

Inhibidor de la isocitrato deshidrogenasa mutada IDH1 R132H

La presente invención se refiere al ácido aductivo (2E)-but-2-enedioico y ácido 3-(2-
 3-(2- $\{[4-(\text{trifluorometoxi})\text{fenil}]\text{amino}\}-1-[(1R,5R)-3,3,5\text{-trimetilciclohexil}]-1H\text{-}$
 5 benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), a métodos para preparar este aducto,
 composiciones que comprenden este aducto y, también al uso de este aducto
 para preparar un medicamento para el tratamiento de una enfermedad.

Introducción

10 El ácido 3-(2-anilino-1-ciclohexil-1H-benzimidazol-5-il)propanoico se describe en
 la especificación publicada en WO2015/121210(A1) como un inhibidor de la
 isocitrato deshidrogenasa mutada IDH1 R132H.

15 IDH1 R132H participa en varios procesos celulares como el ciclo del citrato, el
 metabolismo de los lípidos, la reparación de procesos como la metilación de la
 histona y la metilación del ADN (Prensner, J.R., and Chinnaiyan, A.M.:
 Metabolism unhinged: IDH mutations in cancer, Nature Medicine 2011, 17, 291-
 293). La inhibición de la mutación de la IDH1 representa una terapia alentadora
 20 para el tratamiento de tumores.

De acuerdo con la técnica anterior, el objeto consistió en proporcionar
 inhibidores sumamente potentes de la isocitrato deshidrogenasa mutada IDH1
 R132H, lo cual puede utilizarse en el tratamiento de una enfermedad del cuerpo
 humano y/o animal en particular para el tratamiento de tumores.

25

Descripción de la invención

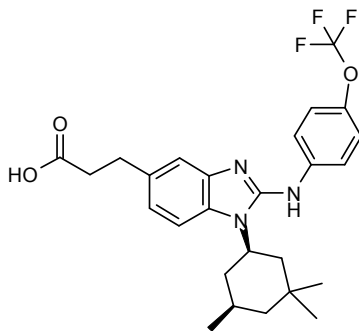
La presente invención se refiere a un ácido (2E)-but-2-enedioico y un ácido- 3-(2-
 30 $\{[4-(\text{trifluorometoxi})\text{fenil}]\text{amino}\}-1-[(1R,5R)-3,3,5\text{-trimetilciclohexil}]-1H\text{-}$
 benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), también denominado a continuación como
 aducto según la invención.

Esto forma un aducto que comprende una molécula de ácido fumárico a cuatro moléculas de ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

5 A continuación se muestra la fórmula estructural de los componentes individuales:

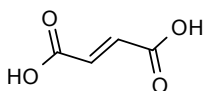
ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico

10



Ácido (2E)-but-2-enedioico (ácido fumárico)

15



Lo sorprendente es que este aducto tiene mayor biodisponibilidad en comparación con los tres ácidos 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

20

Mientras tanto, las investigaciones realizadas mediante la cristalografía de rayos X lograron demostrar que este aducto es una sal, es decir, surge de la transferencia de protones desde el ácido fumarico al ácido 3-(2-anilino-1-cicloexil-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

25

El aducto está presente preferiblemente en forma cristalina.

La presente invención se refiere a una forma cristalina de (2E)-but-2-enedioico y un ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), que se caracteriza por máximos en el difractograma de rayos X en los siguientes 2 ángulos theta: 5,4; 6,8; 10,2; 10,3; 10,8; 11,1; 16,8; 21,6.

La presente invención se refiere también a una forma cristalina de (2E)-but-2-enedioico y ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), que se caracteriza por máximos en el espectro de Raman en los siguientes números de onda (los valores se expresan en unidades de cm^{-1}):

3088, 3047, 2934, 2910, 2874, 2771, 2717, 1658, 1632, 1615, 1521, 1463, 1451, 1420, 1338, 1306, 1294, 1277, 1245, 1198, 1184, 1167, 1155, 1127, 1109, 1077, 1049, 1018, 979, 961, 943, 922, 908, 877, 866, 839, 817, 789, 767, 714, 700, 685, 646, 631, 613, 568, 517, 503, 450, 438, 416, 388, 358, 339, 330, 102.

El aducto según la invención se puede preparar al disolver ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico en isopropanol con un exceso (con base en el radio molar de los componentes del aducto) del ácido (2E)-but-2-enedioico. Se prefiere un radio molar de 0,3 a 0,8 partes de ácido (2E)-but-2-enedioico relativo a 1 parte del ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico, se usa con mayor preferencia 0,5 partes de ácido (2E)-but-2-enedioico relativo a 1 parte de ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

Al destilar el isopropanol, el aducto se cristaliza y puede aislarse.

La presente invención proporciona además un método para preparar el aducto de acuerdo con la invención.

El método comprende las siguientes etapas:

- introducir ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico y ácido (2E)-but-2-enedioico en isopropanol, en donde para 1 mol de ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico se usa 0,3 a 0,8 mol de ácido (2E)-but-2-enedioico.
 - calentar la mezcla con agitación hasta el punto de ebullición para obtener una solución clara,
 - cristalizar el ácido (2E)-but-2-enedioico y el ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), preferiblemente al concentrar la solución.
- El ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico se puede preparar de la misma manera que el método descrito en WO2010/151441 para 4-(1-ciclopentil-1H-benzo[d]imidazol-2-ilamino)-N-hidroxibenzamida. Otro método mejorado se describe a continuación.
- El ácido fumárico se encuentra disponible en el mercado.
- El aducto según la invención puede existir en la forma de variantes isotópicas. Por lo tanto, la invención comprende uno o más variantes isotópicas del aducto según la invención, en particular, aductos que contienen deuterio.
- La expresión "variante isotópica" se define como una sustancia con una fracción no natural de uno o más isótopos a partir de los cuales se crea dicha sustancia.
- La expresión "no natural" ha de entenderse como una fracción de dicho isótopo superior a su frecuencia natural. Las frecuencias naturales de los isótopos que se van a usar pueden encontrarse en "Isotopic Compositions of the Elements 1997", Pure Appl. Chem., 70(1), 217-235, 1998.
- Ejemplos de dichos isótopos son isótopos estables y radioactivos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro, bromo y yodo, como ^2H (deuterio), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{33}S , ^{34}S , ^{35}S , ^{36}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I y ^{131}I .

El aducto según la invención demuestra un espectro útil imprevisible de actividad farmacológica y farmacocinética.

5 Por lo tanto, su uso es adecuado como un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades en seres humanos y animales.

Según la invención la eficacia farmacéutica del aducto como inhibidor IDH1 R132H puede explicarse por el efecto que presentan el ácido 3-(2- $\{[4$ -
10 (trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclouexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

La presente invención, además, proporciona el uso del aducto según la invención para el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos, especialmente para el tratamiento de tumores.

15 La presente invención, además, proporciona el aducto según la invención para su uso en un método para el tratamiento y/o la profilaxis de tumores.

La presente invención, además, proporciona el uso del aducto según la invención para la producción de un medicamento para el tratamiento y/o la
20 profilaxis de trastornos, especialmente para el tratamiento de tumores.

La presente invención además proporciona un proceso para el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos, especialmente para el tratamiento de tumores, mediante
25 el uso de una cantidad farmacéuticamente eficaz del aducto según la invención.

