

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 893 749**

(51) Int. Cl.:

C07D 303/46 (2006.01)
A61K 31/335 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.12.2016 PCT/US2016/065799**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **15.06.2017 WO17100553**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2016 E 16816157 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.07.2021 EP 3386956**

(54) Título: **Derivados de fumagilol y polimorfos de los mismos**

(30) Prioridad:

10.12.2015 US 201562265675 P

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

10.02.2022

(73) Titular/es:

**SYNDEVRX, INC. (100.0%)
One Broadway 14th Floor
Cambridge, MA 02142, US**

(72) Inventor/es:

PETERSEN, JOHN S.

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

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

ES 2 893 749 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

Derivados de fumagilol y polimorfos de los mismos

5 **Referencia Cruzada a Solicitudes Relacionadas**

Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad a la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos número de serie 62/265.675, presentada el 10 de diciembre de 2015.

10 **Campo de la Divulgación**

La presente solicitud se refiere a sales y polimorfos de carbamatos de aminoalquilfumagilol (p. ej., sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo y sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo). Las sales y los polimorfos de la presente solicitud son útiles como 15 compuestos intermedios estables en la producción de derivados de fumagilol (p. ej., derivados de fumagilol conjugados con polímero), o como agentes terapéuticos.

Antecedentes

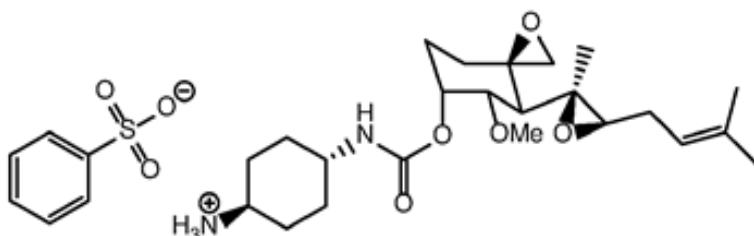
20 La fumagilina es una molécula pequeña que se ha utilizado como un agente antimicrobiano y antiprotozoario. La aplicación clínica de la fumagilina y la de los derivados de fumagilol se han visto limitadas por la toxicidad. La formación de polímeros conjugados con fumagilina para la terapia requiere la existencia de uno o más compuestos intermedios 25 derivados de fumagilina puros y estables que no se auto-condensen o hidrolicen fácilmente (p. ej., por reacción de un fumagilol modificado con amina con un epóxido en fumagilol). Además de ello, las impurezas unidas covalentemente a una cadena principal polimérica pueden ser difíciles de eliminar.

Sumario

30 La presente divulgación está dirigida a derivados puros y estables de fumagilol. Los derivados se pueden utilizar como compuestos intermedios sintéticos para producir conjugados de fumagilol unidos a polímero. Alternativamente, los derivados se pueden utilizar directamente como agentes terapéuticos.

35 La presente solicitud está dirigida a la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, también conocida como bencenosulfonato de (1*R*,4*r*)-4-((((3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-5-metoxi-4-((2*R*,3*R*)-2-metil-3-(3-metilbut-2-en-1-il)oxiran-2-il)-1-oxaespido[2.5]octan-6-il)oxi)carbonil)amino)ciclohexan-1-amino. También se describe la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, también conocida como 1-hidroxi-2-naftoato de (1*R*,4*r*)-4-((((3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-5-metoxi-4-((2*R*,3*R*)-2-metil-3-(3-metilbut-2-en-1-il)oxiran-2-il)-1-oxaespido[2.5]octan-6-il)oxi)carbonil)amino)ciclohexan-1-amino. La presente divulgación también proporciona 40 polimorfos cristalinos, puros y estables de ambas sales. Las sales y los polimorfos proporcionados en esta memoria son estables y se pueden utilizar como compuestos intermedios en la producción de derivados de fumagilol (p. ej., derivados de fumagilol conjugados con polímero). Estos derivados, a su vez, son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de un cierto número de enfermedades. Adicionalmente, las sales y los polimorfos se pueden utilizar directamente como agentes terapéuticos.

45 En un aspecto, la presente invención proporciona un polimero de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I):



(Fórmula I),

50 caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 16,1 y 18,0 °2θ utilizando radiación Cu Ka. A este polimero se le alude como "Forma II". En algunas realizaciones, el polimero se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 18,0, 20,0 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Ka. En algunas realizaciones, el polimero se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 5,4, 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 17,3, 18,0, 20,0, 20,8 y 25,8 °2θ 55 utilizando radiación Cu Ka. En algunas realizaciones, el polimero se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 5,4, 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 17,3, 18,0, 20,0, 20,8, 21,5, 22,0, 24,3 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Ka. En algunas realizaciones, el polimero se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 1A o la Figura 2A.

En una o más realizaciones, el polimorfo de Forma II se caracteriza, además, por el inicio de un evento exotérmica a aproximadamente 178 °C y un pico a aproximadamente 188 °C, medido por calorimetría diferencial de barrido. En una o más realizaciones, el polimorfo de Forma II se caracteriza, además, por un inicio exotérmica a aproximadamente

5 181 °C y un pico a aproximadamente 189 °C, medido por análisis termogravimétrico/análisis térmico diferencial (TG/DTA). En una o más realizaciones, la Forma II se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5A o 6A. En algunas realizaciones, el polimorfo tiene una pureza superior al 98%.

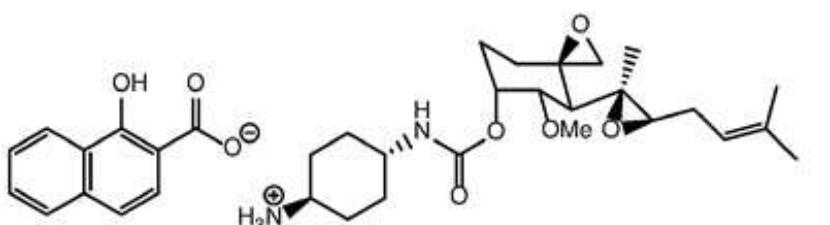
10 También se describen en esta memoria otros polimorfos de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I) (p. ej., Forma I, Forma III y Forma IV).

15 Por ejemplo, también se describe un polimorfo (Forma I) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos en aproximadamente 6,1, 8,6 y 16,4 °2θ utilizando radiación Cu K α . La Forma I se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5B o la Figura 6B.

20 También se describe un polimorfo (Forma III) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos en aproximadamente 8,3, 12,8 y 15,7 °2θ utilizando radiación Cu K α . La Forma III se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5C o la Figura 6C.

25 También se describe un polimorfo (Forma IV) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos en aproximadamente 5,1, 7,3 y 14,0 °2θ utilizando radiación Cu K α . La Forma IV se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5D o la Figura 6D.

30 También se describe en esta memoria la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4- aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula II):



(Fórmula II);

35 También se describen en esta memoria polimorfos de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4- aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula II) (p. ej., Forma A).

40 Por ejemplo, también se describe en esta memoria un polimorfo (Forma A) de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo en aproximadamente 5,6, 8,9 y 15,4 grados 2θ utilizando radiación Cu K α . La Forma A se puede caracterizar por un inicio endotérmico a aproximadamente 182 °C y un pico a aproximadamente 186 °C, medido por calorimetría diferencial de barrido. La Forma A se puede caracterizar por un inicio endotérmico a aproximadamente 181 °C y un pico a aproximadamente 186 °C y una exotermia a aproximadamente 191 °C (pico), medido por análisis termogravimétrico/análisis térmico diferencial (TG/DTA).

45 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para preparar el polimorfo de Forma II de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, (Fórmula I) que comprende:

- 50 (i) Etapa 1: añadir una solución de ácido bencenosulfónico en *tert*-butilmethyl éter a una solución de *N*-(*trans*-4- aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en una solución de *tert*-butilmethyl éter;
- (ii) Etapa 2: añadir a la solución un cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4- aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo;
- (iii) Etapa 3: separar la sal cristalizada del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la solución.

55 En algunas realizaciones, el método comprende, además, las etapas opcionales 1A y/o 1B después de la etapa 1, pero antes de la etapa 2:

Etapa 1A: enfriar la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa;

5 Etapa 1B: añadir MTBE adicional a la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa.

En algunas realizaciones, el método comprende, además, las Etapas 2A y/o 2B opcionales después de la Etapa 2, pero antes de la Etapa 3 opcional:

10 Etapa 2A: enfriar la solución del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagill-6-ilo de la etapa previa;

Etapa 2B: añadir MTB a la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa.

En una o más realizaciones, la presente divulgación proporciona un procedimiento para la cristalización reactiva de un polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, que comprende:

(i) Etapa 1': añadir ácido bencenosulfónico (p. ej., una solución de ácido bencenosulfónico en *terc*-butil metil éter o acetato de etilo) a una solución de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en un disolvente (p. ej., *terc*-butil metil éter, metanol, una combinación de *terc*-butil metil éter y metanol, o acetato de etilo). La adición puede formar un precipitado que luego se aísla (p. ej., mediante filtración). El precipitado que comprende ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede volver a disolver en un disolvente como en el Etapa 1 para la recristalización adicional, anterior.

En algunas realizaciones, el procedimiento comprende, además, una o más etapas seleccionadas de la Etapa 1A, la Etapa 1B, la Etapa 2, la Etapa 2A, la Etapa 2B y la Etapa 3, tal como se describe arriba.

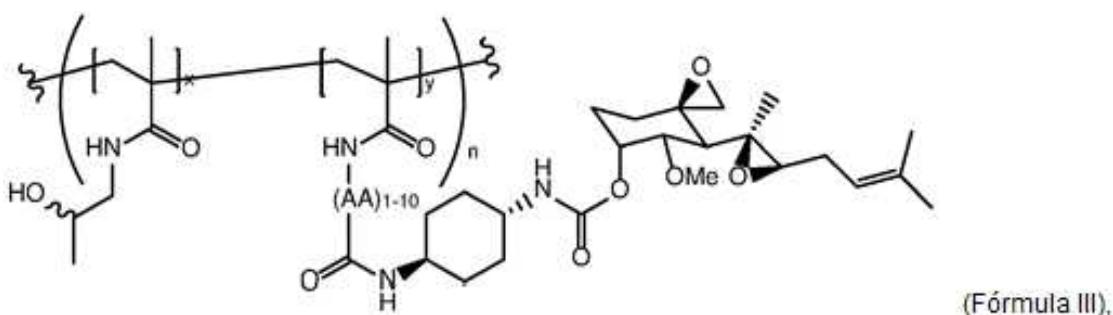
55 En algunas realizaciones, el procedimiento comprende la Etapa 1', la Etapa 1A y la Etapa 3. En algunas realizaciones,
el procedimiento comprende la Etapa 1', la Etapa 1A, la Etapa 2 y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el
procedimiento comprende la Etapa 1', la Etapa 2, la Etapa 2A y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el procedimiento
comprende la Etapa 1', la Etapa 1B, la Etapa 2 y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende la
Etapa 1', la Etapa 2, la Etapa 2B y la Etapa 3.
60

En una o más realizaciones, el método comprende la Etapa 1', la Etapa 2 y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el método comprende la Etapa 1', la Etapa 1A, la Etapa 2 y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el método comprende la Etapa 1', la Etapa 1B, la Etapa 2 y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el método comprende la Etapa 1', la Etapa 2, la Etapa 2A y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el método comprende la Etapa 1', la Etapa 2, la Etapa 2B y la Etapa 3. En algunas realizaciones, el método comprende la Etapa 1', la Etapa 1A, la Etapa 2, la Etapa 2A y la Etapa 3.

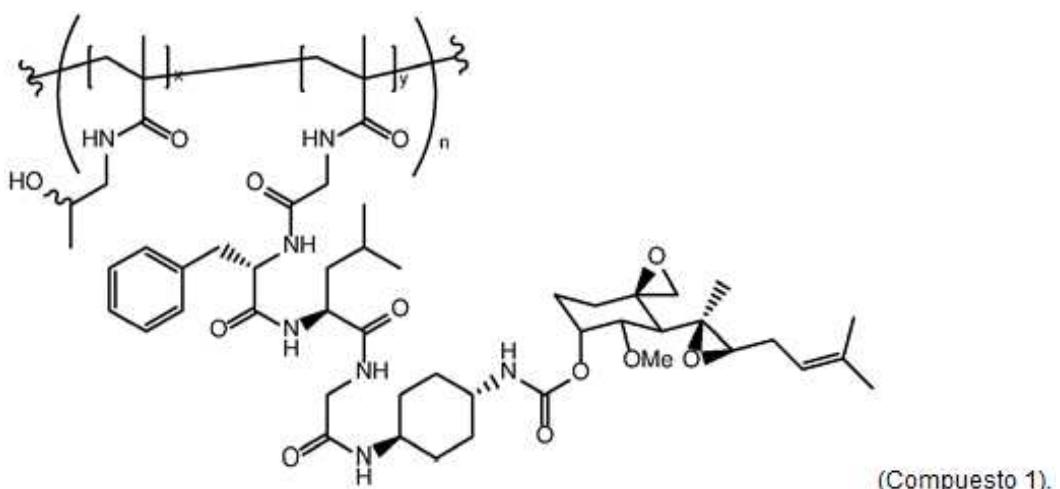
En una o más realizaciones, el ácido bencenosulfónico se añade en forma de una solución en un disolvente apropiado (p. ej., MTBE, metanol o una combinación de los mismos) a la solución de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo.

En una o más realizaciones, la adición de una cualquiera o una combinación de las Etapas 1A, 1B, 2A y 2B puede dar como resultado un rendimiento incrementado y/o una pureza mejorada del polimorfo resultante.

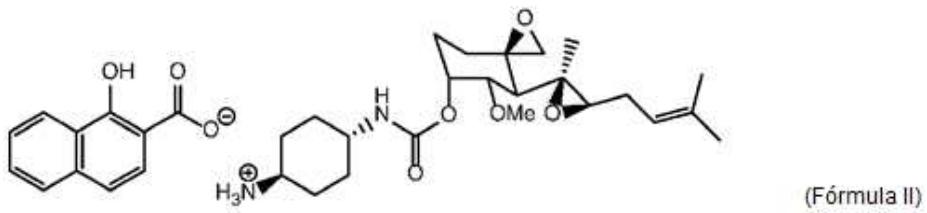
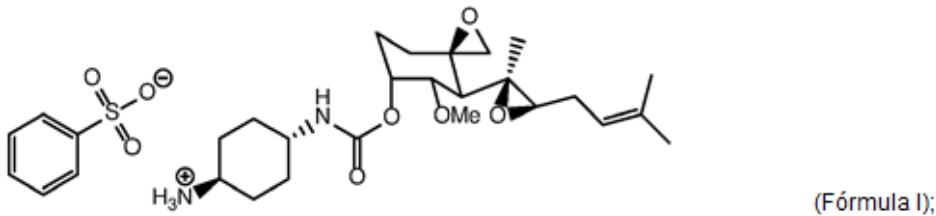
También se describe en esta memoria un procedimiento para preparar un compuesto de Fórmula III:



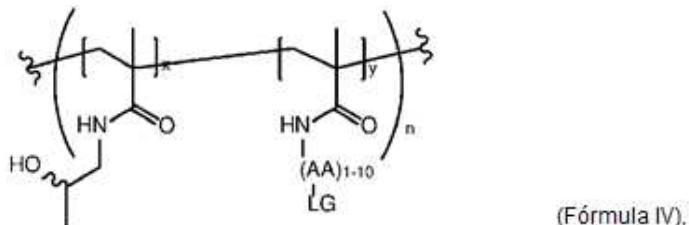
en donde AA es un aminoácido que se produce de forma natural o no natural, x es un número entero en el intervalo de 1 a aproximadamente 450, y es un número entero en el intervalo de 1 a aproximadamente 30, y n es un número entero en el intervalo de 1 a aproximadamente 50. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula III puede ser el Compuesto 1:



El método puede comprender poner en contacto un compuesto de Fórmula I o Fórmula II:



con un compuesto de Fórmula IV:



- 10 en donde x, y y n son cada uno como se definió arriba, y LG es un grupo saliente (p. ej., para-nitrofenilo).
- 15 También se describe en esta memoria la cristalización de un compuesto de Fórmula I o Fórmula II en acetato de etilo.
- 20 15 En una o más realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto altamente puro de Fórmula I.
- 25 En una o más realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el polimero de Forma II de Fórmula I y un soporte farmacéuticamente aceptable.
- 30 20 También se describe en esta memoria una composición que comprende un polimero de Fórmula II (p. ej., Forma A) y un soporte farmacéuticamente aceptable.
- 35 25 El polimero de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de acuerdo con la presente invención es más estable que la base libre correspondiente, *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, y puede aislarse con mayor pureza que la base libre. Además de ello, el polimero (Forma II) es más estable que determinadas otras sales de ácidos de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, incluida la sal hemi-tartrato. Debido a su pureza incrementada y estabilidad mejorada, el polimero de Fórmula I proporcionado en esta memoria puede utilizarse como un compuesto intermedio en la síntesis de derivados de fumagilol conjugados con polímero. Los conjugados poliméricos pueden utilizarse luego como agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades tales como enfermedades relacionadas con MetAP2. Además, el polimero de la presente invención se puede utilizar como un agente terapéutico.
- 40 35 También se describe en esta memoria el uso de un compuesto de Fórmula I o Fórmula II o un polimero del mismo para inhibir o disminuir la actividad de MetAP2. La actividad del inhibidor de MetAP2 puede influir en el inicio y desarrollo de una enfermedad, tal como el cáncer.
- 45 40 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el polimero de Forma II de la Fórmula I para uso en el tratamiento de una enfermedad.
- 45 45 La enfermedad puede ser, por ejemplo, cáncer o una enfermedad metabólica. En algunas realizaciones, la enfermedad es mieloma. En algunas realizaciones, la enfermedad es linfoma.
- 45 45 A menos que se defina lo contrario, todos los términos y expresiones técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto ordinario en la técnica a la que pertenece

esta solicitud. En la memoria descriptiva, las formas en singular también incluyen el plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Aunque se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta memoria en la práctica o ensayo de la presente solicitud, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Las referencias citadas en esta memoria no se admiten como técnica anterior a la presente solicitud. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Características y ventajas adicionales de la tecnología descrita en esta memoria resultarán evidentes para un experto en la técnica al leer la Descripción Detallada que figura más adelante.

10 **Breve Descripción de los Dibujos**

15 La Figura 1A muestra el espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I (sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo) (arriba) junto con un espectro de referencia (abajo).

20 La Figura 1B muestra una curva DSC de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I.

25 La Figura 1C muestra un gráfico TG/DTA de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I. El gráfico TG es el trazo superior y el gráfico DTA es el trazo inferior.

30 La Figura 2A muestra el espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I (arriba) junto con el mismo espectro de referencia que la Figura 1A (abajo).

35 La Figura 2B muestra una curva DSC de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I.

40 La Figura 2C muestra un gráfico TG/DTA de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I. El gráfico TG es el trazo superior y el gráfico DTA es el trazo inferior.

45 La Figura 3A muestra un espectro XRPD de una primera muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I preparado mediante un método de enfriamiento descrito en esta memoria como Enfriamiento-1.

50 La Figura 3B muestra un espectro XRPD de una segunda muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I preparado mediante un método de enfriamiento descrito en esta memoria como Enfriamiento-1.

55 La Figura 3C muestra un espectro XRPD de una tercera muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I preparado mediante un método de enfriamiento descrito en esta memoria como Enfriamiento-1.

60 La Figura 4A muestra un espectro XRPD de una primera muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I preparado mediante un método de anti-disolvente descrito en esta memoria como Antisol-1.

65 La Figura 4B muestra un espectro XRPD de una segunda muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I preparado mediante un método de anti-disolvente descrito en esta memoria como Antisol-1.

70 La Figura 4C muestra un espectro XRPD de una tercera muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I preparado mediante un método de anti-disolvente descrito en esta memoria como Antisol-1.

75 La Figura 5A muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I.

80 La Figura 5B muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma I de la Fórmula I.

85 La Figura 5C muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma III de la Fórmula I.

90 La Figura 5D muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma IV de la Fórmula I.

95 La Figura 6A muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma II de la Fórmula I con picos seleccionados. La lista de picos se proporciona en las Tablas 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

100 La Figura 6B muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma I de la Fórmula I con picos seleccionados. La lista de picos se proporciona en la Tabla 1.

105 La Figura 6C muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma III de la Fórmula I con picos seleccionados. La lista de picos se proporciona en la Tabla 9.

110 La Figura 6D muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma IV de la Fórmula I con picos seleccionados. La lista de picos se proporciona en la Tabla 10.

- La Figura 7 muestra un espectro de ^1H RMN de Fórmula I, así como las impurezas del disolvente.
- La Figura 8 muestra una vista de una sola molécula por análisis SXRD del polimorfo de Forma II de la Fórmula I.
- 5 La Figura 9 muestra un análisis de HPLC de Fórmula I.
- La Figura 10A muestra el espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II (sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo cristalizado en acetonitrilo.
- 10 La Figura 10B muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II cristalizado en acetato de etilo.
- 15 La Figura 10C muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II cristalizado en metil etil cetona.
- 20 La Figura 10D muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II cristalizado en tetrahidrofurano.
- 25 La Figura 10E muestra un espectro XRPD de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II con picos seleccionados.
- 30 La Figura 11 muestra una curva DSC de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II.
- 35 La Figura 12 muestra un gráfico TG/DTA de una muestra del polimorfo de Forma A de la Fórmula II. El gráfico TG se inclina hacia abajo de izquierda a derecha y el gráfico DTA se inclina hacia arriba de izquierda a derecha.
- 40 La Figura 13 muestra un espectro de ^1H RMN de Fórmula II.
- 45 La Figura 14A muestra un análisis por HPLC de la sal hidroxinaftoato de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula II) tomado de las aguas madres. Se muestra el mismo gráfico con una resolución inferior (arriba) y una resolución superior (abajo).
- 50 La Figura 14B muestra un análisis por HPLC de la sal hidroxinaftoato de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula II) tomado del compuesto sólido. Se muestra el mismo gráfico con una resolución inferior (arriba) y una resolución superior (abajo).
- La Figura 15A muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de linfoma de células B en función de la concentración.
- La Figura 15B muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de linfoma de células del manto en función de la concentración.
- La Figura 15C muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de linfoma de células B grandes difusas en función de la concentración.
- La Figura 15D muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de mieloma en función de la concentración.

50 Descripción Detallada

Polimorfos de la Presente Solicitud

- 55 La presente divulgación se refiere a sales de carbamatos de aminoalquilfumagilol (p. ej., sal del ácido bencenosulfónico y sal hidroxinaftoato) y polimorfos de los mismos. Específicamente, la presente invención se refiere a un polimorfo cristalino de Forma II de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I). También se describen polimorfos cristalinos la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula II). Otros polimorfos cristalinos de Fórmula I descritos en esta memoria son la Forma I, la Forma III o la Forma IV. En algunas realizaciones, los polimorfos son solvatos. También se describe en esta memoria la Forma polimórfica A de Fórmula II. Los polimorfos cristalinos descritos en esta memoria se pueden utilizar como compuestos intermedios en la síntesis de derivados de fumagilol conjugados con polímero, o como agentes terapéuticos.
- 60 En una o más realizaciones, la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto muy puro de Fórmula I. También se describe en esta memoria una composición que comprende un compuesto muy puro de Fórmula II. En algunas realizaciones, la composición puede comprender, además, un soporte farmacéutico. El

compuesto de Fórmula I o II puede ser muy puro, p. ej., puede tener una pureza de más de aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, 99,5%, aproximadamente 99,9% o aproximadamente 99,99%. Un compuesto de Fórmula I o II (es decir, sal de ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo o sal de ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo) puede prepararse con una alta pureza (p. ej., una pureza mayor que aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, 99,5%, aproximadamente 99,9% o aproximadamente 99,99%) mediante cristalización. Sin desear estar ligado por la teoría, la alta pureza de un

5 compuesto tal como la Fórmula I o II puede ser difícil de lograr con la base libre (es decir, la base libre de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo) o determinadas otras sales de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo), debido a una cantidad significativa de impurezas, por ejemplo, como resultado de la autocondensación 10 de la base libre.

15 Los polimorfos de Fórmula I o II descritos en esta memoria pueden comprender solvatos. El disolvente presente en los solvatos puede ser, por ejemplo, un disolvente orgánico a partir del cual se cristaliza el polimorfo, o agua. En algunas realizaciones, el disolvente puede ser agua o MTBE. En algunas realizaciones, los polimorfos descritos en esta memoria contienen menos de 10% de disolvente tal como MTBE (p. ej., < 5%, < 4%, < 3%, < 2% o < 1% de disolvente). En algunas realizaciones, los polimorfos contienen menos de 1% de agua (p. ej., < 0,5%, < 0,4%, < 0,3%, 20 < 0,2% o < 0,1%). Además de MTBE, el disolvente puede ser un disolvente orgánico utilizado en el proceso de recristalización, tal como acetato de etilo.

25 Como se define en esta memoria, "XRPD" o "XPD" se entiende que significa difracción de rayos X de polvo. Se entiende que la abreviatura "DSC" significa calorimetría diferencial de barrido. Se entiende que la abreviatura "TG" significa termogravimetría. La abreviatura "DTA" se entiende que significa análisis térmico diferencial y la abreviatura "TG/DTA" se entiende que significa termogravimetría/análisis térmico diferencial.

Como se define en esta memoria, "GMP" se entiende que significa Buena Práctica de Fabricación.

30 Tal como se utiliza en esta memoria, "MTBE" significa metil *terc*-butil éter, también conocido como tBME.

35 Como se define en esta memoria, "puro" se entiende que significa que un compuesto tiene una composición química uniforme. Se entiende que un compuesto puro no contiene moléculas de otra composición química en una cantidad apreciable, p. ej., menos de 5%, menos de 4%, menos de 3%, menos de 2% o menos de 1%. En algunos casos, la pureza se mide excluyendo cualquier disolvente (p. ej., disolvente orgánico, tal como MTBE y acetato de etilo, y disolvente inorgánico tal como agua).

40 Tal como se define en esta memoria, "estable" o "estabilidad" se refiere a la capacidad de un compuesto de permanecer puro durante un período de tiempo. Un compuesto estable puede ser uno que mantiene su pureza (p. ej., 45 no tiene moléculas de una fórmula química no deseada) a pesar de un almacenamiento prolongado (p. ej., más de un mes, más de seis meses o más de un año). Un compuesto estable también puede ser un compuesto que permanece puro a pesar de condiciones tales como alta temperatura o humedad.

