se registró en un instrumento Bruker Alfa en el modo de reflexión total atenuada (ATR). Los parámetros de medición fueron los siguientes: Rango de 400-4000 cm^{-1} , resolución de 2 cm^{-1} , 64 barridos, velocidad de 7.5 kHz, Apodización: Blackman-Harris 3 términos.

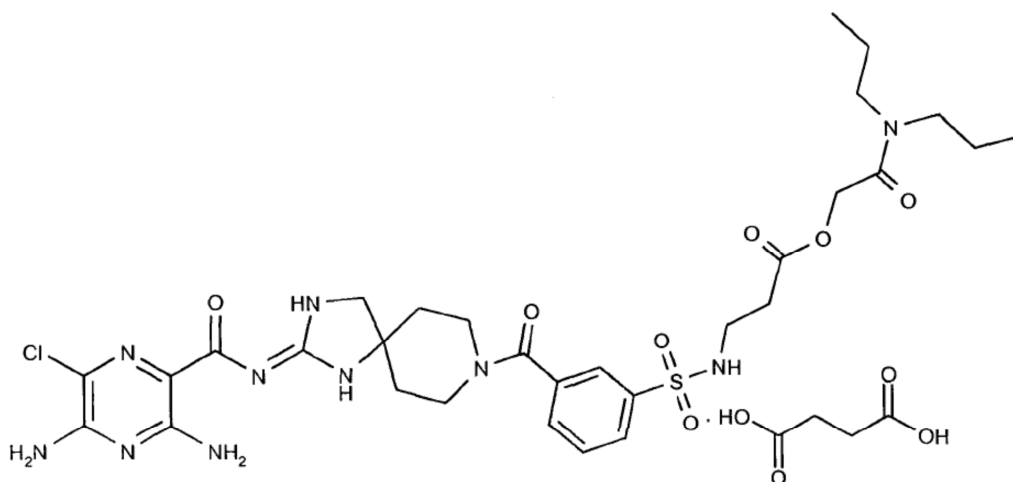
La Figura 10 muestra el patrón de difracción de polvo de rayos x registrado para la Forma C (Ejemplo 8, 9) y se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$).

La Figura 11 muestra la traza de DSC de la Forma C (Ejemplo 8, 9) y se registró en un instrumento Perkin Elmer Diamond DSC con bandeja de aluminio (Perkin Elmer, tipo BO14-3018); rata de calentamiento 20 K/min, rango de temperatura: 30 a 250°C.

Descripción de las realizaciones

Se divulgan tres formas polimórficas (Forma A, B y C) de la sal de succinato del bloqueador de ENaC dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: ácido succínico = 1:1). Los métodos para la preparación de las Forma A y B han sido descritos en la publicación de solicitud de patente internacional WO 2012/035158 (PCT/EP2011/066151).

Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente invención provee una forma cristalina de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico de fórmula



que comprende la Forma C.

En una realización del primer aspecto, la forma cristalina consiste esencialmente de la Forma C

En otra realización del primer aspecto, la forma cristalina comprende la Forma C en donde dicha Forma C está en forma sustancialmente pura

En otra realización del primer aspecto, la forma cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos x que comprende cuatro o más valores de 2-theta seleccionados de entre el grupo de $7.0^\circ \pm 0.2$, $10.6^\circ \pm 0.2$, $14.3^\circ \pm 0.2$, $18.2^\circ \pm 0.2$, $18.6^\circ \pm 0.2$, $19.2^\circ \pm 0.2$, $21.2^\circ \pm 0.2$, $21.8^\circ \pm 0.2$, $24.7^\circ \pm 0.2$, $29.0^\circ \pm 0.2$ y $31.5^\circ \pm 0.2$ a una temperatura de 21-26°C.

En otra realización del primer aspecto, la forma cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos x que comprende seis o más valores de 2-theta seleccionados del grupo de $7.0^\circ \pm 0.2$, $10.6^\circ \pm 0.2$, $14.3^\circ \pm 0.2$, $18.2^\circ \pm 0.2$, $18.6^\circ \pm 0.2$, $19.2^\circ \pm 0.2$, $21.2^\circ \pm 0.2$, $21.8^\circ \pm 0.2$, $24.7^\circ \pm 0.2$, $29.0^\circ \pm 0.2$ y $31.5^\circ \pm 0.2$ a una temperatura de 21-26°C.

En otra realización del primer aspecto, la forma cristalina tiene un espectro de difracción de polvo de rayos x que es sustancialmente el mismo que el espectro de difracción de polvo de rayos X mostrado en la Figura 7.

En otra realización del primer aspecto, la forma cristalina tiene un termograma de calorimetría diferencial de barrido que es sustancialmente el mismo que el mostrado en la Figura 8.

Tal como se utiliza aquí, el término "sustancialmente puro" con referencia a una forma polimórfica particular, significa que la forma polimórfica incluye menos de 10%, preferiblemente menos de 5%, más preferiblemente menos de 3%, más preferiblemente menos de 1% en peso de cualesquiera otras formas físicas (polimorfas) del compuesto.

- 5 Tal como se usa aquí, "polimorfo" se refiere a formas cristalinas que tienen la misma composición química pero diferentes disposiciones espaciales de las moléculas, átomos y/o iones que forman el cristal.

A lo largo de esta especificación y en las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprenden", o variaciones tales como "comprende" o "que comprende", debe entenderse que implican la inclusión de un entero establecido o etapa o grupo de enteros o etapas pero no la exclusión de cualquier otro entero o etapa o grupo de enteros o etapas.

- 10 Tal como se utiliza aquí, el término "forma cristalina de la invención" se refiere a la forma cristalina como se define en el primer aspecto o cualquier realización del primer aspecto.

En un segundo aspecto, se provee una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina de acuerdo con el primer aspecto o cualquiera de las realizaciones del primer aspecto y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

- 15 En una realización del segundo aspecto, en donde la Forma C está en forma sustancialmente pura.

En otra realización del segundo aspecto, la composición farmacéutica está en forma inhalable.

En un tercer aspecto, se provee una composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto o una realización del segundo aspecto en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales.

- 20 En un cuarto aspecto, se provee una forma cristalina de acuerdo con el primer aspecto o cualquier realización del primer aspecto y una composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto o cualquier realización del segundo aspecto para uso en el tratamiento de enfermedades respiratorias, tales como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (aguda y crónica; viral y bacteriana) y carcinoma de pulmón.

- 25 En un quinto aspecto, se provee el uso de una forma cristalina de acuerdo con el primer aspecto o cualquier realización del primer aspecto o de una composición de acuerdo con el segundo aspecto o cualquier realización del segundo aspecto en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de enfermedades respiratorias, tales como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; virales y bacterianas) y carcinoma de pulmón.

- 30 En un sexto aspecto, se provee una forma cristalina de acuerdo con el primer aspecto o cualquier realización del primer aspecto o una composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto o cualquier realización del segundo aspecto para uso en un método de tratamiento de enfermedades respiratorias, tales como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (aguda y crónica; viral y bacteriana) y carcinoma de pulmón que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad efectiva de una forma cristalina de acuerdo con el primer aspecto o cualquier realización del primer aspecto o de una composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto o cualquier realización del segundo aspecto.

- 40 En un séptimo aspecto, se provee un dispositivo de inhalación que contiene y está adaptado para suministrar una forma cristalina de acuerdo con el primer aspecto o cualquier realización del primer aspecto por administración pulmonar. En ciertas realizaciones preferidas, el dispositivo de inhalación es un inhalador de polvo seco, por ejemplo el dispositivo de inhalación BREEZHALER®.

Se ha demostrado que la novedosa polimórfica Forma C de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico es termodinámicamente más estable que la Forma A.

- 45 La Forma B es un grupo de solvatos isomorfos que aparecen como una forma cristalina transiente en la suspensión durante la cristalización de la Forma A. La Forma B se transforma en la Forma A tras el secado.

- 50 Los agentes de la invención se pueden administrar por cualquier ruta apropiada, por ejemplo, oralmente, por ejemplo en forma de una tableta o cápsula; de forma parenteral, por ejemplo por vía intravenosa; tópicamente a la piel; por vía intranasal, por ejemplo en el tratamiento de la rinitis alérgica; o, preferiblemente, por inhalación, particularmente en el tratamiento de enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias. En particular, los agentes de la invención se pueden administrar como una formulación inhalable para el tratamiento de la COPD, fibrosis quística o asma.

- La composición farmacéutica se puede formular para rutas particulares de administración tales como administración oral, administración parenteral, y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar en una forma sólida (incluyendo, sin limitación de cápsulas, tabletas, píldoras, gránulos, polvos o supositorios) o en una forma líquida (incluyendo, sin limitación soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes convencionales inertes, agentes lubricantes, o agentes reguladores, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsificadores y reguladores, etc.
- 5
- Típicamente, las composiciones farmacéuticas son tabletas o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con
- 10
- a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
- b) lubricantes, por ejemplo, sílica, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y/o polietilen glicol; también para tabletas
- c) aglomerantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea
- 15
- d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y/o
- e) absorbentes, colorantes, sabores y endulzantes.
- Las tabletas pueden ser recubiertas con película o con recubrimiento entérico de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Composiciones adecuadas para administración oral incluyen una cantidad efectiva de la forma cristalina de la invención en forma de tabletas, comprimidos para deshacer en la boca, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste de agentes, agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proveer preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables al paladar. Las tabletas pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes no tóxicos aceptables farmacéuticamente que sean adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y de desintegración, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglomerantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas son no recubiertas o recubiertas mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y proveer así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.
- 20
- 25
- 30
- 35
- Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones acuosas isotónicas, y los supositorios se preparan ventajosamente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones pueden ser esterilizantes y/o contener adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes o emulsificantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o reguladores. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0.1-75%, o contienen aproximadamente 1-50%, del ingrediente activo.
- 40
- Composiciones adecuadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad efectiva de la forma cristalina de la invención con un portador adecuado. Vehículos adecuados para la administración transdérmica incluyen solventes absorbibles farmacológicamente aceptables para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de un vendaje que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una rata que controla la barrera para suministrar el compuesto de la piel del huésped a una rata controlada y predeterminada durante un prolongado período de tiempo, y medios para asegurar el dispositivo a la piel.
- 45
- 50
- Composiciones adecuadas para la aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y a los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones asperjables, por ejemplo, para el suministro por aerosol o similares. Tales sistemas de suministro tópico serán en particular, apropiados para aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para uso profiláctico en cremas solares, lociones, aerosoles y similares. Son así particularmente adecuados para uso en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticos, bien
- 55

conocidas en la técnica. Tales pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, reguladores y conservantes.

Tal como se usa aquí una aplicación tópica también puede pertenecer a una aplicación de inhalación o intranasal. Pueden ser suministradas convenientemente en forma de un polvo seco (bien sea solo, como una mezcla, por ejemplo una mezcla seca con lactosa, o una partícula de componentes mezclados, por ejemplo, con fosfolípidos) desde un inhalador de polvo seco o una presentación de aspersión en aerosol a partir de un recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado.

Cuando la forma inhalable del ingrediente activo es una composición en aerosol, el dispositivo de inhalación puede ser un vial de aerosol provisto con una válvula adaptada para suministrar una dosis medida, tal como 10 a 100 µl, por ejemplo 25 a 50 µl, de la composición, esto es, un dispositivo conocido como un inhalador de dosis medida. Tales viales de aerosol adecuados y procedimientos para contener dentro de ellos composiciones en aerosol bajo presión son bien conocidos para los expertos en la técnica de la terapia de inhalación. Por ejemplo, una composición en aerosol se puede administrar de una lata recubierta, por ejemplo como se describe en el la EP-A-0642992. Cuando la forma inhalable del ingrediente activo es una dispersión acuosa nebulizable, orgánico o acuosa/orgánica, el dispositivo de inhalación puede ser un nebulizador conocido, por ejemplo un nebulizador neumático convencional tal como un nebulizador de chorro de aire, o un nebulizador ultrasónico, que puede contener, por ejemplo, de 1 a 50 ml, comúnmente de 1 a 10 ml, de la dispersión; o un nebulizador de mano, a veces referido como una niebla suave o inhalador de pulverización suave, por ejemplo un dispositivo controlado electrónicamente tal como un AERx (Aradigm, US) o Aerodose (Aerogen), o un dispositivo mecánico tal como un nebulizador RESPIMAT (Boehringer Ingelheim) que permite volúmenes nebulizados mucho más pequeños, por ejemplo, de 10 a 100 µl, que los nebulizadores convencionales. Cuando la forma inhalable del ingrediente activo es la forma particulada finamente dividida, el dispositivo de inhalación puede ser, por ejemplo, un dispositivo de inhalación de polvo seco adaptado para suministrar polvo seco desde una cápsula o blíster que contiene un polvo seco que comprende una unidad de dosificación de (A) y/o (B) o un dispositivo multidosis de inhalación de polvo seco (MDPI) adaptado para suministrar, por ejemplo, o, 3-25 mg de polvo seco que comprende una unidad de dosificación de (A) y/o (B) por actuación. La composición de polvo seco contiene preferiblemente un diluyente o portador, tal como lactosa, y un compuesto que ayuda a proteger contra el deterioro del rendimiento del producto debido a la humedad, por ejemplo, estearato de magnesio. Tales dispositivos de inhalación de polvo seco adecuados incluyen dispositivos descritos en la US 3991761 (incluyendo el dispositivo AEROLIZER™), la WO 05/113042 (incluyendo el dispositivo BREEZHALER™), WO 97/20589 (incluyendo el dispositivo CERTHALER™), la WO 97/30743 (incluyendo el dispositivo TWISTHALER™), la WO 05/37353 (incluyendo el dispositivo GYROHALER™), la US6536427 (incluyendo el dispositivo DISKUS™), la WO 97/25086 (incluyendo el dispositivo DISKHALER™), la WO 95/14089 (incluyendo el dispositivo GEMINI™), la WO 03/77979 (incluyendo el dispositivo PROHALER™), y también el dispositivo divulgado en la WO 08/51621, la WO 09/117112 y la US 2005/0183724..

