

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 797 987**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2016 PCT/IB2016/053988**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2017 WO17002095**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2016 E 16735945 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 3317281**

54 Título: **Formas sólidas y formulaciones de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida**

30 Prioridad:

02.07.2015 US 201562188468 P
28.12.2015 US 201562271708 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.12.2020

73 Titular/es:

ACERTA PHARMA B.V. (100.0%)
Kloosterstraat 9
5349 AB Oss, NL

72 Inventor/es:

BLATTER, FRITZ;
INGALLINERA, TIM;
BARF, TJEERD;
ARET, EDWIN;
KREJSA, CECILE y
EVARTS, JERRY

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 797 987 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formas sólidas y formulaciones de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida

5

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Campo de la invención

10 La invención se refiere a Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida como se define posteriormente. En otras realizaciones, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen la Forma I de base libre (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida como se define posteriormente, incluyendo composiciones farmacéuticas que pueden usarse para superar los efectos de los agentes reductores de ácido, y pueden usarse para

15

tratar cánceres.

Antecedentes de la invención

20 La tirosina quinasa de Bruton (BTK) es una proteína quinasa no receptora de la familia Tec expresada en linfocitos B y células mieloides. BTK se compone de la homología pleckstrina (PH), homología Tec (TH), homología Src 3 (SH3), homología Src 2 (SH2), y dominios de tirosina quinasa u homología Src 1 (TK o SH1). La función de BTK en las vías de señalización activadas por el compromiso del receptor de linfocitos B (BCR) en linfocitos B maduros y FCER1 en mastocitos está bien establecida. Las mutaciones funcionales en BTK en humanos resultan en una enfermedad de

25

de inmunodeficiencia primaria (agammaglobulinemia ligada al cromosoma X) caracterizada por un defecto en el desarrollo de linfocitos B con un bloqueo entre las etapas de linfocitos pro y pre-B. El resultado es una ausencia casi completa de linfocitos B, causando una reducción pronunciada de la inmunoglobulina sérica de todas las clases. Estos hallazgos apoyan un papel clave de BTK en la regulación de la producción de autoanticuerpos en enfermedades autoinmunes.

30 BTK se expresa en numerosos linfomas y leucemias de linfocitos B. Otras enfermedades con un papel importante para linfocitos B disfuncionales son neoplasias malignas de linfocitos B, como se describe en Hendriks, *et al*, Nat. Rev. Cancer, 2014, 14, 219-231. El papel informado de BTK en la regulación de proliferación y apoptosis de las linfocitos B indica el potencial de inhibidores de BTK en el tratamiento de linfomas de linfocitos B. Los inhibidores de BTK se han desarrollado como terapias potenciales para muchas de estas malignidades, como se describe en D'Cruz, *et al*, OncoTargets and Therapy 2013, 6, 161-176. La publicación de solicitud de patente internacional número WO

35

2013/010868 describe inhibidores de BTK que incluyen (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida para uso en terapia.

40 La presente invención incluye el descubrimiento inesperado de la nueva Forma I cristalina de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, denominada en este documento Fórmula (1). La fórmula (1) es un inhibidor de BTK que es útil, entre otras, en composiciones farmacéuticas y para uso en tratamiento de cánceres, inflamación, enfermedades inmunes, y autoinmunes. La novedosa Forma I cristalina de base libre de Fórmula (1) desvelada en este documento tiene propiedades sorprendentes y útiles.

45

Sumario de la invención

45

La invención proporciona una composición que comprende base libre cristalina de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la base libre cristalina de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 y 15,7 °2θ ± 0,2 °2θ, en donde el patrón de difracción de rayos X se adquiere usando una fuente de radiación Cu-Kα1. Esto se denomina en el presente documento Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida o Forma I cristalina de base libre de Fórmula (1).

50

55 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende base libre cristalina de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la base libre cristalina de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 y 15,7 °2θ ± 0,2 °2θ, y además comprende picos a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 y 18,2 °2θ ± 0,2 °2θ en donde el patrón de difracción de rayos X se adquiere utilizando una fuente de radiación Cu-Kα1.

60

65 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende base libre cristalina de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la base libre cristalina de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 y 15,7 °2θ ± 0,2 °2θ, y que comprende además picos en 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 y 18,2 °2θ ± 0,2 °2θ, y que además comprende uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en 11,3, 15,1, 15,7, 16,1, 17,3, 19,2, 19,4, 19,8, 20,7, 21,1, 21,4, 21,6,

65

21,9, 22,6, 23,3, 23,6, 24,9, 25,2, 25,4, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, 26,9, 27,7, 28,6, 29,1, 29,4, 30,1, 30,5, 31,7, 31,9, 32,2, 32,6, 33,1, 33,4, 34,5, 35,9, 36,1, 36,8, 37,4, 38,1, 38,9 y 39,5 °2θ ± 0,2 °2θ en donde el patrón de difracción de rayos X se adquiere utilizando una fuente de radiación Cu-Kα1.

5 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo de transmisión sustancialmente igual al patrón de difracción de rayos X en polvo representativo mostrado en FIG. 1, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu-Kα1.

15 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un espectro Raman que comprende picos a 1620, 1609, 1547, 1514 y 1495 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

20 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un espectro Raman que comprende picos a 1620, 1609, 1547, 1514 y 1495 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹, que comprende además uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en 1680, 1574, 1454, 1433, 1351, 1312, 1255, 1232, 1187, 1046, 995, 706, 406 y 280 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

25 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, se caracteriza por un espectro Raman sustancialmente igual al espectro Raman representativo mostrado en FIG. 2.

30 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, se caracteriza por un espectro infrarrojo (IR) que comprende picos a 1621, 1608, 1403, 1303 y 764 cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹.

35 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, se caracteriza por un espectro infrarrojo (IR) que comprende picos a 1621, 1608, 1403, 1303 y 764 cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹, que comprende además uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en 3367, 3089, 2246, 1682, 1574, 1514, 1504, 1454, 1428, 1345, 1248, 1194, 1177, 1149, 1109, 1049, 1023, 1003, 947, 900, 858, 842, 816, 734, 729, 701, 689, 665, 623 y 612 cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹.

45 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un espectro IR sustancialmente igual al espectro IR representativo mostrado en FIG. 3.

50 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por la ausencia de agua en la estructura cristalina.

55 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida y un acidulante extragranular.

60 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbico y ácido D-araboascórbico), ácido alginico o una sal del mismo, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno), y combinaciones de los mismos.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido algínico, o una sal de sodio o potasio del mismo, a una concentración de entre aproximadamente 5 % a aproximadamente 33 % en peso.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido algínico, o una sal de sodio o potasio del mismo, a una concentración de entre aproximadamente 5 % a aproximadamente 33 % en peso, y en donde la composición comprende además al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa en un mamífero, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona del grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma folicular, enfermedad linfoproliferativa de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, macroglobulinemia de Waldenström, leucemia de Burkitt, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda, leucemia mielomonocítica juvenil, tricoleucemia, leucemia de mastocitos, mastocitosis, trastornos mieloproliferativos (MPD), neoplasias mieloproliferativas, policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE), mielofibrosis primaria (PMF), síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena crónica (BCR-ABL1-positiva), leucemia neutrofílica crónica, leucemia eosinofílica crónica, linfoma primario del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario multifocal del sistema nervioso periférico (SNP), cáncer de timo, cáncer de cerebro, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de células escamosas, cáncer de piel (por ejemplo, melanoma), cáncer ocular, retinoblastoma, melanoma intraocular, cánceres de cavidad oral y orofaríngeos, cáncer de vejiga, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza y cuello, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer óseo (por ejemplo, cáncer óseo metastásico), cáncer de esófago, cáncer testicular, cáncer ginecológico, cáncer de tiroides, cáncer epidermoide, cáncer relacionado con SIDA (por ejemplo, linfoma), carcinoma cervical inducido por virus (virus del papiloma humano), carcinoma nasofaríngeo (virus de Epstein-Barr), sarcoma de Kaposi, linfoma de efusión primaria (virus del herpes de sarcoma de Kaposi), carcinoma hepatocelular (virus de hepatitis B y hepatitis C), leucemias de linfocitos T (virus-1 de leucemia de linfocitos T humana), hiperplasia benigna de la piel, reestenosis, hipertrofia benigna de próstata, angiogénesis tumoral, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades de la piel tales como psoriasis, eccema, y esclerodermia, diabetes, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, degeneración macular asociada a la edad, hemangioma, colitis ulcerosa, dermatitis atópica, reservoritis, espondiloartritis, uveítis, enfermedad de Behcet, polimialgia reumática, arteritis de células gigantes, sarcoidosis, enfermedad de Kawasaki, artritis idiopática juvenil, hidratenitis supurativa, síndrome de Sjögren, artritis psoriásica, artritis reumatoide juvenil, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, lupus, y nefritis por lupus.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa en un mamífero, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona del grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma folicular, y macroglobulinemia de Waldenström.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida y un acidulante extragranular para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa en un mamífero, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona del grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma folicular, y macroglobulinemia de Waldenström.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, un acidulante extragranular y un agente reductor de ácido para usar en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa en un mamífero.

Breve descripción de los dibujos

El sumario anterior, así como la siguiente descripción detallada de la invención, se entenderán mejor al leerlos junto con los dibujos adjuntos.

FIG. 1 ilustra un patrón PXRD de transmisión de la Forma I (muestra PP502-P1) de la base libre de Fórmula (1).

FIG. 2 ilustra un espectro Raman de la Forma I de la base libre de Fórmula (1).

FIG. 3 ilustra un espectro infrarrojo (IR) de la Forma I de la base libre de Fórmula (1).

FIG. 4 ilustra un patrón PXRD de transmisión de la Forma II de la base libre de Fórmula (1).

- FIG. 5 ilustra un espectro Raman de la Forma II de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 6 ilustra un patrón PXRD de transmisión de la Forma III de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 7 ilustra un espectro Raman de la Forma III de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 8 ilustra un patrón PXRD de la Forma IV metaestable de la base libre de Fórmula (1).
 5 FIG. 9 ilustra un patrón PXRD de la Forma V metaestable de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 10 ilustra un patrón PXRD de la Forma VI metaestable de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 11 ilustra un patrón PXRD de la Forma VII metaestable de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 12 ilustra un patrón PXRD de la Forma VIII metaestable de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 13 ilustra el patrón PXRD de la Fórmula amorfa (1).
 10 FIG. 14 ilustra el espectro Raman de la Fórmula amorfa (1).
 FIG. 15 ilustra un patrón PXRD de reflexión de la Forma A de la sal de fumarato de Fórmula (1).
 FIG. 16 ilustra un patrón PXRD de reflexión de la Forma A de la sal de maleato de Fórmula (1).
 FIG. 17 ilustra un patrón PXRD de la Forma A de la sal de fosfato de Fórmula (1).
 FIG. 18 ilustra un patrón PXRD de la Forma A de la sal de L-tartrato de Fórmula (1).
 15 FIG. 19 ilustra un patrón PXRD de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) (muestra SP211-CIT-P4) cristalizada en acetona-agua.
 FIG. 20 ilustra un patrón PXRD de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) (muestra SP211-CIT-P6) cristalizada en 1-propanol.
 FIG. 21 ilustra un patrón PXRD de una muestra de la Forma A de la sal de genticato de Fórmula (1) monohidrato.
 20 FIG. 22 ilustra un patrón PXRD de la Forma A de la sal de oxalato de Fórmula (1).
 FIG. 23 ilustra un patrón PXRD de una muestra de la Forma A de una sal sulfato de Fórmula (1).
 FIG. 24 ilustra una distribución de especies para la Fórmula (1) basada en valores de pH calculados: 2,2, 6,1 y 11,5.
 FIG. 25 ilustra la solubilidad dependiente del pH de la base libre de Fórmula (1) (muestra PP502-P1) con HCl y soluciones tampón como medio disolvente. Los marcadores de círculo corresponden a los resultados del primer conjunto de experimentos, y los marcadores de diamantes corresponden a los resultados del segundo conjunto de experimentos.
 25 FIG. 26 ilustra la distribución de especies y la solubilidad en función del pH para la Fórmula (1).
 FIG. 27 ilustra la solubilidad dependiente de la temperatura de la Fórmula (1) en acetona (cuadrados), etanol (puntos y línea), 96 % de etanol (triángulos) y 1-propanol (diamantes). La línea vertical muestra la temperatura de ebullición del etanol.
 30 FIG. 28 muestra los resultados de la velocidad de disolución intrínseca para las Formas I y II de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 29 muestra datos de exposición en perros para las Formas I y II de la base libre de Fórmula (1).
 FIG. 30 ilustra una comparación de los perfiles de disolución de las formulaciones de Fórmula (1) a un pH de 3,4.
 35 FIG. 31 ilustra una comparación de los perfiles de disolución de las formulaciones de Fórmula (1) a un pH de 5,5.
 FIG. 32 muestra tendencias en la AUC, C_{max} , y T_{max} para perros acondicionados tratados con una formulación de Fórmula (1) con acidulante y cuatro formas de sal de Fórmula (1). Se administraron cápsulas líquidas ("cap liq") (100 mg) para comparación con las formas sólidas. Se administraron cápsulas sólidas de 100 mg de concentración en la formulación clínica de la Forma I de Fórmula (1) a los perros antes o después del tratamiento diario con omeprazol para reducir la acidez estomacal. Las fases de estudio posteriores siguieron 4 días de dosificación con omeprazol (10 mg/día); el tratamiento con omeprazol continuó durante todo el estudio. Se comparó una formulación acidulante de la Forma I de Fórmula (1) ("FA-3") con el maleato de F-1, fosfato de F-1, fumarato de F-1, sales de tartrato de F-1, así como formulaciones de control (base libre de F-1 y F-2) y administradas como 100 mg equivalentes de base libre en cápsulas. Las exposiciones de sales y las cápsulas de la Forma I de Fórmula (1) formuladas con acidulante o usando una forma de sal de Fórmula (1) aumentaron en relación con la exposición de la Forma I en presencia de omeprazol.
 40 FIG. 33 ilustra AUC y $C_{máx}$ con dosis normalizadas para Fórmula (1) en perros, comparando cápsulas líquidas ("Caps Liq") (promedio de $n = 2$), formulación F-2 (promedio de $n = 5$), formulación F-2 con omeprazol ("F-2/Omep" mostrando pérdida de exposición para la Fórmula (1)), y cinco formulaciones de la presente invención que restablecen la exposición en presencia de omeprazol: FA-3 (con acidulante, "FA-3/Omep"), maleato de F-1 ("maleato/omep"), fosfato de F-1 ("fosfato/Omep"), fumarato de F-1 ("Fumarato/Omep") y tartrato de F-1 ("Tartrato/Omep").
 50

Descripción detallada de la invención

Si bien se muestran y describen realizaciones preferentes de la invención en el presente documento, tales realizaciones se proporcionan solo a modo de ejemplo y no pretenden limitar de otro modo el alcance de la invención. Se pueden emplear diversas alternativas a las realizaciones descritas de la invención en la práctica de la invención.

Definiciones

60 A menos que se defina lo contrario, todos los términos científicos y técnicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entendería comúnmente el experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

El término "forma sólida" puede referirse a una forma o fase sólida cristalina, incluyendo una base libre cristalina y una sal cristalina.

65 Los términos "coadministración" "coadministrar" "administrado en combinación con", y "administrar en combinación

con" como se usa en este documento, engloban la administración de dos o más agentes a un sujeto de manera que ambos agentes y/o sus metabolitos estén presentes en el sujeto al mismo tiempo. La administración conjunta incluye la administración simultánea en composiciones separadas, administración en diferentes momentos en composiciones separadas, o administración en una composición en la que están presentes dos o más agentes.

El término "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a esa cantidad de un compuesto o combinación de compuestos como se describe en este documento que es suficiente para efectuar la aplicación prevista, que incluye, pero sin limitación, tratamiento de enfermedades. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo de la aplicación prevista (*in vitro* o *in vivo*), o el sujeto y la enfermedad que se está tratando (por ejemplo, el peso, edad y género del sujeto), la gravedad de la afección de la enfermedad, la forma de administración, etc. que puede determinar fácilmente un experto en la materia. El término también se aplica a una dosis que inducirá una respuesta particular en las células objetivo (por ejemplo, reducción de la adhesión de plaquetas y/o migración celular). La dosis específica variará dependiendo de los compuestos particulares elegidos, el régimen de dosificación a seguir, si el compuesto se administra en combinación con otros compuestos, momento de la administración, el tejido al que se administra y el sistema de entrega física en el que se transporta el compuesto.

Los términos "QD", "qd", o "q.d." significan *quaque die*, una vez al día, o una vez diariamente. Los términos "BID", "bid", o "b.i.d." significan *bis in die*, dos veces al día, o dos veces diariamente. Los términos "TID", "tid", o "t.i.d." significan *ter in die*, tres veces al día, o tres veces diariamente. Los términos "QID", "qid", o "q.i.d." significan *quater in die*, cuatro veces al día, o cuatro veces diariamente.

Un "efecto terapéutico" como se usa ese término en este documento, abarca un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico como se describió anteriormente. Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición de una enfermedad o afección, retrasar o eliminar la aparición de síntomas de una enfermedad o afección, ralentizar, detener, o revertir la progresión de una enfermedad o afección, o cualquier combinación de las mismas.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales derivadas de una variedad de contraiones orgánicos e inorgánicos, incluyendo fumarato, maleato, fosfato, L-tartrato, citrato, gentsato, contraiones oxalato, y sulfato. Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos.

"Vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" pretende incluir todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas de la invención. Los ingredientes activos suplementarios también se pueden incorporar en las composiciones descritas.

El término "*en vivo*" se refiere a un evento que tiene lugar en el cuerpo de un sujeto.

El término "*in vitro*" se refiere a un evento que tiene lugar fuera del cuerpo de un sujeto. Los ensayos *in vitro* abarcan ensayos basados en células en los que se emplean células vivas o muertas y también pueden abarcar un ensayo sin células en el que no se emplean células intactas.

El término "extragranular" se refiere a sustancias que están fuera de un gránulo, por ejemplo, una sustancia agregada a los gránulos (compactos multipartículas formados por un proceso de granulación) y mezclados físicamente con gránulos, pero no contenida dentro de los gránulos.

El término "intragranular" se refiere a sustancias que están dentro de un gránulo (un compacto multipartícula formado por un proceso de granulación). Los gránulos pueden formarse mediante procesos tales como granulación en húmedo (es decir, preparado con humedad o vapor, térmica, de fusión, congelación, espuma y otros procesos) o granulación en seco.

El término "acidulante" se refiere a una sustancia que aumenta la acidez.

Los términos "transmisión" o "modo de transmisión", cuando se usan junto con difracción de rayos X en polvo, se refieren al modo de muestreo de transmisión (también conocido como Debye-Scherrer). Los términos "reflexión" o "modo de reflexión" cuando se usan junto con difracción de rayos X en polvo, se refieren al modo de muestreo de reflexión (también conocido como Bragg-Brentano).

A menos que se indique lo contrario, las estructuras químicas representadas en el presente documento pretenden incluir compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, compuestos donde uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por deuterio o tritio, o en donde uno o más átomos de carbono se reemplazan por carbonos enriquecidos en ^{13}C o ^{14}C , están dentro del alcance de esta invención.

Cuando se usan en este documento intervalos para describir, por ejemplo, propiedades físicas o químicas tales como peso molecular o fórmulas químicas, todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y realizaciones específicas en ellas están destinadas a ser incluidas. El uso del término "aproximadamente" o "aproximadamente"

cuando se refiere a un número o un intervalo numérico significa que el número o intervalo numérico al que se hace referencia es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error estadístico experimental), y por tanto el número o intervalo numérico puede variar de, por ejemplo, entre 1 % y 15 % del número o intervalo numérico indicado. El término "comprendiendo" (y términos relacionados tales como "comprender" o "comprende" o "teniendo" o "incluyendo") incluye aquellas realizaciones tales como, por ejemplo, una realización de cualquier composición de materia, método o proceso que "consiste en" o "consiste esencialmente en" las características descritas.

La "pureza enantiomérica" como se usa en este documento se refiere a las cantidades relativas, expresadas como un porcentaje, de la presencia de un enantiómero específico en relación con el otro enantiómero. Por ejemplo, si un compuesto, que potencialmente puede tener una configuración isomérica (R) o (S), está presente como una mezcla racémica, la pureza enantiomérica es de aproximadamente 50 % con respecto al isómero (R) o (S). Si ese compuesto tiene una forma isomérica predominante sobre la otra, por ejemplo, 80 % de isómero (S) y 20 % de isómero (R), la pureza enantiomérica del compuesto con respecto a la forma isomérica (S) es 80 %. La pureza enantiomérica de un compuesto se puede determinar de varias maneras, incluyendo, sin limitación, cromatografía usando un soporte quiral, medición polarimétrica de la rotación de luz polarizada, espectroscopía de resonancia magnética nuclear usando reactivos de desplazamiento quirales que incluyen, pero sin limitación, complejos quirales que contienen lantánidos o reactivos de Pirkle, o derivatización de un compuesto usando un compuesto quiral tal como ácido de Mosher seguido de cromatografía o espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

En realizaciones preferentes, la composición enriquecida enantioméricamente tiene una mayor potencia con respecto a la utilidad terapéutica por unidad de masa que la mezcla racémica de esa composición. Los enantiómeros se pueden aislar de las mezclas por métodos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo cromatografía quiral de líquidos de alta presión (HPLC) y la formación y cristalización de sales quirales; o los enantiómeros preferentes pueden prepararse mediante síntesis asimétrica. Véase, por ejemplo, Jacques, et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Wiley Interscience, Nueva York, 1981; Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, McGraw-Hill, NY, 1962; y Eliel y Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley-Interscience, Nueva York, 1994.

Los términos "enriquecido enantioméricamente" y "no racémico", como se usan en este documento, se refieren a composiciones en las que el porcentaje en peso de un enantiómero es mayor que la cantidad de ese enantiómero en una mezcla de control de la composición racémica (por ejemplo, mayor que 1:1 en peso). Por ejemplo, una preparación enriquecida enantioméricamente de enantiómero (S), significa una preparación del compuesto que tiene más 50 % en peso de enantiómero (S) respecto al enantiómero (R), tal como al menos 75 % en peso, o tal como al menos 80 % en peso. En algunas realizaciones, el enriquecimiento puede ser significativamente superior a 80 % en peso, proporcionando una preparación "sustancialmente enriquecida enantioméricamente" o "sustancialmente no racémica", que se refiere a preparaciones de composiciones que tienen al menos 85 % en peso de un enantiómero en relación con otro enantiómero, tal como al menos 90 % en peso, o tal como al menos 95 % en peso. Los términos "enantioméricamente puro" o "sustancialmente enantioméricamente puro" se refieren a una composición que comprende al menos 98 % de un enantiómero único y menos de 2 % del enantiómero opuesto.

"Resto" se refiere a un segmento o grupo funcional específico de una molécula. Los restos químicos son habitualmente entidades químicas reconocidas incrustadas en, o adjuntadas a, una molécula.

Los "tautómeros" son isómeros estructuralmente distintos que se interconvierten por tautomería. La "tautomería" es una forma de isomerización e incluye tautomería prototrópica o de desplazamiento de protones, que se considera un subconjunto de la química ácido-base. La "tautomería prototrópica" o "tautomería por desplazamiento de protones" implica la migración de un protón acompañada de cambios en el orden de los enlaces, a menudo el intercambio de un enlace simple con un enlace doble adyacente. Cuando es posible la tautomería (por ejemplo, en solución), puede alcanzarse un equilibrio químico de los tautómeros. Un ejemplo de tautomería es la tautomería ceto-enol. Un ejemplo específico de la tautomerización ceto-fenol es la interconversión de tautómeros de pentano-2,4-diona y de 4-hidroxipent-3-en-2-ona. Otro ejemplo de la tautomerización es la tautomerización ceto-fenol. La formación de formas sólidas en diferentes estados de tautomería se conoce como "desmotropía" y tales formas se conocen como "desmótropas".

Las composiciones de la invención también incluyen solvatos e hidratos, así como mezclas de los mismos. "Forma cristalina", "forma", y "polimorfo" están destinados a incluir todas las formas cristalinas del compuesto, incluyendo, por ejemplo, polimorfos, pseudopolimorfos, solvatos, hidratos, polimorfos sin solvatar (incluidos anhidratos), y polimorfos conformacionales, así como sus mezclas, a menos que se haga referencia a una forma cristalina particular.

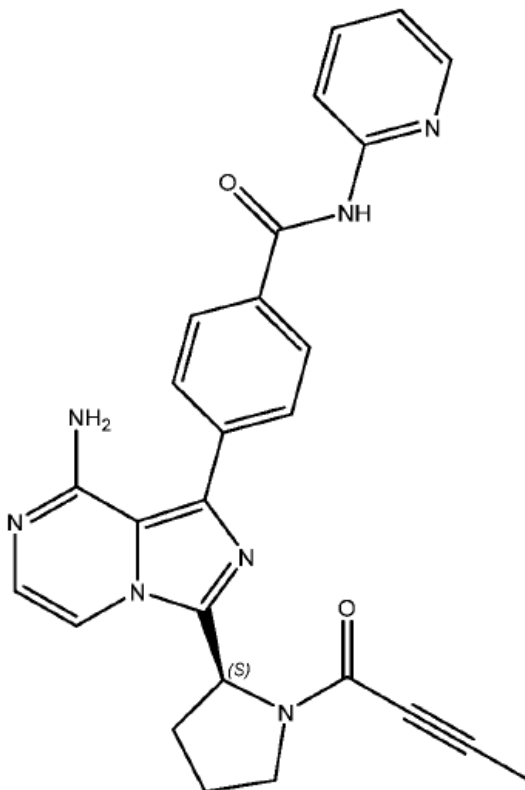
"Solvato" se refiere a una fase cristalina de un compuesto en asociación física con una o más moléculas de un disolvente. La fase cristalina de un compuesto en asociación física con una o más moléculas de agua se denomina "hidrato".

"Forma amorfa" se refiere a una forma de un compuesto, o una sal o complejo molecular de un compuesto, que carece de orden cristalino de largo alcance.

Formas cristalinas

(S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida (Fórmula (1)) tiene la siguiente estructura química:

5



En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 y 15,7 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu- $K_{\alpha 1}$. En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 y 15,7 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$ y picos a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 y 18,2 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu- $K_{\alpha 1}$. En una realización, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida, en donde la Forma I cristalina de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente según el patrón de difracción de rayos X en polvo de la FIG. 1, que puede medirse usando modo de transmisión o modo de reflexión, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu- $K_{\alpha 1}$. En una realización, el patrón de difracción de rayos X en polvo de cualquiera de las realizaciones anteriores se mide en modo de transmisión. En una realización, el patrón de difracción de rayos X en polvo de cualquiera de las realizaciones anteriores se mide en modo de reflexión.

Se sabe en la técnica que puede obtenerse un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene uno o más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tales como equipo, preparación de muestra o instrumento utilizado). En particular, generalmente se sabe que las intensidades en un patrón de difracción de rayos X en polvo pueden variar según las condiciones de medición y la preparación de la muestra. Por ejemplo, los expertos en la técnica de difracción de rayos X en polvo se darán cuenta de que las intensidades relativas de los picos pueden variar según la orientación de la muestra bajo prueba y según el tipo y la configuración del instrumento utilizado. La persona experta también se dará cuenta de que la posición de las reflexiones puede verse afectada por la altura precisa a la que se encuentra la muestra en el difractómetro, la planaridad de la superficie de la muestra, y la calibración a cero del difractómetro. Por tanto, una persona experta en la técnica apreciará que los datos del patrón de difracción presentados en el presente documento no deben interpretarse como absolutos y que cualquier forma cristalina que

35

proporcione un patrón de difracción en polvo sustancialmente igual a los descritos en el presente documento se encuentra dentro del alcance de la presente divulgación. Para mayor información, véase Jenkins y Snyder, Introduction to X-Ray Powder Diffractometry, John Wiley & Sons, 1996.

- 5 También se sabe en la técnica que se pueden obtener espectros IR y Raman que pueden variar dependiendo de las condiciones de medición. El instrumento, modo de muestreo (por ejemplo, muestreo IR de reflectancia total atenuada frente a muestreo IR de transmisión), y la calibración del instrumento puede afectar las posiciones e intensidades máximas. Un experto en la materia entenderá que los espectros presentados en este documento no deben interpretarse como absolutos y que cualquier forma cristalina que proporcione un espectro sustancialmente igual al descrito en este documento está dentro del alcance de la presente descripción. Para mayor información, véase Colthup, *et al*, Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, 3ª ed., Academic Press, 1990.

15 La Forma I cristalina de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida proporciona numerosas ventajas sorprendentes sobre la base libre amorfa de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida de la técnica anterior, incluyendo una estabilidad química mejorada y una higroscopicidad muy reducida. Con respecto a otras formas cristalinas novedosas de la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida desveladas en este documento, la Forma I proporciona ventajas sorprendentes adicionales que incluyen una estabilidad termodinámica mejorada, velocidad de disolución mayor, rendimiento mejorado en el estómago y el entorno gástrico (incluyendo evitación o reducción de precipitación de la solución al cambiar a un pH más alto), exposición mejorada en mamíferos y procesabilidad superior para la formulación de fármacos en productos terminados adecuados para pacientes.

25 Composiciones farmacéuticas

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1).

30 Las composiciones farmacéuticas se formulan típicamente para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma sólida del inhibidor de BTK de Fórmula (1), como ingrediente activo, o una sal farmacéuticamente aceptable, éster, profármaco, solvato, hidrato o derivado del mismo. Cuando se desee, las composiciones farmacéuticas contienen una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas y uno o más excipientes, vehículos farmacéuticamente aceptables, incluyendo diluyentes sólidos inertes y cargas, diluyentes, potenciadores de la permeación, solubilizantes, o adyuvantes. Las composiciones farmacéuticas también pueden contener un acidulante, como se describe en el presente documento, para reducir o superar los efectos de los agentes reductores de ácido en la exposición del inhibidor de BTK de Fórmula (1).

40 En algunas realizaciones, la concentración de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) proporcionada en las composiciones farmacéuticas de la invención es independientemente menos de, por ejemplo, 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,09 %, 0,08 %, 0,07 %, 0,06 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,03 %, 0,02 %, 0,01 %, 0,009 %, 0,008 %, 0,007 %, 0,006 %, 0,005 %, 0,004 %, 0,003 %, 0,002 %, o 0,001 % p/p, p/v, o v/v, relativo a la masa o volumen total de la composición farmacéutica.