45 **Fórmula I: Sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo Forma I, Fórmula I (no de acuerdo con la presente invención)**

50 La Forma I de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I) se puede cristalizar en acetonitrilo, por ejemplo, a aproximadamente 50 °C, y en diclorometano, por ejemplo, a aproximadamente 5 °C. La Forma I de Fórmula I puede tener picos medidos por XRPD a aproximadamente 6,1, 8,6 y 16,4 °2θ. Por ejemplo, la Forma I de Fórmula I puede tener picos en aproximadamente 6,1, 8,6, 12,3, 16,4, 17,4 y 18,4 °2θ. Por ejemplo, la Forma I de Fórmula I puede tener picos en aproximadamente 6,1, 8,6, 10,7, 12,3, 16,4, 17,4, 55 18,4, 20,5 y 23,8 °2θ. Por ejemplo, la Forma I de Fórmula I puede tener picos en aproximadamente 6,1, 8,6, 10,7, 12,3, 15,1, 16,4, 17,4, 18,4, 20,5, 22,4, 23,8 y 24,7 °2θ. Por ejemplo, la Forma I de Fórmula I puede tener picos como los enumerados en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la Forma I de Fórmula I tiene un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en las Figuras 5B o 6B.

60 Tabla 1. XRPD Forma I, Fórmula I

Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
6,1167	1429,4	75,72
8,6007	1887,72	100

Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
10,6694	310,56	16,45
12,2829	461,9	24,47
15,1132	222,16	11,77
16,3746	730,79	38,71
17,351	490,17	25,97
18,4292	450,01	23,84
19,613	158,82	8,41
20,501	420,58	22,28
21,5361	114,8	6,08
22,4222	208,25	11,03
23,785	272,15	14,42
24,6863	126,02	6,68
27,0994	46,3	2,45

Forma II, Fórmula I

- 5 La Forma II de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I) se puede cristalizar en un cierto número de disolventes. Los disolventes incluyen, pero no se limitan a acetona, anisol, 1-butanol, ciclohexano, diisopropil éter, 1,4-dioxano, acetato de etilo, heptano, hexano, acetato de isopropilo, metiletil cetona, metilisobutil cetona, metiltetrahidrofurano, *terc*-butilmethyl éter, tetrahidrofurano y tolueno y una mezcla de los mismos.
- 10 A continuación se describen diversas tandas del polimorfo de Forma II.
- La tanda "GMP-1" se produjo utilizando buena práctica de fabricación en una escala de 65 gramos. Los cristales tenían una morfología en forma de varilla caracterizada por microscopía de luz polarizada (PLM).
- 15 La tanda "GMP-2" se produjo utilizando buena práctica de fabricación en una escala de 60 gramos. Los cristales tenían una morfología en forma de varilla caracterizada por microscopía de luz polarizada (PLM).
- 20 La tanda "Enfriamiento-1" se produjo en una escala de 8 gramos como se recoge en el Ejemplo 3 que figura más adelante. La tanda se produjo disolviendo sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en 39 mL de una mezcla 50:50 de metil-*terc*-*butil* éter (MTBE) y metanol. El compuesto se disolvió a 50 °C y se enfrió lentamente a 5 °C antes de añadir MTBE adicional. Se tomaron tres muestras de la tanda Enfriamiento-1, en los momentos (i) antes de añadir MTBE adicional, (ii) después de la adición de 30 mL de MTBE y (iii) después de la adición de 60 mL de MTBE. Los espectros XRPD de las tres muestras tomadas de la tanda Enfriamiento-1 se muestran en las Figuras 3A, 3B y 3C, respectivamente.
- 25 La tanda "Antisol-1" se produjo en una escala de 8 gramos como se recoge en el Ejemplo 4 que figura más adelante. La tanda se produjo disolviendo sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en 39 mL de una mezcla 50:50 de metil-*terc*-*butil* éter (MTBE) y metanol. El compuesto se disolvió a 50 °C y se añadió MTBE adicional antes de que la solución se enfriara a 5 °C. Se tomaron tres muestras de la tanda Antisol-1, en los momentos (i) antes de añadir MTBE adicional, (ii) después de la adición de 30 mL de MTBE y (iii) después de la adición de 60 mL de MTBE. Los espectros XRPD de las tres muestras tomadas de la tanda Antisol-1 se muestran en las Figuras 4A, 4B y 4C, respectivamente.
- 30 La Forma II de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos en aproximadamente 6,0, 9,0 y 18,0 (p. ej., aproximadamente 5,96, 9,00 y 18,02) °2θ utilizando radiación Cu Kα.
- 35 De acuerdo con la presente invención, la Forma II se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a aproximadamente 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 16,1 y 18,0 °2θ utilizando radiación Cu Kα. En otra realización, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a aproximadamente 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 18,0, 20,0 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Kα. En otra realización, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a aproximadamente 5,4, 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 17,3, 18,0, 20,0, 20,8 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Kα. En

otra realización, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a aproximadamente 5,4, 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 17,3, 18,0, 20,0, 20,8, 21,5, 22,0, 24,3 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Ka. En otra realización, la Forma II de Fórmula I se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos como los enumerados en cualquiera de las Tablas 2-7.

- 5 En una o más realizaciones, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 1A. En una o más realizaciones, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 2A. En una o más realizaciones, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 3A, 3B o 10 3C. En una o más realizaciones, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 4A, 4B o 4C. En una o más realizaciones, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5A. En una o más 15 realizaciones, la Forma II se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 6A.
- 15 En una o más realizaciones, el polimorfo de Forma II se caracteriza por el inicio de un evento exotérmico a aproximadamente 178 °C y un pico a aproximadamente 188 °C, medido por calorimetría diferencial de barrido. En la Figura 1B y la Figura 2B se muestra un gráfico DSC de la Forma II de Fórmula I. En una o más realizaciones, el polimorfo de la Forma II se caracteriza por un inicio exotérmico a aproximadamente 181 °C y un pico a 20 25 aproximadamente 191 °C, según se mide por análisis termogravimétrico/análisis térmico diferencial. Las Figuras 1C y 2C muestran un gráfico TG/DTA de una muestra de la Forma II de Fórmula I.
- 25 Como se muestra en las Tablas y Figuras de la presente solicitud, no todos los valores de los picos (pos. °2θ) son idénticos para diferentes lotes de los polimorfos. Un experto ordinario en la técnica comprenderá que incluso diferentes 30 lotes de las mismas formas polimórficas pueden producir datos de caracterización ligeramente diferentes, sin ser apreciablemente diferentes. Por ejemplo, ligeras variaciones en la calibración de los instrumentos utilizados para realizar una determinada medición, o pequeñas fluctuaciones en la humedad relativa entre mediciones pueden dar lugar a datos que muestren ligeras diferencias entre lotes. Por tanto, un experto ordinario en la técnica será capaz, por ejemplo, de calibrar sus instrumentos y tomar mediciones repetidas con el fin de minimizar cualquier discrepancia entre las señales para caracterizar adecuadamente los polimorfos de la presente solicitud. Sin embargo, a pesar de algunas variaciones menores en las diferencias entre tandas, los polimorfos de la presente solicitud se identifican y caracterizan por sus picos característicos, tales como los descritos arriba (p. ej., aproximadamente 6,0, 9,0 y 18,0 °2θ, por ejemplo ± 0,2 °2θ).

35 XRPD

Tabla 2.
XRPD: Forma II Lote GMP-1

Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
8.99	2292.63	100
18.02	1194.53	52.1
5.96	1055.05	46.02
16.08	794.78	34.67
12.48	528.62	23.06
12.32	508.7	22.19
20.04	353.67	15.43
13.82	326.19	14.23
25.78	310.13	13.53
5.39	306.46	13.37
20.79	281.18	12.26
17.27	249.04	10.86
24.32	217.84	9.5

Tabla 2.
XRPD: Forma II Lote GMP-2

Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
9.00	6533.85	100
18.02	4057.53	62.1
5.95	3332.7	51.01
12.32	1756.69	26.89
12.48	1360.92	20.83
16.08	1300.05	19.9
13.82	1085.52	16.61
17.87	1078.09	16.5
20.03	1007.35	15.42
20.14	899	13.76
5.39	896.21	13.72
14.36	815.25	12.48
17.26	784.67	12.01

21.54	210.18	9.17
21.98	208.01	9.07
10.00	203.08	8.86
14.38	202.31	8.82
19.61	179.49	7.83
19.00	172.73	7.53
21.14	161.24	7.03
15.79	138.7	6.05
13.07	128.38	5.6
23.94	99.23	4.33
18.70	94.49	4.12
23.01	91.22	3.98
29.03	68.33	2.98
28.21	56.3	2.46
33.11	46.77	2.04
14.94	37.71	1.64
29.68	35.69	1.56
32.16	35.39	1.54
34.25	33.94	1.48
27.06	33.53	1.46
27.82	30.73	1.34

25.79	758.4	11.61
20.79	745.89	11.42
21.97	669.33	10.24
18.99	652.12	9.98
9.99	648.17	9.92
24.31	646.65	9.9
21.13	598.47	9.16
15.74	595.88	9.12
21.51	585.44	8.96
13.06	579.41	8.87
19.62	557.36	8.53
17.02	499.73	7.65
18.69	465.8	7.13
8.01	426.96	6.53
14.91	405.49	6.21
10.78	392.79	6.01
23.90	380.52	5.82
23.00	305.39	4.67
24.78	276.59	4.23
22.78	260.64	3.99
25.52	242.18	3.71
25.08	220.39	3.37
28.99	209.17	3.2
29.76	200.54	3.07
28.22	197.55	3.02
27.13	184.71	2.83
27.83	167.87	2.57
33.09	144.72	2.21
32.11	136.73	2.09
30.78	92.44	1.41
34.20	54.61	0.84

Tabla 4.
XRPD: Forma II Muestra 1

Pos. [°2θ]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
8.9883	29895.24	100
5.9444	24665.57	82.51
17.905	4967.24	16.62

Tabla 5.
XRPD: Forma II Muestra 2

Pos. [°2θ]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
8.9899	19068.27	100
5.9315	16639.22	87.26
18.0439	12566.18	65.9

Tabla 6.
XRPD: Forma II Muestra 3

Pos. [°2θ]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
8.9857	8341.43	72.47
5.9053	11509.82	100
18.0327	6950.15	60.38

ES 2 893 749 T3

12.3277	7943.24	26.57	12.3263	7583.04	39.77	12.2907	5921.19	51.44
16.1017	9049.99	30.27	16.0756	6535.63	34.27	16.0291	5586.66	48.54
20.0906	6290.97	21.04	20.1243	4851.73	25.44	20.0889	4141.24	35.98
19.6629	2957.3	9.89	20.0439	4842.6	25.4	19.9747	4522.96	39.3
17.272	3388.1	11.33	17.8661	3990.95	20.93	17.8002	2620.14	22.76
17.1718	1690.94	5.66	17.267	3364.67	17.65	17.2407	3139.83	27.28
12.4867	3321.58	11.11	12.4884	3327.18	17.45	12.4818	1890.54	16.43
13.8231	3650.26	12.21	13.8234	3066.38	16.08	13.8238	1949.89	16.94
20.8269	3124.43	10.45	20.8208	2990.29	15.68	20.7951	2335.76	20.29
5.3838	6026.77	20.16	5.3789	2987.29	15.67	5.3727	1693.62	14.71
21.1492	1553.58	5.2	21.5186	2508.08	13.15	21.4331	2515.86	21.86
15.7853	2741.92	9.17	15.746	2458.11	12.89	15.6809	2585.84	22.47

Tabla 7.

XRPD: Forma II, Muestra 4		
Pos. [°2Th.]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
5,3093	1244,06	18,28
5,8984	6804,14	100
7,9915	707,93	10,4
8,9709	5449,2	80,09
9,9856	825,88	12,14
10,8292	176,02	2,59
12,3361	3965,52	58,28
13,0963	939,36	13,81
13,8426	896,8	13,18
14,4041	995,36	14,63
14,9915	377,62	5,55
16,1437	3176,27	46,68
17,3169	1815,16	26,68
18,058	5119,79	75,25
18,7258	1009,12	14,83
20,1593	3343,08	49,13
20,909	1389,65	20,42
21,5739	1544,49	22,7
23,0932	669,98	9,85
24,3348	1052,13	15,46
25,017	365,35	5,37
25,8461	973,81	14,31
27,263	378,02	5,56
28,4112	319,74	4,7
29,1217	426,3	6,27
29,8278	286,56	4,21

XRPD: Forma II, Muestra 4		
Pos. [°2Th.]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
30,9418	143,49	2,11
32,2423	215,01	3,16
33,2569	205,76	3,02
34,3252	106,84	1,57

Datos de Polarimetría

- 5 La Tabla 8 presenta los datos de polarimetría para los lotes GMP-1 y GMP-2 de Fórmula I.

Tabla 8. Datos de polarimetría para los lotes GMP-1 y GMP-2 de la Forma II.

Muestra	Peso (mg)	Volumen (mL)	Concentración (mg/mL)	Ángulo (°)	Temperatura (°C)	Rotación Óptica
GMP-1	12,12	1,1	1,1	-0,315	25,75	-28,59
GMP-1	Dilución 10x		0,11	-0,029	26,01	-26,32
GMP-2	11,4	1,1	1,04	-.306	26,2	-29,53
GMP-2	Dilución 10x		0,1	-0,03	26,27	-28,95

10

Análisis de rayos X de mono-cristal (SXRD)

En la Figura 8 se muestra una estructura cristalina de Fórmula I. Todos los átomos que no son de hidrógeno se muestran con elipsoides térmicos establecidos en niveles de probabilidad del 30%.

15

Se encontró que la unidad asimétrica contenía dos unidades de fórmula completa de *N*-(trans-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo protonado con dos aniones bencenosulfonato asociados solamente. Durante el refinamiento, se observaron grandes elipsoides de desplazamiento térmico para los átomos de carbono C(20B), C(21B), C(22B) y C(23B), de la molécula del resto alqueno 'B'.

20

Se observó un desorden adicional para la 'molécula B' de bencenosulfonato centrada en el átomo de azufre S(1B) que también exhibía grandes elipsoides de desplazamiento térmico para el anillo de bencilo C(24B) < C(29B). El desorden rotacional en el resto sulfonato de esta molécula, centrado en S(1B), fue observado y modelado con éxito con ocupaciones de 0,78 : 0,22 y distancias de enlace fijas de 1,48(1) para S(1B) - O(6B) y S(1B) - O(8C) y 1,44(1) para S(1B) - O(7C).

25

Se encontró que aproximadamente el 1,5% de la celda unitaria estaba ocupada por dos huecos de disolvente que medían aproximadamente 168 Å³ y 812 Å³, llenos de densidad de electrones de 74 y 137 electrones, respectivamente. Sin desear estar ligados por la teoría, lo más probable es que estos surjan de moléculas de disolvente desordenadas, por lo tanto la densidad de electrones dentro de estos huecos se modeló con pequeñas fracciones molares de moléculas de disolvente; 0,27 equivalentes de agua, 0,12 equivalentes de metanol y 0,06 equivalentes de MTBE. De estos, el metanol parcialmente ocupado y dos moléculas de agua parcialmente ocupadas se refinaron en el origen de la celda unitaria.

30

35 Para corregir los efectos de extinción en los datos observados, se aplicó una corrección de extinción de 0,00031(3) y todos los átomos de hidrógeno se colocaron en posiciones calculadas y se refinaron utilizando un modelo de conducción con Uiso fijo de 1,2 veces para todos los grupos CH, CH₂, NH y NH₃, y Uiso fijo de 1,5 veces para todos los grupos CH₃.

40

El pico de Fourier residual más alto fue 0,80 e. Å³ aprox. 1,1 Å³ de C(30). Sin desear estar ligados por la teoría, esto probablemente surja de un desorden adicional presente en el hueco de disolvente ocupado por la molécula de MTBE modelada centrada en O(9). Se encontró que el agujero de Fourier más profundo era -0,41 e. Å aproximadamente 1,54 Å desde H(9AA).

Forma III, Fórmula I (no de acuerdo con la presente invención)

El polimero de la Forma III de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede cristalizar en etanol e isopropanol, por ejemplo, a aproximadamente 50 °C a aproximadamente 5 °C. La Forma III de Fórmula I puede tener picos de XRPD a aproximadamente 8,3, 12,8 y 15,7, °2θ. Por ejemplo, la Forma III de Fórmula I puede tener picos de XRPD en aproximadamente 8,3, 12,8, 14,3, 15,7, 18,5 y 21,8 °2θ. Por ejemplo, la Forma III de Fórmula I puede tener picos de XRPD en aproximadamente 8,3, 12,8, 14,3, 15,7, 17,6, 18,5, 21,0, 21,8 y 23,5 °2θ. Por ejemplo, la Forma III de Fórmula I puede tener picos de XRPD en aproximadamente 8,3, 12,8, 14,3, 15,7, 17,6, 18,5, 19,3, 20,3, 21,0, 21,8, 23,5 y 24,1 °2θ. Por ejemplo, la Forma III de Fórmula I puede tener picos de XRPD en aproximadamente 8,3, 9,0, 12,8, 14,3, 15,7, 17,6, 18,5, 19,3, 20,3, 21,0, 21,8, 22,2, 23,5, 24,1 y 25,0 °2θ. La Forma III puede tener un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5C o 6C. Por ejemplo, la Forma III de Fórmula I puede tener picos de XRPD como los enumerados en la Tabla 9.

Tabla 9. XRPD Forma III, Fórmula I

Pos. [°2Th.]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
5,1248	369,56	19,97
6,3894	618,31	33,41
6,9527	766,75	41,43
8,3369	1850,64	100
8,9513	846,4	45,74
10,6059	450,05	24,32
11,072	411,19	22,22
11,5701	612,01	33,07
12,7812	1447,09	78,19
14,3353	1427,54	77,14
15,6538	1433,02	77,43
16,6351	670,59	36,24
17,628	1056,55	57,09
18,5131	1222,17	66,04
19,2685	1009,03	54,52
20,2738	1043,81	56,4
20,982	1198,18	64,74
21,7521	1239,19	66,96
22,2474	980,74	52,99
23,477	1216,72	65,75
24,0855	986,18	53,29
24,9597	929,76	50,24
26,5001	357,4	19,31
27,4588	483,19	26,11
28,3362	269,08	14,54
29,0412	177,76	9,61
30,9816	153,44	8,29
31,6617	133,45	7,21
32,864	136,34	7,37

Forma IV, Fórmula I (no de acuerdo con la presente invención)

El polimorfo de la Forma IV de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede cristalizar en una mezcla de isopropanol y agua (10%) por ejemplo, a aproximadamente 0 °C y 5 °C. La Forma IV puede tener picos de XRPD a aproximadamente 5,1, 7,3 y 14,0 °2θ. Por ejemplo, la Forma IV puede tener picos de XRPD en aproximadamente 5,1, 7,3, 14,0, 18,2, 18,9 y 24,1 °2θ. Por ejemplo, la Forma IV puede tener picos de XRPD en aproximadamente 5,1, 7,3, 14,0, 17,1, 18,2, 18,9, 23,5, 24,1 y 24,7 °2θ. Por ejemplo, la Forma IV puede tener un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en la Figura 5D o 6D. Por ejemplo, la Forma IV de Fórmula I puede tener picos de XRPD como los enumerados en la Tabla 10.

10

Tabla 10. XRPD Forma IV, Fórmula I

Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
5,0775	2559,74	74,35
7,3459	3442,92	100
8,5936	502,16	14,59
10,3093	64,58	1,88
11,9251	532,02	15,45
13,9944	2086,82	60,61
15,5507	563,93	16,38
17,1319	861,86	25,03
18,2148	1522,11	44,21
18,9336	1234,32	35,85
19,8473	395,05	11,47
20,6326	420,07	12,2
21,5992	179,33	5,21
22,7326	154,21	4,48
23,4964	655,23	19,03
24,0717	1007,8	29,27
24,6912	588,52	17,09
25,1577	373,23	10,84
25,7711	255,62	7,42
27,1449	150,16	4,36
27,8294	171,44	4,98
28,6064	103,14	3
29,67	65,19	1,89
30,6056	111,81	3,25
32,139	119,25	3,46

15 Los polimorfos de la presente solicitud pueden poseer una alta pureza. En una o más realizaciones, la pureza se puede medir por resonancia magnética nuclear (p. ej., ¹H RMN). Condiciones representativas de ¹H RMN se dan a continuación en la sección experimental. En algunas realizaciones, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo puede tener un espectro de ¹H RMN como se recoge en la Figura 7. En algunas realizaciones, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo 20 puede tener un espectro de ¹H RMN como se recoge a continuación.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7,89-7,87 (2H, m, ArH), 7,47-7,45 (3H, m, ArH), 5,45 (1H, s a, CH), 5,21 (1H, t, *J* = 6,8 Hz, CH), 3,63 (1H, dd, *J* = 11,3 2,8 Hz, CH), 3,45 (3H, s, OCH₃), 3,36-3,30 (1H, a m), 2,97 (1H, d, *J* = 4,1 Hz), 2,92 (1H, t, *J* = 11,7 Hz), 2,59 (1H, t, *J* = 6,1 Hz, CH), 2,55 (1H, d, *J* = 4,1 Hz), 2,40-2,35 (1H, m), 2,20-2,14 (1H, m), 2,08-

1,93 (8H, m), 1,84 (1H, d, J = 12,9), 1,74 (3H, s, =CCH₃), 1,67 (3H, s, =CCH₃), 1,48-1,38 (2H, m), 1,28-1,24 (1H, m), 1,22 (2H, s), 1,07 (3H, t, J = 12,6 Hz).

- 5 En una o más realizaciones, la pureza se puede medir por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando un detector evaporativo de dispersión de luz (ELSD) o un detector de aerosol cargado (CAD). Condiciones experimentales representativas de HPLC se dan más adelante en la sección experimental. En algunas realizaciones, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo tiene un tiempo de retención de aproximadamente 8,75 minutos.
- 10 En la Figura 9 se muestra un par de gráficos de HPLC. Como se muestra en la Figura 9 y la Tabla 11, se observaron los siguientes picos utilizando análisis de HPLC, lo que demuestra que la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo era superior al 99% de pureza.

15 Tabla 11. Picos de HPLC para la Fórmula I

Pico Nº	RT (min)	Tipo	Área	Área %	Simetría
1	8,749	MM	1,11855x10 ⁴	99,350	0,666
2	9,932	MM	8,80503	0,078	0,294
3	16,502	MF	20,77493	0,185	0,353
4	17,469	MM	38,02194	0,338	0,296
5	18,169	MM	5,58436	0,050	0,432

- 20 En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo) y polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) tienen una pureza mayor que aproximadamente 90% (p. ej., mayor que aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, aproximadamente 99,5%, aproximadamente 99,9% o aproximadamente 99,99%). En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) tienen una pureza mayor que aproximadamente 95%. En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) tienen una pureza mayor que aproximadamente 97%. En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) tienen una pureza mayor que aproximadamente 98%. En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) tienen una pureza mayor que aproximadamente 99% (p. ej., aproximadamente 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% o 99,9%).
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,5% de impurezas de aminociclohexilo. En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de impurezas de aminociclohexilo.
- Fórmula II: Sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (no de acuerdo con la presente invención)**

También se describe en esta memoria un polimorfo de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo.

Forma A, Fórmula II

50 La Forma A de sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede cristalizar en un cierto número de disolventes. Estos disolventes incluyen, pero no se limitan a acetonitrilo, acetato de etilo, metil etil cetona y tetrahidrofurano.

55 Se describe en esta memoria un polimorfo (Forma A) de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula II) que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo en aproximadamente 5,6, 8,9 y 15,4 grados 2 θ . Por ejemplo, el polimorfo se puede caracterizar, además, por un patrón de difracción de rayos X de polvo a aproximadamente 5,6, 8,9, 11,5, 12,1, 15,4 y 20,9 grados 2 θ . Por ejemplo,

el polimorfo se puede caracterizar, además, por un patrón de difracción de rayos X de polvo a aproximadamente 5,6, 8,9, 11,5, 12,1, 15,4, 15,9, 19,7, 20,9 y 23,3 grados 2θ. Por ejemplo, el polimorfo se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X de polvo a aproximadamente 5,6, 8,9, 11,5, 12,1, 14,6, 15,4, 15,9, 17,4, 18,1, 19,7, 20,9 y 23,3 grados 2θ. Por ejemplo, el polimorfo se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos como los enumerados en la Tabla 12 o 13.

La forma A de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo puede caracterizarse, además, por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al recogido en una cualquiera de las Figuras 10A-10E.

La forma A de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede caracterizar, además, por un inicio endotérmico a aproximadamente 182 °C y un pico a aproximadamente 186 °C medido por DSC. La Figura 11 muestra una curva de calorimetría diferencial de barrido de una muestra de Forma A de la Fórmula II.

La Forma A de la sal del ácido hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede caracterizar por un inicio endotérmico a aproximadamente 186 °C y un pico a aproximadamente 187 °C y una exotermia a aproximadamente 191 °C (pico), medido por análisis termogravimétrico/análisis térmico diferencial. La Figura 12 muestra un gráfico análisis termogravimétrico/análisis térmico diferencial de una muestra de Forma A de la Fórmula II.

XRPD

Tabla 12:

XRPD: Forma A, Muestra 1		
Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
5,6956	599,63	92,09
9,0569	262,37	40,3
10,0137	118,61	18,22
11,6512	341,09	52,39
12,2313	242,39	37,23
14,7902	232,74	35,75
15,4637	336,92	51,75
15,8821	386,48	59,36
16,9949	116,85	17,95
17,5469	179,39	27,55
18,2406	185,25	28,45
19,1325	261,53	40,17
19,7382	403,45	61,96
20,1884	157,67	24,22
21,0152	651,11	100
22,5661	146,19	22,45
23,3409	296,97	45,61
25,516	238,09	36,57
26,8343	146,66	22,53
27,856	94,23	14,47
28,4573	108,59	16,68
29,0808	49,76	7,64

Tabla 13:

XRPD: Forma A, Muestra 2		
Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	Int. Rel. [%]
5,5828	253,59	100
8,8636	243,99	96,21
11,4267	138,44	54,59
12,0735	144,39	56,94
14,5046	46,24	18,24
15,2983	28,62	11,29
17,3229	32,59	12,85
18,0214	65,49	25,83
18,9576	107,63	42,44
19,678	46,2	18,22
20,868	122,31	48,23
22,2225	21,72	8,56
23,2571	57,8	22,79
24,4664	12,31	4,86
25,2213	30,75	12,12
26,6598	13,23	5,22
28,086	5,49	2,16

5 El compuesto de Fórmula II puede tener un espectro de ^1H RMN como se muestra en la Figura 13, o un espectro de ^1H RMN como se recoge a continuación:

10 ^1H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 8,39 (1H, d, J = 8,2 Hz, ArH), 7,83 (1H, d, J = 8,8 Hz, ArH), 7,76 (1H, d, J = 8,2 Hz, ArH), 7,54-7,46 (2H, td, J = 27,2 7,3 Hz), 7,23 (1H, d, J = 8,5 Hz), 5,45 (1H, s a), 5,19 (1H, t, J = 6,8 Hz, CH), 3,69 (1H, dd, J = 11,7 2,2 Hz, CH), 3,48 (3H, s, OCH₃), 3,19 (1H, t, J = 10,9 Hz), 2,91 (1H, d, J = 3,8 Hz), 2,84 (1H, t, J = 6,3 Hz), 2,46 (1H, d, J = 4,1 Hz, CH), 2,42 (1H, t, J = 7,9 Hz), 2,29 (1H, d, J = 9,8 Hz), 2,20-2,03 (7H, m), 1,98-1,91 (2H, m), 1,77 (3H, s, =CCH₃), 1,68 (3H, s, =CCH₃), 1,52-1,36 (4H, m), 1,20 (3H, s, CCH₃), 0,88 (1H, d, J = 13,2 Hz).