La invención también incluye (A) la forma cristalina de la invención en forma inhalable; (B) un medicamento inhalable que comprende tal forma cristalina de la invención en forma inhalable junto con un portador farmacéuticamente aceptable en forma inhalable; (C) un producto farmacéutico que comprende tal forma cristalina de la invención en forma inhalable en asociación con un dispositivo de inhalación; y (D) un dispositivo de inhalación que contiene tal forma cristalina de la invención en forma inhalable.

Las dosificaciones de agentes de la invención empleados en la práctica de la presente invención variarán por supuesto, dependiendo, por ejemplo, de la condición particular que se va a tratar, el efecto deseado y el modo de administración. En general, las dosificaciones diarias adecuadas para administración por inhalación son del orden de 0.0001 a 30 mg/kg, típicamente de 0.01 a 10 mg por paciente, mientras que para administración oral las dosis diarias adecuadas son del orden de 0.01 a 100 mg/kg.

La presente invención provee además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden la forma cristalina de la invención como ingrediente activo, ya que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

Composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras de la invención se pueden preparar usando ingredientes anhidros o que contienen baja humedad y condiciones de baja humectación o de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de tal manera que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se empaacan usando materiales conocidos para prevenir la exposición al agua de tal manera que puedan ser incluidos en los kits de formulación adecuados. Ejemplos de empaques adecuados incluyen láminas selladas herméticamente, plásticos, recipientes de dosis unitarias (por ejemplo, viales), paquetes de blíster y paquetes de bandas.

La invención provee además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la rata a la que la forma cristalina de la invención como un ingrediente activo, se descompondrá. Tales agentes, que se denominan aquí como "estabilizadores", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, reguladores de pH, o reguladores de salinidad, etc.

La forma cristalina de la invención puede administrarse ya sea simultáneamente con, o antes o después de, uno o más de otro agente terapéutico. La forma cristalina de la invención se puede administrar por separado, por la misma o diferente ruta de administración o juntos en la misma composición farmacéutica como los otros agentes.

5 En una realización, la invención provee un producto que comprende la forma cristalina de la invención y al menos otro agente terapéutico como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio. Los productos provistos como una preparación combinada incluyen una composición que comprende la forma cristalina de la invención y el (los) otro (s) agente (s) terapéutico (s) juntos en la misma composición farmacéutica, o la forma cristalina de la invención y el (los) otro (s) agente (s) terapéutico (s) en forma separada, por ejemplo en forma de un kit.

10 En una realización, la invención provee una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina de la invención y otro (s) agente (s) terapéutico (s). Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, como se describió más arriba.

15 En una realización, la invención provee un kit que comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene la forma cristalina de la invención. En una realización, el kit comprende medios para retener por separado dichas composiciones, tales como un recipiente, botella dividida o paquete en lámina dividido. Un ejemplo de tal kit es un empaque tipo blíster, tal como el típicamente usado para el empaque de tabletas, cápsulas y similares.

20 El kit de la invención puede ser utilizado para la administración de diferentes formas de dosificación, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas en diferentes intervalos de dosificación, o para titular las composiciones separadas entre sí. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la invención comprende típicamente instrucciones para la administración.

25 En particular, la forma cristalina de la invención exhibe un perfil ventajoso de estabilidad en el plasma humano. Al proveer compuestos que exhiben un perfil ventajoso de estabilidad en el plasma humano, la invención provee compuestos que bloquean efectivamente el canal epitelial de sodio (ENaC) con farmacocinética mejorada.

30 En las terapias de combinación de la invención, la forma cristalina de la invención y el otro agente terapéutico pueden ser fabricados y/o formulados por los mismos o diferentes fabricantes. Por otra parte, la forma cristalina de la invención y el otro agente terapéutico pueden estar reunidos en una terapia de combinación: (i) antes de la liberación del producto de combinación por los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprende la forma cristalina de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por los mismos médicos (o bajo la dirección del médico) poco antes de la administración; (iii) en el propio paciente, por ejemplo, durante la administración secuencial del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico.

35 De acuerdo con lo anterior, la invención provee una forma cristalina de la invención para tratar una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio, en donde el medicamento se prepara para la administración con otro agente terapéutico. La invención también provee otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio, en donde el medicamento se administra con una forma cristalina de la invención.

40 La invención también provee una forma cristalina de la invención para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio, en donde la forma cristalina de la invención se prepara para la administración con otro agente terapéutico. La invención también provee otro agente terapéutico para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio, en donde el otro agente terapéutico se prepara para la administración con la forma cristalina de la invención.

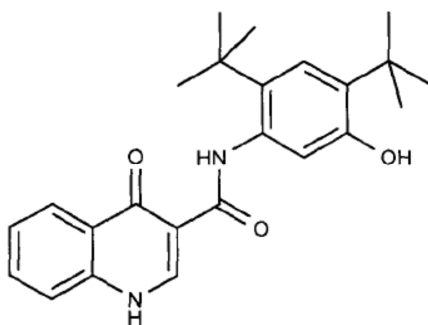
45 La invención también provee la forma cristalina de la invención para tratar una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio, en donde el paciente ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de las 24 horas) con otro agente terapéutico. La invención también provee otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el bloqueo del canal epitelial de sodio, en donde el paciente ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de las 24 horas) con la forma cristalina de la invención.

50 En una realización, el otro agente terapéutico se selecciona de sustancias farmacéuticas antiinflamatorias, broncodilatadoras, antihistamínicas, descongestionantes y antitusivas, particularmente en el tratamiento de la fibrosis quística o de enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias tales como las mencionados aquí más arriba, por ejemplo, como potenciadores de la actividad terapéutica de tales fármacos o como un medio de reducir la dosificación requerida o los efectos colaterales potenciales de tales fármacos.

55 Por consiguiente, la invención incluye como un aspecto adicional una combinación de un bloqueador del canal epitelial de sodio de la presente invención con agentes osmóticos (solución salina hipertónica, dextrano, manitol,

- 5 Xilitol), modificadores de la función de CFTR, tanto de tipo silvestre como mutantes (correctores y potenciadores), por ejemplo, los descritos en WO2007/021982, WO2006/099256, WO2006/127588, WO2004/080972, WO2005/026137, WO2005/035514, WO2005/075435, WO2004/111014, WO2006/101740, WO2004/110352, WO2005/120497 y US2005/0176761, una sustancia farmacéutica antiinflamatoria, broncodilatadora, antihistamínica, antitusiva, antibiótico o DNasa, estando dicho bloqueador de canal epitelial de sodio y dicha sustancia farmacéutica en la misma o diferente composición farmacéutica.

Modificadores apropiados de la función de CFTR incluyen potenciadores CFTR, en particular el compuesto VX-770 de la fórmula

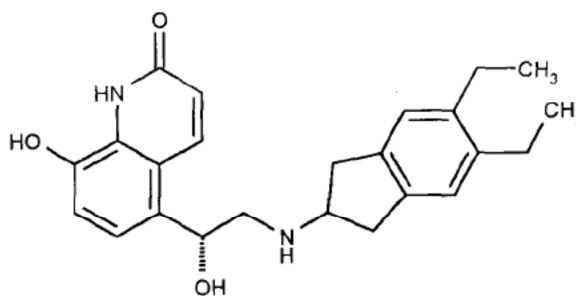


- 10 Antibióticos apropiados incluyen antibióticos macrólidos, por ejemplo, tobramicina (TOBI™).

Sustancias farmacéuticas DNasa adecuadas incluyen dornasa alfa (Pulmozyme™), una solución altamente purificada de desoxirribonucleasa humana recombinante I (rhDNasa), que escinde selectivamente el ADN. Dornasa alfa se usa para tratar la fibrosis quística.

- 15 Otras combinaciones útiles de bloqueadores de los canales epiteliales de sodio con fármacos antiinflamatorios son aquellos con antagonistas de receptores de quimioquinas, por ejemplo, CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 and CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, particularmente antagonistas de CCR-5, tales como antagonistas de Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 y SCH-D; antagonistas de Takeda, tales como cloruro de N-[[[4-[[[6,7-dihidro-2- (4-metil-fenil)- 5H-benzo-ciclohepten-8-il] carbonil]amino]fenil] metil] tetrahidro-N,N-dimetil-2H-piran-4-amin-ilo (TAK-770); y antagonistas de CCR-5 descritos en la USP6,166,037 (particularmente las reivindicaciones 18 y 19), WO00/66558 (particularmente la reivindicación 8), WO00/66559 (particularmente la reivindicación 9), WO04/018425 y WO04/026873.

- 25 Fármacos antiinflamatorios adecuados incluyen esteroides, en particular, glucocorticosteroides, tales como budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, ciclesonida o furoato de mometasona, o esteroides descritos en la WO 02/88167, la WO 02/12266, la WO 02/100879, la WO 02/00679 (especialmente los de los Ejemplos 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 y 101), la WO 03/35668, la WO 03/48181, la WO 03/62259, la WO 03/64445, la WO 03/72592, la WO 04/39827 y la WO 04/66920; agonistas del receptor de glucocorticoides no esteroide, tales como los descritos en DE 10261874, WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 y WO 04/26248; antagonistas de LTD4, tales como montelukast y zafirlukast; inhibidores de PDE4, tales como cilomilast (Ariflo® GlaxoSmithKline), Roflumilast (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), Arofilina (Almirall Prodesfarma), PD189659/PD168787 (Parke-Davis), AWD 12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SeICID (TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), y los divulgados en la WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 y WO 04/037805; antagonistas del receptor de adenosina A2B tales como los descritos en la WO 02/42298; y agonistas del adrenoreceptor beta-2, tales como albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, fenoterol salmeterol, procaterol, y especialmente, formoterol, carmeterol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y compuestos (en forma libre o de sal o de solvato) de fórmula (I) de WO0075114, preferiblemente compuestos de los Ejemplos de los mismos, especialmente un compuesto de fórmula:



que corresponden a indacaterol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, así como compuestos (en forma libre o de sal o de solvato) de fórmula (I) de WO 04/16601, y también compuestos de la EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, USP 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618, WO 04/46083, WO 04/80964, WO 04/108765 y WO 04/108676.

Fármacos broncodilatadores adecuados incluyen agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular, bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, sales de tiotropio y CHF 4226 (Chiesi), y glicopirrolato, pero también aquellos descritos en EP 424021, USP 3,714,357, USP 5,171,744, WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 y WO 04/05285.

Fármacos antiinflamatorios y broncodilatadores duales adecuados incluyen agonistas adrenérgicos /antagonistas muscarínicos beta-2 duales tales como los descritos en la USP 2004/0167167, WO 04/74246 y WO 04/74812.

Sustancias farmacológicas antihistamínicas adecuados incluyen clorhidrato de cetirizina, acetaminofen, fumarato de clemastina, prometazina, loratidina, desloratadina, difenhidramina y clorhidrato de fexofenadina, activastina, astemizol, azelastina, ebastina, epinastina, mizolastina y tefenadina, así como los divulgados en las JP 2004107299, WO 03/099807 y WO 04/026841.

Tal como se utiliza aquí, el término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, aglomerantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes endulzantes, agentes saborizantes, colorantes, y similares, y combinaciones de los mismos, como será conocido por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289- 1329). Excepto en tanto que cualquier portador convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

El término "una cantidad terapéuticamente efectiva" de la forma cristalina de la invención se refiere a una cantidad de la forma cristalina de la invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o la inhibición de una enzima o una actividad de proteína, o mejorar los síntomas, aliviar condiciones, disminuir o retrasar la progresión de la enfermedad, o prevenir una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de la forma cristalina de la invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para (1) al menos aliviar parcialmente, inhibir, prevenir y/o mejorar una afección o un trastorno o una enfermedad (i) mediada por el canal epitelial de sodio, o (ii) asociado con la actividad del canal epitelial de sodio, o (iii) que se caracteriza por la actividad (normal o anormal) del canal epitelial de sodio; o (2) reducir o inhibir la actividad del canal epitelial de sodio. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de la forma cristalina de la invención que, cuando se administra a una célula, o un tejido, o un material biológico no celular, o un medio, es efectiva para reducir al menos parcialmente o inhibir la actividad del canal epitelial de sodio.

Tal como se utiliza aquí, el término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere a, por ejemplo, los primates (por ejemplo, humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En aún otras realizaciones, el sujeto es un humano.

Tal como se utiliza aquí, el término "inhibir", "inhibición" o "inhibiendo" se refiere a la reducción o supresión de una condición dada, síntoma o trastorno o enfermedad, o una disminución significativa en la actividad de línea de base de una actividad o proceso biológico.

