

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 935 818**

(51) Int. Cl.:

C07D 239/84 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.12.2016 PCT/US2016/067164**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **22.06.2017 WO17106642**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2016 E 16876769 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2022 EP 3390369**

(54) Título: **Formas sólidas de compuestos de 5,6-dihidro-6-fenilbenzo[f]isoquinolin-2-amina sustituidos**

(30) Prioridad:

17.12.2015 US 201562268747 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.03.2023

(73) Titular/es:

**ARQUEL, INC. (100.0%)
One Wall Street
Burlington, MA 01803, US**

(72) Inventor/es:

**BATES, CRAIG y
REED, DAVID P.**

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 935 818 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

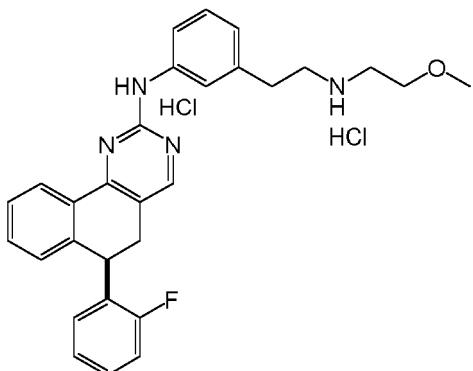
Formas sólidas de compuestos de 5,6-dihidro-6-fenilbenzo[f]isoquinolin-2-amina sustituidos

5 Referencia cruzada a solicitud relacionada

Esta solicitud reivindica la prioridad, así como el beneficio de, U.S.S.N. 62/268.747, presentada el 17 de diciembre de 2015.

10 Antecedentes

- El cáncer es la segunda causa principal de muerte en los Estados Unidos, superado solamente por las cardiopatías. A pesar de los recientes avances en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, la cirugía y la radioterapia pueden ser curativas si el cáncer se detecta a tiempo, pero las terapias farmacológicas actuales para la enfermedad metastásica son en su mayoría paliativas y rara vez ofrecen una cura a largo plazo. Incluso con las nuevas quimioterapias lanzadas al mercado, continúa la necesidad de nuevos fármacos efectivos en monoterapia o en combinación con agentes existentes como terapia de primera línea, y como terapias de segunda y tercera línea en el tratamiento de tumores resistentes.
- Las células cancerosas son, por definición, heterogéneas. Por ejemplo, dentro de un único tejido o tipo de célula, múltiples "mecanismos" mutacionales pueden conducir al desarrollo de cáncer. Como tal, frecuentemente existe heterogeneidad entre células cancerosas extraídas de tumores del mismo tejido y del mismo tipo que se han originado en diferentes individuos. Los "mecanismos" mutacionales observados con frecuencia asociados con algunos tipos de cáncer pueden diferir entre un tipo de tejido y otro (p. ej., los "mecanismos" mutacionales observados con frecuencia que conducen al cáncer de colon pueden diferir de los "mecanismos" observados con frecuencia que conducen a las leucemias). Por lo tanto, a menudo es difícil predecir si un cáncer en particular responderá a un agente quimioterapéutico en particular.
- Los componentes de las vías de transducción de señales celulares que regulan el crecimiento y la diferenciación de las células normales pueden, cuando están desregulados, conducir al desarrollo de trastornos proliferativos celulares y cáncer. Las mutaciones en las proteínas de señalización celular pueden hacer que dichas proteínas se expresen o activen en niveles inapropiados o en momentos inapropiados durante el ciclo celular, lo que a su vez puede provocar un crecimiento celular descontrolado o cambios en las propiedades de unión célula-célula. Por ejemplo, la desregulación de los receptores tirosina cinasas por mutación, transposición génica, amplificación génica y la sobreexpresión tanto del receptor como del ligando se han implicado en el desarrollo y la progresión de los cánceres.
- El FGFR2 es un miembro de la familia de receptores del factor de crecimiento de fibroblastos, donde la secuencia de aminoácidos está altamente conservada entre los miembros y a lo largo de la evolución. Los miembros de la familia FGFR difieren entre sí en sus afinidades por el ligando y la distribución tisular. Una proteína representativa de longitud completa consiste en una región extracelular, compuesta por tres dominios de tipo inmunoglobulina, un solo segmento transmembrana hidrófobo y un dominio de tirosina cinasa citoplasmático. La parte extracelular de la proteína interacciona con factores de crecimiento de fibroblastos, estableciendo señales aguas abajo, que influyen en última instancia en la mitogénesis y la diferenciación.
- Las alteraciones en la actividad (expresión) del gen FGFR2 están asociadas con ciertos tipos de cáncer. La expresión génica alterada puede potenciar varios eventos relacionados con el cáncer, como la proliferación celular, el movimiento celular y el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos que nutren un tumor en crecimiento. El gen FGFR2 es anormalmente activo (sobreexpresado) en ciertos tipos de cánceres de estómago, y esta amplificación está asociada con un peor pronóstico y respuesta a los métodos clínicos estándar. La expresión anormal de FGFR2 también se encuentra en pacientes con cáncer de próstata. Más del 60 por ciento de las mujeres con cáncer de mama en los Estados Unidos también tienen al menos una mutación en este gen.
- Por consiguiente, se necesitan nuevos compuestos y métodos para modular el FGFR2 y tratar trastornos de proliferación, incluyendo el cáncer. La presente solicitud aborda estas necesidades.
- 55 Sumario**
- La presente solicitud proporciona una forma sólida de (*R*-6-(2-fluorofenil)-N-(3-(2-(2-metoxietilamino)etil)fenil)-5,6-dihidrobenzo[h]quinazolin-2-amina (Compuesto A) de la siguiente estructura:



denominado en el presente documento "Forma D".

- 5 La presente solicitud proporciona un polimorfo de la Forma D del Compuesto A caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 14,9, 23,1 y 23,8° 2θ usando radiación Cu Kα, en donde "aproximadamente" significa más o menos 0,2° 2θ. En una realización, el polimorfo de la Forma D se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al que se muestra en la Figura 13A, 13B o 13C.
- 10 En una realización, la presente solicitud proporciona un polimorfo de la Forma D del Compuesto A caracterizado adicionalmente por un evento endotérmico con inicio entre aproximadamente 110 °C y aproximadamente 123 °C tal como se mide por DTA o DSC, en donde "aproximadamente" significa más o menos 2 °C. En una realización, el polimorfo de la Forma D se caracteriza adicionalmente por un termograma DTA sustancialmente similar al expuesto en cualquiera de las Figuras 16A, 16B, 16C y 16D.

La presente solicitud también proporciona una composición farmacéutica que comprende la forma sólida del Compuesto A como Forma D como se describe en este documento, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 20 La presente solicitud también proporciona una forma sólida del Compuesto A como el polimorfo de la Forma D para usar en un método para tratar el cáncer en un ser humano.
- 25 Salvo que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la presente divulgación. En la memoria descriptiva, las formas en singular también incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Aunque, en la práctica o prueba de la presente solicitud, se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Las referencias citadas en el presente documento no se admiten como técnica anterior de la presente solicitud. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, prevalecerá. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no se pretende que sean limitantes.

- 30 Otras características y ventajas de la divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y de las reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

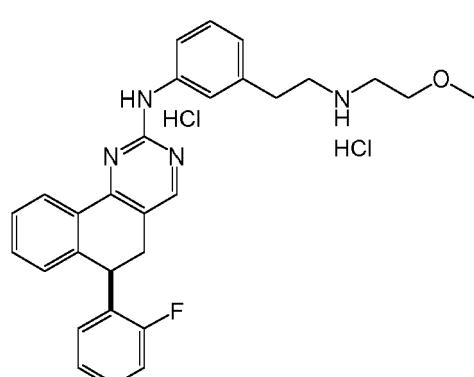
- 40 La **Figura 1** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de una forma amorfía del Compuesto A.
 La **Figura 2** expone el análisis térmico por DSC de una forma amorfía del Compuesto A.
 La **Figura 3** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de una forma amorfía del Compuesto A antes y después de conservación a 40 °C y 75 % HR.
 La **Figura 4A** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma A.
 La **Figura 4B** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma A antes y después de conservación a 40 °C y 75 % HR
 La **Figura 4C** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma A antes y después de conservación a 25 °C y 96 % HR.
 La **Figura 5** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma A a partir de una muestra de cribado de hidratación inicial (panel superior) y una muestra a mayor escala antes del secado (panel central) y después del secado (panel inferior).
 La **Figura 6A** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma A.
 La **Figura 6B** expone el análisis térmico por DSC y TG de la Forma A.

- La **Figura 7** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma A a diferentes temperaturas.
 La **Figura 8** es un patrón de difracción de rayos X de polvo que muestra la transición de la Forma E a la Forma A.
 La **Figura 9** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma A antes y después de la GVS.
 La **Figura 10** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma C.
 5 La **Figura 11** expone un termograma DSC y un análisis TG de la Forma C.
 La **Figura 12** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma C a diferentes temperaturas.
 La **Figura 13A** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma D.
 La **Figura 13B** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma D antes del secado (panel superior) y después del secado (panel inferior).
 10 La **Figura 13C** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma D antes del secado (panel superior) y después del secado (panel inferior).
 La **Figura 14** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma D en varias condiciones de conservación como se indica.
 15 La **Figura 15** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma D antes y después de GVS.
 La **Figura 16A** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma D.
 La **Figura 16B** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma D.
 La **Figura 16C** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma D.
 La **Figura 16D** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma D.
 20 La **Figura 17A** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma F.
 La **Figura 17B** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de Forma F: muestra preparada conservando una forma amorfica del Compuesto A a 40 °C/75 % HR (panel superior) y muestra preparada suspendiendo una forma amorfica del Compuesto A en acetonitrilo (panel inferior).
 La **Figura 18** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma F.
 25 La **Figura 19** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma F a diferentes temperaturas.
 La **Figura 20A** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma G.
 La **Figura 20B** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma G (panel superior), después de la adición de disolvente a 50 °C durante 96 horas (panel central), y después de otras 48 horas a 50 °C (panel inferior).
 La **Figura 20C** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma G: muestra de referencia (panel superior) y muestra de escala de 15 g antes del secado (panel central) y después del secado (panel inferior).
 30 La **Figura 21A** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma G.
 La **Figura 21B** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma G.
 La **Figura 21C** expone el análisis térmico por DTA y TG de la Forma G.
 La **Figura 21D** expone el análisis por DSC de la Forma G.
 35 La **Figura 22** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma G antes (panel superior) y después (panel inferior) del análisis DVS.
 La **Figura 23** expone los patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma G antes (panel superior) y después de conservación a 40 °C y 75 % HR (segunda fila desde arriba), a 40 °C (tercera fila desde arriba) y 60 °C (panel inferior).
 La **Figura 24** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de la Forma G antes (panel superior) y después (panel inferior) de la determinación termodinámica de la solubilidad acuosa.
 40 La **Figura 25** expone un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma sólida Forma B del Compuesto A.
 La **Figura 26** expone el análisis térmico por DSC y TG de la forma sólida de la Forma B del Compuesto A.
 La **Figura 27** expone patrones de difracción de rayos X de polvo de un monocristal del Compuesto A (simulado, arriba) y de la Forma D (experimental, abajo).

45 Descripción detallada

Formas sólidas

- 50 La presente solicitud proporciona una forma sólida de (*R*-6-(2-fluorofenil)-N-(3-(2-(2-metoxietilamino)etil)fenil)-5,6-dihidrobenzo[*h*]quinazolin-2-amina (Compuesto A) de la siguiente estructura:



denominado en el presente documento "Forma D".

- 5 La presente solicitud proporciona un polimorfo de la Forma D del Compuesto A ("Forma D") caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 14,9, 23,1 y 23,8° 2θ utilizando radiación Cu Kα. En una realización, la forma D se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 14,9, 23,1, 23,8 y 24,8 °2θ usando radiación Cu Kα. En una realización, la forma D se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 13,9, 14,9, 21,8, 22,3, 23,1, 23,8, 24,8, 28,1 y 28,7 °2θ usando radiación Cu Kα. En una realización, la forma D
- 10 se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 11,6, 13,9, 14,9, 19,0, 21,8, 22,3, 23,1, 23,8, 24,8, 25,3, 28,1, 28,2 y 28,7 °2θ usando radiación Cu Kα. En una realización, la Forma D se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente las posiciones que se muestran en la siguiente tabla:

| Lista de picos | | |
|----------------|-------------|---------------|
| Pos.[°2θ] | Altura [cm] | Int. Rel. [%] |
| 5,1265 | 98,52 | 23,49 |
| 7,3462 | 79,00 | 18,83 |
| 10,5714 | 357,98 | 85,34 |
| 11,5597 | 113,60 | 27,08 |
| 11,7765 | 106,11 | 25,30 |
| 13,9022 | 203,73 | 48,57 |
| 14,9257 | 419,49 | 100,00 |
| 16,3721 | 26,24 | 6,25 |
| 16,7358 | 93,63 | 22,32 |
| 17,2192 | 68,07 | 16,23 |
| 17,5019 | 11,50 | 2,74 |
| 18,3150 | 60,24 | 14,36 |
| 18,9619 | 124,08 | 29,58 |
| 19,7197 | 86,49 | 20,62 |
| 20,7378 | 101,40 | 24,17 |
| 21,0683 | 83,45 | 19,89 |
| 21,7689 | 203,41 | 48,49 |
| 22,2869 | 201,75 | 48,09 |
| 23,1463 | 371,74 | 88,62 |
| 23,7756 | 410,38 | 97,83 |
| 24,8390 | 314,95 | 75,08 |
| 25,2694 | 132,02 | 31,47 |
| 26,2399 | 32,20 | 7,68 |
| 27,2203 | 51,08 | 12,18 |
| 28,0526 | 181,81 | 43,34 |
| 28,1895 | 123,55 | 29,45 |
| 28,7259 | 175,55 | 41,85 |

- 15 En una realización, la Forma D se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al expuesto en la Figura 13A, 13B o 13C. En una realización, la Forma D se caracteriza por un patrón de difracción de

rayos X de polvo sustancialmente similar al expuesto en la Figura 13A.

En una realización, la Forma D adicionalmente

- 5 se caracteriza por un evento endotérmico con inicio entre aproximadamente 110 °C y aproximadamente 123 °C tal como se mide por DTA o DSC. En una realización, la Forma D además
- se caracteriza por un evento endotérmico con inicio a aproximadamente 110 °C, 112 °C, 114 °C, 115 °C o 123 °C tal como se mide por DTA o DSC. En una realización, la Forma D adicionalmente
- 10 se caracteriza por un termograma DTA sustancialmente similar al expuesto en una cualquiera de las Figuras 16A, 16B, 16C y 16D.

En una realización, la forma D muestra una pérdida de peso de entre aproximadamente 3,5 % y aproximadamente 4,6 %, entre alrededor de 80 °C - alrededor de 90 °C y alrededor de 130 °C - alrededor de 160 °C, tal como se mide por TGA. En una realización, la Forma D muestra una pérdida de peso de aproximadamente 3,6 % (es decir, 1 mol equivalente de agua) entre alrededor de 80 °C y alrededor de 130 °C, tal como se mide por TGA. En una realización, la Forma D muestra una pérdida de peso de aproximadamente 4,6 % entre alrededor de 90 °C y alrededor de 160 °C, tal como se mide por TGA.

20 En una realización, la Forma D muestra una absorción de agua inferior al 0,1 % p/p entre 40 y 70 % HR. En una realización, la Forma D muestra una absorción de agua significativa entre 70 y 90 % HR a 25 °C (p. ej., alrededor de 1,6 % p/p de absorción de agua).

25 En una realización, la Forma D es estable en diversas condiciones de conservación. En una realización, la Forma D es estable a entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 50 °C (p. ej., 25 °C o 40 °C) durante al menos una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, seis meses, o un año. En una realización, la Forma D es estable entre aproximadamente el 60 % HR y aproximadamente el 98 % HR (p. ej., 75 % HR o 96 % HR) durante al menos una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, seis meses, o un año. En una realización, la Forma D es estable a 40 °C/75 % HR durante al menos una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, seis meses, o un año. En una 30 realización, la Forma D es estable a 25 °C/96 % HR durante al menos una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, seis meses, o un año.

En una realización, la Forma D es un hidrato. En una realización, la Forma D es un monohidrato.

35 La Forma D se puede preparar suspendiendo una forma amorfía del Compuesto A en un disolvente. La forma amorfía del Compuesto A puede suspenderse en una mezcla de acetona, 2-propanol o acetonitrilo con agua. La forma amorfía del Compuesto A puede suspenderse en una mezcla de acetona y agua. La acetona y el agua se pueden mezclar a una W_A de aproximadamente 0,4. La suspensión se puede realizar a temperatura ambiente (p. ej., de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C). La suspensión se puede realizar con agitación continua.

40 La Forma D puede prepararse mediante un método que comprende: disolver el Compuesto A en un primer disolvente para formar una solución; añadir un antidisolvente a la solución para formar una suspensión; y enfriar la suspensión; y opcionalmente aislar la Forma D.

45 El primer disolvente puede ser una mezcla de acetona, 2-propanol, o acetonitrilo y agua. El primer disolvente puede ser una mezcla de acetona y agua. La mezcla puede comprender acetona:agua a aproximadamente 85:15. El Compuesto A se puede disolver en el primer disolvente a una temperatura de al menos 50 °C. El compuesto A se puede disolver en el primer disolvente a una temperatura de aproximadamente 50 °C.

50 El antidisolvente puede ser acetona, 2-propanol o acetonitrilo. El antidisolvente puede ser acetona. Después de la adición del antidisolvente, puede disminuir el porcentaje de agua en la solución. Después de la adición del antidisolvente, el porcentaje de agua en la solución puede ser aproximadamente o inferior al 5 %. Después de la adición del antidisolvente, la solución puede comprender acetona:agua a aproximadamente 95:5. Después de la adición del antidisolvente, se puede formar una suspensión.

55 Después de la adición del antidisolvente, la suspensión puede enfriarse a una temperatura de aproximadamente o inferior a 20 °C.

60 El método puede comprender, además, después de la adición del antidisolvente y antes del enfriamiento, añadir una semilla de la Forma D. La semilla de la Forma D se puede añadir cuando el porcentaje de agua se reduce entre aproximadamente el 13 % y aproximadamente el 10 %.

65 El método puede comprender además después de la adición de la semilla de la Forma D y antes del enfriamiento, añadir el antidisolvente. El antidisolvente se puede añadir para disminuir el porcentaje de agua entre aproximadamente un 10 % y aproximadamente un 5 %. Se puede añadir el antidisolvente para disminuir el porcentaje de agua en aproximadamente un 5 %. Después de la adición de la semilla de la Forma D y más antidisolvente, la suspensión

puede enfriarse a una temperatura de aproximadamente o inferior a 20 °C.

El método puede comprender, además, después del enfriamiento, filtrar la Forma D.

- 5 La Forma D se puede preparar suspendiendo el polimorfo de la Forma G del Compuesto A en un disolvente. El polimorfo de la Forma G del Compuesto A se puede suspender en una mezcla de acetona, 2-propanol o acetonitrilo con agua. El polimorfo de la Forma G del Compuesto A se puede suspender en una mezcla de acetona y agua. La mezcla de acetona y agua puede tener un bajo contenido de agua (p. ej., menos del 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 % o 2 % de agua). La acetona y el agua se pueden mezclar en una proporción de acetona:agua de aproximadamente 98:2 o 99:1. La suspensión se puede realizar a una temperatura de al menos 50 °C. La suspensión se puede realizar a aproximadamente 50 °C. La suspensión se puede realizar con agitación continua. La suspensión se puede realizar durante al menos 3 días, 4 días o más. Se puede añadir una semilla de la Forma D a la suspensión. Se puede añadir una semilla de la Forma D a la suspensión, y la suspensión se puede realizar durante menos de 10 horas, 8 horas o 6 horas.
- 10 15 Las expresiones "polimorfos cristalinos", "polimorfos de cristal", "formas de cristal", "polimorfos" o "formas polimórficas" significan estructuras cristalinas en las que un compuesto (p. ej., base libre, sales, o solvatos de los mismos) pueden cristalizar en diferentes disposiciones de empaquetamiento del cristal, la totalidad de las cuales tiene la misma composición elemental. Las diferentes formas cristalinas suelen tener diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, densidad, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. El disolvente de cristalización, la velocidad de cristalización, la temperatura de conservación y otros factores pueden hacer que domine una forma cristalina. Los polimorfos cristalinos de los compuestos se pueden preparar mediante cristalización en diferentes condiciones. Además, el polimorfismo cristalino puede estar presente pero no es limitante, pero cualquier forma de cristal puede ser una forma única o una mezcla de forma de cristal, o una forma de cristal anhidra o hidratada.
- 20 25

La expresión "forma amorfá" se refiere a una forma de estado sólido no cristalino de una sustancia.

- 30 De forma adicional, los compuestos de la presente solicitud (p. ej., bases libres y sales, y formas amorphas, formas cristalinas y polimorfos de los mismos), pueden existir en forma hidratada o sin hidratar (la anhidra) o como solvatos con otras moléculas de disolvente o en forma no solvatada. Los ejemplos no limitantes de hidratos incluyen hemihidratos, monohidratos, dihidratos, etc. Los ejemplos no limitantes de solvatos incluyen solvatos de DMSO, hemisolvatos de DMSO, etc.
- 35 Los polimorfos de una molécula se pueden obtener por varios métodos, como se conoce en la técnica. Dichos métodos incluyen, pero sin limitación, recristalización por fusión, enfriamiento por fusión, recristalización con disolvente, desolvatación, evaporación rápida, enfriamiento rápido, enfriamiento lento, difusión de vapor y sublimación.
- 40 Técnicas para caracterizar formas sólidas de un compuesto, tales como polimorfos, incluyen, pero sin limitación, calorimetría diferencial de barrido (DSC), difractometría de rayos X de polvo (XRPD), difractometría de rayos X de cristal único, espectroscopía vibracional (p. ej., espectroscopía IR y Raman), TGA, DTA, DVS, RMN en estado sólido, microscopía óptica de etapa caliente, microscopía electrónica de barrido (SEM), cristalográfia electrónica y análisis cuantitativo, análisis del tamaño de partículas (PSA), análisis de superficie, estudios de solubilidad y estudios de disolución.
- 45 Como se utiliza en el presente documento, el término "solvato" significa formas de adición de disolventes que contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de disolvente. Algunos compuestos tienen una tendencia a atrapar una proporción molar fija de moléculas de disolvente en el estado sólido cristalino, formando de este modo un solvato. Si el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato, cuando el disolvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una de las sustancias en las que el agua retiene su estado molecular como H₂O, pudiendo formar dicha combinación uno o más hidratos. Por ejemplo, el solvato puede ser un solvato de DMSO, un solvato de diclorometano (DCM), una metiletilcetona (solvato de MEK), o un solvato de tetrahidrofurano (THF).
- 50 55 Como se utiliza en el presente documento, los términos "no solvatado" o "desolvatado" se refieren a una forma de estado sólido (p. ej., formas cristalinas, formas amorphas y polimorfos) de una sustancia que no contiene disolvente.
- 60 Como se utiliza en el presente documento, el término "puro" significa alrededor de un 90-100 %, preferentemente un 95-100 %, más preferentemente un 98-100 % (peso/peso) o un 99-100 % (peso/peso) de compuesto puro; p. ej., menos de alrededor de un 10 %, menos de alrededor de un 5 %, menos de alrededor de un 2 % o menos de alrededor de un 1 % de impurezas están presentes. Tales impurezas incluyen, p. ej., productos de degradación, productos oxidados, disolventes y/u otras impurezas indeseables.
- 65 Como se utiliza en el presente documento, un compuesto es "estable" cuando no se observa una cantidad significativa de productos de degradación en condiciones constantes de humedad (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % y 95 % HR), exposición a la luz y temperaturas (p. ej., superiores a 0 °C, p. ej., 20 °C,

25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C, 60 °C, 65 °C y 70 °C) durante un período determinado (p. ej., una semana, dos semanas, tres semanas y cuatro semanas). No se considera que un compuesto sea estable en una determinada condición cuando aparecen impurezas de degradación o un porcentaje del área (p. ej., AUC como se caracteriza por HPLC) de las impurezas existentes comienza a crecer. La cantidad de crecimiento de la degradación en función del tiempo es importante para determinar la estabilidad del compuesto.

5 Como se utiliza en el presente documento, el término "mezclar" significa combinar, unir, revolver, sacudir, arremolinar o agitar. El término "revolver" significa mezclar, sacudir, agitar o arremolinar. El término "agitar" significa mezclar, sacudir, revolver o arremolinar.

10 Salvo que se indique explícitamente lo contrario, los términos "aproximadamente" y "alrededor de" son sinónimos. En una realización, "aproximadamente" y "alrededor de" se refieren a la cantidad, valor, o duración indicado $\pm 10\%$, $\pm 8\%$, $\pm 6\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, o $\pm 0,5\%$. En otra realización, "aproximadamente" y "alrededor de" se refieren a la cantidad, valor, o duración indicado $\pm 10\%$, $\pm 8\%$, $\pm 6\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, o $\pm 2\%$. En otra realización más, "aproximadamente" y "alrededor de" se refieren a la cantidad, valor, o duración indicado $\pm 5\%$. En otra realización más, "aproximadamente" y "alrededor de" se refieren a la cantidad, valor, o duración indicado $\pm 2\%$ o $\pm 1\%$.

15 Cuando se usan los términos "aproximadamente" y "alrededor de" al mencionar los picos de XRPD, estos términos se refieren al pico de difracción de rayos X de polvo mencionado $\pm 0,2^\circ 2\theta$. En otra realización, los términos "aproximadamente" y "alrededor de" se refieren al pico de difracción de rayos X de polvo indicado $\pm 0,1^\circ 2\theta$.

20 Cuando se usan los términos "aproximadamente" y "alrededor de" al mencionar la temperatura o el intervalo de temperatura, estos términos se refieren a la temperatura mencionada o al intervalo de temperatura $\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ o $\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$. En otra realización, los términos "aproximadamente" y "alrededor de" se refieren a la temperatura mencionada o al intervalo de temperatura $\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$.

Métodos y ensayos

Síntesis del Compuesto A

30 Métodos y procedimientos sintéticos estándar para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones y manipulaciones de grupos funcionales, incluyendo el uso de grupos protectores, puede obtenerse de la bibliografía científica relevante o de libros de texto de referencia estándar en el campo. Aunque sin limitarse a una o varias fuentes, los libros de texto de referencia reconocidos de síntesis orgánica incluyen: Smith, M. B.; March, J. March's Advanced
35 Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5.^a ed.; John Wiley & Sons: Nueva York, 2001; y Greene, T.W.; Wuts, P.G. M. Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd; John Wiley & Sons: Nueva York, 1999.

Los métodos para preparar la base libre del Compuesto A se describen en la patente de EE. UU. n.º 8.357.694.

Ensayos biológicos

40 La presente solicitud proporciona métodos para evaluar las actividades biológicas de los compuestos de la solicitud. En un método, se puede utilizar un ensayo basado en la actividad enzimática. En un ensayo de actividad enzimática específica, la actividad enzimática es de una cinasa (p. ej., FGFR). Como se utiliza en el presente documento, "cinasa" se refiere a las enzimas que catalizan la transferencia del fosfato y del ATP al grupo hidroxilo en la cadena lateral de Ser/Thr o Tyr en proteínas y péptidos y están íntimamente involucradas en el control de varias funciones celulares importantes, tales como la transducción de señales, diferenciación y proliferación. Preferentemente, la cinasa ensayada es una tirosina cinasa (p. ej., FGFR).

45 Un cambio en la actividad enzimática provocado por los compuestos de la presente solicitud se puede medir en los ensayos divulgados. El cambio en la actividad enzimática se puede caracterizar por el cambio en el grado de fosforilación de ciertos sustratos. Como se utiliza en el presente documento, "fosforilación" se refiere a la adición de grupos fosfato a un sustrato, incluyendo proteínas y moléculas orgánicas, y juega un papel importante en la regulación de las actividades biológicas de las proteínas. Preferentemente, la fosforilación ensayada y medida implica la adición de grupos fosfato a los residuos de tirosina. El sustrato puede ser un péptido o una proteína.

55 En algunos ensayos, se emplean reactivos inmunológicos, p. ej., anticuerpos y antígenos. La fluorescencia se puede utilizar en la medición de la actividad enzimática en algunos ensayos. Los métodos específicos para evaluar la actividad biológica de los compuestos divulgados se describen en los ejemplos.

60 Un experto en la materia puede consultar los textos de referencia general para obtener descripciones detalladas de técnicas conocidas descritas en el presente documento o técnicas equivalentes. Estos textos incluyen Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook *et al.*, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3^a edición), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, Nueva York (2000); Coligan *et al.*, Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna *et al.*, Current Protocols in Pharmacology, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl *et al.*, The Pharmacological Basis of Therapeutics (1975), Remington's Pharmaceutical Sciences,

Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania, 18^a edición (1990). Estos textos pueden, por supuesto, también consultarse al realizar o utilizar un aspecto de la divulgación.

Difracción de rayos X de polvo (XRPD)

5

Modo de placa plana

El análisis XRPD en modo placa plana se llevó a cabo en un Siemens D5000, escaneando las muestras entre 3 y 30° 2-theta. El material se comprimió suavemente en un disco de vidrio insertado en un portamuestras. A continuación, la muestra se cargó en un difractómetro Siemens D5000 que funcionaba en modo de reflexión y se analizó, utilizando las siguientes condiciones experimentales.

| | |
|------------------------------------------|--------------------------|
| Origen de datos sin procesar | Siemens-binary V2 (.RAW) |
| Posición inicial [°2Th.] | 3,0000 |
| Posición final [°2Th.] | 30,0000 |
| Tamaño de paso [°2 Th.] | 0,0200 |
| Tiempo de paso de barrido [s] | 1 |
| Tipo de barrido | Continuo |
| Compensación [°2Th.] | 0,0000 |
| Tipo de rendija de divergencia | Fija |
| Tamaño de la rendija de divergencia [mm] | 2,0000 |
| Longitud de la probeta [mm] | diferentes |
| Tamaño de la rendija de recepción [mm] | 0,2000 |
| Origen de datos sin procesar | Siemens-binary V2 (.RAW) |
| Temperatura de medición [°C] | 20,00 |
| Material del ánodo | Cu |
| K-Alfa1 [Å] | 1,54060 |
| K-Alfa2 [Å] | 1,54443 |
| K-Beta [Å] | 1,39225 |
| Relación K-A2/K-A1 | 0,50000 (nominal) |
| Ajustes del generador | 40 mA, 40 kV |
| Tipo de difractómetro | d5000 |
| Número de difractómetro | 0 |
| Radio del goniómetro [mm] | 217,50 |
| Monocromador de haz incidente | No |
| Monocromador de haz difractado | (Grafito) |
| Giro | No |

Modo Capilar

15

El análisis de XRPD en modo capilar se llevó a cabo en un Bruker D8 Advance, con un barrido de las muestras entre 2 y 50° 2-theta. El material se empaquetó en un capilar de 0,7 mm y se analizó en modo de transmisión usando las siguientes condiciones experimentales.

| | |
|-----------------------------------------|-------------------------|
| Origen de datos sin procesar | BRUKER-binary V3 (.RAW) |
| Eje de barrido | Gonio |
| Posición inicial [°2Th.] | 2,0000 |
| Posición final [°2Th.] | 50,0000 |
| Tamaño de paso [°2 Th.] | 0,0800 |
| Tiempo de paso de barrido [s] | 5 |
| Tipo de barrido | Continuo |
| Compensación [°2Th.] | 0,0000 |
| Tipo de rendija de divergencia | Fija |
| Tamaño de la rendija de divergencia [°] | 1,0000 |
| Longitud de la probeta [mm] | 10,00 |

20

(continuación)

| | |
|----------------------------------------|--------------|
| Tamaño de la rendija de recepción [mm] | 0,1000 |
| Temperatura de medición [°C] | 25,00 |
| Material del ánodo | Cu |
| K-Alfal [Å] | 1,54060 |
| K-Alfa2 [Å] | 1,54443 |
| K-Beta [Å] | 1,39225 |
| Relación K-A2/K-A1 | 0,50000 |
| Ajustes del generador | 40 mA, 40 kV |
| Tipo de difractómetro | D8 |
| Número de difractómetro | 0 |
| Radio del goniómetro [mm] | 280,00 |
| Dist. Foco-Diverg. Rendija [mm] | 91,00 |
| Monocromador de haz incidente | No |
| Giro | Sí |

Bruker AXS C2 GADDS

- 5 Los patrones de difracción de rayos X de polvo se recogieron en un difractómetro Bruker AXS C2 GADDS usando radiación Cu K α (40 kV, 40 mA), etapa XYZ automatizada, vídeo microscopio láser para el posicionado automático de la muestra y un detector de área bidimensional HiStar. La óptica de rayos X consiste en un único espejo multicapa Göbel acoplado a un colimador estenopeico de 0,3 mm. Se lleva a cabo una comprobación de rendimiento semanal utilizando un patrón de corindón certificado NIST 1976 (placa plana).
- 10 La divergencia del haz, es decir, el tamaño eficaz del haz de rayos X sobre la muestra, fue de aproximadamente 4 mm. Se empleó un modo de barrido continuo de θ - θ con una distancia de muestra - detector de 20 cm que proporciona un intervalo de 2 θ eficaz de 3,2° - 29,7°. Normalmente, la muestra estaría expuesta al haz de rayos X durante 120 segundos. El programa informático usado para la recogida de datos fue GADDS para WNT 4.1.16 y los datos se analizaron y presentaron usando Diffrac PlusEVA v 9.0.0.2 o v 13.0.0.2.
- 15

Condiciones ambientales

- 20 Las muestras analizadas en condiciones ambientales se prepararon como probetas de placa plana usando polvo tal como se recibió sin moler. Se prensaron suavemente aproximadamente 3-5 mg de la muestra sobre un portaobjetos de vidrio para obtener una superficie plana.

