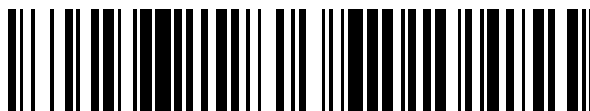


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 789**

51 Int. Cl.:

C07D 207/22 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61P 5/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2015 PCT/EP2015/062881**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2016 WO16000920**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2015 E 15730094 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3164384**

54 Título: **O-Metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina útil en métodos de tratamiento de estados relacionados con la actividad del OT-R**

30 Prioridad:

02.07.2014 US 201462020076 P

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

22.07.2020

73 Titular/es:

**OBSEVA S.A. (100.0%)
12, Chemin des Aulx
1228 Plan-les-Ouates/Geneve, CH**

72 Inventor/es:

CHOLLET, ANDRÉ

74 Agente/Representante:

ZUAZO ARALUZE, Alexander

Observaciones:

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

ES 2 774 789 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

O-Metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina útil en métodos de tratamiento de estados relacionados con la actividad del OT-R

Campo de la invención

La presente divulgación se refiere a O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y a métodos de uso de la misma. Además, la presente divulgación se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina, a métodos de elaborarla y a métodos de tratamiento de estados relacionados con la actividad del OT-R, en particular parto prematuro, usando la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina.

Antecedentes de la invención

La oxitocina (OT) es un nonapéptido cíclico que media sus acciones fisiológicas a través de la activación del receptor de oxitocina (OT-R), un receptor de la membrana celular que pertenece a la clase de receptores acoplados a proteína G que es similar a los receptores de arginina vasopresina. Entre otras funciones en el cuerpo, la OT provoca la contracción del útero de mamíferos durante el parto. La contracción repetida, concertada y regular del útero provocará la dilatación del cuello uterino, la rotura de membranas fetales y conduce a la expulsión del feto. El parto prematuro es cuando estas contracciones se producen antes del término normal del embarazo. El aumento prematuro de la actividad uterina es la expresión más común de parto prematuro.

El parto prematuro conduce a un nacimiento prematuro no deseado, un problema de salud grave que sigue siendo la causa principal de mortalidad perinatal y morbilidad grave, especialmente síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia intraventricular, displasia broncopulmonar y enterocolitis necrosante que son mucho más comunes en prematuros que en recién nacidos a término. Las deficiencias a largo plazo tales como parálisis cerebral infantil, deficiencia visual y sordera parcial son también más comunes en prematuros. Hoy en día, el nacimiento prematuro sigue siendo la causa principal de morbilidad infantil en naciones industrializadas. El cuidado intensivo neonatal de prematuros es muy costoso. Los costes reales son incluso mayores para la sociedad cuando se tiene en cuenta la prestación sanitaria de afecciones relacionadas con el nacimiento prematuro, tales como síndrome de dificultad respiratoria, cardiopatía, parálisis cerebral infantil, epilepsia y discapacidades del aprendizaje graves. Por tanto, gestionar el parto prematuro es una preocupación significativa en el campo de la obstetricia.

El sistema OT/OT-R desempeña un papel vital en la iniciación del parto en mamíferos, en particular en seres humanos. La densidad de OT-R aumenta notablemente en el miometrio antes del comienzo de y durante el parto. Además, se cree que la concentración local de hormona peptídica OT aumenta significativamente antes del parto en seres humanos. Las altas concentraciones circulantes de progesterona inducen la inactividad uterina mientras que el útero adquiere capacidad contráctil. Poco antes del término, las concentraciones plasmáticas de progesterona disminuyen, la expresión de OT-R en el útero aumenta, se libera OT y aumenta la actividad contráctil uterina. A término, las contracciones se elevan a crescendo, lo que da como resultado el parto como resultado de dos bucles de retroalimentación positiva que interactúan. El primero es un asa uterina local: dentro del propio útero, se producen y liberan prostaglandinas contráctiles en respuesta a OT y contracciones uterinas. Estas prostaglandinas pueden desempeñar un papel adicional en la maduración cervical y el debilitamiento de las membranas fetales. El segundo bucle involucra el hipotálamo: en respuesta a las contracciones uterinas y la distensión vaginal y cervical, las neuronas de oxitocina magnocelular en el hipotálamo aumentan su actividad, dando como resultado la liberación de OT desde sus terminales axonales en la hipófisis posterior. La OT liberada actúa sobre el útero tanto para estimular la producción adicional de prostaglandinas como para contribuir aún más a las contracciones del útero.

Otro posible beneficio de antagonizar OT-R está en el campo de la tecnología de reproducción asistida (TRA). Aunque se han realizado muchos esfuerzos para mejorar los resultados de la reproducción asistida en las últimas décadas, la efectividad general de la técnica de fecundación *in vitro* (FIV) sigue siendo limitada. Una variedad de factores puede influir en las tasas de éxito después de la FIV. La transferencia del embrión es un factor importante que influye en el resultado del tratamiento de fertilidad. La TRA consiste en realizar en primer lugar una hiperestimulación ovárica controlada (HOC) para estimular el crecimiento de varios folículos, permitiendo la recuperación de varios ovocitos para la FIV. La HOC se asocia con niveles suprafisiológicos de estradiol y se ha demostrado que la actividad contráctil uterina aumenta en pacientes de FIV en el momento de la transferencia de embriones en comparación con un ciclo menstrual espontáneo.

Las contracciones uterinas constituyen uno de los componentes más fundamentales de la receptividad uterina, ya que la actividad contráctil del útero desempeña un papel importante en la implantación de embriones. Las contracciones uterinas excesivas pueden disminuir la tasa de implantación de embriones en un ciclo de FIV porque la actividad contráctil puede expulsar a los embriones del útero. Hasta la fecha, las estrategias de tratamiento usadas para reducir las contracciones uterinas antes de la transferencia de embriones, tales como el uso de agonistas beta o fármacos antiinflamatorios no esteroideos, no han proporcionado un beneficio suficiente.

Además, los niveles sistémicos y endometriales de OT, así como la expresión de OT-R, están fuertemente influenciados por el estradiol, por ejemplo, en mujeres no embarazadas, el nivel más alto de expresión de OT-R se observa a la mitad del ciclo menstrual y en mujeres embarazadas cerca del término.

5 Al menos por estas razones, se cree que la reducción de las contracciones del útero en el momento de la transferencia de embriones mediante la administración de un antagonista del OT-R y/o V1a puede aumentar la tasa de implantación de embriones y, por tanto, la tasa de embarazo en TRA.

10 Por tanto, bloquear el efecto de la OT al antagonizar el OT-R podría representar una modalidad atractiva para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad del OT-R, en particular el parto prematuro y el fallo de implantación de embriones debido a contracciones uterinas.

15 Los tocolíticos, es decir, agentes relajantes del útero, se han usado en estudios clínicos para el tratamiento farmacéutico del parto prematuro. La mayoría de estos agentes se usan para una indicación no recogida en la ficha técnica. Han mostrado una eficacia muy limitada, si la hay, en la prolongación de la gestación y no han mostrado ninguna demostración evidente de la mejora del resultado neonatal. Además, muchos tocolíticos se asocian a menudo con efectos adversos no deseados en mujeres, fetos o recién nacidos. Tales tocolíticos incluyen agonistas beta-2-adrenérgicos, inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, sulfato de magnesio, donantes de ácido nítrico y bloqueantes de los canales de calcio. Los agonistas beta-2-adrenérgicos tales como ritodrina o terbutalina provocan una serie de efectos secundarios cardiovasculares y metabólicos que incluyen taquicardia materna, palpitaciones, hipotensión, función tiroidea alterada e hipoglucemia fetal y neonatal, taquicardia.

25 El bloqueante del canal de calcio nifedipina también se usa para tratar de detener las contracciones. Algunos de los posibles efectos secundarios de este medicamento incluyen enrojecimiento facial, dolor de cabeza, náuseas, palpitaciones y aturdimiento. También se ha usado el inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (AINE) indometacina, pero también puede tener efectos graves en el feto, por ejemplo, constricción del conducto arterioso, hipertensión pulmonar, disminución de la función renal con oligohidramnios, hemorragia intraventricular, hiperbilirrubinemia, enterocolitis necrotizante, y también efectos secundarios para la madre, por ejemplo, molestias abdominales, náuseas, vómitos, depresión y mareos. El sulindaco, otro AINE, tiene un perfil de efectos secundarios similar a la indometacina. Los metanálisis realizados con sulfato de magnesio no han podido respaldarlo como tocolítico. Las mujeres informaron efectos secundarios tales como enrojecimiento, letargo, dolor de cabeza, debilidad muscular, edema pulmonar y paro cardíaco. Además, un recién nacido que ha estado expuesto a sulfato de magnesio puede presentar letargo, hipotonía, depresión respiratoria, problemas óseos, osteopenia y fracturas. La FDA ahora aconseja a los profesionales sanitarios que no usen inyección de sulfato de magnesio durante más de 5 a 7 días para detener el parto prematuro en mujeres.

40 Otro producto farmacéutico, el atosiban, un receptor doble de vasopresina V1a y un antagonista del OT-R, se comercializa en la UE y se usa para detener las contracciones y retrasar el parto prematuro algunos días. El atosiban es un péptido que no está biodisponible por vía oral y debe administrarse por vía parenteral. Se degrada rápidamente en la circulación por enzimas y su uso está limitado a un máximo de 48 horas.

45 Los antagonistas de moléculas pequeñas activos por vía oral que son selectivos para el OT-R se han desarrollado en un intento de superar estos problemas. Específicamente, se desarrollaron antagonistas del OT-R no peptídicos tales como derivados de pirrolidina (documentos WO 01/72705, WO 02/102799, WO 2002/074741, WO 2004/005249).

50 Los derivados de pirrolidina, como mezclas de isómeros, se dan a conocer para su uso como antagonistas de la oxitocina en el documento WO 2004/005249. En el mismo no se informaron de condiciones adecuadas de cristalización de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pura o de la mezcla isomérica en bruto.

55 Sigue habiendo importantes necesidades insatisfechas de antagonistas del OT-R eficaces y selectivos por vía oral para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad del OT-R, en particular el parto prematuro. En particular, existe la necesidad de un producto farmacéuticamente eficaz administrable por vía oral, que se absorba rápidamente, tenga una semivida lo suficientemente larga como para soportar la administración una vez al día, y sea seguro para la madre y el feto en un tratamiento de mantenimiento prolongado durante varias semanas hasta que el embarazo llegue a término.

60 **Sumario de la invención** (solo la forma cristalina cubierta por el alcance de las reivindicaciones forma parte de la invención).

65 Una realización se refiere a O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. En realizaciones de la misma, el compuesto cristalino puede tener un patrón de XRPD sustancialmente tal como se ilustra en la figura 1, una curva de DSC sustancialmente tal como se ilustra en la figura 6 o la figura 7, o una curva de TGA sustancialmente tal como se ilustra en la figura 8 o la figura 9.

Otra realización es una composición farmacéutica que comprende O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Aún otra realización es un método para tratar un estado relacionado con la actividad del OT-R, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. El estado relacionado con la actividad del OT-R puede seleccionarse del grupo que consiste en parto prematuro, nacimiento prematuro, dismenorrea, eyaculación precoz, disfunción sexual, endometriosis, fallo de implantación de embriones debido a contracciones uterinas, infertilidad, hiperplasia prostática benigna, trastornos neuropsiquiátricos, autismo, trastornos del comportamiento social, estrés psicosocial y trastornos cardiovasculares.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra el análisis de difracción de rayos X de polvo (XRPD) para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina después de la síntesis.

La figura 2 muestra el análisis comparativo de XRPD para: O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización de acetato de etilo (línea superior); O-metiloxima 3-ona de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización de dietil éter a pequeña escala, secada a vacío a temperatura ambiental durante 20 horas (línea intermedia); y O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización con dietil éter a pequeña escala, secada a vacío a temperatura ambiental durante 20 horas y luego secada a vacío a 45°C durante 65 horas (línea inferior).

La figura 3 muestra los picos observados para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización de dietil éter a pequeña escala, secada a vacío a temperatura ambiental durante 20 horas, resultado obtenido usando Triads™ v2.0.

La figura 4 muestra el patrón de XRPD para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina después de la síntesis en comparación con el patrón de XRPD para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina después de agitar en tampón fosfato pH 7 durante 24 horas.

La figura 5 muestra el patrón de XRPD para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa después de la síntesis en comparación con el patrón de XRPD para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa después de agitar en tampón fosfato pH 7 durante 24 horas.

La figura 6 es una curva de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización a partir de dietil éter.

La figura 7 es una curva de DSC de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización a partir de acetato de etilo.

La figura 8 es una curva de análisis termogravimétrico (TGA) de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización a partir de dietil éter a pequeña escala.

La figura 9 es una curva de TGA de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada por cristalización a partir de acetato de etilo.

Descripción detallada de la invención

Forma cristalina

Se da a conocer una O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona novedosa en el presente documento. Los intentos iniciales de cristalizar O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona fracasaron. Más tarde, se realizaron más de 120 experimentos de cribado polimorfo. Más de la mitad no produjo material sólido adecuado para una caracterización adicional y aproximadamente un tercio produjo la forma amorfa. Después de mucha experimentación y descubrimiento, los inventores obtuvieron una forma cristalina estable de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, que puede usarse como principio activo farmacéutico en una composición farmacéutica. La presente divulgación enseña cómo elaborar esta forma cristalina novedosa y los beneficios de la misma.

Una realización de la presente invención es O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina.

El compuesto cristalino de esta invención es un compuesto cristalino sustancialmente puro. Un compuesto cristalino sustancialmente puro está constituido predominantemente por una única fase cristalina, preferiblemente más de aproximadamente el 85% en peso está constituido por la única fase cristalina, más preferiblemente más de aproximadamente el 90%, más preferiblemente más de aproximadamente el 95%, aún más preferiblemente más de aproximadamente el 98% y lo más preferiblemente de aproximadamente el 100%. En otra realización, el compuesto cristalino está sustancialmente libre de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa. Preferiblemente, está presente menos de aproximadamente el 8% en peso de la forma amorfa, más preferiblemente, está presente menos de aproximadamente el 5% en peso de la forma amorfa, y todavía más preferiblemente, está presente menos de aproximadamente el 3% en peso de la forma amorfa.

El término "cristalino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos en estado sólido que tienen una disposición tridimensional interna periódica y repetitiva de átomos, iones o moléculas característica de los cristales. El término cristalino no significa necesariamente que el compuesto tenga el aspecto visual de los cristales a simple vista, sino que tiene esta disposición estructural interna similar a un cristal. El término "amorfo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que carecen de una estructura cristalina: sin patrón repetitivo, solo orden de corto alcance, muy desordenado.

La O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina puede prepararse usando los siguientes disolventes: dietil éter (también denominado etil éter) o acetato de etilo, y preferiblemente usando dietil éter. En una determinada realización de la invención, la cantidad de dietil éter residual presente después de la cristalización es inferior a aproximadamente el 6% en peso, preferiblemente inferior a aproximadamente el 4% en peso, y más preferiblemente inferior a aproximadamente el 2% en peso. Para reducir la cantidad de dietil éter residual con el compuesto cristalino y evitar la fusión del sólido, el sólido puede secarse a vacío a una temperatura entre aproximadamente 35°C y aproximadamente 60°C, preferiblemente entre aproximadamente 40°C y aproximadamente 55°C, y más preferiblemente entre aproximadamente 40°C y aproximadamente 50°C, y lo más preferiblemente a aproximadamente 45°C, durante un periodo de al menos aproximadamente 50 horas, preferiblemente, al menos aproximadamente 100 horas, y más preferiblemente durante al menos aproximadamente 130 horas. En una determinada realización, se prepara O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina usando cristalización con dietil éter y el sólido resultante se seca a vacío a aproximadamente 45°C durante aproximadamente 133 horas para eliminar el éter residual. Preferiblemente, se necesita poca manipulación del sólido para ayudar en el secado.

