

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 991 529**

51 Int. Cl.:

C07K 5/078 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.09.2020** **PCT/IB2020/058861**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.04.2021** **WO21059142**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2020** **E 20868451 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2024** **EP 4034105**

54 Título: **Forma polimórfica del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y usos del mismo**

30 Prioridad:

23.09.2019 US 201962904339 P

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

03.12.2024

73 Titular/es:

GALIMEDIX THERAPEUTICS INC. (100.0%)
3704 Calvend Lane
Kensington, MD 20895, US

72 Inventor/es:

REPASI, JOZSEF;
SZABO, ANDRAS y
HENRICH, MARKUS

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 991 529 T3

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

DESCRIPCIÓN

Forma polimórfica del ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y usos del mismo

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere a una nueva forma polimorfa del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, a un proceso para elaborar la nueva forma polimorfa del compuesto y a usos del mismo para elaborar otras formas polimorfas del compuesto.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El glaucoma y la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) son las principales causas de pérdida progresiva de la visión y ceguera en todo el mundo, y la incidencia y prevalencia de cada enfermedad aumenta sustancialmente con la edad. Al igual que con la enfermedad de Alzheimer (EA), ambas afecciones tienen una fuerte incidencia relacionada con la edad y los cambios neurodegenerativos crónicos observados en los ojos de los pacientes con glaucoma y DMRE son similares a los cambios característicos de los cerebros del paciente con EA. La DMRE y el glaucoma tienen un vínculo común en el sentido de que la presencia de oligómeros beta amiloide tóxicos (A β) está asociada con la progresión de la enfermedad.

20

[0003] El ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico es un dipéptido que contiene D-triptófano y ácido 2-amino-2-metilpropiónico, que actúa como un modulador de la agregación de A β , previniendo la formación de especies oligoméricas y fibrilares tóxicas, al tiempo que promueve la agregación en la vía no tóxica. Actualmente, el ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico se encuentra en desarrollo clínico para el tratamiento tópico del glaucoma y la degeneración macular seca relacionada con la edad (DMRE).

25

[0004] Las enfermedades y afecciones asociadas con beta-amiloide (A β) incluyen enfermedades y afecciones en las que la función celular neuronal y no neuronal se ve afectada por la presencia de oligómeros A β tóxicos, que se forman a partir de monómeros A β mal plegados por agregación. Las enfermedades y afecciones asociadas con A β incluyen enfermedades y afecciones oftálmicas y neurológicas, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer (EA), el glaucoma y la degeneración macular relacionada con la edad de la retina.

30

[0005] La EA es la forma más común de demencia y su incidencia está aumentando a un ritmo alarmante en todo el mundo. La fisiopatología de la EA se caracteriza por una neurodegeneración crónica y progresiva que implica sinaptotoxicidad temprana. Una de las características patológicas más obvias de la EA es la acumulación de A β depositado en el cerebro. Si bien el A β normal es vital para el funcionamiento neuronal adecuado, las versiones mal plegadas de A β a menudo se asocian con la sobreproducción de A β y se cree que son la base de la patología sináptica temprana. Por lo tanto, la reducción de oligómeros tóxicos de A β en el cerebro sin dañar el funcionamiento normal de A β puede ser una estrategia terapéutica prometedora para mejorar o revertir la disfunción y la neurodegeneración relacionadas con la EA.

40

[0006] Los estudios han demostrado que el glaucoma es la segunda causa principal de ceguera en los Estados Unidos y es una enfermedad neurodegenerativa, con evidencia creciente de que la toxicidad de A β juega un papel importante en su patogénesis. El correlato patológico del glaucoma es la degeneración progresiva de las células ganglionares de la retina (RGC) y sus axones que forman el nervio óptico. La clasificación del glaucoma incluye los siguientes tipos diferentes: glaucoma primario de ángulo cerrado, glaucoma secundario de ángulo abierto, glaucoma inducido por esteroides, glaucoma traumático, síndrome de dispersión pigmentaria, síndrome de pseudoexfoliación, glaucoma secundario de ángulo cerrado, glaucoma neovascular, uveítis y glaucoma y otras patologías oculares no especificadas. Recientemente, se ha descubierto que el A β se co-localiza con las células ganglionares de la retina moribundas. Los estudios en animales también demuestran que los oligómeros solubles A β 1-42, en particular, son toxinas muy potentes para las células ganglionares de la retina. Por lo tanto, al igual que con la EA, se cree que la toxicidad del A β desempeña un papel fundamental en el glaucoma y sus afecciones asociadas.

45

50

[0007] De manera similar, la degeneración macular seca relacionada con la edad de la retina (DMRE seca) es una afección que implica una patología de la retina que también se ha asociado estrechamente con la aparición de toxicidad por A β en el epitelio pigmentario de la retina y los fotorreceptores, y que conduce a una pérdida progresiva de la visión, que finalmente conduce a la ceguera.

55

[0008] El tratamiento de enfermedades relacionadas con la toxicidad por A β puede requerir, en muchos casos, un tratamiento de por vida. Por lo tanto, la pureza de los compuestos utilizados en cualquier tratamiento es una preocupación crítica, ya que la dosificación con compuestos que contienen impurezas no bien caracterizadas conduce a dosis acumulativas durante décadas, asociadas con riesgos desconocidos. Esto es especialmente cierto para la dosificación oral que, debido a las dosis más altas, conduciría a una exposición absoluta a impurezas mucho mayor.

60

[0009] Existe una necesidad médica no satisfecha significativa de compuestos ultrapuros que sean útiles en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la toxicidad de A β , incluidas las enfermedades neurodegenerativas

65

asociadas a Aß, por ejemplo, DMAE seca, glaucoma y EA, ya que la dosificación con compuestos ultrapuros puede reducir la exposición acumulada de un sujeto a impurezas tóxicas presentes en dosis acumuladas administradas durante décadas. Esto es especialmente cierto para la dosificación oral, que, debido a dosis más altas, conduciría a una exposición absoluta a impurezas mucho mayor.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0010] La presente invención proporciona una nueva Forma polimorfa II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) de 5,87 (15,067), 11,91 (7,432), 17,99 (4,931), 30,35 (2,945). En una forma de realización, la Forma II exhibe el espectro FT-IR como se muestra en la Figura 1 y/o un patrón de difracción de rayos X en polvo como se muestra en la Figura 2.

[0011] En otro aspecto, la presente invención también proporciona la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de cristal único que utiliza radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que tiene un sistema cristalino ortorrómbico y un grupo espacial de $P2_12_12_1$. En algunas formas de realización, el sistema cristalino ortorrómbico tiene una dimensión de $a = 6,1316(2)\text{Å}$; $b = 9,1342(2)\text{Å}$; y $c = 25,9213(7)\text{Å}$.

[0012] La presente invención también proporciona un proceso para preparar la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico de la invención, que comprende (a) mezclar el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico con un HCl acuoso para proporcionar una solución del compuesto; (b) enfriar la solución a aproximadamente 0-5 $^{\circ}\text{C}$, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base; (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 $^{\circ}\text{C}$ hasta que se complete la precipitación; (d) aislar el precipitado resultante para dar la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico; y (e) opcionalmente secar el precipitado aislado a 0-5 $^{\circ}\text{C}$ con un agente de secado.

[0013] En este proceso, dicha Forma I del compuesto puede caracterizarse por un patrón de difracción de rayos X en polvo utilizando radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) de 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026).

[0014] En otro aspecto, la presente invención proporciona la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico preparado mediante los procesos descritos en el presente documento.

[0015] La presente invención también proporciona un método para preparar la Forma I ultrapura del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), en donde la pureza de la Forma I ultrapura del compuesto es de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área. por IPC-HPLC, comprendiendo el método

- (a) mezclar la Forma II del compuesto con agua para preparar una solución de la Forma II del compuesto;
- (b) calentar la solución de la Forma II a aproximadamente 30-35 $^{\circ}\text{C}$ y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado;
- (c) aislar y lavar el precipitado para dar la Forma I ultrapura del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico; y
- (d) opcionalmente secar el precipitado a aproximadamente 45-50 $^{\circ}\text{C}$, en donde la pureza de la Forma I ultrapura del compuesto es de aproximadamente 99,70 % del área a aproximadamente 99,999 % del área por IPC-HPLC.

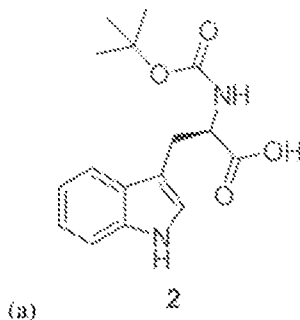
[0016] La presente invención proporciona además un método para preparar la Forma I ultrapura, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) de 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), en el que dicha Forma I ultrapura tiene una pureza de aproximadamente el 99,70 % del área a aproximadamente el 99,999 % del área mediante IPC-HPLC, comprendiendo el método

- (a) mezclar el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico con un HCl acuoso para proporcionar una solución del compuesto;
- (b) enfriar la solución a aproximadamente 5-10 $^{\circ}\text{C}$, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base;
- (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 $^{\circ}\text{C}$ hasta que se complete la precipitación;
- (d) aislar el precipitado resultante para obtener la Forma II del compuesto;
- (e) mezclar la Forma II del paso (d) con agua para preparar una solución de la Forma II;
- (f) calentar la solución de la Forma II del paso (e) a aproximadamente 30-35 $^{\circ}\text{C}$ y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado; y
- (g) aislar y lavar el precipitado para dar una Forma I ultrapura; en donde el paso de lavado se repite opcionalmente dos o tres veces;

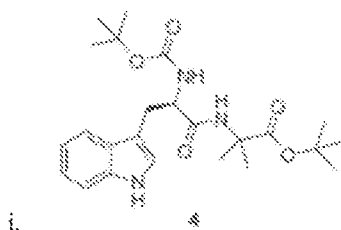
- (h) opcionalmente secar a aproximadamente 45-50 °C, y
 (i) opcionalmente repetir los pasos (a) a (h).

[0017] En algunas formas de realización, el compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (a) se prepara mediante los pasos que comprenden

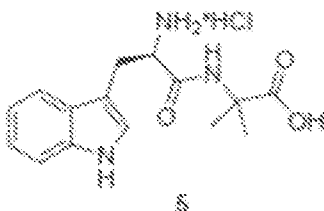
- (a) hacer reaccionar el compuesto (2)



con 2-aminoisobutirato de terc-butilo (**3**) en presencia de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) para dar el compuesto (4)



- (b) eliminando los grupos Boc del compuesto (4) con gas cloruro de hidrógeno para dar el compuesto (5); y



(c) proporcionando una solución del compuesto (5) en agua y ajustando el pH de la solución a aproximadamente 5,5-5,7 para dar el compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico.

[0018] En una forma de realización, el método comprende un paso de purificación del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (c) mediante

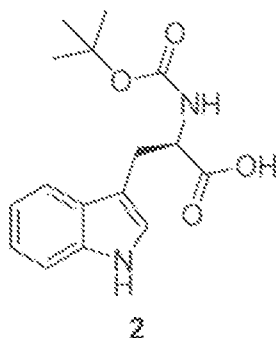
- (a) disolución del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico en HCl 5 M para proporcionar una solución de HCl del compuesto y filtración;
 (b) ajuste del pH de la solución filtrada a aproximadamente 5,5-5,7 con NaOH acuoso al 10 % para dar un precipitado; y
 (c) lavado del precipitado con agua y etanol y secado.

[0019] La presente invención proporciona además una composición que comprende la Forma II preparada mediante el método de la invención como se describe en el presente documento y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

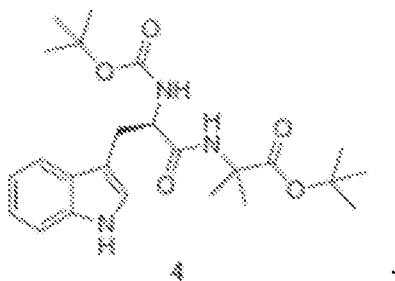
[0020] La presente invención proporciona además una formulación que comprende la Forma II preparada mediante el método de la invención como se describe en este documento, hidroxipropilbetadex, ácido cítrico monohidrato, citrato de sodio dihidrato, glicerol e hipromelosa.

[0021] La presente invención proporciona un proceso para preparar la Forma II del ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico de la reivindicación 1, que comprende

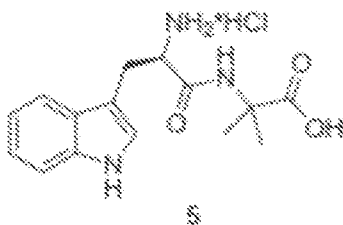
(a) hacer reaccionar el compuesto (2)



con terc-butil-2-aminoisobutirato (**3**) en presencia de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) para dar el compuesto (4);



(b) eliminar el grupo Boc del compuesto (4) con gas cloruro de hidrógeno para dar el compuesto (5);



(c) proporcionar una solución del compuesto (5) en agua y ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,5-5,7 para dar un precipitado;

(d) mezclar el precipitado del paso (c) con un HCl acuoso para proporcionar una solución;

(e) enfriar la solución del paso (d) a aproximadamente 0-5 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una solución acuosa de NaOH al 20 %;

(f) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación; y

(g) aislar el precipitado resultante para dar la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y opcionalmente secar el precipitado aislado a 0-5 °C mediante un agente secante.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0022] La materia objeto considerada como la invención se señala particularmente y se reivindica de manera distinta en la parte final de la especificación. La invención, sin embargo, tanto en cuanto a la organización como al método de operación, junto con los objetos, características y ventajas de la misma se pueden entender mejor con referencia a la siguiente descripción detallada cuando se lee con los dibujos adjuntos en los que:

La Figura 1 muestra espectros FT-IR para GAL-101 Forma I (traza inferior, azul) y GAL-101 Forma II (traza superior, rojo).

La Figura 2 muestra un diagrama de difracción de polvo de rayos X (XPRD) para GAL-101 Forma I (azul) y GAL-101 Forma II (rojo), medido a 20-25 °C, después de calentar a 30-35 °C durante 15 minutos (verde) y después

de calentar a 30-35 °C durante 60 minutos adicionales (marrón).

La Figura 3 muestra un diagrama de difracción de polvo de rayos X (XPRD) que demuestra la transición de GAL-101 Forma II (rojo) a GAL-101 Forma I (verde) a 50-60 °C durante un período de 30 minutos. El difractograma de referencia de la Forma I se muestra en azul.

La Figura 4 muestra una comparación de XRPD para diferentes lotes de GAL-101 Forma I.

La Figura 5 muestra un análisis de TG para GAL-101 Forma I (negro) y GAL-101 Forma II (azul).

La Figura 6 muestra la transición de GAL-101 Forma II húmeda (etapa cinética 1 (T = 0 segundos), Forma II inicial).

La Figura 7 muestra la transición de GAL-101 Forma II húmeda (etapa cinética 2 (T = 20 segundos), pequeños cristales mayormente disueltos).

La Figura 8 muestra la transición de GAL-101 Forma II húmeda (etapa cinética 3 (T = 60 segundos), los cristales de la Forma I aparecen en la fase líquida).

La Figura 9 muestra la transición de GAL-101 Forma II húmeda (etapa cinética 4 (T = 80 segundos)).

La Figura 10 muestra la transición de GAL-101 Forma II húmeda (etapa cinética 5 (T = 120 segundos), la mayor parte de GAL-101 Forma II transformada a Forma I).

La Figura 11 muestra la transición de la Forma II de GAL-101 seca (inicio).

La Figura 12 muestra la transición de la Forma II de GAL-101 seca (etapa intermedia 1).

La Figura 13 muestra la transición de la Forma II de GAL-101 seca (etapa intermedia 3).

La Figura 14 muestra la transición de la Forma II de GAL-101 seca (final).

La Figura 15 muestra un monocristal de GAL-101 Forma II.

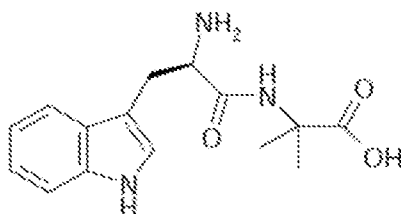
La Figura 16 muestra la estructura molecular en una representación de desplazamiento con una probabilidad del 50 % del cristal de GAL-101 Forma II. La configuración que se muestra del centro quiral es (R).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCION

[0023] En la siguiente descripción detallada, se exponen numerosos detalles específicos para proporcionar una comprensión completa de la invención. Sin embargo, los expertos en la materia entenderán que la presente invención puede ponerse en práctica sin estos detalles específicos.

[0024] La presente invención proporciona la Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que muestra picos en ángulos 2θ (valor d Å) de 5,87 (15,067), 11,91 (7,432), 17,99 (4,931), 30,35 (2,945).

[0025] En una forma de realización, el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico está representado por la estructura de la Fórmula I:



(Formula I)

[0026] En algunas formas de realización, la Forma II de GAL-101 de la invención exhibe el espectro FT-IR como se muestra en la Figura 1. En algunas formas de realización, la Forma II de GAL-101 de la invención exhibe un patrón de difracción de rayos X en polvo como se muestra en la Figura 2.

[0027] En una forma de realización, la Forma II de GAL-101 de la invención exhibe esencialmente el patrón de difracción de rayos X en polvo como se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1

Pico N°	2*theta [grados]	D (hkl) [Å]	I(abs) [cts]	I(rel) [%]
1	5,87	15,067	5787	18
2	11,91	7,432	31402	100
3	17,99	4,931	1308	4
4	30,35	2,945	1216	4

[0028] La presente invención proporciona la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (Forma II de GAL-101), caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de cristal único que utiliza radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) que tiene un sistema cristalino ortorrómbico y un grupo espacial de $P2_12_12_1$. En algunas formas de realización, el sistema cristalino ortorrómbico tiene una dimensión de a = 6,1316(2)Å; b = 9,1342(2)Å; y c = 25,9213(7)Å.

[0029] En algunas formas de realización, la Forma II de GAL-101 exhibe esencialmente el patrón de difracción de rayos X de cristal único como se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2

Datos de cristal	
Fórmula	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃
Sistema de cristal	Ortorrómbico
Grupo espacial	$P2_12_12_1$ (N° 19)
a, b, c [Angstrom]	6,1316(2), 9,1342(2), 25,9213(7)
V [Å ³]	1451,78(7)
Z	4
$D(\text{calc})$ [g/cm ³]	1,324
$\mu(\text{CuK}\alpha)$ [1/mm]	0,769
Tamaño del cristal [mm]	0,03 x 0,08 x 0,20

[0030] La Forma I (forma estable) del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (Forma I de GAL-101) puede exhibir esencialmente el patrón de difracción de rayos X en polvo utilizando radiación CuK α (λ = 0,15418 nm) como se muestra en la Tabla 3:

Tabla 3

Pico N°	2*theta [grados]	D (hkl) [Å]	I(abs) [cts]	I(rel) [%]
1	6,75	13,095	2384	83
2	10,19	8,678	2167	76
3	11,76	7,524	1796	63
4	13,56	6,531	1980	69
5	17,68	5,017	1107	39
6	18,63	4,764	2328	81
7	20,15	4,407	2861	100
8	22,08	4,026	929	32

[0031] Como se usa en el presente documento, "GAL-101" se refiere al compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico e incluye cualquier forma polimorfa del mismo.