Condiciones no ambientales

- 25 Las muestras analizadas en condiciones no ambientales se montaron sobre una oblea de silicio con compuesto conductor del calor. Posteriormente se calentó la muestra hasta la temperatura adecuada de aproximadamente 10 °C.min⁻¹ y posteriormente se mantuvo de manera isotérmica durante 1 minuto antes de iniciarse la recogida de datos.

Microscopía de luz polarizada (MLP)

- 30 La presencia de birrefringencia se determinó utilizando un microscopio polarizador Olympus BX50, equipado con cámara Motic y software de captura de imágenes (Motic Images Plus 2.0). Todas las imágenes se registraron con un objetivo de 10x o 20x, salvo que se especifique lo contrario.
- 35 Como alternativa, las muestras se estudiaron en un microscopio de luz polarizada Leica LM/DM con una cámara de vídeo digital para la captura de imágenes. Se colocó una pequeña cantidad de cada muestra en un portaobjetos de vidrio, montado en aceite de inmersión y cubierto con una lámina de vidrio, separándose las partículas individuales lo mejor posible. La muestra se observó con el aumento apropiado y luz parcialmente polarizada, acoplado a un filtro de falso color λ .
- 40

Microscopía de platina caliente (HSM)

- 45 La muestra se colocó en una platina caliente THM Linkam y se calentó a una velocidad de 10 °C/min desde temperatura ambiente (aprox. 22 °C) hasta 250 °C. Los eventos térmicos se controlaron visualmente usando un microscopio Olympus BX50, equipado con cámara Motic y software de captura de imágenes (Motic Images Plus 2.0). Todas las imágenes se registraron con un objetivo de 10x, salvo que se especifique lo contrario.

Como alternativa, la microscopía de platina caliente se llevó a cabo utilizando un microscopio de luz polarizada Leica

LM/DM combinado con una platina caliente Mettler-Toledo MTFP82HT y una cámara de vídeo digital para la captura de imágenes. Se colocó una pequeña cantidad de cada muestra en un portaobjetos de vidrio con las partículas individuales separadas lo mejor posible. La muestra se observó con el aumento apropiado y luz parcialmente polarizada, acoplado a un filtro de color falso λ , mientras se calienta desde la temperatura ambiente normalmente a 10-20 °C·min⁻¹ durante 1 minuto).

Análisis termogravimétrico/Térmico diferencial (TG/DTA)

- 10 Aproximadamente, 5 mg de material se pesó en una bandeja de aluminio abierta y se cargaron en un analizador termogravimétrico/térmico diferencial (TG/DTA) simultáneo y se mantuvieron a temperatura ambiente. A continuación, la muestra se calentó a una velocidad de 10 °C/min desde 25 °C hasta 300 °C, tiempo durante el cual se registró el cambio en el peso de la muestra junto con cualquier evento térmico diferencial (DTA). Se usó nitrógeno como gas de purga, a un caudal de 100 cm³/min.
- 15 Como alternativa, Los datos de TGA se recogieron en un dispositivo Mettler TGA/SDTA 851e equipado con un automuestreador de 34 posiciones. Se calibró la temperatura del instrumento usando indio certificado. Normalmente, se cargaron 5-10 mg de cada muestra en un crisol de aluminio pesado previamente y se calentó a 10 °C/min⁻¹ desde temperatura ambiente hasta 350 °C. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 50 ml/min⁻¹ sobre la muestra.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

- 20 Aproximadamente, se pesaron 5 mg de material en una bandeja DSC de aluminio y se selló de forma no hermética con una tapa de aluminio perforada. A continuación, se cargó el plato de muestra en un Seiko DSC6200 (equipado con un enfriador) enfriado y mantenido a 25 °C. Una vez que se obtuvo una respuesta de flujo de calor estable, la muestra y la referencia se calentaron a 280 °C a una velocidad de barrido de 10 °C/min y se controló la respuesta del flujo de calor resultante.
- 25 Como alternativa, los datos de DSC se recogieron en un dispositivo Mettler DSC 823e equipado con un automuestreador de 34 posiciones. Se calibró la energía y temperatura del instrumento usando indio certificado.
- 30 Normalmente se calentaron 0,5-2 mg de cada muestra, en una bandeja de aluminio perforada, se calentó a 10 °C·min⁻¹ desde 25 °C hasta 350 °C. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 50 ml·min⁻¹ sobre la muestra.
- 35 Como alternativa, los datos de DSC modulados se recogieron en un dispositivo TA Instruments Q2000 equipado con un automuestreador de 50 posiciones. La calibración de la capacidad térmica se realizó con zafiro y la calibración de energía y temperatura con indio certificado. La DSC de temperatura modulada se llevó a cabo usando una tasa de calentamiento subyacente de 2 °C·min⁻¹ y parámetros de modulación de temperatura de ± 1,27 °C·min⁻¹ y 60 segundos.

Valoración culombimétrica de Karl Fischer (KF)

- 40 Inicialmente, se analizó mediante KF (Mettler Toledo C30 Compact Titrator) una muestra en blanco que solo contenía metanol para determinar el contenido de agua en blanco antes del análisis de la muestra. Se pesaron con precisión aproximadamente 10-15 mg de material sólido en un vial. A continuación, el material se disolvió en metanol y se registró la cantidad añadida. A continuación, el resultante se introdujo manualmente en la celda de valoración de un Mettler Toledo C30 Compact Titrator. El contenido de agua se calculó como un porcentaje y se imprimieron los datos.

Sorción dinámica de vapor (DVS)

- 45 Se colocaron aproximadamente 10 mg de muestra en una bandeja de balanza de sorción de vapor de malla y se cargaron en una balanza de sorción de vapor dinámica DVS-1 mediante Surface Measurement Systems. La muestra se sometió a un perfil de rampa de 20 - 90 % de humedad relativa (HR) en incrementos de 10 %, manteniendo la muestra en cada escalón hasta lograr un peso estable (99,5 % de finalización del escalón). Después de completar el ciclo de sorción, la muestra se secó usando el mismo procedimiento desde 90 - 0 % HR, y finalmente se llevó de nuevo al punto inicial de 20 % HR. Se representó gráficamente el cambio de peso durante los ciclos de sorción/desorción, permitiendo determinar la naturaleza higroscópica de la muestra.

Sorción de vapor gravimétrica (GVS)

- 50 Se obtuvieron isotermas de sorción usando un analizador de sorción de humedad SMS DVS Intrinsic, controlado por el software DVS Intrinsic Control v1.0.0.30. La temperatura de la muestra se mantuvo a 25 °C mediante los controles del instrumento. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo, con un caudal total de 200 ml·min⁻¹. La humedad relativa se midió con una sonda Rotronic calibrada (intervalo dinámico de 1,0-100 % HR), ubicada cerca de la muestra. El cambio de peso, (relajación de la masa) de la muestra en función del % de HR se controló de manera constante mediante el microequilibrio (precisión ± 0,005 mg). Se colocaron normalmente 5-20 mg de muestra en una canasta de malla de acero inoxidable tarada en condiciones ambientales. La muestra se cargó y descargó a un 40 % HR y 25 °C (condiciones ambientales típicas). Se elaboró una isoterma de sorción de humedad como se indica a continuación (2 barridos proporcionaron 1 ciclo completo). La isoterma patrón se realizó a 25 °C a

intervalos del 10 % HR en un intervalo de 0 - 90 % HR. El análisis de datos se realizó en Microsoft Excel utilizando el paquete DVS Analysis Suite v6.0.0.7.

Tabla 1: Parámetros del método para los experimentos intrínsecos de SMS DVS

| Parámetros | Valores |
|-------------------------------------|-----------------------------|
| Adsorción - Barrido 1 | 40-90 |
| Desorción/Adsorción - Barrido 2 | 90 - 0, 0 - 40 |
| Intervalos (% HR) | 10 |
| Número de barridos | 2 |
| Caudal (ml.min ⁻¹) | 200 |
| Temperatura (°C) | 25 |
| Estabilidad (°C.min ⁻¹) | 0,2 |
| Tiempo de sorción (horas) | Límite de tiempo de 6 horas |

5

Resonancia magnética nuclear de ¹H (RMN de ¹H)

Los experimentos de RMN¹H se realizaron en un Bruker AV400 (frecuencia: 400 MHz). Los experimentos se realizaron en un disolvente apropiado y cada muestra se preparó hasta una concentración de aproximadamente 10 mM.

10

Mediciones de reflectancia de haz enfocado (FBRM)

Las mediciones de reflectancia de haz enfocado se llevaron a cabo utilizando una sonda Mettler Toledo D600. Para cada cristalización, la sonda se colocó en el recipiente de reacción apropiado al comienzo de la cristalización y se controló la nucleación y el crecimiento de los cristales. Se controlaron en todo momento las distribuciones de longitud de cuerda y varias estadísticas de conteo.

15

Espectroscopía infrarroja (IR)

La espectroscopía infrarroja se llevó a cabo en un espectrómetro Bruker ALPHA P. Se colocó suficiente material en el centro de la placa del espectrómetro y los espectros se obtuvieron utilizando los siguientes parámetros:

| | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| Resolución: | 4 cm ⁻¹ |
| Tiempo de barrido de fondo: | 16 barridos |
| Tiempo de barrido de la muestra: | 16 barridos |
| Recogida da datos: | 4000 a 400 cm ⁻¹ |
| Espectro de resultados: | Transmitancia |
| Software: | OPUS versión 6 |

25

Cromatografía iónica

Se pesaron muestras de 10 mg, se diluyeron en 5 ml de agua (o agua:metanol {4 %}) y a continuación se analizó el contenido de cloruro utilizando las siguientes condiciones experimentales:

| | |
|----------------------------|---------------------------------------------|
| Instrumento: | Sistema de cromatografía Dionex |
| Columna: | Dionex IonPac AS14A-5 µm, 3 x 150 mm |
| Precolumna: | Dionex IonPac AG14A-5µm, 3 x 30 mm |
| Fase móvil: | Hidróxido de potasio 15 mM |
| Caudal: | 0,6 ml/min |
| Tiempo de ejecución: | 25 minutos |
| Supresión del detector: | 50 mA, agua regenerante según sea necesario |
| Temperatura de la columna: | 30 °C |
| Volumen de inyección: | 25 µl |

30

Cromatografía líquida de alta resolución-detección ultravioleta (HPLC-UV)

La pureza se determinó diluyendo primero las muestras en acetonitrilo:agua (50 %) a 100 mg/ml; la solubilidad se

ES 2 935 818 T3

determinó diluyendo 100 µl de solución saturada en 900 µl de acetonitrilo:agua (50 %). A continuación, las muestras se analizaron utilizando las siguientes condiciones experimentales:

Ajuste 1:

5

| | |
|----------------------------------|-----------------------------------------|
| Instrumento: | Agilent 1100 |
| Columna: | Phenomenex Luna C18 5µ 150x4,6mm LC/031 |
| Temperatura de la columna: | 25 °C |
| Temperatura del automuestreador: | 20 °C |
| Longitud de onda UV: | 255 nm |
| Volumen de inyección: | 5 µl |
| Caudal: | 1 ml/min |
| Fase móvil A: | TFA al 0,1 % |
| Fase móvil B: | TFA al 0,085 % en acetonitrilo |

| Tiempo (minutos) | Disolvente B [%] |
|------------------|------------------|
| 0 | 5 |
| 45 | 95 |
| 55 | 95 |
| 55,1 | 5 |
| 60 | 5 |

Ajuste 2:

| | |
|----------------------------------|----------------------------------------------|
| Instrumento: | Agilent 1100 |
| Columna: | Phenomenex Luna C18 5µ 150x4,6mm LC/031 |
| Temperatura de la columna: | 25 °C |
| Temperatura del automuestreador: | Ambiente |
| Longitud de onda UV: | 280 nm |
| Volumen de inyección: | 5 µl |
| Caudal: | 1 ml/min |
| Fase móvil A: | 95:5:01 % v/v/v H ₂ O:Metanol:TFA |
| Fase móvil B: | 95:5:01 % v/v/v Metanol:H ₂ O:TFA |

| Programa de gradiente: | Tiempo (minutos) | Disolvente A [%] | Disolvente B [%] |
|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 0,0 | 90 | 10 |
| | 8,0 | 65 | 35 |
| | 10,0 | 30 | 70 |
| | 24,0 | 20 | 80 |
| | 30,0 | 5 | 95 |
| | 35,0 | 0 | 100 |
| | 35,1 | 90 | 10 |
| | 40,0 | 90 | 10 |

10 Difracción de rayos X de monocrystal (SCXRD)

Los datos se recogieron en una fuente Oxford Diffraction SuperNova Dual, Cu a cero, difractómetro Atlas CCD equipado con un dispositivo de refrigeración Oxford Cryosystems Cobra. Los datos se recogieron usando radiación CuKa. Las estructuras normalmente se resolvieron utilizando los programas SHELXS o SHELXD y se refinaron con el programa SHELXL como parte de la suite Bruker AXS SHELXTL. Salvo que se especifique lo contrario, los átomos de hidrógeno unidos al carbono se colocaron geométricamente y se permitió su refinado con un parámetro de desplazamiento isotrópico encabalgado. Los átomos de hidrógeno unidos a un heteroátomo se localizaron en una síntesis de diferencias de Fourier y se dejaron refinar libremente con un parámetro de desplazamiento isotrópico.

15 20

Solubilidad acuosa termodinámica

La solubilidad acuosa termodinámica se determinó suspendiendo una cantidad suficiente de compuesto en agua para proporcionar una concentración final máxima de $\geq 10 \text{ mg.ml}^{-1}$ de la forma libre parental del compuesto. La suspensión se equilibró a 25 °C durante 24 horas y después se midió el pH. A continuación, la suspensión se filtró a través de un

- 5 filtro C de fibra de vidrio en una placa de 96 pocillos. A continuación, el filtrado se diluyó por un factor de 101. La cuantificación se realizó mediante HPLC con referencia a una solución patrón de aproximadamente 0,1 mg.ml^{-1} en DMSO. Se injectaron diferentes volúmenes de las soluciones de muestra patrón, diluidas y no diluidas. La solubilidad se calculó usando las áreas de pico determinadas mediante la integración del pico encontrado en el mismo tiempo de retención que el pico principal en la inyección de patrón.

10 **Composiciones farmacéuticas**

La presente solicitud también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden la forma sólida del Compuesto A de la invención en combinación con al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 15 Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene el compuesto de la presente solicitud en una forma adecuada para la administración a un sujeto. En una realización, la composición farmacéutica está a granel o en forma farmacéutica unitaria. La forma farmacéutica unitaria es cualquiera de varias formas, incluidas, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, un comprimido, una sola bomba en un inhalador de aerosol o un vial. La cantidad de principio activo (p. ej., una formulación de uno o más de los compuestos divulgados) en una dosis unitaria de composición es una cantidad eficaz y varía según el tratamiento particular implicado. Un experto en la materia apreciará que, a veces, es necesario realizar variaciones rutinarias de la dosis dependiendo de la edad y del estado del paciente. La dosis también dependerá de la vía de administración. Se contempla varias vías, incluyendo la vía oral, pulmonar, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, inhalatoria, bucal, sublingual, 20 intrapleural, intratecal, intranasal y similares. Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente divulgación incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. En una realización, el compuesto activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propulsor que se requiera.
- 25

- 30 Como se utiliza en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a esos compuestos, materiales, composiciones, vehículos y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, en línea con una relación beneficio-riesgo razonable.

- 35 "Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni biológicamente, ni de otro modo, indeseable, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario, así como para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones, incluye tanto un excipiente como más de uno de dichos excipientes.

- 40 Una composición farmacéutica de la presente solicitud se formula para que sea compatible con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen la administración parenteral, p. ej., intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (p. ej., inhalación), transdérmica (tópica) y transmucosa. Las soluciones o suspensiones usadas para la administración parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyectables, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede estar contenida en ampollas, jeringas desechables o viales multidosis hechos de vidrio o plástico.

- 55 Se puede administrar un compuesto o una composición farmacéutica de la presente solicitud a un sujeto en muchos de los métodos bien conocidos que se utilizan actualmente para el tratamiento quimioterapéutico. Por ejemplo, para el tratamiento de cánceres, se puede inyectar un compuesto de la presente solicitud directamente en los tumores, inyectar en el torrente sanguíneo o en las cavidades corporales, o por vía oral o aplicarse a través de la piel con parches. La dosis seleccionada debe ser suficiente para constituir un tratamiento eficaz, pero no tan alta como para provocar efectos secundarios inaceptables. El estado de la enfermedad (p. ej., cáncer, precáncer, y similares) y la salud del paciente preferentemente debe controlarse de cerca durante el tratamiento y por un período razonable 60 después del tratamiento.

- 65 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección identificada, o presentar un efecto terapéutico o inhibidor detectable. El efecto puede detectarse por cualquier método de ensayo conocido en la técnica. La cantidad eficaz exacta para un sujeto dependerá del peso corporal del sujeto, del tamaño y de la salud; de la naturaleza y de la duración de la afección; y del agente terapéutico o combinación de agentes terapéuticos

seleccionados para su administración. Las cantidades terapéuticamente eficaces para una situación dada se pueden determinar mediante una experimentación rutinaria que se encuentra dentro de la habilidad y el criterio del médico. La enfermedad o afección que se va a tratar es cáncer.

- 5 Para cualquier compuesto, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular, p. ej., de células neoplásicas, o en modelos animales, generalmente ratas, ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo animal también puede utilizarse para determinar el intervalo de concentración y la vía de administración apropiados. Dicha información se puede usar a continuación para determinar las dosis útiles y las vías de administración en seres humanos. La toxicidad y la eficacia terapéutica/profiláctica se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, p. ej., la DE₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50 % de la población) y la DL₅₀ (la dosis letal para el 50 % de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la proporción, DL₅₀/DE₅₀. Se prefieren las composiciones farmacéuticas que presentan índices terapéuticos elevados. La dosificación puede variar dentro de este intervalo, dependiendo de la forma farmacéutica empleada, la sensibilidad del paciente y la vía de administración.

La dosificación y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes del agente o agentes activos o para mantener el efecto deseado. Los factores que se pueden tener en cuenta incluyen la gravedad del estado patológico, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el sexo del sujeto, la dieta, el momento y la frecuencia de administración, la(s) combinación(es) de fármacos, las sensibilidades de reacción y la tolerancia/respuesta a la terapia. Las composiciones farmacéuticas de acción prolongada se pueden administrar cada 3 a 4 días, cada semana, o una vez cada dos semanas, dependiendo de la semivida y de la tasa de eliminación de la formulación en particular.

- 25 Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos activos de la presente solicitud se pueden fabricar de una manera generalmente conocida, p. ej., por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsionado, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de manera convencional utilizando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y/o adyuvantes que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. Por supuesto, la formulación apropiada depende de la vía de administración seleccionada.

30 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles (en los casos donde sean hidrosolubles) y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición ha de ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que pueda inyectarse fácilmente. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y conservación y ha de preservarse frente a la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El transportador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. Puede lograrse la prevención de la acción de microorganismos mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, se preferirá incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro sódico en la composición. Puede lograrse la absorción prolongada de las composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

- 40 Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad necesaria en un disolvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son secado al vacío y liofilización, que proporcionan un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución de los mismos previamente esterilizada por filtración.

45 Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible farmacéuticamente aceptable. Pueden atraparse en cápsulas de gelatina o compactarse formando comprimidos. Con el fin de la administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y utilizarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. Las composiciones orales también pueden prepararse utilizando un vehículo líquido para usar como enjuague bucal, en donde el compuesto en el fluido líquido se aplica por vía oral y se usa como enjuague, y se expectora o ingiere. Pueden incluirse como parte de la composición agentes aglutinantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tales como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente

disgregante tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tales como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.

- 5 Para la administración por inhalación, los compuestos se administran en forma de pulverización en aerosol desde un recipiente o dispensador presurizado, que contiene un propulsor adecuado, p. ej., un gas, tal como dióxido de carbono o un nebulizador.
- 10 La administración sistémica también puede ser por medios transmucosos o transdérmicos. Para la administración transmucosa o transdérmica, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a permear. Dichos penetrantes se conocen generalmente en la materia, e incluyen, por ejemplo, para la administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico. La administración transmucosa puede realizarse mediante el uso de pulverizaciones nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formula en pomadas, bálsamos, geles o cremas, como se conoce generalmente en la materia.
- 15
- 15 Los compuestos activos se pueden preparar con vehículos farmacéuticamente aceptables que protegerán al compuesto contra la rápida eliminación del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para preparar dichas formulaciones serán evidentes para aquellos expertos en la materia. Los materiales también pueden obtenerse en el mercado a través de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También se pueden utilizar como vehículos farmacéuticamente aceptables suspensión liposomales (que incluyen liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos víricos). Estos se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.522.811.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones orales o parenterales en una forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma farmacéutica unitaria utilizada en el presente documento se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosis unitarias para el sujeto que se va a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico necesario. La especificación de las formas farmacéuticas unitarias de la divulgación está dictada y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y del efecto terapéutico particular que se desee lograr.

- 30
- 35 En aplicaciones terapéuticas, las dosis de las composiciones farmacéuticas utilizadas de acuerdo con la divulgación varían según el agente, la edad, el peso y la condición clínica del paciente receptor, así como la experiencia y el juicio del profesional sanitario o el médico que administre la terapia, entre otros factores que afectan a la dosificación seleccionada. En general, la dosis debe ser suficiente para provocar una desaceleración y preferentemente una regresión, del crecimiento de los tumores y también para provocar preferentemente la regresión completa del cáncer.
- 40 Las dosificaciones pueden variar de aproximadamente 0,01 mg/kg al día a aproximadamente 5000 mg/kg al día. Una cantidad eficaz de un agente farmacéutico es aquella que proporciona una mejora objetivamente identificable según lo observado por el médico u otro observador cualificado. Por ejemplo, la regresión de un tumor en un paciente puede medirse con referencia al diámetro de un tumor. La disminución del diámetro de un tumor indica regresión. La regresión también está indicada por el hecho de que los tumores no reaparezcan una vez detenido el tratamiento. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "manera de dosificación eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto activo para producir el efecto biológico deseado en un sujeto o una célula.

45

50 Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para su administración.

- 55
- 55 Los compuestos de la presente solicitud se administran por vía oral, nasal, transdérmica, pulmonar, inhalatoria, bucal, sublingual, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intravenosa, rectal, intrapleural, intratecal y parenteral. En una realización, el compuesto se administra por vía oral. Un experto en la materia reconocerá las ventajas de determinadas vías de administración.

60

La pauta posológica que utiliza los compuestos se selecciona de acuerdo con diversos factores que incluyen el tipo, la especie, la edad, el peso, el sexo y la condición médica del paciente; la gravedad de la afección a tratar; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto particular empleado. Un médico o veterinario experto habitual en la materia puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de fármaco necesaria para prevenir, contrarrestar o detener la evolución de la afección.

- 65
- 65 Las técnicas para la formulación y administración de los compuestos divulgados de la divulgación se pueden encontrar en Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19.^a edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). En una realización, los compuestos descritos en el presente documento, se utilizan en preparaciones farmacéuticas en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen cargas o diluyentes sólidos inertes y soluciones acuosas u orgánicas estériles. Los compuestos

estarán presentes en dichas composiciones farmacéuticas en cantidades suficientes para proporcionar la cantidad de dosificación deseada en el intervalo descrito en el presente documento.

5 Todos los porcentajes y proporciones utilizados en el presente documento, a menos que se indique de otro modo, están en peso. Otras características y ventajas de la presente solicitud son evidentes a partir de los diferentes ejemplos. Los ejemplos proporcionados ilustran diferentes componentes y metodología útiles en la práctica de la presente solicitud. Los ejemplos no limitan la presente solicitud. Basándose en la presente solicitud, el experto en la materia puede identificar y emplear otros componentes y metodología útiles para poner en práctica la presente solicitud.

10 Métodos de tratamiento

La presente solicitud proporciona la forma sólida del Compuesto A de la invención para su uso en métodos para el tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma sólida de la presente solicitud.

Como se utiliza en el presente documento, un "sujeto que lo necesita" es un sujeto que tiene cáncer. Un "sujeto" es un ser humano.

20 El término "cáncer" incluye tumores sólidos, así como, tumores hematológicos y/o neoplasias malignas. Una "célula de cáncer" o "célula cancerosa" es una célula que manifiesta un trastorno de proliferación celular que es un cáncer.

Los cánceres ilustrativos incluyen, pero sin limitación, carcinoma corticosuprarrenal, cánceres relacionados con SIDA, linfoma relacionado con SIDA, cáncer anal, cáncer anorrectal, cáncer del canal anal, cáncer del apéndice, astrocitoma cerebeloso infantil, astrocitoma cerebral infantil, carcinoma de células basales, cáncer de piel (no melanoma), cáncer biliar, cáncer del conducto biliar extrahepático, cáncer del conducto biliar intrahepático, cáncer de vejiga, cáncer de vejiga urinaria, cáncer óseo y articular, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno, cáncer de cerebro, tumor cerebral, glioma del tronco encefálico, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral/glioma maligno, ependimoma, meduloblastoma, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, glioma de la vía óptica e hipotalámico, 25 cáncer de mama, adenomas bronquiales/carcinoides, tumor carciñoide, gastrointestinal, cáncer del sistema nervioso, linfoma del sistema nervioso, cáncer del sistema nervioso central, linfoma del sistema nervioso central, cáncer de cuello del útero, cánceres en la infancia, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, trastornos crónicos 30 mieloproliferativos, cáncer de colon, cáncer colorrectal, linfoma cutáneo de linfocitos T, neoplasia linfoide, micosis fungoide, síndrome de Sézary, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, tumor de células germinales extracraneales, 35 tumor de células germinales extragonadales, cáncer del conducto biliar extrahepático, cáncer de ojo, melanoma intraocular, retinoblastoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carciñoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal (GIST), tumor de células germinales, tumor de células germinales ováricas, glioma tumoral trofoblástico gestacional, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular (hígado), linfoma de Hodgkin, 40 cáncer hipofaríngeo, melanoma intraocular, cáncer ocular, tumores de células de los islotes (páncreas endocrino), sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer laríngeo, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, tricoleucemia, cáncer de labios y de la cavidad oral, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, linfoma relacionado con SIDA, linfoma no Hodgkin, linfoma primario del sistema nervioso central, 45 macroglobulinemia de Waldenström, meduloblastoma, melanoma, melanoma intraocular (ojo), carcinoma de células de Merkel, mesotelioma maligno, mesotelioma, cáncer de cuello escamoso metastásico, cáncer de boca, cáncer de lengua, síndrome múltiple de neoplasia endocrina, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena crónica, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, trastornos crónicos mieloproliferativos, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer oral, cáncer de la cavidad oral, cáncer orofaríngeo, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, tumor ovárico de bajo potencial maligno, cáncer de 50 páncreas, cáncer pancreático de células de los islotes, cáncer del seno paranasal y de la cavidad nasal, cáncer paratiroides, cáncer de pene, cáncer faríngeo, feocromocitoma, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor de la pituitaria, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, cáncer de próstata, cáncer rectal, pelvis renal y uréter, cáncer de células transicionales, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de las glándulas salivales, familia de tumores de sarcoma de Ewing, 55 sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de útero, sarcoma uterino, cáncer de piel (no melanoma), cáncer de piel (melanoma), carcinoma de piel de células de Merkel, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas, cáncer de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, cáncer testicular, cáncer de garganta, timoma, timoma y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, cáncer de células transicionales de la pelvis renal y uréter y otros órganos urinarios, tumor trofoblástico gestacional, cáncer de uretra, cáncer de endometrio uterino, sarcoma uterino, sarcoma del cuerpo uterino, cáncer de vagina, cáncer de la vulva y tumor de Wilm.

Como se utiliza en el presente documento, el término "tratamiento" o "tratar" describe el manejo y cuidado de un paciente con el propósito de combatir una enfermedad, afección o trastorno, e incluye la administración de un compuesto de la presente solicitud para aliviar los síntomas o complicaciones de una enfermedad, afección o trastorno, o para eliminar la enfermedad, afección o trastorno.

Como se utiliza en el presente documento, "que previene" o "prevenir" describe la reducción o eliminación de la aparición de los síntomas o las complicaciones de la enfermedad, afección o trastorno.

- 5 Como se utiliza en el presente documento, el término "aliviar" pretende describir un proceso mediante el cual se reduce la gravedad de un signo o síntoma de un trastorno. Es importante destacar que, un signo o síntoma puede aliviarse sin eliminarse. En una realización preferida, la administración de un compuesto de la presente solicitud conduce a la eliminación de un signo o síntoma, sin embargo, no se requiere eliminación. Se espera que las dosis efectivas reduzcan la gravedad de un signo o síntoma. Por ejemplo, un signo o síntoma de un trastorno como el cáncer, que 10 puede ocurrir en múltiples lugares, se alivia si la gravedad del cáncer disminuye en al menos uno de varios lugares.

Como se utiliza en el presente documento, el término "síntoma" se define como una indicación de enfermedad, dolencia, lesión, o que algo no está bien en el cuerpo. Los síntomas son sentidos o notados por el individuo que experimenta el síntoma, pero es posible que otros no lo noten fácilmente.

- 15 Como se utiliza en el presente documento, el término "signo" también se define como una indicación de que algo no está bien en el cuerpo. Sin embargo, los signos se definen como cosas que puede ver un médico, enfermera u otro profesional de la salud.