La O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina puede usarse para tratar, prevenir o mejorar de otra manera los estados relacionados con la actividad del OT-R.

Los estados relacionados con la actividad del OT-R incluyen parto prematuro, nacimiento prematuro, dismenorrea, eyaculación precoz, disfunción sexual, endometriosis, fallo de implantación de embriones debido a contracciones uterinas, infertilidad, hiperplasia prostática benigna, trastornos neuropsiquiátricos, autismo, trastornos del comportamiento social, estrés psicosocial y trastornos cardiovasculares.

El término "parto prematuro", que se refiere también a parto antes de término, significará la expulsión del útero de un bebé viable antes del final normal de la gestación, o más particularmente, el comienzo del parto con borramiento y dilatación del cuello uterino antes de la semana 37 de gestación. Puede o no estar asociado con sangrado vaginal o rotura de las membranas.

El término "dismenorrea" se refiere a un estado caracterizado por dolor cíclico asociado con la menstruación durante los ciclos ovulatorios. Se cree que el dolor es el resultado de las contracciones uterinas y la isquemia.

El término "disfunción sexual" se refiere a cualquier alteración o variación en las cuatro fases: fase de excitación, fase de meseta, fase orgásmica y fase de resolución que caracterizan la respuesta sexual humana.

El término "trastornos neuropsiquiátricos" tal como se usa en el presente documento se refiere a trastornos mentales que pueden atribuirse a enfermedades del sistema nervioso, por ejemplo, depresión, trastorno obsesivo compulsivo y otros.

El término "trastornos del comportamiento social" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una alteración emocional, tipos inapropiados de comportamiento o sentimientos, estado de ánimo generalizado de infelicidad o depresión y una variedad de dificultades percibidas para construir o mantener relaciones interpersonales satisfactorias.

El término "estrés psicosocial" tal como se usa en el presente documento, se refiere a un estado resultante de una amenaza percibida al estado social, la estima social, la autoestima, el respeto o la aceptación dentro de un grupo, y que conducen al desarrollo de una respuesta de estrés en el cuerpo y síntomas físicos.

En cuanto a su uso en la implantación de embriones, la infertilidad, que afecta a aproximadamente el 10% de las parejas humanas en todo el mundo, puede tratarse mediante fecundación *in vitro* y transferencia de embriones (FIV-

TE) o, en casos menos complicados, mediante inseminación artificial. En general, el éxito de una transferencia de embriones depende de la receptividad uterina, una entidad que se define como la capacidad del útero para proporcionar condiciones óptimas que requieran una implantación y un desarrollo embrionarios adecuados. Los componentes básicos de la receptividad uterina son la actividad contráctil uterina y el estado del endometrio. Las contracciones uterinas que se producen durante la transferencia de embriones pueden expulsar a los embriones del útero hacia la vagina o los oviductos, lo que puede ser una causa de un tratamiento fallido o, en último caso, una causa del embarazo extrauterino, una complicación grave y potencialmente mortal. Por tanto, el compuesto cristalino puede usarse para ayudar a la reproducción, y más particularmente para su uso al reducir el fallo de implantación de embriones debido a contracciones uterinas.

Los métodos generales para analizar formas cristalinas incluyen el análisis de cristales por difracción de rayos X de polvo (XRPD), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA).

El análisis de XRPD tal como se da a conocer en el presente documento se recogió en un difractómetro Inel XRG-3000 o un difractómetro PANalytical X'Pert PRO MPD.

El difractómetro Inel XRG-3000 estaba equipado con un detector curvo sensible a la posición con un intervalo 2θ de 120° . Los datos en tiempo real se recogieron usando radiación de $\text{Cu K}\alpha$ comenzando a aproximadamente $4^\circ 2\theta$ a una resolución de $0,03^\circ 2\theta$. El voltaje del tubo y el amperaje se ajustaron a 40 kV y 30 mA, respectivamente. Las muestras se prepararon para el análisis empaquetándolas en capilares de vidrio de paredes delgadas. Cada capilar se montó en un cabezal de goniómetro que está motorizado para permitir el giro del capilar durante la adquisición de datos. La calibración del instrumento se realizó diariamente usando un patrón de referencia de silicio. Esta máquina se usó para recoger el patrón de XRPD que se muestra como la línea superior en la figura 2, es decir, para el compuesto cristalino elaborado por cristalización de acetato de etilo.

El difractómetro PANalytical X'Pert PRO MPD se usó con un haz incidente de radiación de $\text{Cu K}\alpha$ producida usando una fuente larga de foco fino y un filtro de níquel, o con un haz incidente de radiación de Cu producida usando una fuente Optix larga de foco fino.

En el primer caso de usar un haz incidente de radiación de $\text{Cu K}\alpha$ producida usando una fuente larga de foco fino y un filtro de níquel, el difractómetro se configuró usando la geometría simétrica de Bragg-Brentano. Antes del análisis, se analizó una muestra de silicio (NIST SRM 640d) para verificar que la posición observada del pico de Si 111 sea coherente con la posición certificada por el NIST. Se preparó un espécimen de la muestra como una capa delgada y circular centrada en un sustrato de fondo cero de silicio o se empaquetó en un soporte de relleno. Se usaron rendijas antidifusoras (SS) para minimizar el fondo generado por el aire. Se usaron rendijas Soller para los haces incidentes y difractados para minimizar la ampliación de la divergencia axial. Los patrones de difracción se recogieron usando un detector sensible a la posición de exploración (X'Celerator) ubicado a 240 mm de la muestra y el software Data Collector v. 2.2b. Los parámetros de adquisición de datos para cada patrón se presentaron encima de la imagen en la sección Datos, incluyendo la rejilla de divergencia (DS) y el haz incidente (SS). Esta máquina se usó para recoger el patrón de XRPD mostrado como la línea inferior en la figura 2, es decir, para el compuesto cristalino elaborado por cristalización con dietil éter a pequeña escala, secado a vacío a temperatura ambiental durante 20 horas y secado a vacío adicional a 45°C durante 65 horas.

En el último caso de usar un haz incidente de radiación de Cu producida usando una fuente Optix larga de foco fino, se usó un espejo multicapa graduado elípticamente para enfocar rayos X de $\text{Cu K}\alpha$ a través del espécimen y en el detector. Antes del análisis, se analizó un espécimen de silicio (NIST SRM 640d) para verificar que la posición observada del pico de Si 111 sea coherente con la posición certificada por el NIST. Un espécimen de la muestra se intercaló entre películas de $3\text{ }\mu\text{m}$ de espesor y se analizó en geometría de transmisión. Se usó un tope de haz, una extensión corta autodifusora, un filo de cuchilla antidifusora, para minimizar el fondo generado por el aire. Se usaron rendijas Soller para los haces incidentes y difractados para minimizar la ampliación de la divergencia axial. Los patrones de difracción se recogieron usando un detector sensible a la posición de exploración (X'Celerator) ubicado a 240 mm del espécimen y el software Data Collector v. 2.2b. Los parámetros de adquisición de datos para cada patrón se presentaron encima de la imagen en la sección Datos, incluyendo la rejilla de divergencia (DS) delante del espejo. Esta máquina se usó para recoger los patrones de XRPD mostrados en las figuras 1, 3, 4, 5 y la línea intermedia en la figura 2.

En ciertas realizaciones, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina tiene un patrón de XRPD sustancialmente tal como se ilustra en la figura 1 después de la cristalización. En otra realización, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina tiene un patrón de XRPD sustancialmente tal como se ilustra en la figura 3.

El término "patrón de XRPD" tal como se usa en el presente documento, se refiere a la representación gráfica de los datos recogidos mediante análisis de XRPD. El análisis de XRPD es una técnica usada para caracterizar la estructura cristalográfica, el tamaño y la orientación preferida en muestras sólidas policristalinas o en polvo. Esta difracción también se usa para caracterizar mezclas sólidas heterogéneas para determinar el porcentaje de

compuestos cristalinos presentes y puede proporcionar información estructural sobre materiales desconocidos.

Los términos “sustancialmente” y “aproximadamente” tal como se usan en el presente documento en referencia a un patrón de XRPD se refieren al patrón de XRPD en el que un(os) pico(s) enumerado(s) aparece(n) dentro de 0,2

“Después de la cristalización” significa después de la preparación del sólido y el secado a temperatura ambiental hasta aproximadamente 45°C. Por ejemplo, tal como se muestra en la figura 2, los patrones de XRPD son los mismos para una muestra secada a temperatura ambiental durante aproximadamente 20 horas y una muestra adicionalmente secada a vacío a aproximadamente 45°C durante aproximadamente 65 horas. Por tanto, el secado a vacío a aproximadamente 45°C durante aproximadamente 65 horas no cambia la forma sólida de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina.

La invención se refiere a O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y tiene picos característicos a los grados de ángulo de difracción 2-theta que aparecen al menos a aproximadamente 7,05, aproximadamente 13,13 y aproximadamente 23,34, tal como se mide mediante XRPD. En una realización más preferida, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina tiene picos característicos a los grados de ángulo de difracción 2-theta que aparecen al menos a aproximadamente 7,05, aproximadamente 13,13, aproximadamente 16,54, aproximadamente 21,84 y aproximadamente 23,34, tal como se mide mediante XRPD, y todavía más preferibles, picos característicos a los grados de ángulo de difracción 2-theta que aparecen a al menos aproximadamente 7,05, aproximadamente 12,25, aproximadamente 13,13, aproximadamente 16,54, aproximadamente 18,00, aproximadamente 21,84 y aproximadamente 23,34, tal como se mide mediante XRPD.

El término “pico característico” tal como se usa en el presente documento, se refiere a un pico en el patrón de XRPD que tiene una intensidad de al menos el 20%, preferiblemente el 30% mayor que el ruido de referencia.

En otra realización, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina tiene picos tal como se expone en la tabla 1, tal como se mide mediante XRPD, y tal como se muestra, por ejemplo, en la figura 3.

Tabla 1: Picos observados mediante análisis de XRPD.

° 2θ	espacio d (Å)	Intensidad (%)
7,05 ± 0,20	12,520 ± 0,354	45
12,25 ± 0,20	7,218 ± 0,117	36
13,13 ± 0,20	6,739 ± 0,102	55
14,16 ± 0,20	6,250 ± 0,088	8
16,54 ± 0,20	5,356 ± 0,064	38
18,00 ± 0,20	4,923 ± 0,054	36
18,77 ± 0,20	4,723 ± 0,050	34
21,32 ± 0,20	4,165 ± 0,039	5
21,84 ± 0,20	4,066 ± 0,037	36
23,34 ± 0,20	3,808 ± 0,032	100
24,08 ± 0,20	3,693 ± 0,030	14
24,67 ± 0,20	3,605 ± 0,029	1
25,45 ± 0,20	3,497 ± 0,027	27
25,69 ± 0,20	3,465 ± 0,027	8
26,45 ± 0,20	3,367 ± 0,025	10
27,09 ± 0,20	3,289 ± 0,024	2
28,05 ± 0,20	3,179 ± 0,022	14
28,56 ± 0,20	3,123 ± 0,021	3
29,26 ± 0,20	3,050 ± 0,020	16
30,72 ± 0,20	2,908 ± 0,018	2
31,00 ± 0,20	2,882 ± 0,018	3
31,19 ± 0,20	2,865 ± 0,018	5

33,19 ± 0,20	2,697 ± 0,016	2
33,60 ± 0,20	2,665 ± 0,015	6
34,36 ± 0,20	2,608 ± 0,015	4
34,75 ± 0,20	2,580 ± 0,014	2
35,91 ± 0,20	2,499 ± 0,013	2
36,52 ± 0,20	2,458 ± 0,013	3
37,38 ± 0,20	2,404 ± 0,012	2
37,70 ± 0,20	2,384 ± 0,012	1
38,73 ± 0,20	2,323 ± 0,012	3
39,11 ± 0,20	2,301 ± 0,011	2
39,80 ± 0,20	2,263 ± 0,011	4

Los análisis de TGA y DSC se usan para medir el comportamiento térmico y pueden usarse para distinguir polimorfos. Una forma polimórfica puede presentar un comportamiento térmico diferente de aquel del material amorfo u otra forma polimórfica.

DSC es una técnica termoanalítica en la que la diferencia en la cantidad de calor requerido para aumentar la temperatura de una muestra y la referencia se mide en función de la temperatura. Puede usarse DSC para medir varias propiedades características de una muestra, lo que permite la observación de eventos de cristalización. Específicamente, con DSC, es posible observar pequeños cambios de energía que se producen cuando la materia pasa de un cristal sólido a un cristal líquido y de un cristal líquido a un líquido isotrópico. La presencia de eventos en la curva de DSC puede usarse para evaluar la estabilidad del compuesto, así como la presencia de solvatos o hidratos.

El análisis de DSC tal como se da a conocer en el presente documento se recogió en un calorímetro diferencial de barrido 2920 de TA Instruments. Se calibró la energía y temperatura del instrumento usando indio. La muestra se colocó en una bandeja para DSC de aluminio convencional con una configuración de tapa no ondulada, y el peso se registró con precisión. La celda de muestra se equilibró a 25°C y se calentó bajo una purga de nitrógeno a una velocidad de 10°C/min, hasta una temperatura final de 350°C. Las muestras preparadas para la determinación de la transición vítrea se calentaron a 20°C/min en un experimento de ciclado. Los experimentos de ciclado consistieron en calentar el material hasta 120°C o bien 145°C, enfriarlo hasta 10°C, calentarlo nuevamente hasta la temperatura, enfriarlo hasta 10°C y luego calentarlo hasta una temperatura final de 350°C.

Se usa TGA para determinar cambios en el peso en relación con el cambio en la temperatura, lo que puede revelar la degradación del compuesto y la presencia de solvatos o hidratos. El análisis TGA como se da a conocer en el presente documento se recogió en un analizador termogravimétrico TA Instruments 2050. La temperatura se calibró con Alumel™ y níquel. Cada muestra se colocó en una bandeja de platino y se insertó en el horno TG. El horno se calentó bajo una purga de nitrógeno. Los parámetros de adquisición de datos se muestran para cada termograma. La muestra que tenía la curva de TGA mostrada en la figura 8 se calentó desde temperatura ambiental hasta 350°C, a 10°C/min. La muestra que tenía la curva de TGA mostrada en la figura 9 se equilibró en primer lugar a 25°C, luego se calentó hasta 350°C, a 10°C/min.

En una determinada realización, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina presenta una curva de DSC sustancialmente tal como se ilustra en la figura 6 o la figura 7. En otra realización, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina presenta una curva de DSC con una endoterma con una señal máxima de aproximadamente 70°C a aproximadamente 77°C, un cambio del nivel inicial a de aproximadamente 122°C a aproximadamente 130°C y una gran exoterma con una señal máxima de aproximadamente 230°C a 235°C, lo que probablemente se deba a la descomposición. La O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada usando acetato de etilo puede presentar una curva de DSC con una endoterma pequeña y amplia con una señal máxima entre aproximadamente 71°C y aproximadamente 72°C, preferiblemente a aproximadamente 71,67°C, un cambio del nivel inicial entre aproximadamente 126°C y aproximadamente 127°C, preferiblemente de aproximadamente 127,46°C, y una gran exoterma con una señal máxima entre aproximadamente 231°C y aproximadamente 232°C, preferiblemente a aproximadamente 231,50°C. La O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina preparada usando dietil éter puede presentar una curva de DSC con una endoterma con una señal máxima a aproximadamente 76°C, un cambio del nivel inicial a aproximadamente 124°C y una gran exoterma con una señal máxima de aproximadamente 233°C.

El término "sustancialmente" tal como se usa en el presente documento en referencia a la curva de DSC, significa que la curva de DSC demuestra un(os) pico(s) dentro de 1°C, incluyendo dentro de 0,5°C de una temperatura dada.