[0032] Como se usa en el presente documento, "Forma I de GAL-101" se refiere a la Forma I del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, que es la forma del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico aislado a temperatura ambiente o a una temperatura superior a la temperatura ambiente como se describe en el Ejemplo 6, Ejemplo 11, y como se caracterizó previamente en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. N.º 2006/0234947. En algunas formas de realización, la Forma I de GAL-101 se refiere a una forma estable de GAL-101.

[0033] En algunas formas de realización, el término "Forma" como se usa en "GAL-101 Forma I" o "GAL-101 Forma II" se refiere a los polimorfos.

- [0034]** Como se usa en este documento, "GAL-101 Forma II" se refiere a la Forma II del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, que es la forma del ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico aislado a través de una cristalización a baja temperatura de GAL-101 Forma I a partir de agua, por ejemplo, a 0-5 °C, como se describe en este documento en los Ejemplos de la invención. En algunas formas de realización, GAL-101 Forma II se refiere a la nueva forma polimórfica de GAL-101. En algunas formas de realización, GAL-101 Forma II no es termodinámicamente estable a más de 25 °C. En otras formas de realización, la Forma II de GAL-101 se refiere a una forma metaestable de GAL-101.
- [0035]** La Forma II de GAL-101 puede caracterizarse por el espectro FT-IR que se muestra en la Figura 1 y/o el patrón XPRD que se muestra en la Figura 2. En algunas formas de realización, la Forma II de GAL-101 se caracteriza por el patrón de difracción de rayos X de monocristal que se describe en la Tabla 2 y la Tabla 6 (Ejemplo 10).
- [0036]** La nueva forma polimórfica (Forma II de GAL-101) de la invención tiene una alta solubilidad en agua (se disuelve en aproximadamente 4 volúmenes de agua a temperatura ambiente) y se transforma en la Forma I de GAL-101, una forma estable, muy rápidamente a más de 30 °C. En algunas formas de realización, la Forma II del compuesto se convierte gradualmente en la Forma I incluso en estado seco a aproximadamente 30-35 °C.
- [0037]** En algunas formas de realización, el nuevo polimorfo GAL-101 Forma II de la invención es al menos 2 veces más soluble en agua que el GAL-101 Forma I. En algunas formas de realización, el nuevo polimorfo GAL-101 Forma II de la invención es al menos 5 veces más soluble en agua que el GAL-101 Forma I. En algunas formas de realización, el nuevo polimorfo GAL-101 Forma II de la invención es al menos 10 veces más soluble en agua que el GAL-101 Forma I. En algunas formas de realización, el nuevo polimorfo GAL-101 Forma II de la invención es al menos 15 veces más soluble en agua que el GAL-101 Forma I. En algunas formas de realización, el nuevo polimorfo GAL-101 Forma II de la invención es al menos 20 veces más soluble en agua que el GAL-101 Forma I.
- [0038]** En algunas formas de realización, la solubilidad del nuevo polimorfo (GAL-101 Forma II) en agua es mayor que la solubilidad de GAL-101 Forma I. Esto fue muy sorprendente e inesperado, ya que la Forma I estable es casi insoluble en agua.
- [0039]** La Forma II de GAL-101 es altamente cristalina y está fuertemente orientada (forma placas grandes).
- [0040]** Como se usa en el presente documento, "Forma I de GAL-101 ultrapuro" se refiere a una Forma I de GAL-101 que tiene una pureza de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área por IPC-HPLC. En algunas formas de realización, "GAL-101 ultrapuro" se refiere a una Forma I o Forma II de GAL-101 que tiene una pureza de aproximadamente 99,70 % a aproximadamente 99,999 %.
- [0041]** Como se usa en el presente documento, en algunas formas de realización, el "compuesto" se refiere a ácido (*R*)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico.
- [0042]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "polimorfo" se refiere a una fase sólida de una sustancia que se presenta en formas distintas debido a diferentes disposiciones de las moléculas en una red cristalina. El término polimorfo incluye formas cristalinas, así como hidratos y solvatos de dichas formas.
- [0043]** La presente invención proporciona además un proceso para preparar la Forma II del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (GAL-101 Forma II) de la invención, que comprende
- (a) mezclar el compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico con un HCl acuoso para proporcionar una solución del compuesto;
 - (b) enfriar la solución a aproximadamente 0-5 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base;
 - (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación; y
 - (d) aislar el precipitado resultante para dar la Forma II de GAL-101.
- [0044]** En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 3 M a aproximadamente 6 M, por ejemplo, aproximadamente 3 M, aproximadamente 3,5 M, aproximadamente 4,0 M, aproximadamente 4,5 M, aproximadamente 5,0 M, aproximadamente 5,5 M y aproximadamente 6,0 M. En otras formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5 M a aproximadamente 6 M. En una forma de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5 M. En otra forma de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5,5 M. En una forma de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 6 M.
- [0045]** En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 3,5. En otras formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0. En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,5.

[0046] En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:3 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:3,5 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:4 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:2,5 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:2 (p/p).

[0047] En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a temperatura ambiente. En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a 0-5 °C. En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a 5-10 °C. En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a una temperatura inferior a 0 °C.

[0048] En algunas formas de realización, la base del paso (b) es una solución de NaOH. En ciertas formas de realización, la solución de NaOH es una solución acuosa de NaOH al 20%.

[0049] En algunas formas de realización, el pH de la solución del paso (b) se ajusta mientras la temperatura se mantiene a aproximadamente 0-5 °C. En algunas formas de realización, el pH de la solución del paso (b) se ajusta mientras la temperatura se mantiene a aproximadamente 5-10 °C.

[0050] En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche. En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche a aproximadamente 0-5 °C. En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche a aproximadamente 5-10 °C.

[0051] En algunas formas de realización, el precipitado resultante del paso (d) se aísla por filtración. En algunas formas de realización, el precipitado resultante del paso (d) se aísla por filtración en un embudo preenfriado.

[0052] En algunas formas de realización, el proceso de la invención comprende además un paso de secado del precipitado aislado a 0-5 °C mediante un agente de secado. El agente de secado puede ser cualquier agente de secado conocido en la técnica. En algunas formas de realización, el agente de secado es P₂O₅.

[0053] En algunas formas de realización, en el proceso de la invención, el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (a) puede ser cualquier forma del compuesto (por ejemplo, GAL-101 Forma I, u otra forma del compuesto), o una mezcla de cualquier forma del compuesto disponible. En algunas formas de realización, el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (a) es GAL-101 Forma I, en donde dicha GAL-101 Forma I se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que muestra picos en ángulos °2θ (valor d Å) 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63

[0054] (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026). En algunas formas de realización, el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (a) es una mezcla de la Forma I de GAL-101 y la Forma II de GAL-101. En algunas formas de realización, la mezcla contiene una pequeña cantidad de la Forma II de GAL-101 además de la Forma I de GAL-101.

[0055] En otro aspecto, la presente invención proporciona la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (Forma II de GAL-101) preparada mediante los procesos descritos en cualquier parte del presente documento.

[0056] Otro aspecto de la invención es que la nueva forma polimorfa, GAL-101 Forma II, de la invención se puede utilizar para purificar otras formas polimorfas del compuesto, por ejemplo, GAL-101 Forma I.

[0057] La presente invención proporciona un método para preparar la Forma I ultrapura del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (GAL-101 Forma I ultrapura), caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que muestra picos en ángulos °2θ (valor d Å) 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), en donde la pureza de la Forma I ultrapura del compuesto es de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área por IPC-HPLC, comprendiendo el método

- (a) mezclar GAL-101 Forma II del compuesto con agua para preparar una solución de GAL-101 Forma II del compuesto;
- (b) calentar la solución de GAL-101 Forma II a aproximadamente 30-35 °C y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado; y
- (c) aislar y lavar el precipitado para dar la Forma I de GAL-101 ultrapura.

[0058] En algunas formas de realización, el calentamiento del paso (b) dura aproximadamente 2 horas. En algunas formas de realización, el método de la invención comprende además un paso de secado a aproximadamente 45-50 °C después del paso de lavado (c).

[0059] La presente invención proporciona además un método para preparar GAL-101 Forma I ultrapuro, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que muestra picos en ángulos 2θ (valor d Å) de 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), en donde dicha GAL-101 Forma I ultrapura tiene una pureza de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área por IPC-HPLC, comprendiendo el método

- (a) mezclar GAL-101 con un HCl acuoso para proporcionar una solución de GAL-101;
- (b) enfriar la solución a aproximadamente 5-10 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base;
- (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación;
- (d) aislar el precipitado resultante para obtener GAL-101 Forma II;
- (e) mezclar GAL -101 Forma II del paso (d) con agua para preparar una solución de GAL-101 Forma II;
- (f) calentar la solución de GAL-101 Forma II del paso (e) a aproximadamente 30-35 °C y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado; y
- (g) aislar y lavar el precipitado para dar una GAL-101 Forma I ultrapura; en donde el paso de lavado se repite opcionalmente dos o tres veces; y
- (h) repetir opcionalmente los pasos (a) a (g).

[0060] En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) es a temperatura ambiente.

[0061] En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 3 M a aproximadamente 6 M. En otras formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5 M a aproximadamente 6 M.

[0062] En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 3,5. En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0.

[0063] En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:3 (p/p).

[0064] En algunas formas de realización, la base del paso (b) es una solución de NaOH. En algunas formas de realización, la solución de NaOH es una solución acuosa de NaOH al 20 %.

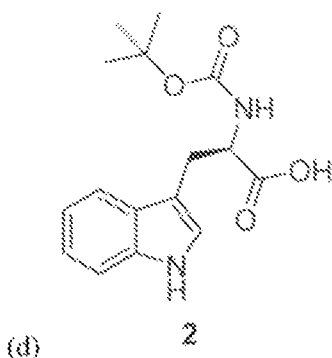
[0065] En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche a aproximadamente 0-5 °C.

[0066] En algunas formas de realización, el calentamiento del paso (f) dura aproximadamente 2 horas.

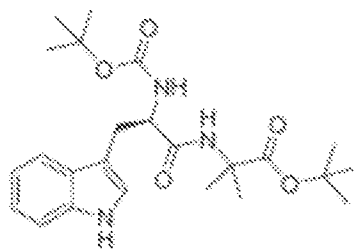
[0067] En algunas formas de realización, el método de la invención comprende además un paso de secado a aproximadamente 45-50 °C después del paso de lavado (g).

[0068] En algunas formas de realización, el GAL-101 del paso (a) se prepara mediante los pasos que comprenden

- (a) hacer reaccionar el compuesto (2)



con terc-butil-2-aminoisobutirato (3) en presencia de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) para dar el compuesto (4)



ii. **4**

(b) eliminar los grupos Boc del compuesto 4 con gas de cloruro de hidrógeno para dar el compuesto (5); y



iii. **5**

(c) proporcionar una solución del compuesto (5) en agua y ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,5-5,7 para dar GAL-101.

[0069] En algunas formas de realización, el método de la invención comprende opcionalmente además un paso de purificación del GAL-101 del paso (c) mediante

(a) disolver el GAL-101 en HCl 5 M para proporcionar una solución de HCl de GAL-101 y filtrar;

(b) ajustar el pH de la solución filtrada a aproximadamente 5,5-5,7 con NaOH acuoso al 10 % para dar un precipitado;

(c) lavar el precipitado con agua y etanol y secar.

[0070] La presente invención da como resultado la Forma I de GAL-101 preparada mediante los métodos descritos en este documento. En algunas formas de realización, los métodos descritos en el presente documento proporcionan una Forma I de GAL-101 ultrapura.

[0071] La presente invención proporciona además una composición que comprende la Forma II de GAL-101 preparada mediante el método descrito en el presente documento y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas formas de realización, el vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable comprende hidroxipropilbetadex, ácido cítrico, monohidrato, citrato de sodio dihidrato, glicerol e hipromelosa.

[0072] La presente invención proporciona además una formulación que comprende la Forma II de GAL-101, hidroxipropilbetadex, ácido cítrico, monohidrato, citrato de sodio dihidrato, glicerol e hipromelosa.

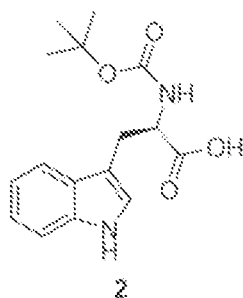
[0073] La presente invención proporciona además una composición que comprende la Forma II de GAL-101 ultrapura preparada mediante el método descrito en el presente documento y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas formas de realización, el vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable comprende hidroxipropilbetadex, ácido cítrico, monohidrato, citrato de sodio dihidrato, glicerol e hipromelosa.

[0074] La presente invención proporciona además una formulación que comprende la Forma II de GAL-101 ultrapura, hidroxipropilbetadex, ácido cítrico, monohidrato, citrato de sodio dihidrato, glicerol e hipromelosa.

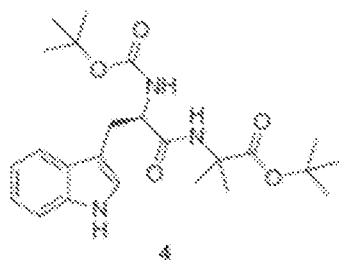
[0075] En algunas formas de realización, una composición descrita en este documento comprende además timerosal. En algunas formas de realización, una formulación descrita en este documento comprende además timerosal.

[0076] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un proceso para preparar la Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico de la reivindicación 1, que comprende

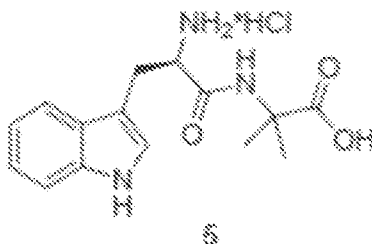
(a) hacer reaccionar el compuesto (2)



con 2-aminoisobutirato de terc-butilo (3) en presencia de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) para dar el compuesto (4);



(b) eliminar el grupo Boc del compuesto (4) con gas cloruro de hidrógeno para dar el compuesto (5);



(c) proporcionar una solución del compuesto (5) en agua y ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,5-5,7 para dar un precipitado;

(d) mezclar el precipitado del paso (c) con un HCl acuoso para proporcionar una solución;

(e) enfriar la solución del paso (d) a aproximadamente 0-5 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una solución acuosa de NaOH al 20 %

(f) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación; y

(g) aislar el precipitado resultante para dar la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico.

[0077] En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (d) tiene una concentración de aproximadamente 3 M a aproximadamente 6 M. En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (d) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 3,5. En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (d) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0. En algunas formas de realización, la solución del paso (f) se agita durante la noche. En algunas formas de realización, el precipitado resultante del paso (g) se aísla por filtración en un embudo preenfriado.

[0078] En algunas formas de realización, el método para preparar la Forma II de la invención comprende además una etapa de secado del precipitado aislado del paso (g) a 0-5 °C mediante un agente de secado. En algunas formas de realización, el agente secante es P₂O₅.

[0079] La presente invención proporciona además un método para purificar la Forma I del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (Forma I de GAL-101), en donde dicha Forma I del compuesto se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que muestra picos en ángulos 2θ (valor d Å) 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), que comprende

- (a) mezclar dicha Forma I de GAL-101 con un HCl acuoso para proporcionar una solución de Forma I de GAL-101;
 (b) enfriar la solución a aproximadamente 5-10 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base;
 (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación;
 (d) aislar el precipitado resultante para obtener GAL-101 Forma II;
 (e) mezclar GAL-101 Forma II del paso (d) con agua para preparar una solución de Forma II del compuesto;
 (f) calentar la solución de GAL-101 Forma II del paso (e) a aproximadamente 30-35 °C y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado; y
 (g) aislar y lavar el precipitado para dar una GAL-101 Forma I pura, en donde la etapa de lavado se repite opcionalmente dos o tres veces; y
 (h) repetir opcionalmente las etapas (a) a (g);

en donde la pureza de la GAL-101 Forma I pura es de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área por IPC-HPLC.

[0080] En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de 1,0 g a aproximadamente 1000 g. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de 10 g a aproximadamente 1000 g. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 200 g. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 300 g. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 400 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 500 g. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 600 g, al menos aproximadamente 700 g, al menos aproximadamente 800 g, al menos aproximadamente 900 g o al menos aproximadamente 1000 g. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de 1,0 kg a aproximadamente 100 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de 10 kg a aproximadamente 100 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 20 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 30 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 40 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 50 kg. En algunas formas de realización, la cantidad de GAL-101 Forma I es de al menos aproximadamente 60 kg, al menos aproximadamente 70 kg, al menos aproximadamente 80 kg, al menos aproximadamente 90 kg o al menos aproximadamente 100 kg. Por consiguiente, el método de la invención se puede utilizar para la purificación del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico tanto a gran escala como a pequeña escala.

[0081] En algunas formas de realización, en el método de la invención, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a temperatura ambiente. En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a una temperatura de 0-5 °C. En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a una temperatura de 5-10 °C. En algunas formas de realización, la mezcla del paso (a) se lleva a cabo a una temperatura inferior a 0 °C.

[0082] En algunas formas de realización, en el método de la invención, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 3 M a aproximadamente 6 M, por ejemplo, aproximadamente 3 M, aproximadamente 3,5 M, aproximadamente 4,0 M, aproximadamente 4,5 M, aproximadamente 5,0 M, aproximadamente 5,5 M y aproximadamente 6,0 M. En otras formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5 M a aproximadamente 6 M. En una forma de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5 M. En otra forma de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 5,5 M. En una forma de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene una concentración de aproximadamente 6 M.

[0083] En algunas formas de realización, en el método de la invención, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 3,5. En otras formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,0. En algunas formas de realización, el HCl acuoso del paso (a) tiene un valor de pH de aproximadamente 3,5.

[0084] En algunas formas de realización, en el método de la invención, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:3 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:3,5 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:4 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:2,5 (p/p). En algunas formas de realización, la cantidad de compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y el HCl acuoso del paso (a) está en una proporción de aproximadamente 1:2 (p/p).

[0085] En algunas formas de realización, en el método de la invención, la base del paso (b) es una solución de NaOH. En ciertas formas de realización, la solución de NaOH es una solución acuosa de NaOH al 20 %.

