(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 804 155**

(51) Int. CI.:

C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.04.2016 PCT/GB2016/051119**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.10.2016 WO16170351**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.04.2016 E 16719892 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 3286190**

(54) Título: **Formas de sales farmacéuticas de un inhibidor de la amino-oxidasa sensible a semicarbazida (SSAO)**

(30) Prioridad:

24.04.2015 GB 201507031

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.02.2021

(73) Titular/es:

BENEVOLENTAI CAMBRIDGE LIMITED (100.0%)
4-8 Maple Street
London W1T 5HD, GB

(72) Inventor/es:

SAVORY, EDWARD y
HIGGINBOTTOM, MICHAEL

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

DESCRIPCIÓN

Formas de sales farmacéuticas de un inhibidor de la amino-oxidasa sensible a semicarbazida (SSAO)

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevas formas de sales de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo, y a su uso en medicina.

Antecedentes de la invención

La actividad de amino-oxidasa sensible a semicarbazida (SSAO) es una actividad enzimática expresada por la proteína 1 de adhesión vascular (VAP-1) o amino-oxidasa que contiene cobre 3 (AOC3), pertenece a la familia de enzimas amino-oxidasas que contienen cobre (EC.1.4.3.6). Por lo tanto, los inhibidores de la enzima SSAO también pueden modular las funciones biológicas de la proteína VAP-1.

Se ha encontrado actividad de SSAO en una variedad de tejidos, entre ellos tejido de músculo liso vascular y no vascular, endotelio y tejido adiposo [Lewinsohn, Braz. J. Med. Biol. Res. 1984, 17, 223-256; Nakos & Gossrau, Folia Histochem. Cytobiol. 1994, 32, 3-10; Yu et al., Biochem. Pharmacol. 1994, 47, 1055-1059; Castillo et al., Neurochem. Int. 1998, 33, 415-423; Lyles & Pino, J. Neural. Transm. Suppl. 1998, 52, 239-250; Jaakkola et al., Am. J. Pathol. 1999, 155, 1953-1965; Morin et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297, 563-572; Salmi & Jalkanen, Trends Immunol. 2001, 22, 211-216]. Además, la proteína SSAO se encuentra en el plasma sanguíneo y esta forma soluble parece tener propiedades similares a las de la forma unida a los tejidos [Yu et al., Biochem. Pharmacol. 1994, 47, 1055-1059; Kurkijarvi et al., J. Immunol. 1998, 161, 1549-1557].

El papel fisiológico exacto de esta abundante enzima aún no ha sido completamente determinado, pero parece que la SSAO y sus productos de reacción pueden tener varias funciones en la señalización y regulación celulares. Por ejemplo, hallazgos recientes dan a entender que la SSAO desempeña un papel tanto en la absorción de glucosa mediada por GLUT4 [Enrique-Tarancon et al., J. Biol. Chem. 1998, 273, 8025-8032; Morin et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297, 563-572] como en la diferenciación de adipocitos [Fontana et al., Biochem. J. 2001, 356, 769-777; Mercier et al., Biochem. J. 2001, 358, 335-342]. Además, se ha demostrado que la SSAO está implicada en procesos inflamatorios en los que actúa como una proteína de adhesión para los leucocitos [Salmi & Jalkanen, Trends Immunol. 2001, 22, 211-216; Salmi & Jalkanen, en "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition" K. Ley (Ed.), 2007, pp. 237-251], y también podría desempeñar un papel en el desarrollo y mantenimiento de la matriz del tejido conjuntivo [Langford et al., Cardiovasc. Toxicol. 2002, 2(2), 141-150; Göktürk et al., Am. J. Pathol. 2003, 163(5), 1921-1928]. Por otra parte, se ha descubierto recientemente una conexión entre SSAO y angiogénesis [Noda et al., FASEB J. 2008, 22 (8), 2928-2935], y en base a esta conexión se espera que los inhibidores de la SSAO tengan un efecto antiangiogénico.

Varios estudios en humanos han demostrado que la actividad de la SSAO en el plasma sanguíneo es elevada en afecciones tales como insuficiencia cardíaca congestiva, diabetes mellitus, enfermedad de Alzheimer e inflamación [Lewinsohn, Braz. J. Med. Biol. Res. 1984, 17, 223-256; Boomsma et al., Cardiovasc. Res. 1997, 33, 387-391; Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; Kurkijarvi et al., J. Immunol. 1998, 161, 1549-1557; Boomsma et al., Diabetologia 1999, 42, 233-237; Meszaros et al., Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1999, 24, 299-302; Yu et al., Biochim. Biophys. Acta 2003, 1647(1-2), 193-199; Matyus et al., Curr. Med. Chem. 2004, 11(10), 1285-1298; O'Sullivan et al., Neurotoxicology 2004, 25(1-2), 303-315; del Mar Hernandez et al., Neurosci. Lett. 2005, 384(1-2), 183-187]. Se ha sugerido que los aldehídos reactivos y el peróxido de hidrógeno producidos por las amino oxidasas endógenas contribuyen a la progresión de enfermedades cardiovasculares, complicaciones diabéticas y enfermedad de Alzheimer [Callingham et al., Prog. Brain Res. 1995, 106, 305-321; Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; Yu et al., Biochim. Biophys. Acta 2003, 1647(1-2), 193-199; Jiang et al., Neuropathol Appl Neurobiol. 2008, 34(2), 194-204]. Además, la actividad enzimática de la SSAO está involucrada en el proceso de extravasación de los leucocitos en sitios de inflamación donde se ha demostrado que la SSAO está fuertemente expresada sobre el endotelio vascular [Salmi et al., Immunity 2001, 14(3), 265-276; Salmi & Jalkanen, en "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition" K. Ley (Ed.), 2007, pp. 237-251]. Por consiguiente, se ha sugerido que la inhibición de la SSAO tiene un valor terapéutico en la prevención de complicaciones diabéticas y en enfermedades inflamatorias [Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; Salmi et al., Immunity 2001, 14(3), 265-276; Salter-Cid et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005, 315(2), 553-562].

El documento WO2007/146188 da a conocer que el bloqueo de la actividad de SSAO inhibe el reclutamiento de los leucocitos, reduce la respuesta inflamatoria y se espera que sea beneficioso en la prevención y el tratamiento de las convulsiones, por ejemplo, en la epilepsia.

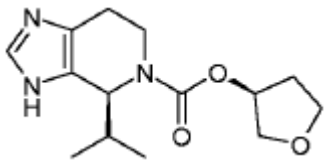
O'Rourke et al (J Neural Transm. 2007; 114 (6): 845-9) examinaron el potencial de los inhibidores de la SSAO en enfermedades neurológicas, habiendo demostrado previamente la eficacia de la inhibición de SSAO en un modelo de ictus en ratas. Un inhibidor de la SSAO se ensaya en encefalomielitis autoinmune experimental (EAE) recurrente-remitente, un modelo en ratón que comparte muchas características con la esclerosis múltiple humana. Los datos demuestran el beneficio clínico potencial de la terapia anti-SSAO de molécula pequeña en este modelo y, por lo tanto, en el tratamiento de la esclerosis múltiple humana.