20 Ejemplos

Ejemplo 1: Cribado de hidratación de las formas sólidas de la presente solicitud

- El cribado de hidratación se realizó utilizando un intervalo de temperatura que emulaba las condiciones de temperatura empleadas durante el proceso de cristalización. El disolvente utilizado y los resultados se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2: Resumen del cribado de hidratación realizado en acetona, 2-propanol y acetonitrilo a 10 °C, 25 °C y 50 °C

| | | Acetona | | 2-Propanol | | | | Acetonitrilo | | | |
|---------------|-----------------------|--------------------|----------------------|---------------|-----------------------|--------------------|----------------------|---------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| Temp. (°C) | Actividad del agua | Suspensión fina | Suspensión espesa | Temp. (°C) | Actividad del agua | Suspensión fina | Suspensión espesa | Temp. (°C) | Actividad del agua | Suspensión fina | Suspensión espesa |
| 10 | 0,10 | Forma D | Forma D | 10 | 0,20 | Forma D | Forma D | 10 | 0,11 | Forma D | Forma D |
| | 0,20 | Forma D | Forma D | | 0,40 | Forma D | Forma D | | 0,24 | Forma D | Forma D |
| | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|------|---------|---------|------|---------|---------|---------|------|---------|---------|---------|
| 0,30 | Forma D | Forma D | 0,52 | Forma D | Forma D | Forma D | 0,40 | Forma D | Forma D | |
| | Forma D | Forma D | | 0,60 | Forma D | Forma D | | 0,59 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,70 | Forma D | Forma D | | 0,69 | Forma D | Forma D |
| | Forma G | Forma D | | 0,91 | Forma D | Forma D | | 0,89 | Forma G | Forma D |
| 0,50 | Forma D | Forma D | 0,20 | Forma D | Forma D | Forma D | 0,11 | Forma D | Forma D | |
| | Forma D | Forma D | | 0,35 | Forma D | Forma D | | 0,23 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,53 | Forma D | Forma D | | 0,39 | Forma D | Amorfa |
| | Forma D | Forma D | | 0,60 | Forma D | Forma D | | 0,57 | Forma D | Amorfa |
| | Forma D | Forma D | | 0,70 | Forma D | Forma D | | 0,72 | Forma D | Forma D |
| | Forma G | Forma D | | 0,91 | Forma G | Forma G | | 0,90 | Forma G | Forma D |
| 0,70 | Forma D | Forma D | 0,29 | Forma A | Forma D | Forma A | 0,10 | Forma A | Forma D | |
| | Forma D | Forma D | | 0,51 | Forma D | Forma D | | 0,21 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,60 | Forma D | Forma D | | 0,36 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,71 | Forma G | Forma G | | 0,53 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,91 | Forma G | Forma G | | 0,73 | Forma D | Forma D |
| | | | | | | | | 0,90 | Forma D | Forma D |
| 0,90 | Forma D | Forma D | 0,51 | Forma A | Forma D | Forma A | 0,21 | Forma A | Forma D | |
| | Forma D | Forma D | | 0,60 | Forma D | Forma D | | 0,36 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,71 | Forma G | Forma G | | 0,53 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,91 | Forma G | Forma G | | 0,73 | Forma D | Forma D |
| | | | | | | | | 0,90 | Forma D | Forma D |
| | | | | | | | | | | |
| 25 | Forma D | Forma D | 0,35 | Forma D | Forma D | Forma D | 0,23 | Forma D | Forma D | |
| | Forma D | Forma D | | 0,53 | Forma D | Forma D | | 0,39 | Forma D | Amorfa |
| | Forma D | Forma D | | 0,60 | Forma D | Forma D | | 0,57 | Forma D | Amorfa |
| | Forma D | Forma D | | 0,70 | Forma D | Forma D | | 0,72 | Forma D | Forma D |
| | Forma G | Forma D | | 0,91 | Forma G | Forma G | | 0,90 | Forma G | Forma D |
| | | | | | | | | | | |
| 50 | Forma D | Forma D | 0,51 | Forma A | Forma D | Forma A | 0,10 | Forma A | Forma D | |
| | Forma D | Forma D | | 0,60 | Forma D | Forma D | | 0,21 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,71 | Forma G | Forma G | | 0,36 | Forma D | Forma D |
| | Forma D | Forma D | | 0,91 | Forma G | Forma G | | 0,53 | Forma D | Forma D |
| | | | | | | | | 0,73 | Forma D | Forma D |
| | | | | | | | | 0,90 | Forma D | Forma D |

- 30 Ejemplo 2: Preparación y caracterización de una forma amorfa del Compuesto A (Ejemplo de referencia)

Se pesaron aproximadamente 4 g del Compuesto A en un recipiente y se disolvieron en aproximadamente 50 ml de agua desionizada. La solución resultante se colocó a aproximadamente -20 °C hasta la congelación completa y a continuación se llevó a un liofilizador durante un mínimo de 24 h. El material sólido resultante se analizó mediante PLM y XRPD. La XRPD de la forma amorfa se muestra en la Figura 1.

Se llevó a cabo un análisis DSC modulado de la forma amorfa para determinar la temperatura de transición vítreo (T_g). La temperatura de transición vítreo de un material amorfo es la temperatura a la que las moléculas y los átomos de este material se relajan y adquieren un grado de movilidad que les permitirá cristalizar. Por debajo de esta temperatura de transición vítreo, el material permanecerá amorfo y no se producirá la cristalización. La transición vítreo se observó como un escalón en el termograma de flujo de calor reversible debido a un cambio en la capacidad calorífica del material (que se muestra en la Figura 2). Para el compuesto A, la temperatura de transición vítreo se estableció en 102 °C.

La forma amorfa se conservó en la cámara de humedad a 40 °C y 75 % HR. Como se muestra en la XRPD en la Figura 3, después de 6 días, la forma amorfa se convirtió en una forma cristalina que tenía un patrón de XRPD similar al de la forma F.

Ejemplo 3: Preparación y caracterización de la Forma A (Ejemplo de referencia)

Preparación a escala de 100 mg

Se suspendieron aproximadamente 100 mg del Compuesto A amorfo a 50 °C en 1,66 ml de cada uno de los sistemas de disolventes enumerados en la Tabla 3. A continuación, las suspensiones se sometieron a ciclos de temperatura con agitación continua en ciclos de 4 horas durante un período de aproximadamente 72 horas (las suspensiones se mantuvieron a 50 °C durante 4 horas seguido de una retención a temperatura ambiente durante 4 horas, las tasas de enfriamiento/calentamiento después de los períodos de espera de 4 horas fueron de aproximadamente 1 °C/min). A continuación, se recuperó el material sólido y se dejó secar en condiciones ambientales antes del análisis por XRPD.

Tabla 3: Forma A Disolventes del aumento de escala

| Disolvente | Clase de disolvente |
|-------------|---------------------|
| Acetona | 3 |
| 1,4-Dioxano | |
| Etanol | 3 |

Preparación a escala de 500 mg

Aproximadamente 500 mg del Compuesto A amorfo se suspendieron a 50 °C en 8,4 ml de etanol y a continuación se sometieron a ciclos de temperatura, con continua agitación, en ciclos de 4 horas durante un período de aproximadamente 72 horas (las suspensiones se mantuvieron a 50 °C durante 4 horas seguido de una retención a temperatura ambiente durante 4 horas, las tasas de enfriamiento/calentamiento después de los períodos de espera de 4 horas fueron de aproximadamente 1 °C/min). A continuación, el material sólido se recuperó por filtración y se dejó secar en condiciones ambientales antes del análisis por XRPD, KF, TG/DTA e IC.

Caracterización

La XRPD de la Forma A se muestra en la Figura 5. El análisis térmico por TGA (Figura 6A) mostró tres pérdidas de peso de 1,38 % entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 60 °C, 1,49 % entre aproximadamente 60 °C y 110 °C y 2,23 % entre 110 °C y 170 °C, posiblemente debido a varias etapas de hidratación y disolvente no unido, ya que 1 mol equivalente de agua es aproximadamente 3,3 %. El análisis térmico por DTA (Figura 6A) mostró tres endotermas correspondientes a las pérdidas de peso con inicio a 39,6 °C (pico a aproximadamente 52 °C), 72,2 °C (pico a aproximadamente 87 °C) y 142,8 °C (pico a aproximadamente 163 °C). Se observa una cuarta endotermia más pequeña y aguda con un inicio a 111,7 °C (máximo 114 °C). La valoración culombimétrica KF midió el contenido de agua en aproximadamente un 9 % ($\pm 0,5\%$), que es superior a la pérdida de peso del 5,2 % observada por TG/DTA y sugiere que la Forma A puede ser higroscópica. La cromatografía iónica indicó que la proporción entre HCl y la base libre era de aproximadamente 1,8:1.

La forma A se almacenó a 40 °C/75 % HR y 25 °C/96 % HR durante una semana y se analizó por XRPD. En ambos casos, el patrón cristalino se mantuvo sin cambios, como se muestra en la Figura 4A o 4B.

El análisis TGA y DSC adicional de la Forma A confirmó que la Forma A presentaba un comportamiento térmico complejo. Se observaron cuatro pérdidas de peso en el termograma TGA entre temperatura ambiente y 240 °C. Cada una de estas pérdidas de peso se asoció con al menos un evento endotérmico en el termograma DSC. La forma de

algunos de estos eventos sugirió que se había producido simultáneamente más de una transformación (Figura 6B).

Cuando se trata a temperatura creciente, la forma A se convierte en la Forma E, como lo demuestran los experimentos XRPD de temperatura variable (VT) (Figura 7). La Forma E volvió a la Forma A en condiciones ambientales (Figura 8). La presencia de agua en la estructura cristalina de la Forma A se confirmó mediante la determinación de agua de Karl-Fischer (4,03 % p/p - promedio de tres mediciones).

Como se muestra en un experimento de GVS, la forma A mostró una higroscopidad moderada entre 0 y 70 % HR a 25 °C (~2,5 % p/p), pero se observó un aumento significativo en la absorción de agua entre 70 y 90 % HR a 25 °C (~5 % p/p). La absorción de agua observada fue reversible con histéresis evidente en la desorción. Este fenómeno se asocia comúnmente con la presencia de mesoporosidad. Asimismo, no se observaron cambios significativos en el patrón cristalino de la muestra después del experimento de GVS (Figura 9). Sin embargo, la alta absorción de agua al 90 % HR sugirió la existencia de una forma hidratada metaestable que no se pudo aislar en condiciones ambientales.

También se midió la solubilidad acuosa termodinámica. La muestra se disolvió completamente en agua a temperatura ambiente (>20 mg/ml) pero se formó un gel muy difícil de manejar, produciendo un valor de solubilidad acuosa termodinámica inesperadamente bajo (1,09 mg/ml).

Ejemplo 4: Preparación y caracterización de la Forma C (Ejemplo de referencia)

La Forma C se obtuvo por evaporación/cristalización lenta en DMSO. El análisis XRPD de la Forma C se muestra en la Figura 10. El termograma TGA de la Forma C mostró una pérdida de peso inicial probablemente debido al DMSO residual no unido (Figura 11). La segunda pérdida de peso, que está asociada a una gran endotermita en el experimento DSC y que ocurrió justo antes de que comenzara la degradación, fue posible debido al disolvente en la estructura cristalina (Figura 11). El espectro de RMN de H¹ de la Forma C calentada a 100 °C confirmó que el disolvente era DMSO (0,5 mol de DMSO por mol de PA).

El análisis VT-XRPD se llevó a cabo en la Forma C. Como se muestra en la Figura 12, se observó un aumento en la cristalinidad a medida que la muestra se calentaba desde temperatura ambiente hasta 75 °C y más. Se pensó que esto se debía a la eliminación del DMSO residual no unido que se produce tras el calentamiento. A 150 °C, el material se volvió amorfó (posiblemente desolvatación seguida de degradación).

Ejemplo 5: Preparación y caracterización de la Forma D

Preparación y caracterización a escala de 600 mg

Se suspendieron aproximadamente 600 mg del Compuesto A amorfó a temperatura ambiente, aproximadamente 22 °C en 7,14 ml de acetona:agua (W_A = 0,4) con agitación continua durante un período de aproximadamente 6 días. A continuación, se recuperó el material sólido y se dejó secar en condiciones ambientales antes del análisis.

La XRPD de la Forma D se muestra en la Figura 13A o 13B. El análisis térmico por TGA mostró una pérdida de peso única de 3,6 % entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 130 °C, correspondiente a aproximadamente 1 mol equivalente de agua (3,3 %) (Figura 16A). El análisis térmico por DTA mostró una sola endotermita con inicio a 109,9 °C (pico a aproximadamente 127 °C), que corresponde a la pérdida de peso observada (Figura 16A). La valoración culombimétrica KF midió el contenido de agua en aproximadamente un 3,9 % (± 0,5 %), que corresponde aproximadamente a la pérdida de peso observada por TG/DTA. La cromatografía iónica indicó que la proporción entre HCl y la base libre era de aproximadamente 1,8:1.

Preparación de la Forma D y caracterización

Como alternativa, se disolvieron aproximadamente 139,5 mg de Compuesto A en 2 ml de acetona:agua (85:15 %) a 50 °C. Se agregaron aproximadamente 4 ml de acetona lentamente a 50 °C para lograr una composición de acetona:agua de 95:5 %. Se filtró una pequeña porción de la suspensión a 50 °C y se determinó la concentración mediante análisis HPLC; el material sólido aislado se caracterizó por XRPD y PLM. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a 20 °C durante 1 hora. Se filtró una pequeña porción de la suspensión a 20 °C y se determinó nuevamente la concentración mediante análisis HPLC; el material sólido aislado se caracterizó por XRPD y PLM.

Tabla 4: Resultados de solubilidad y formas polimórficas

| Sistema de disolventes y Temperatura | Solubilidad | Forma sólida | Morfología |
|--------------------------------------|-------------|--------------|-----------------------|
| Acetona: agua (95:5 %) a 50 °C | 2,5 mg/ml | Forma D | Similar a una varilla |
| Acetona: agua (95:5 %) a 20 °C | 1,7 mg/ml | Forma D | Similar a una varilla |

60 Preparación con semilla de la Forma D (Cristalización 1) y caracterización

Se colocaron aproximadamente 8,0 g del Compuesto A en un reactor de laboratorio controlado (CLR) de 1 l y se añadieron 114,70 ml de acetona: agua (85:15 %) al reactor. La mezcla de reacción se agitó a 270-275 rpm y se calentó a 50 °C para disolver el material. Inicialmente se añadió antidisolvente (acetona) a 50 °C a una velocidad de 6,25 vol./hora (50 ml/hora). En una composición de acetona: agua (88,5:11,5 %), el proceso se sembró con un 1 % de semilla (Forma D, sin micronizar). Tras la adición de la semilla, se detuvo la adición de antidisolvente y el proceso se dejó envejecer durante aproximadamente 30 minutos. A continuación, se añadió más antidisolvente a una velocidad de 3,75 vol./hora (30 ml/hora) para permitir el crecimiento de los cristales. Por último, después de conseguir una composición de acetona: agua (92,9:7,08 %), se añadió antidisolvente a razón de 7,5 vol./hora (60 ml/hora) hasta obtener una composición de acetona: agua de 95:5 %. A continuación, la cristalización se enfrió desde 50 °C hasta 20 °C a una velocidad de 0,25 °C/min. Después de alcanzar los 20 °C, la suspensión se envejeció durante 15 minutos antes de la filtración. La filtración se llevó a cabo en un embudo Buchner con un diámetro de placa de 80 mm y un diámetro de área perforada de 55 mm utilizando papel de filtro Whatman 1. La filtración fue muy rápida, durando la filtración de aproximadamente 344 ml de la mezcla de reacción aproximadamente 1 minuto 20 segundos. Se lavó la suspensión de la torta húmeda en el filtro utilizando 50 ml (6,25 vol) de acetona. A continuación, el material filtrado se secó en el filtro, después de lo cual se secó al vacío a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) durante aproximadamente 40 horas, con mezclado intermitente.

El análisis PLM se llevó a cabo en varios puntos a lo largo de la cristalización e indicó un crecimiento significativo en los cristales desde el punto de siembra. Al final de la cristalización, se obtuvieron cristales similares a una varilla más grandes con longitudes superiores a 150 µm. El análisis XRPD llevado a cabo en varios puntos durante la cristalización indicó que se observaba la Forma D durante todo el proceso de cristalización. El análisis térmico por TG después del secado mostró una pérdida de peso única de 4,3 % entre aproximadamente 90 °C y 160 °C (1 mol equivalente de agua: 3,3 %) (Figura 16B), lo que confirma la formación de la Forma D. El análisis térmico por DTA mostró una endotermita amplia, con inicio a 113,9 °C (pico a aproximadamente 135,8 °C), que corresponde a la pérdida de peso (Figura 16B). El análisis de pureza por HPLC indicó una pureza del 99,87 %. El rendimiento aislado observado fue del 86 %, siendo el rendimiento por HPLC del 91 %. El análisis de Karl Fischer indicó un contenido de agua de 3,97 (\pm 0,5) %.

Preparación con semilla de la Forma D (Cristalización 2) y caracterización

Se colocaron aproximadamente 8,0 g del Compuesto A en un reactor de laboratorio controlado de 1 l y se añadieron 114,70 ml de acetona: agua (85:15 %) al reactor. La mezcla de reacción se agitó a 270-275 rpm. La mezcla de reacción se calentó a 50 °C para disolver el material. Se añadió antidisolvente (acetona) a 50 °C a una velocidad de 12,5 vol./hora (100 ml/hora) durante toda la cristalización. En una composición de acetona: agua (88,5:11,5 %), el proceso se sembró con un 1 % de semilla (Forma D, sin micronizar). Tras la adición de la semilla, se detuvo la adición de antidisolvente y el proceso se dejó envejecer durante aproximadamente 60 minutos. A continuación, se añadió más antidisolvente a una velocidad de 12,5 vol./hora (100 ml/hora) hasta alcanzar una composición de acetona: agua (95:5 %). A continuación, la cristalización se enfrió desde 50 °C hasta 20 °C a una velocidad de 0,25 °C/min. Después de alcanzar los 20 °C, la suspensión se envejeció durante 60 minutos antes de la filtración. La filtración se llevó a cabo en un embudo Buchner con un diámetro de placa de 80 mm y un diámetro de área perforada de 55 mm utilizando papel de filtro Whatman 1. La filtración fue muy rápida, durando la filtración de aproximadamente 344 ml de la mezcla de reacción aproximadamente 1 minuto 20 segundos. Se lavó la suspensión de la torta húmeda en el filtro utilizando 50 ml (6,25 vol) de acetona. A continuación, el material filtrado se secó en el filtro, después de lo cual se secó al vacío a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) durante aproximadamente 40 horas, con mezclado intermitente.

El análisis PLM se llevó a cabo en varios puntos a lo largo de la cristalización e indicó un crecimiento significativo en los cristales desde el punto de siembra. Al final de la cristalización, se obtuvieron cristales similares a una varilla más grandes con longitudes superiores a 150 µm. El análisis XRPD llevado a cabo en varios puntos durante la cristalización indicó que se observaba la Forma D durante todo el proceso de cristalización. El análisis térmico por TG mostró una pérdida de peso única de 4,4 % entre aproximadamente 90 °C y 160 °C (1 mol equivalente de agua: 3,3 %) (Figura 16C), lo que confirma la formación de la Forma D. El análisis térmico por DTA mostró una endotermita amplia, con inicio a 111,7 °C (pico a aproximadamente 134,0 °C), que corresponde a la pérdida de peso (Figura 16C). El análisis de pureza por HPLC indicó una pureza del 99,86 %. El rendimiento aislado observado fue del 86 %, siendo el rendimiento por HPLC del 92 %. El análisis de Karl Fischer indicó un contenido de agua de 4,73 (\pm 0,5) %.

Preparación con semilla de la Forma D (Cristalización 3) y caracterización

Se colocaron aproximadamente 8,0 g del Compuesto A en un reactor de laboratorio controlado de 1 l y se añadieron 114,70 ml de acetona: agua (85:15 %) al reactor. La mezcla de reacción se agitó a 270-275 rpm. La mezcla de reacción se calentó a 50 °C para disolver el material. Se añadió antidisolvente (acetona) a 50 °C a una velocidad de 6,25 vol./hora (50 ml/hora) durante todo el experimento. En una composición de acetona: agua (88,5:11,5 %), el proceso se sembró con 1 % de semilla micronizada (Forma D). Tras la adición de la semilla, se detuvo la adición de antidisolvente y el proceso se dejó envejecer durante aproximadamente 60 minutos. A continuación, la cristalización se enfrió desde 50 °C hasta 20 °C a una velocidad de 0,25 °C/min. Después de alcanzar los 20 °C, la suspensión se envejeció durante 60 minutos antes de la filtración. La filtración se llevó a cabo en un embudo Buchner con un diámetro de placa de 80 mm y un diámetro de área perforada de 55 mm utilizando papel de filtro Whatman 1. La filtración fue

muy rápida, durando la filtración de aproximadamente 344 ml de la mezcla de reacción aproximadamente 2 minutos 2 segundos. Se lavó la suspensión de la torta húmeda en el filtro utilizando 50 ml (6,25 vol) de acetona. A continuación, el material se secó en el filtro, después de lo cual se secó al vacío a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) durante aproximadamente 40 horas, con mezclado intermitente.

- 5 El análisis de PLM se llevó a cabo en varios puntos a lo largo de la cristalización e indicó un crecimiento significativo desde el punto de siembra. Al final de la cristalización, se obtuvieron cristales similares a una varilla que eran más pequeños que los obtenidos de la Cristalización 1 y la Cristalización 2. El análisis XRPD llevado a cabo en varios puntos durante la cristalización indicó que se observaba la Forma D durante todo el proceso de cristalización. El análisis térmico por TG mostró una pérdida de peso única de 4,6 % entre aproximadamente 90 °C y 160 °C (1 mol equivalente de agua: 3,3 %) (Figura 16D), lo que confirma la formación de la Forma D. El análisis térmico por DTA mostró una endotermia amplia, con inicio a 114,8 °C (pico a aproximadamente 132,6 °C), que corresponde a la pérdida de peso (Figura 16D). El análisis de pureza por HPLC indicó una pureza del 99,89 %. El rendimiento aislado observado fue del 89 %, siendo el rendimiento por HPLC del 92 %. El análisis de Karl Fischer indicó un contenido de agua de 15 4,45 ($\pm 0,5$) %.

Conversión de la Forma G a la Forma D y caracterización

- 20 Se suspendieron aproximadamente 5 g de material de Forma G en 100 ml de acetona:agua (98:2 %) a 50 °C durante 4 días. La conversión de la Forma G a la Forma D fue controlada por XRPD en muestras extraídas para análisis a las 1,5 horas, 3 horas, 19 horas, 1 día, 2 días y 4 días. A continuación, el material sólido resultante se filtró, se lavó con acetona y se secó al vacío. El rendimiento se calculó a partir del material seco resultante. El material seco de la Forma D se caracterizó por XRPD, PLM, TG/DTA y KF.

25 Tabla 5: Resultados del control por XRPD de la conversión de Forma G a Forma D

| Punto temporal de análisis | Forma |
|----------------------------|----------------|
| 1,5 horas | Forma G |
| 3 horas | Forma G |
| 19 horas | Forma G |
| 1 día | Forma G |
| 2 días | Forma G |
| 4 días | Forma D |

- 30 Se observó que el material de la Forma D filtrado, lavado y secado convertido de la Forma G había experimentado un cambio de color de amarillo pálido (Forma G) a amarillo brillante (Forma D). El rendimiento aislado es del 89,1 % y el rendimiento calculado por HPLC (a partir de la concentración del filtrado) es del 99,1 %. La XRPD, como se muestra en la Figura 13A, no mostró ningún cambio en la Forma D y ninguna pérdida en la cristalinidad. El análisis por PLM mostró partículas birrefringentes de morfología similar a una varilla. El análisis térmico por TGA mostró una pérdida de peso única de 3,5 % entre aproximadamente 90 °C y 145 °C, que corresponde aproximadamente a 1 mol equivalente de agua (3,3 %) y lo que concuerda con el material de la Forma D anterior. El análisis térmico por DTA mostró una amplia endotermia, con inicio a aproximadamente 112,1 °C (pico a aproximadamente 133 °C), que corresponde a la pérdida de peso observada. Se observó una segunda endotermia en el pico a aproximadamente 160 °C. La valoración culombimétrica KF midió el contenido de agua en aproximadamente 3,6 % ($\pm 0,5$ %), que corresponde aproximadamente a la pérdida de peso observada por TG/DTA. El análisis de pureza por HPLC indicó una pureza del 99,9 %.

40 *Conversión de la Forma G a la Forma D usando semilla de la Forma D*

2 % de semilla de la Forma D

- 45 Se añadieron a la suspensión aproximadamente 5 g de material de Forma G se suspendieron en 200 ml de acetona:agua (99:1 %) y aproximadamente 100 mg de cristales semilla de la Forma D (sin micronizar) (2 % en masa). La suspensión se agitó a 50 °C durante 5,5 horas y la conversión de la Forma G a la Forma D se controló mediante XRPD con muestras extraídas para su análisis en los siguientes puntos temporales: 1 hora, 2 horas, 2,5 horas, 3,5 horas, 4,5 horas, 5 horas y 5,5 horas. A continuación, el material sólido resultante se filtró y se secó al vacío. El rendimiento se calculó a partir del material seco resultante.

Tabla 6: Resultados del control mediante XRPD de la conversión de Forma G a Forma D, utilizando un 2 % de semilla de la Forma D

| Punto temporal de análisis | Forma |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1 hora | Forma G |
| 2 horas | Forma G |
| 2,5 horas | Forma G |
| 3,5 horas | Forma G |
| 4,5 horas | Forma G |
| 5 horas | Forma D con rastros de Forma G |
| 5,5 horas | Forma D |

- 5 Se observó que el material de la Forma D filtrado y secado convertido de la Forma G había experimentado un cambio de color de amarillo pálido (Forma G) a amarillo brillante (Forma D). El rendimiento aislado es del 95,2 % (algunas pérdidas de sólido en el recipiente y durante la filtración) y el rendimiento calculado por HPLC (a partir de la concentración del filtrado) es del 98,9 %. El análisis por XRPD (Figura 13B) no mostró cambios en la forma ni pérdida en la cristalinidad. El análisis por PLM mostró partículas birrefringentes de morfología similar a una varilla. El análisis térmico por TGA mostró una pérdida de peso única de 3,8 % entre aproximadamente 90 °C y 160 °C, que corresponde 10 aproximadamente a 1 mol equivalente de agua (3,3 %) y lo que concuerda con el material de la Forma D anterior. El análisis térmico por DTA mostró una amplia endotermita, con inicio a aproximadamente 113,5 °C (pico a 15 135 °C), que corresponde a la pérdida de peso observada. La valoración culombimétrica KF midió el contenido de agua en aproximadamente un 3,4 % (\pm 0,5 %), que corresponde aproximadamente a la pérdida de peso observada por TG/DTA. El análisis de pureza por HPLC indicó una pureza del 99,9 %.

15 10 % de semilla de la Forma D

- 20 Se añadieron a la suspensión aproximadamente 5 g de material de Forma G se suspendieron en 200 ml de acetona:agua (99:1 %) y aproximadamente 500 mg de cristales semilla de la Forma D (sin micronizar) (10 % en masa). La suspensión se agitó a 50 °C durante 3 horas y la conversión de la Forma G a la Forma D se controló mediante XRPD con muestras extraídas para su análisis en los siguientes puntos temporales: 1 hora, 2 horas y 3 horas. A continuación, el material sólido resultante se filtró y se secó al vacío. El rendimiento se calculó a partir del material seco resultante.

- 25 Tabla 7: Resultados del control mediante XRPD de la conversión de Forma G a Forma D, utilizando un 10 % de semilla de la Forma D

| Punto temporal de análisis | Forma |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1 hora | Forma G |
| 2 horas | Forma D con rastros de Forma G |
| 3 horas | Forma D |

Estabilidad de la Forma D

- 30 La Forma D se conservó en la cámara de humedad a 40 °C/75 % HR y 25 °C/96 % HR durante seis días y se analizó mediante XRPD (Figura 14). No se observaron cambios significativos en el patrón cristalino de ninguna de las muestras. Parecía haberse producido algo de amorfización en la muestra conservada a 40 °C/75 % HR, pero se pensó que esto se debía a la preparación de la muestra más que a la falta de estabilidad en estas condiciones.

35 Higroscopiedad de la Forma D

- 40 La higroscopiedad de la Forma D se evaluó mediante análisis GVS. El experimento se inició con una HR del 40 %. La absorción de agua entre el 40 % y el 70 % HR fue inferior al 0,1 % p/p, aunque se observó un aumento significativo en la absorción de agua entre 70 % y 90 % HR (1,6 % p/p). Sin embargo, durante el ciclo de desorción, el contenido de agua se revirtió de nuevo al nivel inicial. El análisis de XRPD antes y después del experimento GVS mostró que no se habían producido cambios significativos en el patrón cristalino de la muestra (Figura 15).

- 45 La Forma D se preparó con éxito en una escala de 5 g utilizando tanto 2 % de semilla como 10 % de semilla. Las condiciones alteradas permitieron reducir considerablemente el tiempo necesario para la conversión, como se muestra en la tabla 8. El material de la Forma D convertido de la Forma G en 4 días (condiciones originales) y la Forma D

convertida de la Forma G en 5,5 horas (condiciones alteradas) se caracterizaron como se resume en la Tabla 9.

Tabla 8: Período de tiempo requerido para la conversión de la Forma G a la Forma D en condiciones experimentales variables

| Parámetros experimentales | Porcentaje de semilla | Tiempo de conversión |
|----------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| 50 mg/ml; acetona:agua (98:2 %); 50 °C | 0 % | 4 días |
| 25 mg/ml; acetona:agua (99:1 %); 50 °C | 2 % | 5,5 horas |
| | 10 % | 3 horas |

5

Tabla 9: Resumen de la caracterización de la Forma D y la Forma G

| Análisis | Forma G (15 g) | Forma D (5 g) 4 días | Forma D (5 g) 5,5 horas |
|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| XRPD (cristalinidad) | Elevada | Elevada | Elevada |
| PLM | Agujas birrefringentes | Varillas birrefringentes | Varillas birrefringentes |
| TGA (pérdida de peso) | (1,4 %) 5,7 % | 3,5 % | 3,8 % |
| DTA (endotermias) | 112,7 °C | 112,1 °C | 113,5 °C |
| KF (contenido de agua) | 5,7 % | 3,6 % | 3,4 % |
| Pureza por HPLC | N/A | 99,9 % | 99,9 % |

Ejemplo 6: Preparación y caracterización de la Forma F (Ejemplo de referencia)

10 *Preparación a escala de 100 mg*

Se suspendieron aproximadamente 100 mg del Compuesto A amorfó a 50 °C en 1,66 ml de acetonitrilo y se cicló la temperatura con agitación continua en ciclos de 4 horas durante un período de aproximadamente 72 horas (las suspensiones se mantuvieron a 50 °C durante 4 horas seguido de una retención a temperatura ambiente durante 4 horas, las tasas de enfriamiento/calentamiento después de los períodos de espera de 4 horas fueron de aproximadamente 1 °C/min). A continuación, se recuperó el material sólido y se dejó secar en condiciones ambientales antes del análisis.

20 *Preparación y caracterización a escala de 600 mg*

Se mantuvieron aproximadamente 600 mg del Compuesto A amorfó en un entorno de 40 °C/75 % HR durante 6 días. Se observó que el material se había endurecido hasta convertirse en un grumo sólido, que se trituró suavemente y se analizó por XRPD. A continuación, se volvió a colocar en el entorno de 40 °C/75 % HR durante 4 días más para mejorar la cristalinidad.

25 La XRPD de la Forma F se muestra en la Figura 17: panel superior (preparación a escala de 600 mg) y panel inferior (preparación a escala de 100 mg). El análisis térmico por TGA (Figura 18) mostró una pérdida de peso del 3,2 % entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 110 °C que corresponde aproximadamente a 1 mol equivalente de agua (3,3 %). Se observó una segunda pérdida de 1,7 % entre 110 °C y 170 °C. El análisis térmico por DTA (Figura 18) mostró una endotermia con un inicio a 51,2 °C (pico a aproximadamente 72 °C), que corresponde a la primera pérdida de peso. Se observó una segunda endotermia con inicio a 133,9 °C (máximo aprox. 133 °C), que corresponde a la segunda pérdida de peso. La valoración culombimétrica KF midió el contenido de agua en aproximadamente un 4,6 % ($\pm 0,5\%$), que corresponde aproximadamente a la pérdida de peso observada por TG/DTA. La cromatografía iónica indicó que la proporción entre HCl y la base libre era de aproximadamente 1,7:1.

35 Los experimentos VT-XRPD en la Forma F mostraron que la muestra sufrió cambios en su estructura cristalina al calentarse. Como se muestra en la figura 19, la cristalinidad de la muestra disminuyó a medida que se calentaba desde temperatura ambiente hasta 110 °C. Aparecieron algunos nuevos picos de difracción. Estos cambios fueron irreversibles y permanecieron en el patrón de XRPD después de que la muestra se enfrió nuevamente a temperatura ambiente.

Ejemplo 7: Preparación y caracterización de la Forma G (Ejemplo de referencia)

45 *Preparación y caracterización a escala de 600 mg*

Se suspendieron aproximadamente 600 mg del Compuesto A amorfó a 50 °C en 7,14 ml de 2-propanol:agua ($W_A = 0,9$) con agitación continua durante un período de aproximadamente 72 horas, después de lo cual se añadieron otros

800 µl de disolvente. La muestra se reemplazó por suspensión a 50 °C con agitación continua durante un período de aproximadamente 24 horas. Se llevó a cabo el análisis por XRPD y se continuó la suspensión a 50 °C durante otras 48 horas. A continuación, se recuperó el material sólido y se dejó secar en condiciones ambientales antes del análisis por XRPD, KF, TG/DTA e IC.

