



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 9611229-8 B1

(22) Data do Depósito: 23/10/1996

(45) Data de Concessão: 12/09/2017



(54) Título: FORMA POLIMÓRFICA DO COMPOSTO METANOSSULFONATO DE N-[1(R)-[(1,2-DI-HIDRO-1-METANOSSULFONIL ESPIRO[3H-INDOL-3,4'-PIPERDIN] 1L'-IL)-CARBONIL]-2-(FENILMETIL-OXI) ETIL]-2-AMINO-2-METILPROPANAMIDA E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(51) Int.Cl.: C07D 471/10; A61K 31/445

(30) Prioridade Unionista: 16/02/1996 GB 9603361.8, 27/10/1995 US 60/005900

(73) Titular(es): MERCK SHARP & DOHME CORP.

(72) Inventor(es): JEROME P. DRAPER; DAVID C. DUBOST; MICHAEL J. KAUFMAN; JAMES A. MCCAULEY; JENNIFER L. VANDRILLA; RICHARD J. VARSOLONA

"FORMA POLIMÓRFICA DO COMPOSTO METANOSSULFONATO DE N-[1(R)-(1,2-DI-HIDRO-1-METANOSSULFONIL ESPIRO[3H-INDOL-3,4'-PIPERDIN] 1'-IL)-CARBONIL]-2-(FENILMETIL-OXI) ETIL]-2-AMINO-2-METILPROPANAMIDA E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA".

5 ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Hormônio de crescimento, que é secretado da pituitária, estimula o crescimento de todos os tecidos do corpo que são capazes de crescer. Além disso, o hormônio de crescimento é

10 conhecido como tendo os seguintes efeitos básicos nos processos metabólicos do corpo: (1) aumentada taxa de síntese de proteína em todas as células do corpo; (2) diminuída taxa de utilização de carboidratos em células do corpo; (3) aumentada mobilização dos ácidos graxos livres e uso de ácidos graxos para energia. Uma

15 deficiência em secreção de hormônio de crescimento pode resultar em vários distúrbios médicos, como ananismo.

São conhecidas diversas maneiras para liberar o hormônio de crescimento. Por exemplo, substâncias químicas tais como arginina, L-3,4-di-hidroxifenil-alanina (L-DOPA), glucagona, vasopressina, e hipoglicemia induzida por insulina, assim como

20 atividades tais como dormir e se exercitar, indiretamente fazem com que o hormônio de crescimento seja liberado da pituitária por atuação em algum modo em hipotálamo talvez ou para diminuir a secreção de somatostatina ou para aumentar a secreção do fator de

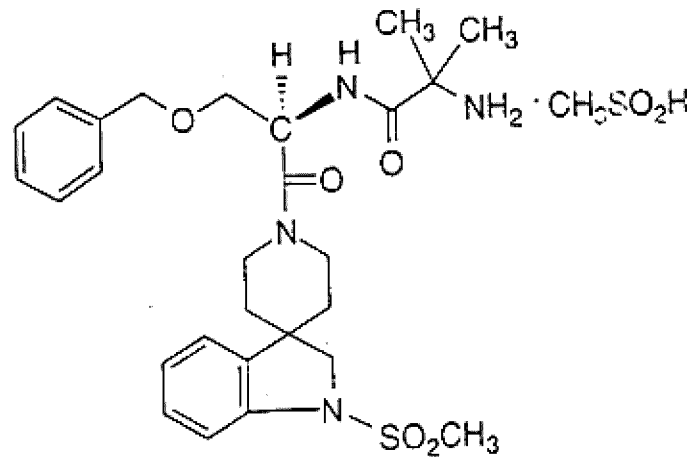
25 liberação de hormônio de crescimento secretagogo conhecido (GRF) ou um hormônio de liberação

de hormônio de crescimento endógeno desconhecido ou todos destes.

Nos casos onde os níveis aumentados de hormônio de crescimento serem desejados, o problema foi geralmente resolvido ao prover hormônio de crescimento exógeno ou por administração de GRF ou um composto peptídeo que estimula a produção de hormônio de crescimento e/ou liberação. Em ambos os casos, a natureza peptídica de composto necessitou que fosse administrado por injeção. Inicialmente, a fonte de hormônio de crescimento foi a extração de glândulas pituitárias de cadáveres. Isto resultou em um produto muito caro e com o risco que uma doença associada com a fonte de glândula pituitária poderia ser transmitida ao recipiente do hormônio de crescimento. O hormônio de crescimento recombinante se tornou disponível que, sem transportar mais qualquer risco de transmissão de doença, é ainda um produto muito caro que deve ser dado por injeção ou por pulverização nasal. Outros compostos foram desenvolvidos que estimulam a liberação de hormônio de crescimento endógeno.

Em particular, alguns compostos espiro são descritos na patente US 5 536 716, publicação de patente PCR WO 94/ 13696 e Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 7001-7005, (julho 1995), como sendo secretagogos de hormônio de crescimento não peptídeo. Estes compostos tem a capacidade de estimular a liberação de hormônio de crescimento endógeno ou natural e assim pode ser usado para tratar condições que requerem o estímulo de produção de hormônio de crescimento ou secreção como em humanos com uma deficiência de hormônio de crescimento natural ou em animais usados para produção de alimento ou lã, onde o estímulo do hormônio de crescimento irá resultar em um animal maior, mais produtivo.

Dentre os compostos preferidos descritos aqui está metanossulfonato de espiro[3H-indol-3,4'-piperidin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi)etil] -2- amino-2-metilpropanamida que tem a estrutura:



A patente US 5 536 716 e publicação de patente PCT WO 94/13696 descreve processos para preparar este composto (ver exemplos 18, 19 e 55). Em particular, exemplo 55 afirma que o composto preparado por recristalização de acetato de etila-etanol-água tinha um ponto de fusão de "166-168°C". Este composto foi subsequentemente identificado como sendo a forma polimórfica projetada "Forma II" aqui. Proc Natl. Acad. Sci. USA, 92, 7001-7005, julho 1995) nota que o composto isolado como um monoidrato tinha um ponto de fusão de 168-170°C, mas somente descreve processos muitos gerais para preparar o composto e não descreve como o composto foi cristalizado.

As formas morfológicas de compostos farmacêuticos podem ser de interesse para os envolvidos no desenvolvimento de uma forma de dosagem apropriada porque esta forma morfológica não é mantida constante durante estudos clínicos e de estabilidade, a dosagem usada exata ou medida pode não ser comparável de um lote para o próximo. Uma vez que o composto farmacêutico é produzido para uso, é importante reconhecer a forma morfológica liberada em cada forma de dosagem para assegurar que o processo de produção usa a mesma forma e que a mesma quantidade de droga é incluída em cada dosagem. Assim, é imperativo assegurar que ou uma forma morfológica única ou alguma combinação conhecida de formas morfológicas está presente. Além disso, algumas formas morfológicas podem demonstrar

melhorada estabilidade termodinâmica ou hidrocópica e pode ser mais apropriada do que outras formas morfológicas para inclusão de formulações farmacêuticas. Como usado aqui, uma "forma polimórfica" de um composto químico é de mesma entidade química, mas em uma disposição cristalina diferente.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção é referida com formas polimórficas de composto: metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida, assim como processos para a preparação destas formas polimórficas.

A presente invenção é também referida com formulações farmacêuticas compreendendo estas formas polimórficas como um ingrediente ativo e o uso destas formas polimórficas e suas formulações no tratamento de alguns distúrbios.

As formas polimórficas desta invenção são secretagogos de hormônio de crescimento que são utilizáveis em animais alimentícios para promover seu crescimento, assim tornando a produção de produtos de carne comestíveis mais eficientes, e em humanos, para tratar condições fisiológicas ou médicas, caracterizadas por uma deficiência em secreção de hormônio de crescimento, e para tratar condições médicas que são melhoradas pelos efeitos anabólicos de hormônio de crescimento.

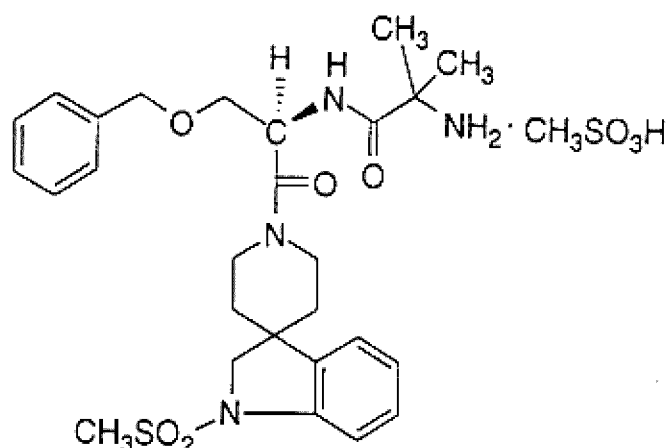
Estas formas polimórficas tem vantagens sobre outras formas conhecidas de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em termos de estabilidade termodinâmica e apropriabilidade para inclusão em formulações farmacêuticas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a novas formas polimórficas de

composto metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida e os processos para a preparação destas formas polimórficas.

5 O composto N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida tem a estrutura:



10 e é um secretagogo de hormônio de crescimento que induz a liberação de hormônio de crescimento em humanos e animais. Esta propriedade pode ser usada para promover o crescimento de animais alimentícios para tornar a produção de produtos de carne comestíveis mais eficiente, e em humanos, para tratar condições fisiológicas ou médicas, caracterizadas por uma deficiência em secreção de hormônio de crescimento, e para tratar condições médicas que são melhoradas pelos efeitos anabólicos de hormônio de crescimento.

15 Estas formas polimórficas particulares (aqui designadas "Forma I", "Forma II", "Forma III", "Forma IV", "Forma V", "Forma VI", "Forma VII", "Forma VIII", "Forma IX", "Forma X") tem propriedades superiores sobre outras formas cristalinas do composto em que eles são mais apropriados para inclusão em formulações farmacêuticas. Uma forma cristalina preferida para desenvolvimento farmacêutico é Forma I com base em sua estabilidade termodinâmica e propriedades não higroscópicas. Outra forma cristalina

20

preferida para desenvolvimento farmacêutico é forma IV com base em suas propriedades de formulação, particularmente com relação a compressão para preparação de comprimidos. A forma IV foi verificada como tendo uma maior densidade em bruto do que outras formas.

5 A presente invenção é também referida com um processo para a preparação de forma I de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende

10 tratar uma solução de base livre de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em acetato de etila contendo etanol (cerca de 8 % em volume) com ácido metanossulfônico (cerca de 1,1 equivalentes) em aproximadamente 50°C, aquecendo a aproximadamente 55°C , e resfriando a aproximadamente 45°C.

15 Opcionalmente, a temperatura subseqüentemente pode ser elevada a aproximadamente 51°C, onde é mantida durante 2-24 h.

A presente invenção é ainda referida com um processo alternado para a preparação de forma I de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

20 alternativamente adicionar a uma solução de base livre de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em acetato de etila contendo etanol (cerca de 8% em volume) em aproximadamente 50-55°C, ácido metanossulfônico (cerca de 1,1 equivalentes) e

25 forma I de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida (em que a ordem relativa de adição não é crítica),

seguido por aquecimento em aproximadamente 55°C durante

aproximadamente 2-15 horas, resfriando a aproximadamente 25-30°C, e envelhecendo durante aproximadamente 2-3 horas.

A presente invenção é ainda referida com um processo alternado para a preparação de forma I de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-
5 metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

agitar uma solução de forma II de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-
metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em isopropanol em aproximadamente
10 25°C durante cerca de 2-24 horas.

A presente invenção é também referida com um processo para a preparação de forma II de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

15 tratar uma solução de base livre de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em acetato de etila contendo etanol (cerca de 8% em volume) com ácido metanossulfônico (cerca de 1,1 equivalentes) em aproximadamente 50°C, aquecendo a aproximadamente 55°C
20 , e resfriando em temperatura ambiente.

A presente invenção é ainda referida com um processo para a preparação de forma IV de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende

25 dissolver N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida de composição morfológica opcional em uma solução de etanol/água (preferivelmente 25:75 v/v),

evaporar o solvente da solução, preferivelmente em uma

temperatura de 40°C,

triturar o sólido resultante em um pó fino, e

expor o pó fino a uma umidade relativa de aproximadamente 75%.

5 A presente invenção é ainda referida com um processo alternado para a preparação de Forma IV de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

10 - recristalização de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida de composição morfológica opcional de uma solução de acetato de etila /etanol/ água (preferivelmente 24,8/1,6/1,95 v/v/v).

15 A presente invenção é ainda referida com um processo alternativo para a preparação de forma IV de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

20 expor Forma I de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em uma umidade relativa de mais de cerca de 75%, mais preferivelmente uma umidade relativa de cerca de 88%, em temperatura ambiente, durante um tempo suficiente.

25 A presente invenção é ainda referida com um processo alternado para a preparação de forma IV de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

isolar de uma suspensão de forma I de metanossulfonato de N-

[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em acetato de isopropila/ etanol (90:10 v/v) contendo aproximadamente 2,8 por cento em peso de aproximadamente 25°C.

5 A presente invenção é ainda referida com um processo para a preparação de forma V de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende

10 expor forma IV de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em abaixo de 30% de umidade relativa em temperatura ambiente.

15 A presente invenção é ainda referida com um processo para a preparação de forma VI de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

20 secar a forma V de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em ausência de umidade em aproximadamente temperatura ambiente, como sob uma atmosfera de nitrogênio seco em peneira em aproximadamente 25°C.

25 A presente invenção é ainda referida a um processo para a preparação de forma VII de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

isolar de uma suspensão de forma I ou forma IV de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em acetato de isopropila/ etanol (90/10 v/v) contendo

aproximadamente 1,5 por cento em peso de água.

A presente invenção é ainda referida com um processo para a preparação de forma VIII de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

desidratar forma VII de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida sob um gás inerte seco, como nitrogênio seco, por um tempo suficiente.

A presente invenção é ainda referida com um processo para a preparação de forma IX de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

preparar uma solução de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida de composição morfológica opcional, em água, seguido por isolamento do sólido formado por evaporação controlada de 20% de umidade relativa em aproximadamente temperatura ambiente.

A presente invenção é ainda referida com um processo para a preparação de forma X de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende

secar forma IX de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em temperatura ambiente e umidade durante um tempo suficiente.

A presente invenção é ainda referida com um processo alternado para a preparação de forma X de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-

di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que compreende:

5 expor forma I de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida a umidade relativa de 100% durante aproximadamente 1 a 4 dias.

10 Similarmente, a presente invenção é também dirigida a um processo para a preparação de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida morfologicamente homogêneo compreendendo qualquer um dos processos aqui mencionados.

15 Os compostos desta invenção, as novas formas polimórficas de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida são secretagogos de hormônio de crescimento que são utilizáveis em animais alimentícios para promover seu crescimento assim tornando a produção de produtos de carne comestíveis mais eficientes e em humanos, para tratar condições fisiológicas ou médicas caracterizadas por uma deficiência em secreção de hormônio de crescimento, e para tratar condições 20 médicas que são melhoradas pelos efeitos anabólicos de hormônio de crescimento. Consequentemente, a presente invenção é ainda referida com formulações farmacêuticas compreendendo uma forma polimórfica como um ingrediente ativo, e o uso desta forma polimórfica e suas formulações no tratamento de alguns distúrbios.

25 Célula calorimétrica de varredura diferencial (DSC)

A curva DSC para Forma I de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida a 10°C /min em um copo aberto sob fluxo de nitrogênio demonstra uma única endoterma,

devido à fusão, com uma temperatura de pico de cerca de 180°C, e uma temperatura de início extrapolada (ponto de fusão) de cerca de 170°C com um calor associado de aproximadamente 53 J/g.

A curva DSC para Forma II de metanossulfonato de N-[1 (R)-
5 [(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)-
carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida a 10°C /min
em um copo aberto sob fluxo de nitrogênio demonstra uma única endoterma,
devido à fusão, com uma temperatura de pico de cerca de 174°C e uma
temperatura de início extrapolada (ponto de fusão) de cerca de 165°C com
10 um calor associado de aproximadamente 37 J/g.

A curva DSC de Forma IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-
[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)-
carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida a 10°C/ min
em um copo aberto sob fluxo de nitrogênio demonstra uma endoterma de perda
15 de água a cerca de 45°C seguido por uma endoterma com uma temperatura de
pico de cerca de 134°C e uma temperatura de início extrapolada (ponto de
fusão) de cerca de 129°C , devido à fusão de forma VI com um calor
associado de aproximadamente 23 J/g.

Dados DSC (amostras são aquecidas a uma taxa de 10°C /min
20 sob uma atmosfera de nitrogênio (temperatura de início extrapolada):

Forma I: 170°C (endoterma de fusão)

Forma II: 165°C (endoterma de fusão)

Forma VI: 129°C (endoterma de fusão)

Forma I de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-
25 metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-
(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é um polimorfo
relativamente anidro caracterizado pelas seguintes propriedades: um ponto de
fusão de 169°C e solubilidade em isopropanol de 4,6 mg/ml.

Forma II de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-

metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é um polimorfo anidro caracterizado pelas seguintes propriedades: um ponto de fusão de 158°C e solubilidade em isopropanol de 12,3 mg/ml.

5 Forma III de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é um hidrato caracterizado pelas seguintes propriedades: uma endoterma de perda de água a um pico de temperatura de 46°C, seguida por uma endoterma de fusão menor/
10 /decomposição com uma temperatura de início extrapolada de 123°C.

Forma IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é um hidrato caracterizado pelas seguintes propriedades:

15 uma endoterma de perda de água um pico de temperatura de 45°C, seguida por uma endoterma de fusão/decomposição com uma temperatura de início extrapolada de 129°C (provavelmente devido para a fusão/decomposição da Forma VI).

20 Forma IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida parece ser um hidrato higroscópico contendo 3,5 moles de água por mole de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida.

25 Forma V de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida parece ser um hidrato higroscópico contendo 1 moles de água por mol de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)

carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida.

Forma VI de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-
metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-
(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida parece ser um polimorfo
5 anidro e é caracterizado por um ponto de fusão de 129°C.

Forma VII de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-
metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-
(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é um hidrato caracterizado
10 pelas seguintes propriedades: uma endoterma grande de perda de água a uma
temperatura de pico de 60°C, seguido por uma endoterma de
fusão/decomposição com uma temperatura de início extrapolada de 144°C
(presumivelmente devido a fusão/decomposição da Forma VIII).

Forma VIII de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-
metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-
15 (fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é um polimorfo anidro
caracterizado por um ponto de fusão de 144°C.