45 En algunas realizaciones, la concentración de Forma I de la base libre de Fórmula (1) proporcionada en las composiciones farmacéuticas de la invención es independientemente mayor de 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 19,75 %, 19,50 %, 19,25 %, 19 %, 18,75 %, 18,50 %, 18,25 %, 18 %, 17,75 %, 17,50 %, 17,25 %, 17 %, 16,75 %, 16,50 %, 16,25 %, 16 %, 15,75 %, 15,50 %, 15,25 %, 15 %, 14,75 %, 14,50 %, 14,25 %, 14 %, 13,75 %, 13,50 %, 13,25 %, 13 %, 12,75 %, 12,50 %, 12,25 %, 12 %, 11,75 %, 11,50 %, 11,25 %, 11 %, 10,75 %, 10,50 %, 10,25 %, 10 %, 9,75 %, 9,50 %, 9,25 %, 9 %, 8,75 %, 8,50 %, 8,25 %, 8 %, 7,75 %, 7,50 %, 7,25 %, 7 %, 6,75 %, 6,50 %, 6,25 %, 6 %, 5,75 %, 5,50 %, 5,25 %, 5 %, 4,75 %, 4,50 %, 4,25 %, 4 %, 3,75 %, 3,50 %, 3,25 %, 3 %, 2,75 %, 2,50 %, 2,25 %, 2 %, 1,75 %, 1,50 %, 1,25 %, 1 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,09 %, 0,08 %, 0,07 %, 0,06 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,03 %, 0,02 %, 0,01 %, 0,009 %, 0,008 %, 0,007 %, 0,006 %, 0,005 %, 0,004 %, 0,003 %, 0,002 %, o 0,001 % p/p, p/v, o v/v, relativo a la masa o volumen total de la composición farmacéutica.

55 En algunas realizaciones, la concentración de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) de la invención está independientemente en el intervalo de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 50 %, aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 40 %, aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 %, aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 29 %, aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 28 %, aproximadamente 0,04 % a aproximadamente 27 %, aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 26 %, aproximadamente 0,06 % a aproximadamente 25 %, aproximadamente 0,07 % a aproximadamente 24 %, aproximadamente 0,08 % a aproximadamente 23 %, aproximadamente 0,09 % a aproximadamente 22 %, aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 21 %, aproximadamente 0,2 % a aproximadamente 20 %, aproximadamente 0,3 % a aproximadamente 19 %, aproximadamente 0,4 % a aproximadamente 18 %, aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 17 %, aproximadamente 0,6 % a aproximadamente 16 %, aproximadamente 0,7 % a aproximadamente 15 %, aproximadamente 0,8 % a aproximadamente 14 %, aproximadamente 0,9 % a

aproximadamente 12 % o aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % p/p, p/v o v/v, relativo a la masa o volumen total de la composición farmacéutica.

5 En algunas realizaciones, la concentración de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) de la invención está independientemente en el intervalo de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 10 %, aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 %, aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 4,5 %, aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 4 %, aproximadamente 0,04 % a aproximadamente 3,5 %, aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 3 %, aproximadamente 0,06 % a aproximadamente 2,5 %, aproximadamente 0,07 % a aproximadamente 2 %, aproximadamente 0,08 % a aproximadamente 1,5 %, aproximadamente 0,09 % a
10 aproximadamente 1 %, aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,9 % p/p, p/v, o v/v, relativo a la masa o volumen total de la composición farmacéutica.

15 En algunas realizaciones, la cantidad de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) de la invención es independientemente igual o menor que 3,0 g, 2,5 g, 2,0 g, 1,5 g, 1,0 g, 0,95 g, 0,9 g, 0,85 g, 0,8 g, 0,75 g, 0,7 g, 0,65 g, 0,6 g, 0,55 g, 0,5 g, 0,45 g, 0,4 g, 0,35 g, 0,3 g, 0,25 g, 0,2 g, 0,15 g, 0,1 g, 0,09 g, 0,08 g, 0,07 g, 0,06 g, 0,05 g, 0,04 g, 0,03 g, 0,02 g, 0,01 g, 0,009 g, 0,008 g, 0,007 g, 0,006 g, 0,005 g, 0,004 g, 0,003 g, 0,002 g, 0,001 g, 0,0009 g, 0,0008 g, 0,0007 g, 0,0006 g, 0,0005 g, 0,0004 g, 0,0003 g, 0,0002 g o 0,0001 g.

20 En algunas realizaciones, la cantidad de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) de la invención es independientemente más de 0,0001 g, 0,0002 g, 0,0003 g, 0,0004 g, 0,0005 g, 0,0006 g, 0,0007 g, 0,0008 g, 0,0009 g, 0,001 g, 0,0015 g, 0,002 g, 0,0025 g, 0,003 g, 0,0035 g, 0,004 g, 0,0045 g, 0,005 g, 0,0055 g, 0,006 g, 0,0065 g, 0,007 g, 0,0075 g, 0,008 g, 0,0085 g, 0,009 g, 0,0095 g, 0,01 g, 0,015 g, 0,02 g, 0,025 g, 0,03 g, 0,035 g, 0,04 g, 0,045 g, 0,05 g, 0,055 g, 0,06 g, 0,065 g, 0,07 g, 0,075 g, 0,08 g, 0,085 g, 0,09 g, 0,095 g, 0,1 g, 0,15 g, 0,2 g, 0,25 g, 0,3 g, 0,35 g, 0,4 g, 0,45 g, 0,5 g, 0,55 g, 0,6 g, 0,65 g, 0,7 g, 0,75 g, 0,8 g, 0,85 g, 0,9 g, 0,95 g, 1 g, 1,5 g, 2 g, 2,5, o 3 g.

25 La forma I de la base libre de fórmula (1) según la invención es eficaz en un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, en el tratamiento de humanos adultos, las dosis varían independientemente de 0,01 a 1000 mg, de 0,5 a 100 mg, de 1 a 50 mg por día, de 2 a 40 mg por día, y de 5 a 25 mg por día son ejemplos de dosis que pueden usarse. La dosis exacta dependerá de la vía de administración, la forma en que se administra el compuesto, el género y la edad
30 del sujeto a tratar, el peso corporal del sujeto a tratar, y la preferencia y experiencia del médico tratante.

En realizaciones seleccionadas, la invención proporciona una composición farmacéutica para administración oral que contiene la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un excipiente farmacéutico adecuado para administración oral.

35 En realizaciones seleccionadas, la invención proporciona una composición farmacéutica sólida para administración oral que contiene: (i) una cantidad eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1), y (ii) un excipiente farmacéutico adecuado para administración oral. En realizaciones seleccionadas, la composición además contiene (iii) una cantidad eficaz de otro ingrediente farmacéutico activo.

40 En realizaciones seleccionadas, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica líquida adecuada para consumo oral. Las composiciones farmacéuticas de la invención adecuadas para la administración oral pueden presentarse como formas de dosificación discretas, tales como cápsulas, sobres, o comprimidos, o líquidos o pulverizaciones de aerosol, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un ingrediente activo en polvo o en gránulos, una solución, o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, una emulsión de aceite en
45 agua, o una emulsión de agua en aceite. Las composiciones farmacéuticas de la invención también incluyen polvo para reconstitución, polvos para consumo oral, botellas (tal como polvo o líquido en botella), películas de disolución oral, grageas, pastas, tubos, gomas, y paquetes. Dichas formas de dosificación pueden prepararse por cualquiera de los métodos de farmacia, pero todos los métodos incluyen el paso de asociar los ingredientes activos con el vehículo, que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando uniforme e íntimamente los ingredientes activos con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto en la presentación deseada. Por ejemplo, un comprimido se puede preparar por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos por compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma que fluye libremente, tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un excipiente tal como, pero sin limitación, un aglutinante, un
50 lubricante, un diluyente inerte, y/o un agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos creados por moldeo pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

60 La invención abarca además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, se puede agregar agua (por ejemplo, 5 %) en las técnicas farmacéuticas como un medio de simular el almacenamiento a largo plazo para determinar características tales como vida útil o estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención pueden prepararse usando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad o baja humedad. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación
65 de la invención que contienen lactosa pueden hacerse anhidras si se produce un contacto sustancial con humedad y/o humidificación durante la fabricación, el envasado y/o el almacenamiento. Una composición farmacéutica anhidra

5 se puede preparar y almacenar de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. Por tanto, las composiciones anhidras se pueden envasar usando materiales que se sabe que previenen la exposición al agua de manera que se pueden incluir en kits de formulación adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, pero sin limitación, láminas herméticamente selladas, plástico o similar, recipientes de dosis unitarias, envases de blíster y paquetes de tiras.

10 Cada una de las formas sólidas del inhibidor de BTK de Fórmula (1) se puede combinar en una mezcla íntima con un vehículo farmacéutico según técnicas convencionales de composición farmacéutica. El vehículo puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Al preparar las composiciones para una forma de dosificación oral, cualquiera de los medios farmacéuticos habituales puede emplearse como vehículos, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes, y similares en el caso de preparaciones líquidas orales (tales como suspensiones, soluciones, y elixires) o aerosoles; o portadores tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, sustancias de deslizamiento, los aglutinantes, y agentes disgregarse, pueden usarse en el caso de preparaciones sólidas orales, en algunas realizaciones sin emplear el uso de lactosa. Por ejemplo, vehículos adecuados incluyen polvos, cápsulas, y comprimidos, con las preparaciones orales sólidas. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas habituales acuosas o no acuosas.

20 Los aglutinantes adecuados para su uso en composiciones y formas de dosificación farmacéuticas incluyen, pero sin limitación, almidón de maíz, almidón de patata, u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etil celulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilcelulosa de sodio), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropil metil celulosa, celulosa microcristalina, y sus mezclas.

25 Ejemplos de cargas adecuadas para su uso en las composiciones y formas de dosificación farmacéuticas desveladas en este documento incluyen, pero sin limitación, talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, y mezclas de las mismas.

30 Los disgregantes se pueden usar en las composiciones de la invención para proporcionar comprimidos que se disgregan cuando se exponen a un entorno acuoso. Demasiado disgregante puede producir comprimidos que se disgregan en la botella. Demasiado poco puede ser insuficiente para que ocurra la disgregación, alterando así la velocidad y el grado de liberación de los ingredientes activos de la forma de dosificación. Por tanto, puede usarse una cantidad suficiente de disgregante que no sea demasiado pequeña ni demasiado grande para alterar perjudicialmente la liberación del ingrediente o ingredientes activos para formar las formas de dosificación de los compuestos desvelados en este documento. La cantidad de disgregante utilizada puede variar en función del tipo de formulación y modo de administración, y puede ser fácilmente discernible para los expertos en la materia. Aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de disgregante, o aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso de disgregante, puede usarse en la composición farmacéutica. Los disgregantes que pueden usarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero sin limitación, agar-agar, ácido algínico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, crospovidona, polacrilina potásica, almidón glicolato de sodio, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, otros almidones, arcillas, otras algas, otras celulosas, gomas o mezclas de los mismos.

45 Los lubricantes que se pueden usar para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero sin limitación, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, estearil fumarato de sodio, laurilsulfato de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz, y aceite de soja), estearato de cinc, oleato de etilo, laurato de etilo, agar, o mezclas de los mismos. Los lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice siloide, un aerosol coagulado de sílice sintética, celulosa microcristalina silicificada, o mezclas de los mismos. Opcionalmente se puede agregar un lubricante, en una cantidad de menos de aproximadamente 1 por ciento en peso de la composición farmacéutica.

50 Cuando se desean suspensiones y/o elixires acuosos para administración oral, el ingrediente activo esencial puede combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o colorantes y, si así se desea, los agentes emulsionantes y/o de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y varias combinaciones de los mismos.

60 Los comprimidos pueden estar sin revestir o revestidos mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y, por tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato cálcico o caolín o en forma de cápsulas de gelatina blanda, en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por

ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Los tensioactivos que pueden usarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero sin limitación, tensioactivos hidrófilos, tensioactivos lipófilos, y sus mezclas. Es decir, se puede emplear una mezcla de tensioactivos hidrófilos, se puede emplear una mezcla de tensioactivos lipófilos, o se puede emplear una mezcla de al menos un tensioactivo hidrófilo y al menos un tensioactivo lipófilo.

Un parámetro empírico utilizado para caracterizar la hidrofilia e hidrofobia relativas de los compuestos anfífilos no iónicos es el equilibrio hidrófilo-lipófilo (valor "HLB"). Un tensioactivo hidrófilo adecuado puede tener generalmente un valor HLB de al menos 10, mientras que los tensioactivos lipófilos adecuados pueden tener generalmente un valor de HLB de menos de aproximadamente 10. Los tensioactivos con valores más bajos de HLB son más lipófilos o hidrófobos y tienen una mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores más altos de HLB son más hidrófilos y tienen una mayor solubilidad en soluciones acuosas. Los tensioactivos hidrófilos generalmente se consideran aquellos compuestos que tienen un valor de HLB mayor que aproximadamente 10, así como compuestos aniónicos, catiónicos, o zwitteriónicos para los que la escala HLB no es generalmente aplicable. Igualmente, tensioactivos lipófilos (es decir, hidrófobos) son compuestos que tienen un valor de HLB igual o inferior a aproximadamente 10. Sin embargo, el valor de HLB de un tensioactivo es simplemente una guía aproximada utilizada generalmente para permitir la formulación de productos industriales, emulsiones farmacéuticas y cosméticas.

Los tensioactivos hidrofílicos pueden ser iónicos o no iónicos. Los tensioactivos iónicos adecuados incluyen, pero sin limitación, sales de alquilamonio; sales de ácido fusídico; derivados de ácidos grasos de aminoácidos, oligopéptidos, y polipéptidos; derivados de glicéridos de aminoácidos, oligopéptidos, y polipéptidos; lecitinas y lecitinas hidrogenadas; lisolecitinas y lisolecitinas hidrogenadas; fosfolípidos y derivados de los mismos; lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácidos grasos de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; acilactilatos; ésteres de ácido tartárico mono y diacetilado de mono y diglicéridos; mono y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.

Dentro del grupo mencionado anteriormente, los tensioactivos iónicos incluyen, por ejemplo: lecitinas, lisolecitina, fosfolípidos, lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácidos grasos de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; acilactilatos; ésteres de ácido tartárico mono y diacetilado de mono y diglicéridos; mono y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos iónicos pueden ser las formas ionizadas de lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, ésteres lactílicos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato, lactilato de estearoilo, monoglicéridos succinilados, ésteres de ácido tartárico mono/diacetilados de mono/diglicéridos, ésteres de ácido cítrico de mono/diglicéridos, colilsarcosina, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, estearato, lauril sulfato, teracecil sulfato, docusato, lauroil carnitinas, palmitoil carnitinas, miristoil carnitinas, y sales y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos no iónicos hidrófilos pueden incluir, pero sin limitación, alquilglucósidos; alquilmaltosidos; alquiltioglucoídos; lauril macroglicéridos; polioxialquileno alquil éteres tales como polietilenglicol alquil éteres; polioxialquileno alquilfenoles tales como polietilenglicol alquilfenoles; ésteres de ácidos grasos de polioxialquileno alquil fenol tales como monoésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol glicerol; ésteres de ácidos grasos de poliglicerol; ésteres de ácidos grasos de polioxialquileno sorbitán tales como ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán; productos de transesterificación hidrófila de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos, y esteroides; polioxietileno esteroides, derivados, y análogos de los mismos; vitaminas polioxietiladas y sus derivados; copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno; y mezclas de los mismos; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán y productos de transesterificación hidrófila de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en triglicéridos, aceites vegetales, y aceites vegetales hidrogenados. El poliol puede ser glicerol, etilenglicol, polietilenglicol, sorbitol, propilenglicol, pentaeritritol, o un sacárido.

Otros tensioactivos hidrófilos no iónicos incluyen, sin limitación, PEG-10 laurato, PEG-12 laurato, PEG-20 laurato, PEG-32 laurato, PEG-32 dilaurato, PEG-12 oleato, PEG-15 oleato, PEG-20 oleato, PEG-20 dioleato, PEG-32 oleato, PEG-200 oleato, PEG-400 oleato, PEG-15 estearato, PEG-32 diestearato, PEG-40 estearato, PEG-100 estearato, PEG-20 dilaurato, PEG-25 trioleato de glicerilo, PEG-32 dioleato, PEG-20 laurato de glicerilo, PEG-30 laurato de glicerilo, estearato de glicerilo PEG-20, PEG-20 oleato de glicerilo, PEG-30 oleato de glicerilo, PEG-30 laurato de glicerilo, PEG-40 laurato de glicerilo, PEG-40 aceite de almendra de palma, PEG-50 aceite de ricino hidrogenado, PEG-40 aceite de ricino, PEG-35 aceite de ricino, PEG-60 aceite de ricino, PEG-40 aceite de ricino hidrogenado, PEG-60 aceite de ricino hidrogenado, PEG-60 aceite de maíz, PEG-6 caprato/caprilato glicéridos, PEG-8 caprato/caprilato glicéridos, poligliceril-10 laurato, PEG-30 colesterol, PEG-25 fitoesterol, PEG-30 esteroil de soja, PEG-20 trioleato, PEG-40 oleato de sorbitán, PEG-80 laurato de sorbitán, polisorbato 20, polisorbato 80, POE-9 lauril éter, POE-23 lauril éter, POE-10 oleil éter, POE-20 oleil éter, POE-20 estearil éter, PEG-100 succinato de tocoferilo, PEG-24 colesterol,

poligliceril-10-oleato, Tween 40, Tween 60, monoestearato de sacarosa, monolaurato de sacarosa, monopalmitato de sacarosa, serie PEG 10-100 nonilfenol, serie PEG 15-100 octilfenol, y poloxámeros.

Los tensioactivos lipofílicos adecuados incluyen, a modo de ejemplo solamente: alcoholes grasos, ésteres de ácidos grasos de glicerol, ésteres de ácidos grasos de glicerol acetilados, ésteres de ácidos grasos de alcohol inferior, ésteres de ácidos grasos de propilenglicol, ésteres de ácidos grasos de sorbitano, poli(ésteres de ácido graso de sorbitán y etilen glicol), esteroides y derivados de esteroides, esteroides polioxiethylados y derivados de esteroides, poli(ésteres alquílicos de etilen glicol), ésteres de azúcar, ésteres de azúcar, derivados de ácido láctico de mono y diglicéridos, y productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides, vitaminas/derivados de vitaminas solubles en aceite, y sus mezclas. Dentro de este grupo, los tensioactivos lipofílicos preferentes incluyen ésteres de ácidos grasos y glicerol, ésteres de ácidos grasos de propilenglicol, y sus mezclas, o son productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, y triglicéridos.

En una realización, la composición puede incluir un solubilizante para asegurar una buena solubilización y/o disolución del compuesto de la presente invención y para minimizar la precipitación del compuesto de la presente invención. Esto puede ser especialmente importante para composiciones para uso no oral, por ejemplo, composiciones inyectables. También se puede agregar un solubilizante para aumentar la solubilidad del fármaco hidrófilo y/u otros componentes, tales como tensioactivos, o para mantener la composición como una solución o dispersión estable u homogénea.

Los ejemplos de solubilizadores adecuados incluyen, pero sin limitación, los siguientes: alcoholes y polioles, tales como etanol, isopropanol, butanol, alcohol bencílico, etilenglicol, propilenglicol, butanodiolos e isómeros de los mismos, glicerol, pentaeritritol, sorbitol, manitol, xilitol, transcitol, dimetil isosorbida, polietilenglicol, polipropilenglicol, alcohol polivinílico, hidroxipropilmetilcelulosa y otros derivados de celulosa, ciclodextrinas y derivados de ciclodextrina; ésteres de polietilenglicoles que tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 200 a aproximadamente 6000, tal como tetrahidrofurfuril alcohol PEG éter (glicofuro) o metoxi PEG; amidas y otros compuestos que contienen nitrógeno tal como 2-pirrolidona, 2-piperidona, ϵ -caprolactama, *N*-alquilpirrolidona, *N*-hidroxialquilpirrolidona, *N*-alquilpiperidona, *N*-alquilcaprolactama, dimetilacetamida y polivinilpirrolidona; ésteres tales como propionato de etilo, citrato de tributilo, citrato de acetilo, citrato de tributilacetilo, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, butirato de etilo, triacetina, monoacetato de propilenglicol, diacetato de propilenglicol, ϵ -caprolactona y sus isómeros, δ -valerolactona y sus isómeros, β -butirolactona y sus isómeros; y otros solubilizantes conocidos en la técnica, tales como dimetil acetamida, dimetil isosorbida, *N*-metilpirrolidonas, mono-octanoína, dietilenglicol monoetil éter, y agua.

También se pueden usar mezclas de solubilizantes. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, triacetina, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, dimetilacetamida, *N*-metilpirrolidona, *N*-hidroxietilpirrolidona, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilciclodextrinas, etanol, polietilenglicol 200-100, glicofuro, transcitol, propilenglicol y dimetilisosorbida. Los solubilizadores particularmente preferentes incluyen sorbitol, glicerol, triacetina, alcohol etílico, PEG-400, glicofuro y propilenglicol.

La cantidad de solubilizante que se puede incluir no está particularmente limitada. La cantidad de un solubilizante dado puede limitarse a una cantidad bioaceptable, que puede determinar fácilmente un experto en la materia. En algunas circunstancias, puede ser ventajoso incluir cantidades de solubilizantes muy superiores a las cantidades bioaceptables, por ejemplo para maximizar la concentración del fármaco, con el exceso de solubilizante retirado antes de proporcionar la composición a un paciente utilizando técnicas convencionales, tales como destilación o evaporación. Por tanto, si está presente, el solubilizante puede estar en una relación en peso de 10 %, 25 %, 50 %, 100 %, o hasta aproximadamente 200 % en peso, basado en el peso combinado del fármaco y otros excipientes. Si se desea, También se pueden usar cantidades muy pequeñas de solubilizante, tales como 5 %, 2 %, 1 % o incluso menos. Típicamente, el solubilizante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 1 % a aproximadamente 100 %, más típicamente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % en peso.

La composición puede incluir además uno o más aditivos y excipientes farmacéuticamente aceptables. Tales aditivos y excipientes incluyen, sin limitación, separadores, agentes antiespumantes, agentes tamponantes, polímeros, antioxidantes, conservantes, agentes quelantes, viscomoduladores, tonicificadores, aromatizantes, colorantes, odorantes, opacificantes, agentes de suspensión, aglutinantes, cargas, plastificantes, lubricantes, y mezclas de los mismos.

Además, se puede incorporar un ácido o una base a la composición farmacéutica para facilitar el procesamiento, para mejorar la estabilidad, o por otras razones. Los ejemplos de bases farmacéuticamente aceptables incluyen aminoácidos, ésteres de aminoácidos, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, hidróxido sódico, hidrogenocarbonato de sodio, hidróxido de aluminio, carbonato de calcio, hidróxido de magnesio, silicato de aluminio y magnesio, silicato de aluminio sintético, hidrocalcita sintética, hidróxido de aluminio y magnesio, diisopropiletilamina, etanolamina, etilendiamina, trietanolamina, trietilamina, triisopropanolamina, trimetilamina, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) y similares. También son adecuadas bases que son sales de un ácido farmacéuticamente aceptable, tales como ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido algínico, ácido alcanosulfónico, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido

5 cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidroquinossulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido para-bromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, ácido úrico, y similares. Sales de ácidos polipróticos, tales como fosfato de sodio, hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato sódico, también pueden usarse. Cuando la base es una sal, el catión puede ser cualquier catión conveniente y farmacéuticamente aceptable, tal como amonio, metales alcalinos y metales alcalinotérreos. Un ejemplo puede incluir, pero sin limitación, sodio, potasio, litio, magnesio, calcio y amonio.

10 Los ácidos adecuados son ácidos orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico y similares. Ejemplos de ácidos orgánicos adecuados incluyen ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido algínico, ácidos alcanosulfónicos, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidroquinossulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido para-bromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, y ácido úrico.

Dosificaciones y regímenes de dosificación

20 Las cantidades de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) administradas dependerán del mamífero que se esté tratando, la gravedad del trastorno o afección, la tasa de administración, la disposición de los compuestos y la discreción del médico que prescribe. Sin embargo, una dosis eficaz está en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día, tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 35 mg/kg/día, en dosis individuales o divididas. Para un humano de 70 kg, esto equivaldría a aproximadamente 0,05 a 7 g/día, tal como aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,5 g/día. En algunos casos, niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin causar ningún efecto secundario dañino, por ejemplo, dividiendo tales dosis mayores en varias dosis pequeñas para la administración durante todo el día.

30 En realizaciones seleccionadas, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra en una dosis única. Típicamente, dicha administración será por inyección, por ejemplo por inyección intravenosa, para introducir los ingredientes farmacéuticos activos rápidamente. Sin embargo, pueden usarse otras rutas según corresponda. También se puede utilizar una dosis única de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para el tratamiento de una afección aguda.

35 En realizaciones seleccionadas, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra en múltiples dosis. La dosificación puede ser aproximadamente una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, o más de seis veces por día. La dosificación puede ser aproximadamente una vez al mes, una vez cada dos semanas, una vez a la semana, o una vez cada dos días. En otras realizaciones, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra aproximadamente una vez al día hasta aproximadamente 6 veces al día. En otra realización, la administración de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) continúa durante menos de aproximadamente 7 días. En otra realización más, la administración continúa durante más de aproximadamente 6, 10, 14, 28 días, dos meses, seis meses, o un año. En algunos casos, la dosificación continua se logra y mantiene el tiempo que sea necesario.

45 La administración de los ingredientes farmacéuticos activos de la invención puede continuar tanto tiempo como sea necesario. En realizaciones seleccionadas, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra durante más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 o 28 días. En algunas realizaciones, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra durante menos de 28, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 días. En realizaciones seleccionadas, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra de forma crónica de forma continua, por ejemplo, para el tratamiento de efectos crónicos.

50 En algunas realizaciones, una dosis eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) está en el intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg, aproximadamente 20 mg a aproximadamente 250 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 200 mg, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg, aproximadamente 20 mg a aproximadamente 150 mg, aproximadamente 30 mg a aproximadamente 120 mg, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 90 mg, aproximadamente 20 mg a aproximadamente 80 mg, aproximadamente 30 mg a aproximadamente 70 mg, aproximadamente 40 mg a aproximadamente 60 mg, aproximadamente 45 mg a aproximadamente 55 mg, aproximadamente 48 mg a aproximadamente 52 mg, aproximadamente 50 mg a aproximadamente 150 mg, aproximadamente 60 mg a aproximadamente 140 mg, aproximadamente 70 mg a aproximadamente 130 mg, aproximadamente 80 mg a aproximadamente 120 mg, aproximadamente 90 mg a aproximadamente 110 mg, aproximadamente 95 mg a aproximadamente 105 mg, aproximadamente 150 mg a aproximadamente 250 mg, aproximadamente 160 mg a aproximadamente 240 mg, aproximadamente 170 mg a aproximadamente 230 mg, aproximadamente 180 mg a aproximadamente 220 mg, aproximadamente 190 mg a aproximadamente 210 mg, aproximadamente 195 mg a aproximadamente 205 mg, o aproximadamente 198 a aproximadamente 202 mg. En algunas realizaciones, una dosis eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) es aproximadamente 25 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg,

aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 225 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 275 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 375 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 425 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 475 mg o aproximadamente 500 mg. En algunas realizaciones, una dosis eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) es 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg, o 500 mg.

En algunas realizaciones, una dosis eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) está en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 4,3 mg/kg, aproximadamente 0,15 mg/kg a aproximadamente 3,6 mg/kg, aproximadamente 0,3 mg/kg a aproximadamente 3,2 mg/kg, aproximadamente 0,35 mg/kg a aproximadamente 2,85 mg/kg, aproximadamente 0,15 mg/kg a aproximadamente 2,85 mg/kg, aproximadamente 0,3 mg a aproximadamente 2,15 mg/kg, aproximadamente 0,45 mg/kg a aproximadamente 1,7 mg/kg, aproximadamente 0,15 mg/kg a aproximadamente 1,3 mg/kg, aproximadamente 0,3 mg/kg a aproximadamente 1,15 mg/kg, aproximadamente 0,45 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 0,55 mg/kg a aproximadamente 0,85 mg/kg, aproximadamente 0,65 mg/kg a aproximadamente 0,8 mg/kg, aproximadamente 0,7 mg/kg a aproximadamente 0,75 mg/kg, aproximadamente 0,7 mg/kg a aproximadamente 2,15 mg/kg, aproximadamente 0,85 mg/kg a aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 1,85 mg/kg, aproximadamente 1,15 mg/kg a aproximadamente 1,7 mg/kg, aproximadamente 1,3 mg/kg a aproximadamente 1,6 mg/kg, aproximadamente 1,35 mg/kg a aproximadamente 1,5 mg/kg, aproximadamente 2,15 mg/kg a aproximadamente 3,6 mg/kg, aproximadamente 2,3 mg/kg a aproximadamente 3,4 mg/kg, aproximadamente 2,4 mg/kg a aproximadamente 3,3 mg/kg, aproximadamente 2,6 mg/kg a aproximadamente 3,15 mg/kg, aproximadamente 2,7 mg/kg a aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 2,8 mg/kg a aproximadamente 3 mg/kg, o aproximadamente 2,85 mg/kg a aproximadamente 2,95 mg/kg. En algunas realizaciones, una dosis eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) es aproximadamente 0,35 mg/kg, aproximadamente 0,7 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 1,4 mg/kg, aproximadamente 1,8 mg/kg, aproximadamente 2,1 mg/kg, aproximadamente 2,5 mg/kg, aproximadamente 2,85 mg/kg, aproximadamente 3,2 mg/kg, o aproximadamente 3,6 mg/kg.

En algunas realizaciones, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra a una dosis de 10 a 400 mg una vez al día (QD), incluyendo una dosis de 5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg, y 500 mg una vez al día (QD).

En algunas realizaciones, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra a una dosis de 10 a 400 mg BID, incluyendo una dosis de 5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg, y 500 mg BID.

En algunas realizaciones, la Forma I de la base libre de Fórmula (1) se administra a una dosis de 10 a 400 mg TID, incluyendo una dosis de 5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg, y 500 mg TID.

Una cantidad eficaz de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) puede administrarse en dosis únicas o múltiples mediante cualquiera de los modos aceptados de administración de ingredientes farmacéuticos activos que tienen utilidades similares, incluyendo las rutas rectal, bucal, intranasal y transdérmica, mediante inyección intraarterial, por vía intravenosa, intraperitoneal, parenteral, intramuscular, subcutánea, oral, tópica, o como una inhalación.

Composiciones farmacéuticas para su uso en superar los efectos de agentes reductores de ácido

Las composiciones descritas en este documento pueden usarse para superar los efectos de los agentes reductores de ácido. Los agentes reductores de ácido pueden limitar en gran medida la exposición de fármacos débilmente ácidos (tales como base libre de Fórmula (1)) en mamíferos. Smelick, et al, Mol. Pharmaceutics 2013,10, 4055-4062. Los agentes reductores de ácido incluyen inhibidores de la bomba de protones, tales como omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, dexlansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, e ilaprazol; antagonistas del receptor de H₂, tales como cimetidina, ranitidina, y famotidina; y antiácidos tales como bicarbonatos, carbonatos, e hidróxidos de aluminio, calcio, magnesio, potasio, y sodio, así como mezclas de antiácidos con agentes dirigidos a mecanismos de secreción gástrica. La superación de los efectos de los agentes reductores de ácido es un problema importante en el tratamiento de pacientes con cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades inmunes, y enfermedades autoinmunes, dado que estos pacientes son comúnmente coadministrados con agentes reductores de ácido para irritación gástrica que a menudo acompaña a sus afecciones. Los agentes reductores de ácido son los medicamentos más comúnmente recetados en América del Norte y Europa occidental. Los tratamientos terapéuticos contra el cáncer oral aprobados más recientemente tienen una solubilidad dependiente del pH y, por tanto, una posible interacción fármaco-fármaco con respecto a los agentes reductores de ácido. En pacientes con cáncer, se estima que 20-33 % de todos los pacientes están usando alguna forma de agente reductor de ácido. En cánceres particulares, tales como cáncer de páncreas o cáncer gastrointestinal, El uso de agentes reductores de ácido es tan alto como 60-80 % de pacientes. Smelick, et al, Mol. Pharmaceutics 2013,10, 4055-4062.

