

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 994 283**

⑮ Int. Cl.:

C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2018 PCT/IB2018/052745**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **25.10.2018 WO18193410**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2018 E 18722731 (9)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2024 EP 3612524**

④ Título: **Derivado de 6-pirimidina-isoindol como inhibidor de ERK1/2**

⑩ Prioridad:

20.04.2017 GB 201706327

④ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

21.01.2025

⑦ Titular/es:

OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.00%)
2-9, Kanda Tsukasa-machi Chiyoda-ku
Tokyo 101-8535, JP

⑦ Inventor/es:

READER, MICHAEL;
WILSHER, NICOLA ELIZABETH;
SAUNDERS, MARK HENRY;
BAGULEY, PAUL ANTHONY;
LINDLEY, COLIN THOMAS;
MELLING, ROBERT CRAIG;
ADAMCZYK, BOZENA EWA y
SCARATI, MIRKA

⑦ Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 994 283 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

Derivado de 6-pirimidina-isoindol como inhibidor de ERK1/2

- 5 Esta invención se refiere al compuesto (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida, y en particular a nuevas formas físicas del compuesto, un proceso para preparar el compuesto e intermedios sintéticos para su uso en el proceso, y nuevas formulaciones que contienen el compuesto, así como usos terapéuticos del compuesto.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Señalización MAPK y el papel de ERK1/2

15 Las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) son quinasas de proteína serina/treonina expresadas de forma ubicua que comprenden un componente clave de la vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK). La vía MAPK es una vía de señalización celular conservada evolutivamente que regula una variedad de procesos celulares, incluida la progresión del ciclo celular, la migración celular, la supervivencia celular, la diferenciación, el metabolismo, la proliferación y la transcripción. La vía de señalización ERK/MAPK responde a la estimulación extracelular de las tirosina quinasas del receptor 20 de la superficie celular (RTK). Tras la activación de las RTK, las GTPasas RAS (K-RAS, N-RAS y H-RAS) se convierten de un estado inactivo unido a GDP a un estado activo unido a GTP. El RAS activado fosforila y, por lo tanto, activa RAF (A-RAF, B-RAF y C-RAF), que a su vez fosforila y activa la quinasa de doble especificidad MEK (MEK1/2). Posteriormente, la MEK activada fosforila y activa ERK1/2. Tras la activación, ERK1/2 activa múltiples sustratos nucleares y citoplasmáticos. Actualmente se conocen > 200 sustratos de ERK1/2, que 25 incluyen factores de transcripción, quinasas, fosfatases y proteínas citoesqueléticas (Roskoski, Pharmacol. Res. 2012; 66: 105-143).

30 Se han identificado varias isozimas de ERK (ERK1, ERK2, ERK3/4, ERK5, ERK7), pero las dos isozimas más estudiadas son ERK1 y ERK2: véase R. Roberts, J. Exp. Pharm., The extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway: a potential therapeutic target in hypertension, 2012; 4, 77-83, y Cargnello et al., Microbiol. & Mol. Biol. Rev., Activation and Function of the MAPKs and Their Substrates, the MAPK-Activated Protein Kinases 2011, 50-83.

Regulación positiva de la señalización ERK1/2 en el cáncer

35 La actividad de ERK1/2 se regula positivamente comúnmente en el cáncer, como resultado de mutaciones activadoras dentro de los componentes anteriores de la vía MAPK. Aproximadamente el 30 % de los cánceres humanos contienen mutaciones activadoras de RAS (Roberts y Der, Oncogene. 2007; 26: 3291-3310). K-RAS es la isoforma más frecuentemente mutada y está mutada en el 22 % de todos los tumores. Las mutaciones 40 de KRAS son particularmente frecuentes en el adenocarcinoma de páncreas (70-90 %), el carcinoma de células no pequeñas (10-20 %) y el cáncer colorrectal (25-35 %) (Neuzillet et al., 2014. Pharmacol. Ther. 141; 160-171). Las mutaciones de N-RAS y H-RAS ocurren en el 8 % y el 3 % de los cánceres, respectivamente (Prior et al., Cancer Res. 2012; 72 (10): 2457-2467). Notablemente, se han informado mutaciones activadoras de N-RAS en el 15-20 % de los casos de melanoma. Además, las mutaciones activadoras de B-RAF ocurren en el 45 8 % de todos los tumores y son particularmente frecuentes en el melanoma (50-60 %), el cáncer papilar de tiroides (40-60 %), el cáncer colorrectal (5-10 %) y el cáncer de pulmón de células no pequeñas (3-5 %) (Neuzillet et al., 2014. Pharmacol. Ther. 141; 160-171). Además de la aparición de mutaciones activadoras de RAS y RAF, la vía de señalización de MAPK también puede ser regulada positivamente en el cáncer por la sobreexpresión o activación mutacional de RTKs ascendentes como EGFR (Lynch et al., N Engl J Med. 2004; 50 350: 2129-2139), HER2 (Stephens et al., Nature. 2004; 431: 525-526) y FGFR (Ahmed et al., Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res. 2012; 1823: 850-860).

55 Existen múltiples mecanismos por los cuales la señalización aberrante de ERK1/2 puede contribuir a la progresión del cáncer. Tras la activación, ERK1/2 fosforila y activa una amplia gama de factores de transcripción que participan en la promoción de la proliferación y diferenciación celular, tales como c-Fos (Murphy et al., Nat. Cell Biol. 2002; 4 (8):556-64) y ELK-1 (Gille et al., EMBO J.1995; 14 (5):951-62). Además, se sabe que la señalización ERK1/2 promueve la progresión del ciclo celular a través de múltiples mecanismos, incluyendo la inducción de ciclinas de tipo D y la represión del inhibidor de la quinasa independiente de ciclina p27^{KIP1} (Kawada et al., Oncogene. 1997; 15: 629 - 637, Lavoie et al., J. Biol. Chem. 1996; 271: 20608-20616). 60 Además, la señalización ERK1/2 puede promover la supervivencia celular al regular una variedad de proteínas apoptóticas. Ejemplos de tales mecanismos incluyen la represión dependiente de ERK1/2 de las proteínas proapoptóticas de la familia BCL-2 BIM1 y BAD (She et al., J. Biol. Chem. 2002; 277: 24039-24048. Ley et al., J. Biol. Chem. 2003; 278: 18811-18816) y la estabilización dependiente de ERK1/2 de proteínas antiapoptóticas tales como MCL-1 (Domínguez et al., Oncogene. 2004; 23: 5301-5315).

65

Papel de ERK1/2 en la resistencia a los inhibidores de MAPK

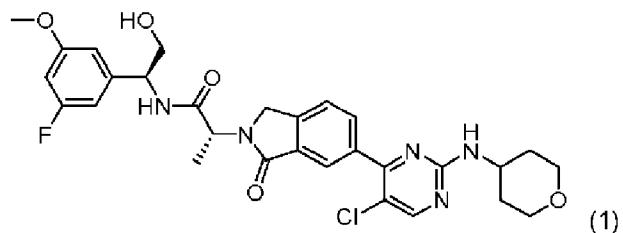
Una amplia gama de estudios preclínicos han demostrado que la inhibición de la vía MAPK suprime el crecimiento de líneas de células cancerosas que albergan mutaciones B-Raf o Ras (Friday & Adjei, Clin. Cancer Res. 2008; 14: 342-346). Los inhibidores de RAF vemurafenib y dabrafenib, y el inhibidor de MEK trametinib 5 están aprobados clínicamente para el tratamiento del melanoma con mutación BRAF. Estos agentes provocan respuestas antitumorales profundas en la mayoría de los pacientes, aunque la duración de la respuesta es de corta duración, debido a la aparición de resistencia adquirida al fármaco (Chapman et al., N. Engl. J. Med. 2011; 364: 2507-2516. Hauschild et al., Lancet. 2012; 380: 358-365. Solit and Rosen, N Engl J Med. 2011; 364 (8): 772-774. Flaherty et al., N. Engl. J. Med. 2012; 367: 1694-1703). Se han identificado múltiples mecanismos de 10 resistencia adquirida a los inhibidores de B-RAF. Estos incluyen la regulación positiva o activación de activadores alternativos de MEK como C-RAF o COT1 (Villanueva et al., Cancer Cell. 2010; 18: 683-95. Johannessen et al., Nature. 2010; 468: 968-72), la regulación positiva de la señalización RTK o NRAS (Nazarian et al., Nature. 2010; 468: 973-7), y la aparición de mutaciones activadoras de MEK (Wagle et al., J Clin Oncol. 2011; 29: 3085-96). Los mecanismos de resistencia a los inhibidores de MEK incluyen la aparición 15 de mutaciones de MEK que reducen la unión del fármaco o mejoran la actividad intrínseca de MEK (Emery et al., Proc Natl. Acad. Sci. 2009; 106: 20411-20416. Wang et al., Cancer Res. 2011; 71: 5535-5545) y amplificación de BRAF o KRAS (Little et al., Biochem Soc. Trans. 2012; 40(1): 73-8). Una característica común 20 de los mecanismos de resistencia a los inhibidores de RAF o MEK es la reactivación de la señalización ERK1/2, que impulsa la proliferación y supervivencia de las células en presencia de inhibidores. Sobre la base de esta observación, se ha sugerido que la inhibición directa de ERK1/2 puede ser un enfoque terapéutico eficaz para superar la resistencia adquirida a los inhibidores de RAF o MEK. Existe evidencia preclínica de que la inhibición de ERK1/2 supera la resistencia adquirida a los inhibidores de RAF o MEK (Hatzivassiliou et al., Mol Cancer Ther. 2012; 11 (5): 1143-54. Morris et al., Cancer Discov. 2013; 3 (7): 742-50).

25 Enfermedades adicionales

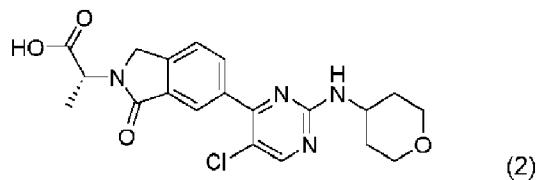
Además de la oncología, también se ha informado de una señalización anormal de ERK1/2 en otras enfermedades, incluyendo la enfermedad cardiovascular (Muslin, Clin. Sci. 2008; 115: 203-218), la enfermedad de Alzheimer (Giovannini et al., Neuroscience. 2008; 153: 618-633), la enfermedad renal poliquística (Omori et al., J Am Soc Nephrol. 2006; 17: 1604-1614), el asma (Duan et al., J Immunol. 2004; 172: 7053-7059) y el enfisema (Mercer et al., J. Biol. Chem. 2004; 279: 17690-17696).

(2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)aminolpirimidin-4-il]-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida}

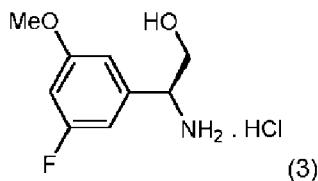
35 Nuestra solicitud de patente internacional anterior número PCT/IB2016/001507 (publicada como WO 2017/068412) divulga una clase de compuestos de benzolactama como inhibidores de ERK2. Uno de los compuestos específicamente divulgados en el mismo es el compuesto (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il]-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida que tiene la fórmula (1):



45 La preparación de este compuesto se describe en el Ejemplo 685 de PCT/IB2016/001507 / WO 2017/068412 e implica la reacción de un compuesto de fórmula (2):



con un compuesto de fórmula (3):



en dimetilformamida (DMF) y trietilamina en presencia del promotor de formación de enlace amida O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU).

- 5 En el Ejemplo 685, se revela que, después del tratamiento y la purificación parcial por cromatografía sobre sílice, el eluato de la columna de cromatografía se evaporó para dar un vidrio que después se trituró con éter para dar el compuesto (1) como un sólido amorf.

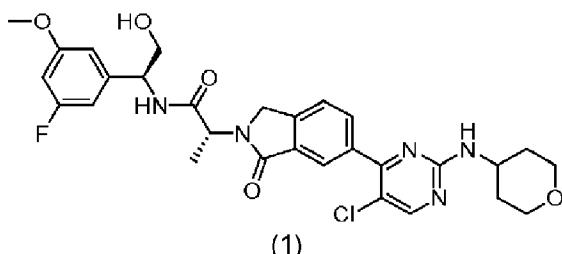
10 **SUMARIO DE LA INVENCIÓN**

En el Ejemplo 685 de PCT/IB2016/001507 / WO 2017/068412, el compuesto (1) se prepara en una forma amorf. Sin embargo, ahora se ha descubierto que se puede preparar una forma cristalina del compuesto de fórmula (1). Por consiguiente, en un primer aspecto, la invención proporciona el compuesto de fórmula (1) en una forma sustancialmente cristalina.

La presente invención también proporciona nuevos métodos para elaborar el compuesto de fórmula (1) e intermedios sintéticos, y nuevas formulaciones que comprenden el compuesto de fórmula (1).

20 **FORMAS CRISTALINAS DEL COMPUUESTO DE FÓRMULA (1)**

En un primer aspecto, la invención proporciona (2*R*)-2-(6-[5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il]-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida, que tiene la fórmula (1):



o una forma tautomérica de la misma, en una forma sustancialmente cristalina.

- 30 Aunque el compuesto de fórmula (1) puede formar sales, las referencias al compuesto en forma cristalina son referencias a la base libre.

Las referencias al compuesto de fórmula (1), cuando el contexto lo admite, incluyen dentro de su alcance todos los solvatos, tautómeros y variaciones isotópicas del mismo.

- 35 En un sólido amorf, la estructura tridimensional que existe normalmente en una forma cristalina no existe y las posiciones de las moléculas unas con respecto a otras en la forma amorf son esencialmente aleatorias, véase por ejemplo Hancock et al. *J. Pharm. Sci.* (1997), 86, 1.
- 40 El término "sustancialmente cristalino" se refiere a formas del compuesto de fórmula (1) en las que es de 50 % a 100 % cristalino. Dentro de este intervalo, el compuesto de fórmula (1) puede ser al menos 55 % cristalino, o al menos 60 % cristalino, o al menos 70 % cristalino, o al menos 80 % cristalino, o al menos 90 % cristalino, o al menos 95 % cristalino, o al menos 98 % cristalino, o al menos 99 % cristalino, o al menos 99.5 % cristalino, o al menos 99.9 % cristalino, por ejemplo 100 % cristalino.

- 45 En una realización particular, la forma cristalina es de 95 % a 100 % cristalina, por ejemplo al menos 98 % cristalina, o al menos 99 % cristalina, o al menos 99.5 % cristalina, o al menos 99.6 % cristalina o al menos 99.7 % cristalina o al menos 99.8 % cristalina o al menos 99.9 % cristalina, por ejemplo 100 % cristalina.

- 50 Las formas cristalinas del compuesto de la invención pueden ser solvatadas (por ejemplo, hidratadas) o no solvatadas (por ejemplo, anhidras).

En una realización, el compuesto es anhidro.

- El término "anhidro" como se utiliza en este documento no excluye la posibilidad de la presencia de algo de agua sobre o en el compuesto (por ejemplo, un cristal del compuesto). Por ejemplo, puede haber algo de agua presente en la superficie del compuesto (por ejemplo, el cristal del compuesto) o pequeñas cantidades dentro del cuerpo del compuesto (por ejemplo, el cristal). Típicamente, una forma anhidra contiene menos de 0.4 moléculas de agua por molécula de compuesto y, más preferiblemente, contiene menos de 0.1 moléculas de agua por molécula de compuesto, por ejemplo, 0 moléculas de agua.
- En otra realización, el compuesto está solvatado, por ejemplo hidratado. Cuando las formas cristalinas están hidratadas, pueden contener, por ejemplo, hasta tres moléculas de agua de cristalización, más habitualmente hasta dos moléculas de agua, por ejemplo una molécula de agua o dos moléculas de agua. También pueden formarse hidratos no estequiométricos en los que el número de moléculas de agua presentes es menor que uno o, de lo contrario, no es un número entero. Por ejemplo, cuando hay menos de una molécula de agua presente, puede haber, por ejemplo, 0.4, o 0.5, o 0.6, o 0.7, o 0.8, o 0.9 moléculas de agua presentes por molécula del compuesto (1).
- En una realización, la forma cristalina del compuesto (1) es un monohidrato y la forma cristalina contiene una molécula de agua de cristalización.
- Otros solvatos incluyen alcoholatos tales como etanolatos e isopropanolatos.
- Las formas cristalinas descritas en este documento, sus cristales y su estructura cristalina forman aspectos adicionales de la invención.
- Los cristales y sus estructuras cristalinas se pueden caracterizar utilizando una serie de técnicas que incluyen, difracción de rayos X de polvo (XRPD), difracción de rayos X de un solo cristal, calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA). El comportamiento de los cristales en condiciones de humedad variable puede analizarse mediante estudios gravimétricos de sorción de vapor (como la sorción dinámica de vapor).
- La estructura cristalina de un compuesto se puede analizar mediante la técnica de estado sólido de difracción de rayos X de polvo (XRPD). La XRPD se puede llevar a cabo según métodos convencionales tales como los descritos en este documento (véase el Ejemplo 4A) y en *Introduction to X-ray Powder Diffraction*, Ron Jenkins and Robert L. Snyder (John Wiley & Sons, New York, 1996). La presencia de picos definidos (a diferencia del ruido de fondo aleatorio) en un difractograma XRPD indica que el compuesto tiene un grado de cristalinidad.
- El patrón de rayos X de polvo de un compuesto se caracteriza por los parámetros de ángulo de difracción (2θ) y espaciado interplanar (d) de un espectro de difracción de rayos X. Estos están relacionados por la ecuación de Bragg, $n\lambda=2d \sin \theta$, (donde n=1; λ =longitud de onda de la radiación de rayos X; d=espaciado interplanar; y θ =ángulo de difracción). En este documento, los espaciamientos interplanares, el ángulo de difracción y el patrón general son importantes para la identificación del cristal en la difracción de rayos X de polvo, debido a las características de los datos. La intensidad relativa no debe interpretarse de forma estricta, ya que puede variar dependiendo de la dirección del crecimiento del cristal, el tamaño de las partículas y las condiciones de medición. Además, los ángulos de difracción suelen significar aquellos que coinciden en el intervalo de $2\theta \pm 0.2^\circ$.
- Hasta la fecha se han identificado dos formas cristalinas específicas de la base libre del compuesto (1) y en este documento se las denomina "forma A" y "forma B". De las dos, la forma B parece ser la más estable. En los ejemplos siguientes se presentan datos característicos tanto para la forma A como para la forma B.
- Tanto la forma A como la forma B de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida cristalina de la invención se han caracterizado por XRPD (véanse los Ejemplos 3 y 4 y las Figuras 1 y 2).
- En cada caso, los patrones de difracción de rayos X en polvo se pueden expresar en términos del ángulo de difracción (2θ), espaciado interplanar (d) e intensidades relativas de los picos en el difractograma.
- Forma A
- Una primera forma cristalina (forma A) de la base libre del compuesto (1) se puede formar por desproporción a partir de una solución de la sal de ácido clorhídrico del compuesto (1) en una mezcla de disolventes de agua:propanol 3:1, como se describe en el Ejemplo 3A a continuación. El difractograma XRPD para la forma A se muestra en la Figura 1. Durante el proceso de desproporción, el ácido se disocia de la base libre y permanece en solución para dejar una suspensión de la base libre del compuesto (1).

La forma cristalina A también se puede preparar suspendiendo la sal de ácido clorhídrico amorfó del compuesto (1) en agua a 70 °C durante un período prolongado (por ejemplo, 96 horas) y después filtrando el material cristalino.

5 Forma B

También se puede preparar una segunda forma cristalina (forma B) de la base libre mediante la desproporción de una sal de adición de ácido (tal como una sal de clorhidrato, sulfato o bromhidrato) mediante agitación prolongada de una suspensión acuosa de la sal en agua purificada pero a una temperatura inferior a la empleada para formar la forma cristalina A anterior. Por lo tanto, la forma B se puede preparar como se describe en los Ejemplos 3B-3D a continuación suspendiendo una sal de ácido mineral amorfó (tal como una sal de clorhidrato, sulfato o bromhidrato) del compuesto (1) en agua purificada a 18-23 °C, después agitando la mezcla a 45-50 °C durante 20 horas, seguido de agitación adicional a 30-35 °C durante 96 horas y después filtrando los cristales de la forma B. El difractograma de XRPD de la forma B se muestra en la Figura 2.

15

La desproporción de una sal de adición de ácido amorfó del compuesto (1) en la forma cristalina B puede ser asistida mediante la adición a la mezcla de reacción de un codisolvente alcohólico tal como isopropanol.

20

En otro método para preparar la forma cristalina B, el compuesto (1) en forma de base libre amorfó se puede suspender en agua que puede estar sin tampón o tamponada a un pH de aproximadamente 2 hasta pH 7 y después agitarse a una temperatura ligeramente elevada (por ejemplo, 30 °C) durante un período de tiempo (por ejemplo, hasta seis días, por ejemplo, aproximadamente cinco días) suficiente para permitir la conversión del compuesto amorfó (1) en la forma cristalina B.

25

El patrón de difracción de rayos X de la forma cristalina B del compuesto (1) presenta picos de mayor intensidad en los ángulos de difracción establecidos en la Tabla A, es decir, 14.0°, 20.6°, 24.0° y 24.2° (±0.2°).

Tabla A	
Ángulo de difracción (°)	Intensidad relativa
14.0	100
20.6	85
24.0	74
24.2	71

Por consiguiente, en otra realización, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) de (2R)-2-(6-(5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción (2θ) 14.0° y/o 20.6° y/o 24.0° y/o 24.2° (±0.2°).

30

En una realización, el patrón de difracción de rayos X se caracteriza por la presencia de al menos un pico en un ángulo de difracción seleccionado de 14.0°, 20.6°, 24.0° y 24.2° (±0.2°).

Así, por ejemplo, en una realización, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de un pico principal en el ángulo de difracción de 14.0° (±0.2°).

35

En otra realización, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por la presencia de un pico principal en el ángulo de difracción 20.6° (±0.2°).

40

En otra realización, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por la presencia de un pico principal en el ángulo de difracción 24.0° (±0.2°).

45

En otra realización, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por la presencia de un pico principal en el ángulo de difracción 24.0° (±0.2°).

50

En otra realización, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por la presencia de un pico principal en el ángulo de difracción 24.2° (±0.2°).

En otras realizaciones, la forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) tiene un patrón de difracción de rayos X caracterizado por la presencia de picos principales en dos o más, por ejemplo tres o más, y en particular cuatro ángulos de difracción seleccionados entre 14.0°, 20.6°, 24.0° y 24.2° (±0.2°).

El patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma B del compuesto (1) también puede tener picos menores presentes en los ángulos de difracción establecidos en la Tabla B, es decir, 8.8, 13.0, 13.8, 14.4, 17.3, 19.3, 21.3 y 28.7 (±0.2°).

Tabla B	
Ángulo de difracción (°)	Intensidad relativa
8.8	23
13.0	23
13.8	39
14.4	20
17.3	22
19.3	36
21.3	45
28.7	22

- Por lo tanto, la invención también proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción 14.0° y/o 20.6° y/o 24.0° y/o 24.2° ($\pm 0.2^\circ$) como se definió anteriormente y opcionalmente uno o más picos adicionales en ángulos de difracción seleccionados de 8.8 °, 13.0 °, 13.8 °, 14.4 °, 17.3 °, 19.3 °, 21.3 ° y/o 28.7 ° ($\pm 0.2^\circ$).

En una realización, la forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción 14.0° y/o 20.6° y/o 24.0° y/o 24.2° ($\pm 0.2^\circ$); y opcionalmente uno o más picos adicionales en los ángulos de difracción 13.8° y/o 19.3° y/o 21.3° ($\pm 0.2^\circ$).

En una realización particular, la forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción 14.0°, 20.6°, 24.0°, 24.2°, 13.8°, 19.3° y 21.3° ($\pm 0.2^\circ$).

En otra realización particular, la forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción 14.0°, 20.6°, 24.0°, 24.2°, 8.8°, 13.0°, 13.8°, 14.4°, 17.3°, 19.3°, 21.3° y 28.7° ($\pm 0.2^\circ$).

El patrón de difracción de rayos X en polvo se puede caracterizar además por la presencia de picos adicionales en los ángulos de difracción (2θ) ($\pm 0.2^\circ$) establecidos en la Tabla C.

Tabla C	
Ángulo de difracción (°)	Intensidad relativa
12.0	13
16.9	12
23.5	18
26.2	18
29.8	13

La invención proporciona además una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que presenta picos en los mismos ángulos de difracción que los del patrón de difracción de rayos X en polvo mostrado en la Figura 2. Preferiblemente, los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos en la Figura 2.

En una realización preferida, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 2.

La forma cristalina de la invención también se puede caracterizar mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

La forma cristalina B del compuesto (1) se ha analizado por DSC y se ha encontrado que presenta un evento endotérmico con una temperatura de inicio entre 100 °C y 110 °C (más particularmente entre 101 °C y 108 °C) y un pico entre 110 °C y 125 °C (más particularmente entre 111 °C y 114 °C) como se muestra en la Figura 3 de los dibujos adjuntos. Este evento se atribuye a la liberación de agua.

Por consiguiente, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que presenta un evento endotérmico que tiene una temperatura de inicio entre 100 °C y 110 °C (más particularmente 101 °C y 108 °C) cuando se somete a DSC. La invención también proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1) que presenta un evento endotérmico que tiene un pico entre 110 °C y 125 °C (más particularmente entre 111 °C y 113 °C).

La forma cristalina (forma B) de la invención también se puede caracterizar mediante análisis termogravimétrico (TGA).

5 La forma sustancialmente cristalina B del compuesto (1) ha sido analizada por TGA y presenta una transición de pérdida de peso con una temperatura de inicio de 85 °C a 95 °C, por ejemplo 90,86 °C que se completa a 110 °C a 130 °C, por ejemplo 120 °C (véase la Figura 4). La pérdida de peso corresponde a la liberación de agua.

10 Sobre la base de los datos de DSC y TGA, se cree que la forma sustancialmente cristalina B del compuesto (1) descrito anteriormente es un monohidrato. Esto también ha sido confirmado mediante estudios de difracción de rayos X de monocristal (véase el Ejemplo 4E a continuación).

15 En la forma sustancialmente cristalina B del compuesto (1), puede predominar una única forma cristalina, aunque pueden estar presentes otras formas cristalinas en cantidades menores y preferiblemente insignificantes.

20 En una realización preferida, la invención proporciona el compuesto (1) en una forma sustancialmente cristalina (forma B) que contiene una única forma cristalina que tiene las propiedades XRPD descritas anteriormente, y no más del 5 % en peso de cualquier otra forma cristalina del compuesto.

25 Preferiblemente, la forma monocristalina (forma B) está acompañada por menos del 4 %, o menos del 3 %, o menos del 2 % de otras formas cristalinas, y en particular contiene menos o igual a aproximadamente el 1 % en peso de otras formas cristalinas. Más preferiblemente, la forma monocristalina está acompañada por menos de 0.9 %, o menos de 0.8 %, o menos de 0.7 %, o menos de 0.6 %, o menos de 0.5 %, o menos de 0.4 %, o menos de 0.3 %, o menos de 0.2 %, o menos de 0.1 %, o menos de 0.05 %, o menos de 0.01 %, en peso de otras formas cristalinas, por ejemplo 0 % en peso de otras formas cristalinas.

30 Como será evidente a partir de los párrafos anteriores, la forma cristalina (forma B) del compuesto (1) se puede caracterizar por varios parámetros fisicoquímicos diferentes. En consecuencia, en una realización particular, la invención proporciona una forma sustancialmente cristalina (forma B) del compuesto (1), que se caracteriza por uno o más (en cualquier combinación) o todos los siguientes parámetros, a saber:

35 (a) tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción (2θ) e intensidades establecidos en la Tabla A, y opcionalmente en la Tabla B; y además opcionalmente en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se caracteriza por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción (2θ) e intensidades establecidos en la Tabla C; y/o

40 (b) presenta picos en los mismos ángulos de difracción que los del patrón de difracción de rayos X en polvo que se muestra en la Figura 2 y, opcionalmente, en donde los picos tienen las mismas intensidades relativas que los picos de la Figura 2; y/o

45 (c) tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como el que se muestra en la figura 2; y/o

50 (d) presenta un pico endotérmico entre 100 °C y 115 °C cuando se somete a DSC; y/o

(e) presenta una pérdida de peso entre 85 °C y 130 °C (por ejemplo 90-120 °C) cuando se somete a análisis termogravimétrico (TGA).

55 Procesos para elaborar formas cristalinas de la base libre del compuesto (1)

La invención también proporciona procesos para elaborar formas cristalinas de la base libre del compuesto (1).

55 Por consiguiente, en otro aspecto de la invención, se proporciona un proceso para elaborar una forma sustancialmente cristalina de la base libre del compuesto (1); cuyo método comprende:

60 (i) formar una suspensión acuosa de una sal de adición de ácido del compuesto (1) y agitar la suspensión a una temperatura de entre 25 °C y 75 °C durante un período de tiempo suficiente para permitir que se produzca la desproporción de la sal de adición de ácido y la formación de la forma cristalina de la base libre del compuesto (1), y después aislar la forma cristalina; o

65 (ii) formar una suspensión acuosa de una forma amorfa de la base libre del compuesto (1), en donde la suspensión acuosa no está tamponada o está tamponada a un pH de entre 1.75 y 7.25, y agitar la suspensión acuosa a una temperatura de entre 25 °C y 55 °C durante un período de tiempo suficiente para permitir que se produzca la conversión de la forma amorfa de la base libre del compuesto (1) a la forma cristalina de la base libre del compuesto (1), y después aislar la forma cristalina.

- En la variante de proceso (i), la selección de la temperatura y el tiempo de agitación tendrán una influencia en si se produce la forma cristalina A o la forma B. Así, por ejemplo, el proceso puede llevarse a cabo a una temperatura más alta, por ejemplo 65-75 °C (y más particularmente aproximadamente 70 °C) para dar la forma A. Por el contrario, el proceso puede llevarse a cabo a una temperatura más baja, por ejemplo 25-55 °C, para dar la forma cristalina B.
- La formación de una forma cristalina puede facilitarse mediante la adición a la mezcla de proceso de un alcohol tal como isopropanol.
- El material de partida para la variante de proceso (i) es una sal de adición de ácido del compuesto (1). La sal de adición de ácido puede ser amorfía.
- La sal de adición de ácido del compuesto (1) puede ser, por ejemplo, una sal de ácido mineral, tal como una sal de clorhidrato, bromhidrato o sulfato. Los expertos en la técnica conocen bien los métodos para preparar dichas sales. La sal se puede preparar añadiendo el compuesto de base libre a una solución del contrón en un disolvente. El disolvente puede ser un disolvente polar y práctico, tal como 2-propanol o metanol, y puede incluir un codisolvente polar y apráctico, tal como diclorometano.
- La variante de proceso (ii) típicamente conduce a la formación de la forma B.
- En la variante de proceso (ii), la suspensión acuosa puede estar tamponada o sin tamponar. Por ejemplo, puede no estar tamponada o estar tamponada a un pH de 2, 5 o 7. La suspensión acuosa se agita con calentamiento suave, por ejemplo a una temperatura de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 35 °C, por ejemplo aproximadamente 30 °C. La suspensión acuosa se agita durante un período de tiempo suficiente para permitir que se produzca la conversión de la forma amorfía de la base libre del compuesto (1) a la forma cristalina de la base libre del compuesto (1). Típicamente, se agita durante al menos un día, más habitualmente al menos dos días o al menos tres días y, en una realización, se agita durante cinco días.
- En un conjunto alternativo de condiciones en la variante de proceso (ii), el proceso puede llevarse a cabo durante un período de tiempo más corto (por ejemplo, al menos 12 horas, o al menos 15 horas; por ejemplo, 20 horas) a una temperatura más alta (por ejemplo, 45-55 °C, y en particular aproximadamente 50 °C). Se puede añadir ventajosamente un cristal semilla o bien de la forma A o bien de la forma B para ayudar a la formación de la forma cristalina B.
- Sales amorfas del compuesto de fórmula (1)
- Se han preparado varias sales amorfas de los compuestos de fórmula (1) (véase el Ejemplo 2). Por consiguiente, en un aspecto adicional de la invención se proporciona una sal del compuesto de fórmula (1) en forma amorfía.
- La sal puede ser la sal clorhidrato, sulfato, napadisilato (naftaleno-1,5-disulfonato), edisilato (etanodisulfonato), tosilato (p-toluenosulfonato), mesilato (metanosulfonato), napsilato (2-naftalenosulfonato), besilato (bencenosulfonato), isetionato (2-hidroxietanosulfonato), esilato (etanosulfonato) o bromhidrato del compuesto de fórmula (1).
- Un conjunto de sales consiste en las sales amorfas de clorhidrato, sulfato, bromhidrato o napadisilato del compuesto de fórmula (1).
- En otras realizaciones, la invención proporciona:
- la sal de clorhidrato amorfía del compuesto de fórmula (1);
 - la sal de sulfato amorfía del compuesto de fórmula (1);
 - la sal de bromhidrato amorfía del compuesto de fórmula (1); y
 - la sal de napadisilato amorfía del compuesto de fórmula (1).
- Las sales amorfas se pueden preparar haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con el ácido apropiado en un disolvente orgánico, preferiblemente un disolvente polar apráctico (por ejemplo, acetato de isopropilo) o una mezcla de un disolvente polar apráctico y un disolvente polar práctico (por ejemplo, una mezcla de acetato de isopropilo y 2-propanol).

Las sales amorphas de la invención pueden proporcionarse en forma de partículas que tienen un diámetro medio de masa en el intervalo de 1 μm a 100 μm .

5 Las partículas pueden tener un diámetro medio de masa en el intervalo de 2 μm a 50 μm , por ejemplo de 2 μm a 25 μm o de 2 μm a 10 μm . Las partículas pueden administrarse por vía oral (típicamente como una formulación administrable por vía oral que comprende opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables) o mediante otros medios, por ejemplo por inhalación. Cuando las partículas están destinadas a ser administradas por inhalación, las partículas típicamente tienen un diámetro másico medio de 1 μm a 10 μm o de 1 μm a 5 μm .

10 Los tamaños de las partículas se pueden determinar mediante métodos de análisis de imágenes, métodos de difracción láser o técnicas de tamizado.

15 Las partículas pueden producirse mediante procesos de micronización mecánica o mediante procesos de separación de fases basados en solución. Los ejemplos de procesos de micronización mecánica incluyen técnicas de molienda.

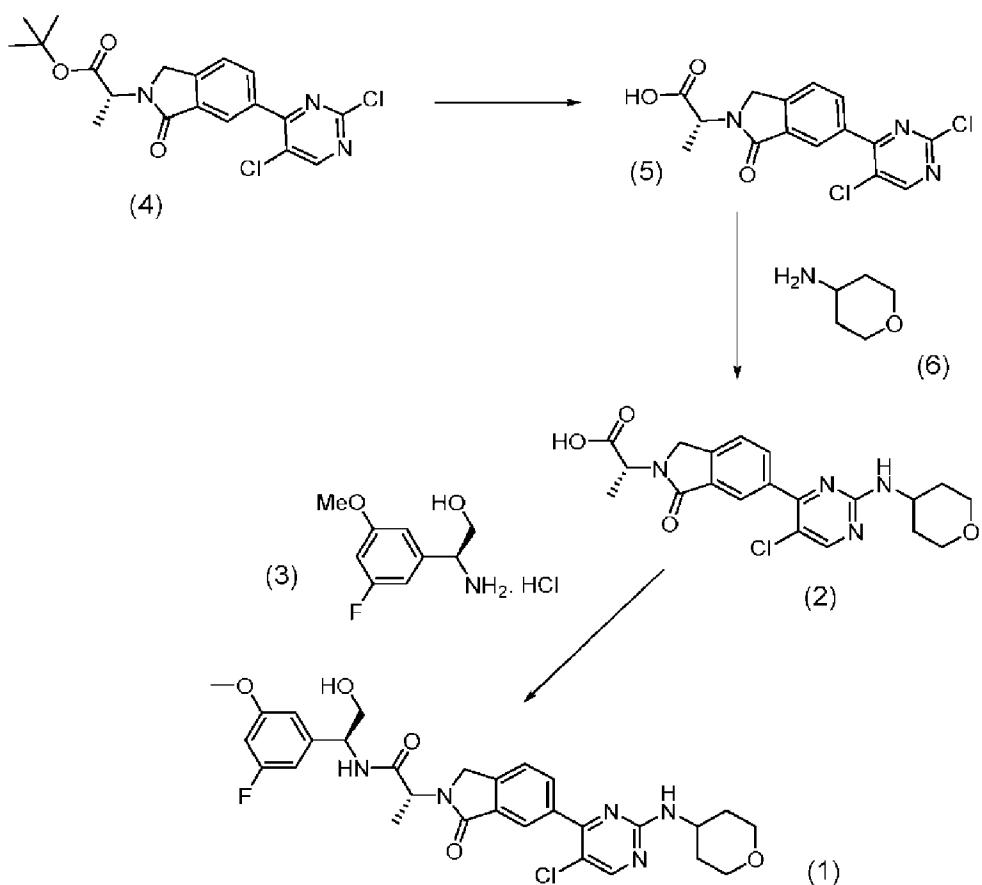
20 Las técnicas basadas en soluciones comúnmente implican el uso de líquidos, gases comprimidos, líquidos casi críticos o fluidos supercríticos como disolventes o medios criogénicos para una congelación rápida. Estas técnicas implican la separación de fases del disolvente y el compuesto farmacéutico mediante evaporación, expansión, congelación o cambio de la composición del disolvente.