Tal como se utiliza aquí, el término "tratar", "tratando" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, para mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la

enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de los mismos). En otra realización, "tratar" "tratando" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico incluyendo aquellos que no pueden ser discernibles por el paciente. En aún otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a la modulación de la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En aún otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar la aparición o el desarrollo o la progresión de la enfermedad o trastorno.

Tal como se usa aquí, un sujeto está "en necesidad de" un tratamiento si tal sujeto se beneficiaría biológicamente, desde el punto de vista médico o en la calidad de vida de este tratamiento.

- 10 Tal como se utiliza aquí, el término "un", "una", "el" y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) deben considerarse para cubrir tanto el singular como el plural a menos que se indique otra cosa aquí o se contradiga claramente por el contexto.

Parte experimental

Condiciones generales:

- 15 Los espectros de masas se realizaron en los sistemas LCMS usando ionización por electroaspersión. Estos fueron bien sea combinaciones de HPLC Agilent 1100/Espectrómetro de masas Micromass Platform, o combinaciones de HPLC Agilent 1200/Espectrómetro de masas Agilent 6130 Quadropole

o UPLC Waters Acquity con Espectrómetro de Masas SQD. [M+H]⁺ se refiere a pesos moleculares mono-isotópicos. Los espectros de RMN se realizaron en espectrómetros de RMN Bruker AVANCE 400 de acceso abierto. Los espectros se midieron a 298 K y se referenciaron usando el pico del solvente. Algunos protones no se observaron directamente, debido a la muy amplia naturaleza de sus resonancias intercambiables.

- 20

Si no se indica lo contrario, las condiciones de HPLC analíticas son como sigue:

Método (i)

Columna Agilent Zorbax SB-C18 (Resolución rápida) 30x2.1 mm, 3.5 Å

- 25 Temperatura de Columna 30 °C

Eluentes B: H₂O, C: acetonitrilo, ambos contienen ácido fórmico al 0.1 %

Rata de flujo 0.8 mL/min

Gradiente 1 min 5% C; 5% a 95% C en 5 min, 3.00 min 95% C

Método (ii)

- 30 Columna SB-C18 50x4.6 mm, 1.8 Å

Temperatura de Columna 30 °C

Eluyentes A: H₂O, B: acetonitrilo, ambos contienen ácido fórmico al 0.1 %

Rata de flujo 1 mL/min

Gradiente 1 min 2% B; 2% a 70% B en 4 min, 70% a 90% B en 0.1 min, 4.9 min 95%B

- 35 Método 2minLC_v003

Columna Waters BEH C18 50x2.1 mm, 1.7 Å

Temperatura de Columna 50 °C

Eluyentes A: H₂O, B: acetonitrilo, ambos contienen ácido TFA al 0.1%

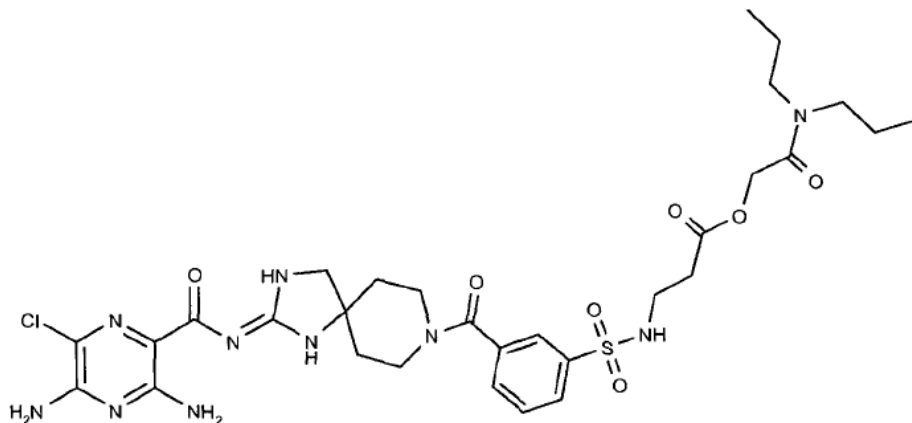
Rata de flujo 0.8 mL/min

- 40 Gradiente 0.20 min 5% B; 5% a 95% B en 1.30 min, 0.25 min 95% B

Abreviaturas:

- Br ancho
- d doblete
- DCM diclorometano
- DSC calorimetría de barrido diferencial
- 5 DMF N,N-dimetilformamida
- DMI 1,3-dimetil-2-imidazolidinona
- DMSO dimetilsulfóxido
- EDCI N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimid
- EtOAc acetate de etilo
- 10 h hora(s)
- HOBt 1-hidroxibenzotriazol
- HPLC cromatografía líquida de alta presión
- LC-MS cromatografía líquida y espectrometría de masas
- MeOH metanol
- 15 MS espectrometría de masas
- m multiplete
- 2-meTHF 2-metiltetrahidrofurano
- min minutos
- ml millilitro(s)
- 20 m/m relación de masa a masa
- m/z relación de masa a carga
- RMN resonancia magnética nuclear
- iPrOH isopropanol
- ppm partes por millón
- 25 PS polímero soportado
- PEAX intercambio aniónico por PE (por ejemplo columnas Isolute® PE-AX de Biotage)
- Rt tiempo de retención
- s singlete
- SCX-2 intercambio catiónico fuerte (por ejemplo columnas Isolute® SCX-2 de Biotage)
- 30 t triplete
- TEA trietilamina
- TFA ácido trifluoroacético
- THF tetrahidrofurano

Preparación 1: dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico



El compuesto del título se puede preparar bien sea por el Método A o el B

5 Método A:

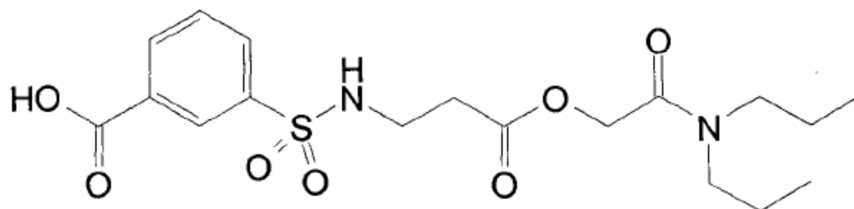
A una solución agitada de ácido 3-(2-dipropilcarbamoilmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico (puede ser preparado como en la Preparación 2; 6.1 g, 12.60 mmol) en THF (50 ml) se agregó secuencialmente agua (25 ml), N-metilmorfolina (7 ml, 63 mmol) e hidrato de HOBt (2.9 g, 18.9 mmol). La temperatura interna se mantuvo a $\leq 20^\circ\text{C}$. Se adicionó clorhidrato de [1,3,8-triaza-espiro[4.5]dec-(2E)-ilideno]-amida de ácido 3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carboxílico (WO09/074575, Ejemplo 38, página 123) (65% de pureza, 6.3 g, 12.6 mmol) y se agitó hasta que se formó una solución clara. Se agregó EDCI.HCl (3.6 g, 18.9 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. 2-MeTHF (200 ml) y Na_2CO_3 acuoso al 2% (150 ml) se agregaron a la mezcla de reacción. Las capas se separaron, y la fase acuosa se lavó con 2-MeTHF adicional (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con Na_2CO_3 acuoso al 2% (200 ml) y agua (2 x 200 ml). Se agregó acetonitrilo (100 ml), y la solución se concentró a 30°C a un volumen de 70 ml. Se agregó acetonitrilo (300 ml), y la solución se concentró de nuevo a 30°C a un volumen de 150 ml. La solución se calentó hasta 50°C y se agregó ácido maleico (1.62 g) a la solución resultante. Un precipitado blancuzco se formó inmediatamente, la temperatura se dejó enfriar hasta temperatura ambiente durante 1 h. El sólido se recolectó por filtración para producir dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico como una sal de maleato; se agregaron DCM (200 ml) y Na_2CO_3 acuoso al 2% (200 ml) y se agitó hasta que el sólido se había disuelto completamente. La capa orgánica se separó, se lavó con agua (2 x 100 ml) y se concentró in vacuo para producir el compuesto del título. LC-MS 722.1 [M+H]⁺, Método (i); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.12-7.57 (4H, br), 7.88 (1H, m), 7.77 (1H, m), 7.70 (1H, m), 7.68 (1H, m), 7.05-6.50 (2H, br s), 6.95-6.20 (1H, br s), 4.73 (2H, s), 3.81-3.39 (2H, m), 3.61-3.31 (2H, m), 3.43 (2H, br s), 3.15-3.11 (4H, m), 3.04 (2H, t), 2.51 (2H, t), 1.79-1.69 (m, 4H), 1.51-1.43 (4H, m), 0.84 (3H, t), 0.78 (3H, t)

Método B:

A una solución agitada de ácido 3-(2-dipropilcarbamoilmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico (Int. AA) (6.1 g, 12.60 mmol) en THF (50 ml) se agregó secuencialmente agua (25 ml), N-metilmorfolina (7 ml, 63 mmol) e hidrato de HOBt (2.9 g, 18.9 mmol). La temperatura interna se mantuvo a $\leq 20^\circ\text{C}$. Se adicionó clorhidrato de [1,3,8-triaza-espiro[4.5]dec-(2E)-ilideno]-amida de ácido 3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carboxílico (WO09074-575, Ej, 38, página 123) (65% de pureza, 6.3 g, 12.6 mmol) y se agitó hasta que se formó una solución clara. Se adicionó EDCI.HCl (3.6 g, 18.9 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. 2-MeTHF (200 ml) y Na_2CO_3 acuoso al 2% (150 ml) se agregaron a la mezcla de reacción. Las capas se separaron, y la fase acuosa se lavó con 2-MeTHF adicional (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con Na_2CO_3 acuoso al 2% (200 ml) y agua (2 x 200 ml). Se agregó acetonitrilo (100 ml), y la solución se concentró a 30°C a un volumen de 70 ml. Se agregó acetonitrilo (300 ml), y la solución se concentró de nuevo a 30°C a un volumen de 150 ml. La solución se calentó hasta 50°C y se agregó ácido maleico (1.62 g) a la solución resultante. Un precipitado blancuzco se formó inmediatamente, la temperatura se dejó enfriar hasta temperatura ambiente durante 1 h. El sólido se recolectó por filtración para producir dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico como una sal de maleato; se adicionaron DCM (200 ml) y Na_2CO_3 acuoso al 2% (200 ml) y se agitó hasta que el sólido se había disuelto completamente. La capa orgánica se separó, se lavó con agua (2 x 100 ml) y se concentró in vacuo para producir el compuesto del título. LC-MS 722.1 [M+H]⁺, Método (i); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.12-7.57 (4H, br), 7.88 (1H, m), 7.77 (1H, m), 7.70 (1H, m), 7.68 (1H, m), 7.05-6.50 (2H, br s), 6.95-6.20 (1H, br s), 4.73 (2H, s),

3.81-3.39 (2H, m), 3.61-3.31 (2H, m), 3.43 (2H, br s), 3.15-3.11 (4H, m), 3.04 (2H, t), 2.51 (2H, t), 1.79-1.69 (m, 4H), 1.51-1.43 (4H, m), 0.84 (3H, t), 0.78 (3H, t)

Preparación 2: ácido 3-(2-Dipropilcarbamoylmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico



5 El compuesto del título se puede preparar bien sea por el Método A o el B:

Método A:

Etapas 1: dipropilcarbamoylmetil éster de ácido 3-Benciloxycarbonilamino-propiónico

10 A una solución de ácido Benciloxycarbonilamino-propiónico (22.3 g, 99.9 mmol) en DMF (150 ml) se agregó carbonato de potasio (19.3 g, 139.9 mmol). Se agregó 2-Cloro-N,N-dipropil-acetamida (17.7 g, 99.9 mmol) durante 30 min, y la mezcla de reacción se calentó hasta 60 °C y se agitó durante 2.5 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se diluyó con agua (500 ml) y se extrajo con acetato de isopropilo (total 500 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 200 ml) para producir una solución de dipropilcarbamoylmetil éster de ácido 3-Benciloxycarbonilamino-propiónico en acetato de isopropilo que no se aisló más. LC-MS; 365.2 [M+H]⁺ Método (i)

15 Etapas 2: dipropilcarbamoylmetil éster trifluoroacetato de ácido 3-Amino-propiónico

20 Una solución de dipropilcarbamoylmetil éster de ácido 3-Benciloxycarbonilamino-propiónico en acetato de isopropilo (33.2 g, 91.0 mmol en 129.9 g masa total de la solución) se trató con TFA (7.05 ml, 92.0 mmol) mientras que la temperatura interna se mantuvo a 20 °C, seguido por 10% de Pd/C (3.3g, 50% húmedo) y se agitó bajo una atmósfera de H₂ (3 atm) durante 3.5 h para producir dipropilcarbamoylmetil éster trifluoroacetato de ácido 3-amino-propiónico. La solución se utilizó directamente en la siguiente reacción sin aislamiento.