Forma X de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-
metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-
(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida é caracterizado por uma
20 endoterma de grande perda de água a uma temperatura de pico de 49°C.

Difração de Pó em raios X (XRPD)

Estudos de difração de pó em raios-X são amplamente usados
para elucidar estruturas moleculares, cristalinidade e polimorfismo. Os
padrões de difração de pó em raios-X (XRPD) foram coletados usando um
25 instrumento de Difração de Pó automatizado APD3720 da Philips com
radiação de cobre K α . Medidas foram feitas de 2° a 40° (2 theta) com a
amostra mantida a temperatura ambiente.

Forma I foi caracterizada por um de difração de pó em raios-X
com reflexões principais a aproximadamente: 6,5, 14,7, 16,9, 17,1, 17,9,

19,5, 21,1, 21,7, e 22,0° (2 theta).

Forma II foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 4,8, 11,8, 17,5, 19,4, 21,6, 21,9, 22,5, e 22,7° (2 theta).

5 Forma III foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 13,8, 14,1, 18,0, 18,8, 19,5, 20,1, 20,6, 21,8 e 25,7° (2 theta).

10 Forma IV foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 16,0, 16,2, 18,3, 20,1, 21,0, e 24,2° (2 theta).

Forma V foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 14,8, 17,1, 17,6, 19,0, 19,1, 19,4, 20,6, 21,5, e 21,8° (2 theta).

15 Forma VI foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 9,8, 14,0, 14,8, 17,1, 17,6, 19,0, 19,5, 20,6, e 21,6° (2 theta).

Forma VII foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 9,1, 11,3, 17,1, 17,4, 20,0, 22,1, e 24,5° (2 theta).

20 Forma VIII foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 11,5, 11,6, 18,1, 19,6, 22,5, 24,7, e 24,8° (2 theta).

25 Forma IX foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 8,0, 12,1, 15,3, 15,8, 19,6, 19,7, 21,1, 22,3, e 23,7° (2 theta).

Forma X foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 15,5, 15,8, 18,0, 18,4, 18,6, 19,4, 20,7, 20,8, 23,9, e 24,8° (2 theta).

Essas padrões XRPD confirmam que todas as Formas I - X

são de formas cristalinas distintas.

Microscopia

O exame das formas polimórficas foi conduzido a 100X ampliação sob luz simples e polarizada. A Forma I e a Forma II foram partículas em forma de agulha. Ambas as Forma I e Forma II pareceram birrefringentes sob luz polarizada.

Higroscopicidade

O teor em voláteis total (como estabelecido por análises de TGA) das amostras sólidas das Formas I, II, III e IV quando de exposição a várias umidades controladas é tabulado abaixo. Se foi encontrado que a Forma I possuía 0,79 por cento em peso de água; Forma II possuía 0,56 por cento em peso de água; Forma III possuía 4,5 - 5,0 por cento em peso de água; e Forma IV possuía 9,5 - 10,00 por cento em peso de água.

A higroscopicidade foi avaliada por armazenagem do composto sólido em câmaras de umidade relativa constante. Uma comparação de Formas I e II anidras a uma temperatura ambiente indica que a Forma II é higroscópica e demonstra um grande aumento em umidade de partida a 65% de RH. Não foi demonstrada umidade substancial pela Forma I exceto quando armazenada acima de 76% de RH. Os resultados são tabulados abaixo nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1

Temperatura Ambiente (48 Horas)

	Forma I	Forma II
<u>% RH</u>	<u>% Ganho/Perda</u>	<u>% Ganho/Perda</u>
25 0	- ,02	+ 0,08
11	- 0,05	+ 0,02
33	-	+ 0,33
47	+ 0,21	+ 0,39
65	+ 0,37	+ 10,0 ^a

76	+ 0,12	> 10,0 ^a
100	>12,0	> 10,0 ^{ab}

^a= Amostra se torna um semi-sólido semelhante a goma)

^b =/ Converte para Forma IV quando de exposição a umidade ambiente)

5 TABELA 2

Temperatura Ambiente (96 Horas)

Forma I

	<u>% RH</u>	<u>% Ganho/Perda</u>
	7	+ 0,4
10	22	+ 0,3
	47	+ 0,5
	68	+ 0,6
	88	+12,9*
	100	+ 23,9*

15 (* = material deliquescente)

As formas hidratadas III e IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida também foram avaliadas por armazenagem em câmaras de umidade relativa durante 48 horas a uma temperatura ambiente. A Forma III mostra um aumento de umidade após 48-h de armazenagem a 33% de RH. A Forma IV, apesar de não ganhar uma quantidade apreciável de umidade quando de armazenagem a 100% de RH, perde sua água de hidratação quando armazenada a 11% de RH ou abaixo. Os resultados são tabulados abaixo na Tabela 3.

25

TABELA 3

Temperatura Ambiente (48 Horas)

	Forma III	Forma IV
<u>% RH</u>	<u>% ganho/perda</u>	<u>% ganho/perda</u>
0	-	-7,8

	11	-0,15	- 4,9
	33	+ 2,23	+ 0,3
	47	+ 3,99	+ 0,7
	66	-	+ 1,4
5	76	+ 3,76	+ 1,5
	100	-	+ 5,3

Estes dados indicam que a Forma I é relativamente anidra.

Solubilidade

A solubilidade da Forma I em água destilada a uma temperatura ambiente é >100 mg/ml. A solubilidade aquosa (RT) da Forma II em soluções tamponadas (pH 4-9) é >100 mg/ml. A solubilidade da Forma I em etanol/misturas de água é mostrada abaixo:

Solubilidade

	Solubilidade	
15	<u>% Etanol/H₂O</u>	<u>(mg/ml)</u>
	25/75	> 100
	50/50	> 100
	75/25	> 90
	100% etanol	> 90

20 Estabilidade térmica- Composto simples

A estabilidade em estado sólido do composto simples foi avaliada por armazenagem da droga em pequenos frascos de tampa de rosca, de vidro, no escuro. As amostras foram testadas por HPLC e o composto originário foi analisado quantitativamente. O processo isocrático que foi empregado é descrito abaixo:

Coluna: Beckman Ultrasphere ODS (250 x 4,6 mm, 5 μ)

Fase Móvel: 0,1% de TEA, pH 4,0 com H₃PO₄: Acetonitrila (65:35)

Taxa de fluxo: 1,0 ml/min

Detecção de Comprimento de onda: 228 nm

Tempo de ciclo: 14 minutos

Temperatura da Coluna: Ambiente

Volume da Injeção: 20 μ L de metanossulfonato de N-[1 (R)-
 [(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)-
 5 carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida (50 μ g/ml)

Os resultados mostrados abaixo para Formas I e II foram calculados como porcentagem em peso.

FORMA I

		% inicial	
10	$^{\circ}$ C	6 semanas	17 semanas
	40	100,1	98,7
	60	100,7	101,3
	80	100,7	99,4

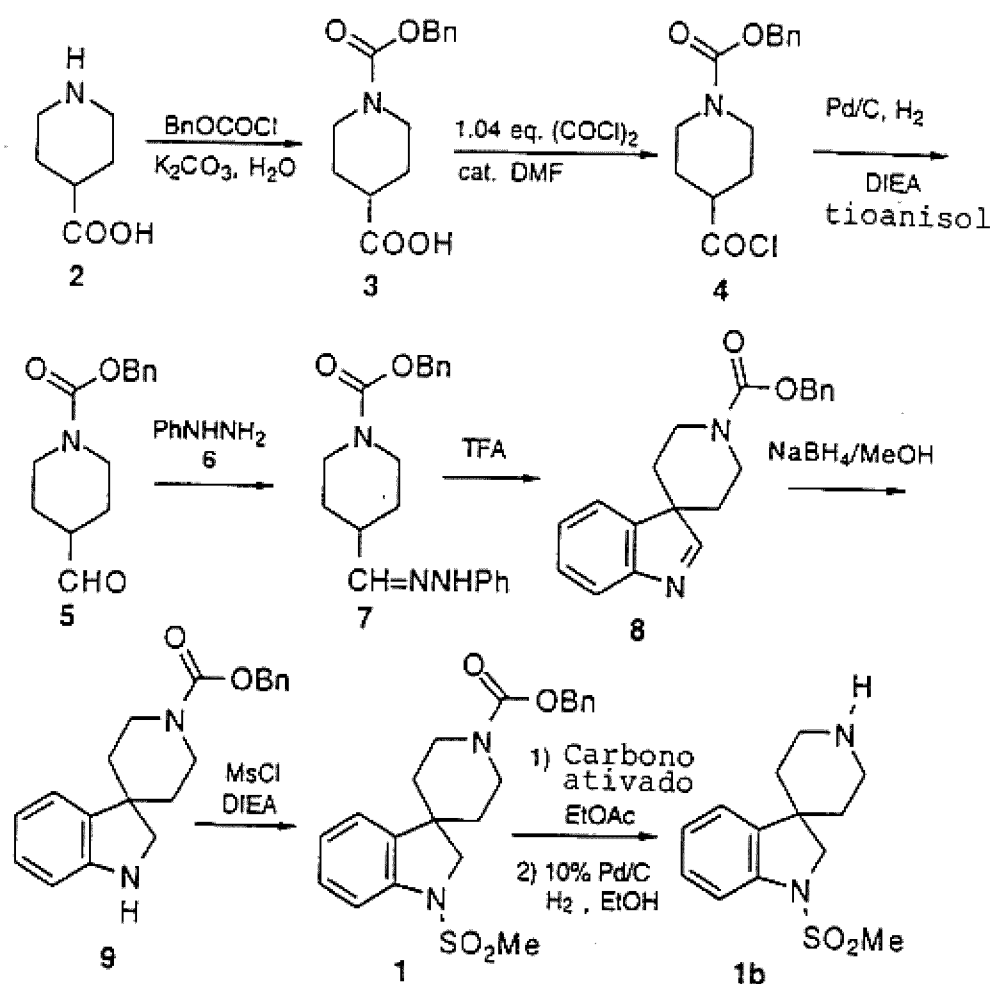
FORMA II

15	$^{\circ}$ C	1 sem.	2 sem.	4 sem.	8 sem.	12 sem.	24 sem.
	40	99,7	100,7	99,5	--	100,1	100,1
	60	99,4	99,6	100,3	100,0	101,0	100,8
	80	99,2	100,3	99,2	99,8	100,4	--

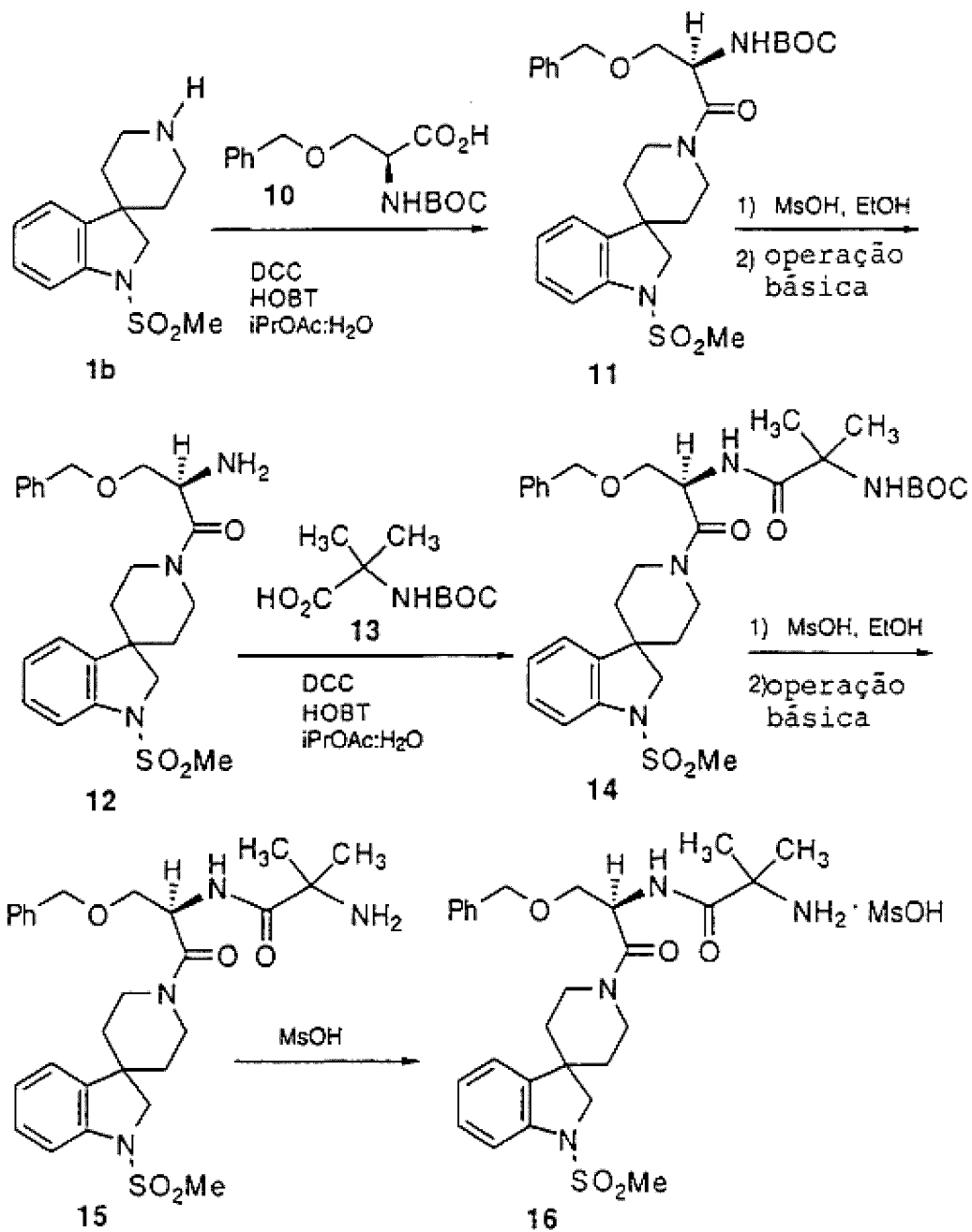
Esses resultados indicam que o sólido simples Forma I e
 20 Forma II tinha boa estabilidade térmica.

Os processos para preparar os compostos em questão são descritos como a seguir:

ESQUEMA I:



ESQUEMA I (cont.)



Como mostrado no esquema I, CBZ-espiroindolina-1 é tratada com Darco (20 por cento em peso), antes da hidrogenação. A hidrogenação é realizada em etanol a 65°C durante 10% Pd/C com agitação vigorosa.

Uma solução de 1b em acetato de isopropila e água é copulada com N-BOC-O-Benzil-D-serina comercialmente disponível na presença de dicitclo-hexilcarbodiimida (DCC) e 1-hidroxibenzotriazol (HOBT). Após filtragem de dicitclo-hexiluréia (DCU), produto lateral, o filtrado em duas fases é separado e a camada orgânica é lavada sucessivamente com 1M solução de hidróxido de sódio aquosa, 0,5M ácido clorídrico aquoso, e finalmente carbonato de hidrogênio de sódio aquoso, finalmente saturado. Resultados melhorados nesta copulação são obtidos quando uma solução de amino livre em iPrOAc/H₂O é tratado com DCC, HOBT, seguido por adição de aminoácido em temperatura ambiente e seguido por reação durante 3-5 h. A batelada é então concentrada in vacuo e o solvente é trocado com acetato de isopropila para etanol. Este solução geralmente procede por "alimentação e sangria" 3 x volumes de batelada para remover acetato de isopropila.

O grupo BOC de 11 é removido por tratamento com ácido metanossulfônico (MsOH) (3 eq) em etanol a 35-40°C. A divisão entre acetato de isopropila e solução de hidróxido de sódio 1M aquosa dá 12.

A copulação de 12 com N-BOC ácido α -aminoisobutírico é melhor conduzida no sistema solvente em duas fases, acetato de isopropila/água (1:1 na presença de DCC e HOBT (1,1 eq. cada). A remoção de DCU por filtragem, separação das camadas e lavagem da camada orgânica sucessivamente com 1M hidróxido de sódio aquoso, 0,5M ácido clorídrico aquoso, e carbonato de hidrogênio de sódio, aquoso, saturado, dá 14.

A mistura é trocada em solvente para etanol para a subsequente clivagem de ácido metanossulfônico de grupo Boc. A desproteção de 14 é mais difícil do que de 11 e requer uma solução concentrada de etanol/ ácido metanossulfônico e aquecimento a 35-40°C. Após trabalho extrativo (EtOAc -

NaOH), a amina livre 15 é isolada. A camada orgânica é lavada com 1N NaOH para dar remoção completa de ácido metanossulfônico.

A solução de acetato de etila de base livre 15 é concentrada em baixo volume em vácuo e é seca com azeótropo ($KF < 500 \text{ mgml}^{-1}$) por "alimentação e sangria", 2 x volumes de batelada de acetato de etila. A solução levemente turva, seca, resultante, de base livre 15 em acetato de etila é tratada com Darco G-60 (25 por cento em peso) em temperatura ambiente durante cerca de 10 h. A remoção de Darco por filtragem com um agente de filtragem dá a base livre 15.

A formação de sal de ácido metanossulfônico 16 de 15 é realizada em EtOAc com 1,1 eq de MsOH a cerca de 50°C. A base livre 15 é tratada com 8% em volume de EtOH e 1 eq de H₂O e aquecida a 55°C até dissolução completa. O resfriamento em temperatura ambiente e agitação da suspensão resultante durante 4 h dá o material cristalino de 16 designado como cristal Forma II (solubilidade em IPA = 12 mg/ml).

A conversão de forma II para forma I é obtida onde o sal é formado em EtOAc-EtOH como acima, mas em vez de resfriar a solução inicial do sal (a 55°C) em temperatura ambiente, e é resfriada a 45°C. Os cristais devem partir aparecendo nesta temperatura e a suspensão deve se tornar mais espessa com tempo. A temperatura é então elevada a 51°C, e a suspensão envelhecida durante a noite. A conversão completa para forma I de 16 deve ser esperada.

Preferivelmente, a conversão de forma II para forma I é obtida por adição de cristais de semente de Forma I para uma solução de base livre em EtOAc-EtOH a 50-55°C, seguido por envelhecimento. Consequentemente, a base livre 15 pode ser tratada com 1,1 equivalentes de ácido metanossulfônico em 8% de etanol em acetato de etila a 50-55°C. A batelada é então semeada com aproximadamente 2% em peso de Forma I de sal metanossulfonato 16, e então envelhecida a 55°C durante a noite. A batelada é resfriada a temperatura

ambiente e envelhecida durante aproximadamente 2-3 horas. O produto é isolado por filtração em temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio, secado a 35°C em vácuo e peneirado para dar sal metanossulfonato 16.