25 Las partículas pueden producirse mediante liofilización. Alternativamente, las partículas pueden formarse mediante secado por pulverización. Por consiguiente, en una realización, las sales amorphas de la invención se secan por pulverización.

30 Las sales amorphas se pueden utilizar como agentes terapéuticos o se pueden utilizar como intermedios en la preparación de formas cristalinas de la base libre del compuesto de fórmula (1), como se describió anteriormente.

MÉTODOS PARA LA PREPARACIÓN DEL COMPUUESTO DE FÓRMULA (1)

El compuesto (1) se puede preparar mediante la serie de etapas de proceso que se muestran en el Esquema 1 a continuación.



Esquema 1

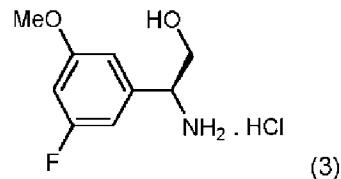
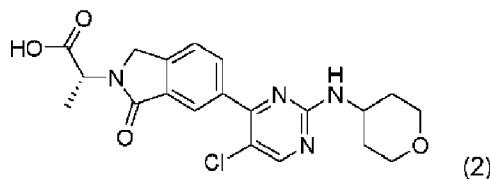
La reacción del compuesto intermedio (2) con el compuesto intermedio (3) para dar el compuesto (1) se describe en el Ejemplo 685 de nuestra solicitud anterior PCT/IB2016/001507 (publicada como WO 2017/068412). La reacción se lleva a cabo en dimetilformamida (DMF) y trimetilamina en presencia del promotor de formación de enlace amida O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrafluoroborato de tetrametiluronio (TBTU). En PCT/IB2016/001507 (WO 2017/068412), el compuesto intermedio (2) se prepara mediante hidrólisis del éster terc-butílico correspondiente que a su vez se prepara mediante reacción del compuesto intermedio (4) con la amina (6).

De acuerdo con la presente invención, se han realizado una serie de modificaciones al proceso descrito en PCT/IB2016/001507 (WO 2017/068412).

En primer lugar, se han modificado las condiciones del proceso para la etapa final, la reacción de los compuestos intermedios (2) y (3). Por lo tanto, en lugar de utilizar el reactivo de acoplamiento TBTU, se han utilizado reactivos de acoplamiento alternativos tales como el hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (HATU) y el 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI). Además de la trietilamina, se han utilizado bases alternativas como la diisopropiletilamina (DIPEA) y la 4-dimetilaminopiridina (DMAP).

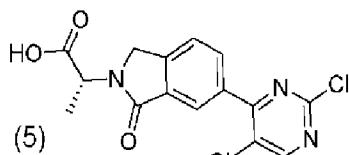
En segundo lugar, en lugar de hacer reaccionar el compuesto intermedio (4) con la amina (6) y después hidrolizar la fracción de éster terc-butílico para dar el compuesto (2) como se describe en PCT/IB2016/001507 (WO 2017/068412), la fracción de éster terc-butílico en el compuesto intermedio (4) primero se hidroliza para dar el ácido carboxílico (5) que después reacciona con la amina (6) para dar el compuesto (2).

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un proceso para preparar el compuesto de fórmula (1), proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (2) con un compuesto de fórmula (3):



- un disolvente aprótico en presencia de una base de amina terciaria y un agente promotor de enlace amida, en donde el agente promotor de enlace amida se selecciona entre hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (HATU) y 1-etyl-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI).
- 5 En una realización particular, el agente promotor de enlace amida es hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (HATU).
- 10 Ejemplos de bases de amina terciaria para uso en el proceso son diisopropiletilamina (DIPEA), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) y trietilamina y mezclas de las mismas.
- En una realización particular, la base de amina terciaria es diisopropiletilamina (DIPEA).
- 15 Ejemplos de disolventes apróticos son diclorometano, acetato de etilo y dimetilformamida.
- En una realización particular, el disolvente aprótico es diclorometano.
- 20 En una realización preferida, se proporciona un proceso para preparar el compuesto de fórmula (1), dicho proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (2) con un compuesto de la fórmula (3) en un disolvente aprótico que es diclorometano en presencia de una base de amina terciaria que es diisopropiletilamina (DIPEA) y un agente promotor de enlace amida que es *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(7-azabenzotriazol-1-il)hexafluorofosfato de uronio (HATU).
- 25 La reacción entre los compuestos (2) y (3) se lleva a cabo típicamente sin calentamiento externo y puede, por ejemplo, llevarse a cabo a una temperatura no mayor de 25 °C. Por lo tanto, por ejemplo, una vez que los reactivos se han mezclado para formar una mezcla de reacción, la mezcla de reacción puede agitarse a una temperatura en el intervalo de 15-25 °C hasta que se complete la reacción.
- 30 En otro aspecto, la invención proporciona un proceso para elaborar un compuesto de fórmula (1) como se define en este documento, proceso que comprende:

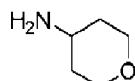
a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (5):



(5)

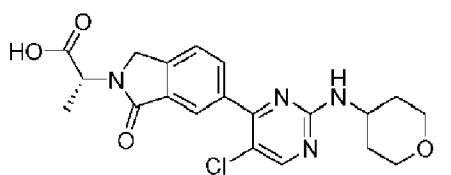
35

con un compuesto de fórmula (6)



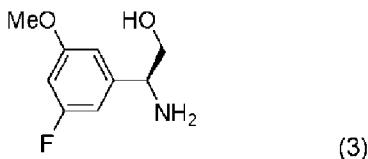
40

para dar un compuesto de fórmula (2):



45 y

b) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (2) con un compuesto de fórmula (3):



5 para dar el compuesto de fórmula (1) y posteriormente formar opcionalmente una sal o forma cristalina del mismo.

10 La etapa (a) típicamente se lleva a cabo en un disolvente polar y aprótico, tal como 1-metil-2-pirrolidiona (NMP). La reacción puede llevarse a cabo a temperaturas elevadas; por ejemplo, una temperatura superior a 60 °C, más habitualmente superior a 70 °C y, en particular, una temperatura en el intervalo de 75-95 °C (por ejemplo, 80 a 95 °C).

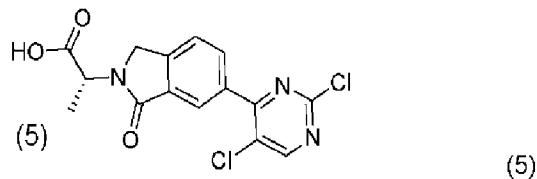
15 La etapa (a) se lleva a cabo en presencia de una base, que puede ser una base inorgánica tal como un carbonato de metal alcalino, por ejemplo carbonato de potasio.

20 20 Se puede monitorear el progreso de la reacción entre los compuestos de fórmulas (5) y (6) para determinar el alcance de la reacción. Por ejemplo, la reacción puede ser monitoreada hasta que la cantidad residual del compuesto de fórmula (5) sea menor que un nivel deseado (por ejemplo, menos de 1 % en mol de su cantidad original). La etapa (a) normalmente tiene un tiempo de reacción entre 1 y 8 horas, por ejemplo, de 2 a 7 horas, y típicamente, de 4 a 6 horas.

25 La etapa (b) se lleva a cabo en las condiciones descritas anteriormente para la reacción entre los compuestos (2) y (3) para dar el compuesto (1).

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un proceso para preparar el compuesto de fórmula (2), 25 proceso que comprende:

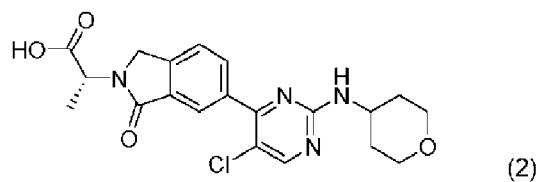
a) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (5):



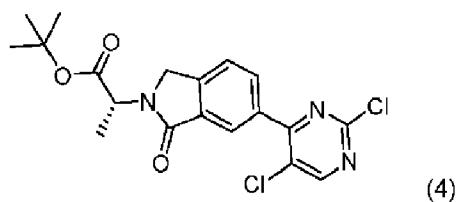
30 30 con un compuesto de fórmula (6)



35 35 para dar el compuesto de fórmula (2):



40 La reacción se puede llevar a cabo en las condiciones descritas con respecto a la etapa (b) anterior. El compuesto (5) se puede preparar mediante la hidrólisis de un compuesto de éster *terc*-butílico de la fórmula (4):



5 por ejemplo utilizando un ácido mineral tal como ácido clorhídrico concentrado. La reacción de hidrólisis puede ser asistida por un calentamiento suave, por ejemplo a una temperatura en el intervalo de 30-45 °C, y más típicamente en el intervalo de 35-40 °C. Se puede utilizar un co-solvente que puede ser un hidrocarburo o un hidrocarburo clorado. Uno de dichos co-solventes es el tolueno.

10 El compuesto (4) se puede preparar mediante los métodos descritos en el documento PCT/IB2016/001507 (WO 2017/068412); véase, por ejemplo, la Preparación 94 en el mismo.

COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN EL COMPLEUTO DE FÓRMULA (1)

15 El compuesto de fórmula (1) tiene una solubilidad relativamente pobre en agua. Por lo tanto, la presente invención proporciona composiciones del compuesto (1) que comprenden un vehículo principal que es distinto del agua. Dichas composiciones son adecuadas para la administración oral.

20 Se ha encontrado que el compuesto (1) tiene buena solubilidad en varios disolventes no acuosos. En consecuencia, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (1) y un vehículo seleccionado de:

- 25 - un alcohol C₂₋₄;
- un compuesto de poliéter;
- monoésteres de ácidos grasos de cadena larga C₈ a C₁₈ con glicerol o propilenglicol;
- di- o tri-glicéridos de ácidos grasos de cadena larga C₈ a C₁₀;

30 y mezclas de los mismos.

La composición farmacéutica puede tomar la forma de una solución del compuesto (1) en el vehículo.

35 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para elaborar una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (1), comprendiendo el método dispersar un compuesto de fórmula (1) en un vehículo seleccionado de:

- 40 - un alcohol C₂₋₄;
- un compuesto de poliéter;
- monoésteres de ácidos grasos de cadena larga C₈ a C₁₈ con glicerol o propilenglicol;
- di- o tri-glicéridos de ácidos grasos de cadena larga C₈ a C₁₀;

45 y mezclas de los mismos.

Normalmente, el compuesto de fórmula (1) se dispersa en el vehículo para formar una solución o una suspensión. En una realización, el compuesto de fórmula (1) está suspendido en el vehículo. En otra realización, el compuesto de fórmula (1) se disuelve en el vehículo para formar una suspensión.

50 El vehículo puede comprender un alcohol C₂₋₄ monohídrico o polihídrico, preferiblemente un alcohol C₂₋₃, por ejemplo etanol o propilenglicol.

55 Cuando el vehículo comprende un compuesto de poliéter, el compuesto de poliéter puede ser un polietilenglicol (PEG). El polietilenglicol puede tener un peso molecular promedio de 200 a 10.000 g/mol, por ejemplo de 300 a 8.000 g/mol. En una realización, el polietilenglicol tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 200 a 400 g/mol, por ejemplo, 300 a 450 g/mol.

Dependiendo de la naturaleza y cantidades relativas de los componentes del vehículo, las composiciones pueden ser líquidas, semisólidas o sólidas. Por ejemplo, cuando se utiliza un PEG de mayor peso molecular, la viscosidad de la composición puede aumentar hasta el punto de que pueda considerarse como un "semisólido" o un sólido, mientras que los PEG de menor peso molecular pueden dar lugar a composiciones líquidas. Las referencias a soluciones en el contexto de dichas composiciones incluyen soluciones sólidas así como soluciones líquidas (o semisólidas).

Alternativamente o adicionalmente, el vehículo puede comprender ácido caprílico o cáprico y mono-, di- y tri-ésteres de ácidos caprílico o cáprico. Ejemplos de dichos ésteres incluyen monocaprilato de propilenglicol, 10 monocaprilato de glicerol, dicaprilato de glicerol, tricaprilato de glicerol, monocaprato de glicerol, dicaprato de glicerol y tricaprato de glicerol. Los glicéridos de caprilocaproil macrogol-8 (Labrasol® ALF) son un vehículo disponible comercialmente que contiene una mezcla de ésteres mono-, di- y tri-glicerol de ácidos caprílico y cáprico y también mono- y di-ésteres de polietilenglicoles con un peso molecular promedio de entre 200 y 400 g/mol.

15 En otra alternativa, el vehículo puede comprender un monoglicérido de un ácido graso de cadena más larga, tal como ácido linoleico o ácido linoleico. Ejemplos de dichos vehículos incluyen monolinoleato de glicerol (Maisine CC™) y monooleatos de glicerol (tipo 40, Peceol™).

20 En una realización, el vehículo se selecciona de etanol, propilenglicol, polietilenglicol y mezclas de los mismos. Por ejemplo, el vehículo puede comprender una combinación de propilenglicol y etanol, tal como una combinación de propilenglicol y etanol en una proporción de 50:50 a 90:10 % p/p (por ejemplo, propilenglicol y etanol en una proporción de 75:25 o 85:15 % p/p). En una realización, el vehículo comprende una combinación de propilenglicol y etanol en una proporción de 75:25 a 90:10 % p/p.

25 En otra realización, el vehículo se selecciona entre etanol, polietilenglicol 400 (PEG 400) y propilenglicol, y mezclas de los mismos.

30 La composición normalmente permite la administración oral del compuesto (1) para proporcionar una dosis diaria total de hasta 1.2 g por día. En las composiciones de la invención, la concentración del compuesto (1) en el vehículo puede estar en el intervalo de 10 mg/ml a 130 mg/ml, por ejemplo de 40 mg/ml a 125 mg/ml, y más particularmente de 110 mg/ml a 125 mg/ml. Una concentración de 120 mg/ml permite administrar una dosis de 1.2 g del compuesto (1) en 10 ml de la composición.

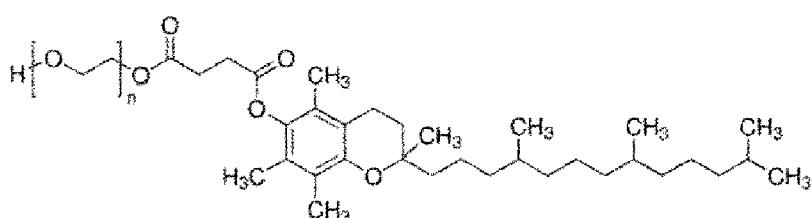
35 Alternativamente, la composición puede estar contenida dentro de una cápsula. Las cápsulas adecuadas para administrar las composiciones descritas en este documento incluyen cápsulas de gelatina dura o blanda. En una realización, la composición está contenida dentro de una cápsula de gelatina blanda. El término "gelatina" tal como se utiliza en el presente documento se refiere no sólo a cápsulas hechas de gelatina como tal, sino también a cápsulas hechas de equivalentes distintos de la gelatina, tal como pululano o celulosas modificadas 40 tal como hidroxipropilmetilcelulosa.

La composición también puede comprender uno o más tensioactivos para ayudar a la solubilidad del compuesto (1) en el vehículo o vehículos seleccionados. Los tensioactivos también pueden actuar para inhibir la precipitación del compuesto de fórmula (1) cuando la composición se diluye en el tracto gastrointestinal.

45 Los tensioactivos son típicamente tensioactivos no iónicos.

El tensioactivo no iónico puede ser, por ejemplo, un éster de poliol, un éster de polioxietileno o un poloxámero.

50 En una realización, el tensioactivo es un polietilenglicol de tocoferol (TPG), tal como succinato de polietilenglicol de D- α -tocoferol (TPGS), que tiene la fórmula:



55 donde el valor promedio de n está en la región de aproximadamente 10 a aproximadamente 30, más típicamente en el intervalo de aproximadamente 15 a aproximadamente 27; por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 20 a 25. Un TPGS particular es el succinato de α -tocoferol polietilenglicol 1000 (peso molecular promedio aproximado 1513) en donde la fracción de polioxietileno $[-O-CH_2-CH_2]_n$ tiene un peso

molecular de aproximadamente 1000 (por ejemplo, 950 a 1050) y el valor promedio de n es aproximadamente 22. Ejemplos de ésteres de poliol incluyen ésteres de glicol y glicerol y derivados de sorbitán.

5 Los ésteres de ácidos grasos de sorbitán (generalmente denominados Spans) y sus derivados etoxilados (generalmente denominados Tweens) incluyen monolaurato de sorbitán (Span 20), monopalmitato de sorbitán (Span 40), monoestearato de sorbitán (Span 60), monooleato de sorbitán (Span 80), triestearato de sorbitán (Span 65), trioleato de sorbitán (Span 8), monolaurato de sorbitán de polioxietileno (20) (Tween 20), monopalmitato de sorbitán de polioxietileno (20) (Tween 40), monoestearato de sorbitán de polioxietileno (20) (Tween 60), monooleato de sorbitán de polioxietileno (20) (Tween 80), triestearato de sorbitán de polioxietileno (20) (Tween 65) y trioleato de sorbitán de polioxietileno (20) (Tween 85).

10 Otros ejemplos particulares de tensioactivos incluyen aceite de ricino hidrogenado polioxil 40 (Cremophor RH 40, Kolliphor® RH40), aceite de ricino polioxil 35 (Cremophor EL, Kolliphor® EL), polisorbato 80 (Tween 80), Gelucire 44/14 (glicéridos de lauroil macrogol-32), Solutol HS-15 (hidroxiestearato de macrogol 15) y 15 Labrasol® ALF (glicéridos de caprilocaproil macrogol-8). En una realización, el tensioactivo es Cremophor RH 40.

20 En una realización, la composición comprende el compuesto de fórmula (1), etanol y un polietilenglicol de tocoferol (TPG), por ejemplo succinato de D- α -polietilenglicol de tocoferol 1000 (TPGS). El etanol y el TPG pueden estar presentes en una proporción en el intervalo de 20:80 etanol:TPG a 60:40 etanol:TPG, por ejemplo, 30:70 etanol:TPG a 50:50 etanol.

25 En otra realización, la composición comprende, además del compuesto de fórmula (1), un vehículo que comprende:

25 (i) propilenglicol;
 (ii) un tensioactivo no iónico (tal como Cremophor RH40 y un polietilenglicol de tocoferol); y opcionalmente
 30 (iii) etanol.

En otra realización, la composición comprende, además del compuesto de fórmula (1), un vehículo que comprende:

35 (i) propilenglicol;
 (ii) un tensioactivo no iónico de éster de polioxietileno; y opcionalmente
 40 (iii) etanol.

40 El tensioactivo no iónico de éster de polioxietileno puede ser, por ejemplo, un polietilenglicol de tocoferol (TPG), tal como succinato de polietilenglicol de D- α -tocoferol (TPGS) como se definió anteriormente.

45 En una realización particular, las composiciones no contienen etanol (iii).
 En otra realización particular, las composiciones contienen etanol (iii).

50 En otra realización particular, el vehículo comprende propilenglicol y un tocoferol polietilenglicol (TPG). En esta realización, el vehículo puede comprender TPGS en una relación de peso de 1:2 a 10:1 propilenglicol:TPGS y opcionalmente puede comprender además etanol en una relación de peso de 1:10 a 2:1 etanol:propilenglicol (por ejemplo, D- α -tocoferol polietilenglicol 1000 succinato (TPGS)) en una relación de peso de 1:2 a 5:1 propilenglicol:tocoferol polietilenglicol; y opcionalmente comprende además etanol en una relación de peso de etanol:propilenglicol de 1:10 a 2:1.

55 Las composiciones que comprenden el compuesto de fórmula (1), propilenglicol, tensioactivo no iónico de éster de polioxietileno; y opcionalmente el etanol pueden estar convenientemente contenidas dentro de una cápsula, por ejemplo una cápsula de gelatina dura o una cápsula de gelatina blanda.

60 El compuesto de fórmula (1) en la etapa a) puede estar en forma cristalina. En una realización, el compuesto de fórmula (1) en la etapa a) está en una forma cristalina como se describe en este documento.

La baja solubilidad acuosa de los compuestos farmacéuticos se puede mejorar reduciendo el tamaño de partícula sólida de los compuestos. Al reducir el tamaño de partícula del compuesto farmacéutico, aumenta la superficie disponible para la solvatación.

Por consiguiente, también se describe en este documento un compuesto de fórmula (1) en forma de partículas que tienen un diámetro medio de masa de entre 1 µm y 100 µm.

5 Las partículas pueden tener un diámetro medio de masa de entre 2 µm y 50 µm, por ejemplo entre 2 µm y 25 µm o entre 2 µm y 10 µm. Las partículas pueden administrarse por vía oral (normalmente como una formulación administrable por vía oral que comprende opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables) o mediante otros medios, por ejemplo por inhalación. Cuando las partículas están destinadas a ser administradas por inhalación, las partículas típicamente tienen un diámetro másico medio de 1 µm a 10 µm o de 1 µm a 5 µm.

10 10 Los tamaños de las partículas pueden determinarse mediante métodos de análisis de imagen, métodos de difracción láser o técnicas de tamizado.

15 15 Las partículas pueden producirse mediante procesos de micronización mecánica o mediante procesos de separación de fases basados en soluciones. Los ejemplos de procesos de micronización mecánica incluyen técnicas de molienda.

20 20 Las técnicas basadas en soluciones suelen implicar el uso de líquidos, gases comprimidos, líquidos casi críticos o fluidos supercríticos como disolventes o medios criogénicos para la congelación rápida. Estas técnicas implican la separación de fases del disolvente y el compuesto farmacéutico mediante evaporación, expansión, congelación o cambio de la composición del disolvente.

25 25 Las partículas pueden producirse mediante liofilización. Alternativamente, las partículas pueden formarse mediante secado por pulverización.

DEFINICIONES

30 30 El compuesto de fórmula (1) puede ser mencionado en esta solicitud por su nombre químico o, por conveniencia, como "el compuesto", "el compuesto de fórmula (1)", "compuesto (1)" o "el compuesto de la invención". Cada uno de estos sinónimos se refiere al compuesto mostrado en la fórmula (1) anterior y que tiene el nombre químico (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida.

35 35 El término diámetro medio de masa, como se utiliza en este documento para definir tamaños de partículas, se define como el diámetro en el que el 50 % de las partículas en masa son más grandes en diámetro y el 50 % son más pequeñas en diámetro. El diámetro se refiere al diámetro esférico equivalente, que para una partícula no esférica es igual al diámetro de una partícula esférica que tiene el mismo volumen que la partícula no esférica.

40 40 Por ERK1/2 nos referimos a una o ambas de las isoenzimas ERK1 y ERK2 de las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK).

45 45 La "potencia" es una medida de la actividad del fármaco expresada en términos de la cantidad necesaria para producir un efecto de intensidad determinada. Un fármaco muy potente produce una respuesta mayor en concentraciones bajas. La potencia es proporcional a la afinidad y la eficacia. La afinidad es la capacidad del fármaco de unirse a una enzima. La eficacia es la relación entre la ocupación del objetivo y la capacidad de iniciar una respuesta a nivel molecular, celular, tisular o de sistema.

50 50 El término "inhibidor" se refiere a un inhibidor de enzimas que es un tipo de ligando o fármaco que bloquea o amortigua las respuestas biológicas mediadas por ERK1/2. Los inhibidores median sus efectos uniéndose al sitio activo o a sitios alostéricos en las enzimas, o pueden interactuar en sitios de unión únicos que normalmente no participan en la regulación biológica de la actividad de la enzima. La inhibición puede surgir de forma directa o indirecta y puede estar mediada por cualquier mecanismo y en cualquier nivel fisiológico. Como resultado, la inhibición por ligandos o fármacos puede, en diferentes circunstancias, manifestarse de formas funcionalmente diferentes. La actividad inhibitoria puede ser reversible o irreversible dependiendo de la longevidad del complejo inhibidor-enzima, que, a su vez, depende de la naturaleza de la unión inhibidor-enzima.

60 60 El término "tratamiento" como se utiliza en este documento en el contexto del tratamiento de una afección, es decir, un estado, trastorno o enfermedad, se refiere en general al tratamiento y la terapia, ya sea para un ser humano o un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se logra algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección e incluye una reducción en la tasa de progreso, una detención en la tasa de progreso, una mejora de la afección, una disminución o alivio de al menos un síntoma asociado o causado por la afección que se está tratando y la cura de la afección. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la erradicación completa de un trastorno.

El término "profilaxis" (es decir, uso de un compuesto como medida profiláctica) como se usa en este documento en el contexto del tratamiento de una afección, es decir, un estado, trastorno o enfermedad, se refiere generalmente a la profilaxis o prevención, ya sea para un ser humano o un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en la que se logra algún efecto preventivo deseado, por ejemplo, al prevenir la aparición de una enfermedad o protegerse de una enfermedad. La profilaxis incluye el bloqueo completo y total de todos los síntomas de un trastorno durante un período indefinido de tiempo, la mera disminución de la aparición de uno o varios síntomas de la enfermedad o hacer que la enfermedad sea menos probable que ocurra y no incluye la mejora de la afección, la disminución o el alivio de al menos un síntoma asociado o causado por la afección en tratamiento y la cura de la afección.

5

Las referencias a la profilaxis o tratamiento de un estado o afección patológica tal como el cáncer incluyen dentro de su alcance aliviar o reducir la incidencia, por ejemplo, del cáncer.

10

Como se utiliza en este documento, el término "mediado", como se utiliza, por ejemplo, en conjunto con ERK1/2 como se describe en este documento (y se aplica, por ejemplo, a varios procesos fisiológicos, enfermedades, estados, condiciones, terapias, tratamientos o intervenciones) pretende operar de manera limitativa de modo que los diversos procesos, enfermedades, estados, condiciones, tratamientos e intervenciones a los que se aplica el término son aquellos en los que la proteína juega un papel biológico. En los casos en que el término se aplica a una enfermedad, estado o afección, el papel biológico desempeñado por la proteína puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la manifestación de los síntomas de la enfermedad, estado o afección (o su etiología o progresión). Por lo tanto, la función de la proteína (y en particular los niveles aberrantes de función, por ejemplo, sobre o subexpresión) no necesariamente tienen que ser la causa proximal de la enfermedad, estado o afección: más bien, se contempla que las enfermedades, estados o condiciones mediadas incluyen aquellas que tienen etiologías multifactoriales y progresiones complejas en las que la proteína en cuestión está solo parcialmente involucrada. En los casos en que el término se aplica al tratamiento, profilaxis o intervención, el papel desempeñado por la proteína puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para el funcionamiento del tratamiento, profilaxis o resultado de la intervención. Por lo tanto, un estado o afección patológica mediada por una proteína incluye el desarrollo de resistencia a cualquier fármaco o tratamiento contra el cáncer en particular.

20

Las combinaciones de la invención pueden producir un efecto terapéuticamente eficaz en relación con el efecto terapéutico de los compuestos/agentes individuales cuando se administran por separado.

25

El término "eficaz" incluye efectos ventajosos tales como aditividad, sinergismo, efectos secundarios reducidos, toxicidad reducida, mayor tiempo hasta la progresión de la enfermedad, mayor tiempo de supervivencia, sensibilización o resensibilización de un agente a otro o tasa de respuesta mejorada. Ventajosamente, un efecto eficaz puede permitir que se administren dosis más bajas de cada uno o de cualquiera de los componentes a un paciente, disminuyendo así la toxicidad de la quimioterapia, mientras se produce y/o mantiene el mismo efecto terapéutico. Un efecto "sinérgico" en el presente contexto se refiere a un efecto terapéutico producido por la combinación que es mayor que la suma de los efectos terapéuticos de los agentes de la combinación cuando se presentan individualmente. Un efecto "aditivo" en el presente contexto se refiere a un efecto terapéutico producido por la combinación que es mayor que el efecto terapéutico de cualquiera de los agentes de la combinación cuando se presentan individualmente. El término "tasa de respuesta" como se utiliza en este documento se refiere, en el caso de un tumor sólido, al grado de reducción del tamaño del tumor en un momento dado, por ejemplo 12 semanas. Así, por ejemplo, una tasa de respuesta del 50 % supone una reducción del tamaño del tumor del 50 %. Las referencias en este documento a una "respuesta clínica" se refieren a tasas de respuesta del 50 % o más. Una "respuesta parcial" se define en este documento como una tasa de respuesta inferior al 50 % siempre que sea superior al 0 %.

30

Como se utiliza en este documento, el término "combinación", tal como se aplica a dos o más compuestos y/o agentes, pretende definir el material en el que los dos o más agentes están asociados. Los términos "combinado" y "que combina" en este contexto deben interpretarse en consecuencia.

35

La asociación de dos o más compuestos/agentes en una combinación puede ser física o no física. Ejemplos de compuestos/agentes combinados asociados físicamente incluyen:

- composiciones (por ejemplo, formulaciones unitarias) que comprenden dos o más compuestos/agentes mezclados (por ejemplo, dentro de la misma dosis unitaria);

40

- composiciones que comprenden material en el que los dos o más compuestos/agentes están unidos química/fisicoquímicamente (por ejemplo mediante reticulación, aglomeración molecular o unión a una fracción de vehículo común);

- composiciones que comprenden material en el que los dos o más compuestos/agentes están empaquetados químicamente/fisicoquímicamente juntos (por ejemplo, dispuestos sobre o dentro de vesículas lipídicas, partículas (por ejemplo, micro o nanopartículas) o gotitas de emulsión);
- 5 • kits farmacéuticos, paquetes farmacéuticos o paquetes para pacientes en los que dos o más compuestos/agentes están co-envasados o co-presentados (por ejemplo, como parte de un conjunto de dosis unitarias);

10 Los ejemplos de compuestos/agentes combinados no asociados físicamente incluyen:

- 15 • material (por ejemplo, una formulación no unitaria) que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con instrucciones para la asociación extemporánea del al menos un compuesto para formar una asociación física de los dos o más compuestos/agentes;
- 20 • material (por ejemplo, una formulación no unitaria) que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con instrucciones para la terapia de combinación con los dos o más compuestos/agentes;
- 25 • material que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con instrucciones para su administración a una población de pacientes en la que se han administrado (o se están administrando) los otros dos o más compuestos/agentes;
- material que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes en una cantidad o en una forma que está específicamente adaptada para su uso en combinación con el o los otro de los dos o más compuestos/agentes.

30 Tal como se utiliza en este documento, el término "terapia de combinación" pretende definir terapias que comprenden el uso de una combinación de dos o más compuestos/agentes (como se definió anteriormente). Por lo tanto, las referencias a "terapia de combinación", "combinaciones" y el uso de compuestos/agentes "en combinación" en esta solicitud pueden referirse a compuestos/agentes que se administran como parte del mismo régimen de tratamiento general. Como tal, la posología de cada uno de los dos o más compuestos/agentes puede diferir: cada uno puede administrarse al mismo tiempo o en momentos diferentes. Por lo tanto, se apreciará que los compuestos/agentes de la combinación pueden administrarse secuencialmente (por ejemplo, antes o después) o simultáneamente, ya sea en la misma formulación farmacéutica (es decir, juntos) o en diferentes formulaciones farmacéuticas (es decir, por separado). Simultáneamente en la misma formulación se considera una formulación unitaria mientras que simultáneamente en diferentes formulaciones farmacéuticas no es unitaria. Las posologías de cada uno de los dos o más compuestos/agentes en una terapia combinada también pueden diferir con respecto a la vía de administración.

40 Como se utiliza en este documento, el término "kit farmacéutico" define un conjunto de una o más dosis unitarias de una composición farmacéutica junto con medios de dosificación (por ejemplo, un dispositivo de medición) y/o medios de administración (por ejemplo, un inhalador o una jeringa), opcionalmente todos contenidos dentro de un embalaje exterior común. En los kits farmacéuticos que comprenden una combinación de dos o más compuestos/agentes, los compuestos/agentes individuales pueden ser formulaciones unitarias o no unitarias. La o las dosis unitarias pueden estar contenidas en un blister. El kit farmacéutico puede incluir opcionalmente además instrucciones de uso.

50 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "paquete farmacéutico" define un conjunto de una o más dosis unitarias de una composición farmacéutica, opcionalmente contenidas dentro de un empaquetado exterior común. En los paquetes farmacéuticos que comprenden una combinación de dos o más compuestos/agentes, los compuestos/agentes individuales pueden ser formulaciones unitarias o no unitarias. Las dosis unitarias pueden estar contenidas en un blister. Opcionalmente, el paquete farmacéutico puede contener instrucciones de uso.

55 Sales, solvatos, tautómeros e isótopos

60 Una referencia al compuesto de la fórmula (1) incluye formas iónicas, sales, solvatos, tautómeros y variantes isotópicas del mismo, a menos que el contexto indique lo contrario.

65 Sales

 El compuesto de fórmula (1) puede existir en forma de sales, y en particular de sales de adición de ácido. Todas estas sales están dentro del alcance de esta invención, y las referencias al compuesto de la fórmula (1) incluyen las formas de sal del compuesto, a menos que el contexto indique lo contrario.

5 Las sales del compuesto (1) se pueden sintetizar a partir del compuesto (1) mediante métodos químicos convencionales tales como los métodos descritos en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Tapa dura, 388 páginas, agosto de 2002. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con el ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de ambos; por lo general, se utilizan medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

10 10 Las sales de adición ácida (mono- o di-sales) pueden formarse con una amplia variedad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Ejemplos de sales de adición ácida son las mono- o di-sales formadas con un ácido seleccionado del grupo formado por acético, 2,2-dicloroacético, adipíco, algínico, ascórbico (p. ej. L-ascórbico), L-aspártico, bencenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+) alcanforíco, alcanfor-sulfónico, (+)-(1S)-canfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, 15 gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (e. D-glucurónico), glutámico (p. ej. L-glutámico), α -oxoglutárico, glicólico, hipúrico, hidrohálico (p. ej. hidrobromhídrico, clorhídrico, hidriódico), isetioníco, láctico (p. ej. (+)-L-láctico, \pm -DL-láctico), lactobiónico, maleico, mállico, (-)-L-mállico, malónico, \pm -DL-mandélico, metanosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, 1-hidroxi-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, 20 orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, pirúvico, L-piroglutámico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiocianico, p-toluenosulfónico, undecilénico y valérico, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio catiónico.

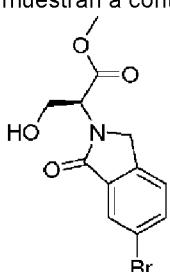
25 25 Un grupo particular de sales consiste en sales formadas de acético, clorhídrico, hidriódico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, cítrico, láctico, succínico, maleico, mállico, isetioníco, fumárico, bencenosulfónico, toluenosulfónico, metanosulfónico (mesilato), etanosulfónico, naftalenosulfónico, valérico, acético, propanoico, butanoico, 30 malónico, glucurónico y lactobiónico. Una sal particular es la sal de clorhidrato.

30 30 Las formas de sal del compuesto de la invención son típicamente sales farmacéuticamente aceptables, y ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se discuten en Berge et al., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19. Sin embargo, también pueden prepararse sales que no son farmacéuticamente aceptables mediante formas intermedias que pueden después convertirse en sales farmacéuticamente aceptables. Tales formas de sales no farmacéuticamente aceptables, que pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación del compuesto de la invención, también forman parte de la invención.

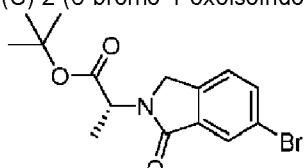
35 **Isómeros geométricos y tautómeros**

40 40 El compuesto de la fórmula (1) puede existir en varias formas tautoméricas diferentes y las referencias al compuesto de la fórmula (1) incluyen todas esas formas, a menos que el contexto indique lo contrario. Para evitar dudas, cuando el compuesto puede existir en una o más formas tautoméricas y solo una se describe o muestra específicamente, todas las demás quedan, no obstante, abarcadas por la fórmula (1).

45 45 La convención de utilizar líneas "en cuña" o "en forma de raya" para indicar estereoquímica se ha utilizado para designar formas estereoquímicas particulares, por ejemplo, como se ilustra con las dos moléculas que se muestran a continuación.