En una determinada realización, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina presenta una curva de TGA sustancialmente tal como se ilustra en la figura 8 o la figura 9. Preferiblemente, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina analizada por TGA presenta una pérdida de peso de aproximadamente el 2% a aproximadamente el 7%, desde aproximadamente 25°C hasta aproximadamente 200°C, y, más preferiblemente, una pérdida de peso de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 6%, desde aproximadamente 25°C hasta aproximadamente 200°C. En una determinada realización, después de la cristalización usando dietil éter, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina analizada por TGA presenta una pérdida de peso de aproximadamente el 4,5% a aproximadamente el 5,8%, más preferiblemente de aproximadamente el 5,1% a aproximadamente el 5,6%, desde aproximadamente 25°C hasta aproximadamente 200°C.

El término "sustancialmente" tal como se usa en el presente documento en referencia a la curva de TGA, significa que la curva muestra un porcentaje de pérdida de peso dentro del 1%, incluyendo dentro del 0,5% de un valor dado en relación con el cambio de temperatura.

En otra realización, la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina formulada en una comprimido o una cápsula es estable durante el almacenamiento durante al menos 6 meses a aproximadamente 25°C y aproximadamente el 60% de humedad relativa, preferiblemente, durante al menos 12 meses a aproximadamente 25°C y aproximadamente el 60% de humedad relativa, y más preferiblemente durante al menos 12 meses a de aproximadamente 2°C a aproximadamente 8°C y humedad ambiental. Tal como se usa en el presente documento, la estabilidad durante el almacenamiento significa que al menos el 95% del compuesto cristalino no cambia desde el inicio del periodo de almacenamiento, preferiblemente al menos el 96% del compuesto cristalino no cambia desde el inicio del periodo de almacenamiento, lo más preferiblemente al menos el 97% del compuesto cristalino no cambia desde el inicio del periodo de almacenamiento.

El término "estable" y "estabilidad" tal como se usa en el presente documento se refiere tanto a la forma física como a la pureza química del compuesto cristalino. "El compuesto cristalino" tal como se usa en el presente documento se refiere a la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina dada a conocer de la presente invención. La estabilidad física puede medirse mediante XPRD.

Condiciones ambientales, tal como se usa en el presente documento, significa una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 25°C y una humedad relativa (HR) de aproximadamente el 40%.

Composiciones farmacéuticas

Una realización de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica de la presente invención comprende una cantidad eficaz del compuesto cristalino, un excipiente farmacéuticamente aceptable, y, en algunas realizaciones, también puede contener uno o más principios activos adicionales. El contenido de compuesto cristalino en la composición farmacéutica de la presente invención varía dependiendo del sujeto de administración, la vía de administración y la enfermedad objetivo, entre otras variables. La composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse por vía oral, tópica (por ejemplo, transdérmica, etc.), vaginal, rectal o parenteral (por ejemplo, intravenosa, etc.). En una realización, la composición farmacéutica se administra por vía oral.

Los ejemplos de administración tópica de la composición farmacéutica incluyen aplicación transdérmica, bucal o sublingual. Para aplicaciones tópicas, la composición farmacéutica puede mezclarse adecuadamente en un portador tópico farmacológicamente inerte, tal como un gel, una pomada, una loción o una crema. Tales portadores tópicos farmacológicamente inertes incluyen agua, glicerol, alcohol, propilenglicol, alcoholes grasos, triglicéridos, ésteres de ácidos grasos o aceites minerales. Otros posibles portadores tópicos farmacológicamente inertes son vaselina líquida, palmitato de isopropilo, polietilenglicol, etanol al 95%, monolaurato de polioxietileno al 5% en agua, lauril sulfato de sodio al 5% en agua y similares. Además, también pueden añadirse materiales tales como antioxidantes, humectantes, estabilizadores de viscosidad y similares.

Para la administración oral, el compuesto cristalino puede administrarse como una cápsula, comprimido o gránulo. Los comprimidos pueden contener diversos excipientes tales como celulosa microcristalina, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de dicalcio y glicina, junto con diversos disgregantes tales como almidón (y preferiblemente almidón de maíz, patata o tapioca), ácido algínico y determinados silicatos complejos, junto con aglutinantes de granulación como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábiga. En una determinada realización, el comprimido puede estar recubierto con película. Además, los agentes lubricantes tales como el estearato de magnesio, el lauril sulfato de sodio y el talco a menudo son muy útiles para los comprimidos. También pueden emplearse otras composiciones sólidas como cargas en cápsulas de gelatina; los materiales preferidos a este respecto también incluyen lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones y/o elixires acuosos para administración oral, el compuesto cristalino puede

combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, colorantes o tintes y, si así se desea, agentes emulsionantes y/o de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones similares de los mismos. La composición farmacéutica puede formularse de modo que el compuesto cristalino se libere durante un periodo de tiempo después de la administración.

5 La composición farmacéutica que comprende el compuesto cristalino junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, un principio activo adicional, puede prepararse mediante cualquier técnica convencional conocida en la técnica.

10 En una realización, la cantidad de compuesto cristalino presente en la composición farmacéutica es de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 90% en peso con respecto a toda la composición. Una cantidad terapéuticamente eficaz adecuada del compuesto cristalino oscilará normalmente entre aproximadamente 0,01 mg/kg y aproximadamente 1 g/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 600 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 10 mg/kg y aproximadamente 400 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 10 mg/kg y aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 10 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día; en una realización, entre aproximadamente 10 mg/kg y aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 0,001 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día; en otra realización, entre aproximadamente 0,001 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día; y en otra realización, entre aproximadamente 0,001 mg/kg y aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal por día. En una determinada realización, cuando una composición farmacéutica descrita en el presente documento se administra por vía oral, una cantidad terapéuticamente eficaz adecuada del compuesto cristalino es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 miligramos por kilogramo peso corporal del receptor por día, y más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día. La dosis deseada puede administrarse una vez al día, o mediante varias dosis subdivididas, por ejemplo, de 2 a 5 dosis subdivididas, a intervalos apropiados durante el día u otro programa apropiado.

El término “excipiente farmacéuticamente aceptable” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, uno o más de los siguientes: polímeros, resinas, plastificantes, cargas, lubricantes, diluyentes, aglutinantes, disgregantes, disolventes, codisolventes, tensioactivos, sistemas de tampón, conservantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes o pigmentos de calidad farmacéutica, agentes quelantes, agentes de viscosidad y combinaciones de los mismos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden usarse en cualquier componente para elaborar la forma de dosificación, es decir, comprimido o recubrimiento de núcleo. Los agentes aromatizantes y colorantes y pigmentos entre los útiles en el presente documento incluyen, pero no se limitan a los descritos en el Handbook of Pharmaceutical Excipients (4ª ed., Pharmaceutical Press 2003). Los codisolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, etanol, isopropanol, acetona y combinaciones de los mismos. Los tensioactivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ésteres de ácido graso de polioxietilensorbitano, monoalquil éteres de polioxietileno, monoésteres de sacarosa, emulsión de simeticona, lauril sulfato de sodio, Tween 80® y ésteres de lanolina, éteres y combinaciones de los mismos. Los conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, fenol, ésteres alquílicos de ácido parahidroxibenzoico, ácido benzoico y las sales del mismo, ácido bórico y las sales del mismo, ácido sórbico y las sales del mismo, clorobutanol, alcohol bencílico, timerosal, acetato y nitrato fenilmercúrico, nitromersol, cloruro de benzalconio, cloruro de cetilpiridinio, metilparabeno, propilparabeno y combinaciones de los mismos. Las cargas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, almidón, lactosa, sacarosa, maltodextrina y celulosa microcristalina. Los plastificantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, citrato de trietilo, polietilenglicol, propilenglicol, ftalato de dibutilo, aceite de ricino, monoglicéridos acetilados, triacetina y combinaciones de los mismos. Los polímeros adecuados incluyen, pero no se limitan a, etilcelulosa, trimelitato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa, poli(ftalato de acetato de vinilo) y Eudragit® L 30-D, Eudragit® L 100-55, Eudragit® F530D y Eudragit® S 100 (Rohm Pharma GmbH y Co. KG, Darmstadt, Alemania), Acryl-EZE® y Sureteric® (Colorcon, Inc., West Point, Pa.), y combinaciones de los mismos. Los lubricantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco y combinaciones de los mismos.

El término “principio activo adicional” tal como se usa en el presente documento incluye cualquier agente conocido en la técnica para tratar, prevenir o reducir los síntomas del estado que está siendo tratado por la composición farmacéutica. Un agente de este tipo incluye, pero no se limita a, un agente conocido para tratar, prevenir o reducir las contracciones uterinas o el parto prematuro, tal como un bloqueante de los canales de calcio, sulfato de magnesio, un modulador selectivo de prostaglandinas, un agonista beta-2-adrenérgico, un agonista de receptor beta-3-adrenérgico, un corticosteroide y una mezcla de los mismos.

Alternativamente, el compuesto cristalino puede administrarse de manera concomitante o por separado con al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en un bloqueante de los canales de calcio (tal como nifedipina), sulfato de magnesio, un modulador de los receptores de prostaglandinas (tal como un agonista o

antagonista de EP1 o EP2 o EP3 o EP4 o receptor de FP), un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (tal como indometacina, nimesulida, sulindaco, rofecoxib, celecoxib), un agonista beta-2-adrenérgico (tal como ritodrina, terbutalina, salbutamol), un agonista del receptor beta-3-adrenérgico, un donante de ácido nítrico (tal como trinitrato de glicerilo), un corticosteroide (tal como dexametasona, betametasona) y una mezcla de los mismos. Tal como se usa en el presente documento, “de manera concomitante” se refiere a la administración del compuesto cristalino precedido o seguido inmediatamente por la administración de al menos un compuesto. Tal como se usa en el presente documento, “por separado” abarca la administración secuencial o posterior y se refiere a la administración del compuesto cristalino, seguido de un periodo de tiempo de interrupción, que luego es seguido por la administración de al menos un compuesto.

La composición farmacéutica puede usarse para tratar un estado relacionado con la actividad del OT-R. Una determinada realización se refiere a una composición farmacéutica que comprende O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y un excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento del parto prematuro.

Métodos de uso

Una realización de la invención se refiere a un método para tratar un estado relacionado con la actividad del OT-R que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. En una realización, la invención se refiere a un método de tratamiento del parto prematuro.

El término “tratar” tal como se usa en el presente documento incluye el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un estado relacionado con la actividad del OT-R. El tratamiento incluye la disminución o alivio de al menos un síntoma asociado con el estado relacionado con la actividad del OT-R o al menos un síntoma asociado con otro estado descrito en el presente documento.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” tal como se usa en el presente documento significa una cantidad de un compuesto o composición lo suficientemente alta como para modificar significativamente de manera positiva los síntomas y/o el estado a tratar, pero lo suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves (con una relación riesgo/beneficio razonable), dentro del alcance del buen juicio médico. La cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto cristalino se selecciona según una variedad de factores que incluyen tipo, especie, edad, peso, sexo y estado médico del paciente; la gravedad del estado que va a tratarse; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente. Un médico de capacidad ordinaria en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz del medicamento requerida para prevenir, contrarrestar o detener la evolución del estado.

El término “sujeto” tal como se usa en el presente documento es un animal. El “sujeto” incluye, sin limitación, un ser humano, ratón, rata, conejillo de indias, perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, chimpancé, babuino o macaco de la India. En una realización, el “sujeto” es un mamífero. En otra realización, el “sujeto” es un ser humano, preferiblemente una mujer, y más preferiblemente, una mujer en edad de procrear.

En una realización, la cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto cristalino se administra en una dosis única, y esa dosis única está entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 1000 mg, preferiblemente entre aproximadamente 50 mg y aproximadamente 900 mg, y más preferiblemente entre aproximadamente 100 mg y alrededor de 600 mg. El compuesto cristalino puede administrarse al menos una vez por semana, quincenalmente, diariamente o varias veces al día. Puede administrarse en una dosis única, o la dosis total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

En una realización, se administra O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina, por vía oral, tópica, vaginal, rectal o parenteral, preferiblemente, puede administrarse por vía intravenosa u oral, y más preferiblemente, puede administrarse por vía oral.

Con respecto al tratamiento del parto prematuro, el compuesto cristalino puede disminuir rápidamente la frecuencia y detener las contracciones uterinas en aproximadamente de 2 a aproximadamente 30 minutos después de su administración, y preferiblemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 minutos después de su administración.

Otra realización de la invención se refiere a un método para aumentar la tasa de implantación de embriones en un mamífero hembra sometida a transferencia de embriones que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. En una realización preferida del mismo, el mamífero es un ser humano y, más preferiblemente, una mujer en edad de procrear.

La “tasa de implantación de embriones” se relaciona con el número de embriones que se adhieren al endometrio del mamífero después de la fecundación generada usando tecnología de reproducción asistida (TRA). Una alta tasa de implantación de embriones se refiere a un alto potencial de que el embrión, cuando se transfiere al útero, se

implante en el entorno uterino y dé lugar a un feto viable.

Se entiende que la transferencia de embriones está relacionada con TRA. Es una técnica de reproducción en la que los embriones se generan en un laboratorio mediante fecundación usando óvulos de una hembra receptora o una hembra donante diferente y luego se transfieren al útero de un mamífero hembra receptora.

Las definiciones y realizaciones preferidas dadas a conocer anteriormente con respecto a las otras realizaciones son las mismas para esta realización.

Una realización adicional de la invención se refiere a un método para preparar un compuesto cristalino de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, que comprende i) disolver una forma Z sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona con un disolvente seleccionado del grupo que consiste en acetato de etilo y dietil éter ii) permitir que se formen los cristales, iii) eliminar el disolvente y concentrar la disolución hasta sequedad para proporcionar los cristales formados.

Cuando la forma Z sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se pone en contacto con acetato de etilo, dicha suspensión se trata por ultrasonidos en un baño a temperatura ambiental durante aproximadamente 60 minutos para proporcionar una disolución transparente que se trata adicionalmente por ultrasonidos y se enfría a lo largo de aproximadamente 10 minutos, ii) se permite que se formen los cristales durante aproximadamente 4 días a una temperatura entre -15°C y -25°C y iii) se elimina entonces el disolvente acetato de etilo mediante decantación, se lava el sólido con hexano y se seca bajo flujo de nitrógeno durante aproximadamente 30 minutos.

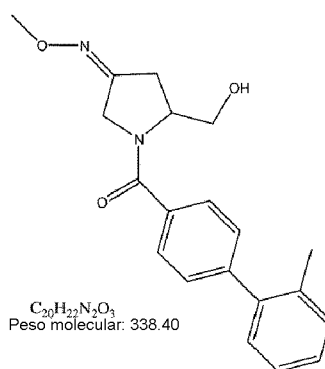
Cuando la forma Z sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se pone en contacto con dietil éter, el sólido se disuelve entonces mediante agitación y la disolución transparente se deja en reposo a 18-23°C, ii) se permite que se formen los cristales aproximadamente 20 horas a aproximadamente 18-23°C y iii) se aíslan los cristales mediante filtración y se secan bajo nitrógeno para eliminar el disolvente dietil éter durante aproximadamente 4 horas a aproximadamente 18-23°C.

Los siguientes ejemplos ilustrarán la práctica de la presente invención en algunas de las realizaciones preferidas. Otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones serán evidentes para un experto en la técnica.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la síntesis de los compuestos descritos en el presente documento.

Síntesis y purificación de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona (forma amorfa).