5 O sal de ácido metanossulfônico 16 pode ser também formado por alternância de adição em etapas de MsOH (1,1 equiv.) e cristais de semente de Forma I a uma solução de base livre em EtOAc-EtOH em cerca de 50°C, em que a ordem de adição de MsOH e a semente não é crítica.

10 A utilidade de compostos polimórficos da presente invenção com secretagogos de hormônio de crescimento pode ser demonstrada por metodologia conhecida na arte, como um teste descrito por Smith et al, Science, 260, 1640-1643 (1993), (ver texto figura 2 aqui). Em particular, todas as formas polimórficas da presente invenção tem atividade como secretagogos de hormônio de crescimento no teste acima mencionado. Este resultado é indicativo de atividade intrínseca de formas polimórficas da presente invenção
15 como secretagogos de hormônio de crescimento.

Os compostos liberando hormônio de crescimento da presente invenção são utilizáveis in vitro como ferramentas únicas para compreensão de como a secreção de hormônio de crescimento é regulada em nível pituitário. Isto inclui o uso na avaliação de muitos fatores pensados ou conhecidos para influenciar a secreção de hormônio de crescimento como idade, sexo, fatores
20 nutricionais, glucose, aminoácidos, ácidos graxos, assim como estados de fastio e não fastio. Além disso, os compostos desta invenção podem ser usados na avaliação de como outros hormônios modificam a atividade liberando hormônio de crescimento. Por exemplo, já foi estabelecido que somatostatina
25 inibe a liberação de hormônio de crescimento. Outros hormônios que são importantes e em necessidade de estudo quanto ao seu efeito na liberação de hormônio de crescimento incluem os hormônios gonadais, por exemplo testosterona, estradiol e progesterona, os hormônios adrenais, por exemplo cortisol e outros corticóides, epinefrina e norepinefrina, os hormônios

pancreáticos e gastrointestinais, por exemplo insulina, glucagona, gastrina, secretina; os peptídeos vasoativos, por exemplo bombesina, as neuroquininas, e os hormônios de tiróide, por exemplo tiroxina e triiodotironina. Os compostos da presente invenção também podem ser empregados para

5 investigar os possíveis efeitos de retro-alimentação negativos ou positivos possíveis, de alguns dos hormônios pituitários, por exemplo peptídeos endorfina e hormônio de crescimento, na pituitária para modificar a liberação de hormônio de crescimento. De particular importância científica é o uso destes compostos para elucidar os mecanismos subcelulares mediando a

10 liberação de hormônio de crescimento.

Os compostos da presente invenção podem ser administrados a animais, incluindo homem, para liberar hormônio de crescimento in vivo. Por exemplo, os compostos podem ser administrados para animais comercialmente importantes, como suínos, gado, ovelhas e outros, para acelerar e aumentar sua

15 taxa e extensão de crescimento, para melhorar a eficácia de ração e para aumentar a produção de leite em tais animais. Além disso, estes compostos podem ser administrados para humanos in vivo como uma ferramenta diagnóstica para determinar diretamente se a pituitária é capaz de liberar hormônio de crescimento. Por exemplo, os compostos da presente invenção

20 podem ser administrados in vivo a crianças. As amostras de sangue tomadas antes e após esta administração podem ser testadas para hormônio de crescimento. A comparação das quantidades de hormônio de crescimento em cada uma destas amostras deve ser um meio para a determinação direta de capacidade da pituitária do paciente de liberar hormônio de crescimento.

25 Consequentemente, a presente invenção inclui dentro de seu escopo composições farmacêuticas compreendendo, como um ingrediente ativo, pelo menos um dos compostos da presente invenção em associação com um diluente ou veículo farmacêutico. Opcionalmente, o ingrediente ativo das composições farmacêuticas pode compreender um agente anabólico além de

pelo menos um dos compostos da presente invenção ou outra composição que demonstra uma atividade diferente, por exemplo um permissor de crescimento antibiótico ou um agente para tratar osteoporose ou em combinação com corticosteróide para minimizar os efeitos laterais catabólicos ou com outros
5 materiais farmacologicamente ativos em que a combinação melhora a eficácia e minimiza os efeitos laterais.

Os agentes anabólicos e de promoção de crescimento incluem, mas não são limitados a TRH, dietilestilbesterol, estrogênios, β -agonistas, teofilina, esteróides anabólicos, encefalinas, prostaglandinas de série E,
10 compostos descritos na patente US no. 3 239 345, por exemplo zeranol, e compostos descritos na patente US no. 4 036. 979, por exemplo sulbenox ou peptídeos descritos na patente US 4 411 890.

Ainda outro uso dos compostos desta invenção é em combinação com outros secretagogos de hormônio de crescimento como os
15 peptídeos liberando hormônio de crescimento GHRP-6, GHRP-1, como descritos na patente US no.

4 411 890, e publicações WO 89/07110, WO 89/07111 e B-HT920, assim como hexarelina e GHRP-2 como descrito em WO 93/04081, ou hormônio liberando hormônio de crescimento (GHRH, também designado
20 GRF), e seus análogos ou hormônio de crescimento e seus análogos ou somatomedinas, incluindo IGF-1 e IGF-2, ou agonistas α -adrenérgicos, como agonistas 5HT_{1D} de serotonina ou clonidina, como sumitriptano ou agentes que inibem somatostatina ou sua liberação como fisostigmina e piridostigmina. Em particular, os compostos desta invenção podem ser
25 usados em combinação com fator de liberação de hormônio de crescimento, um análogo de fator de liberação de hormônio de crescimento, IGF-1, ou IGF-2. Por exemplo, um composto da presente invenção pode ser usado em combinação com IGF-1 para o tratamento ou prevenção de obesidade. Além disso, um composto desta invenção pode ser empregado em conjunto com

ácido retinóico para melhorar a condição de musculatura e pele que resulta de envelhecimento intrínseco.

A presente invenção é ainda dirigida a um processo para a fabricação de um medicamento para estimular a liberação de hormônio de crescimento em humanos e animais compreendendo combinar uma forma polimórfica da presente invenção com um diluente ou veículo farmacêutico.

Como é bem conhecido dos versados na arte, os usos conhecidos e potenciais de hormônio de crescimento são variados e múltiplos. A administração dos compostos da invenção para fins de estimular a liberação de hormônio de crescimento endógeno pode ter os mesmos efeitos ou usos como o próprio hormônio de crescimento. Estes usos variados dos presentes compostos assim podem ser resumidos como a seguir: estimular a liberação de hormônio de crescimento em humanos mais velhos, tratar adultos deficientes em hormônio de crescimento, prevenção de efeitos laterais catabólicos de glucocorticóides; tratamento de osteoporose, estímulo de sistema imune, aceleração de cicatrização de feridas, aceleração de reparo de fraturas ósseas; tratamento de retardo do crescimento, tratamento de falha renal crônica ou aguda, ou insuficiência; tratamento de estatura curta fisiológica, incluindo crianças deficientes em hormônio de crescimento; tratamento de estatura pequena associada com doença crônica; tratamento de obesidade e retardo do crescimento associado com obesidade; tratamento de retardo do crescimento associado com síndrome de Prader-Willi, e síndrome de Turner; aceleração de recuperação e redução de hospitalização de pacientes queimados ou após grandes cirurgias como cirurgia gastrointestinal, tratamento de retardo do crescimento intrauterino, displasia esquelética, tratamento de neuropatias periféricas; substituição de hormônio de crescimento em pacientes estressados; tratamento de osteocondrodisplasias, síndrome de Noonans, esquizofrenia, depressão, doença de Alzheimer, cicatrização de feridas retardada, e falta psicossocial; tratamento de disfunção

pulmonar e dependência de ventilação; atenuação de resposta catabólica de proteína após uma operação principal, tratamento de síndromes de má absorção; redução de caquexia e perda de proteína devido a doença crônica, como câncer ou AIDS; aceleração de ganho de peso e acreção de proteína em

5 pacientes em TPN (nutrição parenteral total); tratamento de hiperinsulinemia incluindo nesidioblastose; tratamento de adjuvante para indução de ovulação e para evitar e tratar úlceras duodenais e gástricas; para estimular desenvolvimento tímico e evitar o declínio relacionado com idade de função tímica; terapia adjuvante para pacientes em hemodiálise crônica; tratamento

10 de pacientes imunossuprimidos e para melhorar a resposta de anticorpos após vacinação; aumentar a contagem de linfócitos total de um humano, particularmente aumentando a relação célula T_4/T_8 , em um humano, com uma relação de célula T_4-T_8 deprimida resultante, por exemplo, de trauma físico, como dano a cabeça fechada; ou de infecção, como infecção bacteriana ou

15 viral, especialmente infecção de vírus de imunodeficiência humana; melhora na resistência muscular, mobilidade, manutenção de espessura da pele, homeostase metabólica, homeostase renal nos mais velhos; estímulo de osteoblastos, remodelagem de osso, e crescimento de cartilagem; estímulo de sistema imune em animais de estimação e tratamento de distúrbios de

20 envelhecimento de animais de estimação; promotor do crescimento em animais de criação; e estímulo de crescimento de lã em ovelhas. Além disso, os presentes compostos são utilizáveis para aumentar a eficácia da ração; promover o crescimento, aumentar a produção de leite e melhorar a qualidade da carcaça de animais de criação. Do mesmo modo, os presentes compostos

25 são utilizáveis em um processo de tratamento de doenças ou condições que são benéficas pelos efeitos anabólicos de melhorados níveis de hormônio de crescimento que compreende a administração de um presente composto.

Em particular, os presentes compostos são utilizáveis na prevenção ou tratamento de uma condição selecionada dentre o grupo

consistindo de : osteoporose, doença catabólica, deficiência imune, incluindo que em indivíduos com uma relação de célula T_4/T_8 deprimida; fratura do quadril; prejuízo muscoesquelético nos mais velhos; deficiência de hormônio de crescimento em adultos ou em crianças, obesidade; caquexia e perda de proteína devido a doença crônica como AIDS ou câncer, e tratamento de 5 pacientes se recuperando de grande cirurgia, feridas ou queimaduras, em um paciente em necessidade do mesmo.

Além disso, os presentes compostos podem ser utilizáveis no tratamento de doenças induzidas ou facilitadas por fator liberando 10 corticotropina ou distúrbios relacionados com tensão e ansiedade, incluindo depressão induzida por tensão e dor de cabeça, síndrome de abdominal, supressão imune, infecções por HIV, doença de Alzheimer, doença gastrointestinal, anorexia nervosa, tensão hemorrágica, sintomas de falta de álcool e drogas, vício de drogas, e problemas de fertilidade.

15 Será conhecido dos versados na arte que se tem numerosos compostos agora sendo usados em um esforço para tratar as doenças ou indicações terapêuticas enumeradas acima. As combinações destes agentes terapêuticos alguns dos quais foram mencionados acima com os secretagogos de hormônio de crescimento da invenção irão ocasionar propriedades 20 sinérgicas com frequência, e complementares, adicionais, para melhorar o promotor de crescimento, propriedades anabólicas e desejáveis deste vários agentes terapêuticos. Nestas combinações, os agentes terapêuticos e os secretagogos de hormônio de crescimento desta invenção podem estar independentemente presentes em faixas de dose de uma centena a uma vez os 25 níveis de dose que são efetivos quando estes compostos e secretagogos são usados sozinhos.

A terapia combinada para inibir a resorção óssea, evitar a osteoporose e melhorar a cicatrização de fraturas ósseas pode ser ilustrada por combinações de bisfosfonatos e os secretagogos de hormônio de crescimento

desta invenção. O uso de bisfosfonatos para estas utilidades foi estudado, por exemplo, por Hamdy, NAT, Role of Bisphosphonates in Metabolic Bone Diseases, Trends in Endocrinol. Metab. 4, 19-25 (1993). Os bisfosfonatos com estas utilidades incluem alendronato, tiludronato, dimetil-APD, risedronato, etidronato, YM- 175, clodronato, pamidronato, e BM-210995. De acordo com sua potência, os níveis de dosagem diária oral de bisfosfonato de entre 0,1 mg e 5 g e níveis de dosagem diária de secretagogos de hormônio de crescimento de entre 0,01 mg/kg a 20 mg/kg de peso do corpo são administrados a pacientes para obter tratamento eficaz de osteoporose.

10 No caso de níveis de dosagem oral diária de alendronato de 0,1 mg a 50 mg são combinados para efetiva terapia de osteoporose com 0,01 mg/kg a 20 mg/kg de secretagogos de hormônio de crescimento desta invenção. A osteoporose e outros distúrbios de osso também podem ser tratados com compostos desta invenção em combinação com calcitonina, estrogênios, raloxifeno e suplementos de cálcio como citrato de cálcio.

15 Os efeitos anabólicos especialmente no tratamento de pacientes do sexo masculina geriátricos são obtidos com compostos desta invenção em combinação com esteróides anabólicos como oximetolona, metiltesterona, fluoximesterona e estanozolol.

20 Os compostos desta invenção podem ser administrados por injeção oral, parenteral (por exemplo intramuscular, intraperitoneal, intravenosa ou subcutânea, ou implante), nasal, vagina, retal, sublingual ou vias tópicas de administração e podem ser formulados em formas de dosagem apropriadas para cada via de administração.

25 As formas de dosagem sólidas para administração oral incluem cápsulas, comprimidos, pílulas, pós e grânulos. Em tais formas de dosagem sólida, o composto ativo é misturado com pelo menos um veículo inerte, farmacologicamente aceitáveis, como sacarose, lactose ou amido. Estas formas de dosagem também podem compreender, como é prática normal, substâncias

adicionais diferentes de diluentes inertes, por exemplo, agentes lubrificantes como estearato de magnésio. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as formas de dosagem também podem compreender agentes tamponadores. Os comprimidos e pílulas podem adicionalmente ser preparados com revestimentos entéricos.

As formas de dosagem líquida para administração oral incluem emulsões farmacologicamente aceitáveis, soluções, suspensões, xaropes, os elixires contendo diluentes inertes comumente usados na arte, como água. Além destes diluentes inertes, as composições também podem incluir adjuvantes, como agentes umectantes, agentes emulsificantes e de suspensão, e agentes perfumantes, aromatizantes e adoçantes.

As preparações de acordo com a esta invenção para administração parenteral incluem soluções não aquosas ou aquosas, estéreis, suspensões, ou emulsões. Os exemplos de solventes não aquosos ou veículos são propileno glicol, polietileno glicol, óleos vegetais como óleo de oliva e óleo de milho, gelatina, e ésteres orgânicos injetáveis, como oleato de etila. Estas formas de dosagem também podem conter adjuvantes como agentes conservantes, umectantes, emulsificantes e dispersantes. Eles podem ser esterilizados por, por exemplo, filtração através de filtro retendo bactérias, por incorporação de agentes esterilizantes nas composições, por irradiação das composições, ou por aquecimento das composições. Eles também podem ser fabricados na forma de composições sólidas estéreis que podem ser dissolvidas em água estéril, ou algum outro meio injetável estéril imediatamente antes de uso.

As composições para administração retal ou vaginal são preferivelmente supositórios que podem conter, além da substância ativa, excipientes como manteiga de cacau ou uma cera para supositórios.

As composições para administração nasal ou sublingual são também preparadas com excipientes padrões bem conhecidos na arte.

O composto desta invenção pode ser administrado para pacientes (animais e humanos) em necessidade de tal tratamento em dosagens que irão prover ótima eficácia farmacêutica. Será notado que a dose requerida para uso em qualquer aplicação particular irá variar de paciente a paciente e não somente com o composto ou composição particular selecionado, mas também com a via de administração, a natureza da condição sendo tratada, a idade e condição do paciente, medicação concorrente ou dieta especial então sendo seguida pelo paciente, e outros *fatores que os versados na arte irão reconhecer, com a dosagem apropriada por fim estando de acordo com o médico atendente.

A dosagem de ingrediente ativo nas composições desta invenção pode ser variada, no entanto, é necessário que a quantidade do ingrediente ativo seja tal que uma forma de dosagem apropriada seja obtida. A dosagem selecionada depende de efeito terapêutico desejado, na via de administração, e na duração do tratamento. Em geral, níveis de dosagem de entre 0,0001 a 10mg/kg, de peso do corpo diariamente são administradas a pacientes e animais, por exemplo mamíferos, para obter efetiva liberação de hormônio de crescimento. Preferivelmente, o nível de dosagem será cerca de 0,001 a cerca de 25 mg/kg por dia, mais preferivelmente cerca de 0,01 a cerca de 10 mg/kg por dia.

Os processos para preparar as formas polimórficas da presente invenção são ilustradas nos seguintes exemplos. Os seguintes exemplos são dados para fins de ilustração da presente invenção e não devem ser construídos como sendo limitações no escopo ou espírito da presente invenção.

25 EXEMPLO 1

N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

Etapa A: Hidrocloreto de 1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdina]

A uma solução de 1,20 g (5,8 mmol) de 1'-metil-1,2-di-hidro-
 espiro [3H-indol-3,4'-piperdina) (preparado como descrito por H. Ong, et al ,
J. Med. Chem., 23, 981-986 (1983)) em 20 ml de diclorometano seco a 0°C
 foi adicionada trietilamina (0,90 ml; 6,4 mmol) e cloreto de metanossulfonila
 5 (0,49 ml; 6,35 mmol) e agitada durante 30 minutos. A mistura de reação foi
 despejada em 15 ml de uma solução de bicarbonato de sódio aquoso saturado
 e extraída com diclorometano (2 X 10 ml). Os orgânicos combinados foram
 lavados com salmoura (20 ml), secados sobre carbonato de potássio anidro,
 filtrados e o solvente removido sobre redução da pressão para dar 1,44 g de
 10 derivado de metanossulfonamida como óleo amarelo pálido que foi usado
 sem purificação.

A uma solução do produto bruto acima em 20 ml de 1,2-
 dicloroetano seco a 0°C foi adicionado 1,0 ml (9,30 mmol) de cloroformato
 de 1-cloroetila, e então agitada a temperatura ambiente durante 30 min e
 15 finalmente a um refluxo durante 1 h. A mistura de reação foi concentrada a
 aproximadamente um terço de volume e então diluída com 20 ml de metanol
 seco e refluxada durante 1,5 h. A reação foi resfriada a temperatura ambiente
 e concentrada a aproximadamente uma metade de volume. O precipitado foi
 filtrado e lavado com um volume pequeno de metanol frio. Isso rendeu 1,0 g
 20 de sal HCl de piperidina como um sólido branco. O filtro foi concentrado e
 um volume pequeno de metanol foi adicionado seguido por éter. O material
 precipitado foi uma outra vez filtrado, lavado com metanol frio, e secado.
 Isso deu um adicional de 0,49 g do produto desejado. Rendimento total 1,49
 g (70%).