15 El compuesto de Fórmula II puede tener gráficos de HPLC como se muestra en la Figura 14A y la Figura 14B. Como se recoge en la Figura 14A, el gráfico superior es un gráfico de baja resolución de las aguas madres, mientras que el gráfico inferior muestra el mismo análisis a una resolución más alta. Los picos correspondientes a la Figura 14A se dan más adelante en la Tabla 14A. Como se recoge en la Figura 14B, el gráfico superior es un gráfico de baja resolución del producto de Fórmula II sólido, mientras que el gráfico inferior muestra el mismo análisis a una resolución más alta. Los picos correspondientes a la Figura 14B se dan más adelante en la Tabla 14B.

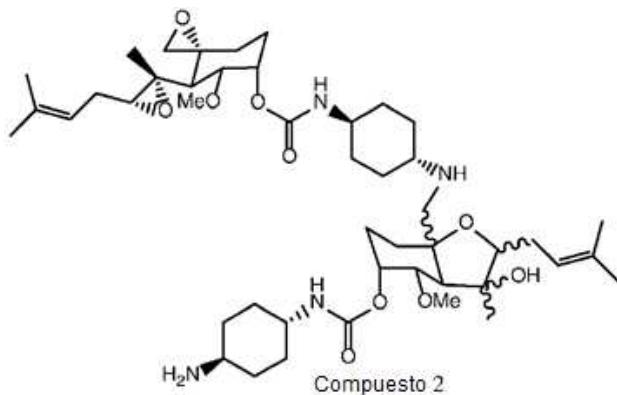
20 Tabla 14A Picos de HPLC para la Fórmula II - Aguas Madres

Pico Nº	RT (min)	Tipo	Área	Área %	Simetría
1	7,757	MM	5403,40820	88,086	0,763
2	8,563	MM	698,02496	11,379	0,715
3	8,865	MM	32,83583	0,535	0,862

Tabla 14B Picos de HPLC para la Fórmula II - Producto Sólido

Pico Nº	RT (min)	Tipo	Área	Área %	Simetría
1	4,487	MM	6,63760	0,082	0,457
2	5,307	MM	9,91478	0,122	0,242
3	7,543	MM	8111,79004	99,796	0,942

En una o más realizaciones, las sales presentadas en esta memoria (es decir, sales del ácido bencenosulfónico e hidroxinaftoico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos descritos en esta memoria (p. ej., Forma II y Forma A) comprenden menos de 0,5% del siguiente Compuesto 2:

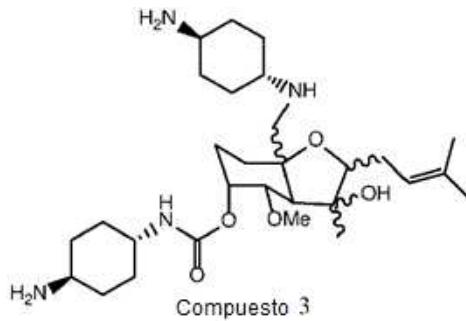


5

En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de Compuesto 2.

10

En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II y Forma A) comprenden menos de 0,5% de impurezas del siguiente Compuesto 3:

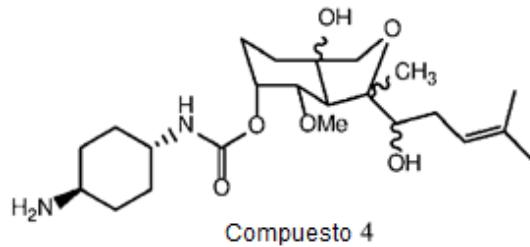


15

En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de Compuesto 3.

20

En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II y Forma A) comprenden menos de 0,5% de impurezas del siguiente Compuesto 4:

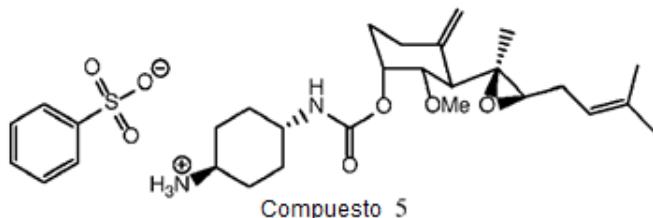


25

En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de Compuesto 4.

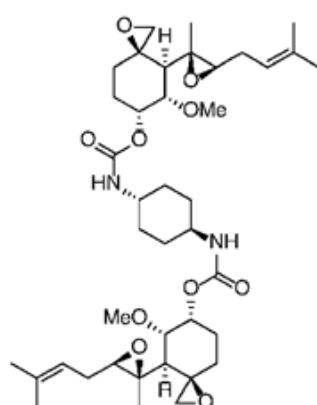
30

En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II y Forma A) comprenden menos de 0,5% de impurezas del siguiente Compuesto 5:



5 En una o más realizaciones, las sales (p. ej., la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de Compuesto 5.

10 En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II y Forma A) comprenden menos de 0,5% de impurezas del siguiente Compuesto 6:



Compuesto 6

15 En una o más realizaciones, las sales (p. ej., la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II) comprenden menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de Compuesto 6.

20 En una o más realizaciones, las sales (es decir, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato) de fumagil-6-ilo y los polimorfos (p. ej., Forma II y Forma A) son muy estables. La estabilidad, como se define en esta memoria, se entiende como la capacidad de un compuesto de mantener un cierto, preferiblemente alto nivel de pureza durante un período de tiempo prolongado. En algunas realizaciones, la estabilidad se puede definir como permanecer puro en más del 95% durante al menos seis meses. En algunas realizaciones, los polimorfos de la presente solicitud pueden conservar su pureza durante largos períodos de tiempo e incluso a temperaturas y/o humedad relativa elevadas. En algunas realizaciones, los polimorfos de la presente solicitud pueden conservar su pureza durante más de 1 mes, 2 meses, 3 meses o 6 meses a temperaturas elevadas (p. ej., mayor que 25 °C, mayor que 30 °C o mayor que 35 °C) y/o humedad relativa elevada (p. ej., mayor que 50% de HR, mayor que 60% de HR, mayor que 75% de HR o mayor que 90% de HR). En algunas realizaciones, los compuestos de la divulgación (p. ej., Forma II de Fórmula I y Forma A de Fórmula II) también pueden conservar su pureza durante períodos prolongados a temperaturas más bajas. Por ejemplo, los compuestos de la divulgación pueden conservar la pureza durante 6 meses o más a aproximadamente -20 °C; o durante 6 meses o más a aproximadamente 0-5 °C.

35 En algunas realizaciones, los polimorfos de la presente solicitud pueden conservar su pureza durante al menos 1 mes; al menos 2 meses; al menos 3 meses; al menos 4 meses; al menos 5 meses; al menos 6 meses; al menos un año; y al menos 2 años. En algunas realizaciones, los polimorfos de la presente solicitud pueden conservar su pureza a temperaturas de aproximadamente 25 °C; aproximadamente 30 °C; aproximadamente 35 °C; aproximadamente 40 °C; aproximadamente 45 °C; y aproximadamente 50 °C. En algunas realizaciones, los polimorfos de la presente invención pueden conservar su pureza a aproximadamente 60% de humedad relativa; aproximadamente 65% de humedad relativa; aproximadamente 70% de humedad relativa; aproximadamente 75% de humedad relativa; aproximadamente

80% de humedad relativa; aproximadamente 85% de humedad relativa; aproximadamente 90% de humedad relativa; aproximadamente 95% de humedad relativa; y aproximadamente 100% de humedad relativa.

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación son estables a aproximadamente $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, aproximadamente $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 60% de humedad relativa $\pm 5\%$ de humedad relativa, aproximadamente $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 65% de humedad relativa $\pm 5\%$ de humedad relativa y aproximadamente $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 75% de humedad relativa $\pm 5\%$ de humedad relativa.

La Tabla 15 que figura más adelante muestra los datos de pureza para la Forma II de la Fórmula I después de mantenerse a 25°C , 60% de humedad relativa, durante seis meses y la Tabla 16 que figura más adelante muestra los datos de pureza para la Forma II de la Fórmula I después de mantenerse a 40°C , 75% de humedad relativa durante seis meses. Tal como se muestra más adelante, los compuestos pueden permanecer $> 99\%$ puros después de mantenerse a 25°C y 60% de humedad relativa durante seis meses. Los compuestos pueden permanecer $> 95\%$ puros después de mantenerse a 40°C y 75% de humedad relativa durante seis meses.

15

Tabla 15. Estabilidad de la Forma II de Fórmula I, 25°C , 60% HR

	0 Meses	1 Mes	2 Meses	3 Meses	6 Meses
Apariencia	Polvo blanco, visualmente libre de contaminación.				
Contenido en Agua	0,41%	0,60%	0,57%	1,73%	1,58%
Impureza desconocida individual más grande	<0,1%	<0,1%	<0,1%	<0,1%	<0,1%
Compuesto de Impureza 4	<0,1%	ND	0,1%	0,1%	0,1%
Compuesto de Impureza 2	<0,1%	0,3%	0,4%	0,5%	0,6%
Compuesto de Impureza 5	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Impurezas Totales	0,1%	0,5%	0,5%	0,7%	0,9%

Tabla 16. Estabilidad de la Forma II de Fórmula I, 40°C , 75% HR

20

	0 Meses	1 Mes	2 Meses	3 Meses	6 Meses
Apariencia	Polvo blanco, visualmente libre de contaminación.				
Contenido en Agua	0,41%	1,54%	1,19%	2,57%	3,19%
Impureza desconocida individual más grande	<0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,3%
Compuesto de Impureza 4	<0,1%	ND	0,3%	0,5%	1,4%
Compuesto de Impureza 2	<0,1%	1,0%	1,4%	1,6%	1,5%
Compuesto de Impureza 5	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,5%
Impurezas Totales	0,1%	1,5%	2,4%	3,1%	4,2%

Métodos de Preparación de Polimorfos

El polimorfo de Forma II de Fórmula I se puede preparar recristalizando sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en un cierto número de disolventes diferentes. En algunas realizaciones preferidas, el polimorfo de Forma II se prepara a partir de una mezcla de MTBE y/o metanol. En algunas realizaciones, la relación de MTBE a metanol es 50:50. A continuación se dan dos métodos de recristalización de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo para producir el polimorfo de Forma II.

En cualquiera de las realizaciones recogidas más adelante, la relación de metanol a metil *terc*-butil éter puede ser cualquier relación entre 1:99 y 99:1. En cualquiera de las realizaciones recogidas más adelante, la Etapa 1 puede tener lugar a cualquier temperatura (p. ej., entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 60 °C; o entre aproximadamente 40 °C y aproximadamente 60 °C). En cualquiera de las realizaciones demás adelante, la etapa 1A puede comprender enfriar la solución a aproximadamente 25 °C (p. ej., desde una temperatura de aproximadamente 40 °C). En algunas realizaciones, la etapa 1A puede comprender enfriar la solución entre aproximadamente 0 °C y 10 °C (p. ej., aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C). En algunas realizaciones, la etapa 2A puede comprender, además, enfriar la solución. Por ejemplo, la solución puede enfriarse a aproximadamente 25 °C en la etapa 1A y puede enfriarse adicionalmente a aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C en la etapa 2A. En algunas realizaciones, se omite la Etapa 1A y la Etapa 2A puede comprender enfriar la solución desde aproximadamente 40 °C hasta aproximadamente 25 °C o hasta aproximadamente 2 °C y 8 °C.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para preparar un polimorfo (p. ej., Forma II) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I), que comprende:

- (i) Etapa 1: disolver la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en metanol, que contiene opcionalmente MTBE, para formar una solución;
- (ii) Etapa 2: opcionalmente, añadir a la solución un cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo;
- (iii) Etapa 3: opcionalmente, separar la sal cristalizada del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la solución.

En algunas realizaciones, el método comprende, además, las etapas opcionales 1A y/o 1B después de la etapa 1, pero antes de la etapa 2:

Etapa 1A: enfriar la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa;

Etapa 1B: añadir MTBE adicional a la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa.

En algunas realizaciones, el método comprende, además, las Etapas 2A y/o 2B opcionales después de la Etapa 2, pero antes de la Etapa 3 opcional:

Etapa 2A: enfriar la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa;

Etapa 2B: añadir MTBE a la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa previa.

En una realización, la Etapa 1 se lleva a cabo a temperatura ambiente o temperatura del recinto (p. ej., de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C). En una realización, la Etapa 1 comprende calentar (p. ej., a aproximadamente 38-50 °C, o aproximadamente a 40 °C) la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en metanol, que opcionalmente contiene MTBE, para facilitar la disolución.

Se puede preparar un polimorfo de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I) realizando los etapas 1, 2 y 3 y cualquier combinación de las etapas 1A, 1B, 2A y 2B, como se describe arriba.

En una realización, la presente divulgación proporciona un método para preparar un polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (p. ej., Forma II), que comprende:

- (1) añadir sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo a un volumen de metanol para formar una solución;
- 5 (1B) añadir un volumen de *terc*.-butil metil éter a la solución;
- (1A) enfriar la solución;
- 10 (2) añadir a la solución un cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo;
- (2A) enfriar la solución;
- 15 (2B) añadir *terc*.-butil metil éter adicional a la solución para producir una forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo; y
- (3) filtrar la solución para aislar la sal cristalina del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo.
- 20 En una o más realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la relación entre el metanol y la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en la etapa (1) es de aproximadamente 5:3 (litro/mol). En una o más realizaciones, se utiliza aproximadamente 1 litro de metanol para disolver aproximadamente 0,6 moles de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en la etapa (1). En una o más realizaciones del método anterior, la mezcla en el etapa (1) se calienta a aproximadamente 38-50 °C para formar una solución. En una o más realizaciones de cualquiera de los métodos anteriores, la mezcla en la etapa (1) se calienta, p.ej., a aproximadamente 40 °C, para formar una solución.
- 25 En una o más realizaciones, el volumen de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (1B) es aproximadamente 1-1,5 veces el volumen de metanol utilizado en la etapa (1). En una o más realizaciones, el volumen de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (1B) es aproximadamente 1,25 veces el volumen de metanol utilizado en la etapa (1). En una o más realizaciones, la solución se vuelve turbia después de la adición de *terc*.-butil metil éter.
- 30 En una o más realizaciones, la etapa (1A) comprende enfriar la solución a aproximadamente 30-36 °C. En una o más realizaciones, la etapa (1A) comprende enfriar la solución a aproximadamente 35 °C. En una o más realizaciones, el enfriamiento en la etapa (1A) se realiza lentamente. En una o más realizaciones, el enfriamiento se completa en aproximadamente una hora.
- 35 En una o más realizaciones, el cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4 aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo añadido en la etapa (2) se muele antes de añadirlo.
- 40 En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar la solución a aproximadamente 2-8 °C. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende, además, mantener la temperatura de la solución (es decir, a aproximadamente 2-8 °C) durante un período de tiempo (p. ej., aproximadamente 5-20 minutos). En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende, además, mantener la temperatura de la solución (es decir, a aproximadamente 2-8 °C) durante aproximadamente 10 minutos.
- 45 En una o más realizaciones, el volumen de *terc*.-butil metil éter adicional en la etapa (2B) es aproximadamente 4-8 veces el volumen de metanol utilizado en la etapa (1). En una o más realizaciones, el volumen de *terc*.-butil metil éter adicional añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 6,5 veces el volumen de metanol utilizado en la etapa (1). En una o más realizaciones, la temperatura en la etapa (2B) se mantiene en aproximadamente 2-8 °C. En una o más realizaciones, la temperatura en la etapa (2B) se mantiene en aproximadamente 2-8 °C durante un período de tiempo (p. ej., aproximadamente una hora).
- 50 En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se lava adicionalmente con *terc*.-butil metil éter después de la etapa (3). En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede secar adicionalmente en vacío. En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede secar adicionalmente en vacío a aproximadamente 40 °C.
- 55 En una o más realizaciones, la aplicación de las etapas proporcionadas en esta memoria, o una combinación de las mismas para la formación de Forma II y Forma A (p. ej., Etapa 1, Etapa 1', Etapa 1A, Etapa 1B, Etapa 2, Etapa 2A, Etapa 2B, Etapa 3) puede dar como resultado una mayor pureza y/o un rendimiento incrementado. En algunas realizaciones, la aplicación de las etapas proporcionadas en esta memoria puede mejorar el rendimiento en comparación con la simple aplicación de las Etapas 1, 2 y 3. Por ejemplo, la aplicación de las etapas de esta memoria
- 60
- 65

puede mejorar el rendimiento en aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90% o aproximadamente 100%. El rendimiento de Forma II o Forma A puede ser de aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, aproximadamente 99,5% o aproximadamente 99,9% o mayor. Además, la pureza de la Forma II o Forma A producida puede aumentarse mediante la aplicación de los métodos proporcionados en esta memoria (p. ej., Etapa 1, Etapa 1', Etapa 1A, Etapa 1B, Etapa 2, Etapa 2A, Etapa 2B, Etapa 3). En algunas realizaciones, la aplicación de las etapas proporcionadas en esta memoria puede mejorar la pureza en comparación con la simple aplicación de las Etapas 1, 2 y 3. Por ejemplo, la aplicación de las etapas de esta memoria puede mejorar la pureza en aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90% o aproximadamente 100%. La pureza de Forma II o Forma A puede ser de aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, aproximadamente 99,5% o aproximadamente 99,9% o mayor.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para preparar un polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (p. ej., Forma II), que comprende:

- (20) (1) disolver sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en una mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol para formar una solución;
- (1A) enfriar la solución;
- (25) (2) añadir a la solución un cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo;
- (2A) continuar enfriando la solución;
- (30) (2B) añadir una cantidad adicional de *terc*.-butil metil éter a la solución para producir una forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo; y
- (35) (3) filtrar la solución para aislar la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo.

En una o más realizaciones, la relación de *terc*.-butil metil éter y metanol en la etapa (1) está entre aproximadamente 50:50 y aproximadamente 20:80. En una o más realizaciones, la relación es aproximadamente 50:50. En una o más realizaciones, la disolución se realiza a aproximadamente 40-60 °C. En una o más realizaciones, la disolución se realiza a aproximadamente 50 °C. En una o más realizaciones, la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo producida en la etapa (i) se agita durante aproximadamente 15 minutos a 1 hora. En una o más realizaciones, la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo producida en la etapa (1) se agita durante aproximadamente 30 minutos a 50 °C para asegurar la disolución antes del enfriamiento.

En una o más realizaciones, la etapa (1A) comprende enfriar a una tasa de aproximadamente 0,1-0,5 °C por minuto. En una o más realizaciones, la etapa (1A) comprende enfriar a una tasa de aproximadamente 0,2 °C por minuto. En una o más realizaciones, la etapa (ii) comprende enfriar hasta aproximadamente 30-45 °C. En una o más realizaciones, la etapa (1A) comprende enfriar hasta aproximadamente 37 °C.

En una o más realizaciones, el cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4 aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo añadido en la etapa (2) se muele antes de añadirlo.

En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar a una tasa de aproximadamente 0,1-0,5 °C por minuto. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar a una tasa de aproximadamente 0,2 °C por minuto. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar hasta aproximadamente 10 °C. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar hasta aproximadamente 5 °C.

En una o más realizaciones, la cantidad de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 10-50% de la cantidad de la mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol utilizada en la etapa (1). En una o más realizaciones, la cantidad de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 15% de la cantidad de la mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol utilizada en la etapa (1). En una o más realizaciones, la cantidad de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 30% de la cantidad de la mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol utilizada en la etapa (1).

En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se lava adicionalmente con *terc*.- butil metil éter después de la etapa (3). En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede secar adicionalmente en vacío. En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede secar adicionalmente en vacío a aproximadamente 40 °C.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para preparar un polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (p. ej., Forma II), que comprende:

- 10 (1) disolver sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en una mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol para formar una solución;
- 15 (1B) añadir *terc*.-butil metil éter a la solución;
- (2) añadir a la solución un cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo;
- 20 (2B) añadir una cantidad adicional de *terc*.-butil metil éter a la solución;
- (2A) enfriar la solución para producir una forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo; y
- 25 (3) filtrar la solución para separar la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo.

En una o más realizaciones, la relación de *terc*.-butil metil éter y metanol en la etapa (1) está entre aproximadamente 50:50 y aproximadamente 20:80. En una o más realizaciones, la relación es aproximadamente 50:50. En una o más realizaciones, la disolución se realiza a aproximadamente 40-60 °C. En una o más realizaciones, la disolución se realiza a aproximadamente 50 °C. En una o más realizaciones, la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo producida en la etapa (1) se agita durante aproximadamente 15 minutos a 1 hora. En una o más realizaciones, la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo producida en la etapa (1) se agita durante aproximadamente 30 minutos a 50 °C para asegurar la disolución antes del enfriamiento.

En una o más realizaciones, el volumen de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (1B) es aproximadamente 1-1,5 veces el volumen de metanol utilizado en la etapa (1). En una o más realizaciones, el volumen de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (1B) es aproximadamente 1,25 veces el volumen de metanol utilizado en la etapa (1). En una o más realizaciones, la solución se vuelve turbia después de la adición de *terc*.-butil metil éter.

En una o más realizaciones, el cristal iniciador (p. ej., aproximadamente 1 por ciento en peso) de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4 aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo añadido en la etapa (2) se muele antes de añadirlo.

En una o más realizaciones, la cantidad de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 10-50% de la cantidad de la mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol utilizada en la etapa (1). En una o más realizaciones, la cantidad de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 15% de la cantidad de la mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol utilizada en la etapa (1). En una o más realizaciones, la cantidad de *terc*.-butil metil éter añadido en la etapa (2B) es aproximadamente 30% de la cantidad de la mezcla de *terc*.-butil metil éter y metanol utilizada en la etapa (1).

En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar a una tasa de aproximadamente 0,1-0,5 °C por minuto. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar a una tasa de aproximadamente 0,2 °C por minuto. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar hasta aproximadamente 10 °C. En una o más realizaciones, la etapa (2A) comprende enfriar hasta aproximadamente 5 °C.

En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se lava adicionalmente con *terc*.- butil metil éter después de la etapa (3). En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede secar adicionalmente en vacío. En una o más realizaciones, la forma cristalina de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede secar adicionalmente en vacío a aproximadamente 40 °C.

Recristalización con Enfriamiento

En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma II de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede cristalizar en una mezcla de MTBE y metanol disolviendo sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en MTBE y metanol a aproximadamente 50 °C y enfriar la mezcla resultante antes de añadir MTBE adicional a la mezcla para completar la cristalización. En algunas realizaciones, la mezcla de MTBE y metanol es una mezcla 50:50. La relación de MTBE a metanol puede ser cualquier relación entre 1:99 y 99:1. En algunas realizaciones preferidas, la relación de MBTE a metanol es menor que aproximadamente 8:2. En algunas realizaciones, la relación de MBTE a metanol está entre aproximadamente 8:2 y aproximadamente 9:1. En algunas realizaciones, la pureza de la sal de ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo resultante puede verse afectada negativamente si se utiliza significativamente más MBTE. En algunas realizaciones, la pureza de la sal de ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo resultante puede verse afectada negativamente si la relación de MBTE a metanol es mayor que aproximadamente 9:1. En algunas realizaciones, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se disuelve a una temperatura de aproximadamente 50 °C. La sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo también se puede disolver a aproximadamente 40 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 25 °C o cualquier temperatura específica entre 50 ° y 5 °C. Los espectros de XRPD para el material producido por el Procedimiento de Recristalización con Enfriamiento se muestran en la Figura 3. La Figura 3A muestra un espectro de XRPD del material de la primera muestra (es decir, antes de la adición de MTBE adicional), y la Figura 3B muestra un espectro de XRPD del material de la segunda muestra (es decir, después de la adición de 30 mL de MTBE). La Figura 3C muestra un espectro de XRPD del material secado final.

Recristalización con antidisolvente

En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma II de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede cristalizar en una mezcla de MTBE y metanol disolviendo sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en MTBE y metanol a aproximadamente 50 °C y añadir MTBE adicional antes de enfriar la mezcla resultante para completar la cristalización. La relación de MTBE a metanol puede ser cualquier relación entre 1:99 y 99:1. En algunas realizaciones, la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se disuelve a una temperatura de aproximadamente 50 °C. La sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo también se puede disolver a aproximadamente 40 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 25 °C o cualquier temperatura específica entre 50 ° y 5 °C. Los espectros de XRPD para el material producido por el Procedimiento de Recristalización con Antidisolvente se muestran en la Figura 4. La Figura 4A muestra un espectro de XRPD de material de la primera muestra (es decir, antes de la adición de aproximadamente 30 mL de MTBE), y la Figura 4B muestra un espectro de XRPD del material de la segunda muestra (es decir, después de la adición de 60 mL de MTBE). La Figura 4C muestra un espectro de XRPD del material secado final.

Cristalización en Acetato de Etilo

En algunas realizaciones, la Fórmula I y/o la Fórmula II se pueden cristalizar directamente en acetato de etilo (p. ej., tal como se recoge en el Ejemplo 5, que figura más adelante). En algunas realizaciones, la cristalización puede tener lugar directamente en acetato de etilo sin tener que acidificar primero la base libre de Fórmula I y/o de Fórmula II y extraerla en una capa acuosa antes de basificar la capa acuosa y extraer la base libre nuevamente en el disolvente orgánico. Esto puede tener la ventaja de ser operativamente más simple que la recristalización en metanol y/o *terc.*-butil metil éter, y puede tener la ventaja de utilizar menos disolvente orgánico, al tiempo que se mantiene la pureza del producto final (es decir, Fórmula I y/o Fórmula II).