Los animales desprovistos de SSAO son claramente normales desde el punto de vista fenotípico, pero presentan una pronunciada disminución en las respuestas inflamatorias desencadenadas en respuesta a varios estímulos inflamatorios [Stolen et al., Immunity 2005, 22 (1), 105-115]. Además, se ha demostrado que el antagonismo de su función en animales de tipo salvaje en múltiples modelos animales de enfermedades humanas (por ejemplo, inflamación de la pata inducida por carragenina, colitis inducida por oxazolona, inflamación pulmonar inducida por lipopolisacáridos, artritis inducida por colágeno, uveítis inducida por endotoxinas) mediante el empleo de anticuerpos y/o moléculas pequeñas, resulta protector por disminuir la infiltración de leucocitos, reducir la gravedad del fenotipo de la enfermedad y reducir los niveles de citocinas y quimiocinas inflamatorias [Kirton et al., Eur. J. Immunol. 2005, 35 (11), 3119-3130; Salter-Cid et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005, 315 (2), 553-562; McDonald et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry 2007, 42, 229-243; Salmi & Jalkanen, en "Adhesion Molecules: Functions and inhibition" K. Ley (Ed.), 2007, pp. 237-251; Noda et al., FASEB J. 2008 22 (4), 1094-1103; Noda et al., FASEB J. 2008, 22 (8), 2928-2935]. Esta protección antiinflamatoria parece ser proporcionada a través de una amplia variedad de modelos inflamatorios, todos ellos con mecanismos causantes independientes, en lugar de estar limitados a una enfermedad o modelo de enfermedad particulares. Esto sugeriría que la SSAO puede ser un punto nodal clave para la regulación de la respuesta inflamatoria y, por lo tanto, es probable que los inhibidores de SSAO sean fármacos antiinflamatorios eficaces en una amplia variedad de enfermedades humanas. La VAP-1 también ha sido implicada en la progresión y el mantenimiento de enfermedades fibróticas, incluyendo las del hígado y pulmón. Weston and Adams (J Neural Transm. 2011, 118 (7), 1055-64) han resumido los datos experimentales que implican a la VAP-1 en la fibrosis hepática, y Weston et al (EASL Poster 2010) han informado que el bloqueo de VAP-1 aceleraba la resolución de la fibrosis inducida por tetracloruro de carbono. Además, la VAP-1 ha sido implicada en la inflamación del pulmón (por ejemplo, Singh et al., 2003, Virchows Arch 442: 491-495) lo que sugiere que los bloqueantes de VAP-1 reducirían la inflamación pulmonar y, por lo tanto, serían beneficiosos para el tratamiento de la fibrosis quística mediante el tratamiento tanto de los aspectos pro-fibróticos como proinflamatorios de la enfermedad.

La SSAO (VAP-1) está aumentada en el cáncer gástrico y ha sido identificada en la vasculatura tumoral de melanoma, hepatoma y tumores de cabeza y cuello humanos (Yoong KF, McNab G, Hubscher SG, Adams DH. (1998), J Immunol 160, 3978-88; Irjala H, Salmi M, Alanen K, Gre'nman R, Jalkanen S (2001), Immunol. 166, 6937-6943; Forster-Horvath C, Dome B, Paku S, et al. (2004), Melanoma Res. 14, 135-40.). Un informe (Marttila-Ichihara F, Castermans K, Auvinen K, Oude Egbrink MG, Jalkanen S, Griffioen AW, Salmi M. (2010), J Immunol. 184, 3164-3173.) ha demostrado que los ratones que tienen VAP enzimáticamente inactiva desarrollan melanomas más lentamente, y tienen reducido el número y el diámetro de los vasos sanguíneos tumorales. La reducción del crecimiento de estos tumores se reflejó también en la reducción de la infiltración (en un 60-70 %) de las células supresoras mieloides. De forma alentadora, la deficiencia de VAP-1 no tuvo ningún efecto sobre la formación de vasos o linfa en el tejido normal.

Por las razones anteriores, es de esperar que la inhibición de SSAO reducirá los niveles de productos enzimáticos proinflamatorios (aldehídos, peróxido de hidrógeno y amoníaco) a la vez que disminuirá también la capacidad adhesiva de las células inmunes y, en consecuencia, su activación y extravasación final. Las enfermedades en las que se espera que tal actividad sea terapéuticamente beneficiosa incluyen todas las enfermedades en las que las células inmunes desempeñan un papel destacado en la iniciación, mantenimiento o resolución de la patología, tales como las enfermedades inflamatorias y enfermedades inmunes/autoinmunes. Ejemplos de tales enfermedades incluyen esclerosis múltiple, artritis y vasculitis.

Existe una necesidad médica no satisfecha de nuevos y mejores inhibidores de la SSAO. El documento WO2010/031789 describe una clase prometedora de compuestos inhibidores de SSAO, es especialmente prometedor el Ejemplo 16, que es la base libre de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo, y que tiene la siguiente estructura:



La base libre de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo es una goma vítrea amorfa higroscópica. El punto de transición vítrea está a una temperatura relativamente baja de 39 ºC, por lo que la base libre con frecuencia existe como una goma.

La invención descrita en la presente memoria se refiere a nuevas formas de sales del inhibidor de SSAO (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo que tienen propiedades sorprendentemente mejoradas.

Sumario de la invención

La higroscopicidad es una propiedad indeseable para un fármaco porque la incorporación de agua da como resultado una serie de problemas. Ejemplos de tales problemas incluyen dificultad para pesar el fármaco debido a la masa

variable de agua y dificultad para manipular el fármaco debido a su tendencia a volverse pegajoso. Las gomas son generalmente indeseables porque son pegajosas y difíciles de manejar. Los cristales son preferibles a las gomas amorfas porque tienen mejores propiedades de filtración y, por lo tanto, son más fáciles de secar.

Una buena estabilidad térmica es una propiedad deseable para un fármaco. Es bien conocido que las temperaturas normalmente superan los 50 ºC durante los procedimientos estándar de molienda y compresión de comprimidos (véase, por ejemplo, Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory & Practice; Yihong Qiu, Yisheng Chen, Geoff G.Z. Zhang, Lirong Liu, William Porter, 2009). Existe un riesgo importante de que se produzca un "punto caliente" durante el proceso de molienda o de formación de comprimidos, y que la temperatura de ese punto caliente exceda el punto de fusión del fármaco. Se espera que la presencia de fármaco fundido en el proceso de molienda o de compresión provoque que las partículas de fármaco se aglomeren entre sí o formen de otro modo agregados. Se espera que dicha fusión, aglomeración o agregación dificulte la precisión y la consistencia.

Después de una extensa investigación sobre la preparación y las propiedades de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre y sus formas de sal, los solicitantes han descubierto formas de sales ventajosas, especialmente la sal mesilato que tiene una estabilidad térmica ventajosamente alta y una higroscopicidad ventajosamente baja; y la sal sulfato, que existe como un 1,5 hidrato, que tiene una estabilidad térmica ventajosamente alta, y una higroscopicidad ventajosamente baja.

La presente invención incluye una composición que comprende las sales sulfato 1,5 hidrato o mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Se espera que las sales sulfato 1,5-hidrato y mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo sean útiles en el tratamiento de la inflamación, de una enfermedad inflamatoria, un trastorno inmune o autoinmune, o en la inhibición del crecimiento tumoral. En una realización, la inflamación o enfermedad inflamatoria o trastorno inmune o autoinmune es artritis (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis y artritis psoriásica), sinovitis, vasculitis, enfermedad de Sjögren, una afección asociada con inflamación del intestino (incluyendo la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria intestinal y síndrome del intestino irritable), ateroesclerosis, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, enfermedad de Parkinson, angiopatía amiloide cerebral, arteriopatía cerebral autosómica dominante con infartos subcorticales y leucoencefalopatía, una enfermedad inflamatoria pulmonar (incluyendo asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda), una enfermedad fibrótica (incluyendo fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis cardíaca, fibrosis hepática y esclerosis sistémica (esclerodermia)), una enfermedad inflamatoria de la piel (incluyendo dermatitis de contacto, dermatitis atópica y psoriasis), una enfermedad inflamatoria del ojo (incluyendo degeneración macular relacionada con la edad, uveítis y retinopatía diabética), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, septicemia, una afección inflamatoria y/o autoinmune del hígado (incluyendo hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, enfermedad hepática alcohólica, colangitis esclerosante y colangitis autoinmune), diabetes (tipo I o II) y/o sus complicaciones, insuficiencia cardíaca crónica, insuficiencia cardíaca congestiva, una enfermedad isquémica (incluyendo ictus y lesión por isquemia-reperfusión) o infarto de miocardio y/o sus complicaciones o epilepsia.