[0086] En algunas formas de realización, en el método de la invención, el pH de la solución del paso (b) se ajusta mientras la temperatura se mantiene a aproximadamente 5-10 °C. En algunas formas de realización, el pH de la solución del paso (b) se ajusta mientras la temperatura se mantiene a aproximadamente 0-5 °C. En algunas formas de realización, el pH de la solución del paso (b) se ajusta mientras la temperatura se mantiene a aproximadamente 0 °C.

[0087] En algunas formas de realización, en el método de la invención, la solución del paso (c) se agita durante la noche. En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche a aproximadamente 0-5 °C. En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche a aproximadamente 5-10 °C. En algunas formas de realización, la solución del paso (c) se agita durante la noche por debajo de 0 °C.

[0088] En algunas formas de realización, en el método de la invención, el calentamiento del paso (f) dura de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 4 horas, por ejemplo 1 hora, 2 horas, 3 horas o 4 horas. En algunas formas de realización, en el método de la invención, el calentamiento del paso (f) dura más de 4 horas. En algunas formas de realización, en el método de la invención, el calentamiento del paso (f) dura aproximadamente 2 horas.

[0089] En algunas formas de realización, el precipitado del paso (g) se lava dos o tres veces con agua. En algunas formas de realización, el paso de lavado del paso (g) se repite una vez. Por lo tanto, el precipitado del paso (g) se lava dos veces. En otras formas de realización, la etapa de lavado de la etapa (g) se repite dos veces o más. Por lo tanto, el precipitado de la etapa (g) se lava dos veces, tres veces, cuatro veces o más hasta que se obtiene una pureza deseable del precipitado aislado.

[0090] En algunas formas de realización, en el método de la invención, las etapas (a) a (g) se repiten una vez. Por ejemplo, la Forma I de GAL-101 pura obtenida de la etapa (g) se purifica una segunda vez mediante el método de la invención, que incluye las etapas (a) a (g), para proporcionar una Forma I de GAL-101 más pura del compuesto. En otras formas de realización, en el método de la invención, las etapas (a) a (g) se repiten dos veces. Por ejemplo, la Forma I de GAL-101 pura obtenida de la etapa (g) de una segunda vez se purifica una tercera vez mediante el método de la invención, que incluye una primera etapa (a) a (g) y una segunda etapa (a) a (g), para proporcionar una Forma I de GAL-101 mucho más pura del compuesto. En ciertas formas de realización, los pasos (a) a (g) se repiten varias veces hasta que se obtiene una pureza deseable de la Forma I de GAL-101.

[0091] En algunas formas de realización, el método de la invención comprende además un paso de prueba de la solubilidad del precipitado antes del paso (g).

[0092] En algunas formas de realización, la Forma I de GAL-101 pura obtenida tiene una pureza de aproximadamente 99,70 % de área por HPLC, aproximadamente 99,80 % de área por HPLC, o aproximadamente 99,90 % de área por HPLC, o superior a 99,99 % de área por HPLC.

[0093] En algunas formas de realización, la Forma I de GAL-101 pura obtenida tiene una pureza como se describe en los ejemplos en este documento. En algunas formas de realización, la Forma I de GAL-101 pura obtenida tiene una pureza de aproximadamente 99,80 % de área por HPLC como se describe en el Ejemplo 7.

[0094] En algunas formas de realización, el método de la invención comprende además un paso de secado a aproximadamente 45-50 °C después del paso de lavado (g).

[0095] En otro aspecto, el método de purificación de una Forma I del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (Forma I de GAL-101), comprende purificar la Forma I de GAL-101 pura aislada del paso (g) a través de los pasos de (a)-(g) en un segundo tiempo para producir una Forma I de GAL-101 que tiene una pureza mayor que la Forma I de GAL-101 aislada anterior sin el segundo tiempo de purificación.

[0096] El método de la invención para purificar una Forma I de GAL-101 es un método eficiente para eliminar y reducir las impurezas del compuesto de ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico. En algunas formas de realización, después de la purificación mediante el método de la invención, la pureza de la Forma I de GAL-101 aumenta hasta aproximadamente el 99,70 % del área mediante HPLC, hasta aproximadamente el 99,80 % del área mediante HPLC, o hasta aproximadamente el 99,90 % del área mediante HPLC, o hasta una purificación superior al 99,99 % del área mediante HPLC.

[0097] En algunas formas de realización, en el método de la invención, la temperatura óptima del aislamiento de la Forma II de GAL-101 del compuesto es de aproximadamente 0-5 °C.

[0098] En algunas formas de realización, en el método de la invención, la transformación completa de la Forma II de GAL-101 del compuesto a la Forma I de GAL-101 se observa a temperatura ambiente (20-25 °C) en 15 minutos.

[0099] A una temperatura más alta (por ejemplo, 40-50 °C) se observa una degradación significativa del producto. Además, el rendimiento aislado (45%-50% en lugar de 60%) y la eficiencia de la purificación son ligeramente inferiores (98,9% de área) a -5 °C que a 0-5 °C. La causa de estos resultados podría ser la congelación del agua y las impurezas de la mezcla de reacción a -5 °C, como se muestra en la Tabla 4. Durante la etapa de filtración, la suspensión espesa podría calentarse y disolver parcialmente la Forma II del compuesto y disminuir el rendimiento.

Tabla 4

Temperatura	Pureza	Rendimiento	Forma
-5 °C	98,9% de área	45-50%	metaestable
0 - +5 °C	99,5% de área	60%	metaestable
10 - 25 °C	No hay datos disponibles	No hay datos disponibles	mezcla
30 - 40 °C	98,5 - 98,7 % de área	75-78 %	estable

[0100] La transición completa de la Forma II de GAL-101 a la Forma I de GAL-101 se detecta a temperatura ambiente (20-25 °C) en 15 minutos. La transición puede comenzar a más de 10 °C. La transición se puede seguir con microscopio; los cristales metaestables grandes se transforman en cristales pequeños en unos pocos minutos a temperatura ambiente (Figuras 6-14).

[0101] Como se utiliza en el presente documento, en algunas formas de realización, el término "transición" se refiere a la transformación del polimorfo GAL-101 Forma II para polimorfar GAL-101 Forma I del compuesto.

[0102] Otro aspecto de la invención es que el método de la invención se puede utilizar para preparar la Forma I del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (GAL-101 Forma I) con una pureza mucho mayor que otros métodos conocidos.

[0103] En algunas formas de realización, GAL-101 Forma I tiene una pureza de aproximadamente 99,70 % de área por HPLC IPC, aproximadamente 99,80 % de área por HPLC, o aproximadamente 99,90 % de área por HPLC, o superior a 99,99 % de área por HPLC.

[0104] El término "alrededor de" o "aproximadamente" normalmente significa dentro del 20 %, alternativamente dentro del 10 %, incluyendo dentro del 5 % de un valor o rango dado. Alternativamente, especialmente en sistemas biológicos, el término "aproximadamente" significa dentro de aproximadamente un logaritmo (es decir, un orden de magnitud), incluyendo dentro de un factor de dos de un valor dado.

[0105] Como se usa en este documento, la forma singular "un", "una", "el" y "ella" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, el término "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

[0106] A lo largo de esta solicitud, varias formas de realización descritas pueden presentarse en un formato de rango. Debe entenderse que la descripción en formato de rango es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible en el alcance de, por ejemplo, el porcentaje de una dosis terapéuticamente eficaz. En consecuencia, la descripción de un rango debe considerarse que ha divulgado específicamente todos los posibles subrangos así como valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, la descripción de un rango como de 1 a 6 debe considerarse como que ha revelado específicamente subrangos como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como números individuales dentro de ese rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango.

[0107] Siempre que se indica un rango numérico en el presente documento, se pretende que incluya cualquier numeral citado (fraccional o integral) dentro del rango indicado. Las frases "que oscila/varía entre" un primer número indicado y un segundo número indicado y "que oscila/varía desde" un primer número indicado "hasta" un segundo número indicado se utilizan en el presente documento de manera intercambiable y se pretende que incluyan el primer y segundo número indicado y todos los numerales fraccionarios e integrales entre ellos.

[0108] En una forma de realización, una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de GAL-101 como se describe en el presente documento con otros componentes químicos tales como vehículos y excipientes fisiológicamente adecuados. El propósito de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo. En ciertas formas de realización, una "composición farmacéutica" proporciona la forma de dosificación farmacéutica de un fármaco. Las "composiciones farmacéuticas" en ciertas formas de realización incluyen cualquier forma de dosificación conocida en la técnica. Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "composición farmacéutica" o "composición" o "formulación" se pueden utilizar indistintamente y tienen todos los mismos significados y cualidades.

[0109] Las composiciones se pueden emplear como sólidos, tales como comprimidos recubiertos o no recubiertos o cápsulas rellenas; o líquidos, tales como soluciones, suspensiones, emulsiones o cápsulas rellenas con los mismos; o se pueden emplear como aerosoles, tales como un aerosol o nieblas. Las composiciones se pueden preparar para uso oral. Pueden estar en forma de supositorios o cápsulas para administración rectal. En algunas formas de realización, las

composiciones se preparan para uso nasal, por ejemplo, un aerosol o niebla nasal. En algunas formas de realización, las composiciones se preparan para uso en el ojo en forma de gotas para los ojos o como una solución inyectable estéril para administración intraocular. En algunas formas de realización, las composiciones se preparan para uso sistémico en forma de una solución inyectable, por ejemplo, para inyección intratecal, subcutánea, de depósito de liberación lenta implantado, inyección directa utilizando un catéter permanente, inyección intramuscular o intravenosa. En algunas formas de realización, las composiciones se preparan para uso sistémico o local en forma de ungüento tópico, un parche o un parche dérmico.

[0110] Las composiciones pueden estar en forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluyendo inyección intratecal, subcutánea, intramuscular, directa utilizando un catéter permanente, de depósito de liberación lenta implantado o inyección intravenosa). Pueden estar en forma líquida o semilíquida para aplicación oftálmica en el ojo (incluyendo gotas para los ojos o inyección intraocular). En algunas formas de realización, la aplicación oftálmica en el ojo utiliza una composición en forma de gotas para los ojos, cremas para los ojos y formulaciones de depósito intraocular. En algunas formas de realización, las composiciones están en forma de aerosoles o nieblas nasales para el tratamiento de afecciones oftálmicas. En algunas formas de realización, las composiciones están en forma de aerosoles o nieblas nasales para el tratamiento de afecciones neurológicas.

[0111] Dichas composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de las mismas pueden comprender ingredientes convencionales o nuevos en proporciones convencionales o especiales, con o sin compuestos activos adicionales. Dichas formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad efectiva adecuada de GAL-101 proporcional al rango de dosificación previsto que se va a emplear.

[0112] En algunas formas de realización, las composiciones que contienen de 0,5 a 1000 miligramos, preferiblemente de 1 a 100 miligramos de ingrediente activo por unidad de aplicación son formas de dosificación unitaria representativas adecuadas. En algunas formas de realización, las composiciones contienen aproximadamente 0,01-10 mg/kg de peso corporal en la administración por vía oral y 0,001-10 mg/kg de peso corporal en la administración parenteral.

[0113] En una forma de realización, como se utiliza en el presente documento, el término "excipiente" aplicado a las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se refiere a un diluyente, adyuvante o vehículo con el que se administra GAL-101. Dichos excipientes farmacéuticos a menudo son líquidos estériles, como agua o soluciones salinas. Otros excipientes, dependiendo del tipo de administración, pueden ser soluciones acuosas de dextrosa, soluciones acuosas de glicerol y aceites, incluidos los de origen animal, vegetal o sintético (véase Remington y AR. Gennaro, 20.^a edición, (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", publicado por Lippincott, Williams y Wilkins).

[0114] Para aplicaciones oftalmológicas (para enfermedades y trastornos oculares), a menudo se aplican formulaciones tópicas. A menudo son soluciones o dispersiones a base de agua. Sin embargo, también se podrían utilizar soluciones o suspensiones sin agua.

[0115] Otro aspecto de la presente invención es que la composición que comprende GAL-101 se puede preparar en forma líquida o semilíquida para aplicación oftálmica en el ojo (incluyendo gotas para los ojos o inyección intraocular). En algunas formas de realización, la aplicación oftálmica en el ojo utiliza una composición en forma de gotas para los ojos, cremas para los ojos y formulaciones de depósito intraocular. En algunas formas de realización, las composiciones están en forma de aerosoles o nieblas nasales para el tratamiento de afecciones oftálmicas. En algunas formas de realización, las composiciones están en forma de aerosoles o nieblas nasales para el tratamiento de afecciones neurológicas. En algunas formas de realización, dichas formulaciones de la invención pueden comprender la Forma I de GAL-101 ultrapura. En algunas formas de realización, las formulaciones de la invención pueden elaborarse directamente a partir de la Forma II de GAL-101 ultrapura. En otras formas de realización, las formulaciones de la invención pueden usarse como se reivindica en otras aplicaciones que son para el uso de GAL-101.

[0116] En algunas formas de realización, la formulación de la invención comprende los ingredientes que se indican en la Tabla 5:

Tabla 5: Formulación de GAL-101 ultrapuro.

Posición	Componente	Cantidad (mg)	Calidad	Función
1	Gal-101	20,00	Especificación interna	Ingrediente farmacéutico activo
2	Hidroxipropilbetadex	110,00	Farm. Eur.	Solubilizante
3	Ácido cítrico, monohidrato	0,87	Farm. Eur.	Agente tampón
4	Citrato de sodio dihidrato	10,60	Farm. Eur.	Agente tampón
5	Glicerol	5,00	Farm. Eur.	Agente de isotonicidad
6	Hipromelosa	5,00	Farm. Eur.	Modificador de viscosidad
7	Agua para inyección	896,49	Farm. Eur.	Solvente

[0117] La dosis de los componentes en las composiciones descritas en el presente documento puede determinarse para garantizar que la dosis administrada de forma continua o intermitente no supere una cantidad determinada después de considerar los resultados en animales de prueba y las condiciones individuales de un paciente. Una dosis específica varía naturalmente dependiendo del procedimiento de dosificación, las condiciones de un paciente o un animal sujeto como la edad, el peso corporal, el sexo, la sensibilidad, la alimentación, el período de dosificación, los fármacos utilizados en combinación, la gravedad de la enfermedad. La dosis y los tiempos de dosificación apropiados bajo ciertas condiciones pueden determinarse mediante la prueba basada en los índices descritos anteriormente, pero pueden refinarse y decidirse en última instancia según el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente (edad, estado general, gravedad de los síntomas, sexo, etc.) según las técnicas clínicas estándar.

[0118] La toxicidad y la eficacia terapéutica de las composiciones descritas en este documento pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en animales experimentales, por ejemplo, determinando la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos terapéuticos y tóxicos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación DE_{50}/DL_{50} . Se prefieren aquellas composiciones farmacéuticas que exhiben índices terapéuticos altos.

[0119] Cada dosis descrita en este documento puede comprender el 100% de la dosis terapéuticamente efectiva. Cada dosis puede comprender el 20-75% de la dosis terapéuticamente efectiva. Cada dosis puede comprender el 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 o 75 % de la dosis terapéuticamente eficaz.

[0120] Las dosis individuales de las dosis múltiples que se van a administrar pueden comprender cada una el 100 % de la dosis terapéuticamente eficaz, o el 75-100 % de la dosis terapéuticamente eficaz, o el 20-75 % de la dosis terapéuticamente eficaz, o cualquier combinación de las mismas.

[0121] El GAL-101 ultrapuro y las composiciones farmacéuticas del mismo se pueden utilizar para tratar, prevenir o revertir la toxicidad funcional de A β de las células neuronales, no neuronales y neurosensoriales en un sujeto que lo necesite. El tratamiento, la prevención o la reversión de la toxicidad funcional de A β puede proporcionar un tratamiento sintomático, mejorando así una función o funciones en el sujeto que lo necesite. La función mejorada puede comprender una función dañada, reducida, inhibida o alterada en una enfermedad o afección asociada a amiloide β .

[0122] Un GAL-101 ultrapuro o una composición farmacéutica del mismo puede ser útil para tratar, prevenir, ralentizar el progreso, detener el progreso de enfermedades o afecciones relacionadas con amiloide β . Un GAL-101 ultrapuro o una formulación del mismo puede ser útil para tratar, prevenir, ralentizar el progreso, detener el progreso de enfermedades o afecciones relacionadas con amiloide β .

[0123] Un GAL-101 ultrapuro o una composición farmacéutica del mismo, o una formulación del mismo se puede administrar en un patrón de dosificación dentro de un período de tiempo. La administración puede ser a intervalos regulares, o a intervalos irregulares, o una combinación de los mismos. Algunos detalles del tratamiento intermitente a intervalos se describen en detalle en la publicación WO 13/18960.

[0124] Como se usa en el presente documento, la frase "Administración a intervalos intermitentes" abarca formas de realización específicas de la administración de intervalos en la que la segunda dosis equivale a un porcentaje (%) de la primera dosis. El segundo período será a menudo un período de tiempo más largo que el primer período. Por ejemplo, el primer período puede ser de un día, y el segundo período puede ser de una o más semanas, o de uno o más meses; o el primer período será de una semana, y el segundo período será de dos o más semanas, o de uno o más meses. A menudo, el segundo período será menor o igual a un año. El intervalo o una parte del mismo, puede repetirse.

[0125] Tal como se utiliza en el presente documento, la frase "administración continua" o administración "sin intervalo" abarca la administración regular de dosis en períodos de tiempo iguales.

[0126] Una enfermedad o afección oftálmica de amiloide β puede comprender glaucoma primario de ángulo cerrado, glaucoma secundario de ángulo abierto, glaucoma de ángulo amplio, glaucoma inducido por esteroides, glaucoma traumático, síndrome de dispersión pigmentaria, síndrome de pseudoexfoliación, glaucoma secundario de ángulo cerrado, glaucoma neovascular, degeneración macular seca (no exudativa) temprana e intermedia relacionada con la edad, degeneración macular con atrofia geográfica, degeneración macular exudativa ("húmeda") o retinopatía diabética, o una combinación de las mismas. El tratamiento, la prevención, la ralentización del progreso, la detención de la progresión o la reversión de una enfermedad oftálmica por amiloide β puede comprender la mejora, la detención o la ralentización de la pérdida de agudeza visual, la visión de baja luminiscencia, la sensibilidad al contraste, la sensibilidad al contraste de los conos, la visión del color, la sensibilidad a la luz focal y general de la retina en condiciones fotópicas, mesópicas (adaptación a la luz) y escotópicas (adaptación a la oscuridad), e indirectamente también la estabilidad postural, el equilibrio de la marcha y la movilidad, en dicho sujeto.

[0127] Cuando las composiciones descritas en el presente documento se utilizan en un sujeto que padece todo tipo de glaucoma, la reversión, la ralentización o la detención de la toxicidad funcional por amiloide β de las células oculares de la retina, por ejemplo RGC o RPE, se puede medir utilizando OCT, exámenes del campo visual, microperimetría, medición

de la agudeza visual de baja luminancia, medición de la adaptación a la oscuridad y medición de la velocidad de lectura de baja luminancia.