La síntesis y purificación de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se explica en la solicitud europea n.º 13183723.9, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

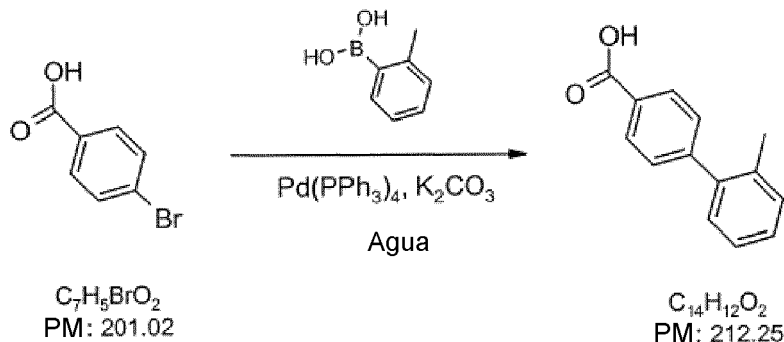
1.1 Síntesis de O-metiloxima de (3Z/E, 5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

Se obtiene O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona como mezcla isomérica en bruto que comprende O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona. Rutas sintéticas de compuestos de la invención son, por ejemplo, las descritas en los documentos WO 2004/005249 y WO 2005/082848.

"O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona" también se define como "O-metiloxima de (4Z,2S)-2-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il-carbonil)]pirrolidin-4-ona" según la nomenclatura usada.

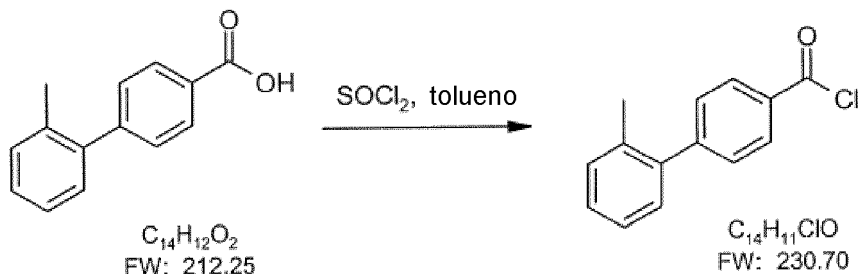
- 5 Por ejemplo, el compuesto de la invención O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona también puede prepararse siguiendo las etapas 1 a 7 descritas a continuación:

Etapla 1: preparación de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico



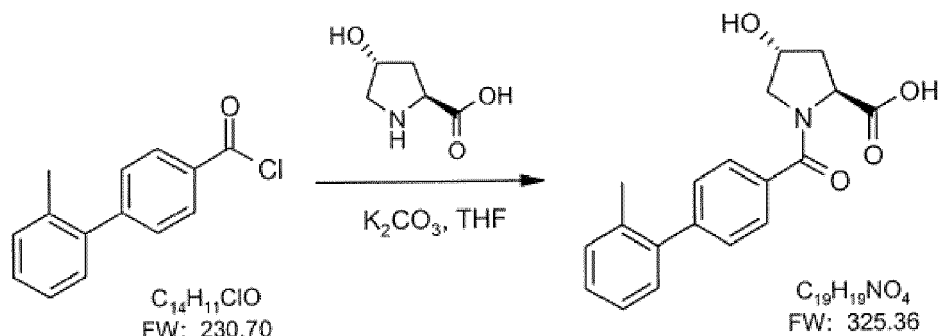
Se cargó una disolución de carbonato de potasio (0,908 kg, 6,57 mol, 2,06 peso) en agua (2,20 l, 5,0 vol.) a una suspensión de ácido 4-bromobenzoico (0,441 kg, 2,19 mol, 1,0 peso) en agua (4,41 l, 15,0 vol.) a de 15 a 25°C. Se agitó la suspensión resultante a de 15 a 25°C y se desgasificó tres veces usando un ciclo de purga con nitrógeno a vacío. Se cargó tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,022 kg, 0,019 mol, 0,05 peso) se repitió el ciclo de purga con nitrógeno a vacío. Se desgasificó tres veces una disolución de ácido otolilborónico (0,313 kg, 2,30 mol, 0,707 peso) en metanol (3,53 l, 8,0 vol.), usando un ciclo de purga con nitrógeno a vacío, y luego se cargó a la suspensión de ácido 4-bromobenzoico a de 15 a 25°C. Se calentó la mezcla de reacción hasta y se mantuvo a reflujo (de 71 a 78°C) hasta finalización de la reacción (la reacción se considera completa al 95% de conversión), tal como se determina mediante análisis de ^1H RMN (d_6 -DMSO), normalmente de 1,5 a 2,5 horas. Se concentró la mezcla de reacción hasta 15 vol. a vacío a de 40 a 45°C. Se añadieron tolueno (4,41 l, 10,0 vol.) y tetrahidrofurano (4,41 l, 10,0 vol.) al residuo, se agitó la mezcla resultante vigorosamente y se acidificó hasta pH 1 con ácido clorhídrico (6 M, 2,00 l, 4,5 vol.). Se agitó el contenido vigorosamente durante de 30 a 60 minutos y se separaron las fases. Se añadieron tolueno (2,20 l, 5,0 vol.) y tetrahidrofurano (2,20 l, 5,0 vol.) a la fase acuosa y se agitó la mezcla durante de 5 a 10 minutos. Se separaron las fases, se filtraron las fases orgánicas combinadas y se concentraron hasta 10,0 vol. a vacío a de 35 a 40°C. Se añadió tolueno (4,41 l, 10,0 vol.) al residuo y el resultante se concentró a vacío a de 35 a 40°C. Se determinó el contenido de tetrahidrofurano de la suspensión resultante mediante análisis de ^1H RMN (d_6 -DMSO) (nivel de aprobación: $\leq 1,0\%$ p/p de tetrahidrofurano con respecto a tolueno). Se enfrió la suspensión hasta y se envejeció a de 0 a 5°C durante de 30 a 60 minutos, se recogió el sólido mediante filtración se lavó la torta de filtro con tolueno (2,20 l, 5,0 vol.). Se secó el sólido en un horno de vacío a de 35 a 40°C para dar ácido 4-(2-metilfenil)benzoico [0,438 kg, 94,1%, 99,3% p/p, ^1H RMN (d_6 -DMSO) acorde con la estructura] como un sólido amarillo claro.

Etapla 2: preparación de cloruro de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico



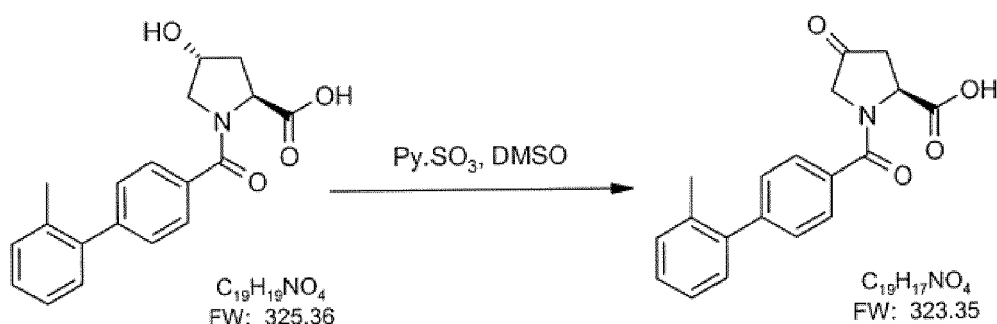
Se añadió cloruro de tionilo (0,300 l, 4,11 mol, 0,685 vol.) a una suspensión de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico (0,435 kg, 2,05 mol, 1,0 peso) en tolueno (4,35 l, 10,0 vol.) a de 10 a 25°C y se calentó la mezcla hasta y se mantuvo a de 75 a 80°C hasta finalización mediante análisis de ^1H RMN (d_6 -benceno), normalmente de 4 a 5 horas. Se acompañó la finalización de la reacción por la formación de una disolución turbia. Se concentró el resultante hasta 5,0 vol. mediante eliminación de tolueno a presión reducida a de 35 a 45°C. Se añadió tolueno (2,18 l, 5,0 vol.) al concentrado y se concentró la mezcla hasta 4,0 vol. mediante eliminación de tolueno a presión reducida a de 35 a 45°C. Se filtró el resultante a través de papel de microfibras de vidrio y se lavó la torta de filtro con tolueno (0,44 l, 1,0 vol.). Se usó la disolución de tolueno de cloruro de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico [0,439 kg, 92,8%, 100,9% p/p, ^1H RMN (d_6 -benceno) acorde con la estructura] directamente en la etapa 3.

Etapa 3: Preparación de (4R)-4-hidroxi-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonil]-L-prolina



Se cargó una disolución de carbonato de potasio (0,526 kg, 3,81 mol, 1,2 peso) en agua (0,57 l, 1,3 vol.) a una disolución de 4-hidroxi-L-prolina (0,274 kg, 2,09 mol, 0,625 peso) en tetrahydrofurano (2,20 l, 5,0 vol.) y agua (0,44 l, 1,0 vol.) a de 15 a 25°C seguido por un aclarado en línea de agua (0,44 l, 1,0 vol.). Se enfrió la mezcla hasta de 0 a 5°C con agitación rápida y se cargó una disolución de cloruro de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico (0,438 kg, 1,90 mol, 1,0 peso) en tolueno (2,19 l, 5,0 vol.) a esa temperatura seguido por un aclarado en línea de tolueno (0,44 l, 1,0 vol.). Se calentó la mezcla de reacción hasta de 15 a 25°C a lo largo de 1 a 2 horas y se agitó a esta temperatura hasta que se consideró completa mediante análisis de CCF. Se cargó agua (2,20 l, 5,0 vol.) a la mezcla de reacción a de 15 a 25°C y se separaron las fases. La fase acuosa se acidificó hasta pH 5 a 6 con ácido clorhídrico ac. (6 M, 0,66 l, 1,5 vol.) y luego hasta pH 1 con ácido clorhídrico ac. (2 M, 0,88 l, 2,0 vol.) a de 15 a 25°C. Se enfrió la mezcla hasta y se envejeció a de 0 a 5°C durante de 30 a 60 minutos, se recogió el sólido precipitado mediante filtración, se lavó la torta de filtro con agua (2x 1,75 l, 2x 4,0 vol.) y tolueno (0,88 l, 2,0 vol.) y se secó en el filtro durante de 12 a 24 horas. Se secó a vacío el sólido recogido a de 40 a 45°C hasta que el contenido de agua mediante KF era de <0,2% p/p para dar (4R)-4-hidroxi-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina [0,599 kg, 97,0%, 136,8% p/p, ^1H RMN (d_6 -DMSO) acorde con la estructura] como un sólido blanquecino.

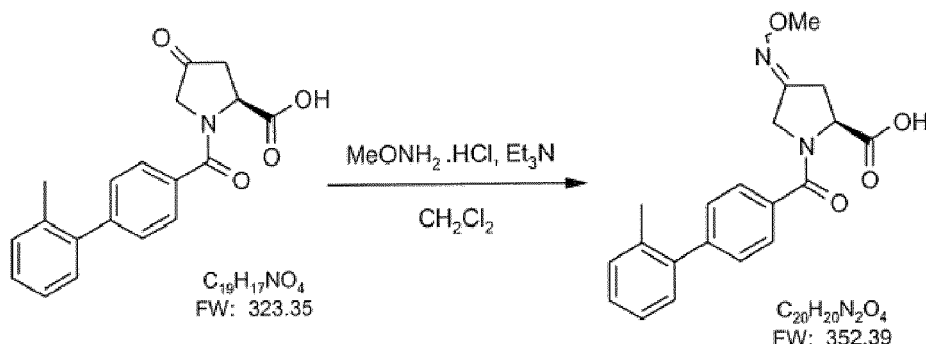
Etapa 4: preparación de 1-(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil-4-oxo-L-prolina



Se cargó trietilamina (1,80 l, 13,56 mol, 3,0 vol.) a una disolución de (4R)-4-hidroxi-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina (0,598 kg, 1,84 mol, 1,0 peso) en dimetilsulfóxido (4,42 l, 7,4 vol.) a de 15 a 20°C. Complejo de trióxido de piridina-azufre (0,879 kg, 5,52 mol, 1,47 peso) se cargó en porciones a 15 y 25°C y se agitó la mezcla de reacción a esa temperatura hasta finalización de la reacción, tal como se determina mediante análisis de CCF (normalmente de 1 a 3 horas). Se extinguió la reacción con ácido clorhídrico ac. (3 M, 4,80 l, 8,0 vol.) a de 0 a 30°C, se cargaron tetrahydrofurano (3,00 l, 5,0 vol.) y heptanos (0,60 l, 1,0 vol.), se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con tetrahydrofurano (2x 3,00 l, 2x 5,0 vol.). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con ácido clorhídrico ac. (1 M, 2x 1,20 l, 2x 2,0 vol.) y disolución de cloruro de sodio saturada (2x 1,20 l, 2x 2,0 vol.), se combinaron los lavados acuosos y volvieron a extraerse con tetrahydrofurano (2x 0,60 l, 2x 1,0 vol.). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio (1,794 kg, 3,0 peso), se filtraron, se lavó la torta de filtro con tetrahydrofurano (0,60 l, 1,0 vol.) y se concentraron los filtrados a vacío a de 40 a 45°C para dar una espuma marrón claro. Se cargó acetato de etilo (6,00 l, 10,0 vol.) a la espuma, se agitó el contenido durante de 5 a 10 minutos para alcanzar la disolución y se eliminó el disolvente a vacío a de 40 a 45°C. Esto se repitió usando acetato de etilo (6,00 l, 5,0 vol.) hasta que no se detectó tetrahydrofurano mediante análisis de ^1H RMN (d_6 -DMSO). Se suspendió el residuo en acetato de etilo (4,80 l, 8,0 vol.), se añadió carbono activo (0,084 kg, 0,14 peso) seguido por un aclarado en línea de acetato de etilo (3,00 l, 5,0 vol.), se calentó el resultante hasta y se mantuvo a de 70 a 80°C durante de 20 a 30 minutos, se enfrió hasta de 40 a 55°C y se filtró a través de papel de microfibras de vidrio. Se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (1,50 l, 2,5 vol.) y se concentraron los filtrados y lavado combinados hasta de 2,5 a 3,5 vol. a vacío a de 40 a 45°C.

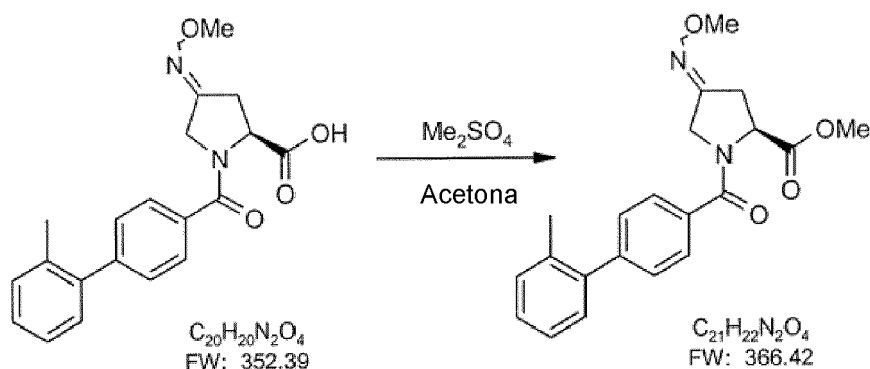
La cristalización comenzó durante la concentración. Se transfirió el concentrado a un recipiente adecuado con un aclarado en línea de acetato de etilo (0,30 l, 0,5 vol.) y se calentó hasta de 70 a 80°C. Se añadió acetato de etilo adicional (0,30 l, 0,5 vol.) según fuera necesario para lograr la disolución. Se añadieron heptanos (1,80 l, 3,0 vol.) a de 70 a 80°C y se permitió que el contenido se enfriara hasta entre 15 y 25°C a lo largo de 1 a 2 horas. La suspensión se enfrió adicionalmente hasta y se envejeció a de 0 a 5°C durante de 2 a 3 horas, se filtró y se lavó la torta de filtro con acetato de etilo:heptanos (1:1, 0,60 l, 1,0 vol.) a de 0 a 5°C seguido por heptanos (3,0 l, 2,5 vol.). Se secó el sólido recogido a vacío a de 40 a 45°C para dar 1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-4-oxo-L-prolina [0,444 kg, 74,7%, 74. 2% p/p, ¹H RMN (d₆-DMSO) acorde con la estructura] como un sólido blanquecino.