(S)-2-(6-bromo-1-oxoisoindolin-2-il)-3-hidroxipropanoato de metilo



(R)-2-(6-bromo-1-oxoisoindolin-2-il)propanoato de terc-butilo

Los isómeros ópticos se pueden caracterizar e identificar por su actividad óptica (es decir, como isómeros + y -, o isómeros d y l) o pueden caracterizarse en términos de su estereoquímica absoluta utilizando la nomenclatura "R y S" desarrollada por Cahn, Ingold y Prelog, véase Advanced Organic Chemistry por Jerry March, 4^a Edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1992, páginas 109-114, y véase también Cahn, Ingold & Prelog, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1966, 5, 385-415.

5 Los isómeros ópticos pueden separarse mediante una serie de técnicas que incluyen la cromatografía quiral (cromatografía sobre un soporte quiral) y dichas técnicas son bien conocidas por el experto en la técnica.

10 Como alternativa a la cromatografía quiral, los isómeros ópticos pueden separarse formando sales diastereoisoméricas con ácidos quirales tales como el ácido (+)-tartárico, el ácido (-)-piroglutámico, el ácido (-)-di-toluoyl-L-tartárico, ácido (+)-mandélico, ácido (-)-málico y (-)-canforsulfónico, separando los diastereoisómeros por cristalización preferencial y disociando a continuación las sales para dar el enantiómero individual de la base libre. Asimismo, los isómeros ópticos de compuestos ácidos se pueden separar formando sales diastereoisoméricas con aminas quirales como brucina, cinconidina, quinina, etc.

15 20 Además, la separación enantiomérica se puede lograr uniendo covalentemente un auxiliar quiral enantioméricamente puro al compuesto y después realizando la separación de diastereoisómeros utilizando métodos convencionales tal como la cromatografía. A esto le sigue después la escisión del enlace covalente mencionado anteriormente para generar el producto enantioméricamente puro apropiado. Por ejemplo, los isómeros ópticos de compuestos quirales que contienen un grupo hidroxilo libre se pueden separar formando ésteres de ácido de Mosher y después separando los diastereoisómeros resultantes mediante cromatografía, seguida de la escisión del éster para regenerar el grupo hidroxilo libre.

25 30 Cuando se muestra una configuración estereoquímica específica en compuestos en la presente solicitud, esto puede interpretarse como que al menos el 55 % (por ejemplo, al menos el 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %) del compuesto está presente en esa forma estereoquímica a diferencia de otras formas isoméricas del compuesto. En una realización general, el 99 % o más (por ejemplo, sustancialmente todo) de la cantidad total del compuesto de la fórmula (1) está presente en la configuración estereoquímica representada.

Variaciones isotópicas

35 Las referencias en este documento al compuesto (1) incluyen todas las variaciones isotópicamente marcadas farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde uno o más átomos son reemplazados por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o el número másico que se encuentran habitualmente en la naturaleza.

40 Los ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en el compuesto de la invención comprenden isótopos de hidrógeno, tales como ²H (D) y ³H (T), carbono, tal como ¹¹C, ¹³C y ¹⁴C, cloro, tal como ³⁶Cl, flúor, tal como ¹⁸F, nitrógeno, tal como ¹³N y ¹⁵N, y oxígeno, tal como ¹⁵O, ¹⁷O y ¹⁸O.

45 50 Ciertos compuestos de fórmula (1) marcados isotópicamente, por ejemplo, los que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución tisular de fármacos y/o sustratos. El compuesto de fórmula (1) también puede tener valiosas propiedades diagnósticas, ya que puede utilizarse para detectar o identificar la formación de un complejo entre un compuesto marcado y otras moléculas, péptidos, proteínas, enzimas o receptores. Los métodos de detección o identificación pueden utilizar compuestos que están marcados con agentes de marcado tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas (por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aequorina y luciferasa), etc. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ³H (T), y carbono-14, es decir, ¹⁴C, son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y medios de detección listos.

55 Las sustitución con isótopos más pesados como el deuterio, es decir, ²H(D), puede ofrecer ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor vida media *in vivo* o menores requisitos de dosificación, y por lo tanto puede ser preferible en algunas circunstancias. En particular, toda referencia al hidrógeno en la solicitud debe interpretarse como que cubre ¹H y ²H, ya sea que el hidrógeno se defina explícitamente o esté presente implícitamente para satisfacer la valencia del átomo relevante (en particular, del carbono).

60 La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O y ¹³N, puede ser útil en estudios de Topografía por Emisión de Positrones (PET) para examinar la ocupación del blanco.

65 Los compuestos de fórmula (1) marcados isotópicamente pueden prepararse generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos utilizando un reactivo adecuado marcado isotópicamente en lugar del reactivo no marcado empleado anteriormente.

Complejos

La fórmula (1) también incluye dentro de su alcance complejos (por ejemplo, complejos de inclusión o clatratos con compuestos tales como ciclodextrinas, o complejos con metales) del compuesto. Los complejos de inclusión, clatratos y complejos metálicos se pueden formar mediante métodos bien conocidos por el experto en la técnica.

Propiedades Biológicas

10 Se prevé que el compuesto (1) será útil en medicina o terapia.

El compuesto de la invención es un inhibidor de ERK1/2, y será útil para prevenir o tratar estados patológicos o afecciones descritas en este documento, por ejemplo las enfermedades y afecciones analizadas a continuación y las enfermedades y afecciones descritas en la sección "Antecedentes de la invención" anterior 15 en las que ERK1/2 desempeña un papel. Además, el compuesto de la invención será útil para prevenir o tratar enfermedades o afecciones mediadas por ERK1/2, por ejemplo, enfermedades o afecciones tales como cánceres en los que se requiere o regula positivamente la actividad de ERK1/2 como resultado de mutaciones activadoras dentro de componentes ascendentes (tales como RAS, K-RAS, NRAS y RAF) de la vía MAPK.

20 Las referencias a la prevención o profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección tal como el cáncer incluyen dentro de su ámbito aliviar o reducir la incidencia de la enfermedad o afección. Por lo tanto, por ejemplo, se prevé que el compuesto de la invención será útil para aliviar o reducir la incidencia del cáncer.

25 Las referencias al compuesto de fórmula (1) a continuación incluyen las formas cristalinas del compuesto de fórmula (1) descritas en este documento y el compuesto de fórmula (1) preparado según los métodos descritos en este documento.

Por consiguiente, en otras realizaciones de la invención, se proporcionan:

30 • El compuesto de fórmula (1) para uso en medicina.

• El compuesto de fórmula (1) para su uso en prevenir o tratar de una enfermedad o afección mediada por ERK1/2.

35 • El compuesto de fórmula (1) para su uso para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o afección mediada por ERK1/2.

Más particularmente, el compuesto (1) es un inhibidor de ERK1/2. Por ejemplo, el compuesto de la invención tiene potencia inhibidora contra ERK1 o ERK2, y en particular contra ERK1/2.

40 El compuesto inhibidor de ERK de fórmula (1) es capaz de unirse a ERK1/2 y exhibir potencia para ERK1/2. En una realización, el compuesto inhibidor de fórmula (1) presenta selectividad para ERK1/2 sobre otros miembros de la familia de quinasas, y puede ser capaz de unirse a y/o presentar inhibición de ERK1 y/o ERK2 con preferencia a unirse a y/o presentar inhibición de otros miembros de la familia de quinasas.

45 La función de ERK1/2 en el control de la señalización celular también se ha visto implicada en muchas enfermedades, incluyendo los trastornos asociados con la acumulación de células (por ejemplo, cáncer, trastornos autoinmunes, inflamación y reestenosis), trastornos donde la apoptosis excesiva da como resultado la pérdida de células (por ejemplo, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca, neurodegeneración como 50 la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica, el SIDA, la isquemia (accidente cerebrovascular, infarto de miocardio) y osteoporosis o el tratamiento de enfermedades autoinmunes tales como la esclerosis múltiple (EM)).

55 La enfermedad o afección mediada por ERK1/2 a la que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser una o más de las enfermedades y trastornos anteriores.

Por lo tanto, también se prevé que el compuesto de la invención como se define en el presente documento puede ser útil en el tratamiento de otras afecciones tales como inflamación, hepatitis, colitis ulcerosa, gastritis, autoinmunidad, inflamación, reestenosis, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca, afecciones 60 neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, distrofia miotónica y esclerosis lateral amiotrófica, SIDA, isquemia tal como lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, isquemia cerebral, lesión por isquemia/reperfusión cerebral (I/R), isquemia por lesión aguda y crónica del SNC, accidente cerebrovascular o infarto de miocardio, enfermedades degenerativas del sistema musculoesquelético tales como osteoporosis, enfermedades autoinmunes tales

como esclerosis múltiple (EM) y diabetes tipo I, y enfermedades oculares tales como degeneración de la retina que resultan de la pérdida de control de la muerte celular programada.

5 Como consecuencia de su afinidad por ERK1/2, el compuesto de la invención será útil para proporcionar un medio para controlar la señalización celular. Por lo tanto, se prevé que el compuesto pueda resultar útil en el tratamiento o la prevención de trastornos proliferativos tales como cánceres.

Por consiguiente, en realizaciones adicionales, la invención proporciona:

- 10 • El compuesto de fórmula (1) para su uso en prevenir o tratar trastornos proliferativos tales como cánceres.
- El compuesto de fórmula (1) para su uso en aliviar o reducir la incidencia de trastornos proliferativos tales como cánceres.
- 15 Los ejemplos de cánceres (y sus contrapartes benignas) que pueden tratarse (o inhibirse) incluyen, pero no se limitan a, tumores de origen epitelial (adenomas y carcinomas de varios tipos, incluidos adenocarcinomas, carcinomas escamosos, carcinomas de células transicionales y otros carcinomas), tales como carcinomas de vejiga y tracto urinario, mama, tracto gastrointestinal (incluido el esófago, estómago (gástrico), intestino delgado, colon, recto y ano), hígado (carcinoma hepatocelular), vesícula biliar y sistema biliar, páncreas exocrino, riñón, 20 pulmón (por ejemplo, adenocarcinomas, carcinomas pulmonares de células pequeñas, carcinomas pulmonares de células no pequeñas, carcinomas bronquioalveolares y mesoteliomas), cabeza y cuello (por ejemplo, cánceres de lengua, cavidad bucal, laringe, faringe, nasofaringe, amígdala, glándulas salivales, cavidad nasal y senos paranasales), ovario, trompas de Falopio, peritoneo, vagina, vulva, pene, cuello uterino, miometrio, 25 endometrio, tiroides (por ejemplo, carcinoma folicular de tiroides), suprarrenales, próstata, piel y anexos (por ejemplo, melanoma, carcinoma basocelular, carcinoma de células escamosas, queratoacantoma, nevo displásico); neoplasias hematológicas (es decir, leucemias, linfomas) y trastornos hematológicos premalignos y trastornos de malignidad límitrofe, incluidas neoplasias hematológicas y afecciones relacionadas de linaje linfoide (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda [ALL], leucemia linfocítica crónica [CLL], linfomas de células B como linfoma difuso de células B grandes [DLBCL], linfoma folicular, linfoma de Burkitt, linfoma de células del 30 manto, linfomas y leucemias de células T, linfomas de células asesinas naturales [NK], linfomas de Hodgkin, leucemia de células pilosas, gammaglobulina monoclonal de significado incierto, plasmocitoma, mieloma múltiple y trastornos linfoproliferativos posttrasplante), y neoplasias hematológicas y afecciones relacionadas de linaje mieloide (por ejemplo, leucemia mielógena aguda [AML], leucemia mielógena crónica [CML], leucemia mielomonocítica crónica [CMML], síndrome hipereosinofílico, trastornos mieloproliferativos tales como 35 policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria, síndrome mieloproliferativo, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica); tumores de origen mesenquimal, por ejemplo sarcomas de tejidos blandos, hueso o cartílago tales como osteosarcomas, fibrosarcomas, condrosarcomas, rhabdomiosarcomas, leiomiosarcomas, liposarcomas, angiosarcomas, sarcoma de Kaposi, sarcoma de Ewing, sarcomas sinoviales, sarcomas epiteloides, tumores del estroma gastrointestinal, histiocitomas benignos y malignos y 40 dermatofibrosarcoma protuberans; tumores derivados de células de la cresta neural, incluidos tumores melanocíticos (por ejemplo, melanoma maligno o melanoma uveal), tumores de los nervios periféricos y craneales, tumores neuroblásticos periféricos (por ejemplo, neuroblastoma), tumores embrionarios del SNC, paraganglioma; tumores del sistema nervioso central o periférico (por ejemplo, astrocitomas, gliomas y glioblastomas, meningiomas, ependimomas, tumores pineales y schwannomas); tumores endocrinos (por ejemplo, tumores pituitarios, tumores suprarrenales, tumores de células de los islotes, tumores paratiroideos, tumores carcinoides y carcinoma medular de la tiroides); tumores oculares y anexiales (por ejemplo, retinoblastoma); tumores de células germinales y trofoblásticos (por ejemplo, teratomas, seminomas, 45 disgerminomas, molas hidatiformes y coriocarcinomas); y tumores pediátricos y embrionarios (por ejemplo, meduloblastoma, neuroblastoma, tumor de Wilms y tumores neuroectodérmicos primitivos); o síndromes, 50 congénitos o de otro tipo, que dejan al paciente susceptible a la malignidad (por ejemplo, xeroderma pigmentoso). Otros ejemplos de cánceres (y sus contrapartes benignas) que pueden tratarse (o inhibirse) incluyen, pero no se limitan a, tumores de testículos y cerebro (por ejemplo, neuromas).

55 Por lo tanto, en las composiciones farmacéuticas o usos de esta invención para tratar una enfermedad o afección que comprende un crecimiento celular anormal (es decir, un crecimiento celular descontrolado y/o rápido), la enfermedad o afección que comprende un crecimiento celular anormal en una realización es un cáncer.

60 En una realización, la neoplasia maligna hematológica es leucemia. En otra realización, la neoplasia maligna hematológica es el linfoma. En una realización, el compuesto de la invención es para uso en la profilaxis o el tratamiento de la leucemia, tal como leucemia aguda o crónica, en particular leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL) o leucemia mieloide crónica (CML). En una realización, el compuesto de la invención es para uso en la profilaxis o el tratamiento del linfoma, tal como el linfoma agudo o crónico, en particular el linfoma de Burkitt, el linfoma de Hodgkin, el linfoma no Hodgkin o el linfoma difuso de células B grandes. En una realización, el compuesto de la invención es para uso en la 65

profilaxis o el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML) o la leucemia linfocítica aguda (ALL). En una realización específica, el cáncer es AML. En otra realización, el cáncer es CLL.

5 Muchas enfermedades se caracterizan por una angiogénesis persistente y no regulada. Las enfermedades proliferativas crónicas suelen ir acompañadas de una angiogénesis profunda, que puede contribuir o mantener un estado inflamatorio y/o proliferativo, o que conduce a la destrucción tisular a través de la proliferación invasiva de vasos sanguíneos. Se ha descubierto que el crecimiento del tumor y la metástasis dependen de la angiogénesis. Por lo tanto, el compuesto de la invención puede ser útil para prevenir e interrumpir el inicio de 10 la angiogénesis tumoral. En particular, el compuesto de la invención puede ser útil en el tratamiento de metástasis y cánceres metastásicos.

15 La metástasis o enfermedad metastásica es la propagación de una enfermedad de un órgano o parte a otro órgano o parte no adyacente. Los cánceres que pueden tratarse con el compuesto de la invención incluyen tumores primarios (es decir, células cancerosas en el sitio de origen), invasión local (células cancerosas que penetran y se infiltran en los tejidos normales circundantes en el área local) y tumores metastásicos (o secundarios), es decir, tumores que se han formado a partir de células malignas que han circulado a través del torrente sanguíneo (diseminación hematogena) o a través de los vasos linfáticos o a través de las cavidades corporales (transcelómica) a otros sitios y tejidos del cuerpo.

20 20 En las realizaciones anteriores, los cánceres particulares incluyen carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer de esófago, riñón, colon, colorrectal, pulmón (por ejemplo, mesotelioma o adenocarcinoma de pulmón), mama, vejiga, gastrointestinal, ovárico y de próstata.

25 25 Otro subconjunto de cánceres consiste en cánceres de riñón, melanoma, colon, pulmón, mama, ovario y próstata.

Otro subconjunto de cánceres consiste en cánceres de páncreas.

30 30 Otro subconjunto de cánceres consiste en leucemias, tales como leucemias agudas y crónicas, leucemia mieloide aguda (AML) y leucemia linfocítica crónica (CCL).

Un subconjunto adicional de cánceres consiste en el mesotelioma, que incluye el mesotelioma peritoneal maligno o el mesotelioma pleural maligno.

35 35 Ciertos cánceres son resistentes al tratamiento con fármacos particulares. Esto puede deberse al tipo de tumor (la mayoría de las neoplasias epiteliales más comunes son inherentemente quimiorresistentes) o la resistencia puede surgir espontáneamente a medida que la enfermedad progresiona o como resultado del tratamiento. En este sentido, las referencias al mesotelioma incluyen el mesotelioma con resistencia a los venenos de la topoisomerasa, a los agentes alquilantes, a los antitubulinas, a los antifolatos, a los compuestos de platino y a 40 la radioterapia, en particular el mesotelioma resistente al cisplatino. De manera similar, las referencias al mieloma múltiple incluyen el mieloma múltiple sensible a bortezomib o el mieloma múltiple refractario, y las referencias a la leucemia mielógena crónica incluyen la leucemia mielógena crónica sensible a imitanib y la leucemia mielógena crónica refractaria. En este sentido, las referencias al cáncer de próstata incluyen cánceres de próstata con resistencia a la terapia antiandrógena, en particular abiraterona o enzalutamida, o cáncer de 45 próstata resistente a la castración. Las referencias al melanoma incluyen melanomas que son resistentes al tratamiento con inhibidores de BRAF y/o MEK.

50 Los cánceres pueden ser cánceres que son sensibles a la inhibición de ERK1 o ERK2 o más particularmente ERK1/2.

50 Se prevé además que el compuesto de la invención será particularmente útil en el tratamiento o prevención de cánceres de un tipo asociado con o caracterizado por la presencia de señalización elevada de Ras, BRAF y/o MEK.

55 55 Se encuentran niveles elevados de señalización de Ras, BRAF o MEK en muchos cánceres y están asociados con un mal pronóstico. Además, los cánceres con mutaciones activadoras de Ras, BRAF o MEK también pueden ser sensibles a un inhibidor de ERK1/2. Los niveles elevados de señalización de Ras, BRAF o MEK y las mutaciones en Ras, BRAF o MEK se pueden identificar mediante las técnicas descritas en este documento. Se puede determinar si un cáncer en particular es sensible a la inhibición de ERK1/2 mediante un método como 60 el establecido en la sección titulada "Métodos de diagnóstico".

Otro subconjunto de cánceres consiste en melanoma NRas y AML NRas.

65 65 Otro subconjunto de cánceres consiste en cáncer de pulmón KRas, cáncer pancreático KRas y cáncer colorrectal KRas (CRC).

Otro subconjunto de cánceres consiste en el cáncer colorrectal BRAF (CRC), el cáncer de pulmón BRAF y el melanoma BRAF.

En realizaciones adicionales, la invención proporciona:

- 5 • El compuesto de fórmula (1) para su uso para prevenir o tratar una enfermedad o afección con Ras mutante, BRAF mutante o MEK mutante.
- 10 • El compuesto de fórmula (1) para su uso para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o afección con Ras mutante, BRAF mutante o MEK mutante.
- El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento de (o reducción de la incidencia de) un cáncer seleccionado entre NRas melanoma y NRas AML.
- 15 • El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento de (o reducción de la incidencia de) un cáncer seleccionado entre cáncer de pulmón KRas, cáncer de páncreas KRas y cáncer colorrectal KRas (CRC).
- El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento de (o reducción de la incidencia de) un cáncer seleccionado entre cáncer colorrectal BRAF (CRC), cáncer de pulmón BRAF y melanoma BRAF.
- 20 • El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento de (o reducción de la incidencia de) un cáncer que es melanoma BRAF.
- El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección como se describe en este documento, en particular cáncer.
- El compuesto de fórmula (1) para su uso para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o afección como se describe en este documento, en particular cáncer.
- 30 El compuesto (1) también puede ser útil en el tratamiento del crecimiento tumoral, la patogénesis, la resistencia a la quimioterapia y la radioterapia sensibilizando las células a la quimioterapia y como agente antimetastásico.

Las intervenciones terapéuticas contra el cáncer de todo tipo aumentan necesariamente el estrés impuesto a las células tumorales objetivo. Para mitigar los efectos nocivos de tales tensiones, las ERK1/2 están directamente implicadas en la resistencia a los efectos de los fármacos contra el cáncer y los regímenes de tratamiento. Por lo tanto, los inhibidores de ERK1/2 representan una clase de quimioterapéuticos con el potencial de: (i) sensibilizar las células malignas a los fármacos y/o tratamientos contra el cáncer; (ii) aliviar o reducir la incidencia de resistencia a los fármacos y/o tratamientos contra el cáncer; (iii) revertir la resistencia a los fármacos y/o tratamientos contra el cáncer; (iv) potenciar la actividad de los fármacos y/o tratamientos contra el cáncer; (v) retrasar o prevenir la aparición de resistencia a los fármacos y/o tratamientos contra el cáncer.

Como consecuencia de su inhibición de ERK1/2, el compuesto será útil para proporcionar un medio para controlar la señalización celular. Por lo tanto, también se prevé que el compuesto de la invención pueda ser útil en el tratamiento de otras afecciones tales como trastornos inflamatorios como la hepatitis, la colitis ulcerosa y la gastritis; afecciones neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la distrofia miotónica y la esclerosis lateral amiotrófica; SIDA, isquemia como la reestenosis, lesión cerebral traumática, lesión medular, isquemia cerebral, lesión cerebral por isquemia/reperfusión (I/R), isquemia aguda y crónica por lesión del SNC, apoplejía o infarto de miocardio; enfermedades degenerativas del sistema musculoesquelético como la osteoporosis; enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple (EM) y la diabetes de tipo I, y enfermedades oculares como la degeneración de la retina.

La afinidad del compuesto de la invención como inhibidor de ERK1/2 se puede medir utilizando los ensayos biológicos y biofísicos establecidos en los ejemplos incluidos en este documento.

Métodos de diagnóstico

Antes de la administración de un compuesto de la fórmula (1), se puede examinar a un sujeto (por ejemplo, un paciente) para determinar si una enfermedad o afección que padece o puede padecer el paciente es susceptible de tratamiento con un compuesto que muestre inhibición de ERK1/2. El término "paciente" incluye pacientes humanos y veterinarios.

Por ejemplo, una muestra biológica tomada de un paciente puede analizarse para determinar si una afección o enfermedad, tal como cáncer, que el paciente padece o puede padecer se caracteriza por una anomalía

genética o expresión proteica anormal que conduce a una regulación positiva de los niveles de señalización de ERK1/2 o a la sensibilización de una vía a la función normal de ERK1/2 o a la regulación positiva de una vía bioquímica aguas abajo de la activación de ERK1/2.

- 5 Ejemplos de tales anomalías que resultan en la activación o sensibilización de la vía ERK1/2, incluyen mutaciones activadoras en una isoforma Ras como KRAS o en BRAF, como se analiza en la sección Antecedentes.

10 Se han detectado mutaciones de Ras en líneas celulares y tumores primarios que incluyen, pero no se limitan a, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cánceres de páncreas, próstata, tiroides, tracto urinario y tracto respiratorio superior (Cancer Res. 2012; 72: 2457-2467).

15 El término regulación positiva incluye expresión elevada o sobreexpresión, incluyendo amplificación génica (es decir, múltiples copias génicas), aberración citogenética y expresión aumentada por un efecto transcripcional, o señalización aumentada a través de la activación de ERK1/2. Por lo tanto, el paciente puede ser sometido a una prueba diagnóstica para detectar un marcador característico de la regulación positiva de ERK1/2. El término diagnóstico incluye detección. Por marcador incluimos marcadores genéticos que incluyen, por ejemplo, la medición de la composición del ADN para identificar la presencia de mutaciones de Ras (por ejemplo, KRAS) o BRAF. El término marcador también incluye marcadores que son característicos de la regulación positiva de ERK1/2, que incluyen los niveles de proteína, el estado de la proteína y los niveles de ARNm de las proteínas mencionadas anteriormente. La amplificación genética incluye más de 7 copias, así como ganancias de entre 2 y 7 copias.

20 Los ensayos de diagnóstico para detectar mutaciones de KRAS y BRAF se describen en de Castro et al. Br. J. Cancer. 10 de julio de 2012; 107 (2): 345-51. doi: 10.1038/bjc.2012.259. Epub 2012 Jun 19, " comparison of three methods for detecting KRAS mutations in formalin-fixed colorectal cancer specimens. "; y Gonzalez et al., Br J Dermatol. 2013, Abr;168(4): 700-7. doi: 10.1111/bjd. 12248, "BRAF mutation testing algorithm for vemurafenib treatment in melanoma: recommendations from an expert panel" y referencias citadas en el mismo.

25 30 La FDA ha aprobado una serie de pruebas de diagnóstico para mutaciones de BRAF y los detalles de las pruebas se pueden encontrar en el sitio web de la FDA. Ejemplos de dichas pruebas de diagnóstico son la prueba de mutación BRAF V600 cobas 4800, un ensayo complementario para el producto vemurafenib de Roche, y la prueba THxID BRAF, una prueba complementaria para los productos Tafinlar (dabrafenib) y Mekinist (trametinib).

35 40 Las pruebas y exámenes de diagnóstico se realizan típicamente en una muestra biológica (es decir, tejido corporal o fluidos corporales) seleccionada de muestras de biopsia de tumor, muestras de sangre (aislamiento y enriquecimiento de células tumorales desprendidas), líquido cefalorraquídeo, plasma, suero, saliva, biopsias de heces, esputo, análisis de cromosomas, líquido pleural, líquido peritoneal, frotis bucal, biopsia de piel u orina.

45 50 Los métodos de identificación y análisis de aberraciones citogenéticas, amplificación genética, mutaciones y regulación positiva de proteínas son conocidos por una persona experta en la técnica. Las pruebas clínicas para la mayoría de las variantes genéticas podrían incluir, pero no limitarse a, métodos estándar como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica de alelos, la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), el análisis de secuencias de ADN mediante métodos convencionales de Sanger o de secuenciación de próxima generación, la secuenciación didesoxi de Sanger, la pirosecuenciación, la amplificación de sonda dependiente de ligación múltiple (MLPA) o la PCR ARMS. Las pruebas clínicas para determinar el número de copias de genes y las variaciones estructurales de los genes podrían incluir, entre otros, métodos estándar como la secuenciación de ARN (RNAseq), ensayos de hibridación de nanocadenas por proximidad de ARN nCounter o hibridación in situ, como la hibridación in situ con fluorescencia (FISH). Las tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS) más nuevas, tal como la secuenciación paralela masiva, permiten la secuenciación completa del exoma o la secuenciación completa del genoma.

55 60 En la detección mediante RT-PCR, el nivel de ARNm en el tumor se evalúa creando una copia de ADNc del ARNm seguida de la amplificación del ADNc mediante PCR. Los métodos de amplificación por PCR, la selección de cebadores y las condiciones para la amplificación son conocidos por una persona experta en la técnica. Las manipulaciones de ácidos nucleicos y la PCR se llevan a cabo mediante métodos estándar, como se describe, por ejemplo, en Ausubel, FM et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc., o Innis, MA et al., eds. (1990) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego. Las reacciones y manipulaciones que involucran técnicas de ácidos nucleicos también se describen en Sambrook et al., (2001), 3.^a edición, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativamente, se puede utilizar un kit disponible comercialmente para RT-PCR (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals), o la metodología establecida en las patentes de los Estados Unidos 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659, 5,272,057, 5,882,864 y 6,218,529. Un ejemplo de una técnica de hibridación in situ para evaluar la expresión de ARNm sería la hibridación in situ con fluorescencia (FISH) (véase Angerer (1987) *Meth. Enzymol.*, 152: 649).

Generalmente, la hibridación *in situ* comprende las siguientes etapas principales: (1) fijación del tejido a analizar, (2) tratamiento de prehibridación de la muestra para aumentar la accesibilidad del ácido nucleico objetivo y reducir la unión no específica; (3) hibridación de la mezcla de ácidos nucleicos con el ácido nucleico en la estructura biológica o tejido; (4) lavados posteriores a la hibridación para eliminar los fragmentos de ácido nucleico no unidos en la hibridación, y (5) detección de los fragmentos de ácido nucleico hibridados. Las sondas utilizadas en tales aplicaciones están típicamente marcadas, por ejemplo, con radioisótopos o marcadores fluorescentes. Las sondas particulares son suficientemente largas, por ejemplo, desde aproximadamente 50, 100 o 200 nucleótidos hasta aproximadamente 1000 o más nucleótidos, para permitir la hibridación específica con el o los ácidos nucleicos objetivo bajo condiciones estrictas. Los métodos estándar para realizar FISH se describen en Ausubel, FM et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc y *Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview* por John MS Bartlett in *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, 2^a ed.; ISBN: 1-59259-760-2; Marzo de 2004, págs. 077-088; Series: *Methods in Molecular Medicine*.

15 Los métodos para la elaboración de perfiles de expresión genética se describen en (DePrimo et al. (2003), *BMC Cancer*, 3:3). Brevemente, el protocolo es el siguiente: se sintetiza ADNc de doble cadena a partir de ARN total utilizando un oligómero (dT)24 para iniciar la síntesis de ADNc de primera cadena, por ejemplo a partir de ARNm poliadenilado, seguido de la síntesis de ADNc de segunda cadena con cebadores hexaméricos aleatorios. El ADNc bicatenario se utiliza como plantilla para la transcripción *in vitro* de ARNc utilizando ribonucleótidos biotinilados. El ARNc se fragmenta químicamente según los protocolos descritos por Affymetrix (Santa Clara, CA, EE. UU.) y después se hibrida durante la noche en matrices de genoma humano o con sondas de oligonucleótidos específicos de genes en matrices de genoma humano. Alternativamente, se pueden utilizar matrices de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), un tipo de micromatriz de ADN, para detectar polimorfismos dentro de una población.

20 Alternativamente, los productos proteicos expresados a partir de los ARNm se pueden analizar mediante inmunohistoquímica o inmunofluorescencia de muestras tumorales, inmunoensayo en fase sólida con placas de microtitulación, transferencia Western, electroforesis capilar, electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS bidimensional, ELISA, citometría de flujo y otros métodos conocidos en la técnica para la detección de proteínas específicas. Los métodos de detección incluirían el uso de anticuerpos específicos del sitio. El experto reconocerá que todas esas técnicas bien conocidas para la detección de la regulación positiva de ERK1/2, la detección de variantes o mutantes de ERK1/2 o la detección de la amplificación de 11q22 podrían ser aplicables en el presente caso.

25 35 Los niveles anormales de proteínas como ERK1/2 se pueden medir utilizando ensayos de proteínas estándar, por ejemplo, los ensayos descritos en este documento. También se podrían detectar niveles elevados o sobreexpresados en una muestra de tejido, por ejemplo, un tejido tumoral, midiendo los niveles de proteína con un ensayo como el de Chemicon International. La proteína de interés se inmunoprecipitaría a partir del lisado de la muestra y se medirían sus niveles. Los métodos de ensayo también incluyen el uso de marcadores.

40 45 La sobreexpresión de ERK se puede medir mediante biopsia del tumor. Los métodos para evaluar los cambios en las copias de genes incluyen técnicas comúnmente utilizadas en laboratorios citogenéticos tales como MLPA (amplificación de sonda dependiente de ligación multiplex), un método de PCR multiplex que detecta números de copias anormales u otras técnicas de PCR que pueden detectar la amplificación, ganancia y eliminación de genes.

También se podrían utilizar ensayos ex-funcionales cuando sea apropiado, por ejemplo, la medición de células de leucemia circulantes en un paciente con cáncer, para evaluar la respuesta al desafío con un inhibidor.

50 55 Por lo tanto, todas estas técnicas también podrían utilizarse para identificar tumores particularmente adecuados para el tratamiento con el compuesto de la invención.

Por consiguiente, en realizaciones adicionales, la invención proporciona:

60 • El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento o profilaxis de (o para su uso en el alivio o reducción de la incidencia de) un estado o afección de enfermedad en un paciente que ha sido examinado y se ha determinado que padece, o está en riesgo de padecer, una enfermedad o afección que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que muestra inhibición de ERK1/2 (es decir, un inhibidor de ERK1/2).

Otro aspecto de la invención incluye un compuesto de la invención para su uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado de una subpoblación que posee sobreexpresión o una mutación activadora en la vía de señalización ERK1/2 (por ejemplo, Ras, BRAF o MEK). Por consiguiente, en realizaciones adicionales, la invención proporciona:

- El compuesto de fórmula (1) para su uso en el tratamiento o profilaxis de (o para su uso en el alivio o reducción de la incidencia de) cáncer en un paciente seleccionado de una subpoblación que posee sobreexpresión o una mutación activadora en la vía de señalización ERK1/2, por ejemplo Ras (por ejemplo, KRAS), BRAF o MEK.

5

- El compuesto de fórmula (1) para su uso en un método para el diagnóstico y tratamiento de un estado o afección patológica mediada por ERK1/2, cuyo método comprende (i) examinar a un paciente para determinar si una enfermedad o afección que el paciente padece o puede padecer es una que sería susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene afinidad por ERK1/2; y (ii) cuando se indica que la enfermedad o afección de la que el paciente es susceptible, administrar posteriormente al paciente el compuesto de fórmula (1).

10

Formulaciones farmacéuticas

- 15 El compuesto (1) elaborado mediante el nuevo proceso de la invención y las nuevas formas cristalinas del compuesto (1) se pueden administrar a un sujeto por sí solos, pero más típicamente se presentan como una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación).

20 Por lo tanto, en una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (1) y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos como se describe en este documento.

25 La invención proporciona además métodos para elaborar una composición farmacéutica que comprenden poner en asociación (por ejemplo, mezclar) el compuesto de fórmula (1), al menos uno de dichos excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos como se describe en este documento.

30 El (los) excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s) puede(n) seleccionarse, por ejemplo, entre portadores (p. ej. un soporte sólido, líquido o semisólido), adyuvantes, diluyentes, rellenos o agentes de carga, agentes granulantes, agentes de recubrimiento, agentes de control de liberación, agentes aglutinantes, desintegrantes, agentes lubricantes, conservantes, antioxidantes, agentes amortiguadores, agentes de suspensión, agentes espesantes, agentes aromatizantes, edulcorantes, agentes enmascarantes del sabor, estabilizadores o cualquier otro excipiente utilizado convencionalmente en composiciones farmacéuticas. A continuación se exponen con más detalle ejemplos de excipientes para diversos tipos de composiciones farmacéuticas.

35

35 El término "farmacéuticamente aceptable", tal y como se utiliza en este documento, se refiere a compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del ámbito del buen juicio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable. Cada excipiente también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros principios de la formulación.

40 Las composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto (1) pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas, véase por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, EE. UU.

45 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en cualquier forma adecuada para la administración oral, parenteral, tópica, intranasal, intrabronquial, sublingual, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Cuando las composiciones están destinadas a administración parenteral, pueden formularse para administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o para administración directa en un órgano o tejido objetivo mediante inyección, infusión u otro medio de administración. La administración puede realizarse mediante inyección en bolo, infusión a corto plazo o infusión a largo plazo y puede realizarse mediante administración pasiva o mediante el uso de una bomba de infusión adecuada o un controlador de jeringa.

55

55 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, codisolventes, agentes tensioactivos, mezclas de disolventes orgánicos, agentes de complejación de ciclodextrina, agentes emulsionantes (para formar y estabilizar formulaciones de emulsión), componentes de liposomas para formar liposomas, polímeros gelificables para formar geles poliméricos, protectores de liofilización y combinaciones de agentes para, entre otras cosas, estabilizar el principio activo en una forma soluble y hacer que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral también pueden tomar la forma de suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes (RG Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, Vol 21(2) 2004, p 201-230).