[0128] En algunas formas de realización, una enfermedad o afección neurológica de amiloide β comprende diabetes mellitus, tal como diabetes mellitus tipo II, enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Alzheimer de aparición temprana, enfermedad de Alzheimer de aparición tardía, enfermedad de Alzheimer presintomática, amiloidosis SAA, síndrome islandés hereditario, mieloma múltiple, carcinoma medular, amiloide médico aórtico, amiloidosis por inyección de insulina, amiloidosis sistémica priónica, amiloidosis por inflamación crónica, amiloidosis sistémica senil, amiloidosis de la glándula pituitaria, amiloidosis renal hereditaria, demencia británica familiar, amiloidosis hereditaria finlandesa, amiloidosis no neuropática familiar y trastornos y enfermedades priónicas, o una combinación de los mismos.

[0129] Cuando la enfermedad neurológica comprende la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Alzheimer de aparición temprana, la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía o la enfermedad de Alzheimer presintomática, las composiciones descritas en el presente documento pueden ser útiles para ralentizar la enfermedad, detener el progreso de la enfermedad o mejorar las deficiencias cognitivas, mejorar la pérdida de memoria, reducir el comportamiento anormal, reducir las alucinaciones, reducir la pérdida de orientación espacial, reducir la apraxia, reducir la agresión, mejorar la capacidad para realizar actividades de la vida diaria u otros síntomas de demencia, o cualquier combinación de los mismos, en dicho sujeto.

[0130] Se debe entender que cualquier uso de cualquiera de los compuestos como se describe en el presente documento puede usarse en el tratamiento de cualquier enfermedad, trastorno o afección como se describe en el presente documento, y representa una forma de realización de esta invención.

[0131] Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar más completamente las formas de realización preferidas de la invención.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Preparación de la Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico

[0132] A un matraz de tres bocas de 1 L equipado con agitador y termómetro, se añadieron 60,0 g (207,4 mmol) de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, que se sintetiza mediante métodos como los descritos en el presente documento, por ejemplo, en los Ejemplos 6 y 11, o mediante el método descrito anteriormente en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. N.º 2006/0234947, a una mezcla de 167,0 mL de agua y 21,0 mL de ácido clorhídrico concentrado, lo que dio como resultado la formación de una solución de color marrón amarillento. El pH de la solución se ajustó a 5,6 con 53,0 mL de una solución de NaOH al 20 % a 0-5 °C. Aproximadamente 30 minutos después, comenzó la cristalización a 0-5 °C. La suspensión se agitó durante la noche a 0-5 °C. La suspensión se filtró en un embudo preenfriado. Como control durante el proceso, se verificó la solubilidad de una parte de la torta de filtración en agua. La disolución inmediata de los cristales indicó la formación de la forma II. La forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico se aisló y se secó a 0-5 °C sobre P₂O₅.

Ejemplo 2 Caracterización de la Forma II del ácido (R)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico mediante espectroscopia infrarroja (IR)

[0133] Los espectros FT-IR se midieron con un espectrómetro BioRad (Digilab) FTS-60A equipado con un detector MCT enfriado con LN₂ (4000-550 cm⁻¹) utilizando un accesorio Golden Gate® Diamond ATR (reflexión interna). Para evitar una descomposición eventual, las muestras se utilizaron como sustancias puras ligeramente presionadas contra la superficie del elemento óptico ATR de diamante. Las intensidades relativas de los espectros de absorbancia obtenidos se corrigieron posteriormente utilizando la rutina "Corrección ATR avanzada" para obtener espectros correspondientes a una medición de transmisión normal.

[0134] En estas mediciones, la región entre 2350-1850 cm⁻¹ puede estar distorsionada por una fuerte absorción de diamante, por lo tanto, esta región no se evalúa (se elimina de los espectros); sin embargo, para los compuestos examinados no se espera una absorción característica en esta región.

[0135] Los espectros FT-IR de las Formas I y II se muestran en una escala de número de onda común en la Figura 1. Los espectros demuestran que las Formas I y II son sustancias distintas. Los espectros muestran que las Formas I y II están presentes predominantemente en forma zwitteriónica (absorción muy amplia y fuerte entre 3200-2500 cm⁻¹ debido a los grupos NH₃⁺, y bandas de absorción fuertes alrededor de 1550 y 1355 cm⁻¹ debido al grupo carboxilato).

[0136] Las principales diferencias visibles en los espectros (un mayor número de bandas de absorción fuertes y muy anchas, como en la región de 3450-3200 cm⁻¹ y en la parte de frecuencia más baja, 1700-600 cm⁻¹, y una mayor absorción de fondo) están asociadas con una red de enlaces de H más extendida formada en la Forma II de GAL-101, con participación de moléculas de agua incorporadas en la estructura cristalina e implicando incluso al grupo NH del indol. El

último grupo NH está esencialmente libre en la Forma I (véase la banda νNH característica y nítida del indol a 3426 cm^{-1}), pero se ensancha y se desplaza a 3371 cm^{-1} en la Forma II. La Forma I no contiene agua.

[0137] Los carbonilos de amida también están en diferentes estados de enlaces de H en las dos sustancias. En la Forma II, se absorbe fuertemente a 1678 cm^{-1} como una banda "amida I" habitual en un péptido de cadena abierta con orientación trans de enlaces $\text{C}=\text{O}$ y NH , mientras que en la Forma I se vuelve mucho más débil y se mueve hacia abajo a 1665 cm^{-1} , lo que puede indicar torsión de la cadena principal del sustituyente y participación del carbonilo de amida en un enlace de H. No se excluye que en esta conformación los grupos NH_3^+ y CO_2^- cargados puedan estar involucrados en enlaces de H intramoleculares.

Ejemplo 3

Caracterización de la Forma II de GAL-101 por difracción de rayos X en polvo

[0138] La estructura cristalina de las formas Forma I y Forma II se determinó por análisis de difracción de rayos X en polvo por el Laboratorio de Polvo del Centro de Investigación Química en el Instituto Central de Investigación de la Academia Húngara de Ciencias.

[0139] Los patrones de difracción de rayos X en polvo (XRPD) se obtuvieron en un goniómetro parafofocusing Bragg-Brentano PW 1050 basado en el modelo PW 3710 de Philips utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,15418\text{ nm}$), monocromador de grafito y contador proporcional. Las exploraciones de XRD se registraron digitalmente en el rango 2θ de 3 a 35 grados con un tamaño de paso de 0,04 grados.

[0140] La Forma II se midió a 20-25 °C (rojo), luego se calentó a 30-35 durante 15 minutos (verde), luego otros 60 minutos (marrón) (Figura 2). También se midió la Forma I (azul). Según las mediciones, la Forma II es altamente cristalina y está fuertemente orientada (forma placas grandes). La Forma II de GAL-101 se convierte gradualmente en la Forma I, incluso en estado seco a 30-35 °C.

[0141] La transición de la Forma II (roja) a la Forma I (verde) se completó a 50-60 °C en 30 minutos (verde) (Figura 3). El difractograma de referencia de la Forma I se muestra en azul.

[0142] La comparación de la XRPD de diferentes lotes de la Forma I (es decir, preparada en el laboratorio (CT-1134.07, violeta), en la planta (2/1308/02/00859, verde) y recién preparada a través de la transición de la Forma II (KP-0313.08, rojo) mostró la misma forma cristalina (Figura 4). La XRPD del material fabricado en la planta indica un alto nivel de orientación y cristalinidad.

Ejemplo 4

Caracterización de la Forma II del ácido (R)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico mediante análisis termogravimétrico (TG)

[0143] Las mediciones termoanalíticas se realizaron mediante una termobalanza TA 2050 TG y una célula DSC TA 2920 (fabricante TA Instruments Company).

[0144] Se utilizaron los siguientes parámetros experimentales:

Mediciones de TG

Peso de la muestra 5-6 mg
Calentamiento 5 °C/min
Rango de temperatura ambiente - 350 °C
Inertización nitrógeno, 10 l/h

Mediciones DSC

Peso de la muestra 5-6 mg
Calentamiento 5 °C/min
Rango de temperatura ambiente - 350 °C
Inertización nitrógeno, 10 l/h

[0145] Antes de las mediciones, el equipo fue calibrado: equilibrio de TG - por metal indio y oxalato de calcio monohidrato; célula de DSC - metal indio.

[0146] La muestra de Forma I contenía humedad de adsorción mínima y nada de agua hidratada.

[0147] La muestra de Forma II perdió 7,94% de su peso en tres pasos consecutivos. Parte del agua (~ 3%) fue absorbida en la superficie de los cristales mientras que el resto del agua (5%) se perdió en dos pasos. La investigación IR del producto también apoya el hallazgo de que la Forma II puede ser un hidrato. Debido a la presencia de una cantidad relativamente grande de agua, no fue posible medir el efecto térmico de la transformación de fase que se observó mediante XRPD alrededor de los 60 °C. Estos resultados se muestran en la Figura 5.

Ejemplo 5

Estudio microscópico de la transición de la Forma II del ácido (*R*)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico a la Forma I del ácido (*R*)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico

[0148] La transición de la Forma II húmeda a la Forma I se observó a través de un microscopio MOTIC BA300 (como se muestra en las Figuras 6-10) bajo luz polarizada. También se estudió la transición de la Forma II seca a la Forma I (como se muestra en las Figuras 11-14). La transición de la Forma II húmeda a la Forma I se produjo rápidamente. Los cristales grandes de la Forma II se transformaron en cristales pequeños a 30-35 °C en 2 minutos. Los cristales de la Forma II son placas grandes. La forma cristalina observada explica la propiedad tixotrópica observada de la suspensión de la Forma II. La Forma I consiste en cristales redondeados uniformes.

Ejemplo 6

Preparación de la Forma I del ácido (*R*)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico

[0149] En un matraz de tres bocas de 6 L equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH, se disolvieron 1126,0 g (3,45 mol) de HD-Trp-Aib-OH·HCl (pureza por HPLC: 98,7 % de área) en 3378,5 mL de agua (se obtuvo un líquido marrón). La mezcla de reacción se filtró a través de un filtro de vidrio para eliminar la contaminación mecánica. La mezcla se agitó a 20-25 °C y el pH de la solución se ajustó a 5,6 con 600,0 mL de una solución de NaOH al 20 % manteniendo la temperatura a 20-25 °C. La mezcla de reacción se calentó a 30-35 °C durante 3 horas. Después de 30 minutos de agitación, comenzó la cristalización y la suspensión resultante se agitó a 20-25 °C durante la noche. El precipitado se recogió por filtración. La torta se suspendió en 1126,0 mL y 2252,0 mL de agua y se lavó con 1126,0 mL de 2-propanol posteriormente, luego se secó a 55-60 °C hasta peso constante.

Rendimiento: 768,0 g (76,9 %)
Pureza: 98,7 % de área por HPLC.
Aspecto: polvo blanquecino.

Ejemplo 7

Purificación del ácido (*R*)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico mediante el aislamiento de la Forma II

Paso 1

[0150] En un matraz de tres bocas de 6 L equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH, se disolvieron 768,0 g (2,65 mol, 1,0 eq) de la Forma I (del Ejemplo 6 o Ejemplo 11, pureza por IPC-HPLC: 98,7 % de área) en una mezcla de 2140,0 mL de agua y 268,0 mL de HCl concentrado (3,04 mol, 1,15 eq). La solución marrón resultante se agitó a 5-10 °C y el pH se ajustó a 5,6 con 575,0 mL de una solución de NaOH al 20% manteniendo la temperatura a 5-10 °C. Después de 30 minutos de agitación a 5-10 °C, comenzó la cristalización y la suspensión resultante se agitó a 0-5 °C durante la noche. La Forma II precipitada se recogió por filtración y se suspendió en 2,0 L de agua, luego se calentó a 30-35 °C y se agitó durante 2 horas. El sólido se disolvió y precipitó nuevamente.

[0151] Monitoreo: prueba de solubilidad, el precipitado aislado era insoluble en agua (la transformación de la Forma II a la Forma I estaba completa). La suspensión se enfrió a temperatura ambiente (20-25 °C), se filtró y se lavó con 750 mL y 1500 mL de agua.

[0152] Rendimiento (producto húmedo): 1189,0 g. (IPC-HPLC: 99,59 % de área)

Paso 2

[0153] En un matraz de 6 L de tres bocas equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH, se disolvieron 1189,0 g de Forma I húmeda del Paso 1 en una mezcla de 1715,0 mL de agua y 250,0 mL de HCl concentrado. La mezcla se agitó a 5-10 °C y el pH de la solución se ajustó a 5,6 con 665,0 mL de una solución de NaOH al 20 % manteniendo la temperatura a 5-10 °C. Después de 30 minutos de agitación, comenzó la cristalización. La suspensión resultante se agitó a 0-5 °C durante la noche. El precipitado se recogió por filtración. Esta Forma II recogida se suspendió en 1,2 L de agua y se calentó a 30-35 °C durante dos horas. Al principio, el sólido se disolvió parcialmente y luego precipitó nuevamente. Prueba de solubilidad (se diluyó 1,0 mL de muestra de la mezcla de reacción con 5,0 mL de agua desionizada, luego se agitó vigorosamente y se verificó la solubilidad visualmente): el precipitado aislado era insoluble en agua (la transformación

de la Forma II a la Forma I fue completa). La suspensión se enfrió a temperatura ambiente (20-25 °C), se filtró y se lavó con 400 mL y 800 mL de agua, y luego se secó a 60-65 °C hasta peso constante.

Pureza del producto húmedo por IPC-HPLC: 99,93 % de área.

Rendimiento: 34,1 % (262,2 g)

Pureza: 99,4 % de área por HPLC.

Contenido de agua: 0,17 %.

Aspecto: polvo blanco.

10 Ejemplo 8

Purificación del ácido (R)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico mediante el aislamiento de la Forma II

15 Paso 1

[0154] En un matraz de tres bocas de 6 L equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH se disolvieron 750,0 g (2,6 mol, 1 eq) de la Forma I (de los Ejemplos 6 y 11 con una pureza por IPC-HPLC de aproximadamente 98,5 % de área) en una mezcla de 2085,0 mL de agua y 262,5 mL de cc. HCl (2,99 mol, 1,15 eq).

[0155] La mezcla (líquido marrón) se agitó a 5-10 °C y el pH de la solución se ajustó a 5,6 con 535,0 mL de una solución de NaOH al 20% manteniendo la temperatura a 5-10 °C. Después de 30 minutos de agitación, comenzó la cristalización y la suspensión resultante se agitó a 0-5 °C durante la noche. El precipitado (Forma II) se recogió por filtración. La Forma II recogida se suspendió en 2,0 L de agua y se calentó a 30-35 °C durante dos horas. Al principio, el sólido se disolvió parcialmente y luego precipitó de nuevo.

[0156] Prueba de solubilidad: el precipitado aislado era insoluble en agua (la transformación de la Forma II en la Forma I fue completa). La suspensión se enfrió a temperatura ambiente (20-25 °C), se filtró y se lavó con 500 mL y 1000 mL de agua, posteriormente.

[0157] El producto húmedo fue de 1420,4 g. (IPC-HPLC: 99,54 % de área)

Paso 2

[0158] En un matraz de tres bocas de 6 L equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH, se disolvieron 1420,4 g de producto húmedo (**Forma I**) del Paso 1 en una mezcla de 1035,0 mL de agua y 267,0 mL de HCl concentrado.

[0159] La mezcla (líquido marrón) se agitó a 5-10 °C y el pH de la solución se ajustó a 5,6 con 565,0 mL de una solución de NaOH al 20 % a 5-10 °C. Después de 30 minutos de agitación, comenzó la cristalización y la suspensión resultante se agitó a 0-5 °C durante la noche. El precipitado (Forma II) se recogió por filtración. La Forma II recogida se suspendió en 1,4 L de agua y se calentó a 30-35 °C durante dos horas. Al principio, el sólido se disolvió parcialmente y luego precipitó de nuevo.

[0160] Prueba de solubilidad: el precipitado aislado fue insoluble en agua (La transformación de la Forma II a la Forma I fue completa). La suspensión se enfrió a temperatura ambiente (20-25 °C), se filtró y se lavó con 400 mL y 800 mL de agua posteriormente, luego se secó a 45-50 °C hasta peso constante con P₂O₅.

Pureza del producto húmedo por IPC-HPLC: 99,85 % de área.

Rendimiento: 33,6 % (252,3 g)

Pureza: 99,73 % de área por HPLC.

Aspecto: polvo blanco.

Ejemplo 9

Purificación del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico mediante el aislamiento de la Forma II

[0161] En un matraz de tres bocas de 4 L equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH se disolvieron 497,3 g (1,72 mol, 1 eq) de la Forma I (de los Ejemplos 6 y 11 con una pureza por IPC-HPLC de aproximadamente 98,5 % de área) en una mezcla de 1380,0 mL de agua y 173,5 mL de HCl concentrado (1,97 mol, 1,15 eq). La mezcla se agitó a 5-10 °C y el pH de la solución se ajustó a 5,6 con 405,0 mL de una solución de NaOH al 20 % manteniendo a 5-10 °C. Después de 30 minutos de agitación comenzó la cristalización y la suspensión resultante se agitó a 0-5 °C durante la noche.

[0162] El precipitado (Forma II) se recogió por filtración. La Forma II recogida se suspendió en 1,5 L de agua y se calentó a 30-35 °C durante dos horas. Al principio, el sólido se disolvió parcialmente y luego precipitó de nuevo.

[0163] Prueba de solubilidad: el precipitado aislado era insoluble en agua (la transformación de la Forma II en la Forma I fue completa).

5 **[0164]** La suspensión se enfrió a temperatura ambiente (20-25 °C), se filtró y se lavó con 500 mL y 1000 mL de agua y posteriormente se secó a 45-50 °C hasta peso constante.

Rendimiento: 64,5 % (321,0 g)

10 Pureza: 99,81 % de área por HPLC.

Aspecto: polvo blanco.

Ejemplo 10

15 **Caracterización de la Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico mediante difracción de rayos X de cristal único**

20 **[0165]** La cristalización se realizó en Ubichem Research Ltd.

Tabla 5: Experimentos de cristalización por evaporación

Ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (compuesto)	Disolvente 1	Disolvente 2	Disolvente 3	Observaciones
saturado en agua ~ 0,4 mL	Metanol ~ 2 mL	Acetona ~ 2 mL		El compuesto saturado en agua. + metanol: no disminuye la solubilidad + acetona: no hay sobresaturación, no hay nucleación visible Evaporación lenta de la ampolla, 1-2 cristales en la pared de la ampolla
saturado en agua + metanol ~ 0,5 mL	Metanol 4 mL	Acetona 1 mL		Sólido flotante en la mezcla de agua y metanol + Metanol disolvió el sólido flotante, se agregó acetona Se evaporó lentamente de la ampolla, los cristales crecieron en la pared de la ampolla. Un cristal se midió con difracción de rayos X.
25 mg /más que soluble/	Metanol 2 mL	Acetona 0,4 mL	Agua 0,4 mL	Extracción de la solución transparente; evaporación lenta del disolvente de la ampolla. Aquí crecieron 1 o 2 cristales. La otra parte de la solución con el compuesto flotante se evapora lentamente de la ampolla (solución poco clara). Los cristales crecieron continuamente en la interfaz líquido/aire de la solución.