La presente invención incluye el uso de dichas sales sulfato y mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de las afecciones y enfermedades mencionadas anteriormente. La invención incluye también métodos para el tratamiento o prevención de tales afecciones y enfermedades, que comprenden administrar a un mamífero, incluido el hombre, que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto como se ha definido anteriormente.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra los espectros de 1H NMR de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre (marcada (A)) y de la sal hidrocloruro (marcada (B)).

La Figura 2 muestra los espectros de 1H NMR de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre (marcada (C)) y de la sal fosfato (marcada (D)).

Descripción detallada de la invención

Después de una larga investigación sobre la formación de sales por reacción de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo con 22 ácidos (ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido L-aspártico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido etanosulfónico, ácido L-glutámico, ácido L-tartárico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido L-málico, ácido D-glucónico, ácido D/L-láctico, ácido L-láctico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido adípico y ácido acético), el solicitante descubrió cuatro nuevas formas salinas cristalinas, a saber:

hidrocloruro de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo;

fosfato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo;

sulfato.1,5-hidrato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo; y

mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo.

Se encontró que las sales formadas por reacción de la base libre con ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido L-aspártico, ácido maleico, ácido etanosulfónico, ácido L-glutámico, ácido L-tartárico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido L-málico, ácido D-glucónico, ácido D/L-láctico, ácido L-láctico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido adípico y ácido acético no son cristalinas.

Las cuatro sales cristalinas se ensayaron para determinar su facilidad de manipulación, su higroscopicidad y su estabilidad térmica. Las sales hidrocloruro y fosfato tienen la ventaja de mejores propiedades de manipulación sobre la goma vítrea base libre en virtud de su cristalinidad. Sin embargo, estudios preliminares indican que ambas formas de sales son algo higroscópicas. Ambas sales delicuescen durante el almacenamiento por la noche a 40 ºC en un ambiente con 75 % de humedad relativa.

Las sales mesilato y sulfato tienen la ventaja de mejores propiedades de manipulación sobre la goma base libre en virtud de su cristalinidad. Ambas sales tienen sorprendentemente una higroscopicidad reducida. La sal mesilato delicuesce después del almacenamiento durante 3 días a 40 ºC en un ambiente con 75 % de humedad relativa. La sal sulfato se mantuvo sin cambios después de almacenamiento durante 7 días a 40 ºC en un ambiente con 75 % de humedad relativa.

Las sales mesilato y sulfato tienen la ventaja de una estabilidad térmica notablemente mejorada. El mesilato tiene un punto de fusión de 189 ºC. El sulfato tiene un punto de fusión de 106 ºC. En base a estos puntos de fusión, se espera que tanto las sales mesilato como las sales sulfato resistan los procedimientos de molienda y compresión sin fundirse ni obstaculizar de otro modo el proceso. Así, tanto las sales sulfato como las sales mesilato tienen sorprendentemente mejor higroscopicidad y sorprendentemente mejor estabilidad térmica en comparación con la correspondiente base libre.

Definiciones

"Tratamiento" como se usa en la presente memoria incluye la profilaxis del trastorno o afección citado, o la mejora o eliminación del trastorno una vez que ha aparecido.

"Una cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto que confiere un efecto terapéutico en el sujeto tratado. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible por algún ensayo o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación de un efecto o siente un efecto).

"Farmacéuticamente aceptable" significa que es útil para preparar una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica y que no es biológicamente ni de otra forma indeseable e incluye ser útil para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano.

A menos que se indique lo contrario, el término “(4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo” como se usa en conexión con las formas de sales descritas en la presente memoria incluye una mezcla de los enantiómeros (3S,4S) y (3R,4R). En una realización, (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo, y sus sales, tienen una pureza absoluta > 95 %, preferiblemente > 99 %, más preferiblemente > 99,5 %. En una realización (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo significa el enantiómero (3S,4S) que tiene una pureza enantiomérica > 95 %, preferiblemente > 99 %, más preferiblemente > 99,5 %. En una realización (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo tiene una pureza diastereoisomérica > 95 %, preferiblemente > 99 %, más preferiblemente > 99,5 %.

Composiciones

Para uso clínico, los compuestos de la invención se formulan en formulaciones farmacéuticas para diversos modos de administración. Se apreciará que los compuestos de la invención se pueden administrar junto con un vehículo, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar por cualquier vía adecuada, preferiblemente por vía oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), sublingual, transdérmica, intratecal, transmucosal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). .

Se pueden presentar convenientemente otras formulaciones en formas farmacéuticas unitarias, por ejemplo, comprimidos y cápsulas de liberación sostenida, y en liposomas, y se pueden preparar por cualquier método bien conocido en la técnica de la farmacia. Las formulaciones farmacéuticas se preparan normalmente mezclando la sustancia activa, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, con vehículos, diluyentes o excipientes convencionales farmacéuticamente aceptables. Son ejemplos de excipientes el agua, gelatina, goma arábiga, lactosa,

celulosa microcristalina, almidón, glicolato sódico de almidón, hidrogenofosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, dióxido de silicio coloidal y similares. Tales formulaciones pueden contener también otros agentes farmacológicamente activos y aditivos convencionales, tales como estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes aromatizantes, tampones y similares. Normalmente, la cantidad de compuestos activos está comprendida entre 0,1-95 % en peso de la preparación, preferiblemente entre 0,2-20 % en peso en preparaciones para uso parenteral y más preferiblemente entre 1-50 % en peso en preparaciones para administración oral.

Las formulaciones se pueden preparar además por métodos conocidos tales como granulación, compresión, microencapsulación, recubrimiento por pulverización, etc. Las formulaciones se pueden preparar por métodos convencionales en la forma farmacéutica de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, jarabes, suspensiones, supositorios o inyecciones. . Las formulaciones líquidas se pueden preparar disolviendo o suspendiendo la sustancia activa en agua u otros vehículos adecuados. Los comprimidos y los gránulos pueden ser recubiertos de manera convencional. Para mantener concentraciones plasmáticas terapéuticamente eficaces durante períodos de tiempo prolongados, los compuestos de la invención se pueden incorporar en formulaciones de liberación lenta.

El nivel de dosis y la frecuencia de administración del compuesto específico variarán dependiendo de una variedad de factores que incluyen la potencia del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad del paciente, su peso corporal, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la gravedad de la afección a tratar y del paciente que recibe la terapia. La dosis diaria puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 100 mg por kilo de peso corporal, administrada en dosis única o en dosis múltiples, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 25 mg cada una. Normalmente, dicha dosis se administra por vía oral, pero también se puede elegir la administración parenteral.

Métodos experimentales

Experimentos de formación de sales

Se realizó un cribado de sales utilizando 24 contraiones ácidos (véase la Tabla 1), en un intento de formar tanto moonosales como hemisales, cuando proceda. Se llevaron a cabo nueve conjuntos de experimentos utilizando una amplia variedad de sistemas de disolventes y condiciones.

Tabla 1: Ácidos utilizados para experimentos de formación de sales.