Los tumores sólidos que puede ser tratados según la invención son, por ejemplo, tumores de mamas, vías respiratorias, cerebral, órganos reproductivos, tracto gastrointestinal, tracto urogenital, ocular, hepático, dérmico, cabeza y cuello,
30 glándula tiroidea, glándula paratiroides, óseo y el tejido conectivo y metástasis de dichos tumores.

Los tumores hematológicos que pueden tratarse son, por ejemplo,
- mielomas múltiples,

- linfomas o
- leucemias

Los tumores de mama que pueden tratarse son, por ejemplo,

- 5 - carcinomas de mama con estatus positivo de receptores hormonales
- carcinomas de mama con estatus negativo de receptores hormonales
- Her-2 carcinomas de mama positivos
- receptor de hormonas y carcinomas de mama Her-2 negativos
- carcinomas de mama asociados a BRCA
- 10 - carcinomas inflamatorio de mama.

Los tumores en las vías respiratorias que pueden tratarse son, por ejemplo,

- carcinomas bronquiales de células no pequeñas como, por ejemplo, carcinoma escamocelular, adenocarcinoma, carcinoma de células
- 15 grandes y
- carcinomas bronquiales de células pequeñas.

Los tumores cerebrales que pueden tratarse son, por ejemplo,

- gliomas
- 20 - glioblastomas
- astrocitomas
- meningiomas y
- meduloblastomas

25 Los tumores en los órganos reproductivos masculinos que pueden tratarse son, por ejemplo,

- carcinomas de próstata,
- tumores epididimarios malignos
- tumores de testículo malignos y
- 30 - carcinomas de pene.

Los tumores en los órganos reproductivos femeninos que pueden tratarse son, por ejemplo,

- carcinoma endometriales
- 35 - carcinomas de cuello uterino

- carcinomas ováricos
- carcinomas vaginales
- carcinomas vulgares

- 5 Los tumores en el tracto gastrointestinal, que pueden tratarse son, por ejemplo,
- carcinomas colorrectales
 - carcinomas anales
 - carcinomas estomacales
 - carcinomas de páncreas
- 10 - carcinomas de esófago
- carcinomas de vesícula biliar
 - carcinomas del intestino delgado
 - carcinomas de glándulas salivales
 - tumores neuroendocrinos
- 15 - tumores del estroma gastrointestinal

Los tumores en el tracto urogenital, que pueden tratarse son, por ejemplo,

- carcinomas de vejiga urinaria
 - carcinomas de células renales
- 20 - carcinomas de la pelvis renal y el tracto urinario inferior

Los tumores oculares que pueden tratarse son, por ejemplo,

- retinoblastomas
 - melanomas intraocular
- 25

Los tumores hepáticos que pueden tratarse son, por ejemplo,

- carcinomas hepatocelular
- carcinomas colangiocelular

- 30 Los tumores dérmicos que pueden tratarse son, por ejemplo,

- melanomas malignos
 - basaliomas
 - espinaliomas
 - sarcomas de Kaposi
- 35 - carcinomas de células Merkel

Los tumores de cabeza y de cuello que pueden tratarse son, por ejemplo,

- carcinomas de la laringe
- carcinomas de la faringe y la cavidad bucal
- carcinomas de las estructuras de la línea media (por ejemplo. NMC, C.A. French, Annu. Rev. Pathol. 2012, 7:247-265)

5

Los sarcomas de mama que pueden tratarse son, por ejemplo,

- sarcomas de tejidos blandos
- osteosarcomas

10

Los linfomas que pueden tratarse son, por ejemplo,

- linfomas no hodgkiniano
- linfomas hodgkiniano
- linfomas cutáneos
- linfomas del sistema nervioso central
- Linfomas asociados al SIDA

15

Las leucemias que se pueden tratar son, por ejemplo,

- leucemias mieloide aguda
- leucemias mieloide crónica
- leucemias linfática aguda
- leucemias linfática crónica
- leucemias de células pilosas

20

25 El aducto según la invención puede actuar en forma sistemática o en forma local. A tal fin, se puede administrar de manera adecuada, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntival u ótica, o como implante o como stent /endoprótesis

30 El aducto según la invención se puede suministrar de manera adecuada por cualquiera de estas vías.

35 Las formas de administración adecuadas por vía oral son aquellas que funcionan de acuerdo con la técnica anterior, que pueden liberar el aducto según la invención rápidamente y de manera modificada, por ejemplo los comprimidos

(comprimidos revestidos o recubiertos, por ejemplo con jugos gástricos resistentes a la disolución retardadora o revestimientos insolubles que controlan la liberación del aducto según la invención), comprimidos o películas/oblas que se desintegran rápidamente en la cavidad bucal, películas/ liofilizados, capsulas
 5 (por ejemplo capsulas de gelatinas duras o blandas), comprimidos azucarados, gránulos, grageas, polvos, emulsiones, suspensiones o aerosoles.

La administración parenteral puede realizarse al evitar la etapa de reabsorción (por ejemplo por vía intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intraespinal o
 10 intralumbal) o con inclusión de una reabsorción (por ejemplo por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Las formas de administración adecuadas para la administración parenteral incluyen preparaciones para inyección o infusión en la forma de suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

15 Las formas de administración adecuadas para otras vías de administración son, por ejemplo, formas farmacéuticas de inhalación (que incluyen inhaladores de polvo, nebulizadores), gotas nasales o aerosoles; comprimidos para administración lingual, sublingual o bucal, películas/oblas o capsulas,
 20 supositorios, preparaciones para los oídos o los ojos, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas bifasicas) suspensiones lipofílicas, ungüentos, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (por ejemplo, parches), leche, pastas, espumas, polvos, implantes y stents/ endoprótesis.

25 El aducto según la invención se puede convertir a una de las vías de administración arriba mencionadas. Esto se puede lograr de una manera conocida per se al mezclar auxiliares inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados. Estos auxiliares incluyen portadores (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo, polietilenglicoles
 30 líquidos), emulsionantes y agentes dispersantes o humectantes (por ejemplo dodecilsulfato sódico, oleato de polioxiesorbato), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albumina), estabilizantes (es decir: antioxidantes, por ejemplo ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos, por ejemplo óxidos de hierro) y
 35 potenciadores de sabor y/o aroma.

Ademas, la presente invención proporciona medicamentos que comprenden aductos según la invención, en general con uno o mas auxiliares inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados, y sus usos para los fines arriba mencionados.

5

El aducto según la invención se formula para proporcionar preparaciones farmacéuticas una manera conocida per se, que convierte el/los ingrediente(s) activo(s) en la forma de administración requerida con los auxiliares habituales en la formulación farmacéutica.

10

Los auxiliares empleados pueden ser, por ejemplo, sustancias portadoras, rellenos, disgregantes, aglutinantes, humectantes, deslizantes, absorbentes y absorbentes, diluyentes, codisolventes, emulsionantes, potenciadores de sabor, colorantes, conversantes, estabilizadores, agentes humectantes, sales para modificar la presión osmótica o amortiguadora. Debe hacerse referencia a Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed. Mack Publishing Company, East Pennsylvania (1980).

15

Las formulaciones farmacéuticas pueden estar presentes

20

en estado solido, por ejemplo como comprimidos, comprimidos azucarados, píldoras, supositorios, capsulas, sistemas transdérmicos o en estado semisolido, por ejemplo como ungüentos, cremas, geles, supositorios, emulsiones o en estado liquido, por ejemplo, tinturas, suspensiones o emulsiones.