50 Resumen de los experimentos

[0166]

- Con agua solamente: sin cristales
- Con metanol solamente: 1-2 cristales, pero demasiado pequeños para la medición
- Con metanol y agua: sin cristales
- Con metanol, agua y otro solvente: sin cristales individuales
- Con metanol, agua y acetona: cristales individuales mensurables, en el cuello de la ampolla

Elucidación de la estructura por difracción de rayos X de un solo cristal

[0167] La elucidación de la estructura por difracción de rayos X de un solo cristal fue realizada por el Instituto de Química Estructural, Centro de Investigación Química, Budapest.

[0168] Un cristal de la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico (Figura 15) se montó en un asa. Los parámetros de la célula se determinaron por mínimos cuadrados de los ángulos de ajuste de 5232 ($6,83^\circ \leq \theta \leq 47,20^\circ$) reflexiones. Los datos de intensidad se recogieron en un difractómetro R-AXIS RAPID (monocromador de grafito; radiación CuK α , $\lambda = 1,54187\text{\AA}$) a 293(2) K en el rango $6,83^\circ \leq \theta \leq 47,20^\circ$ utilizando exploraciones ω .

[0169] Se recogieron un total de 7060 reflexiones de las cuales 1311 fueron únicas [$R_{\text{int}} = 0,0323$, $R(\text{sigma}) = 0,0411$]; las intensidades de 1033 reflexiones fueron mayores que $2\sigma(I)$. Completitud a $2\theta = 0,996$. Se aplicó una corrección de absorción empírica a los datos (los factores de transmisión mínimo y máximo fueron 0,861 y 0,977). La estructura se resolvió mediante métodos directos.

[0170] El refinamiento de mínimos cuadrados de matriz completa anisotrópica en F2 para todos los átomos que no son hidrógeno produjo $R_1 = 0,0365$ y $wR_2 = 0,0687$ para 1033 [$I > 2\sigma(I)$] y $R_1 = 0,0564$ y $wR_2 = 0,0890$ para todos los (1311) datos de intensidad (bondad de ajuste = 1,202; el desplazamiento/desplazamiento medio y máximo 0,000 y 0,000; coeficiente de extinción = 0,0021 (5)), número de parámetros = 194. La densidad electrónica residual máxima y mínima en el mapa de diferencias final fue 0,14 y -0,15 e.Å³. Las posiciones atómicas del hidrógeno se calcularon a partir de geometrías supuestas, excepto las del catión, que se ubicaron primero en los mapas de diferencias. Los átomos de hidrógeno se incluyeron en los cálculos del factor de estructura, pero no se refinaron. Los parámetros de desplazamiento isotrópico de los átomos de hidrógeno se aproximaron a partir del valor $U(\text{eq})$ del átomo al que estaban unidos. El modelo de estructura cristalina final se muestra en la Figura 16.

Resultados:

[0171]

Tabla 6

Datos de cristal	
Fórmula	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃
Peso de la fórmula	289,33
Sistema de cristal	Ortorrómbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ (Número 19)
a, b, c [Å]	6,1316(2), 9,1342(2), 25,9213(7)
V [Å ³]	1451,78(7)
Z	4
D(cálculo) [g/cm ³]	1,324
Mu(CuK α) [1/mm]	0,769
F(000)	616
Tamaño del cristal [mm]	0,03 x 0,08 x 0,20
Recopilación de datos	
Temperatura (K)	294
Radiación [Å]	CuK α 1,54187
Theta mín-máx [grados]	6,8, 47,2
Conjunto de datos	-5:5; -6:8; -18:24
Total, datos únic. R(int)	7060, 1311, 0,032
Datos observados [$I > 2,0 \sigma(I)$]	1033
Refinamiento	
Nref, Npar	1311, 194
R, wR ₂ , S	0,0365, 0,0890, 1,20
$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0327P)^2 + 0,3659P]$ donde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$	
Despl./error máx. y promedio	0,00, 0,00
Flack x	0,2(5)
Hooft y	0,3(2)
Densidad mínima y máxima de residencia [e/Å ³]	-0,15, 0,14

Preparación de la Forma I del Ácido (R)-2-[2-Amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico

[0172] La síntesis de la Forma I de GAL-101 se realiza a través de cuatro pasos químicos y un paso de purificación como se muestra en el Esquema 1.

[0173] Inicialmente, el éster terc-butilico del ácido 2-aminoisobutírico (**3**) se libera de su sal de benzoato (**1**, Material de Partida 1, Paso 1) y luego se acopla con BOC-D-Triptófano (**2**, Material de Partida 2, Paso 2). En el Paso 3, el API totalmente protegido (**4**) se desprotege por medio de cloruro de hidrógeno y se aísla como sal de clorhidrato (**5**). En el Paso 4, la forma libre (Forma I de GAL-101) se obtiene en condiciones alcalinas acuosas. El API crudo se purifica por disolución ácida acuosa, precipitación alcalina, aislamiento y secado (procedimiento de síntesis A8).

Paso 1: Liberación de la base

[0174] Sal de benzoato de 2-aminoisobutirato de terc-butilo (**1**, analizada frente a una especificación predefinida y liberada como material de partida 1) se disuelve en un sistema acuoso de hidróxido de sodio - éter metílico de terc-butilo (MTBE). La fase orgánica se separa y se evapora hasta sequedad para dar 2-aminoisobutirato de terc-butilo (**3**) como un aceite.

Paso 2: Acoplamiento

[0175] El BOC-D-Triptófano (**2**, analizado frente a una especificación predefinida y liberado como material de partida 2) y el 2-aminoisobutirato de terc-butilo (**3**) se acoplan por medio de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) como agente de acoplamiento en acetato de etilo. A continuación, la mezcla de reacción se lava con soluciones acuosas diluidas de ácido cítrico, solución acuosa de carbonato de sodio y salmuera. La fase orgánica se concentra a su tercio de volumen y esta solución del API protegido (**4**) se lleva al siguiente paso.

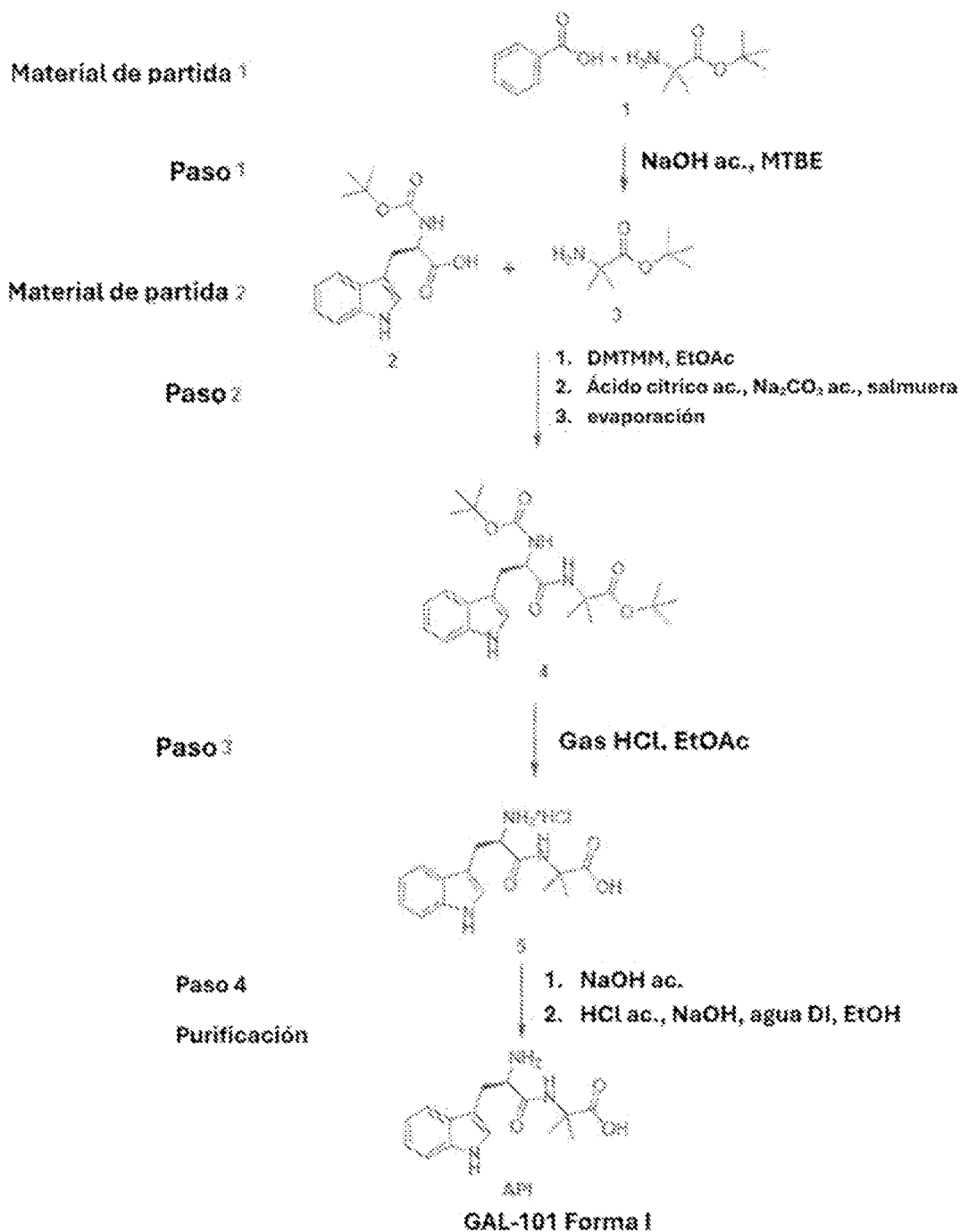
Paso 3: Desprotección

[0176] La desprotección anhidra se realiza en solución de acetato de etilo por medio de gas cloruro de hidrógeno. La sal de clorhidrato precipitada (**5**) del API se aísla por filtración.

Paso 4: Liberación de la Forma I de GAL-101 de su sal de HCl

[0177] La sal de clorhidrato de la Forma I de GAL-101 (**5**) se disuelve en agua desionizada y el pH de la solución se ajusta a 5,5 - 5,7 mediante una solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%. El API crudo se precipita a 30-35 °C para obtener una forma cristalina estable y se filtra.

Esquema 1: Síntesis de GAL-101 Forma I



Purificación

[0178] La sustancia farmacológica cruda **GAL-101 Forma I** se disuelve en ácido clorhídrico diluido, se filtra a través de un filtro de 0,5 µ y luego se precipita mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 10 %, ajustando el pH de 5,5 a 5,7. El precipitado se suspende en agua desionizada, luego en etanol y posteriormente se seca al vacío a temperatura elevada (máximo 40 °C).

Tabla 7: Cambios en procesos para sintetizar GAL-101 Forma I

Lote (sal)	Nº de lote	Procedimiento	Cantidad	Pureza/pureza óptica*
8 (forma libre)	CT-1105.07	A0	54 g	98,2 % 99,9 %
10 (HCl)	AK-10235.07	A1	159 g	98,7 % 100 %
21 (HCl)	2/1308/02/00858	A2	1,26 kg	98,6 % 99,9 %
30 (HCl)	2/1308/03/00940	A3	8,72 kg	98,7 % 99,9 %
31/32 (HCl)	2/1308/03/00905	A4	1,38 kg	97,4 % 99,9 %
35 (forma libre)	2/1308/04/00965	A5	5,33 kg	98,5 % 99,9 %
36 (forma libre)	2/1308/04/00971	A6	24,0 kg	98,6 % 99,2 %
37 (forma libre)	2/1308/04/00958	A7	19,30 kg	98,8 % 99,7 %
40 (forma libre) lote piloto	2015/1308/01139	A8	2,52 kg	99,7 % 99,8 %
44 (forma libre) GMP	2290/1308/01604	A8	2,88 kg	99,5 % 99,8 %
45 (forma libre) GMP	2290/1308/01605	A8	2,65 kg	99,5 % 99,8 %

*determinado por HPLC (área%)

Procedimiento A0

[0179] En el Paso 3, la precipitación de la sal de clorhidrato se facilitó con la adición de n-heptano. En el Paso 4, la forma libre se liberó por medio de óxido de propileno en tetrahidrofurano. A continuación, la base precipitada se trató con acetonitrilo, se filtró y se recristalizó a partir de 2-propanol.

A1: Modificaciones del procedimiento de síntesis A0

[0180]

a) Se preparó la sal de clorhidrato. No se llevó a cabo la liberación de la forma libre (Paso 4).

A2: Modificaciones del procedimiento de síntesis A1

[0181] b) Se utilizó hexano en lugar de heptano en el Paso 3. No se observó ningún efecto significativo sobre el rendimiento y la calidad.

A3: Modificaciones del procedimiento de síntesis A2

[0182] c) No se utilizó hexano en el Paso 3 para facilitar la precipitación de la sal de clorhidrato, solo para lavar el producto húmedo. No se observó ningún efecto significativo en el rendimiento y la calidad.

A4: Modificaciones del procedimiento de síntesis A3

[0183] d) Se introdujo en el proceso un procedimiento de purificación para el intermedio 4. El intermedio 4 se disolvió en diclorometano y se lavó con una solución acuosa de carbonato de sodio. A continuación, el diclorometano se intercambió por acetato de etilo. La pureza quiral del material de partida 2 fue baja (96,1 %), con esta modificación la pureza quiral del intermedio 4 se incrementó.

A5: Modificaciones del procedimiento de síntesis A4

[0184] e) En el Paso 4, la forma libre se obtuvo a partir de una solución acuosa alcalina de hidróxido de sodio a pH 5,6. La base se filtró y se lavó con agua y 2-propanol. La base libre mostró una calidad similar a la de la sal de HCl y el rendimiento de liberación fue del 68%.

A6: Modificaciones del procedimiento de síntesis A5

[0185]

f) En el Paso 3, la sal de clorhidrato húmeda se lavó con tolueno. Este procedimiento no se implementó en las siguientes campañas.

g) En el Paso 4, la forma libre se purificó aún más, se disolvió en ácido clorhídrico diluido y se precipitó mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 20% a pH 5,6. El rendimiento de purificación se incrementó al 78%.

h) La base húmeda se lavó solo con agua.

A7: Modificaciones del procedimiento de síntesis A6

[0186] i) En el Paso 3, la sal de clorhidrato húmeda *no se lavó* con tolueno.

A8: Modificaciones del procedimiento de síntesis A7

[0187]

j) En el Paso 3, la escisión se realizó en condiciones diluidas (8x EtOAc en lugar de 3x). Se mejoró la pureza del API y el procedimiento se implementó en las siguientes campañas.

k) En el Paso 4, el producto húmedo también se lavó con etanol (después del lavado con agua) después de la purificación del API para eliminar la mayor parte del agua y facilitar el secado.

Ejemplo 12 (basado en el Ejemplo 9)

Preparación de GAL-101 Forma I

[0188] En un matraz de 4 L de tres bocas equipado con agitador superior, termómetro y medidor de pH se disolvieron 497,3 g (1,72 mol, 1 eq) de GAL-101 (por ejemplo, de los Ejemplos 6 y 11 con una pureza por IPC-HPLC de aproximadamente 98,5 % de área) en una mezcla de 1380,0 mL de agua y 173,5 mL de HCl concentrado (1,97 mol, 1,15 eq). La mezcla se agitó a 5-10 °C y el pH de la solución se ajustó a 5,6 con 405,0 mL de una solución de NaOH al 20 % manteniendo a 5-10 °C. Después de 30 minutos de agitación comenzó la cristalización y la suspensión resultante se agitó a 0-5 °C durante la noche.

[0189] El precipitado (GAL-101 Forma II) se recogió por filtración. La GAL-101 Forma II recogida se suspendió en 1,5 L de agua y se calentó a 30-35 °C durante dos horas. Al principio, el sólido se disolvió parcialmente y luego precipitó de nuevo.

[0190] Prueba de solubilidad: el precipitado aislado era insoluble en agua (la transformación de GAL-101 Forma II a GAL-101 Forma I fue completa).

[0191] La suspensión se enfrió a temperatura ambiente (20-25 °C), se filtró y se lavó con 500 mL y 1000 mL de agua y posteriormente se secó a 45-50 °C hasta peso constante.

Rendimiento: 64,5 % (321,0 g)
Pureza: 99,81 % de área por HPLC.
Aspecto: polvo blanco.