Contraión	Añadido como	Contraión	Añadido como
Ácido clorhídrico	1 M en THF	Ácido L-tartárico	1 M en THF
Ácido sulfúrico	1 M en THF	Ácido fumárico	0,5 M en THF:MeOH
Ácido 1,2-etanosulfónico	1 M en THF	Ácido cítrico	1 M en THF
Ácido p-toluenosulfónico	1 M en EtOH	Ácido L-málico	1 M en THF
Ácido metanosulfónico	1 M en THF	Ácido D-glucónico	50 % p/p en agua
Ácido bencenosulfónico	1 M en THF	Ácido D/L-láctico	líquido
Ácido L-aspártico	sólido	Ácido L-láctico	1 M en THF
Ácido maleico	1 M en THF	Ácido benzoico	1 M en IPA
Ácido fosfórico	1 M en THF	Ácido succínico	1 M en MeOH
Ácido etanosulfónico	1 M en THF	Ácido adípico	1 M en MeOH:THF
Ácido L-glutámico	sólido	Ácido acético	1 M en THF

Experimentos de formación de sales por enfriamiento lento

Se disolvieron muestras separadas de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre (20 mg) en IPA (2,5 vol), IPAc (2,5 vol), acetona-agua (9:1 v/v, 2,5 vol) o DIPE (10 vol). Se calentaron las soluciones a 40 ºC y se añadió cada ácido de ensayo (1 o 0,5 equivalentes, véase la Tabla 1) con agitación suave. Se mantuvieron los viales a 40 ºC durante 1 h y después se dejaron enfriar hasta 5 ºC, a 1 ºC/min. Se mantuvieron las mezclas a 5 ºC durante la noche. Todos los sólidos obtenidos se recogieron por filtración y se analizaron por XRPD. Los aceites y las gomas se sometieron a ciclos de maduración, de temperatura ambiente a 50 ºC, 4 h a cada temperatura, para favorecer la cristalización. Se dejaron evaporar las soluciones en condiciones ambientales. Se analizaron los residuos por ^{1}H-NMR y DSC para evaluar la formación de sal y/o la cristalización potencial tras el calentamiento.

Experimentos de formación de sales por adición de antidisolvente

Se disolvieron muestras separadas de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre (15 mg) en IPAc (con y sin 3 % v/v de agua; 5 vol), y se calentaron las soluciones a 40 ºC. Se añadieron los ácidos correspondientes (1 o 0,5 equivalentes, véase la Tabla 1) con agitación suave. Se mantuvieron los viales a 40 ºC durante 1 h, después se añadieron cantidades crecientes de antidisolvente (n-heptano o TBME), hasta que las soluciones se volvieron turbias. En este punto, todas las muestras se enfriaron hasta 5 ºC, a 1 ºC/minuto, y se mantuvieron a 5 ºC durante la noche. Se añadió más antidisolvente cuando no se había producido precipitación. Todos los sólidos obtenidos se recogieron por filtración y se analizaron por XRPD. Los aceites y las gomas se sometieron a ciclos de maduración, de temperatura ambiente a 50 ºC, 4 h a cada temperatura, para favorecer la cristalización. Las soluciones se enfriaron a temperatura por debajo de la temperatura ambiente y se dejaron evaporar si no aparecía precipitación.

Métodos analíticos

Difracción de rayos X en polvo (XRPD)

Los diagramas de difracción de rayos X en polvo se registraron en un difractómetro Bruker AXS C2 GADDS utilizando radiación Cu Kα (40 kV, 40 mA), etapa XYZ automatizada, microscopio de video láser para posicionamiento de muestras automáticas y un detector de área bidimensional HiStar. La óptica de rayos X consistía en un único espejo multicapa Gobel acoplado con un colimador de orificio de 0,3 mm. Se realiza una verificación de funcionamiento semanalmente utilizando un patrón certificado de corindón NIST 1976 (placa plana). La divergencia del haz, es decir, el tamaño efectivo del haz de rayos X sobre la muestra, era de aproximadamente 4 mm. Se empleó un modo de barrido continuo Θ-Θ con una distancia de la muestra al detector de 20 cm lo que proporciona un intervalo 2 Θ efectivo de 3,2º - 29,7º. Típicamente, la muestra debería estar expuesta al haz de rayos X durante 120 segundos. El software utilizado para la recogida de datos fue GADDS para WNT 4.1.16 y los datos se analizaron y se presentaron utilizando Diffrac Plus EVA v 9.0.0.2 o v 13.0.0.2. Las muestras procesadas en condiciones ambientales se prepararon como muestras en placa plana utilizando el polvo tal como se recibió sin molienda.

Aproximadamente 1-2 mg de la muestra se presionaron ligeramente sobre un portaobjetos de vidrio para obtener una superficie plana. Las muestras tratadas en condiciones no ambientales se montaron sobre una lámina de silicio con compuesto conductor de calor. Se calentó entonces la muestra a la temperatura apropiada a aproximadamente 10 ºC/min y posteriormente se mantuvo isotérmicamente durante aproximadamente 1 minuto antes de que se iniciara la recogida de datos.

Alternativamente, los diagramas de difracción de rayos X en polvo se registraron en un difractómetro Bruker D8 utilizando radiación Cu Kα (40 kV, 40 mA), goniómetro Θ-2Θ y divergencia de V4 y rendijas receptoras, un monocromador Ge y un detector Lynxeye. Se verificó el funcionamiento del instrumento utilizando un patrón certificado de corindón (NIST 1976). El software utilizado para la recogida de datos fue Diffrac Plus XRD Commander v2.5.0 y los datos se analizaron y se presentaron utilizando Diffrac Plus EVA v 11.0.0.2 o v 13.0.0.2. Las muestras se procesaron en condiciones ambientales como muestras en placa plana utilizando el polvo tal como se recibió. Aproximadamente 20 mg de la muestra se empaquetaron suavemente dentro de una cavidad cortada en la lámina de silicio pulida, de fondo cero (510). Se hizo girar la muestra en su propio plano durante el análisis. Los detalles de la recogida de datos son: intervalo angular: 2 a 42º 2Θ; tamaño de paso: 0,05º 2Θ; tiempo de recogida: 0,5 s/paso.

Resonancia magnética nuclear (NMR)

Los espectros de ^{1}H NMR se registraron en un instrumento Bruker 400 MHz equipado con un muestreador automático y controlado por una consola DRX400. Los experimentos automatizados se adquirieron utilizando ICONNMR v4.0.4 (compilación 1) ejecutándose con Topspin v 1,3 (nivel de parche 10) utilizando los experimentos estándar cargados en Bruker. Para la espectroscopía no rutinaria, los datos se obtuvieron mediante el uso de Topspin solo. Se prepararon las muestras en d6-DMSO, a menos que se indique otra cosa. El análisis *off-line* se realizó utilizando ACD SpecManager v 12.00 (compilación 29094). Alternativamente, los espectros ^{1}H NMR se registraron en un Bruker Avance III 400MHz QNP Ultrashield Plus Cryo.

Cromatografía de líquidos - Espectrometría de masas (LCMS)

Se realizó LCMS analítica en un sistema HPLC Agilent 1100 con un espectrómetro de masas Waters ZQ utilizando una columna Phenomenex Synergi (RP-Hydro, 150 x 4,6 mm, 4 µm, 1,5 mL/min, 30 ºC, gradiente 5-100 % de MeCN (+ 0,085 % de TFA) en agua (+ 0,1 % de TFA) durante 7 minutos - mantenido durante 0,5 minutos, 200-300 nm).

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los datos de DSC se recogieron en un TA Instruments Q2000 equipado con un inyector automático de 50 posiciones. La calibración de la capacidad térmica se realizó utilizando zafiro y la calibración de energía y temperatura se llevó a cabo utilizando indio certificado. Típicamente, se calentaron 0,5-3 mg de cada muestra, en un crisol de aluminio con orificio, a 10 ºC/min desde 25 ºC hasta 350 ºC. Se mantuvo una purga de nitrógeno seco a 50 mL/min sobre la muestra. Se llevó a cabo la DSC a temperatura modulada utilizando una velocidad de calentamiento subyacente de 2 ºC/min y parámetros de modulación de la temperatura de ± 1,27 ºC/min y 60 segundos. El software de control del instrumento

fue Advantage for Q Series v2.8.0.392 y Thermal Advantage v4.8.3 y los datos se analizaron utilizando Universal Analysis v4.3A.