25 ¹H RMN (CDCl₃, 200 MHz) δ 7,43-7,20 (m, 3H), 7,10 (dd, 1H), 3,98 (bs,
 2H), 3,55-3,40 (bd, 2H), 3,35-3,10 (m, 2H), 2,99 (s, 3H), 2,15 (t, 2H), 2,00 (t,
 2H).

Etapa B: N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro [3H-indol-3,4'-
 piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-[(1,1-dimetiletoxi)

carbonil] amino-2-metilpropanamida

A 0,35 g (1,15 mmol) de ácido de (2R)-2-[(1,1-dimetiletoxi)-carbonil] amino-3-[2-(fenilmetiloxi) etil]-1-propanóico em 13 ml de diclorometano foi adicionado hidrocloreto de 1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdina] (0,325 g; 1,07 mmol), 0,18 ml (1,63 mmol) de N-metilmorfolina, 0,159 g (1,18 mmol) de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) e agitado durante 15 min. EDC (0,31 g; 1,62 mol) foi adicionado e agitação continuada durante 1 h. Um adicional de 60 µL de N-metilmorfolina foi adicionado e agitado durante 45 min. A mistura de reação foi despejada em 5 ml de água e a camada orgânica separada. A camada orgânica foi lavada com 5 ml de 0,5 N de ácido clorídrico aquoso e 5 ml de uma solução de bicarbonato de sódio aquoso saturado. Os orgânicos combinados foram secados sobre sulfato de magnésio anidro, e concentrados para dar 0,627 g do produto como uma espuma amarela que foi usada sem purificação.

A 0,627 g (1,07 mmol) do produto acima em 5 ml de diclorometano foi adicionado 1,0 ml de ácido trifluoroacético e agitado a temperatura ambiente durante 75 min. Um adicional de 1,00 ml de ácido trifluoroacético foi adicionado e agitado durante 10 min. A mistura de reação foi concentrada, diluída com 5,0 ml de diclorometano e cuidadosamente tomada básica despejando em 10 ml de 10% de uma solução de carbonato de sódio aquoso. A camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi, além disso, extraída com 2 X 15 ml de diclorometano. Os orgânicos combinados foram lavados com 5 ml de água, secados sobre carbonato de potássio, filtrados e concentrados para dar 0,486 g de amina como um espuma amarelo de luz que foi usado sem purificação.

A 0,486 g (1,01 mmol) de amina e 10 ml de diclorometano foi adicionado 0,26 g (1,28 mmol) de ácido de 2-[(1,1-dimetilexoti) carbonil] amino-2-metil-propanóico, 0,173 g (1,28 mmol) de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) e EDC (0,245 g; 1,28 mol) e agitado a temperatura ambiente durante

a noite. A mistura de reação foi despejada em 5,0 ml de água e a camada orgânica foi separada. A camada aquosa foi retro-extraída com 5 ml de diclorometano. Os orgânicos combinados foram lavados com 5,0 ml de 0,5 N de ácido clorídrico aquoso, 5 ml de uma solução de bicarbonato de sódio aquoso saturado secado sobre sulfato de magnésio de anidro, e concentrado para dar 0,751 g do produto bruto como um espuma amarelo. Uma solução do produto bruto em diclorometano foi cromatografado em 25 g de sílica gel e eluída primeiro com hexanos/acetona/diclorometano (70/25/5) e então com hexanos/acetona/diclorometano (65/30/5). Isso deu 0,63 g do composto titular como um sólido branco.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) O composto existe como uma mistura 3:2 de rotâmeros δ 7,40-7,10 (m, 6H), 7,06 (d, 1/3H), 7,02 (t, 1/3H), 6,90, (t, 1/3H), 6,55 (d, 1/3H), 5,15 (m, 1H), 4,95 (bs, 1H), 4,63 (bd, 1/3H), 4,57-4,40 (m, 2 2/3 H), 4,10 (bd, 1/3H), 4,00 (bd, 1/3H), 3,82 (t, 1H), 3,78-3,62 (m, 2H), 3,60-3,50 (m, 1H), 3,04 (q, 1H), 2,87 (s, 1H), 2,86 (s, 2H), 2,80-2,60 (m, 1H), 1,90 (bs, 1H), 2,85-2,75 (m, 1H), 1,82-1,60 (m, 3H), 1,55-1,45 (m, 1H), 1,45 (s, 4H), 1,42 (s, 2H), 1,39 (s, 9H).

Etapa C: Hidrocloreto de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

Para 0,637 g (0,101 mmol) de intermediário da Etapa B em 5 ml de diclorometano foi adicionado 2,5 ml de ácido trifluoroacético e agitado a temperatura ambiente durante 30 min. A mistura de reação foi concentrada a um óleo, tomada Pu em 10 ml de acetato de etila e lavada com 8 ml de 10% de uma solução de carbonato de sódio aquoso. A camada orgânica foi, além disso, extraída com 5 ml de acetato de etila. Os orgânicos combinados foram lavados com 10 ml de água, secados sobre sulfato de magnésio, filtrados e concentrados para dar 0,512 g de base livre como um espuma branco.

Para 0,512 g de base livre em 5 ml de acetato de etila a 0°C

foi adicionado 0,2 ml de ácido clorídrico saturado em acetato de etila e agitada durante 1,5 h. O precipitado branco foi filtrado sob nitrogênio, lavado com éter, e secado para dar 0,50 g do composto titular como um sólido branco.

- 5 ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) O composto existe como uma mistura 3:2 de rotâmeros δ 7,40-7,28 (m, 4H), 7,25-7,17 (m, 2H), 7,08 (t, 1/3H), 7,00 (t, 1/3H), 6,80 (d, 1/3H), 5,16 (ddd, 1H), 4,60-4,42 (m, 3H), 4,05 (t, 1H), 3,90 (bs, 2H), 3,83-3,70 (m, 2H), 3,30-3,15 (m, 1H), 2,97 (s, 1H), 2,95 (s, 2H), 2,90-2,78 (m, 1H), 1,96 (t, 1/3H), 1,85-1,65 (m, 4H), 1,63 (s, 2H), 1,60 (s,
10 4H).

EXEMPLO 2

N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

- Etapa A: Éster alil de ácido de (2R)-[[[-2-(1,1-dimetiletoxi) carbonil] amino]-
15 2,2-dimetil-1-oxietil] amino-2-fenilmetoxi) etil]-1-propanóico

Preparado de ácido (2R)-2-[(1,1-dimetiletoxi) carbonil]-amino-3-(fenilmetiloxi) etil]-propanóico e álcool alila por transportando a reação de copulação em CH₂Cl₂ na presença de EDC e DMAP.

- ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,25 (s, 5H), 5,8 (m, 1H), 5,2 (dd, 2H), 5,0 (bs,
20 1H), 4,7 (m, 1H), 4,6 (m, 2H), 4,4 (dd, 2H), 3,9 (dd, 1H), 3,6 (dd, 1H), 1,45 (d, 6H), 1,39 (s, 9 H).

Etapa B: Ácido de (2R)-[[[-2-(1,1-dimetiletoxi) carbonil] amino]-2,2-dimetil-1-oxoetil] amino-2-(fenilmetiloxi) etil]-1-propanóico

- Para uma solução agitada de intermediário bruto obtido na
25 Etapa A (6,7 g, 15,9 mmol), tetracis (trifenilfosfina) paládio (1,8 g, 0,1 eq) e, trifetil fosfina (1,25 g, 0,3 eq) foi adicionado uma solução de hexanoato de potássio-2-etila (35 ml, 0,5 M solução em EtOAc). A mistura de reação foi agitada a uma temperatura ambiente uma atmosfera de nitrogênio durante 1 h e então diluída com éter (100 ml) e despejada em água gelada. A camada

orgânica foi separada e a fração aquosa foi acidificada com ácido cítrico (20%), então extraída com EtOAc. Os extratos EtOAc foram lavados com salmoura, secados sobre sulfato de magnésio, filtrados e evaporados para dar o composto titular como um sólido.

5 $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 7,3 (s, 5H), 4,7 (m, 1H), 4,5 (s, 2H), 4,0 (m, 1H), 3,6 (m, 1H), 1,4 (d, 6H), 1,3 (s, 9H).

Etapa C: N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-[(1,1-dimetil-etoxi) carbonil] amino-2-metil-propanamida

10 Para uma solução de 1,0 g (3,44 mmol) de hidrocloreto de 1-metanosulfonil-espiro [indoline-3,4'-piperidina], 1,44 g (3,78 mmol) de ácido de (2R)-[[-2-(1,1-dimetiletoxi) carbonil] amino]-2,2-dimetil-1-oxoetil]-amino-2-(fenilmetiloxi) etil)-1-propanóico, N-metil morfolina (0,58 ml; 5,20 mmol), e 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) (0,58 g; 3,78 mmol), em 50 ml de
15 diclorometano foi adicionado EDC (1,03 g; 5,20 mmol) e agitada a temperatura ambiente durante 16 h. A mistura de reação foi diluída com um adicional de 50 ml de diclorometano e lavada com uma solução de bicarbonato de sódio aquoso (50 ml), secada sobre sulfato de magnésio de anidro, e concentrada. A cromatografia cintilante (50 g de sílica gel) de
20 resíduo oleoso bruto deu 2,148 g (90%) do material desejado como um espuma incolor.

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz) O composto existe como uma mistura 3:2 de rotâmeros δ 7,40-7,10 (m, 6H), 7,06 (d, 1/3H), 7,02 (t, 1/3H), 6,90 (t, 1/3H), 6,55 (d, 1/3H), 5,15 (m, 1H), 4,95 (bs, 1H), 4,63 (bd, 1/3H), 4,57-4,40 (m, 2
25 2/3 H), 4,10 (bd, 1/3H), 4,00 (bd, 1/3H), 3,82 (t, 1H), 3,78-3,62 (m, 2H), 3,60-3,50 (m, 1H), 3,04 (q, 1H), 2,87 (s, 1H), 2,86 (s, 2H), 2,80-2,60 (m, 1H), 1,90 (bs, 1H), 2,85-2,75 (m, 1H), 1,82-1,60 (m, 3H), 1,55-1,45 (m, 1H), 1,45 (s, 4H), 1,42 (s, 2H), 1,39 (s, 9H).

Etapa D: Hidrocloreto de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro

[3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

Para uma solução de 2,148 g (3,41 mmol) de intermediário da Etapa C em 10 ml de diclorometano foi adicionado 5 ml de ácido trifluoroacético e agitada durante 1 h. A mistura de reação foi concentrada e tornada básica com 100 ml de 5% de uma solução de carbonato de sódio aquoso e extraída com diclorometano (3 X 50 ml). Os orgânicos combinados foram lavados com salmoura (50 ml), secados sobre carbonato de potássio de anidro, e concentrados para dar uma espuma incolor. Para uma solução de espuma em 25 ml de acetato de etila a 0°C foram adicionados 4 ml de 1M de solução de ácido clorídrico em acetato de etila. O precipitado foi filtrado e lavado primeiro com acetato de etila e então com acetato-éter de etila (1:1), secado para dar 1,79 g (93%) do composto titular como um sólido incolor.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) O composto existe como uma mistura 3:2 de rotâmeros δ 7,40-7,28 (m, 4H), 7,25-7,17 (m, 2H), 7,08 (t, 1/3H), 7,00 (t, 1/3H), 6,80 (d, 1/3H), 5,16 (ddd, 1H), 4,60-4,42 (m, 3H), 4,05 (t, 1H), 3,90 (bs, 2H), 3,83-3,70 (m, 2H), 3,30-3,15 (m, 1H), 2,97 (s, 1H), 2,95 (s, 2H), 2,90-2,78 (m, 1H), 1,96 (t, 1/3H), 1,85-1,65 (m, 4H), 1,63 (s, 2H), 1,60 (s, 4H).

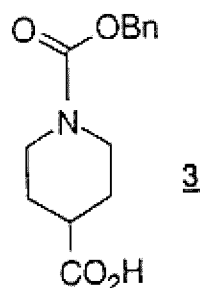
20 EXEMPLO 3

Mesilato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonilespiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

Este composto foi preparado por tratamento de base livre obtido no Exemplo 5, Etapa D, com ácido sulfônico metano. O composto titular foi obtido por recristalização do mesmo em água acetato de etila-etanol . p.f. = 166°-168°C. Essa amostra foi subseqüentemente identificada como sendo Forma II polimórfica. foi caracterizada por um padrão de difração de pó em raios-X com reflexões principais a aproximadamente: 4,7, 11,6, 17,4, 19,2, e 21,6° (2 theta). Ele foi, além disso, caracterizado por um

DSC a 10°C/min em um copo aberto sob fluxo de nitrogênio e demonstrando uma endoterma única, devido a fusão, com um pico de temperatura de cerca de 174°C e uma extrapolação de início de temperatura (ponto de fusão) de cerca de 165°C com um calor associado de aproximadamente 37 J/g.

5 EXEMPLO 4



Carbamato de ácido-N-benzil isonipecótico (3)

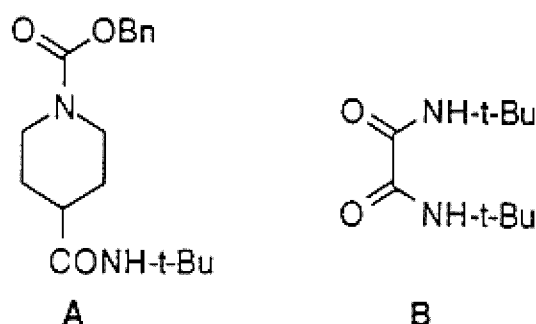
Materiais:

Ácido isonipecótico (2) T.C.I.	4,02 kg (31,1 mol)
Cloroformato de benzila (Schweitzerhall)	6,91 kg (40,5 mol)
10 K ₂ CO ₃	10,1 kg (72,9 mol)
Água	40,2 l

O ácido isonipecótico (2) e K₂CO₃ foram dissolvidos em 40,2 l de água em um frasco de gargalo com agitação mecânica sob N₂ e a solução foi resfriada a 10°C. O cloroformato de benzila foi adicionado, mantendo a temperatura entre 9 e 14°C, e a mistura foi aquecida até 22°C após a adição estar completa e envelhecida durante 58 h. A adição foi completada em 4 h quando então o pH foi 9,0. Após envelhecimento durante 58 h não se tem mudança do pH.

A mistura de reação foi transferida para um extrator de 200 l e lavada com 3 X 13 kg (15 l) de IPAC e 1 x 12 l de EtOAc. A camada aquosa foi extraída com 8 l de tolueno. Após as lavagens, o teor de álcool de benzila foi reduzido de 3,8% a 1,4% pela análises de HPLC. HPLC analítico: Coluna DuPont Zorbax 25 cm RXC8 com 1,5 ml/min fluxo e detecção a 254 nm; a mistura isocrática com 35% de MeCN, 65% de 0,1% aquoso H₃PO₄; tempo

A uma solução de tolueno de carbamato de benzila 3 da etapa precedente foram adicionados 5 ml de DMF e 10 l de tolueno. O cloreto de oxalila foi adicionado durante um período de 20 min. A mistura de reação foi envelhecida durante 16 h a 18°C sob um fluxo lento de nitrogênio. As análises de HPLC da mistura de reação mostraram que 1,3% de ácido carboxílico 3 ainda permaneceu não reagido. A mistura de reação foi aquecida a 26°C, e 5 ml de DMF foram adicionados. A mistura foi envelhecida durante 2,5 h. Uma alíquota de 1,0 ml da mistura de reação foi resfriada bruscamente com 5,0 ml de terc-butilamina e analisada após evaporação por HPLC: 25 cm de coluna DuPont Zorbax RXC8 a 50°C com 1 ml/min fluxo e detecção a 220 nm; isocrático 42% MeCN, 58% de 0,1% aquoso H₃PO₄. Esse processo mostrou que <0,05% de ácido 3 permaneceu (como julgado por A) e mostrou >3 área % B (>1 mol% (COCl)₂).



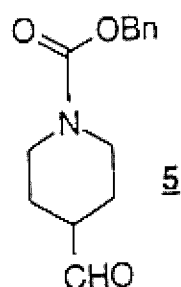
A mistura foi concentrada a 10 mbares e uma temperatura de 20-25°C até 5 l de solvente ter sido removido.

A perfil de HPLC típico de uma solução de tolueno concentrada após o resfriamento brusco de t-BuNH₂ descrito acima é como a seguir:

	<u>Tempo de retenção (min)</u>	<u>Área %</u>	<u>Identidade</u>
20	2,1	<0,5%	ácido carboxílico 3
	7,8	<0,5%	cloreto de benzila
	11,0	>99%	Cbz-t-butylcarboxamida A
	12,1	NA	tolueno

12,7 <0,5% diterc-butiloxamida B

EXEMPLO 6



Carbamato de piperidina-4-carboxaldeído-1-benzila (5)

Materiais:

5	Carbamato de cloreto de ácido N-benzil isonipecótico (4)	3,38 kg (12,0 mol) em tolueno (PM= 281,74)
	DIEA (KF = 18 mg /l)	em 5,54 kg 1,55 kg (15,0 mol)
	10% Pd/C (KF <20 mg/g)	101 g
	tioanisol (PM = 124,21, d = 1,058)	0,56 g

10 O DIEA e tioanisol foram adicionados na solução (4) em tolueno da etapa anterior e o catalisador foi colocado em suspensão nesta mistura. A mistura foi imediatamente colocada em um autoclave de 22,5 litros e hidrogenada a 20°C e 2,9 kg/cm² de H₂. Após 18 h a reação ter tomado até 70% da quantidade teórica de hidrogênio e análises de HPLC de

15 uma alíquota que foi resfriada bruscamente com tec-butilamina indicou que 14,2 área % de cloreto de ácido 2 permaneceu. As condições de HPLC são iguais como acima. Tempo de retenção: 5 = 8,1 min.