25

Los auxiliares en el contexto de la invención puede, por ejemplo, ser sales, sacaridos (mono-, di-, tri-, oligo- y / o polisacáridos), proteínas, aminoácidos, péptidos, grasas,ceras, aceites, hidrocarburos y derivados. de los mismos, y los auxiliares pueden ser de origen natural o ser obtenidos por medios sintéticos o

30

parcialmente sintéticos.

Las vías orales o perorales de administración útiles son, en especial, comprimidos, comprimidos azucarados, capsulas, píldoras, polvos, gránulos, pastillas, suspensiones o emulsiones.

35

Las vías parenteral de administración son, en especial, suspensiones o emulsiones.

Los aductores según la invención se pueden usar solo o, si se requiere, con una o mas sustancias farmacologicamente activas, siempre y cuando esta combinación no provoque efectos indeseables o inaceptables. La presente invención, por lo tanto, proporciona además medicamentos que comprenden el aducto de acuerdo con la invención y uno o más ingredientes activos adicionales, especialmente para la profilaxis y el tratamiento de los trastornos anteriormente mencionados.

Por ejemplo, el aducto según la invención se puede combinar con sustancias conocidas antihiperproliferativas, citostáticas o citotóxicas, que se usan para el tratamiento de trastornos neoplásticos, pero se pueden combinar, a su vez, con aquellas sustancias que tienen un soporte o propiedad constitutiva, combinadas con aquellos compuestos que muestran efectos positivos en angiogénesis.

Las sustancias farmacológicamente activas adecuadas que son útiles para una combinación, aunque no es una lista exhaustiva, incluyen, por ejemplo:

131I-chTNT, abarelix, abiraterona, aclarubicina, aflibercept, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoína, altretamina, aminoglutetimida, amrubicina, aminascrina, anastrozol, arglabin, trióxido de arsénico, asparaginasa, axitinib, azacitidina, basiliximab, belotecán, bendamustina, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bisantreno, bleomicina, bortezomib, bosutinib, brentuximab, buserelina, busulfán, cabazitaxel, cabozantinib-silato, folinato cálcico, levofolinato cálcico, capecitabina, carboplatino, carfilzomib, carmofur, carmustina, catumaxomab, celecoxib, celmoleukina, cediranib, cetuximab, clorambucil, clormadinona, clormetina, cisplatino, cladribina, ácido clodrónico, clofarabina, copanlisib, crisantaspasa, crizotinib, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, darbepoetina alfa, dasatinib, daunorrubicina, debrafenib, decitabina, degarelix, difileucina diftitox, denosumab, deslorelina, hidrocloreuro de dexrazoxano, cloruro de dibrospidio, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, doxorubicina + estrona, eculizumab, edrecolomab, acetato de elliptinio, eltrombopag, endostatina, enocitabina, enzalutamida, epirubicina,

epitiostanol, epoetina alfa, epoetina beta, eptaplatino, eribulina, erlotinib, estradiol, estramustina, etopósido, everolimus, exemestano, fadrozol, filgrastim, fludarabina, fluorouracilo, flutamida, formestano, fotemustina , fulvestrant, nitrato de galio, ganirelix, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, glucarpidasa, glutoxim,

5 goserelina, dihidrocloruro de histamina, histrelina, hidroxycarbamida, semillas-1-125, ácido ibandróico, ibritumomab tiuxetan,ibrutinib, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, imiquimod, improsulfán, interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, ipilimumab, irinotecán, ixabepilona, lanreótida, lapatinib, lenalidomida, lenograstim, lentinan, letrozol, leuprorelina, leucovorina, levamisol, lisurida,

10 lobaplatin, lomustina , lonidamina, masoprocol, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalán, mepitiostano, mercaptopurina, mesna, metotrexato, metoxaleno, metil aminolevulinato, metiltestosterona, mifamurtida, miltefosina, miriplatin, mitobronitol, mitoguazona, mitolactol, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nedaplatin, nelarabina, nilotinib, nilutamida,

15 nimotuzumab, nimustina, nitracrina, obinutuzumab, ofatumumab, mepesuccinato de omacetaxina, omeprazol, oprelvekin, oxaliplatino, ozogamicina, terapia génica p53, paclitaxel, palifermina, semilla de paladio-103,clorhidrato de palonosetrón, ácido pamidrónico, pamidronato disódico, panitumumab, pazopanib, pegaspargasa, PEG-epoetina beta (metoxi PEG-epoetina beta), pegfilgrastim,

20 peginterferón alfa-2b, pemetrexed, pentazocina, pentostatina, peplomicina, perfosfamida, pertuzumab, picibanil, pirarrubicina, plerixafor, plicamicina, poliglusam, fosfato de poliestradiol, polisacárido-K, pomalidomida, pomatinib, porfímero sódico, pralatrexate, prednimustina, prednisona, procarbazona, quinagolida, cloruro de radio-223, raloxifeno, raltitrexed, ramucirumab,

25 rasburicasa, ranimustina, razoxane, refametinib, regorafenib , ácido risedrónico, rituximab, romidepsin, romiplostim, roniciclib, ruxolitinib, sargramostim, sipuleucel-T, sizofirán, sobuzoxano, glycididazole sodio, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, talaporfin, talco, tamibarotene, tamoxifeno, tasonermina, teceleukin,tegafur, tegafur + gimeracilo + oteracilo, temoporfina,

30 temozolomida, temsirolimus, tenipósido, testosterona, tetrofosmina, talidomida, tiotepa, thymalfasin, tioguanina, tocilizumab, topotecan, toremifeno, tositumomab, I 131 tositumomab, trametinib, trabectedina, trastuzumab, treosulfan, tretinoína, trilostano, triptorelina, trofosfamida, triptófano, ubenimex, valrubicina, vandetanib, vaporetida, vemurafenib, vinblastina, vincristina,

35 vindesina, vinflunina, vinorelbina, vismodegib, vorinostat, vorozol, microesferas

de vidrio de itrio 90, zinostatina, zimatrina de zinostatina, ácido zoledrónico, zorubicina.

- Por lo general, los siguientes objetivos se pueden conseguir con la combinación del aducto según la invención con otros agentes activos citotóxicos o citotóxicos:
- 5 • eficacia mejorada para ralentizar el crecimiento de un tumor, reducir su tamaño o incluso eliminarlo por completo, en comparación con con el tratamiento de un ingrediente activo individual;
 - la posibilidad de usar los agentes quimioterapéuticos que se usan en menores
 - 10 dosis que en la monoterapia;
 - la posibilidad de una terapia mas tolerable con menos efectos secundarios en comparación con la administración individual;
 - la posibilidad de un tratamiento de espectro mas amplio para trastornos neoplásicos;
 - 15 • lograr un índice de respuesta mayor durante la terapia;
 - un mayor tiempo de supervivencia del paciente en comparación con la terapia estándar actual.

- Ademas, el aducto según la invención también se puede combinar con
- 20 radioterapia y/o intervención quirúrgica.