Análisis termogravimétrico (TGA)

Los datos de TGA se recogieron en un TA Instruments Q500 TGA, equipado con un inyector automático de 16 posiciones. El instrumento fue calibrado en temperatura utilizando Alumel y Níquel certificados. Típicamente, se cargaron 5-30 mg de cada muestra en un crisol de platino y una cubeta DSC de aluminio pre-tarados, y se calentaron a 10 ºC/min desde la temperatura ambiente hasta 350 ºC. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 60 mL/min sobre la muestra. El software de control del instrumento fue Advantage for Q Series v2.8.0.392 y Thermal Advantage v4.8.3

Microscopía de luz polarizada (PLM)

Se estudiaron las muestras en un microscopio de luz polarizada Leica LM/DM con una cámara de video digital para captura de imágenes. Se colocó una pequeña cantidad de cada muestra sobre un portaobjetos de vidrio, se montó en aceite de inmersión y se cubrió con un cubreobjetos de vidrio, siendo separadas las partículas individuales lo mejor posible. Se observó la muestra con un aumento apropiado y luz parcialmente polarizada, acoplada a un filtro lambda de falso color.

Microscopía de platina caliente (HSM) [punto de fusión]

La microscopía de platina caliente se llevó a cabo utilizando un microscopio de luz polarizada Leica LM/DM combinado con una platina caliente Mettler-Toledo MTFP82HT y una cámara de video digital para captura de imágenes. Se colocó una pequeña cantidad de cada muestra sobre un portaobjetos de vidrio con partículas individuales separadas lo mejor posible. Se observó la muestra con un aumento apropiado y luz parcialmente polarizada, acoplada a un filtro lambda de falso color, mientras se calentaba a partir de la temperatura ambiente típicamente a 10-20 ºC/min.

Determinación de la pureza química por HPLC

El análisis de pureza se llevó a cabo en un sistema Agilent HP1100 series equipado con un detector de matriz de diodos y utilizando el software ChemStation vB.02.01-SR1 utilizando el método detallado a continuación.

Preparación de la muestra	0,5 mg/mL en acetonitrilo:agua 1:1		
Columna	Supelco Ascentis Express C18, 100 x 4,6 mm, 2,7 µm		
Temperatura de la columna (ºC)	25		
Inyección (µl)	5		
Longitud de onda, Ancho de banda (nm)	255, 90 nm		
Caudal ($mL.min^{-1}$)	2,0		
Fase A	0,1 % de TFA en agua		
Fase B	0,085 % de TFA en acetonitrilo		
Horario	Tiempo (min)	% Fase A	% Fase B
	0	95	5
	6	5	95
	6,2	95	5
	8	95	5

Determinación de pureza quiral por HPLC quiral

La HPLC quiral se realizó en un sistema Agilent 1200 utilizando una columna Astec Chirobiotic T 100 x 4,6 mm 5 µm, fase inversa polar, 150 x 4,6 mm, 5 µm, isocrática 85 % de MeOH 15 % de acetato de amonio 20 mM durante 10 minutos, 1,0 mL/min, 220 nm .

Determinación de agua por valoración de Karl Fischer (KF)

El contenido de agua de cada muestra se midió en un culombímetro Mettler Toledo DL39 utilizando reactivo Hydranal Coulomat AG y una purga de argón. Se introdujeron muestras sólidas pesadas en el recipiente en una cubeta TGA de platino que se conectó a un tapón *suba-seal* para evitar la entrada de agua. Se utilizaron aproximadamente 10 mg de muestra por valoración y se hicieron determinaciones por duplicado.

Sorción gravimétrica de vapor (GVS)

Las isotermas de sorción se obtuvieron utilizando un analizador de sorción de humedad intrínseca SMS DVS, controlado por el software DVS Intrinsic Control v1.0.0.30. La temperatura de la muestra se mantuvo a 25 ºC mediante

los controles del instrumento. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo, con un caudal total de 200 mL/min. La humedad relativa se midió mediante una sonda Rotronic calibrada (intervalo dinámico de 1,0-100 % de humedad relativa), localizada cerca de la muestra. El cambio de peso (relajación de masa) de la muestra en función del % de humedad relativa fue monitorizado constantemente por la microbalanza (precisión ± 0,005 mg). Típicamente, se colocaron 5-20 mg de muestra en una cesta de malla de acero inoxidable tarada, en condiciones ambientales. La muestra se cargó y descargó a 40 % de humedad relativa y 25 ºC (condiciones ambientales típicas). Se realizó una isoterma de sorción de humedad como se describe a continuación (2 barridos que dan 1 ciclo completo). La isoterma estándar se realizó a 25 ºC a intervalos del 10 % de humedad relativa en un intervalo de humedad relativa del 0,5-90 %. El análisis de los datos se realizó en Microsoft Excel utilizando DVS Analysis Suite v6.0.0.7. Parámetros del método para experimentos intrínsecos de SMS DVS: barrido de adsorción 1 40-90; barrido de desorción/adsorción 2 90-0, 0-40; intervalos (% de humedad relativa) 10; número de barridos 4; caudal (mL/min) 200; temperatura (ºC) 25; estabilidad (ºC/min) 0,2; tiempo de sorción (h) 6 h de tiempo de espera. La muestra se recuperó después de completar la isoterma y se volvió a analizar por XRPD.

Cromatografía iónica (IC)

Se recogieron los datos en un Metrohm 761 Compact IC (para cationes) y un Metrohm 861 Advanced Compact IC (para aniones) utilizando el software IC Net v2.3. Se prepararon muestras exactamente pesadas como soluciones stock en una solución de disolución apropiada y se diluyeron 1:9 antes del ensayo. La cuantificación se logró mediante la comparación con soluciones estándar de concentración conocida del ion que se analiza. Parámetros del método IC para la cromatografía de aniones: tipo de método - intercambio de aniones; columna - Metrosep A Supp 5-250 (4,0 x 250 mm); temperatura de la columna (ºC) ambiente; inyección (µl) 20; detección - detector de conductividad; caudal (mL/min) 0,7; eluyente carbonato de sodio 3,2 mM, hidrogenocarbonato de sodio 1,0 mM en acetona acuosa al 5 %.

Resultados

Se aislaron las sales cristalinas hidrocloruro, sulfato, fosfato y mesilato y se caracterizaron utilizando alguna o la totalidad de las técnicas XRPD, ^{1}H NMR, DSC, TGA, GVS, IC, PLM, HSM, HPLC y KF (véase la Tabla 2). Las sales hidrocloruro y fosfato eran altamente higroscópicas. Las sales mesilato y sulfato se analizaron adicionalmente.

Síntesis de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo, y sus formas de mesilato y sulfato:

Se han utilizado las siguientes abreviaturas:

Aq	Acuoso
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
ee	Exceso enantiomérico
ES^+	Electronebulización
EtOAc	Acetato de etilo
h	Hora (s)
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
LCMS	Cromatografía de líquidos espectrometría de masas
M	Molar
MeOH	Metanol
$[MH^+]$	Ion molecular protonado
min	Minutos
RP	Fase inversa
MS	Espectrometría de masas
R_T	Tiempo de retención
sat	Saturado

THF Tetrahidrofurano

TFA Ácido trifluoroacético

Métodos experimentales

Todos los reactivos eran de calidad comercial y se utilizaron como se recibieron sin purificación adicional, a menos que se especifique otra cosa. En todos los casos se utilizaron disolventes de calidad reactivo.