Uma segunda carga de catalisador (101 g) e tioanisol (0,54 g) foi adicionada como uma suspensão em 1375 ml de tolueno para o

20 hidrogenador. Após 23 h de análises de HPLC de uma alíquota que foi resfriada bruscamente com terc-butilamina indicou que 1,8 área % de cloreto de ácido 2 permaneceu. A mistura foi purgada com nitrogênio e o catalisador e precipitado DIEA•HCl foram removidos por filtragem através de Solka-flocTM. O bolo de filtro foi lavado com 10 l de tolueno. Os filtros foram

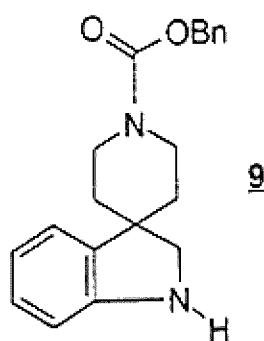
transferidos através de filtro em linha de 10 μ para um extrato de 50 l e lavado com 2 x 7,2 l de 1 M aquoso de HCl e 2 x 7,2 l de água. A mistura foi concentrada a 10 mbares e a temperatura de 25-30°C até 5 l de resíduo permanecer.

5	<u>Tempo de retenção (min)</u>	<u>Área %</u>	<u>Identidade</u>
	2,1	<2	ácido carboxílico 3
	6,6	<1	dímero 21
	8,1	>95	aldeído 5

O teste de rendimento de aldeído 3 foi de 94% pela análises de

10 HPLC.

EXEMPLO 7



CBZ-Espiroindolina (9)

Materiais:

	Piperidina-4-carboxaldeído-1-benzila	1,71 kg (6,89 mol)
15	carbamato (5) em uma solução tolueno	em 21,4 kg
	Fenil-hidrazina	900 ml, 981 g (9,15 mol)
	Ácido trifluoroacético	2,20 l, 3,26 kg (28,6 mol)
	NaBH ₄	300 g, (7,93 mol)
	Tolueno	34,4 kg
20	MeCN	7,0 l
	MeOH	7,0 l

A solução de aldeído bruto 5 da etapa anterior foi transferida através de 10 μ filtro em linha para um reator 100 l equipado com bobina de

cobre revestidas com teflon para resfriamento ou aquecimento e um agitador mecânico. Tolueno (34,4 kg) e MeCN (7 l) foram adicionados, e a solução resultante foi resfriada a 0°C. Fenil-hidrazina foi adicionada em porções e a temperatura mantida a -1 a 3°C enquanto nitrogênio foi continuamente borbuhlado através a mistura de reação.

A fenil-hidrazina foi adicionada até análises de TLC e HPLC indicarem completo consumo do aldeído 5 e a aparecimento de um excesso leve (<5%) de fenil-hidrazina. As condições TLC: Silica, E. Merck Kieselgel G60 F254 0,25 mm; éter dietílico/pentano (4/1); e agente de revelação 0,5% de sulfato cérico; 14% de molibdato de amônio em 10% de ácido sulfúrico aquoso então calor; R_f : aldeído 5 = 0,52, fenil-hidrazona 7 = 0,61, fenil-hidrazina 6 = 0,21.

As condições de HPLC: 25 cm de coluna DuPont Zorbax RXC8 a 30°C com 1,0 ml/min e detecção a 254 nm; esquema de gradiente:

Tempo (min)	acetonitrila:água
0	57:43
10	65:35
15	75:25
18	75:25

tempos de retenção: fenil-hidrazina 6 = 4,5 min, tolueno = 7,2 min, fenil-hidrazona 7 = 11,4 min.

A mistura de reação foi envelhecida durante 30 min a 0-2°C, e TFA foi adicionado mantendo a temperatura abaixo de 2 e 7°C. A mistura de reação foi aquecida a 50°C durante 30 min, e mantida durante 17 h. A purga de nitrogênio através a mistura de reação foi parada e um fluxo lento de nitrogênio foi mantido durante a mistura de reação. Durante a primeira hora a 5°C, a cor gradualmente escureceu a um verde profundo, e uma quantidade relativamente pequena de um precipitado cristalino branco (trifluoroacetato de amônio) se formou. Após 17 h, análises de HPLC (as mesmas condições

como acima) indicam que a mistura de reação continha 91,6 área % indoleucina 8 e 1,5% de não reagida fenil-hidrazona permaneceu. Envelhecimento da mistura durante períodos mais longos de tempo não aumentaram o rendimento de teste de indolenina 8.

5 A mistura de reação foi resfriada a 12°C, e 7,0 l de MeOH foram adicionados. O NaBH₄ foi adicionado em porções pequenas (<20 g) mantendo a temperatura abaixo de 15°C. A adição levou 30 minutos. A evolução de hidrogênio moderada foi observada durante a adição, mas foi facilmente controlada e não havia virtualmente nenhuma espumação.

10 Próximo do final da adição, a cor rapidamente trocou de verde para marrom e então laranja brilhante. Uma quantidade pequena (<20 ml) de uma fase mais pesada tinha separado (presumivelmente sais aquosa). A análise HPLC (condições como antes) indicou que toda indolenina 8 foi consumida (área de 90,4 % CBZ-indolina 9); tempos de retenção: indolenina 8 = 7,5 min,

15 indolina 9 = 8,2 min. TLC: éter de etila como solvente, sulfato cérico molibdato de amônia ou 1% de coloração anisaldeído; fatores de retenção: indolenina 8 = 0,18, CBZ-indolina 9 = 0,33.

A troca de cor de verde para laranja corresponde muito de perto ao ponto de fim de reação. A quantidade de NaBH₄ requerida para

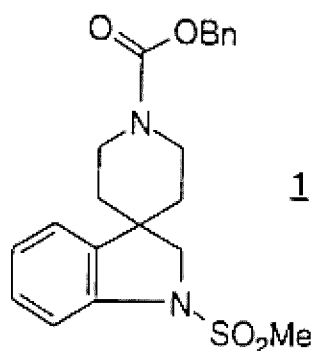
20 completar a reação é fortemente dependente na temperatura e a taxa de adição de NaBH₄, mas o rendimento e qualidade do produto são virtualmente não afetados desde que a reação esteja completa. A mistura de reação foi resfriada a 5°C durante um período de 30 min. Então 8 l de 3% de NH₄OH aquosa (8 l) foram adicionados para levar o pH da fase aquosa a 7,4, a

25 mistura foi agitada, e deixada ficar. A temperatura subiu a 15°C. A fase aquosa inferior de amarelo turvo foi separada. A fase orgânica foi lavada com 4 l de 3% de NH₄OH aquosa, 2 x 4 l de água, e 2 x 4 l de salmoura. O peso da fase orgânica após a lavagem era de 53,5 kg, e o rendimento de teste foi de 94%.

A solução de tolueno lavada foi combinada com as fases orgânicas lavadas de duas outras reações similarmente processadas. O total aldeído usado nas três reações foi de 5,06 kg, (20,5 mol). O peso total de CBZ-indalona 9 testado nas fases orgânicas combinadas foi de 5,91 kg, (18,3 mol, 90% de rendimento de teste). As fases orgânicas combinadas foram secadas com 5 kg de sulfato de sódio, tratadas com 250 g de carbono Darco G60 durante 30 minutos, e filtradas por Solka-floc™. Os filtrados foram concentrados a vácuo a 10 mbares a <25°C até que o resíduo estava quase seco. A troca de solvente foi completada lentamente sangrando em 30 l de IPAC e colocado em concentração a 14 l mbar a 50-60°C. A mistura foi aquecida ao refluxo a fim de obter uma solução laranja profundo homogênea clara. A análise ¹H RMN indicou que a solução continha 6 mol por cento cerca de tolueno residual após a extração do solvente.

A solução foi resfriada a 68°C e semeada com 4 g de CBZ-indolina 9 cristalina. A solução foi deixada gradualmente resfriar a 2°C durante 1 hora e envelhecida a 2°C durante 1 hora. O produto foi isolado em filtragem, e o bolo de filtro foi lavado com 2 x 2 l de 5°C de IPAC e 2 x 2 l de 5°C MTBC. O produto foi secado no forno a vácuo a 30°C sob uma sangria de nitrogênio para dar 4,37 kg (74%) do composto titular 9 como um pó cristalino castanho claro. A análise do produto indicou 99,5 % área % de pureza. O licor mãe (11 l) e as lavagens continham 1,15 kg (19%) do produto adicional 9 e 3% ca de Cbz ácido-isonipecótico fenil-hidrazida (tempo de retenção = 4,8 min.).

EXEMPLO 8



CBZ-espinoindolina-metanossulfonamida (1)

Materiais

	CBZ-espinoindolina (9)	1,69 kg (5,23 mol)
	Cloreto de metanossulfonila	599 g (5,23 mol)
5	Et ₃ N (KF = 151)	635 g (6,27 mol)
	THF (KF=41)	12 l

Um frasco foi carregado com o CBZ-espinoindolina (9) e então 11,5 l de THF e o Et₃N foram transferidos dentro do frasco por um filtro de 10 μ de in-line. A solução homogênea resultante foi resfriada a 0°C.

- 10 Um funil de gotejamento de 1 l foi carregado com o cloreto de metanossulfonila e 500 ml de THF. A solução do MsCl em THF foi adicionada a uma mistura de reação mantendo a temperatura entre 0 e 4°C. A adição levou 5 horas e foi exotérmica. Um precipitado branco, provavelmente hidrocloreto de trietilamônia se formou durante a adição. A análise HPLC
- 15 indicou que a reação estava completa ao final da adição (9 não era detectável).

Condições HPLC: 25 cm coluna DuPont Zorbax RxC8 com fluxo de 1,5 ml/min e a detecção a 254 nm. Relação de gradiente:

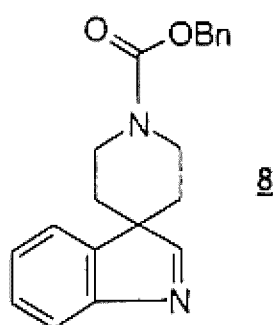
	<u>Tempo (min)</u>	<u>0,1% aq. H₃PO₄:MeCN</u>
20	0	70:30
	3	70:30
	12	20:80
	25	20:80

Tempos de retenções: 9 = 7,6 min, 1 = 13,6 min.

Após a adição estar completa, a mistura de reação foi aquecida a 18°C e envelhecida durante 16 horas. Não havia nenhuma mudança na aparência da mistura de reação, e o perfil de HPLC entre o final da adição e após as 16 horas de envelhecimento. A mistura de reação foi lentamente transferida mais de duas horas em uma solução vigorosamente agitada de 30 l de água e 200 ml de 37% de HCl aquoso em um frasco de 50 L. A temperatura no frasco de 50 l elevou de 22 a 28°C. O produto separou como um sólido castanho pálido semelhante a pasta, que mudou a um sólido granular. A suspensão aquosa foi resfriada a 22°C e envelhecido durante 1 hora. A suspensão foi filtrada, e o bolo de filtro foi lavado com 2 x 4 l de MeOH/água (50/50). A análise indicou que <0,1% da CBZ-espiroindolina-metanossulfonamida 1 estava em licores mãe..

O bolo de filtro foi lavado com 4 l de MeOH/água (50/50) para qual 50 ml de 28% de NH₄OH aquoso foi adicionado. O bolo de filtro foi lavado com 2 x 4 l de MeOH/água (50/50), e o sólido foi secado no forno a vácuo a 50°C sobre sangria de nitrogênio para dar 2,03 kg (97%) do produto titular 1 como um pó de branco indefinido. A análise HPLC dos sólidos indicou 93,7 de área % 1.

20 EXEMPLO 9



Procedimento opcional para isolamento intermediário

CBZ-espiroindolenina (8)

Materiais:

	Carbamato de piperidina-4-carboxaldeído-1-benzila	12,37 g (0,050 mol) (5)
	Fenil-hidrazina	5,41 g (0,050 mol)
	Ácido trifluoroacético (TFA)	11,56 ml, 17,10 g (0,150 mol)
5	Cloreto de metileno	500 ml

O CBZ-aldeído 5 foi dissolvido em diclorometano em um frasco de 1 l equipado com barra de agitação magnética revestida com Teflon. A solução resultante foi resfriada a 0°C. Fenil-hidrazina foi adicionada por uma seringa pesada mais de cinco minutos e a temperatura foi mantida a -1 a 3°C enquanto o nitrogênio foi continuamente borbulhado através da mistura de reação. As análises TCL e HPLC indicaram uma consunção completa do CBZ-aldeído 5 e o aparecimento de um excesso leve (<2%) de fenil-hidrazina. Condições TLC: sílica, E. Merck Kieselgel G60 F254 0,25 mm; éter de dietila/pentano (4/1); e agente em desenvolvimento de 0,5% de sulfato cérico, 14% de molibdato de amônia em 10% de ácido sulfúrico aquoso então aquece; R_f : aldeído 5 = 0,52, fenil-hidrazona 7 = 0,61, fenil-hidrazina 6 = 0,21. Condições HPLC: 25 cm coluna DuPont Zorbax RXC8 a 30°C com fluxo de 1,0 ml/min e a detecção a 254 nm; esquema de gradiente:

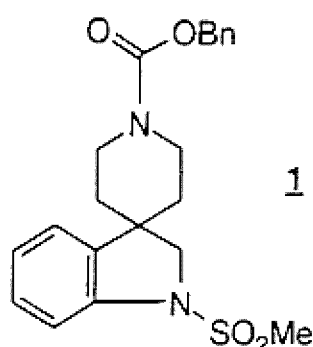
20	<u>Tempo (min)</u>	<u>acetonitrila:água</u>
	0	57:43
	10	65:35
	15	75:25
	18	75:25

25 Tempos de retenções: fenil-hidrazina 6 = 4,5 min, tolueno = 7,2 min, fenil-hidrazona 7 = 11,4 min.

A mistura de reação foi envelhecida durante 10 minutos a 0-2°C, e TFA foi adicionado por seringa mantendo a temperatura entre 2 e 7°C. A mistura de reação foi aquecida a 35°C mais de 30 minutos, e mantida

durante 17 horas. O nitrogênio borrifado pela mistura de reação foi parada e uma corrente de nitrogênio foi mantida sobre a mistura de reação. Durante a primeira hora a 35°C, a cor escureceu gradualmente então a um cor de rosa rosado para um verde profundo, e uma quantidade relativamente pequena de um precipitado cristalino branco (trifluoroacetato de amônia) se formou. Após agitar durante 17 horas, a análise HPLC (as mesmas condições como acima) indicou que a mistura de reação continha área de 93 % indolenina 8 e <0,5% de fenil-hidrazona não reagido, permaneceu. Envelhecendo a mistura durante um longo período de tempo, não aumentou o rendimento de teste de indolenina 8. A mistura de reação foi resfriada a 10°C, e uma mistura continha 60 ml de 28-30% de hidróxido de amônia, 90 ml de água e 150 g de gelo esmagado foram adicionados com boa agitação. A cor da mistura mudou para salmão. A fase orgânica foi separada e lavada duas vezes com 400 ml de água então 100 ml de NaCl aquoso saturado. A fase orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio e filtrada por um tampão de 5 g de sílica. O filtrado foi evaporado para dar 15,84 g (99%) de indolenina 8 como um óleo laranja pálido.

EXEMPLO 10



Procedimento para a Preparação de CBZ-espiroindolina-metanossulfonamida (1) sem isolamento de intermediário CBZ-espiroindolina (9)

Etapa 1: CBZ-espiroindolina (9)

Materias:

Carbamato (5) de piperidina-4-carboxaldeído-1-benzila 49,5 g (0,20 mol)

	Fenil-hidrazina (Aldrich)	23,7 g (0,20 mol)
	Ácido trifluoroacético (TFA)	75,4 g (0,56 mol)
	Tolueno (KF < 250 mg /l)	654 ml
	MeCN (KF < 250 mg /l)	13,3 ml
5	NaBH ₄	11,3 g (0,30 mol)
	Tolueno	20 ml
	MeOH	50 ml

Uma solução de 2% (em volume) de MeCN em tolueno foi feita usando 654 ml de tolueno e 13,3 ml de MeCN. Em um frasco 2 L, 3 gargalos, equipado com um agitador mecânico de 617 ml da solução acima foram desgaseificados passando uma corrente fina de nitrogênio pela solução durante 5 min. Fenil-hidrazina e TFA foram adicionadas a uma mistura enquanto ainda desgaseificando.

O CBZ-aldeído 5 foi dissolvido no resto da solução preparada acima (50 ml) e desgaseificado por borbulhação de nitrogênio através da solução enquanto no funil de adição. A solução no frasco foi aquecida a 35°C, e a solução de aldeído foi lentamente adicionada a fenil-hidrazina-TFA mais de 2 horas. A mistura foi envelhecida a 35°C durante 16 horas.

Condições de HPLC: 25 cm coluna DuPont Zorbax RXC8 a 50°C com fluxo de 1 ml/min e a detecção a 220 nm; isocrático 55% MeCN, 45% de 0,1% de H₃PO₄ aquoso. Lista HPLC típica após 16 horas de envelhecimento:

	<u>Tempo de retenção (min)</u>	<u>Área %</u>	<u>Identidade</u>
	1,6	0,1-0,5	fenil-hidrazina 6
25	4,1	<0,1	dímero 21
	4,7	<0,1	aldeído 5
	5,0	NA	espiroindolina 9
	6,3	NA	tolueno
	6,9	97	espiroindolenina 8

10,3	<0,2	fenil-hidrazona 7
	2-3 tot.	outras impurezas <0,2% ea.

A mistura foi resfriada a -10°C e o MeOH adicionado. Uma suspensão de boroidreto de sódio em 20 ml de tolueno foi adicionada em porções pequenas (1 ml) mais de 30 min tendo cuidado que a temperatura não exceda -2°C.

	<u>Área %</u>	<u>Identidade</u>
	0,1-1	fenil-hidrazina 6
	85-90	CBZ-espiroindolina 9
10	<0,1	CBZ-espiroindolenina 8
	10-15 tot.	outras impurezas (<3% ea.)

A temperatura foi elevada a 10°C mais de 1 hora, e 6% de amônia aquosa (200 ml) foram adicionados. A mistura foi agitada durante 10 minutos, deixado assentar durante os outros 10 minutos, e a fase aquosa inferior foi retirada. A acetonitrila (20 ml) e MeOH (20 ml) foram adicionados a uma fase orgânica e lavadas com 150 ml a 15% de salmoura. A fase orgânica foi verificada como contendo 92% rendimento de teste de CBZ-espiroindolina 9.