- 5 Como se muestra en la Figura 20A, la Forma G es altamente cristalina después de un total de 144 h (6 días) a 50 °C. El análisis térmico por TGA (Figura 21A) mostró una pérdida de peso gradual del 5,1 % entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 130 °C, que es ligeramente superior a 1 mol equivalente de agua (3,3 %). El análisis térmico por DTA (Figura 21A) mostró una ligera endotermia a 92 °C, seguido de una endotermia más grande con un inicio a 113,6 °C (máximo aprox. 126 °C), que corresponde a la pérdida de peso observada. El análisis térmico posterior mostró que la pérdida gradual de masa desde la temperatura ambiente no se vio afectada por el secado, o que el material absorbió agua atmosférica cuando se retiró de las condiciones de secado, lo que sugiere que la Forma G puede ser higroscópica a la humedad ambiental. La valoración culombimétrica KF midió el contenido de agua en aproximadamente 5,0 % ($\pm 0,5\%$), que corresponde aproximadamente a la pérdida de peso observada por TG/DTA.
- 10 15 La cromatografía iónica indicó que la proporción entre HCl y la base libre era de aproximadamente 1,5:1.

El análisis de microscopía de platina caliente entre 25 °C y 250 °C, donde se observó que el material se degradaba por TG/DTA, no mostró acontecimientos visibles de fusión o deshidratación.

- 20 25 El análisis térmico adicional por TGA del material seco de la Forma G mostró una pérdida de peso gradual entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 135 °C, que se observó que era superior a 1 equivalente molar (3,3 %).
- material secado en condiciones ambientales (Figura 21B): 5,29 %
 - material secado al vacío (Figura 21C): 5,41 %

30 35 El análisis térmico adicional por DTA mostró una amplia endotermia, que corresponde a la pérdida de peso:

- material secado en condiciones ambientales (Figura 21B): 112,4 °C (pico a aproximadamente 132 °C)
- Material secado al vacío (Figura 21C): 110,8 °C (pico a aproximadamente 133 °C)

40 45 El análisis por DSC del material de la Forma G secado en condiciones ambientales también mostró una endotermia amplia a 124,7 °C (pico a aproximadamente 146,7 °C) (Figura 21D).

El análisis de DVS mostró:

- Sorción: 20 a 70 % HR: 1,13 % de cambio en la masa
- Desorción: 70 a 0 % HR: 1,32 % de cambio en la masa
- El aumento de masa del 1,13 % entre 20 y 70 % HR indica que la Forma G es ligeramente higroscópica. No se observó ningún escalón de deshidratación/rehidratación, lo que indica que la Forma G es probablemente un hidrato estable.

El análisis posterior a DVS por XRPD (Figura 22) no mostró cambios en la forma polimórfica.

Preparación de la Forma G y caracterización

45 50 Se disolvieron aproximadamente 139,5 mg del Compuesto A en 2 ml de acetona:agua (85:15 %) a 50 °C. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a 20 °C durante 1 hora. Se observó cristalización. Se filtró una pequeña porción de la suspensión a 20 °C y se determinó la concentración mediante análisis HPLC; el material sólido aislado se caracterizó por XRPD y PLM. A continuación, se añadieron lentamente aproximadamente 4 ml de acetona a 20 °C para obtener una composición de acetona:agua de 95:5 %. Se filtró una pequeña porción de la suspensión a 20 °C y se determinó la concentración mediante análisis HPLC; el material sólido aislado se caracterizó por XRPD y PLM.

Tabla 10: Resultados de solubilidad y formas polimórficas

| Sistema de disolventes y Temperatura | Solubilidad | Forma sólida | Morfología |
|--------------------------------------|-------------|--------------|---------------------|
| Acetona: agua (85:15 %) a 20 °C | 39,3 mg/ml | Forma G | Similar a una aguja |
| Acetona: agua (95:5 %) a 20 °C | 1,3 mg/ml | Forma G | Similar a una aguja |

55 Tabla 11: Resumen de la caracterización adicional de la Forma G

| Análisis | Forma G |
|----------------------|--------------------------------|
| XRPD (cristalinidad) | Placa plana y capilar: Elevada |
| PLM | Agujas birrefringentes |

(continuación)

| Análisis | Forma G |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| HSM | Sin acontecimientos observables |
| TGA (pérdida de peso) | 5,2 % (5,4 %)* |
| DTA (endotermias) | 112,4 °C, pico aprox. 132 °C, (110,8 °C, pico aprox. 133 °C)* |
| DVS (higroscopidad) | ligeramente higroscópico (1,1 % de absorción), hidrato muy estable |
| XRPD post DVS (cambios de forma) | Sin cambio de forma, cristalinidad mejorada |
| KF (contenido de agua) | 4,9 % |
| RMN de ¹H | Espectro concordante con la estructura, alto contenido de agua |
| IR | Como referencia |
| IC (PA:clorhidrato) | 1:2,15 |
| Solubilidad acuosa termodinámica | 118,55 mg ml-1, (sin cambio de forma, pH final: 1,1) |
| Estudio de estabilidad de 1 semana | Alta pureza (>99,5 %), sin cambio de forma |

* TG/DTA realizado sobre material secado al vacío

Preparación a escala de 3 g

- 5 Se pesaron aproximadamente 3 g del Compuesto A en un matraz de 20 ml. Se añadieron 3 ml de 2-propanol:agua (25:75 %) y la suspensión resultante se agitó a 50 °C durante 4 horas. La suspensión se volvió muy espesa y se añadieron otros 2 ml de disolvente. Después de aproximadamente 30 minutos, se observó disolución total, por lo que la temperatura se redujo hasta 40 °C y luego a TA durante la noche. La suspensión se volvió muy espesa y se añadió 1 ml más de disolvente y la suspensión se recalentó a 40 °C. Después de 1 hora, se llevó a cabo el análisis XRPD y la temperatura se redujo hasta 30 °C. Después de 1,5 horas se observó que había precipitado una gran cantidad de material y se llevó a cabo el análisis final de XRPD. El material sólido resultante se filtró, se lavó con 2-propanol:agua (50:50 %) y se secó al vacío durante aproximadamente 17 horas.
- 10
- 15
- 20

Preparación a escala de 7 g

- 15 Se pesaron aproximadamente 7 g del Compuesto A en un matraz de 20 ml. Se añadieron 12 ml de 2-propanol:agua (25:75 %) y la suspensión resultante se agitó a 50 °C durante aproximadamente 3 horas. Se añadió 1 ml más de disolvente y la suspensión se calentó a 60 °C hasta que se observó disolución. La temperatura se redujo hasta 30 °C y la suspensión se agitó durante 1 hora antes de enfriar primero a temperatura ambiente y luego a 5 °C. Se llevó a cabo el análisis de XRPD del material sólido resultante, y el material se filtró y se secó al vacío durante aproximadamente 72 horas.

Preparación y caracterización a escala de 15 g

- 25 Se pesaron aproximadamente 15 g del Compuesto A en un matraz de 100 ml y se añadieron 30 ml de 2-propanol:agua (25:75 %) a las siguientes temperaturas:
- se añadieron 17 ml de disolvente a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C)
 - se añadieron 13 ml de disolvente a 40 °C
- 30 La suspensión resultante se agitó a 40 °C durante una noche, seguido de agitación a temperatura ambiente durante aproximadamente otras 5,5 horas. El material sólido resultante se aisló por filtración y se lavó con 2-propanol:agua (50:50 %). A continuación, la torta del filtro se secó en condiciones ambientales durante la noche y al vacío durante 27 horas más. El rendimiento se calculó a partir del material seco resultante.
- 35
- 40
- El análisis por XRPD (Figura 20B) antes y después del secado mostró una Forma G altamente cristalina. El análisis por PLM mostró que la Forma G consiste en pequeñas agujas birrefringentes. El análisis térmico por TG mostró una pérdida de peso inicial del 1,44 %, probablemente debido a agua o disolvente sin unir, seguido de una segunda pérdida de peso gradual del 5,71 % entre aproximadamente 40 °C y aproximadamente 150 °C, que es ligeramente más alto que el análisis TG/DT observado anteriormente de la Forma G y probablemente se deba a agua/disolvente sin unir (1 mol equivalente de agua = 3,3 %). El análisis térmico por DT mostró una gran y amplia endotermia con inicio a aproximadamente 112,7 °C (pico a aproximadamente 131 °C), que corresponde a la segunda pérdida de peso observada por TGA. El análisis por valoración KF indicó un porcentaje de agua de 5,7 % (± 0,5 %), que corresponde

a la pérdida de masa observada por TG/DTA.

Estabilidad de la Forma G

- 5 La Forma G se conservó en la cámara de humedad a 40 °C/75 % HR, 40 °C y 60 °C durante 1 semana, y se analizó por XRPD (Figura 23) y HPLC. No se observaron cambios en la forma polimórfica y la pureza del material resultante.

- 40 °C/75 % HR: 99,6 %
- 40 °C: 99,7 %
- 60 °C: 99,6 %

Solubilidad acuosa termodinámica de la Forma G

- 10 Se suspendieron aproximadamente 100 mg de material de Forma G en aproximadamente 1 ml de agua desionizada, con agitación continua durante un periodo de 24 horas. Se midió el pH del agua desionizada utilizada y el pH final de la solución filtrada. La determinación de la solubilidad acuosa termodinámica se llevó a cabo mediante análisis HPLC con análisis XRPD posterior del material sólido restante.

- 15 La solubilidad termodinámica de la Forma G en agua se midió mediante análisis HPLC:

- 118,55 mg/ml
- La XRPD (Figura 24) no mostró cambios en la forma y un ligero aumento en la cristalinidad. Los cambios de pH resultantes de la disolución de la sal Bis-HCl fueron los siguientes:
- Agua desionizada (medio de disolución): pH 6,4 (\pm pH 0,1)
- Solución resultante (25 h agitando a TA): pH 1,1 (\pm pH 0,1)

Ejemplo 8: Preparación y caracterización de la Forma B (Ejemplo de referencia)

- 25 La Forma B se obtuvo como un sólido parcialmente cristalino por maduración en varios disolventes, partiendo de la Forma A o del Compuesto A amorfó. El patrón de la Forma B más cristalina se obtuvo a partir de EtOAc. La XRPD de la Forma B se muestra en la Figura 25. El análisis térmico por DSC y TGA mostró una pérdida de peso (0,7 % p/p) a baja temperatura, lo que puede deberse a la presencia de disolvente sin unir (Figura 26). Se observó una segunda pérdida de peso a 80 - 100 °C (3,6 % p/p) que probablemente correspondía al disolvente unido a la estructura cristalina (Figura 26). No se observó disolvente orgánico residual en el espectro de RMN de ^1H , confirmando que el disolvente es agua. La degradación del material se produjo poco después de que se perdiera el disolvente. El termograma de DSC mostró varios acontecimientos a baja temperatura relacionados con la pérdida de peso inicial y una endotermia más significativa (inicio a 158 °C), provocada por la pérdida de agua del cristal (Figura 26). Además, se realizaron experimentos de VT-XRPD entre temperatura ambiente y 100 °C (para evitar la pérdida de disolvente de la estructura cristalina) para evaluar si la cristalinidad de la Forma B mejoró con el calentamiento. Sin embargo, no se observaron cambios significativos en el patrón cristalino a medida que se calentaba la muestra.

Ejemplo 9: Estructura de rayos X de monocrystal del Compuesto A

- 40 La estructura de rayos X de monocrystal del monohidrato del Compuesto A se determinó a partir de cristales crecidos por recristalización a partir de un aceite, obtenido por evaporación lenta en NMP. La estructura es monoclínica, grupo espacial $P2_1$, con dos moléculas independientes del Compuesto A y dos moléculas independientes de agua de hidratación en la unidad asimétrica relacionadas por un pseudo centro de simetría. La estereoquímica absoluta se determinó como R en C7A y C7B, molécula A y B respectivamente, a partir de la consideración del parámetro de Flack, que se determinó en 0,006 (12).

Tabla 12: Datos de la muestra y del cristal.

| | |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Código de identificación | PHX-10-035 |
| Número de compuesto | VDP-679-14-18 |
| Proyecto/Programa/F.S. | P1585 |
| Cuaderno de laboratorio farmacéutico | VDP-679-14-18 |
| Cuaderno de laboratorio de rayos x | PHX-10-035 |
| Cuaderno de laboratorio de cristalización | VDP-679-14-18 |
| Disolventes de cristalización | NMP |
| Método de cristalización | Recristalización en un aceite |
| Fórmula empírica | $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{FN}_4\text{O}_2$ |
| Peso de la fórmula | 559,49 |

(continuación)

| | |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Temperatura | 100(1) K |
| Longitud de onda | 1,5418 Å |
| Tamaño del cristal | 0,20 x 0,08 x 0,02 mm |
| Hábito cristalino | Placa amarilla |
| Sistema cristalino | Monoclínico |
| Grupo espacial | P21 |
| Dimensiones de la celda unitaria | $\alpha = 9,70320(10)$ Å $\alpha = 90^\circ$ $b = 16,5616(3)$ Å $\beta = 92,322(2)^\circ$ $c = 16,8628(3)$ Å $\gamma = 90^\circ$ |
| Volumen | 2707,64(7) Å ³ |
| Z | 4 |
| Densidad (calculada) | 1,373 Mg/m ³ |
| Coeficiente de absorción | 2,498 mm ⁻¹ |
| F(000) | 1176 |

Tabla 13: Recopilación de datos y refinamiento de la estructura.

| | |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Difractómetro | SuperNova, Doble, Cu a cero, Atlas |
| Fuente de radiación | Fuente de rayos X SuperNova (Cu), CuKa |
| Método de recopilación de datos | barridos phi y omega |
| Intervalo de theta para la recopilación de datos | 3,74 a 62,20° |
| Intervalos de índice | -11 ≤ <i>h</i> ≤ 10, -18 ≤ <i>k</i> ≤ 18, -16 ≤ <i>l</i> ≤ 19 |
| Reflexiones recogidas | 15483 |
| Reflexiones independientes | 8250 [R(int) = 0,0327] |
| Cobertura de reflexiones independientes | 99,1 % |
| Variación en las reflexiones de comprobación | N/A |
| Corrección de absorción | Semiempírica a partir de equivalentes |
| Transmisión máx. y mín. | 1,00000 y 0,83454 |
| Técnica de solución de estructura | directa |
| Programa de solución de estructura | Bruker SHELXTL |
| Técnica de refinamiento | Cuadrados mínimos de matriz completa en F^2 |
| Programa de refinamiento | Bruker SHELXTL |
| Función minimizada | $\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2$ |
| Datos/restricciones/parámetros | 8250/1/731 |
| Bondad de ajuste en F^2 | 1,007 |
| D/ $s_{\text{máx}}$ | 0,000 |
| Índices R finales | |
| | 7179 datos; R1 = 0,0381, wR2 = 0,0967 |
| | $I > 2\sigma(I)$ |
| | todos los datos R1 = 0,0490, wR2 = 0,1080 |
| Esquema de ponderación | calc $w=1 / [\sigma^2 (F_o^2)+(0,00730P)^2+0.2000P]$ donde P= $(F_o^2+2F_c^2)/3$ 0,006(12) |
| Parámetro de estructura absoluta | 0,268 y -0,310 e Å ⁻³ |
| Mayor diferencia de pico y orificio | |

Resumen de refinamiento:

| | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| Átomos no de H ordenados, XYZ | Refinado libremente |
| Átomos no de H ordenados, U | Anisótropo |
| Átomos de H (en el carbono), XYZ | Isotrópico |
| Átomos de H (en el carbono), U | Cabalgando sobre el átomo padre |
| Átomos de H (en heteroátomos), XYZ | Refinado libremente |
| Átomos de H (en heteroátomos), U | Isotrópico |
| Átomos desordenados, OCC | Refinado libremente |
| Átomos desordenados, XYZ | Refinado libremente |
| Átomos desordenados, U | Anisótropo |

Como se muestra en la figura 27, la XRPD simulada del monocrystal del Compuesto A concuerda con la XRPD de la
5 Forma D.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una forma sólida del diclorhidrato de (*R*)-6-(2-fluorofenil)-N-(3-(2-(2-metoxietilamino)etil)fenil)-5,6-dihidrobenzo[h]quinazolin-2-amina (Compuesto A), que es un polimorfo de la Forma D del Compuesto A **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 14,9, 23,1 y 23,8° 2θ utilizando radiación Cu K α , en donde "aproximadamente" significa más o menos 0,2° 2θ.
- 10 2. El polimorfo de la Forma D de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 14,9, 23,1, 23,8 y 24,8° 2θ usando radiación Cu K α .
- 15 3. El polimorfo de la Forma D de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 13,9, 14,9, 21,8, 22,3, 23,1, 23,8 y 24,8° 2θ usando radiación Cu K α .
- 20 4. El polimorfo de la Forma D de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 13,9, 14,9, 21,8, 22,3, 23,1, 23,8, 24,8, 25,3, 28,1 y 28,7° 2θ usando radiación Cu K α .
- 25 5. El polimorfo de la Forma D de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 10,6, 11,6, 13,9, 14,9, 19,0, 21,8, 22,3, 23,1, 23,8, 24,8, 25,3, 28,1, 28,2 y 28,7° 2θ usando radiación Cu K α .
- 30 6. El polimorfo de la Forma D de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el término "aproximadamente" significa más o menos 0,1° 2θ.
- 35 7. El polimorfo de la Forma D de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al expuesto en las Figuras 13A, 13B o 13C.
- 40 8. El polimorfo de la Forma D de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado por** un evento endotérmico con inicio entre aproximadamente 110 °C y aproximadamente 123 °C medido por DTA o DSC, en donde "aproximadamente" significa más o menos 2 °C.
- 45 9. El polimorfo de la Forma D de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado por** un termograma DTA sustancialmente similar al expuesto en una cualquiera de las Figuras 16A, 16B, 16C y 16D.
- 35 10. Una composición farmacéutica que comprende una forma sólida del diclorhidrato de (*R*)-6-(2-fluorofenil)-N-(3-(2-(2-metoxietilamino)etil)fenil)-5,6-dihidrobenzo[h]quinazolin-2-amina (Compuesto A), que es el polimorfo de la Forma D como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y al menos un excipiente o un vehículo farmacéuticamente aceptables.
- 40 11. Una forma sólida del diclorhidrato de (*R*)-6-(2-fluorofenil)-N-(3-(2-(2-metoxietilamino)etil)fenil)-5,6-dihidrobenzo[h]quinazolin-2-amina (Compuesto A), que es el polimorfo de la Forma D tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un ser humano.
- 45 12. La forma sólida para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el cáncer es cáncer de las vías biliares intrahepáticas, cáncer de vejiga urinaria o cáncer gástrico (de estómago).