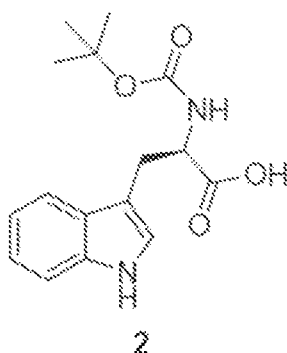
REIVINDICACIONES

1. La Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, **caracterizada por** un polvo de rayos X Patrón de difracción utilizando radiación CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) de 5,87 (15,067), 11,91 (7,432), 17,99 (4,931), 30,35 (2,945).
2. La Forma II de la reivindicación 1, que exhibe el espectro FT-IR como se muestra en la Figura 1 y/o un patrón de difracción de rayos X en polvo como se muestra en la Figura 2.
3. La Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, **caracterizada por** un patrón de difracción de rayos X de cristal único que utiliza radiación CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm) que tiene un sistema cristalino ortorrómbico y un grupo espacial de $P2_1 2_1 2_1$.
4. La Forma II de la reivindicación 3, en la que el sistema cristalino ortorrómbico tiene una dimensión de $a = 6,1316(2)$ Å; $b = 9,1342(2)$ Å; y $c = 25,9213(7)$ Å.
5. Procedimiento para preparar la Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico según la reivindicación 1, que comprende
 - (a) mezclar la Forma I del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico con un HCl acuoso para proporcionar una solución del compuesto;
 - (b) enfriar la solución a aproximadamente 0-5 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base;
 - (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación;
 - (d) aislar el precipitado resultante para dar la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico; y
 - (e) opcionalmente secar el precipitado aislado a 0-5 °C mediante un agente desecante.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, en el que dicha Forma I del compuesto se **caracteriza por** un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) de 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026).
7. Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico preparado mediante el procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 5-6.
8. Procedimiento para preparar la Forma I ultrapura del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) de 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), en el que la pureza de la Forma I ultrapura del compuesto es de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área mediante IPC-HPLC, comprendiendo el procedimiento
 - (a) mezclar la Forma II del compuesto con agua para preparar una solución de la Forma II del compuesto;
 - (b) calentar la solución de la Forma II a aproximadamente 30-35 °C y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado; y
 - (c) aislar y lavar el precipitado para dar la Forma I ultrapura del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico; y
 - (d) opcionalmente secar el precipitado a aproximadamente 45-50 °C,
- en donde la pureza de la Forma I ultrapura del compuesto es de aproximadamente 99,70 % del área a aproximadamente 99,999 % del área por IPC-HPLC.
9. Procedimiento para preparar la Forma I ultrapura del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X en polvo que utiliza radiación CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm) que muestra picos en ángulos $^{\circ}2\theta$ (valor d Å) 6,75 (13,095), 10,19 (8,678), 11,76 (7,524), 13,56 (6,531), 17,68 (5,017), 18,63 (4,764), 20,15 (4,407), 22,08 (4,026), en el que dicha Forma I ultrapura del compuesto tiene una pureza de aproximadamente 99,70 % de área a aproximadamente 99,999 % de área mediante IPC-HPLC, comprendiendo el procedimiento
 - (a) mezclar el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico con un HCl acuoso para proporcionar una solución del compuesto;
 - (b) enfriar la solución a aproximadamente 5-10 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una base;
 - (c) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación;
 - (d) aislar el precipitado resultante para obtener la Forma II del compuesto;

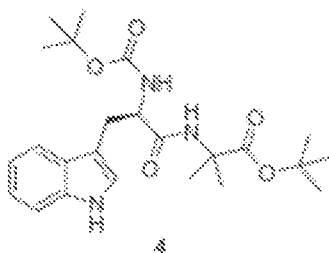
- (e) mezclar la Forma II del compuesto del paso (d) con agua para preparar una solución de la Forma II del compuesto;
 (f) calentar la solución de la Forma II del paso (e) a aproximadamente 30-35 °C y enfriar a temperatura ambiente para producir un precipitado; y
 (g) aislar y lavar el precipitado para dar una Forma I ultrapura del compuesto;
 en donde el paso de lavado se repite opcionalmente dos o tres veces; y
 (h) secar opcionalmente a aproximadamente 45-50 °C, y (i) repetir opcionalmente los pasos (a) a (h).

10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que dicho compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (a) se prepara mediante los pasos que comprenden

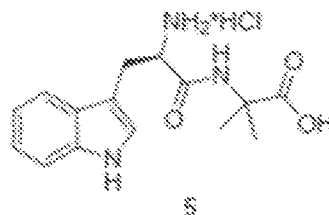
- (a) hacer reaccionar el compuesto (2)



con 2-aminoisobutirato de terc-butilo (3) en presencia de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) para dar el compuesto (4)



- (b) eliminar el grupo Boc del compuesto 4 con gas cloruro de hidrógeno para dar el compuesto (5); y



- (c) proporcionar una solución del compuesto (5) en agua y ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,5-5,7 para dar el compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico.

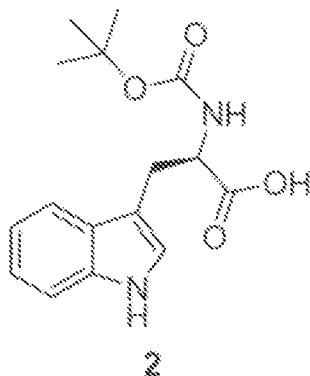
11. El método de la reivindicación 10, que comprende además un paso de purificación del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico del paso (c) mediante

- (a) disolución del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico en HCl 5 M para proporcionar una solución de HCl del compuesto y filtrado;
 (b) ajuste del pH de la solución filtrada a aproximadamente 5,5-5,7 mediante NaOH acuoso al 10% para producir el precipitado; y
 (c) lavado del precipitado con agua y etanol y secado.

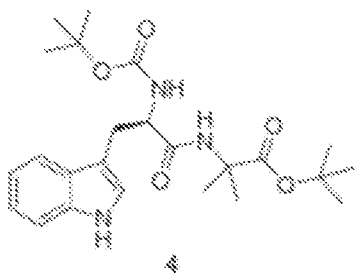
12. Composición que comprende la Forma II de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 7, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. Procedimiento para preparar la Forma II del ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico según la reivindicación 1, que comprende

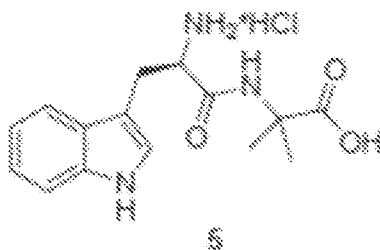
(a) hacer reaccionar el compuesto (2)



con terc-butyl-2-aminoisobutirato (**3**) en presencia de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM) para dar el compuesto (4);



(b) eliminar el grupo Boc del compuesto (4) con gas de cloruro de hidrógeno para dar el compuesto (5);



(c) proporcionar una solución del compuesto (5) en agua y ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,5-5,7 para dar un precipitado;

(d) mezclar el precipitado del paso (c) con un HCl acuoso para dar una solución;

(e) enfriar la solución del paso (d) a aproximadamente 0-5 °C, seguido de ajustar el pH de la solución a aproximadamente 5,6 con una solución acuosa de NaOH al 20% (f) agitar la solución a aproximadamente 0-5 °C hasta que se complete la precipitación; y

(g) aislar el precipitado resultante para dar la Forma II del compuesto de ácido (R)-2-[2-amino-3-(indol-3-il)propionilamino]-2-metilpropiónico y opcionalmente secar el precipitado aislado a 0-5 °C mediante un agente desecante.