Etapa 2: CBZ-espiroindolina-metanossulfonamida (1)

20 Materiais:

CBZ-espiroindolina (9) (PM = 322,51)	(0,184 mol)
Cloreto de metanossulfonila	21,1 g (0,184 mol)
DIEA (KF = 150 mg /l)	29,7 g, 40,1 ml (0,230 mol)
THF (KF = 41 mg /l)	150 ml

25 A solução bruta da solução CBZ-espiroindolina da Etapa 1 acima foi concentrada em um frasco de gargalo de 1L 3 (60-70°C, 150-200 Torr) até 250 g do resíduo permanecer. THF e DIEA foram adicionados, e a solução homogênea resultante foi resfriada a 0°C. Um 125 ml de gotas no funil foi carregado com o cloreto de metanossulfonila e 50 ml de THF. A

solução de MsCl em THF foi adicionada mais de 2 horas a uma mistura de reação mantendo a temperatura entre 0 e 4°C e a mistura foi envelhecida durante 2 horas a 5-8°C. A adição levou 5 horas e foi exotérmica. Um precipitado branco, provavelmente hidrocloreto-DIEA, se formou durante a adição. As condições HPLC foram as mesmas como acima. A análise HPLC indicou que a reação foi completa 1 hora após o final da adição (o 9 não era detectável) e o rendimento de teste foi de 94% de 9. Tempo de retenção: 1 = 7,8 min. Lista HPLC típica da mistura de reação após 2 hora de envelhecimento:

10	<u>Área %</u>	<u>Identidade</u>
	<0,1	CBZ-espiroindolina 9
	90-92	CBZ-sulfonamida 1
	8-10	outras impurezas (<2% ea.)

A mistura foi aquecida a 20°C, e 200 ml de 1M de HCl aquoso foi adicionado. A mistura foi aquecida a 50°C, e a fase aquosa foi separada. A fase orgânica foi lavada sequencialmente com 100 ml de água, 100 ml de 5% de bicarbonato de sódio aquoso, e 100 ml de água. A fase orgânica foi transferida a um frasco de gargalo de 1 l 3 equipado para agitação e destilação mecânica. A mistura (ca 400 ml) foi destilada a pressão atmosférica até 150 ml do destilado que foi coletado. A temperatura de topo alcançou 107°C; a temperatura de vaso era de 110°C. A destilação foi continuada com adição contínua de n-propanol a tal uma taxa como manter um volume constante (ca 350 ml) no vaso. A destilação foi parada quando um total de 525 ml de n-PrOH foi adicionado e um total de 800 ml do destilado foi coletado.

A temperatura de tanto o topo como do vaso se elevou de 94°C a 98°C durante a troca do solvente. O tolueno e n-PrOH de um azeótropo e fervendo a 97,2°C composta de 47,5% de tolueno e 52,5% de n-PrOH. A mistura foi deixada esfriar gradualmente a 20°C mais de 3 horas e

envelhecido durante 12 horas. O licor mãe foi verificado como contendo 2% de tolueno e 4 mg/ml de sulfonamida. A solubilidade da sulfonamida em várias misturas de tolueno e n-PrOH foi determinada pelo teste HPLC:

<u>%tolueno em n-PrOH</u>	<u>Solubilidade de 1 em mg/ml</u>
0	2,36
5	3,02
10	4,23
20	7,51
25	10,3

10 A suspensão cristalina foi filtrada e lavada com 3 x 100 ml de n-PrOH. O produto foi secado em um forno a vácuo a 50°C com uma sangria de nitrogênio durante 16 horas para fornecer 65,5 g (82 % de aldeído 5) de 6 como um sólido castanho com 93,5% em peso de pureza.

Lista de HPLC típico de sólido:

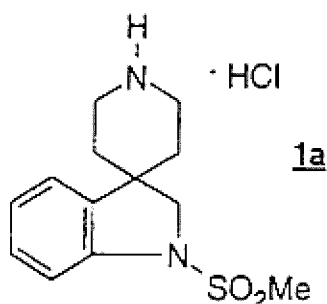
<u>Área %</u>	<u>Identidade</u>
<0,1	CBZ-espiroindolina 9
>99	CBZ-sulfonamida 1
<10 tot.	outras impurezas (<0,2% ea.)

20 Para purificação adicional, uma amostra de 40,0 g de n-PrOH sulfonamida cristalizada foi dissolvida em 134 ml de EtOAc a 60°C e tratada com 8,0 g de carbono Darco G-60 durante 1 hora a 60°C. Após a adição de 2,0 g Solkafloc™, e a suspensão foi filtrada através de um chumaço de 4,0 g Solkaflac™ e o chumaço foi lavado com 90 ml de EtOAc a 60°C. Antes da
25 adição do carbono a solução era de uma cor marrom. A filtração prosseguiu bem sem tampar para dar um filtrado amarelo dourado. O filtrado foi destilado a pressão atmosférica em um frasco de 500 ml (temperatura de vaso 80-85°C) até 100 g (100 ml) de resíduo permanecido. Esta solução foi deixada esfriar a 35°C mais de 3 horas. Durante um período de 1 hora, 116 ml de ciclo-hexano foram adicionados com boa agitação a 35°C. A mistura

foi resfriada a 20°C em cima de 1 hora e envelhecido a 20°C durante 12 horas. A 35°C mais da sulfonamida foi cristalizado fora e a mistura era espessa. A adição de ciclo-hexano a 20°C faz agitação difícil. Depois do período de envelhecimento, o sobrenadante foi verificado conter 2,5 mg l/g.

5 A suspensão cristalina foi filtrada e o bolo foi lavado com 77 ml de 2:1 ciclo-hexano-EtOAc e 2 x 77 ml de ciclo-hexano. O produto foi secado em um forno a vácuo a 50°C com uma sangria de nitrogênio durante 16 horas para dar 34,2 g de 1 (PM = 400,3) como um sólido cristalino branco (85 % de recuperação do bruto 1, 70% de 5 com >99,9 % em peso de pureza).

10 EXEMPLO 11



Sal HCl de espiroindolina-metanossulfonamida (1a)

Materiais:

	CBZ-espiroindolina-metanossulfonamida (1)	941 g (2,35 mol)
	Catalisador de Pearlman 20% Pd(OH) ₂ /C	188 g
15	THF	8 l
	MeOH	7 l

O catalisador foi colocado em suspensão em 7 l de MeOH e transferido no autoclave de 22,5 litros pela adição de 1 em 8 l de THF. A mistura foi hidrogenada a 25°C a 5,62 kg/cm² de H₂. Após 2,5 horas a temperatura foi elevada a 35°C durante 30 minutos.

20

A análise HPLC indicou consumo completo de Cbz-espiroindolina-metanossulfonamida. Condições HPLC: 25 cm coluna DuPont Zorbax RXC8 com fluxo de 1,5 ml/min e a detecção a 254 nm. Esquema de

gradiente:

<u>Tempo (min)</u>	<u>0,1% aq. H₂PO₄:MeCN</u>
0	70:30
3	70:30
5 12	20:80
25	20:80

Tempos de retenções: espiroindolina = 7,6 min,

Cbz-espiroindolina-metanossulfonamida = 13,6 min.

A mistura foi purgada com nitrogênio e o catalisador foi removido pela filtragem através de Solka-floc™ enquanto ainda quente. O catalisador foi lavado com 4 l de THF e 2 l de MeOH. O catalisador foi lavado com 4 l de THF e 2 l de MeOH. Os filtrados de amarelo pálido foram concentrados a um óleo espesso a 10 mbar e <25°C. A troca de solvente foi completada sangrando lentamente em 15 l de EtOAc e colocada em concentração até secura. O resíduo solidificou a uma massa branca dura indefinida. MeOH (1,5 l) foi adicionado e a mistura aquecida a 70°C para dar uma solução homogênea. Enquanto a solução estava a 70°C, 10,5 l de EtOAc a 20°C foi adicionado. A temperatura caiu a 40°C, e a mistura permaneceu homogênea.

Experiências subsequentes sugerem que é mais conveniente a troca de solvente dos filtrados MeOH-THF para MeOH, concentrar ao volume desejado, e então adicionar o EtOAc. Isto evita a solidificação do resíduo sob a concentração da solução EtOAc.

O cloreto de hidrogênio diluído com cerca de um volume igual do nitrogênio foi passado na solução. A temperatura se elevou de 60°C durante um percurso de 15 minutos, e um precipitado branco do sal de hidrocloreto se formou. Diluindo o HCl com nitrogênio somente evita que a mistura de reação faça uma retro-sucção e pode não ser necessária.

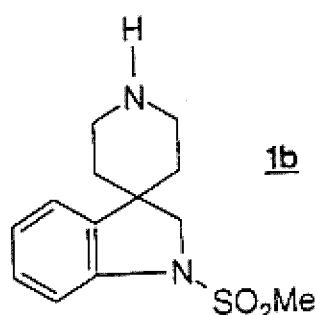
A mistura foi resfriada em um banho a gelo, e a adição do

cloreto de hidrogênio foi continuada durante 1 hora. A temperatura gradualmente caiu a 20°C. A suspensão foi envelhecida durante 2 horas enquanto a temperatura foi abaixada a 10°C. O produto cristalino foi isolado pela filtragem, e o bolo de filtro foi lavado com 3 l de EtOAc. Foi secado no
5 forno a vácuo a 35°C para dar 1,18 kg (86%) do produto titular 1a como um sólido cristalino branco indefinido de >99,5 área % pureza pela análise HPLC.

Condições HPLC: 25 cm coluna DuPont Zorbax RXC8 com fluxo de

10 1,5 ml/min e a detecção a 230 nm; isocrático 35% MeCN, 65% de 0,1% de acetato de amônia aquosa. Tempo de retenção: 1a = 5,4 min.

EXEMPLO 12



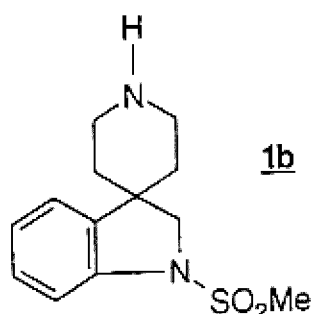
Espiroindolina-metanossulfonamida (Forma de base livre) (1b)

Uma alíquota de 250 ml do filtrado de Cbz-hidrogenólise
15 contendo 4,67 g de 1B (base livre) foi concentrada a cerca de 10 ml. O resíduo foi dissolvido em 20 ml de EtOAc e a solução foi colocada em concentração a cerca de 10 ml. Isto foi repetido mais de uma vez, e 10 ml de EtOAc foi adicionado ao resíduo. Um precipitado cristalino começou a formar. MTBE (20 ml) foi adicionado em uma porção. O sólido cristalino
20 adicional precipitou, mas o sobrenadante ainda contendo uma quantidade substancial de produto dissolvido o qual não precipitou no estabelecido. Os hexanos (70 ml) foram adicionados em gotas mais de 2 horas a uma mistura com agitação vigorosa. A adição lenta dos hexanos é necessária para evitar a

formação de óleo fora da amina.

A mistura agitada foi envelhecida durante 1 hora e filtrada. O bolo de filtro foi lavado com 20 ml de 1:1 MTBE-hexanos e então com 20 ml de hexanos. O produto foi secado sobre uma corrente de nitrogênio para dar
 5 3,86 g (82%) da amina isenta de 1b como um sólido cristalino branco indefinido de >99,5% de área de pureza. As condições HPLC: 25 cm coluna DuPont Zorbax RXC8 com fluxo de 1,5 ml/min e a detecção a 230 nm; isocrático 35% MeCN, 65% de 0,1% de acetato de amônia aquosa. Tempo de retenção: 1b = 5,4 min.

10 EXEMPLO 13A



Espiroindolina-metanossulfonamida (Forma de base livre) (1b)

Materiais:

	CBZ-espiroindolina-sulfonamida (1)	833,5 gr (2,08 mol)
	Pd(OH) ₂ /C(20% em peso de Pd(OH) ₂)	124,5 (15%)
15	THF	6,5 l
	MeOH	19,5 l
	NH ₄ OH(conc)	60 ml

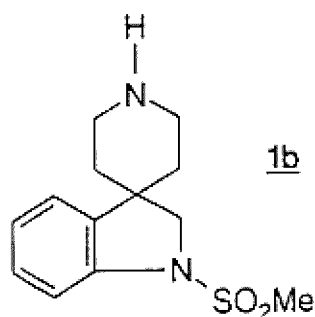
A hidrogenação foi ciclada três (3) vezes devido as limitações de equipamento; este procedimento refere-se a um único ciclo. O CBZ espiroindolina sulfonamida I foi dissolvido em THF (6,5 L, KF = 53 µg/µl) e
 20 então MeOH (KF=18 µg/ml, 4L) foi adicionado seguido pela adição do catalisador e a suspensão foi transferida a um autoclave de 22,5 litros. O restante do MeOH (2,5 l) foi usado para enxaguar. A mistura foi aquecida a

40°C a 3,51 kg/cm² durante 24 horas. O catalisador carregando e o tempo de reação são uma função de pureza do material de partida 1. Este material foi singular requerendo ≥ 15% do catalisador e o tempo de reação longa. As bateladas mais puras de espiroindolina só requereram 5% do catalisador e 4-6
5 horas de tempo de reação.

Ao completar (<0,1 A% l em LC), a mistura foi filtrada através de Floc™ e o bolo de carbono lavado com MeOH (13 l) contendo NH₄OH (0,5%, 60 ml). Os filtrados combinados (o teste mostra 1587 g de espiroindolina amina 1b) foram concentrados em vácuo e os sólidos
10 resultantes foram divididos entre 40 l (de tolueno:THF (3:1) e 0,5N NaOH (18 l). Embora as camadas separaram facilmente, um precipitado pesado pode ser visto na camada aquosa. A suspensão aquosa foi assim extraída com CH₂Cl₂ (15 l). A camada orgânica e aquosa separaram lentamente. Antes da
15 adição de CH₂Cl₂, o THF foi adicionado a uma camada aquosa junto com bastante NaCl para saturar a camada. No entanto, a dissolução do produto não foi alcançado que necessitou o uso de CH₂Cl₂.

O tolueno combinado, as camadas THF e CH₂Cl₂ foram combinadas e concentradas no concentrador de batelada. O resíduo foi enxaguado com 7 l de CH₃CN. Finalmente 10 l de CH₃CN foram adicionados
20 e a solução permaneceu durante a noite sob atmosfera de N₂.

EXEMPLO 13B



Espiroindolina-metanossulfonamida (Forma de base livre) (1b)

Materiais:

	CBZ-espiroindolina-sulfonamida (1)	3 kg (7,49 mol)
	Darco G-60	600 g
	Acetato de etila	36 l
	Etanol absoluto	189 l
5	10% Pd/C	450 g
	Solução de amônia	500 ml
	Solka Floc™	2,5 kg
	Acetato isopropila	65 l

Uma mistura de CBZ-espiroindolina 91) (1 kg) e Darco G-60
 10 (200 g) em acetato de etila (9 l) foi agitada e aquecida a 60-65°C sob uma
 atmosfera de hidrogênio durante 8 horas. O Darco foi removido pela
 filtragem a 60-65°C, o sólido lavado com acetato de etila quente (3 l) e o
 filtrado e lavagens combinadas. O LC peso/peso teste confirmou perda
 desprezível para o Darco. A solução acetato de etila foi evaporada até secura
 15 in vácuo usando um aparelho de 20 l Buchi e então enxaguado com etanol
 absoluto (2 x 5 l). Este material foi então suspenso em etanol absoluto (8 l)
 aquecido a 65-70°C e colocado no autoclave 20 L. A batelada foi enxaguada
 com etanol absoluto (1 l). Uma suspensão de 10% de paládio em carvão (75
 g, 7,5% em peso) em etanol absoluto (750 ml) foi então adicionado para o
 20 autoclave e enxaguado em com uma porção adicional de etanol absoluto (250
 ml).

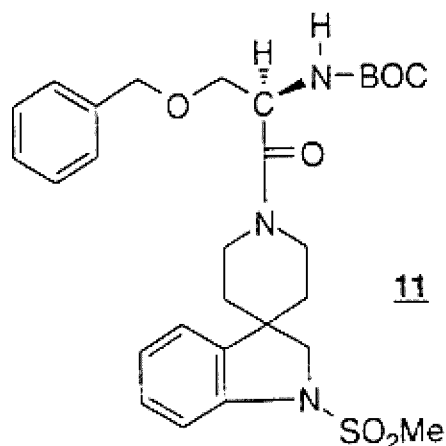
A batelada foi hidrogenada a 65°C com agitação vigorosa
 sob 2,81 kg/cm² de pressão de hidrogênio durante 3 horas, uma segunda
 porção de 10% de paládio em carvão (75 g) foi adicionada, a batelada foi
 25 hidrogenada para um adicional de 2 horas e então selado durante a noite. A
 batelada foi transferida (ainda quente, 60-65°C) a um aparelho de Buchi e
 desgaseificada in vácuo para remover o ácido fórmico por etanol absoluto
 "alimentado e sangrado" (18 l total).

Este procedimento foi repetido duas vezes mais e as três

bateladas foram combinadas em um vaso de vidro forrada de 4,5 litros e a
batelada combinada foi desgaseificada outra vez pela adição e destilação (in
vácuo) do etanol absoluto (2 x 10 l). Solka flocc™ (0,5 kg) foi adicionado a
batelada e enxaguada com etanol (10 l). Um filtro Estrella foi carregado com
5 Solka flocc™ (2 kg) como uma suspensão em etanol (20 l). A mistura
resultante foi aquecida a 60-65°C e então transferida a esta temperatura via
filtro aquecido usando uma bomba de duas caixas de aço inoxidável. O vaso
inicial, o filtro, a bomba e as linhas foram enxaguadas com uma mistura
quente (60-65°C) de amônia aquosa (500 ml) em etanol absoluto (25 l). Os
10 filtrados e lavagens foram combinadas em duas caixas de aço inoxidável.

A batelada foi então transferida para um vaso usando um
filtro em linha contendo um cartucho de 10 micron, e então concentrado in
vácuo a um bruto inferior (~15 l). O etanol foi substituído por acetato de
isopropila pelo "alimentado e sangrado" de 3x de volumes de grupo de
15 acetato de isopropila (45 l total), enquanto mantendo um volume de grupo de
~15 L. A troca de solvente quando completa, continha <1% de etanol
residual por GC. O volume foi então diluído a ~33 l pela adição de acetato de
isopropila (20 l), e esta solução de espiroindolina-amina 1b (1,855 kg pela
análise LC) em acetato de isopropila foi usado para a próxima fase do
20 processo.