FIGURA 1

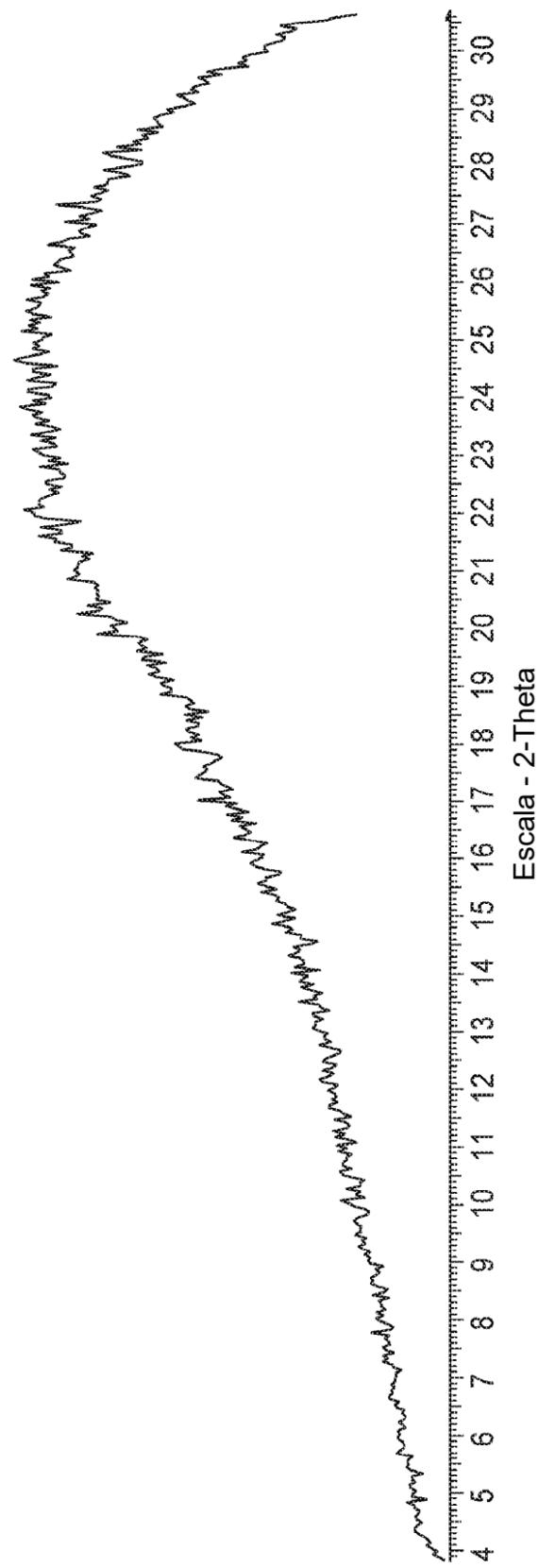


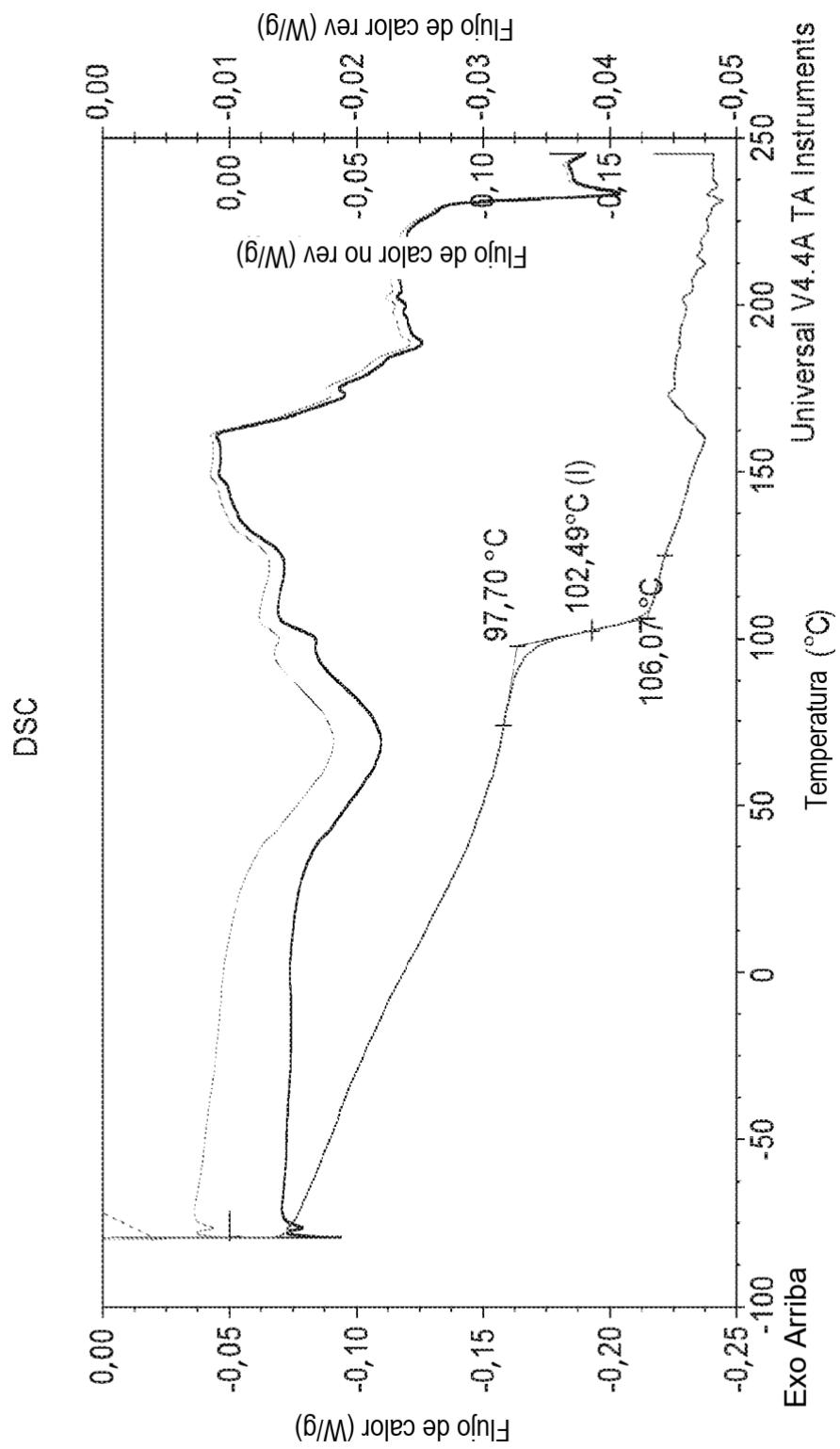
FIGURA 2

FIGURA 3

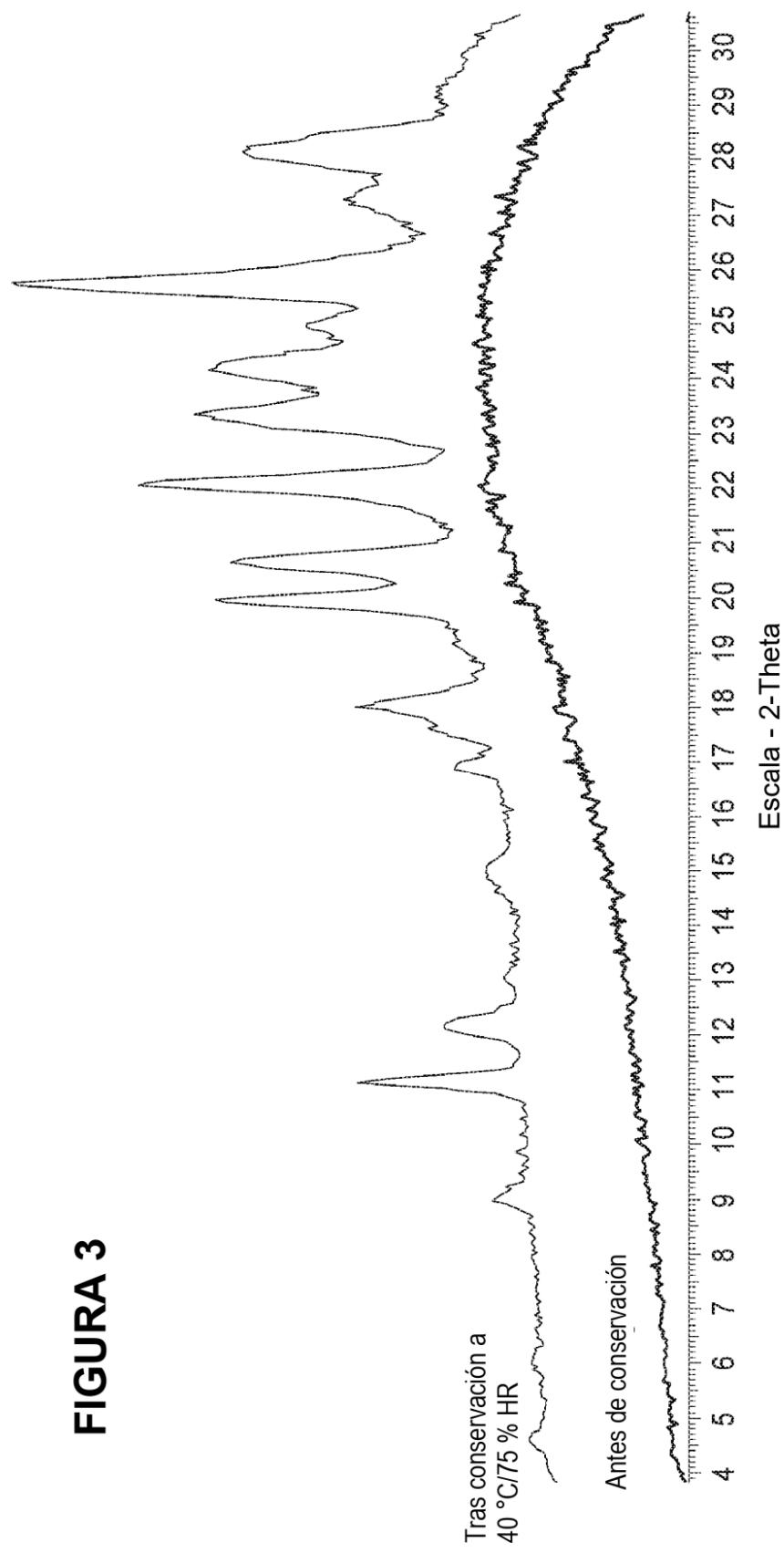


FIGURA 4A

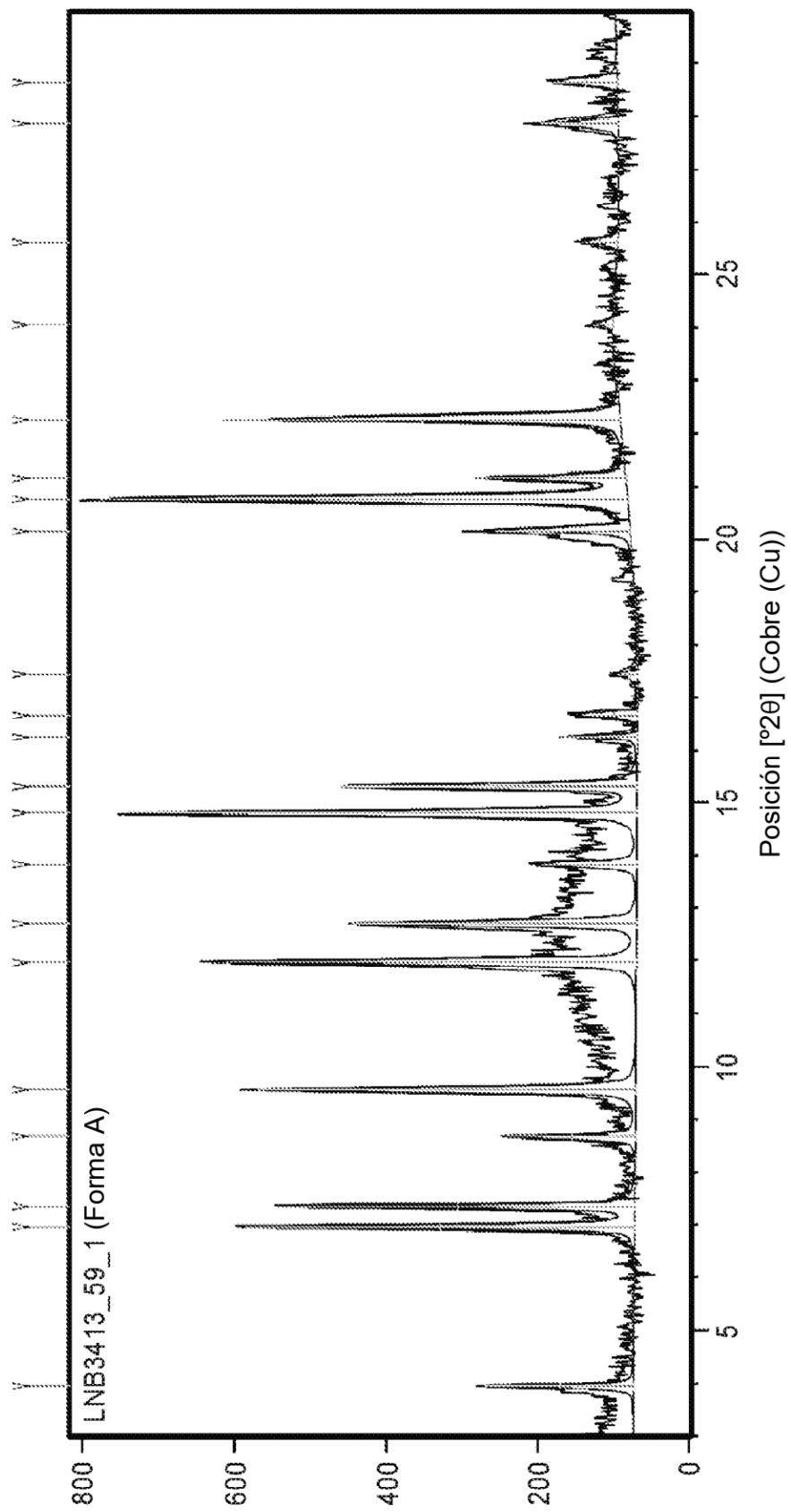


FIGURA 4B

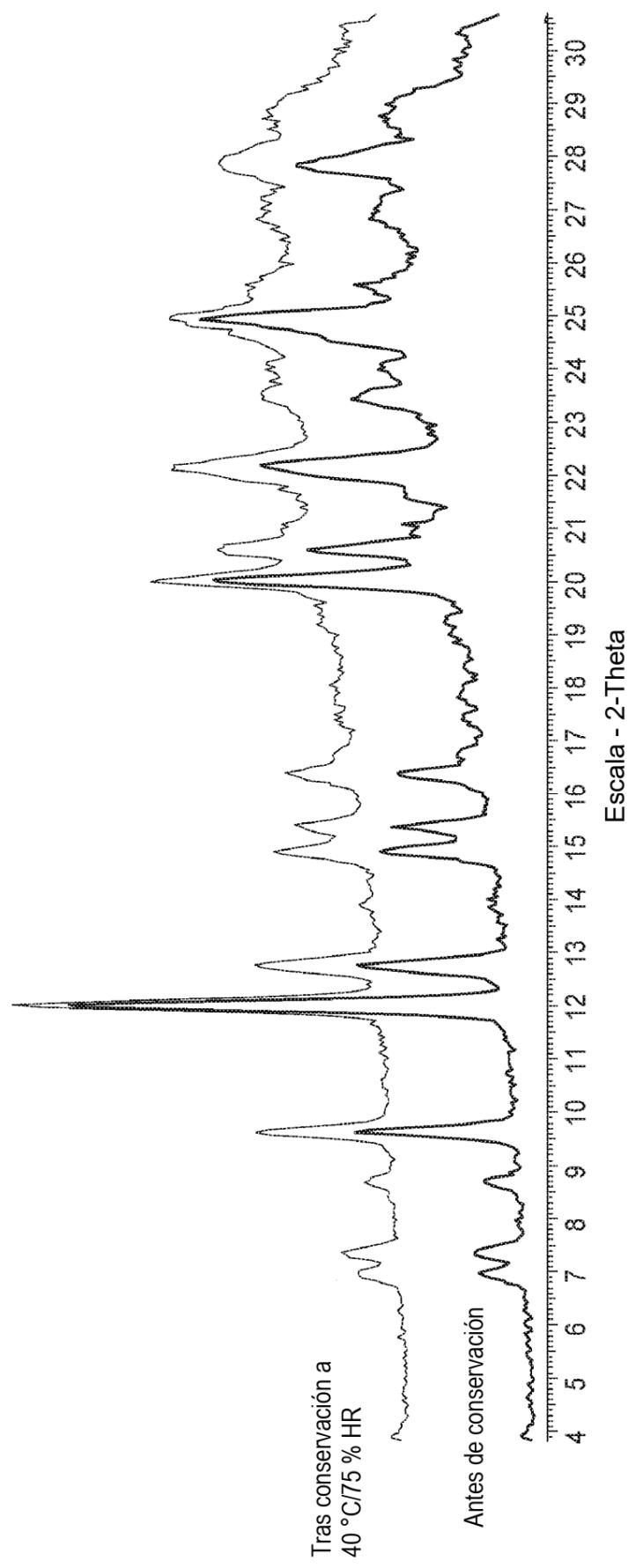


FIGURA 4C

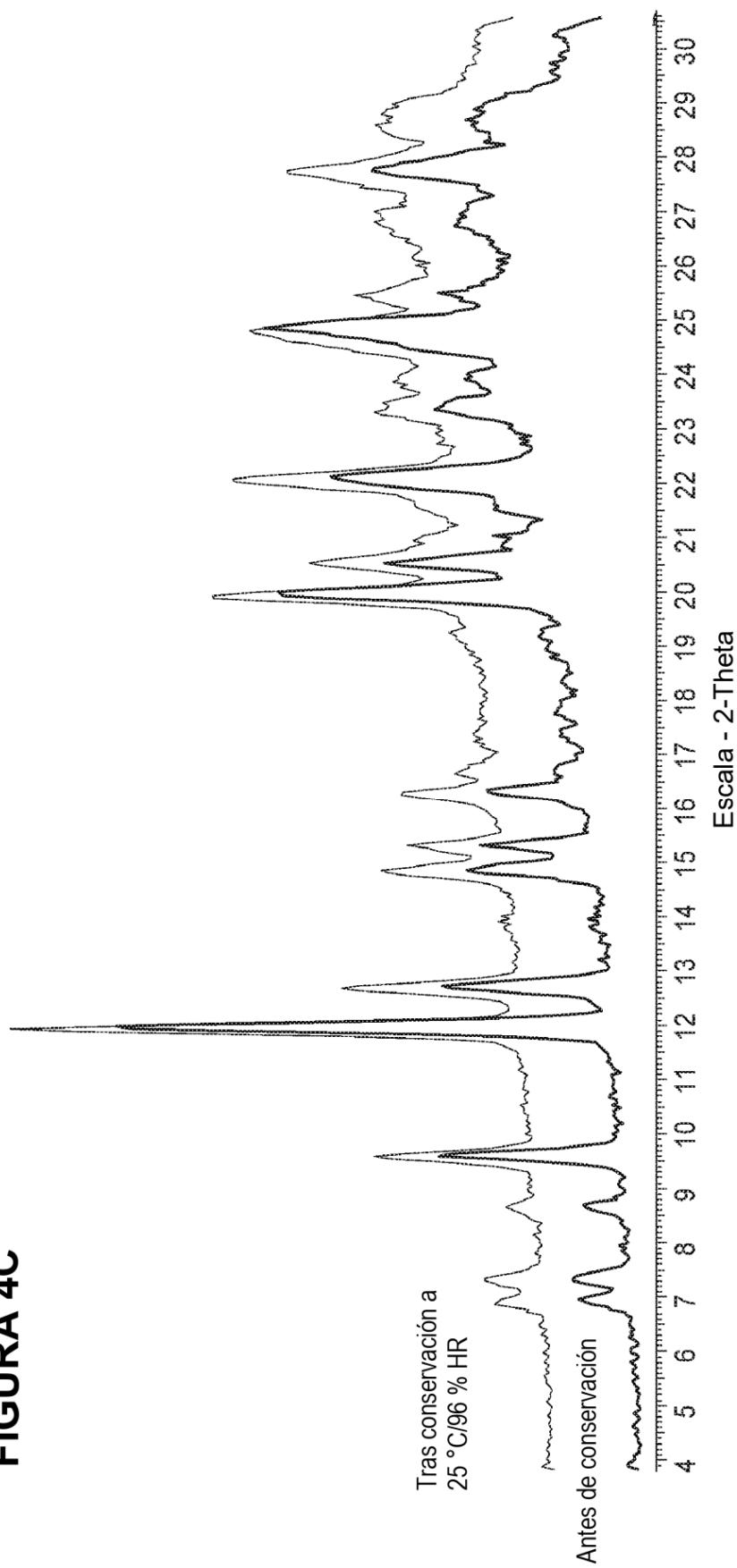


FIGURA 5

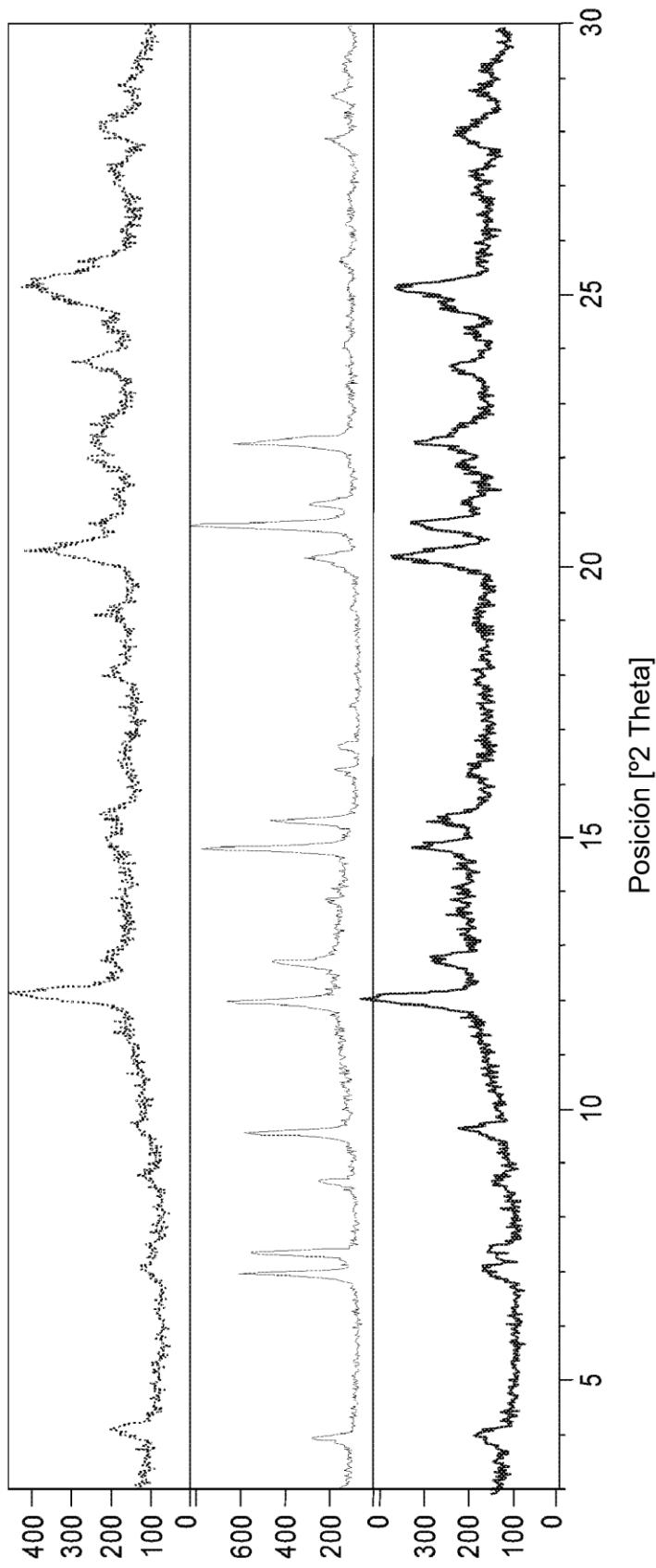


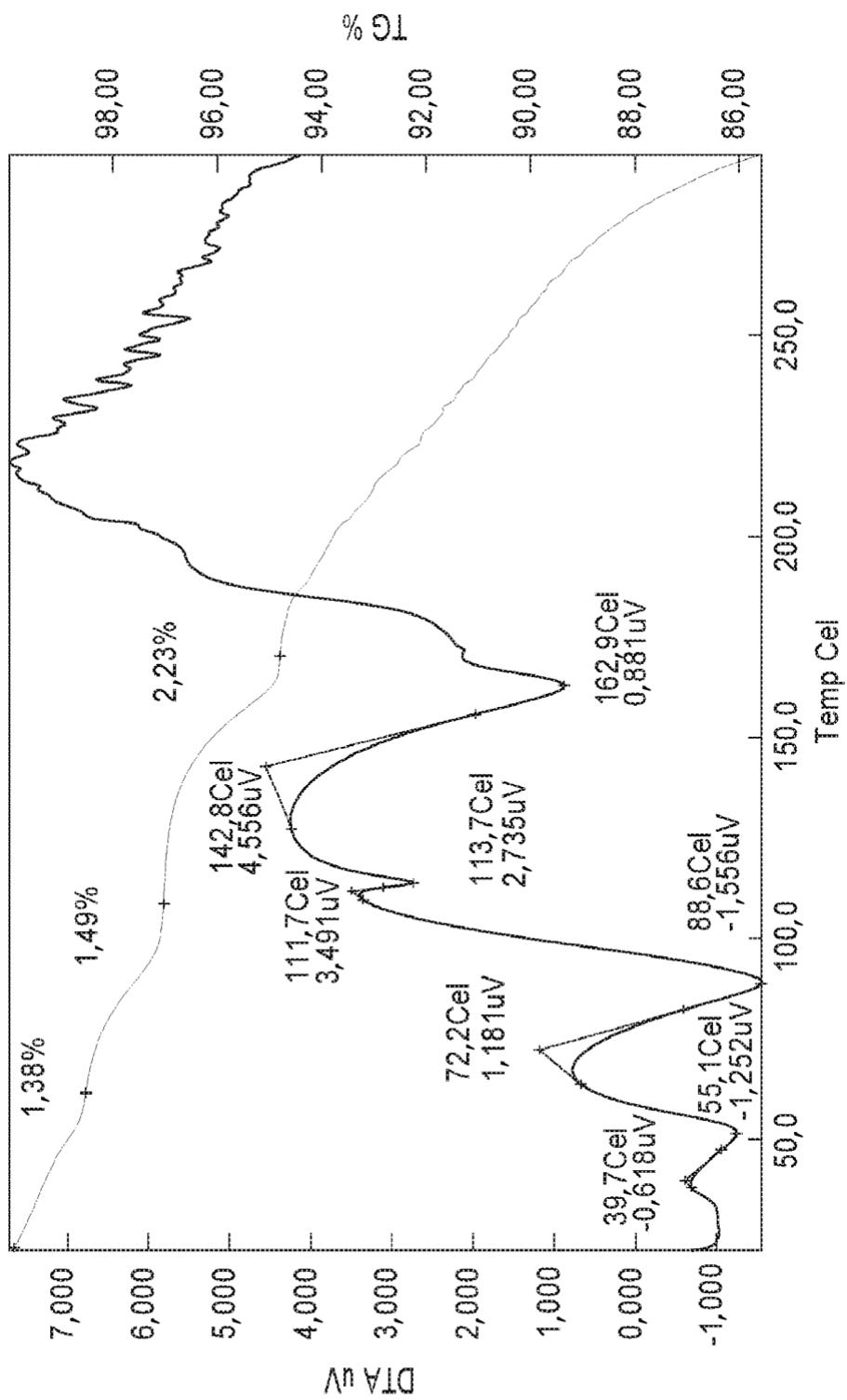
FIGURA 6A

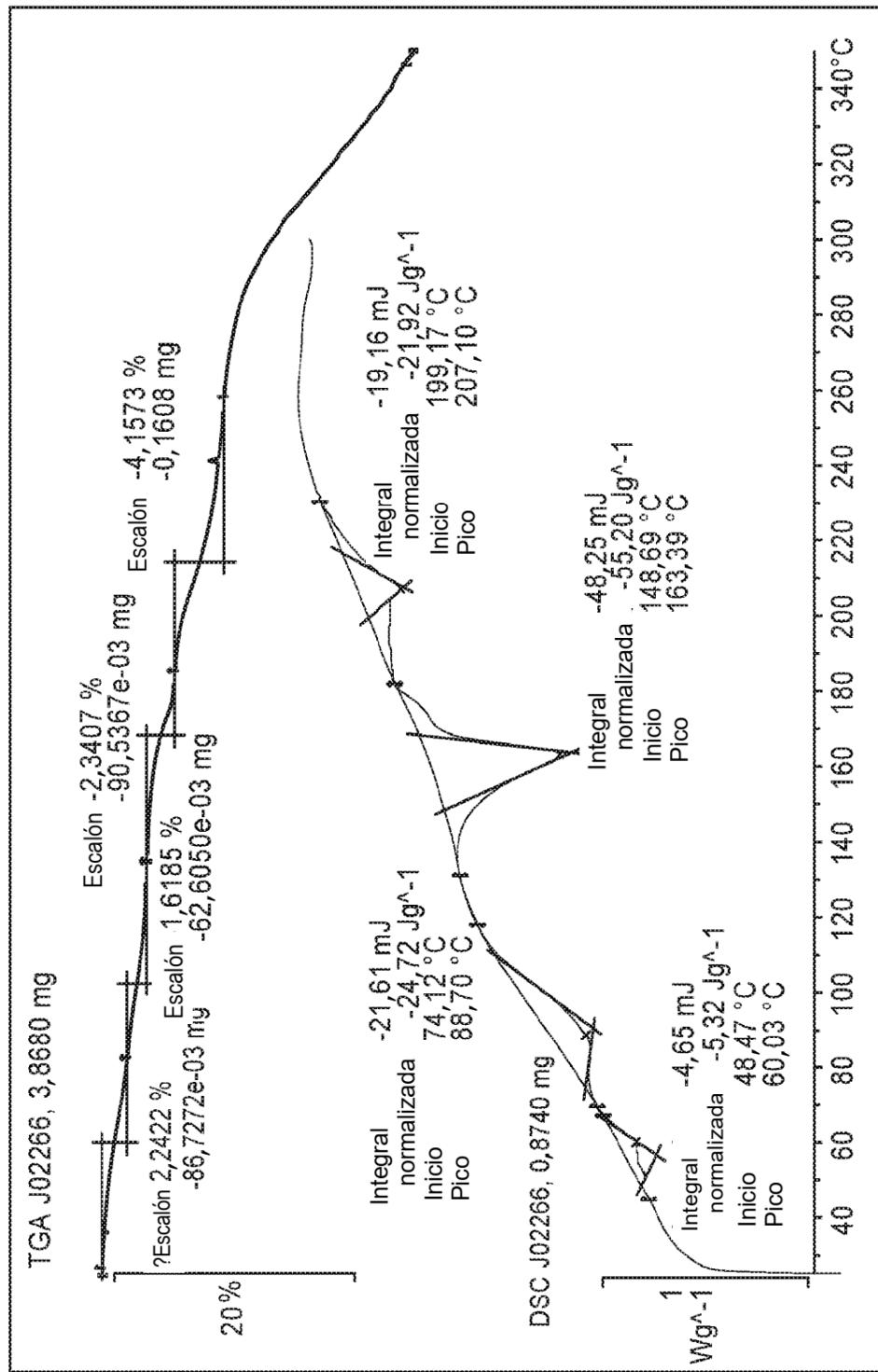
FIGURA 6B

FIGURA 7

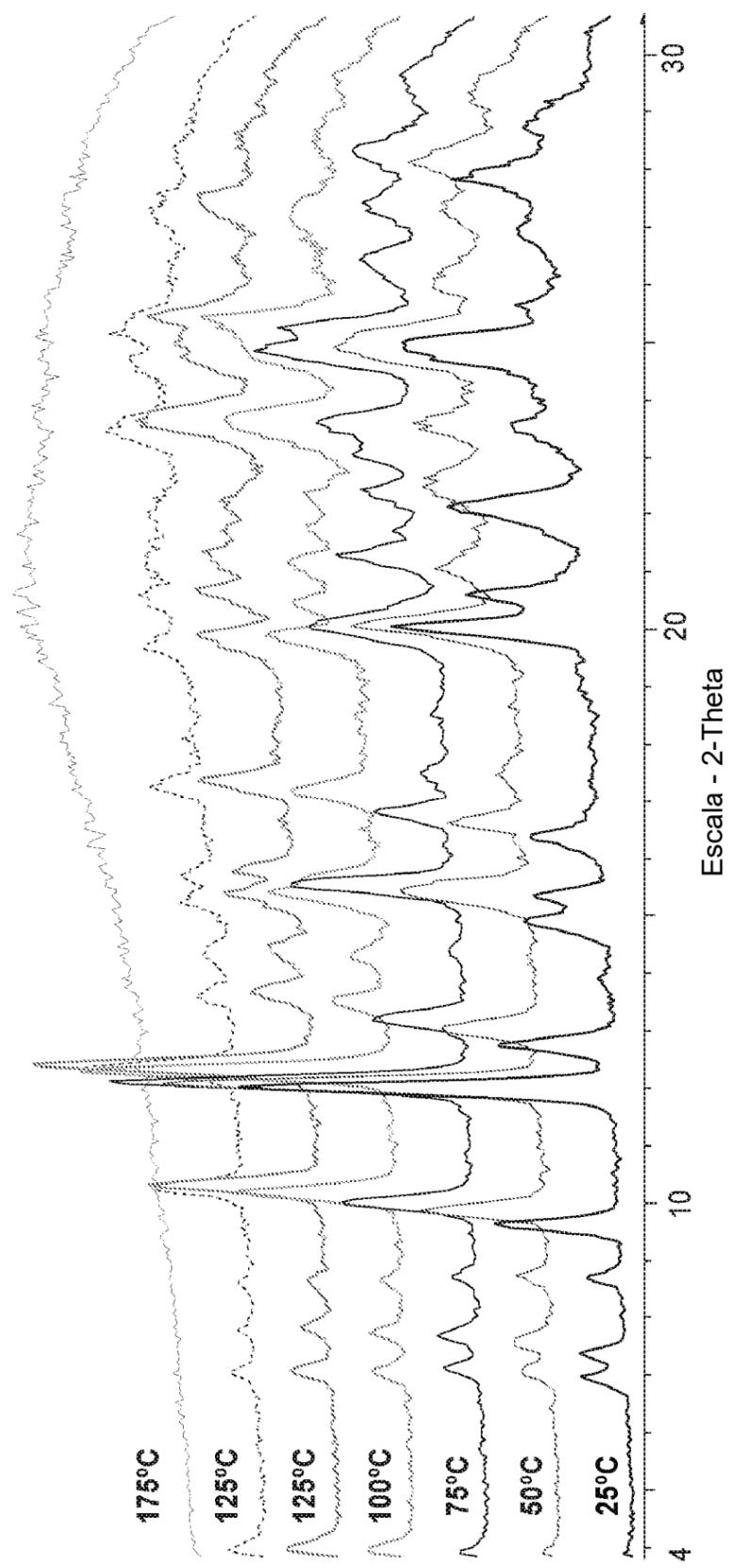


FIGURA 8

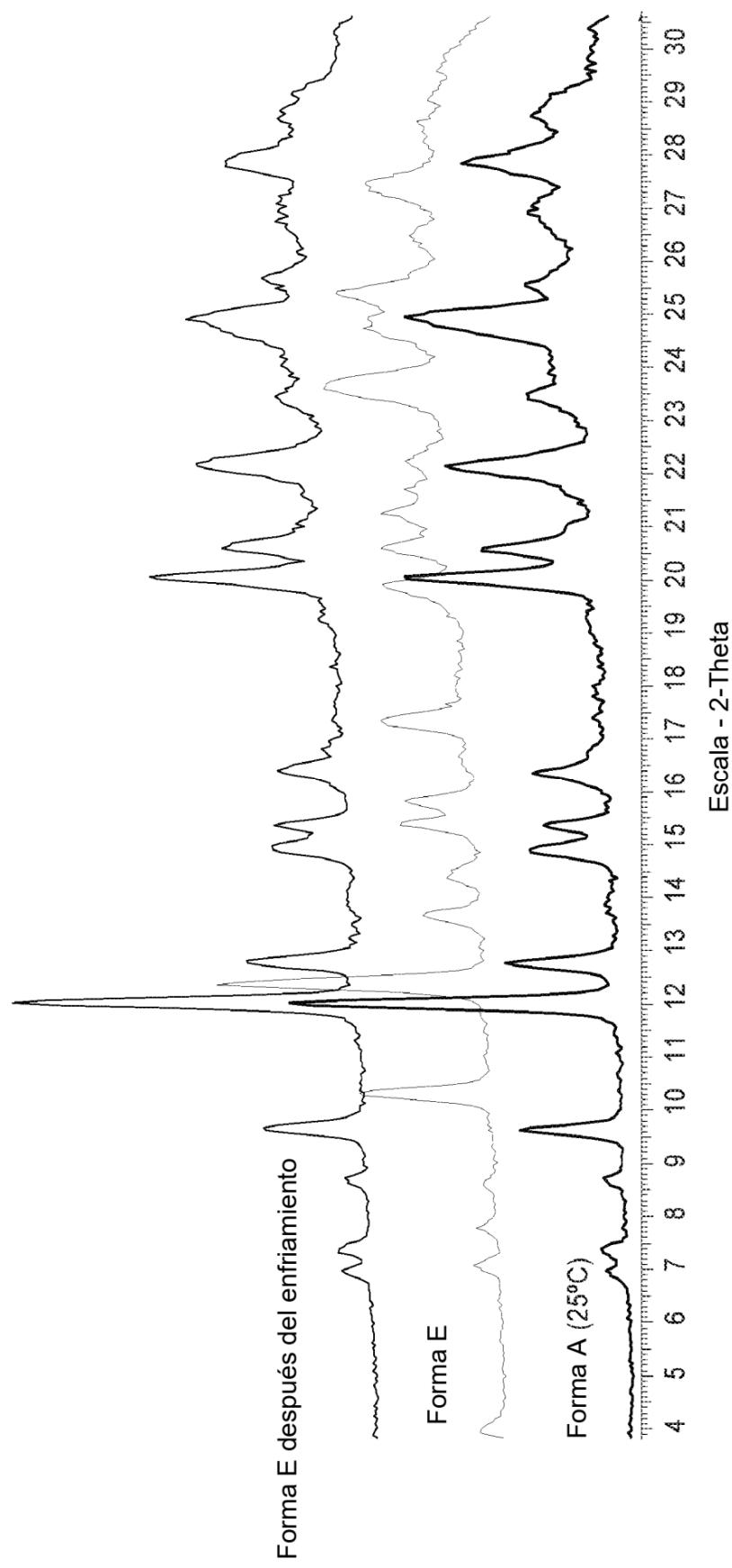
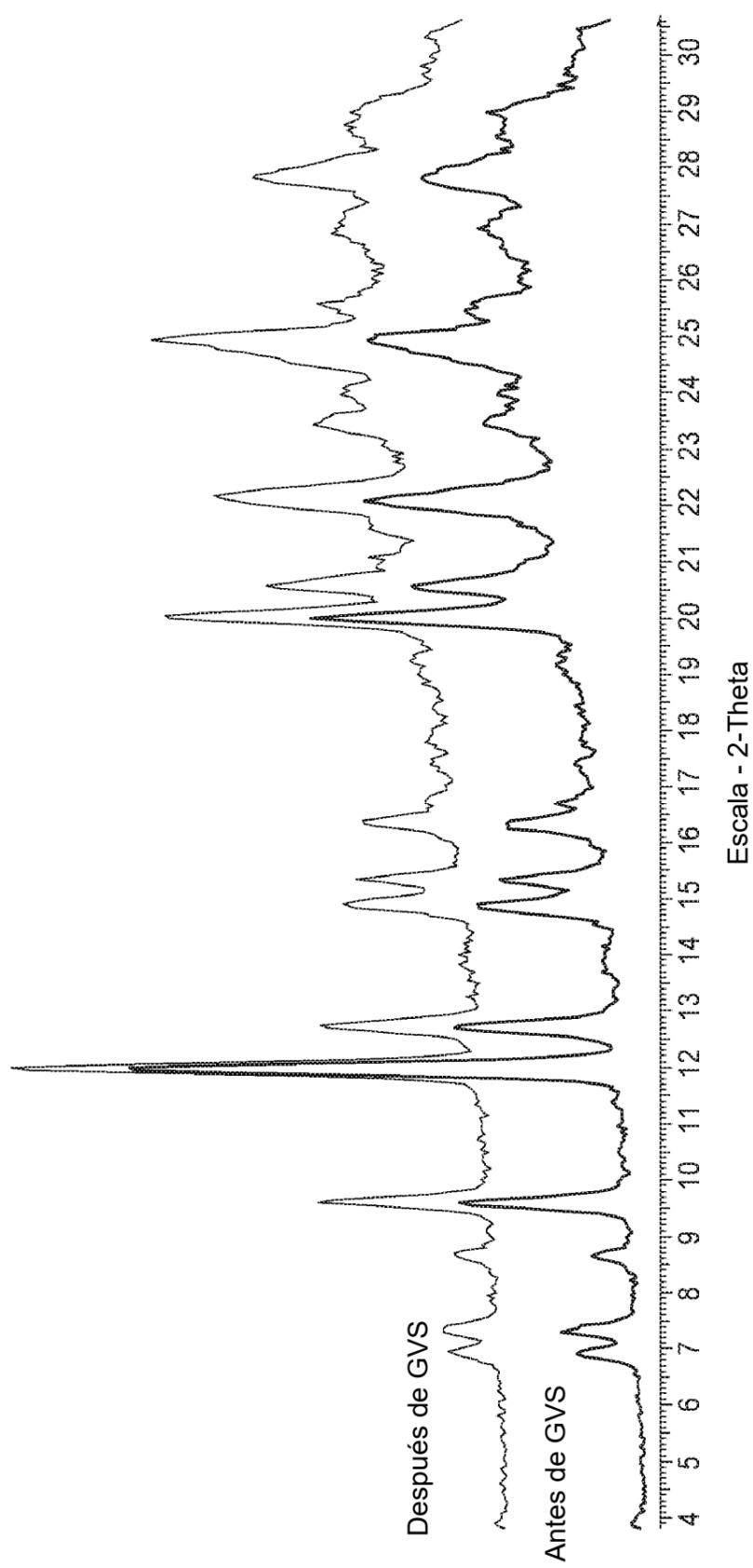