Etapas 3: bencil éster de ácido 3-(2-Dipropilcarbamoylmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico

25 Una solución de dipropilcarbamoylmetil éster trifluoroacetato de ácido 3-amino-propiónico (25.4 g 73.8 mmol) en acetato de isopropilo se enfrió hasta 0 °C y se trató con N-metilmorfolina (26.3 g, 221.5 mmol), agua (40 ml) y DMAP (90.4 mg, 0.74 mmol). Se agregó bencil éster de ácido 3-Clorosulfonil-benzoico (24.1 g, 77.5 mmol) en acetato de isopropilo (44 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h at 0-5 °C. Las capas se separaron y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado acuoso (3 x 26 ml), se diluyó con agua (10 ml), el pH se ajustó a 6 con solución de HCl 1N, y se lavó con salmuera. La solución resultante se concentró para proveer una solución de bencil éster de ácido 3-(2-Dipropilcarbamoylmetoxycarbonil- etilsulfamoil)-benzoico en acetato de isopropilo que se utilizó en reacciones adicionales sin aislamiento. LC-MS; [M+H]⁺ 505.1 Método (i)

30 Etapas 4: Síntesis de ácido 3-(2-Dipropilcarbamoylmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico

35 Una solución de bencil éster de ácido 3-(2-dipropilcarbamoylmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico (5 g, 33.25 mmol) en acetato de isopropilo (82 ml) se trató con 10% de Pd/C (0.84 g, 50% húmedo), y se agitó bajo H₂ (3 atm) durante la noche. El catalizador se eliminó por filtración. Al filtrado se agregó 10% de Pd/C (1.68 g, 50% húmedo), y la reacción se agitó bajo H₂ (3 atm) durante 18 h. El catalizador se eliminó por filtración y se agregó adicionalmente 10% de Pd/C (1.68 g, 50 %húmedo) y la reacción se agitó bajo H₂ (1 atm) durante 18 h. El catalizador se eliminó por filtración y se lavó con acetato de isopropilo (20 ml). Los filtrados combinados se concentraron in vacuo y se agregó heptano a la solución y se agitó a temperatura ambiente durante 2 hr y luego a -2 °C durante 4 h.

El sólido que se formó se recolectó por filtración y se secó bajo vacío a 40 °C para producir el compuesto del título; LC-MS; 415.1 [M+H]⁺, Método (i).

40 Método B:

Etapas 1: dipropilcarbamoylmetil éster de ácido 3-tert-Butoxicarbonilamino-propiónico

A una suspensión agitada de Boc-Beta-Ala-OH (40.0 g, 211 mmol) en DMF (200 ml) a 60 °C bajo N₂ se agregó carbonato de potasio (40.0 g, 289 mmol). A esta mezcla se agregó 2-cloro-N,N-dipropil-acetamida (36.7 g, 207 mmol) en DMF (75 ml). La mezcla de reacción se dejó en agitación a 60 °C durante la noche. La reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se diluyó con DCM (400 ml) seguido por agua (500 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera (200 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró *in vacuo* para producir un aceite de color amarillo pálido. Al aceite se agregó n-heptano (500ml) (azeótropo para DMF) que se concentró *in vacuo* para producir el compuesto del título; LC-MS Rt 1.14 mins; 331.3 [M+H]⁺, Método 2minLC_v003.

Etapas 2: dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-Amino-propiónico

A una solución agitada enfriada de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-tert-butoxicarbonilamino-propiónico (etapa 1) (36.5 g, 110 mmol) en dioxano seco bajo N₂ se agregó gota a gota HCl 4N en dioxano (18.12 ml, 597 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El disolvente se eliminó *in vacuo* y el producto crudo se suspendió en EtOAc (500 ml) y se sometió a sonicación durante 1 h. El precipitado blanco resultante se aisló por filtración y se secó bajo vacío a 40°C durante 1 h para producir un sólido de color amarillo pálido. La cristalización a partir de EtOAc produjo el compuesto del título; LC-MS Rt 0.77 mins; 231.2 [M+H]⁺, Método 2minLC_v003.

Etapas 3: ácido 3-(2-Dipropilcarbamoilmetoxycarbonil-etilsulfamoil)-benzoico

A una solución agitada de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-amino-propiónico (etapa 2) (20.1 g, 75 mmol) en DCM (240 ml) at 0 °C bajo N₂ se agregó DMAP (0.46 g, 3.76 mmol) seguido por TEA (38.8 ml, 278 mmol). La mezcla de reacción se trató con una solución de ácido 3-clorosulfonilbenzoico (16.6 g, 75 mmol) en DCM (200 ml). La mezcla se dejó en agitación a 0°C durante 1 h y luego se calentó hasta temperatura ambiente durante 1 h. Se agregó agua y el pH se ajustó con HCl 1N (100 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y se concentró *in vacuo*. La purificación por cromatografía en fase reversa en C18, eluyendo con MeCN/agua (1% de HCl) produjo el compuesto del título; LC-MS Rt 1.01 mins; 415.2 [M+H]⁺, Método 2minLC_v003.

Ejemplo 1: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina A

2.5 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (puede ser preparado como en la Preparación 1; 3.47 mmol) se disolvieron en 25 ml de acetonitrilo y 1.5 ml de agua a 50 °C. Se agregaron 409 mg de ácido succínico (3.47 mmol). El ácido se disolvió inmediatamente y la solución transparente se enfrió hasta temperatura ambiente durante 30 minutos. Aproximadamente a 30 °C, la cristalización se llevó a cabo. La suspensión se agitó entonces durante aproximadamente 16 h a temperatura ambiente. Los cristales se recolectaron por filtración. La torta del filtro se lavó en porciones con 9 ml de acetonitrilo/agua 95:5 v/v y se secó durante 16 h a 50°C y a aproximadamente 10 mbar.

Ejemplo 2: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina A

Una mezcla que comprende ácido succínico (0.50 g, 4.23 mmol) y acetona (20 g) se calentó hasta 45 °C hasta que se formó una solución clara y luego se filtró (filtro PTFE de 0.2 µm).

En un segundo recipiente de reacción, se calentaron dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (Preparación 1, Método B) (3.00 g, 4.16 mmol) y acetona (30 g) hasta 45 °C hasta que se formó una solución clara y luego se filtró (filtro PTFE de 0.2 µm). La solución de ácido succínico (0.50 g, 4.23 mmol) en acetona (20 ml) se calentó a 45 °C durante 1 h y se trató con una porción de la solución de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico en acetona (1.62 g de solución) durante 10 min. La mezcla resultante se trató con una suspensión de cristales de semilla de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (tal como se preparó utilizando la preparación del Ejemplo 1, 20 mg) en acetona (300 mg) y se agitó a 45 °C durante 30 min. La solución restante de dipropilcarbamoil metil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonil amino)-propiónico en acetona (31,38 g) se añadió a la mezcla durante 5 h y se continuó el calentamiento a 45 °C durante 1 h. La suspensión se enfrió hasta 25 °C durante 1 h y se agitó durante una 1 h adicional. La suspensión se filtró sobre una frita de vidrio y la torta del filtro se lavó con acetona (2 x 5 g). La torta del filtro se secó a 50 °C para producir el compuesto del título. HPLC Rt 4.02 min, método ii; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.87 (1H, m), 7.78 (1H, m), 7.69 (1H, m), 7.68 (1H, m), 6.85 (2H, br s), 4.73 (2H, s), 3.84-3.20 (6H y agua, hombro br), 3.17-3.09 (4H, m), 3.04 (2H, t), 2.53 (2H, bajo DMSO), 2.39 (4H, s), 1.80 (2H, br s), 1.70 (2H, br s), 1.55-1.37 (4H, m), 0.85 (3H, t), 0.78 (3H, t) (Téngase en cuenta: Los dos protones

intercambiables succinato y 3-4 resonancias NH ácidas no se observaron directamente debido a la muy amplia naturaleza de algunas de las resonancias intercambiables; Temperatura de fusión T_m (DSC) = 149 °C.

Ejemplo 3: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}- bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina A

3 g de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}- bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden prepararse como se muestra en el Ejemplo 1 o 2) se cargaron en un reactor de 100 ml equipado con un agitador de ancla (150 rpm), condensador, unidad de dosificación y sonda de turbidez. Se agregaron 20 g de una mezcla de acetona/agua (92.5/7.5 m/m) y el conjunto se calentó a 50 °C y se agitó hasta que todo se disolvió. La mezcla de reacción se enfrió hasta 45 °C. Se agregaron 30 mg de cristales de semilla (se pueden preparar como se muestra en el ejemplo 1 o 2) suspendidos en 300 mg de acetona. La mezcla de reacción se enfrió luego hasta 25 °C durante 1 hora. El conjunto se agitó durante 3.5 horas. 28 ml de EtOAc se agregaron entonces durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió adicionalmente hasta 0 °C durante 1 hora y el conjunto se agitó luego durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de una frita de vidrio y el sólido obtenido se lavó entonces dos veces con 5 ml de acetona y se secó a 40 °C con 1 mbar durante 24 horas.

Ejemplo 4: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}- bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina B

3 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden ser preparados como en la Preparación 1) se disolvieron en 22.7 g de acetona a 50°C en un reactor de vidrio de 100 mL equipado con un agitador de ancla (150 rpm). Se agregaron 5 mL de solución de ácido succínico (2.94% en peso en acetona), al reactor. 10 mg de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico, forma cristalina A (pueden prepararse como en el Ejemplo 1 o 2), se suspendieron en 0.2 g de acetona, se someten a sonicación, y se agregaron al reactor. Otros 40 mL de solución de ácido succínico (2.94% en peso en acetona) se agregaron lentamente al reactor durante 20 h. Después, la mezcla se enfrió hasta 20°C y luego se agitó adicionalmente durante 19 h. La suspensión resultante se filtra y la torta de filtro se lava con 10 g de acetona a temperatura ambiente dos veces.

Ejemplo 5: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina B

3 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden ser preparados como en la Preparación 1) y 0.5 g de ácido succínico se disolvieron en una mezcla de 28.5 g de acetona y 1.5 g de agua a 50 °C en un reactor de vidrio de 100 mL equipado con un agitador de ancla (150 rpm). Después, la solución se enfrió hasta 20 °C. 7 mg de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico, forma cristalina A (puede ser preparada como en el Ejemplo 1 o 2), se suspenden en 0.18 g de acetona/agua 95:5 (v/v), se someten a sonicación, y se agregan al reactor. La mezcla se agitó a 20 °C durante 15 horas seguido por enfriamiento hasta 0 °C en 10 min. La suspensión resultante se filtró y la torta del filtro se lavó con 10 g de acetona/agua 95/5 (v/v) a temperatura ambiente.

Ejemplo 6: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}- bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina B

0.536 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden ser preparados como en la Preparación 1) y 0.12 g de ácido succínico se disolvieron en 15.25 g de 2-propanol a 50 °C en un vial de vidrio agitado magnéticamente. La solución se enfrió hasta 20 °C y luego se agitó a esta temperatura durante la noche. La suspensión resultante se filtró.

Ejemplo 7: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}- bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina B

0.535 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}- bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden ser preparados como en la

Preparación 1) y 0,12 g de ácido succínico se disolvieron en 7.27 g de metil etil cetona a 60 ° C en un vial de vidrio agitado magnéticamente. La solución se enfrió hasta 20 ° C y luego se agitó a esta temperatura durante la noche. La suspensión resultante se filtró.

Ejemplo 8: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina C

3 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden ser preparados como en la Preparación 1) se disolvieron en 80.3 g de etanol a 60 ° C en un reactor de vidrio de 100 mL equipado con agitador de ancla (150 rpm). Se agregaron 25 mL de una solución de ácido succínico (2.94% en peso en etanol) a la solución seguido por la adición de 2.5 g agua. La mezcla resultante se enfrió hasta 30 ° C. Se suspendieron 5 mg de cristales de semilla de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}bencenosulfonilamino)-propiónico, forma A (pueden ser preparados usando la preparación del Ejemplo 1 o 2) se suspendieron en 0.1 g de etanol, se sometieron a sonicación, y se agregaron al reactor. La mezcla resultante se agitó durante 96 h (150 rpm). Después, los cristales se recolectaron por filtración. La torta del filtro se secó a 40 ° C y 30 mbar durante 24 horas.

Ejemplo 9: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina C

1 g de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (puede ser preparado como en la Preparación 1) y 0.18 g de ácido succínico se disolvieron en 7.97 g de metanol en un vial de vidrio a 50 ° C. La solución se enfrió hasta 0 ° C y luego se agitó a esa temperatura durante 24 horas. Después, los cristales se recolectaron por filtración y se secaron a 60 ° C y 1 mbar durante 3 horas. Se obtuvieron cristales amarillentos blanquecinos de forma C.

Ejemplo 10: sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico: Preparación de la forma cristalina C

10.1 Preparación de cristales de semilla

En un reactor de 100 ml equipado con un agitador de ancla (150 rpm), condensador, unidad de dosificación y sonda de turbidez, se suspendieron 6 g de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden ser preparados como se muestra en el Ejemplo 1 o 2) en 27 g de una mezcla de acetona/agua (92.5/7.5 m/m). La suspensión se calentó hasta 50 C hasta que se disolvió el material. Se agregaron 40 mg de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (preparados como se muestra en el Ejemplo 9) en 600 mg de acetona, que habían sido sometidos a sonicación durante 5 minutos, y el conjunto se agitó durante 6 horas. Se agregaron 76 ml de EtOAc durante 4 horas y luego la mezcla de reacción se enfrió entonces hasta 25 C durante 2 horas. El precipitado se filtró y se lavó dos veces con 10 ml de acetona y luego se secó a 60 C bajo 10 mbar durante la noche. El sólido resultante fue entonces micronizado usando un molino de chorro en espiral a 5 bar.