Por consiguiente, en algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un procedimiento para preparar un polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (p. ej., Forma II), que comprende:

- (i) disolver *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en acetato de etilo para formar una solución;
- (ii) añadir ácido bencenosulfónico a la solución de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en acetato de etilo; y
- (iii) filtrar la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo.

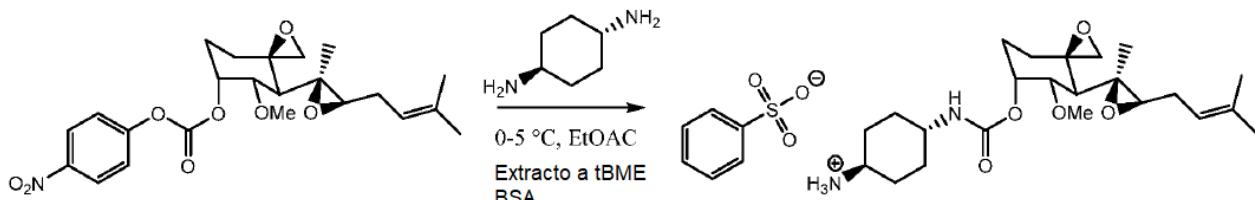
En algunas realizaciones, el ácido bencenosulfónico se añade en forma de una solución en acetato de etilo. En algunas realizaciones, el ácido bencenosulfónico se añade a una temperatura de aproximadamente 8-12 °C. En algunas realizaciones, el método comprende, además, enfriar la mezcla de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo y ácido bencenosulfónico hasta aproximadamente 0-5 °C. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la cristalización en acetato de etilo es una cristalización reactiva. En algunas realizaciones, el contenido en agua en la

solución de base libre de acetato de etilo antes de añadir la solución de ácido bencenosulfónico/acetato de etilo está en el intervalo de 1,0-1,3%.

5 **Síntesis de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I)**

10 La sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se puede preparar a partir del tratamiento de fumagil-6-ilo, carbonato de p-nitrofenilo con un exceso de *trans*-1,4-diaminociclohexano como se muestra en el Esquema 1, que figura más adelante. El producto de base libre se extrae finalmente en MTBE y se trata 15 con ácido bencenosulfónico tal como se recoge en el Ejemplo 1, que figura más adelante.

. **Esquema 1. Síntesis de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de p-nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo**



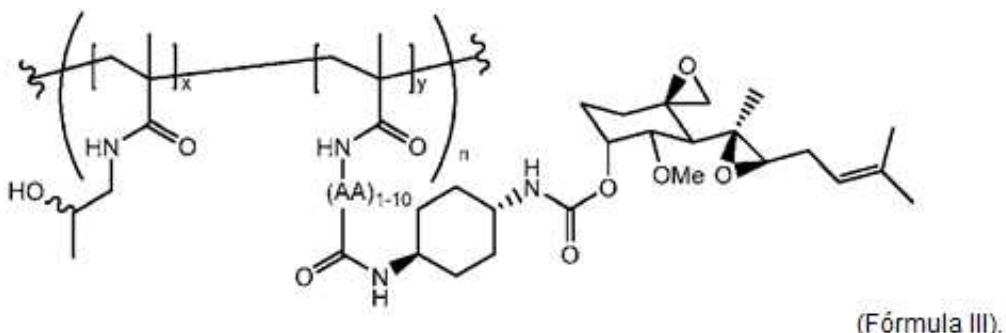
15 Sin desear estar ligado por la teoría, se encontró que la forma de base libre de Fórmula I, es decir, *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo, es inherentemente inestable debido a la presencia tanto de una amina primaria como de dos epóxidos. Además, se encontró que la versión hemi-tartrato de Fórmula I (no representada) 20 contenía cantidades significativas de productos de auto-condensación Compuesto 2 y Compuesto 3, así como el producto de hidrólisis Compuesto 4, cada uno mostrado arriba. Las sales hemi-tartrato y de ácido bencenosulfónico también contenían una impureza relacionada con el material de partida de fumagilina (producto natural), Compuesto 5 (mostrado arriba). Extensos esfuerzos experimentales no pudieron reducir los niveles de impurezas en el hemi-tartrato a niveles farmacéuticamente aceptables. Por consiguiente, se entiende que la sal del ácido bencenosulfónico 25 de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo y los polimorfos de la misma de la presente divulgación (p. ej., Forma II) son más estables que las correspondientes sales hemi-tartrato y base libre.

30 En contraste con la base libre y otras formas de sal arriba descritas, los polimorfos descritos en esta memoria (p. ej., Forma II) son estables a temperatura y presión estándar, por ejemplo, según lo establecido por los patrones ICH para la evaluación de sustancias farmacéuticas. Por consiguiente, los polimorfos descritos en esta memoria pueden utilizarse como compuestos intermedios químicos robustos como se recoge más adelante.

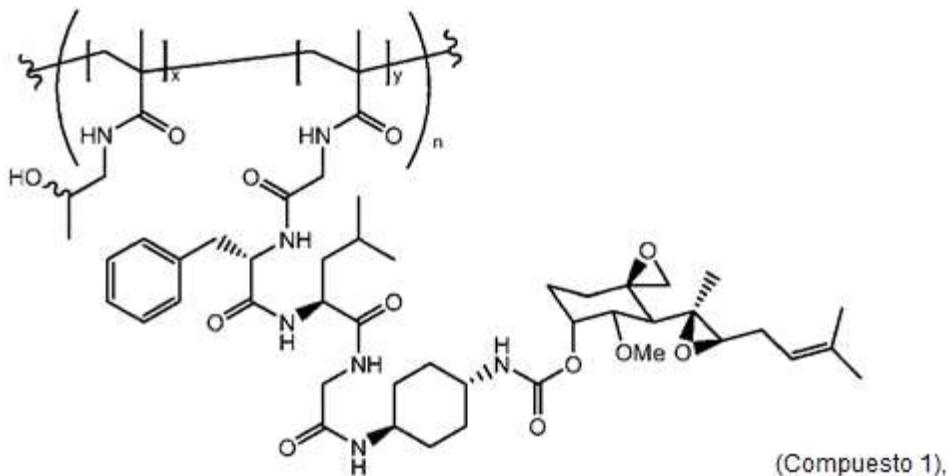
35 En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona una cristalización reactiva de un compuesto de Fórmula I a partir de la base libre correspondiente tal como se describe en el Ejemplo 1 y/o en el Ejemplo 5. Este procedimiento evita el aislamiento de epóxido de base libre, que en algunas realizaciones puede experimentar auto-condensación.

40 Uso de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo

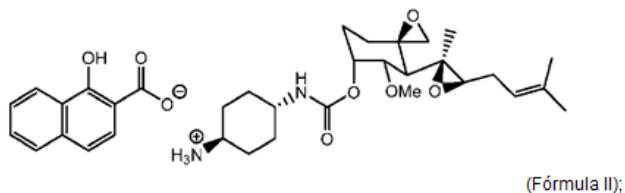
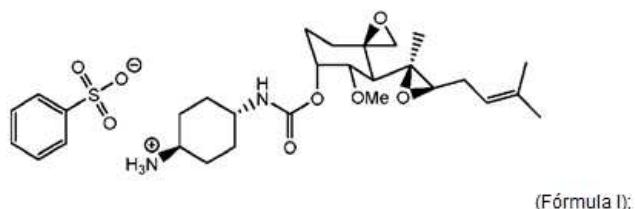
La sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I) es útil como 45 un compuesto intermedio en la síntesis de derivados de fumagilol o fumagilina conjugados con polímeros, tales como compuestos de Fórmula III:



En un aspecto, la presente divulgación proporciona un procedimiento para preparar Compuesto 1:

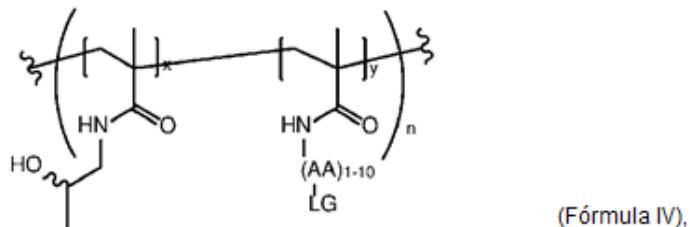


- 5 que comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula I o Fórmula II:



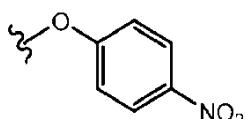
10

con un compuesto de Fórmula IV:



15

en donde x es un número entero de 1 a aproximadamente 450; y es un número entero de 1 a aproximadamente 30; n es un número entero de 1 a aproximadamente 50; y LG es un grupo saliente. En una o más realizaciones, el grupo saliente LG es



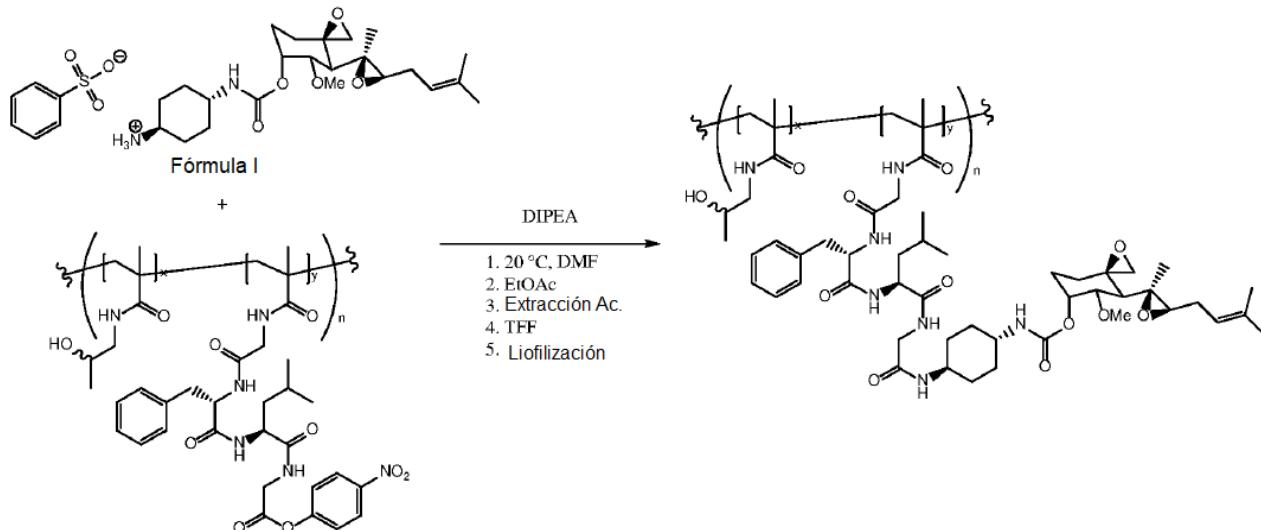
20

Compuestos de Fórmula III se pueden producir a partir de compuestos de Fórmula I de acuerdo con el siguiente Esquema 2. Como se muestra más adelante en el Esquema 2, la Fórmula I se trata con un copolímero de HPMA, que

a su vez está unido a una cadena de aminoácidos. La cadena de aminoácidos tiene un grupo saliente apropiado (LG; por ejemplo, *para*-nitrofenilo) y la reacción tiene lugar en presencia de un disolvente apropiado (p. ej., DMF).

Esquema 2. Preparación a modo de ejemplo del compuesto I de Fórmula III a partir de la Fórmula I.

5



Determinadas impurezas durante la síntesis de compuestos de Fórmula I o II, tales como los Compuestos 2, 3, 4 y 5, tal como se describió arriba, también pueden reaccionar de la misma manera que la Fórmula I o II y conjugarse con el polímero.

10 Esto puede interferir con la reacción y también reducir la pureza de la Fórmula III, porque las impurezas unidas al polímero son difíciles de eliminar. Los polimorfos de la presente solicitud, tal como se muestra arriba, poseen una alta pureza y, en particular, comprenden una cantidad mínima de Compuestos 2, 3, 4 y 5. Por consiguiente, los polimorfos de la presente solicitud son particularmente adecuados como compuestos intermedios para la preparación de compuestos de Fórmula III, y se puede utilizar para preparar Fórmula III con buen rendimiento y alta pureza. Sin desear estar ligados por la teoría, el uso de una sal presentada en esta memoria (p. ej., Fórmula I o Fórmula II) como un compuesto intermedio de un compuesto de Fórmula III puede proporcionar un mayor rendimiento y una mayor pureza en comparación con el uso de la base libre correspondiente.

20 Compuestos de Fórmula I o Fórmula II y los polimorfos de la presente solicitud pueden ser útiles en la inhibición de MetAP2. Los Compuestos de Fórmula I o Fórmula II o los polimorfos de la presente solicitud se pueden utilizar como inhibidores de MetAP2. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula I o Fórmula II o los polimorfos de la presente solicitud (p. ej., Forma II, Forma A) se pueden utilizar para tratar enfermedades o afecciones en las que MetAP2 desempeña un papel (p. ej., en la aparición, regulación y/o el desarrollo de las enfermedades o afecciones) tales como cáncer (p. ej., un cáncer hematológico tal como linfoma). Por ejemplo, la Figura 15 muestra el efecto de compuestos de la presente divulgación sobre las células cancerosas. La Figura 15A muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de linfoma de células B en función de la concentración. La Figura 15B muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de linfoma de células del manto en función de la concentración. La Figura 15C muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de linfoma de células B grandes difusas en función de la concentración. La Figura 15D muestra el efecto de la Fórmula I sobre células de mieloma en función de la concentración.

25 30 También se describe en esta memoria una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I y/o de Fórmula II y un soporte o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el polimero de Forma II de Fórmula I y un soporte farmacéuticamente aceptable.

40 Al proporcionar a un mamífero uno o más de los compuestos o polimorfos de la presente solicitud, la dosificación del o de los compuestos o polimorfos administrados variará dependiendo de factores tales como la edad, el peso, la altura, el sexo, el estado médico general, la edad, el peso y la altura, el historial médico, la progresión de la enfermedad, la carga tumoral, la vía de administración, la formulación y similares del mamífero. Por ejemplo, una dosis adecuada de un compuesto de la divulgación para un mamífero que necesita tratamiento como se describe en esta memoria está en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 2000 mg de compuesto por kilogramo de peso corporal. Además, en el caso de Fórmula II, debido a los efectos de estar unido al polímero, el agente puede administrarse en dosis más bajas que las que se utilizan típicamente en el tratamiento de un trastorno particular.

45 45 Sorprendentemente, en algunas realizaciones los conjugados poliméricos de la divulgación son más activos sobre una base de peso/peso que las moléculas pequeñas correspondientes.

Ejemplos

La divulgación se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no deben interpretarse como limitantes del alcance de esta divulgación a los procedimientos específicos descritos en esta memoria. Debe entenderse que los ejemplos se proporcionan para ilustrar determinadas realizaciones y que por ello no se pretende limitar el alcance de la divulgación. Se ha de entender, además, que se puede recurrir a otras diversas realizaciones, modificaciones y equivalentes de las mismas que pueden sugerirse a los expertos en la técnica sin apartarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todos los disolventes y otros reactivos químicos se obtuvieron de fuentes comerciales (p. ej., Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)) y se utilizaron sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario.

10 Abreviaturas

Las definiciones utilizadas en los siguientes Ejemplos y en otras partes de esta memoria son:

15 EA

Acetato de etilo

20 DAC

trans-1,4-diaminociclohexano

KF

25 Titulación del contenido en agua según Karl Fischer

IPC

Control en proceso

30 BSA

Ácido bencenosulfónico

35 K₂CO₃

Carbonato potásico

40 NaCl

Cloruro sódico

Na₂SO₄

45 Sulfato de sodio

Análisis XRPD

50 A menos que se especifique lo contrario, el análisis XRPD se llevó a cabo en un X'pert pro analítico, escaneando las muestras entre 3 y 35 °2θ. El material se molíó suavemente y se cargó en una placa de múltiples pocillos con una película de polímero mylar para soportar la muestra. Luego, la placa de múltiples pocillos se cargó en el difractómetro funcionando en modo de transmisión y se analizó, utilizando las siguientes condiciones experimentales:

55 Origen de Datos sin Procesar: medición XRD (*.XRDML)

Eje de Escaneo: Gonio

Posición inicial [°2θ]: 3,0066

60 Posición final [°2θ]: 34,9866

Tamaño de etapa [°2θ]: 0,0130

65 Tiempo de Etapa de Escaneo [s]: 18,8700

Tipo de Escaneo: Continuo

Modo PSD: Escaneo

Longitud de PSD [$^{\circ}2\theta$]: 3,35

5

¹¹ See, for example, the discussion in *Principles of Corporate Finance* (New York: McGraw-Hill, 1990), pp. 111-112.

10 Tamanho da Mandadura da Divergência [8]: 1.0000

Temperatura de medición [°C]: 25.00

Material del Ánode: Cu

K-Alfa1 [Å]: 1.54060

K-Alfa2 [Å]: 1.54443

K-Beta [Å]: 1.39225

Relación K-A2 / K-A1: 0,50000

Ajustes del Generador: 40 mA, 40 kV

Radio del Goniómetro [mm]: 240,00

Dist. Foco-Diverg. Hendidura [mm]: 91,00

30 Monocromador de Haz Incidente: No

Rotación: No

Análisis Termogravimétrico y Análisis Térmico Diferencial (TGA/DTA)

35 A menos que se especifique lo contrario, TG/DTA se llevó a cabo mediante el siguiente procedimiento. Se pesaron aproximadamente 3 mg de material en una bandeja de aluminio abierta y se cargaron en un analizador termogravimétrico/analizador diferencial (TG/DTA) simultáneo y se mantuvo a temperatura ambiente. A continuación, 40 la muestra se calentó a una tasa de 10 °C/min desde 25 °C a 300 °C, tiempo durante el cual se registró el cambio en el peso de la muestra junto con cualquier evento térmico diferencial (DTA). Se utilizó nitrógeno como gas de purga a un caudal de 300 cm³/min.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

45 A menos que se especifique lo contrario, la DSC se llevó a cabo mediante el siguiente procedimiento. Se pesaron aproximadamente 2 mg de material en una bandeja de DSC de aluminio y se selló de forma no hermética con una tapa de aluminio perforada. La bandeja de muestra se cargó luego en un Seiko DSC6200 (equipado con un enfriador) enfriado y mantenido a 20 °C. Una vez que se obtuvo una respuesta de flujo de calor estable, la muestra y la referencia se calentaron a 220 °C a una tasa de 10 °C/min y se controló la respuesta de flujo de calor resultante. La muestra se enfrió de nuevo a 20 °C y se volvió a calentar a 220 °C y se controló la respuesta del flujo de calor resultante.

50

Microscopia de Luz Polarizada (PLM)

55 Se añadió aproximadamente 1 mg de sólido a un portaobjetos de microscopio de vidrio. Los sólidos se suspendieron en una sola gota de aceite de silicona y se cubrieron con un portaobjetos de vidrio. Las muestras se analizaron con luz polarizada y no polarizada a un aumento de 20 x.

Polarimetría

60 Para cada una de las muestras se preparó una solución de 10 mg/mL en metanol. Se tomaron partes alícuotas de 100 μ L de cada una de las soluciones y se utilizaron para preparar soluciones de 1 mg/mL en metanol. Las soluciones diluidas se utilizaron para confirmar los resultados de las pruebas realizadas en las soluciones de 10 mg/mL.

65 El análisis se realizó en un polarímetro Schmidt and Haensch Polartronic H532. La muestra se analizó en una celda de 100 mm. Las muestras se analizaron utilizando luz a una longitud de onda de 589 nm y a una temperatura de 26 °C. La rotación específica se calculó con la siguiente ecuación:

$$\alpha D26 = (\text{medida de ángulo} * 100) / (\text{Concentración} * \text{longitud de trayecto})$$

Análisis de rayos X de mono-cristal (SXRD)

- 5 El análisis de SXRD se realizó en un difractómetro SuperNova de Agilent Technologies (Fuente Dual) utilizando radiación monocromática de Mo K α ($\lambda = 0,71073$ Å). El difractómetro se equipó con un dispositivo de baja temperatura Oxford Cryosystems para permitir que la recopilación de datos se realizara a 120(10) K. Los datos recopilados se corrigieron para los efectos de absorción basados en la integración gaussiana sobre un modelo de cristal multifacético, implementado como parte del paquete de software CrysAlisPro (Agilent Technologies, 2014).
- 10 La estructura se resolvió mediante métodos directos (SHELXS97) y se desarrolló mediante un refinamiento completo de mínimos cuadrados en F2 (SHELXL97) interconectado vía el paquete de software OLEX2. Las imágenes producidas para este informe se realizaron vía un programa local.
- 15 15 Los datos se recopilaron, resolvieron y refinaron en el grupo espacial trigonal R3. Una búsqueda de una simetría más alta utilizando la rutina ADDSYM2 de PLATON3 no pudo descubrir simetría más alta alguna.
- 20 20 Todos los átomos que no eran de hidrógeno completamente ocupados se ubicaron en el mapa de Fourier y sus posiciones se refinaron antes de refinarlas como elipsoides anisotrópicos para describir su comportamiento térmico.

Resonancia Magnética Nuclear ($^1\text{H RMN}$)

- 25 25 Los espectros de $^1\text{H RMN}$ se registraron en un espectrómetro Bruker PRO500 (500 MHz) o en un espectrómetro Bruker AVA500 (500 MHz). Los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm) campo abajo de tetrametilsilano, utilizando disolvente protonado residual como patrón interno (CDCl_3 a 7,26 ppm). Los experimentos se realizaron en cloroformo deuterado y cada una de las muestras se preparó a una concentración de aproximadamente 10 mM.

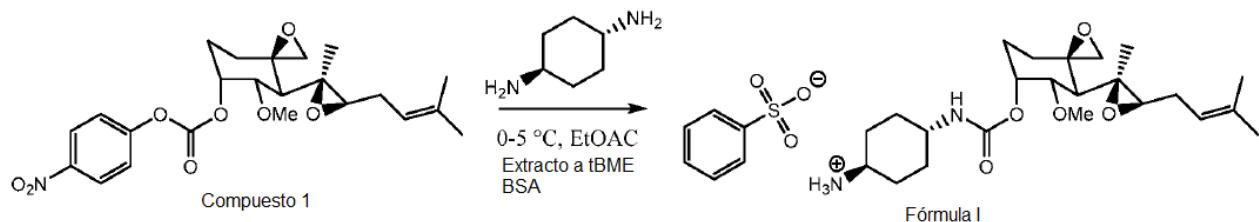
Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

- 30 A menos que se especifique lo contrario, la HPLC se llevó a cabo utilizando las siguientes condiciones experimentales:
- 35 Columna: Agilent Eclipse XDB C18 5 μm , columna de 150 x 4,6 mm
- 35 Fase Móvil A: Ácido Trifluoroacético al 0,1%
- 40 Fase Móvil B: Ácido Trifluoroacético al 0,1% en Acetonitrilo
- 40 Diluyente 1:1 Agua: Acetonitrilo
- 45 Caudal: 1,0 mL/min
- 45 Duración: 24 minutos
- 45 Detector Detector de Dispersión de Luz Evaporativa (ELSD)
- 50 Presión del Detector: 3,6 bares
- 50 Ganancia del Detector: 8
- 55 Temperatura del Detector: 50 °C
- 55 Gas Detector: Nitrógeno
- 55 Temperatura de la Columna: 25 °C
- 55 Temperatura del Inyector Automático: 5 °C
- 60 Volumen de Inyección: 10 μL (el volumen de la muestra se puede ajustar según se requiera)
- 60 Programa de gradiente:

Tiempo (minutos)	Disolvente B (%)
0,0	5
15,0	95
18,0	95
20,0	5
24,0	5

Ejemplo 1 - Síntesis y Cristalización Reactiva de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de Fumagil-6-ilo

5



Una solución de *trans*-1,4-diaminociclohexano (102,2 g, 895 mmol, 4,9 eq) disuelta en acetato de etilo (2,8 L) se enfrió a 0-5 °C. Se disolvió *p*-nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo (80,8 g, 181 mmol, 1 eq) en acetato de etilo (3,2 L) y se añadió a lo largo de 30 a 90 minutos a la solución agitada de *trans*-1,4-diaminociclohexano, al tiempo que se mantenía la temperatura en 0-5 °C. La mezcla de reacción se agitó durante al menos 120 minutos a 0-5 °C hasta que el carbonato fue < 2% de la concentración de partida mediante un control en proceso de HPLC-UV. La tanda se filtró para eliminar los subproductos sólidos y los sólidos se aclaron con acetato de etilo (2 x 1,2 L). La solución en acetato de etilo se lavó con agua (0,5 L) y la fase acuosa se desechó. El acetato de etilo se extrajo con una solución de agua (1,6 L) y ácido cítrico al 10% (0,24 L). El pH de la fase acuosa fue de aproximadamente 6; el acetato de etilo se descartó. La solución acuosa se ajustó a pH 10,3 utilizando carbonato de sodio 1 N (0,87 L). El producto en forma de base libre se extrajo en MTBE (4 x 1,6 L). Las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio (4 x 128 g) como un agente secante. Los extractos orgánicos se combinaron y filtraron para eliminar el agente secante. El agente secante se lavó con MTBE (1,4 L). El *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (base libre) en MTBE se enfrió a 0-5 °C y se sembró con sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato fumagil-6-ilo (0,8 g). Se añadió lentamente una solución de ácido bencenosulfónico (17,7 g, 0,62 eq) en MTBE (0,43 L) al tiempo que la tanda se mantenía a 0-5 °C. La tanda se enfrió a -20 °C. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con MTBE (0,5 L) y se secaron a ≤ 35 °C en vacío para producir sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (68,3 g, 62%), Fórmula I).

Ejemplo 2 - Recristalización de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de Fumagil-6-ilo

Una suspensión agitada de sal de ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (68,3 g, 118 mmol, Fórmula I) en metanol (200 mL) se calentó a 40 °C hasta que se obtuvo una solución transparente. Al tiempo que se mantenía una temperatura de la tanda de 40 °C, se añadió lentamente MTBE (250 mL) hasta que la solución se volvió turbia. La tanda se enfrió a 35 °C a lo largo de una hora. Se cargaron semillas de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (684 mg, 1,2 mmol, 1% en peso). La tanda se enfrió en etapas de 5 °C, dejando 30 minutos en cada etapa hasta que la tanda alcanzó 2-8 °C y se mantuvo a 2-8 °C durante 10 minutos. Se añadió MTBE adicional (total combinado de 8,8 volúmenes) a lo largo de 60 minutos y la tanda se mantuvo a 2-8 °C durante al menos 60 minutos. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con MTBE (410 mL) y se secaron a ≤ 35 °C en vacío para producir el producto deseado (64,6 g, 95%) en forma del polimorfo de Forma II.