Parte experimental

25 Ejemplos

Ejemplo 1:

Preparación de metilo 3-(3-nitro-4-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclouexil]amino}fenil)propanoato

- 30 Inicialmente, se cargaron 402 g (1,77 mol) de metilo 3-(4-fluoro-3-nitrofenil)propanoato como una solución en 3,0 L de acetonitrilo con 367 g (2,66 mol) de carbonato de potasio y se agregaron 300 g (2,12 mol) de (1R, 5R)-3,3,5-

trimetilciclohexanamina La mezcla se agitó durante 12 horas a reflujo de 100 °C. Luego de dejar enfriar a 20 °C, se agregó a la mezcla 3,6 L de agua. Para mejorar la fase de separación, se agregó 1,0 L de solución saturada de cloruro de sodio. La fase acuosa inferior se eliminó. Las fases orgánicas se concentran
5 bajo presión reducida (ca. 50 mbar) a una temperatura de 50 °C para producir un residuo oleoso.

Rendimiento: 640,5 g (104% de la teoría) de un aceite naranja altamente viscoso.

RMN de ¹H (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 0,75 – 0,87 (m, 2H), 0,89 (d, 3H),
10 0,93 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 1,10 (t, 1H), 1,34 – 1,39 (m, 1H), 1,68 – 1,83 (m, 2H), 1,99 – 2,02 (m, 1H), 2,58 – 2,62 (m, 2H), 2,75 – 2,79 (m, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,73 – 3,82 (m, 1H), 7,07 (d, 1H), 7,44 (dd, 1H), 7,79 (br. d., 1H), 7,89 (d, 1H).

15 **Ejemplo 2:**

Preparación de 3-(3-amino-4-(((1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil)amino)fenil)propanoato de metilodihidrocloruro de dioxano solvato

Inicialmente, se cargaron 640,5 g (1,77 mol) de metilo3-(3-nitro-4-(((1R,5R)-
20 3,3,5-trimetilciclohexil)amino)fenil)propanoato (producto bruto del Ejemplo 1) como una solución en 3,2 de tetrahidrofurano con 32 g de catalizador de paladio. (5% en peso, 0,05 eq., 32 g, 88,5 mmol) en un reactor de hidrogenación y la mezcla se agitó en una atmósfera de hidrógeno (presión de 1,5) a una temperatura de 25 °C durante 10 horas. La mezcla de la reacción se filtró a
25 través de un filtro de presión (placa de filtro Seitz K300). El filtro se concentró a presión reducida (ca.50 mbar) a una temperatura de 50 °C para obtener un residuo oleoso. El residuo se disolvió en 1,3 L de dioxano y se agregó 560 mL de 4N HCl en dioxano (4,4 mol HCl) a un temperatura interna de 20 °C durante 20 min. A lo largo de este proceso, el producto se cristaliza. Esto se agitó durante 2
30 horas, se filtró y se lavó dos veces, ambas con 500 ml de MTBE. El producto húmedo se secó en una cabina de secado a una temperatura de 40 °C durante 4 horas al vacío.

Rendimiento: 785 g (91% de la teoría, en base al uso de 3-(4-fluoro-3-nitrofenil)propanoato) de metilo de un sólido amarillo pálido.

RMN de ^1H (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0,72 – 0,84 (m, 1H), 0,85 – 1,05 (m, 10H), 1,19 – 1,28 (m, 1H), 1,31 – 1,35 (m, 1H), 1,59 – 1,71 (m, 2H), 1,90 – 1,97 (m, 1H), 2,56 – 2,62 (m, 2H), 2,72 – 2,78 (m, 2H) 3,51 – 3,54 (m, 1H), 3,55 (s, 3H), 3,57 (s, 8H, dioxano), 6,28 – 6,37 (br. m., 5H), 6,69 (br. d., 1H), 6,70 (s, 1H), 7,01 (br. d., 1H).

Ejemplo 3:

10 Preparación de ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

A una suspensión de 500 g (1,043 mol) de metilo 3-3-amino-4-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]amino}fenil)propanoato dihidrocloruro dioxane solvato en 3,0 L de THF se agregaron 296.5 g (2,29 mol) de N,N diisopropiletilamina a 20 °C de temperatura. La mezcla se agitó durante 30 min mientras se añadieron 252 g (1,15 mol) de 4- (trifluorometoxi) fenil isotiocianato y la temperatura se mantuvo a 50 °C durante 1 hora. Luego, se añadieron 300 g (1,56 mol) de EDCI y la mezcla se agitó durante 4 horas a reflujo a temperatura condensada de 80 °C. La mezcla se enfrió a 20 °C, se añadió 1.5 L de una solución acuosa de ácido cítrico al 20%. La mezcla se agitó durante 30 min, se añadió 1,5 L de MTBE y la mezcla se agitó durante 15 min mas. La fase acuosa inferior se eliminó. Se removió la fase orgánica dos veces, cada vez con 1,5 L de solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio al 4,8%. La fase orgánica se concentró a presión reducida (ca. 50 mbar) a una temperatura condensada de 50 °C para obtener un residuo oleoso al cual, posteriormente, se agregaron 3 L de THF y 2 L de una solución de hidróxido de sodio al 3,7% (1,56 mol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. Luego de enfriar a 20°C, la mezcla se ajustó a un pH 4 con ácido clorhídrico acuoso al 10%, se añadieron 500 ml de solución saturada de cloruro sódico y la fase acuosa se eliminó. La fase orgánica se concentró a 80 °C temperatura condensada para obtener un residuo oleoso, al cual se agregó 4L de isopropanol y se destilaron ca. 2,5 L a 100°C de temperatura condensada. Se

agregaron 900 mL de agua al mismo tiempo durante 20 min a temperatura interna de 80 °C. A lo largo de este proceso, el producto se cristalizó a partir de la mezcla caliente. Después de enfriar a 20°C, el producto se filtró y se lavó varias veces con 500 mL de isopropanol y 500 mL de agua. El producto húmedo
 5 se secó en una cabina de secado a una temperatura de 60°C durante 16 horas a vacío.

Rendimiento: 398 g (77% de la teoría) de un sólido cristalino blanco (m.p.: 248°C).

RMN de ^1H (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0,93 (s, 3 H), 0,96 (s, 3 H), 1,03 (s, 3 H), 1,04 - 1,12 (m, 1H), 1,35 - 1,44 (m, 2H), 1,70 - 1,92 (m, 3H), 2,03 (t, 1H), 2,43 - 2,60 (m, 2H), 2,85 (t, 2H), 4,63 (t, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,32 (d, 2H), 7,42 (d, 1H), 7,79 (d, 2H), 8,98 (br. s., 1H), 12,06 (br. s., 1H).
 10

Ejemplo 4:

15 **Preparación del aducto ácido (2E)-but-2-enedioico y del ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-yl)propanoico (1:4)**

A 296 g (603 mmol) de ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico y 35 g (301,5 mmol) de
 20 ácido fumárico se agregó 4,5 L de isopropanol y la mezcla se calentó revolviendo a temperatura de reflujo. La solución, controlada a 80 °C de temperatura, se filtró y luego se destilaron 3,25 L de isopropanol durante lo cual el producto se cristalizó. Después de enfriar a 20 °C, se filtró el producto y se lavó con 500 mL de isopropanol. El producto húmedo se secó en una cabina de
 25 secado a una temperatura de 60°C durante 16 horas a vacío.

Rendimiento: 280 g (89% de la teoría) de un sólido cristalino blanco (m.p.: 235°C).

RMN de ^1H (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0,93 (s, 3 H), 0,96 (s, 3 H), 1,03 (s, 3 H), 1,04 - 1,12 (m, 1H), 1,35 - 1,44 (m, 2H), 1,70 - 1,92 (m, 3H), 2,03 (t, 1H), 2,43

- 2,60 (m, 2H), 2,85 (t, 2H), 4,63 (t, 1H), 6,62 (s, 2 H; ácido fumárico), 6,90 (d, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,32 (d, 2H), 7,42 (d, 1H), 7,79 (d, 2H), 8,98 (br. s., 1H), 12,1 – 12,6 (br. m., 1H + ácido fumárico).