FIGURA 9



ES 2 935 818 T3

FIGURA 10

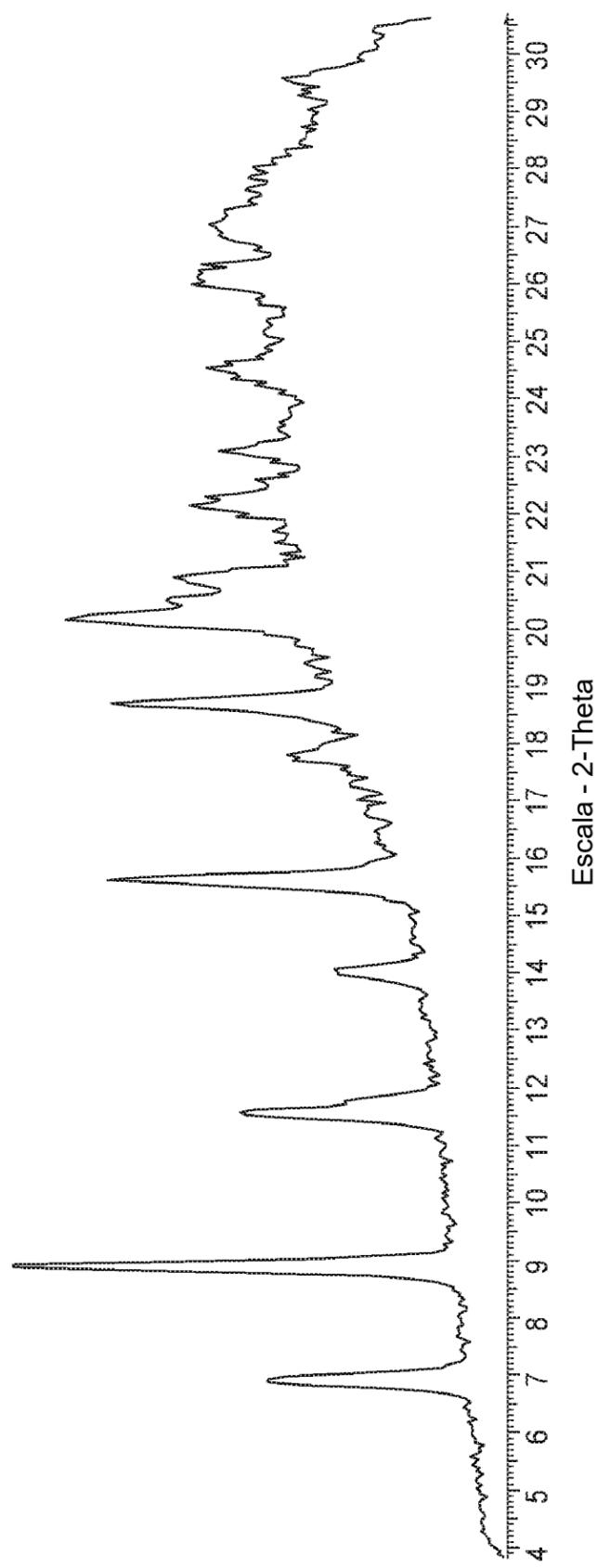


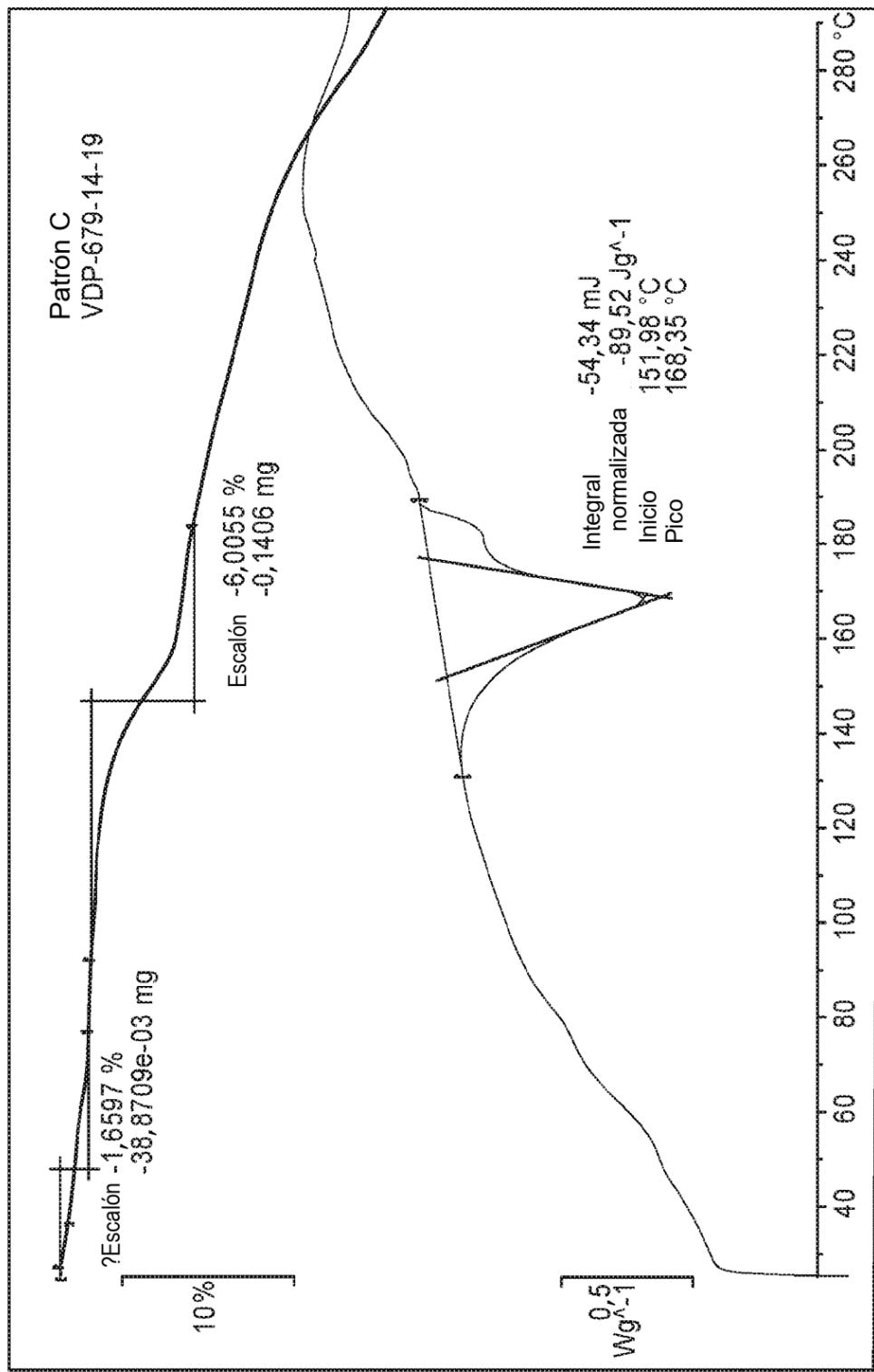
FIGURA 11

FIGURA 12

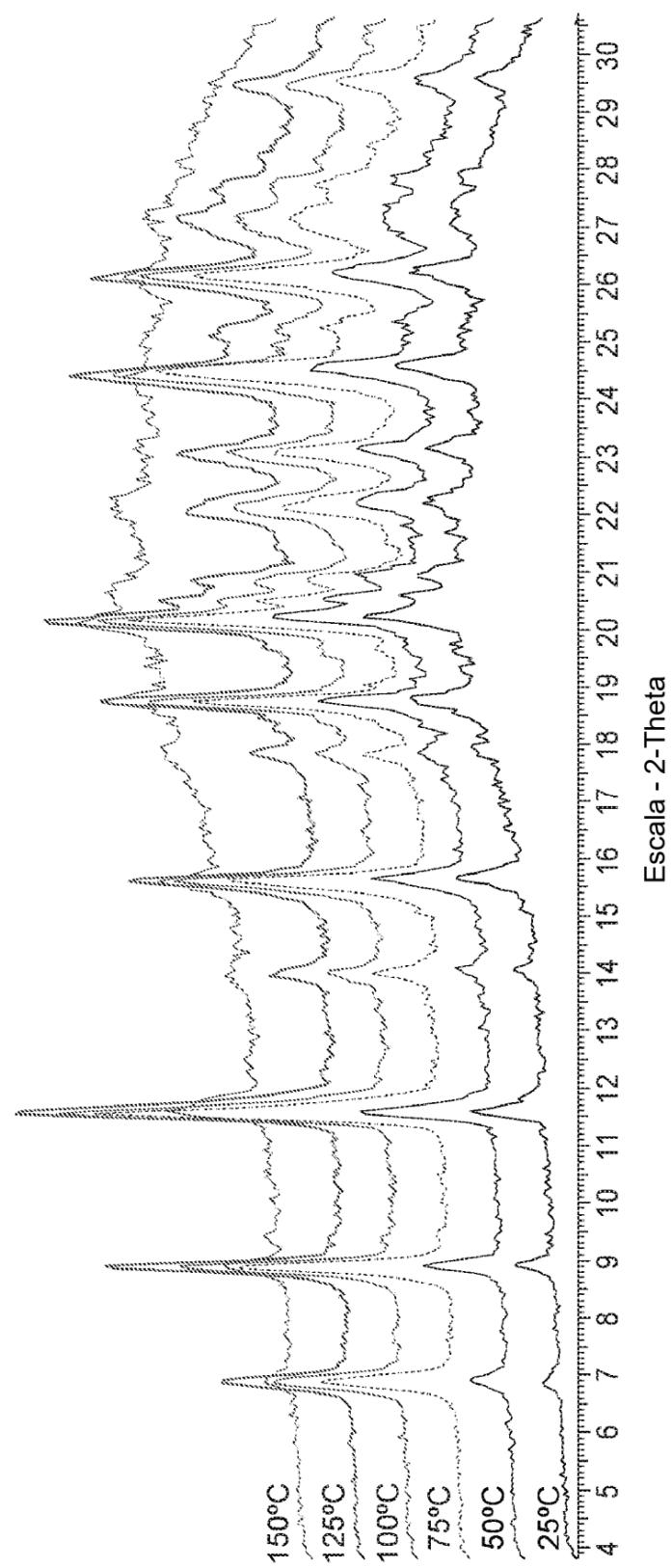


FIGURA 13A

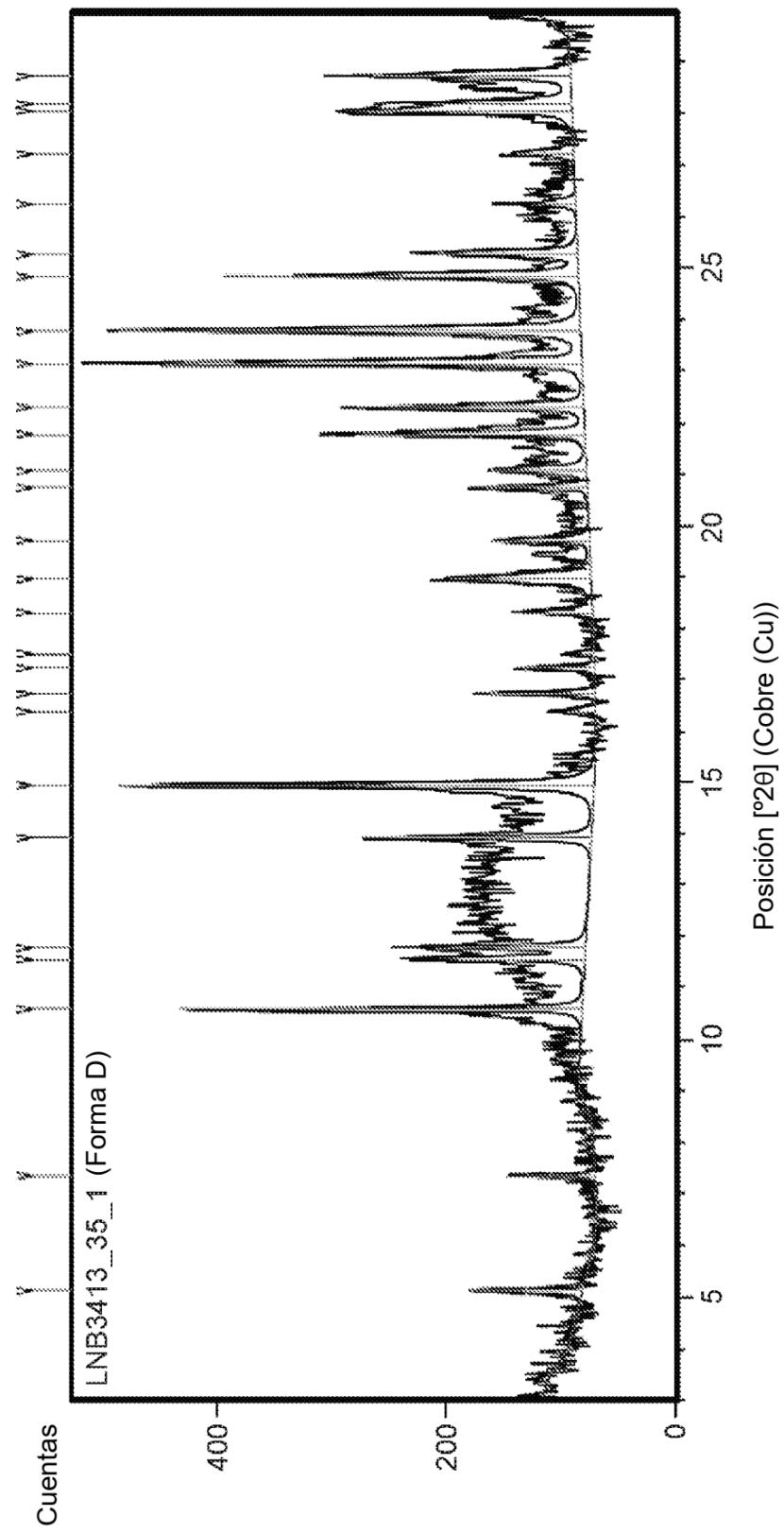


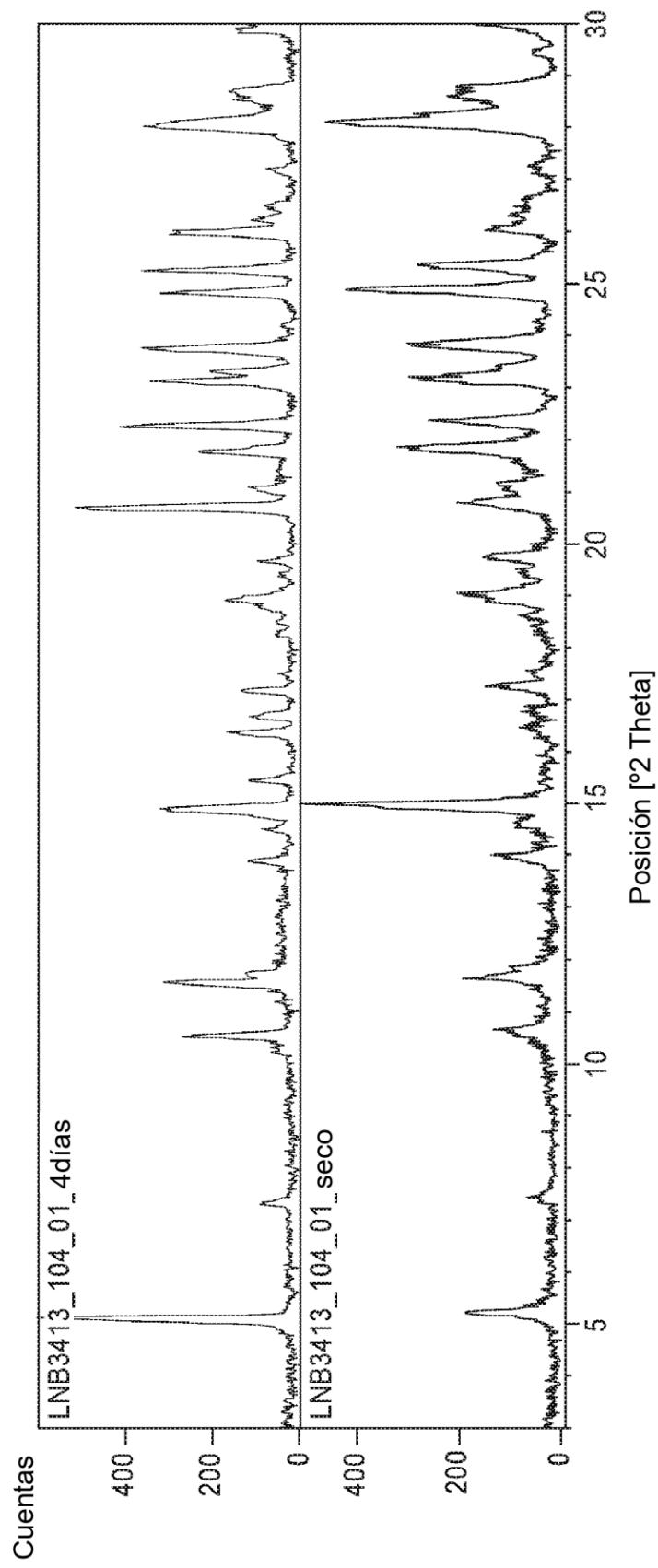
FIGURA 13B

FIGURA 13C

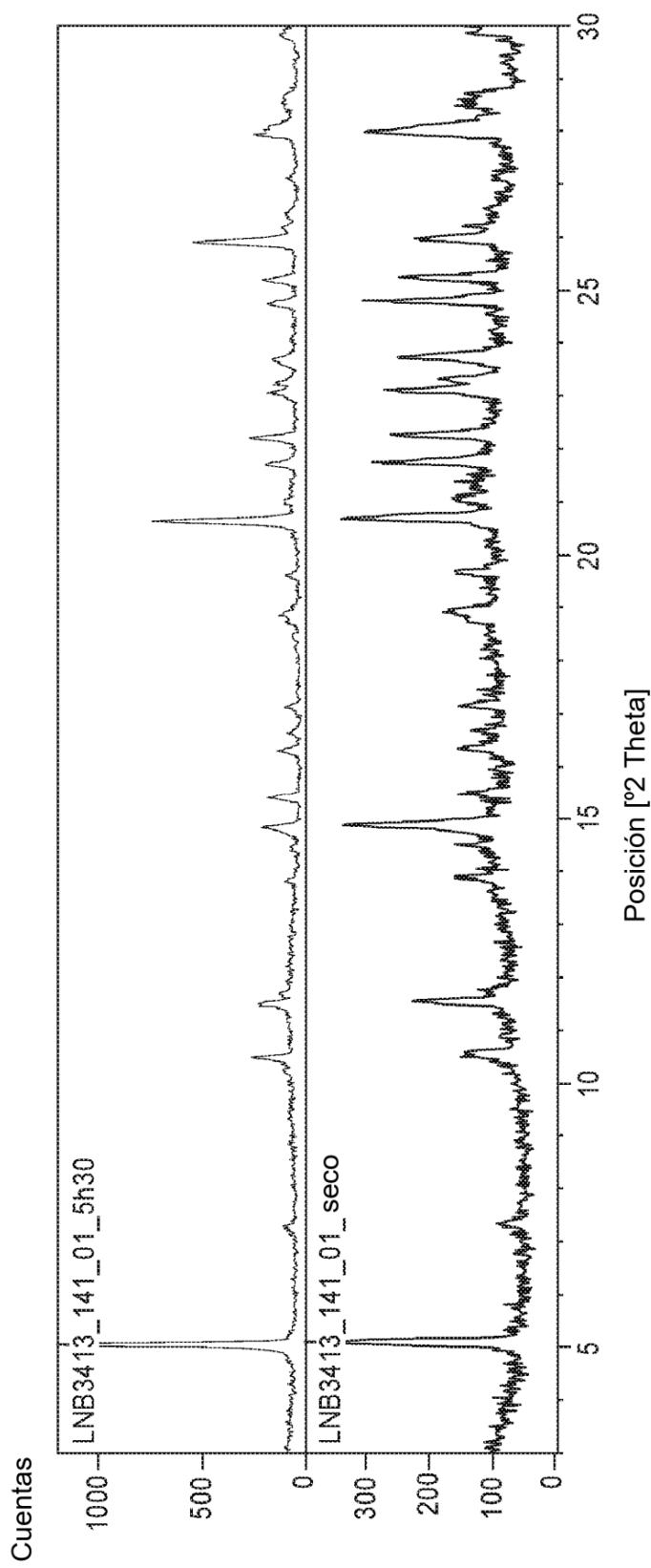


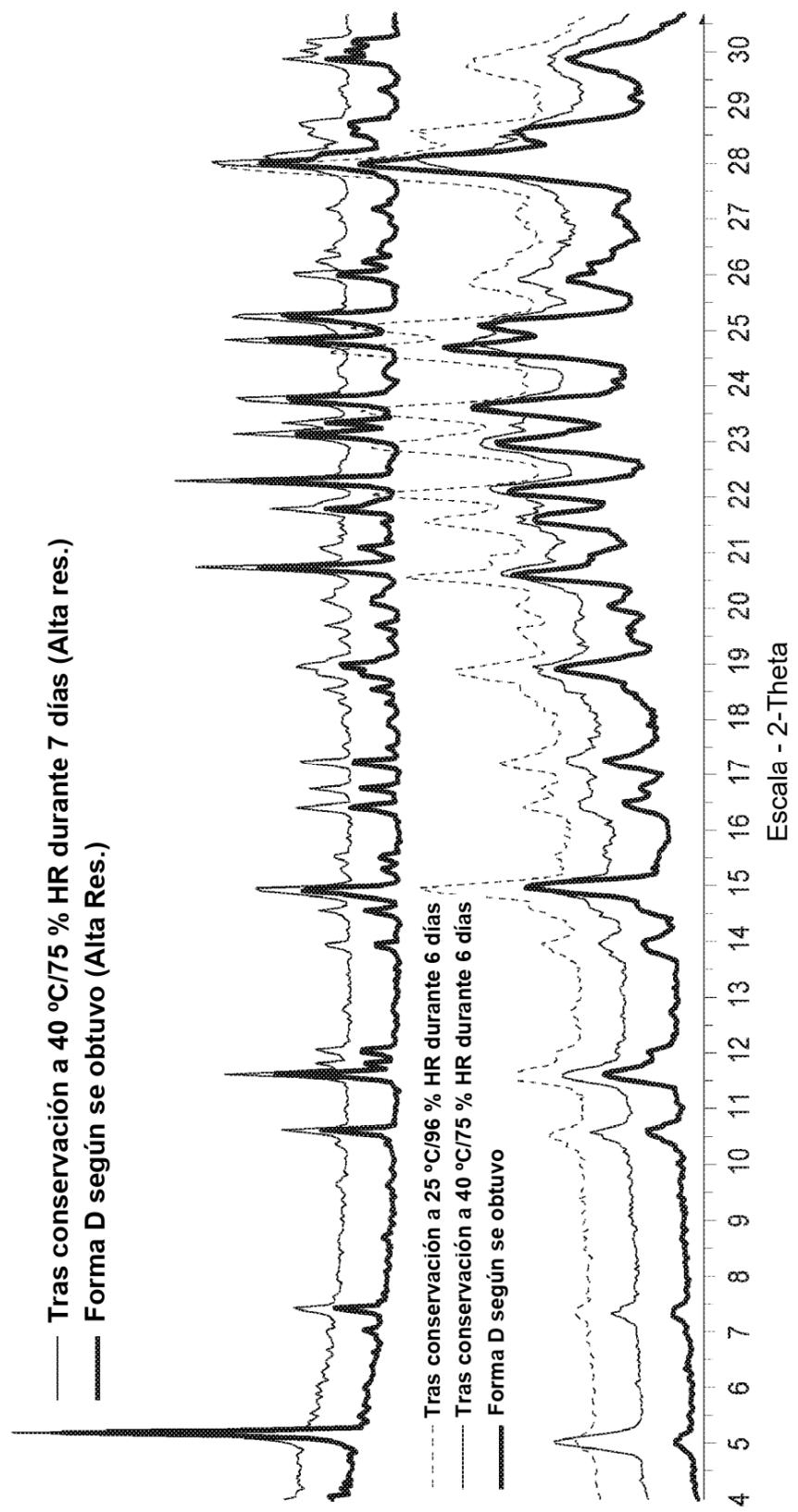
FIGURA 14

FIGURA 15

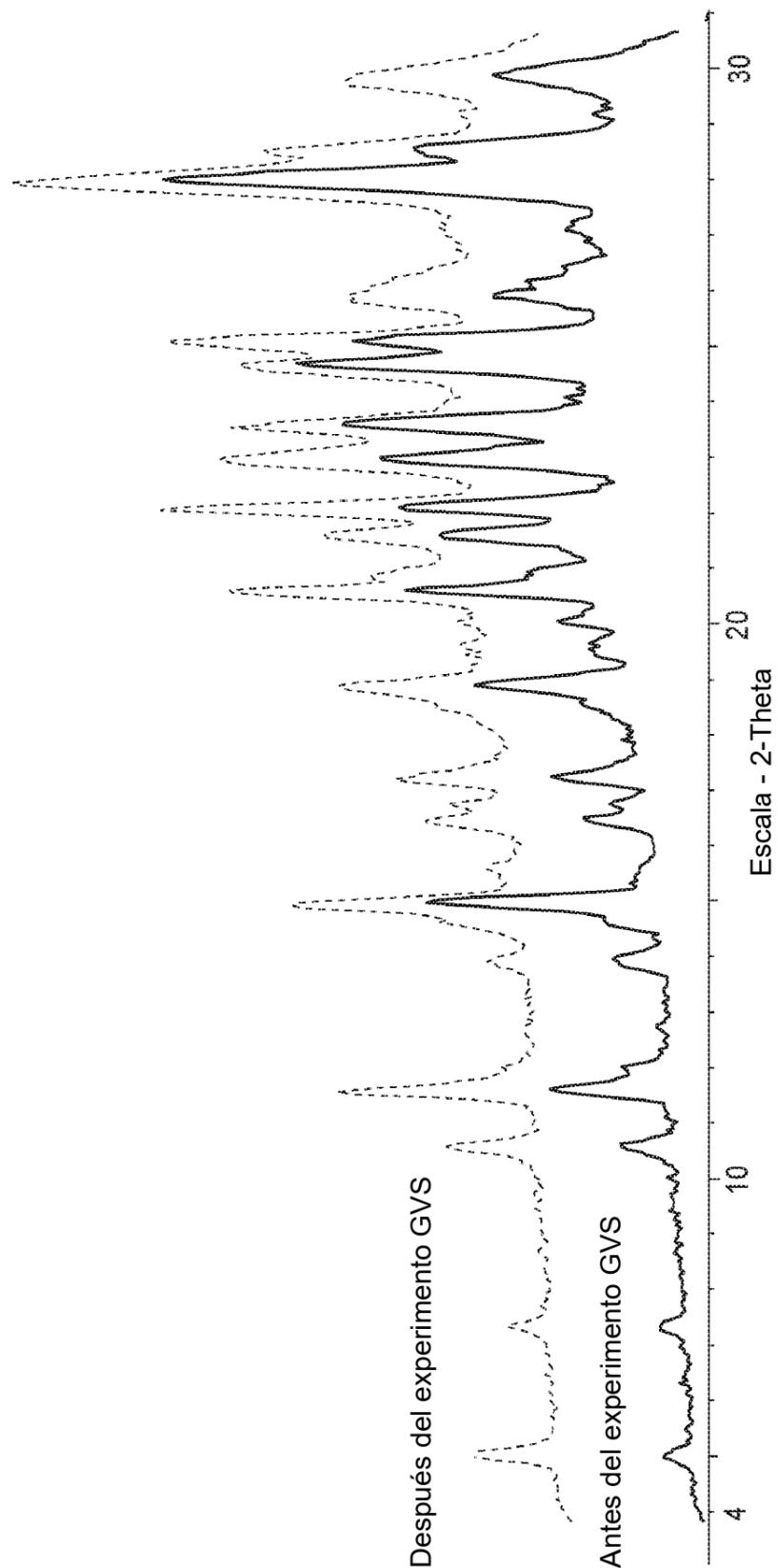


FIGURA 16A

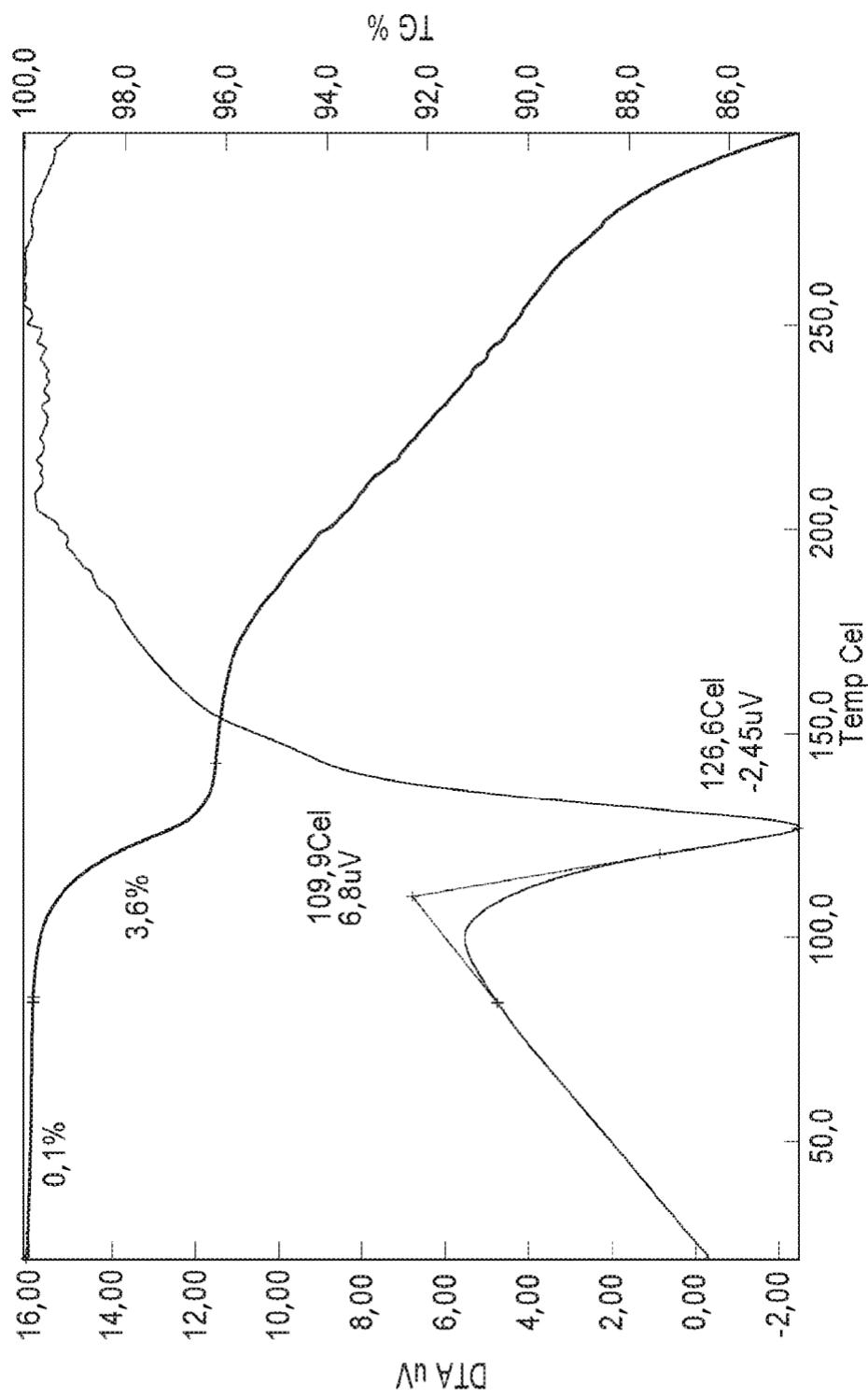


FIGURA 16B