Ejemplo 3 - Cristalización por Enfriamiento de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de Fumagil-6-ilo

La sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (8,1992 g) se disolvió en 39 mL de MTBE:metanol (50:50) para dar una concentración de partida de aproximadamente 210 mg/mL. La solución se agitó a 50 °C durante 30 minutos y se controló mediante medición de reflectancia con haz enfocado (FBRM) para asegurar la disolución. La solución se enfrió a 5 °C a una tasa de 0,2 °C/minuto. A 37 °C, se molieron suavemente

0,08 g (aprox. 1%) de material de siembra utilizando un mortero y una mano de mortero y se añadieron a la mezcla. Cuando la temperatura de la solución alcanzó los 5 °C, se extrajo una muestra y se añadió MTBE a una tasa de 30 mL/hora hasta que se hubieron añadido 30 mL de MTBE. Se extrajo una segunda muestra y se continuó con la adición de MTBE hasta que se añadieron 60 mL. A continuación, se agitó la cristalización durante 15 minutos más. La suspensión espesa final se filtró y el material resultante se secó en vacío a 40 °C durante aproximadamente 16 horas.

5 Los espectros de XRPD para el material producido por el procedimiento arriba descrito se muestran en la Figura 3. La Figura 3A muestra un espectro de XRPD del material de la primera muestra (es decir, antes de la adición de MTBE adicional), y la Figura 3B muestra un espectro de XRPD del material de la segunda muestra (es decir, después de la adición de 30 mL de MTBE). La Figura 3C muestra un espectro de XRPD del material secado final.

10 **Ejemplo 4 - Cristalización con Antidisolvente de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de Fumagil-6-ilo**

15 La sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil -6-ilo (8,0514 g) se disolvió en 39 mL de MTBE:metanol (50:50) para dar una concentración de partida de aproximadamente 210 mg/mL. La solución se agitó a 50 °C durante 30 minutos y se controló mediante medición de reflectancia con haz enfocado (FBRM) para asegurar la disolución. Se añadió una parte alícuota de MTBE al recipiente a una tasa de 30 mL/hora. Despues de haber añadido 10,4 mL de MTBE, se molieron suavemente 0,08 g (aprox. 1%) de material de siembra con un mortero y una mano de mortero y se añadieron a la mezcla. Despues de añadir 30 mL de MTBE, se extrajo una muestra. Se continuó la adición de MTBE y se extrajo una segunda muestra despues de la adición de 60 mL de MTBE. Despues, la solución se enfrió a 5 °C a una tasa de 0,2 °C/minuto. A continuación, se agitó la cristalización durante 15 minutos adicionales, la suspensión espesa final se filtró y el material resultante se secó en vacío a 40 °C durante aproximadamente 16 horas.

20 25 Los espectros de XRPD para el material producido por el procedimiento arriba descrito se muestran en la Figura 4. La Figura 4A muestra un espectro de XRPD de material de la primera muestra (es decir, antes de la adición de aproximadamente 30 mL de MTBE), y la Figura 4B muestra un espectro de XRPD del material de la segunda muestra (es decir, despues de la adición de 60 mL de MTBE). La Figura 4C muestra un espectro de XRPD del material secado final.

30 **Ejemplo 5 - Síntesis de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de Fumagil-6-ilo y Cristalización en Acetato de Etilo**

35 Sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo se preparó como se recoge a continuación. El procedimiento recogido en la Tabla 17 que figura más adelante demuestra que es posible purificar un compuesto de Fórmula I directamente, sin tener que acidificar primero la base libre de Fórmula I y extraerla en la capa acuosa, antes de basificar la capa acuosa y extraer la base libre nuevamente en el disolvente orgánico, tal como se recoge en el Ejemplo 1. Sin desear estar ligado por la teoría, este procedimiento puede permitir el uso de cantidades 40 más pequeñas de disolvente orgánico (p. ej., metil terc-butil éter). Este procedimiento también puede ser operativamente más simple que el procedimiento recogido arriba en el Ejemplo 1.

45 Tabla 17. Síntesis de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo y Cristalización en Acetato de Etilo

Etapa	Operación	Escala de tiempo para tandas de 50 g	Control En-Proceso (IPC)
1	Reactores de intercambio de nitrógeno 1 y 2	1,3 h	
2	Añadir EA y DAC al reactor 2	0,2 h	
3	Calentar el reactor 2 a ~65-75°C para disolver DAC	1,5 h	
4	Agitar durante ~0,5-1 h	0,5 h	
5	Enfriar el reactor 2 a ~0-5°C	1,5 h	
6	Pulir el contenido del filtro del reactor 2 en el reactor 1 y enjuagar la torta del filtro con EA	0,3 h	
7	Lavar el reactor 2	0,2 h	
8	Añadir <i>p</i> -nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo y EA al reactor 2	0,2 h	

Etapa	Operación	Escala de tiempo para tandas de 50 g	Control En-Proceso (IPC)
9	Enfriar el reactor 2 a ~0-5°C	0,7 h	
10	Añadir la mezcla del reactor 2 al reactor 1 a ~0-5°C (incluyendo enjuagar el reactor 2 con EA y añadir el EA al reactor 1).	2,3 h	
11	Control en-proceso (IPC) a ~0-5°C durante 1 h más tarde y tomar muestras cada ~1-1,5 h	2 h	No se detectó p-nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo
12	Filtrar la mezcla de reacción y lavar la torta del filtro con EA	0,5 h	
13	Lavar el reactor 1 con agua, acetona y EA hasta que el contenido en agua de EA sea ≤ 1,0% medido por KF.	1,0 h	0,05%
14	Lavar el filtrado con salmuera	0,5 h	
15	Lavar el filtrado con solución de K_2CO_3 y $NaCl$	0,5 h	
16	Lavar el filtrado con salmuera	0,5 h	
17	Secar el filtrado con Na_2SO_4	1,0 h	
18	Filtrar y lavar la torta del filtro con EA.	0,5 h	KF, 1,15%; ensayo, 78,19%
19	Enfriar el filtrado a ~8-12°C	0,5 h	
20	Disolver BSA en EA y enfriar la solución de BSA a ~8-12°C	0,5 h	
21	Añadir la solución de BSA al filtrado de la Etapa 19 a ~8-12°C	1 h	
22	Agitar la mezcla de reacción durante ~20-40 min después de añadir la solución de BSA.	0,6 h	
23	Enfriar la mezcla de reacción a ~0-5°C	0,5 h	
24	Agitar la mezcla de reacción durante ~1-2 h a ~0-5°C	2 h	
25	Filtrar la mezcla de reacción	0,5 h	KF: 0,76%; pureza: 98,9%
26	Triturar y lavar una vez la torta con EA		KF: 0,13%; pureza: 99,28%
27	Triturar y lavar dos veces la torta con EA		KF: 0,13%; pureza: 99,32%
28	Secar durante 10 h y primer IPC	10 h	KF: 0,25%; pureza: 99,53%
29	Secar durante 24 h y segundo IPC (análisis final)	24 h	KF: 0,22% pureza: 99,51% EA: 0,16% rendimiento: 77%

Como se recoge arriba en la Tabla 17, el contenido en agua en la etapa 18 se mantiene entre 1 y 1,3%. Sin pretender estar ligado por la teoría, mantener el contenido en agua dentro de este intervalo puede ayudar a facilitar la cristalización del compuesto de Fórmula I directamente en acetato de etilo con buena pureza (p. ej., > 95%). Como se recoge en la Etapa 29, el rendimiento se incrementó utilizando este método en aproximadamente un 10-15% en comparación con el método del Ejemplo 1.

Las cantidades de materiales utilizados en el protocolo arriba recogido se dan en la Tabla 18 que figura a continuación:

Tabla 18. Calidades de Material utilizado en la Síntesis de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo

Etapa	Material	FW	Entrada (g)	Volum en (mL)	mmol	eq.	mL de disolvente por g de <i>p</i> -nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo	g de disolvente o reactivo por g de <i>p</i> -nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo
2	EA (KF: 0,09%)		1525,0	1690			33,81	30,50
2	DAC	114,19	63,8		558,7	5,0		1,276
Etapa	Material	FW	Entrada (g)	Volum en (mL)	mmol	eq.	mL de disolvente por g de carbonato de fumagil-6-nitrofenilo	g de disolvente o reactivo por g de <i>p</i> -nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo
6	EA		50,0	55,5			1,11	1,00
7	EA		2285,5	2564			50,69	45,71
8	EA		1600,0	1774			35,48	32,00
8	<i>p</i> -nitrofenil carbonato de fumagil-6-ilo		447,48	50,0	111,7	1,0		1,00
10	EA		200,0	222			4,44	4,00
12	EA		450,0	499			9,98	9,00
13	Agua purificada		2857,0	2857,0			57,14	57,14
13	Acetona		2241,3	2857,0			57,14	44,83
13	EA		1428,5	1583,5			31,67	28,57
14	Agua purificada		1020,0	1020,0			20,40	20,40
14	NaCl		265,0					5,30
15	Agua purificada		980,0	980,0			19,60	19,60
15	NaCl		176,0					3,52
15	K ₂ CO ₃		25,5					0,51
16	Agua purificada		735,0	735,0				14,70
16	NaCl		265,0					5,30
17	Na ₂ SO ₄		400,0					8,00
18	EA		450,0	499,0			9,98	9,00
20	BSA monohidrato (ensayo: 85,86%)		158,2	16,06			0,78	
20	EA		78,5	86,5			1,73	1,57
26	EA		451,5	500			10,00	9,03
27	EA		451,5	500			10,00	9,03

Como se recoge en la Tabla 18, en la etapa 20 se utilizó ácido bencenosulfónico monohidrato (es decir, aproximadamente 12-13% de agua y aproximadamente 1-2% de impurezas). Sin pretender estar ligado por la teoría, se encontró que utilizar aproximadamente 0,78-0,8 equivalentes de ácido bencenosulfónico conduce a los rendimientos más altos y a la pureza más alta de Fórmula I.

Sin desear estar ligado por la teoría, la trituración con acetato de etilo y los lavados en las etapas 26 y 27 se realizaron para reducir el contenido en agua a un nivel aceptable antes del secado para minimizar el riesgo de degradación del agua de Fórmula I.

Ejemplo 6 - Controles En Proceso para la Síntesis de Sal del Ácido Bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de Fumagil-6-ilo

Las condiciones de HPLC utilizadas para este Ejemplo se recogen a continuación:

Columna	ZORBAX Eclipse XDB C18, 4,6 x 150 mm, 5 µm							
Caudal	1,0 mL/min							
Temperatura de la Columna	25 °C							
Detector	Ganancia CAD = 100 Pa, filtro 1 s, Temp. Baja (35°C)							
Injector	10 µL							
Fase móvil A	TFA al 0,1% en Agua							
Fase móvil B	TFA al 0,1% en Acetonitrilo							
Gradiente	T/min	0,0	8,0	15,0	25,0	29,0	30,0	35,0
	% B	5	20	40	95	95	5	5
Lavado de la aguja	Acetonitrilo							

La Tabla 19 que figura a continuación muestra los resultados de los controles en-proceso medidos por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) para diversas tandas de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo (Fórmula I). La Fórmula I tuvo un tiempo de retención de 16,18 min y un tiempo de retención relativo de 1. Diversas impurezas, incluyendo el Compuesto 2 y el Compuesto 4, se definen por sus tiempos de retención en la Tabla 19.

Como se recoge en la Tabla 19, los Lotes 1-3 son patrones de control. El lote 1 se produjo mediante el método del Ejemplo 1. El Lote 2 y el Lote 3 son lotes comparativos, en los que el Lote 3 se recristalizó utilizando metanol y metil *terc*-butil éter.

Los Lotes 4-10 son controles en-proceso medidos durante el procedimiento recogido en el Ejemplo 5 anterior. El Lote 4 proporciona datos de HPLC tomados después de 1 hora de la etapa 11 de la Tabla 17. El Lote 5 proporciona datos de HPLC después de secar con Na₂SO₄ en la etapa 17. El Lote 6 da datos de HPLC después de filtrar en la etapa 25. El Lote 7 da datos de HPLC después de lavar Fórmula I una vez con acetato de etilo. El Lote 8 da datos de HPLC después de lavar Fórmula I dos veces con acetato de etilo. El Lote 9 da datos de HPLC después de filtrar Fórmula I y secar durante 10 horas. El Lote 10 da datos de HPLC después de filtrar Fórmula I y secar durante 24 horas. Como se recoge en el análisis del Lote 10, la pureza de Fórmula I después de 24 horas de secado fue la misma que la del Lote 1, producido por el método del Ejemplo 1 sin recristalizar en metanol/metil *terc*-butil éter.

Tabla 19. Controles En-Proceso Medidos por HPLC para Diferentes Métodos de Síntesis

Lote nº	Nota	Comp. 4				I.F.			
		Tiempo de Retención	12.62	12.82	13.11	13.32	14.50	15.38	15.53
1	Tiempo de Retención Relativo	0.78	0.79	0.81	0.82	0.94	0.95	0.96	1.00
2		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.10	0.11	0.15	0.44
3		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.05
4	IPC 1 h			<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.41
5	KF: 1,15% de Filtrado después de secado con Na ₂ SO ₄				<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.52
6	KF: 0.76% (antes de secar)				<0.05	<0.05	0.05	<0.05	0.31
7	KF:0.13% (EA lavar una vez)				<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.57
8	KF:0.13% (EA lavar dos veces)				<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.63
9	Secar durante 10 h				<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.53
10	Secar durante 24 h				<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.51

Lote nº	Nota	I.F.				Comp. 2				Comp. 6			
		Tiempo de Retención	16.18	17.19	17.96	18.12	18.25	18.46	18.72	22.39	23.30	24.68	
1	Tiempo de Retención Relativo	1.00	1.06	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.38	1.44	1.53		
2		99.44	<0.05	0.22	0.24								
3		97.15	<0.05	0.32	1.48								
4	IPC 1 h	99.41	<0.05	0.34	0.34	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		
5	KF: 1,15% de Filtrado después de secado con Na ₂ SO ₄	93.76	0.15	0.09		0.13						5.77	
6	KF: 0.76% (antes de secar)	93.52	0.15	<0.05	<0.05							6.48	
7	KF:0.13% (EA lavar una vez)	99.31	<0.05			0.11						0.48	
8	KF:0.13% (EA lavar dos veces)	99.57	<0.05			0.11						0.27	
9	Secar durante 10 h	99.63	<0.05			0.11						0.27	
10	Secar durante 24 h	99.53				0.11						0.25	
		99.51	<0.05			0.11						0.25	

Ejemplo 7: Fórmula I Inhibe Líneas Celulares Tumorales Hematológicas

5 Se investigaron la o las concentraciones máximas medias inhibidoras (IC_{50} de Fórmula I como un agente único frente a un panel de líneas celulares de tumores hematológicos humanas. Todas las líneas celulares fueron cultivadas en sus respectivos medios de crecimiento adecuados complementados con FBS al 5-10% y alojados en una atmósfera de 5% de CO_2 a 37 °C.

10 Estudios de Agente Único**Ensayo de Viabilidad Celular - 72 horas de tiempo de exposición continua**

- 15 1. 0 h: Las células se sembraron en medio de cultivo en placas de microtitulación de 96 pocillos a un volumen de 200 μ L. Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C en una incubadora humidificada.
- 20 2. 24 h: Las dosis de fármaco del agente de prueba se lograron utilizando el Dispensador Digital HP D300. Brevemente, el dispensador digital añadió agente de prueba en un disolvente de DMSO en volúmenes precisos a los pocillos que contenían los medios. Los pocillos de control recibieron volúmenes equivalentes de DMSO a los que recibieron los pocillos de los agentes de prueba. Después de la administración de fármacos, las células se expusieron a las concentraciones y diluciones descritas en la Tabla 20 durante 72 horas a 37°C en una incubadora humidificada.
- 25 3. 72 h: Despues de 72 horas de exposición, se añadieron a cada uno de los pocillos 100 μ l de una mezcla 1:1 de agua estéril y Reactivo CellTiter-Glo®. Las placas se incuban durante 60 minutos a temperatura ambiente. Despues de la incubación, se registró la luminiscencia utilizando un luminómetro. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 21 y en las Figuras 15A, 15B, 15C y 15D.

30 Tabla 20. Parámetros del Ensayo de Viabilidad Celular de Agente Único

Condiciones del Agente de Prueba	100 μ M alto; 10 concentraciones, diluciones 1:3
Ensayo de Tiempo de Exposición	72 Horas continuas
Método	Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo
Réplicas	3 réplicas por concentración; 2 réplicas técnicas

35 Tabla 21. Rastreo del Ensayo de Viabilidad Celular de Agente Único

Línea Celular	Tipo de Tejido	IC_{50} Media (μ M) Fórmula I	IC_{50} Media (μ M) Adriamicina	IC_{50} Media (μ M) Bortezomib
BC-1	Linfoma de Células B	20,35	0,02	-
Jeko-1	Linfoma de Células del Manto	30,65	-	0,40
SU-DHL-10	Linfoma Difuso de Células B Grandes	6,20	0,00085	-
U266	Mieloma	54,60	-	0,0024

Punto final

40 **Determinación de IC_{50} :** Los datos se expresan como el porcentaje de crecimiento celular de los controles no tratados (vehículo) calculado a partir de las señales de luminiscencia. La fracción superviviente de células se determinó dividiendo los valores medios de luminiscencia de los agentes de prueba por los valores medios de luminiscencia del control sin tratar. El valor de concentración inhibitoria para el agente o los agentes de prueba y el control se estimó utilizando el software Prism 6 (GraphPad Software, Inc.) ajustando la curva de los datos usando el análisis de regresión no lineal.

45

Equivalentes

Si bien la presente divulgación se ha descrito junto con las realizaciones específicas arriba recogidas, muchas alternativas, modificaciones y otras variaciones de la misma resultarán evidentes para los expertos ordinarios en la técnica. Todas estas alternativas, modificaciones y variaciones están destinadas a caer dentro del alcance de la presente divulgación.

REIVINDICACIONES

5 1. Un polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos en 6,0, 9,0 y 12,3, 12,5, 16,1 y 18,0 °2θ utilizando radiación Cu Kα.

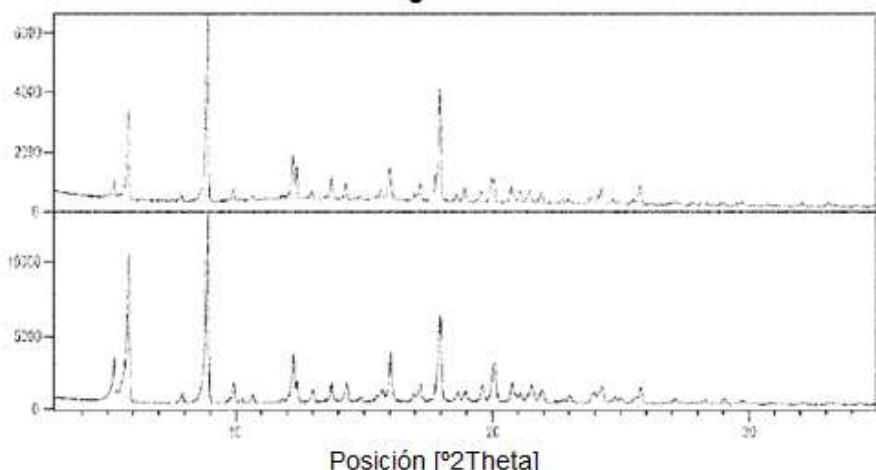
10 2. El polimorfo de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 18,0, 20,0 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Kα.

15 3. El polimorfo de la reivindicación 1, **caracterizado por** por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 5,4, 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 17,3, 18,0, 20,0, 20,8 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Kα.

15 4. El polimorfo de la reivindicación 1, **caracterizado por** por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye picos a 5,4, 6,0, 9,0, 12,3, 12,5, 13,8, 16,1, 17,3, 18,0, 20,0, 20,8, 21,5, 22,0, 24,3 y 25,8 °2θ utilizando radiación Cu Kα.

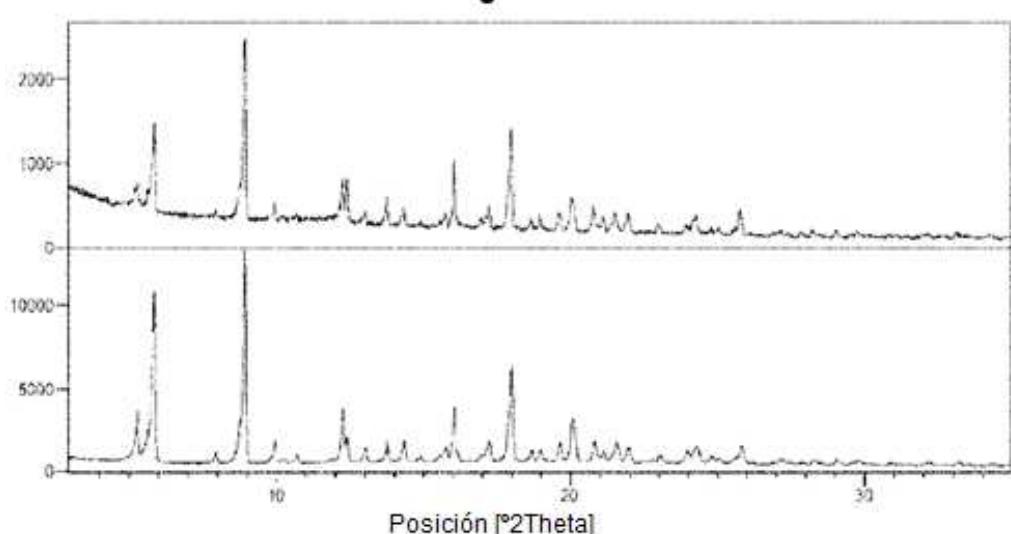
5 5. El polimorfo de la reivindicación 1, **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvo como se recoge en la Figura 1A o como se recoge en la Figura 2A, que figura a continuación:

Figura 1A



20

Figura 2A



6. El polimorfo de la reivindicación 1, **caracterizado además por**

- 25 (i) un inicio de evento exotérmico a 178 °C y un pico a 188 °C, medido por calorimetría diferencial de barrido, o
(ii) un inicio exotérmico a 181 °C y un pico a 189 °C, medido por análisis termogravimétrico/análisis térmico diferencial.

7. El polimorfo de la reivindicación 1, en donde el polimorfo tiene una pureza superior al 98%.
8. Una composición farmacéutica que comprende un polimorfo de la reivindicación 1 y un soporte farmacéuticamente aceptable.
- 5 9. El polimorfo de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de una enfermedad.
10. El polimorfo para uso de la reivindicación 9, en donde la enfermedad es
- 10 (i) mieloma o
- (ii) linfoma.
- 15 11. Un procedimiento para la cristalización reactiva del polimorfo de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la reivindicación 1, que comprende:
- (1) añadir una solución de ácido bencenosulfónico en *terc*.-butil metil éter a una solución de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo en una solución de *terc*.-butil metil éter,
- 20 (2) añadir a la solución un cristal iniciador de la sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans* -4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo; y
- (3) separar la sal cristalizada del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la solución.
- 25 12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que el cristal iniciador es aproximadamente 1 por ciento en peso del *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo disuelto en solución en la Etapa (1).
- 30 13. El procedimiento de la reivindicación 11, que comprende, además, enfriar la solución de la sal del bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil) carbamato de fumagil-6-ilo de la Etapa 1 o de la Etapa 2.
14. El procedimiento de la reivindicación 11, que comprende, además, añadir MTBE adicional a la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la etapa Etapa 1,
- 35 o añadir MTBE a la solución de sal del ácido bencenosulfónico de *N*-(*trans*-4-aminociclohexil)carbamato de fumagil-6-ilo de la Etapa 2.