10.2 Preparación de la forma cristalina C:

Se cargaron 3 g de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico (pueden prepararse como se muestra en el Ejemplo 1 o 2) en un reactor de 100 ml equipado con un agitador de ancla (150 rpm), condensador, unidad de dosificación y sonda de turbidez. Se agregaron 29.5 g de una mezcla de acetona/agua (92.5/7.5 m/m) y el conjunto se calentó hasta 50 C y se agitó hasta que todo se disolvió. Se agregaron 90 mg de cristales de semilla (véase 10.1) suspendidos en 300 mg de acetona y el conjunto se agitó durante 4 horas. Se agregaron 38 ml de EtOAc durante 4 horas y luego la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas seguido por enfriamiento hasta 25 C durante 2 horas. El conjunto se agitó durante una noche y luego se filtró a través de una frita de vidrio. El sólido obtenido se lavó entonces dos veces con 5 ml de acetona y se secó a 40 ° C con 10 mbar durante 24 horas.

Caracterización de las formas cristalinas de sal de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico:

Todos los patrones de difracción de polvo de rayos X se registraron en el modo de reflexión.

Forma A:

a) Difracción de polvo de rayos X

- 5 a1) Un patrón de difracción de polvo de rayos x se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). El patrón de difracción de rayos X del Ejemplo 3 así determinado se muestra en la figura 1 y representado en la Tabla 1 a continuación por las líneas de reflexión de las líneas más importantes. El límite de error para los ángulos 2-Theta es de $\pm 0.2^\circ$

Tabla 1

Ángulo 2-Theta °	Valor d Angstrom	% de intensidad
3.2	27.79210	100
11.0	8.06447	6
12.7	6.94945	9
14.0	6.30426	14
14.9	5.94212	6
15.3	5.79615	6
15.6	5.69030	6
17.5	5.07298	11
18.8	4.72745	18
19.3	4.59524	61
19.8	4.47594	9
20.1	4.41469	17
20.4	4.35953	16
20.8	4.26419	12
21.5	4.13266	9
22.2	4.00651	17
22.6	3.93512	18
23.1	3.84491	33
24.0	3.70349	8
24.3	3.66068	10
24.7	3.59591	5
25.6	3.47462	9
25.9	3.44221	12
26.1	3.41016	14
26.4	3.37500	8
27.0	3.29534	9
28.3	3.15131	7
29.0	3.07534	6

Ángulo 2-Theta °	Valor d Angstrom	% de intensidad
30.5	2.93136	16
32.8	2.72599	11
33.8	2.64794	6
34.7	2.58032	8
35.6	2.52249	6
36.7	2.44894	6
38.7	2.32439	5
39.2	2.29807	6

a2) Un patrón de difracción de polvo de rayos x se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α ($\lambda = 1.5418$ Å). El patrón de difracción de rayos X determinado así para el Ejemplo 1 o 2 se muestra en la Figura 4 y representado en la Tabla 2 a continuación por las líneas de reflexión de las líneas más importantes. El límite de error para los ángulos 2-Theta es $\pm 0.2^\circ$.

5

Tabla 2

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]
3.2	27.82660
10.9	8.08104
12.7	6.96126
14.0	6.31327
14.9	5.94185
15.3	5.80195
15.5	5.69596
17.2	5.13947
17.5	5.07677
18.7	4.73387
19.3	4.60047
19.8	4.47276
20.1	4.41948
20.3	4.36135
20.8	4.26679
21.5	4.13483
22.2	4.00989
22.6	3.93071
23.1	3.84729
24.0	3.70743
24.2	3.67477
24.7	3.59652
25.6	3.47835
26.1	3.41096

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]
26.4	3.37922
27.0	3.29646
27.7	3.21774
28.5	3.13361
29.0	3.07785
30.5	2.93279
31.8	2.80895
32.8	2.72626
33.8	2.64887
34.7	2.58155
35.5	2.52537
36.3	2.47491
36.7	2.44931
37.1	2.41984
37.5	2.39660
38.2	2.35582
38.7	2.32643
39.2	2.29792

b) Análisis elemental:

Contenido de agua (titulación de Karl Fischer): < 0.2% m/m

Tabla 3

Elemento	Contenido teórico [% m/m]	Contenido medido [% m/m]
C	48.65	48.19
H	5.64	5.18
N	16.69	16.66
S	3.82	3.62
O	20.97	21.04
Cl	4.22	4.18

5

Los datos experimentales corresponden a las expectativas para una sal 1:1 formada por dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8-carbonil}-bencenosulfonilamino)-propiónico y ácido succínico.

c) Calorimetría diferencial de barrido (DSC):

10 Las trazas de DSC se registraron en un instrumento Perkin Elmer Diamond DSC con bandeja de aluminio (Perkin Elmer, tipo BO14-3018); rata de calentamiento 20 K/min, rango de temperatura: 30 a 250°C.

La figura 2 muestra la traza de DSC de la Forma A. Endoterma de fusión: $T_{\text{comienzo}} = 153.6^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 76.8 \text{ J/g}$.

La figura 5 muestra la traza de DSC de la Forma A. Endoterma de fusión: $T_{\text{comienzo}} = 152.5^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 74.5 \text{ J/g}$.

c) Espectroscopia infrarroja:

La Figura 3 muestra un espectro infrarrojo de la Forma A (Ejemplo 3) y se registró en un instrumento Bruker Alfa en el modo de reflexión total atenuada (ATR). Los parámetros de medición fueron los siguientes: Rango de 400-4000 cm^{-1} , resolución de 2 cm^{-1} , 64 barridos, velocidad de 7.5 kHz, Apodización: Blackman-Harris 3 términos. Los principales picos identificados son 1621.5 cm^{-1} , 1157.5 cm^{-1} y 1080.7 cm^{-1} .

Forma B:

Difracción de polvo de rayos X:

se registró un patrón de difracción de polvo de rayos x en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). El patrón de difracción de rayos X así determinado se muestra en la Figura 6 y se representa en la Tabla 4 a continuación por las líneas de reflexión de las líneas más importantes. El límite de error para los ángulos 2-Theta es $\pm 0.2^\circ$.

Tabla 4

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]
2.8	32.09854
8.3	10.59553
13.6	6.49500
14.2	6.23951
15.5	5.72854
15.7	5.63078
16.1	5.50272
16.9	5.24177
17.6	5.04506
18.0	4.92061
18.7	4.73737
19.7	4.50303
20.2	4.40277
20.5	4.33829
21.2	4.18182
21.6	4.10919
22.5	3.94329
23.2	3.83322
23.7	3.75003
24.8	3.58412
25.4	3.50000
25.8	3.44564
26.4	3.37345
27.3	3.26453
28.2	3.16479
31.0	2.88279
31.3	2.85617
33.3	2.68916

Forma C:

a)

Difracción de polvo de rayos X:

- 5 a1) Un patrón de difracción de polvo de rayos x se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). El patrón de difracción de rayos X así determinado se muestra en la figura 7 y se representa en la Tabla 5 a continuación mediante las líneas de reflexión de las líneas más importantes. El límite de error para los ángulos 2-Theta es $\pm 0.2^\circ$.

Tabla 5

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]	% de intensidad
3.4	25.63821	16
7.0	12.69761	61
9.3	9.45442	17
10.6	8.36462	45
12.7	6.97632	15
14.3	6.20119	39
14.5	6.10371	11
15.4	5.76664	26
15.6	5.68512	14
16.8	5.27680	19
18.2	4.88346	100
18.6	4.77927	67
19.2	4.61365	67
19.8	4.47997	49
20.5	4.32842	49
21.2	4.19093	79
21.8	4.06888	72
22.3	3.99197	30
22.6	3.93139	41
23.2	3.83169	18
23.6	3.76768	32
23.8	3.73715	26
24.4	3.64553	32
24.7	3.60619	75
26.1	3.40836	29
26.4	3.37439	23
26.9	3.31671	18
27.6	3.22842	25
28.1	3.16770	26
29.0	3.07492	31
29.6	3.01427	19

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]	% de intensidad
30.0	2.98012	15
30.4	2.93806	15
30.8	2.89914	13
31.2	2.86666	15
31.5	2.83584	38
32.2	2.78121	15
32.4	2.75849	16
33.1	2.70052	26
33.8	2.64895	19
34.2	2.61820	29

a2) Un patrón de difracción de polvo de rayos x se registró en un difractómetro Bruker™ D8 usando radiación CuK α ($\lambda = 1.5418$ Å). El patrón de difracción de rayos X determinado así para el Ejemplo 8 o 9 se muestra en la figura 10 y representado en Tabla 6 a continuación por las líneas de reflexión de las líneas más importantes. El límite de error para los ángulos 2-Theta es $\pm 0.2^\circ$.

5

Tabla 6

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]
7.0	12.64950
9.4	9.44289
10.6	8.35316
12.7	6.98042
14.3	6.19896
14.5	6.08572
15.0	5.91215
15.4	5.76129
15.6	5.68308
16.8	5.27666
18.2	4.88072
18.5	4.78186
19.2	4.61134
19.8	4.48061
20.5	4.32621
21.3	4.17380
21.8	4.06826
22.3	3.99094
22.6	3.93062
23.2	3.83089
23.6	3.76587
23.8	3.73401

Ángulo [2-Theta°]	Valor d [Angstrom]
24.4	3.65154
24.7	3.60556
25.1	3.54637
26.1	3.40771
26.4	3.37293
26.9	3.31662
27.5	3.23528
28.1	3.17371
29.0	3.07575
29.6	3.01577
30.0	2.98083
30.4	2.93867
30.8	2.89669
31.2	2.86750
31.5	2.83511
32.1	2.78434
32.4	2.76064
33.1	2.70033
33.8	2.65117
34.2	2.61749

La temperatura en el laboratorio durante el registro de los datos de XRD varía entre 21 y 26 ° C.

b) Calorimetría diferencial de barrido (DSC):

5 Las trazas de DSC se registraron en un instrumento Perkin Elmer Diamond DSC con bandeja de aluminio (Perkin Elmer, tipo BO14-3018); rata de calentamiento 20 K/min, rango de temperatura: 30 a 250°C.

La Figura 8 muestra la traza DSC de la Forma C (Ejemplo 10). Endoterma de fusión: $T_{\text{comienzo}} = 165.7^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 102.2$ J/g.

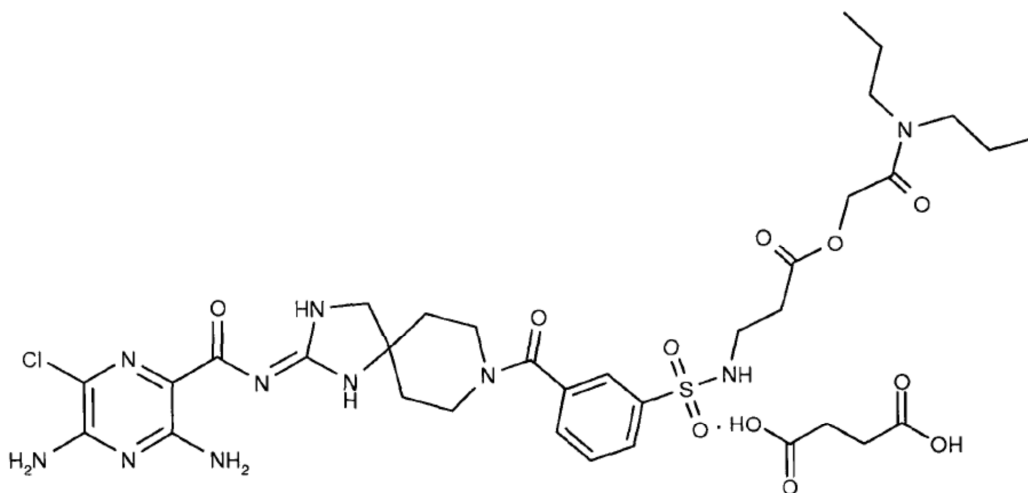
La Figura 11 muestra la traza DSC de la Forma C (Ejemplo 8, 9). Endoterma de fusión: $T_{\text{comienzo}} = 159.7^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 91.8$ J/g.

10 c) Espectroscopia infrarroja:

La Figura 9 muestra un espectro infrarrojo de la Forma C (Ejemplo 10) y se registró en un instrumento Bruker Alfa en el modo de reflexión total atenuada (ATR). Los parámetros de medición fueron los siguientes: Rango de 400-4000 cm^{-1} , resolución de 2 cm^{-1} , 64 barridos, velocidad de 7.5 kHz, Apodización: Blackman-Harris 3 términos. Los principales picos identificados son 1626.5 cm^{-1} , 1155 cm^{-1} y 1084.7 cm^{-1} .