EXEMPLO 14A

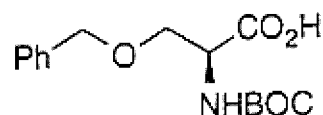


Boc-O-benzilserina espiroindolina (11) Materiais:

Espiroidolina-amina (1b) 1587 g (5,966 moles)

Aminoácido (10) 1938 g (6,563 moles)

5



DCC 1334,5 g (6,563 moles)

HOBT 884 g (6,563 moles)

10 CH₃CN 25 l

0,5N NaOH 18 l

0,5N HCl 18 l

NaHCO₃ sat. 18 l

iPrOAc 28 l

15 A espiroidolina-amina 1b em CH₃CN ou iPrOAc:H₂O (25 l) a temperatura ambiente sob N₂ foi tratado na sequência com HOBT (884 g; 1,1 eq) como um sólido, DCC (1334,5 g, 1,1 eq) como a fusão (aquecimento em água quente a 60°C durante cerca de 1 hora) e finalmente o aminoácido 10 (1938 g) como o sólido. A mistura foi agitada durante 3 horas sob o qual o

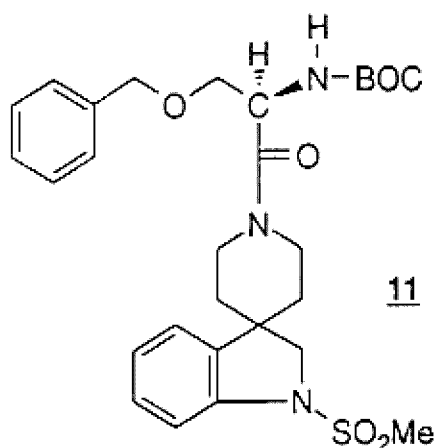
20 tempo de precipitação pesado de DCU ocorreu e a análise LC mostrou cerca de 0,5% A% de amina 1b restante. IPAc (9 l) foi adicionada, a suspensão foi filtrada através de Solka Floc™ e o bolo foi lavado com IPAc (19 l). A solução orgânica combinada foi lavada na sequência com 0,5N NaOH (18 l), 0,5N HCl (18 l) e NaHCO₃ saturada (18 l). Uma lavagem de água final neste

25 momento resultou em uma emulsão e foi assim eliminado.

A camada orgânica foi concentrada in vácuo e o resíduo foi dissolvido em MeOH ou EtOAc (10 l de volume final). Rendimento de teste 3026 gr (89%). O uso de agentes de copulação de peptídeo alternativo tal como carbonildiimidazol ou formação de anidridos, tal como sec-butil

carbonato, deu rendimentos inferiores de 11 e/ou 14 com um grau elevado de epimerização no caso do composto anterior. Outros reagentes de copulação peptídeo foram proibitivamente caro.

EXEMPLO 14B



5 Boc-O-benzilserina espiroindolina (11)

Materiais:

	Espiroindolina-amina (1b)	1855 kg (6,96 mol)
	Acetato isopropila	29 l
	diciclo-hexilcarbodiimida (DCC)	1,58 kg (7,65 mol)
10	1-hidroxibenzotriazol (HOBt)	1,03 kg (7,62 mol)
	N-Boc-O-benzil-D-serina	2,26 kg (7,65 mol)
	1M de hidróxido de sódio aquoso	26 l
	0,5M de ácido clorídrico aquoso	26 l
	Carbonato de hidrogênio de sódio aquoso saturado	26 l
15	Etanol absoluto	50 l

A água (20 l) foi adicionada a uma solução agitada da espiroindolina-amina 1b (1,855 kg) em acetato de isopropila (33 l) em um vaso de reação. As seguintes químicas foram então adicionadas sequencialmente a temperatura ambiente sob uma atmosfera de nitrogênio:

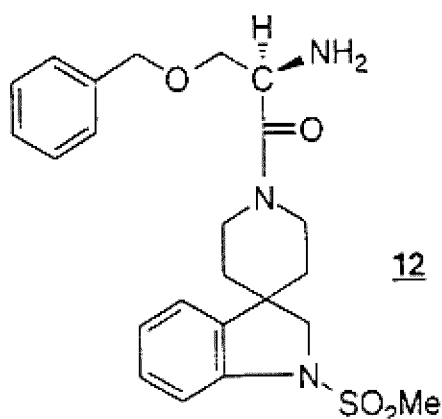
- 20 DCC (1,58 kg, 1,1 equivalentes.), HOBt (1,03 kg, 1,1 equivalentes.) e finalmente N-Boc-O-benzil-D-serina (2,26 kg, 1,1 equivalentes.). Os

reagentes foram enxaguados com acetato de isopropila (7 l). A batelada foi agitada a temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio durante 5 horas quando LC mostrou a relação do produto/material de partida para ter 99,4/0,6. A mistura foi então filtrada através de um filtro Estrella usando apenas pano e papelão e utilizando uma bomba dentro de outra vasilha. O vaso de envio foi enxaguado com acetato de isopropila (22 l) e isto foi usado para enxaguar o filtro, a bomba e as linhas dentro do vaso receptor. A mistura de 2 fases no vaso foi agitada durante 10 minutos e então deixada permanecer durante 15 minutos. A camada aquosa inferior foi separada e a solução orgânica foi deixada permanecer a temperatura ambiente durante a noite.

No próximo dia, a solução orgânica foi lavada com 1M de solução aquosa de hidróxido de sódio (26 l) então 0,5M de ácido clorídrico aquoso (26 l) e finalmente o carbonato de hidrogênio de sódio aquoso saturado (26 l). A análise LC deu um rendimento de teste de 3,787 kg, 93% de rendimento global de 7,49 moles (3 kg) de CBZ-espiroindolina (1) de partida.

A batelada foi concentrada *in vacuo* (temperatura interna = 13-15°C. Temperatura de camisa = 40°C, Vácuo = 29") para o bruto baixo (~15 l) e o solvente trocado para etanol por "alimentação e sangria" etanol (50 l) ainda mantendo o volume a ~15 L. GC mostrou <1% de acetato de isopropila restante. Esta solução foi usada para o próximo estágio do processo.

EXEMPLO 15A



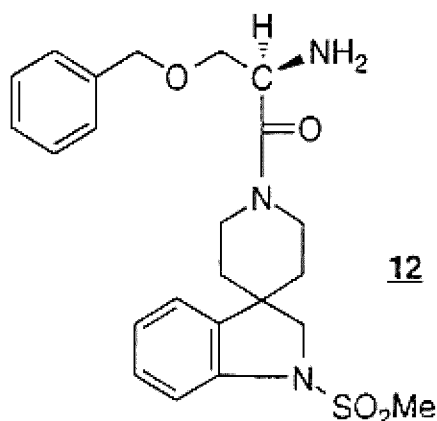
O-benzilserina espiroindolina (forma de base livre) (12)

Materiais:

	Boc-O-benzilserina espiroindolina (11)	3026 g (5,57 moles)
	Ácido sulfônico de metano (MsOH)	1,16 l (17,9 moles)
5	MeOH	10 l
	iPrOAc	24 l
	0,5 N NaOH	35 l

O Boc-O-benzilserina espiroindolina 11 em 10 l de MeOH (ou EtOAc) foi tratado com MsOH limpo (1,16 l) adicionado sobre cerca de 30-
 10 40 min, (temperatura inicial 16°C, temperatura final 28°C). A solução vermelha escura foi envelhecida durante a noite sobre N₂. A mistura foi então bombeada dentro de um extrator de 100 l contendo 24 l iPrOAc e 35 l 0,5 N NaOH. O pH da camada aquosa foi 7. NaOH (6M) foi adicionado até o pH ≥
 15 10,5. Como o pH aumentou a cor trocada do vermelho para amarelo. As camadas foram separadas e a camada orgânica (24 l) foi mostrada por RMN como contendo 13 mole % de MeOH em iPrOAc [5 volumes %]. Teste LC 2,48 kg.

EXEMPLO 15B



O-benzilserina espiroindolina (forma de base livre) (12)

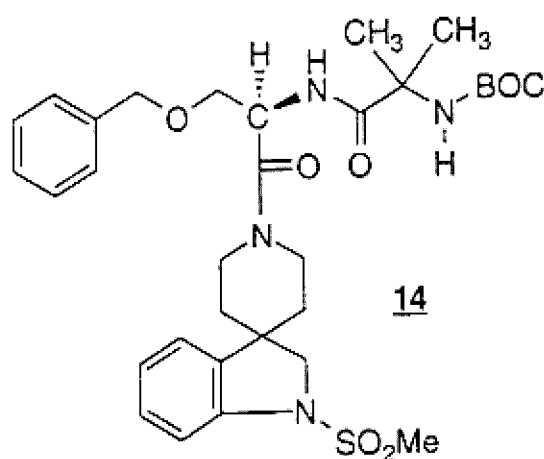
Materiais:

	Boc-O-benzilserina espiroindolina (11)	3787 kg (6,96 moles)
	Ácido metanossulfônico	2,006 kg (20,87 mol)
5	Acetato de isopropila	38 l
	1M de hidróxido de sódio aquoso	16 l
	50% de hidróxido de sódio aquoso	1,6 l

Ácido metanossulfônico (2,006 kg, 1,355 L, ~3 equivalentes.) foi adicionado a uma solução agitada de Boc-O-benzilserina espiroindolina (11) (3,787 kg) em etanol (volume total ~15 l) em um vaso de reação. A batelada foi aquecida a 35-40°C. Após 7 horas, o LC mostrou a ausência do material de partida e a reação foi deixada resfriar a temperatura ambiente durante a noite. O próximo dia, a água (44 l) foi adicionada a batelada com agitação. A batelada foi resfriada a ~5°, agitada durante 30 minutos e então filtrada através de um filtro em linha (carregado com um cartucho de 10µ) dentro de uma caixa. A batelada foi então sugado dentro da vasilha. Uma água enxaguada (10 l) foi usada para enxaguar o vaso e as linhas dentro da caixa e esta foi usada para então retro-enxaguar no vaso. O acetato de isopropila (38 l) foi adicionado seguido por um 1M de hidróxido de sódio aquoso (16 l). A batelada foi resfriada a 10-15°C, o pH da camada aquosa inferior foi confirmado como ~7 e 50% de hidróxido de sódio aquoso foi

adicionado (1,6 l) (pH > 10). A batelada foi agitada a 10-15°C durante 25 minutos e então deixada estabelecer durante 10-15 minutos. A camada aquosa inferior foi separada (78,1 kg). O teste LC indicou 28,4 g de 12 (0,85% de teoria) contido nos licores aquosos. O volume da solução orgânica = 51 L. O teste LC indicou 3,057 kg, 92% de rendimento global de 3 kg, 7,49 moles de CBZ-espiroindolina sulfonamida (1). Esta solução foi usada para a próxima fase.

EXEMPLO 16A



Boc-aminoisobutiril-O-benzilserina espiroindolina (14)

10 Materiais:

Espiroindolina amina (12)	2481 g (5,57 moles)
Aminoácido peptídeo (13)	1247,1 g (6,16 moles)

DCC	1266,7 g (6,16 moles)
HOBT	827 g (6,16 moles)
15 IPAc	52 l
H ₂ O	37 l
0,5N NaOH	36 l
0,5N HCl	36 l

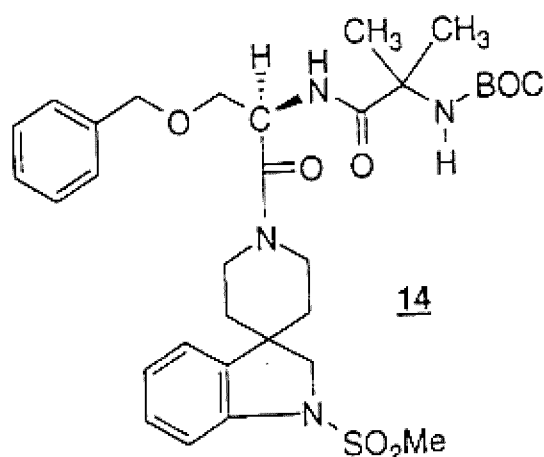
NaHCO₃ sat. 36 l

A solução de amina 12 em IPAc foi diluída a um volume total de 39 l com IPAc e 37 l de H₂O foi adicionado. A mistura bifásica foi então tratada na sequência com HOBT (827 g) como um sólido, DCC (1266,7 g) como uma fusão, e o aminoácido 13 a temperatura ambiente sob nitrogênio. A mistura de reação foi agitada durante 2 horas em qual tempo a análise LC indicou desaparecimento do material de partida 12 (<0,3 A%). A mistura foi filtrada através de Solka Floc™ e os sólidos foram lavados com 13 l de IPAc. O material pode ser armazenado neste ponto como uma mistura bifásica durante a noite.

A mistura foi transferida a um extrator de 100 L, a camada aquosa foi separada e a camada orgânica foi lavada sucessivamente com 36 l de 0,5N NaOH, 0,5N HCl e NaHCO₃ saturada. O rendimento de teste de 3160 g (81% de espiroindolina ± 5% para erro de medida de volume). A solução foi concentrada a um volume pequeno e foi enxaguada com etanol (2 x 4 l). Se desejado, o composto intermediário 14 pode ser isolado pela adição em água para cristalizar o mesmo.

O uso dos agentes de copulação de peptídeos alternativos, como carbonildiimidazol ou formação de anidros misturados, tal como sec-butil carbonato, deu rendimentos inferiores de 14 com um grau elevado de epimerização. Outros reagentes de copulação de peptídeo foram proibitivamente caros.

EXEMPLO 16B



Boc-aminoisobutiril-O-benzilserina espiroindolina (14)

Materiais:

	Espiroindolina-amina (12)	3,057 kg (6,89 mol)
	Diciclo-hexilcarbodiimida (DCC)	1,56 kg (7,56 mol)
5	1-hidroxibenzotriazol (HOBt)	1,02 kg (7,55 mol)
	Ácido de Boc-2-aminoisobutírico (13)	1,54 kg (7,58 mol)
	Acetato de isopropila	32 l
	1M de hidróxido de sódio aquoso	38 l
	0,5M de ácido clorídrico aquoso	38 l
10	Carbonato de hidrogênio de sódio aquoso sat.	38 l
	Etanol absoluto	45 l

Água (49 l) foi adicionada a um solução agitada da espiroindolina amina 12 (3,057 kg) em acetato de isopropila (volume total ~51 l) em um vaso de reação a temperatura ambiente sob uma atmosfera de hidrogênio. Os seguintes químicos foram então adicionados sequencialmente:

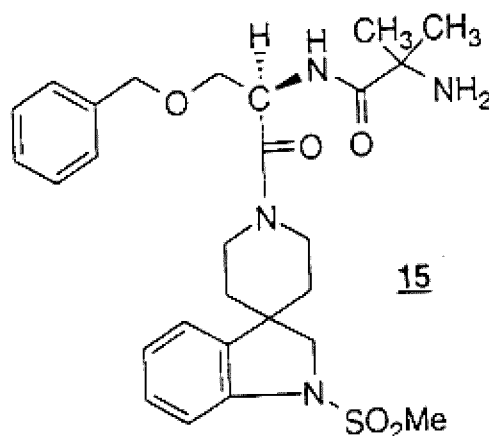
DCC (1,56 kg, ~1,1 equivalentes.), HOBt (1,02 kg, ~1,1 equivalentes.) e finalmente, ácido de N-Boc-2-aminoisobutírico 13 (1,54 kg, ~1,1 equivalentes.). A mistura foi agitada vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas quando o LC mostrou a reação para ser completa. A mistura foi filtrada para outro vaso via um filtro Estrella usando uma bomba. O acetato de isopropila (22 l) foi usado para enxaguar o vaso, o filtro, a

bomba e as linhas dentro do vaso receptor. A mistura de duas fases foi então agitada durante 5 minutos e as camadas foram deixadas separar. A camada aquosa inferior foi separada sem incidente (peso do licor aquoso = 5 l, 1 kg). A solução orgânica foi então lavada sequencialmente com hidróxido de sódio aquoso 1M (38 l), 0,5M de ácido clorídrico aquoso (38 l) e finalmente, carbonato de hidrogênio de sódio aquoso saturado (38 l) sem incidente.

A solução orgânica foi então transferida usando uma bomba via um filtro em linha (contendo um cartucho de 10 μ) a outro vaso para a troca de solvente em etanol. O vaso foi enxaguado com acetato de isopropila (10 l) e isto foi usado para enxaguar a bomba, o filtro e as linhas dentro do vaso receptor. Os filtrados e lavagens foram combinados. O volume total = 75 l (por bastão). Teste LC deu 4,395 kg de Boc-aminoisobutilil O-benzilserina espiroindolina (14), isto é, 93% global de 7,49 moles de partida de CBZ-espiroindolina sulfonamida (1).

A batelada foi concentrada in vácuo para diminuir o volume (~15 l) e o acetato de isopropila trocado a etanol por "alimentação e sangria" de etanol absoluto (45 l total). Ao final da troca de solvente, GC mostrou <1% de acetato de isopropila restante. Esta solução (25 l) contendo 4,395 kg de 14 foi usado para a próxima fase. Se desejado, o composto intermediário 14 pode ser isolado pela adição da água para cristalizar.

EXEMPLO 17A



Aminoisobutiril O-benzilserina espiroindolina (15)Materiais:

	Boc espiroindolina (14)	3160 g (5,03 moles)
	Ácido metanossulfônico (MsOH)	979 ml (15,1 moles)
5	EtOH	6,2 l
	H ₂ O	30 l
	1N NaOH	11 l
	EtOAc	26 l
	Darco 60 carbono ativado	1 kg

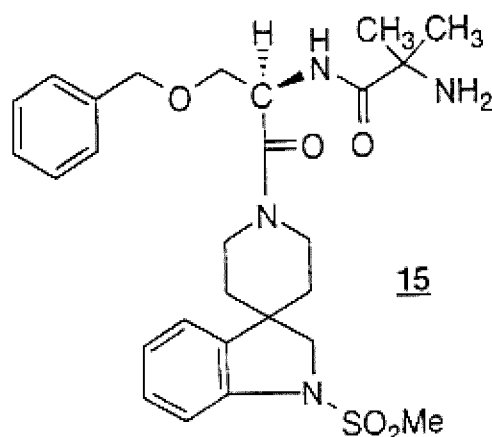
10 Boc espiroindolina 14 foi dissolvida em 6,2 l de EtOH e tratada com MsOH (979 ml). A temperatura se elevou de 20 a 30°C e a reação foi deixada prosseguir durante a noite. Após 12 horas a 20°C era ainda 15 A% de material de partida deixado como a mistura foi aquecida a 35°C durante 6 horas. Ao concluir, (<0,1 A% 14), a reação foi resfriada a 20°C e

15 30 l de H₂O foram adicionados e a solução foi filtrada através de um funil de vidro com um filtro de polipropileno para filtrar o DCU residual. A mistura foi transferida a um extrator 100 l e 26 l de EtOAc foram adicionados. A camada aquosa foi tornada básica via adição de 1N NaOH (11 l) resfriada e 1 l de 50% de NaOH. A adição de gelo foi requerida para manter a temperatura

20 abaixo de 14°C. As temperaturas mais elevadas resultaram nos problemas de emulsão significantes.