Figura 1A

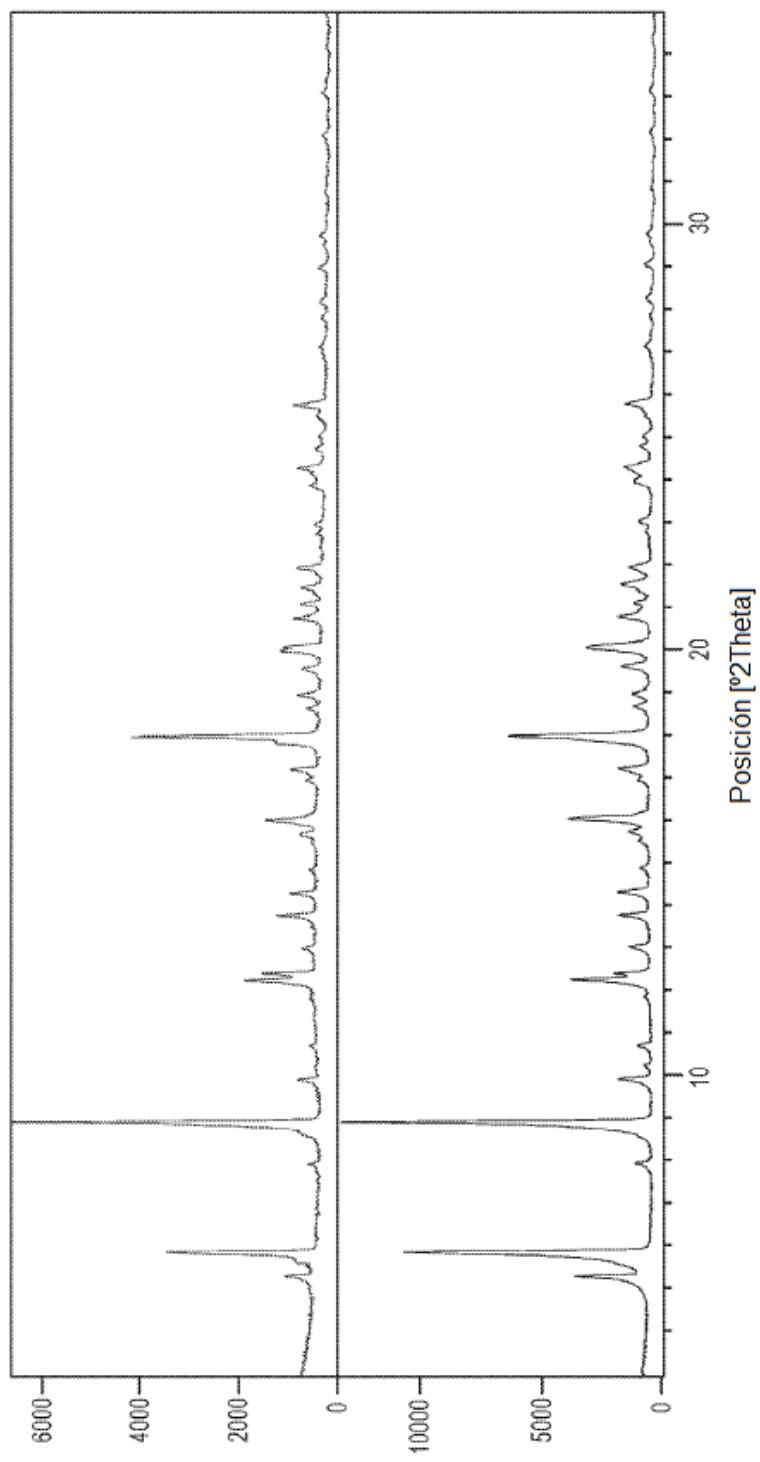


Figura 1B

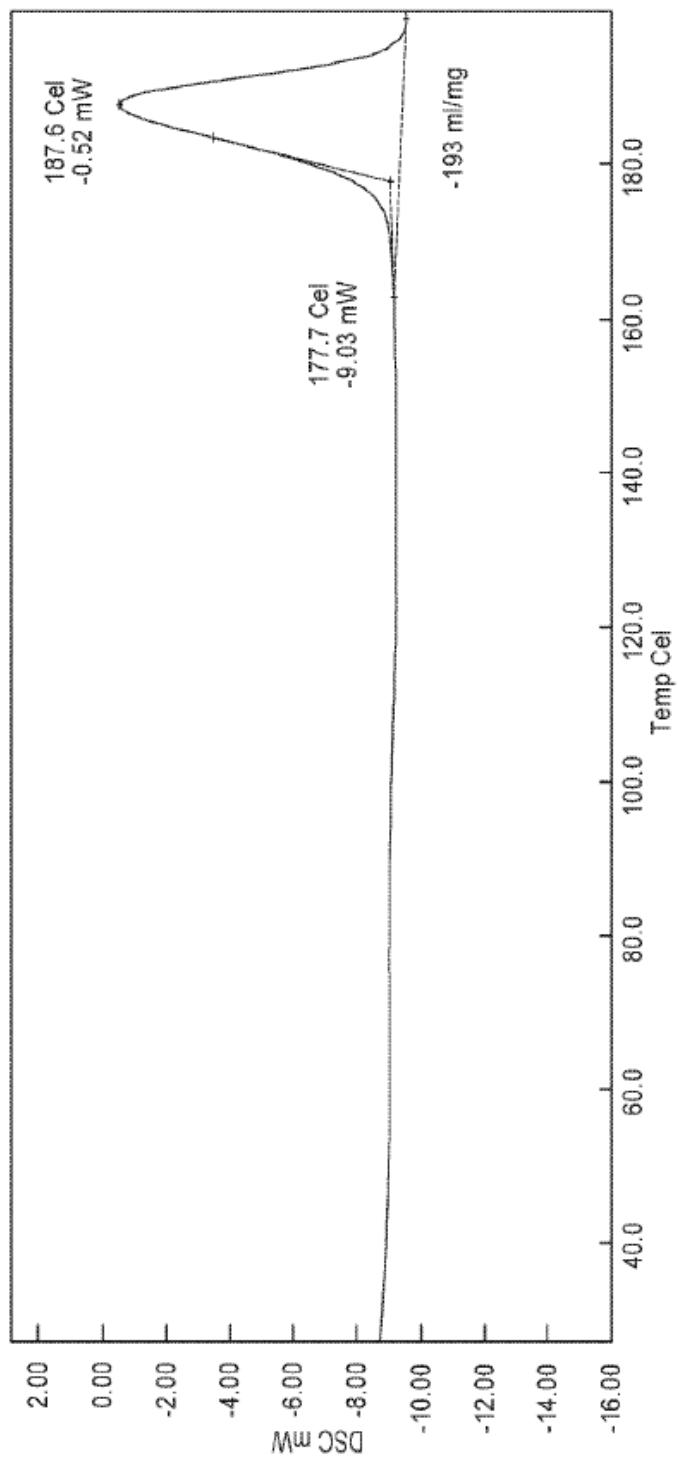


Figura 1C

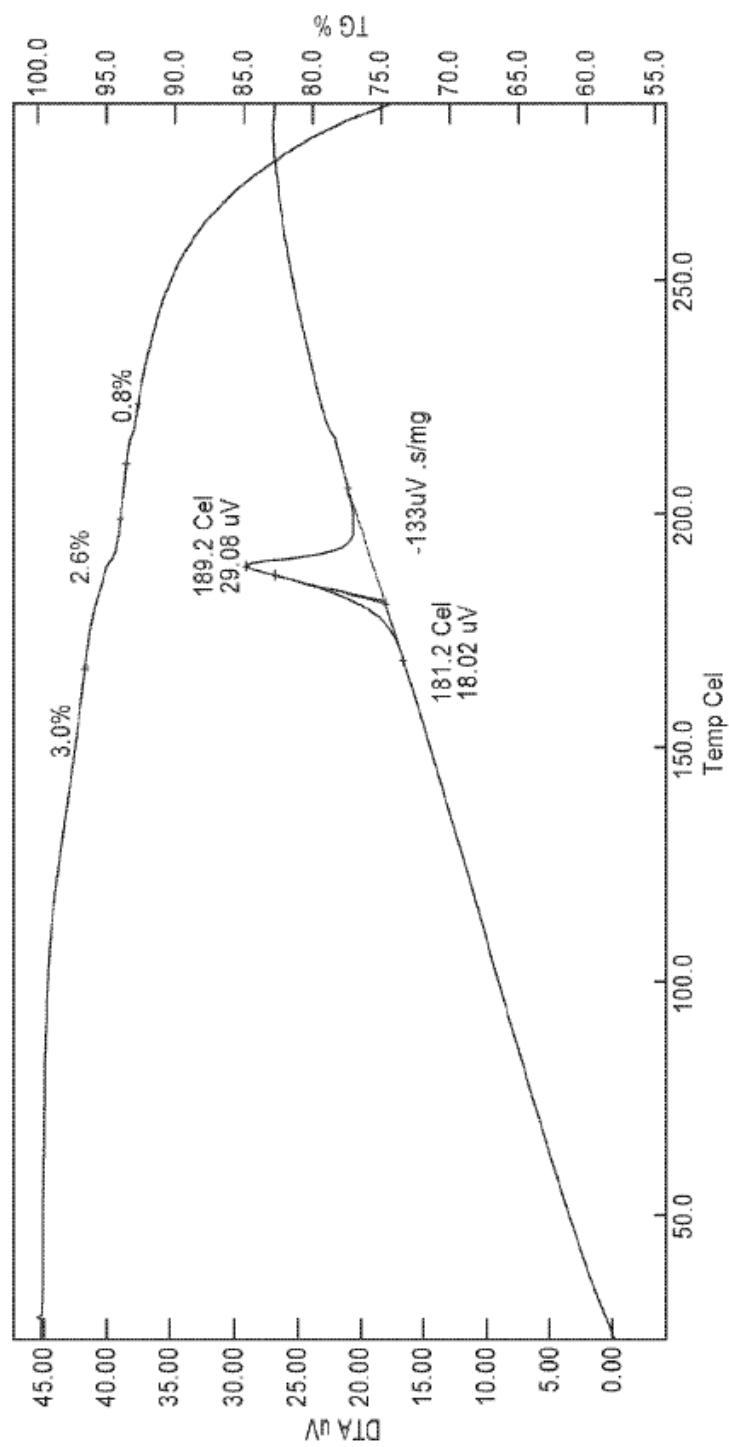


Figura 2A

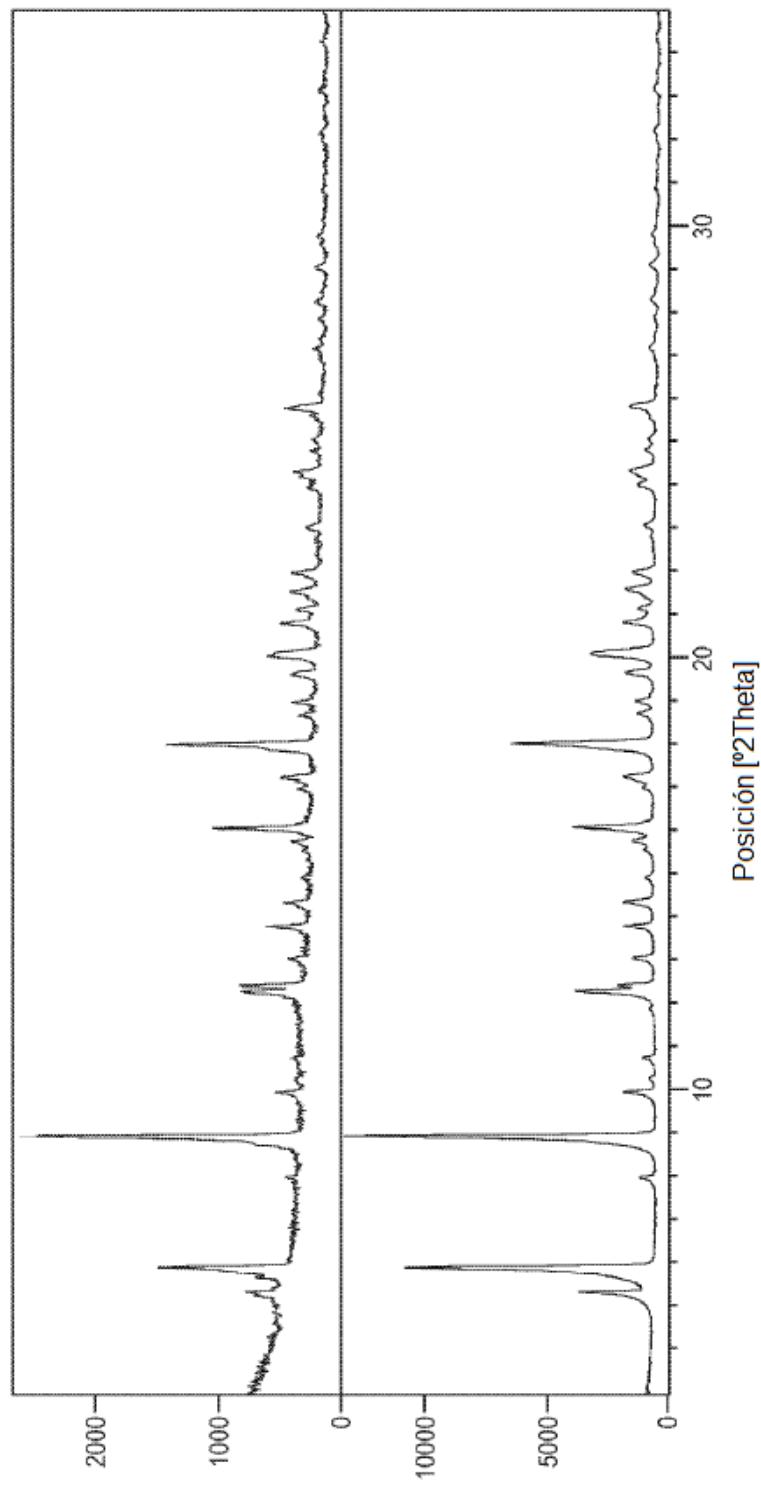


Figura 2B

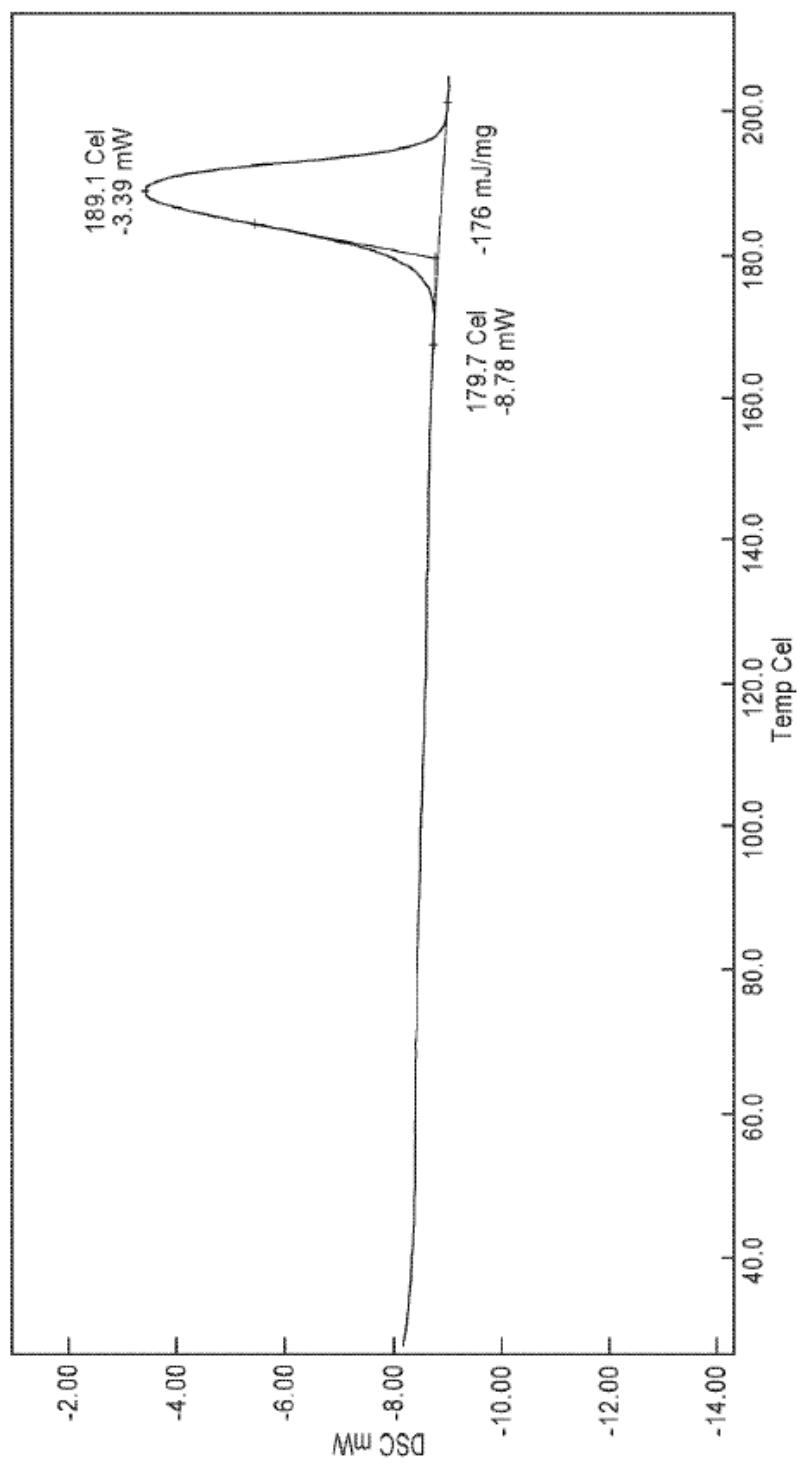
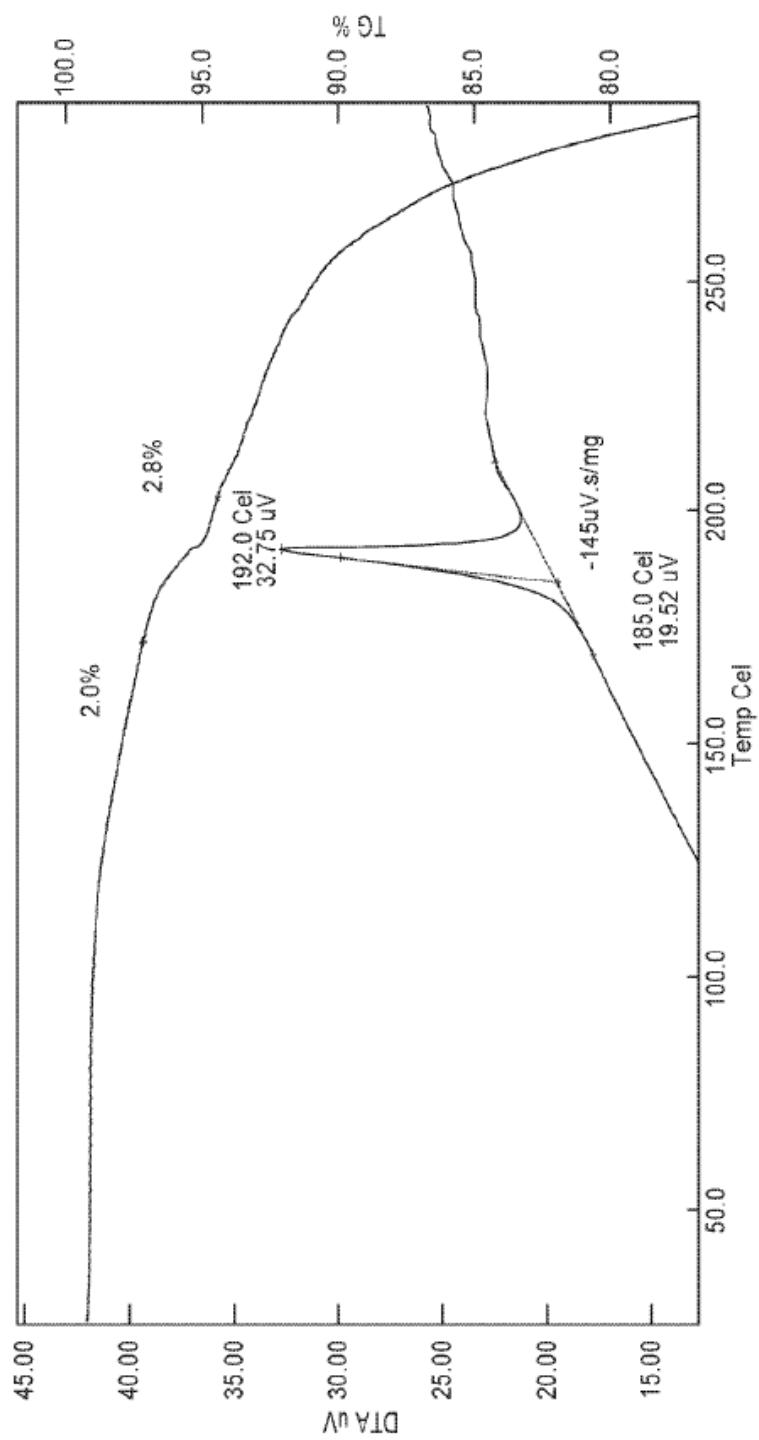
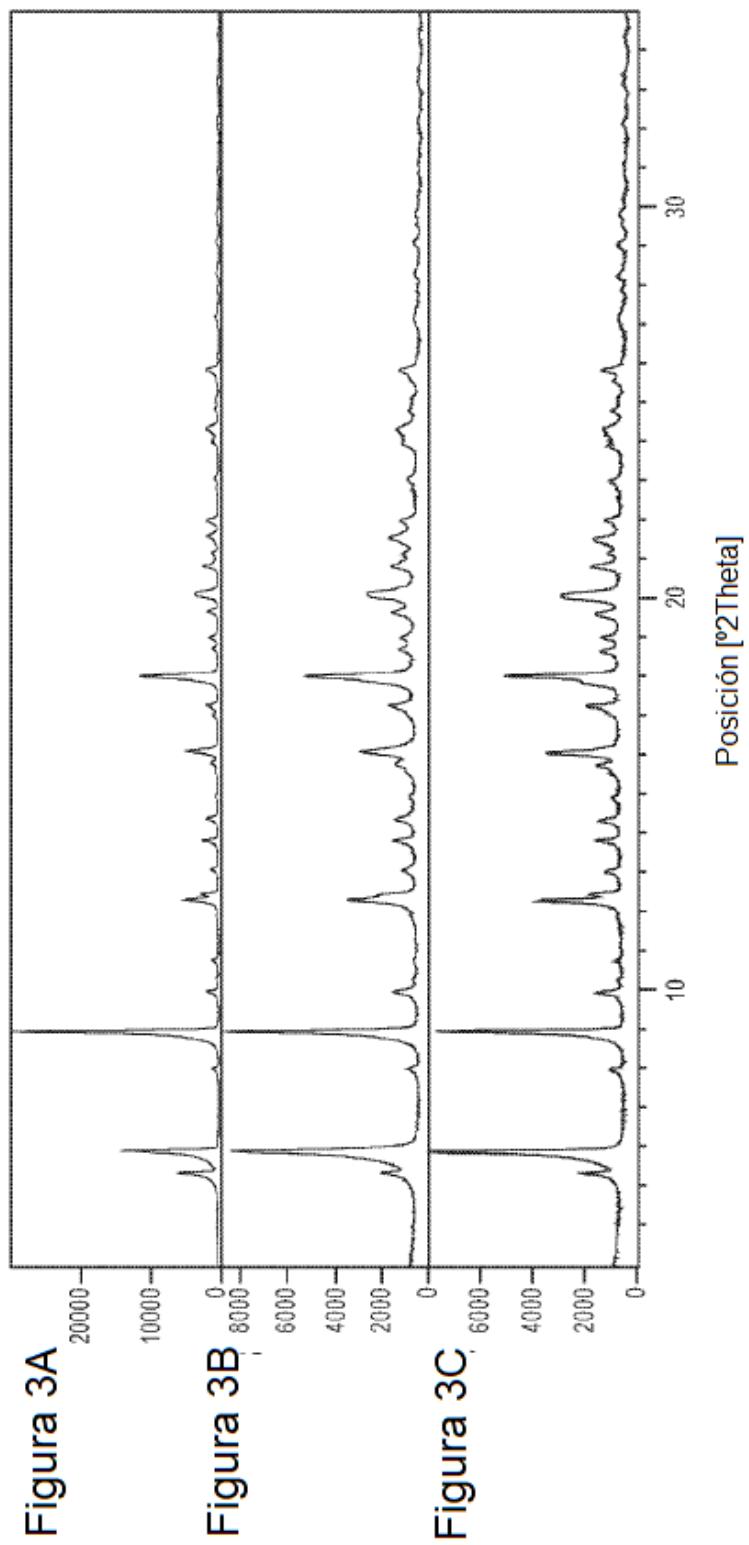
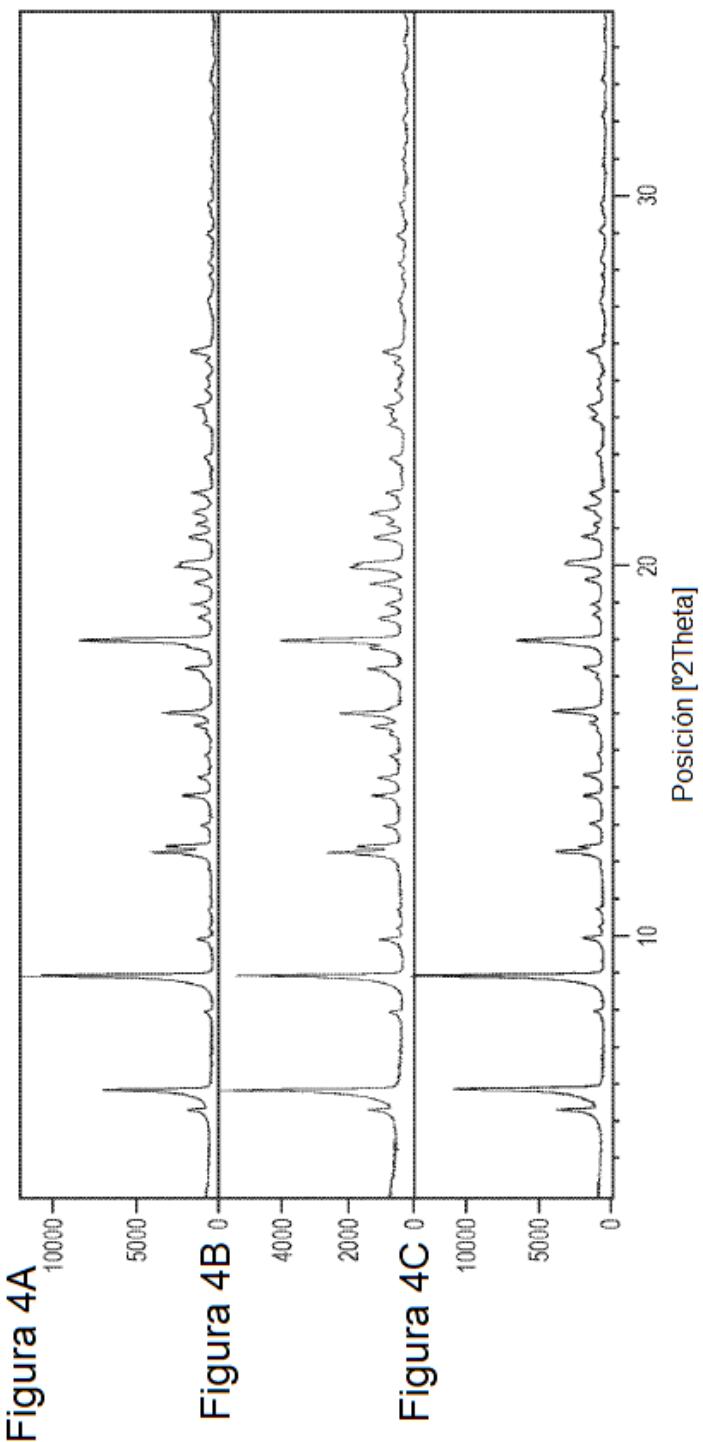