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina de succinato de dipropilcarbamoilmetil éster de ácido 3-(3-{2-[(E)-3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilimino]-1,3,8-triaza-espiro[4.5]decano-8- carbonil]-bencenosulfonilamino)-propiónico de fórmula



- 5 que comprende la Forma C, en donde dicha forma C está en forma sustancialmente pura, que se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos x que comprende cuatro o más valores de 2-theta seleccionados del grupo de $7.0^{\circ} \pm 0.2$, $10.6^{\circ} \pm 0.2$, $14.3^{\circ} \pm 0.2$, $18.2^{\circ} \pm 0.2$, $18.6^{\circ} \pm 0.2$, $19.2^{\circ} \pm 0.2$, $21.2^{\circ} \pm 0.2$, $21.8^{\circ} \pm 0.2$, $24.7^{\circ} \pm 0.2$, $29.0^{\circ} \pm 0.2$ y $31.5^{\circ} \pm 0.2$ a una temperatura de $21-26^{\circ}\text{C}$.
- 10 2. La forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque un patrón de difracción de polvo de rayos x que comprende seis o más valores de 2-theta seleccionados del grupo de $7.0^{\circ} \pm 0.2$, $10.6^{\circ} \pm 0.2$, $14.3^{\circ} \pm 0.2$, $18.2^{\circ} \pm 0.2$, $18.6^{\circ} \pm 0.2$, $19.2^{\circ} \pm 0.2$, $21.2^{\circ} \pm 0.2$, $21.8^{\circ} \pm 0.2$, $24.7-60.2$, $29.0^{\circ} \pm 0.2$ y $31.5^{\circ} \pm 0.2$ a una temperatura de $21-26^{\circ}\text{C}$.
3. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el espectro de difracción de polvo de rayos x es sustancialmente el mismo que el espectro de difracción de polvo de rayos x mostrado en la Figura 7.
- 15 4. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el termograma de calorimetría diferencial de barrido es sustancialmente el mismo que el mostrado en la Figura 8.
5. Una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 20 6. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales.
7. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, que está en forma inhalable.
8. Una forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en el tratamiento de enfermedades respiratorias, tales como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; viral y bacteriana) y carcinoma de pulmón.
- 25 9. Uso de una forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades respiratorias, tales como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, las infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; viral y bacterianas) y carcinoma de pulmón.
- 30 10. Un dispositivo de inhalación que contiene y está adaptado para suministrar una forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 mediante la administración pulmonar.