- Las formulaciones pueden presentarse en envases de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo, ampollas selladas, viales y jeringas precargadas, y pueden almacenarse en una afección liofilizada que sólo requiera la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. En 5 una realización, la formulación se proporciona como un principio farmacéutico activo (por ejemplo, en forma liofilizada u otra forma seca finamente dividida) en una botella para su posterior reconstitución utilizando un diluyente apropiado.
- La formulación farmacéutica se puede preparar liofilizando el compuesto de fórmula (1). La liofilización se 10 refiere al procedimiento de liofilización de una composición. Por lo tanto, en el presente documento se utilizan secado por congelación y liofilización como sinónimos. La liofilización es un método de deshidratación en el que un sustrato que contiene disolvente se congela y después se somete a vacío para que el disolvente se elimine por sublimación, es decir, la conversión directa del estado sólido congelado al estado gaseoso. La liofilización normalmente comprende tres etapas: una etapa de congelación, una etapa de secado primario y 15 una etapa de secado secundario. Durante la etapa de congelación, el sustrato se congela a una temperatura muy por debajo de su punto de fusión. En la siguiente etapa de secado primario, el sustrato congelado se somete a vacío, lo que permite la eliminación del disolvente mediante sublimación. La mayor parte del disolvente se elimina del sustrato durante esta etapa. Sin embargo, una pequeña cantidad de disolvente puede permanecer unido o adsorbido al sustrato al final de la etapa de secado primario. Para eliminar este disolvente 20 residual, se mantiene el vacío pero el sustrato parcialmente seco se calienta a una temperatura a la que ya no está congelado. El disolvente residual se elimina mediante evaporación.
- El procedimiento de secado por congelación puede llevarse a cabo en un aparato de liofilización, cuya 25 construcción puede ser completamente convencional. El aparato de liofilización típicamente tiene una cámara en la que se pueden colocar recipientes de liofilización que contienen solución para el secado por congelación. La cámara típicamente está conectada a una fuente de vacío (por ejemplo, una bomba de vacío) para permitir que se reduzca la presión dentro de la cámara. El aparato también puede tener medios para congelar o calentar el contenido de la cámara.
- 30 La formulación farmacéutica también se puede preparar secando por pulverización el compuesto de fórmula (1). El secado por pulverización es un método para producir partículas de tamaño micrométrico en el que una solución o suspensión de un sustrato en un disolvente se rocía finamente para formar una dispersión de gotitas de la solución o suspensión y después se somete a calor y/o un vacío parcial para que el disolvente se elimine por evaporación. Primero se disuelve o suspende el sustrato en un disolvente adecuado y después la solución 35 pasa a través de un atomizador o boquilla pulverizadora a una cámara de secado. También se puede inyectar un gas calentado (por ejemplo, aire o nitrógeno) en la cámara de secado para que entre en contacto con la alimentación atomizada o la cámara de secado puede someterse a un vacío parcial para iniciar la evaporación del disolvente. A medida que el disolvente se evapora, se forman partículas sólidas del sustrato que pueden recuperarse. El tamaño de las partículas resultantes en el polvo se puede alterar mediante la selección del 40 atomizador o la boquilla de pulverización adecuados.
- El procedimiento de secado por pulverización se puede llevar a cabo con un secador por pulverización, cuya construcción puede ser completamente convencional. El secador por pulverización normalmente tiene un atomizador o boquilla de pulverización que dispersa la solución en una pulverización fina (normalmente de 45 menos de 500 µm de diámetro). La pulverización fina se dirige a una cámara de secado. La cámara de secado típicamente también tiene una entrada para recibir un gas calentado (tales como aire o nitrógeno) y opcionalmente también está conectada a una fuente de vacío (por ejemplo, una bomba de vacío) para permitir que se reduzca la presión dentro de la cámara. La cámara de secado también puede tener una salida a través de la cual se pueden recoger las partículas sólidas formadas a partir de la evaporación del disolvente de las 50 gotas de pulverización.
- Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.
- 55 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención para inyección parenteral también pueden comprender soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, así como polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso. Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos, diluyentes, disolventes o vehículos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, 60 polietilenglicol y similares), carboximetilcelulosa y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (como aceite de oliva, girasol, cártamo o maíz) y ésteres orgánicos inyectables tal como el oleato de etilo. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento (o espesantes) tal como la lecitina, el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones y el uso de tensioactivos.

- Las composiciones de la presente invención también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede asegurarse por la inclusión de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sóbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes para ajustar la tonicidad, como azúcares, cloruro sódico y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede conseguirse mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como el monoestearato de aluminio y la gelatina.
- En una realización de la invención, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración intravenosa, por ejemplo mediante inyección o infusión. Para la administración intravenosa, la solución se puede dosificar tal cual o se puede inyectar en una bolsa de infusión (que contenga un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina al 0,9 % o dextrosa al 5 %), antes de la administración.
- En otra realización, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración subcutánea (s.c.).
- Las formas farmacéuticas adecuadas para la administración oral incluyen comprimidos (recubiertos o sin recubrir), cápsulas (de cubierta dura o blanda), cápsulas, píldoras, pastillas, jarabes, soluciones, polvos, gránulos, elixires y suspensiones, comprimidos sublinguales, obleas o parches tales como los parches bucales.
- Por lo tanto, las composiciones de comprimidos pueden contener una dosificación unitaria de compuesto activo junto con un diluyente o vehículo inerte tal como un azúcar o alcohol de azúcar, por ejemplo; lactosa, sacarosa, sorbitol o manitol; y/o un diluyente no derivado del azúcar tales como carbonato sódico, fosfato cálcico, carbonato cálcico, o una celulosa o derivado de la misma tales como celulosa microcristalina (MCC), metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, y almidones como almidón de maíz. Los comprimidos también pueden contener principios estándares tales como agentes aglutinantes y de granulación, tales como polivinilpirrolidona, desintegrantes (por ejemplo, polímeros reticulados dilatables, tales como carboximetilcelulosa reticulada), agentes lubricantes (por ejemplo, estearatos), conservantes (por ejemplo, parabenos), antioxidantes (por ejemplo, BHT), agentes amortiguadores (por ejemplo, amortiguadores de fosfato o citrato) y agentes efervescentes tales como mezclas de citrato/bicarbonato. Dichos excipientes son ampliamente conocidos y no es necesario tratarlos en detalle en la presente.
- Los comprimidos pueden estar diseñados para liberar el fármaco al entrar en contacto con los fluidos estomacales (comprimidos de liberación inmediata) o para liberarse de forma controlada (comprimidos de liberación controlada) durante un periodo de tiempo prolongado o en una región específica del tracto gastrointestinal.
- Las formulaciones de cápsulas pueden ser de gelatina dura o gelatina blanda y pueden contener el componente activo en forma sólida, semisólida o líquida. Las cápsulas de gelatina pueden estar formadas por gelatina animal o equivalentes sintéticos o vegetales de las mismas.
- Las formas de dosificación sólidas (por ejemplo, comprimidos, cápsulas, etc.) pueden estar recubiertas o no. Los recubrimientos pueden actuar como una película protectora (por ejemplo, un polímero, cera o barniz) o como un mecanismo para controlar la liberación de fármacos o pueden tener fines estéticos o de identificación. El recubrimiento (por ejemplo, un polímero tipo Eudragit™) puede diseñarse para liberar el componente activo en una ubicación deseada dentro del tracto gastrointestinal. Por lo tanto, el recubrimiento puede seleccionarse para que se degrada en determinadas condiciones de pH dentro del tracto gastrointestinal, liberando así selectivamente el compuesto en el estómago o en el íleon, el duodeno, el colon o el yeyuno.
- En lugar de, o además de, un recubrimiento, el fármaco se puede presentar en una matriz sólida que comprende un agente de control de liberación, por ejemplo un agente retardante de liberación que puede estar adaptado para liberar el compuesto de manera controlada en el tracto gastrointestinal. Alternativamente, el fármaco puede presentarse en un recubrimiento de polímero, por ejemplo, un recubrimiento de polímero de polimetacrilato, que puede adaptarse para liberar selectivamente el compuesto bajo condiciones de acidez o alcalinidad variable en el tracto gastrointestinal. Alternativamente, el material de matriz o el recubrimiento retardante de liberación puede tomar la forma de un polímero erosionable (por ejemplo, un polímero de anhídrido maleico) que se erosiona sustancialmente de forma continua a medida que la forma de dosificación pasa a través del tracto gastrointestinal. En otra alternativa, el recubrimiento puede diseñarse para desintegrarse bajo la acción microbiana en el intestino. Como alternativa adicional, el compuesto activo se puede formular en un sistema de administración que proporcione control osmótico de la liberación del compuesto. Las formulaciones de liberación osmótica y otras formulaciones de liberación retardada o sostenida (por ejemplo, formulaciones basadas en resinas de intercambio iónico) se pueden preparar de acuerdo con métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.
- El compuesto de fórmula (1) puede formularse con un vehículo y administrarse en forma de nanopartículas. Las nanopartículas aumentan el área de superficie, ayudando a la absorción del compuesto y ofrecen la

5 posibilidad de penetración directa en la célula. Los sistemas de administración de fármacos mediante nanopartículas se describen en "Tecnología de nanopartículas para administración de fármacos", editado por Ram B Gupta y Uday B. Kompella, Informa Healthcare, ISBN 9781574448573, publicado el 13 de marzo de 2006. Las nanopartículas para la administración de fármacos también se describen en J. Control. Release, 2003, 91 (1-2), 167-172, y en Sinha et al., Mol. Cancer Ther. 1 de agosto de (2006) 5, 1909.

10 Las composiciones farmacéuticas pueden comprender de aproximadamente 1 % (p/p) a aproximadamente 95 % de principio activo y de 99 % (p/p) a 5 % (p/p) de un excipiente o combinación de excipientes farmacéuticamente aceptable. Más particularmente, las composiciones pueden comprender de aproximadamente 20 % (p/p) a 15 aproximadamente 90 % (p/p) de principio activo y de 80 % (p/p) a 10 % de un excipiente farmacéutico o combinación de excipientes.

15 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden presentarse, por ejemplo, en forma de dosis unitaria, tales como ampollas, viales, supositorios, grageas, comprimidos o cápsulas, o jeringas precargadas.

20 25 Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse según la forma física deseada de la formulación y pueden, por ejemplo, seleccionarse entre diluyentes (por ejemplo, diluyentes sólidos tales como rellenos o agentes de carga; y diluyentes líquidos tales como disolventes y cosolventes), desintegrantes, agentes tamponadores, lubricantes, auxiliares de flujo, agentes de control de liberación (por ejemplo, polímeros o ceras de liberación retardada o retardada), agentes aglutinantes, agentes granulantes, pigmentos, plastificantes, antioxidantes, conservantes, agentes aromatizantes, agentes enmascarantes del sabor, agentes tonificantes, etc.). por ejemplo, polímeros o ceras de liberación retardada o retardada), aglutinantes, agentes granulantes, pigmentos, plastificantes, antioxidantes, conservantes, aromatizantes, agentes enmascarantes del sabor, agentes ajustadores de la tonicidad y agentes de recubrimiento.

30 35 El experto tendrá la experiencia para seleccionar las cantidades apropiadas de principios para usar en las formulaciones. Por ejemplo, los comprimidos y las cápsulas típicamente contienen 0-20 % de desintegrantes, 0-5 % de lubricantes, 0-5 % de auxiliares de flujo y/o 0-99 % (p/p) de rellenos o agentes de carga (en función de la dosis del fármaco). También pueden contener 0-10 % (p/p) de aglutinantes de polímero, 0-5 % (p/p) de antioxidantes, 0-5 % (p/p) de pigmentos. Los comprimidos de liberación lenta contendrían además 0-99 % (p/p) de polímeros (dependiendo de la dosis). Los recubrimientos con películas del comprimido o la cápsula contienen típicamente 0-10 % (p/p) de polímeros que controlan la liberación (por ejemplo, retardantes), 0-3 % (p/p) de pigmentos y/o 0-2 % (p/p) de plastificantes.

40 45 Las formulaciones parenterales contienen típicamente 0-20 % (p/p) tampones, 0-50 % (p/p) cosolventes, y/o 0-99 % (p/p) Agua para Inyección (WFI) (dependiendo de la dosis y si es liofilizada). Las formulaciones para depósitos intramusculares también pueden contener 0-99 % (p/p) de aceites.

50 Las composiciones farmacéuticas para administración oral se pueden obtener combinando el principio activo con vehículos sólidos, si se desea granulando la mezcla resultante y procesando la mezcla, si se desea o es necesario, después de la adición de excipientes apropiados, en comprimidos, núcleos de grageas o cápsulas. También es posible incorporarlos a una matriz polimérica o cerosa que permita que los principios activos se difundan o se liberen en cantidades medidas.

55 60 El compuesto de la invención también puede formularse como dispersiones sólidas. Las dispersiones sólidas son fases dispersas extremadamente finas y homogéneas de dos o más sólidos. Las soluciones sólidas (sistemas molecularmente dispersos), un tipo de dispersión sólida, son bien conocidas por su uso en tecnología farmacéutica (véase Chiou y Riegelman, J. Pharm. Sci., 60, 1281-1300 (1971)) y son útiles para aumentar las tasas de disolución y aumentar la biodisponibilidad de fármacos poco solubles en agua.

65 La invención también proporciona formas de dosificación sólidas que comprenden la solución sólida descrita anteriormente. Las formas de dosificación sólidas incluyen comprimidos, cápsulas y comprimidos masticables, o comprimidos dispersables o efervescentes. Los excipientes conocidos se pueden mezclar con la solución sólida para proporcionar la forma de dosificación deseada. Por ejemplo, una cápsula puede contener la solución sólida mezclada con (a) un desintegrante y un lubricante, o (b) un desintegrante, un lubricante y un tensioactivo. Además, una cápsula puede contener un agente de carga, tal como lactosa o celulosa microcristalina. Un comprimido puede contener la solución sólida mezclada con al menos un desintegrante, un lubricante, un tensioactivo, un agente de carga y un deslizante. Un comprimido masticable puede contener la solución sólida mezclada con un agente de carga, un lubricante y, si se desea, un agente edulcorante adicional (tal como un edulcorante artificial) y sabores adecuados. También se pueden formar soluciones sólidas rociando soluciones de fármaco y un polímero adecuado sobre la superficie de vehículos inertes, tales como perlas de azúcar ("nonpareils"). Estas perlas pueden posteriormente introducirse en cápsulas o comprimirse para formar comprimidos.

70 75 Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse a un paciente en "paquetes para pacientes" que contienen un ciclo completo de tratamiento en un único envase, normalmente un blíster. Los paquetes para

pacientes tienen una ventaja sobre las recetas tradicionales, donde un farmacéutico divide el suministro de un medicamento para un paciente de un suministro a granel, ya que el paciente siempre tiene acceso al prospecto incluido en el paquete para el paciente, que normalmente falta en las recetas para pacientes. Se ha demostrado que la inclusión de un prospecto mejora el cumplimiento por parte del paciente de las instrucciones del médico.

- 5 Las composiciones para uso tópico y administración nasal incluyen ungüentos, cremas, aerosoles, parches, geles, gotas líquidas e insertos (por ejemplo, insertos intraoculares). Dichas composiciones se pueden formular de acuerdo con los métodos conocidos.
- 10 Los ejemplos de formulaciones para administración rectal o intravaginal incluyen pesarios y supositorios que pueden estar, por ejemplo, formados a partir de un material moldeable o ceroso con forma que contiene el compuesto activo. También pueden utilizarse soluciones del compuesto activo para administración rectal.
- 15 Las composiciones para administración por inhalación pueden tomar la forma de composiciones en polvo inhalables o aerosoles líquidos o en polvo, y pueden administrarse en forma estándar utilizando dispositivos inhaladores de polvo o dispositivos dispensadores de aerosol. Dichos dispositivos son bien conocidos. Para la administración por inhalación, las formulaciones en polvo generalmente comprenden el compuesto activo junto con un diluyente sólido en polvo inerte, tal como lactosa.
- 20 El compuesto de la fórmula (1) se presentará generalmente en forma de dosificación unitaria y, como tal, contendrá típicamente suficiente compuesto para proporcionar un nivel deseado de actividad biológica. Por ejemplo, una formulación puede contener de 1 nanogramo a 2 gramos de principio activo, por ejemplo, de 1 nanogramo a 2 miligramos de principio activo. Dentro de este intervalo, los subintervalos particulares de compuesto son de 0.1 miligramos a 2 gramos de principio activo (más habitualmente de 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo de 50 miligramos a 500 miligramos), o de 1 microgramo a 20 miligramos (por ejemplo de 1 microgramo a 10 miligramos, por ejemplo de 0.1 miligramos a 2 miligramos de principio activo).
- 25 Para composiciones orales, una forma de dosificación unitaria puede contener de 1 miligramo a 2 gramos, más típicamente de 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo de 50 miligramos a 1 gramo, por ejemplo de 100 miligramos a 1 gramo, de compuesto activo.
- 30 El compuesto de la invención se administrará a un paciente que lo necesite (por ejemplo, un paciente humano o animal) en una cantidad suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado.
- 35 **Métodos de tratamiento**
- 40 El compuesto de la fórmula (1) puede ser útil en la profilaxis o el tratamiento de una variedad de estados patológicos o afecciones mediadas por ERK1/2. Ejemplos de dichos estados patológicos y afecciones se exponen anteriormente.
- 45 El compuesto se administra generalmente a un sujeto que necesita dicha administración, por ejemplo, un paciente humano o animal, particularmente un humano.
- 50 El compuesto se administrará típicamente en cantidades que sean terapéutica o profilácticamente útiles y que generalmente no sean tóxicas. Sin embargo, en ciertas situaciones (por ejemplo, en el caso de enfermedades potencialmente mortales), los beneficios de administrar un compuesto de la fórmula (1) pueden superar las desventajas de cualquier efecto tóxico o efecto secundario, en cuyo caso puede considerarse deseable administrar el compuesto en cantidades que estén asociadas con un grado de toxicidad.
- 55 Una dosis diaria típica del compuesto de fórmula (1) puede estar en el intervalo de 100 picogramos a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal, más típicamente de 5 nanogramos a 25 miligramos por kilogramo de peso corporal, y más usualmente de 10 nanogramos a 15 miligramos por kilogramo (por ejemplo, 10 nanogramos a 10 miligramos, y más típicamente de 1 microgramo por kilogramo a 20 miligramos por kilogramo, por ejemplo, 1 microgramo a 10 miligramos por kilogramo) por kilogramo de peso corporal, aunque se pueden administrar dosis mayores o menores cuando sea necesario. El compuesto de la fórmula (1) y subfórmulas del mismo se pueden administrar diariamente o de forma repetida cada 2, o 3, o 4, o 5, o 6, o 7, o 10 o 14, o 21, o 28 días, por ejemplo.
- 60 El compuesto de la invención se puede administrar por vía oral en un intervalo de dosis, por ejemplo de 1 a 1500 mg, de 2 a 800 mg o de 5 a 500 mg, por ejemplo de 2 a 200 mg o de 10 a 1000 mg, ejemplos particulares de dosis que incluyen 10, 20, 50 y 80 mg. El compuesto puede administrarse una o más de una vez al día para

obtener el efecto terapéutico deseado. El compuesto puede administrarse de forma continua (es decir, tomarse todos los días sin interrupción durante la duración del régimen de tratamiento). Alternativamente, el compuesto puede administrarse de forma intermitente (es decir, tomarse de forma continua durante un período determinado, tal como una semana, después suspenderse durante un período, tal como una semana, y así sucesivamente durante la duración del régimen de tratamiento). Ejemplos de regímenes de tratamiento que implican una administración intermitente incluyen regímenes en donde la administración se realiza en ciclos de una semana de tratamiento, una semana de descanso; o dos semanas de tratamiento, una semana de descanso; o tres semanas de tratamiento, una semana de descanso; o dos semanas de tratamiento, dos semanas de descanso; o cuatro semanas de tratamiento, dos semanas de descanso; o una semana de tratamiento, tres semanas de descanso, durante uno o más ciclos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más ciclos. Este tratamiento discontinuo también puede basarse en un número de días en lugar de una semana completa. Por ejemplo, el tratamiento puede comprender una dosificación diaria durante 1 a 6 días, ninguna dosificación durante 1 a 6 días y repetir este patrón durante el protocolo de tratamiento. El número de días (o semanas) en donde no se dosifican los compuestos de la invención no tiene por qué ser necesariamente igual al número de días (o semanas) en donde se dosifican los compuestos de la invención.

En un programa de dosificación particular, a un paciente se le administrará una infusión de un compuesto de la fórmula (1) del mismo durante períodos de una hora diariamente durante hasta diez días, en particular hasta cinco días durante una semana, y el tratamiento se repetirá en un intervalo deseado, tal como dos a cuatro semanas, en particular cada tres semanas.

El compuesto de la invención también puede administrarse mediante bolo o infusión continua. El compuesto de la invención se puede administrar diariamente o una vez por semana, o una vez cada dos semanas, o una vez cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas durante el ciclo de tratamiento. Si se administra diariamente durante un ciclo de tratamiento, esta dosificación diaria puede ser discontinua a lo largo de las semanas del ciclo de tratamiento: por ejemplo, dosificar durante una semana (o varios días), no dosificar durante una semana (o varios días), y repetir el patrón durante el ciclo de tratamiento.

En un esquema de dosificación, a un paciente se le puede administrar una infusión de un compuesto de la fórmula (1) del mismo durante períodos de una hora diariamente durante 5 días y el tratamiento se puede repetir cada tres semanas.

En otro programa de dosificación particular, a un paciente se le administra una infusión durante 30 minutos a 1 hora seguida de infusiones de mantenimiento de duración variable, por ejemplo, 1 a 5 horas, por ejemplo 3 horas.

En otro esquema de dosificación particular, a un paciente se le administra una infusión continua durante un período de 12 horas a 5 días, y en particular una infusión continua de 24 horas a 72 horas.

En última instancia, sin embargo, la cantidad de compuesto administrado y el tipo de composición utilizada serán proporcionales a la naturaleza de la enfermedad o afección fisiológica que se esté tratando y quedarán a discreción del médico.

Se ha descubierto que los inhibidores de ERK1/2 se pueden utilizar como agente único o en combinación con otros agentes anticancerígenos. Por ejemplo, puede ser beneficioso combinar un inhibidor que suprime la señalización de ERK con otro agente que actúa a través de un punto diferente en la cascada de transducción de señales o un mecanismo diferente para regular el crecimiento celular, tratando así dos de los rasgos característicos del desarrollo del cáncer. Se pueden realizar experimentos de combinación, por ejemplo, como se describe en Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regulat* 1984;22: 27-55.

El compuesto de la invención se puede administrar como el único agente terapéutico o se puede administrar en terapia de combinación con uno o más compuestos (o terapias) adicionales para el tratamiento de un estado de enfermedad particular, por ejemplo una enfermedad neoplásica tal como un cáncer como se define anteriormente. Para el tratamiento de las afecciones anteriores, el compuesto de la invención puede emplearse ventajosamente en combinación con uno o más agentes medicinales diferentes, más particularmente, con otros agentes anticancerígenos o adyuvantes (agentes de apoyo en la terapia) en la terapia del cáncer. Ejemplos de otros agentes terapéuticos o tratamientos que pueden administrarse junto (ya sea simultáneamente o en diferentes intervalos de tiempo) con el compuesto de la fórmula (1) incluyen, pero no se limitan a:

- Inhibidores de la topoisomerasa I
- Antimetabolitos

- Agentes dirigidos a la tubulina
- Aglutinantes de ADN e inhibidores de la topoisomerasa II
- 5 • Agentes alquilantes
 - Anticuerpos monoclonales
 - Antihormonas
- 10 • Inhibidores de la transducción de señal
- Inhibidores de la vía ubiquitina-proteasoma
- 15 • Inmunoterapias
 - Reguladores de la muerte celular
 - Inhibidores de la metiltransferasa del ADN
- 20 • Citocinas y retinoides
- Terapias dirigidas a la cromatina
- 25 • Radioterapia, y,
- Otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Ejemplos particulares de agentes anticancerígenos o adyuvantes (o sales de los mismos), incluyen pero no se limitan a uno o más de los agentes seleccionados de los grupos (i)-(xlviii), y opcionalmente el grupo (xlix) y o (l), a continuación:

(i) Compuestos de platino, por ejemplo cisplatino (opcionalmente combinado con amifostina), carboplatino u oxaliplatino;

35 (ii) Compuestos de taxano, por ejemplo paclitaxel, partículas unidas a proteínas de paclitaxel (Abraxane™), docetaxel, cabazitaxel o larotaxel;

(iii) Inhibidores de la topoisomerasa I, por ejemplo compuestos de camptotecina, por ejemplo camptotecina, irinotecán (CPT11), SN-38 o topotecán;

(iv) Inhibidores de la topoisomerasa II, por ejemplo epipodofilotoxinas antitumorales o derivados de podofilotoxina, por ejemplo etopósido o tenipósido;

45 (v) Alcaloides de la vinca, por ejemplo vinblastina, vincristina, vincristina liposomal (Onco-TCS), vinorelbina, vindesina, vinflunina o vinves;

(vi) Derivados de nucleósidos, por ejemplo 5-fluorouracilo (5-FU, opcionalmente en combinación con leucovorina), gemcitabina, capecitabina, tegafur, UFT, S1, cladribina, citarabina (Ara-C, arabinósido de citosina), fludarabina, clofarabina o nelarabina;

(vii) Antimetabolitos, por ejemplo clofarabina, aminopterina o metotrexato, azacitidina, citarabina, floxuridina, pentostatina, tioguanina, tiopurina, 6-mercaptopurina o hidroxiurea (hidroxicarbamida) o trifluridina (opcionalmente en combinación con tipiracilo);

55 (viii) Agentes alquilantes, tales como mostazas nitrogenadas o nitrosourea, por ejemplo ciclofosfamida, clorambucilo, carmustina (BCNU), bendamustina, tiotepa, melfalán, treosulfán, lomustina (CCNU), altretamina, busulfán, dacarbazina, estramustina, fotemustina, ifosfamida (opcionalmente en combinación con mesna), pipobroman, procarbazina, estreptozocina, temozolomida, uracilo, mecloretamina, metilciclohexilcloroetilnitrosourea o nimustina (ACNU);

(ix) Antraciclinas, antracenodionas y fármacos relacionados, por ejemplo daunorubicina, doxorrubicina (opcionalmente en combinación con dexrazoxano), formulaciones liposomales de doxorrubicina (por ejemplo, Caelyx™, Myocet™, Doxil™), idarrubicina, mitoxantrona, epirubicina, amsacrina o valrubicina;

(x) Epotilonas, por ejemplo ixabepilona, patupilona, BMS-310705, KOS-862 y ZK-EPO, epotilona A, epotilona B, desoxiepotilona B (también conocida como epotilona D o KOS-862), aza-epotilona B (también conocida como BMS-247550), aulimalida, isolaulimalida o luetherobina;

5 (xi) inhibidores de la ADN metiltransferasa, por ejemplo temozolomida, azacitidina, decitabina o guadecitabina (SGI-110);

10 (xii) Antifolatos, por ejemplo metotrexato, pemetrexed disódico o raltitrexed;

15 (xiii) Antibióticos citotóxicos, por ejemplo antinomicina D, bleomicina, mitomicina C, dactinomicina, carminomicina, daunomicina, levamisol, plicamicina o mitramicina;

20 (xiv) Agentes de unión a la tubulina, por ejemplo combrestatina, colchicinas o nocodazol;

25 (xv) Inhibidores de la transducción de señales, como los inhibidores de la cinasa, por ejemplo, los inhibidores de la tirosina cinasa del receptor (por ejemplo inhibidores del EGFR (receptor del factor de crecimiento epitelial), inhibidores del VEGFR (receptor del factor de crecimiento endotelial vascular), inhibidores del PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas), inhibidores de Axl, MTK1 (inhibidores de cinasas multiobjetivo), inhibidores de Raf, inhibidores de ROCK, inhibidores de mTOR, inhibidores de MEK o inhibidores de PI3K), por ejemplo mesilato de imatinib erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, dovitinib, axitinib, nilotinib, vandetanib, vatalinib, pazopanib, sorafenib, sunitinib, temsirolimus, everolimus (RAD 001), vemurafenib (PLX4032 o RG7204), dabrafenib, encorafenib, selumetinib (AZD6244), trametinib (GSK121120212), dactolisib (BEZ235), buparlisib (BKM-120; NVP-BKM-120), BYL719, copanlisib (BAY-80-6946), ZSTK-474, CUDC-907, apitolisib (GDC-0980; RG-7422), pictilisib (pictrelisib, GDC-0941, RG-7321), GDC-0032, GDC-0068, GSK-2636771, idelalisib (antes CAL-101, GS 1101, GS-1101), MLN1117 (INK1117), MLN0128 (INK128), IPI-145 (INK1197), LY-3023414, ipatasertib, afuresertib, MK-2206, MK-8156, LY-3023414, LY294002, SF1126 o PI-103, sonolisib (PX-866), o AT13148.

30 (xvi) Inhibidores de la aurora quinasa, por ejemplo AT9283, barasertib (AZD1152), TAK-901, MK0457 (VX680), cenisertib (R-763), danusertib (PHA-739358), alisertib (MLN-8237) o MP-470;

35 (xvii) Inhibidores de CDK, por ejemplo, AT7519, roscovitina, seliciclib, alvocidib (flavopiridol), dinaciclib (SCH-727965), 7-hidroxi-estaurosporina (UCN-01), JNJ-7706621, BMS-387032 (también conocido como SNS-032), PHA533533, ZK-304709 o AZD-5438, y que incluyen inhibidores de CDK4 tales como palbociclib (PD332991) y ribociclib (LEE-011);

40 (xviii) Inhibidores de la PKA/B e inhibidores de la vía PKB (akt), por ejemplo, AT13148, AZD5363, Semaphore, SF1126 e inhibidores de MTOR, tales como análogos de rapamicina, AP23841 y AP23573, inhibidores de calmodulina (inhibidores de la translocación forkhead), API-2/TCN (triciribina), RX-0201, enzastaurina HCl (LY317615), NL-71-101, SR-13668, PX-316 o KRX-0401 (perifosina/NSC 639966);

45 (xix) Inhibidores de Hsp90, por ejemplo, onalespib (AT13387), herbimicina, geldanamicina (GA), 17-alilamino-17-desmetoxigeldanamicina (17-AAG), por ejemplo, NSC-330507, Kos-953 y CNF-1010, clorhidrato de 17-dimetilaminoetilamino-17-desmetoxigeldanamicina (17-DMAG), por ejemplo, NSC-707545 y Kos-1022, NVP-AUY922 (VER-52296), NVP-BEP800, CNF-2024 (BIIB-021 una purina oral), ganetespib (STA-9090), SNX-5422 (SC-102112) o IPI-504 o TAS-116;

50 (xx) Anticuerpos monoclonales (no conjugados o conjugados con radioisótopos, toxinas u otros agentes), derivados de anticuerpos y agentes relacionados, tales como anticuerpos anti-CD, anti-VEGFR, anti-HER2 o anti-EGFR, por ejemplo rituximab (CD20), ofatumumab (CD20), ibritumomab tiuxetan (CD20), GA101 (CD20), tositumomab (CD20), epratuzumab (CD22), lintuzumab (CD33), gemtuzumab ozogamicina (CD33), alemtuzumab (CD52), galiximab (CD80), trastuzumab (anticuerpo HER2), pertuzumab (HER2), trastuzumab-DM1 (HER2), ertumaxomab (HER2 y CD3), cetuximab (EGFR), panitumumab (EGFR), necitumumab (EGFR), nimotuzumab (EGFR), bevacizumab (VEGF), catumaxumab (EpCAM y CD3), abagovomab (CA125), farletuzumab (receptor de folato), elotuzumab (CS1), denosumab (ligando RANK), fitigatumab (IGF1R), CP751,871 (IGF1R), mapatumumab (receptor TRAIL), metMAB (met), mitumomab (gangliósido GD3), naptumomab estafenatox (5T4) o siltuximab (IL6) o agentes inmunomoduladores tales como anticuerpos bloqueadores de CTLA-4 y/o anticuerpos contra PD-1 y PD-L1 y/o PD-L2 por ejemplo ipilimumab (CTLA4), MK-3475 (pembrolizumab, anteriormente lambrolizumab, anti-PD-1), nivolumab (un anti-PD-1), BMS-936559 (anti-PD-L1), MPDL320A, AMP-514 o MEDI4736 (anti-PD-L1), o tremelimumab (anteriormente ticilimumab, CP-675,206, anti-CTLA-4);

60 (xxi) Antagonistas del receptor de estrógeno o moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM) o inhibidores de la síntesis de estrógeno, por ejemplo tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, droloxifeno, faslodex o raloxifeno;

- (xxii) Inhibidores de la aromatasa y fármacos relacionados, tales como exemestano, anastrozol, letazol, testolactona aminoglutetimida, mitotano o vorozol;
- 5 5 (xxiii) Antiandrógenos (es decir, antagonistas del receptor de andrógenos) y agentes relacionados, por ejemplo, bicalutamida, nilutamida, flutamida, ciproterona o ketoconazol;
- (xxiv) Hormonas y análogos de las mismas, tales como medroxiprogesterona, dietilestilbestrol (también conocido como dietilestilbestrol) u octreotida;
- 10 10 (xxv) Esteroides, por ejemplo, propionato de dromostanolona, acetato de megestrol, nandrolona (decanoato, fenpropionato), fluoximestrona o gosipol,
- (xxvi) Inhibidor esteroideo de la citocromo P450 17alfa-hidroxilasa-17,20-liasa (CYP17), por ejemplo, abiraterona;
- 15 15 (xxvii) Agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRAs), por ejemplo, abarelix, acetato de goserelina, acetato de histrelina, acetato de leuprolida, triptorelina, buserelina o deslorelin;
- 20 20 (xxviii) Glucocorticoides, por ejemplo prednisona, prednisolona, dexametasona;
- (xxix) Agentes diferenciadores, tales como retinoides, rexinoides, vitamina D o ácido retinoico y agentes bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA), por ejemplo, accutane, alitretinoína, bexaroteno o tretinoína;
- 25 25 (xxx) Inhibidores de la farnesiltransferasa, por ejemplo tipifarnib;
- (xxxi) Terapias dirigidas a la cromatina, tales como inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC), por ejemplo, butirato de sodio, ácido suberoilanilida hidroxamida (SAHA), depsipeptido (FR 901228), dacinostat (NVP-LAQ824), R306465/ JNJ-16241199, JNJ-26481585, tricostatina A, vorinostat, clamidocina, A-173, JNJ-MGCD-0103, PXD-101 o apicidina;
- 30 30 (xxxii) Fármacos dirigidos a la vía ubiquitina-proteasoma, incluyendo inhibidores del proteasoma, por ejemplo, bortezomib, carfilzomib, CEP-18770, MLN-9708 u ONX-0912; inhibidores de NEDD8; antagonista de HDM2 y desubiquitinasas (DUB);
- (xxxiii) Fármacos fotodinámicos, por ejemplo, porfímero sódico o temoporfina;
- 35 35 (xxxiv) Agentes anticancerígenos derivados de organismos marinos, tales como la trabectidina;
- (xxxv) Fármacos radiomarcados para radioinmunoterapia, por ejemplo, con un isótopo emisor de partículas beta (por ejemplo, yodo-131, itrio-90) o un isótopo emisor de partículas alfa (por ejemplo, bismuto-213 o actinio-225), por ejemplo ibritumomab, yodo-tositumomab o radio alfa;
- 40 40 (xxxvi) Inhibidores de la telomerasa, por ejemplo la telomestatina;
- (xxxvii) Inhibidores de la metaloproteinasa de matriz, por ejemplo batimastat, marimastat, prinostat o metastat;
- 45 45 (xxxviii) Interferones recombinantes (tales como interferón- γ e interferón α) e interleucinas (por ejemplo, interleucina 2), por ejemplo aldesleucina, denileucina diftitox, interferón alfa 2a, interferón alfa 2b o peginterferón alfa 2b;
- (xxxix) Moduladores selectivos de la inmunorespuesta, por ejemplo, talidomida o lenalidomida;
- 50 50 (x) Vacunas terapéuticas tales como sipuleucel-T (Provenge) o OncoVex;
- (xi) Los agentes activadores de citocinas incluyen Picibanil, Romurtide, Sizofiran, Virulizin o Thymosin;
- (xii) Trióxido de arsénico;
- 55 55 (xiii) Inhibidores de los receptores acoplados a proteína G (GPCR), por ejemplo atrasentan;
- (xiv) Enzimas tales como L-asparaginasa, pegaspargasa, rasburicasa o pegademasa;
- 60 60 (xv) inhibidores de la reparación del ADN, tales como inhibidores de PARP, por ejemplo, olaparib, velaparib, iniparib, INO-1001, AG-014699 o ONO-2231;

(xlvi) Agonistas del receptor de muerte (por ejemplo, receptor del ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL)), tales como mapatumumab (anteriormente HGS-ETR1), conatumumab (anteriormente AMG 655), PRO95780, lexatumumab, dulanermina, CS-1008, apomab o ligandos de TRAIL recombinantes tal como el ligando TRAIL/Apo2 humano recombinante;

(xlvii) Inmunoterapias tales como inhibidores de puntos de control inmunitario, vacunas contra el cáncer y terapia con células CAR-T;

10 (xlviii) Reguladores de la muerte celular (apoptosis) que incluyen antagonistas de Bcl-2 (linfoma de células B 2) como venetoclax (ABT-199 o GDC-0199), ABT-737, ABT-263, TW-37, sabutoclax, obatoclax y antagonistas de MIM1 e IAP incluyendo LCL-161 (Novartis), Debio-1143 (Debiopharma/Ascenta), AZD5582, Birinapant/TL-32711 (TetraLogic), CUDC-427/GDC-0917/RG-7459 (Genentech), JP1201 (Joyant), T-3256336 (Takeda), GDC-0152 (Genentech), HGS-1029/AEG-40826 (HGS/Aegera) o -ASTX-660;

15 (xli) Agentes profilácticos (adjuntos); es decir, agentes que reducen o alivian algunos de los efectos secundarios asociados con los agentes de quimioterapia, por ejemplo

20 - agentes anti-eméticos,

25 - agentes que previenen o disminuyen la duración de la neutropenia asociada a la quimioterapia y previenen las complicaciones que surgen de los niveles reducidos de plaquetas, glóbulos rojos o glóbulos blancos, por ejemplo interleucina-11 (por ejemplo, oprelvekin), eritropoyetina (EPO) y análogos de la misma (por ejemplo, darbepoetin alfa), análogos del factor estimulante de colonias como el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (por ejemplo, sargramostim) y el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y análogos del mismo (por ejemplo, filgrastim, pegfilgrastim),

30 - agentes que inhiben la resorción ósea tales como denosumab o bifosfonatos, por ejemplo zoledronato, ácido zoledrónico, pamidronato e ibandronato,

35 - agentes que suprimen las respuestas inflamatorias tales como la dexametasona, la prednisona y la prednisolona,

40 - agentes utilizados para reducir los niveles sanguíneos de la hormona del crecimiento y del IGF-I (y otras hormonas) en pacientes con acromegalía u otros tumores raros productores de hormonas, tales como las formas sintéticas de la hormona somatostatina, por ejemplo, acetato de octreotida,

45 - antídoto a los fármacos que disminuyen los niveles de ácido fólico tales como la leucovorina o ácido folínico,

50 - agentes para el dolor, por ejemplo, opiáceos tales como la morfina, la diamorfina y el fentanilo,

- fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE), tales como los inhibidores de la COX-2, por ejemplo, celecoxib, etoricoxib y lumiracoixib.