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante seleccionado del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido algínico, alginato de sodio, alginato de potasio, y Carbopol 971P (carboxipolimetileno). En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante seleccionado del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbito y ácido D-araboascórbico), ácido algínico, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), Carbomer 941 (ácido poliacrílico), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno). En una realización, el acidulante es extragranular. En una realización, el acidulante es intragranular.

El ácido algínico es un copolímero de polisacárido, ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G) unidos por enlaces 1-4 glicosídicos. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante que es un ácido algínico o una sal del mismo, en donde el ácido algínico o la sal del mismo exhibe una relación M/G seleccionada del grupo que consiste en entre 0,1 y 0,5, entre 0,2 y 0,6, entre 0,3 y 0,7, entre 0,4 y 0,8, entre 0,5 y 0,9, entre 0,6 y 1,0, entre 0,7 y 1,1, entre 0,8 y 1,2, entre 0,9 y 1,3, entre 1,0 y 1,4, entre 1,1 y 1,5, entre 1,2 y 1,6, entre 1,3 y 1,7, entre 1,4 y 1,8, entre 1,5 y 1,9, entre 1,6 y 2,0, entre 1,7 y 2,1, entre 1,8 y 2,2, entre 1,9 y 2,3, entre 2,0 y 2,4, y entre 2,1 y 2,5. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante que es un ácido algínico o una sal del mismo, en donde el ácido algínico o la sal del mismo exhibe una relación M/G seleccionada del grupo que consiste en menos de 0,5, menos de 1,0, menos de 1,5, menos de 2,0, y menos de 2,5. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante que es un ácido algínico o una sal del mismo, en donde el ácido algínico o la sal del mismo exhibe una relación M/G seleccionada del grupo que consiste en mayor que 0,5, mayor que 1,0, mayor que 1,5, mayor que 2,0, y mayor que 2,5. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante que es un ácido algínico o una sal del mismo, en donde el ácido algínico o la sal del mismo exhibe una relación M/G seleccionada del grupo que consiste en 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4 y 2,5. La relación M/G, así como la fracción de grupos M y G, las fracciones de "díadas" MM y GG, las fracciones de "tríadas" (por ejemplo, MGG), y las fracciones de secuencias más grandes de grupos M y G, pueden determinarse por métodos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) (con o sin digestión) y espectrometría de masas. Larsen, *et al*, Carbohydr. Res., 2003, 338, 2325-2336.

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% en masa) seleccionada del grupo que consiste en entre 1 % y 5 %, entre 5 % y 10 %, entre 10 % y 15 %, entre 15 % y 20 %, entre 20 % y 25 %, entre 25 % y 30 %, y entre 30 % y 35 %. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% en masa) seleccionada del grupo que consiste en entre 1 % y 5 %, entre 5 % y 10 %, entre 10 % y 15 %, entre 15 % y 20 %, entre 20 % y 25 %, entre 25 % y 30 %, y entre 30 % y 35 %, en donde el acidulante se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbito y ácido D-araboascórbico), ácido algínico, alginato de sodio, alginato de potasio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno).

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% de masa) seleccionada del grupo que consiste en menos de 1 %, menos de 5 %, menos de 10 %, menos de 15 %, menos de 20 %, menos de 25 %, menos de 30 %, y menos de 35 %. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% de masa) seleccionada del grupo que consiste en menos de 1 %, menos de 5 %, menos de 10 %, menos de 15 %, menos de 20 %, menos de 25 %, menos de 30 %, y menos de 35 %, en donde el acidulante se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbito y ácido D-araboascórbico), ácido algínico, alginato de sodio, alginato de potasio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno).

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% en masa) seleccionada del grupo que consiste en mayor de 1 %, mayor de 5 %, mayor de 10 %, mayor de 15 %, mayor de 20 %, mayor de 25 %, mayor de 30 %, y mayor de 35 %. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% en masa) seleccionada del grupo que consiste en mayor de 1 %, mayor de 5 %, mayor de 10 %, mayor de 15 %, mayor de 20 %, mayor de 25 %, mayor de 30 %, y mayor de 35 %, en donde el acidulante se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbito y ácido D-araboascórbico), ácido algínico, alginato de sodio, alginato de potasio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno).

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante

en una concentración (% en masa) seleccionada del grupo que consiste en aproximadamente 1 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 16 %, aproximadamente 17 %, aproximadamente 18 %, aproximadamente 19 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 21 %, aproximadamente 22 %, aproximadamente 23 %, aproximadamente 24 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 26 %, aproximadamente 27 %, aproximadamente 28 %, aproximadamente 29 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 31 %, aproximadamente 32 %, aproximadamente 33 %, aproximadamente 34 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 36 %, aproximadamente 37 %, aproximadamente 38 %, aproximadamente 39 %, y aproximadamente 40 %. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante en una concentración (% en masa) seleccionada del grupo que consiste en aproximadamente 1 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 16 %, aproximadamente 17 %, aproximadamente 18 %, aproximadamente 19 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 21 %, aproximadamente 22 %, aproximadamente 23 %, aproximadamente 24 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 26 %, aproximadamente 27 %, aproximadamente 28 %, aproximadamente 29 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 31 %, aproximadamente 32 %, aproximadamente 33 %, aproximadamente 34 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 36 %, aproximadamente 37 %, aproximadamente 38 %, aproximadamente 39 %, y aproximadamente 40 %, en donde el acidulante se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbico y ácido D-araboascórbico), ácido alginico, alginato de sodio, alginato de potasio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno).

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbico y ácido D-araboascórbico), ácido alginico, alginato de sodio, alginato de potasio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno), y combinaciones de los mismos. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido fumárico a una concentración de entre aproximadamente 15 % y aproximadamente 33 % en peso. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido alginico o una sal del mismo (tal como alginato de sodio o alginato de potasio) a una concentración de entre aproximadamente 5 % a aproximadamente 33 % en peso. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido L-tartárico a una concentración de entre aproximadamente 25 % y aproximadamente 33 % en peso. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido ascórbico a una concentración de entre aproximadamente 20 % a aproximadamente 50 % en peso y Carbopol 971P (carboxipolimetileno) a una concentración de aproximadamente 2,5 % a aproximadamente 10 % en peso. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido fumárico a una concentración de entre aproximadamente 5 % a aproximadamente 15 % en peso y ácido alginico o una sal del mismo a una concentración de aproximadamente 15 % a aproximadamente 33 % en peso. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante extragranular, en donde el acidulante extragranular es ácido L-tartárico a una concentración de entre aproximadamente 5 % a 15 % en peso y ácido alginico a una concentración de entre aproximadamente 15 % a aproximadamente 33 % en peso.

En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de la Fórmula (1) y un acidulante, en donde el acidulante se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido L-tartárico, ácido cítrico, ácido gentísico, ácido oxálico, y ácido sulfúrico. En una realización, una composición farmacéutica comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un acidulante, en donde el acidulante se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido L-tartárico, ácido cítrico, ácido gentísico, ácido oxálico y ácido sulfúrico, y en donde el acidulante es un contraión salino incluido en una sola fase cristalina con la Fórmula (1).

En una realización, además de un acidulante, una composición farmacéutica incluye un excipiente para prolongar la exposición de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) al microambiente ácido. En una realización, este excipiente es un polímero natural, de origen sintético o semisintético. El polímero puede contener monómeros, oligómeros o polímeros ácidos, aniónicos o no iónicos o una mezcla de monómeros o copolímeros ácidos, aniónicos y no iónicos. En una versión, el excipiente se selecciona del grupo que consiste en hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa de baja sustitución, hidroxipropilcelulosa, óxido de polietileno succinato de tocoferol (polietilenglicol succinato de D- α -tocoferol, TPGS, o vitamina E TPGS), metilcelulosa, comboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, acrilato de metilo, acrilato de etilo, copolímeros de acrilato de metilo y etilo, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa,

5 gelatina, almidón de maíz, almidón de guisante, almidón de maíz modificado, almidón de patata, almidón de patata modificado, almidón glicolato de sodio, croscarmelosa, crospovidona, copovidona, polietilenglicol, polipropilenglicol, copolímeros de polietileno y polipropilenglicol, alcohol polivinílico, alcohol polivinílico y copolímeros de óxido de polietileno. Copolímeros de los polímeros anteriores, cuando sea aplicable, también se pueden utilizar. Los
 10 copolímeros pueden ser copolímeros de bloques, ramificados o terminales. En una realización, el polímero exhibe propiedades de hinchamiento, aglutinación, o gelificación que inhiben la disgregación, disolución, y erosión de la composición farmacéutica para prolongar la disolución o aumentar la disolución total. En una realización, la inclusión del polímero aumenta la velocidad de disolución y el grado de disolución respecto al uso de un acidulante solo. Las propiedades de hinchamiento, aglutinación, o gelificación dependen del pH en una realización, en donde el polímero
 15 se hincha, aglutina, o gelifica a un pH o intervalo de pH de manera diferente que a otro pH. En una realización, esto puede disminuir la disolución a un pH inferior que a un pH superior o viceversa. En otra realización, esto conduce a una disolución similar de Fórmula I en pH ácido, neutro o básico. Esto conduce a una exposición plasmática similar independiente del pH del estómago.

20 El perfil de disolución de una formulación que contiene uno o más excipientes de hinchamiento, gelificación, o aglutinación pueden exhibir un orden de velocidad diferencial cero, primero o segundo a uno o más valores de pH o una mezcla de diferentes órdenes de velocidad a diferentes valores de pH. En una realización, una composición farmacéutica proporcionará un nivel constante de fármaco en el tracto gastrointestinal de un mamífero mediante disolución. Cuando se absorbe la Fórmula (1), esto lleva a un nivel sostenido de fármaco en plasma durante un período,
 25 retrasa la t_{max} reduce la C_{max} de una dosis equivalente de una formulación de liberación inmediata de Fórmula (1). En otra realización, esto conduce a una exposición similar en un mamífero independientemente del pH del estómago.

Composiciones para uso en tratamiento de cánceres de tumor sólido, neoplasias hematológicas, enfermedades inflamatorias, trastornos autoinmunes, trastornos inmunes, y otras enfermedades

30 Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden usarse para tratar enfermedades. En realizaciones preferentes, son para uso en tratamiento de trastornos hiperproliferativos. También se pueden usar para tratar otros trastornos como se describe en este documento y en los siguientes párrafos.

35 En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I cristalina de la base libre de Fórmula (1), o una composición farmacéutica que comprende la Forma I cristalina de la base libre de Fórmula (1) para uso en tratamiento de un trastorno hiperproliferativo en un mamífero. En realizaciones preferentes, el mamífero es un ser humano. En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo es cáncer. En realizaciones preferentes, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma folicular, y macroglobulinemia de Waldenström. En realizaciones preferentes, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en linfomas no Hodgkin (tal como linfoma difuso de linfocitos B macrocítico), leucemia mieloide aguda, timo, cerebro, pulmón, células escamosas, piel, ojo, retinoblastoma, melanoma intraocular, cavidad oral y orofaríngea, vejiga, gástrico, estómago, pancreático, vejiga, mama, del cuello uterino, cabeza, cuello, renal, riñón, hígado, ovárico, próstata, colorrectal, óseo (por ejemplo, óseo metastásico), esofágico, testicular, ginecológico, tiroides, SNC, SNP, relacionado con SIDA (por ejemplo, linfoma y sarcoma de Kaposi), cánceres inducidos por virus tales como carcinoma cervical (virus del papiloma humano), enfermedad linfoproliferativa de linfocitos B y carcinoma nasofaríngeo (virus de Epstein-Barr), sarcoma de Kaposi y linfomas de efusión primaria (virus del herpes de sarcoma de Kaposi), carcinoma hepatocelular (virus de hepatitis B y hepatitis C) y leucemias de linfocitos T (virus-1 de leucemia de linfocitos T humana), leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia de Burkitt, leucemia mielomonocítica juvenil, tricoleucemia, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, leucemia de mastocitos, y mastocitosis. En realizaciones seleccionadas, el uso se relaciona con el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo no canceroso tal como hiperplasia benigna de la piel (por ejemplo, psoriasis), restenosis, o afecciones de la próstata (por ejemplo, hipertrofia prostática benigna (BPH)). En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo es un trastorno inflamatorio, inmune, o autoinmune. En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo se selecciona del grupo que consiste en angiogénesis tumoral, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades de la piel tales como psoriasis, eccema, y esclerodermia, diabetes, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, degeneración macular asociada a la edad, hemangioma, glioma y melanoma, colitis ulcerosa, dermatitis atópica, reservoritis, espondiloartritis, uveítis, enfermedad de Behcet, polimialgia reumática, arteritis de células gigantes, sarcoidosis, enfermedad de Kawasaki, artritis idiopática juvenil, hidratenitis supurativa, síndrome de Sjögren, artritis psoriásica, artritis reumatoide juvenil, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, lupus, y nefritis por lupus. En una realización, El uso de cualquiera de las realizaciones anteriores incluye además la etapa de administrar un agente reductor de ácido al mamífero. En una realización, el agente reductor de ácido se selecciona del grupo que consiste en inhibidores de la bomba de protones, tales como omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, dexlansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, e ilaprazol; antagonistas del receptor de H_2 , tales como cimetidina, ranitidina, y famotidina; y antiácidos tales como bicarbonatos, carbonatos, e hidróxidos de aluminio, calcio, magnesio, potasio, y sodio.

65 En algunas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) descrita en este documento para su uso en el tratamiento de cánceres tales como cáncer de timo, cáncer de cerebro (por ejemplo, glioma), cáncer de pulmón, cáncer de células escamosas, cáncer de piel (por ejemplo, melanoma), cáncer ocular, cáncer retinoblastoma, cáncer melanoma intraocular, cáncer de la cavidad oral, cáncer

orofaríngeo, cáncer de vejiga, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza y cuello, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de colon, cáncer de esófago, cáncer testicular, cáncer ginecológico, cáncer de ovario, cáncer de tiroides, cáncer del SNC, cáncer del SNP, cáncer relacionado con SIDA (por ejemplo, linfoma y sarcoma de Kaposi), cáncer inducido por virus, y cáncer epidermoide. En algunas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas de la Forma I de la base libre para usar en el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo no canceroso tal como hiperplasia benigna de la piel (por ejemplo, psoriasis), reestenosis, o próstata (por ejemplo, hipertrofia prostática benigna (BPH)). En algunas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) descrita en este documento para uso en el tratamiento de trastornos tales como trastornos mieloproliferativos (MPD), neoplasias mieloproliferativas, policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE), mielofibrosis primaria (PMF), síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena crónica (BCR-ABL1-positiva), leucemia neutrofilica crónica, leucemia eosinofílica crónica, o mastocitosis. La invención también proporciona composiciones para usar en el tratamiento de una enfermedad relacionada con vasculogénesis o angiogénesis en un mamífero que puede manifestarse como angiogénesis tumoral, enfermedad inflamatoria crónica tal como artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, aterosclerosis, enfermedades de la piel tales como psoriasis, eccema, y esclerodermia, diabetes, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, degeneración macular relacionada con la edad, y hemangioma.

En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de un cáncer de tumor sólido. En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, carcinoma de células escamosas, incluyendo cáncer de cabeza y cuello. En una realización, la invención proporciona una combinación que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y un segundo agente para usar en el tratamiento del cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, y cáncer colorrectal, en donde el segundo agente se selecciona del grupo que consiste en bendamustina, venetoclax, gemcitabina, paclitaxel unido a albúmina, rituximab, obinutuzumab, ofatumumab, pembrolizumab, nivolumab, durvalumab, avelumab, y atezolizumab. En una realización, la invención proporciona una combinación para usar en el tratamiento de cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, y cáncer colorrectal, en donde la combinación comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) y bendamustina, venetoclax, gemcitabina, paclitaxel unido a albúmina, rituximab, obinutuzumab, ofatumumab, pembrolizumab, nivolumab, durvalumab, avelumab, y atezolizumab.

En algunas realizaciones, la invención se refiere a una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de un trastorno inflamatorio, inmune, o autoinmune en un mamífero. En realizaciones seleccionadas, la invención también se refiere a una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de una enfermedad, en donde la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en angiogénesis tumoral, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades de la piel tales como psoriasis, eccema, y esclerodermia, diabetes, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, degeneración macular asociada a la edad, hemangioma, glioma y melanoma, colitis ulcerosa, dermatitis atópica, reservoritis, espondiloartritis, uveítis, enfermedad de Behcet, polimialgia reumática, arteritis de células gigantes, sarcoidosis, enfermedad de Kawasaki, artritis idiopática juvenil, hidratenitis supurativa, síndrome de Sjögren, artritis psoriásica, artritis reumatoide juvenil, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, lupus, y nefritis por lupus.

En algunas realizaciones, la invención se refiere a una composición que comprende una Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo en un mamífero, en donde el trastorno hiperproliferativo es una neoplasia hematológica de linfocitos B seleccionada del grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia linfocítica microcítica (SLL), linfoma no Hodgkin (NHL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), linfoma de células del manto (MCL), linfoma de Hodgkin, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B (ALL-B), linfoma de Burkitt, macroglobulinemia de Waldenström (WM), linfoma de Burkitt, mieloma múltiple, síndromes mielodisplásicos, o mielofibrosis. En algunas realizaciones, la invención se refiere a una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo en un mamífero, en donde el trastorno hiperproliferativo se selecciona del grupo que consiste en leucemia mielocítica crónica, leucemia mieloide aguda, DLBCL (incluyendo los subtipos de linfocitos B activados (ABC) y linfocitos B del centro germinal (GCB)), linfoma del centro del folículo, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin indolente, y ALL de linfocitos B maduros.

En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo es un subtipo de CLL. Se han caracterizado varios subtipos de CLL. CLL a menudo se clasifica por el estado mutacional de la región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (IgV_H) en células leucémicas. R. N. Damele, *et al*, Blood 1999, 94, 1840-47; T. J. Hamblin, *et al*, Blood 1999, 94, 1848-54. Pacientes con mutaciones de IgV_H generalmente sobreviven más tiempo que pacientes sin mutaciones de IgV_H. La expresión ZAP70 (positiva o negativa) también se usa para caracterizar CLL. L. Z. Rassenti, *et al*, N. Engl. J. Med. 2004, 351, 893-901. La metilación de ZAP-70 en CpG3 también se usa para caracterizar CLL, por ejemplo por pirosecuenciación. R. Claus, *et al*, J. Clin. Oncol. 2012, 30, 2483-91; J. A. Woyach, *et al*, Blood 2014, 123, 1810-17. CLL también se clasifica por el estadio de la enfermedad según los criterios de Binet o Rai. J. L. Binet, *et al*, Cancer

1977, 40, 855-64; K. R. Rai, T. Han, Hematol. Oncol. Clin. North Am. 1990, 4, 447-56. Otras mutaciones comunes, tales como deleción de 11q, deleción 13q y deleción 17p pueden evaluarse utilizando técnicas bien conocidas tales como hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH). En una realización, la invención se refiere a una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de una CLL en un humano, en donde la CLL se selecciona del grupo que consiste en CLL con mutación negativa de IgV_H, CLL ZAP-70 positiva, CLL de ZAP-70 metilado en CpG3, CLL CD38 positiva, leucemia linfocítica crónica caracterizada por una deleción 17p13,1 (17p), y CLL caracterizada por una deleción 1 1q22,3 (11q).

En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo es una CLL en donde la CLL ha sufrido una transformación de Richter. Los métodos para evaluar la transformación de Richter, que también se conoce como síndrome de Richter, se describen en Jain y O'Brien, Oncology, 2012, 26, 1146-52. La transformación de Richter es un subtipo de CLL que se observa en 5-10 % de los pacientes. Implica el desarrollo de linfoma agresivo a partir de CLL y tiene un pronóstico generalmente malo.

En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo es una CLL o SLL en un paciente, en donde el paciente es sensible a linfocitosis. En una realización, la invención se refiere a una composición que comprende la Forma I de la base libre de Fórmula (1) para usar en el tratamiento de CLL o SLL en un paciente, en donde el paciente exhibe linfocitosis causada por un trastorno seleccionado del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección por protozoos, o un estado posterior a esplenectomía. En una realización, la infección viral en cualquiera de las realizaciones anteriores se selecciona del grupo que consiste en mononucleosis infecciosa, hepatitis, y citomegalovirus. En una realización, la infección bacteriana en cualquiera de las realizaciones anteriores se selecciona del grupo que consiste en tos ferina, tuberculosis, y brucelosis.

Ejemplos

Ejemplo 1. Forma I de anhidrato cristalino de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida (base libre)

Ejemplo 1.1. Preparación de la forma I de anhidrato cristalino

Se realizó un estudio de cristalización usando (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida amorfa como entrada. El carácter amorfo de este lote fue confirmado por PXR. Para enfriar experimentos de cristalización, se disolvieron 25 mg de Fórmula (1) amorfa en 300 µl de disolvente, se calentaron a 60 °C a una velocidad de 5 °C/hora, se mantuvieron durante 1 hora a esa temperatura, y luego se enfriaron a 5 °C a la misma velocidad. Para experimentos en suspensión, se suspendieron 25 mg de Fórmula (1) amorfa en 150 µl de disolvente a 20 °C durante 3 días. Todos los sólidos se aislaron para análisis PXR. Los disolventes se evaporaron al vacío (200 mbar) cuando se obtuvo una solución transparente. Los resultados se resumen en la Tabla 1.

(continuación)

Muestra	Disolvente	Tipo	Aspecto	Aspecto después de evaporación	PXRD	DSC	TGA
18	2-propanol - agua 1:1	Cristalización por enfriamiento	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-
19	2-propanol - agua 1:3	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
20	N,N-dimetilacetamida - agua 3:1	Cristalización por enfriamiento	Disuelto	Gel	-	-	-
21	N,N-dimetilacetamida - agua 1:1	Cristalización por enfriamiento	Disuelto	Gel	-	-	-
22	N,N-dimetilacetamida - agua 1:3	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
23	acetona - heptano 3:1	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Forma I	-	-
24	acetona - heptano 1:1	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Forma I	-	-
25	acetona - heptano 1:3	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
26	2-butanona - heptano 3:1	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
27	2-butanona - heptano 1:1	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
28	2-butanona - heptano 1:3	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Amorfo	-	-
29	ciclohexanona - heptano 3:1	Cristalización por enfriamiento	Disuelto	Gel	-	-	-
30	ciclohexanona - heptano 1:1	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
31	ciclohexanona - heptano 1:3	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
32	dimetil sulfoxido - agua 3:1	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
33	dimetil sulfoxido - agua 1:1	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
34	dimetil sulfoxido - agua 1:3	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Amorfo	-	-
35	clorobenceno - heptano 3:1	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Amorfo	-	-

(continuación)

Muestra	Disolvente	Tipo	Aspecto	Aspecto después de evaporación	PXRD	DSC	TGA
		enfriamiento					
36	clorobenceno - heptano 1:1	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Amorfo	-	-
37	clorobenceno - heptano 1:3	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Amorfo	-	-
38	diclorometano - heptano 3:1	Cristalización por enfriamiento	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-
39	diclorometano - heptano 1:1	Cristalización por enfriamiento	Sólido	-	Forma I	207 °C (-161 J/g)	-1,6 % (40-140 °C) -1,2 % (150-240 °C)
40	diclorometano - heptano 1:3	Cristalización por enfriamiento	Gel	Gel	-	-	-
41	metil <i>tert</i> -butil éter	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
42	tetrahidrofurano	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-
43	diisopropil éter	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
44	2-metiltetrahidrofurano	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
45	ciclopentil metil éter	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
46	metanol - agua 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-
47	metanol - agua 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
48	metanol - agua 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
49	etanol - agua 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-
50	etanol - agua 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
51	etanol - agua 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
52	2-propanol - agua 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-

(continuación)

Muestra	Disolvente	Tipo	Aspecto	Aspecto después de evaporación	PXRD	DSC	TGA
53	2-propanol - agua 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Forma II	~105 °C ~150 °C ~220 °C	-9,7 % (40-120 °C)
54	2-propanol - agua 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
55	N,N-dimetilacetamida - agua 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Gel	-	-	-
56	N,N-dimetilacetamida - agua 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Gel	-	-	-
57	N,N-dimetilacetamida - agua 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
58	acetona - heptano 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Forma I	-	-
59	acetona - heptano 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
60	acetona - heptano 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
61	2-butanona - heptano 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
62	2-butanona - heptano 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
63	2-butanona - heptano 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
64	ciclohexanona - heptano 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Gel	-	-	-
65	ciclohexanona - heptano 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
66	ciclohexanona - heptano 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
67	dimetil sulfóxido - agua 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Débilmente cristalino	-	-
68	dimetil sulfóxido - agua 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
69	dimetil sulfóxido - agua 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Forma II	-	-

(continuación)

Muestra	Disolvente	Tipo	Aspecto	Aspecto después de evaporación	PXRD	DSC	TGA
70	clorobenceno - heptano 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
71	clorobenceno - heptano 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
72	clorobenceno - heptano 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-
73	diclorometano - heptano 3:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Disuelto	Sólido	Amorfo	-	-
74	diclorometano - heptano 1:1	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Gel	Gel	-	-	-
75	diclorometano - heptano 1:3	Suspensión (20 °C durante 3 días)	Sólido	-	Amorfo	-	-

Los resultados indican que, cuando se obtienen sólidos, la forma amorfa de Fórmula (1) se obtiene de la mayoría de los disolventes, y esa Forma I es difícil de cristalizar pero puede prepararse a partir de un conjunto muy limitado de solventes, en particular ciertas mezclas con *n*-heptano (por ejemplo, con acetona). La Forma I también puede cristalizarse o recristalizarse en etanol a escalas mayores, incluso a escala de 60 g.

Se realizaron experimentos de adición de antidisolvente mediante la adición gradual de antidisolvente hasta la cristalización, a una solución transparente de Fórmula (1) en el disolvente que se muestra en la Tabla 2. Los resultados destacan nuevamente la dificultad para preparar la Fórmula (1) cristalina.

10 TABLA 2. Resultados de experimentos de adición de antidisolvente para (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida.

Muestra	Disolvente	Tipo	Antidisolvente	Aspecto ¹	PXRD
76	metanol	Antidisolvente	Agua	FFP	Amorfo
77	etanol	Antidisolvente	Agua	FFP	Amorfo
78	2-propanol	Antidisolvente	Agua	Sin sólidos	
79	N,N-	Antidisolvente	Agua	FFP	Amorfo
80	acetona	Antidisolvente	Heptano	Sólidos pegajosos	Amorfo
81	2-butanona	Antidisolvente	Heptano	Sólidos pegajosos	Amorfo
82	ciclohexanona	Antidisolvente	Heptano	FFP	Amorfo
83	dimetil sulfóxido	Antidisolvente	Agua	FFP + sólidos pegajosos	Amorfo
84	clorobenceno	Antidisolvente	Heptano	FFP + sólidos pegajosos	Amorfo
85	diclorometano	Antidisolvente	Heptano	FFP	Amorfo

1. FFP se refiere al polvo que fluye libremente.

Ejemplo 1.2. Caracterización física del anhidrato cristalino de Forma I

15 La caracterización de la Forma I de la base libre de Fórmula (1) producida por cristalización a partir de acetona en presencia de metanol (denominada muestra PP502-P1 en este documento) se llevó a cabo utilizando diversas técnicas que incluyen: PXRD de transmisión (FIG. 1), espectroscopía Raman (FIG. 2) e IR (FIG. 3), espectroscopía de RMN en estado de solución después de disolución de la Forma I, TG-FTIR, calorimetría diferencial de barrido (CDB), pruebas de solubilidad semicuantitativas y adsorción de vapor dinámica (DVS; también conocido como adsorción de vapor gravimétrica o GVS).

25 El patrón PXRD de transmisión de la Forma I se adquirió utilizando un goniómetro de dos círculos de alta precisión Stoe Stadi P equipado con un detector Mythen1K y fuente de radiación Cu-K α_1 que funciona en condiciones de medición estándar de: tensión de tubo de 40 kV y corriente de tubo de 40 mA; monocromador de Ge curvado; tamaño de etapa de 0,02 °2 θ ; 48 segundos de tiempo de etapa, intervalo de barrido de 1,5-50,5 °2 θ ; y modo detector que incluye un barrido de etapa en etapa de detector de 1 °2 θ . Las muestras se prepararon colocando de 10 a 20 mg de material entre dos láminas de acetato en el portamuestras de transmisión Stoe, que se giró durante la medición. Las mediciones con el difractómetro Stoe Stadi se tomaron en modo de transmisión (Debye-Scherrer). Este instrumento también puede funcionar en modo de reflexión (Bragg-Brentano).

30 FIG. 1 muestra el patrón PXRD para la Forma I medido usando la geometría de transmisión. Los siguientes picos se identificaron en el patrón PXRD de la FIG. 1: 6,4, 8,7, 10,5, 11,0, 11,4, 11,6, 12,8, 13,5, 14,3, 14,9, 15,1, 15,5, 15,7, 16,1, 17,3, 18,2, 19,1, 19,2, 19,5, 19,8, 20,6, 20,8, 21,2, 21,4, 21,6, 22,0, 22,2, 22,3, 22,6, 22,8, 23,3, 23,7, 24,9, 25,2, 25,4, 25,8, 26,1, 26,5, 26,8, 27,0, 27,1, 27,7, 28,7, 29,2, 29,9, 30,5, 31,7, 32,0, 32,6, 33,1, 33,2, 33,5, 34,5, y 35,1 °2 θ ± 0,2 °2 θ . La Forma I muestra picos distintivos (en relación con las otras formas) a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 y 15,7 °2 θ ± 0,2 °2 θ , y muestra picos distintivos adicionales (en relación con las otras formas) a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 y 18,2 °2 θ ± 0,2 °2 θ . El patrón PXRD de la FIG. 1 junto con la birrefringencia observada, las imágenes de microscopía óptica polarizada de la Forma I (muestra PP502-P1), muestran que el anhidrato de la Forma I de la Fórmula (1) es cristalino.