Figura 1

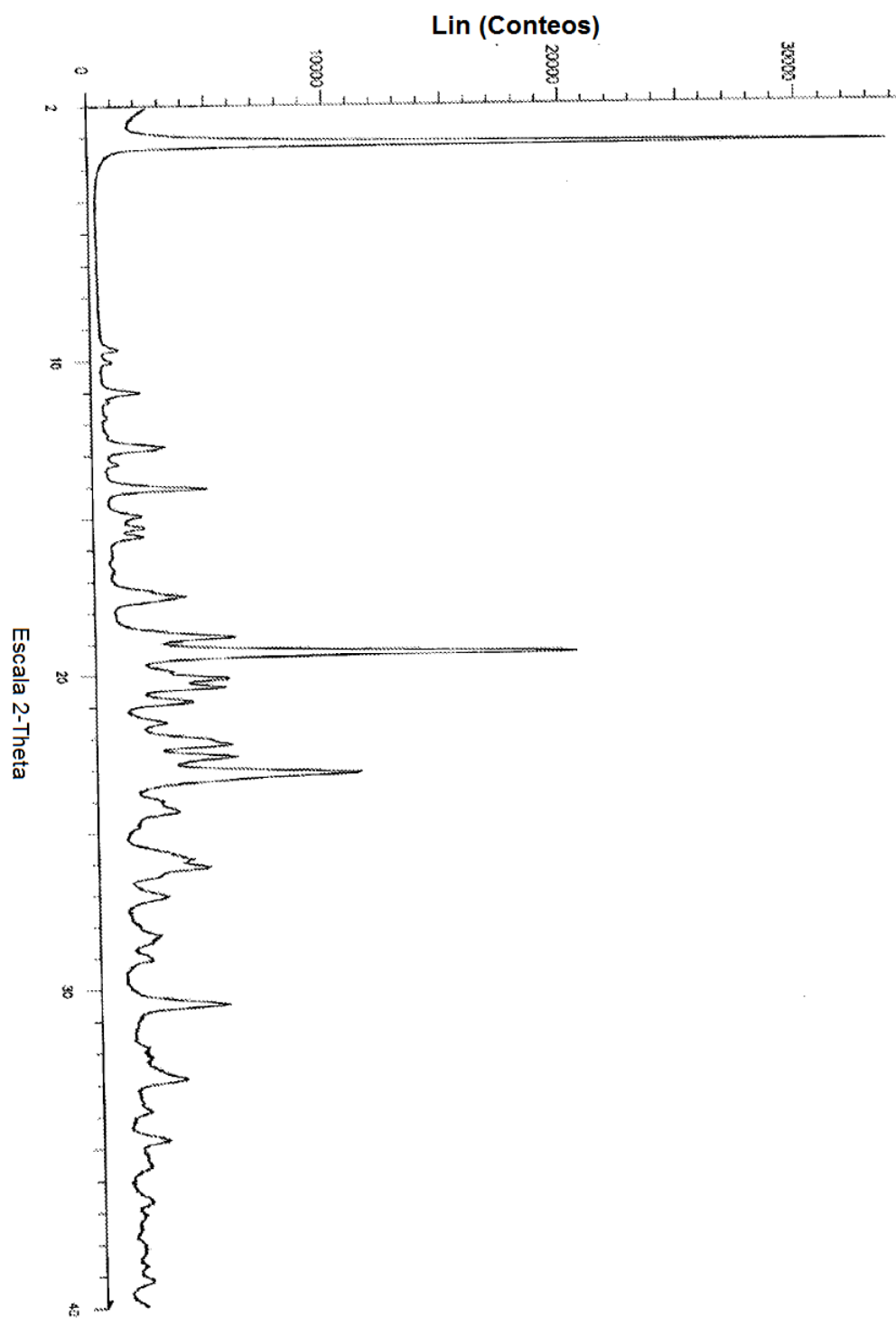


Figura 2

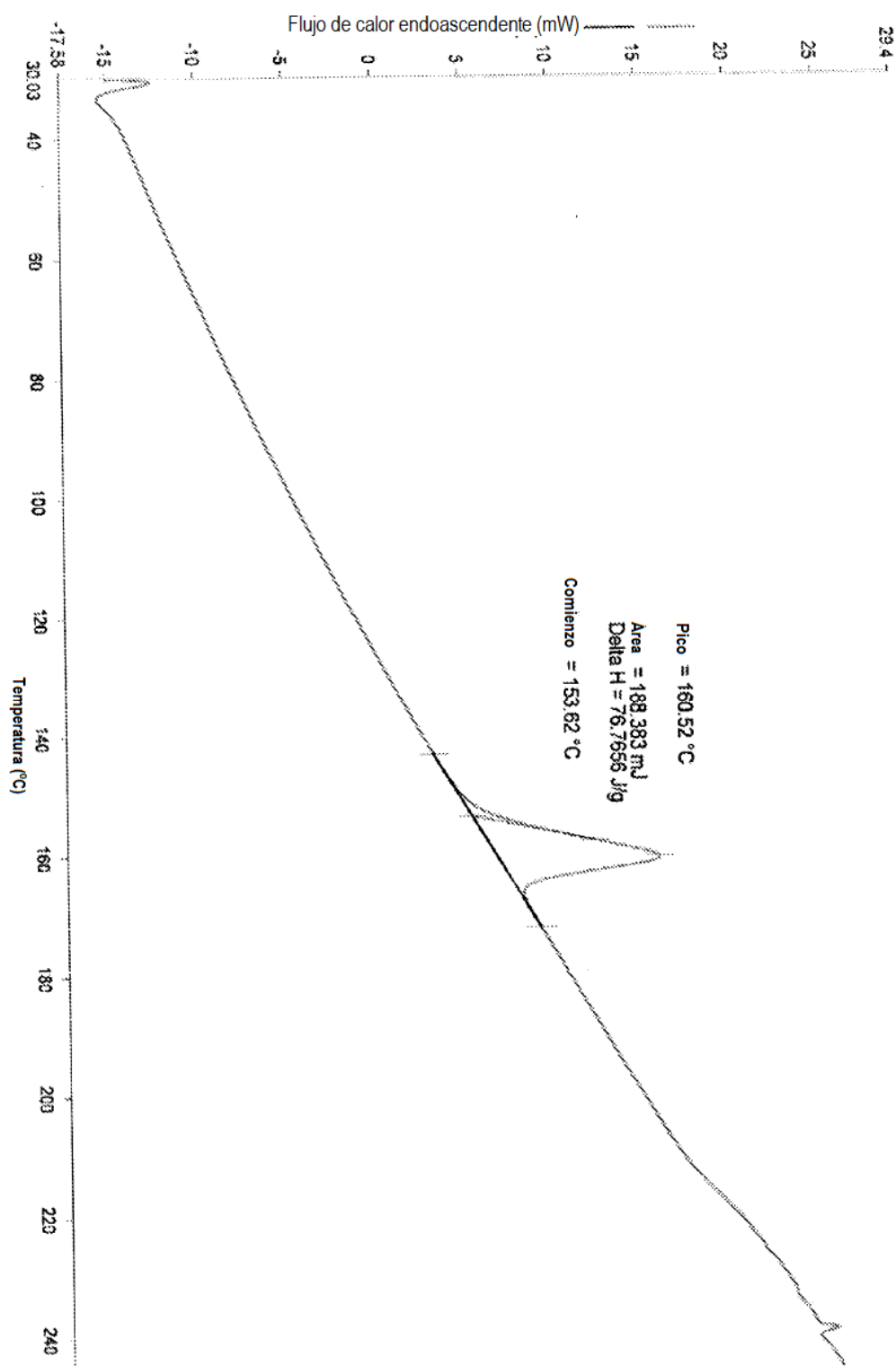


Figura 3

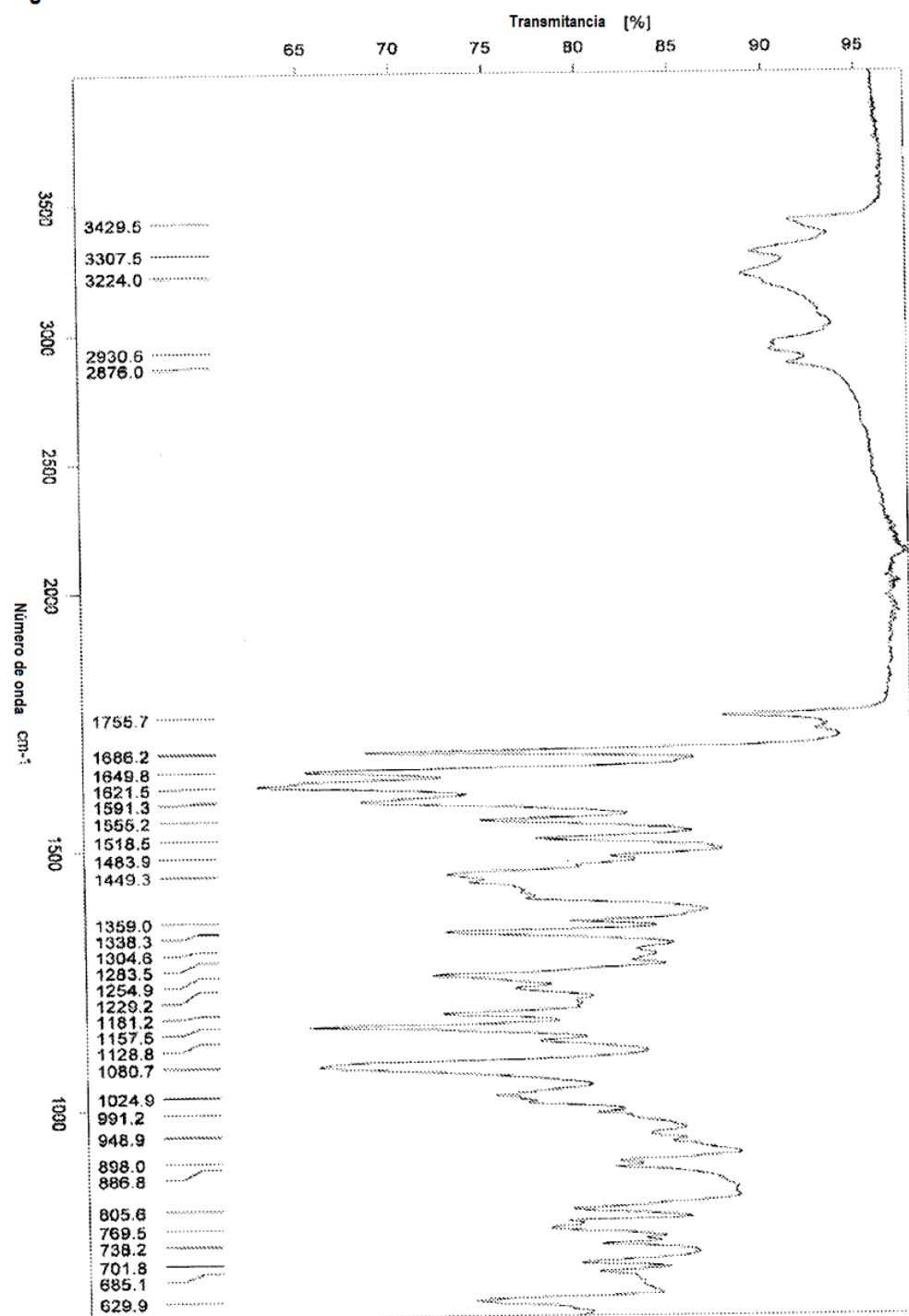


Figura 4

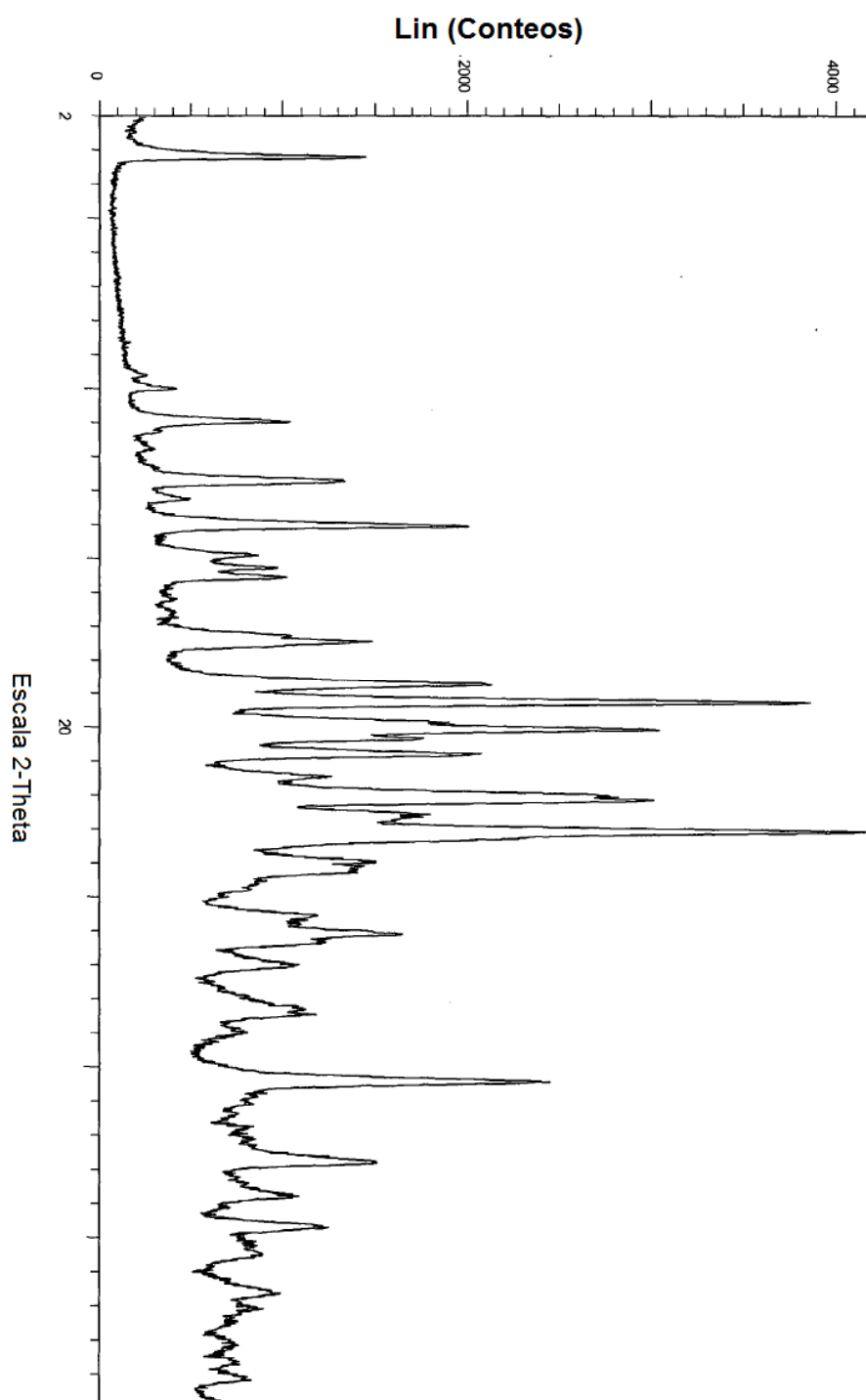


Figura 5

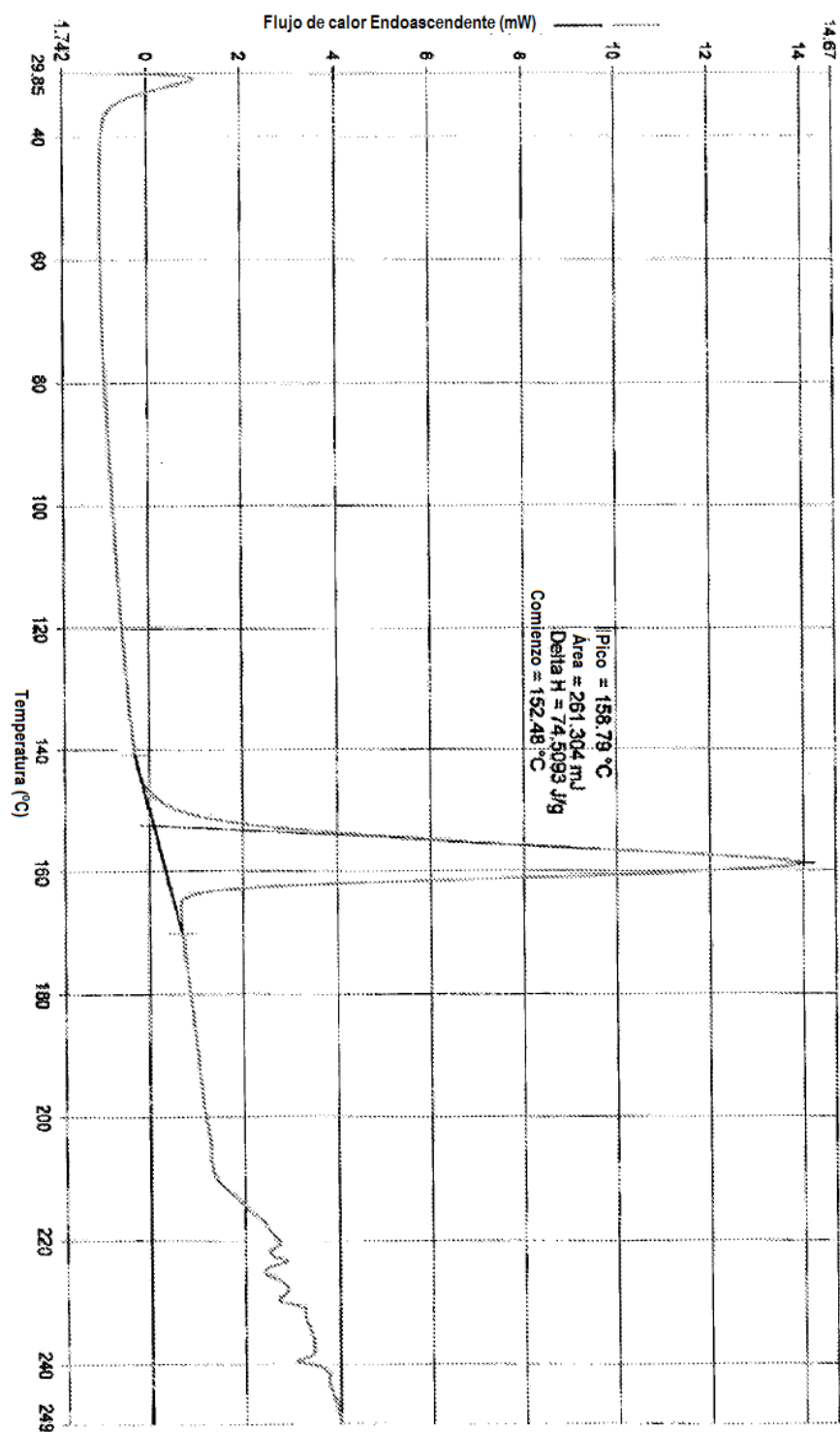


Figura 6