5

Biodisponibilidad oral

El compuesto A es puro ácido 3-(2-{{4-(trifluorometoxi)fenil}amino}-1-[(1R, 5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico en forma cristalina, como se obtiene en un método de acuerdo con el Ejemplo 3.

10

El compuesto B es un aducto según la invención, ácido (2E)-but-2-enedioico y ácido 3-(2-{{4-(trifluorometoxi)fenil}amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il) propanoico en forma cristalina, como se obtiene en un método de acuerdo con el Ejemplo 4.

15

La biodisponibilidad relativa se determinó mediante estudios en ratas Wistar.

El Compuesto A se administró en primer lugar por vía oral en forma de una solución. A tal fin, el ingrediente activo se disolvió en la mezcla de polietilenglicol al 80% que tenía un peso molecular promedio de 400 (PEG400) y 20% de agua. La solución de ingrediente activo es el punto de referencia para determinar la biodisponibilidad relativa (formulación A1).

20

El Compuesto A se administró en primer lugar por vía oral en forma de suspensión de tilosa (formulación A2).

25

El Compuesto B se administró en primer lugar por vía oral en forma de suspensión de tilosa (formulación B).

30

Tylose (Tylose[®] MH 300 (Sigma)) es un éter de hidroxietilcelulosa de metilo, el cual se usa en materiales como un polímero no iónico soluble en agua, para lograr retención de agua, unión, espesamiento, formación de película y propiedades coloidales.

Para preparar una suspensión de tilosa acuosa al 0,5% (p/v), se agitó y estiro la tilosa durante unas 12 horas en agua pura, luego se formo una mezcla viscosa. El compuesto A y el compuesto B fueron molidos en la mezcla, luego se formaron las suspensiones de tilosa correspondientes (formulación A2 y
5 formulación B).

Las Figuras 1 a, 1b y 1c muestran las concentraciones de plasma del ingrediente activo ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico (ingrediente activo API) luego
10 de la administración oral del compuesto A en forma de una solución (formulación A1, Fig. 1b) y luego de la administración oral del compuesto B en forma de una suspensión (formulación B, Fig.1c).

Para la formulación A1, se administraron 5 ml/kg de peso corporal. Esto
15 corresponde a una cantidad de ingrediente activo API de 10 mg/kg.

Para la formulación A2, se administraron 5 ml/kg de peso corporal. Esto corresponde a una cantidad de ingrediente activo API de 10 mg/kg.

20 Para la formulación B, se administraron 5 ml/kg de peso corporal. Esto corresponde a una cantidad de ingrediente activo API de 10,6 mg/kg.

Las concentraciones plasmáticas se determinaron al recolectar alrededor de 0,4 ml de sangre en cada caso mediante un catéter venoso permanente. Las
25 muestras de sangre se centrifugaron (aproximadamente 5 minutos) para obtener el plasma. Se analizaron las muestras de plasmas mediante LC/MS/MS con respecto al ingrediente activo ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimeticiclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

30 El ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-bencimidazol-5-il)propanoico puro mostró una biodisponibilidad del 25% en el experimento F_{Rel} .

Para el aducto 4: Un aducto con ácido fumárico, se determinó una biodisponibilidad de 110% en el experimento FRei.

5 Por lo tanto, el aducto según la invención demuestra una disponibilidad claramente más alta que el ácido 3-(2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]amino]-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.

Difractograma de rayos-X.

10 La Fig. 2 muestra el difractograma de polvo de rayos X del aducto de acuerdo con la invención en forma cristalina, como se obtiene en un método de acuerdo con el Ejemplo 4.

Se uso un difractómetro de polvo STOE automático en modo de transmisión con radiación $\text{CuK}\alpha_1$ monocromatizada con germanio. El tubo de rayos X con ánodo de cobre funciona a 40 kV y 40 mA. Los escaners 2Θ registraron entre $2^\circ \leq 2\Theta \leq 40^\circ$ (tamaño de paso $0,5^\circ$). El software STOE WinX^{pow} se utilizó para evaluar los datos.

Las máximas de los valores 2Θ se enumeran en la Tabla 1.

20

Tabla 1: tabla de reflexión XRPD

Tabla de bandas [2 theta]
5,4
6,8
7,4
8,7
8,9
10,2
10,3
10,8
11,1
11,6

12,4
12,7
13,5
14,0
14,3
14,6
14,9
15,3
15,5
15,9
16,2
16,8
17,0
17,3
17,6
17,9
18,6
18,7
19,2
19,4
19,7
20,0
20,4
20,9
21,1
21,3
21,6
22,3
22,8
22,9
23,0
23,6
24,2

24,4
24,9
25,0
25,4
26,0
26,5
26,9
27,1
27,4
27,7
28,0
28,2
28,8
29,4
29,6
31,0
31,6
32,5
33,1
33,7
34,0
34,5
34,7
35,0
36,1
36,5
36,9
37,7

La Fig. 3 muestra el espectro de Raman del aducto de acuerdo con la invención en forma cristalina, como se obtiene en un método de acuerdo con el Ejemplo 4.

Tabla 2:

Tabla 2: tabla de bandas de espectro de Raman

Bandas Raman [cm^{-1}]
3088
3047
2934
2910
2874
2771
2717
1658
1632
1615
1521
1463
1451
1420
1338
1306
1294
1277
1245
1198
1184
1167
1155
1127
1109
1077
1049
1018
979
961
943

922
908
877
866
839
817
789
767
714
700
685
646
631
613
568
517
503
450
438
416
388
358
339
330
102

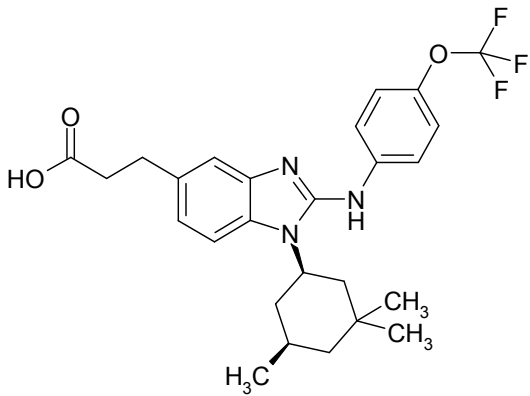
Inhibición de IDH1 R132H en un ensayo bioquímico

- 5 IDH1 R132H cataliza la reducción dependiente de NADPH alfa-cetoglutarato (α -KG) a (2R)-2-hidroxiglutarato (2-HG). El consumo de NADPH está determinado por la luminiscencia.

Las reacciones bioquímicas se realizaron a 32 °C en una placa de valoración en una reacción de volumen de 41 µL para cada caso y en las siguientes condiciones de amortiguador: 50 mM Tris pH 7,5; 100 mM NaCl; 20 mM MgCl₂; 0,05% BSA; 0,01% Brij; 1 µM NADPH; y 250 µM α-KG. La enzima IDH1 R132H se usó a una concentración final de 1,5 nM. Los compuestos de ensayo se analizaron en un rango de concentración de 0,002 a 10 µM. La concentración final de DMSO fue del 2,4%.