Etapas 5: preparación de (4Z/E)-4-metoxiimino-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina



Se añadió trietilamina (0,40 l, 2,85 mol, 0,92 vol.) a una disolución de 1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-4-oxo-L-prolina (0,434 kg, 1,34 mol, 1,0 peso) en diclorometano (4,40 l, 10,0 vol.) a de 10 a 25°C seguido por un aclarado en línea de diclorometano (0,43 l, 1,0 vol.). Se añadió clorhidrato de metoxilamina (0,130 kg, 1,56 mol, 0,30 peso) en porciones a de 10 a 25°C seguido por un aclarado en línea de diclorometano (0,43 l, 1,0 vol.) y se agitó la mezcla de reacción a de 10 a 25°C hasta finalización de la reacción, tal como se determina mediante análisis de CCF (normalmente de 3 a 5 horas, eluyente de CCF: diclorometano:metanol: ácido acético (90:10:1); visualización UV). Se eliminó el disolvente a vacío a de 35 a 40°C, se disolvió el resultante en acetato de etilo (4,40 l, 10,0 vol.) y se lavó con ácido clorhídrico ac. (1 M, 2x 2,20 l, 2x 5,0 vol.). Volvieron a extraerse los lavados ácidos con acetato de etilo (2,20 l, 5,0 vol.), se lavaron las fases orgánicas combinadas con disolución de cloruro de sodio sat. ac. (3,10 l, 7,0 vol.), se secaron sobre sulfato de magnesio (0,300 kg, 0,69 peso), se filtraron y se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (2,20 l, 5,0 vol.). Se combinaron y concentraron el filtrado y lavados a vacío a de 35 a 40°C para dar 4-metoxiimino-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina [0,476 kg, 100,6%, 109,6% p/p, ¹H RMN (CDCl₃) acorde con la estructura] como un sólido blanquecino.

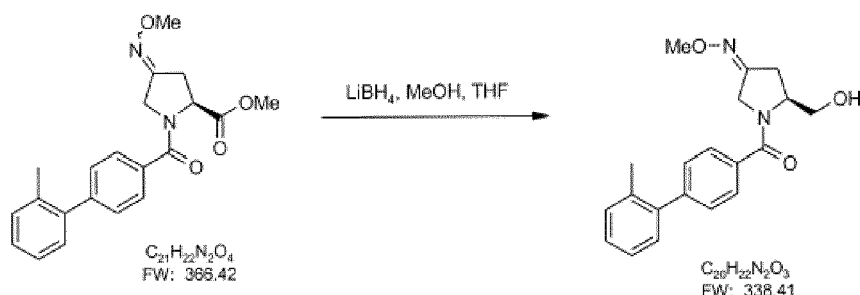
Etapas 6: preparación de pirrolidina-2-carboxilato de (4Z/E,2S)-metil-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonil]-4-metoxiimino



Se añadió carbonato de potasio (0,476 kg, 3,44 mol, 1,0 peso) a una disolución de 4-metoxiimino-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina (0,475 kg, 1,35 mol, 1,0 peso) en acetona (4,75 l, 10,0 vol.) y se enfrió la mezcla hasta de 0 a 10°C. Se añadió sulfato de dimetilo (0,128 l, 1,35 mol, 0,27 vol.) a de 0 a 15°C y se agitó la mezcla a de 15 a 25°C hasta finalización de la reacción, tal como se determina mediante análisis de CCF, normalmente de 3 a 16 horas. Se eliminó el disolvente a vacío a de 40 a 45°C y se repartió el resultante entre acetato de etilo (3,80 l, 8,0 vol.) y agua (3,80 l, 8,0 vol.). Se separaron las fases, se lavó la fase orgánica con disolución de cloruro de sodio sat. ac. (2,85 l, 6,0 vol.), se secaron sobre sulfato de sodio (0,953 kg, 2,0 peso) y se filtraron. Se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (0,48 l, 1,0 vol.) y se concentraron el filtrado y lavado combinados a vacío a de 40 a 45°C. Se eliminó acetato de etilo en exceso mediante destilación azeotrópica con tetrahydrofurano (2x 0,95 l, 2x 2,0 vol.) a vacío a de 40 a 45°C para dar pirrolidina-2-carboxilato de (4Z/E, 2S)-metil-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonil]-4-

metoxiimino [0,492 kg, 99,6%, 103,6% p/p, ^1H RMN (CDCl_3) acorde con la estructura] como un aceite marrón viscoso.

Etapa 7: preparación de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona



Se añadió borohidruro de litio (0,049 kg, 2,26 mol, 0,1 peso) en porciones bajo nitrógeno a una disolución con agitación de pirrolidina-2-carboxilato de (4Z/E, 2S)-metil-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonil]-4-metoxiimino (0,492 kg, 1,34 mol, 1,0 peso) en tetrahydrofurano (2,31 l, 4,7 vol.) y metanol (2,31 l, 4,7 vol.) a de 0 a 30°C. Se agitó la mezcla a de 15 a 25°C hasta finalización de la reacción, tal como se determina mediante análisis de CCF (eluyente: acetato de etilo; visualización: ninhidrina), normalmente de 2 a 6 horas. Se extinguió la mezcla de reacción con agua (0,40 l, 0,8 val) a de 15 a 25°C y se agitó a de 15 a 25°C durante de 16 a 20 horas. Se concentró el resultante a vacío a de 40 a 45°C y se repartió el residuo entre agua (2,46 l, 5,0 vol.) y acetato de etilo (4,92 l, 10,0 vol.). Se separaron las fases, se lavó la fase orgánica secuencialmente con ácido clorhídrico ac. (1M, 2,46 l, 5,0 vol.), disolución de hidrogenocarbonato de sodio sat. ac. (2,46 l, 5,0 vol.) y disolución de cloruro de sodio sat. ac. (2,46 l, 5,0 vol.). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio (0,985 kg, 2,0 peso), se filtró y se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (0,50 l, 1,0 vol.). Se concentraron el filtrado y lavado combinados a vacío para dar una mezcla isomérica en bruto que comprende O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona [0,395 kg, 86,9%, 80,3% p/p, ^1H RMN (CDCl_3) acorde con la estructura; 82,0% de área mediante HPLC, razón de Z/E 71,4:28,6] como un aceite marrón viscoso. Se disolvió el aceite en tolueno (0,40 l, 1,0 vol, con respecto al peso del producto) y se almacenó hasta que fuera requerido.

1.2 Forma sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

1.2.1 Purificación a pequeña escala

Se realizó el procedimiento de aislamiento en la forma sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona mediante cromatografía usando un sistema Biotage (Biotage AB, SE-751 03 Uppsala, Suecia) de la mezcla isomérica en bruto aislada después de la reducción del éster de oxima (etapa 7 del ejemplo 1).

Se purificaron cinco lotes distintos (n.ºs 020, 180, 062, 068, 076) de la mezcla isomérica en bruto mediante cromatografía Biotage. Además, se usaron condiciones diferentes respecto a los lotes n.ºs 068 y 076. Se realizó purificación con un 5% p/p de adición conocida de éster metílico de oxima añadido (n.º 068), y con una columna Biotage sobrecargada (n.º 076).

Cada cromatografía se ejecutó usando cartuchos Biotage 40M (40 g de sílice) que se habían purgado previamente con tolueno. Entonces se eluyó y recogió tolueno:MeOH (99:1 v/v) en fracciones de 100 ml (volumen total 4 l), seguido por una purga de tolueno:MeOH (96:4 v/v).

Se analizaron las fracciones mediante CCF (eluyente: acetato de etilo) para determinar qué fracciones podrían descartarse y qué fracciones contenían un isómero Z. Estas fracciones Z se analizaron entonces mediante HPLC. Los criterios de aprobación fueron >96% de isómero Z y <1,2% de isómero E.

De manera sorprendente, la purificación a través de cromatografía Biotage de diversos lotes era muy eficaz ya que la forma sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se purifica al 99,4% (lotes n.º 020, n.º 062, n.º 068) y al 99,2% (lotes n.º 180, n.º 076). En particular, la cromatografía Biotage en presencia de éster de oxima elimina el 5% p/p de éster de oxima sin perjuicio para la recuperación o calidad (lote n.º 068) y una sobrecarga del 25% de la columna Biotage no provoca una disminución del rendimiento o la calidad (lote n.º 076).

Tabla 2: eficacia de la cromatografía Biotage

Lote n.º	Entrada, % de E/Z	Salida, % de E/Z	rendimiento de isómero Z
020	3,0 g 85,7% de pureza del área % de E/Z: 30,5/69,5	Fracciones Z puras: 1,0 g 98,8% de pureza del área % de E/Z: 0,6/99,4	33%
180	2,0 g 92,0% de pureza del área % de E/Z: 32,8/67,2	Fracciones Z puras 0,9 g 99,6% de pureza del área % de E/Z: 0,8/99,2	45%
062	3,0 g 83,5% de pureza del área % de E/Z: 32,7/67,3	Fracciones Z puras 1,3 g 99,8% de pureza del área % de E/Z: 0,6/99,4 Mezcla: 1,2 g 91,0% de pureza del área % de E/Z: 69,6/30,4	43% 11%
068	3,0 g con adiciones conocidas con ~5% de éster ~78% de pureza de área % de E/Z: 32,7/67,3	Fracciones Z puras: 1,2 g 99,8% de pureza del área % de E/Z: 0,6/99,4 Mezcla: 0,6 g 98,8% de pureza del área % de E/Z: 27,9/72,1 Fracciones puras de E: 1,1g 70,7% de pureza del área % de E/Z: 98,7/1,3 (19,3% de éster)	40% 14% N/A
076	3,8 g 83,5% de pureza del área % de E/Z: 32,7/67,3	Fracciones Z puras 1,4 g 99,8% de pureza del área % de E/Z: 0,8/99,2 Mezcla: 1,8 g 95,0% de pureza del área % de E/Z: 63,6/36,4	37% 17%

1.2.2 Purificación a gran escala

Se cargaron diversos lotes de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-

3-ona en bruto (0,392 kg, 1,16 mol, 1,0 peso) a una unidad SIM de 150 l Biotage como una disolución aproximada del 50% p/p en tolueno y se purificó usando metanol al 1% en tolueno (150 l) seguido por metanol al 2% en tolueno (50 l), tamaño de fracción 5,0 l. Se analizaron las fracciones recogidas mediante análisis de HPLC y CCF¹⁵, según fuera apropiado. Las fracciones que se consideró que contenían O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pura (criterios: isómeros Z \geq 96,00% de área, isómero E \leq 1,20% de área) se combinaron y se concentraron a vacío a de 40 a 45°C. Se añadió etanol absoluto (2x 2l) al residuo y se concentró la disolución a vacío a de 40 a 45°C hasta que pudo manipularse el sólido espumoso. Se obtuvo el producto deseado, O-metiloxima de (3Z,5S)-1-[(bifenil-4-il-carbonil)-5-hidroximetil]pirrolidin-3-ona (0,089 kg, 22,7% p/p, ¹H RMN (CDCl₃) acorde con la estructura, 99,3% de área mediante HPLC, razón de Z/E 98,4:0,9 como un sólido de blanquecino a marrón claro.

Tabla 3: resumen de la purificación de diferentes lotes de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en forma sustancialmente pura.

Lote n.º	Entrada (kg)	Salida (kg)	Rendimiento (% p/p)	% de forma Z (% de área)	% de forma E (% de área)
12	0,392	0,089	22,8	98,65	0,85
116	0,392	0,114	29	98,34	0,89
120	0,441	0,081	18,4	97,90	1,81
122	0,380	0,094	24,3	98,52	1,14
124	0,387	0,096	25,3	98,89	0,73
126	0,390	0,132	33,8	98,40	0,95
128	0,526	0,010	2	98,20	0,83
130	0,453	0,086	19	98,46	1,23
132	0,440	0,082	19,3	98,86	0,85
134	0,39	0,144	36,9	98,73	0,96
138	0,273	0,098	35,9	98,92	0,66
140	0,463	0,059	13,1	98,52	1,13
142	0,462	0,084	18,4	99,37	0,48
144	0,442	0,126	29	99,1	0,68
146	0,409	0,135	33,5	99,21	0,46
148	0,460	0,107	23,8	99,13	0,65
150	0,409	0,071	18	98,92	0,66
152	0,392	0,054	14,3	98,82	0,76
156	0,445	0,039	8,8	98,64	0,87
158	0,392	0,06	15,3	98,73	0,63
162	0,435	0,150	34,5	98,94	0,79
164	0,434	0,192	44,2	99,21	0,58
166	0,415	0,074	17,8	98,79	0,73
174	0,518	0,108	20,8	99,11	0,64
176	0,342	0,072	21	98,88	0,77
178	0,415	0,074	17,8	99,07	0,71
180	0,353	0,174	49,3	99,03	0,82
182	0,270	0,178	65,9	99,10	0,53

Se combinaron y disolvieron lotes apropiados de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona (2,713 kg, 1,0 peso) aislada de la cromatografía Biotage en etanol absoluto (5,16 l, 2,0 vol.) a de 15 a 25°C, se clarificaron mediante filtración a través de papel de microfibras de vidrio y un lavado de etanol absoluto (0,50 l, 0,2 vol.) aplicado al filtro. Se concentraron los filtrados combinados en porciones a vacío a de 40 a 45°C. Se transfirió el resultante a bandejas de sequedad y se secó a vacío a 30°C durante 24 horas. Entonces

se aumentó por incrementos la temperatura del horno de desde 30 hasta 40°C a lo largo de 80 horas. Se determinó el nivel de disolvente residual mediante análisis de ^1H RMN (CDCl_3) y cuando se encontró que era de <1,0% p/p se hizo pasar al sólido a través de un tamiz con abertura de 500 μm . Se devolvió el sólido al horno y se secó a de 40°C a 42°C hasta que el nivel de disolvente fue $\leq 0,40\%$ p/p para dar O-metiloxima de (3Z,5S)-1-[(bifenil-4-il-carbonil)-5-hidroxi-metil]-pirrolidin-3-ona en la forma amorfa (2,633 kg, 97,1% p/p, ^1H RMN (CDCl_3) acorde con la estructura, 98,65% de área mediante HPLC.

El procedimiento de combinación se resume a continuación:

Entrada: 2,713 kg

Salida: 2,633 kg

Rendimiento: 97,1% p/p

Síntesis de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina (el "compuesto cristalino").

Se llevó a cabo una serie de experimentos antes de que se lograra una cristalización exitosa. Los intentos de cristalización fallidos incluyeron el uso de acetona, ACN, CH_2Cl_2 , 1,4-dioxano, etanol, hexanos, IPA, metanol, MEK, TFE, THF, tolueno y agua, entre otros disolventes. Después de cada uno de estos experimentos, se sometió a prueba el sólido resultante y el análisis de XRPD mostró que el compuesto estaba en la forma amorfa.

2.1 Cristalización usando acetato de etilo

Se añadió acetato de etilo a O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa. La suspensión se trató por ultrasonidos en un baño a temperatura ambiental durante 60 minutos para proporcionar una disolución transparente que se trató adicionalmente por ultrasonidos y se enfrió a lo largo de 10 minutos. Se colocó la disolución transparente en el congelador durante 4 días. Se decantó el disolvente y se lavó el sólido con hexano, luego se secó bajo flujo de nitrógeno durante 30 minutos. Se analizó el sólido resultante mediante XRPD y se confirmó que era O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. Las figuras 7 y 9 son las curvas de DSC y TGA, respectivamente, obtenidas a partir de someter a prueba esta muestra. Los datos de caracterización se presentan en la tabla 4.