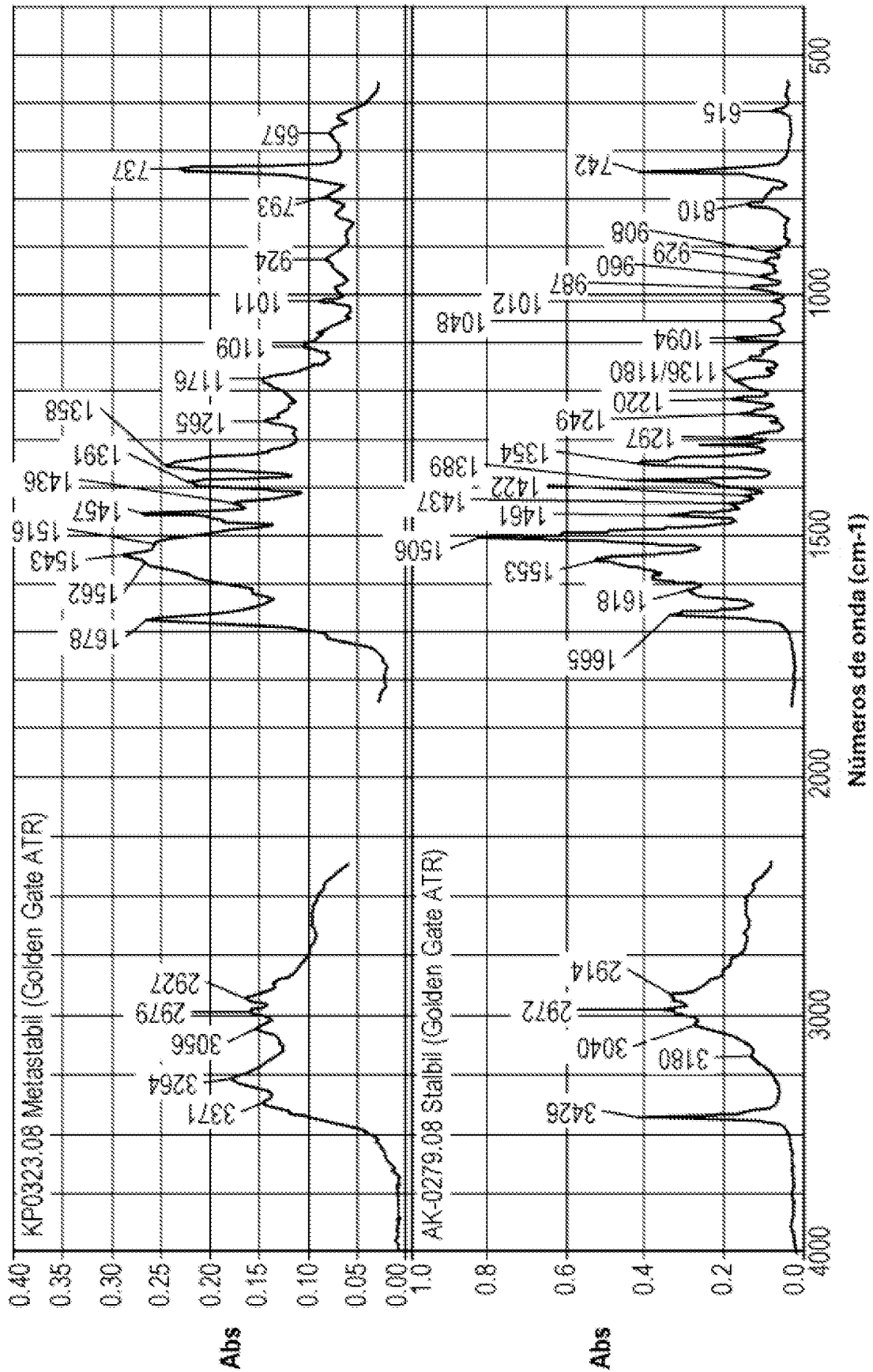


Figura 1

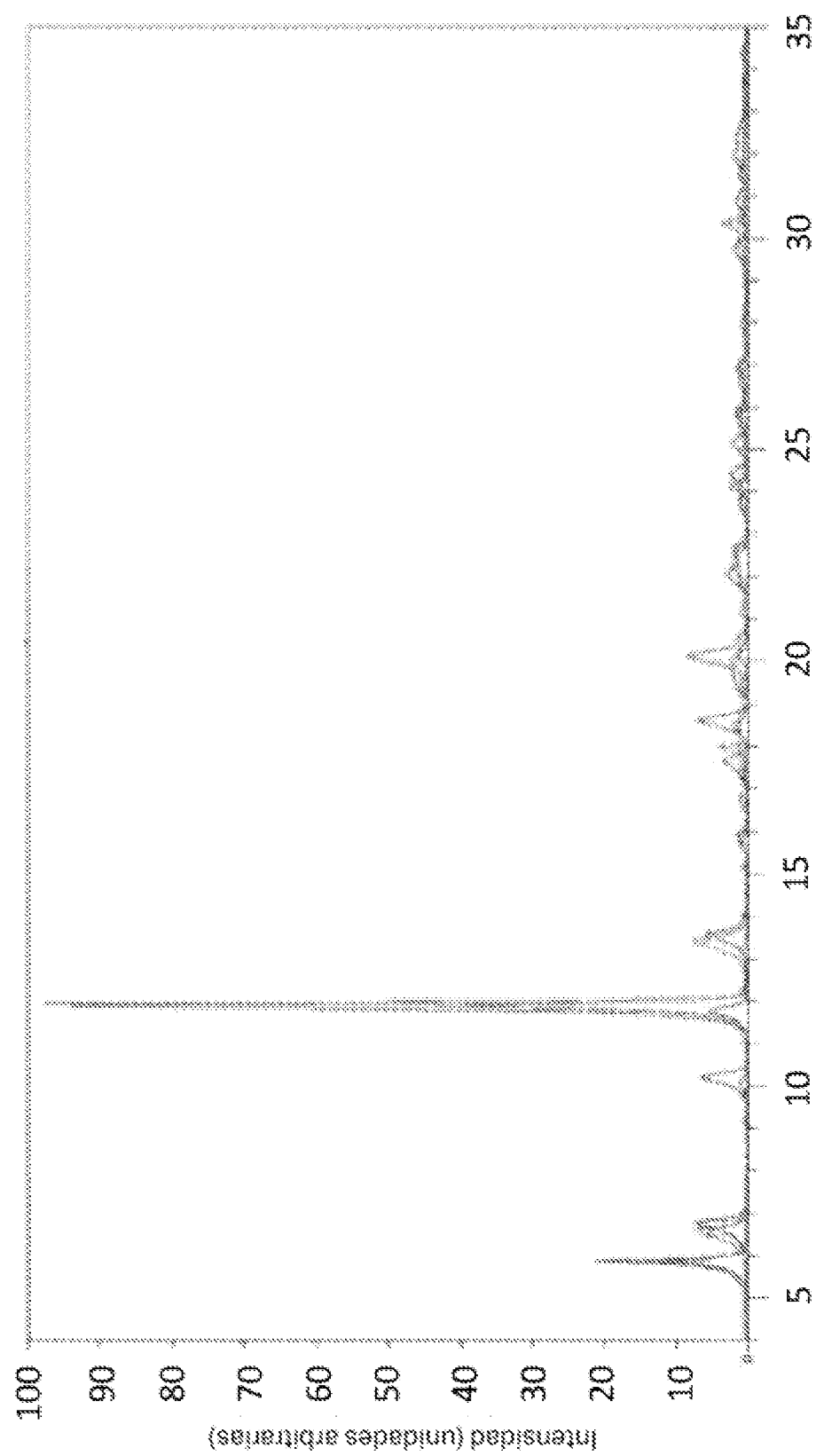


Figura 2

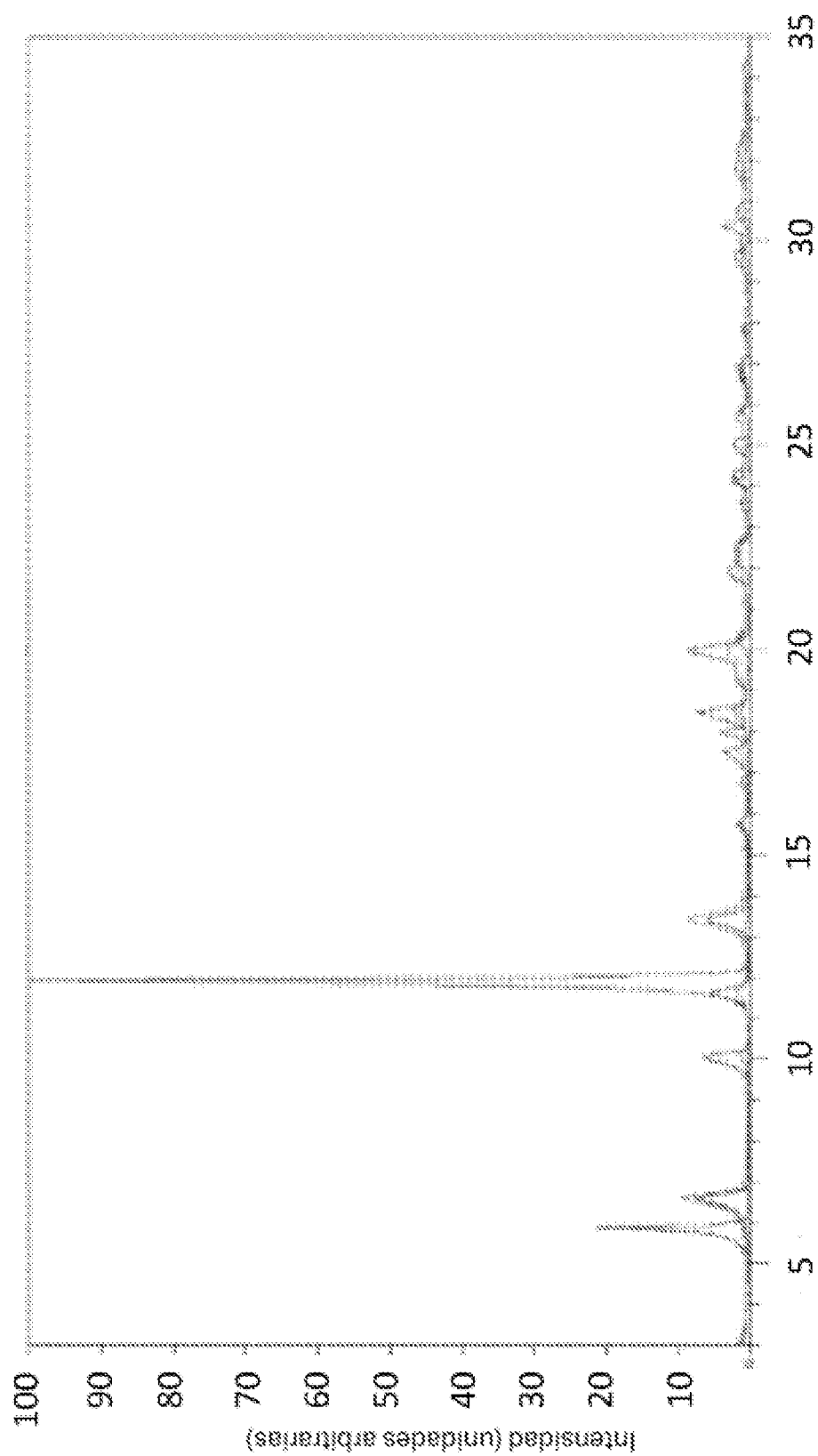


Figura 3

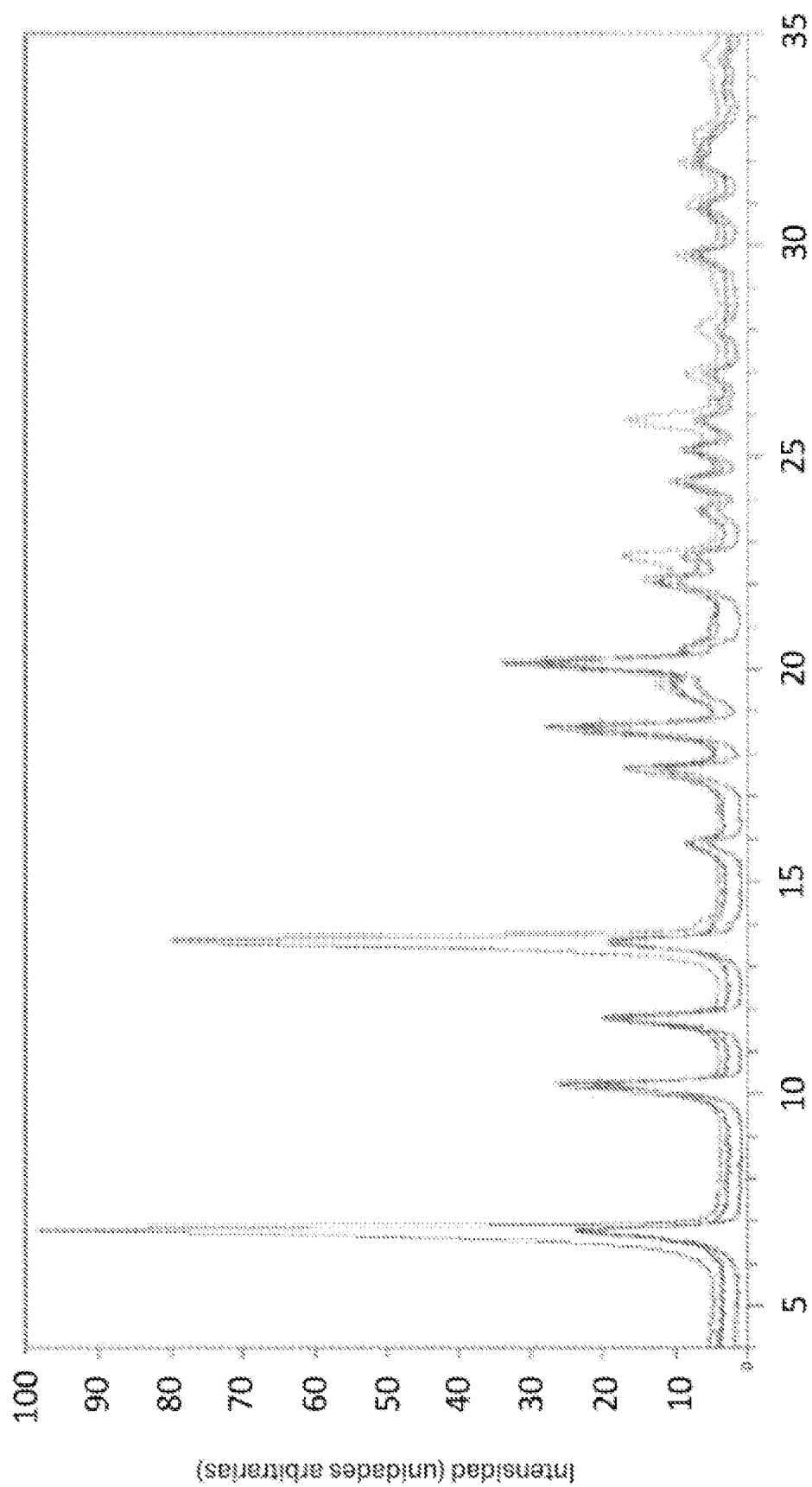


Figura 4

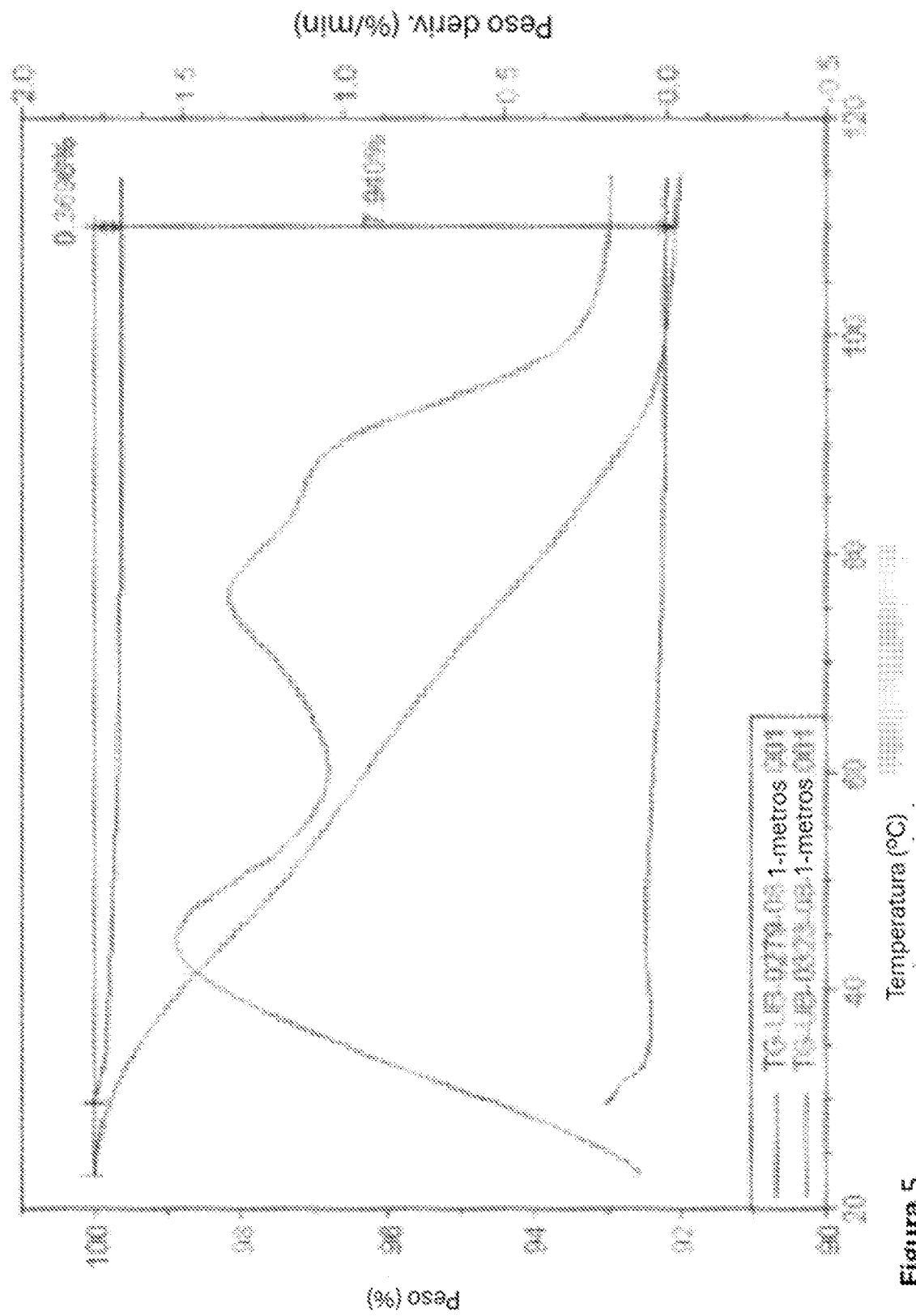


Figure 5

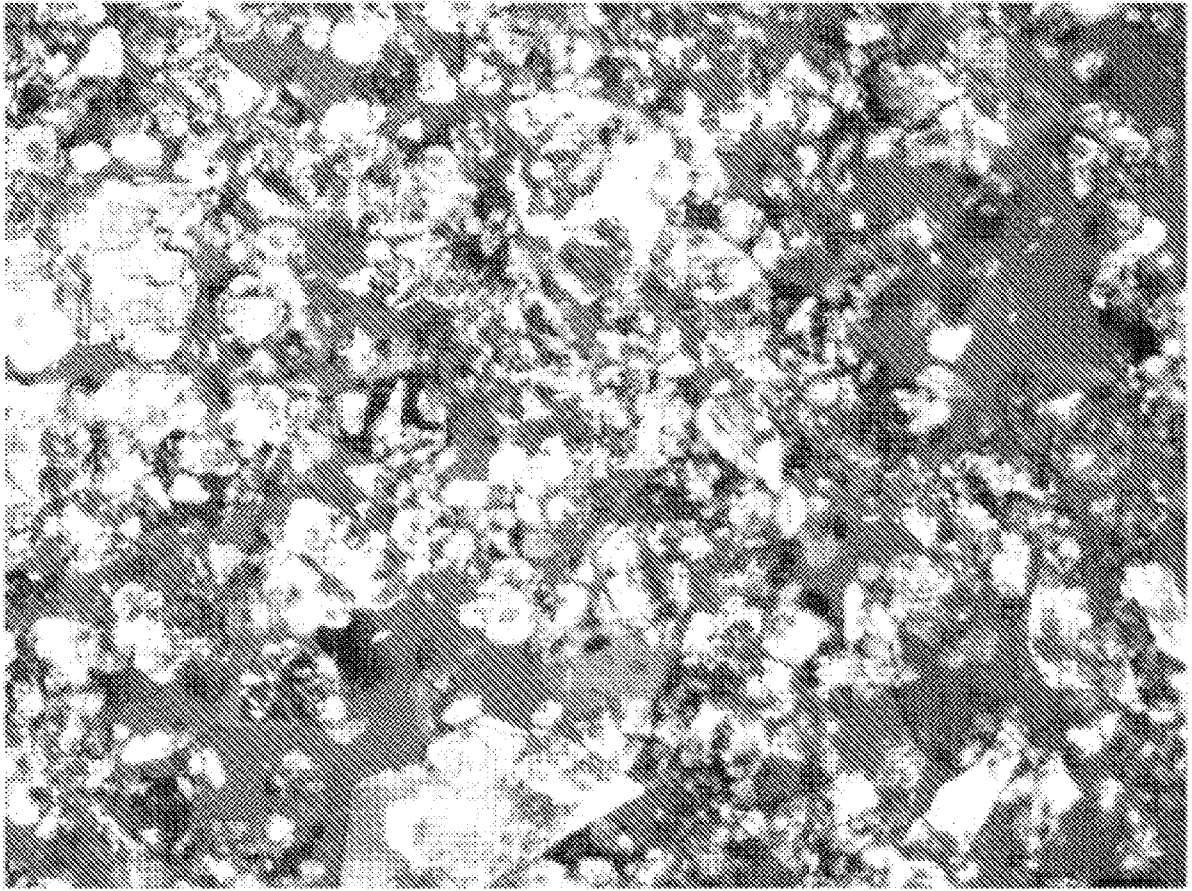


Figura 6

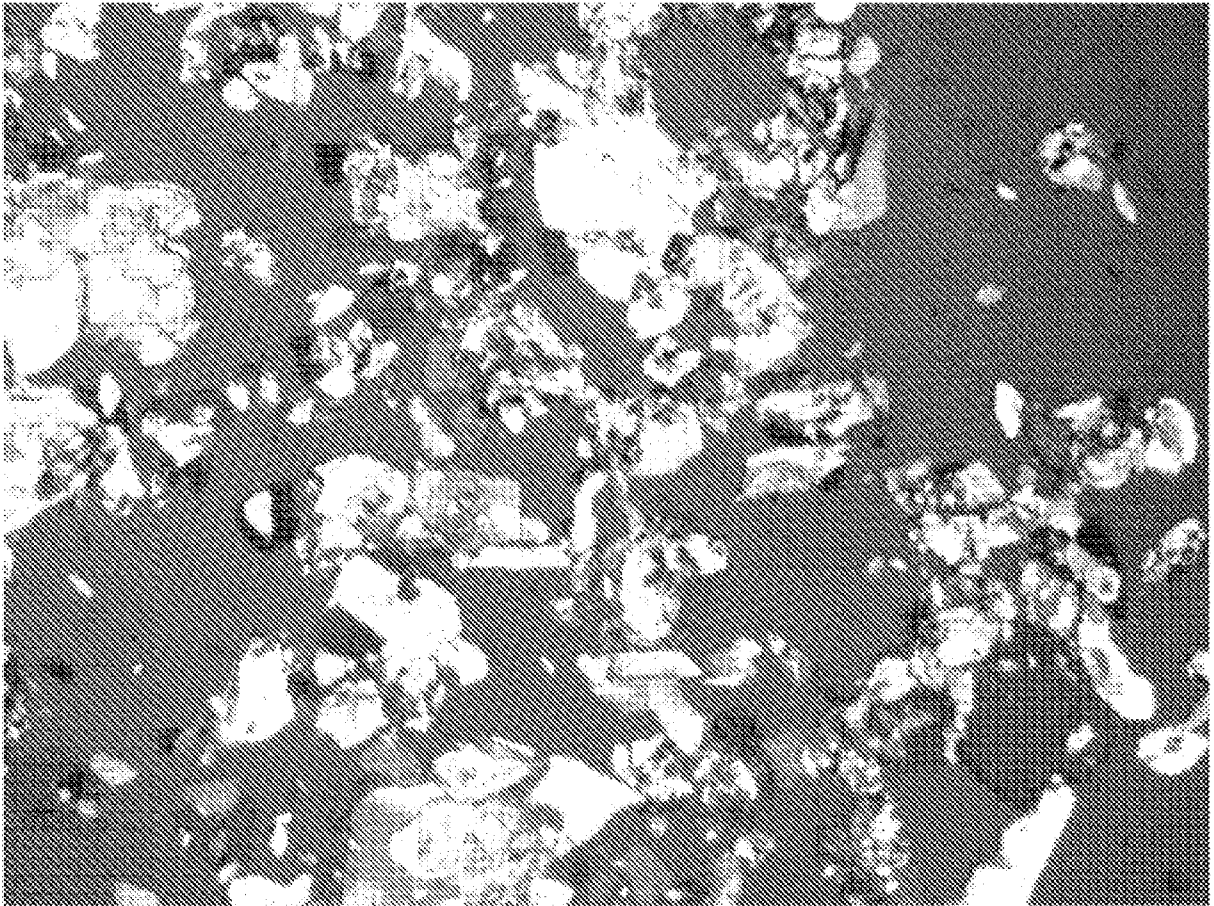


Figura 7