55 - agentes para la mucositis, por ejemplo palifermina,

- agentes para el tratamiento de efectos secundarios que incluyen anorexia, caquexia, edema o episodios tromboembólicos, tales como acetato de megestrol; y

50 (I) radioterapia con fines radicales, paliativos o profilácticos (o con fines adyuvantes o neoadyuvantes).

Cada uno de los compuestos presentes en las combinaciones de la invención se puede administrar en dosis que varían individualmente y por diferentes vías. Como tal, la posología de cada uno de los dos o más agentes puede diferir: cada uno puede administrarse al mismo tiempo o en momentos diferentes. Una persona experta en la técnica conocería a través de su conocimiento general común los regímenes de dosificación y terapias combinadas a utilizar. Por ejemplo, el compuesto de la invención se puede utilizar en combinación con uno o más agentes adicionales que se administran según su régimen de combinación existente. A continuación se proporcionan ejemplos de regímenes combinados estándar.

60 El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosificación de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 75 a 250 mg/m^2 , particularmente para paclitaxel en una dosis de aproximadamente 175 a 250 mg/m^2 y para docetaxel en aproximadamente 75 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

65

El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosificación de 0.1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 1 a 300 mg/m^2 , particularmente para el irinotecán en una dosis de aproximadamente 100 a 350 mg/m^2 y para el topotecán de aproximadamente 1 a 2 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

5 El derivado de podofilotoxina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 50 a 250 mg/m^2 , en particular para irinotecán en una dosis de aproximadamente 35 a 100 mg/m^2 y para teniposido en aproximadamente 50 a 250 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

10 El alcaloide de vinca antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, en particular para la vinblastina en una dosis de aproximadamente 3 a 12 mg/m^2 , para la vincristina en una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m^2 , y para la vinorelbina en una dosis de aproximadamente 10 a 30 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

15 El derivado nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosificación de 200 a 2500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 700 a 1500 mg/m^2 , en particular para el 5-FU en una dosis de 200 a 500 mg/m^2 , para la gemcitabina en una dosis de aproximadamente 800 a 1200 mg/m^2 y para la capecitabina en aproximadamente 1000 a 2500 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

20 25 Los agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 120 a 200 mg/m^2 , particularmente para ciclofosfamida en una dosis de aproximadamente 100 a 500 mg/m^2 , para clorambucilo en una dosis de aproximadamente 0.1 a 0.2 mg/kg , para carmustina en una dosis de aproximadamente 150 a 200 mg/m^2 , y para lomustina en una dosis de aproximadamente 100 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

30 El derivado de antraciclina antitumoral se administra ventajosamente en una dosificación de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo de 15 a 60 mg/m^2 , en particular para la doxorubicina en una dosis de aproximadamente 40 a 75 mg/m^2 , para la daunorubicina en una dosis de aproximadamente 25 a 45 mg/m^2 , y para la idarrubicina en una dosis de aproximadamente 10 a 15 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

35 40 El agente antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosificación de aproximadamente 1 a 100 mg diarios dependiendo del agente particular y la afección que se esté tratando. El tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg, particularmente de 10 a 20 mg dos veces al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 60 mg una vez al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 1 mg una vez al día. El droloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 20-100 mg una vez al día. El raloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de unos 60 mg una vez al día. El exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 25 mg una vez al día.

45 Los anticuerpos se administran ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, o como se conoce en la técnica, si es diferente. El trastuzumab se administra ventajosamente en una dosificación de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, en particular de 2 a 4 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

50 55 60 Cuando el compuesto de la fórmula (1) se administra en terapia combinada con uno, dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos adicionales (particularmente uno o dos, más particularmente uno), los compuestos se pueden administrar de manera simultánea o secuencial. En este último caso, los dos o más compuestos se administrarán en un período y en una cantidad y forma que sean suficientes para garantizar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico. Cuando se administran secuencialmente, se pueden administrar a intervalos muy espaciados (por ejemplo, durante un período de 5 a 10 minutos) o a intervalos más largos (por ejemplo, con 1, 2, 3, 4 o más horas de diferencia, o incluso con períodos más largos cuando sea necesario), siendo el régimen de dosificación preciso acorde con las propiedades del agente o agentes terapéuticos. Estas dosificación pueden administrarse, por ejemplo, una, dos o más veces por ciclo de tratamiento, que puede repetirse, por ejemplo, cada 7, 14, 21 o 28 días.

65 Se apreciará que el método y orden de administración particulares y las respectivas cantidades y regímenes de dosificación para cada componente de la combinación dependerán del otro agente medicinal y compuesto particular de la presente invención que se esté administrando, su vía de administración, el tumor particular que se esté tratando y el huésped particular que se esté tratando. El método y orden óptimos de administración y

las cantidades y régimen de dosificación pueden ser determinados fácilmente por los expertos en la técnica utilizando métodos convencionales y en vista de la información expuesta en este documento.

- 5 La relación de peso del compuesto según la presente invención y el o los otros agentes anticancerígenos cuando se administran como una combinación puede ser determinada por la persona experta en la técnica. La relación y la dosificación exacta y la frecuencia de administración dependerán del compuesto particular según la invención y el o los otros agentes anticancerígenos utilizados, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso, el sexo, la dieta, el momento de la administración y la afección física general del paciente particular, el modo de administración así como otros medicamentos
- 10 que el individuo pueda estar tomando, como es bien sabido por los expertos en la técnica. Además, es evidente que la cantidad diaria efectiva puede reducirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe el compuesto de la presente invención. Una relación de peso particular para el presente compuesto de fórmula (1) y otro agente anticancerígeno puede variar de 1/10 a 10/1, más en particular de 1/5 a 5/1, incluso más en particular de 1/3 a 3/1.
- 15 15 El compuesto de la invención también puede administrarse junto con tratamientos no quimioterapéuticos tales como radioterapia, terapia fotodinámica, terapia génica, cirugía y dietas controladas.
- 20 El compuesto de la presente invención también puede tener aplicaciones terapéuticas en la sensibilización de células tumorales para radioterapia y quimioterapia. Por lo tanto, el compuesto de la presente invención puede utilizarse como un "radiosensibilizador" y/o "quimiosensibilizador" o puede administrarse en combinación con otro "radiosensibilizador" y/o "quimiosensibilizador". En una realización, el compuesto de la invención se utiliza como quimiosensibilizador.
- 25 25 El término "radiosensibilizador" se define como una molécula administrada a pacientes en cantidades terapéuticamente efectivas para aumentar la sensibilidad de las células a la radiación ionizante y/o para promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación ionizante.
- 30 30 El término "quimiosensibilizador" se define como una molécula administrada a pacientes en cantidades terapéuticamente efectivas para aumentar la sensibilidad de las células a la quimioterapia y/o promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con quimioterapéuticos.
- 35 Actualmente, muchos protocolos de tratamiento del cáncer emplean radiosensibilizadores junto con la radiación de rayos X. Los ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUDR), bromodesoxicitidina, fluorodesoxiuridina (FudR), hidroxiurea, cisplatino y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.
- 40 40 La terapia fotodinámica (TFD) de los cánceres emplea luz visible como activador de la radiación del agente sensibilizador. Los ejemplos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen los siguientes, pero no se limitan a: derivados de hematoporfirina, Photofrin, derivados de benzoporfirina, etioporfirina de estaño, feoborbida-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinc y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.
- 45 45 Los radiosensibilizadores se pueden administrar junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos adicionales, que incluyen, pero no se limitan a: compuestos que promueven la incorporación de radiosensibilizadores a las células objetivo; compuestos que controlan el flujo de agentes terapéuticos, nutrientes y/u oxígeno a las células objetivo; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor con o sin radiación adicional; u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el cáncer u otras enfermedades.
- 50 Los quimiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos, que incluyen, pero no se limitan a: compuestos que promueven la incorporación de quimiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de terapéuticos, nutrientes y/u oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el cáncer u otras enfermedades. Los antagonistas del calcio, por ejemplo el verapamilo, se consideran útiles en combinación con agentes antineoplásicos para establecer quimiosensibilidad en células tumorales resistentes a los agentes quimioterapéuticos aceptados y para potenciar la eficacia de dichos compuestos en neoplasias malignas sensibles a los fármacos.
- 55 55 60 Para su uso en terapia de combinación con otro agente quimioterapéutico, el compuesto de la fórmula (1) y uno, dos, tres, cuatro o más otros agentes terapéuticos pueden, por ejemplo, formularse juntos en una forma de dosificación que contenga dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos, es decir, en una composición farmacéutica unitaria que contenga todos los componentes. En una alternativa, los agentes terapéuticos individuales pueden formularse por separado y presentarse juntos en forma de un kit, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Se apreciará a partir de lo anterior que, en una realización adicional, la invención proporciona una combinación del compuesto de fórmula (1) y otro agente terapéutico, por ejemplo otro agente terapéutico como se definió anteriormente.

5 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (1) junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más agente(s) terapéutico(s) como se ha definido anteriormente.

10 En otras realizaciones, la invención proporciona:

- Una combinación como se define en este documento para su uso en el tratamiento de (para su uso en el alivio o reducción de la incidencia de) una enfermedad o afección como se describe en este documento, en particular el cáncer.

15 15 Una combinación como se define en este documento para su uso en la inhibición del crecimiento de células tumorales (por ejemplo, en un paciente).

20 En cada una de las realizaciones anteriores, el compuesto de fórmula (1) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, al menos uno de los cuales es un agente anticancerígeno, se pueden administrar simultáneamente, por separado o secuencialmente en el tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

En otra realización, la invención proporciona el compuesto de fórmula (1) para su uso en la profilaxis o el tratamiento de (o alivio o reducción de la incidencia de) cáncer en combinación con radioterapia o quimioterapia.

25 EJEMPLOS

30 La invención ahora será ilustrada, pero no se limita a, por referencia a las realizaciones específicas descritas en los ejemplos siguientes. Los compuestos se nombran utilizando un paquete de nombres automatizado como AutoNom (MDL) o ChemAxon Structure to Name o son nombrados según el proveedor del producto químico. En los ejemplos se utilizan las siguientes abreviaturas.

35 Siguiendo métodos similares y/o análogos a los procedimientos generales que se indican a continuación, se prepararon los compuestos que se exponen a continuación.

40 Los siguientes procedimientos sintéticos se proporcionan para ilustrar los métodos utilizados; para una preparación o etapa determinada, el precursor utilizado puede no derivar necesariamente del lote individual sintetizado según la etapa de la descripción dada.

45 40 Cuando un compuesto se describe como una mezcla de dos diastereoisómeros/epímeros, la configuración del estereocentro no se especifica y se representa mediante líneas rectas.

Como lo entenderá una persona experta en la técnica, los compuestos sintetizados utilizando los protocolos indicados pueden existir como un solvato, por ejemplo, un hidrato, y/o contener disolvente residual o impurezas menores. Los compuestos aislados en forma de sal pueden ser estequiométricos enteros, es decir, mono o disales, o de estequiometría intermedia.

50 45 Algunos de los compuestos a continuación se aíslan como sal, por ejemplo, dependiendo del ácido utilizado en el método de purificación. Algunos compuestos se aíslan como base libre.

55 **Abreviaturas**

ca. Aproximadamente

55 conc. Concentrado

Corr. Corregido

60 DCM Diclorometano

DIPEA *N,N*-diisopropiletilamina

1,4-DMB 1,4-Dimetoxibenceno

65 DMF *N,N*-dimetilformamida

	DMSO- <i>d</i> ₆	dimetilsulfóxido deuterado
5	Ec.	Equivalentes
	EtOAc	acetato de etilo
	FaSSGF	Fluido gástrico simulado en estado de ayuno
10	FaSSIF	Fluido intestinal simulado en estado de ayuno
	g	Gramo
15	GF/F	Grado de filtro de microfibra de vidrio de grado
	h	Horas
	¹ H	1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]piridinio 3-óxido de protón
20	HATU	hexafluorofosfato
	HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
25	Kg	Kilogramo
	L	litro
	LC-MS	Cromatografía líquida-espectrometría de masas
30	M	Molar
	MeCN	acetonitrilo
35	MeOH	metanol
	2-MeTHF	2-Metiltetrahidrofurano
	mg	miligramo
40	Mins	Minutos
	mL	millilitro
45	mol	Moles
	MW	peso molecular
	NMP	1-metil-2-pirrolidinona
50	NMR	resonancia magnética nuclear
	TFA	Ácido trifluoroacético
55	th	Teoría
	TLC	Cromatografía de capa fina
	TPGS	D- α -Tocoferil Polietilenglicol-1000 Succinato
60	Incorr.	Incorrecto
	UV	Ultraviolet
	vol	Volúmenes
65	p/v	Peso/volumen

p/p Peso/peso

5 wrt Con respecto a

p Pesos

10 BINAP, 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno; CDI, 1,1'-carbonildiimidazol; DCE, 1,2-dicloroetano; DCM, diclorometano; DIPEA, diisopropiletilamina; DMSO, dimetilsulfóxido; DMF, N,N-dimetilformamida; DMAP, - (dimetilamino)piridina; EtOAc, acetato de etilo; h, hora; HATU, hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio; HBTU, hexafluorofosfato de 3-[Bis(dimetilamino)metiliumil]-3H-benzotriazol-1-óxido; HCl, ácido clorhídrico; HPLC, cromatografía líquida de alta presión; LC-MS, cromatografía líquida-espectrometría de masas; LiHMDS, bis(trimetilsilil)amida de litio; min., minutos; MeCN, acetonitrilo; MS, espectrometría de masas; NBS, N-bromosuccinimida; RMN, espectroscopía de resonancia magnética nuclear; PdCb(dpff)₂, dicloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)paladio(II); Pd₂(dba)₃, tris(dibencilidina acetona)paladio (0); Gasolina, fracción de éter de petróleo con un intervalo de punto de ebullición de 40 a 60 °C; PyBOP, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-íloxi)tris(dimetilamino)fosfonio; RT, temperatura ambiente; Sat., saturado; SCX, resina de intercambio catiónico en fase sólida; SPhos, 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo; S-Phos Pd G3, metanosulfonato de (2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenil) [2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladio(II); TBDMSCl, cloruro de terc-butildimetsilílico; TBTU, tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano; XPhos, 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo; XantPhos, 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno.

25 Cuando las cantidades se dan en equivalentes de peso (p) y equivalentes de volumen (vol), 1 vol es igual a 1 mL por gramo del material de partida (que se define por tener un valor de equivalencia de peso de 1 p). Por ejemplo, cuando se utilizan 50 mg (0,05 g) del material de partida (definido como que tiene una equivalencia de peso de 1 peso), una cantidad de 20 vol es igual a 1 ml (0,05 × 20 = 1).

Métodos sintéticos

30 Todos los materiales de partida y disolventes se obtuvieron de fuentes comerciales o se prepararon según la cita bibliográfica. A menos que se indique lo contrario, todas las reacciones se agitaron. Las soluciones orgánicas se secaron rutinariamente sobre sulfato de magnesio anhídrico. Las hidrogenaciones se realizaron en un hidrogenador Parr, un reactor de flujo Thales H-cube en las condiciones indicadas o bajo un globo de hidrógeno. Las reacciones de microondas se realizaron en un reactor de microondas CEM Discover y Smithcreator, calentando a una temperatura constante utilizando irradiación de microondas de potencia variable. La cromatografía en columna de fase normal se llevó a cabo de forma rutinaria en un sistema de cromatografía flash automatizado, tal como el sistema CombiFlash Companion o CombiFlash RF, utilizando cartuchos de sílice preenvasados (malla 230-400, 40-63 µm). El SCX se compró a Supelco y se trató con ácido clorhídrico 1M antes de su uso. A menos que se indique lo contrario, la mezcla de reacción que se va a purificar se diluyó primero con MeOH y se acidificó con unas gotas de AcOH. Esta solución se cargó directamente en el SCX y se lavó con MeOH. A continuación, el material deseado se eluyó lavando con NH₃ al 1 % en MeOH.

45 Cuando un compuesto se describe como una mezcla de dos diastereoisómeros / epímeros, la configuración del estereocentro no se especifica y se representa mediante líneas rectas.

Datos de RMN

50 Los espectros de RMN de ¹H se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz. Se utilizaron como referencias los picos centrales de cloroformo-*d*, dimetilsulfóxido-*d*₆ o un estándar interno de tetrametilsilano. Para los datos de RMN, donde el número de protones asignado es menor que el número teórico de protones en la molécula, se supone que las señales aparentemente faltantes están ocultas por picos de disolvente y/o agua. Además, cuando los espectros se obtuvieron en disolventes de RMN próticos, se produce un intercambio de protones NH y/o OH con el disolvente y, por lo tanto, dichas señales normalmente no se observan.

Breve descripción de los dibujos

60 La Figura 1 es un difractograma de rayos X en polvo de una forma cristalina ("Forma A") de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida.

65 La figura 2 es un difractograma de rayos X en polvo de otra forma cristalina ("Forma B") de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida.

La figura 3 es un barrido de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la forma cristalina B de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida.

5 La figura 4 es un perfil de pérdida de peso obtenido mediante análisis termogravimétrico de la forma cristalina B de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida.

10 La figura 5 muestra el perfil de peso de la forma cristalina B de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida a humedades variables obtenidas mediante análisis dinámico de sorción de vapor.

15 La Figura 6 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal clorhidrato amorfa del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

20 La figura 7 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de sulfato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

25 La figura 8 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de napadisilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

30 La figura 9 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de edisilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

35 La figura 10 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de tosilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

40 La figura 11 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de mesilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

45 La figura 12 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de napsilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

50 La figura 13 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de besilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

La figura 14 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de isetionato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

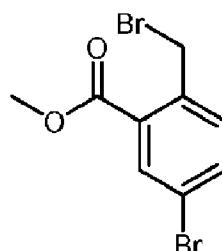
55 La figura 15 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de esilato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

La figura 16 muestra el espectro de RMN de ^1H de la sal amorfa de bromhidrato del compuesto de fórmula (1) obtenido en el Ejemplo 2.

EJEMPLO 1

Síntesis de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida amorfa

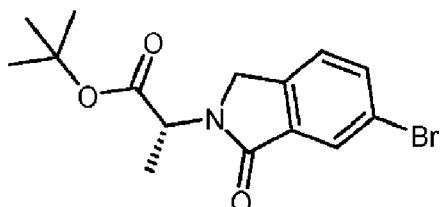
50 Etapa 1: 5-bromo-2-(bromometil)benzoato de metilo



55 A un matraz de cinco bocas de 10 L equipado con condensador, barra agitadora, entrada de N_2 y burbujeador se añadió metil-5-bromo-2-metilbenzoato (500.0 g, 2.18 mol, 1.0 eq.) y N-bromosuccinimida (Fluorochem, 388.5 g, 2.18 mol, 1.0 eq.) a una solución agitada de 1,2-dicloroetano (1,9 L). La mezcla se calentó a 90 °C (baño de aceite). Se disolvió azobisisobutironitrilo (5.0 g, 0.03 mol, 0.014 eq.) en DCE (100 mL) y se añadieron

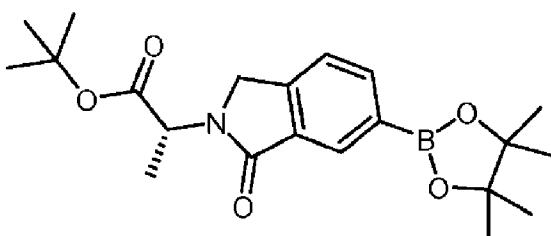
20 mL a un embudo de goteo. Esto se añadió lentamente cuando la mezcla de reacción alcanzó los 85 °C. Cuando cesó el reflujo violento y la formación de espuma, se añadieron los 80 mL restantes en una sola parte a la mezcla de reacción y se dejó agitar a 90 °C durante 1 hora. El RMN mostró que la reacción se había completado y que aún quedaba alrededor del 11 % del material inicial. después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente usando cardice en el baño de aceite y una vez que la temperatura interna cayó a ~30 °C, la mezcla de reacción se enfrió con agua (2.0 L). Después de 5 minutos, se combinaron dos mezclas de reacción idénticas, se transfirieron a un embudo de separación y se recogió la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo nuevamente utilizando DCM (2 × 2.0 L). Todas las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (2 L) y salmuera (2 L), se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron *al vacío* para dar un líquido naranja (1.397 kg, 104 %, de 2 ensayos de 500 g).

Etapa 2 - (2R)-2-(6-bromo-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)propanoato de terc-butilo



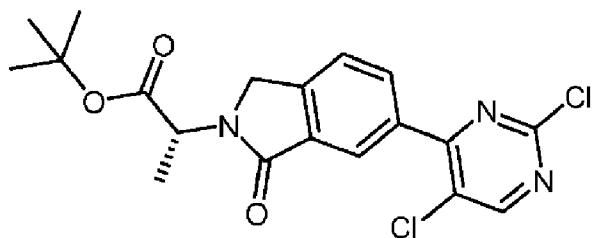
15 A un matraz de cinco bocas de 10 L equipado con condensador, barra agitadora, entrada de N₂ y burbujeador se añadió 5-bromo-2-(bromometil)benzoato de metilo (del paso 1) (660 g, 2.14 mol, 1.0 eq), (2R)-2-aminopropanoato de t-butilo.HCl (467 g, 2.57 mol, 1.2 eq) y diisopropiletilamina (1.0 L, 6.42 mol, 3.0 eq., d = 0.742) a una solución agitada de THF (5.0 L). La mezcla se calentó a 80 °C en un baño de aceite durante toda la noche. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente usando hielo seco y después se vertieron dos mezclas de reacción idénticas en un embudo de separación grande. Se añadió una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (5.6 L) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. Se recogió la capa orgánica y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 × 4 L). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera (5.6 L) y se agitaron durante 3 minutos, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para dar un sólido pegajoso residual de color marrón anaranjado que se colocó en un horno de vacío a 40 °C durante la noche. El sólido (1.4 kg) se suspendió en éter de petróleo 40-60 (2.5 L) y se agitó vigorosamente durante la noche antes de filtrarlo y lavarlo con éter de petróleo, 2 × 300 mL para dar un sólido amarillo (480 g).

30 Etapa 3: (2R)-2-[1-oxo-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il]propanoato de terc-butilo



35 A un matraz de cinco bocas de 10 L equipado con agitador superior, condensador, sonda térmica y entrada de N₂ y burbujeador se añadió (2R)-2-(6-bromo-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)propanoato de terc-butilo (de la etapa 2) (500 g, 1.469 mol, 1.0 eq), bis(pinacolato)diboro (446.3 g, 1.764 mol, 1.2 eq) y acetato de potasio anhídrido (433,9 g, 4,409 mol, 3 eq) a una solución agitada de dioxano (4 L). Después se desgasificó con N₂ durante 30 minutos antes de añadir Pd(dppf)Cl₂ (21.5 g, 0.029 mol, 0,02 eq) y la mezcla de reacción se desgasificó aún más durante 10 minutos y después se calentó a 90 °C en un baño de aceite. Esto se dejó agitar durante la noche (NOTA: después de 2-3 horas a 90 °C, la reacción se somete a exotermia de 88 °C a 104 °C con gran reflujo y la solución pasa de una solución de color rojo anaranjado a un marrón oscuro durante ~30 minutos antes de enfriarse nuevamente a 90 °C). Las reacciones se enfriaron a temperatura ambiente usando hielo seco antes de combinarlas y filtrarlas a través de una almohadilla de celita (sinter de 4 L, almohadilla de ~2 pulgadas de espesor). La almohadilla se lavó con dioxano (1 L) hasta que se eliminó todo el color.

Etapa 4: (2R)-2-[6-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindolin-2-il]propanoato de terc-butilo



Después, la solución de la etapa 3 se dividió a la mitad y cada mitad se colocó en un matraz de cinco bocas con el mismo ajuste que la etapa anterior. A este matraz de cinco bocas se añadió 2,4,5-tricloropirimidina (404.4

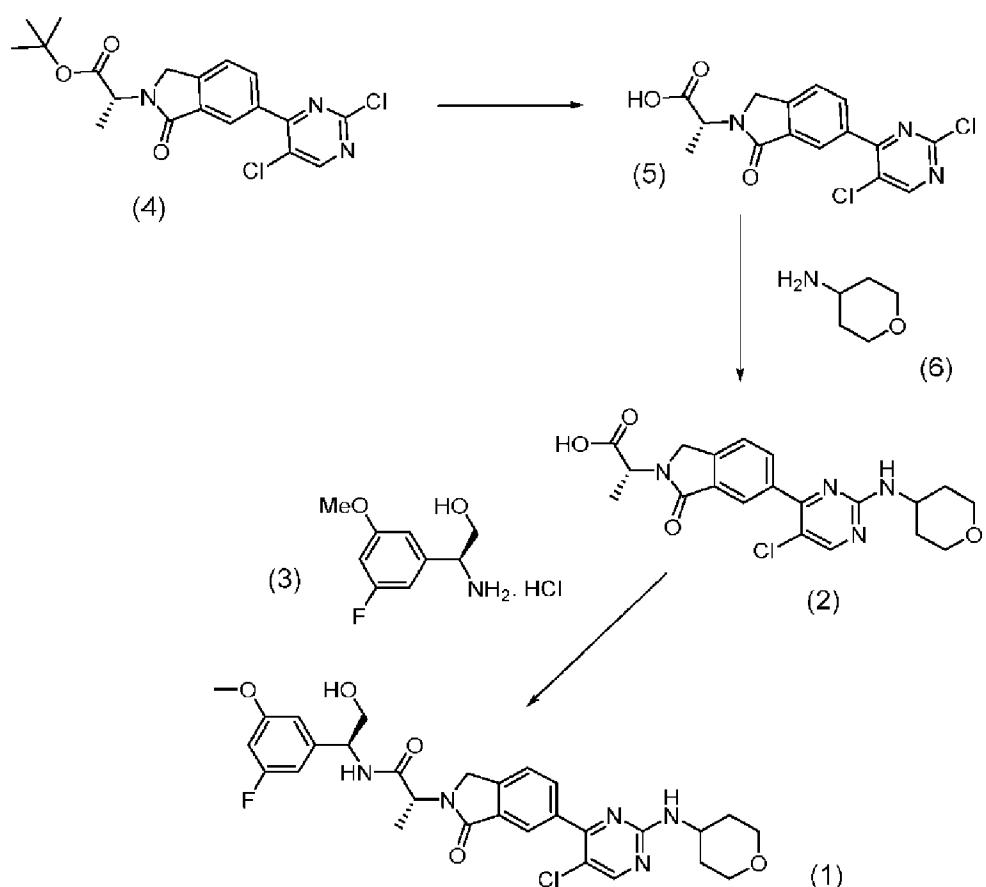
5 g, 252.8 mL, 2.205 mol, 1.5 eq, D = 1.6), carbonato de potasio (609.4 g, 4.409 mol, 3 eq) y después se desgasificó con N₂ durante 30 minutos antes de añadir Pd(dppf)Cl₂ (21.5 g, 0.029 mol, 0.02 eq) y se desgasificó aún más durante 10 minutos. La mezcla de reacción se calentó a 65 °C en un baño de aceite y después se añadió agua (500 mL) a través de un embudo de goteo durante 5 minutos (Nota: exotermia de 62 °C a 72 °C 10 unos minutos después de la adición inicial de agua). La reacción se dejó toda la noche. Las reacciones se enfriaron a temperatura ambiente utilizando cardenillo y se filtraron a través de una almohadilla de celita (4 L de sinterizado, almohadilla de ~3 pulgadas de espesor), lavando la almohadilla con DCM (2 L). Después, el filtrado se concentró hasta casi sequedad para obtener un material bruto de alquitrán de color marrón oscuro (1909 g).

15 El material bruto se dividió en dos y se cargó en seco en una columna de sílice y se eluyó con 6 × 4 L de acetato de etilo al 40 %/petróleo. (Nota: todas las fracciones se mezclaron, se combinaron y se concentraron hasta casi sequedad - TLC del producto en acetato de etilo al 30 %/petróleo R_f = ~0.5). La mezcla marrón restante se enfrió a temperatura ambiente, se añadió gasolina (4 L) y se agitó en el rotatorio durante 2 horas para cristalizar el producto. Esto se filtró y la torta se lavó con gasolina (2x2 L) para obtener un sólido blanco 20 (548 g).

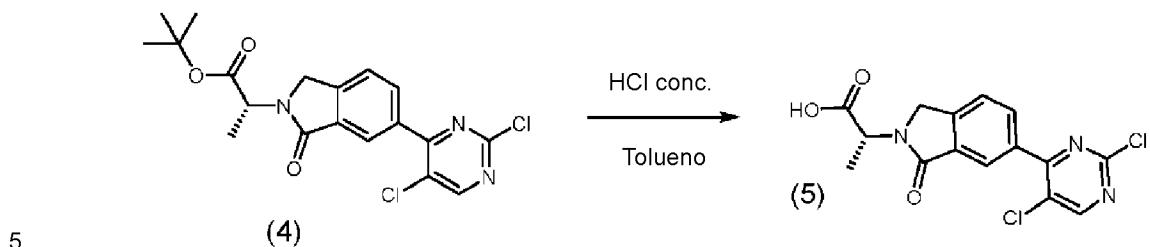
25 Alternativamente, el (2R)-2-[6-(2,5-dicloropirimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindolin-2-yl]propanoato de terc-butilo (compuesto intermedio (4)) se puede preparar como se describe en el documento PCT/IB2016/001507 (número de publicación internacional WO2017/068412) - véanse las Preparaciones 76, 89 y 94 en el mismo.

30 La (2R)-2-(6-(5-cloro-2-[(oxan-4-yl)amino]pirimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida amorfa (Compuesto 1) se sintetizó a partir de (2R)-2-[6-(2,5-dicloropirimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindolin-2-yl]propanoato de terc-butilo (de la Etapa 4) de acuerdo con el esquema sintético que se muestra a continuación:

Etapa 5: (2R)-2-(6-(5-cloro-2-[(oxan-4-yl)amino]pirimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida

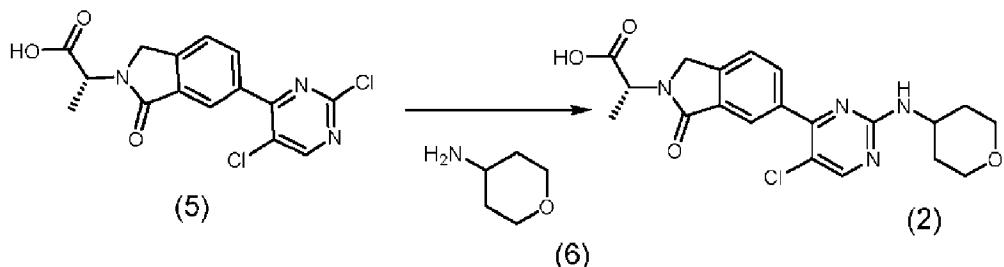


Etapa 1: Desprotección de Boc de (4)



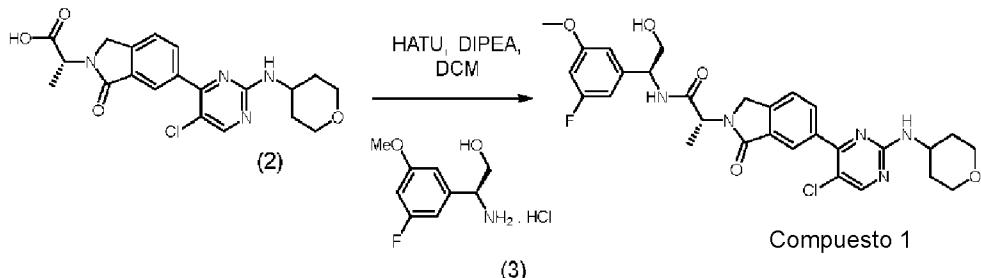
5 A una solución de (4) (suministrada por Manchester Organics) (1.0 p) en tolueno (13 vol) a una temperatura de 15 a 25 °C se le añadió ácido clorhídrico concentrado (1 vol) seguido de un enjuague de línea con tolueno (1 vol). La mezcla se calentó a una temperatura de 35 a 40 °C y se agitó a esta temperatura hasta que se completó 10 la reacción (criterio de aprobación: ≤ 2.0 % del área de (4), tiempo de reacción esperado de 16 a 24 horas). La suspensión se concentró a presión reducida hasta 50 °C hasta obtener un sólido húmedo. Se cargó tolueno (3 × 10 vol) con concentración bajo presión reducida hasta 50 °C para dar un sólido húmedo después de cada carga sucesiva. Se cargó tolueno (4 vol) y la suspensión se rotó en el evaporador rotatorio a presión atmosférica 15 hasta 50 °C durante 10 a 20 minutos. Se retiró el matraz del evaporador rotatorio y se dejó reposar el contenido durante al menos 1 hora a una temperatura de 15 a 25 °C. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con tolueno (2 × 2 vol) y se secaron bajo nitrógeno hasta que el contenido de tolueno fue ≤ 6.0 % p/p y el contenido de agua fue ≤ 2.0 % p/p. El intermedio (5) se aisló como un sólido de color blanquecino a beige 15 pálido (74 a 95 %, 64 a 82 % p/p).