40 Las mediciones de PXRD de reflexión también se realizaron con un segundo instrumento, un difractómetro de rayos X en polvo Bruker D8 Advance equipado con un detector LynxEye y que funciona en modo de geometría de reflexión Bragg-Brentano. Los valores 2 θ generalmente son precisos dentro de un error de ± 0,2°. Las muestras se prepararon generalmente sin ningún tratamiento especial que no sea la aplicación de una ligera presión para obtener una superficie plana. Las muestras se midieron sin cubrir a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de operación incluyeron una tensión de tubo de 40 kV y una corriente de 40 mA. Se usó una rendija de divergencia variable con una ventana de 3°. El tamaño del etapa fue de 0,02 °2 θ con un tiempo de etapa de 37 segundos. La muestra se giró a 0,5 rps durante la medición. Cuando se calibra, el patrón PXRD en modo de reflexión de la Forma I

se puede comparar con el patrón PXRD en modo de transmisión de la Forma I, aunque el experto en la materia entenderá que los patrones de difracción pueden variar, particularmente con respecto a las intensidades máximas, como se describe en el presente documento.

5 Se midió el patrón PXRD de reflexión para la Forma I de Fórmula (1), y se identificaron los siguientes picos en el patrón PXRD de reflexión: 6,36, 8,60, 10,50, 10,90, 11,32, 11,57, 12,73, 13,4, 14,27, 14,86, 15,08, 15,66, 16,09, 17,28, 18,17, 19,15, 19,39, 19,76, 20,70, 21,10, 21,36, 21,56, 21,94, 22,59, 23,3, 23,63, 24,87, 25,19, 25,37, 25,72, 26,05, 26,42, 26,77, 26,93, 27,68, 28,62, 29,11, 29,42, 30,14, 30,49, 31,69, 31,90, 32,22, 32,57, 33,05, 33,39, 34,45, 35,87, 36,09, 36,80, 37,42, 38,08, 38,86, y $39,54 \pm 0,20^\circ 2\theta$.

10 El espectro Raman por transformada de Fourier (FT) de la Forma I se adquirió utilizando un espectrofotómetro Bruker RFS 100 FT-Raman equipado con un detector de germanio refrigerado por nitrógeno líquido y un láser Nd:YAG de IR cercano que funciona a 1064 nm con una potencia de 100 mW. Los espectros fueron el resultado de 64 barridos recogidos con una resolución de 2 cm^{-1} en el intervalo entre 3500 y 50 cm^{-1} . El espectro FT-Raman de la Forma I se muestra en la FIG. 2, y exhibe picos en 1680, 1620, 1609, 1574, 1547, 1514, 1495, 1454, 1433, 1351, 1312, 1255, 1232, 1187, 1046, 995, 706, 406 y 280 (desplazamiento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$).

15 El espectro IR de la Forma I (muestra PP502-P1) se obtuvo usando espectroscopía IR. Los espectros se obtuvieron registrando 32 barridos utilizando un muestreo de reflectancia total atenuada (ATR) y un espectrómetro de infrarrojos Perkin Elmer BXII a una resolución de 2 números de onda (cm^{-1}). Para el espectro mostrado aquí, los espectros originales en modo de transmisión se convirtieron al modo de absorción utilizando el software OPUS 7.0 de Bruker y se generaron tablas de picos. El espectro IR de la Forma I se ilustra en la FIG. 3. Los picos característicos para la Forma I se observan en 3367, 3089, 2246, 1682, 1621, 1608, 1574, 1514, 1504, 1454, 1428, 1403, 1345, 1303, 1248, 1194, 1177, 1149, 1109, 1049, 1023, 1003, 947, 900, 858, 842, 816, 764, 734, 729, 701, 689, 665, 623 y 612 (frecuencia IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

20 El espectro de RMN ^1H de la Forma I registrado en dimetil sulfóxido deuterado (d_6 -DMSO) confirmó la estructura molecular de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida presente en este anhidrato cristalino.

25 El análisis TGA y TG-FTIR se llevó a cabo utilizando un equipo Netzsch Thermo-Microbalance TG 209 acoplado a un espectrómetro Bruker FTIR (instrumento modelo Vector 22). Las bandejas de muestra que tienen un orificio se tararon antes de introducir la muestra y luego se calentaron a 350°C a una velocidad de rampa de $10^\circ\text{C}/\text{minuto}$ bajo un flujo constante de nitrógeno. El análisis TG-FTIR de la muestra de la Forma I reveló una pérdida de masa de aproximadamente 0,8 % al calentar a 250°C . La espectroscopía TG-FTIR mostró que la pérdida de masa observada hasta 250°C es esencialmente atribuible al disolvente de acetona, que parece retenerse fuertemente por los polvos de Forma I ya que la pérdida de masa ocurre por encima de 200°C . La pérdida de peso por encima de 250°C se debe principalmente a la descomposición.

30 DSC se realizó con un instrumento Perkin Elmer DSC-7 o con TA Instruments Q2000. Las muestras se prepararon en un recipiente de muestra de oro cerrado a velocidades de rampa de temperatura de $10^\circ\text{C}/\text{minuto}$ o $20^\circ\text{C}/\text{minuto}$ hasta aproximadamente 250°C . La fusión comienza a aproximadamente 200°C y se observa un pico a aproximadamente $214,7^\circ\text{C}$ con un flujo de calor de aproximadamente 16 mW (81,9 J/g) para la endoterma de fusión; sin embargo, la fusión fue concurrente con la descomposición térmica y, por tanto, la entalpía de fusión es una estimación. No obstante, el intervalo de temperatura de la pérdida de masa observada en el análisis de TGA sugiere que la Forma I debe fundirse para liberar el disolvente residual. El termograma DSC mostró que después del evento de fusión a aproximadamente $214,7^\circ\text{C}$, ocurre degradación exotérmica a $226,4^\circ\text{C}$.

35 La Forma I también se ensayó con respecto a las solubilidades en diversas mezclas de agua-disolvente y disolventes no acuosos. Los estudios de solubilidad se llevaron a cabo mediante una dilución gradual de una suspensión de aproximadamente 10 mg de Forma I en 0,1 ml de disolvente de calidad analítica. Los resultados de las solubilidades aproximadas se muestran en la Tabla 3. Los valores de solubilidad son aproximaciones estimadas y están sujetos a errores experimentales variables.

55 TABLA 3. Mediciones aproximadas de solubilidad para Forma I.

Disolvente puro	Solubilidad [S, mg/ml]	Mezcla de disolventes	Solubilidad [S, mg/ml]
ácido acético	$102 < S < 204$	ácido acético: agua 1:1	$104 < S < 208$
acetona	$S \sim 2$	ácido acético:acetato de etilo 1:1	$92 < S < 184$
acetonitrilo	$S < 1$	ácido acético:acetato de etilo 1:9	$60 < S < 90$
diclorometano, DCM	$36 < S < 43$	ácido acético:MEK 1:9	$63 < S < 95$
N,N-dimetilformamida, DMF	$49 < S < 65$	ácido acético:isopropanol 1:9	$S \sim 4$
dimetilsulfóxido, DMSO	$39 < S < 49$	acetona:agua 4:1	$26 < S < 31$

(continuación)

Disolvente puro	Solubilidad [S, mg/ml]	Mezcla de disolventes	Solubilidad [S, mg/ml]
acetato de etilo	S < 1	etanol:agua 1:1	S ~ 6
etanol	S ~ 3	etanol:agua 9:1 a 60 °C	S > 60
ácido fórmico	97 < S < 194	etanol:agua 95:5	S ~ 8
2-butanona, MEK	S < 1	MEK saturada con agua	26 < S < 30
metanol	S ~ 14	metanol:MEK 1:1 a reflujo	S > 90
N-metil-2-pirrolidona, NMP	39 < S < 49	metanol:agua 9:1	S ~ 15
2-propanol	S < 1	THF:agua 9:1	S > 50
tetrahidrofurano, THF	S ~ 5		
trifluoroetano	97 < S < 194		

La solubilidad acuosa de la Forma I se determinó después de equilibrar a 25 °C durante tres días. Se usó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para determinar la concentración en solución filtrada, que dio como resultado S ~ 68 µg/ml. PXRD del residuo sólido confirmó que se retuvo la Forma I.

5 Se realizó un estudio de adsorción de vapor gravimétrico utilizando un procedimiento estándar. Las muestras se procesaron usando un analizador de adsorción de vapor dinámica (DVS). Los tamaños de muestra fueron de aproximadamente 10 mg. Se realizó una isoterma de adsorción-desorción de humedad como se describe a continuación. Las muestras se expusieron a 50 % HR inicial, disminuyendo humedad a 0 % HR, aumentando humedad a 95 % HR, y finalmente disminuyendo la humedad a 50 % HR inicial. Los resultados de DVS, incluyendo curvas de isoterma de adsorción y desorción, muestran que el aumento de peso total observado entre 0 % HR y 80 % HR es aproximadamente 0,17 %, lo que indica que la Forma I no es higroscópica según la clasificación de la Farmacopea Europea (EP) (no higroscópica: < 0,2 %; ligeramente higroscópica: ≥ 0,2 % y < 2 %; higroscópica: ≥ 2 % y < 15 %; muy higroscópica: ≥ 15 %; delicuescente: se absorbe suficiente agua para formar un líquido; todos los valores medidos como aumento de peso a 80 % HR y 25 °C). La curva de desorción indica que la Forma I perdió humedad a una velocidad similar a la humedad obtenida durante la adsorción, con histéresis limitada. Casi toda el agua adsorbida se retiró al final del experimento de DVS. PXRD no observó ningún cambio de forma después del experimento de DVS.

20 Ejemplo 2 (para referencia). Forma II de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida (Base libre) Trihidrato

Ejemplo 2.1. Preparación de trihidrato cristalino de Forma II

25 El estudio de cristalización descrito anteriormente e informado en la Tabla 1 también produjo la Forma II en un conjunto muy limitado de disolventes.

30 La Forma II (muestra PP502-P21) de la base libre de Fórmula (1) también se produjo disolviendo la Forma I en una mezcla de acetona-agua (8:2) a temperatura de reflujo seguido de enfriamiento de la solución y retirada de 50 % del volumen de disolvente con una ligera purga de nitrógeno. Las muestras obtenidas se secaron a temperatura ambiente en aire y en condiciones ambientales (a aproximadamente 45 % HR). Se observó una pérdida de masa de aproximadamente 9,7 % después de secado, correspondiente a aproximadamente 2,7 moléculas de agua por molécula de Fórmula (1) (es decir, un trihidrato).

35 Ejemplo 2.2. Caracterización física de trihidrato cristalino de Forma II

40 La caracterización de la Forma II de la base libre de Fórmula (1) se llevó a cabo usando diversas técnicas incluyendo PXRD (Figura 4), microscopía óptica, espectroscopía Raman (Figura 5), espectroscopía IR, TG-FTIR, DSC, DVS y ensayos de solubilidad semicuantitativos. Los métodos de caracterización utilizados para la Forma II se realizaron como se describió anteriormente para la caracterización de la Forma I.

45 FIG. 4 muestra el patrón PXRD para la Forma II de Fórmula (1) medido en modo de transmisión. Los siguientes picos característicos se identificaron en el patrón PXRD de la FIG. 4: 6,6, 9,9, 11,0, 13,6, 14,0, 14,3, 18,1, 18,4, 18,9, 19,3, 20,2, 21,1, 22,0, 22,2, 22,5, 22,7, 22,9, 23,4, 23,5, 23,9, 24,2, 24,6, 25,0, 26,1, 26,6, 26,9, 27,5, 28,2, 31,0, 32,1, 32,4, 32,7, 33,4, 33,9, y 34,4 °2θ ± 0,2 °2θ. Los patrones PXRD de la Forma I y la Forma II muestran reflexiones distintas para cada una de estas formas de la base libre de Fórmula (1). La Forma II muestra picos distintivos (en relación con las otras formas) en 5,7, 6,6, 8,2 y 9,8 °2θ ± 0,2 °2θ, y muestra picos distintivos adicionales (en relación con las otras formas) en 11,0, 14,1, 14,3, 18,9, 20,1, y 24,6 °2θ ± 0,2 °2θ. Una imagen microscópica óptica de la Forma II mostró que la muestra de la Forma II (PP502-P21) exhibe partículas en forma de barra con longitudes de hasta aproximadamente 50 µm, que puede afectar negativamente al flujo y las propiedades de procesamiento de esta forma, como se describe en el Ejemplo 12.

El espectro FT-Raman de la Forma II se muestra en la FIG. 5, y exhibe picos (desplazamiento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$) en 1668, 1611, 1580, 1564, 1537, 1506, 1493, 1454, 1436, 1416, 1401, 1349, 1321, 1287, 1272, 1252, 1244, 1183, 1165, 1097, 1039, 1025, 996, 950, 871, 853, 776, 730, 645, 633, 375, 352, 279, y 247.

5 El espectro IR de la Forma II (muestra PP502-P21) mostró picos característicos en 3212, 2206, 1665, 1618, 1577, 1548, 1535, 1504, 1465, 1452, 1432, 1416, 1397, 1348, 1316, 1243, 1208, 1181, 1164, 1149, 1095, 1038, 1004, 948, 891, 869, 821, 776, 736, 716, 643 y 617 (frecuencia IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

10 La preparación de TG-FTIR de las muestras de la Forma II consistió en exponer dos muestras (PP502-P14 y PP502-P21) a 60 % HR durante aproximadamente tres días, momento en el que ambas contenían cantidades idénticas de agua. El análisis TG-FTIR de las muestras de la Forma II reveló una pérdida de masa de aproximadamente 10,2 % al calentar a aproximadamente 130 °C. Esta disminución es esencialmente atribuible a la liberación de agua y concuerda bien con el contenido teórico de agua para un trihidrato de 10,4 %. La pérdida de masa de aproximadamente 0,3 % después de calentar después a aproximadamente 250 °C se debió principalmente a la descomposición.

15 Se realizó un análisis DSC representativo de una muestra de Forma II. La muestra se estabilizó en equilibrio bajo aproximadamente 62 % HR antes del análisis usando tasas de rampa de temperatura de 10 °C/minuto o 20 °C/minuto hasta aproximadamente 150 °C. La fusión comienza a aproximadamente 75 °C y se observa un pico cerca de aproximadamente 109 °C con una entalpía de fusión de aproximadamente 127 J/g. El termograma de DSC muestra un ligero hombro en el lado izquierdo del pico que sugiere que parte del agua de hidrato podría haberse liberado de la muestra al volumen residual de la bandeja de muestra herméticamente sellada.

20 El análisis de DVS de la Forma II (muestra PP502-P14) se realizó exponiendo las muestras a 50 % HR inicial, disminuyendo humedad a 0 % HR, aumentando humedad a 95 % HR, y finalmente disminuyendo la humedad a 50 % HR inicial. Los resultados de DVS, incluyendo curvas de adsorción y desorción, muestran que se produce una pérdida significativa de agua por debajo de 10 % HR, cuando el contenido de agua de trihidrato disminuye rápidamente de aproximadamente 10 % a aproximadamente 0 %. Este resultado es consistente con la pérdida de masa en el análisis de TGA. Al aumentar HR a 95 %, el agua fue reabsorbida para lograr un contenido máximo de agua de aproximadamente 10,4 %, que corresponde al contenido de agua esperado para un trihidrato. También se observó histéresis entre las curvas de adsorción y desorción. La Forma II se comporta así como un hidrato variable. Los resultados de DVS, incluyendo curvas de isoterma de adsorción y desorción, muestran que el aumento de peso total observado entre 0 % HR y 80 % HR es aproximadamente 10 %, lo que indica que la Forma II es higroscópica según la clasificación EP (véase Ejemplo 1.2).

35 Finalmente, la Forma II se ensayó con respecto a las solubilidades en diversas mezclas de agua-disolvente y disolventes no acuosos. La solubilidad acuosa de la Forma II se determinó después de equilibrar a 25 °C durante tres días. Se usó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para determinar la concentración de la Forma II en la solución filtrada a aproximadamente 14 $\mu\text{g/ml}$, que se traduce en una actividad crítica de agua (a_w) de aproximadamente 0,59. En comparación, la solubilidad acuosa para la Forma I es aproximadamente 68 $\mu\text{g/ml}$.

40 La actividad crítica de agua es una medida de la estabilidad termodinámica relativa de la Forma I en comparación con la Forma II de trihidrato. Por debajo de a_w de aproximadamente 0,59, la Forma I es más estable a temperatura ambiente, mientras que por encima de este valor, la Forma II es más estable. Esto indica que en mezclas de disolventes con bajo contenido de agua, que son preferibles para la cristalización de Fórmula (1), la Forma I es la forma más estable. 45 Experimentos de equilibrio de suspensión en mezclas de etanol-agua, teniendo cada uno una actividad de agua diferente, afirmaron esta conclusión. Las actividades de agua incluidas en los experimentos se mantuvieron en: aproximadamente 0,35 (relación etanol-agua de 95:5, PP502-P32), aproximadamente 0,53 (relación etanol-agua de 9:1, PP502-P33) y aproximadamente 0,77 (relación etanol-agua de 7:3, PP502-P34). En a_w de aproximadamente 0,53, los experimentos de suspensión que tienen mezclas de la Forma I y la Forma II dieron como resultado la Forma I pura y a_w de aproximadamente 0,77, el resultado fue Forma II pura.

Ejemplo 3. Forma III de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida (base libre) - Ejemplo de referencia

55 Ejemplo 3.1. Preparación de dihidrato cristalino de Forma III - Ejemplo de referencia

La Forma III de la base libre de Fórmula (1) se preparó a partir de experimentos de cristalización de siembra usando semillas de Forma I. Las soluciones saturadas de Fórmula (1) se prepararon a 60 °C. Las soluciones se enfriaron y se agregaron semillas de la Forma I antes de que ocurriera la cristalización espontánea. Los resultados se resumen en la Tabla 4.

60

TABLA 4. Resultados de experimentos de cristalización de siembra para (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida.

Muestra	Disolvente	Tipo	Aspecto	PXRD	DSC	TGA
86	metanol - agua 1:1	Siembra	Sólido	Forma III	147 °C (-23,7 J/g) 215 °C (141 J/g)	-4,8 % (40-130 °C)
87	etanol - agua 1:3	Siembra	Sólido	Forma III	-	-
88	2-propanol - agua 1:3	Siembra	Sólido	Forma III	-	-
89	N,N-dimetilacetamida - agua 1:2	Siembra	Sólido	Débilmente cristalino	-	-
90	Acetona - heptano 1:1	Siembra	Sólido	Forma I	-	-
91	2-butanona - heptano 1:1	Siembra	Gel	-	-	-
92	ciclohexanona - heptano 1:1	Siembra	Sólido	Forma I	-	-
93	dimetil sulfóxido - agua 1:3	Siembra	Sólido	Débilmente cristalino	-	-
94	metil <i>tert</i> -butil éter	Siembra	Sólido	Amorfo	-	-
95	tetrahidrofurano - agua 1:6	Siembra	Sólido	Forma III	-	-
96	diisopropil éter	Siembra	Sólido	Amorfo	-	-
97	2-metiltetrahidrofurano	Siembra	Sólido	Débilmente cristalino	-	-
98	ciclopentil metil éter	Siembra	Sólido	Débilmente cristalino	-	-
99	clorobenceno	Siembra	Sólido	Débilmente cristalino	-	-
100	diclorometano - agua 1:3	Siembra	Gel	-	-	-

5 La forma III se puede preparar por cristalización de la base libre amorfa de Fórmula (1) en agua pura. Por ejemplo, la muestra PP502-P120 fue el resultado de una suspensión de base libre amorfa de Fórmula (1) (muestra PP502-P107A) en agua. Después de un día, se encontró la Forma III en la suspensión, y después de un período de agitación prolongado de tres días, la Forma III aún se conservaba. Sin embargo, dado que la Forma II también se puede obtener en otros experimentos en condiciones similares, se desarrollaron procedimientos adicionales para preparar la Forma III.

10 La Forma III también se puede preparar a partir de la Fórmula (1) amorfa suspendida en agua. A aproximadamente 160 mg de Fórmula amorfa (1), se añaden 5,0 ml de agua y la suspensión resultante se agita a temperatura ambiente. La investigación del sólido después de aproximadamente 24 horas de equilibrio a temperatura ambiente condujo a la cristalización de la Forma III.

15 La Forma III también se puede preparar por precipitación directa mediante ajuste de pH. Se disuelven 940 mg de Forma I de Fórmula (1) en 4,0 ml de solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La solución se neutralizó con la misma cantidad de solución acuosa 1 N de hidróxido de sodio. Una dilución adicional con 8,0 ml de agua conduce a una suspensión espesa de la cual el sólido se separa por filtración. La botella de vidrio se enjuaga con 16 ml de agua y el líquido de lavado se vierte sobre el filtro de frita de vidrio y se tira a través de la unidad de filtración mediante la aplicación de vacío. El material sólido obtenido se seca en un secador de aire a 40 °C durante aproximadamente 24 horas. La difracción de rayos X en polvo confirma que se obtiene la Forma III de Fórmula (1) y la termogravimetría junto con la espectroscopía infrarroja muestran que la muestra contiene aproximadamente 6 % de agua, lo que sugiere que el material estaba ligeramente seco. El contenido de agua encontrado todavía es consistente con el resultado de las pruebas de DVS ya que este contenido de agua se encuentra cerca de 40 % HR.

Ejemplo 3.2. Caracterización física del dihidrato cristalino de Forma III - Ejemplo de referencia

30 Los estudios iniciales de caracterización de TGA y DSC de la Forma III de la base libre de Fórmula (1) se realizaron usando un sistema Mettler Toledo TGA/DSC1 STARe con un muestreador automático de 34 posiciones. Las muestras se prepararon usando crisoles de aluminio (40 µl; perforados). Típicamente, se cargaron 5 - 10 mg de muestra en un crisol de aluminio previamente pesado y se mantuvieron a 30 °C durante 5 minutos, después de lo cual se calentaron a 10 °C/min de 30 °C a 300 °C. Se mantuvo una purga de nitrógeno de 40 ml/min sobre la muestra. Como verificación de idoneidad del sistema, se usan indio y cinc como referencias. El software utilizado para la recogida y evaluación de datos es Software STARe v10.00 versión 2480. No se aplican correcciones al termograma. Se realizó una caracterización DSC adicional de la Forma III como se describe en los Ejemplos 1 y 2, utilizando una velocidad de calentamiento de 20 °C/min y una configuración de bandeja abierta.

El patrón PXRD de transmisión de la Forma III se muestra en la FIG. 6 (muestra PP502-P120). Los siguientes picos se identificaron en el patrón PXRD de la FIG. 6: 10,4, 12,6, 12,8, 17,9, 21,3, 21,7, 23,1, 24,2, 25,2 y 27,0 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. La Forma III muestra picos distintivos (en relación con las otras formas) en 7,6, 8,5, 12,6, 12,8, 14,6, 16,8 y 23,2 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. La naturaleza débil del patrón PXRD indica que la Forma III es poco cristalina. Una imagen obtenida por microscopía óptica de la Forma III mostró la presencia de algún material cristalino con un hábito irregular.

El espectro Raman de la Forma III se obtuvo de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I, se muestra en la FIG. 7, y exhibe picos (desplazamiento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$) en 1668, 1609, 1562, 1535, 1494, 1450, 1350, 1324, 1306, 1264, 1245, 1190, 997, y 272.

El espectro IR de la Forma III se obtuvo utilizando el mismo método descrito en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. El espectro IR de la Forma III (muestra PP502-P120) exhibe picos característicos en 3446, 2248, 1667, 1592, 1531, 1504, 1428, 1349, 1305, 1243, 1189, 1158, 1089, 1001, 896, 862, 829, 780, 759, 736, y 699 ($\text{Frecuencia IR, cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Un termograma de DSC de la Forma III mostró eventos a 147 $^{\circ}\text{C}$ (-23,7 J/g) y 215 $^{\circ}\text{C}$ (141 J/g) asignados a la pérdida de disolvente y fusión, respectivamente. Usando una portamuestras abierto y una velocidad de calentamiento de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$, se obtuvo un termograma de DSC que exhibía una endoterma a 128,6 $^{\circ}\text{C}$. Por TGA, se observó que la Forma III perdió 4,8 % de masa en el intervalo de temperatura de 40-130 $^{\circ}\text{C}$. Experimentos de TGA adicionales confirmaron que se observó que la Forma III perdía 6,9 % de masa en el intervalo de temperatura de aproximadamente 25-200 $^{\circ}\text{C}$.

Se encontraron cambios muy leves en el patrón de PXRD de la Forma III cuando una muestra de la Forma III se sometió a secado al vacío a 40 $^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 20 horas. Los cambios fueron menores y el patrón aún era característico de la Forma III. Sin embargo, al secar entre 90 y 100 $^{\circ}\text{C}$ en un secador de aire, se observó un cambio de pico sustancial en el patrón PXRD.

Como se sabía que la Forma III es un hidrato metaestable, el análisis de DVS de la Forma III (muestra PP502-P120) se programó para comenzar con aumento de humedad relativa en lugar de disminución de humedad relativa. El experimento comenzó a 50 % HR, que se incrementó a 95 % HR, disminuyó a 0 % HR y finalmente aumentó de nuevo a 50 % HR inicial. DVS resultante muestra un contenido máximo de agua de aproximadamente 8,5 % a 95 % HR y casi toda el agua se retira a 0 % HR. Los resultados de DVS, incluyendo curvas de isoterma de adsorción y desorción, muestran que el aumento de peso total observado entre 0 % HR y 80 % HR es aproximadamente 8 %, lo que indica que la Forma III es higroscópica según la clasificación EP (véase Ejemplo 1.2). Se observa poca histéresis entre las curvas de adsorción y desorción. Los resultados de DVS, combinados con datos de PXRD tomados antes y después de los experimentos de DVS, indican que la Forma III es un hidrato de canal no estequiométrico, en lugar de un dihidrato, porque el contenido de agua puede variar continuamente en todo el intervalo de humedad relativa. Como la Forma II, la Forma III también se comporta como un hidrato variable.

Ejemplo 4. Formas preparadas a partir de la Forma II (Formas IV-VIII de la base libre de Fórmula (1)) - Ejemplo de referencia

Además de la Forma II, que es un trihidrato con un contenido de agua típico de aproximadamente 10 %, también se investigaron varios otros derivados de la Forma II. Por ejemplo, cuando la Forma II se deshidrata por debajo de aproximadamente 20 % de humedad relativa (HR), se obtiene otra forma no solvatada. Esta forma se denomina Forma IV. La caracterización de la Forma IV se llevó a cabo utilizando diversas técnicas, incluyendo PXRD y DSC, que se realizaron como se describió anteriormente para la caracterización de las Formas I y II.

Para evaluar el estado de la Forma II deshidratada, se colocó una muestra del trihidrato (Forma II) en un soporte de muestra de PXRD de 1,0 mm y se mantuvo bajo nitrógeno seco durante la noche. Después de 24 horas, el portamuestras se cubrió con una cubierta de poli(metacrilato de metilo) (PMMA) para mantener la muestra bajo nitrógeno, y se registró un patrón PXRD. FIG. 8 representa el patrón PXRD para la Forma IV. Los siguientes picos se identificaron en el patrón PXRD de la FIG. 8: 7,0, 8,5, 9,6, 10,3, 11,5, 11,9, 14,3, 14,9, 16,1, 17,0, 18,2, 19,3, 20,2, 20,6, 21,1, 21,6, 22,1, 22,8, 23,1, 24,0, 25,4, 26,9, 27,6, 28,4, 28,7, 29,3, 30,4, 31,8, 32,5, 33,5, 33,9, y 34,9 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

Debido a que los resultados de DVS de la Forma II indican un comportamiento reversible de adsorción-desorción de humedad (véase anteriormente), se realizaron ensayos para confirmar que el almacenamiento de la muestra de la Forma II deshidratada (es decir, Forma IV) a aproximadamente 60 % HR conduciría nuevamente a la forma de trihidrato (Forma II). El nuevo examen por PXRD confirma que la Forma IV deshidratada vuelve a la Forma II después de almacenamiento a 60 % HR durante tres días.

El análisis de DSC de la Forma IV se realizó después de que la muestra se equilibrara bajo nitrógeno seco durante aproximadamente 60 horas. La muestra deshidratada se expuso a velocidades de rampa de temperatura de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ o 20 $^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ hasta aproximadamente 240 $^{\circ}\text{C}$. El termograma de DSC ilustra un pico de fusión a aproximadamente 159 $^{\circ}\text{C}$ con una entalpía de fusión de aproximadamente 57 J/g. La descomposición térmica comienza inmediatamente después de la fusión.

Se obtuvo otra forma deshidratada cuando la Forma II se secó a 100 °C al vacío durante 2 horas. Esta forma se denomina Forma V. Del análisis de DVS de la Forma II (véase anteriormente), se sabe que la Forma II pierde agua cuando se mantiene bajo nitrógeno seco. La Forma V se identificó mientras se estudiaba el comportamiento de la Forma II después de la exposición a temperaturas elevadas. La caracterización de la Forma V se llevó a cabo utilizando diversas técnicas, que incluyen: PXRD (Figura 9); TG-FTIR; DSC; y espectroscopía Raman. La Forma V muestra un patrón PXRD distinto y un nuevo espectro Raman, que se realizaron como se describió anteriormente para la caracterización de las Formas I y II. La espectroscopía de RMN ¹H confirmó la integridad química del compuesto.

FIG. 9 muestra el patrón PXRD para la Forma V, y específicamente, la muestra PP502-P44. Los siguientes picos se identificaron en el patrón PXRD de la FIG. 9: 4,5, 5,5, 5,9, 8,1, 10,6, 11,1, 11,9, 13,2, 17,9, 19,2, 19,9, 20,4, 21,3, 21,8, 22,6, 23,9, 24,3, 24,7, 25,0, 26,0, 26,3, 27,6, 28,6, y 30,0 °2θ ± 0,2 °2θ. Las comparaciones entre el patrón PXRD para la Forma II y el patrón PXRD para la Forma V muestran picos superpuestos en 11,0, 19,3, 22,0, 22,5, 22,7, 23,9, 24,2, 24,6, 25,0, 26,1, 27,5 °2θ ± 0,2 °2θ para la Forma II y 11,1, 19,2, 21,8, 22,6, 23,9, 24,3, 24,7, 25,0, 26,0, 27,6 °2θ ± 0,2 °2θ para la Forma V con los siguientes picos de la Forma II desapareciendo por completo o disminuyendo en intensidad: 9,9, 11,0, 14,3, 18,1, 18,4, 18,9, 20,2, 22,0, 22,2, 22,5, 22,7, 22,9, 23,9, 24,6, 26,1, 26,6, 28,2 y 32,7 °2θ.

La caracterización termoanalítica de la Forma V se realizó utilizando técnicas analíticas de TG-FTIR y DSC. El termograma TG-FTIR mostró que la muestra pierde inmediatamente aproximadamente 5 % de su masa de agua al calentarse a una velocidad de 10 °C por minuto a aproximadamente 100 °C a 120 °C. La muestra permanece estable hasta aproximadamente 200 °C, en ese momento se observa un cambio de masa adicional de aproximadamente 17 % debido a la descomposición de la muestra al continuar el calentamiento hasta aproximadamente 340 °C a 350 °C.