La reacción se incubó durante 30 minutos, luego se agregó 40 µL de una mezcla de detección (0,75 µg/ml luciferasa, 0,02 U/m oxidorreductasa, 4 µg/mL FMN, 2 µL/ml decanal/etanol, 50 mM Tris pH 7,5, 0,5% glicerol, 0,01% Tween 20, 0,05% BSA). La luminiscencia se determinó mediante un lector de luminiscencia (10 segundos de tiempo de medición, 1 segundo de período de integración, 30% de sensibilidad). La disminución en la luminiscencia es proporcional a la actividad de mIDH1. Los valores IC₅₀ se determinaron mediante interpolación por los de la luminiscencia relativa contra la concentración de inhibidor. Los resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: IC₅₀ en el ensayo bioquímico IDH1 R132H

Compuesto de prueba	IDH1 R132H IC ₅₀ [µM]
ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico. 	0,02

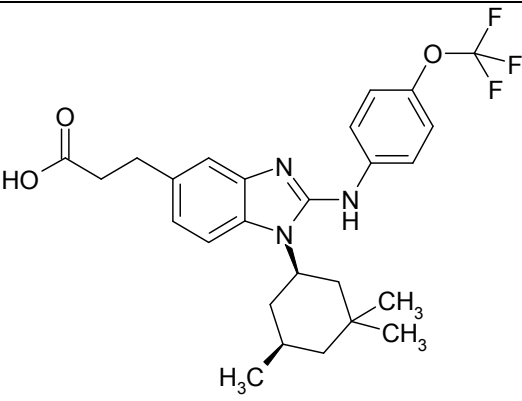
Inhibición de IDH1 R132H en un ensayo celular

Se determinaron las concentraciones (2R)-2-hidroxiglutarato (2HG) en un medio de linea celular que tiene una sobreexpresión de la proteína de isocitrato deshidrogenasa mutada. mIDH cataliza la reducción NADPH-dependiente de alfa-cetoglutarato a 2-HG. Las células (LN229 R132H, Mohrenz et al., Apoptosis (2013) 18: 1416-1425) se cultivaron en DMEM que contenía 10% de FCS. Las células se obtuvieron usando tripsina y se colocaron en 96 placas de valoración. Las células se incubaron durante la noche a 37 °C en CO₂ al 5%. Al día siguiente, las muestras de los compuestos se agregaron a las células. La concentración final de DMSO fue del 0,1% y se usaron controles DMSO. Las placas de valoración se colocaron en una incubadora durante 24 horas.

2-HG se midió con el método publicado por Balss et al. (Acta Neuropathol (2012) 124:(883-891) HClO₄ se agrego a cada pocillo y los platos de valoración fueron centrifugados. Se extrajeron alícuotas y se incubaron con hidroxiglutarato deshidrogenasa (HGDH), diaforasa, NAD⁺ y resazurin. La conversión de resazurina a resorufina se determinó mediante espectroscopía de fluorescencia a Ex 540 nm Em 600 nm. El aumento en la señal de fluorescencia es proporcional a la formación de 2-HG. Los valores IC₅₀ se determinaron por interpolación a partir de gráficos de la fluorescencia relativa frente a la concentración del inhibidor. Los resultados se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4: IC₅₀ en el ensayo celular IDH1 R132H

Compuesto de prueba	IDH1 R132H IC ₅₀ [μM]
ácido 3-(2-([4-(trifluorometoxi)fenil]amino)-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico.	0,08

Compuesto de prueba	IDH1 R132H IC ₅₀ [μM]
 <chem>CC1(C)CC[C@H](C1)c2nc3ccc(cc3n2)C(=O)O</chem>	

Reivindicaciones

1. Ácido (2E)-But-2-enedioico y ácido- 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico (1:4).
- 5 2. El aducto según la Reivindicación 1 en forma cristalina, caracterizado por máximos en el difractograma de rayos X en los siguientes ángulos 2 theta: 5,4; 6,8; 10,2; 10,3; 10,8; 11,1; 16,8; 21,6.
- 10 3. El aducto según la Reivindicación 1 en forma cristalina, caracterizado por máximos en el espectro Raman en los siguientes números de onda en unidades de cm^{-1} :
3088, 3047, 2934, 2910, 2874, 2771, 2717, 1658, 1632, 1615, 1521, 1463, 1451, 1420, 1338, 1306, 1294, 1277, 1245, 1198, 1184, 1167, 1155, 1127, 1109, 1077,
15 1049, 1018, 979, 961, 943, 922, 908, 877, 866, 839, 817, 789, 767, 714, 700, 685, 646, 631, 613, 568, 517, 503, 450, 438, 416, 388, 358, 339, 330, 102.
4. Metodo para preparar el aducto segun las Reivindicaciones 1, 2 o 3, que comprende las etapas de:
- 20 - introducir ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico y ácido (2E)-but-2-enedioico en isopropanol, en donde para 1 mol de ácido 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-
25 benzimidazol-5-il)propanoico se usa 0,3 a 0,8 mol de ácido (2E)-but-2-enedioico.
- calentar la mezcla con agitación hasta el punto de ebullición para obtener una solución clara,
- 30 - cristalizar el ácido (2E)-but-2-enedioico y el ácido- 3-(2-{[4-(trifluorometoxi)fenil]amino}-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), preferiblemente al concentrar la solución.

5. Aducto según cualquiera de las Reivindicaciones 1, 2 o 3, para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades.

5 6. Aducto según cualquiera de las Reivindicaciones 1, 2 o 3, para el uso en el proceso para el tratamiento y/o profilaxis de tumores.

7. Medicamento que comprende el aducto según cualquiera de las Reivindicaciones 1, 2 o 3.

8. Medicamento según la Reivindicación 7 que comprende uno o mas de ingredientes activos adicionales.

10 9. Medicamento de acuerdo con cualquiera de la Reivindicaciones 7 u 8 que comprende uno o más auxiliares inertes, no tóxicos, farmacéuticamente aceptables.

10. Medicamento según cualquiera de las Reivindicaciones 7, 8 o 9, para el tratamiento de tumores.

Resumen

La presente invención se refiere al ácido aductivo (2E)-but-2-enedioico y ácido
3-(2-([4-(trifluorometoxi)fenil]amino)-1-[(1R,5R)-3,3,5-trimetilciclohexil]-1H-
5 benzimidazol-5-il)propanoico (1:4), a métodos para preparar este aducto,
composiciones que comprenden este aducto y, también al uso de este aducto
para preparar un medicamento para el tratamiento de una enfermedad.