Tabla 4: datos de caracterización de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina a partir de acetato de etilo

Técnica analítica	Descripción del experimento	Resultados
XRPD	-	Forma cristalina
DSC	10°C/min, de 25 a 350°C	Endo 72°C, cambio de nivel inicial 127°C, exo 232°C
TGA		3,2% de pérdida de peso a 200°C
Raman	-	-
MB (equilibrio de humedad)	-	0,20% de pérdida de peso tras el equilibrio al 5% de HR 3,25% aumento de peso del 5% de HR al 95% de HR 1,44% de pérdida de peso del 95% de HR al 5% HR
Tras MB XRPD	-	Forma cristalina y amorfa
Etapas calientes	20x objetivo, 10°C/min hasta 59,0°C, luego 3°C/min	23,2°C: presenta birrefringencia y extinción; 64,9°C: masa de muestra reducida; 68,9°C: fusión; 78,1°C: fin de la fusión
RMN	DMSO-d6	Coherente con la estructura, EtOAc residual y agua

2.2 Cristalización usando dietil éter

Se añadió dietil éter (40 ml) a O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa (4,0 g). Se disolvió el sólido mediante agitación se dejó en reposo la disolución transparente a 18-23°C. Se produjo nucleación espontánea después de aproximadamente 10-15 minutos y se dejaron en reposo el contenido y recipiente de cristalización sin alterar durante 20 horas a 18-23°C. Se aislaron los cristales mediante filtración y se secaron bajo nitrógeno durante 4 horas a 18-23°C. Rendimiento 3,38g (84%), cristales blancos. Pureza química 99,43%.

Se analizó el sólido resultante mediante XRPD y se confirmó que era O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. Las figuras 6 y 8 son las curvas de DSC y TGA, respectivamente, obtenidas a partir de someter a prueba esta muestra. Los datos de caracterización se presentan en la tabla 5.

Tabla 5: datos de caracterización de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina a partir de dietil éter

Técnica analítica	Descripción del experimento	Resultados
XRPD	-	Forma cristalina
DSC	10°C/min, de 25 a 350°C	Endo 76°C, cambio nivel inicial 124°C, Exo 233°C
TGA		5,3% de pérdida de peso a 200°C
TG-IR	20°C/min hasta 190°C	Dietil éter hasta 190°C

2.3 Otros intentos de cristalización usando dietil éter

Se realizaron numerosos intentos de preparar el compuesto cristalino usando dietil éter, tal como se expone en la tabla 6.

Tabla 6: intentos de preparación cristalina de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa usando dietil éter

Peso de muestra/volumen de éter	Condiciones ^a	Hábito/Descripción ^b	Resultado de XRPD
53 mg 0,200 ml	1. cualquier adición con tratamiento ultrasónico breve	1. la mayoría de sólido disuelto, luego precipita: cuchillas, racimos de rosetas (B/E), líquido insuficiente para decantación	-
	2. secado al aire TA 1 día	2. cuchillas, racimos de rosetas, vidrio (B/E), monocristalino, sin cambio en la cristalinidad de las cuchillas	
	3. vac de 66 a 77°C 1 hora	3. líquido	
240 mg 0,897 ml	1. adición de éter	1. la mayoría de sólido disuelto, luego sólido que precipita	Forma cristalina
	2. TA 1 día (sin agitación)	2. cuchillas, racimos de rosetas (B/E), monocristalino	
	3. líquido decantado, sólido transferido	3. inicialmente húmedo, luego parecía seco	
	4. secado al aire TA 5 horas	4. sin cambio visual, incluso por microscopía	
	5. vac TA 20 horas	5. sin cambio visual, incluso por microscopía, 189 mg	
	6. 23 mg vac 45°C 65 horas	6. sin cambio visual, incluso por microscopía	Forma cristalina

	7. cristales aislados en aceite P-N	7. piezas de cuchilla (B/E, monocristalino)	-
3,16 g 8.000 ml	1. adición de éter 6 ml 2. adición de éter 2 ml 3. breve agitación con espátula, breve vórtice 4. TA 1 día (sin agitación) 5. filtrado a vac, lavado con éter 6. suavemente triturado, homogeneizado 7. vac 45°C 62 horas 8. raspar del vidrio, triturar, homogeneizar 9. vac 45°C 71 horas hasta peso constante 10. Transferido	1. disolución sólida, luego precipitación; quedó inmóvil por la aglomeración 2. ningún cambio 3. suspensión opaca "homogénea", muy móvil 4. cuchillas, aglomerados (B/E) 5. parecía seco 6. polvo, fácilmente generado, capa delgada 7. ligera corteza 8. - 9. ligera corteza 10. polvo, fácilmente generado, blanco, sin cambios por microscopía, 2,65 g	Forma cristalina
a. TA = temperatura ambiental; vac = vacío; P-N = Paratone-N (no de BPF). Los tiempos y temperaturas informados son aproximados; temperaturas medidas por termómetro trazable NIST. b. B = birrefringencia; E = extinción; monocristalino = la muestra contiene cristal(es) que parecía(n) adecuados para la presentación de rayos X monocristalino.			

Una preparación de este tipo implicaba añadir 0,897 ml de dietil éter a 240 mg de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirolidin-3-ona amorfa y se dejó la mezcla a temperatura ambiental durante aproximadamente 24 horas. Se decantó el líquido y se transfirió el sólido a un depósito seco para secarse al aire durante 5 horas. Entonces se secó el sólido a vacío durante 20 horas a temperatura ambiental. Se analizó el sólido resultante mediante XRPD y se confirmó que era el compuesto cristalino. El patrón de XRPD de esta muestra se muestra en la figura 1.

Se secaron a vacío además 23 mg del sólido a 45°C durante 65 horas adicionales. Se analizó el sólido resultante mediante XRPD y se confirmó que era el compuesto cristalino. Los datos de caracterización se presentan en la tabla 7.

Tabla 7: datos de caracterización de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirolidin-3-ona cristalina a partir de dietil éter

Análisis	Detalles	Resultado ^a
XRPD	indexado	Forma cristalina
	-	Forma cristalina
TGA	10°C/min	5,4% en peso de pérdida de 25 a 200°C
¹ H RMN	(CD ₃) ₂ SO	coherente con la estructura: éter residual
a. Temperaturas redondeadas al grado entero más cercano.		

Pruebas

Experimentos de tensión de sólidos

Se llevaron a cabo experimentos de tensión de sólidos en O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa y los resultados mostrados a continuación en las tablas 8 y 9. Confirmados mediante XRPD, los resultados mostraron que la forma cristalina permanecía inalterada después de someter a tensión el material al 75% de HR durante 3 días. Someter a tensión al 97% de HR durante el mismo tiempo provocó que el material fuera delicuescente. También se presionó una muestra a 10.000 psi durante 1 minuto y XRPD mostró que permanecía en forma cristalina. Sin embargo, la molienda manual durante un minuto produjo una mezcla del compuesto cristalino y el compuesto amorfo, tal como se muestra mediante XRPD.

- 5
- 10 Tabla 8: estudios de tensión de sólidos en O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina

Disolvente usado para cristalización	Condiciones	Hábito/Descripción	Resultado de XRPD
Acetato de etilo	75% de HR, 3 días	Trozos, áreas de birrefringencia	Forma cristalina
Acetato de etilo	97% de HR, 3 días	Delicuescente	-
Dietil éter	10.000 psi, 1 minuto	Sólido blanco	Forma cristalina
Dietil éter	Molienda de 1 minuto	Sólido blanco	Forma cristalina y amorfa

- 15 Tabla 9: estudios de tensión de sólidos de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa

Condiciones	Hábito/Descripción	Resultado de XRPD
97% de HR, 3 días	Delicuescente	-
75% de RH	2,5% de aumento de peso después de 1 día 3,7% de aumento de peso después de 5 días 6,6% de aumento de peso después de 12 días 2,9% de aumento de peso después de 20 días Copos dentados blancos, trozos, sin birrefringencia	Amorfo
40°C/75% de HR, 1 día	Gotas de aceite	-
40°C. 10 días	Trozos redondeados	Amorfo
70°C. 6 días	Trozos redondeados, gotas claras de aceite	Amorfo
70°C, 1 día	Charco de aceite	-
Tensión de éter, sólido en disolvente a temperatura ambiental, 3 días (suspensión)	Trozos blancos, pedazos	Amorfo
Sólido humedecido con etil éter	Agujas/cuchillas agrupadas con extintores después de 25 minutos Trozos, pocas áreas de birrefringencia después de 1 día a temperatura ambiental Trozos, pocas áreas con extinción después de 5 días a temperatura ambiental	-
Fresado con 25 µl de agua, ~10 minutos	Sólido pegajoso tipo goma	-
Fresado con 10 µ de tolueno, ~70 minutos	Sólido pegajoso tipo goma después de 10 minutos, película adhesiva en 70 minutos	-

Experimentos de tensión en disolución

- 20 También se llevaron a cabo experimentos de tensión en disolución y los resultados se presentan en la tabla 10.

Tabla 10: experimentos de tensión en disolución de cristalización

Disolvente	Etapas	Detalles experimentales	Hábito/Descripción	Registro de XRPD
DCM	1	Tratamiento por ultrasonidos en baño a temperatura ambiental, ~60 minutos	Disolución transparente	-
	2	Tratamiento por ultrasonidos y enfriamiento, ~10 minutos	Disolución transparente	
	3	Colocado en el congelador durante 11 días	Disolución transparente	
EtOAc	1	Tratamiento por ultrasonidos en baño a temperatura ambiental, ~60 minutos	Disolución transparente	Forma cristalina
	2	Tratamiento por ultrasonidos y enfriamiento, ~10 minutos	Disolución transparente	
	3	Colocado en el congelador durante 4 días, entonces se decanta el disolvente	Cuchillas redondeadas agrupadas. Extinguido, suave y pegajoso	
	4	Lavado con hexano. Secar bajo N ₂ ~ 30 minutos	Trozos con extinción	
6:1 EtOAc: agua	1	Tratamiento por ultrasonidos en baño a temperatura ambiental, ~ 60 minutos	Disolución blanca lechosa	-
	2	Colocado en el congelador	Trozos, pocas agujas con extinción	
Dietil éter	1	Colocado en el congelador durante 5 días	Agujas blancas sólidas agrupadas con birrefringencia	Forma cristalina
	2	Disolvente decantado, dejado a temperatura ambiental 1 día	Trozos, pocas agujas con extinción	
	3	Sólido suspendido en éter 2 días	Pequeñas agujas birrefringentes	
	4	Secar bajo N ₂ , 4 días	Pequeñas agujas birrefringentes	
1:4 Éter/agua	1	Dejado a temperatura ambiental 1 día	Disolución turbia, filtrada, película pegajosa	-
1,4-dioxano	1	Tratamiento por ultrasonidos en baño a temperatura ambiental, ~ 60 minutos	Disolución transparente	-
	2	Tratamiento por ultrasonidos y enfriamiento, ~ 10 minutos	Disolución transparente	
	3	Dejado a temperatura ambiental	Disolución transparente	
IPA	1	Tratamiento por ultrasonidos en baño a temperatura ambiental, ~ 60 minutos	Disolución transparente	-
	2	Tratamiento por ultrasonidos y enfriamiento, ~ 10 minutos	Disolución transparente	
	3	Colocado en el congelador durante 11 días	Disolución transparente	
1:2 IPA/agua	1	Se dejó con agitación a temperatura ambiental durante la noche	Brumoso con líquido amarillo en la base	-
	2	Líquido amarillo decantado,	Suspensión	

		agua añadida a la disolución brumosa. Con agitación		
MEK	1	Tratamiento por ultrasonidos en baño a temperatura ambiental, ~ 60 minutos	Disolución transparente	-
	2	Tratamiento por ultrasonidos y enfriamiento, ~ 10 minutos	Disolución transparente	
	3	Colocado en el congelador durante 11 días	Disolución transparente	
1:1 MeOH/agua	1	Dejado a temperatura ambiental durante la noche	Disolución transparente con líquido amarillo en la base	-
	2	Líquido amarillo decantado, agua añadida para precipitar sólidos en disolución transparente, con agitación	Sistema de dos capas, ambas suspensiones	

El tratamiento por ultrasonidos de un ejemplo en acetato de etilo dio como resultado un material que apareció como cuchillas agrupadas mediante microscopía óptica. Después de lavar con hexanos y secar bajo nitrógeno, el material apareció como trozos irregulares. Se analizó la muestra mediante XRPD y se encontró que era O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. En otro ejemplo usando dietil éter, se congeló la mezcla antes de mezclar y secar bajo nitrógeno para producir la forma cristalina.

Las demás suspensiones no produjeron ningún material sólido.

Estudio de estabilidad comparativo

Se prepararon suspensiones de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina y O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa pesándolas directamente en viales de 100 mg de material cristalino o amorfo. Aproximadamente se añadieron 3 ml de tampón fosfato según la USP pH 7 a cada muestra. Se agitaron muestras de cada una de las suspensiones en tampón fosfato pH 7 (USP) a 25°C durante 24 horas. Al final de las 24 horas, se eliminó el disolvente de la muestra mediante pipeteo y se permitió que los sólidos se secasen al aire en la campana de gases durante la noche. Entonces se sometieron los sólidos para análisis de XRPD. Se realizaron observaciones de las muestras a diversos intervalos de tiempo y se proporcionan en la tabla 10. Ambas muestras aparecieron en primer lugar como polvos blancos. Se tomaron fotografías de las muestras en puntos de tiempo correspondientes a 0,5 min, 15 min, 1 hora, 3 horas y 24 horas después de añadir el tampón fosfato pH 7.

Tabla 10: observación de muestras con agitación en tampón fosfato de pH 7 a 25°C

Momento	Forma amorfa (en tampón fosfato pH 7)	Compuesto cristalino (en tampón fosfato pH 7)
Antes de añadir el tampón	Polvo blanco	Polvo blanco
T = 0	Polvo blanco pegado en el fondo del vial, difícil de dispersar	Polvo blanco dispersado en tampón
T = 5 min	Masa blanca espesa y pegajosa	Polvo blanco dispersado en tampón
T = 15 min	Bulto redondo opaco y pegajoso	Polvo blanco dispersado en tampón
T = 1 hora	Bulto redondo opaco y pegajoso	Bulto redondo sólido blanco, ligeramente pegajoso cuando se agita con una espátula y algunos sólidos dispersados
T = 3 horas	Material pegajoso opaco	Material pegajoso blanco
T = 24 horas	Material pegajoso opaco	Material pegajoso blanco

O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa convertida en material pegajoso opaco después de aproximadamente 15 minutos. Después de aproximadamente una hora, la

suspensión de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina mostró formación de un material pegajoso blanco. El análisis del patrón de XPRD muestra la presencia de una fase amorfa después de agitar O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona amorfa durante 24 horas. Para una comparación, la figura 5 muestra el patrón de XRPD para la forma amorfa después de la síntesis y el patrón de XRPD para la forma amorfa después de agitar en tampón pH 7 durante 24 horas. La figura 4 muestra el patrón de XRPD para el compuesto cristalino después de la síntesis y el patrón de XRPD para el compuesto cristalino después de agitar en tampón pH 7 durante 24 horas. El patrón de XRPD de sólidos obtenidos al agitar O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina en el tampón muestra picos coherentes con aquellos observados en el patrón de polvo de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina (figura 4). Se observa un ligero cambio del pico en ángulos 2θ mayores cuando se comparan los patrones de XRPD de las muestras antes y después de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina. También se observa alguna dispersión difusa en el patrón de polvo de los sólidos obtenidos a partir de la suspensión de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina.