20 Etapa 2: Acoplamiento intermedio (5) con 4-aminotetrahidropirano



- 5 A una solución de (5) (1.0 p corregido, 1.0 mol eq) en 1-metil-2-pirrolidinona (NMP) (9,5 vol) a 15 a 25 °C se añadió carbonato de potasio (0.86 p, 2.2 mol eq), seguido de 4-aminotetrahidropirano (6) (0.4 vol, 1.3 mol eq) a 15 a 40 °C y un enjuague de línea de NMP (0.5 vol). La mezcla se calentó hasta 80 a 95 °C y se agitó a esta temperatura hasta que se alcanzó la finalización de la reacción (criterio de aprobado: ≤ 1.0 % mol Intermedio (5), tiempo de reacción de 4 a 6 horas). La mezcla se enfrió a 15 a 25 °C y se cargó ácido clorhídrico 3M (10 vol), manteniendo la temperatura entre 15 y 30 °C. Se añadió diclorometano (DCM) (10 vol) y se separaron las fases. La fase acuosa ácida se extrajo nuevamente con DCM (5 vol) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua purificada (8 × 10 vol) hasta que el contenido de NMP se controló a ≤ 15.0 % p/p. La fase orgánica se lavó con solución de NaCl al 13 % p/p (10 vol), se trató con carbón activado (0,3 p/p) y se secó sobre sulfato de magnesio (1.0 p/p). La mezcla se filtró para eliminar el agente secante, se lavó con DCM (2 × 2 vol) y los filtrados combinados se concentraron a presión reducida hasta 35 °C para producir (2) como una espuma marrón clara (74 a 90 %, 88 a 107 % p/p).
- 10
- 15

Etapa 3: Preparación del Compuesto 1



- 20 A una solución de (2) (1.0 peso, 1.0 mol eq) en DCM (12.5 vol) se añadió amina (3) (0.68 peso, 1.27 mol eq). La suspensión se enfrió a 10 a 15 °C y se cargó DIPEA (1.67 vol, 4.0 mol eq). La solución resultante se agitó durante 5 a 10 minutos antes de la adición en partes de HATU (1.15 % en peso, 1.27 mol eq), manteniendo la temperatura de reacción <25 °C. La mezcla se agitó a una temperatura de 15 a 25 °C hasta que se consideró completa mediante HPLC (<0.5 % de área (2), normalmente 1 h). Una vez finalizada la reacción se concentró a presión reducida hasta 38 °C para obtener un aceite naranja espeso y móvil. El residuo se disolvió en EtOAc (10 vol) y se lavó con agua purificada (10 vol), solución de cloruro de amonio al 25 % p/p (2 × 10 vol), solución de NaHCO₃ al 8 % p/p (2 × 10 vol) y solución de NaCl al 13 % p/p (6 × 10 vol), después se secó sobre MgSO₄ (1.0 p). El sólido se eliminó por filtración y la torta filtrada se lavó con acetato de etilo (2 × 2 vol). Los filtrados se concentraron en un evaporador rotatorio a una temperatura de hasta 40 °C para dar el Compuesto 1 bruto como una espuma de color amarillo pálido. El compuesto bruto 1 se purificó mediante cromatografía flash seca.
- 25
- 30

También se observó la conversión completa de (2) al Compuesto 1 cuando se sometió a las condiciones anteriores pero en donde se utilizó 1-etyl-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) como agente de acoplamiento en lugar de HATU, se utilizó 4-dimetilaminopiridina (4-DMAP) como base en lugar de DIPEA y se utilizó dimetilformamida (DMF) como disolvente en lugar de DCM.

Procedimiento cromatográfico:

- 40 Se cargó sílice (20 p) a la columna de evaporación instantánea seca y se lavó y empaquetó eluyendo a través de acetato de etilo (2 × 20 vol típico). El compuesto bruto 1 (1 p sin corregir) se disolvió en DCM (4 vol) y se cargó cuidadosamente en la columna. después la columna se eluyó de la siguiente manera:

• EtOAc puro	40 × 20 vol	F1-240
• MeOH al 1 % en EtOAc	10 × 20 vol	F41-50
• 5 a 10 % de MeOH en EtOAc	3 × 20 vol	Lavado de columna F51-53

Todas las fracciones recolectadas se analizaron mediante HPLC y el producto se eluyó típicamente en las fracciones 12 a 45. Sólo aquellas fracciones que parecieron ser las más limpias e intensas mediante TLC (por ejemplo, las fracciones 15 a 25 en el intervalo de elución del producto del ejemplo anterior) se agruparon en ausencia de datos de HPLC. Las fracciones que contenían el producto externo se analizaron mediante HPLC 5 para determinar si tenían la pureza adecuada para combinarse con las fracciones del producto principal. Una vez que todas las fracciones se combinaron y se concentraron hasta formar espuma o un volumen bajo, el producto se diluyó con acetato de etilo (por ejemplo, 10 vol), se agitó para obtener una solución y después se clarificó a través de papel de filtro de fibra de vidrio. Después, los filtrados se concentraron para dar el Compuesto 1 amorfó como una espuma de color blanquecino a amarillo pálido (65 a 85 %, 91 a 119 % p/p).
10

EJEMPLO 2

Preparación de las sales amorfas del Compuesto 1

- 15 Se prepararon soluciones madre de los diversos contraíones en 2-propanol. La solución madre relevante (500 μ l, 10 vol) se cargó en una solución del compuesto 1 (preparado según el Ejemplo 1) en acetato de isopropilo (2.5 ml, 50 vol) y se agitó. Los sólidos que no cristalizaron o dieron precipitados débiles se enfriaron, se concentraron mediante evaporación o se trajeron adicionalmente con t-butilmetiléter (TBME).
20 Los sólidos se aislaron por filtración, se secaron bajo una corriente de nitrógeno durante 96 h, se descargaron y se analizaron mediante RMN de ^1H y XRPD (véase la siguiente tabla). Las sales mencionadas a continuación pero no reivindicadas se proporcionan como ejemplos comparativos.

Contraíón ácido	Estequiometría de contraíones	Uso común del nombre de la sal	Compuesto 1: Estequiometría de contraíones determinada mediante RMN de ^1H (espectro de RMN de ^1H)	Patrón XRPD
Forma no ionizada	N/A	De base libre	N/A	Amorfo
Ácido clorhídrico 4M (solución 1,4-dioxano, 99 %)	1	Ácido clorhídrico	(Véase la Figura 6)	Amorfo
Ácido sulfúrico (95 %)	2	Sulfato	(Véase la Figura 7)	Amorfo
Ácido naftaleno-1,5-disulfónico tetrahidrato (97 %)	1	Napadisilato	1 a 1 (Véase la Figura 8)	Amorfo
Ácido etano-1,2-disulfónico trihidrato (98 %)	1	Edisilato	1 to 1 (Véase la Figura 9)	Amorfo
Ácido 4-toluenosulfónico monohidrato	1	Tosilato	1 to 1 (Véase la Figura 10)	Amorfo
Ácido metanosulfónico (99.5 %)	1	Mesilato	1 to 1 (Véase la Figura 11)	Amorfo
Ácido naftaleno-2-sulfónico monohidrato (99 %)	1	Napsilato	1 to 1 (Véase la Figura 12)	Amorfo
Ácido bencenosulfónico (90 %)	1	Besilato	1 to 1 (Véase la Figura 13)	Amorfo
Sal sódica del ácido 2-hidroxietano sulfónico (98 %)	1	Isetionato	1 to 1 (Véase la Figura 14)	Amorfo
Ácido etano sulfónico (95 %)	1	Esilato	1 to 1 (Véase la Figura 15)	Amorfo
Ácido bromhídrico (99 %), (48 % en agua)	1	Bromhidrato	(Véase la Figura 16)	Amorfo

EJEMPLO 3

Preparación de formas cristalinas del compuesto 1

Ejemplo 3A - Preparación de la forma cristalina A

- 5 La sal de clorhidrato de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida (como se preparó en el Ejemplo 2) se suspendió en agua purificada (35 volúmenes) a 70 °C durante un período de 96 horas. El sólido se aisló por filtración, se secó bajo una corriente de nitrógeno durante 96 h, se descargó y se analizó por mediante (ver Figura 1).

Ejemplo 3B - Preparación de la forma cristalina B (Método I)

- 10 La sal de clorhidrato de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida (tal como se preparó en el Ejemplo 2) se suspendió en agua purificada (2 ml, 20 vol) a 18 a 23 °C. Las soluciones se agitaron a una temperatura de 45 a 50 °C durante 20 h. Después se bajó la temperatura a 30-35 °C y la solución se agitó durante 96 horas más. La XRPD del sólido obtenido fue consistente con el patrón XRPD de la Figura 2.

- 15 Ejemplo 3C - Preparación de la forma cristalina B (Método II)

- 20 La sal de clorhidrato de (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida (como se preparó en el Ejemplo 2) se suspendió en agua purificada (20 vol) y la mezcla se agitó a 40 °C bajo nitrógeno durante 20 h. Se cargó 2-propanol (7,6 vol) y la mezcla se agitó a 40 °C durante 20 h. El progreso de la conversión se monitorizó mediante XRPD. El XRPD del sólido obtenido es consistente con el patrón XRPD de la Figura 2.

Ejemplo 3D - Preparación de la forma cristalina B (Método III)

- 25 Se cargó (2R)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida (como se preparó en el Ejemplo 1) (100 mg, 1.0 p.) en un recipiente, seguido por acetato de etilo o tolueno (15 vol.) y *terc*-butilmetiléter (15 vol). La suspensión se agitó durante 7 días a 30 °C. Después de este tiempo, el producto se aisló mediante filtración, se lavó con disolvente de maduración reciclado, se secó bajo una corriente de nitrógeno a 18-23 °C y se analizó mediante XRPD para detectar evidencia de cristalización. El XRPD del sólido obtenido es consistente con el patrón XRPD de la Figura 2.

EJEMPLO 4

- 35 Caracterización adicional de la forma cristalina B del Compuesto 1

La Forma cristalina B del Compuesto 1 obtenida en los Ejemplos 3B, 3C y 3D se estudió utilizando difracción de rayos X en polvo, calorimetría diferencial de barrido, análisis termogravimétrico y sorción dinámica de vapor.

- 40 Ejemplo 4A: Difracción de rayos X en polvo

- 45 Los cristales de la Forma B cristalina del Compuesto 1 se prepararon de según el método del Ejemplo 3. El análisis de difracción de rayos X de polvo (XRPD) se llevó a cabo utilizando un difractómetro de polvo Bruker D2 Phaser equipado con un detector LynxEye. Las muestras fueron sometidas a una preparación mínima pero, de ser necesario, fueron molidas ligeramente en un mortero antes de su adquisición. Los especímenes se ubicaron en el centro de un portamuestras de silicona dentro de un bolsillo de 5 mm (aproximadamente de 5 a 10 mg). Las muestras se giraron continuamente durante la recopilación de datos y se escanearon utilizando un tamaño de paso de 0.02° dos theta (2θ) entre el intervalo de 4° a 40° dos theta y un tiempo de etapa de 34.5 segundos. Los datos se procesaron utilizando Bruker Diffrac.Suite. El difractograma de rayos X en polvo de la forma cristalina B del compuesto se muestra en la Figura 2 y los ángulos de difracción 2θ y las intensidades asociadas con cada pico se muestran en la siguiente tabla.

Ángulo de difracción (°)	Intensidad relativa
8.75	23
12.00	13
13.03	23
13.82	39
14.05	100
14.43	20
16.89	12
17.31	22
19.34	36
20.56	85
21.25	45
23.52	18

23.97	74
24.15	71
26.18	18
28.74	22
29.84	13

Ejemplo 4B - Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

- 5 Se prepararon cristales de la Forma B cristalina del Compuesto 1 según el método del Ejemplo 3. Se utilizó un instrumento Mettler Toledo DSC 821 para el análisis térmico que operaba con el software STAReTM. El análisis se realizó en recipientes de aluminio abiertos de 40 μL , bajo nitrógeno y los tamaños de muestra variaron de 1 a 10 mg. Típicamente, el análisis se llevó a cabo en un intervalo de temperatura de 20° a 250° con un gradiente de temperatura de 10°C/minuto. El escaneo DSC del compuesto cristalino se muestra en la Figura 3.

10 Ejemplo 4C - Análisis termogravimétrico (TGA)

- 15 Se prepararon cristales de la Forma B cristalina del Compuesto 1 según el método del Ejemplo 3. Se colocaron aproximadamente 7 mg de muestra en una bandeja TGA HT de platino que se había limpiado utilizando un soplete de butano y se había tarado utilizando la función de tara automatizada del instrumento. Las muestras se calentaron en una atmósfera de nitrógeno de 25 a 800 °C a una velocidad de 10 °C/min. El perfil de pérdida de peso del compuesto cristalino se muestra en la Figura 4.

Ejemplo 4D - Análisis dinámico de sorción de vapor

- 20 Se prepararon cristales de la Forma B cristalina del Compuesto 1 según el método del Ejemplo 3. Se pesaron aproximadamente 20 mg de muestra en una bandeja de aluminio y se cargaron en un instrumento DVS Intrinsic mantenido a 25 °C. Se dejó que la muestra se equilibrara durante tres horas a 0 % de HR antes de aumentar la humedad de 0-30 % de HR en incrementos del 5 %. A continuación se realizó una rampa de incrementos del 10 % hasta el 90 % de humedad relativa. Se utilizó un perfil de rampa similar para la fase de desorción. En 25 cada etapa, se estableció una tasa de cambio de masa por unidad de tiempo (dt) de 0.002 %/min como parámetro de equilibrio. El perfil de sorción/desorción de vapor del compuesto se muestra en la Figura 5.

Ejemplo 4E - Estudios de difracción de rayos X de monocrystal

- 30 La estructura de rayos X del monocrystal de la Forma B del compuesto de fórmula (1) se determinó a 100 K utilizando un cristal obtenido por evaporación lenta a partir de acetato de isopropilo.

- 35 Los datos se recopilaron en un difractómetro Rigaku Oxford Diffraction Supernova Dual Source, Cu at Zero, Atlas CCD equipado con un dispositivo de enfriamiento Oxford Cryosystems Cobra. Los datos se recopilaron utilizando Cu $\text{K}\alpha$. Las estructuras se resolvieron y refinaron utilizando la suite Bruker AXS SHELXTL. Los detalles completos se pueden encontrar en la siguiente tabla. A menos que se indique lo contrario, los átomos de hidrógeno unidos al carbono se colocaron geométricamente y se dejaron refinarse con un parámetro de desplazamiento isotrópico variable. Los átomos de hidrógeno unidos a un heteroátomo se ubicaron en una síntesis de Fourier diferente y se les permitió refinarse libremente con un parámetro de desplazamiento isótropo.
- 40 Se generó un difractograma de referencia para la estructura cristalina utilizando Mercurio (C.F.a. Macrae, "Mercury: visualization and analysis of crystal structures," J. Appl. Cryst., vol. 39, pp. 453-457, 2006).

Recopilación de datos y refinamiento de la estructura

Difractómetro	SuperNova, Dual, Cu a cero, Atlas
Fuente de radiación	Fuente de rayos X SuperNova (Cu), Cu $\text{K}\alpha$
Método de recolección de datos	escaneos
Intervalo Theta para recolección de datos	3.460 a 66.589°
Intervalos de índice	-14 $\leq h \leq$ 15, -10 $\leq k \leq$ 9, -14 $\leq l \leq$ 15
Reflexiones recogidas	24752
Reflexiones independientes	4834 [$\text{R}(\text{int}) = 0.0371$]
Cobertura de las reflexiones independientes	97.4 %
Corrección de absorción	Semiempírico de equivalentes
Transmisión máx. y mín.	1.00000 y 0.80872
Técnica de solución de estructura	Métodos directos
Solución de estructuras / programa de perfeccionamiento	SHELXTL (Sheldrick, 2013)
Técnica de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz completa en F2

45

Datos de cristal

Disolvente de cristalización	Acetato de isopropilo	
Método de cristalización	Evaporación lenta	
Fórmula empírica	<chem>C29H33ClFN5O6</chem>	
Peso de la fórmula	602.05	
Temperatura	100(2) K	
Longitud de onda	1.54178 Å	
Tamaño del cristal	0.180 x 0.060 x 0.050 mm	
Hábito de cristal	Bloque incoloro	
Sistema cristalino	Monocíclico	
Grupo espacial	$P2_1$	
Dimensiones de células unitarias	$a = 12.6616(2)$ Å	$a = 90^\circ$
	$b = 9.0139(2)$ Å	$b = 103.2380(10)^\circ$
	$c = 13.1214(2)$ Å	$g = 90^\circ$
Volumen	$1457.76(5)$ Å ³	

Se encontró que los cristales eran monoclinicos, grupo espacial $P2_1$ con un R_1 final = $[I > 2s(I)] = 2.93\%$.

- 5 La estereoquímica absoluta del compuesto se ha determinado utilizando los datos de difracción y se ha confirmado que es como se muestra en la fórmula (1) en este documento con el parámetro Flack = -0.004 (7).

En la unidad asimétrica hay una molécula del compuesto de fórmula (1) y una molécula de agua, ambas completamente ordenadas, lo que confirma que la Forma cristalina B es un monohidrato del compuesto de fórmula (1).

EJEMPLO 5

Determinaciones de solubilidad de la forma cristalina B del compuesto (1) en disolventes acuosos

- 15 Las solubilidades de la forma cristalina B y la forma amorfica del compuesto de fórmula (1) se determinaron en agua purificada y tampones a la misma concentración hasta un tiempo de agitación de 24 h a 18 a 23 °C. Se monitorearon el pH y las temperaturas de las soluciones para confirmar que no se produjeran variaciones del pH hacia el final del experimento.

20 **Procedimiento general**

Las muestras del compuesto de fórmula (1) (50 mg) se suspendieron cada una en agua purificada (2 mL) o el tampón apropiado y se agitaron a temperatura ambiente (18-23 °C) durante 20 a 24 h.

- 25 Despues de este tiempo, las suspensiones se centrifugaron, se diluyeron si era apropiado con diluyente de muestra de HPLC (acetonitrilo/agua, 1/1, v/v) y se analizaron mediante área de pico de HPLC. Los valores medidos se compararon con una curva de calibración relevante para el compuesto de fórmula (1). Se calcularon las solubilidades aproximadas y se aplicaron factores de compensación para los factores de dilución y ensayos de % p/p apropiados. El factor de dilución aseguró que los valores del área del pico cayeran dentro de los intervalos de la curva de calibración deseados.

- 35 El tapón de sólido que quedó en el tubo de centrífuga se secó en un horno de vacío y se analizó mediante XRPD. Si la muestra presentó alguna evidencia de cristalinidad distinta al patrón de difracción esperado para la forma cristalina del compuesto (1), entonces se realizó un análisis adicional mediante RMN de ¹H para confirmar la identidad química.

Las preparaciones de los tampones utilizados en el estudio se describen a continuación:

- 40 pH 1.2 - Mezclar 50 mL de solución de cloruro de potasio 0.2 M con 85 mL de solución de ácido clorhídrico 0.2 M.

pH 2 - Mezclar 50mL de solución de cloruro potásico 0.2M con 13mL de solución de ácido clorhídrico 0.2M.

- 45 pH 3 - Mezclar 100 mL de ftalato ácido de potasio 0.1 M con 44.6 mL de solución de ácido clorhídrico 0.1 M.

pH 4 - Mezclar 100mL de ftalato ácido de potasio 0.1M con 0.2mL de solución de ácido clorhídrico 0.1M.

pH 5 - Mezclar 100mL de ftalato ácido de potasio 0.1M con 45.2mL de solución de hidróxido de sodio 0.1M.

pH 6 - Mezclar 100mL de dihidrógeno ortofosfato de potasio 0.1M con 11.2mL de solución de hidróxido de sodio 0.1M.

5 pH 7 - Mezclar 100mL de dihidrógeno ortofosfato de potasio 0.1M con 58.2mL de solución de hidróxido de sodio 0.1M.

pH 8 - Mezclar 100mL de dihidrógeno ortofosfato de potasio 0.1M con 93.4mL de solución de hidróxido de sodio 0.1M.

10 Resultados

Entrada	Pureza química de la entrada (% de área)	Tampón	Medidas de equilibrio pH/T°C (t=24h)	Solubilidades medidas (mg/ml),	Término descriptivo
Forma amorfía del compuesto de fórmula (1)	97.48	Agua purificada	7.73 / 20.6	<0.1 mg/ml (0.0234 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 1.2	1.12 / 20.2	≥0.1 mg/ml (0.1249 mg/ml)	Muy ligeramente soluble
		Tampón pH 2	2.00 / 19.2	<0.1 mg/ml (0.0226 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 3	3.07 / 20.2	<0.1 mg/ml (0.0257 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 4	3.98 / 19.1	<0.1 mg/ml (0.0418 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 5	4.99 / 19.4	<0.1 mg/ml (0.0268 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 6	6.01 / 19.4	<0.1 mg/ml (0.0149 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 7	6.97 / 21.0	<0.1 mg/ml (0.0136 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 8	8.16 / 19.8	<0.1 mg/ml (0.0138 mg/ml)	Prácticamente insoluble

Entrada	Pureza química de la entrada (% de área)	Tampón	Medidas de equilibrio pH/T°C (t=24h)	Solubilidades medidas (mg/ml),	Término descriptivo
Forma cristalina B del compuesto de fórmula (1)	99.10	Agua purificada	7.88 / 22.1	<0.1 mg/ml (0.0187 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 1.2	1.11 / 20.8	<0.1 mg/ml (0.0154 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 2	2.01 / 20.4	<0.1 mg/ml (0.0034 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 3	3.08 / 20.7	<0.1 mg/ml (0.0045 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 4	4.00 / 20.4	<0.1 mg/ml (0.0049 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 5	5.00 / 20.7	<0.1 mg/ml (0.0031 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 6	6.02 / 20.5	<0.1 mg/ml (0.0027 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 7	6.98 / 20.5	<0.1 mg/ml (0.0017 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Tampón pH 8	8.02 / 20.2	<0.1 mg/ml (0.0020 mg/ml)	Prácticamente insoluble
		Agua purificada	7.71 / 20.4	<0.1 mg/ml (0.0012 mg/ml)	Prácticamente insoluble

Conclusiones y observaciones

Tanto la forma cristalina como la amorfa del compuesto de fórmula (1) fueron prácticamente insolubles en tampones a pH 1.2 a 8.0 (aprox. < 0.1 mg/ml).

Determinaciones de solubilidad de la forma cristalina B del compuesto (1) en disolventes no acuosos

5

Procedimiento

La Forma B del Compuesto (1), preparada como se describe en el Ejemplo 3, se cargó en el disolvente apropiado (2 ml) a intervalos de aproximadamente 1 hora. Las soluciones se saturaron deliberadamente y se dejaron agitar durante 72 h a una temperatura entre 18 y 23 °C. Después de este tiempo, las suspensiones se centrifugaron, se muestrearon sus sobrenadantes, se diluyeron según corresponda y se midieron las áreas de los picos de los analitos correspondientes mediante HPLC y se compararon con las de los calibradores estándar. Se calcularon las solubilidades aproximadas y se verificaron físicamente sobre una base libre de disolvente anhídrido para confirmar que los resultados fueran consistentes.

15

Observaciones y resultados

	Etanol (2ml)	Glicerol (2ml)	PEG 400 (2 ml)	Propilenglicol (2ml)
Primera carga /agitación 1h a 18 a 23°C	198.74mg	200.30mg	198.96mg	200.91mg
Segunda carga /agitación +1 h a 18 a 23°C	200.07mg	---	200.78mg	201.03mg
Tercera carga /agitación +1.5 h a 18 a 23 °C	200.94mg	---	200.27mg	201.17mg
Cuarta carga / agitación +72 h a 18 a 23 °C	200.12mg	---	---	199.76mg
Quinta carga / agitación +2h a 18 a 23°C	200.34mg	---	---	---

Las soluciones saturadas se centrifugaron y se añadieron 100 µl del sobrenadante clarificado a 250 ml de solución volumétrica (etanol) o 100 ml de solución volumétrica (resto) y se completó el volumen con diluyente de muestra. Después, las muestras diluidas se analizaron mediante el área de pico de HPLC y se calcularon las solubilidades máximas estimadas que se informan en la siguiente tabla.

Disolvente	Solubilidades máximas estimadas (mg/ml), entre 18 y 23 °C
Etanol	337
Glicerol	5
PEG 400	229
Propilenglicol	289

25 Para confirmar que las solubilidades estimadas eran del orden de magnitud correcto, se prepararon soluciones hasta las concentraciones máximas medidas estimadas y las mezclas se agitaron durante la noche bajo las mismas condiciones para confirmar la disolución.

Conclusión

30

Se ha demostrado que el compuesto de fórmula (1) tiene una solubilidad significativamente mayor en etanol, PEG 400 y propilenglicol que en agua.

EJEMPLO 6

35

Formulaciones líquidas-I

Disolventes

- 40 a. Propilenglicol - P4347 SIGMA-ALDRICH (cumple con las especificaciones de prueba de la USP)
- b. Etanol - 29221 SIGMA-ALDRICH (probado según Ph. Eur.)
- c. Super Refined™ PEG 400 - Croda (JP, USP-NF, PhEur)
- 45
- d. Combinación de propilenglicol y etanol, 75:25 (% p/p)
- e. Combinación de propilenglicol y etanol, 85:15 (% p/p)

Protocolo

5 El compuesto de fórmula (1) se incuba en cada uno de los disolventes a 500 mg/mL en viales de vidrio (a 25 °C utilizando un bloque calefactor RS9000) y se deja bajo agitación constante. En T = 1, 3, 7, 24 y 48 horas.

10 La suspensión resultante se ultracentrifuga (es decir, tamaño de muestra de 500 a 1000 µL) durante 15 minutos a 13 000 rpm y se inspecciona visualmente para confirmar la clarificación. Si no se logra una clarificación satisfactoria, se repite el procedimiento de centrifugación para sedimentar cualquier compuesto restante no disuelto. Se toma una muestra del sobrenadante según sea necesario (por ejemplo, 100 µL a 1000 µL), se diluye según corresponda y se analiza mediante HPLC-UV para establecer la concentración real.

EJEMPLO 7**15 Formulaciones líquidas - II**

Se prepararon las siguientes formulaciones líquidas:

20 7-1. Compuesto de fórmula (1) disuelto en 5 g de TPSG y 5 g de propilenglicol.

7-2. Compuesto de fórmula (1) disuelto en 6 g de TPSG y 6 g de propilenglicol.

7-3. Compuesto de fórmula (1) disuelto en 2,5 g de TPSG y 7,5 g de propilenglicol.

25 7-4. Compuesto de fórmula (1) disuelto en TPGS (20 % p/p), Etanol (15 % p/p) y propilenglicol (65 % p/p)

7-5. Compuesto de fórmula (1) disuelto en propilenglicol (100 % p/p)

30 7-6. Compuesto de fórmula (1) disuelto en TPGS (10 % p/p), etanol (10 % p/p) y propilenglicol (80 % p/p).

35 La concentración del compuesto de fórmula (1) en cada formulación fue de 100 mg/mL.

Cada formulación fue sometida a estudios de dilución en líquido gástrico simulado y líquido intestinal simulado mediante los métodos que se describen a continuación. En las pruebas, las concentraciones del compuesto de fórmula (1) se determinaron utilizando el siguiente método HPLC-UV.

Parámetros del método LC

Columna:	Halo C18 150 x 4.6mm; 27 µm
Inj. Volumen:	5 µL
Detección:	UV a 221 nm
Fase móvil A:	Agua/acetonitrilo/TFA (5/95/0.05 v/v/v)
Fase móvil B:	Agua/acetonitrilo/TFA (95/5/0.5 v/v/v)

Tiempo (mins)	% de A	% de B
0.0	100	0
2.0	100	0
24.0	60	40
28.0	50	50
33.0	0	100
36.0	0	100
36.1	100	0
40.0	100	0

Velocidad de flujo: 1.0mL/min

Temperatura de la columna: 40°C

Tiempo de ejecución: 40 minutos

Tiempo de integración: 36 minutos

Vial de lavado: Diluyente de muestra

Estudios de dilución

Cada formulación se cargó en 50 mL de FaSSGF (preparado según el método descrito en <http://biorelevant.com/fassif-fessif-fassgf/how-to-make/>) y se tomaron muestras en tres puntos de tiempo (T = 5 minutos, 15 minutos y 30 minutos) extrayendo al menos 2 mL por muestra.

5 Despues, la mezcla se diluyó aún más con 44 mL de fluido intestinal simulado en estado de ayuno FaSSIF (preparado según el método descrito en <http://biorelevant.com/fassif-fessif-fassgf/how-to-make/>) y se tomaron muestras en ocho puntos de tiempo (T = 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 3 horas, 5 horas y 7 horas). Las muestras se analizaron para determinar la concentración del compuesto de fórmula (1) mediante HPLC-UV.

10 Para las Formulaciones 7-1 y 7-2, alrededor del 65 % del compuesto de fórmula (1) permaneció solubilizado después de 30 minutos de dilución en FaSSGF. En la siguiente etapa de dilución, al pasar a FaSSIF, la cantidad del compuesto solubilizado permaneció alrededor del 50 % hasta 3 horas y después disminuyó gradualmente. Extrapolando los resultados de este estudio de dilución a un "escenario de dilución humana", se esperaba que >60 % de una dosis de 1000 mg del compuesto de fórmula (1) se disolvería en la Formulación 7-1 o Formulación 7-2 (es decir, alrededor de 600 mg) y permanecería en solución al ingresar al estómago.

20 Para la Formulación 7-3, después de 30 minutos de dilución en FaSSGF, alrededor del 33 % del fármaco permaneció aún solubilizado. En la siguiente etapa de dilución, al pasar a FaSSIF, la cantidad de fármaco solubilizado se mantuvo en torno al 27 % hasta las 3 horas y después disminuyó gradualmente. Extrapolando los resultados de este estudio de dilución a un "escenario de dilución humana", se esperaba que >30 % de una dosis de 1000mg se disolvería en la Formulación 7-3 (es decir, alrededor de 300mg) y permanecería en solución al entrar en el estómago.

25 Para la Formulación 7-4, después de 30 minutos de dilución en FaSSGF alrededor del 30 % del fármaco permanecía aún solubilizado. En la siguiente etapa de dilución, al pasar a FaSSIF, la cantidad de fármaco solubilizado se mantuvo en torno al 24 % hasta las 3 horas y después disminuyó gradualmente. Extrapolando los resultados de este estudio de dilución a un "escenario de dilución humana", se esperaba que >30 % de una dosis de 1000mg se disolvería en la Formulación 7-4 (es decir, alrededor de 300mg) y permanecería en solución al entrar en el estómago.

30 Para la Formulación 7-5, después de 30 minutos de dilución en FaSSGF alrededor del 2 % del fármaco permanecía aún solubilizado. En la siguiente etapa de dilución, al pasar a FaSSIF, la cantidad de fármaco solubilizado se mantuvo en torno al 2 %.

35 Para la Formulación 7-6, después de 30 minutos de dilución en FaSSGF alrededor del 17 % del fármaco permanecía aún solubilizado. En el siguiente paso de dilución, al pasar a FaSSIF, la cantidad de fármaco solubilizado se mantuvo en torno al 11 %.

40 Se encontró que la formulación 7-6 era particularmente ventajosa. La versión placebo (es decir, vehículo solo y ningún compuesto de fórmula (1) presente) de esta formulación inicialmente formó un líquido transparente que contenía algo de sedimento, pero el sedimento se redissolvió calentándolo a 50 °C y el líquido permaneció transparente sin sedimentos ni turbidez después de 24 y 96 horas. La versión activa de la formulación 7-6 que contiene 100 mg/ml del compuesto de fórmula (1) formó una solución transparente que permaneció como un líquido transparente sin precipitado ni solución turbia después de 24 y 192 horas a temperatura ambiente.

EJEMPLO 8

Actividad biológica

50 Ejemplo 8A - Ensayo de inhibición *in vitro* de ERK2

La actividad inhibidora del compuesto de la invención se determinó utilizando el protocolo que se establece a continuación.

55 La actividad de la enzima ERK2 (Life Technologies) se determinó utilizando un formato de fluorescencia resuelto en el tiempo que mide la fosforilación de una versión truncada del factor de transcripción activador 2 marcado con proteína fluorescente verde (ATF2-GFP) (Life Technologies). Las reacciones de ensayo que contenían 50 mM de Tris pH 7.5, 10 mM de MgCl₂, EGTA 1mM, Triton X-100 al 0.01 %, DTT 1mM, DMSO al 2.5 %, ATF2-GFP 0.4 μM, ATP 20 μM y ERK2 0.25nM se prepararon en presencia del compuesto y se dejaron continuar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después, las reacciones se detuvieron utilizando el tampón de dilución TR-FRET (Life Technologies), 25 mM de EDTA y 2 nM de Tb-Anti-pATF2 (Thr71) (Life Technologies). Después de un período de incubación adicional de al menos 30 minutos, se leyó la fluorescencia en un lector Pherastar (módulo óptico Lanthascreen; excitación 340 nm, emisión 520 nm (canal A), 495 nm (canal B)). La relación entre los recuentos A y B se utilizó para calcular la señal. Los valores de IC₅₀ se

calcularon utilizando una ecuación de respuesta a la dosis sigmoidea (software Prism GraphPad, La Jolla, CA, EE. UU.).

En los ensayos que utilizan ERK2, el compuesto de fórmula (1) tiene un valor de IC₅₀ de 0.0027 μ M.

5

Ejemplo 8B – Actividad antiproliferativa

La actividad antiproliferativa del compuesto de la invención se determinó midiendo la capacidad del compuesto de fórmula (1) para inhibir el crecimiento en la línea celular de melanoma humano A375.

10

La proliferación celular se determinó midiendo la conversión de rezurina (Alamar Blue) a resorufina en respuesta a la actividad mitocondrial (Nociari, M. M, Shalev, A., Benias, P., Russo, C. *Journal of Immunological Methods* 1998, 213, 157-167). Las células A375 (American Type Culture Collection, Teddington, Reino Unido) se cultivaron en medio Eagle modificado de Dulbecco + FBS al 10 %. Cada pocillo de una placa negra de fondo plano de 96 pocillos se sembró con 2×10^3 células en 200 μ l de medio de cultivo completo un día antes del tratamiento compuesto. Las células se incubaron con el compuesto en dimetilsulfóxido (DMSO) 0.1 % (v/v) durante 4 días antes de la adición de 20 μ l de azul Alamar. Después de 6 h de incubación adicional a 37 °C, se leyó la placa en un lector Spectramax Gemini (Molecular Devices; excitación 535 nm, emisión 590 nm). Los valores de IG₅₀ se calcularon utilizando una ecuación de respuesta a la dosis sigmoidea (software Prism GraphPad, La Jolla, CA, EE. UU.).

20

En los ensayos que utilizan células A375, el compuesto de fórmula (1) tiene un valor de GI₅₀ de 0.0034 μ M.

Protocolo de combinación para la proliferación celular

25

El efecto de un compuesto de fórmula (1) (Compuesto I) en combinación con un agente anticancerígeno (Compuesto II) se puede evaluar utilizando la siguiente técnica. Se sembraron líneas de células de cáncer humano (por ejemplo, A375) en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a una concentración de 2×10^3 - 4×10^3 células/pocillo. Se dejó que las células se recuperaran durante 16 a 24 horas antes de añadir los compuestos o el control DMSO (DMSO al 0.1-0.5 %). Las células se incubaron con el compuesto en dimetilsulfóxido (DMSO) al 0.1 % - 0.5 % (v/v) durante 72-96 horas, antes de añadir 20 μ l de azul Alamar. Después de 6 h de incubación adicional a 37 °C, se leyó la placa en un lector Spectramax Gemini (Molecular Devices; excitación 535 nm, emisión 590 nm). Los valores de IG₅₀ se calcularon utilizando una ecuación de respuesta a la dosis sigmoidea (software Prism GraphPad, La Jolla, CA, EE. UU.). Se determinó el IG₅₀ del Compuesto II en presencia de dosis variables del Compuesto I. La sinergia se determinó cuando el IG₅₀ disminuyó en presencia de dosis subefectivas del Compuesto I. La aditividad se determinó cuando la respuesta al Compuesto II y al Compuesto I juntos resultó en un efecto equivalente a la suma de los dos compuestos individualmente. Los efectos antagonistas se definieron como aquellos que provocaban un desplazamiento hacia arriba del IG₅₀, es decir, aquellos en los que la respuesta a los dos compuestos era menor que la suma del efecto de los dos compuestos.

EJEMPLO 9

Formulaciones farmacéuticas

45

(i) Formulación de los comprimidos

Una composición de comprimido que contiene el compuesto de fórmula (1) se prepara mezclando una cantidad apropiada del compuesto (por ejemplo 50-250 mg) con un diluyente, desintegrante, agente de compresión y/o deslizante apropiado. Un posible comprimido comprende 50 mg del compuesto con 197 mg de lactosa (BP) como diluyente, y 3 mg de estearato de magnesio como lubricante y comprimiendo para formar un comprimido de manera conocida. El comprimido comprimido puede estar opcionalmente recubierto con película.

(ii) Formulación de las cápsulas

55

Se prepara una formulación en cápsula mezclando 100-250 mg (por ejemplo, 100 mg) del compuesto de fórmula (1) con una cantidad equivalente de lactosa (por ejemplo, 100 mg) y llenando la mezcla resultante en cápsulas de gelatina dura opaca estándar. Se puede incluir un desintegrante y/o deslizante apropiado en cantidades apropiadas según sea necesario.

60

(iii) Formulación inyectable I

Se puede preparar una composición parenteral para administración por inyección disolviendo un compuesto de fórmula (1) (por ejemplo, en forma de sal) en agua que contiene 10 % de propilenglicol para dar una concentración de compuesto activo de 1,5 % en peso. Después la solución se esteriliza mediante filtración, se llena en una ampolla y se sella. Opcionalmente la solución puede hacerse isotónica antes de la esterilización.

(iv) Formulación inyectable II

- 5 Se prepara una composición parenteral para inyección disolviendo en agua un compuesto de fórmula (1) (por ejemplo, en forma de sal) (2 mg/ml) y manitol (50 mg/ml), filtrando de forma estéril la solución y envasándola en viales o ampollas sellables de 1 ml o en jeringas precargadas.