DSC de una muestra de Forma V se llevó a cabo en una bandeja de muestra sellada en condiciones ambientales. El termograma de DSC mostró una endoterma muy amplia con un pico a aproximadamente 125 °C. Una parte sustancial de esta señal endotérmica corresponde a la liberación de agua de la muestra en el volumen vacío de la bandeja de muestra herméticamente sellada ya que el termograma de TG-FTIR muestra que la liberación de agua comienza justo por encima de la temperatura ambiente, indicando que es probable que el agua esté unida libremente en la estructura cristalina.

El espectro FT-Raman de la Forma V en la región de huella digital pertinente (200 cm⁻¹ hasta 1800 cm⁻¹) exhibe picos (desplazamiento Raman, cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹) a 1686, 1613, 1574, 1540, 1504, 1488, 1349, 1314, 1288, 1266, 1193, 1153, 1052, 1027, 852, 775, 708, y 378. Las diferencias en los espectros Raman de la Forma V y la Forma II se destacan mediante picos en 1686, 1574, 1488, 1314, 1266, 1193, 1153, 1052 y 708 cm⁻¹ de los espectros de la Forma V, todo lo cual no aparece en el espectro de la Forma II. Además, los picos que aparecen en 1668, 1580, 1564, 1493, 1454, 1436, 1416, 1401, 1321, 1272, 1252, 1244, 1183, 1165, 1097, 1039, 996, 950, 871, 730, 645, 633, 352, 279, y 247 cm⁻¹ del espectro de la Forma II no están presentes en los espectros de la Forma V, indicando la presencia de distintas fases.

La cristalización de la Fórmula (1) en metanol y mezclas de metanol y agua (95:5) condujo a muestras con nuevos patrones de PXRD (muestras P502-P26 y PP502-P16, respectivamente). La Forma VI fue el producto de un experimento de cristalización realizado en una mezcla de metanol-agua (95:5) a 5 °C (muestra PP502-P16). La Forma VI exhibe un patrón PXRD (figura 10) y espectro Raman únicos. La comparación del patrón PXRD para la Forma VI con los de la Forma I y la Forma II muestran que ni la Forma I ni la Forma II están presentes en la muestra PP502-P16. Se identificaron los siguientes picos característicos en el patrón PXRD de la Forma VI: 6,5, 6,8, 8,5, 11,8, 12,6, 13,5, 13,8, 14,8, 15,0, 16,2, 16,4, 16,9, 18,5, 19,4, 19,9, 20,6, 21,6, 22,1, 22,7, 23,6, 24,5, 24,8, 25,3, 26,0, 27,2, 27,8, 28,5, 28,9, 30,2, y 34,3 °2θ ± 0,2 °2θ. Los picos característicos de Raman para la Forma VI se observan en 1667, 1609, 1580, 1562, 1535, 1495, 1450, 1350, 1323, 1306, 1264, 1245, 1190, 1161, 1042, 997, 838, 762, 717, 630, y 272 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

La Forma VII se obtuvo del experimento de cristalización realizado en metanol puro donde la muestra sólida obtenida PP502-P26 precipitó cuando se almacenó a 4 °C. La Forma VII exhibe un patrón PXRD (figura 11) y espectro Raman únicos. La comparación del patrón PXRD para la Forma VII con los de la Forma I y la Forma II muestran que ni la Forma I ni la Forma II están presentes en la muestra PP502-P26. Se identificaron los siguientes picos característicos en el patrón PXRD de la Forma VII: 5,9, 6,5, 6,9, 7,8, 8,5, 9,6, 9,9, 10,4, 13,4, 13,9, 15,0, 16,5, 16,9, 17,7, 18,5, 19,0, 19,9, 20,8, 21,6, 22,4, 23,7, 23,9, 24,8, 25,2, 27,5, 28,3, y 30,0 °2θ ± 0,2 °2θ. Los picos característicos de Raman para la Forma VII se observan en 1687, 1663, 1604, 1578, 1561, 1534, 1486, 1462, 1443, 1397, 1361, 1348, 1327, 1305, 1251, 1234, 1184, 1163, 1037, 1001, 835, 774, 757, 717, 653, 606, 422, 348, y 268 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

La espectroscopía de RMN ¹H muestra que tanto la Forma VI como la VII contienen aproximadamente 0,7 equivalentes de metanol, y según TG-FTIR, ambas formas también contienen cantidades sustanciales de agua. Es probable que las Formas VI y VII sean solvatos de metanol metaestables o hidratos de solvatos mixtos (es decir, metanolato-hidrato). Experimentos de equilibrio de suspensión realizados a 5 °C en metanol con una mezcla de Formas I, VI y VII muestran que la Forma I pura se recuperó después de cinco días, sugiriendo que incluso en metanol puro, es probable que la Forma I sea más estable que la Forma VI o la Forma VII.

La Forma VIII (muestra PP502-P23) es un supuesto solvato de ácido acético. El patrón PXRD de la Forma VIII se muestra en la FIG. 12. Se identificaron los siguientes picos en el patrón PXRD de la Forma VIII: 4,3, 6,2, 6,6, 8,6, 11,8, 12,0, 12,4, 15,6, 17,2, 18,0, 18,6, 19,4, 20,0, 20,9, 22,1, 22,7, 23,7, 25,1, 26,0, 26,4 y 27,5 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. Los picos característicos de Raman para la Forma VIII se observan en 1681, 1580, 1529, 1497, 1456, 1437, 1349, 1313, 1302, 1268, 1243, 1193, 1157, 1047, 1025, 1006, 951, 896, 851, 775, y 264 $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

Una visión general de las formas se presenta en la Tabla 5.

TABLA 5. Descripción general de las formas cristalinas de la base libre de Fórmula (1).

Forma	Descripción	Estabilidad a temperatura ambiente	Comentarios
Forma I	anhidra, no solvatada	estable en relación con la Forma II por debajo de $a_w = 0,6$	La estabilidad para a_w inferior permite el aislamiento de la Forma I de disolventes orgánicos
Forma II	trihidrato	estable en relación con la Forma I por encima de $a_w = 0,6$	Hidrato variable; contiene hasta aproximadamente 10 % de agua a niveles variables
Forma III	dihidrato	metaestable	Hidrato variable de mayor energía; contiene hasta aproximadamente 8 % de agua a niveles variables
Forma IV	anhidra, no solvatada	metaestable	Forma II deshidratada por baja humedad
Forma V	anhidra, no solvatada	metaestable	Forma II deshidratada por calor
Forma VI	solvato de metanol	metaestable	Solvato orgánico
Forma VII	solvato de metanol	metaestable	Solvato orgánico
Forma VIII	disolvato de ácido acético	metaestable	Solvato orgánico

Ejemplo 5. Preparación y caracterización de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida amorfa - Ejemplo de referencia

Se puede preparar (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida amorfa por varios métodos, incluyendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 6 de la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º US 2014/0155385 A1 y la Publicación de Solicitud de Patente Internacional n.º WO 2013/010868 A1, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia. La evaporación rápida del disolvente de una solución en diclorometano o en una mezcla de diclorometano con un codisolvente, por ejemplo, acetona o un alcohol, se puede usar para preparar la forma amorfa. Además, la forma amorfa se puede producir por liofilización de una solución acuosa que contiene una pequeña cantidad de un ácido, por ejemplo, ácido fórmico o ácido acético, para solubilizar la Forma I de base libre.

Se puede preparar (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida amorfa agregando 3,0 ml de agua a 200 mg de la Forma cristalina I. Luego se agrega ácido fórmico gota a gota hasta que se completa la disolución del sólido. Aproximadamente 50 microlitros de ácido fórmico son típicamente suficientes para lograr la disolución completa de la Forma I. La solución transparente se filtra en un matraz redondo de 100 ml a través de un filtro de politetrafluoroetileno (PTFE) de microporos de 0,22 μm (por ejemplo, usando una jeringa) y la solución en el matraz redondo se liofiliza. El producto resultante (muestra PP502-P107) es la forma amorfa. La caracterización del producto después de liofilización por difracción de rayos X en polvo revela que se obtiene la forma amorfa. El patrón PXRD resultante se muestra en la FIG. 13. No se observan reflexiones de Bragg, y el patrón PXRD se caracteriza por una dispersión difusa típica de un material amorfo.

El espectro Raman de una muestra preparada de manera similar de Fórmula (1) amorfa (muestra PP502-P118) se muestra en la FIG. 14. El espectro es distinto del espectro de otras formas cristalinas de Fórmula (1). Los picos característicos de Raman se observan en 1674, 1608, 1577, 1537, 1492, 1449, 1348, 1307, 1238, 1188 y 992 $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

El espectro IR de una muestra preparada de manera similar de Fórmula (1) amorfa (número de muestra P502-P148) obtenida con muestreo ATR muestra un espectro distinto del espectro de otras formas cristalinas de Fórmula (1). Los picos característicos de IR se observan a 1668, 1605, 1505, 1428, 1302, 1237, 1200, 1153, 1091, 997, 944, 894, 863, 776 y 735 $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

La caracterización adicional del producto después de la liofilización por TG-FTIR reveló que está presente una pequeña cantidad de ácido fórmico. Por tanto, la muestra amorfa obtenida se secó adicionalmente al vacío a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 20 horas y se volvió a analizar con TG-FTIR y DSC (muestra PP502-P107A). TG-FTIR de

la muestra seca mostró que solo estaba presente muy poca agua y disolvente residual. DSC de la forma amorfa esencialmente libre de disolventes muestra una temperatura de transición vítrea a aproximadamente 130 °C con un ΔC_p de aproximadamente 0,3 J/(g·K). Un cambio menor de la capacidad calorífica a aproximadamente 120 °C podría deberse a otra fracción de material amorfo que podría contener trazas de disolventes, mostrando así una temperatura reducida de transición vítrea. La degradación térmica comienza por encima de aproximadamente 160 °C.

Los resultados de DVS para una muestra preparada de manera similar de Fórmula (1) amorfa (muestra P502-P148), incluyendo curvas de adsorción y desorción, se realizaron exponiendo las muestras a 50 % HR inicial, disminuyendo humedad a 0 % HR, aumentando humedad a 95 % HR, y finalmente disminuyendo la humedad a 50 % HR inicial. Los resultados de DVS, incluyendo curvas de adsorción y desorción, muestran que se produce una ganancia significativa de agua durante la adsorción a partir de aproximadamente 20 % HR. La ganancia de agua total observada entre 0 % HR y 80 % HR es aproximadamente 6 % en peso, lo que indica que la Forma II es higroscópica según la clasificación EP (véase Ejemplo 1.2). Además, la masa total obtenida hasta 95 % HR es aproximadamente 13 %, y la masa se obtiene irreversiblemente después de la adsorción (con la disminución final a 50 % HR solo se elimina 5 % del 10 % de humedad obtenida en el intervalo de 50 a 95 % HR). Los resultados ilustran la naturaleza higroscópica de la forma amorfa, incluida la captación irreversible de una gran cantidad de agua tras la exposición a una HR alta.

Ejemplo 6. Sales cristalinas de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida - Ejemplo de referencia

Un análisis sistemático de sal con base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida (muestra PP502-P1, preparada como se describió anteriormente) comprendió experimentos de cristalización con 11 ácidos diferentes, incluyendo: ácido benzoico, ácido bencenosulfónico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido nicotínico, ácido fosfórico, sacarina, ácido succínico, y ácido L-tartárico. De estos, se obtuvieron muestras cristalinas con ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido succínico y ácido L-tartárico.

En la Tabla 6 se proporciona un resumen de los materiales de partida para las preparaciones de sal. Cada producto preparado recibió un identificador de muestra de la siguiente manera: SP221-XXX-Pn (XXX = código de identificación de sal y n = número de experimento/muestra).

TABLA 6. Resumen de los materiales de partida para la preparación de sal.

Compuesto	pK _a	m [g/mol]	Fuente/Número	Designación de muestra
Base libre	~5,7	465,5	Fórmula (1)/CML1476, Lote CS13-083 HB873-98	PP502-P1
Ácido fumárico	3,0 (4,4)	116,07	Sigma n.º 240745	SP221-FUM-Pn
Ácido maleico	1,9 (6,2)	116,1	Fluka n.º 63180	SP221-MLE-Pn
Ácido fosfórico	2,0 (7,1)	98,0	Fluka n.º 79606	SP221-PO4-Pn
Ácido L-tartárico	3,0 (4,4)	150,09	Fluka n.º 95310	SP221-LTA-Pn

Caracterización de sal de fumarato, sal de maleato, sal de fosfato y sal de L-tartrato se realizaron usando espectroscopía de RMN ¹H, TG-FTIR, DSC, adsorción dinámica de vapor, microscopía óptica, pureza de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), difracción láser, densidad aproximada aparente y batida, y técnicas analíticas de solubilidad acuosa.

Una vez que se obtuvieron los cristales de siembra, se demostró que la formación de sales cristalinas es reproducible, con las diversas sales mostrando una buena tendencia a la cristalización. Un resumen de las propiedades de la sal se detalla en la Tabla 7.

TABLA 7. Resumen de las propiedades de la sal de Fórmula (1) en comparación con la base libre.

Sal	Solubilidad (3 horas)	P. de fusión/Estabilidad térmica (P. de descomposición)	Comportamiento en DVS	Evaluación de forma sólida
Base libre	S < 1 mg/ml	215 °C, (Forma I)	La Forma I no es higroscópica; punto de fusión mayor	Forma I de anhidrato y Forma II de trihidrato
Fumarato	~ 1,8 mg/ml	~ 170 °C/170 °C	Formación reversible anhidrato-hidrato, Δm ~ 0,8 % (20-80 % HR)	Sesquihidrato, posiblemente múltiples formas
Maleato	2,2 mg/ml	~ 161 °C/170 °C	Agua unida más fuertemente que en el fumarato, Δm ~ 0,7 % (20-80 % HR)	Posiblemente sesquihidrato, formas múltiples

(continuación)

Sal	Solubilidad (3 horas)	P. de fusión/Estabilidad térmica (P. de descomposición)	Comportamiento en DVS	Evaluación de forma sólida
Fosfato	9,8 mg/ml	~ 157 °C/180 °C	Formación reversible anhidrato-hidrato, $\Delta m \sim 0,7 \%$ (20-80 % HR)	Al menos dos formas, anhidrato e hidrato
L-tartrato	5,3 mg/ml	~ 158 °C/165 °C	No se deshidrata por completo a 0 % HR, $\Delta m \sim 0,7 \%$ (20-80 % HR)	Posiblemente sesquihidrato, posiblemente múltiples formas

Debido a que la solubilidad se midió después de un tiempo de equilibrio de solo tres horas y sin ajuste de pH, la solubilidad de todas las sales aumenta dramáticamente en comparación con la base libre. Mientras que la base libre es un fármaco poco soluble en agua, las sales fueron muy solubles en agua.

5 Todas las sales descritas anteriormente parecen formar hidratos. Los experimentos de ensayo preliminares consistieron en uno o tres experimentos de equilibrio de suspensión para cada sal. Los resultados muestran que las cuatro sales pueden existir en múltiples formas sólidas, incluyendo formas polimórficas.

10 Ejemplo 6.1. Forma A de la sal de fumarato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

La Forma cristalina A de la sal de fumarato de Fórmula (1) se preparó disolviendo 16,294 g de base libre PP502-P1 y 4,065 g de ácido fumárico en 500 ml de acetona. La mezcla se calentó posteriormente a 50 °C, mediante lo que se añadieron 50 ml de agua. La adición de agua condujo a una solución transparente en cuyo momento, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente mientras se agitaba a aproximadamente 300 rpm. A temperatura ambiente, la solución transparente se sembró con aproximadamente 20 mg de SP221-FUM-P5 y después de aproximadamente 48 horas, la suspensión se filtró para obtener un sólido que se secó al aire a 40 °C durante aproximadamente 24 horas. La caracterización inicial del sólido obtenido dio como resultado un rendimiento de aproximadamente 13,6 gramos (aproximadamente 64 %) con aproximadamente 99,9 % de pureza, medido por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

La Forma A de la sal de fumarato se caracterizó por espectroscopía de RMN ¹H; microscopía óptica, difracción láser Fraunhofer, PXRD de reflexión (FIG. 15), TG-FTIR, DSC, y adsorción de vapor dinámica (DVS).

25 La identidad química de la sal de fumarato fue confirmada por espectroscopía de RMN ¹H. El espectro de RMN ¹H de la sal de fumarato (muestra SP221-FUM-P9) registrado en disolvente de acetona es consistente con una sal de fumarato 1:1. Un pico cercano a 2,1 ppm indicó un rastro de acetona como disolvente residual que todavía está presente después del secado.

30 La sal de fumarato se obtuvo como partículas pequeñas. Como la sal obtenida era gruesa, el material seco se tamizó a través de un tamiz de 500 µm antes de la caracterización adicional. El examen por microscopía óptica de luz polarizada se realizó dispersando el compuesto en heptano y luego sonicando durante un período corto de tiempo suficiente para dispersar los cristales. La microscopía óptica reveló partículas cristalinas muy pequeñas que, después de tamizado y dispersión, todavía están en gran parte aglomeradas.

35 La prueba de distribución del tamaño de partícula se realizó utilizando difracción láser Fraunhofer con valores para el tamaño máximo de partícula para un volumen porcentual dado de la muestra que se muestra en la Tabla 8 a continuación. Por ejemplo, la dimensión del tamaño a x50 (42 µm) representa el diámetro máximo de partícula por debajo del cual existe 50 % del volumen de la muestra. Este parámetro también se conoce como tamaño medio de partícula en volumen.

40 TABLA 8. Resultados de distribución del tamaño de partícula para la sal de fumarato.

Muestra	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-FUM-P9a	3,6 µm	42 µm	329 µm

45 Al monitorizar estos tres parámetros (x10, x50, x90), es posible determinar si hay cambios significativos en el tamaño de partícula principal, así como cambios en los extremos de la distribución, posiblemente debido a la presencia de finos o partículas de gran tamaño o aglomerados en la distribución del tamaño de partícula. Los resultados son consistentes con microscopía óptica, mostrando una función de distribución de tamaño de partícula donde está presente una proporción significativa de aglomerados.

50 Las técnicas de dispersión de luz estática, tal como difracción láser, dan una distribución ponderada de volumen en donde la contribución de cada partícula en la distribución se relaciona con el volumen de esa partícula (equivalente a

la masa si la densidad es uniforme). Esto es extremadamente útil ya que la distribución representa la composición de la muestra en términos de su volumen/masa.

5 PXR, junto con microscopía óptica, confirmó la naturaleza cristalina de la sal. El patrón PXR de reflexión de la muestra de sal de fumarato SP221-FUM-P9 se representa en la FIG. 15 y muestra los siguientes picos representativos en: 4,9, 5,4, 7,0, 9,8, 10,8, 11,5, 12,1, 14,1, 16,1, 16,6, 17,8, 18,5, 19,4, 20,3, 20,5, 21,8, 22,1, 22,5, 23,1, 24,0, 24,8, 26,6, 26,8, 27,3, y $28,2 \pm 0,2^\circ 2\theta$.

10 La caracterización termoanalítica de la forma A de la sal de fumarato se llevó a cabo usando TG-FTIR (muestra SP221-FUM-P9) y DSC (muestra SP221-FUM-P9a). El análisis de TG-FTIR de una muestra cristalina representativa de fumarato de Fórmula (1) reveló una pérdida de masa de aproximadamente 4,5 %; Esto es esencialmente atribuible a la pérdida de agua. La cantidad de agua atribuida a la pérdida de masa coincide estrechamente con el contenido teórico de agua de un sesquihidrato en 4,6 %. La pérdida de masa de aproximadamente 12,75 % después de calentar después a aproximadamente 300 °C se debió principalmente a la descomposición. DSC de la misma muestra muestra un pico endotérmico cercano a 162 °C que se desvía de la línea de base por encima de aproximadamente 120 °C y aumenta lentamente. Sin embargo, debido a una degradación exotérmica que comienza alrededor de 170 °C, la entalpía de fusión no puede evaluarse de manera fiable.

20 El comportamiento higroscópico de la sal de fumarato (muestra SP221-FUM-P9a) se midió utilizando adsorción de vapor dinámica. Los resultados de adsorción y desorción de DVS indican que la sal pierde casi todo el contenido de agua en condiciones de baja humedad mientras alcanza una saturación máxima de aproximadamente 6 % a HR de aproximadamente 95 %. El cambio en el contenido de agua entre 20 % y 80 % de humedad relativa es aproximadamente 0,8 %. Similar a las isotermas de adsorción-desorción de humedad descritas anteriormente, las muestras se expusieron a 50 % HR inicial, disminuyendo humedad a 0 % HR, aumentando humedad a 95 % HR, y finalmente disminuyendo la humedad a 50 % HR inicial.

Ejemplo 6.2. Forma A de la sal de maleato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

30 Se preparó sal de maleato de Forma A cristalina (muestra SP221-MLE-P9) disolviendo 16,296 g de base libre PP502-P1 en 350 ml de acetona y 35 ml de mezcla de agua. La mezcla se calentó posteriormente a 50 °C, lo que condujo a una solución clara. Después de eso, se añadieron 20 ml de una solución acuosa que contenía 4,043 g de ácido maleico. Además, el recipiente y la pipeta que contenían la solución acuosa de ácido maleico se lavaron con 1,0 ml de agua y la solución de lavado también se incluyó en la mezcla. La solución se dejó enfriar mientras se agitaba a aproximadamente 300 rpm. A aproximadamente 45 °C, la solución se sembró con aproximadamente 20 mg de SP221-MLE-8 y se enfrió adicionalmente a aproximadamente 20 °C. Después de aproximadamente 24 horas, la suspensión se filtró para obtener un sólido que se secó al aire a 40 °C durante aproximadamente 20 horas. La caracterización inicial del sólido obtenido dio como resultado un rendimiento de aproximadamente 14,1 gramos (aproximadamente 66 %).

40 La sal de maleato se caracterizó por espectroscopía de RMN ¹H, microscopía óptica, difracción láser Fraunhofer, PXR de reflexión (FIG. 16), TG-FTIR, DSC, y DVS.

45 La identidad química de la sal de maleato fue confirmada por espectroscopía de RMN ¹H. El espectro de RMN ¹H de la sal de maleato (muestra SP221-MLE-P9) registrado en disolvente de acetona es consistente con una sal de maleato 1:1. Similar al análisis de RMN ¹H de la sal de fumarato de Fórmula (1), un rastro diminuto (0,7 %) de acetona como disolvente residual también está presente en los espectros.

50 El examen por microscopía óptica polarizada reveló que la sal de maleato consiste en pequeñas partículas cristalinas que varían en tamaño de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 100 µm. La sal de maleato preparada fue sustancialmente más grande que las partículas de la sal de fumarato (discutida anteriormente), la sal de fosfato y la sal de L-tartrato (las dos últimas se analizan a continuación). El polvo fino mostró propiedades de flujo favorables y no fue necesario tamizar después del secado.

55 La prueba de distribución del tamaño de partícula se realizó utilizando difracción láser Fraunhofer con valores para el tamaño máximo de partícula para un volumen porcentual dado de la muestra que se muestran en la Tabla 9 a continuación.

TABLA 9. Resultados de distribución de tamaño de partícula para la sal de maleato.

Muestra	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-MLE-P9	10,7 µm	38 µm	73 µm

60 La función de distribución de tamaño de partícula para la sal de maleato confirmó el análisis de microscopía óptica al ilustrar una distribución del tamaño de partícula que oscila aproximadamente entre 10 µm y 100 µm.

La difracción de rayos X en polvo, junto con las imágenes de microscopía óptica, confirmó la naturaleza cristalina de

la sal. El patrón PXRD de reflexión de la muestra de sal de maleato SP221-MLE-P9 se representa en la FIG. 16 y muestra los siguientes picos representativos en: 5,3, 9,8, 10,6, 11,6, 13,5, 13,8, 13,9, 14,3, 15,3, 15,6, 15,8, 15,9, 16,6, 17,4, 17,5, 18,7, 19,3, 19,6, 19,8, 20,0, 20,9, 21,3, 22,1, 22,3, 22,7, 23,2, 23,4, 23,7, 23,9, 24,5, 24,8, 25,2, 25,6, 26,1, 26,4, 26,7, 26,9, 27,1, 27,6, 28,8, 29,5, 30,0, 30,3, 30,9, 31,5, 31,9, 32,5, 34,0, y $35,1 \text{ } ^\circ 2\theta \pm 0,2 \text{ } ^\circ 2\theta$.

La caracterización termoanalítica de la sal de maleato se llevó a cabo usando TG-FTIR y DSC. El análisis de TG-FTIR de la muestra cristalina representativa de maleato de Fórmula (1) reveló una pérdida de masa de aproximadamente 5,3 %; Esto es esencialmente atribuible a la pérdida de agua. La cantidad de agua atribuida a la pérdida de masa coincide estrechamente con el contenido teórico de agua de los sesquihidratos en 4,6 %. Sin embargo, no se detectó acetona. La pérdida de masa de aproximadamente 10,1 % después de calentar después a aproximadamente 300 °C se debió principalmente a la descomposición. DSC de la misma muestra muestra un pico endotérmico cercano a 174 °C, seguido de descomposición.

El comportamiento higroscópico de la sal de maleato (muestra SP221-MLE-P9) se midió usando adsorción de vapor dinámica. Los resultados de adsorción y desorción de DVS indican que la sal pierde muy poca agua a 0 % HR. La muestra alcanza una saturación máxima de aproximadamente 5,8 % a una HR de aproximadamente 95 %. El cambio en el contenido de agua entre 20 % y 80 % de humedad relativa es aproximadamente 0,5 %. Las muestras se expusieron a 50 % HR inicial, disminuyendo humedad a 0 % HR, aumentando humedad a 95 % HR, y finalmente disminuyendo la humedad a 50 % HR inicial.

Ejemplo 6.3. Forma A de la sal de fosfato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

La preparación de la Forma A de la sal de fosfato de Fórmula (1) se realizó como sigue. En primer lugar, se añadieron 350 ml de acetona y 35 ml de agua a 16,2998 gramos (35 mmol) de base libre de Fórmula (1) PP502-P1. Al calentar a 50 °C, se obtuvo una solución clara. A esta solución se le añadieron lentamente 2,5 ml de ácido fosfórico al 85-90 % (35 mmol). La solución se dejó enfriar mientras se agitaba a aproximadamente 300 rpm. A aproximadamente 38 °C, se observó cristalización sin siembra. Después de aproximadamente 80 horas, la suspensión se filtró y el sólido obtenido se secó al aire a 40 °C durante aproximadamente 24 horas. El rendimiento fue aproximadamente 20,48 gramos (97 %). La sal de fosfato se obtuvo como partículas pequeñas. Después del secado, el material estaba aglomerado y se observaron partículas muy fuertemente aglomeradas. Para obtener un polvo que fluyera libremente para la prueba de densidad batida y el análisis del tamaño de partícula, el material seco se tamizó a través de un tamiz de 500 μm . La muestra después del secado se denominó SP221-PO4-P5 y la muestra después del tamizado se denominó SP221-PO4-P5a.

La caracterización inicial del sólido obtenido dio como resultado una pureza de aproximadamente el 99,9 %, medida por HPLC. Basado en DVS y TG-FTIR, es probable que la forma de sal de fosfato producida sea un dihidrato con un contenido teórico de fósforo de aproximadamente 5,2 %. El contenido de fósforo se examinó mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y se determinó que era aproximadamente 4,7 %, que está ligeramente por debajo del contenido requerido para una sal 1:1.

La sal de fosfato se caracterizó por espectroscopía de RMN ^1H , microscopía óptica, difracción láser Fraunhofer, PXRD de reflexión (FIG. 17), TG-FTIR, DSC, y DVS.

La identidad química de la sal de fosfato (muestra SP221-PO4-P5) fue confirmada por espectroscopía de RMN ^1H como consistente con la estructura de una sal de fosfato cristalina. El examen por microscopía óptica polarizada reveló que la sal de fosfato era un material cristalino que consistía en partículas muy pequeñas, la mayoría de las cuales tenían menos de aproximadamente 10 μm de diámetro. Las partículas tenían claramente forma de aguja en la muestra SP221-PO4-P4.

La prueba de distribución de tamaño de partícula se realizó utilizando difracción láser Fraunhofer con valores para el tamaño máximo de partícula para un volumen porcentual dado de la muestra que se muestran en la Tabla 10 a continuación.

TABLA 10. Resultados de distribución de tamaño de partícula para la sal de fosfato.

Muestra	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-PO4-P5	2,8 μm	29 μm	191 μm

PXRD, junto con el análisis de microscopía óptica, confirmó la naturaleza cristalina de la sal. El patrón PXRD de reflexión de una muestra tomada de un lote de 20 gramos (muestra SP221-PO4-P5) de la sal de fosfato se representa en la FIG. 17 y muestra los siguientes picos representativos en: 4,5, 6,0, 7,2, 10,4, 12,0, 12,5, 13,1, 14,3, 15,5, 17,4, 18,0, 18,3, 18,9, 19,3, 20,2, 20,5, 20,9, 21,4, 21,9, 22,0, 22,6, 22,9, 23,1, 23,3, 24,2, 24,6, 25,0, 25,7, 26,2, 26,4, 26,9, 27,3, 27,5, 29,3, 30,0, 30,3, 30,5, 30,9, 31,2, 31,9, y $35,7 \text{ } ^\circ 2\theta \pm 0,2 \text{ } ^\circ 2\theta$. La sal de fosfato existe en al menos dos formas cristalinas diferentes, una forma anhidra de la estructura cristalina y una forma hidratada de la estructura cristalina, con cada forma exhibiendo patrones únicos de PXRD. Los picos de la Figura 17 corresponden a la forma de hidrato de la sal cristalina de fosfato.

La caracterización termoanalítica de la sal de fosfato se realizó utilizando TG-FTIR y DSC. El análisis TG-FTIR de la sal cristalina de fosfato de Fórmula (1) (muestra SP221-PO4-P1) reveló una pérdida de masa de aproximadamente 5,9 %; Esto es esencialmente atribuible a la pérdida de agua. Este resultado sugiere que la forma cristalina obtenida del fosfato es un dihidrato, ya que el contenido de agua de 5,9 % de la muestra de fosfato está cerca del contenido esperado para un dihidrato (6,0 %). Las pérdidas de masa adicionales al calentarse posteriormente a aproximadamente 250 °C se debieron principalmente a la descomposición. DSC de la misma muestra muestra un pico endotérmico amplio cerca de 138 °C. La entalpía de fusión se estima en aproximadamente 134 J/g.

El comportamiento higroscópico de la sal de fosfato (muestra SP221-PO4-P1) se midió usando DVS. Los resultados de adsorción y desorción de DVS indican que la sal pierde casi todo el contenido de agua en condiciones de baja HR mientras alcanza una saturación máxima de aproximadamente 6,6 % a una HR de aproximadamente 95 %. El análisis de DVS sugiere que la sal de fosfato forma un dihidrato con un contenido de agua de aproximadamente 6,0 %. Las muestras se expusieron a 50 % HR inicial, disminuyendo humedad a 0 % HR, aumentando humedad a 95 % HR, y finalmente disminuyendo la humedad a 50 % HR inicial.