Figuras:

Fig 1a

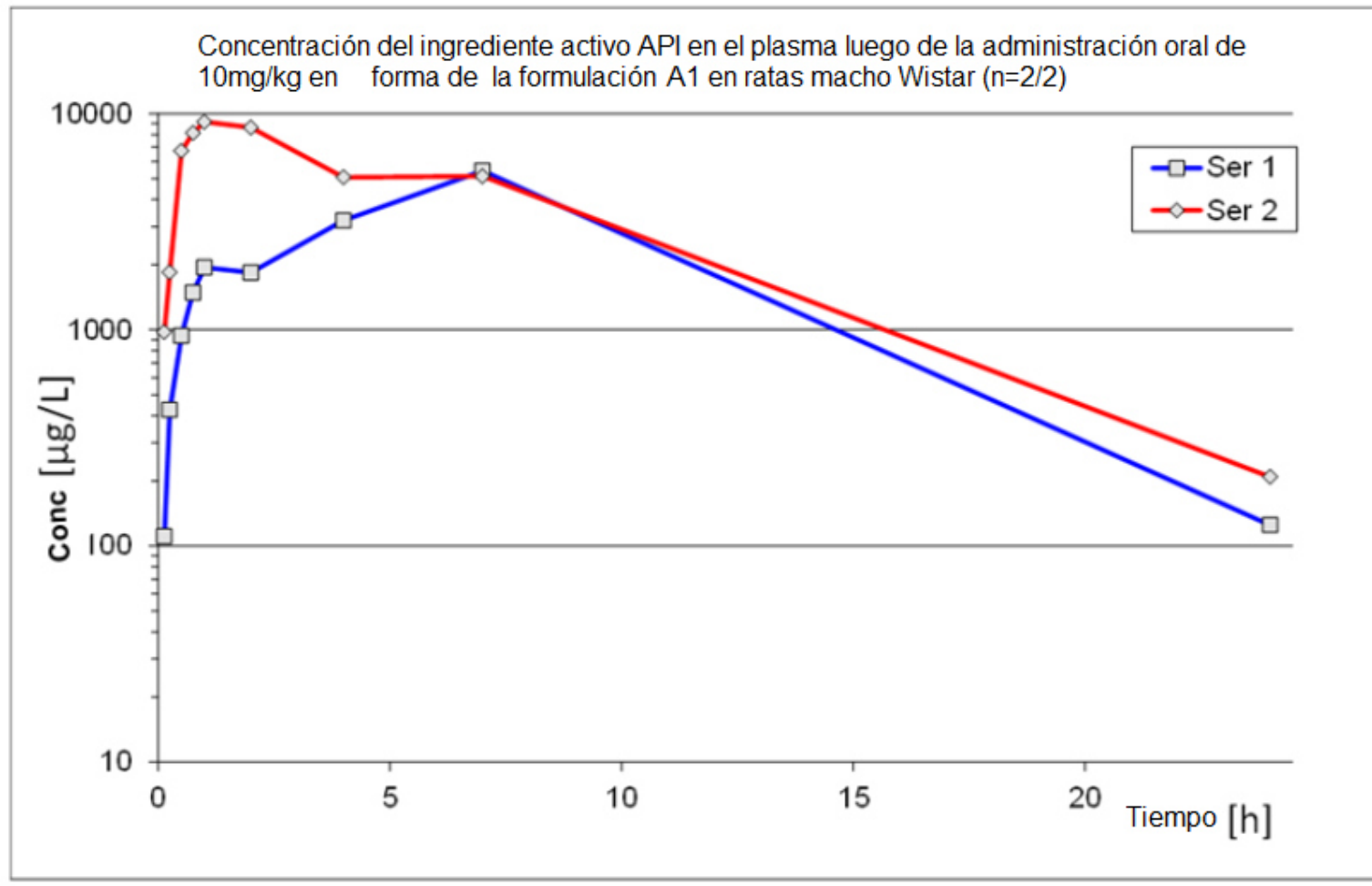


Fig. 1b

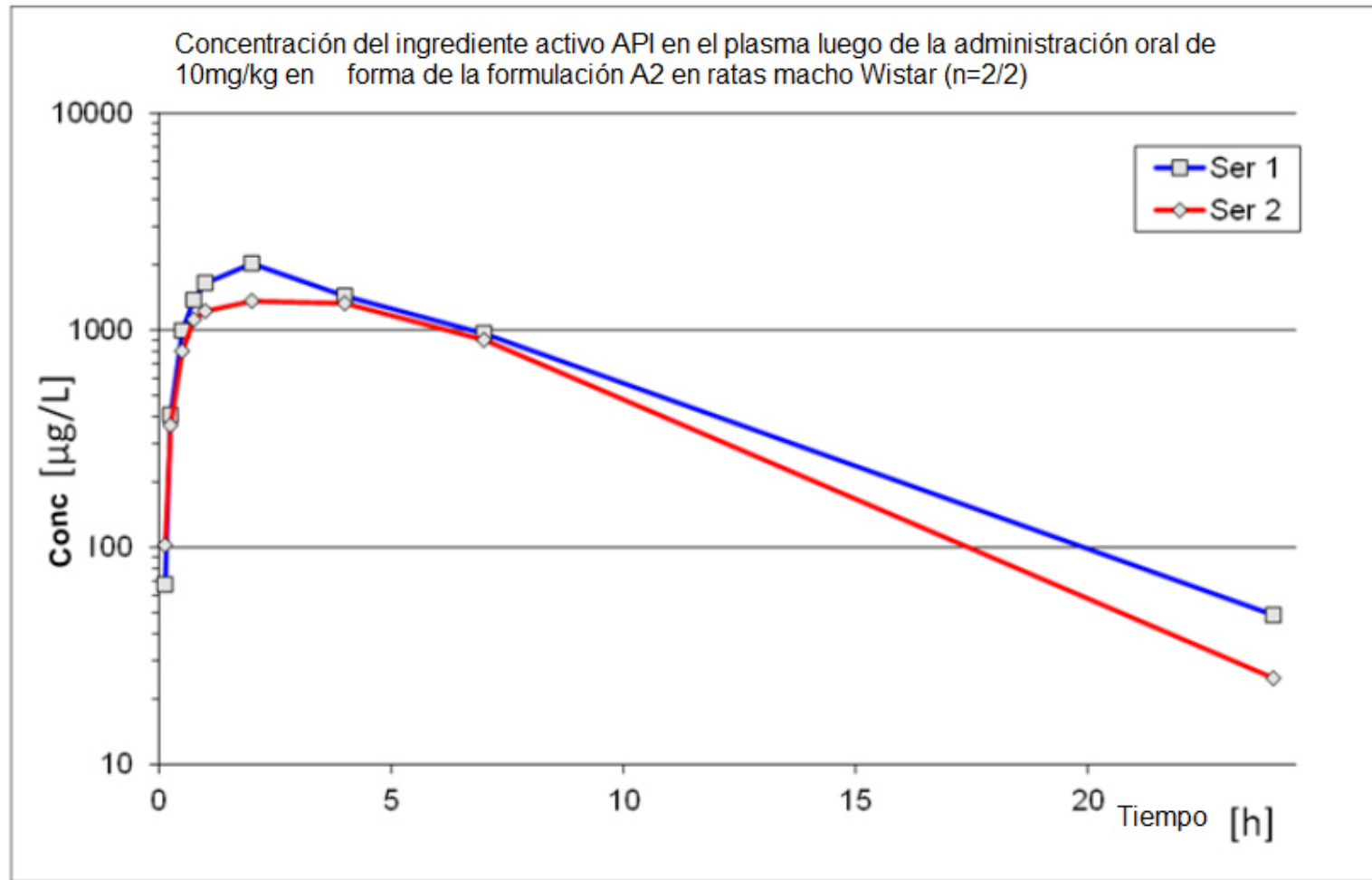


Fig. 1c