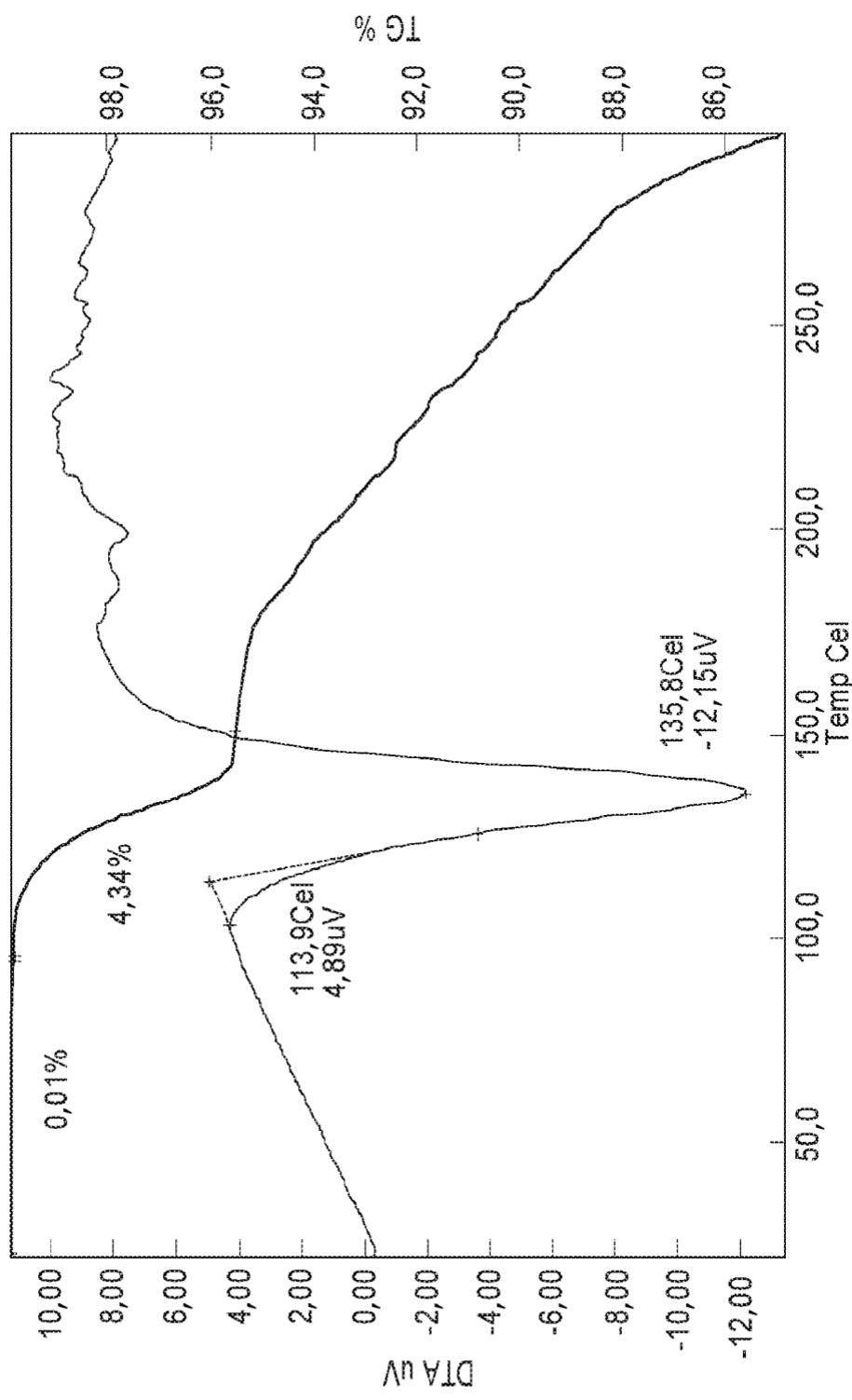


FIGURA 16C

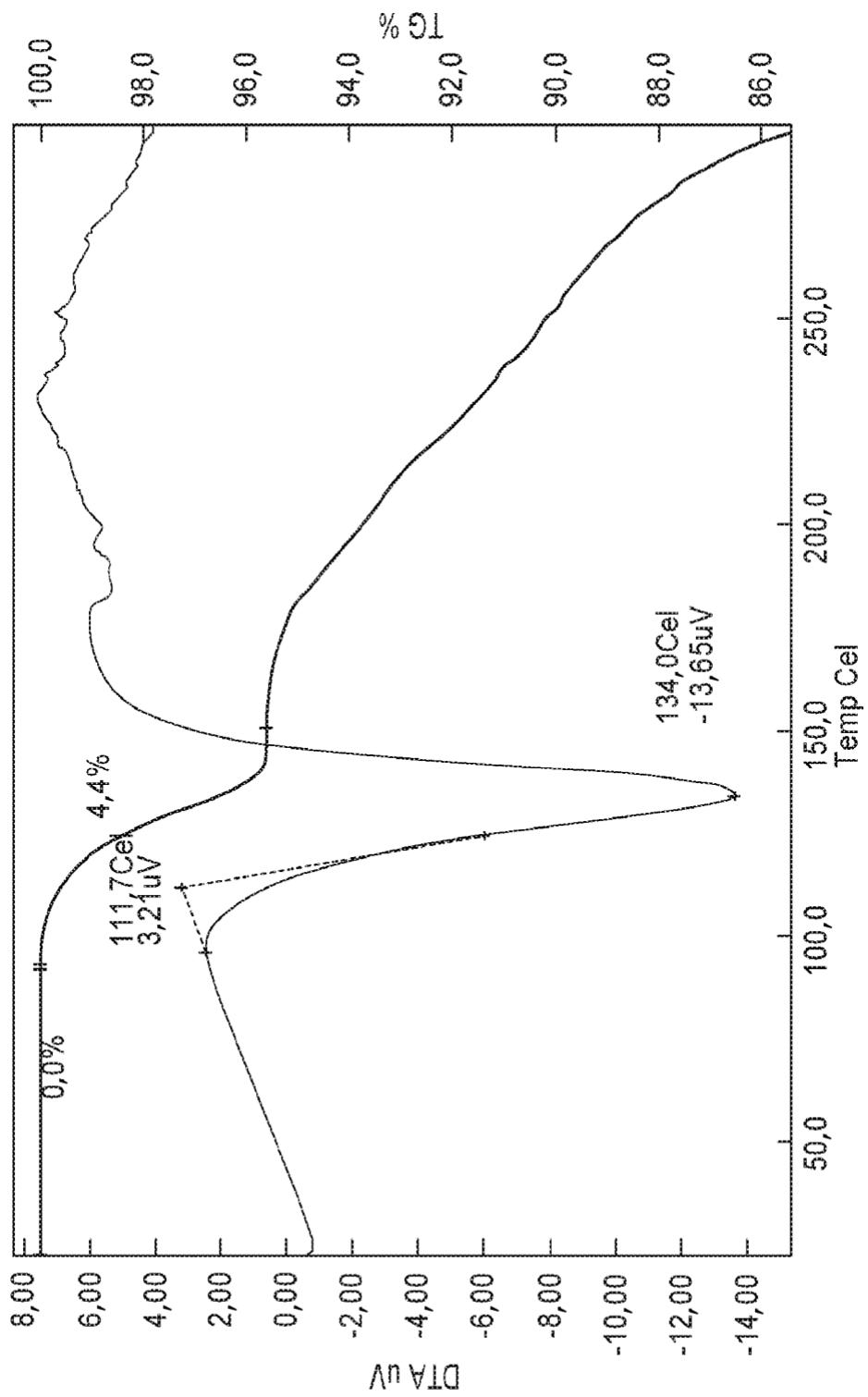


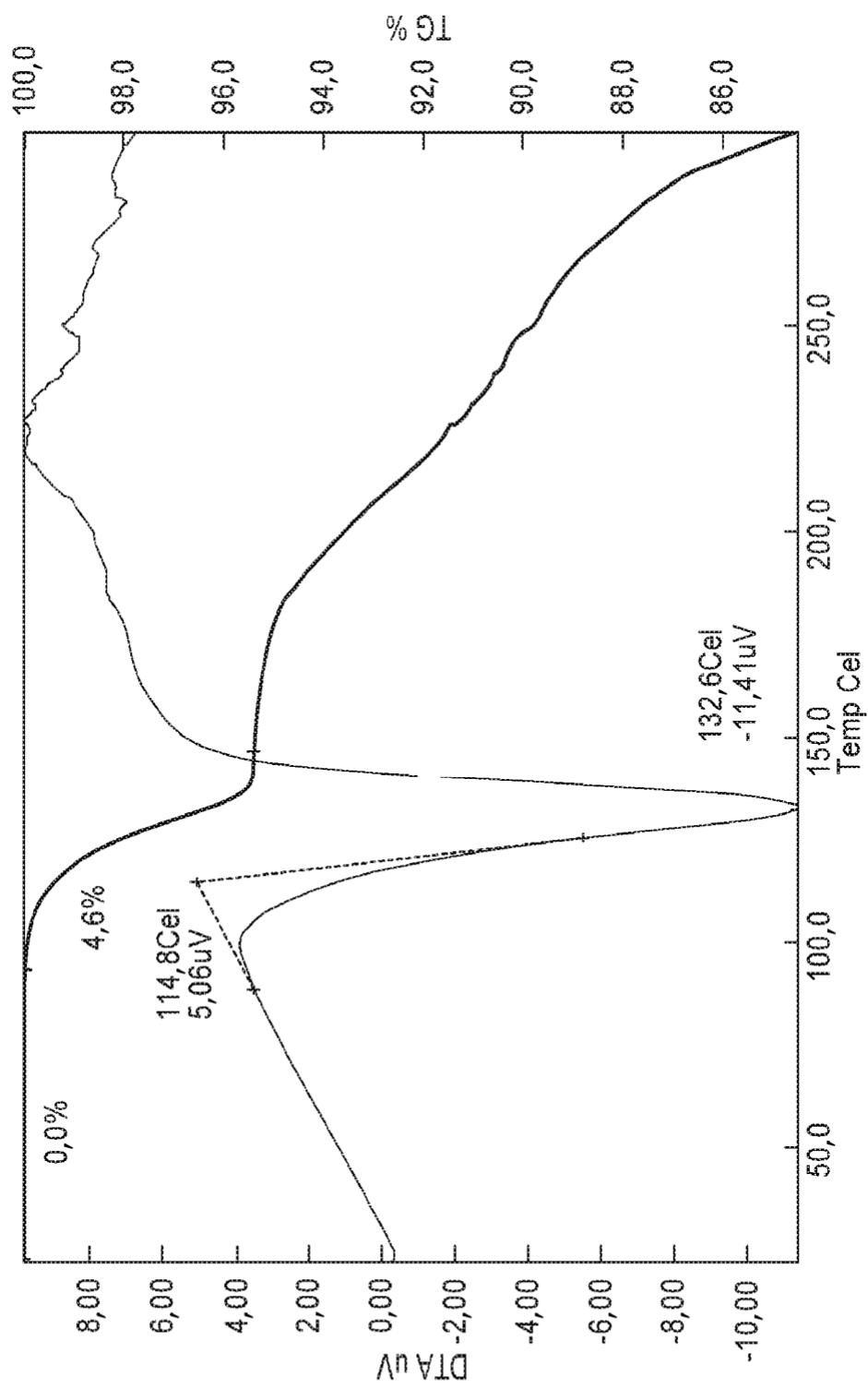
FIGURA 16D

FIGURA 17A

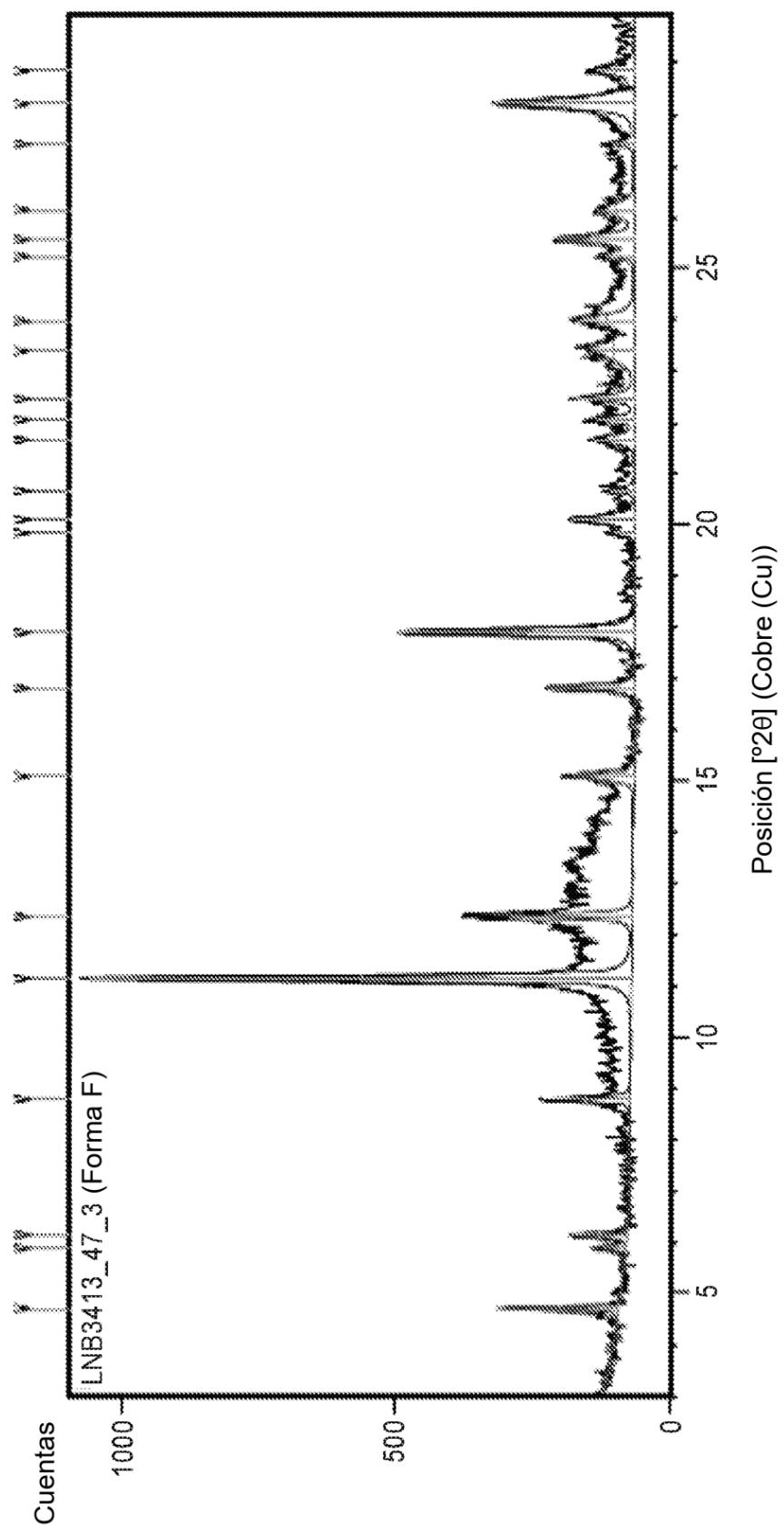


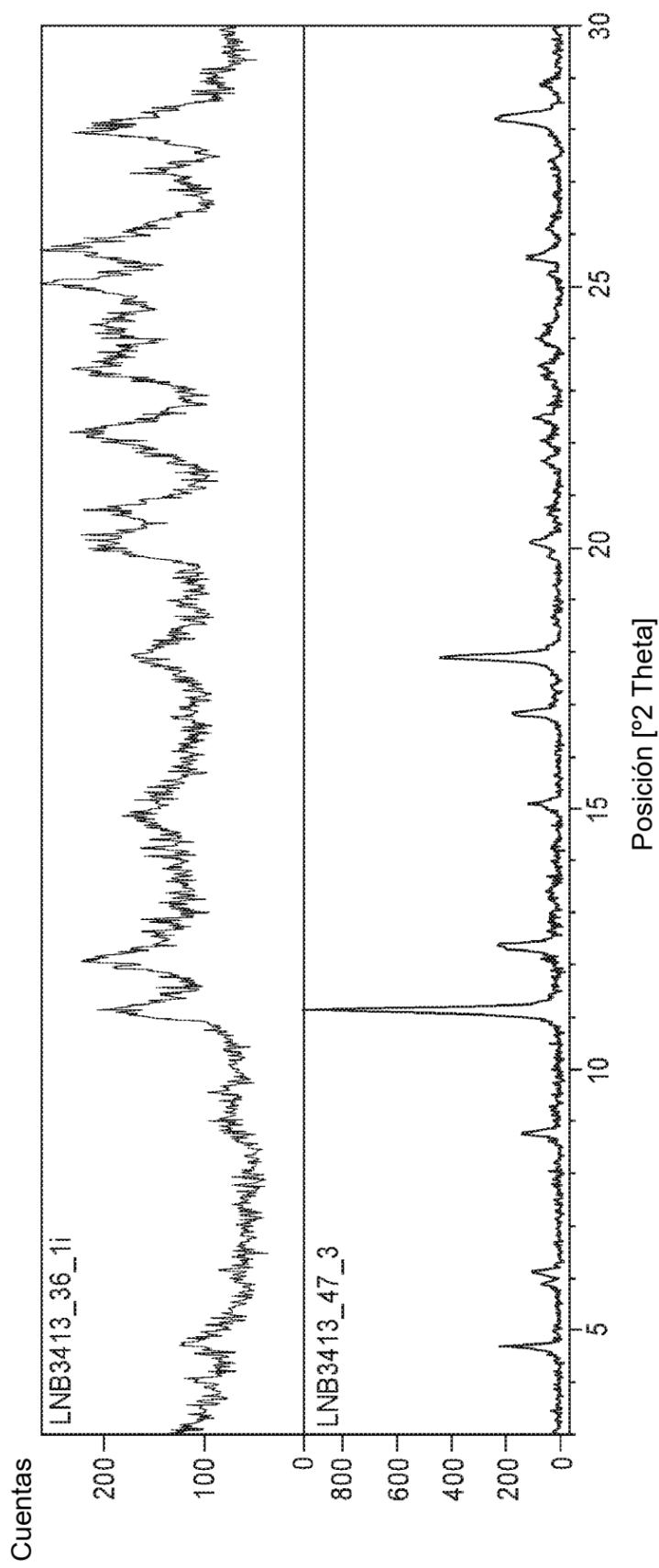
FIGURA 17B

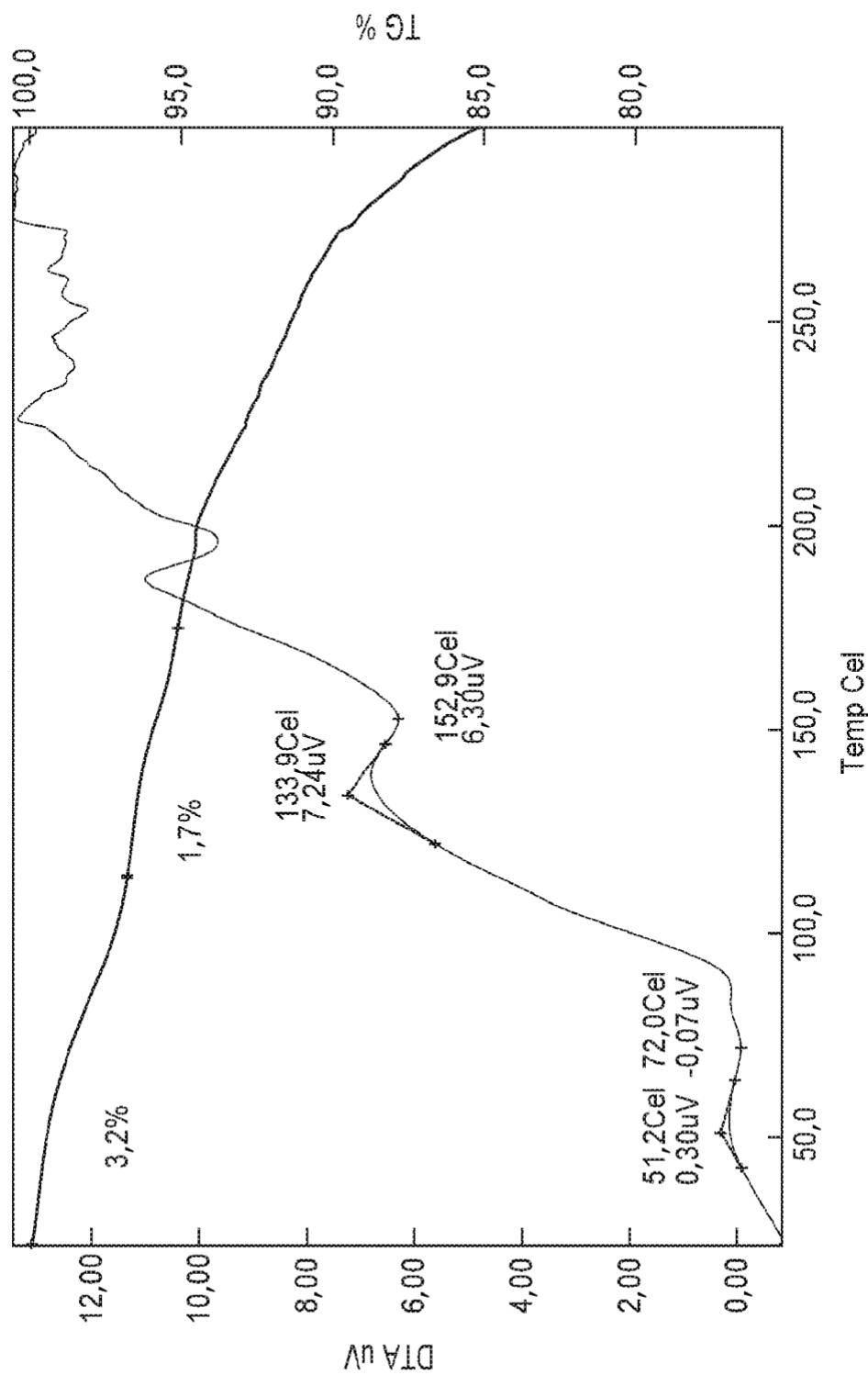
FIGURA 18

FIGURA 19

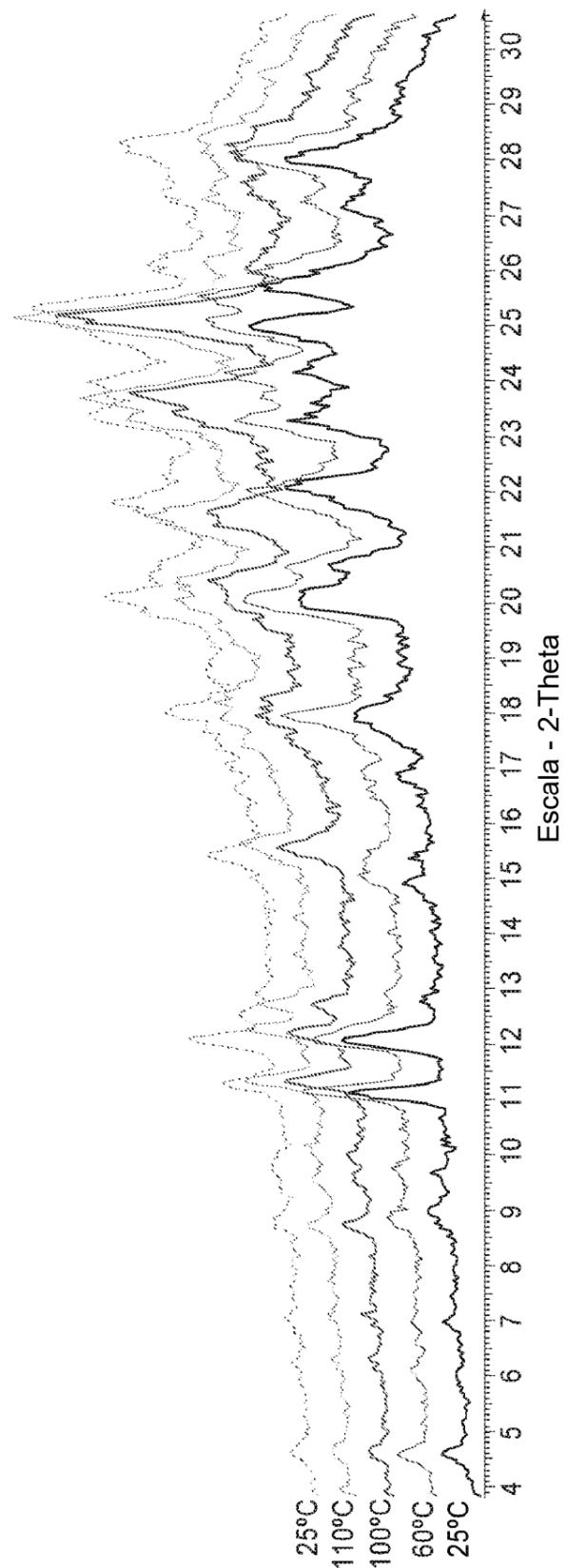


FIGURA 20A

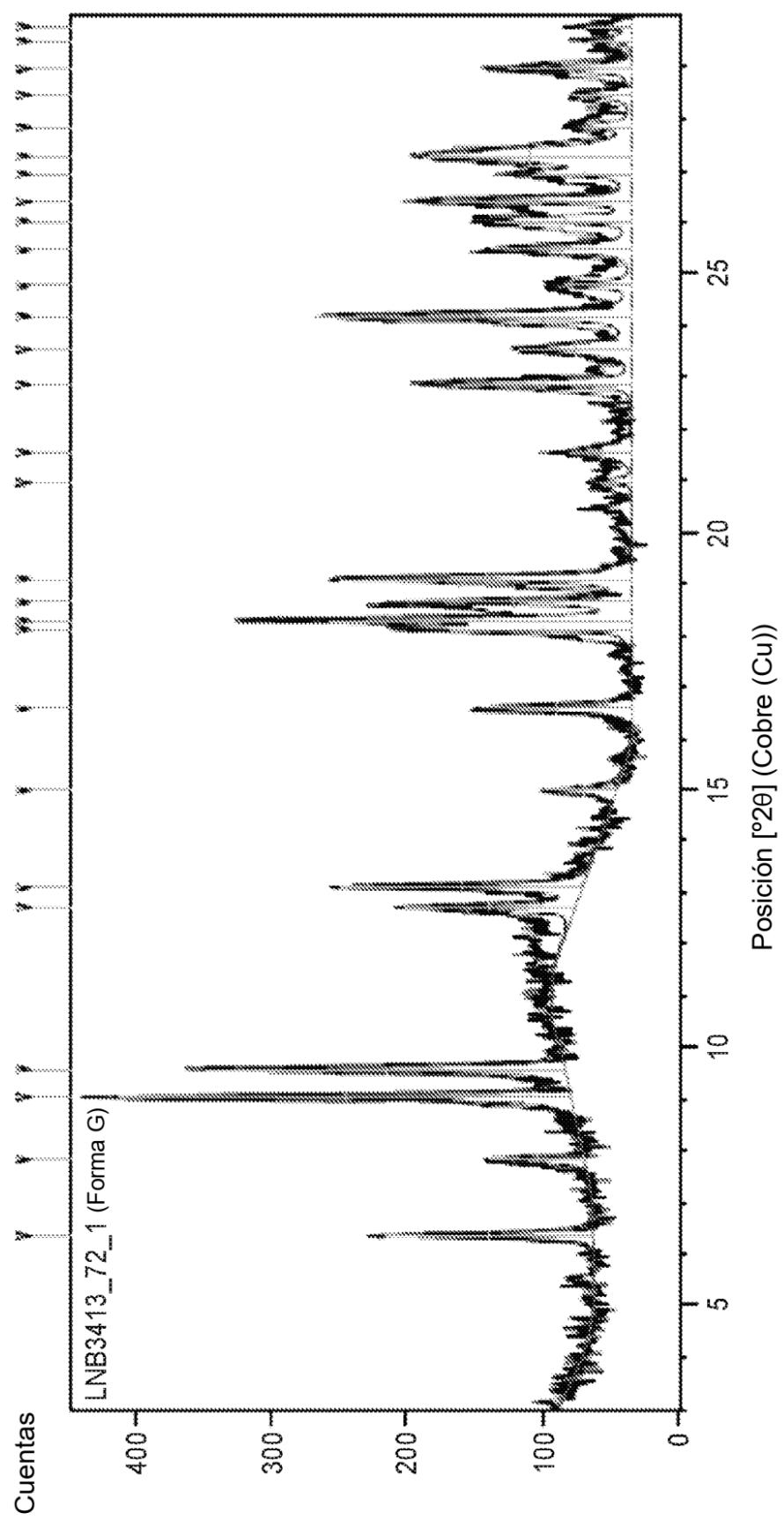


FIGURA 20B

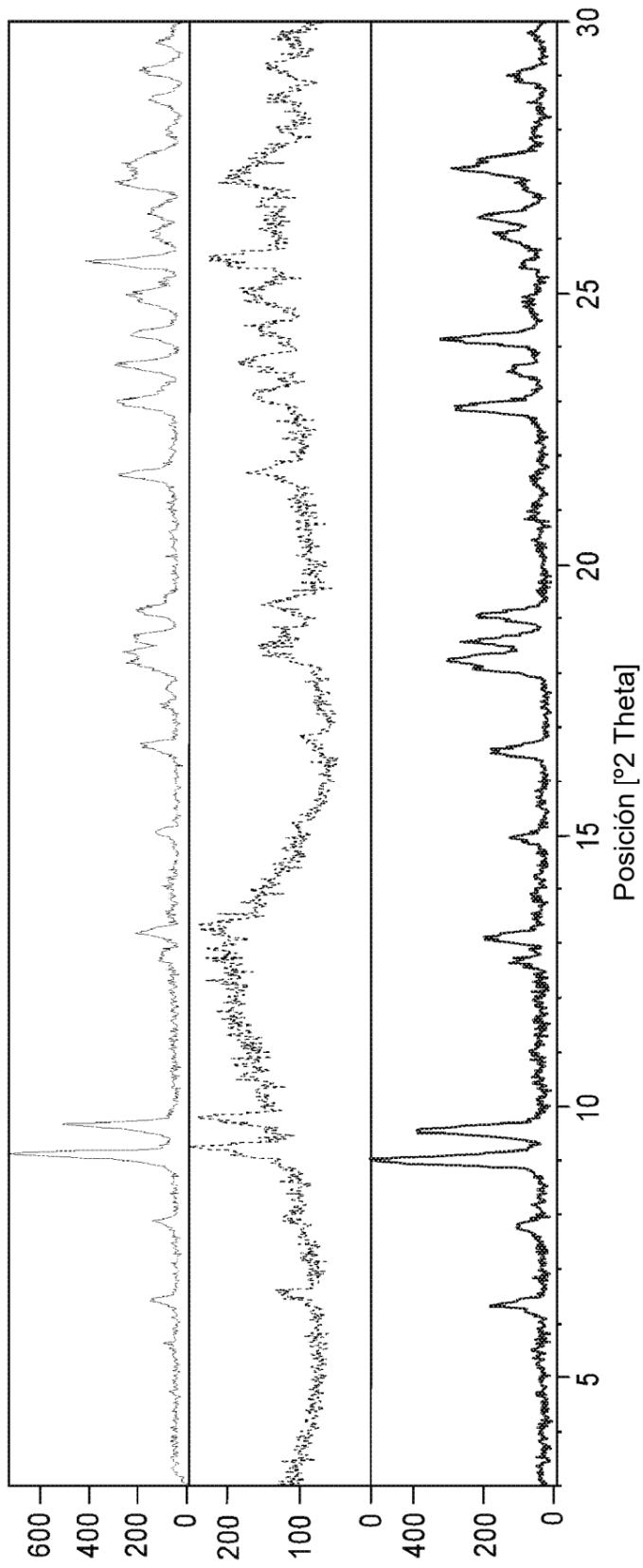
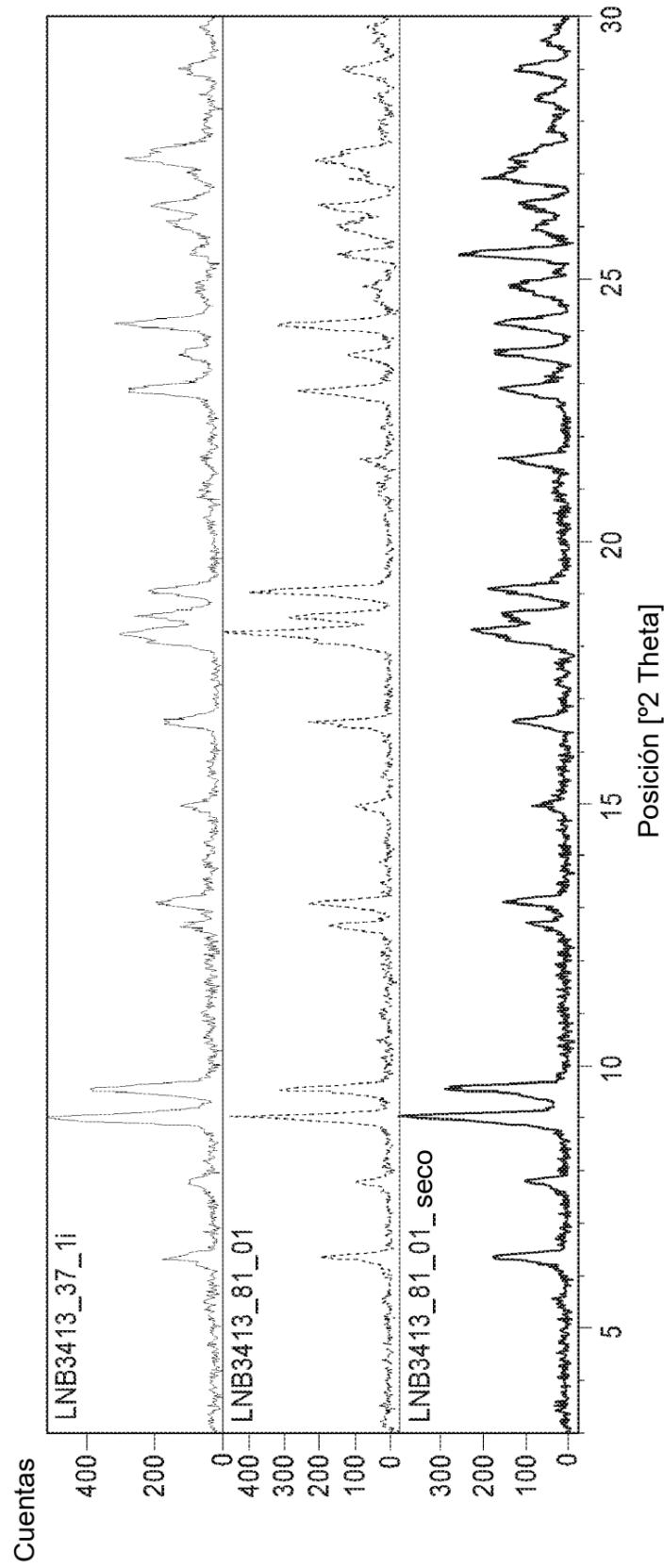