Numerosas alteraciones, modificaciones y variaciones de las realizaciones preferidas dadas a conocer en el presente documento serán evidentes para los expertos en la técnica, y se anticipa y contempla que todas estén dentro del alcance de la invención reivindicada. Por ejemplo, aunque se han descrito realizaciones específicas en detalle, los expertos en la técnica entenderán que las variaciones y realizaciones anteriores pueden modificarse para incorporar diversos tipos de materiales sustitutos, adicionales o alternativos. Por consiguiente, aunque solo se describen unas pocas variaciones de la presente invención en el presente documento, debe entenderse que la práctica de tales modificaciones y variaciones adicionales de la misma están dentro del alcance de la invención tal como se define en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. O-Metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona cristalina, en la que dicho compuesto cristalino es sustancialmente puro y presenta picos característicos a los grados de ángulo de difracción 2-theta que aparecen al menos a aproximadamente 7,05, aproximadamente 13,13, y aproximadamente 23,34, tal como se mide mediante difracción de rayos X de polvo (XRPD).
2. Composición farmacéutica que comprende el compuesto cristalino según la reivindicación 1 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
3. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, para su uso en el tratamiento de un estado relacionado con la actividad del OT-R.
4. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, en la que el estado se selecciona del grupo que consiste en parto prematuro, nacimiento prematuro, dismenorrea, eyaculación precoz, disfunción sexual, endometriosis, fallo de implantación embrionaria debido a contracciones uterinas, infertilidad, hiperplasia prostática benigna, trastornos neuropsiquiátricos, autismo, trastornos del comportamiento social, estrés psicosocial, y trastornos cardiovasculares.
5. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 4, en la que el estado es parto prematuro.
6. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 4, en la que el estado es fallo de implantación embrionaria debido a contracciones uterinas.
7. Cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto cristalino según la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de un estado relacionado con la actividad del OT-R.
8. Compuesto para su uso según la reivindicación 7, en el que el estado se selecciona del grupo que consiste en parto prematuro, nacimiento prematuro, dismenorrea, eyaculación precoz, disfunción sexual, endometriosis, fallo de implantación embrionaria debido a contracciones uterinas, infertilidad, hiperplasia prostática benigna, trastornos neuropsiquiátricos, autismo, trastornos del comportamiento social, estrés psicosocial, y trastornos cardiovasculares.
9. Compuesto para su uso según la reivindicación 8, en el que el sujeto es un ser humano.
10. Cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto cristalino según la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de parto prematuro.
11. Compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que el compuesto cristalino se formula para administración en una dosis única de desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 1000 mg de dicho compuesto.
12. Compuesto para su uso según la reivindicación 11, en el que la dosis única es de desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 900 mg de dicho compuesto.
13. Compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que el sujeto es una mujer.
14. Cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto cristalino según la reivindicación 1, para su uso en el aumento de la tasa de implantación embrionaria en un sujeto que se somete a transferencia de embriones.
15. Compuesto para su uso según la reivindicación 14, en el que el sujeto es una mujer.
16. Método para preparar el compuesto cristalino según la reivindicación 1, que comprende i) disolver una forma Z sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en acetato de etilo y dietil éter, ii) permitir que se formen cristales, y iii) eliminar el disolvente y concentrar la disolución hasta sequedad para proporcionar los cristales formados.
17. Método según la reivindicación 16, en el que i) la forma Z sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se pone en contacto con acetato de etilo y la suspensión se trata por ultrasonidos en un baño a temperatura ambiental durante aproximadamente 60 minutos para proporcionar una disolución transparente que se trata adicionalmente por ultrasonidos y se enfría a lo largo de aproximadamente 10 minutos, ii) se permite que se formen los cristales durante aproximadamente 4 días a una temperatura entre -15°C y -25°C, y iii) se elimina entonces el disolvente acetato de etilo mediante decantación, se lava el sólido con hexano y se seca bajo flujo de nitrógeno durante aproximadamente 30 minutos.

- 5 18. Método según la reivindicación 16, en el que i) la forma Z sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se pone en contacto con dietil éter, el sólido se disuelve entonces mediante agitación y la disolución transparente se deja en reposo a 18-23°C, ii) se permite que se formen los cristales aproximadamente 20 horas a aproximadamente 18-23°C, y iii) se aíslan los cristales mediante filtración y se secan bajo nitrógeno para eliminar el disolvente dietil éter durante aproximadamente 4 horas a aproximadamente 18-23°C.