(v) Formulación inyectable III

- 10 Se puede preparar una formulación para administración intravenosa mediante inyección o infusión disolviendo el compuesto de fórmula (1) (por ejemplo, en forma de sal) en agua a 20 mg/ml y, opcionalmente, después ajustado para la isotonicidad. Después se sella el vial y se esteriliza en autoclave. Alternativamente, puede llenarse en una ampolla, un vial o una jeringa precargada, esterilizarse mediante filtración y sellarse.

(vi) Formulación inyectable IV

- 20 Se puede preparar una formulación para administración intravenosa mediante inyección o infusión disolviendo el compuesto de fórmula (1) (por ejemplo, en forma de sal) en agua que contenga un tampón (por ejemplo, acetato 0.2 M, pH 4.6) a 20 mg/ml. Después se sella el vial y se esteriliza en autoclave. Alternativamente, una jeringa precargada se sella y se esteriliza en autoclave o se esteriliza mediante filtración y se sella.

(vii) Formulación para inyección subcutánea o intramuscular

- 25 Se prepara una composición para administración subcutánea (o intramuscular) mezclando un compuesto de fórmula (1) con aceite de maíz de calidad farmacéutica para dar una concentración de 5-50 mg/ml (por ejemplo, 5 mg/ml). La composición se esteriliza y se introduce en un recipiente adecuado.

(viii) Formulación liofilizada

- 30 Se colocan alícuotas del compuesto formulado de fórmula (1) en viales de 50 ml y se liofilizan. Durante la liofilización, las composiciones se congelan utilizando un protocolo de congelación de una sola etapa a (-45 °C). La temperatura se eleva a -10 °C para el recocido, después se reduce a congelación a -45 °C, seguido de un secado primario a +25 °C durante aproximadamente 3400 minutos, seguido de un secado secundario con etapas aumentadas si la temperatura es de 50 °C. La presión durante el secado primario y secundario se establece en 80 militor.

(ix) Formulación liofilizada II

- 40 Se colocan alícuotas del compuesto formulado de fórmula (1) o una sal del mismo como se define en este documento en viales de 50 mL y se liofilizan. Durante la liofilización, las composiciones se congelan utilizando un protocolo de congelación de una sola etapa a (-45 °C). La temperatura se eleva a -10 °C para el recocido, después ese reduce a congelación a -45 °C, seguido de un secado primario a +25 °C durante aproximadamente 3400 minutos, seguido de un secado secundario con etapas aumentadas si la temperatura es de 50 °C. La presión durante el secado primario y secundario se establece en 80 militor.

(x) Formulación liofilizada para uso en administración intravenosa III

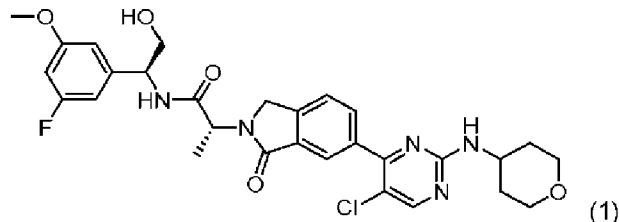
- 50 Se prepara una solución tamponada acuosa disolviendo el compuesto de fórmula (1) en un tampón. La solución tamponada se llena, con filtración para eliminar las partículas, en un recipiente (como un vial de vidrio tipo 1) que después se sella parcialmente (por ejemplo, mediante un tapón Fluorotec). Si el compuesto y la formulación son suficientemente estables, la formulación se esteriliza en autoclave a 121 °C durante un período de tiempo adecuado. Si la formulación no es estable al autoclave, se puede esterilizar utilizando un filtro adecuado y envasar en condiciones estériles en viales estériles. La solución se seca por congelación utilizando un ciclo adecuado. Una vez finalizado el ciclo de secado por congelación, los viales se vuelven a llenar con nitrógeno a presión atmosférica, se tapan y se aseguran (por ejemplo, con una cápsula de aluminio). Para la administración intravenosa, el sólido secado por congelación se puede reconstituir con un diluyente farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina al 0,9 % o dextrosa al 5 %. La solución puede dosificarse tal cual, o puede diluirse aún más en una bolsa de infusión (que contenga un diluyente farmacéuticamente aceptable, como solución salina al 0.9 % o dextrosa al 5 %), antes de su administración.

(xi) Polvo en una botella

- 60 Una composición para administración oral se prepara llenando una botella o vial con el compuesto de fórmula (1). Después la composición se reconstituye con un diluyente adecuado, por ejemplo, agua, zumo de fruta o un vehículo disponible comercialmente como OraSweet o SyrpSend. La solución reconstituida puede dispensarse en vasos dosificadores o jeringas orales para su administración.

REIVINDICACIONES

1. (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida, que tiene la fórmula (1):



5

o una forma tautomérica de la misma, en una forma cristalina que es de 50 % a 100 % cristalina.

2. (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 1 que es al menos 55 % cristalina, o al menos 60 % cristalina, o al menos 70 % cristalina, o al menos 80 % cristalina, o al menos 90 % cristalina, o al menos 95 % cristalina, o al menos 98 % cristalina, o al menos 99 % cristalina, o al menos 99,5 % cristalina, o al menos 99,9 % cristalina.

- 10 3. Una forma cristalina de (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que tiene un patrón de difracción de polvos de rayos X caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción 14.0 ° y/o 20.6 ° y/o 24.0 ° y/o 24.2 ° ($\pm 0.2^\circ$).
- 15 4. Una forma cristalina de (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X caracterizado por la presencia de picos principales en los ángulos de difracción y espaciado interplanar establecidos en la Tabla A:

Tabla A	
Ángulo de difracción (°)	Intensidad relativa
14.0	100
20.6	85
24.0	74
24.2	71

25

5. Una forma cristalina de (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 4, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se caracteriza además por la presencia de uno o más picos adicionales en los ángulos de difracción y espaciamientos interplanares establecidos en la Tabla B.

30

Tabla B	
Ángulo de difracción (°)	Intensidad relativa
8.8	23
13.0	23
13.8	39
14.4	20
17.3	22
19.3	36
21.3	45
28.7	22

35

6. Una forma cristalina de (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que presenta picos en sustancialmente los mismos ángulos de difracción que los del patrón de difracción de rayos X en polvo mostrado en la Figura 2 o que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como el mostrado en la Figura 2.

40

7. Una forma cristalina de (2*R*)-2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1*S*)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que presenta un evento endotérmico que tiene una temperatura de inicio entre 100 °C y 110 °C (más particularmente 101 °C y 108 °C) cuando se somete a calorimetría diferencial de barrido.

8. Una forma cristalina de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que presenta un evento endotérmico que tiene un pico entre 110 °C y 125 °C (más particularmente entre 111 °C y 113 °C) cuando se somete a calorimetría diferencial de barrido o que presenta una pérdida de peso entre 5 85 °C y 130 °C (por ejemplo 90-120 °C) cuando se somete a análisis termogravimétrico.

9. Una forma cristalina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que es un hidrato.

10. Una forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que es un monohidrato.

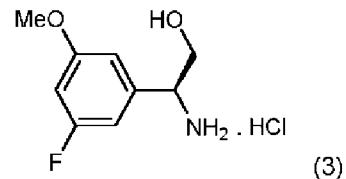
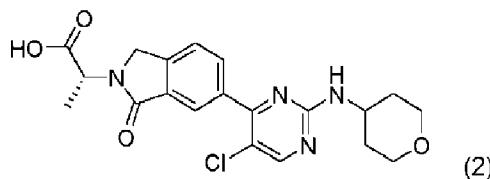
11. Un procedimiento para elaborar una forma cristalina de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida; cuyo procedimiento comprende:

15 (i) formar una suspensión acuosa de una sal de adición de ácido de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida y agitar la suspensión a una temperatura de entre 25 °C y 75 °C durante un período de tiempo suficiente para permitir la desproporción de la sal de adición de ácido y la formación de la forma cristalina de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida y, posteriormente, aislar la forma cristalina; o

20 (ii) formación de una suspensión acuosa de una forma amorfía de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida, en la que la suspensión acuosa no está tamponada o está tamponada a un pH comprendido entre 1.75 y 7.25, y agitando la suspensión acuosa a una temperatura comprendida entre 25 °C y 25 55°C durante un período de tiempo suficiente para permitir la conversión de la forma amorfía de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida a la forma cristalina de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida y, a continuación, aislar la forma cristalina.

30 12. Una sal amorfía de clorhidrato, sulfato, napadisilato (naftaleno-1,5-disulfonato), edisilato (etanodisulfonato), tosilato (p-toluenosulfonato), mesilato (metanosulfonato), napsilato (2-naftalenosulfonato), besilato (bencenosulfonato), isetionato (2-hidroxietanosulfonato), esilato (etanosulfonato) o sal de hidrobromuro de $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida.

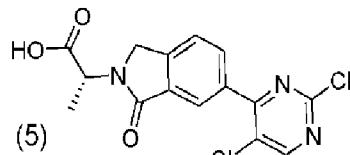
35 13. Un procedimiento para preparar $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida, que comprende hacer reaccionar un 40 compuesto de la fórmula (2) con un compuesto de la fórmula (3):



45 en un disolvente aprótico en presencia de una base amina terciaria, por ejemplo, en donde la base amina terciaria es diisopropiletilamina (DIPEA), y un agente promotor de enlace amida, en donde el agente promotor de enlace amida se selecciona de *N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)hexafluorofosfato de uronio* (HATU) y 1-etyl-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI).

50 14. Un procedimiento para preparar $(2R)$ -2-(6-{5-cloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida que tiene la fórmula (1) como se muestra en la reivindicación 1, cuyo procedimiento comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (5):

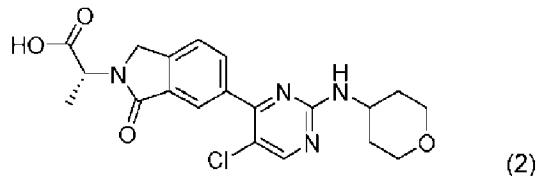


(5)

con un compuesto de fórmula (6)

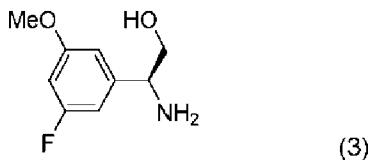


5 para dar el compuesto de fórmula (2):



y

10 b) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (2) con un compuesto de fórmula (3):



para dar el compuesto de fórmula (1), y después formar opcionalmente una sal o forma cristalina del mismo.

15

15. Una composición farmacéutica que comprende (2R)-2-(6-{5-chloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida y un vehículo seleccionado de:

20 - un alcohol C₂-4;

- un compuesto de poliéter;

- monoésteres de ácidos grasos de cadena larga C₈ a C₁₈ con glicerol o propilenglicol;

25

- di- o tri-glicéridos de ácidos grasos de cadena larga C₈ a C₁₀;

y mezclas de los mismos; y opcionalmente un tensioactivo no iónico.

30 16. Una forma cristalina de (2R)-2-(6-{5-chloro-2-[(oxan-4-il)amino]pirimidin-4-il}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-il)-N-[(1S)-1-(3-fluoro-5-metoxifenil)-2-hidroxietil]propanamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, una sal amorfa según la reivindicación 12 o una composición farmacéutica según la reivindicación 15 para su uso en:

35 (a) medicamento; o

(b) la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por ERK1/2; o

c) la profilaxis o el tratamiento de enfermedades relacionadas con el cáncer; o

40

(d) la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o afecciones seleccionadas entre carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer de esófago, riñón, colon, colorrectal, pulmón (por ejemplo, mesotelioma o adenocarcinoma de pulmón), mama, vejiga, gastrointestinal, ovario y próstata; o

45 (e) la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o afecciones como se describen en este documento; o

(f) prevenir o tratar una enfermedad o afección con Ras mutante, BRAF mutante o MEK mutante; o

50 (g) la profilaxis o el tratamiento del cáncer en donde el compuesto o la composición se utiliza en combinación con uno o más compuestos o terapias diferentes; o

h) la profilaxis o el tratamiento de enfermedades hematológicas malignas; o

- (i) la profilaxis o el tratamiento de leucemias y linfomas; o
- (j) la profilaxis o el tratamiento de neoplasias hematológicas y afecciones relacionadas de linaje linfóide (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda [ALL], leucemia linfocítica crónica [CLL], linfomas de células B como el linfoma difuso de células B grandes [DLBCL], linfoma folicular, linfoma de Burkitt, linfoma de células del manto, linfomas y leucemias de células T, linfomas de células asesinas naturales [NK], linfomas de Hodgkin, leucemia de células pilosas, gammaglobulina monoclonal de significado incierto, plasmacitoma, mieloma múltiple y trastornos linfoproliferativos postrasplante); o
- 5 (k) la profilaxis o el tratamiento de neoplasias hematológicas y afecciones relacionadas de linaje mieloide (por ejemplo, leucemia mielógena aguda [AML], leucemia mielógena crónica [CML], leucemia mielomonocítica crónica [CMML], síndrome hipereosinofílico, trastornos mieloproliferativos tal como policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria, síndrome mieloproliferativo, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica); o
- 10 (l) la profilaxis o el tratamiento de adenomas y carcinomas; o
- (m) la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o afecciones seleccionadas de tumores de origen epitelial; neoplasias hematológicas y trastornos hematológicos premalignos y trastornos de malignidad límítrofe; 20 tumores de origen mesenquimal; tumores derivados de células de la cresta neural; tumores del sistema nervioso central o periférico; tumores endocrinos; tumores oculares y anexiales; tumores de células germinales y trofoblásticos; y tumores pediátricos y embrionarios; o síndromes, congénitos o de otro tipo, que dejan al paciente susceptible a la malignidad; o
- 25 (n) la profilaxis o el tratamiento de cánceres de páncreas; o
- (o) la profilaxis o el tratamiento del melanoma N Ras y AML NRas; o
- (p) la profilaxis o el tratamiento del cáncer de pulmón KRas, el cáncer de páncreas KRas o el cáncer colorrectal 30 KRas (CRC); o
- (q) la profilaxis o el tratamiento del cáncer colorrectal (CRC) BRAF, el cáncer de pulmón BRAF o el melanoma BRAF.

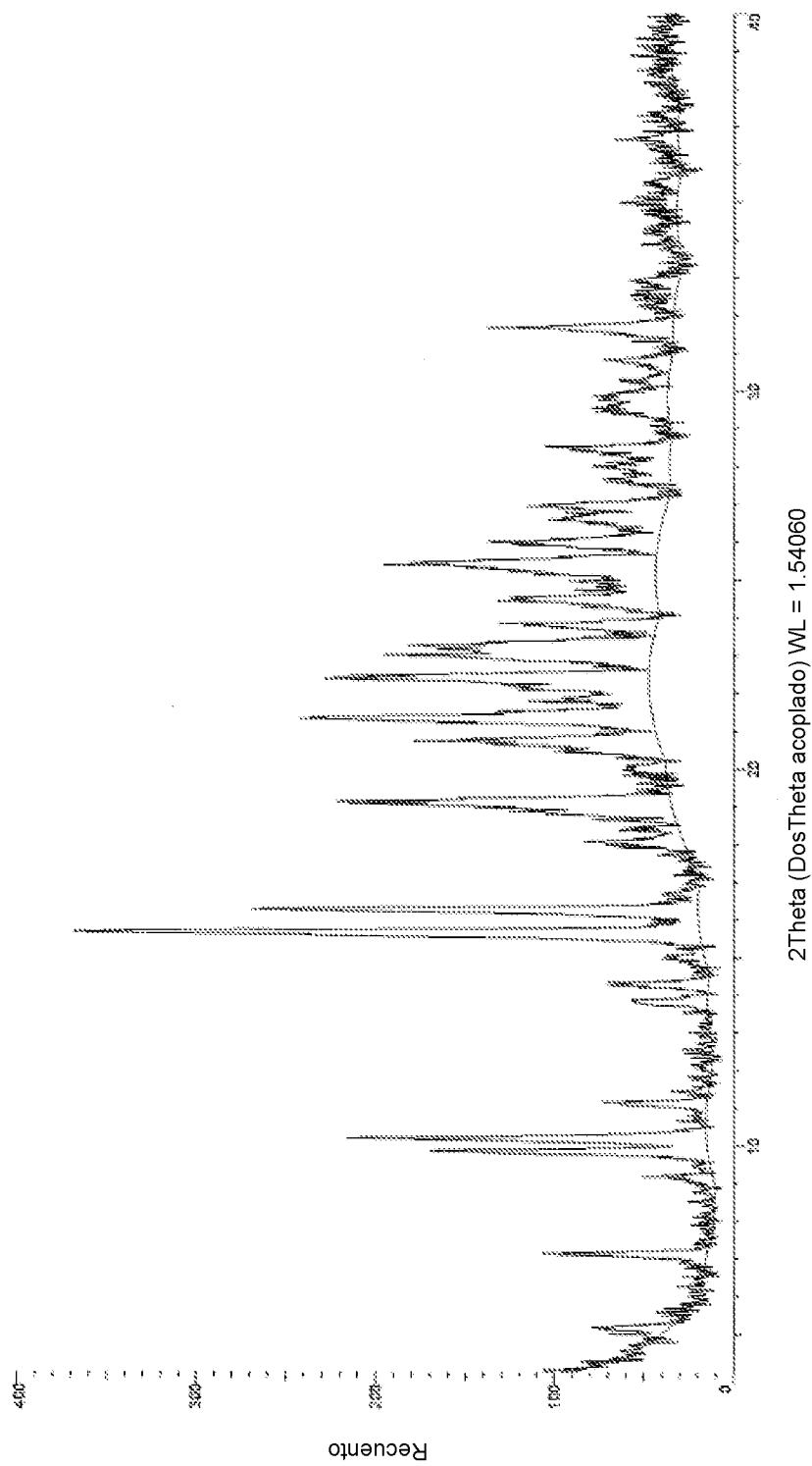
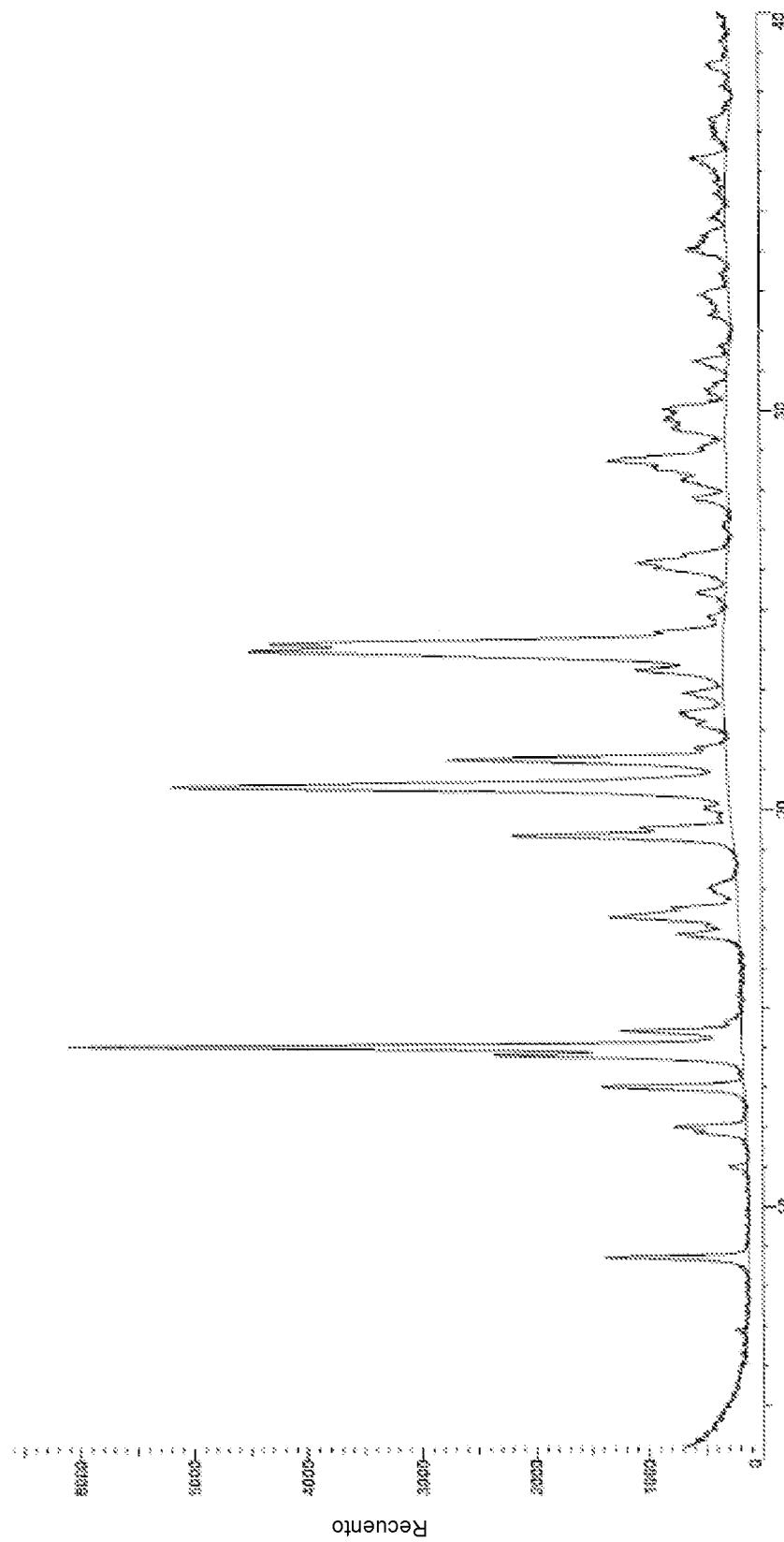


Figura 1



2Theta (Dos Theta acoplado) WL = 1.54060

Figura 2

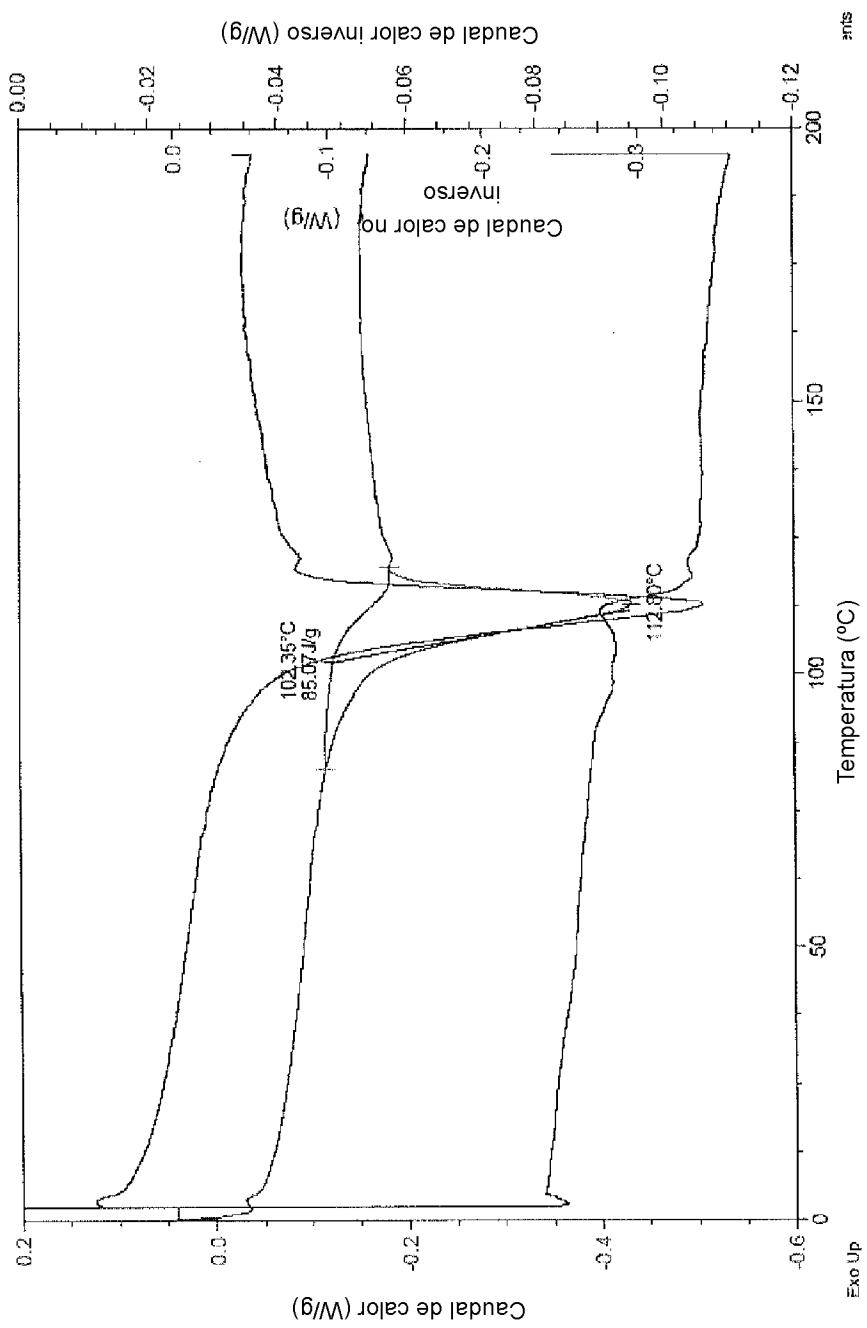


Figura 3

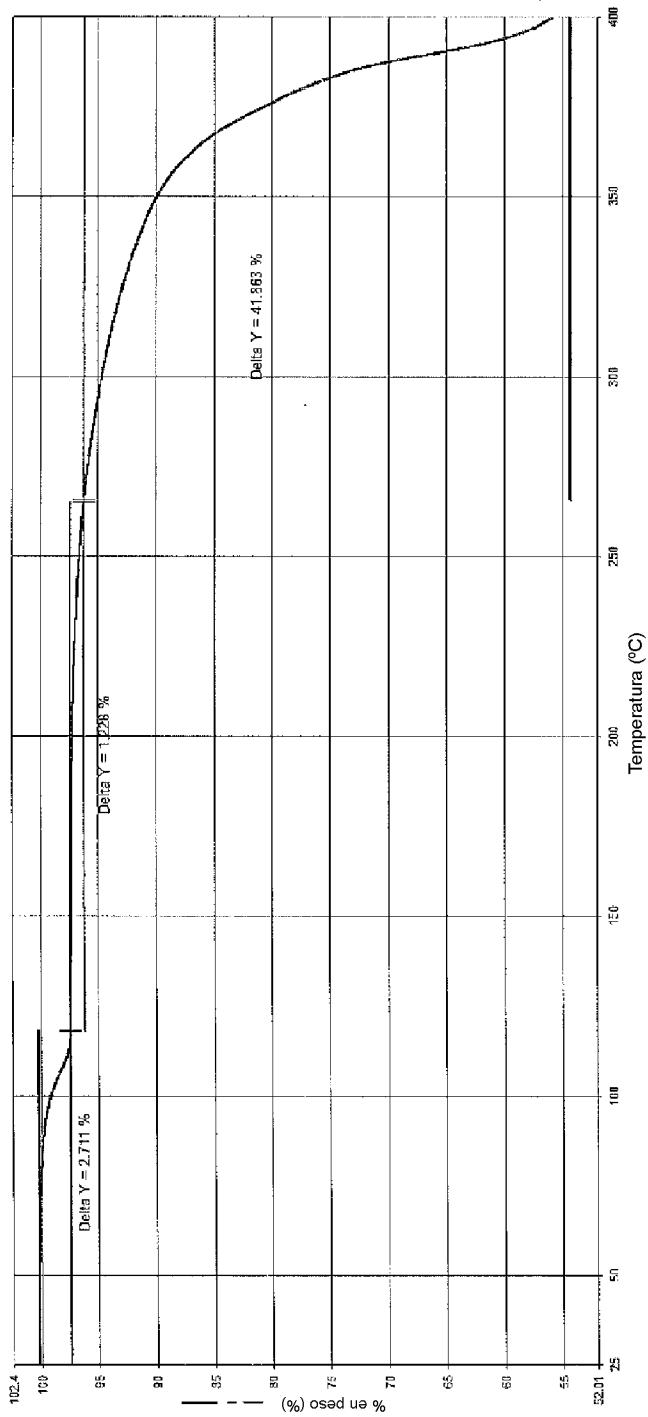
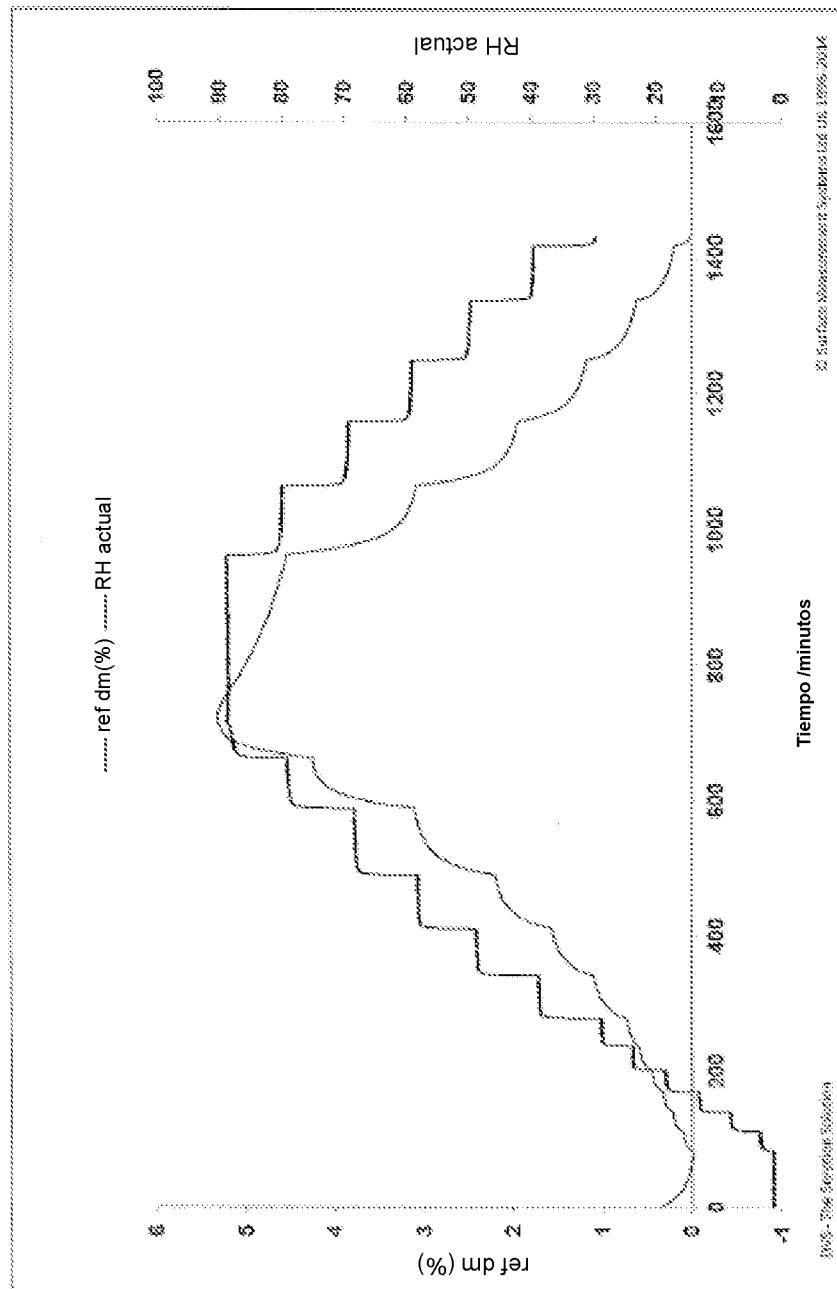