La LCMS analítica se realizó en un espectrómetro de masas Waters ZQ conectado a un sistema de HPLC Agilent 1100. La HPLC analítica se realizó en un sistema Agilent 1100. Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) se obtuvieron en un Agilent MSD-TOF conectado a un sistema de HPLC Agilent 1100. Durante los análisis, la calibración fue verificada mediante dos masas y corregida automáticamente en caso necesario. Los espectros fueron registrados en modo de electronebulización positivo. El intervalo de masa adquirido fue de m/z 100-1100. Se utilizó la detección de los picos de masa por perfil. La cromatografía rápida se realizó o bien en un sistema CombiFlash Companion equipado con columnas de sílice RediSep o bien en un sistema Flash Master Personal equipado con gigatubos de sílice Strata SI-1. La HPLC de fase inversa se realizó en un sistema Gilson (bomba Gilson 322 con una bomba equilibradora Gilson 321 y muestreador automático Gilson 215) equipado con columnas Phenomenex Synergi Hydro RP 150 x 10 mm, YMC ODS-A 100/150 x 20 mm o bien Chirobiotic T 250 x 10 mm. La cromatografía en columna de fase inversa se realizó en un sistema Gilson (bomba Gilson 321 y colector de fracciones Gilson FC204) equipado con columna de sílice Merck LiChroprep® RP-18 (40-63 µm). Los compuestos fueron nombrados automáticamente utilizando ACD 6.0. Todos los compuestos fueron secados en una estufa de vacío durante la noche.

Los datos de HPLC y LCMS analíticas se obtuvieron con:

Sistema A: Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 30 x 4,6 mm, 4 µm), gradiente 5-100 % de CH_3CN (+ 0,085 % de TFA) en agua (+0,1 % de TFA), 1,5 mL/min, con un tiempo de gradiente de 1,75 min, 200 nm, 30 ºC; o

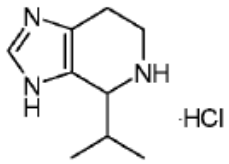
Sistema B: Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 150 x 4,6 mm, 4 µm), gradiente 5-100 % de CH_3CN (+ 0,085 % de TFA) en agua (+0,1 % de TFA), 1,5 mL/min con un tiempo de gradiente de 7 min, 200 nm, 30 ºC.

Los datos de HPLC quiral se obtuvieron con:

Sistema C: Quirobiotic V modo iónico polar (150 x 4,6 mm), MeOH al 70 % en tampón de formiato de amonio acuoso 10 mM, 1,0 mL/min, durante 10 min, 200 nm, 30 ºC.

Intermedio 1

Hidrocloruro de 4-isopropil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina

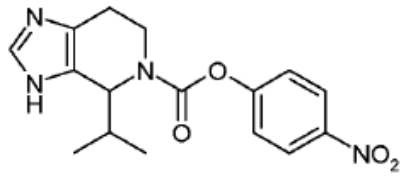


Se disolvió dihidrocloruro de histamina (61,9 g, 336 mmol) en una solución de NaOH (33,6 g, 841 mmol) en agua (125 mL) y MeOH (500 mL), y se añadió isobutiraldehído (61,4 mL, 672 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a reflujo a 80 ºC durante 24 h, se enfrió a temperatura ambiente, se ajustó el pH a 7 con solución acuosa 1 M de HCl (250 mL) y se eliminaron los disolventes al vacío. Se disolvió el residuo en MeOH caliente (300 mL), se dejó reposar durante 1 h, se filtró y se eliminaron los disolventes al vacío. Se agitó el residuo en MeOH (50 mL) y acetona (400 mL) durante 2 h y se enfrió a 4 ºC durante 2 h. Se filtró el precipitado resultante y se lavó con acetona (100 mL) para dar hidrocloruro de 4-isopropil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina (33,0 g, 48,7 %) como un sólido blanco.

LCMS analítica: pureza > 90 % (Sistema A, R_T = 0,51 min), ES^+: 166,4 $[MH]^+$.

Intermedio 2

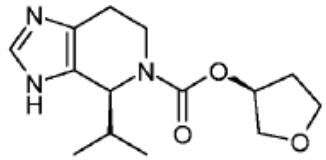
4-Isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de 4-nitrofenilo



Se disolvieron el intermedio 1 (2,78 g, 8,28 mmol, pureza 60 %) y DIPEA (5,27 mL, 30,3 mmol) en DCM (100 mL). Se enfrió la mezcla de reacción a 0 ºC y se añadió cloroformiato de 4-nitrofenilo (4,07 g, 20,2 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 h. Se lavó la mezcla de reacción con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (5 x 100 mL), se secó ($MgSO_4$) y se eliminaron los disolventes a vacío para dar 4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de 4-nitrofenilo (5,28 g, crudo) como una goma amarilla.

HPLC analítica: pureza 41 % (Sistema B, R_T = 4,70 min); LCMS analítica: pureza 86 % (Sistema A, R_T = 1,70 min), ES^+: 331,0 $[MH]^+$.

(4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo



Se suspendió NaH (0,40 g, 10,0 mmol, dispersión al 60 % en aceite mineral) en THF anhidro (20 mL), se enfrió a 0 ºC y se añadió (S)-3-hidroxitetrahidrofurano (0,88 g, 0,68 mL, 10,0 mmol) . Se agitó la suspensión a 0 ºC durante 30 minutos, después se añadió a una solución de Intermedio 2 (3,30 g, 10,0 mmol, 70 % de pureza) en THF (60 mL) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Se añadieron dos porciones adicionales de NaH y (S)-3-hidroxitetrahidrofurano en THF después de 5 y 29 h, respectivamente. Después de 2 días, se inactivó la mezcla de reacción con agua (10 mL) y se eliminaron los disolventes al vacío. Se disolvió el residuo en EtOAc (100 mL), se lavó con solución acuosa de Na_2CO_3 1 M (4 x 100 mL), se secó ($MgSO_4$) y se eliminaron los disolventes al vacío. Se purificó el residuo por cromatografía en columna (fase normal, 20 g, gigatubo de sílice Strata SI-1, DCM (200 mL) seguido de MeOH al 2 %, 4 % y 5 % en DCM (200 mL cada uno)) y HPLC de fase inversa (YMC ODS-A 100 x 20 mm, 5 µm, 25 mL/min, gradiente de 30 % a 60 % (a lo largo de 7 min) después 100 % (3 min) de MeOH en 10 % de MeOH/agua) para dar 4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo (34,8 mg, 1,1 %) como un sólido blanco.

HPLC analítica: pureza 100 % (Sistema B, R_T = 3,63 min); LCMS analítica: pureza 100 % (Sistema B, R_T = 4,01 min), ES^+: 280,1 $[MH]^+$.

Se disolvió 4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo (39,91 mg) en tampón de formiato de amonio 10 mM y MeOH (2 mL, 1: 1) y se purificó dos veces por HPLC quiral de fase inversa (Chirobiotic T 250 x 10 mm, 3 mL/min, desarrollo isocrático de MeOH al 70 % en tampón de formiato de amonio 10 mM (40 min), pH 7,4) para dar un solo diastereoisómero, (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo (6,90 mg, 99 % ee).

HPLC analítica: pureza 100 % (Sistema B, R_T = 3,63 min); HPLC quiral: pureza 99,5 % (Sistema C, R_T = 2,22 min); LCMS analítica: pureza 100 % (Sistema B, R_T = 3,90 min), ES^+: 280,1 $[MH]^+$; HRMS calculado para $C_{14}H_{21}N_3O_3$: 279,1583, encontrado 279,1571.

Mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo

Se disolvió (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre (460 mg, 1,65 mmol) en EtOAc (10 mL) a temperatura ambiente para dar una solución incolora límpida. Se añadió ácido metanosulfónico (107 µL) en porciones con calentamiento suave. Se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente durante la noche. Los cristales resultantes se recogieron por filtración, se lavaron con EtOAc (2 x 10 mL) y se secaron durante la noche a 40 ºC al vacío. Se obtuvo la sal mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo con un 99 % de rendimiento (615 mg) como un sólido blanco.