A camada orgânica foi destilada a 50°C a 21" cerca de Hg até KF <1000 µg/ml. KF inferior resulta em tratamentos de carbono mais eficientes e melhor recuperação a uma etapa de formação de sal. KF's de 160

25 µg/ml foram alcançados a uma escala de 700 g. A solução foi diluída com acetato de etila a um volume total de 31 l (teste LC 2,40 kg). O carbono ativado (Darco G-60) foi adicionado e a mistura foi agitada durante 24 horas. A mistura foi filtrada através de Solka Floc™ e o bolo de filtro foi lavado com acetato de etila (16 l), teste 2,34 kg.

EXEMPLO 17BAminoisobutiril O-benzilserina espiroindolina (15)Materiais:

	Boc espiroindolina (14)	4.395 kg (6,99 mol)
5	Ácido metanossulfônico	2,017 kg (20,99 mol)
	Acetato de etila	185 l
	Hidróxido de sódio aquoso 1M	16 l
	50% de hidróxido de sódio aquoso	2,6 l
	Darco G-60	900 g
10	Solka Floc™	2,5 kg

O ácido metanossulfônico (2,017 kg, 1,36 l, ~3 equivalentes.) foi adicionado a uma solução agitada do Boc espiroindolina 14 (4,395 kg) em etanol (volume total ~25 l) no vaso de reação a temperatura ambiente. A batelada foi aquecida a 35-40°C, e agitada durante a noite, No próximo dia, a batelada continha ~1,1 A% de material de partida e como a reação foi continuada durante mais 4 horas, então o LC mostrou a relação de produto/material de partida como tendo 99,6/0,4. A batelada foi concentrada *in vácuo* em ~15 l de volume e então diluído com água (44 l). A batelada foi resfriada a 5°C, agitada durante 30 minutos e então filtrada através de um filtro em linha Sparkler (contendo um cartucho de 10µ) usando uma bomba para outro vaso para remover uma quantidade pequena de DCU residual.

O vaso, a bomba, o filtro e as linhas foram enxaguadas com água (10 l), e isto foi adicionado a um vaso. O acetato de etila (36 l), foi adicionado a um vaso e a mistura agitada foi resfriada a 10°C. Uma solução de 1M de solução hidróxido de sódio aquoso fria (5-10°C) (16 l) e 50% de
5 solução de hidróxido de sódio aquosa fria (5-10°C) (2,6 l) foram adicionados a 10°C e a temperatura se elevou a 14°C. A mistura resultante foi agitada durante 15 minutos a <14°C e então a camada aquosa inferior separou.

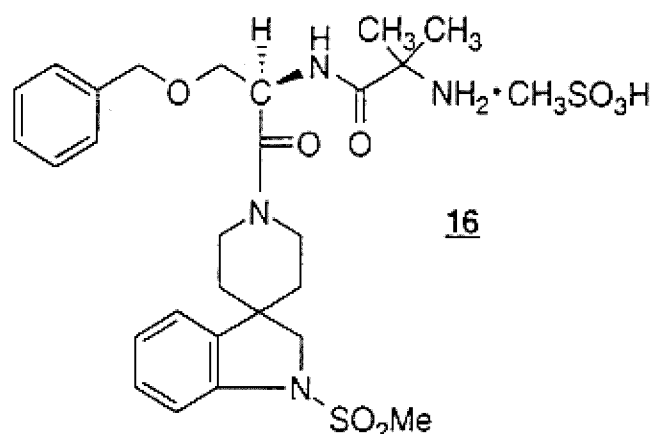
A batelada foi concentrada in vácuo para ~20 l de volume e então uma mistura de acetato de etila (35 l) e etanol (5 l) foi alimentada
10 enquanto mantendo o volume a ~20 L. Após o final desta destilação o KF foi 9160 mgml⁻¹. A batelada foi trocada em solvente para o acetato de etila por "alimentação e sangria (40 l total). Ao final desta destilação, KF foi de 446 mgml⁻¹. A batelada foi diluída com acetato de etila (10 l).

Darco G-60 (900 g) foi adicionado a uma mistura turva. Esto
15 foi enxaguado em acetato de etila (6 l). Esta mistura foi agitada a temperatura ambiente durante a noite. No próximo dia, Solka Floc™ (0,5 kg) foi adicionado a uma batelada misturada no vaso e então Solka Floc™ (2,0 kg) foi agitado em acetato de etila e carregado dentro de um filtro Estrella. O excesso de solvente foi bombeado por meio de um filtro em linha Sparkler
20 contendo um cartucho de 10µ. A suspensão foi transferida do vaso através de um filtro usando uma bomba e então através de outro filtro para 2 x 40 l caixa de aço inoxidável. A inspeção visual mostrou licores como sendo transparentes e limpos. O vaso foi enxaguado com acetato de etila (22 l) e usado para enxaguar através da via descrita acima para as latas de aço
25 inoxidável. Os conteúdos de ambas as latas foram transferidos em um vaso de reação e a solução foi completamente misturada.

A batelada (58 l) tinha um KF de 2950 mgml⁻¹ e foi assim secada novamente pela concentração in vácuo para 20-25 l de volume. A batelada foi diluída para 46 l de volume (bastão) pela adição de acetato de

etila (25 l). O KF era 363 mgml⁻¹. A batelada foi diluída a 62 l de volume pela adição de acetato de etila (17 l) e foi usado para o estágio final do processo.

EXEMPLO 18A



- 5 Metanossulfonato de espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida (16)

Materiais:

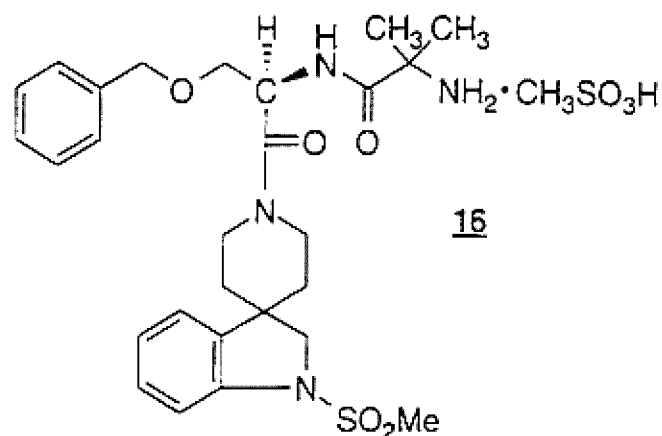
	Amina (15)	2340 g (4,43 moles)
	Ácido metanossulfônico	316 ml (4,88 moles)
10	EtOAc	60 l
	EtOH	4,8 l
	8% de EtOH em EtOAc	20 l

O volume da solução de 15 da etapa anterior foi ajustada a 60 l com acetato de etila e EtOH (4,8 l) foi adicionado. O MsOH (316 ml) foi
 15 adicionado em 3 l de EtOAc a 45°C. Para a solução homogênea de vermelho profundo foram adicionados 496 g da semente de Forma I do composto titular (10% semente baseada no peso de amina livre foi empregado). A temperatura se elevou a cerca de 48°C e a reação foi envelhecida a 52°C durante 1,5 horas. As análises indicadas completa conversão para o composto
 20 titular (Forma I). (Menos que 10% idade maior da semente (> 3 horas) foi requerido). O suspensão foi deixada para resfriar a 20°C durante a noite e foi

filtrado em uma centrífuga sob N_2 . O bolo foi lavado com 20 l de 8% de EtOH em EtOAc. N_2 é essencial durante filtragem porque os cristais úmidos são muito higroscópicos. O banho foi secado a $35^\circ C$ sob vácuo para dar 2,7 Kg (56% total dar) do composto titular (Forma I) (99,9 A% pureza; < 0,1% enantiômero).

A conversão da Forma II para a Forma I também é acompanhada onde o sal é formado em EtOAc-EtOH por adição de MsOH como acima e a solução inicial do sal (a $55^\circ C$) é resfriada a $45^\circ C$. Os cristais começam a aparecer na temperatura e a suspensão se torna mais espessa com o tempo. A temperatura é então elevada a $51^\circ C$ e a suspensão é envelhecida durante a noite. A conversão completa para a Forma I de 16 deve ser esperada. Esse procedimento também pode ser empregado para preparar cristais semente da Forma I de 16.

EXEMPLO 18B



15 Metanossulfonato de espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida (16)

Materiais:

Amina (15)	3,1 kg (5,86 mol)
Ácido metanossulfônico	620 g (6,45 mol)
20 Acetato de etila	37 l
Etanol absoluto	8,7 l

Metanossulfonato de espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)
 carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida
 (Forma I) 70 g (0,11 mol)

O etanol absoluto (6,4 l) foi adicionado na solução de amina
 5 (15) (3,1 kg) em acetato de etila (volume total ~62 l) em vaso de reação. O
 banho foi aquecido a 50°C e uma solução de ácido metanossulfônico (620 g,
 412 ml, 1,1 equivalentes.) em acetato de etila (11 l) foi adicionado durante ~5
 minutos a 50-54°C. O banho foi semeado com metanossulfonato de espiro
 [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-
 10 metilpropanamida (Forma I) (70 g) e o suspensão resultante foi agitado e
 aquecido a 55°C sob atmosfera de nitrogênio durante a noite.

O próximo dia, o suspensão foi resfriado a 15-20°C, mantido
 durante 2 horas e então despejado to no 50 cm de filtro polipropileno sob
 atmosfera de nitrogênio. O produto sólido foi lavado com uma mistura de
 15 etanol absoluto (2,3 l) em acetato de etila (26 l). O produto sólido branco foi
 tomado e secado em um forno Apex in vácuo a 35°C durante um tempo
 apropriado (aprox. dois dias). O metanossulfonato de espiro [3H-indol-3,4'-
 piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-
 metilpropanamida secado (3,352 kg) foi peneirado usando um peneira
 20 Jackson-Crockatt para dar 3,347 kg (incluindo semente, 70 g)} rendeu =
 3,277 kg.

Condições HPLC:

Os tempos de retenção de LC em Zorbax RX-C8 (4,6 mm x 25
 cm), $\lambda = 210$ nm, taxa = 1,5 ml/min.

25 Composto 1: 60:40 CH₃CN-H₂O (1% H₃PO₄) temperatura ambiente =
 5,0 min

Composto 1b: 35:65 CH₃CN-H₂O (0,1 w % NH₄OAc) temperatura
 ambiente = 6,2 min.

Composto 1c: 60:40 CH₃CN=H₂O (0,1 H₃PO₄) temperatura ambiente =

	2,9 min.
Composto 11:	60:40 CH ₃ CN-H ₂ O (0,1% H ₃ PO ₄) temperatura ambiente = 5,4 min.
5 Composto 12:	40:60 CH ₃ CN-H ₂ O [pH 5,25 NaH ₂ PO ₄ (6,9 g/L de H ₂ O) (ajustar pH com NaOH)] temperatura ambiente = 5,6 min
Composto 14:	60:40% CH ₃ CN-H ₂ O (0,1% H ₃ PO ₄) temperatura ambiente = 4,65 min
Composto 15:	40:60% CH ₃ CN-H ₂ O [pH = 5,25 NaH ₂ PO ₄ (6,9 g/l de H ₂ O)] ajustar pH com NaOH) temperatura ambiente = 4,9 min
10	

Os tempos de retenção em Zorbax RX-C8 (4,6 mm x 25 cm),
 $\lambda = 210$ nm, taxa = 1,2 ml/min, temperatura da coluna = 48°C

Solvente A = 0,05% de ácido fosfórico + 0,01% trietilamina
em água

15 Solvente B = Acetonitrila

Sistema gradiente:

<u>Tempo</u>	<u>% A</u>	<u>% B</u>
0 min	95	5
35 min	10	90
20 38 min	95	5
40 min	95	5

Tempo de retenção (min)

Composto 1	25,2
Composto 1b	8,5
25 Composto 10	20,5
Composto 11	26,3
Composto 12	14,8
Composto 14	25,6
Composto 15	15,7

EXEMPLO 19

Preparação da Forma I de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

- 5 A conversão da Forma II para a Forma I pode ser acompanhada pelo procedimento do Exemplo 18A onde o sal é formado em EtOAc-EtOH pela adição de MsOH e a solução inicial de sal (a 55°C) é resfriada a 45°C. Os cristais devem começar a aparecer em temperatura e suspensão deve se tornar mais espessa com o tempo. A temperatura é então
- 10 elevada a 51°C e suspensão é envelhecida durante a noite. A conversão completa da Forma I deve ser esperada.

EXEMPLO 20

Preparação da Forma I de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

- 15 A conversão da Forma II para a Forma I é acompanhada por agitação de uma solução da Forma II de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em isopropanol a
- 20 aproximadamente 25°C durante cerca de 2-24 horas.

EXEMPLO 21

Preparação da Forma IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

- 25 Uma amostra de 8,4 g de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida de forma morfológica opcional é dissolvida em uma mistura de 24,8 ml de acetato de etila, 1,6 ml de etanol e 1,95 ml de água com agitar a 42°C. O solvente é evaporado de a

solução a uma temperatura de 40°C, o sólido resultante é triturado em um almofariz a um pó fino e o pó fino é exposto a uma umidade relativa de aproximadamente 75% para dar o título da Forma IV.

EXEMPLO 22

5 Preparação da Forma IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

Uma amostra de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida de forma morfológica
10 opcional é recristalizada de uma solução de acetato de etila/etanol/água (24.8/1.6/1.95 v/v/v) para dar o título da Forma IV.

EXEMPLO 23

15 Preparação da Forma IV de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetiloxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida

Uma suspensão da Forma I de metanossulfonato de N-[1 (R)-[(1,2-di-hidro-1-metanosulfonil-espiro [3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il) carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em acetato de
20 isopropila/etanol (90:10 v/v) contendo aproximadamente 2,8 por cento em peso é agitada a aproximadamente 25°C durante a noite e o sólido resultante é isolado.

Apesar da invenção ter sido descrita e ilustrada com referência a algumas formas de realização particulares da mesma, os versados na arte irão
25 notar que várias adaptações, mudanças, modificações, substituições, deleções ou adições de procedimentos e protocolos podem ser feitas sem sair do espírito e escopo da invenção. Por exemplo, as dosagens efetivas diferentes de dosagens particulares como especificado aqui acima podem ser aplicáveis como uma consequência de variações na capacidade de resposta do mamífero

sendo tratado por qualquer uma das indicações com o composto da invenção indicado acima. Do mesmo modo, as respostas farmacológicas específicas observadas podem variar de acordo com e dependendo de composto ativo particular selecionado ou se se tem presentes veículos farmacêuticos, assim como o tipo de formulação e modo de administração empregado, e estas variações esperadas ou diferenças nos resultados são contemplados de acordo com os objetos e prática da presente invenção. Pretende-se, assim, que a invenção seja definida pelo escopo das reivindicações que se seguem e que estas reivindicações sejam interpretadas tão amplamente como é razoável.

REIVINDICAÇÕES

1. Forma polimórfica do composto metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi)etil]-2-amino-2-metilpropanamida, designada forma I, caracterizada pelo fato de apresentar um padrão de difração de raios X de pó com reflexões principais a aproximadamente 6,5, 14,7, 16,9, 17,1, 17,9, 19,5, 21,1, 21,7 e 22,0° (2 teta) e de ter uma endoterma de fusão com uma temperatura de pico de cerca de 180°C e com uma temperatura de início extrapolada de cerca de 170°C, com um calor associado de aproximadamente 53 J/g, quando aquecida em uma célula calorimétrica de varredura diferencial em uma taxa de 10°C/min sob uma atmosfera de nitrogênio.

2. Forma polimórfica do composto metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi)etil]-2-amino-2-metilpropanamida, designada forma IV, caracterizada pelo fato de apresentar um padrão de difração de raios X de pó com reflexões principais em aproximadamente: 16,0, 16,2, 18,3, 20,1, 21,0 e 24,2° (2 teta) e de ter uma endoterma de perda de água em uma temperatura de cerca de 45°C, seguido por uma endoterma com uma temperatura de pico de cerca de 134°C e com uma temperatura de início extrapolada de cerca de 129°C, com um calor associado de aproximadamente 23 J/g quando aquecida em uma célula calorimétrica de varredura diferencial a uma taxa de 10°C/min sob uma atmosfera de nitrogênio.

3. Forma polimórfica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de conter aproximadamente 3,5 moles de água por mol de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin]-1'-il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi)etil]-2-amino-2-metilpropanamida.

4. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de compreender um veículo farmacêuticamente aceitável e uma quantidade eficaz da forma polimórfica como definida na reivindicação 1.

5. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de compreender um veículo farmacêuticamente aceitável e uma quantidade eficaz da forma polimórfica como definida na reivindicação 2.

RESUMO

"FORMA POLIMÓRFICA DO COMPOSTO METANOSSULFONATO DE N-[1(R)-[(1,2-DI-HIDRO-1-METANOSSULFONIL ESPIRO[3H-INDOL-3,4'-PIPERDIN] 1'IL)-CARBONIL]-2-(FENILMETIL-OXI) ETIL]-2-AMINO-2-METILPROPANAMIDA E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA".

A invenção refere-se a formas polimórficas de composto metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida que é um secretagogo de hormônio de crescimento, que é utilizável em alimentos para animais, para promover seu crescimento assim tornando a produção dos produtos de carne comestível mais eficaz, e em humanos, para tratar condições médicas ou fisiológicas, caracterizadas por uma deficiência em secreção de hormônio de crescimento, e para tratar condições médicas que são melhoradas pelos efeitos anabólicos de hormônio de crescimento. As presentes formas polimórficas tem vantagens sobre as condições que são melhoradas pelos efeitos anabólicos de hormônio de crescimento. As presentes formas polimórficas tem vantagens sobre outras formas conhecidas de metanossulfonato de N-[1(R)-[(1,2-di-hidro-1-metanossulfonil espiro[3H-indol-3,4'-piperdin] 1'il)-carbonil]-2-(fenilmetil-oxi) etil]-2-amino-2-metilpropanamida em termos de estabilidade termodinâmica e apropriabilidade para inclusão em formulações farmacêuticas. A presente invenção é também referida com processos para preparar estas formas polimórficas, formulações farmacêuticas compreendendo estas formas polimórficas como ingredientes ativos e o uso de forma polimórfica do composto e suas formulações em tratamento de alguns distúrbios.