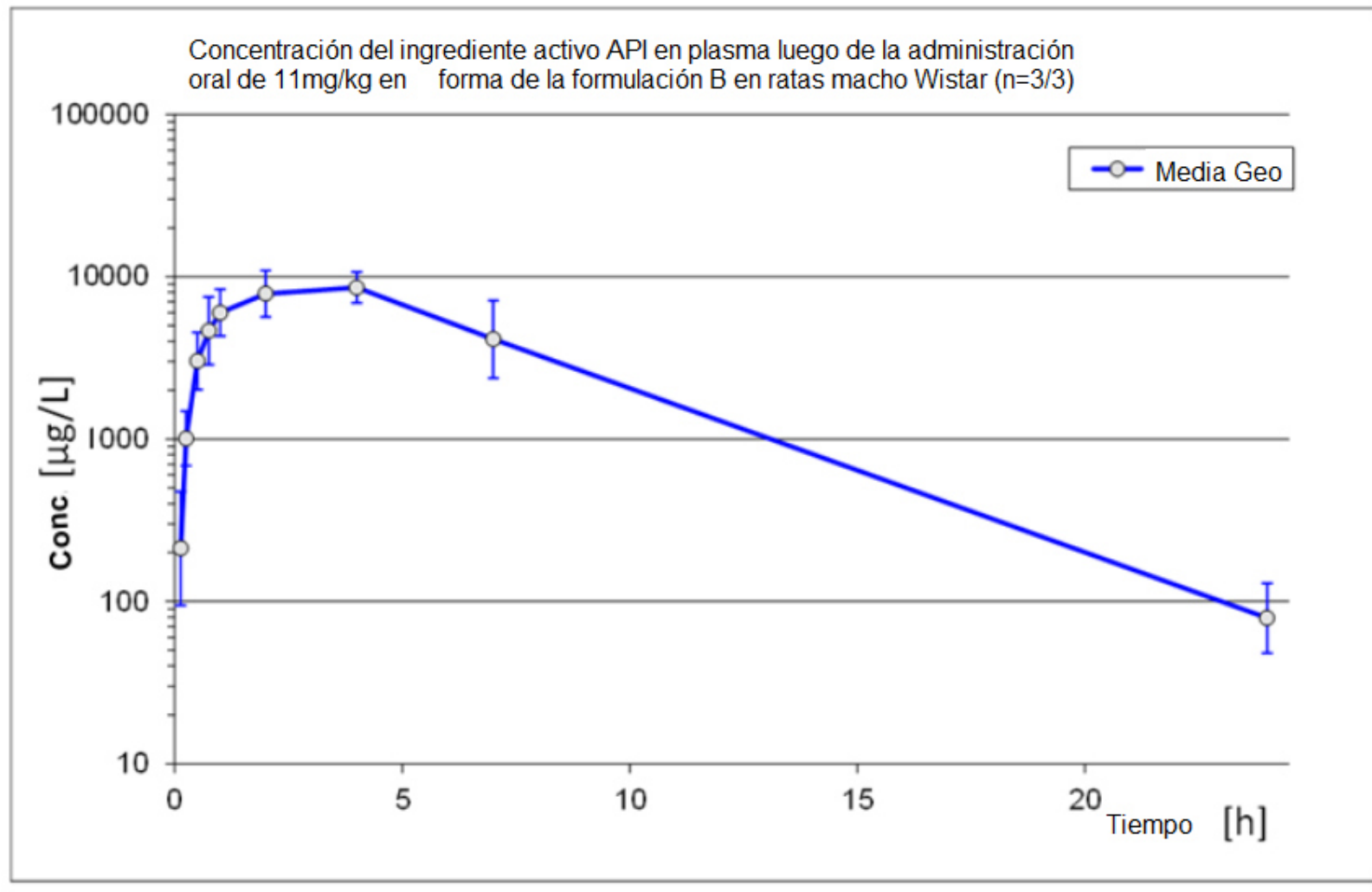


Fig. 2: Difractograma de rayos-X.

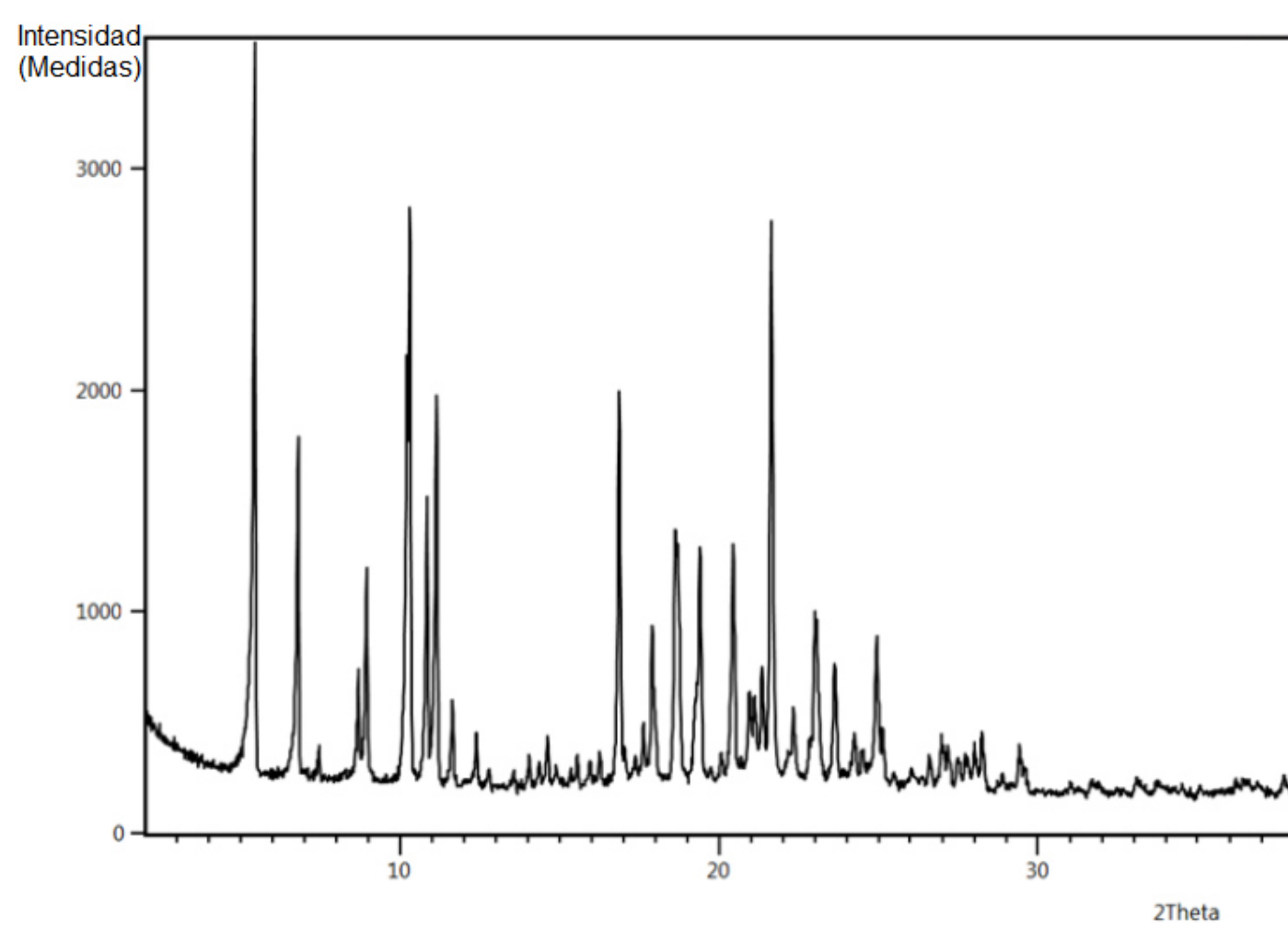


Fig. 3: Espectro de Raman