HPLC: Tiempo de retención 2,27 min, pureza 99,5 %. Punto de fusión: 189 ºC. LCMS: Tiempo de retención 4,19 min, ES^+ 280,0 $[MH]^+$, 100 % de pureza. HPLC quiral: tiempo de retención 3,70 min, > 99,5 % de. ^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ_H 8,72 (1H, m, NHC<u>H</u>NH^+), 5,29 (1H, m, OC<u>H</u>), 5,05 (0,5H, d, J 8,4Hz, CC<u>H</u>N), 4,89 (0,5H, d, J 7,6Hz, CC<u>H</u>N), 4,59 (0,5H, m, NC<u>H</u>$_A$CH$_B$), 4,39 (0,5H, m, NC<u>H</u>$_A$CH$_B$), 3,97-3,85 (4H, m, C<u>H$_2$</u>OC<u>H$_2$</u>), 3,20 (1H, m, NCH$_A$C<u>H$_B$</u>), 2,89 (3H, s, C<u>H$_3$</u>SO_3^-), 2,89-2,72 (2H, m, CC<u>H$_2$</u>CH$_2$N), 2,23-2,07 (3H, m, C<u>H</u>$(CH_3)_2$, OCH$_2$C<u>H$_2$</u>), 1,16 (3H, d, J 6,4Hz, C<u>H$_3$</u>) y 1,06-0,96 (3H, m, C<u>H$_3$</u>).

Sulfato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo

Se disolvió (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre (440,4 mg, 1,6 mmol) en IPAc (5 vol; 2,20 mL). La solución límpida se calentó a 40 ºC y se mantuvo a esta temperatura durante 30 minutos. Se añadió entonces H_2SO_4 (solución 1 M en THF, 1 equivalente, 1,6 mL) con agitación suave, lo que provocó la precipitación de un sólido blanco. Se ajustó la suspensión a 5 ºC enfriando a 1

ºC/min y se mantuvo a esta temperatura durante 20 h. Se filtró el sólido por succión y se secó al vacío a temperatura ambiente durante la noche. Se obtuvo la sal sulfato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo con un 65 % de rendimiento como un sólido blanco. Pureza por HPLC 99,3 %. Punto de fusión: 106 ºC. ^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ_H 13,70 (1 H, br, $\underline{H}SO_4^-$), 9,05 (1 H, m, NHC$\underline{H}$NH$^+$), 5,28 (1 H, m, OC$\underline{H}$), 4,95 (0,5H, d, J 8,4Hz, CC$\underline{H}$N), 4,86 (0,5H, d, J 7,6Hz, CC$\underline{H}$N), 4,55 (0,5H, m, $NC_{H_A}CH_B$), 4,35 (0,5H, m, $NC\underline{H}_ACH_B$), 3,95-3,74 (4H, m, $C\underline{H}_2OC\underline{H}_2$), 3,15 (1 H, m, $NCH_AC\underline{H}_B$), 2,78-2,67 (2H, m, $CC\underline{H}_2CH_2N$), 2,21-1,99 (3H, m, $C\underline{H}(CH_3)_2$, $OCH_2C\underline{H}_2$), 1,09 (3H, d, $C\underline{H}_3$) y 0,94-0,81 (3H, m, $C\underline{H}_3$).

Tabla 2: Resumen de las propiedades de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo base libre y las sales hidrocloruro, fosfato, sulfato y mesilato

Muestra	Forma	Punto de fusión	Higroscopicidad
Base libre	Goma amorfa	-	Delicuesce a 25 ºC/60 % HR en < 24 h
Sal hidrocloruro	Sólido cristalino	168 ºC	Delicuesce a 40 ºC/75 % HR en < 24 h
Sal fosfato	Sólido cristalino	ND	Delicuesce a 40 ºC/75 % HR en < 24 h
Sal sulfato ($1,5H_2O$)	Sólido cristalino	106 ºC	Sin cambio a 40 ºC/75 % HR durante 7 días
Sal mesilato	Sólido cristalino	189 ºC	Delicuesce a 40 ºC/75 % HR después de 3 días

Estabilidad/higroscopicidad durante el almacenamiento a largo plazo.

El mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo se evaluó también en cuanto a estabilidad e higroscopicidad cuando se dispensó en partes alícuotas de 3 g en revestimientos dobles de LDPE, se selló con una atadura de cable y se colocó, con una bolsa de desecante en una bolsa de aluminio, que posteriormente se selló por calor. La bolsa de aluminio se colocó entonces en un barril de HDPE provisto de una tapa de HDPE. Estas condiciones reflejan las condiciones típicas de almacenamiento a nivel GMP. Se evaluó la estabilidad por HPLC y se evaluó la higroscopicidad por valoración de Karl Fisher (KF). El mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo se degradó sólo un 0,1 % sin ninguna absorción de agua durante 3 años a 25 ºC/60 % de humedad relativa, y sólo un 0,1 % con solo 0,1 % de absorción de agua después de 6 meses a 40 ºC/75 % de humedad relativa.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado de:

mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo, y

sulfato 1,5 hidrato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de(3S)-tetrahidrofuran-3-ilo,

2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1, y uno o más excipientes adecuados.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o una composición farmacéutica según la reivindicación 2, para uso en el tratamiento de inflamación, de una enfermedad inflamatoria, de un trastorno inmune o autoinmune, o en la inhibición de crecimiento tumoral

4. Un compuesto o composición farmacéutica para uso según la reivindicación 3, en donde la inflamación o enfermedad inflamatoria o trastorno inmune o autoinmune es artritis (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis y artritis psoriásica), sinovitis, vasculitis, enfermedad de Sjögren, una afección asociada con la inflamación del intestino (incluyendo la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria intestinal y síndrome del intestino irritable), ateroesclerosis, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, enfermedad de Parkinson, angiopatía amiloide cerebral, arteriopatía cerebral autosómica dominante con infartos subcorticales y leucoencefalopatía, una enfermedad inflamatoria pulmonar (incluyendo asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda), una enfermedad fibrótica (incluyendo fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis cardíaca, fibrosis hepática y esclerosis sistémica (esclerodermia), una enfermedad inflamatoria de la piel (incluyendo dermatitis de contacto, dermatitis atópica y psoriasis), una enfermedad inflamatoria del ojo (incluyendo degeneración macular relacionada con la edad, uveítis y retinopatía diabética), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, septicemia, una afección inflamatoria y/o autoinmune del hígado (incluyendo la hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, enfermedad hepática alcohólica, colangitis esclerosante y colangitis autoinmune), diabetes (tipo I o II) y/o sus complicaciones, insuficiencia cardíaca crónica, insuficiencia cardíaca congestiva, una enfermedad isquémica (incluyendo ictus y lesión por isquemia-reperfusión) o infarto de miocardio y/o sus complicaciones, o epilepsia.

5. Un compuesto o una composición farmacéutica para uso según la reivindicación 3, para el tratamiento de una enfermedad seleccionada de artritis reumatoide, osteoartritis, fibrosis hepática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, esclerosis múltiple, enfermedad de Sjögren, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad inflamatoria intestinal o demencia vascular.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, que es mesilato de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5 -carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo.

7. Un compuesto según la reivindicación 1, que es sulfato $1,5H_2O$ de (4S)-4-isopropil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5 -carboxilato de (3S)-tetrahidrofuran-3-ilo.

8. Un compuesto según la reivindicación 6 o 7, que tiene una pureza superior al 95 %.

9. Un compuesto según la reivindicación 6 o 7, que tiene una pureza superior al 99 %.

10. Un compuesto según la reivindicación 6 o 7, que tiene una pureza superior al 99,5 %.

11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 6, o 7 a 10, que tiene una pureza enantiomérica superior al 95 %.

12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 6, o 7 a 10, que tiene una pureza enantiomérica superior al 99 %.

13. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 6, o 7 a 10, que tiene una pureza enantiomérica superior al 99,5 %.