Ejemplo 6.4. Forma A de la sal de L-tartrato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

La Forma A cristalina de la sal de L-tartrato de Fórmula (1) se preparó disolviendo 16,298 g de base libre PP502-P1 en una mezcla de 350 ml de acetona y 35 ml de agua. La mezcla se calentó posteriormente a 50 °C, lo que condujo a una solución clara. Después de eso, se añadieron 20 ml de una solución acuosa que contenía 5,257 g de ácido L-tartárico a la solución transparente. La solución se dejó enfriar a aproximadamente 20 °C mientras se agitaba a aproximadamente 300 rpm. Después de aproximadamente 24 horas, la suspensión se filtró para obtener un sólido que se secó al aire a 40 °C durante aproximadamente 20 horas. La caracterización inicial del sólido obtenido dio como resultado un rendimiento de aproximadamente 20,1 gramos (aproximadamente 89 %) con una pureza de aproximadamente 99,78 %, medida por HPLC.

La sal de L-tartrato se caracterizó por espectroscopía de RMN ¹H, microscopía óptica, difracción láser Fraunhofer, PXRD de reflexión (FIG. 18), TG-FTIR, DSC, y DVS.

La identidad química de la sal de L-tartrato (muestra SP221-LTA-P8) fue confirmada por espectroscopía de RMN ¹H como consistente con la estructura de una sal de L-tartrato cristalino 1:1. La sal de L-tartrato se obtuvo como material cristalino; el examen por microscopía óptica polarizada reveló que el material consiste en agujas finas parcialmente aglomeradas que varían en longitud de aproximadamente 2 a aproximadamente 40 μm y anchuras del orden de unos pocos μm.

La prueba de distribución de tamaño de partícula se realizó utilizando difracción láser Fraunhofer con valores para el tamaño máximo de partícula para un volumen porcentual dado de la muestra que se muestran en la Tabla 11 a continuación.

TABLA 11. Resultados de distribución de tamaño de partícula para la sal de L-tartrato.

Muestra	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-LTA-P8a	1,7 μm	17 μm	59 μm

PXRD, junto con las imágenes de microscopía óptica de la FIG. 18, confirmó la naturaleza cristalina de la sal. El patrón de reflexión PXRD de la muestra de sal de L-tartrato SP221-LTA-P8 se representa en la FIG. 18 y muestra los siguientes picos representativos en: 4,6, 5,5, 7,2, 9,3, 10,7, 10,9, 11,8, 14,3, 14,9, 16,4, 17,0, 17,7, 19,2, 19,4, 19,5, 20,3, 21,6, 22,4, 23,3, 23,8, 24,3, 24,5, 24,7, 25,1, 25,6, 26,8, 27,2, 27,8, 28,4, 28,7, 29,0, 29,5, 30,0, 30,9, 31,6, 32,1, 32,4, 33,0, 33,5, y 33,9 °2θ ± 0,2 °2θ.

La caracterización termoanalítica de la sal de L-tartrato se llevó a cabo usando TG-FTIR y DSC. El análisis de TG-FTIR de la sal cristalina de L-tartrato de Fórmula (1) (muestra SP221-LTA-P8) reveló una pérdida de masa de aproximadamente 4,8 %; Esto es esencialmente atribuible a la pérdida de agua. Esta cantidad de agua está cerca de la cantidad teórica de agua para un sesquihidrato que es 4,3 %. La pérdida de masa adicional de aproximadamente 20 % tras el calentamiento posterior a aproximadamente 300 °C se debió principalmente a la descomposición. DSC de la muestra SP221-LTA-P8a muestra un pico endotérmico cercano a 156,5 °C con una entalpía de fusión de aproximadamente 40,70 J/g.

El comportamiento higroscópico de la sal de L-tartrato (muestra SP221-LTA-P8a) se midió usando adsorción de vapor dinámica. Los resultados de adsorción y desorción de DVS indican que la sal pierde agua en condiciones de baja humedad mientras alcanza una saturación máxima de aproximadamente 5,4 % a una HR de aproximadamente 95 %. Además, a partir de un contenido de agua inicial de aproximadamente 4,8 % a 50 % HR (confirmado por TG-FTIR, que mostró un contenido total de agua de aproximadamente 4,8 %), el análisis de DVS sugiere que aproximadamente 30 % de esta agua se retiró dentro de la escala de tiempo de la medición. El cambio en el contenido de agua entre 20 % y 80 % de humedad relativa es aproximadamente 0,7 %. Las isotermas de adsorción-desorción de humedad se

prepararon de una manera similar a la descrita anteriormente.

Ejemplo 6.5. Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

5 El ácido cítrico tiene la fórmula molecular $C_6H_8O_7$ y una masa molecular de 192,12 g/mol. Los valores de pK_a de los tres grupos ácido carboxílico en ácido cítrico son 2,93, 4,76 y 6,40. La cristalización de la sal de citrato a partir de mezclas de acetona y agua condujo a muestras que contenían cantidades significativas de acetona y algo de agua, mientras que la cristalización en 1-propanol condujo a una muestra que contenía una gran cantidad de 1-propanol, indicando que ambas fases pueden ser solvatos.

10 La muestra SP221-CIT-P4 se preparó como sigue: se disolvieron 941 mg de base libre de Fórmula (1) (PP502-P1) y 384,5 mg de ácido cítrico en 22 ml de acetona-agua (10:1) calentando la mezcla a 50 °C. Al enfriar a temperatura ambiente, se formó una suspensión diluida que se agitó en un vial abierto para dejar que se evaporara algo de disolvente. Se añadió más acetona, que condujo a una suspensión más espesa y que se filtró después de agitar a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora. Se obtuvieron aproximadamente 436 mg de un producto sólido blanco después de secar al aire a temperatura ambiente. El producto del experimento SP221-CIT-P4 se secó adicionalmente en aire a 40 °C durante 24 horas para proporcionar la muestra SP221-CIT-P4A. Los lotes producidos por los procedimientos utilizados para SP221-CIT-P4 y SP221-CIT-P4A pueden exponerse adicionalmente a humedad controlada para intercambiar acetona por agua.

20 La muestra SP221-CIT-P6 se preparó como sigue: se disolvieron 466 mg de base libre de Fórmula (1) (PP502-P1) y 96,4 mg de ácido cítrico en 10 ml de 1-propanol 10:1 calentando la mezcla a 70 °C. A 50 °C, la mezcla se sembró con SP221-CIT-P4 y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se formó una suspensión a partir de la cual se filtró el producto sólido después de agitar a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora. Se obtuvieron aproximadamente 660 mg de un producto sólido blanco después de secar al aire a temperatura ambiente. Los lotes producidos por el procedimiento utilizado para SP221-CIT-P6 pueden exponerse adicionalmente a humedad controlada para intercambiar 1-propanol por agua.

30 La espectroscopía de RMN 1H del producto del experimento SP221-CIT-P4 reveló una relación de Fórmula (1) a ácido cítrico de aproximadamente 2:1 (1,83) basada en la suma de las integrales para los 10 protones aromáticos de Fórmula (1) divididos por la integral de los cuatro protones de los grupos metileno del ácido cítrico entre 2,6 y 2,9 ppm. La ácido cítrico:Fórmula (1) 1:2 puede ser una fase que contiene tanto ácido cítrico ionizado (como en una sal) como ácido cítrico no ionizado (como en un cocrystal). La fórmula molecular de una sal o cocrystal 2:1 de Fórmula (1) con ácido cítrico es $2 \cdot [C_{26}H_{23}N_7O_2] + C_6H_8O_7$ con un peso molecular de 1123,1 g/mol. En un intento inicial de convertir el solvato de acetona en una muestra de hidrato, SP221-CIT-P4 se sometió a equilibrio de suspensión en agua a 25 °C durante 24 horas, que dio como resultado la conversión a la Forma III de la base libre de Fórmula (1) (el dihidrato).

40 Los patrones de reflexión PXRD de la sal de citrato obtenida de acetona-agua (SP221-CIT-P4) y 1-propanol (SP221-CIT-P6) se muestran en la FIG. 19 y la FIG. 20, respectivamente. Una comparación de los dos patrones PXRD ilustra que los patrones PXRD de las dos formas muestran notables similitudes, indicando una red cristalina similar para ambas muestras, y por tanto los dos patrones probablemente representan dos estados de solvatación diferentes de una única estructura huésped que comprende citrato y Fórmula (1). Por tanto, ambas muestras se denominan Forma A. La Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) también puede incluir otros disolventes orgánicos pequeños y agua en cantidades variables. Los siguientes picos son característicos de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1), cuando se encuentra en el estado de solvatación aproximado de la muestra SP221-CIT-P4a: 6,1, 6,6, 7,2, 7,9, 8,3, 9,7, 10,8, 11,1, 12,2, 13,5, 14,1, 14,9, 15,9, 16,6, 17,5, 17,9, 18,3, 18,9, 19,5, 20,3, 21,5, 21,9, 22,7, 23,8, 24,4, 24,8, 26,1, 26,3, 27,2, 27,4, 27,9, y $29,3 \pm 0,2 \text{ } ^\circ 2\theta$. Los siguientes picos son característicos de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1), cuando se encuentra en el estado de solvatación aproximado de la muestra SP221-CIT-P6: 6,1, 6,4, 7,2, 7,9, 8,2, 9,6, 10,9, 12,0, 13,4, 13,8, 14,0, 14,9, 15,5, 15,9, 16,4, 17,3, 17,5, 18,2, 18,6, 19,3, 20,1, 20,4, 21,4, 21,6, 22,6, 23,2, 23,7, 24,3, 26,0, 27,0, 27,3, 27,8, y $29,2 \pm 0,2 \text{ } ^\circ 2\theta$. Los picos característicos anteriores pueden variar en su posición con el intercambio de disolvente en esta fase cristalina.

55 La espectroscopía Raman de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) se realizó en las muestras SP221-CIT-P4a y SP221-CIT-P6. El espectro Raman de una muestra seca de SP221-CIT-P4, muestra con nombre SP221-CIT-P4a, se obtuvo. Los picos Raman característicos para la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1), cuando se encuentran en el estado de solvatación aproximado de la muestra SP221-CIT-P4a, se observan en 3068, 2921, 2237, 1682, 1612, 1551, 1505, 1436, 1332, 1313, 1241, 1188, 993 y 712 (desplazamiento Raman, $cm^{-1} \pm 2 \text{ } cm^{-1}$). También se obtuvo el espectro Raman para la muestra SP221-CIT-P6. Los picos Raman característicos para la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1), cuando se encuentran en el estado de solvatación aproximado de la muestra SP221-CIT-P6, se observan en 3055, 2920, 2237, 1685, 1612, 1549, 1504, 1436, 1333, 1313, 1286, 1240, 1187, 993 y 712 (desplazamiento Raman, $cm^{-1} \pm 2 \text{ } cm^{-1}$). Los picos característicos anteriores pueden variar en su posición con el intercambio de disolvente en esta fase cristalina.

65 La espectroscopía ATR-IR de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) se realizó en las muestras SP221-CIT-P4a y SP221-CIT-P6. Se obtuvo el espectro IR de la muestra SP221-CIT-P4a. Los picos IR característicos para la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1), cuando se encuentra en el estado de solvatación aproximado de la muestra

SP221-CIT-P4a, se observan en 3396, 2234, 1673, 1606, 1537, 1428, 1304, 1264, 1200, 1092, 1008, 893, 866, 773, 735 y 693 (frecuencia IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$). También se obtuvo el espectro IR de la muestra SP221-CIT-P6. Los picos IR característicos para la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1), cuando se encuentra en el estado de solvatación aproximado de la muestra SP221-CIT-P6, se observan en 3403, 2960, 2872, 2233, 1678, 1608, 1582, 1538, 1434, 1403, 1352, 1302, 1253, 1201, 1094, 1055, 1010, 967, 895, 813, 772, 750, 735, 693 y 612 (frecuencia IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$). Las posiciones de pico características anteriores pueden variar en su posición con el intercambio de disolvente en esta fase cristalina.

El análisis de TG-FTIR se realizó en tres muestras diferentes de la sal de citrato. El termograma de TG-FTIR de la muestra SP221-CIT-P4 mostró que la muestra contiene agua y acetona y que el agua está unida menos fuertemente que la acetona. Una muestra de SP221-CIT-P4 se almacenó durante tres meses después de la preparación en condiciones ambientales y se denominó muestra SP221-CIT-P3. El análisis de TG-FTIR de esta muestra reveló que la mayor parte de la pérdida de masa se debió al agua. Esto proporciona evidencia de que la acetona fue reemplazada lentamente por agua con el tiempo, con un contenido de agua que aumenta a aproximadamente 8 %. Esta observación está respaldada por el hallazgo de que la pérdida de masa ocurre típicamente en dos pasos. En el primer paso se libera agua y algo de acetona y en el segundo paso la pérdida de masa se debe principalmente a la acetona. El contenido teórico de acetona para una sal Fórmula (1):citrato 2:1 monosolvato de acetona sería 5 % y el contenido teórico de agua para un pentahidrato sería 8 %. Por tanto, además de un solvato de acetona (o una mezcla solvato de acetona-hidrato), se puede preparar un estado puro hidratado de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1). El resultado del análisis de TG-FTIR del solvato de 1-propanol mostró dos pasos distintos, lo que puede indicar que existe una segunda fase de solvato de 1-propanol con una estequiometría diferente.

La muestra SP221-CIT-P3 de la Forma A de la sal de citrato de Fórmula (1) se seleccionó para una prueba de DSC en un recipiente de muestra cerrado y se observó que exhibía una endoterma amplia que oscurecía la fusión. Para un segundo experimento de DSC, la muestra de citrato SP221-CIT-P3 se almacenó a una humedad relativa de 33 % durante varios días de equilibrio. El termograma de DSC resultante no mostró diferencias significativas. El máximo de la señal endotérmica es a 90 °C; sin embargo, la desviación de la línea de base comienza incluso por debajo de 60 °C y se encuentra un hombro pronunciado a aproximadamente 82 °C. Una exoterma que comienza a aproximadamente 140 °C es probablemente el resultado de la degradación térmica.

El análisis de adsorción de vapor dinámica (DVS) de la sal de citrato (muestra SP221-CIT-P4) muestra que la forma de sal dada absorbe una cantidad sustancial de agua en condiciones de alta humedad (hasta 12 % en el intervalo de 0 a 100 % HR) y que al final de la prueba el contenido de agua es aproximadamente 7,5 % en peso. Es probable que parte de la acetona encontrada por TG-FTIR fuera intercambiada por agua durante la prueba de DVS.

Ejemplo 6.6. Forma A y otras formas de la sal de gentisato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

El ácido gentísico tiene el nombre químico ácido 2,5-dihidroxibenzoico, la fórmula molecular $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$, y una masa molecular de 154,12 g/mol. El pK_a del ácido gentísico es 2,93. La sal de gentisato se identificó por primera vez en el cribado descrito anteriormente (muestra SP221-GEN-P1) y se reprodujo por cristalización de una mezcla de acetona-agua como un hemisolvato de acetona (SP221-GEN-P2). El equilibrio de suspensión del hemisolvato de acetona en acetonitrilo condujo a una muestra cristalina que no contenía disolvente orgánico residual (muestra SP221-GEN-P3). TG-FTIR mostró que esta muestra contenía aproximadamente 2,6 % de agua. Este resultado concordó con el contenido teórico de agua para un monohidrato de gentisato de 2,8 %.

La muestra SP221-GEN-P1 se preparó como sigue: se disolvieron 235,6 mg de base libre de Fórmula (1) (PP502-P1, 0,5 mmol) en 4,0 ml de acetona-agua (9:1) a 57 °C y se añadieron 5,0 ml de una solución madre de ácido gentísico 0,1 M en acetona. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó mientras la tapa se mantenía abierta para dejar que se evaporara la acetona. Después de obtener una suspensión con un volumen de aproximadamente 3 ml, el producto sólido se filtró y se secó al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-GEN-P2 se preparó como sigue: se disolvieron 470 mg de base libre de Fórmula (1) (PP502-P1, 0,5 mmol) en 11,0 ml de una solución madre 0,1 M de ácido gentísico en acetona. Se añadieron 2,0 ml de agua a esta solución. La solución se sembró con una pequeña cantidad de SP221-GEN-P1 y se agitó en un vial abierto para permitir la evaporación del disolvente. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó mientras la tapa se dejaba abierta para continuar permitiendo que se evaporara la acetona. Después de obtener una suspensión con un volumen de aproximadamente 3 ml, el producto sólido se filtró y se secó al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-GEN-P3 se preparó como sigue: se añadieron 2,0 ml de acetonitrilo a 58 mg de muestra SP221-GEN-P2, y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante tres días. Los sólidos se filtraron y se secaron al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-GEN-P4 se preparó como sigue: se disolvieron 466 mg de PP502-P1 (0,5 mmol) y 154 mg de ácido gentísico en 10,0 ml de 2-propanol por calentamiento a 70 °C. Para facilitar la disolución, se añadieron 0,2 ml de ácido fórmico. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se sembró con SP221-GEN-P2 a aproximadamente 45 °C, y se añadieron 5,0 ml de 2-propanol. En aproximadamente cuatro horas se obtuvo una suspensión a partir de

la cual se filtró el producto sólido y se secó al aire a temperatura ambiente.

Se preparó un lote adicional (muestra SP221-GEN-P5) de la sal de gentisato de monohidrato de Fórmula (1) mediante un método similar al utilizado para preparar SP221-GEN-P3. A aproximadamente 400 mg de muestra SP221-GEN-P4 se añadieron 4,2 ml de acetonitrilo que contenía 5 % de agua. La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante un día. Los sólidos se filtraron y el producto se secó al aire a temperatura ambiente. La muestra SP221-GEN-P5A se preparó manteniendo la muestra SP221-GEN-P5 a 33 % de humedad relativa durante dos semanas.

Un segundo hidrato, posiblemente un dihidrato, se obtuvo como residuo sólido después de una prueba de solubilidad (muestra SP221-GEN-P6).

La espectroscopía de RMN ¹H del producto del experimento SP221-GEN-P5 reveló una relación de base libre de Fórmula (1) a ácido gentísico de 1:1 basada en la suma de señales integradas de cuatro protones aromáticos de Fórmula (1) entre 7,5 y 8,5 ppm y dos protones aromáticos de ácido gentísico que aparecen entre 6,6 y 7,0 ppm. El espectro de RMN ¹H también mostró que el material obtenido está esencialmente libre de solvente orgánico.

Además, se analizó el contenido de CHNO en la muestra SP221-GEN-P5 mediante análisis de composición elemental. Se espera que la fórmula molecular de una sal 1:1 de fórmula (1) con ácido gentísico sea C₃₃H₂₉N₇O₆ con un peso molecular de 619,6 g/mol. Un monohidrato de una sal 1:1 de Fórmula (1) con ácido gentísico tendría la fórmula molecular de C₃₃H₃₁N₇O₇ y un peso molecular de 637,65 g/mol (con un contenido de agua de 2,8 %). Los resultados que se presentan en la Tabla 12 concuerdan con la fórmula esperada para un monohidrato.

TABLA 12. Resultados del análisis de composición elemental y determinación del contenido de agua para la muestra SP221-GEN-P5.

Elemento	% encontrado	C ₃₃ H ₃₁ N ₇ O ₇
C	60,9	62,16
H	5,1	4,90
N	15,0	15,38
O	16,5	17,56
agua	2,6*	2,82

* Este valor se tomó del análisis de TG-FTIR de la muestra SP221-GEN-P3, como se describe a continuación.

La microscopía óptica de la sal de gentisato de monohidrato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P5) mostró material cristalino con partículas predominantemente en forma de aguja con longitudes de aproximadamente 5 a 50 μm y anchos de aproximadamente 1 a 10 μm.

Un patrón PXRD de reflexión de la sal de gentisato de monohidrato de Fórmula (1) se muestra en la FIG. 21 (muestra SP221-GEN-P3). El patrón PXRD de la muestra SP221-GEN-P5 (no mostrado) no se distinguía del patrón de la muestra SP221-GEN-P3, indicando que ambas muestras son representativas de la misma fase cristalina. Esta fase cristalina se denomina Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1). Los siguientes picos son característicos de la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1): 4,6, 8,2, 9,0, 9,7, 11,8, 12,9, 13,8, 14,5, 15,5, 16,6, 16,8, 18,4, 19,6, 20,5, 21,1, 24,1, 24,5, 25,5, 25,8, 26,0, 26,6, 26,9, 27,4, y 29,8 °2θ ± 0,2 °2θ.

La espectroscopía Raman se realizó usando una muestra de la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P5). El espectro Raman se obtuvo de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. Los picos Raman característicos para la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1) se observaron en 3057, 2919, 2223, 1681, 1613, 1576, 1552, 1518, 1437, 1333, 1312, 1228, 1192, 1156, 990, 716, 485 y 257 (desplazamiento Raman, cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹).

La espectroscopía IR se realizó usando una muestra de la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P5). El espectro IR se obtuvo de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. Los picos IR característicos para la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1) se observan en 2957, 1682, 1668, 1602, 1574, 1523, 1504, 1481, 1429, 1377, 1346, 1302, 1274, 1228, 1157, 1092, 1010, 939, 896, 865, 826, 810, 778, 748, 734, 686, 660, y 617 (Frecuencia IR, cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹).

El termograma de TG-FTIR de la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P3) mostró una pérdida de masa de 2,64 % en 120 °C y descomposición a partir de 220 °C. DSC de la Forma A (monohidrato) de la sal de gentisato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P5A) reveló dos pequeños picos endotérmicos a 106 °C y 121 °C. Es poco probable que estos picos correspondan a la fusión de la sal, sino que pueden asignarse a transformaciones de fase. La desviación de la línea de base a 180 °C se atribuye tentativamente al comienzo de un proceso de fusión; sin embargo, la degradación térmica es el fenómeno dominante por encima de 195 °C y DSC no pudo identificar un punto de fusión distinto.

El análisis de DVS de la Forma A (monohidrato) de la sal de gentsato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P5) revela varios pasos de aproximadamente 2 % de contenido de agua cuando se barre de HR alta a baja. Esto sugiere que podría existir más de un hidrato. Aunque la histéresis observada no fue simétrica, una segunda prueba de la misma muestra ha demostrado que todo el ciclo de hidratación-deshidratación de DVS es reversible. PXRD de la muestra recuperada del recipiente de muestra de DVS mostró el mismo patrón que el residuo sólido de los experimentos de solubilidad. El contenido de agua de 5,2 % corresponde esencialmente al contenido de agua de un dihidrato. Los siguientes picos son característicos de la sal de gentsato dihidrato de Fórmula (1) obtenida después de la prueba de DVS: 4,6, 8,7, 11,7, 12,5, 12,8, 13,1, 14,1, 15,1, 15,6, 16,5, 16,8, 19,7, 24,1, 24,5, 25,3, 25,7, 25,9, 26,6, 26,9, y $29,4 \pm 0,2 \text{ } ^\circ 2\theta$.

En total, se obtuvieron cinco patrones PXRD diferentes para las seis muestras diferentes de la sal de gentsato de Fórmula (1). El patrón PXRD del solvato de acetona de sal de gentsato (muestra SP221-GEN-P2) fue distinto. El análisis de TG-FTIR de este solvato (muestra SP221-GEN-P2) mostró una pérdida de masa de 5,0 % en 150 °C (correspondiente a acetona y agua) con descomposición comenzando a 220 °C. El patrón PXRD de la sal de gentsato de solvato de ácido fórmico de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P2) también fue distinto. El análisis de TG-FTIR de este solvato (muestra SP221-GEN-P4) mostró una pérdida de masa de 8,6 % en 150 °C (correspondiente al ácido fórmico y agua), con descomposición comenzando a 220 °C. Finalmente, El patrón PXRD de la sal de gentsato de dihidrato de Fórmula (1) (muestra SP221-GEN-P6) también fue distinto de las otras fases.

Ejemplo 6.7. Forma A de la sal de oxalato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

El ácido oxálico tiene la fórmula molecular $C_2H_2O_4$ con una masa molecular de 90,04 g/mol. Los valores de pKa de los dos grupos ácidos son 1,27 y 4,27. La sal de oxalato se identificó por primera vez en el cribado descrito anteriormente.

La muestra SP221-OXA-P1 se preparó como sigue: Se añadieron 236 mg de muestra PP502-P1 y 45,4 mg de ácido oxálico (Sigma Aldrich n.º 75688) a 5,0 ml de acetona:agua (95: 5) y la mezcla se calentó a aproximadamente 55 °C. El compuesto no se disolvió; la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche, después de lo cual el sólido se filtró y se secó al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-OXA-P2 se preparó como sigue: se añadieron 468,2 mg de muestra PP502-P1 y 90,9 mg de ácido oxálico (Sigma Aldrich n.º 75688) a 10,0 ml de 1-propanol y se calentó a 70 °C. Se obtuvo un gel esencialmente inagitable al que se añadieron otros 15,0 ml de 1-propanol y 1,0 ml de agua. La agitación continuó a temperatura ambiente durante tres días antes de que el sólido fuera filtrado y examinado por PXRD después de un breve secado al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-OXA-P3 se preparó como sigue: se disolvieron 468 mg de muestra PP502-P1 en 10,0 ml de metanol a reflujo, y se añadieron 90 mg de ácido oxálico disuelto en 2,0 ml de metanol. El material se enfrió a temperatura ambiente, se sembró con SP221-OXA-P2, y se tomó aproximadamente la mitad de la suspensión y se agitó a temperatura ambiente y luego se calentó nuevamente a 50 °C; después de lo cual todos los sólidos se disolvieron. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente nuevamente y se agitó antes de que parte de la muestra se filtrara y se investigara el sólido después de secar al aire a temperatura ambiente. Esta muestra se denominó SP221-OXA-P3A. A la otra mitad de la suspensión se añadieron 3,0 ml de agua. Todo el sólido se disolvió inmediatamente, luego la mezcla se agitó bajo purga de nitrógeno a temperatura ambiente hasta que se retiraron todos los solventes. Al residuo seco se añadieron 2,0 ml de acetonitrilo, 2,0 ml de etanol y 0,2 ml de agua y se agitó durante dos días a temperatura ambiente. Se obtuvo una suspensión a partir de la cual se filtró el sólido y se secó al aire a temperatura ambiente. Esta muestra se denominó SP221-OXA-P3B.

La muestra SP221-OXA-P4 se preparó como sigue: se disolvieron 468 mg de la muestra PP502-P1 en 10,0 ml de acetona y 1,0 ml de agua a reflujo, y se añadieron 45 mg de ácido oxálico (Sigma Aldrich n.º 75688) disuelto en 1,0 ml de agua. No se observó cristalización. Se añadieron 46 mg adicionales de ácido oxálico sólido y 5,0 ml de acetona y se continuó la agitación a temperatura ambiente mientras el vial se mantenía abierto. Tras agitar durante la noche, se obtuvo una pasta espesa. Calentar la mezcla a 50 °C condujo a la disolución completa y enfriar a temperatura ambiente nuevamente condujo a una suspensión muy espesa. Parte de la suspensión se filtró y el sólido se secó al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-OXA-P5 se preparó como sigue: se combinaron 470 mg de muestra PP502-P1 y 90 mg de ácido oxálico (Sigma Aldrich n.º 75688) en 10,0 ml de tetrahidrofurano y 1,0 ml de metanol calentado a reflujo para lograr la disolución de los sólidos. Al sembrar con SP221-OXA-P2 y enfriar a temperatura ambiente, se obtuvo una pasta espesa que se calentó a 60 °C a 65 °C y se agitó durante dos días antes de que el sólido se filtrara y se secara al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-OXA-P7 se preparó como sigue: los productos restantes de los experimentos SP221-OXA-P4 y SP221-OXA-P5 (aproximadamente 300 mg) se combinaron y se suspendieron en 5,0 ml de agua. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante cuatro días. La suspensión se filtró y los sólidos se secaron al aire a temperatura ambiente durante 24 horas.

La espectroscopía RMN ^1H del oxalato no se llevó a cabo debido a la falta de hidrógenos no intercambiables en ácido oxálico. El contenido de CHNO de SP221-OXA-P1 se determinó mediante análisis de composición elemental, con los resultados mostrados en la Tabla 13. Se predice que la fórmula molecular de una sal 1:1 de Fórmula (1) con ácido oxálico es $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}_6$ con un peso molecular de 555,55 g/mol. Un hidrato con una estequiometría de 2,5 moles de agua por 1 mol de Fórmula (1) tendría la fórmula molecular de $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{O}_{8,5}$ y un peso molecular de 602,6 g/mol (con un contenido de agua de 7,5 %). Los resultados que se presentan para la muestra SP221-OXA-P7 están en total acuerdo con la fórmula molecular para tal "hidrato 2,5". Un contenido de agua supuesto de aproximadamente 7,5 % se basa en el resultado de TG-FTIR que reveló una pérdida de masa de 8,3 % esencialmente atribuible al agua. Un trihidrato contendría 8,9 % de agua y, por tanto, también es posible un trihidrato.

TABLA 13. Resultados del análisis de composición elemental de sales de oxalato y composiciones teóricas.

Elemento	% encontrado para SP221-OXA-P1	% encontrado para SP221-OXA-P7	% teórico para la forma anhidra	% teórico para monohidrato	% teórico para hidrato 2,5
C	57,4	53,8	60,54	58,63	55,81
H	4,9	5,3	4,54	4,74	5,35
N	16,6	15,9	17,65	17,09	16,27
O	17,4	21,1	17,28	19,53	22,57
Suma	96,3 %	96,1 %	100 %	100 %	100 %

Un patrón PXRD de reflexión de la sal de oxalato de monohidrato de Fórmula (1) se muestra en la FIG. 22 (muestra SP221-OXA-P7). Esta fase cristalina se denomina Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1). Los siguientes picos son característicos de la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1): 5,5, 5,8, 7,4, 9,3, 11,0, 11,5, 12,7, 15,2, 16,5, 17,3, 18,5, 18,7, 19,1, 19,7, 20,2, 20,8, 22,0, 22,3, 23,3, 23,6, 24,8, 27,4, 28,6, 29,3, 29,6, 31,2, y $33,1 \pm 0,2 \text{ } ^\circ 2\theta$.

La espectroscopía Raman se realizó usando una muestra de la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) (muestra SP221-OXA-P7). El espectro Raman se obtuvo de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. Los picos Raman característicos para la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) se observan en 3073, 2992, 2950, 2922, 2247, 1671, 1612, 1584, 1552, 1504, 1469, 1440, 1336, 1311, 1273, 1235, 1191, 1162, 1095, 1012, 897, 718, 633, 409, 370 y 263 (desplazamiento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$).