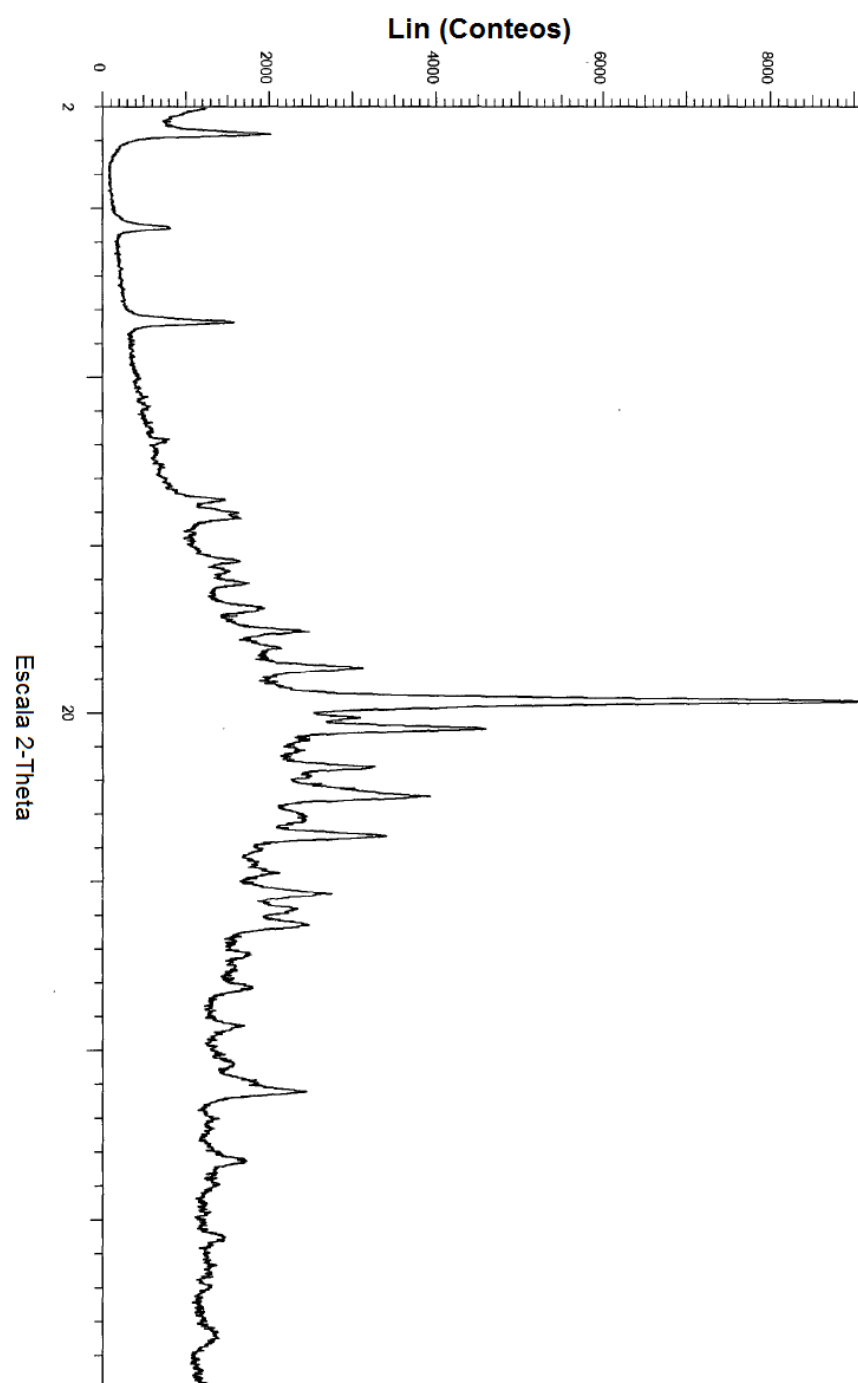


Figura 7

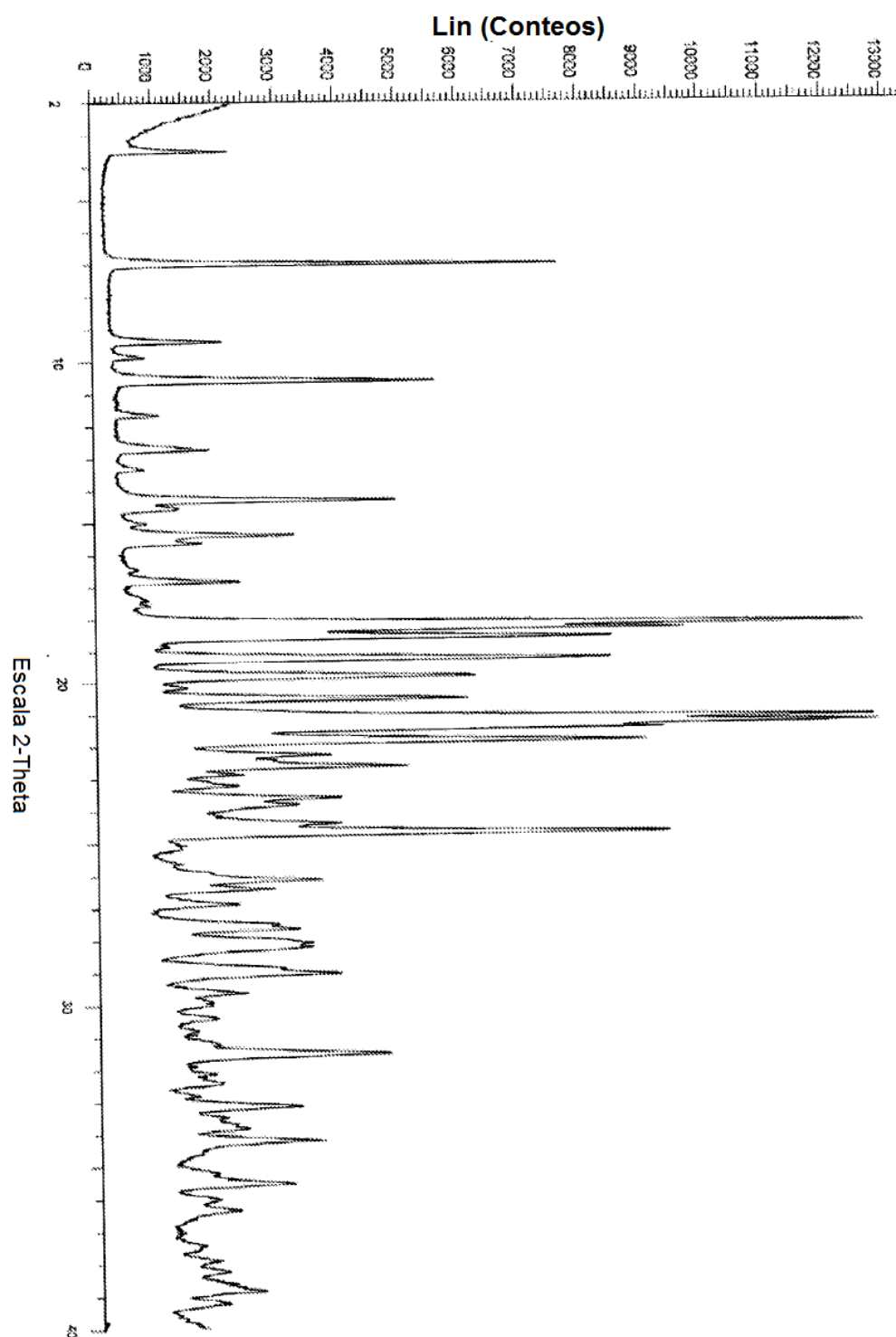


Figura 8

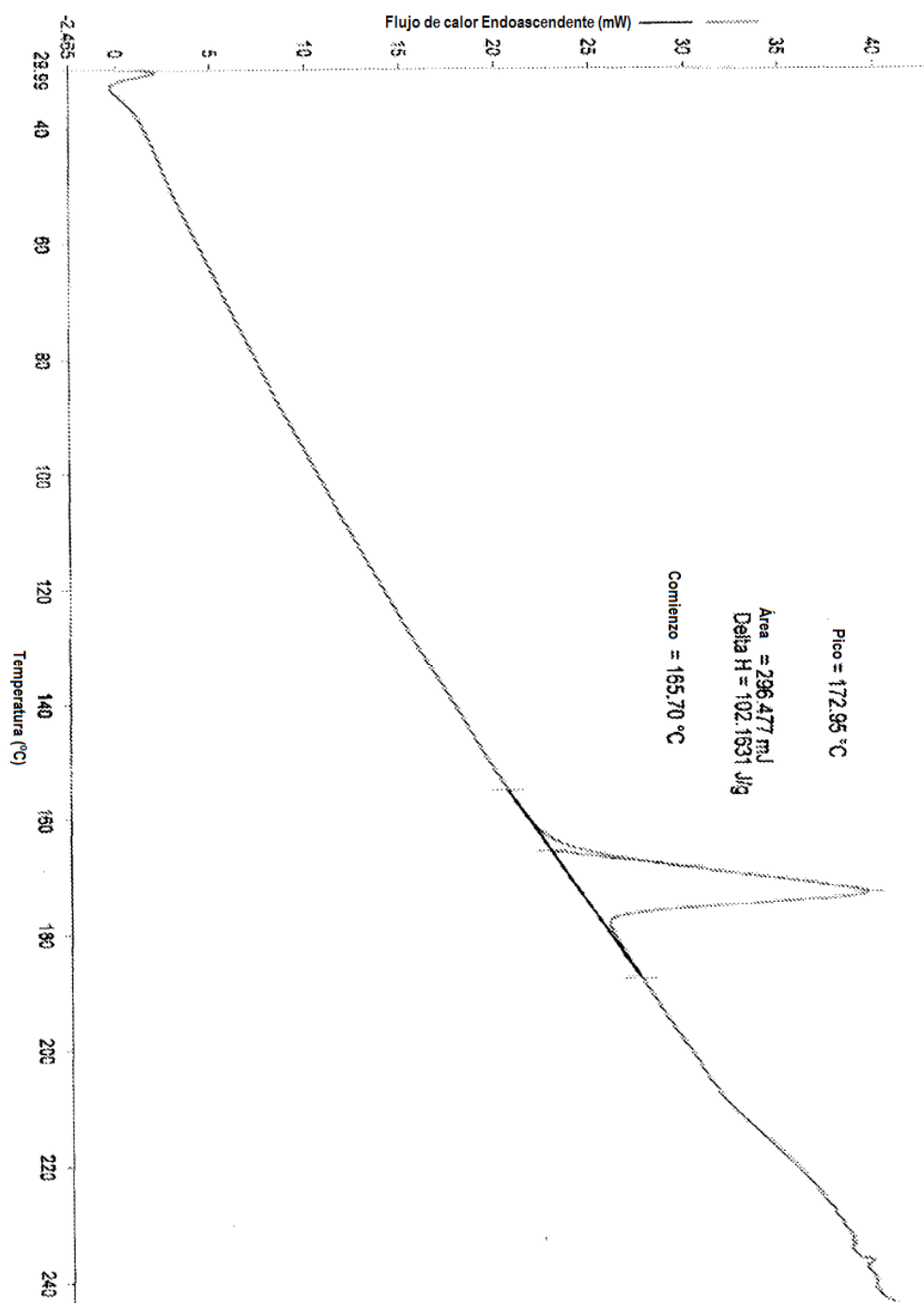


Figura 9

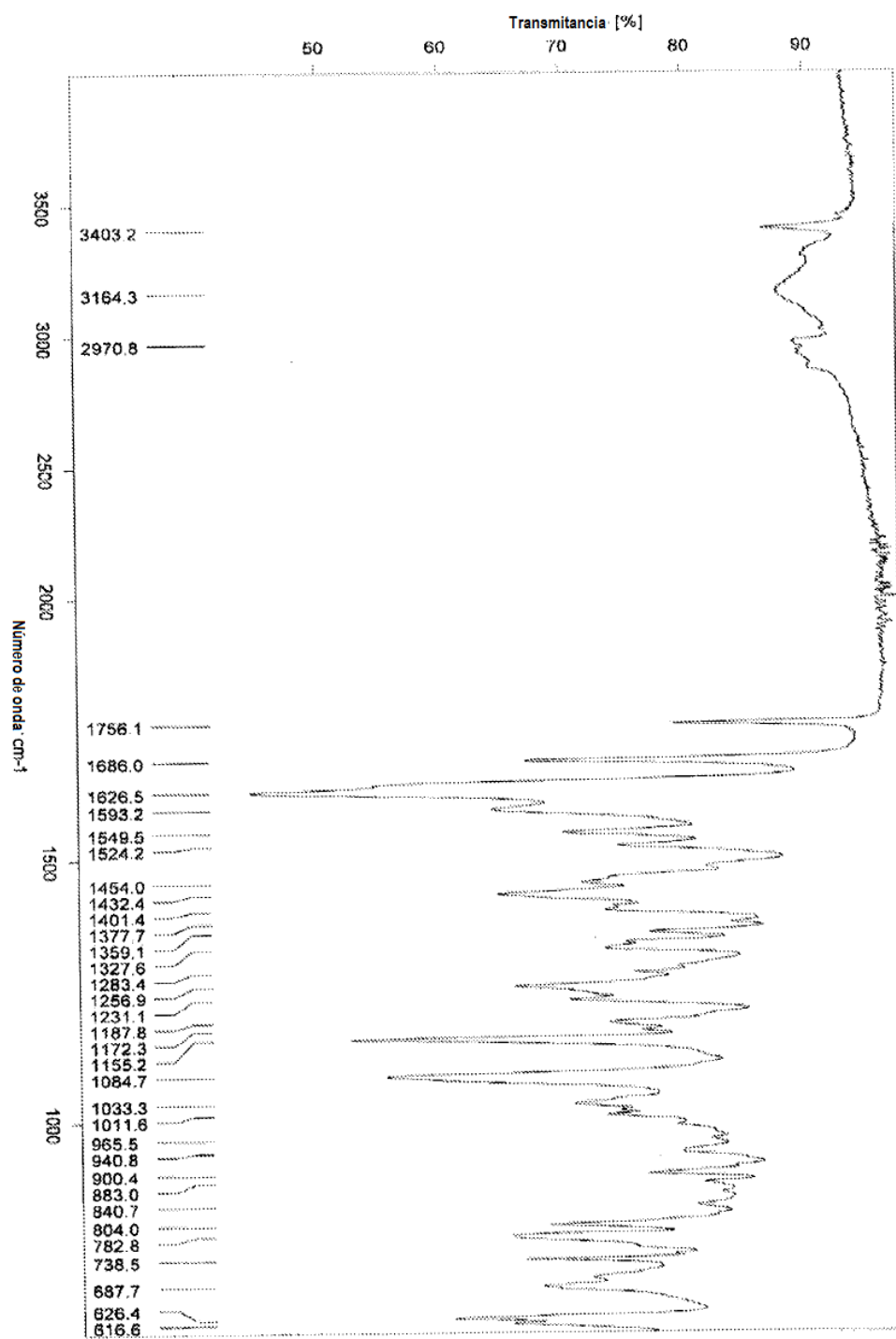


Figura 10

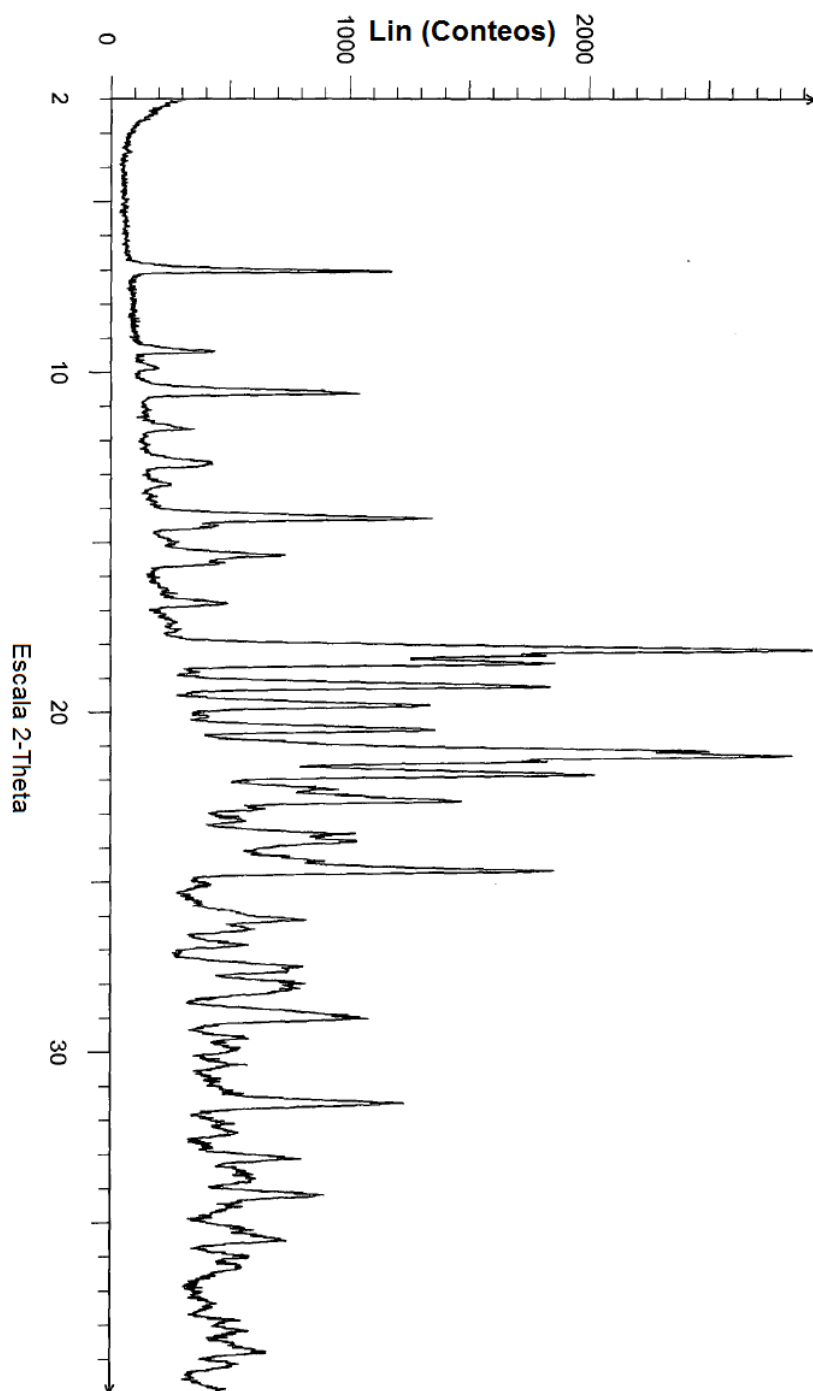


Figura 11