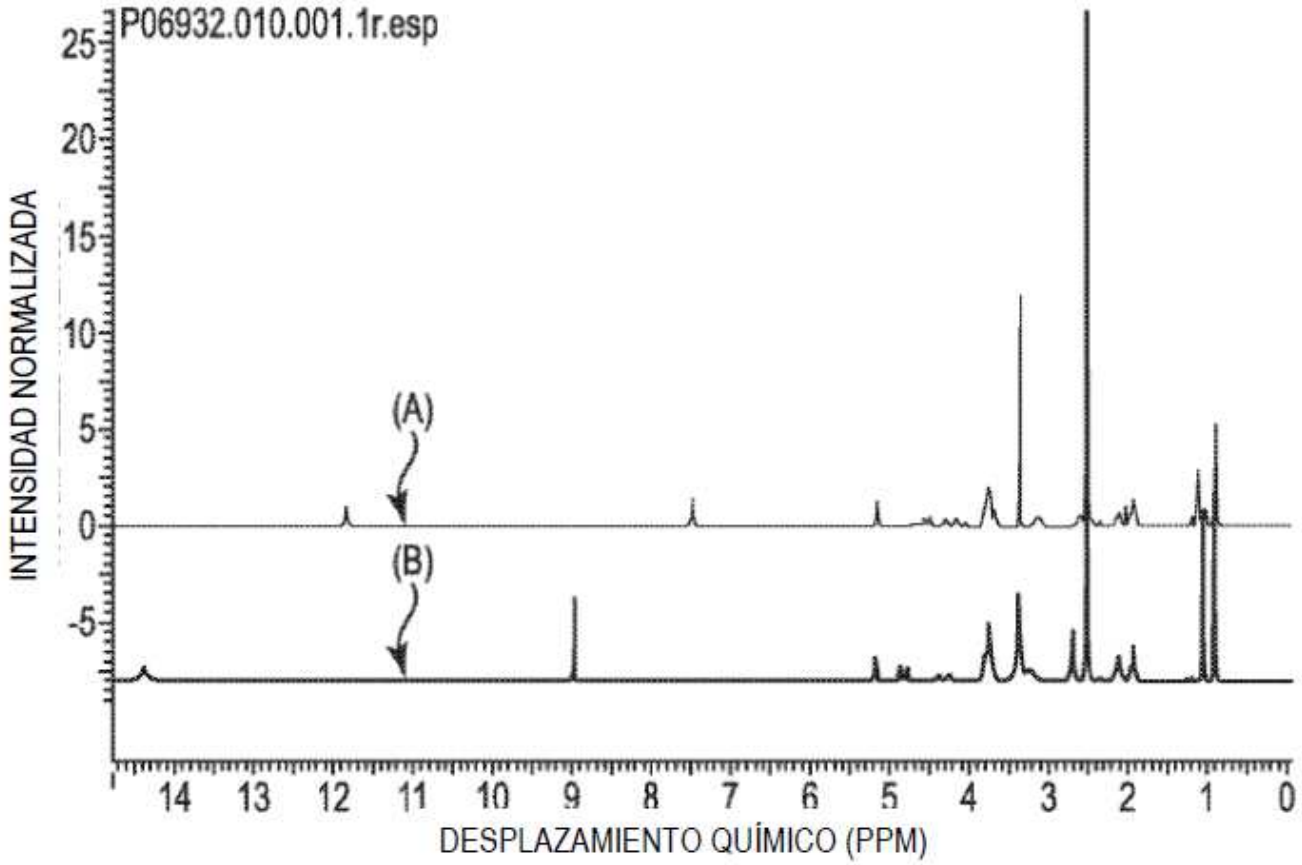

P06932.010.001.1r.esp
INTENSIDAD NORMALIZADA
25
20
15
10
5
0
-5
(A)
(B)
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
DESPLAZAMIENTO QUÍMICO (PPM)

Figura 1

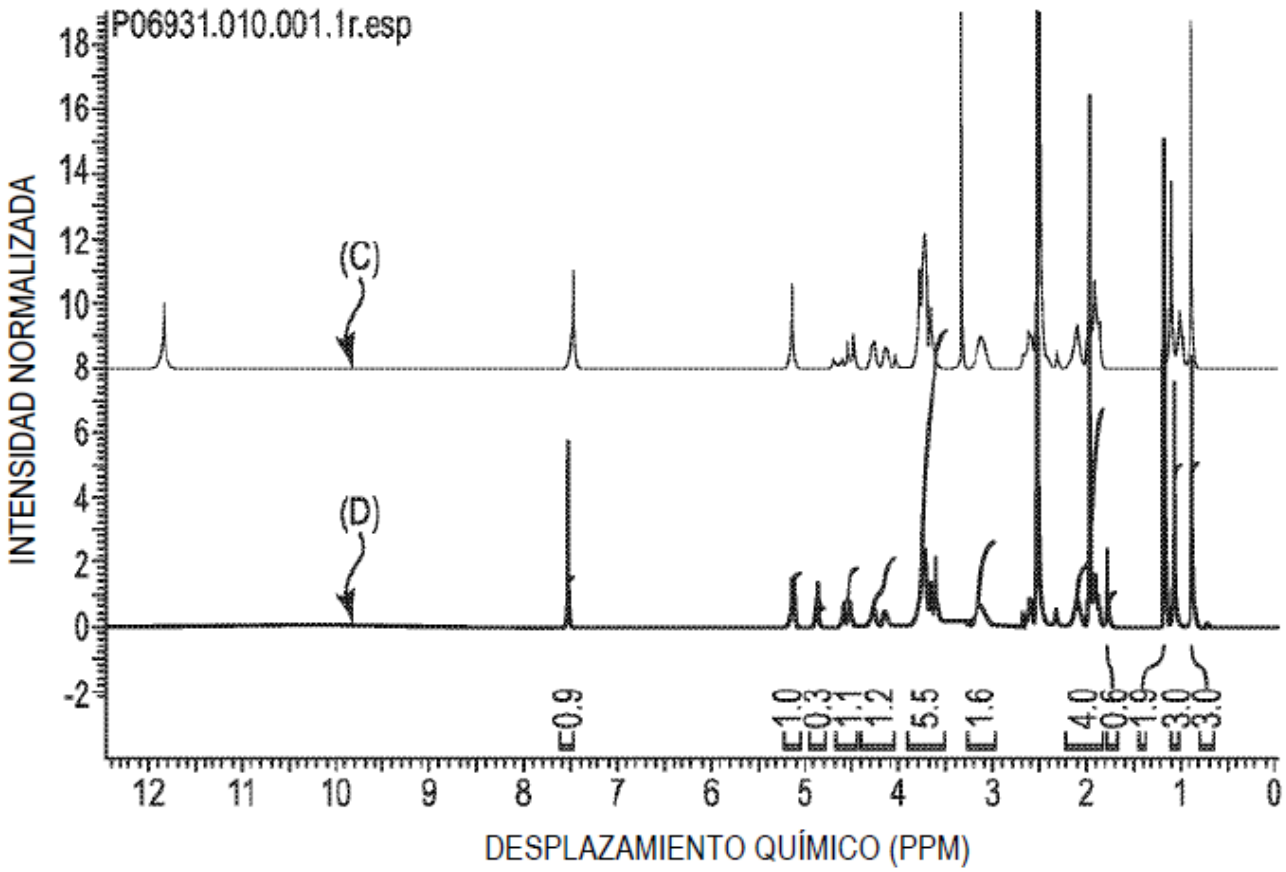

P06931.010.001.1r.esp
INTENSIDAD NORMALIZADA
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
(C)
(D)
0.9
1.0
0.3
1.1
1.2
5.5
1.6
4.0
0.6
1.9
3.0
3.0
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
DESPLAZAMIENTO QUÍMICO (PPM)

Figura 2