La espectroscopía IR se realizó usando una muestra de la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) (muestra SP221-OXA-P7). El espectro IR se obtuvo de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. Los picos IR característicos para la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) se observan en 3419, 2249, 1670, 1615, 1544, 1503, 1438, 1391, 1334, 1304, 1262, 1195, 1151, 1126, 1093, 1013, 894, 877, 823, 783, 765, 738 y 652 (frecuencia IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Se obtuvo el termograma de TG-FTIR de la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) (muestra SP221-OXA-P7). La pérdida de masa observada, probablemente debida al agua, está entre el contenido de agua esperado para un trihidrato (8,9 %) y un dihidrato (6,1 %). El agua parece estar débilmente unida, porque el comienzo de la pérdida de masa es esencialmente a temperatura ambiente. Los resultados de calorimetría diferencial de barrido para la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) (muestra SP221-OXA-P7) revelaron una endoterma de fusión a $127 \text{ } ^\circ\text{C}$ con una entalpía de fusión de aproximadamente 70 J/g . Los eventos térmicos observados en DSC por encima de $150 \text{ } ^\circ\text{C}$ se deben probablemente a la descomposición térmica.

El análisis de DVS de la Forma A (hidrato 2,5) de la sal de oxalato de Fórmula (1) (muestra SP221-OXA-P7) revela que el agua se retira a 0 % HR y se observa una isoterma reversible que implica una absorción de aproximadamente 6,5 % de agua en el intervalo de 0 % a 100 %. PXRD de la muestra recuperada de la bandeja de muestra de DVS mostró el mismo patrón que el patrón antes del inicio de la prueba de DVS. A 50 % HR, el contenido de agua es aproximadamente 5,5 % y a 95 % de humedad relativa, el contenido de agua es aproximadamente 6,5 %. Este resultado sugiere que la Forma A puede formar un dihidrato estable.

Se obtuvieron dos patrones de PXRD adicionales de las otras preparaciones de oxalato (muestras SP221-OXA-P3B y SP221-OXA-P4). Según sus patrones de PXRD, estas muestras representan probablemente otras fases cristalinas de las sales de oxalato de Fórmula (1).

Ejemplo 6.8. Forma A de la sal de sulfato de Fórmula (1) - Ejemplo de referencia

Se preparó una sal sulfato de Fórmula (1) (muestra SP221-SO4-P1) como sigue. A 5,0 ml de una solución madre 0,1 M de base libre de Fórmula (1) en acetona-agua (muestra SL20150415FB, 0,1 M) se agregó un equivalente de ácido sulfúrico en forma de ácido sulfúrico concentrado (27,8 μl), que se calentó a $50 \text{ } ^\circ\text{C}$ y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Como no se produjo cristalización, la mezcla se sembró con unos pocos mg de sal de fosfato cristalina. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, se obtuvo una suspensión amarilla/blanca de la que se filtró el sólido y se secó al aire a temperatura ambiente.

La muestra SP221-SO4-P3 se preparó por repetición del experimento utilizado para producir SP221-SO4-P1 usando una relación 1:1 de ácido sulfúrico a base libre.

5 La muestra SP221-SO4-P4 se preparó disolviendo 941 mg de PP502-P1 en 22 ml de acetona-agua 10:1 a aproximadamente 50 °C y añadiendo un equivalente de ácido sulfúrico concentrado (112 µl). Se formó una suspensión a 50 °C; la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se agitó durante la noche a temperatura ambiente antes de que el sólido se filtrara y se secase al aire. Se obtuvieron aproximadamente 880 mg de un sólido ligeramente amarillento.

10 La muestra SP221-SO4-P5 se preparó añadiendo 300 mg de SP221-SO4-P4 a 3,0 ml de acetonitrilo y 0,3 ml de agua. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante un día. La suspensión se filtró y los sólidos se secaron al aire a temperatura ambiente.

15 La muestra SP221-SO4-P6 se preparó añadiendo 944 mg de base libre de Fórmula (1) (muestra PP502-P1) a 15,0 ml de acetona:agua (9:1) y calentando a reflujo para lograr la disolución. Luego se añadió ácido sulfúrico (0,8 ml/1 equivalente) en forma de una solución acuosa 2,5 M. La solución se sembró con SP221-SO4-P1 y se dejó enfriar a 35 °C mientras se continuaba la agitación durante la noche. Se obtuvo una suspensión que se volvió a calentar a 50 °C durante aproximadamente tres horas, luego se dejó enfriar nuevamente a temperatura ambiente y se agitó durante dos horas antes de que el sólido se filtrara y se secase al aire a temperatura ambiente. Se obtuvo un rendimiento de aproximadamente 950 mg.

25 La espectroscopía de RMN ¹H (espectro no mostrado) del producto del experimento SP221-SO4-P4 fue consistente con la Fórmula (1). Las muestras SP221-SO4-P4 y SP221-SO4-P5 se analizaron mediante análisis de composición elemental CHONS, con los resultados mostrados en la Tabla 14. La fórmula suma molecular esperada para una sal de sulfato monoestequiométrica sin disolvente de Fórmula (1) es C₂₆H₂₅N₇O₆S, con un peso molecular de 563,6 g/mol. Se espera que una sal de sulfato monoestequiométrica trihidratada de Fórmula (1) tenga una fórmula molecular suma de C₂₆H₃₁N₇O₉S y un peso molecular de 617,6 g/mol (con un contenido de agua de 8,7 %). Se espera que una sal de sulfato monoestequiométrica tetrahidratada de Fórmula (1) tenga una fórmula de suma molecular de C₂₆H₃₃N₇O₁₀S y un peso molecular de 635,7 g/mol (con un contenido de agua de 11,3 %). El mejor ajuste a los valores experimentales para la muestra SP221-SO4-P4 es a un tetrahidrato con un exceso de ácido sulfúrico equivalente a una relación molar de aproximadamente 1,25. El mejor ajuste a los valores experimentales para la muestra SP221-SO4-P5 se encontró para una sal de tetrahidrato de monosulfato, en donde se encontró buen acuerdo con el contenido de hidrógeno, oxígeno y azufre esperado teóricamente, con solo una ligera discrepancia para carbono y nitrógeno.

35 TABLA 14. Resultados del análisis de composición elemental (análisis CHNOS) para muestras SP221-SO4-P4 y SP221-SO4-P5 de la sal sulfato de Fórmula (1).

Elemento	SP221-SO4-P4 (% encontrado, experimental)	SP221-SO4-P5 (% encontrado, experimental)	C ₂₆ H _{33,5} N ₇ O ₁₁ S _{1,25} sal de sulfato tetrahidratada (teórico)	Sal de monosulfato tetrahidratada (teórico)
C	47,4	46,8	47,30	49,13
H	4,9	4,7	5,11	5,23
N	14,9	14,4	14,85	15,42
O	no determinado	25,0	26,66	25,17
S	6,2	5,0	6,07	5,04
agua*	10,6	No disponible	10,9	11,3

* El contenido de agua se determinó por valoración de Karl Fischer.

40 La microscopía óptica de la muestra SP221-SO4-P5 mostró material cristalino con partículas predominantemente en forma de aguja. Las partículas en la muestra SP221-SO4-P5 fueron considerablemente más pequeñas que las de la muestra SP221-SO4-P6, que mostró longitudes de partículas de hasta aproximadamente 100 µm y anchos de aproximadamente 5 a 10 µm.

45 El patrón PXRD de reflexión de la muestra SP221-SO4-P6 se muestra en la FIG. 23. Esta fase cristalina se denomina Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1). Los siguientes picos son característicos de la Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1): 4,6, 5,0, 8,0, 9,0, 9,8, 12,0, 12,7, 13,2, 14,6, 15,0, 15,6, 16,2, 17,5, 18,0, 19,8, 20,2, 21,9, 23,8, 24,4, 24,9, 25,7, 26,0, 27,2, 29,5, 30,4, 31,6, y 32,5 °2θ ± 0,2 °2θ. Los patrones PXRD para otras tres muestras (SP221-SO4-P1, SP221-SO4-P3 y SP221-SO4-P4) indican que se obtuvo la misma forma cristalina de la sal de sulfato también en estos otros experimentos.

50 La espectroscopía Raman se realizó usando una muestra de la Forma A del cocrystal de sal sulfato de Fórmula (1) (muestra SP221-SO4-P4). El espectro Raman se obtuvo de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. Los picos Raman característicos para la Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1) se observan en 3115, 2977,

2926, 2224, 1675, 1611, 1537, 1498, 1449, 1409, 1361, 1327, 1310, 1288, 1243, 1198, 1155, 1042, 1009, 978, 948, 906, 849, 771, 713, 652, 632, 464, 370, y 254 (desplazamiento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$).

5 La espectroscopía IR se realizó usando una muestra de la Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1) (muestra SP221-SO4-P4). El espectro IR se obtuvo de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.2 para la Forma I. Los picos IR característicos para la Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1) se observan en 3430, 3101, 3029, 2225, 1667, 1633, 1615, 1598, 1563, 1557, 1508, 1428, 1350, 1328, 1308, 1276, 1225, 1088, 1036, 1018, 925, 891, 848, 816, 783, 736, 723, 694, y 612 (frecuencia IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

10 El termograma de TG-FTIR de la Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1) (muestra SP221-SO4-P4) mostró una pérdida de masa observada de 10,1 %, que se debió al agua. La pérdida de agua comienza con el calentamiento y se completa en aproximadamente 110 °C utilizando una velocidad de calentamiento de 10 °C por minuto. Los resultados de DSC para la Forma A de la sal de sulfato de Fórmula (1) (muestra SP221-SO4-P4) mostraron una endoterma de fusión con una temperatura máxima de 118 °C y una entalpía de fusión de aproximadamente 92 J/g. DSC reveló una endoterma de fusión a 127 °C con una entalpía de fusión de aproximadamente 70 J/g.

15 El análisis de DVS se realizó para la Forma A de la sal sulfato de Fórmula (1) (muestra SP221-SO4-P4). Los resultados de DVS muestran que el agua no se retira por completo a 0 % HR después de cinco horas. El contenido de agua inicial de la muestra de sulfato dada se determinó mediante valoración de Karl Fischer, y la isoterma de DVS varió de 2,5 % a 12,5 % en el intervalo de 0 % HR a 100 % HR. Se encontró que la adsorción de vapor fue en gran medida reversible; al final de la prueba, el contenido de agua es casi el mismo que al comienzo de la medición.

Ejemplo 7. Solubilidad en función del pH

Ejemplo 7.1. Solubilidad de base libre

25 La solubilidad acuosa de la base libre de Fórmula (1) se examinó en función del pH. Los experimentos se realizaron en solución acuosa de HCl y soluciones tampón a pH de 1, 3, 5, 6,8, 7,4 y 9. Se determinó que a valores bajos de pH de 1 y 3, el sólido se disolvió por completo durante el tiempo de equilibrado mientras el pH en el sistema se estabilizó a aproximadamente 3 en ambos experimentos. Se encontró que la solubilidad en solución de HCl que tiene un pH de aproximadamente 1 es al menos 150 mg/ml. La solubilidad de la base libre de Forma I (PP502-P1) a varios valores de pH superiores a 3 se presenta en la Tabla 15.

TABLA 15. Datos de solubilidad para la base libre de Fórmula (1).

pH eficaz al final de la prueba	Solubilidad (mg/ml)
5,0	0,69
6,7	0,056
7,3	0,049
8,9	0,051

35 Los datos muestran que la solubilidad acuosa de la base libre de Fórmula (1) (muestra PP502-P1) se estabiliza a aproximadamente 50 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente pH 6,7. FIG. 24 muestra las posibles especies de Fórmula (1) basadas en valores de pK_a calculados que van desde 2,2 (básico) a 6,1 (básico) a 11,5 (ácido). Por tanto, una molécula cargada doblemente positiva es altamente soluble en agua, mientras que las formas individualmente positivas y neutras son poco solubles. Esto resalta los desafíos en el suministro exitoso de Fórmula (1) a través del estómago al ambiente de pH más alto del duodeno.

40 La relación de equilibrio pH-solubilidad calculada para la base libre de Fórmula (1) se muestra en la FIG. 25 en comparación con las mediciones experimentales a intervalos seleccionados. A pH 6,7 y superior, la solubilidad acuosa alcanza un nivel constante de aproximadamente 50 $\mu\text{g/ml}$, ilustrando aún más los desafíos del suministro de la Fórmula (1).

45 Los valores de pK_a para la base libre de Fórmula (1) se determinaron y usaron para crear el gráfico de especiación mostrado en la FIG. 26, para ilustrar las especies presentes a medida que la Fórmula (1) pasa a través del tracto gastrointestinal. Los valores de pK_a de la muestra se determinaron utilizando una técnica espectrométrica ultravioleta (UV). La muestra se valoró inicialmente en una valoración triple UV rápida entre pH 2 - 12 a concentraciones de 31 - 19 μM , en condiciones acuosas. Tres valores de pK_a , con valores promedio de $\sim 3,6$, $\sim 5,8$ y $\sim 12,0$, se determinaron. La muestra se valoró posteriormente en seis valoraciones, en condiciones acuosas en un intervalo total de pH 1,5 - 12,5 a concentraciones de 30 - 18 μM . Tres valores de pK_a para la Fórmula (1), con valores promedio de $3,54 \pm 0,01$, $5,77 \pm 0,01$ y $12,12 \pm 0,03$, se determinaron a partir de los datos espectroscópicos recopilados.

55 logP de la base libre de Fórmula (1) se determinó utilizando la técnica potenciométrica (pH-métrica). La muestra se tituló en varias proporciones de octanol/agua de pH 1,9 - 12,1 a concentraciones de 1,1 - 0,5 mM a 25 °C en un ambiente iónico de KCl 0,15 M. Los datos potenciométricos recopilados se utilizaron para calcular logP de las especies

neutras ($2,03 \pm 0,01$) y catiónicas ($-0,31 \pm 0,06$).

Ejemplo 8. Optimización de cristalización para la Forma I de base libre de Fórmula (1)

5 Los experimentos de cristalización se realizaron hacia la producción optimizada de la Forma I de base libre de Fórmula (1). El material de partida para los experimentos de cristalización se recrystalizó en la Forma I de Fórmula (1). El estudio se complementó con cristalizaciones adicionales de la base libre a partir de una muestra de aceite crudo. Los productos obtenidos se caracterizaron usando difracción de rayos X en polvo (PXRD) o espectroscopía Raman para investigar la forma cristalina y por TG-FTIR o RMN ¹H o ambos para investigar el contenido residual de disolvente. Se registraron imágenes de microscopía polarizada para determinar el tamaño de partícula.

15 Acetona, etanol y 1-propanol son los disolventes más prometedores para la recrystalización de la Forma I. Dado que la Forma I cristalina tiene una baja solubilidad en muchos disolventes de clase 3 ICH, se exploró la adición de codisolventes potencialmente útiles. Por ejemplo, etanol, agua y ácido acético son disolventes que pueden usarse para aumentar la solubilidad de la Forma I, lo cual es importante en el diseño de un proceso de cristalización que maximiza la eficacia de volumen y rendimiento.

20 Se recogieron datos de solubilidad para varios sistemas de disolvente. La dependencia de la temperatura de la solubilidad de la Forma I se estimó para acetona, etanol, etanol-agua 94:4 (v/v) y 1-propanol. Se aplicaron perfiles de enfriamiento lineales y no lineales y varias estrategias de ciclos de temperatura para mejorar la calidad de la naturaleza cristalina de la Forma I.

25 Un método se basa en la cristalización de la sal de maleato a partir de un aceite crudo en donde la sal de maleato cristalino se neutraliza con una base y se extrae la base libre (supuestamente en forma amorfa). Después de eso, la base libre se cristaliza en acetona y se obtiene la Forma I cristalina (forma anhidra). La Forma I cristalina resultante contiene consistentemente cantidades sustanciales de disolvente residual, aunque los patrones PXRD de todas las muestras producidas son idénticos.

30 Por ejemplo, una muestra de la Forma I recrystalizada (muestra PP502-P1) contiene aproximadamente 0,9 % de acetona según se determina por TG-FTIR. No se observó pérdida de masa por debajo de aproximadamente 200 °C; sin embargo, el calentamiento posterior da como resultado una liberación de disolvente de acetona junto con la fusión de la forma sólida (el punto de fusión de la forma sólida es de aproximadamente 215 °C). El secado prolongado a temperaturas de secado convencionales no necesariamente reduce eficazmente los solventes residuales. Sin embargo, se ha demostrado que la recrystalización en otros disolventes (por ejemplo, etanol) retira el disolvente residual de la Forma I.

40 La cristalización de un material amorfo después de la conversión de una sal a la base libre es fundamentalmente diferente del proceso de recrystalización de una forma polimórfica estable tal como la Forma I. La Forma I es mucho menos soluble que la forma amorfa, ya que normalmente se recupera después de la extracción y evaporación del disolvente; sin embargo, la solubilidad puede cambiar si la base libre cristaliza espontáneamente después del paso de extracción. Aunque no se conoce la diferencia específica en la solubilidad entre la forma amorfa y la forma cristalina estable, varía en un factor de 10 a 100.

45 En la metodología actual, se mezclan preferentemente 100 mg/ml de la Forma I estable en un disolvente clase 3 ICH o una mezcla de disolventes para fines de recrystalización. Las posibilidades de disolventes se redujeron al recopilar datos detallados de solubilidad para los disolventes más comunes. No se sabe que la Fórmula (1) cristalice en diferentes polimorfos, es decir, no se obtuvo ninguna otra forma no solvatada de un experimento de cristalización a partir de una solución saturada.

50 El estudio del polimorfismo mostró que la Forma I es estable y que esta forma se obtiene de manera consistente cuando la actividad de agua estaba por debajo del límite crítico para la formación de hidratos. Se recomienda un proceso de siembra porque la siembra permite un mejor control del proceso de cristalización para obtener una forma más reproducible, tamaño de partícula, y distribución de forma. Las muestras en la Tabla 18 se usaron en este estudio.

55 TABLA 18. Muestras utilizadas en la optimización del proceso de cristalización para el estudio de la Forma I de base libre de Fórmula (1).

Nombre de la muestra	Muestra N.º	Código de muestra	Forma
Fórmula (1), recrystalizada	CS13-083 HB873-98	PP502-P1	Forma I
Fórmula (1), aceite crudo	CS13-083 HB933-54-4	PP502-P61	Aceite
Fórmula (1), (CML 1476) sal de maleato	CS13-083 HB933-54-5	PP502-P67	Cristalina
Fórmula (1), recrystalizada	CS13-083, Am-1406	PP502-P62	Forma I

Ejemplo 8.1. Solubilidad por HPLC

La solubilidad de la Forma I de Fórmula (1) recristalizada se probó en diversas mezclas de agua-solvente y disolventes no acuosos. Los datos completos de solubilidad generados para estos y otros sistemas de disolventes se presentan en la Tabla 19 a continuación.

5 TABLA 19. Datos de solubilidad para la Forma I. MEK se refiere a metil etil cetona y THF se refiere a tetrahidrofurano.

Disolvente puro	Solubilidad (S, mg/ml)	Mezcla de disolventes	Solubilidad (S, mg/ml)
acetona, 25 °C	4,1	etanol - agua 96:4, 0 °C	6,7
acetona a RFT	10,0	etanol - agua 96:4, 25 °C	10,0
acetato de etilo, 25 °C	1,5	etanol - agua 96:4, 60 °C	24,7
etanol, 5 °C	3,6	etanol - agua 9:1, 25 °C	23,7
etanol, 25 °C	4,4		
etanol, 50 °C	10,2		
MEK, 25 °C	3,7		
metanol, 25 °C	19,9		
1-propanol, 5 °C	3,4		
1-propanol, t.a.	4,7		
1-propanol, 25 °C	4,0		
1-propanol, 60 °C	14,4		
2-propanol, 25 °C	1,3		
THF, 25 °C	20,4		

Acetona, etanol, etanol al 96 % y 1-propanol se consideraron sistemas solventes prometedores. La solubilidad en etanol al 96 % es bastante alta a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) y sería necesario enfriar a baja temperatura para obtener buenos rendimientos. El enfriamiento por debajo de 0 °C no se exploró durante el estudio del polimorfismo ya que la cristalización a temperaturas bajo cero conduce a la formación de hidratos. Si bien la presencia de agua en mezclas de codisolventes a alta temperatura puede deteriorar la estabilidad de la Fórmula (1) (indicada por una decoloración roja), el agua todavía sirve como codisolvente útil a niveles de baja concentración de aproximadamente 0,5 a 4 %.

15 Ejemplo 8.2. Ensayos de solubilidad multimax

Se realizaron experimentos de ancho de zona metaestable en un sistema de optimización de proceso de cristalización Mettler-Toledo Multimax equipado con sondas de turbidez, para demostrar el control de la cristalización para la Forma I.

Acetona, etanol y etanol-agua (96:4) se seleccionaron como sistemas de disolventes. Se seleccionaron tres concentraciones diferentes para acetona y etanol; se seleccionaron dos concentraciones diferentes para el sistema de disolventes de etanol-agua (96:4). Los datos de solubilidad obtenidos de los experimentos Multimax estaban de acuerdo con los datos obtenidos previamente; sin embargo, los valores del experimento Multimax son ligeramente inferiores al valor real debido a la naturaleza cinética del experimento Multimax. La dependencia de la temperatura de la solubilidad de la Forma I de base libre de Fórmula (1) en etanol y acetona se representa en la FIG. 27.

Etanol y 1-propanol muestran características de solubilidad similares dado que los puntos de datos para el disolvente de 1-propanol parecen alinearse bien con la curva ajustada para los puntos de datos de etanol. Además, dado que el punto de ebullición del 1-propanol es 97 °C en comparación con un punto de ebullición de 78 °C para etanol, 1-propanol se considera una alternativa viable al etanol que resulta en un aumento sustancial de eficacia de volumen y rendimiento.

Sin siembra, los experimentos de cristalización de enfriamiento de soluciones sobresaturadas no condujeron a la cristalización en ninguno de los disolventes examinados. Como consecuencia, las zonas metaestables en todos los solventes probados son muy anchas. Por tanto, la siembra es obligatoria para controlar el proceso de cristalización y se aplica poco después de que se haya logrado la sobresaturación.

40 Ejemplo 9. Comparación de la tasa de disolución y exposición en perros para Forma I de base libre y Forma II de base libre

La tasa de disolución intrínseca (IDR) se midió para las Formas I y II de la base libre de Fórmula (1). IDR se midió usando una paleta sobre un aparato de disolución equipado con disco estacionario con la concentración determinada usando análisis de cromatografía líquida frente a un estándar. Los resultados normalizados de la intersección en y se muestran en la FIG. 28 con las pendientes y el coeficiente de regresión mostrados. La Forma I tiene IDR de 6,8 mg/cm²/min en fluido gástrico simulado (SGF) (pH 1,2) e IDR de 0,44 mg/cm²/min en tampón HCl/NaCl pH 2,5. La

Forma II tiene IDR de 5,4 mg/cm²/min en SGF e IDR de 0,35 mg/cm²/min en tampón HCl/NaCl pH 2,5. La Forma I, por tanto, muestra un aumento de 26 % en IDR en ambas condiciones en relación con la Forma II, lo que proporciona una tasa de disolución significativamente mayor que es ventajosa.

5 La exposición plasmática de las Formas I y II de la base libre de Fórmula (1) se comparó en nueve perros beagle en ayunas después de una administración oral única de 6 mg/kg de cualquier forma utilizando lotes con una distribución de tamaño de partícula similar. El experimento se realizó en 5 fases semanales, con la Forma II de la última fase. El área bajo la curva de concentración de fármaco en plasma-tiempo (AUC), mostrada en la FIG. 29, refleja la exposición al fármaco después de la administración de cada preparación de Fórmula (1) y se expresa en ng*h/l. La Forma II muestra AUC más baja que la Forma I en todos los perros. La Forma II también muestra C_{max} (concentración máxima) menor que la Forma I en todos los perros. Se concluyó que la Forma I tenía mayor exposición en el beagle que la Forma II. Hubo una buena correlación *in vitro in vivo* para las tasas de disolución de la Forma 1 y la Forma II, y el rendimiento de cada forma de Fórmula (1) cuando se administra por cápsula oral a los perros. El rendimiento superior de la Forma I en este estudio en perros demuestra que es posible una dosificación más favorable en humanos con respecto a la Forma II.

Ejemplo 10. Superar los efectos de los agentes reductores de ácido con formulaciones de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida

20 Los agentes reductores de ácido, tales como omeprazol, pueden limitar la exposición de la base libre de Fórmula (1) en mamíferos debido al perfil de solubilidad de pH discutido previamente de Fórmula (1). Este es un problema importante en el tratamiento de pacientes con cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades inmunes, y enfermedades autoinmunes, dado que estos pacientes son comúnmente coadministrados con agentes reductores de ácido para irritación gástrica que a menudo acompaña a sus afecciones. Los agentes reductores de ácido son los medicamentos más comúnmente recetados en América del Norte y Europa occidental. De las terapias de cáncer orales aprobadas recientemente, > 50 % tienen una solubilidad dependiente del pH y, por tanto, tienen una interacción potencial de fármacos con respecto a los agentes reductores de ácido. En pacientes con cáncer, se estima que 20-33 % de todos los pacientes están usando alguna forma de agente reductor de ácido. En cánceres particulares, tales como cáncer de páncreas o cáncer gastrointestinal, El uso de agentes reductores de ácido es tan alto como 60-80 % de pacientes. Smelick, *et al.*, Mol. Pharmaceutics 2013, 10, 4055-4062.

35 La preocupación de posibles interacciones farmacológicas con agentes reductores de ácido para fármacos débilmente básicos ha llevado al desarrollo de estrategias de evaluación de riesgos y diseños de estudios de interacciones farmacológicas para nuevos fármacos que exhiben solubilidad y disolución dependientes del pH. Smelick, *et al.*, Mol. Pharmaceutics 2013, 10, 4055-4062. Los agentes reductores de ácido incluyen inhibidores de la bomba de protones, tales como omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, dexlansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, e ilaprazol; antagonistas del receptor de H₂, tales como cimetidina, ranitidina, y famotidina; y antiácidos tales como bicarbonatos, carbonatos, e hidróxidos de aluminio, calcio, magnesio, potasio, y sodio. Las mezclas de antiácidos más agentes dirigidos a mecanismos de secreción gástrica también pueden usarse como agentes reductores de ácido con o sin receta. También se puede usar cualquier otro agente reductor de ácido conocido en la técnica. En algunos casos, El efecto de un agente reductor de ácido es transitorio y depende de la presencia del agente en el estómago. En otros casos, el efecto de un agente reductor de ácido puede ser pronunciado durante todo el intervalo de tratamiento, proporcionando una elevación constante del pH gástrico a niveles superiores a pH 4.

45 Los términos hipoclorhidria y aclorhidria se refieren a condiciones en las que la secreción gástrica de ácido clorhídrico es menor de lo normal o se reduce severamente a inexistente. El pH natural del estómago se reduce por las secreciones ácidas en respuesta a la estimulación alimentaria; en ciertas condiciones médicas, la capacidad de la bomba de protones gástrica para secretar ácido se ve comprometida. Infecciones con *H. pylori* se han asociado con alteración de la secreción de ácido gástrico (hipoclorhidria o aclorhidria). Otros estados de enfermedad, incluidos aquellos en los que las células parietales gástricas se destruyen o agotan, o la señalización en las células parietales gástricas se altera, pueden conducir a hipoclorhidria o aclorhidria. El uso a largo plazo de inhibidores de la bomba de protones o antagonistas de los receptores H₂ también pueden provocar estas afecciones. La evaluación del pH gástrico en el transcurso de un día (a través de comidas) se puede controlar en pacientes con sondas de pH *in situ*, si es necesario, como ayuda diagnóstica.

55 La disolución de la Forma 1 de Fórmula (1) en medios acuosos, tales como líquido estomacal, depende del pH (véanse, por ejemplo, FIG. 30 y FIG. 31, discutido con más detalle en el Ejemplo 11). Por tanto, la biodisponibilidad de la Fórmula (1) puede modificarse por factores que mejoran su disolución. Las formas alternativas de Fórmula (1) y la acidificación de la formulación de la Forma 1 de Fórmula (1) se probaron en perros tratados con 10 mg/día de omeprazol para evaluar el grado en que una forma alternativa de Fórmula (1) puede superar los efectos de agentes reductores de ácido.

65 Los perros se trataron con cápsulas de 100 mg de Fórmula (1) en varios estudios relacionados con los mismos animales y un estricto programa de dosificación para minimizar la variabilidad intra e inter-animal. Todas las dosis fueron seguidas de 35 ml de H₂O destilada por sonda oral para estandarizar el volumen de disolución con cada administración de dosis. Los perros se acondicionaron para recibir cápsulas falsas y seguidas de agua en los días sin

dosis; los alimentos también se controlaron para reducir la variabilidad asociada con las secreciones de ácido gástrico en respuesta a la presentación y consumo de comida. El régimen de acondicionamiento se siguió de forma continua durante al menos seis meses, y se utilizaron los mismos 12 perros para todos los estudios descritos a continuación.

5 El estudio 2219-057 utilizó 100 mg de Fórmula (1) en cápsulas líquidas (hidroxil- β -ciclodextrina/citrato, 2 dosis) para establecer la barra de absorción sin un componente de disolución asociado con la forma sólida. El estudio 2219-059 usó la Fórmula (1) con la formulación F-1 y el estudio 2219-061 usó la Fórmula (1) con la formulación F-2 sola o después del pretratamiento de los perros con omeprazol, luego se procedió a probar las formas de sal de Fórmula (1) en la formulación F-1 y una formulación ácida de la Forma I de Fórmula (1) denominada FA-3 (véase el Ejemplo 11 a 10 continuación para la preparación de formulaciones). Los perros acondicionados se dosificaron con 100 mg de Fórmula (1) en fases de dosificación secuenciales separadas por períodos de lavado de 4-7 días. Se administraron cápsulas líquidas o cápsulas sólidas que contienen la Forma I de Fórmula (1); a efectos de comparación, se administró una formulación clínica o cápsulas rellenas a mano con una mezcla de Avicel. Después de estas fases iniciales de estudio, los perros se trataron con 10 mg/día de omeprazol durante el resto del estudio. Después de cuatro días de tratamiento con omeprazol, se administraron 100 mg de la Forma I de Fórmula (1) en la formulación clínica, en una formulación que contiene acidulantes, o en cápsulas que contienen 100 mg de base libre equivalente de las sales de maleato de Fórmula (1), fosfato, fumarato o tartrato, y las concentraciones plasmáticas de Fórmula (1) se midieron en múltiples puntos de tiempo entre 0 y 12 horas.

20 El estudio 2219-061 utilizó la Forma I de Fórmula (1) recristalizada en etanol, como se describe en este documento, y las formas de sal de maleato, fosfato, fumarato y tartrato de Fórmula (1) descritas en este documento. Tras la recopilación de datos farmacocinéticos después de la administración de una dosis de cápsulas de 100 mg en la formulación F-2, el tratamiento con omeprazol (10 mg/día) se inició como parte del régimen de acondicionamiento. Las fases restantes del estudio se realizaron en perros tratados con omeprazol. Después de 4 días con omeprazol, los perros recibieron dosis de formas o formulación farmacológica experimentales de Fórmula (1) además de la dosis diaria continua de omeprazol. Las formas de sal se dosificaron para igualar 100 mg de base libre de Fórmula (1). La formulación F-1 se usó para dosificar las formas de sal después de la corrección por contracción y contenido de agua. La formulación de ácido prototipo (FA-3) utilizó tanto ácido fumárico como ácido alginico como una mezcla extragranular con la Fórmula granulada (1) en la formulación F-2.