Figura 2C







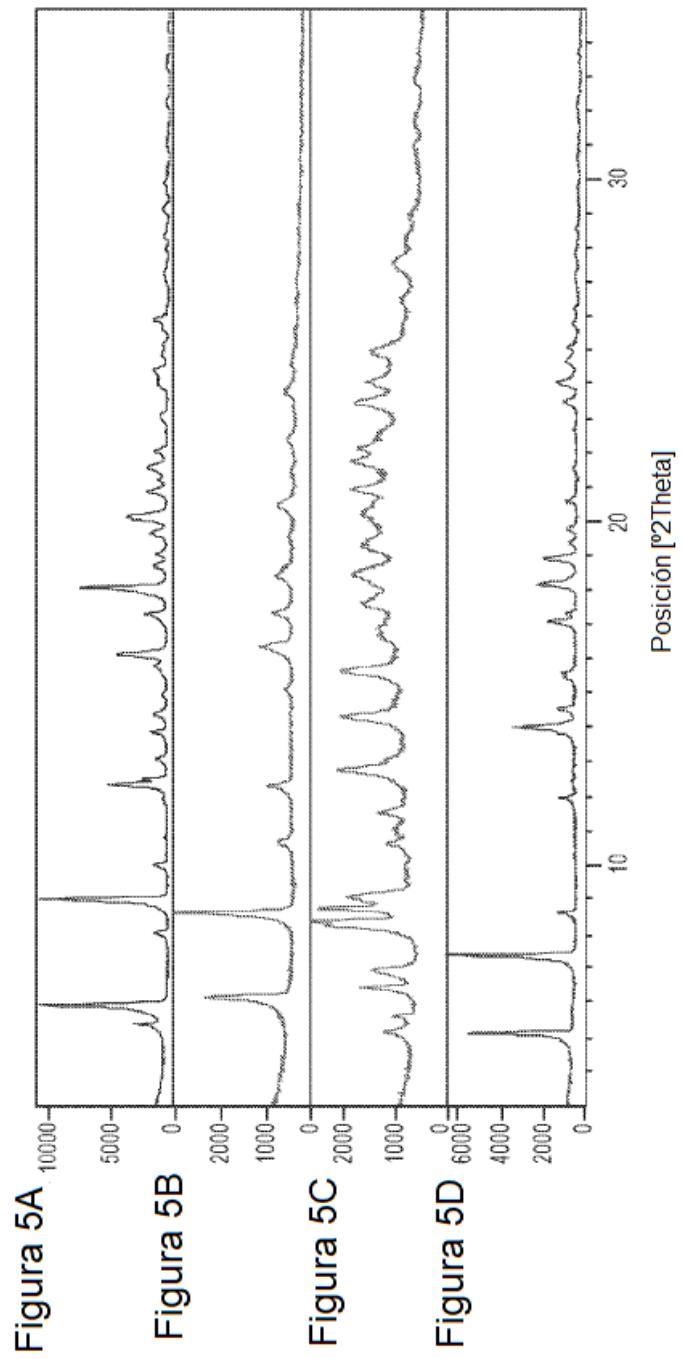


Figura 6A

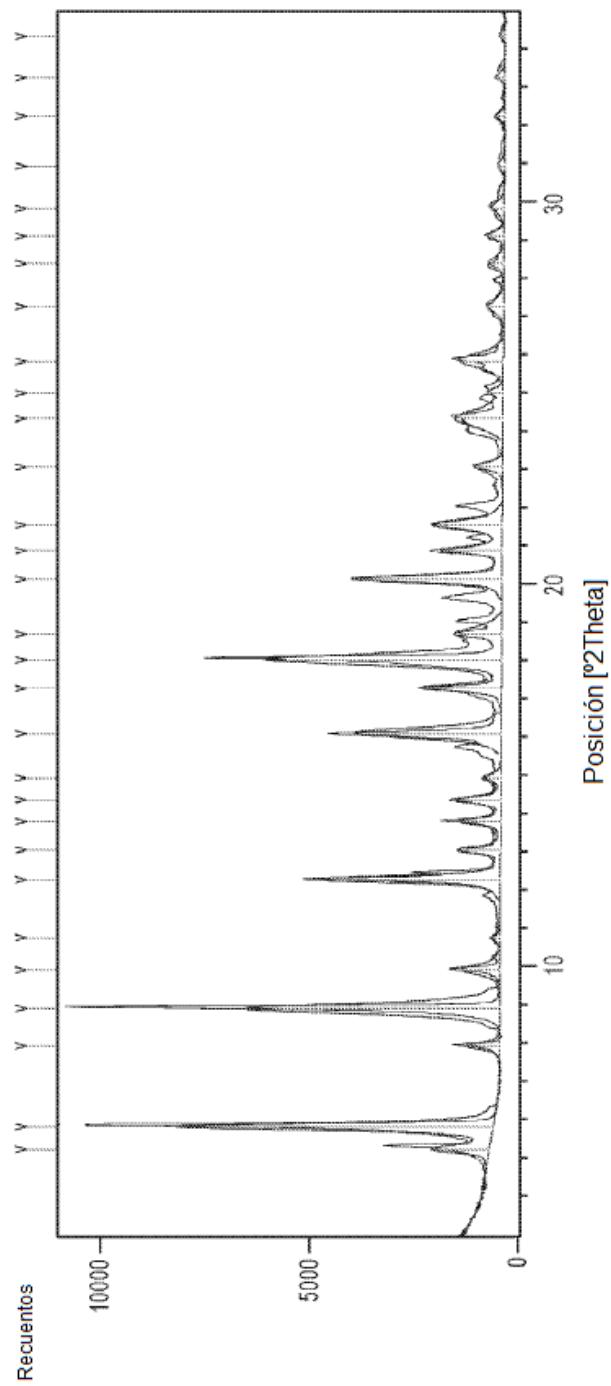


Figura 6B

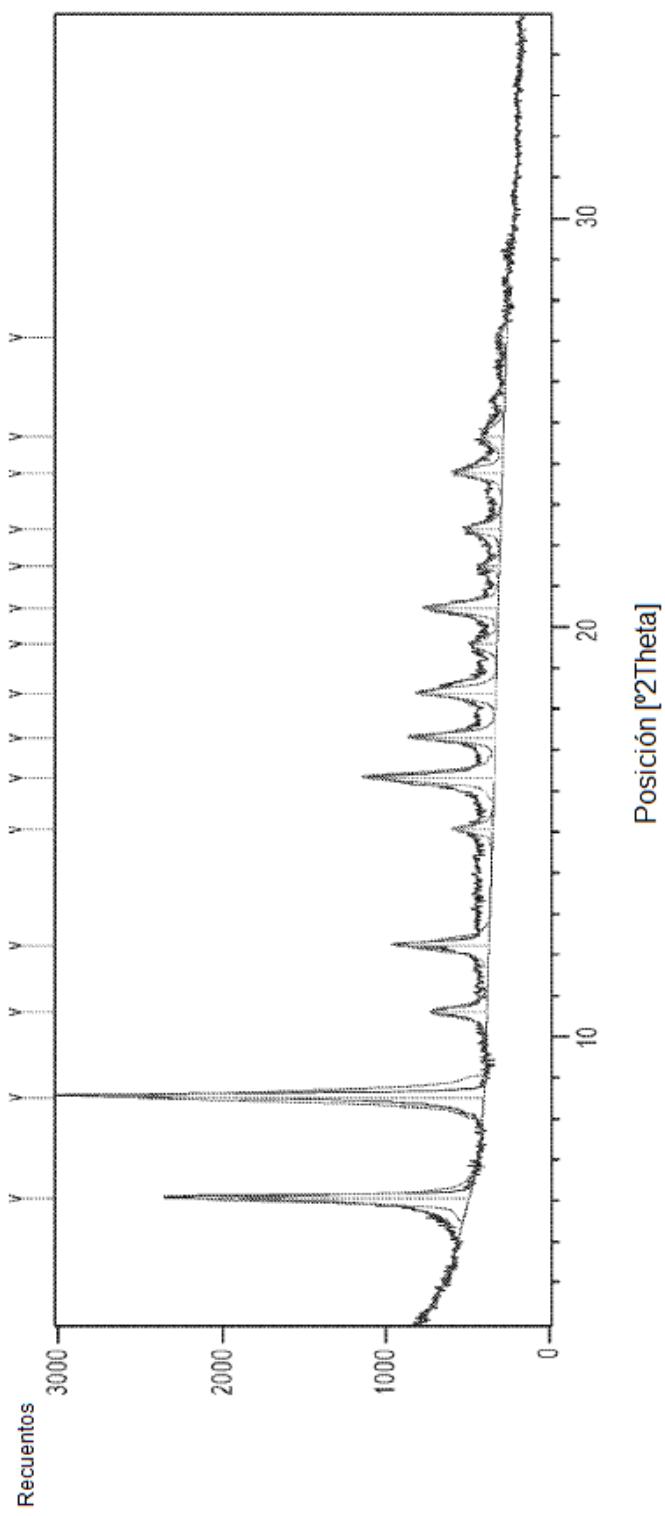


Figura 6C

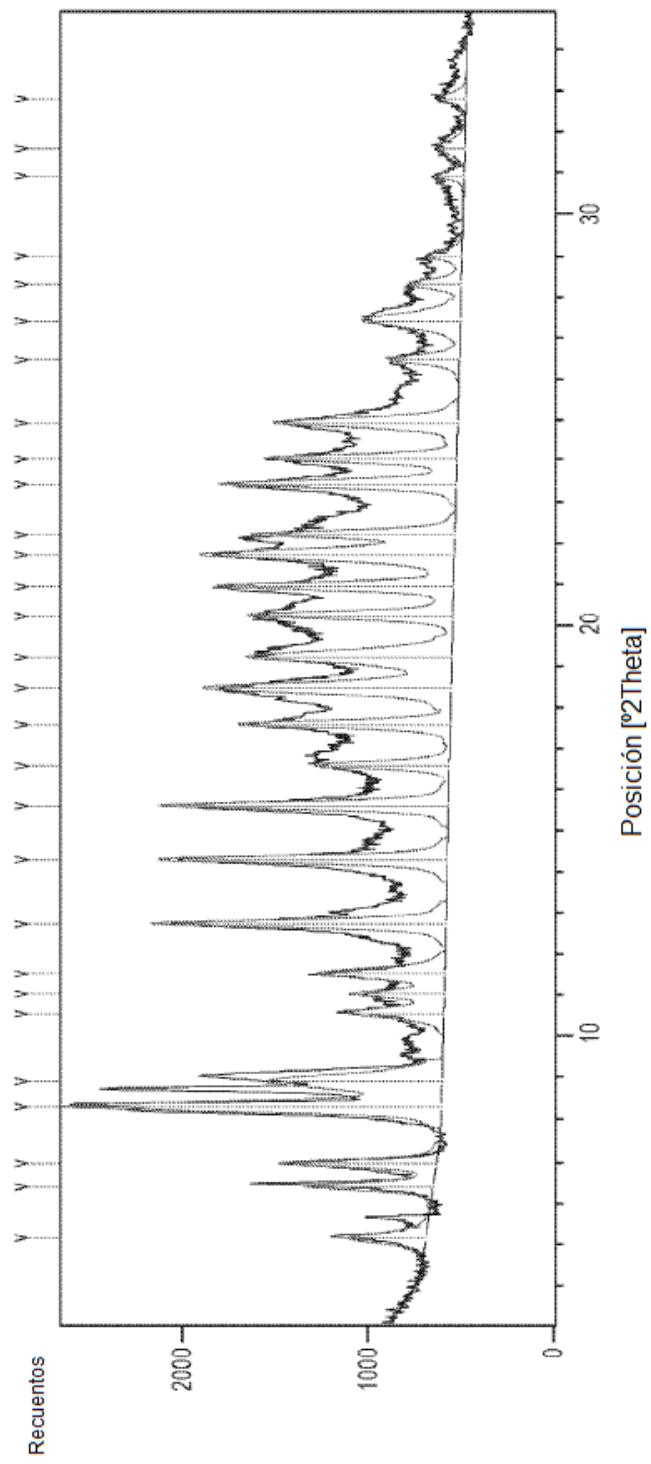
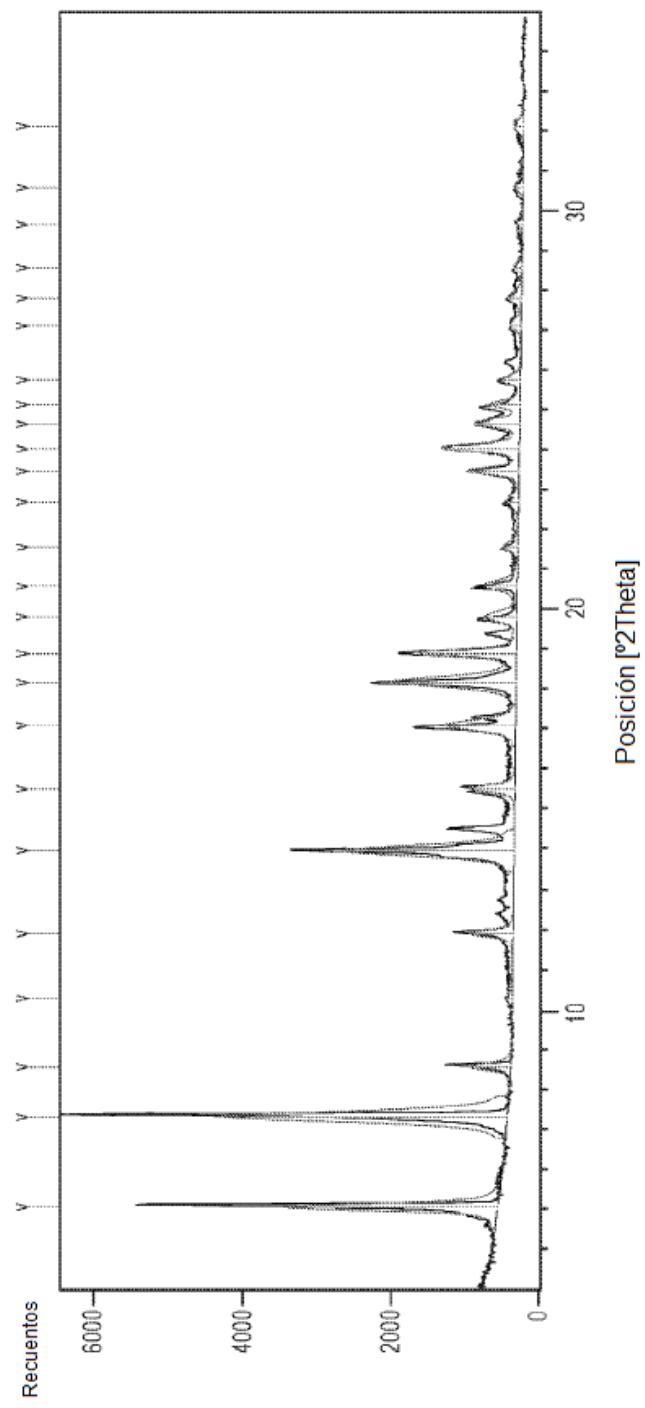


Figura 6D



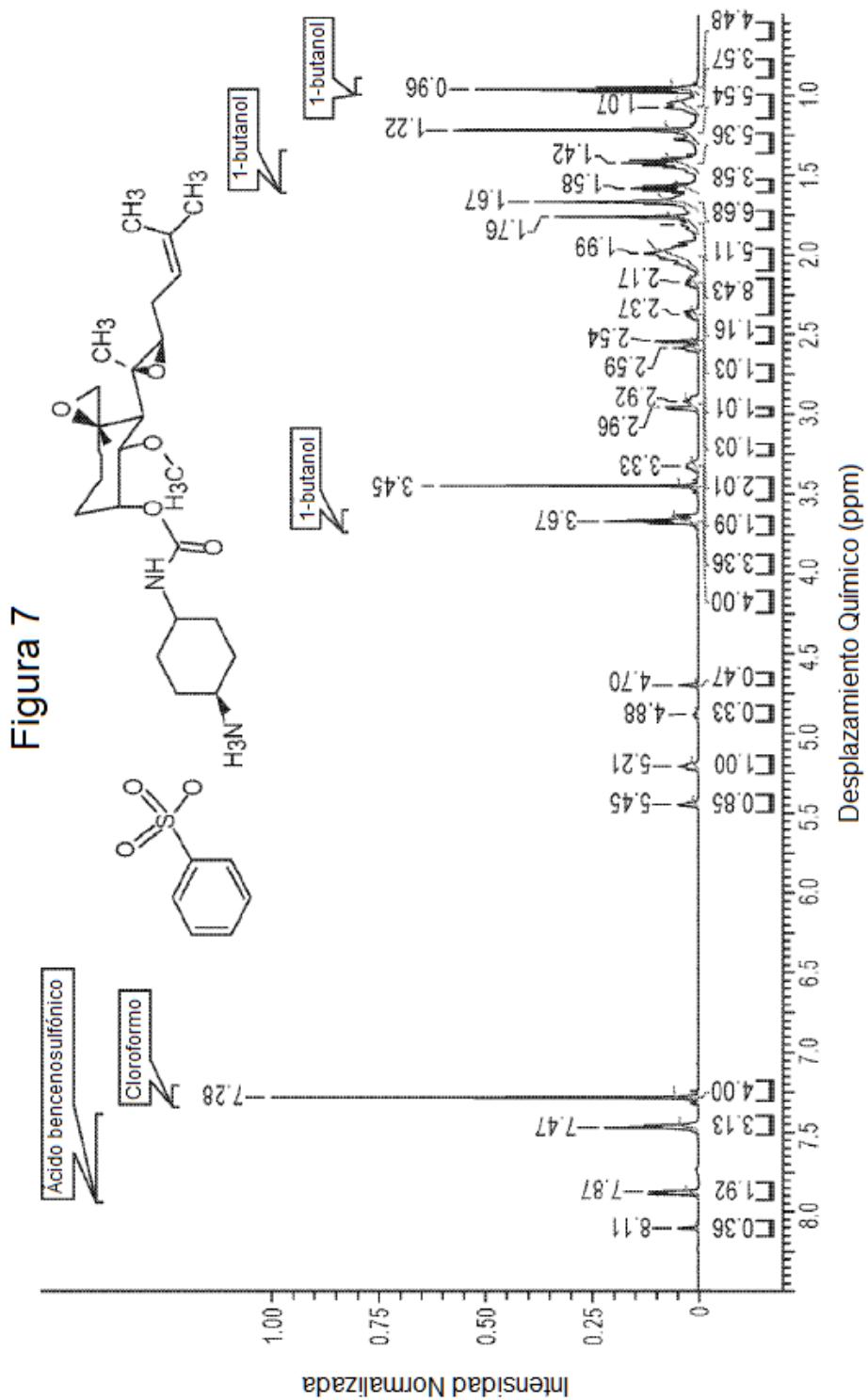


Figura 8

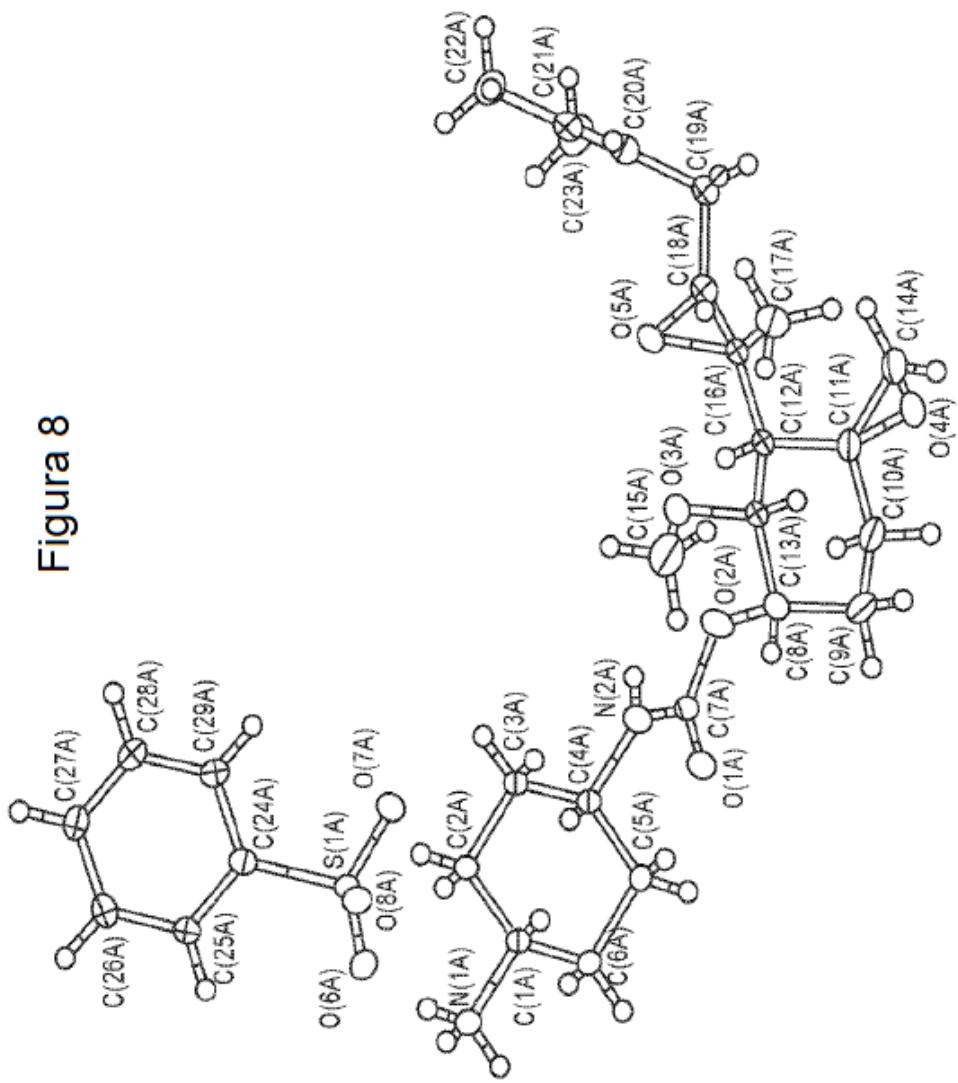
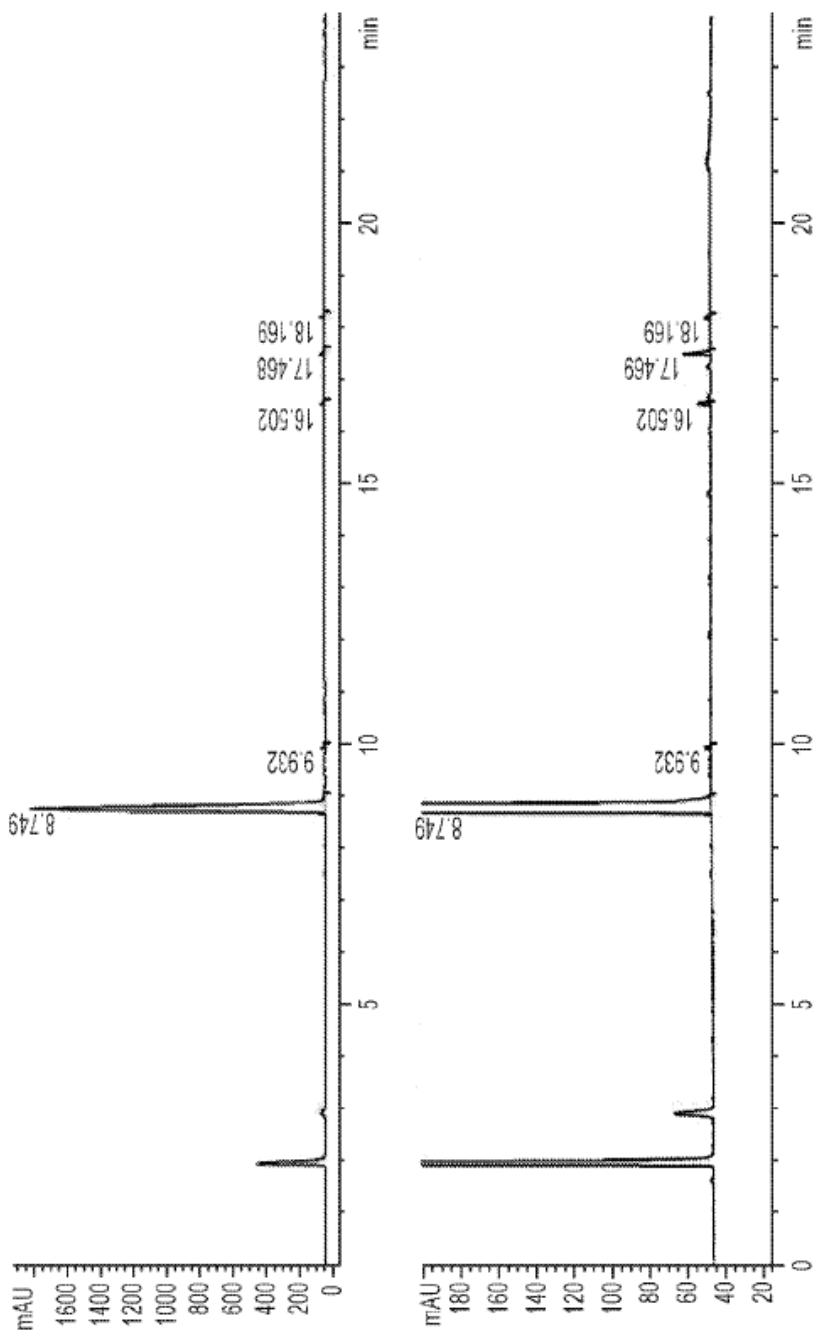