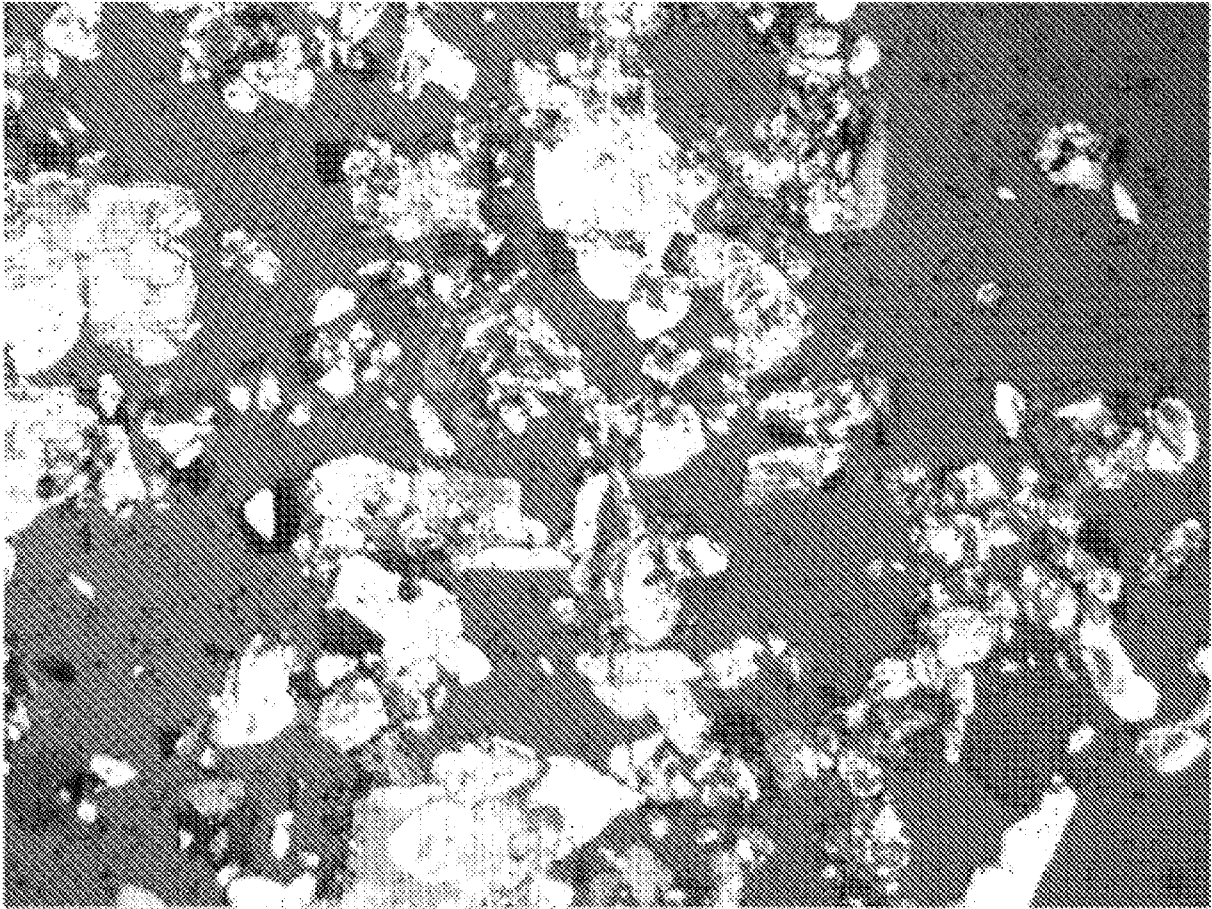


Figura 8

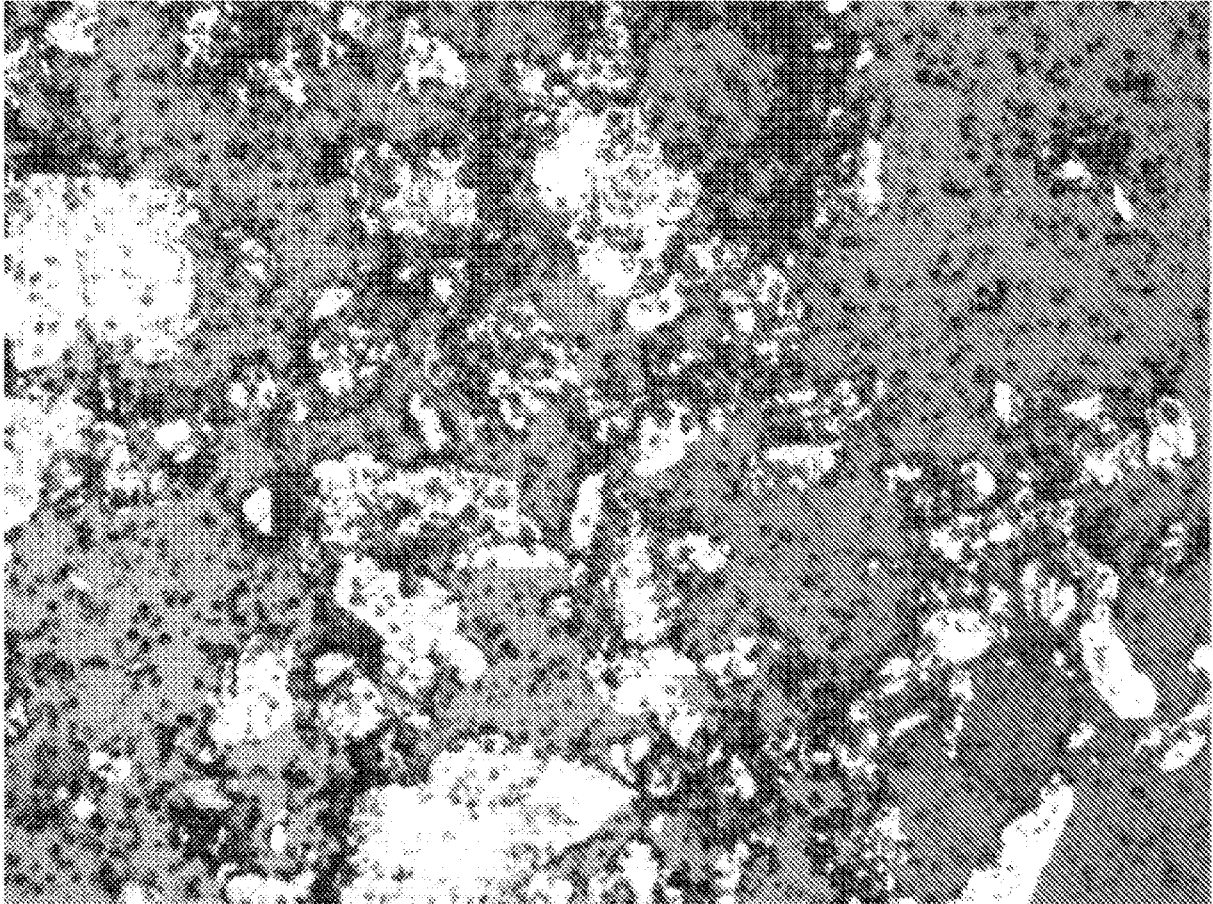


Figura 9

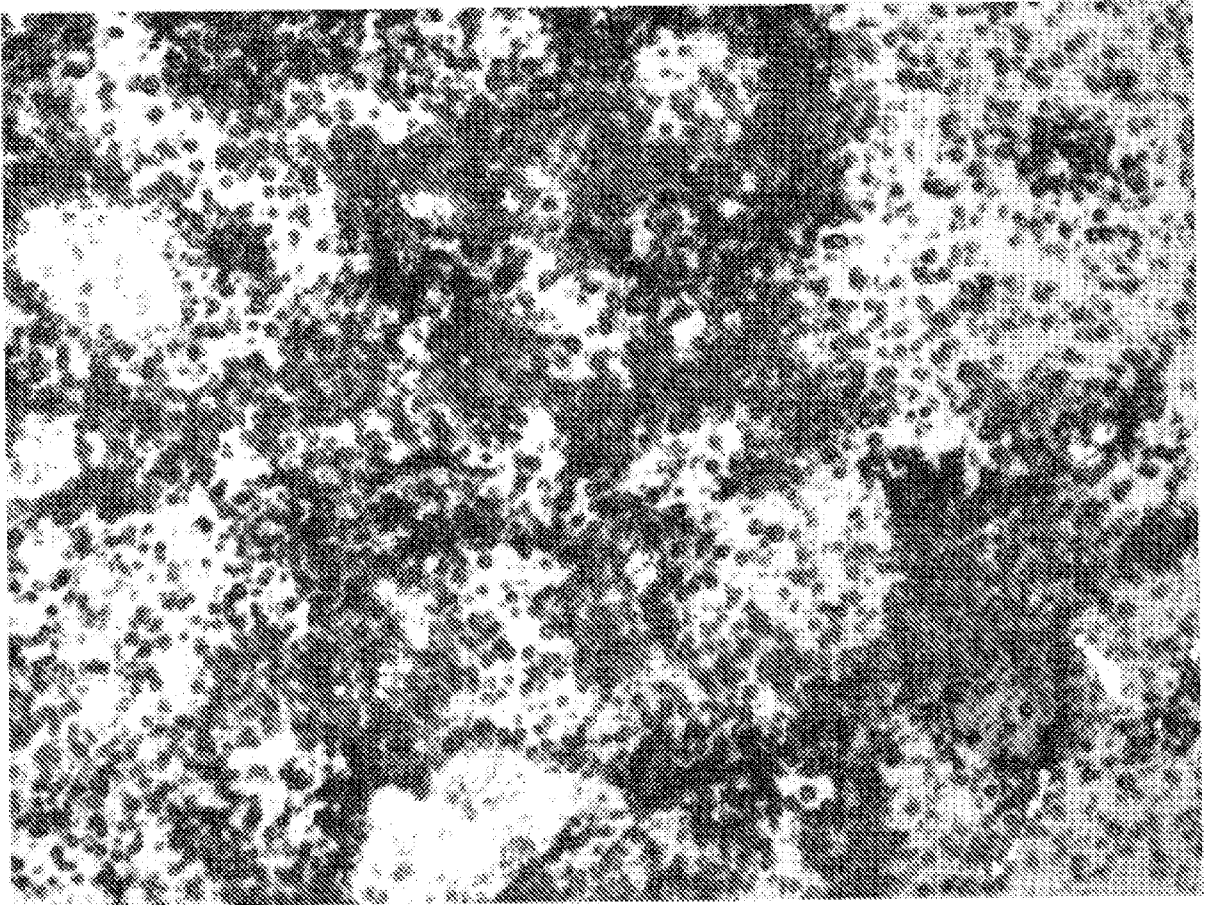


Figura10

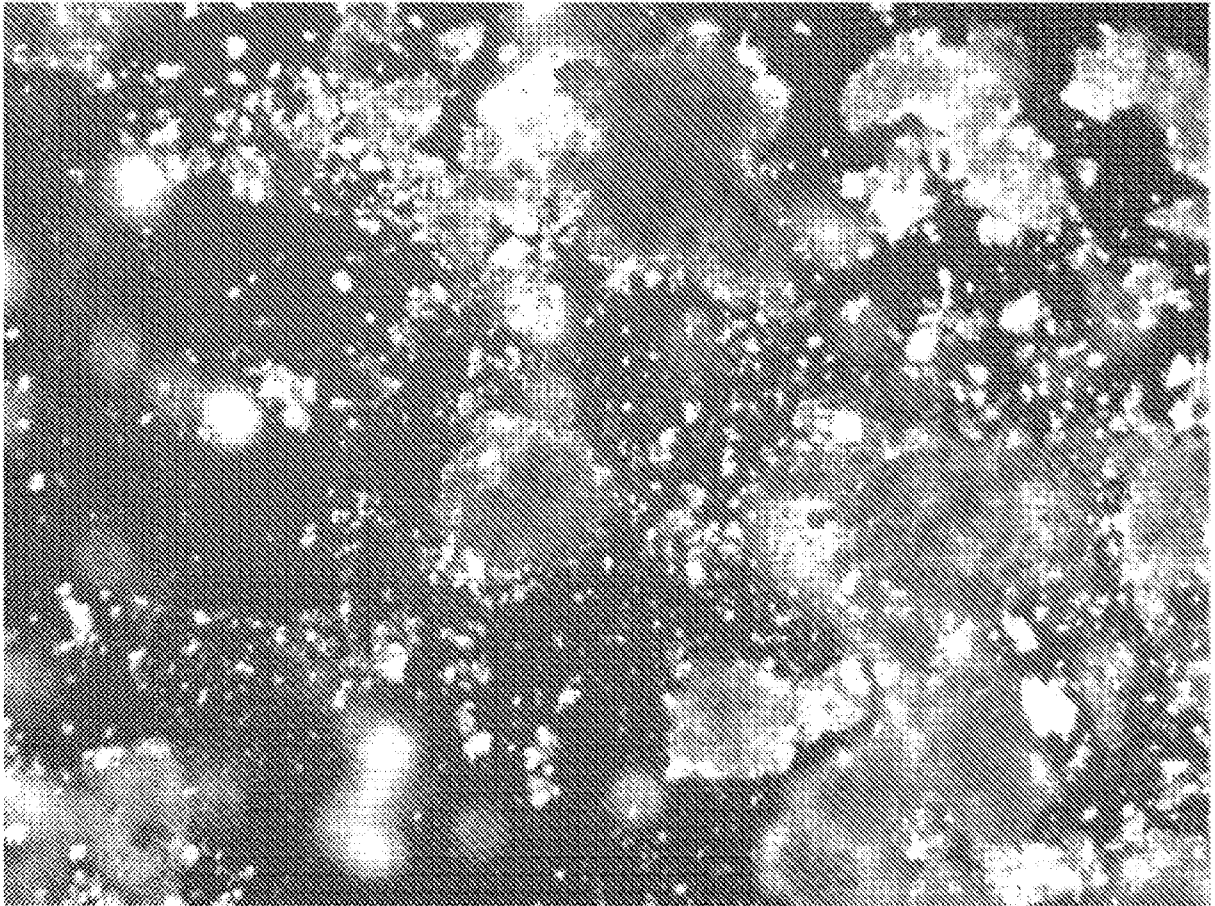


Figura 11

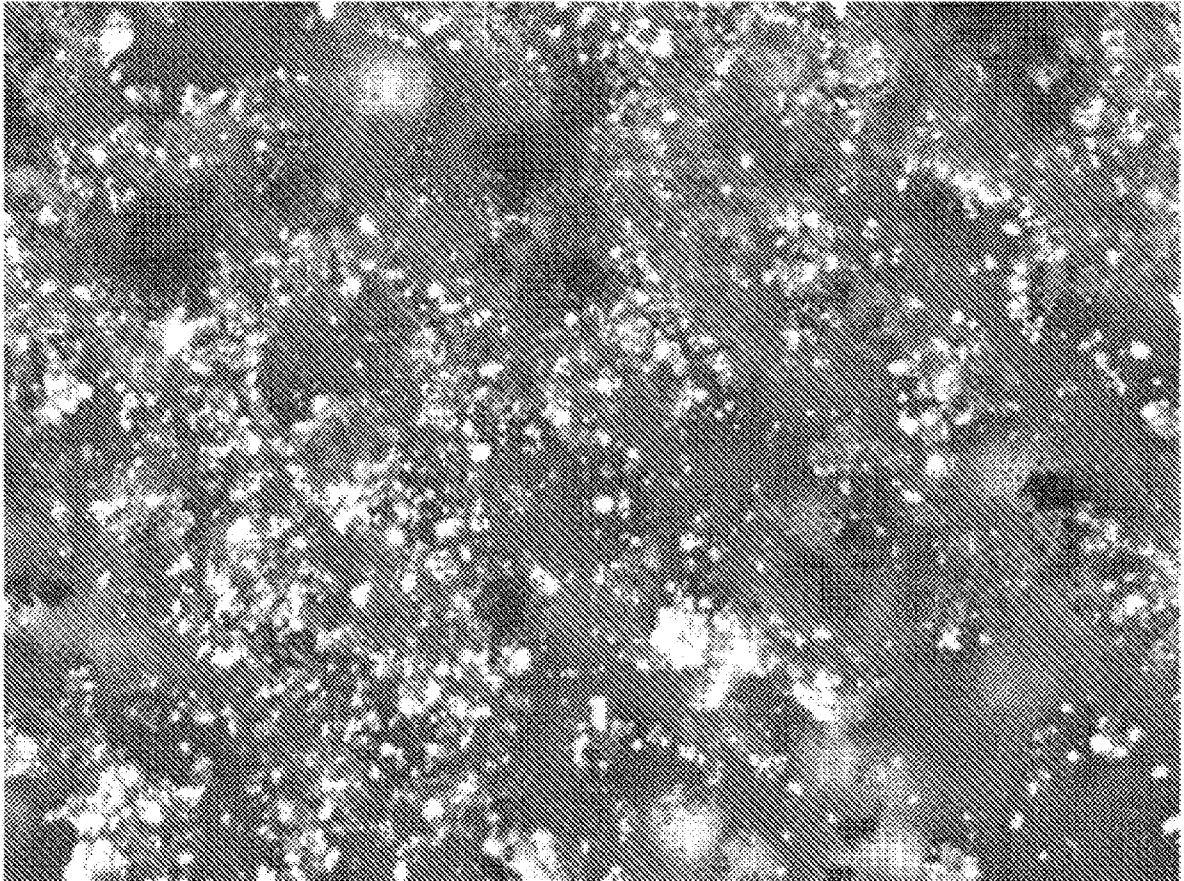


Figura 12

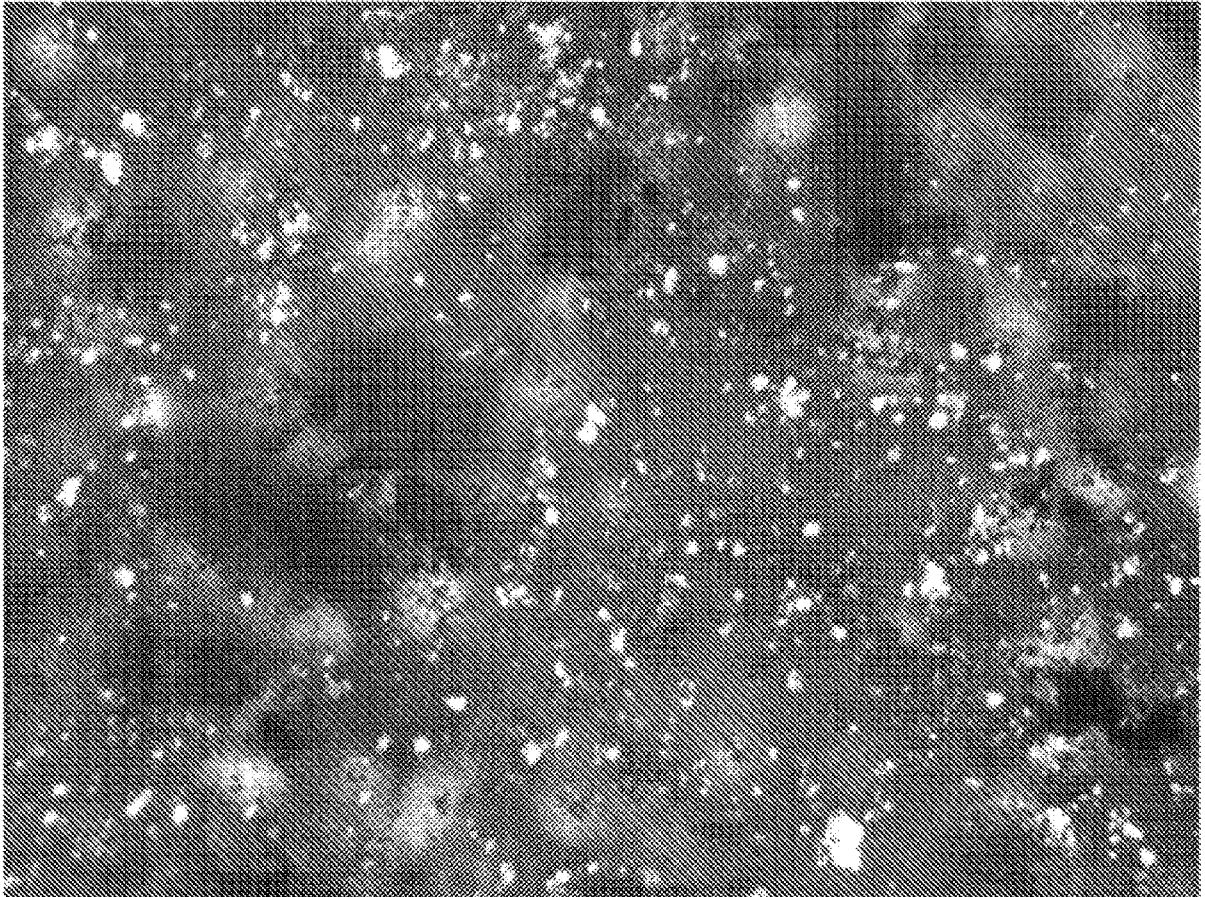


Figura 13

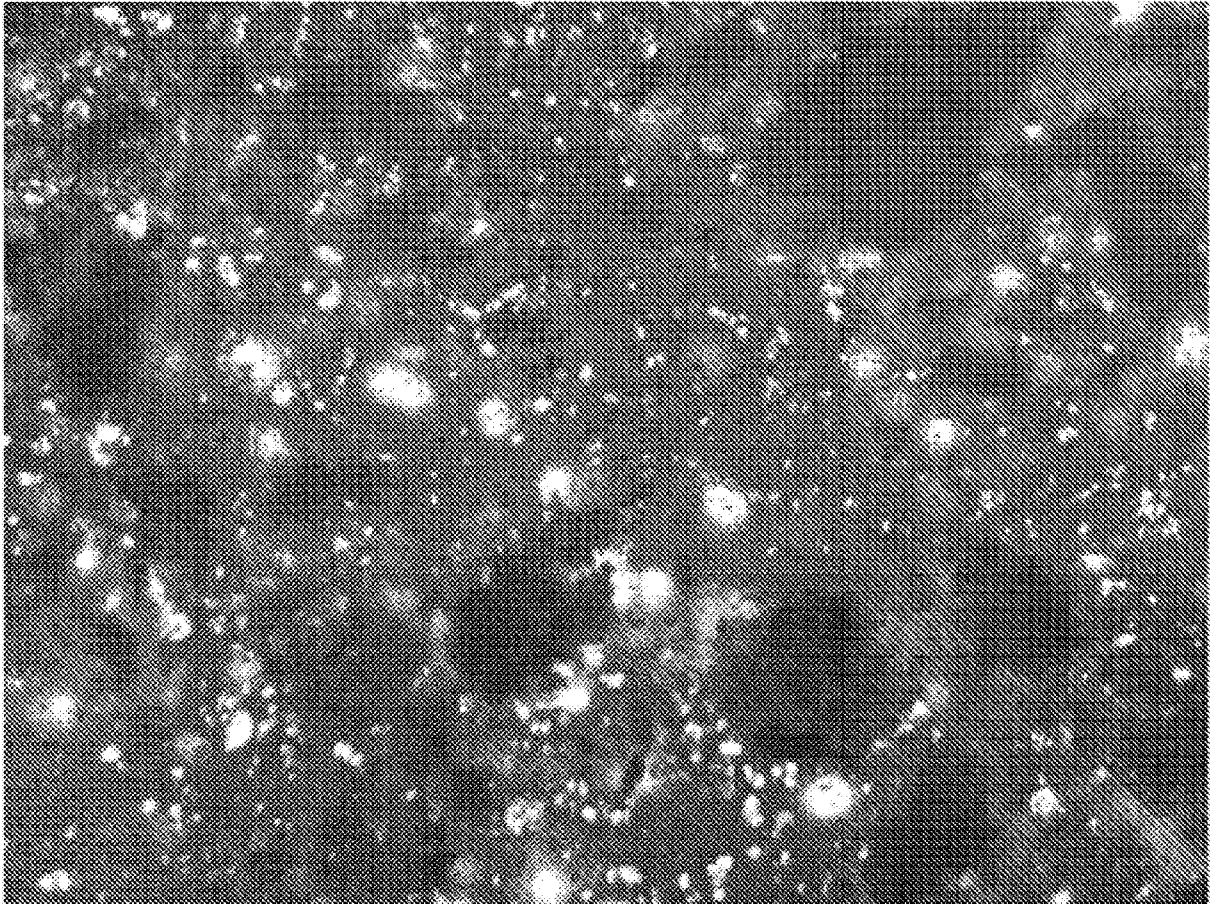


Figura 14