FIGURA 20C



ES 2 935 818 T3

FIGURA 21A

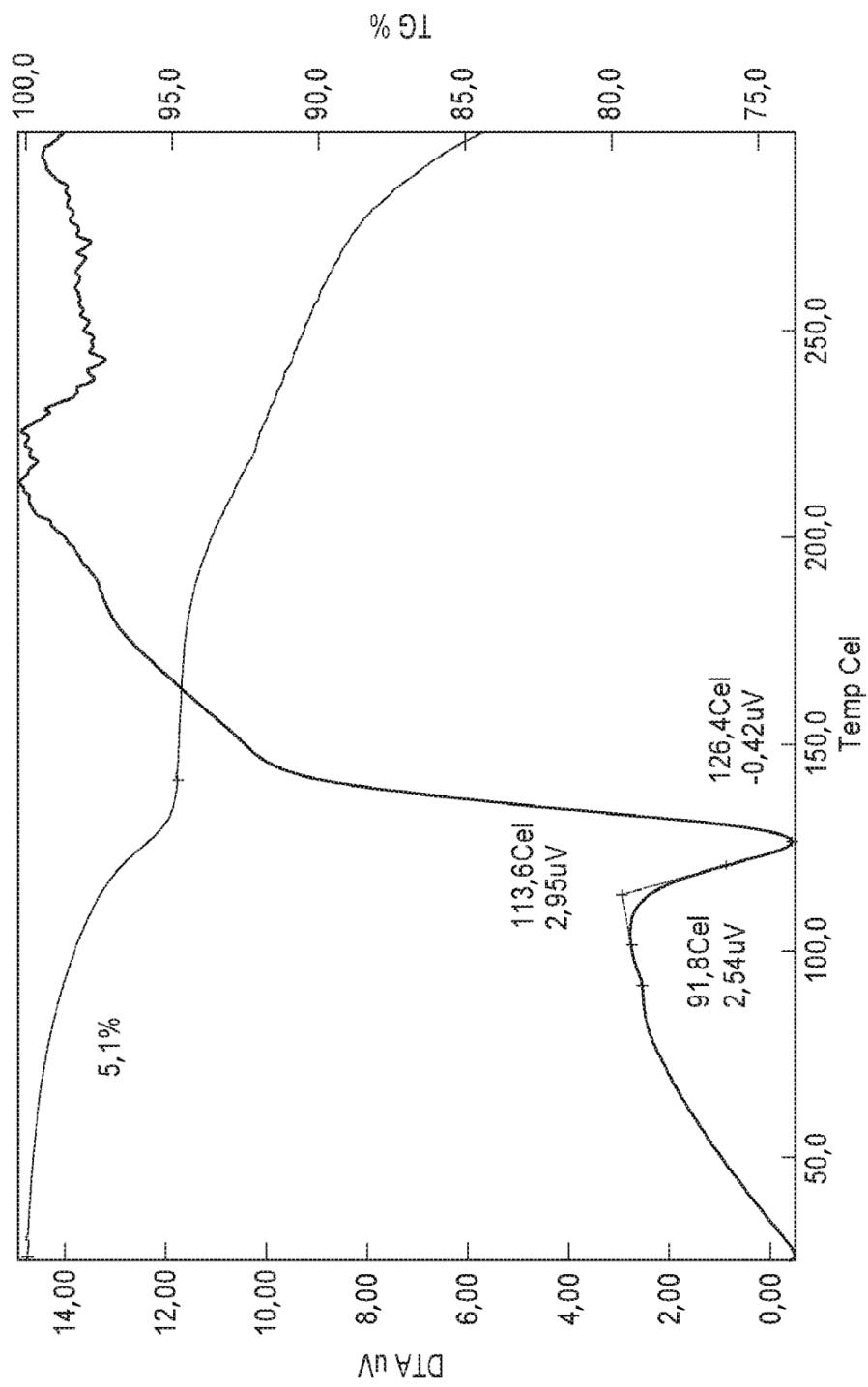


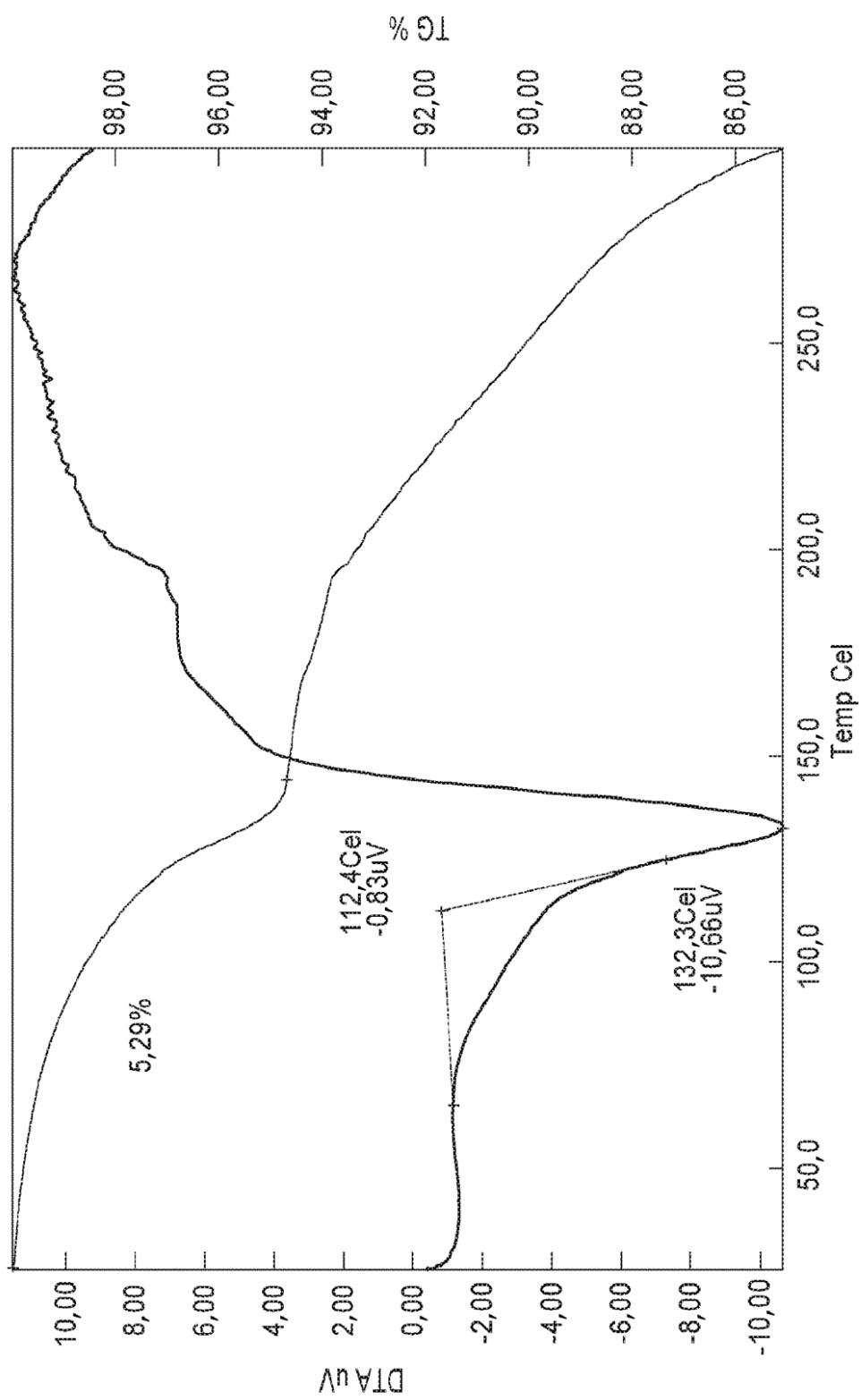
FIGURA 21B

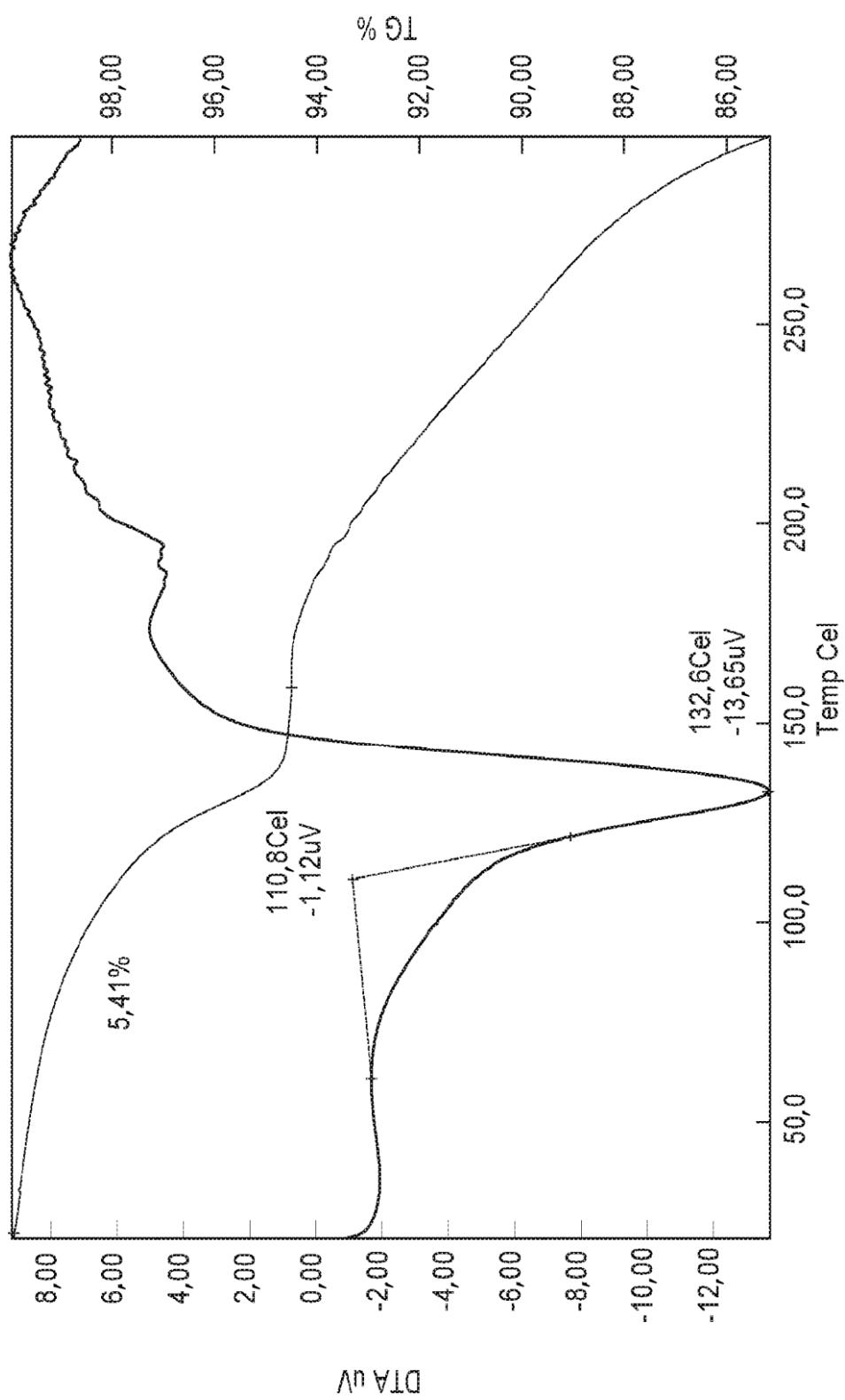
FIGURA 21C

FIGURA 21D

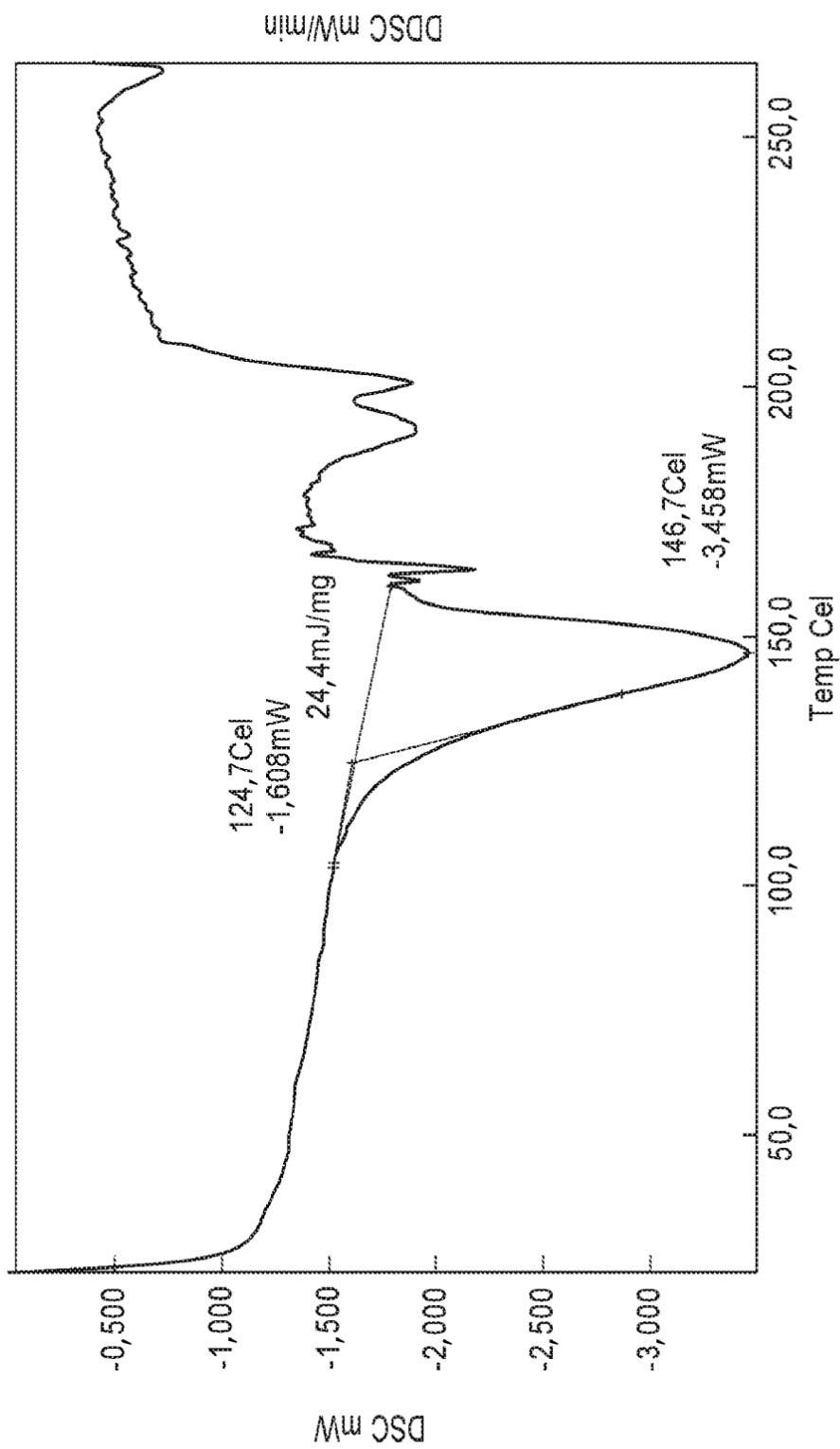


FIGURA 22

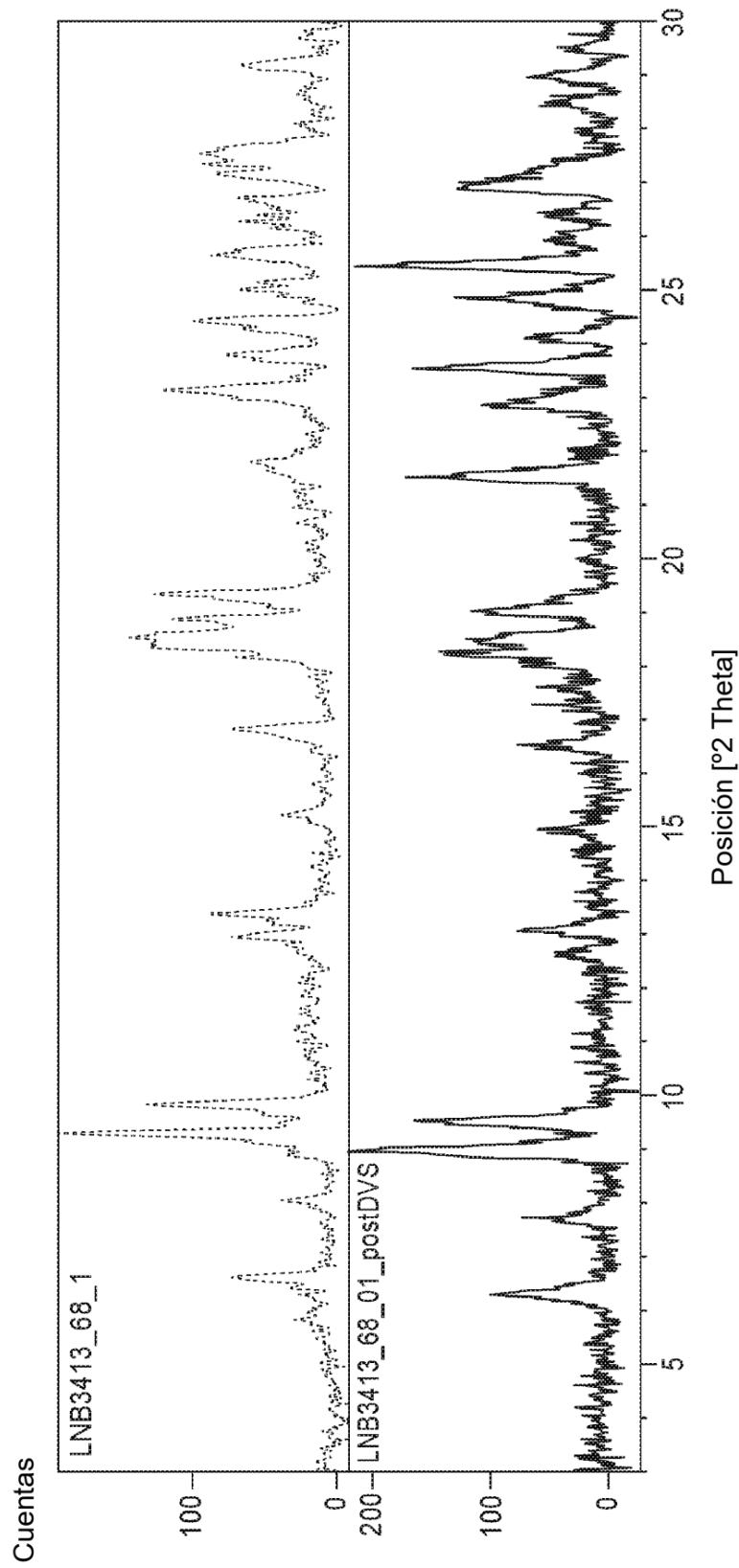


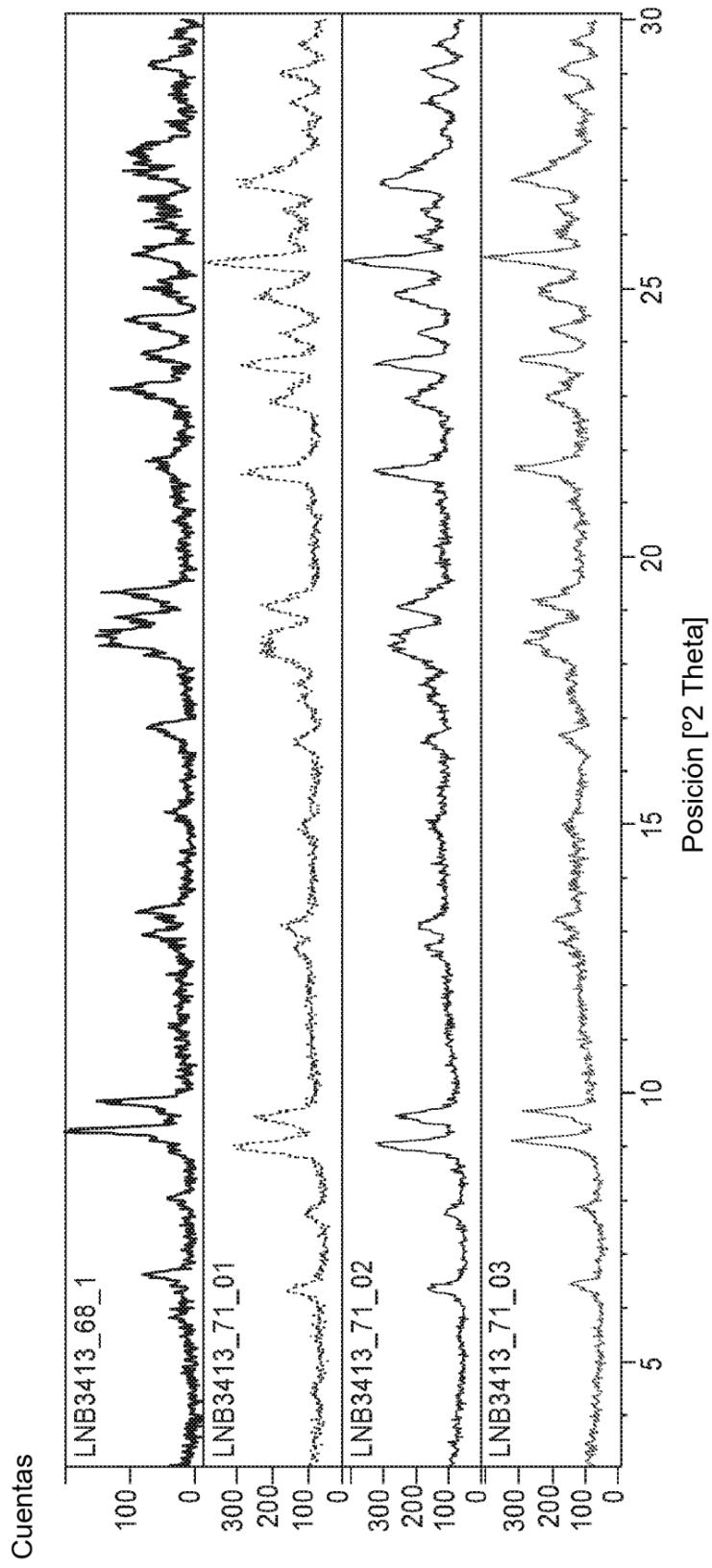
FIGURA 23

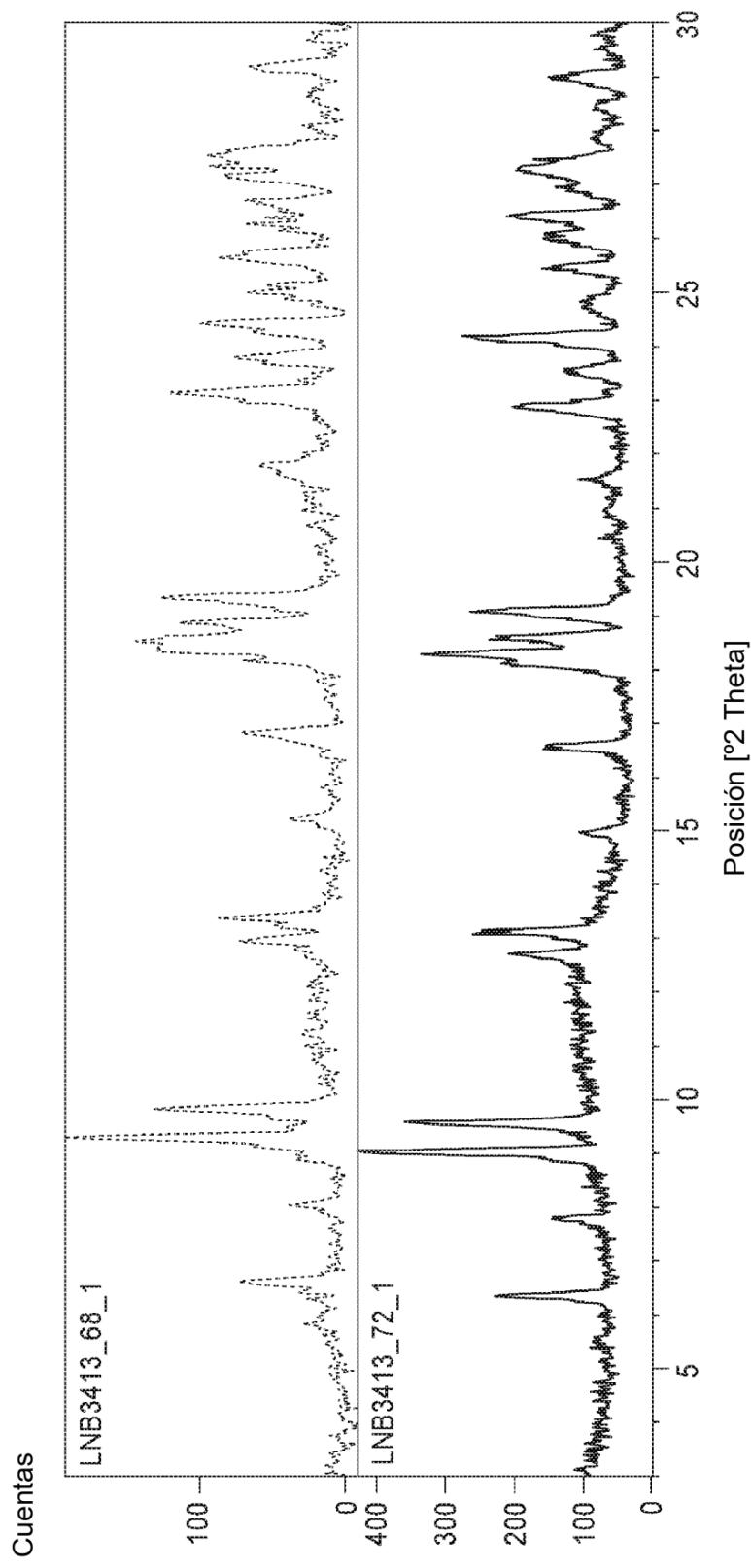
FIGURA 24

FIGURA 25

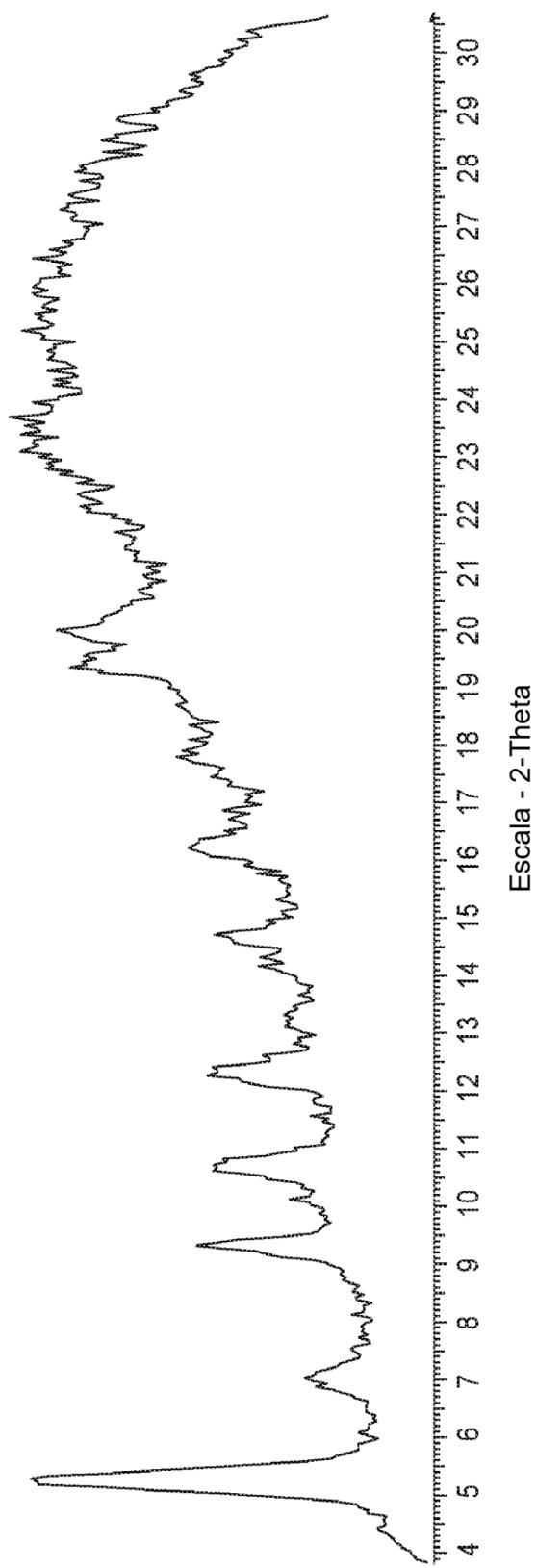


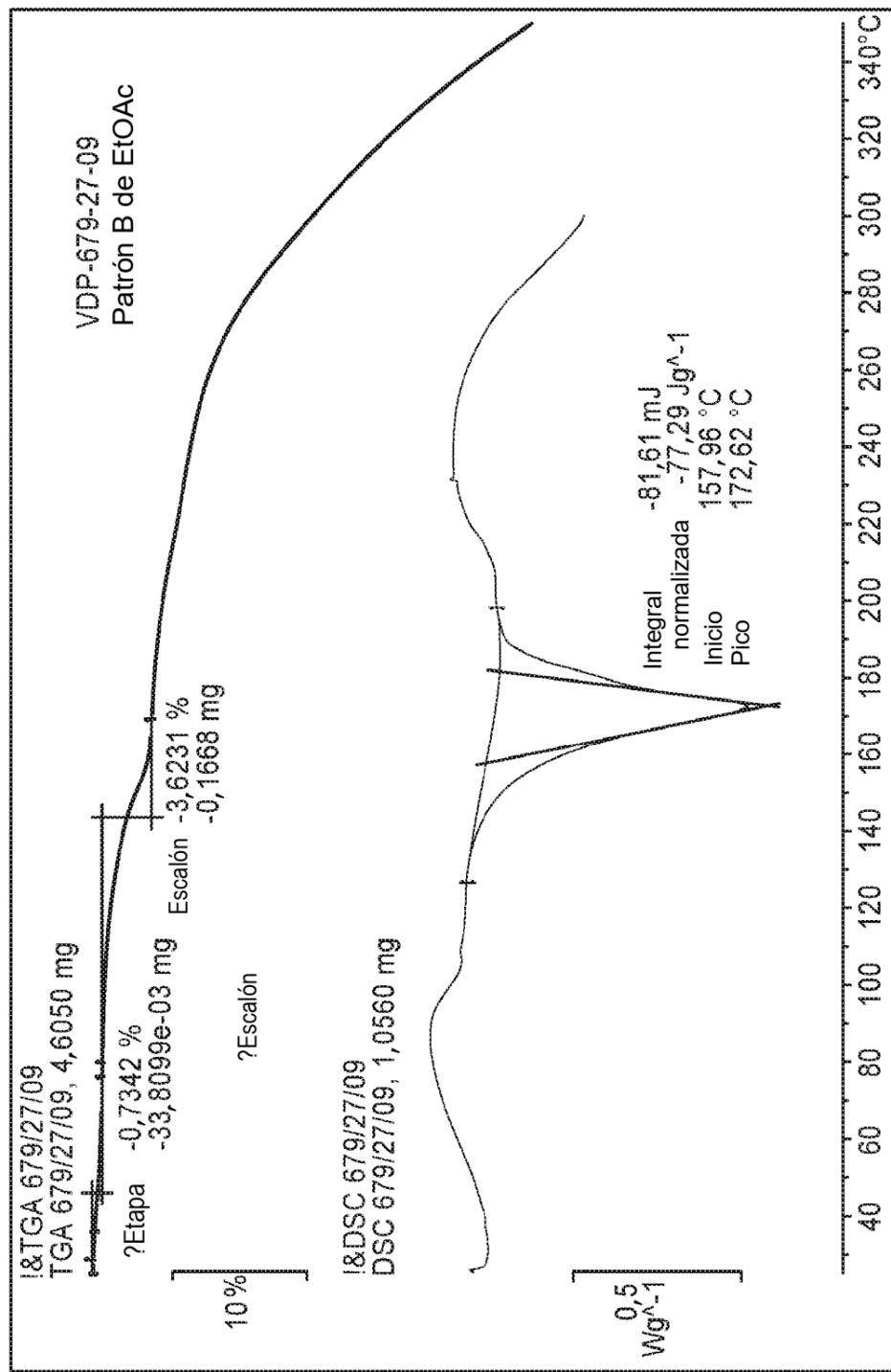
FIGURA 26

FIGURA 27