Figura 9



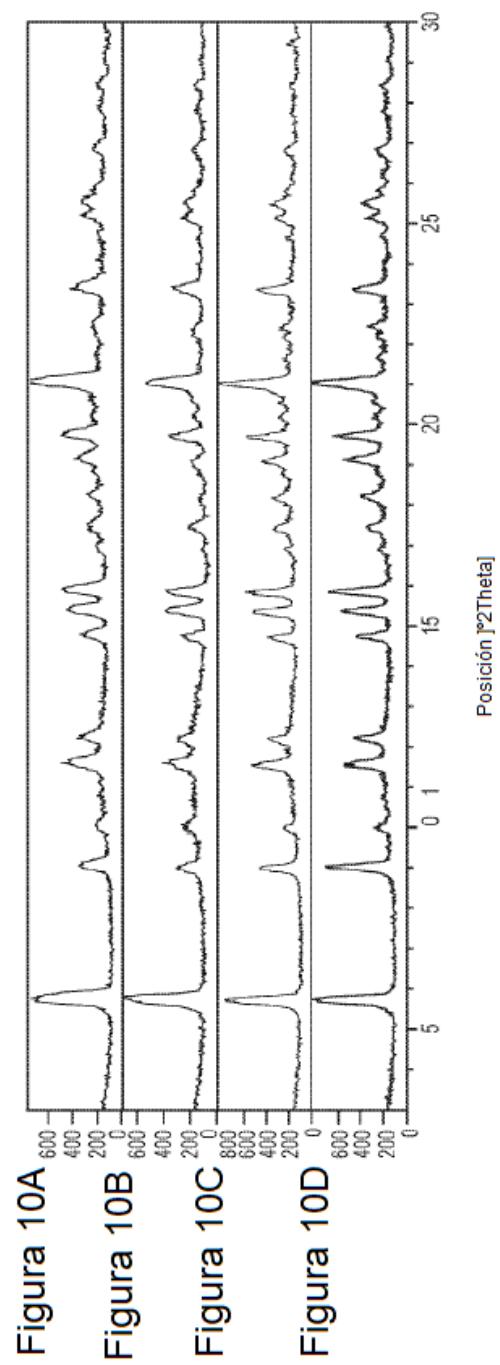


Figura 10E

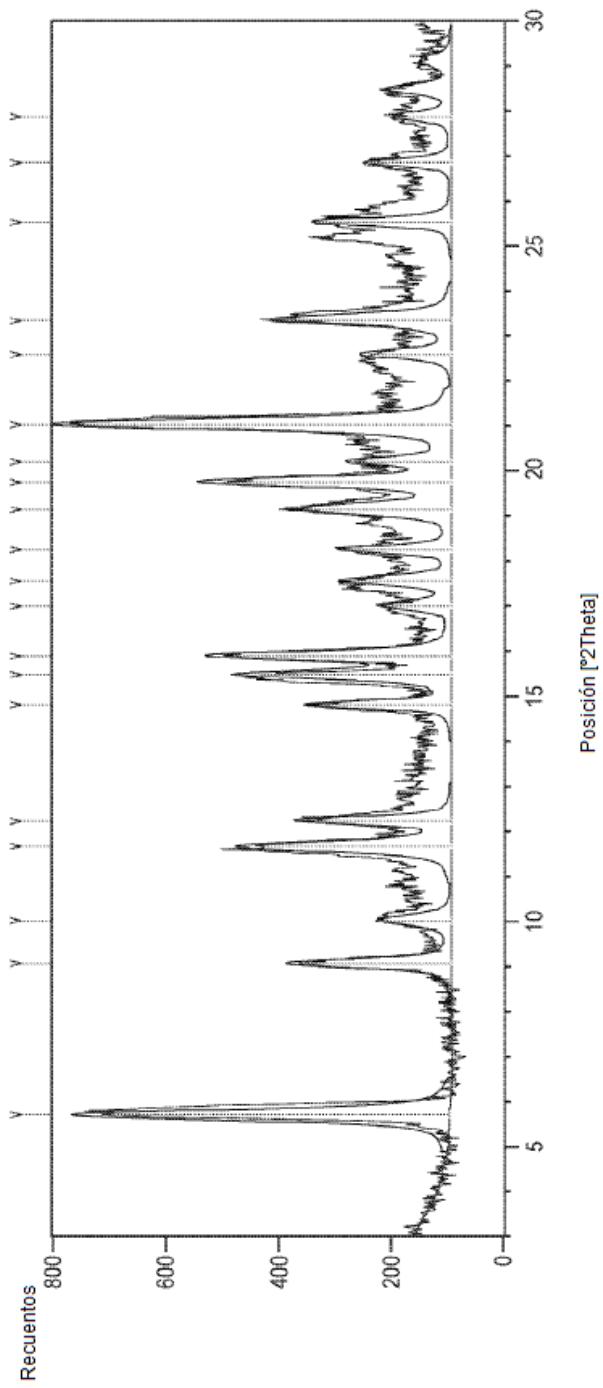


Figura 11

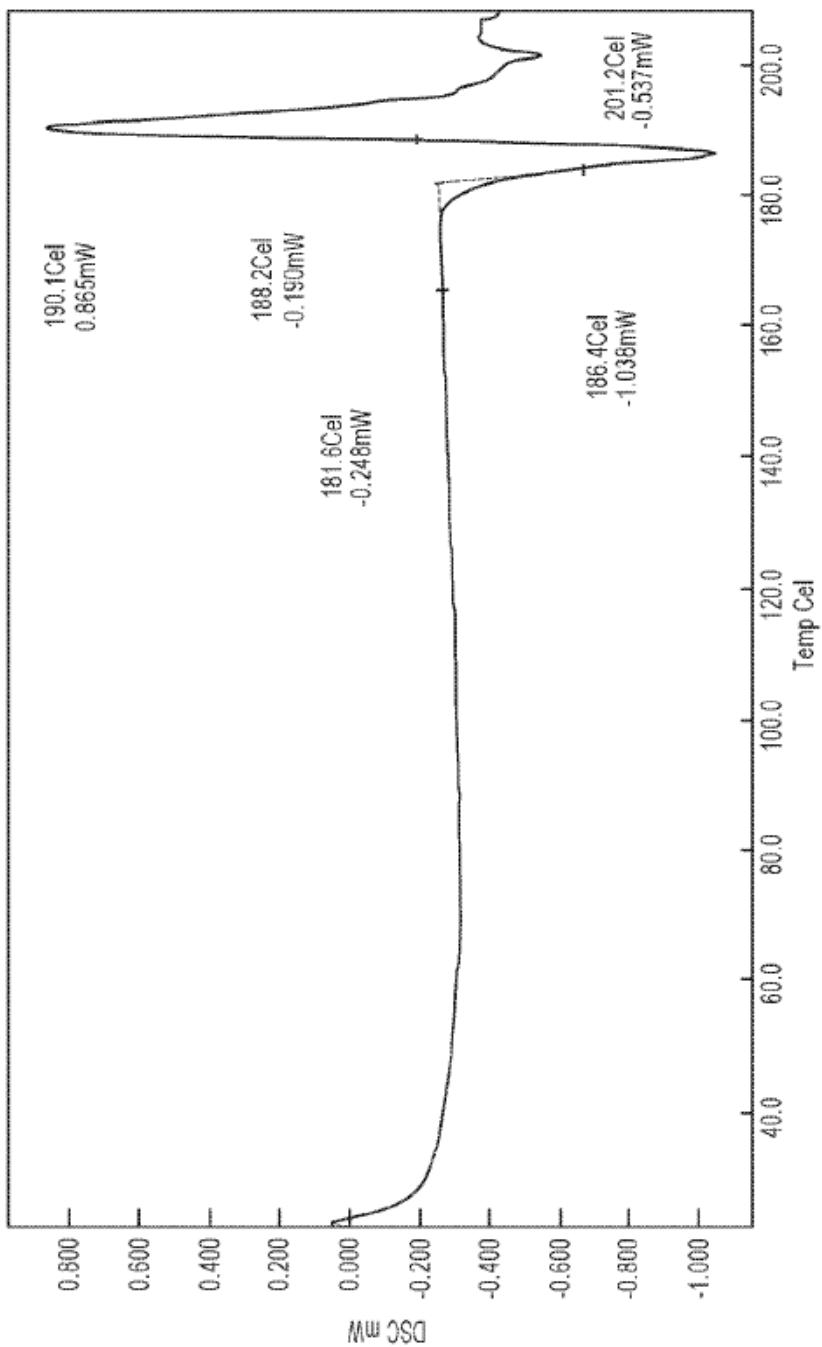


Figura 12

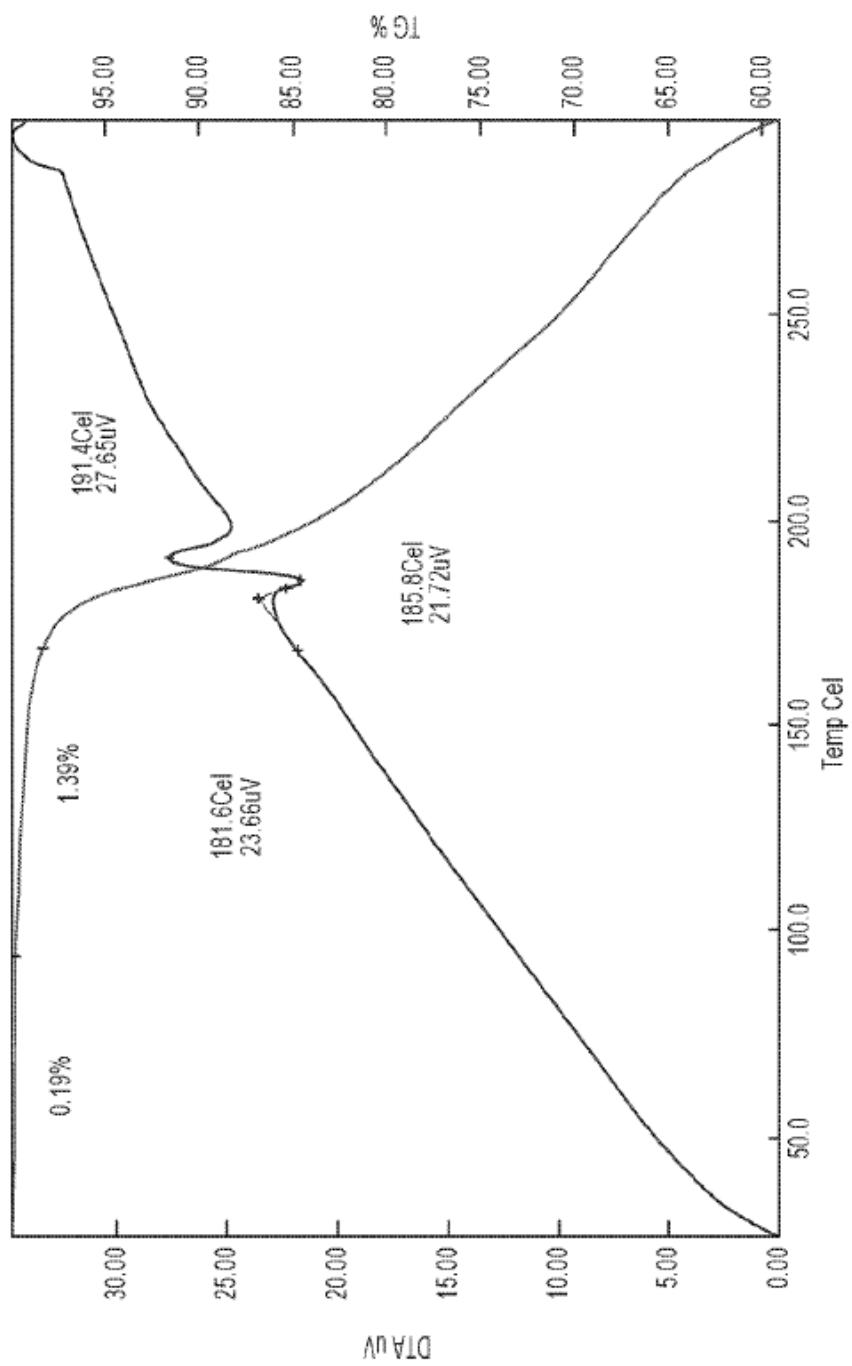


Figura 13

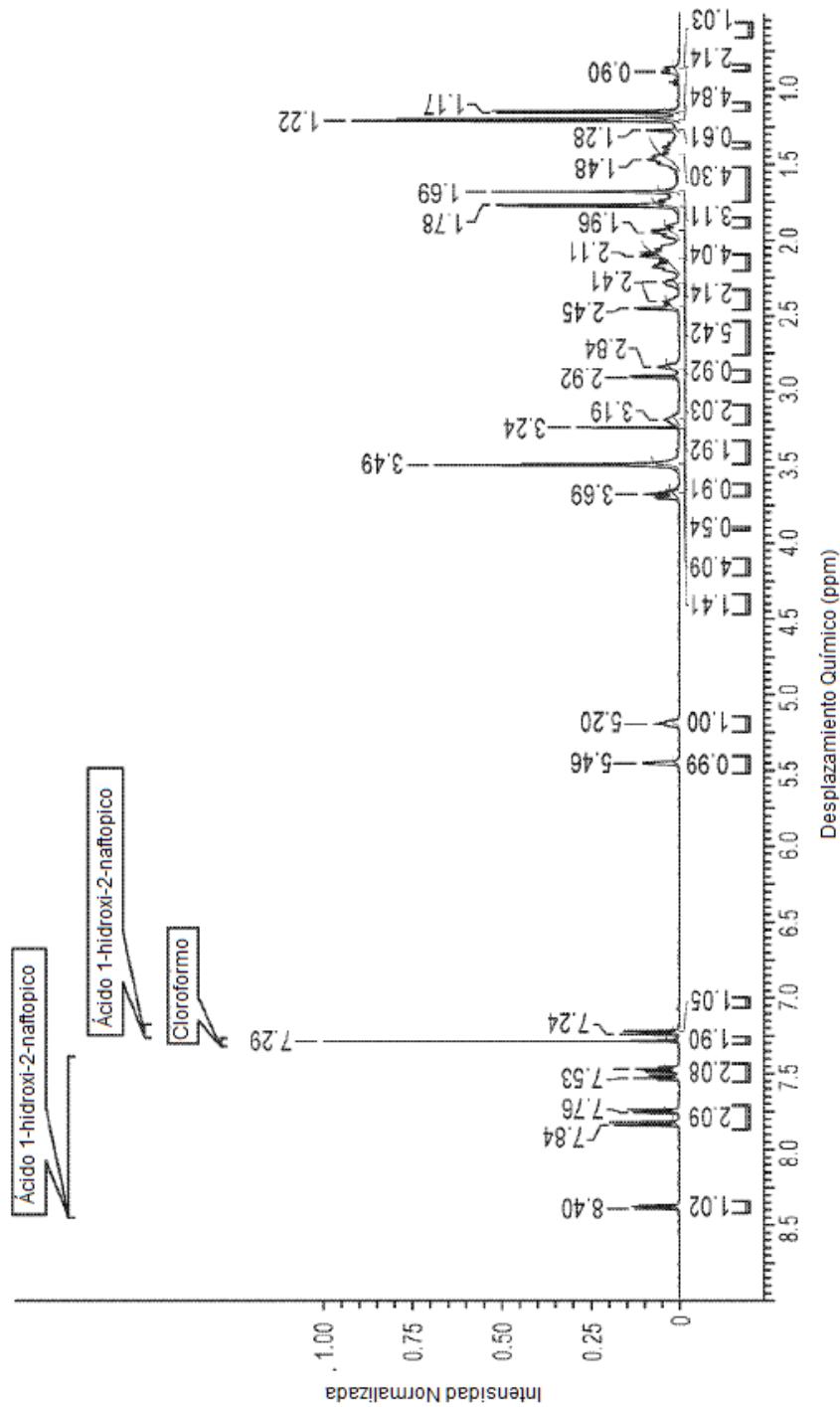
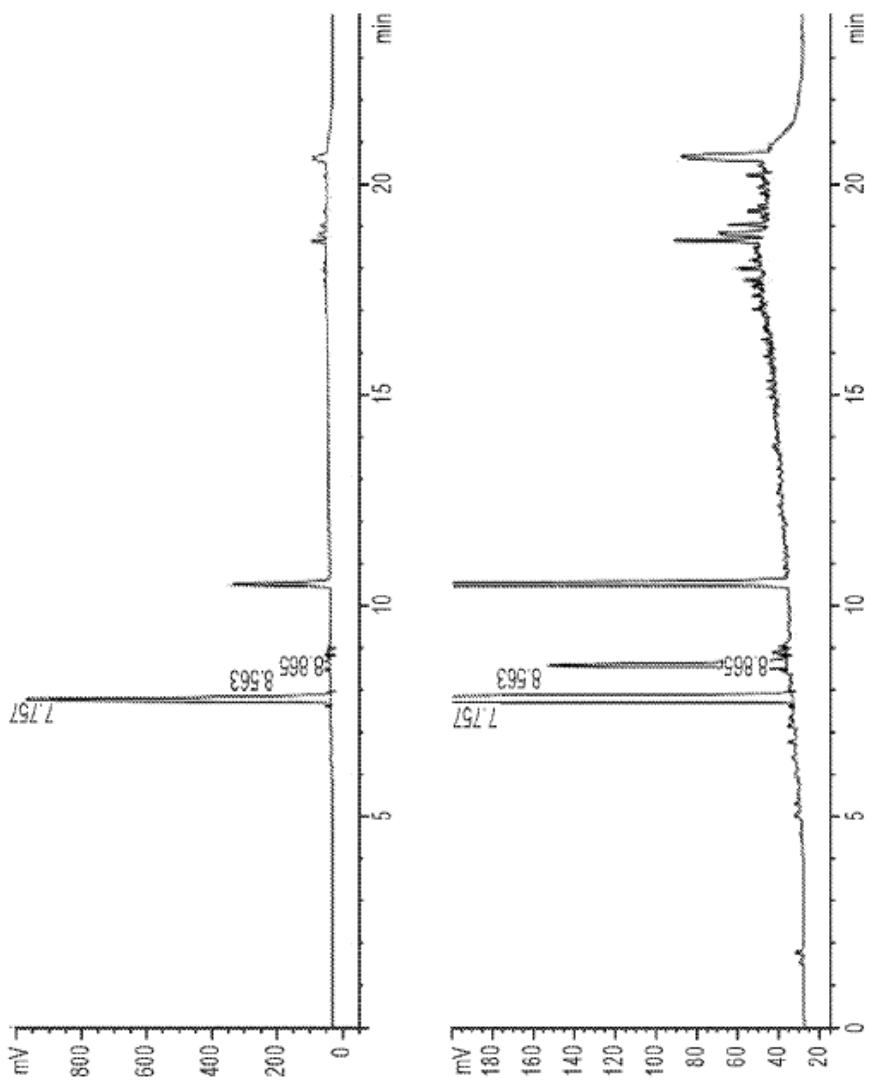


FIGURA 14A



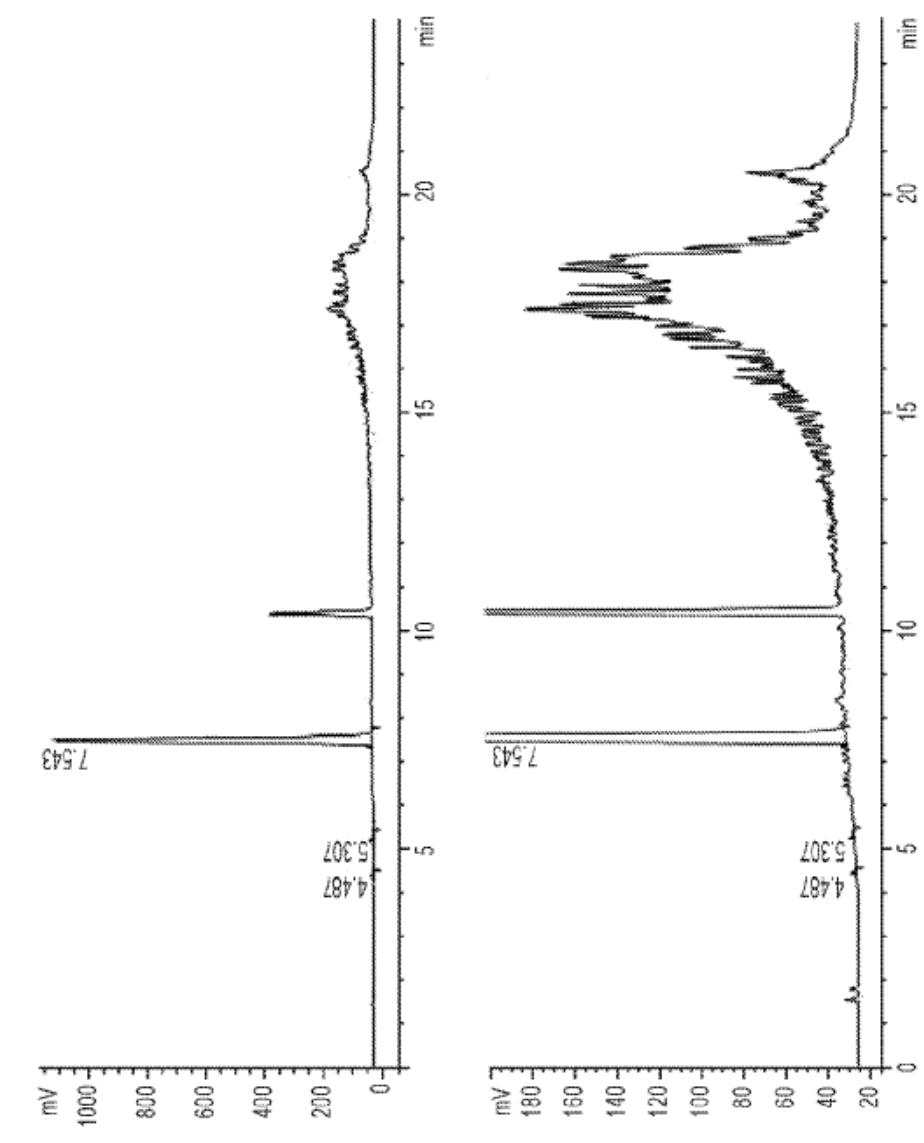
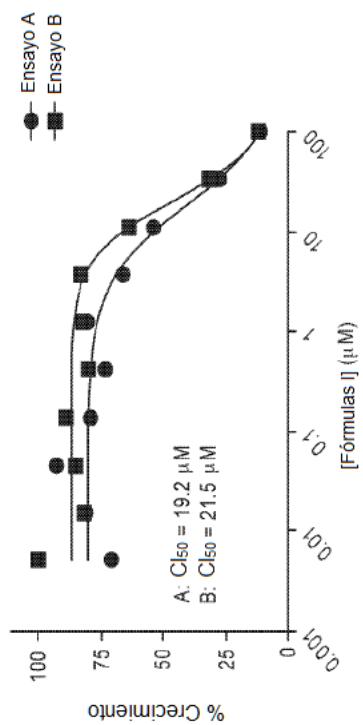


Figura 14B

Figura 15A
Fórmula i frente a BC-1



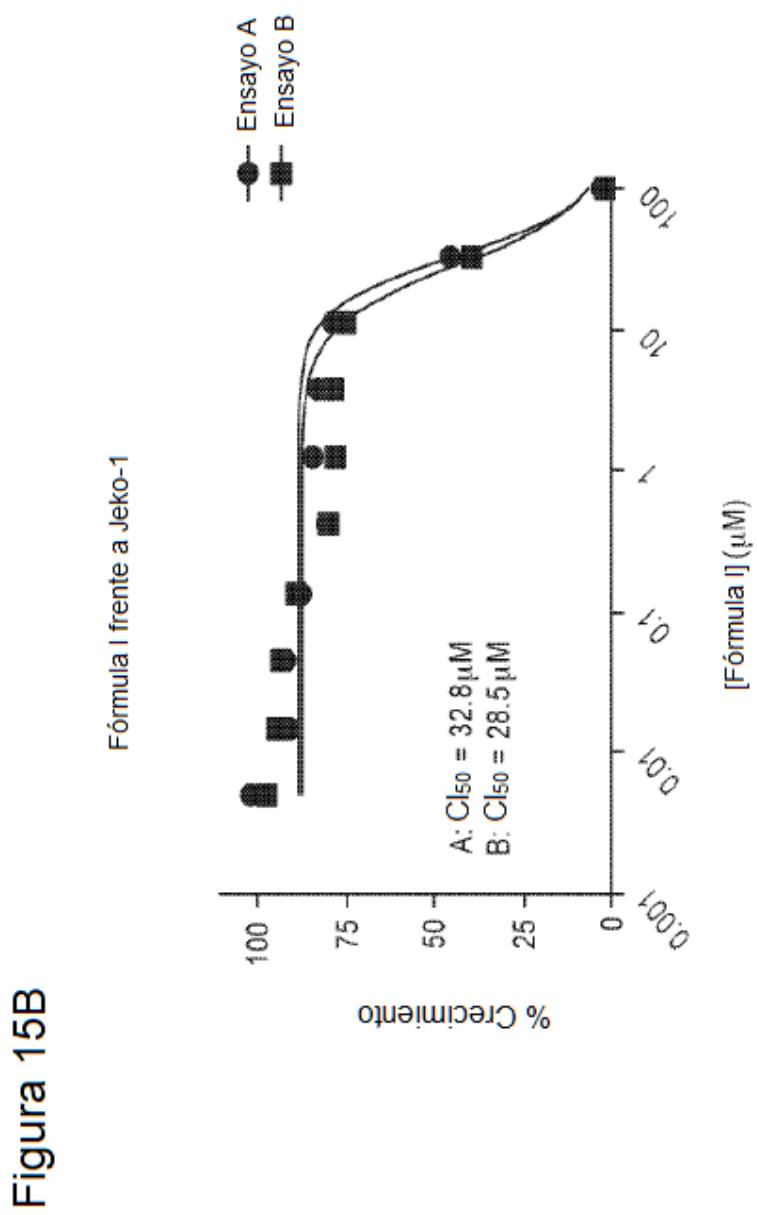


Figura 15B

Figura 15C

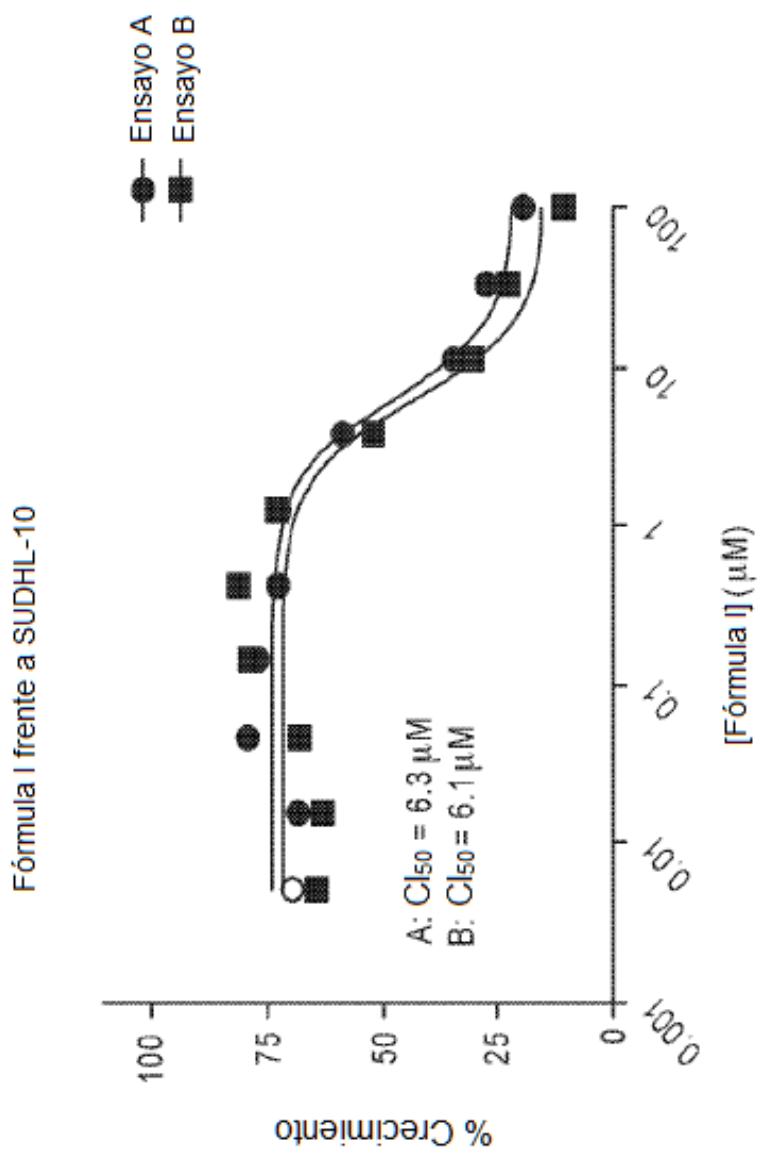


Figura 15D