Figura 1

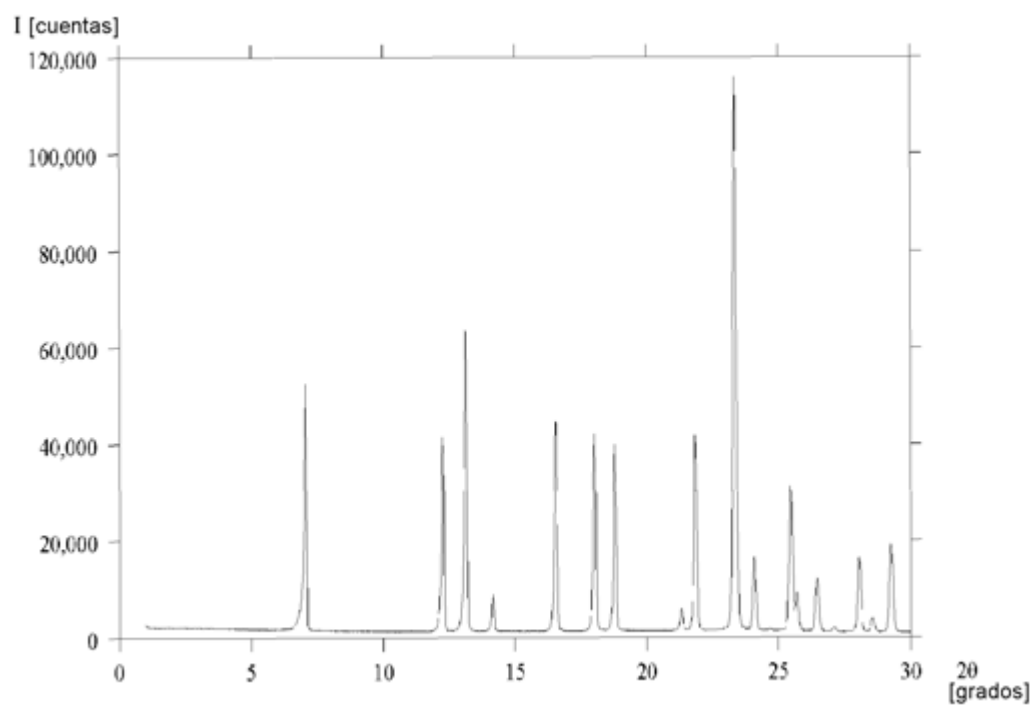


Figura 2

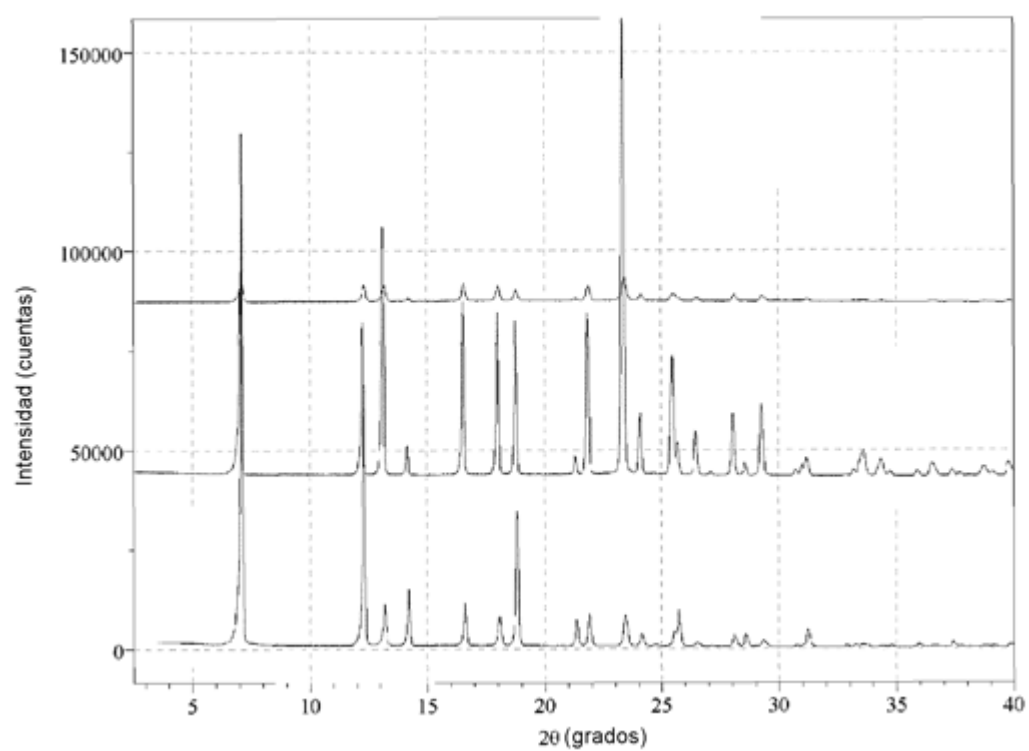


Figura 3

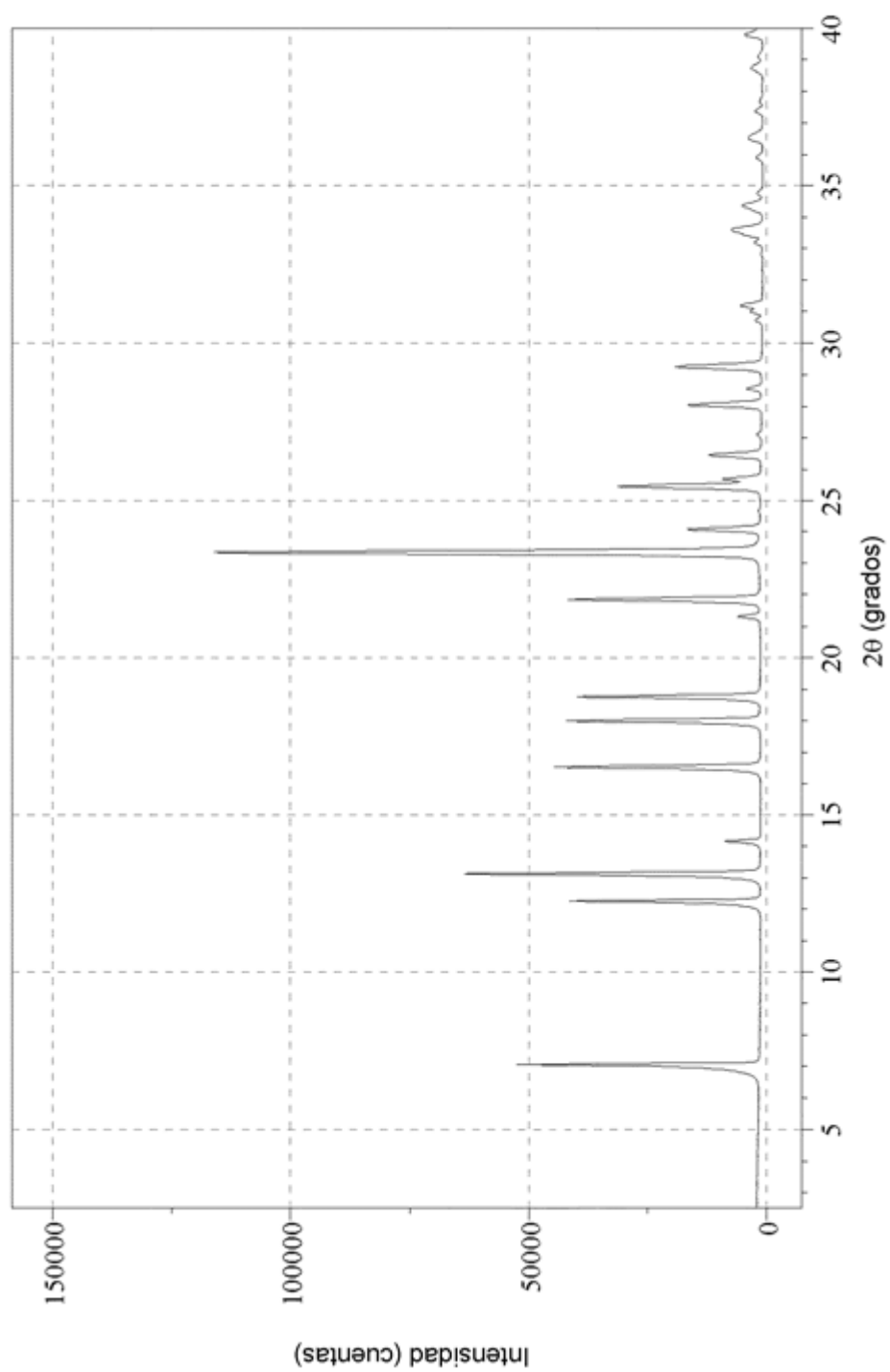


Figura 4

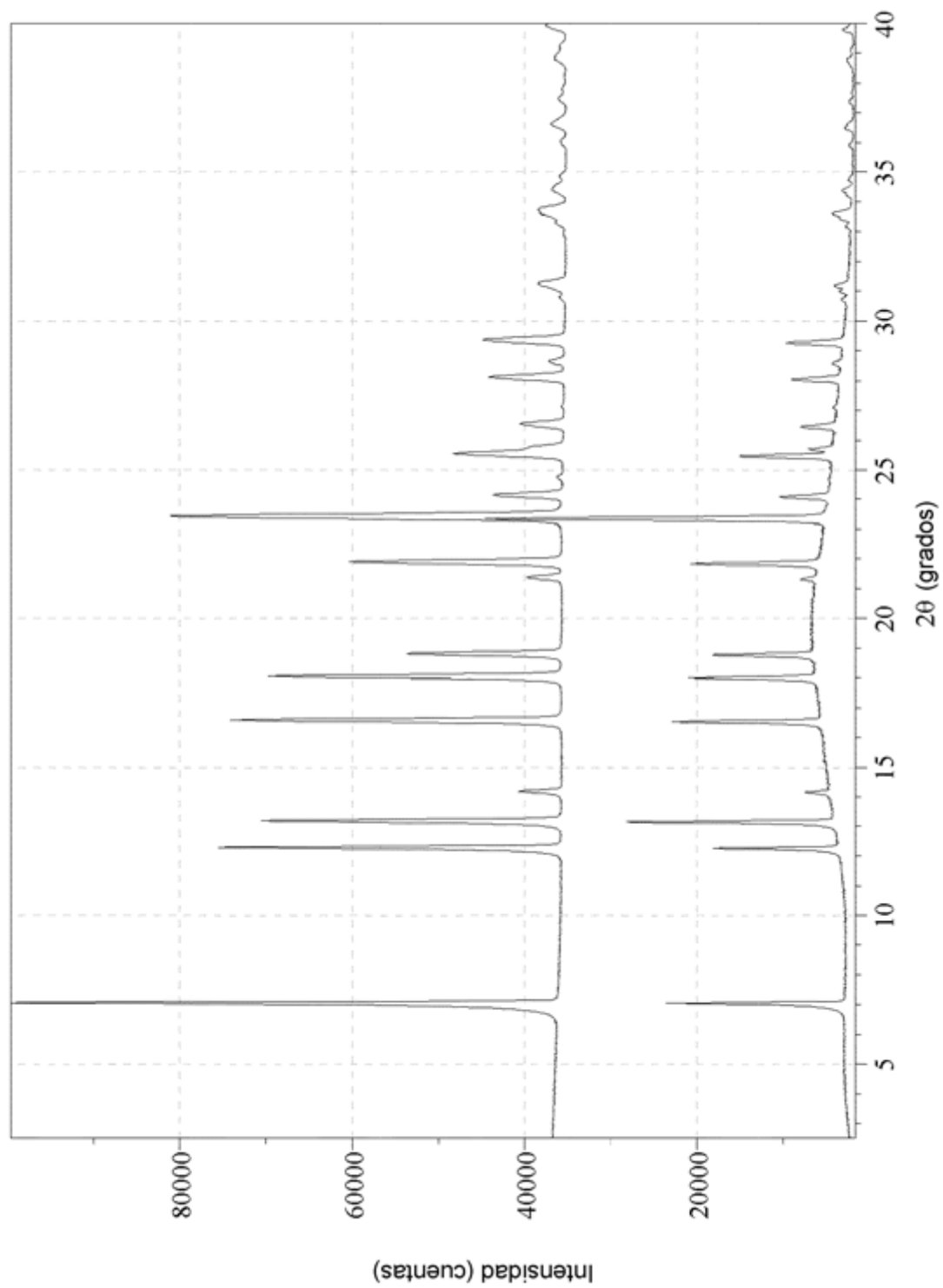


Figura 5

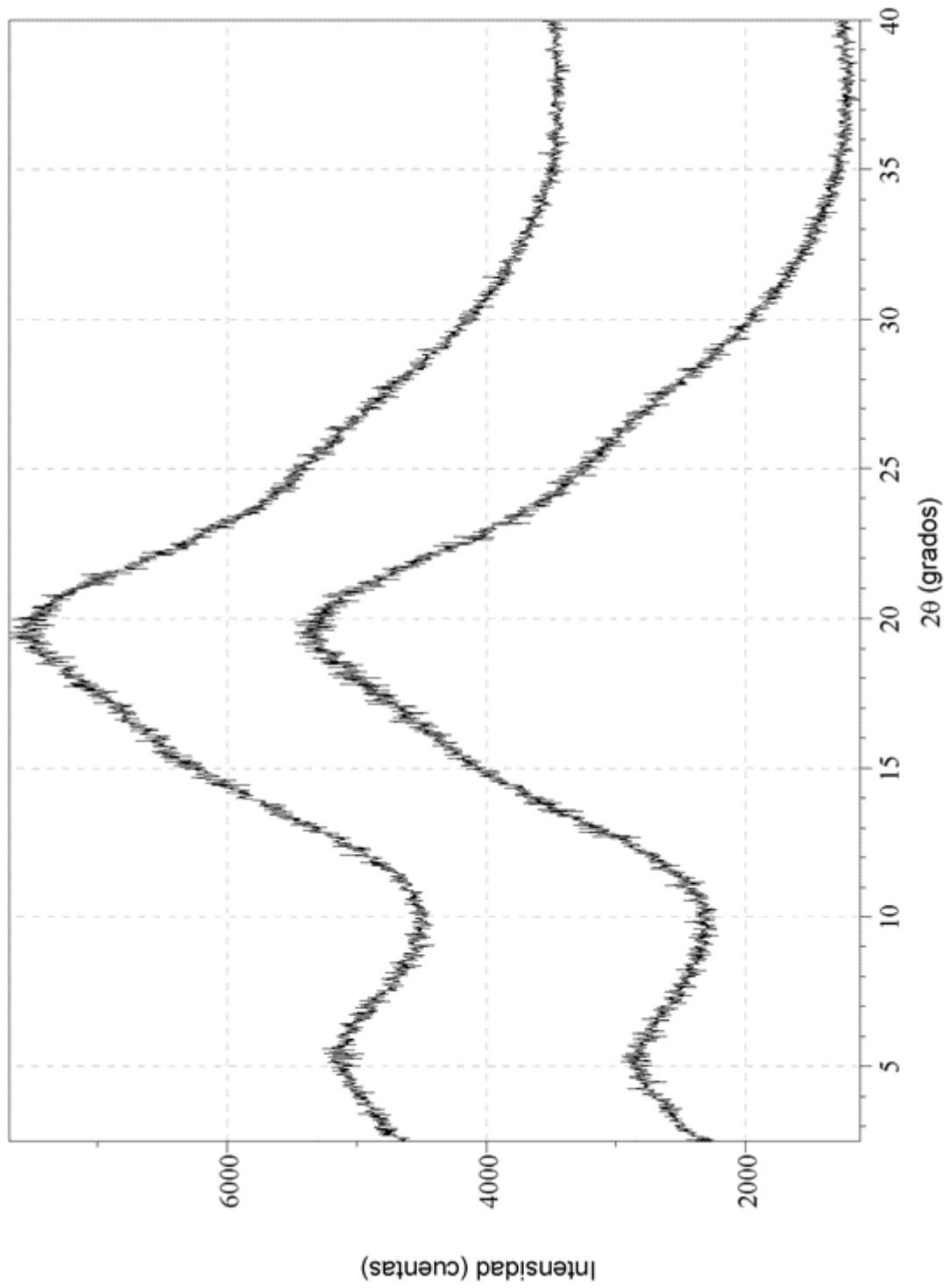


Figura 6

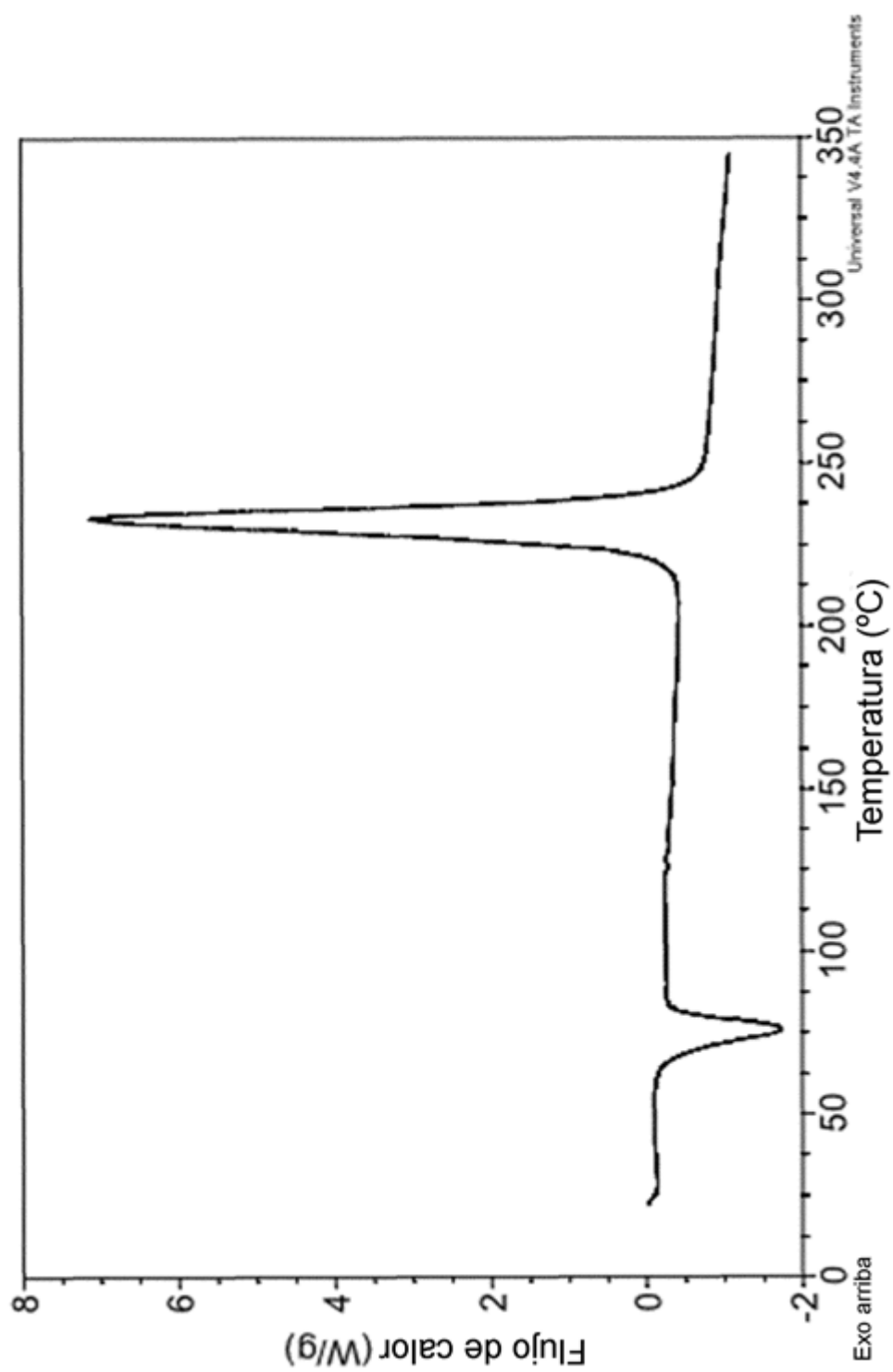


Figura 7

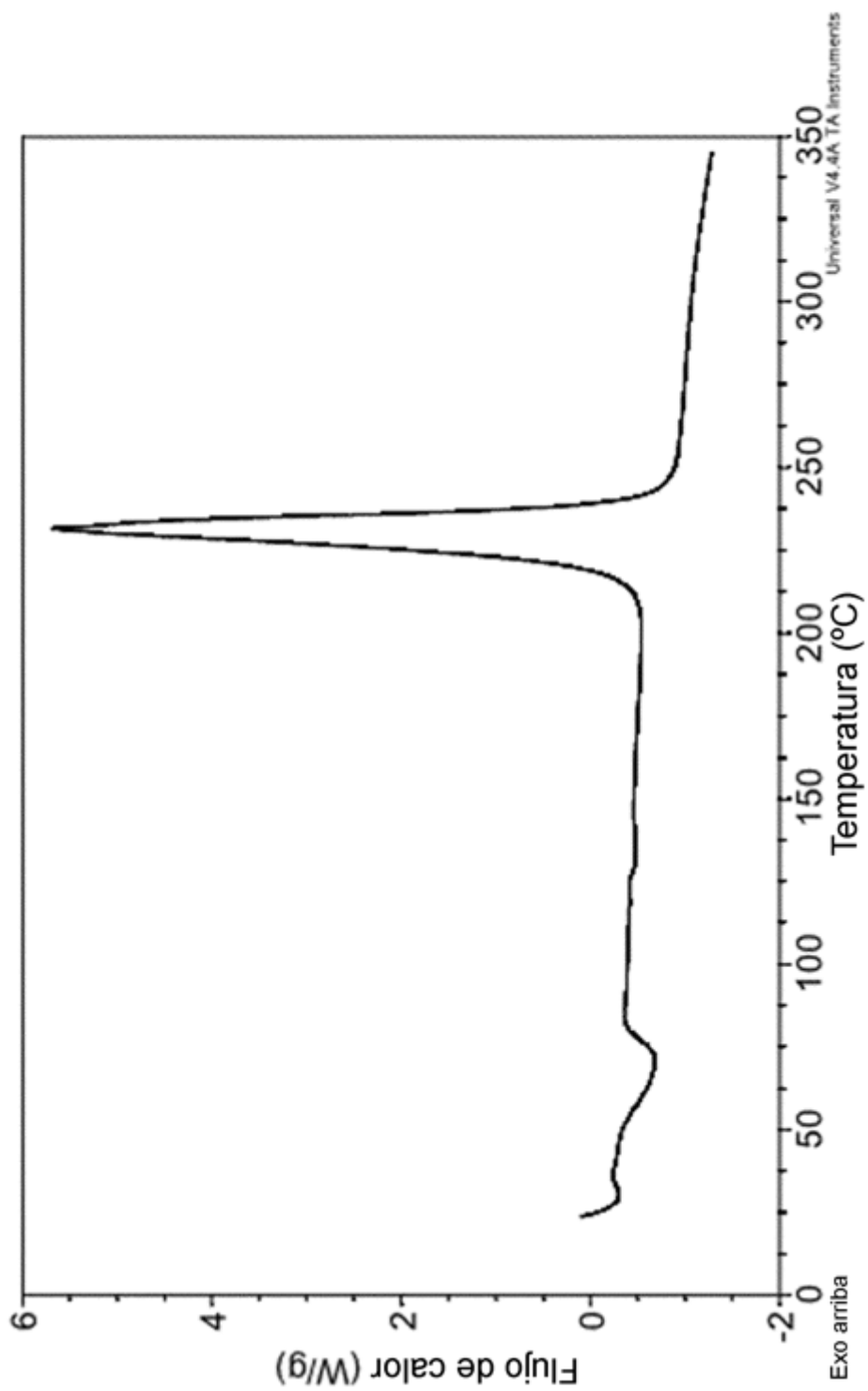


Figura 8

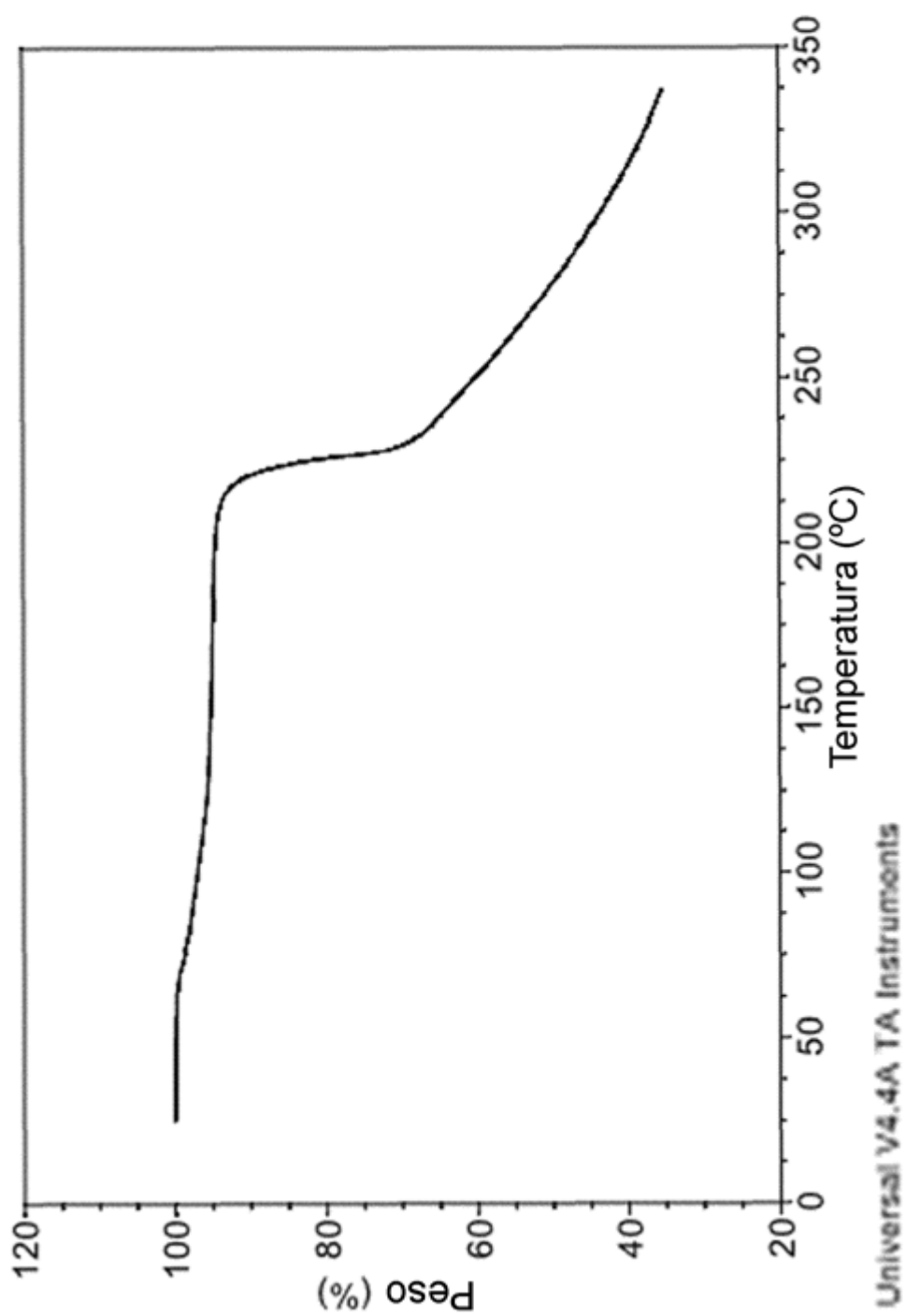


Figura 9