Figura 4

**Figura 5**

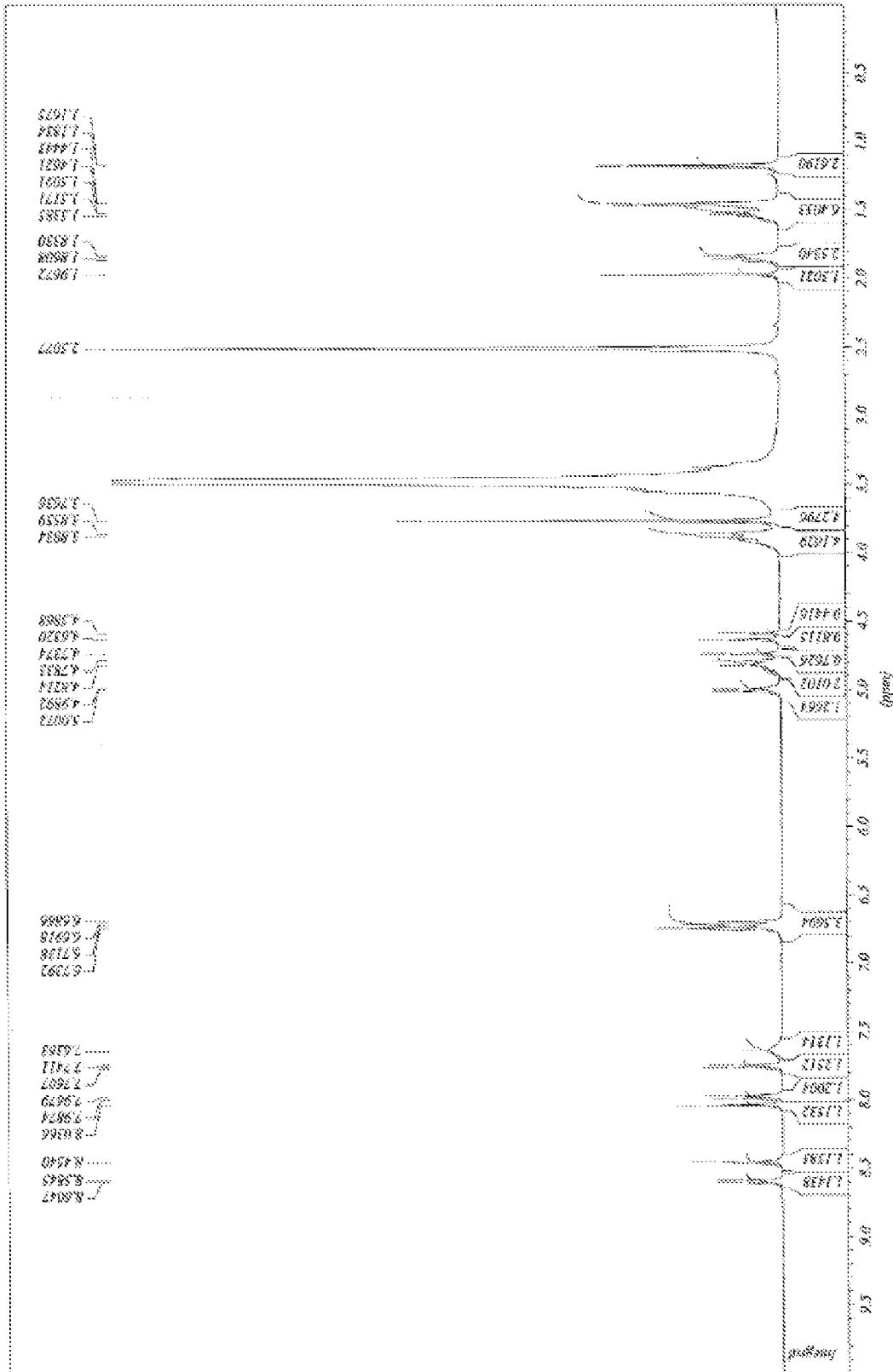


Figura 6

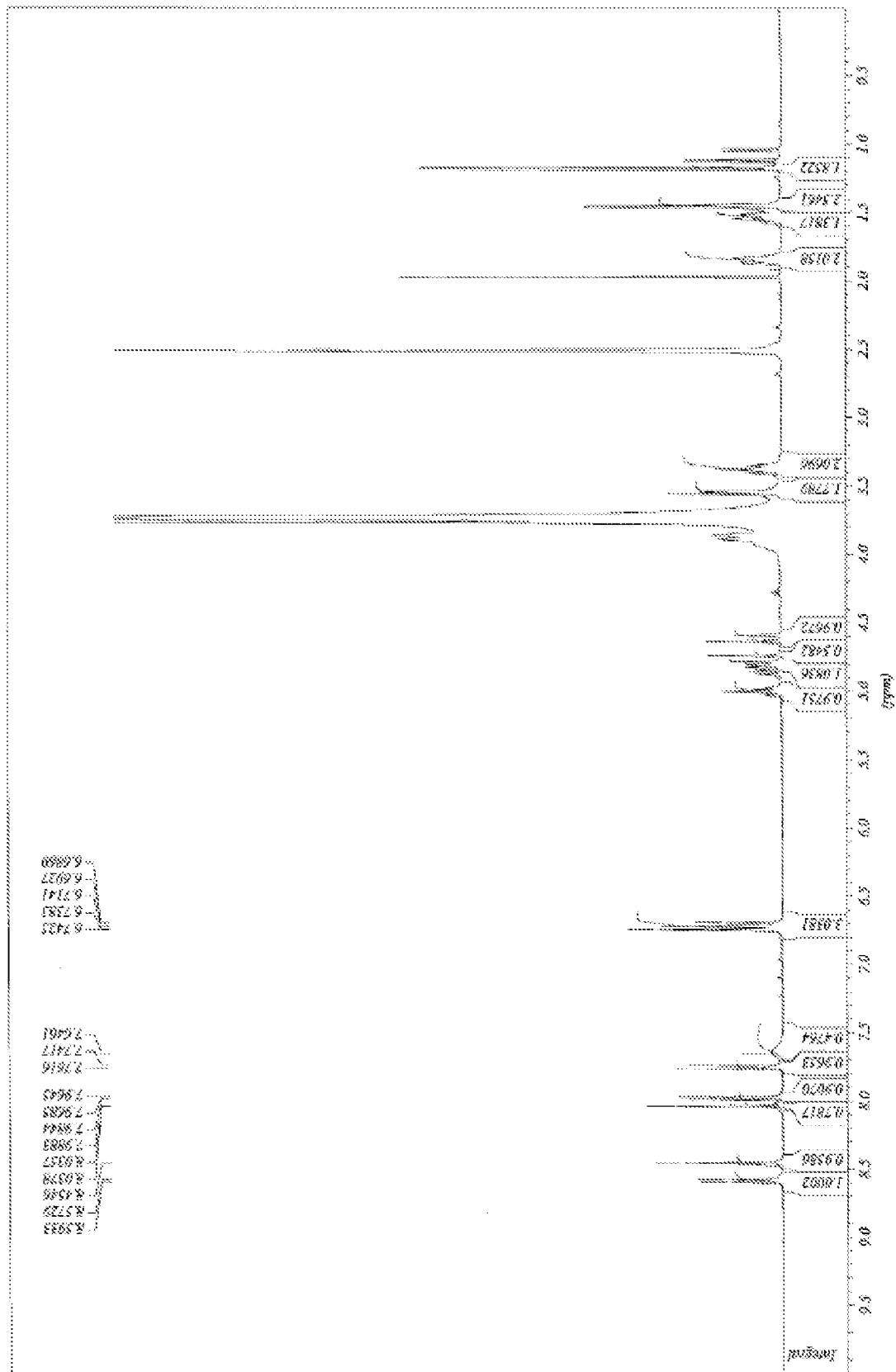


Figura 7

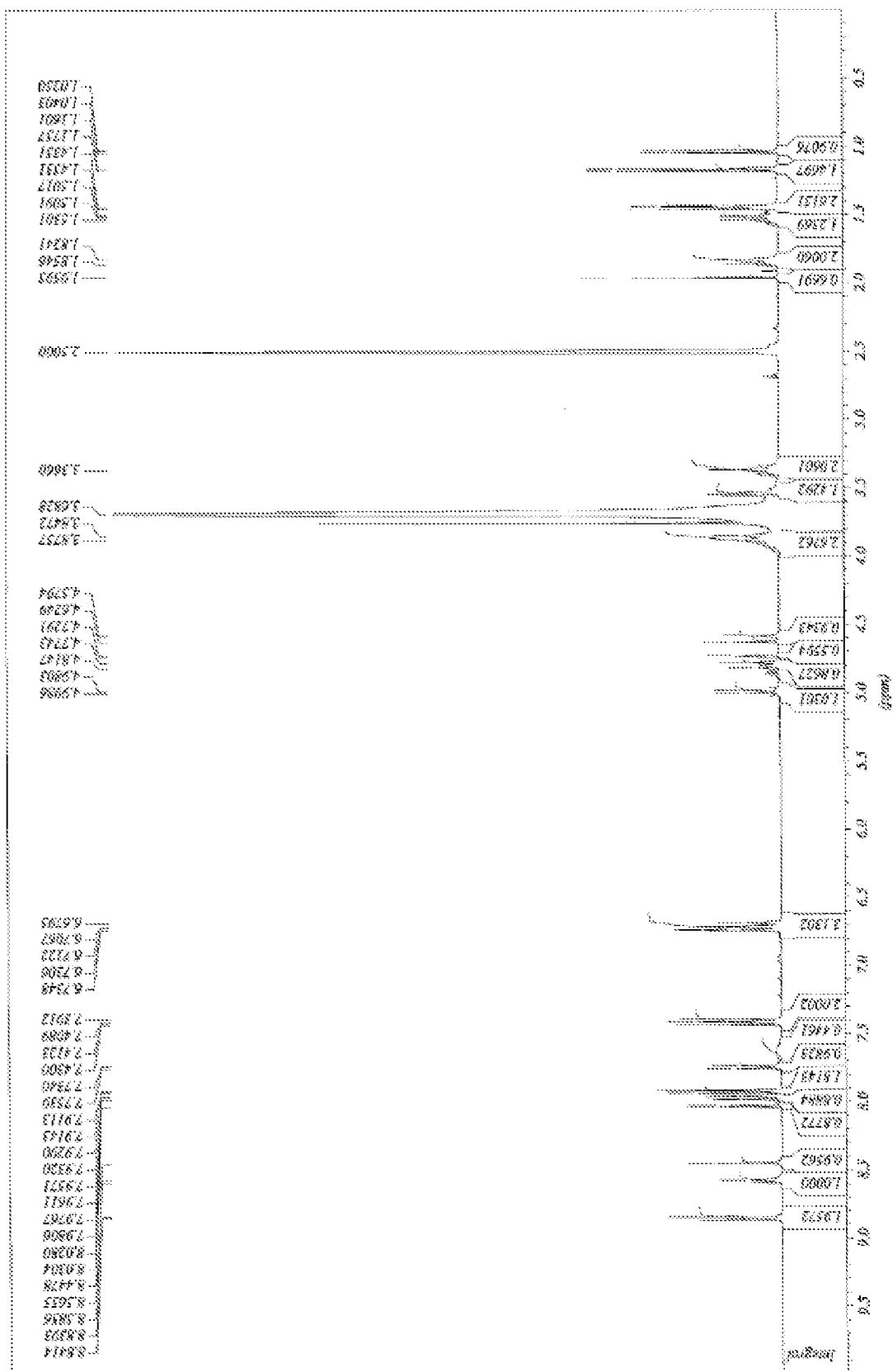


Figura 8

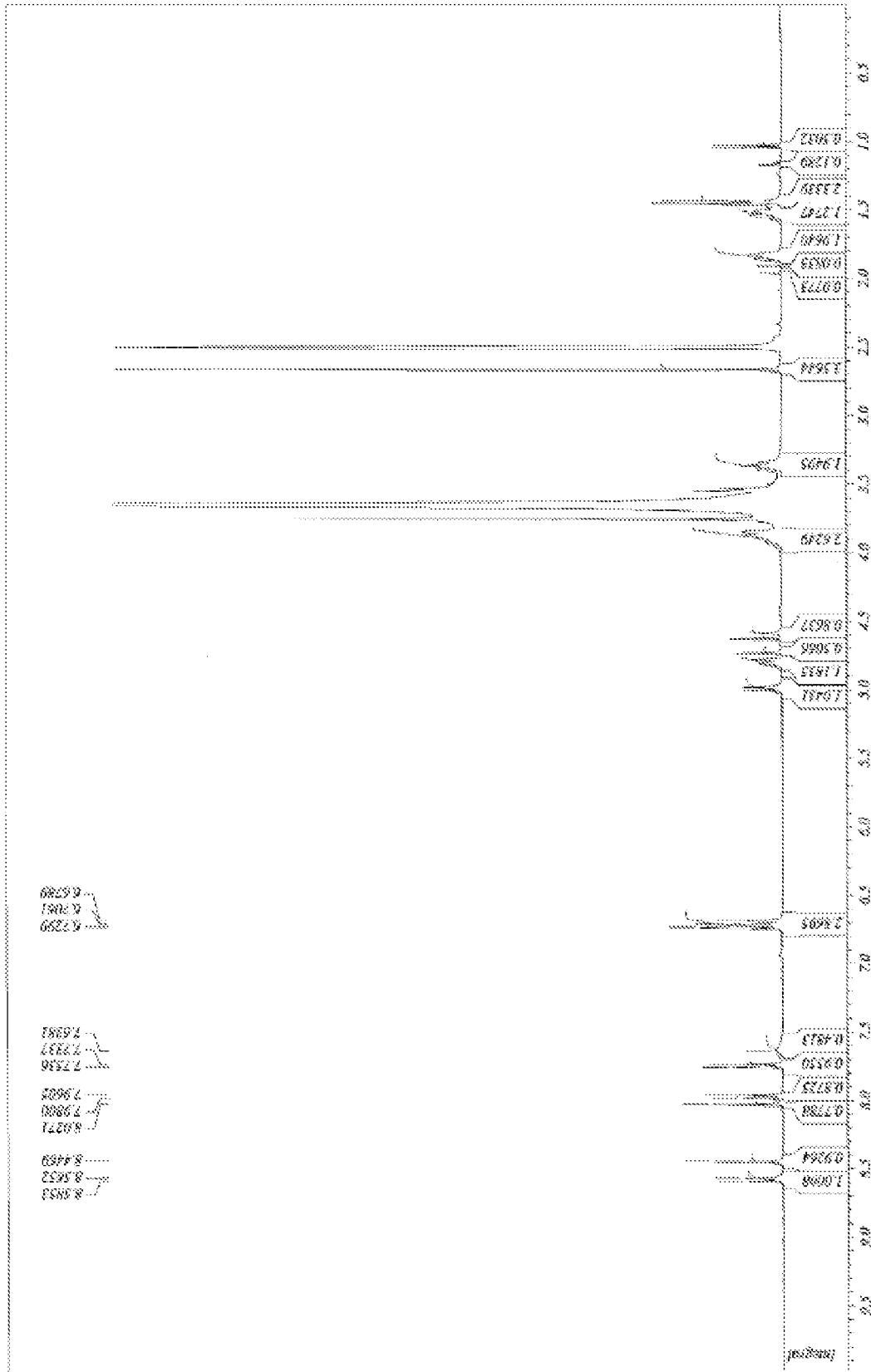


Figura 9

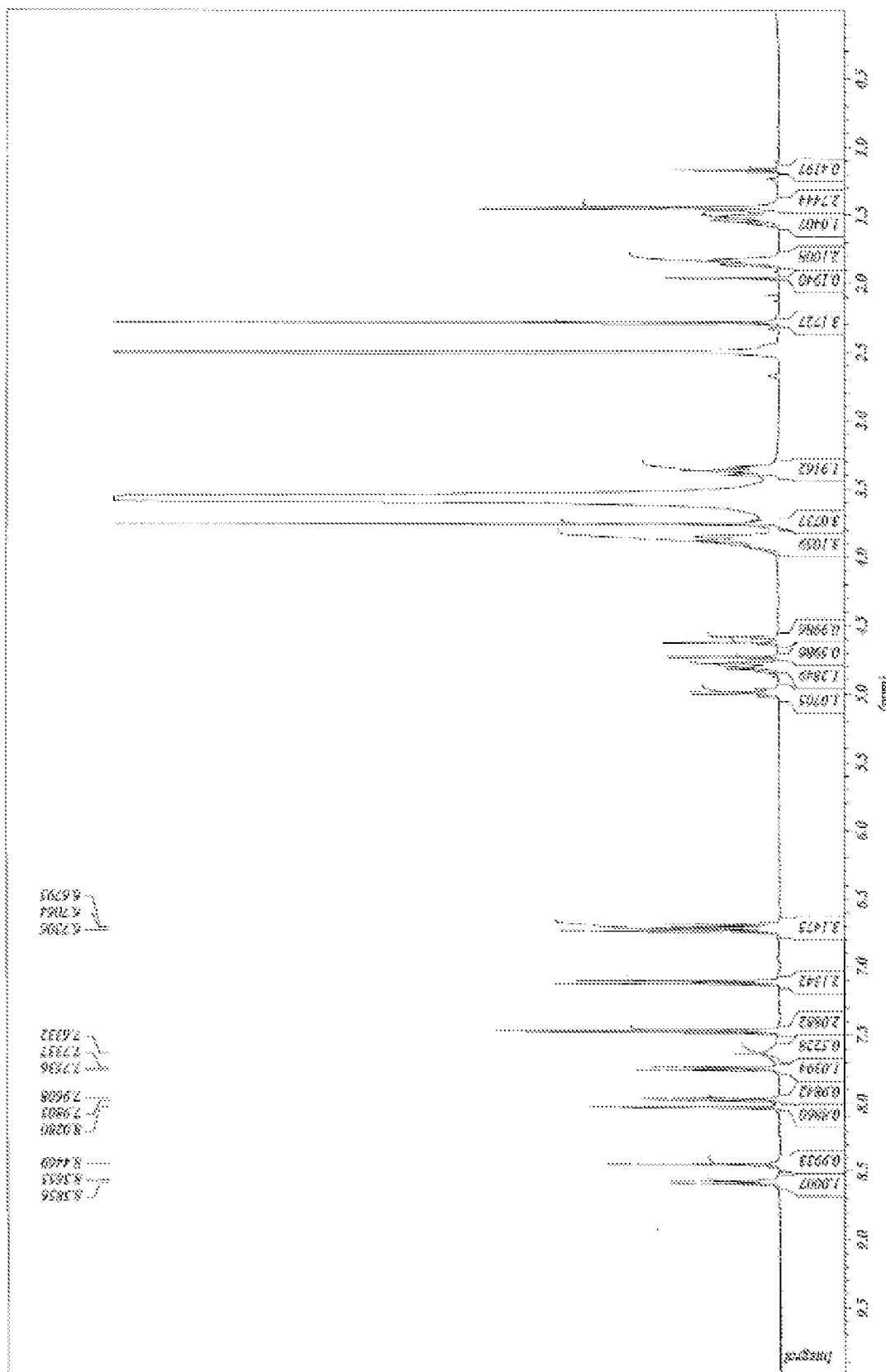
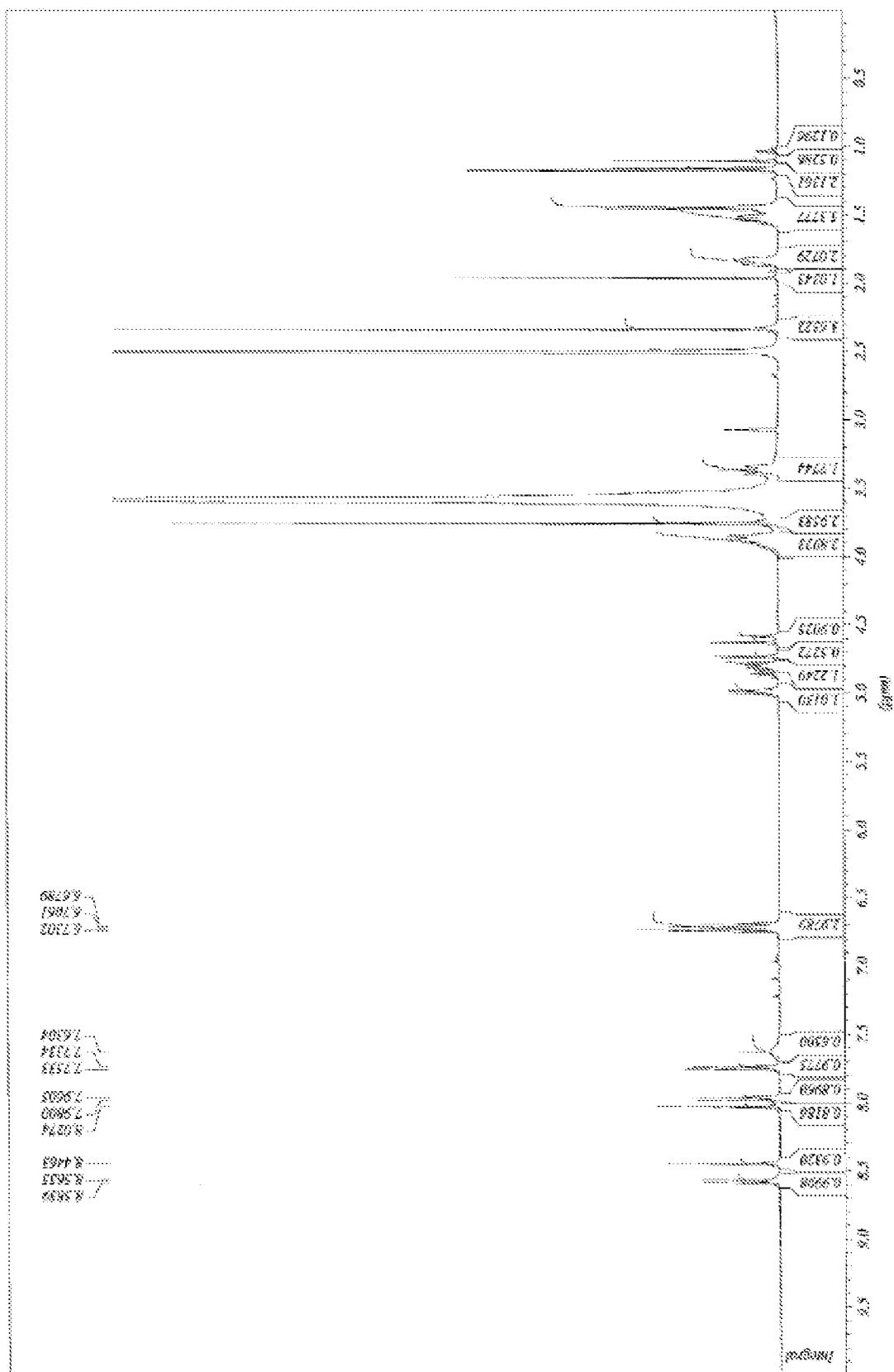


Figura 10



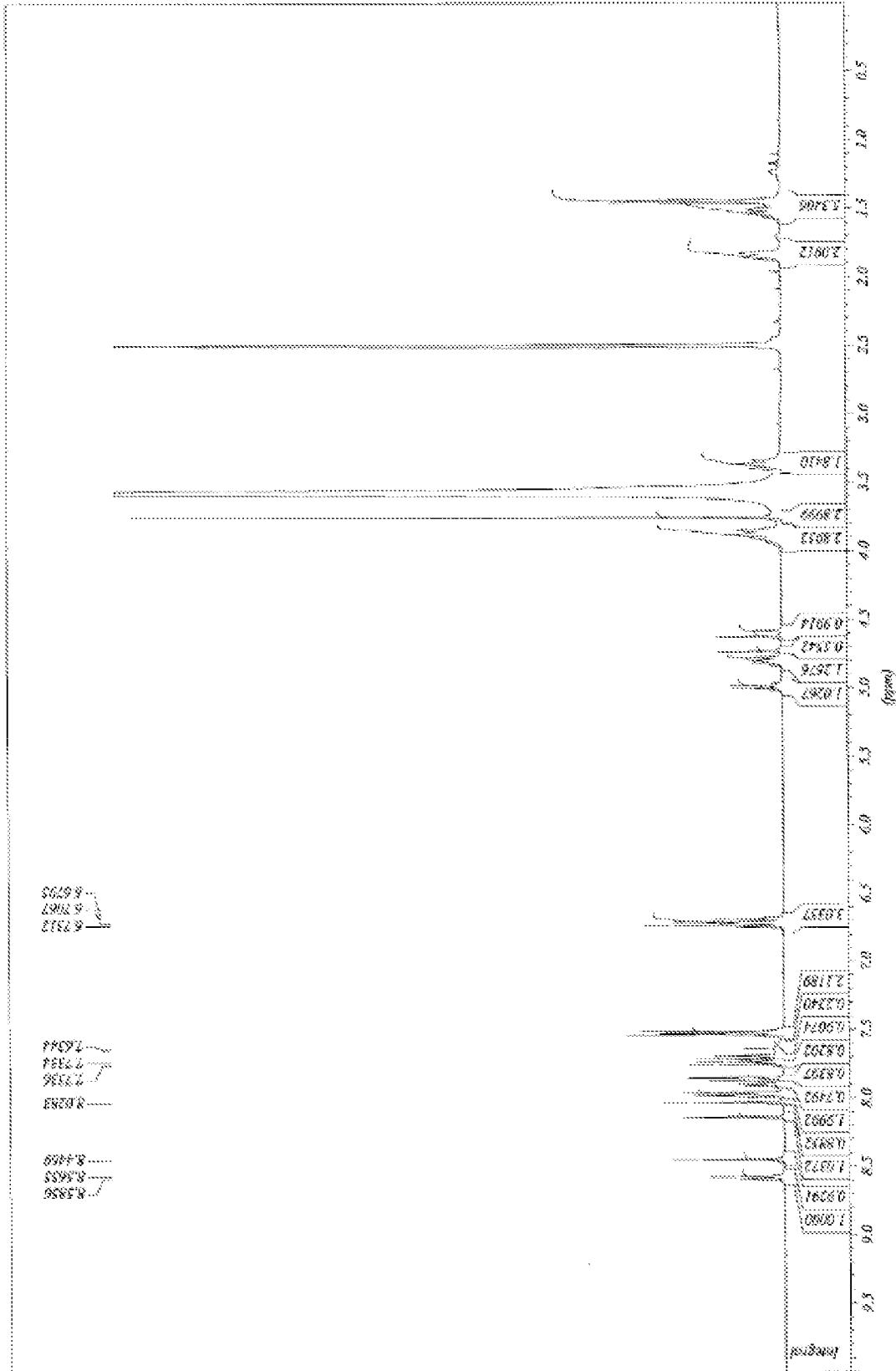


Figura 12

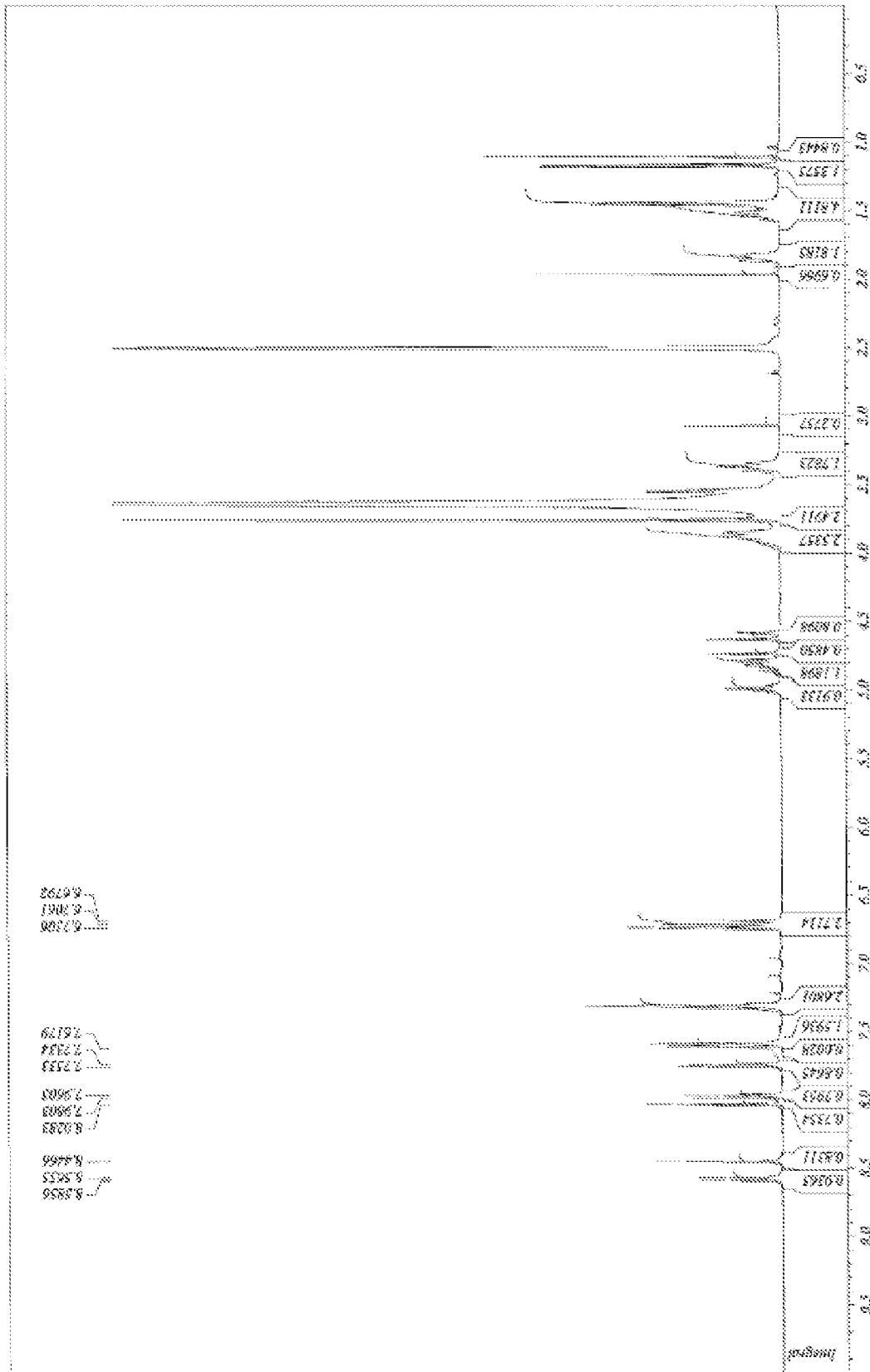


Figura 13

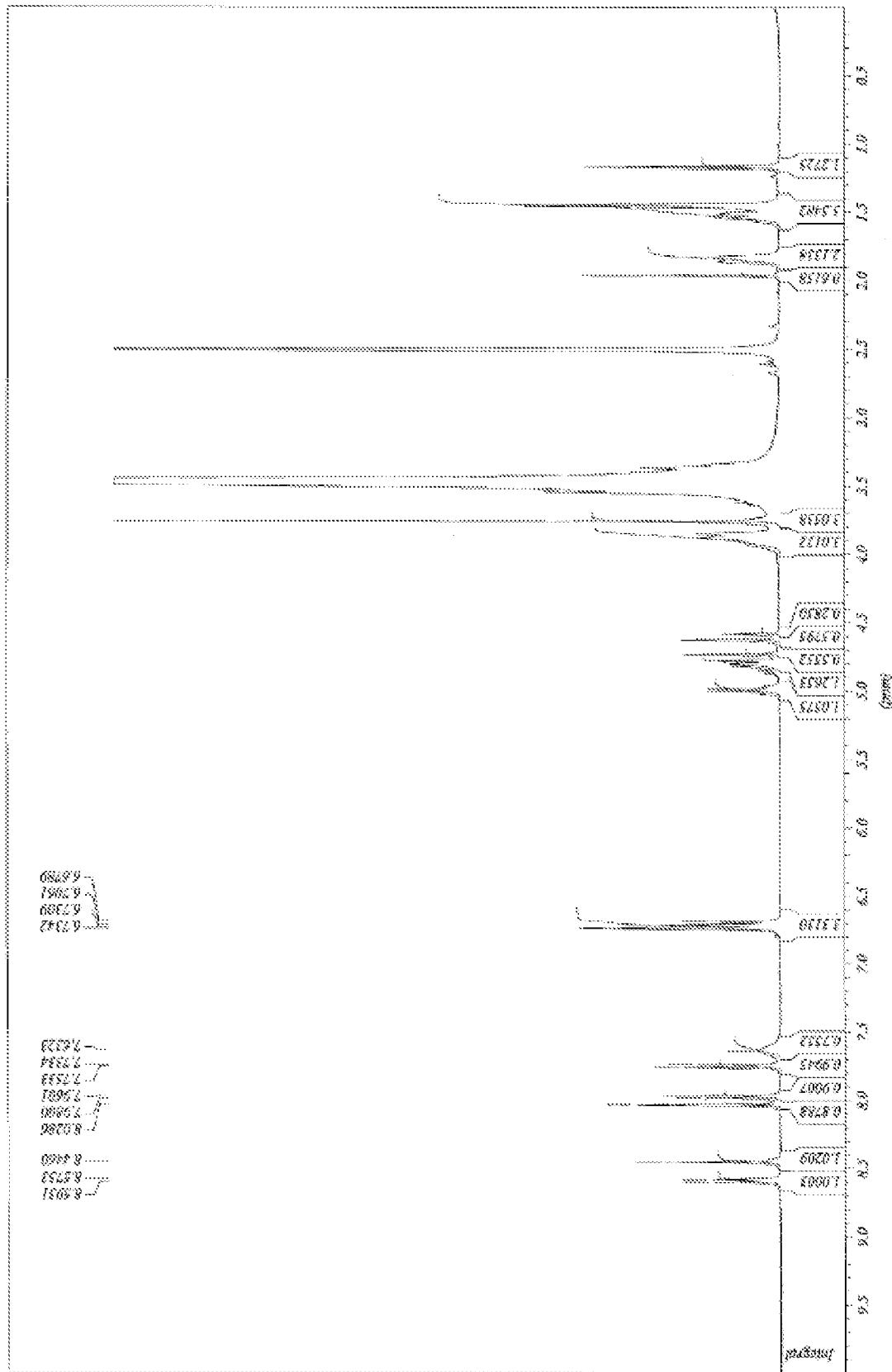


Figura 14

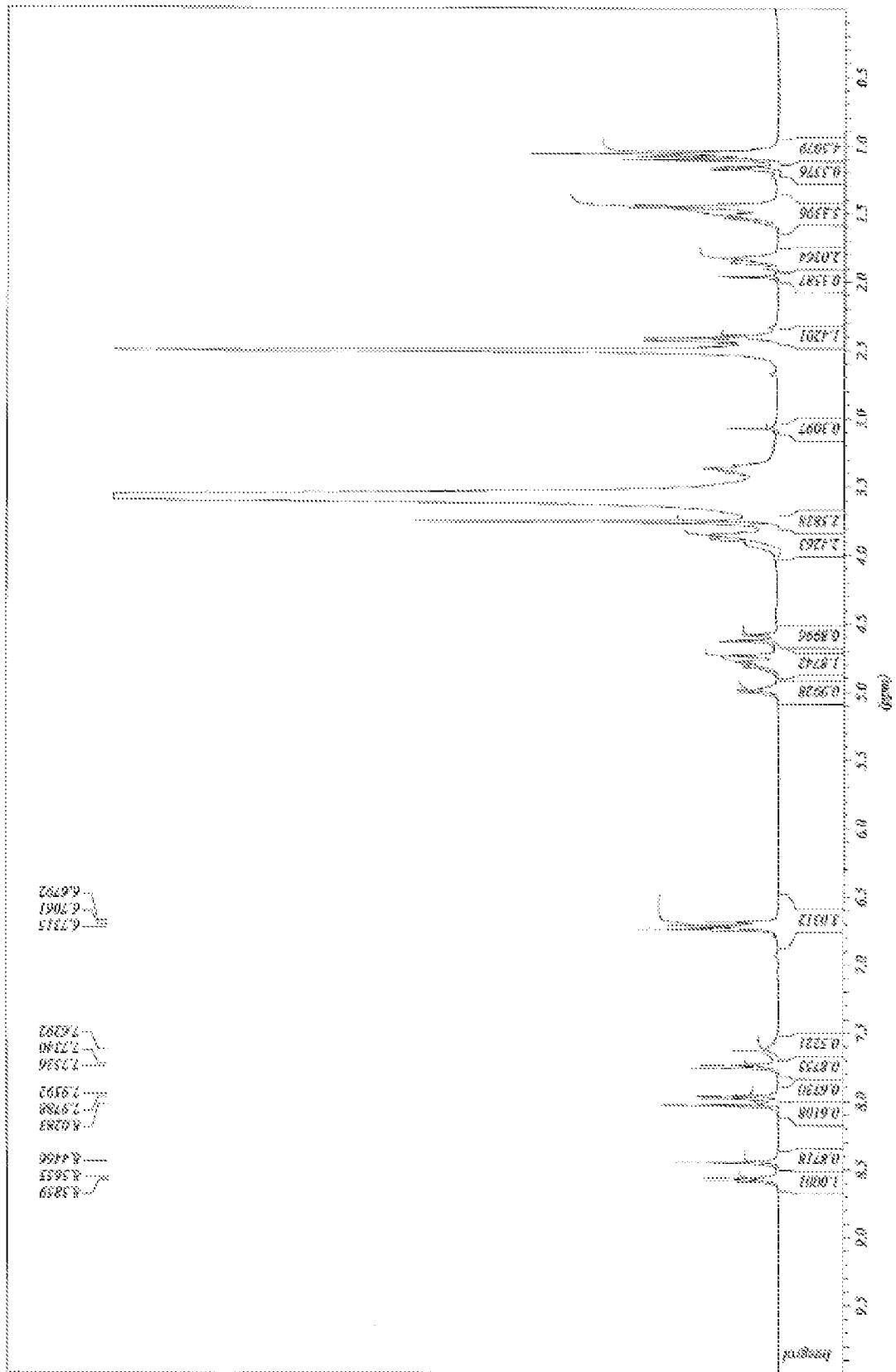


Figura 15

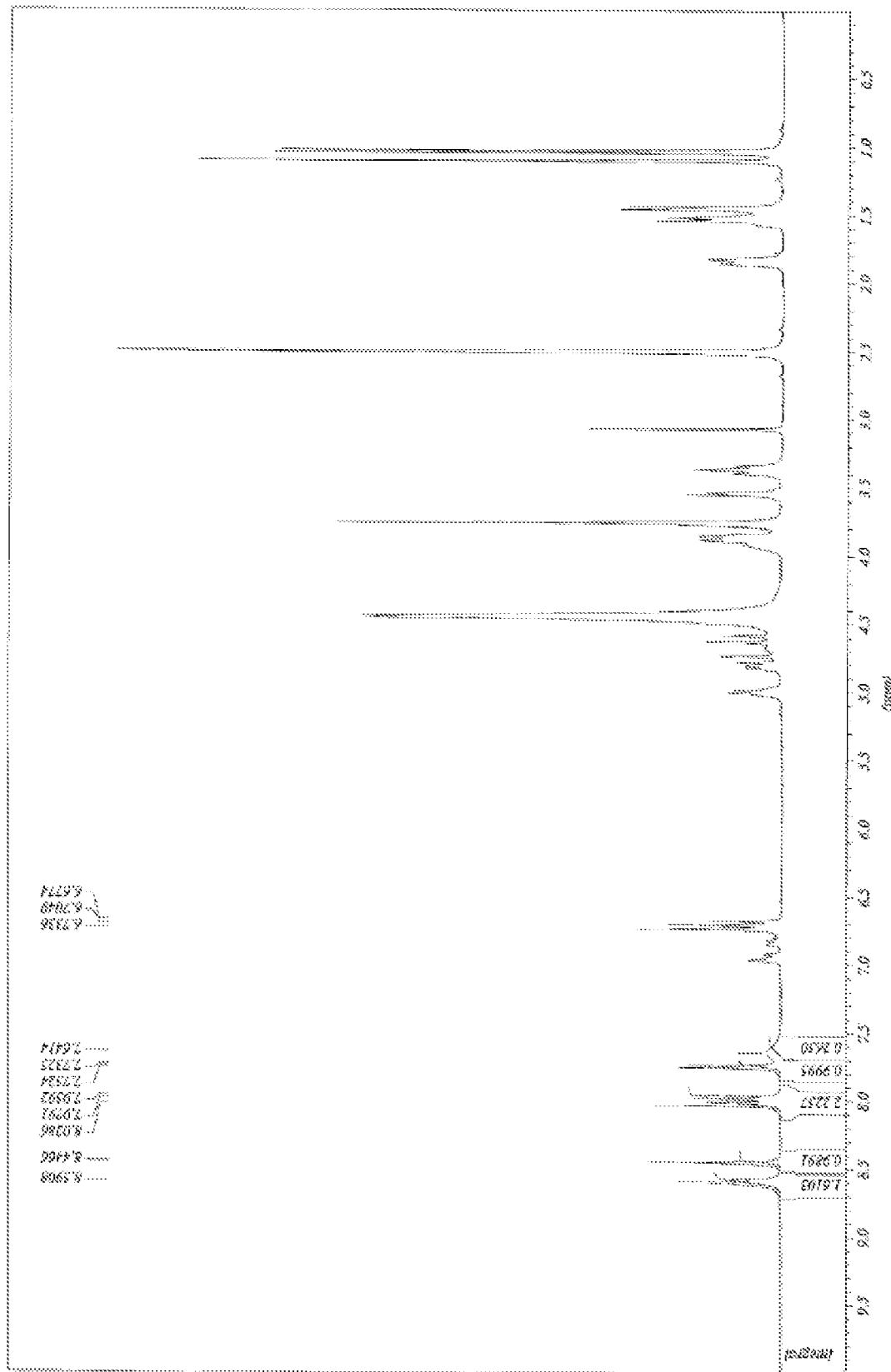


Figura 16