30 FIG. 32 muestra cambios en AUC, C_{max} y T_{max} por fase de estudio, con cada estudio o fase de estudio presentado secuencialmente. El estudio inicial con formulación líquida en cápsulas para administrar 100 mg de Fórmula (1) en solución fue diseñado para mostrar exposiciones después de esta dosis (es decir, no limitada a la disolución), y para caracterizar la variabilidad en perros cuando se retira la variación asociada a la disolución. La mayor exposición media y la menor variabilidad en y entre animales observada después de la administración de la Fórmula (1) completamente disuelta en cápsulas líquidas a perros acondicionados demuestran que la disolución de la Forma I de Fórmula (1) juega un papel en la limitación de la absorción oral, indicando que la disolución óptima mejorará la absorción.

40 La variación restante en los parámetros farmacocinéticos observados después de la administración de cápsulas líquidas puede deberse a factores intrínsecos que varían entre los perros beagle endogámicos. Este efecto también se ha demostrado usando cápsulas líquidas de 25 mg y cápsulas de la Forma I de Fórmula (1) usando una versión a escala de dosis de F-1. La variabilidad entre animales después de la administración de una cápsula líquida o cápsulas sólidas coincidentes que contienen la Forma I de Fórmula (1) a una dosis fija, puede resultar de pequeñas variaciones en la dosis de mg/kg del artículo de prueba, así como de otros factores intrínsecos, tales como los que rigen el metabolismo y la eliminación del fármaco. Agregar una normalización basada en peso para las AUC en los experimentos en forma sólida con este grupo de perros reforzará aún más la variación entre animales en cada intervalo de dosificación. Los valores de AUC y C_{max} ajustados a dosis se pueden comparar con la mayor precisión para el análisis estadístico de los resultados experimentales.

50 Después de la administración de las formas de sal o la Forma I de Fórmula (1) en formulación ácida para superar el efecto del omeprazol, T_{max} aumentó en la mayoría de los perros. Aunque hubo una tendencia hacia una C_{max} media menor en estas fases de estudio (Figura 32), el patrón no se observó con cada fase o para todos los perros. Se ha observado una tendencia similar en perros y humanos cuando la Forma I de Fórmula (1) se administra con alimentos. Notablemente, los niveles medios de AUC en perros tratados con formas de sal de Fórmula (1) o con la formulación ácida de Forma I, fueron similares a las AUC observadas en perros después de la administración de la Forma I sin omeprazol. Hubo una tendencia a disminuir la variabilidad entre animales cuando se administraron estas formas de dosificación experimentales, en comparación con las cápsulas de Forma I administradas en perros acondicionados sin tratamiento con omeprazol. Por tanto, las exposiciones después de la dosificación oral con Fórmula (1) en forma de sal aumentan en presencia de omeprazol, y la variabilidad en la exposición disminuye tanto en perros tratados con omeprazol como en perros condicionados sin tratamiento con omeprazol. La formulación ácida prototipo (FA-3) para la Forma I de Fórmula (1) tiene un efecto similar.

65 El efecto observado de formas salinas alternativas y acidulantes con la Fórmula (1) en la absorción oral en perros tratados con omeprazol es novedoso y sorprendente. La dependencia de pH de la disolución de Fórmula (1) está asociada con la estabilidad de las especies ácidas y básicas en soluciones acuosas, y con la energía libre de disolución durante la transición de fase. Las correlaciones *in vitro-in vivo* demostraron que se asociaron limitaciones de disolución

con una absorción deficiente de la Forma I de Fórmula (1) en perros tratados con omeprazol (o perros tratados con agentes reductores de ácido gástrico alternativos, tales como famotidina, carbonato de calcio, u otros tratamientos enumerados anteriormente). En un estudio de fase humana 1, centro único, sin enmascaramiento, secuencia fija, 2 períodos, 3 partes, para evaluar la interacción unidireccional del carbonato de calcio, omeprazol, o rifampicina en la Fórmula (1) en sujetos adultos sanos, el tratamiento de sujetos con agentes reductores de ácido antes de la administración de la Forma I de Fórmula (1) resultó en disminuciones significativas en la exposición. Se demostró el papel del pH en la disolución de la Fórmula (1) *in vitro*, y se postuló la limitación de disolución en la absorción *in vivo*. La adición de acidulantes a la formulación, o la administración de la Fórmula (1) completamente disuelta, son métodos para facilitar la disolución disminuyendo el pH en el microambiente, o para eludir el paso de disolución para un modelo *in vivo* de prueba de concepto. En cambio, la dosificación con las formas de sal alternativas de Fórmula (1), que se esperaba que tuvieran poco impacto en el pH gástrico, demostró que la forma sólida de Fórmula (1) tiene efectos significativos e inesperados en las características de absorción oral en mamíferos.

FIG. 33 compara la dosis normalizada de AUC y C_{max} , con un promedio adicional de exposiciones repetidas para perros para cápsulas líquidas (n = 2 por perro) y F-2 (n = 5 por perro). Los resultados muestran nuevamente que la exposición a la Fórmula (1) puede recuperarse en presencia de omeprazol usando la formulación acidulante FA-3 de la presente invención, así como las sales de la presente invención.

Estos estudios demuestran que se pueden lograr buenas exposiciones en perros tratados con omeprazol mediante una formulación habilitadora para la Forma I de Fórmula (1) o generando una nueva forma de sal de Fórmula (1). Las exposiciones obtenidas usando la formulación FA-3 con acidulante y las sales con omeprazol son sorprendentemente similares a las exposiciones observadas sin omeprazol, y se espera que funcionen bien para otras sales y acidulantes, así como para otros agentes reductores de ácido. La absorción mediada por disolución observada en sujetos humanos puede modelarse en perros. El ensayo de disolución *in vitro* también es un buen predictor de características de absorción *in vivo* de diferentes formulaciones encapsuladas de la Forma I de la Fórmula (1).

Se ha completado un estudio de comparabilidad PK separado (2219-060) para caracterizar las exposiciones de la sustancia farmacológica recristalizada con acetona y recristalizada con etanol en cápsulas fabricadas con la formulación F-2. Estos datos caracterizan más completamente la variabilidad entre y en perros asociada con la absorción de la Fórmula (1) en perros acondicionados que no se tratan con omeprazol e indican que la sustancia farmacológica recristalizada en etanol es adecuada para el desarrollo clínico de fase tardía.

Ejemplo 11. Formulaciones de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida

Las formulaciones de las formas sólidas de Fórmula (1) (sales y Forma I de base libre) se prepararon como se muestra en la Tabla 20.

TABLA 20. Descripción de la Formulación 1 (F-1) y formulaciones de sal ácida.

	F-1 base libre (Forma I)	F-1 maleato (Forma A)	F-1 fumarato (Forma A)	F-1 L-tartrato (Forma A)	F-1 fosfato (Forma A)
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
Fórmula (1)	10-50 %	10-50 %	10-50 %	10-50 %	10-50 %
Celulosa microcristalina	50-90 %	50-90 %	50-90 %	50-90 %	50-90 %

Se prepararon formulaciones adicionales como se muestra en la Tabla 21 usando el siguiente procedimiento. El granulado en seco de Fórmula (1) se mezcló con acidulantes extragranulares. Las mezclas se llenaron en cápsulas de gelatina dura (en el caso de FA-1, FA-2, FA-4 y FA-5) o se comprimieron en un comprimido (en el caso de FA-4).

TABLA 21. Formulaciones de Fórmula (1), que muestran componentes intragranulares y componentes extragranulares.

		FÓRMULA (1)	CELULOSA MICROCRISTALINA SILICIFICADA	ALMIDÓN DE MAÍZ PARCIALMENTE PREGELATINIZADO	ALMIDÓN GLICOLATO DE SODIO	ESTEARATO DE MAGNESIO							
							ESTEARATO DE MAGNESIO	ÁCIDO FUMÁRICO	ÁCIDO ALGÍNICO	POLOXAMER 407	HIDROXIPROPILMETILCELULO SA		
F-2	% p/p	Intragranular	25-50 %	25-33 %	20-33 %	0-5 %	0,05-1 %	Extragranular	0,05-1 %	--	--	--	--
FA-1	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	0,05-1 %		0,05-1 %	25-33 %	--	--	1-5 %
FA-2	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	0,05-1 %		0,05-1 %	-	15-33 %	--	--
FA-3	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	0,05-1 %		0,05-1 %	15-33 %	5-15 %	--	--
FA-4	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	0,05-1 %		0,05-1 %	15-33 %	5-15 %	--	--
FA-5	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	0,05-1 %		0,05-1 %	15-33 %	5-15 %	0,5-5 %	--

1. Polaxamer 407 se refiere al copolímero tribloque de polipropilenglicol y polietilenglicol (disponible de BASF, Inc., con el nombre comercial PLURONIC F127).

5 Los resultados de los experimentos de disolución usando formulaciones representativas de las de la Tabla 21 a dos valores de pH diferentes se muestran en la FIG. 30 y la FIG. 31. El sistema de disolución fue un aparato de Farmacopea de Estados Unidos Tipo II equipado con palas (a 50 rpm) y recipientes de 900 ml equilibrados a 37 °C. Las muestras se toman a intervalos utilizando una cánula a una profundidad determinada a través de un filtro en línea y se analizan por HPLC de fase inversa con detección espectroscópica UV. Las cápsulas se probaron en pesos, y el comprimido se probó puro.

15 Se pueden preparar formulaciones adicionales según la Tabla 22. Las formulaciones intragranulares pueden prepararse mediante el siguiente procedimiento. Los materiales se mezclan previamente en un mezclador en V de 250 ml para 300 revoluciones. Tras la mezcla, se agrega lubricante y la mezcla se realiza durante 100 revoluciones adicionales. La mezcla se compacta con rodillos en un compactador de rodillos TF-mini y luego se alimenta a través de un granulador oscilante equipado con una pantalla de malla 20. Las formulaciones extragranulares pueden prepararse mediante el siguiente procedimiento. Cuando se agregan ácidos o polímeros extragranulares, se agregan al material extragranular premezclado o puro y luego se añaden granulado en un mezclador en V de 250 ml y durante 300 revoluciones. Tras la mezcla, se agrega lubricante y la mezcla se realiza durante 100 revoluciones adicionales.

20 Los gránulos lubricados se llenan en cápsulas de gelatina dura de tamaño 1 utilizando un disco de dosificación o un encapsulador semiautomático o automático equipado con dosificador. Como alternativa, el material se puede comprimir en una prensa de comprimidos o molde.

TABLA 22. Formulaciones de Fórmula (1).

			FÓRMULA (1) (BASE LIBRE DE FORMA I)	CELULOSA MICROCRISTALINA SILICIFICADA	ALMIDÓN DE MAÍZ PARCIALMENTE PREGELATINIZADO	ALMIDÓN GLICOLATO DE SODIO	ÁCIDO TARTÁRICO	ESTEARATO DE MAGNESIO	ÁCIDO ALGÍNICO		ESTEARATO DE MAGNESIO	ÁCIDO TARTÁRICO	ÁCIDO ALGÍNICO	ÁCIDO ASCÓRBICO	CARBOPOL 971P ¹	HIDROXIPROPILMETILCELULOSA	
FA-7	% p/p	Intragranular	25-50 %	25-33 %	20-33 %	0-5 %	15-33 %	0,05-1 %	5-15 %	Extragranular	0,05 - 1 %	--	--	--	--	--	
FA-8	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	--	0,05-1 %	--		0,05 - 1 %	25-33 %	5-15 %	--	--	--	--
FA-9	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	--	0,05-1 %	--		0,05 - 1 %	--	15-33 %	--	--	--	7,5-15 %
FA-10	% p/p		25-35 %	15-35 %	20-33 %	0-5 %	--	0,05-1 %	--		0,05 - 1 %	--	--	20-50 %	2,5 - 10 %	--	--

1. Carbopol 971P (Lubrizol, Inc.) también se conoce como carboxipolimetileno o "carbómeros" (por ejemplo, en monografías farmacéuticas tales como USP/NF o Ph. Eur.).

- 5 Además de las formulaciones descritas en la Tabla 21 y la Tabla 22, también pueden usarse otros acidulantes como se describe en este documento, incluyendo ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbico y ácido D-araboascórbico), ácido algínico, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), Carbopol 971P (carboxipolimetileno), y Carbomer 941 (ácido poliacrílico).
- 10 Se dan formulaciones adicionales no limitantes en la Tabla 23, y pueden prepararse como se describió anteriormente o usando métodos conocidos en la técnica. Estas formulaciones, y todas las formulaciones anteriores, puede prepararse en cápsulas o comprimidos, con o sin revestimiento.

TABLA 23. Formulaciones de Fórmula (1).

			FÓRMULA (I) (BASE LIBRE DE FORMA I)	CELULOSA MICROCRISTALINA SILICIFICADA	ALMIDÓN DE MAÍZ PARCIALMENTE PREGELATINIZADO	ALMIDÓN GLICOLATO DE SODIO	ÁCIDO TARTÁRICO	ESTEARATO DE MAGNESIO	ÁCIDO ALGÍNICO	HIDROXIPROPILMETILCELULOSA		ESTEARATO DE MAGNESIO	ÁCIDO TARTÁRICO	ALMIDÓN GLICOLATO DE SODIO
FA-11	% p/p	Intragranular	25-50 %	10-25 %	10-25 %	0-5 %	10-30 %	0,05-1 %	10-30 %	--	Extragranular	0,05-2 %	--	0-6 %
FA-12	% p/p	Intragranular	25-50 %	10-25 %	10-25 %	0-5 %	--	0,05-1 %	--	0-20 %	Extragranular	0,05-2 %	10-35 %	0-6 %

Ejemplo 12. Comparación de procesabilidad para Forma I de base libre y Forma II de base libre

5 Tanto la Forma I como la Forma II de la base libre de Fórmula (1) se procesaron bajo parámetros similares usando el proceso y la composición para la formulación F-2 (como se describió anteriormente). La Fórmula (1) se mezcló con los ingredientes y luego se lubricó, luego se compactó con un rodillo compactador de alimentación superior con un paso de granulación separado. Después se lubricaron los gránulos. Los gránulos resultantes de la Forma I y la Forma II se caracterizaron luego para densidad batida y aireada. Los gránulos de la Forma II mostraron una tendencia general a mal flujo y baja uniformidad.

15 La fluidez generalmente afecta a la facilidad de manejo del producto farmacéutico durante el procesamiento. Cuando la fluidez es muy mala, se producen problemas con el manejo y el procesamiento durante la mezcla, granulación y llenado/compresión. La fluidez basada en interacciones interpartícula se puede medir utilizando la relación de Hausner o el índice de compresibilidad midiendo la densidad aireada y batida de los polvos. Estos valores se calculan y clasifican como se describe en la monografía US Pharmacopeia Monograph USP <1174>. Hausner, Int. J. Powder Metall. 1967, 3, 7-13; Carr, Chem. Eng. 1965, 72, 163-168. U.S. Pharmacopeia Monograph USP <1174> define las siguientes categorías de carácter de flujo: Excelente (índice de compresibilidad ≤ 10 %, Relación de Hausner 1,00 a 1,11); Bueno (índice de compresibilidad 11-15 %, Relación de Hausner 1,12 a 1,18); Regular (índice de compresibilidad 16-20 %, Relación de Hausner 1,19 a 1,25); Aceptable (índice de compresibilidad 21-25 %, Relación de Hausner 1,26 a 1,34); Malo (índice de compresibilidad 26-31 %, Relación de Hausner 1,35 a 1,45); Muy malo (índice de compresibilidad 32-37 %, Relación de Hausner 1,46 a 1,59); y muy, muy malo (índice de compresibilidad > 38 %, Relación de Hausner > 1,60).

25 La relación de Hausner y el índice de compresibilidad para los gránulos de Forma I fue de 1,33 y 25 %, respectivamente, mientras que los gránulos de Forma II exhibieron una relación de Hausner de 1,47 y un índice de compresibilidad de 32 %. Los resultados indican que los gránulos de la Forma I tienen un flujo aceptable mientras que los gránulos de la Forma II tienen un flujo de malo a muy malo.

30 Las mezclas se llenaron en cápsulas utilizando un encapsulador automatizado que funciona según el principio del disco de dosificación. Después de llenar a un peso objetivo, se comprueba la uniformidad de peso de las cápsulas y se rechazan las cápsulas fuera de peso. Las cápsulas de Forma I tienen un rendimiento 90-100 % de cápsulas aceptables, mientras que las cápsulas que contienen Forma II tuvieron un rendimiento de solo 40-60 %.

35 Al medir la uniformidad del contenido según lo definido por U.S. Pharmacopeia Monograph USP <905> para una cápsula de gelatina dura, las cápsulas que contienen la Forma II tienen un valor de aceptación superior a 15, mientras que las cápsulas que contienen el Forma I tienen un valor de aceptación inferior a 15.

Los resultados se resumen en la Tabla 24.

40

TABLA 24. Resultados de las pruebas de procesabilidad para la Forma I y la Forma II de base libre de Fórmula (1).

Lote	Densidad aparente g/cc	Densidad batida g/cc	Relación de Hausner	Índice de compresibilidad (%)
F-2 usando Forma I	0,527	0,703	1,33	25
F-2 usando Forma II	0,438	0,644	1,47	32

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo de transmisión que comprende picos a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6, y 15,7 °2θ ± 0,2 °2θ, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu-K_{α1}.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo de transmisión que comprende además picos a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9, y 18,2 °2θ ± 0,2 °2θ, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu-K_{α1}.
- 15 3. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo de transmisión que comprende además uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en 11,3, 15,1, 16,1, 17,3, 19,2, 19,4, 19,8, 20,7, 21,1, 21,4, 21,6, 21,9, 22,6, 23,3, 23,6, 24,9, 25,2, 25,4, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, 26,9, 27,7, 28,6, 29,1, 29,4, 30,1, 30,5, 31,7, 31,9, 32,2, 32,6, 33,1, 33,4, 34,5, 35,9, 36,1, 36,8, 37,4, 38,1, 38,9, y 39,5 °2θ ± 0,2 °2θ, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo se adquirió usando fuente de radiación Cu-K_{α1}.
- 20 4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un espectro Raman que comprende picos a 1620, 1609, 1547, 1514, y 1495 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.
- 25 5. La composición de la reivindicación 4, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un espectro Raman que comprende además uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en 1680, 1574, 1454, 1433, 1351, 1312, 1255, 1232, 1187, 1046, 995, 706, 406, y 280 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.
- 30 6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un espectro infrarrojo (IR) que comprende picos a 1621, 1608, 1403, 1303, y 764 cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹.
- 35 7. La composición de la reivindicación 6, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza por un espectro IR que comprende además uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en 3367, 3089, 2246, 1682, 1574, 1514, 1504, 1454, 1428, 1345, 1248, 1194, 1177, 1149, 1109, 1049, 1023, 1003, 947, 900, 858, 842, 816, 734, 729, 701, 689, 665, 623, y 612 cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹.
- 40 8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la base libre de (S)-4-(8-amino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamida cristalina se caracteriza además por la ausencia de agua en la estructura cristalina.
- 45 9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además un acidulante extragranular.
10. La composición de la reivindicación 9, en donde el acidulante extragranular se selecciona del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido succínico, ácido D-tartárico, ácido L-tartárico, ácido tartárico racémico, ácido ascórbico, ácido isoascórbico (también conocido como ácido eritórbico y ácido D-araboascórbico), ácido algínico o una sal del mismo, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (también conocido como Kelacid NF), y Carbopol 971P (carboxipolimetileno), y combinaciones de los mismos.
- 50 11. La composición de la reivindicación 9, en donde el acidulante extragranular es ácido algínico, o una sal de sodio o potasio del mismo, a una concentración de entre 5 % y 33 % en peso.
- 55 12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la composición comprende además al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 60 13. La composición de la reivindicación 12 para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona del grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica, linfoma no Hodgkin, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma folicular, enfermedad linfoproliferativa de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, macroglobulinemia de Waldenström, leucemia de Burkitt, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, leucemia mielóide aguda, leucemia mielomonocítica juvenil, tricoleucemia, leucemia de mastocitos, mastocitosis, trastornos mieloproliferativos (MPD), neoplasias mieloproliferativas, policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE), mielofibrosis primaria (PMF), síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena crónica (BCR-ABL1-positiva), leucemia neutrofilica crónica, leucemia eosinofílica
- 65

- crónica, linfoma primario del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario multifocal del sistema nervioso periférico (SNP), cáncer de timo, cáncer de cerebro, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de células escamosas, cáncer de piel (por ejemplo, melanoma), cáncer ocular, retinoblastoma, melanoma intraocular, cánceres de cavidad oral y orofaríngeos, cáncer de vejiga, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza y cuello, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer óseo (por ejemplo, cáncer óseo metastásico), cáncer de esófago, cáncer testicular, cáncer ginecológico, cáncer de tiroides, cáncer epidermoide, cáncer relacionado con SIDA (por ejemplo, linfoma), carcinoma cervical inducido por virus (virus del papiloma humano), carcinoma nasofaríngeo (virus de Epstein-Barr), sarcoma de Kaposi, linfoma de efusión primaria (virus del herpes de sarcoma de Kaposi), carcinoma hepatocelular (virus de hepatitis B y hepatitis C), leucemias de linfocitos T (virus-1 de leucemia de linfocitos T humana), hiperplasia benigna de la piel, reestenosis, hipertrofia benigna de próstata, angiogénesis tumoral, enfermedad inflamatoria crónica, artritis reumatoide, aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades de la piel tales como psoriasis, eccema, y esclerodermia, diabetes, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, degeneración macular asociada a la edad, hemangioma, colitis ulcerosa, dermatitis atópica, reservoritis, espondiloartritis, uveítis, enfermedad de Behcet, polimialgia reumática, arteritis de células gigantes, sarcoidosis, enfermedad de Kawasaki, artritis idiopática juvenil, hidratenitis supurativa, síndrome de Sjögren, artritis psoriásica, artritis reumatoide juvenil, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, lupus, y nefritis por lupus.
- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
14. La composición de la reivindicación 12 para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa, en donde la enfermedad hiperproliferativa es leucemia linfocítica crónica.
15. La composición de la reivindicación 12 para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa, en donde la enfermedad hiperproliferativa es linfoma de células del manto.
16. La composición de la reivindicación 12 para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa, en donde la enfermedad hiperproliferativa es linfoma difuso de linfocitos B grandes.
17. La composición de la reivindicación 12 para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa, en donde la enfermedad hiperproliferativa es linfoma folicular.

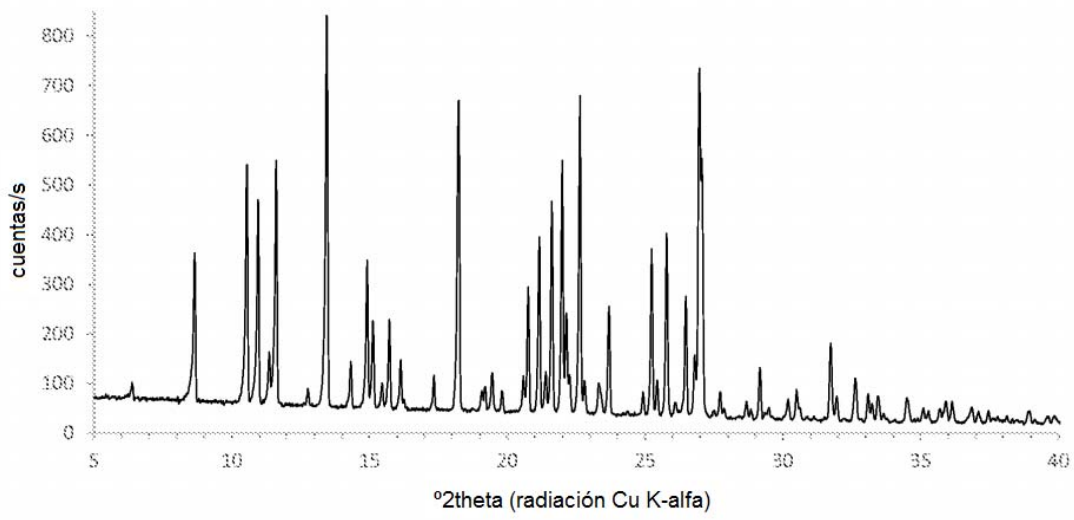


FIG. 1

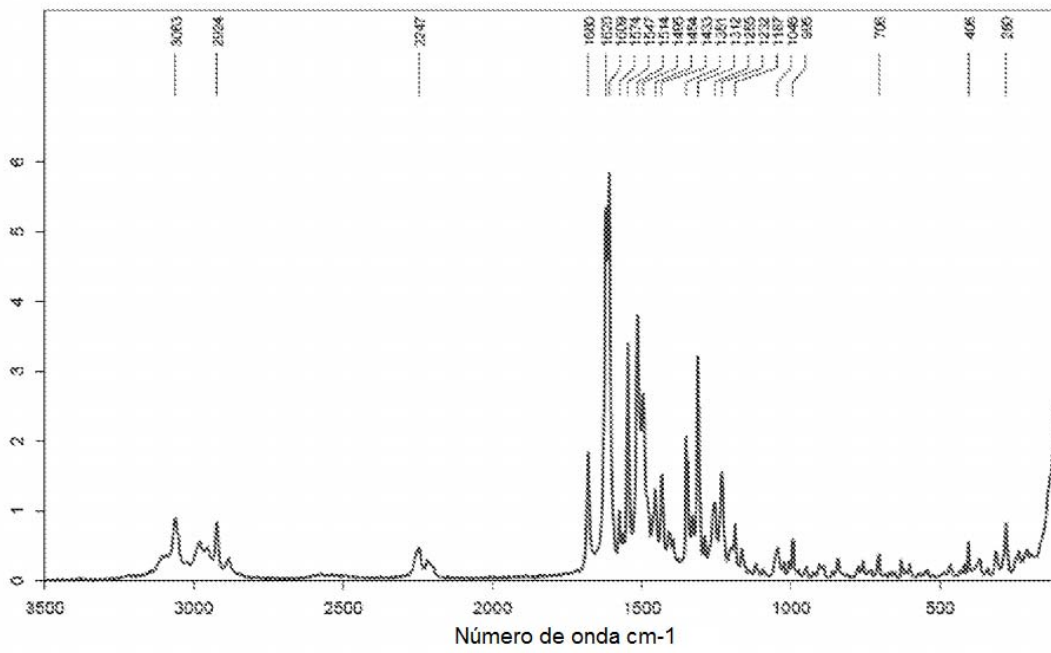


FIG. 2

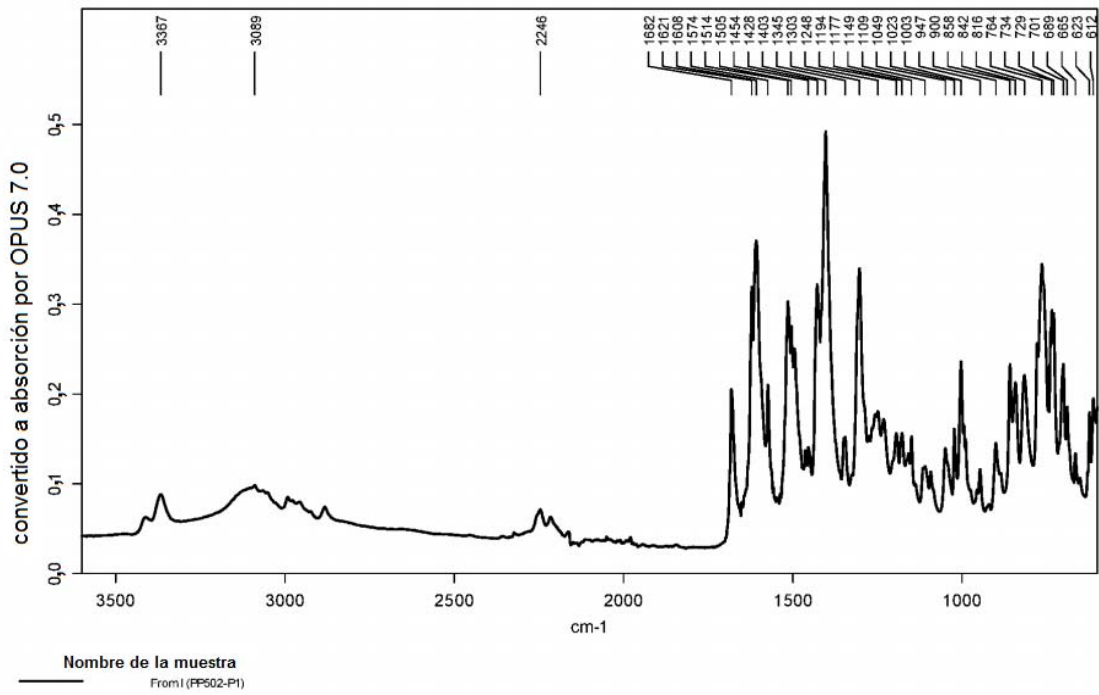


FIG. 3

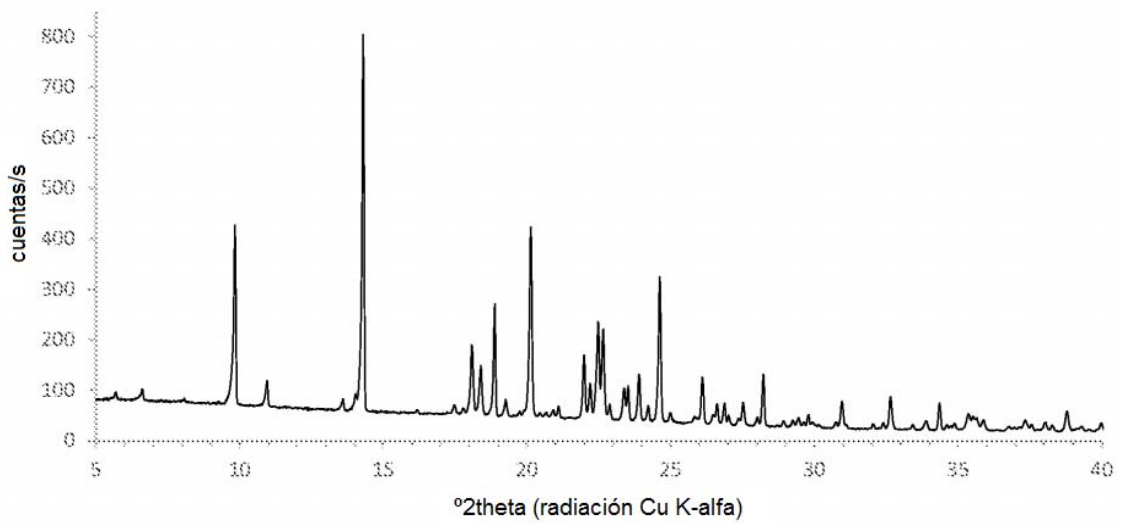


FIG. 4

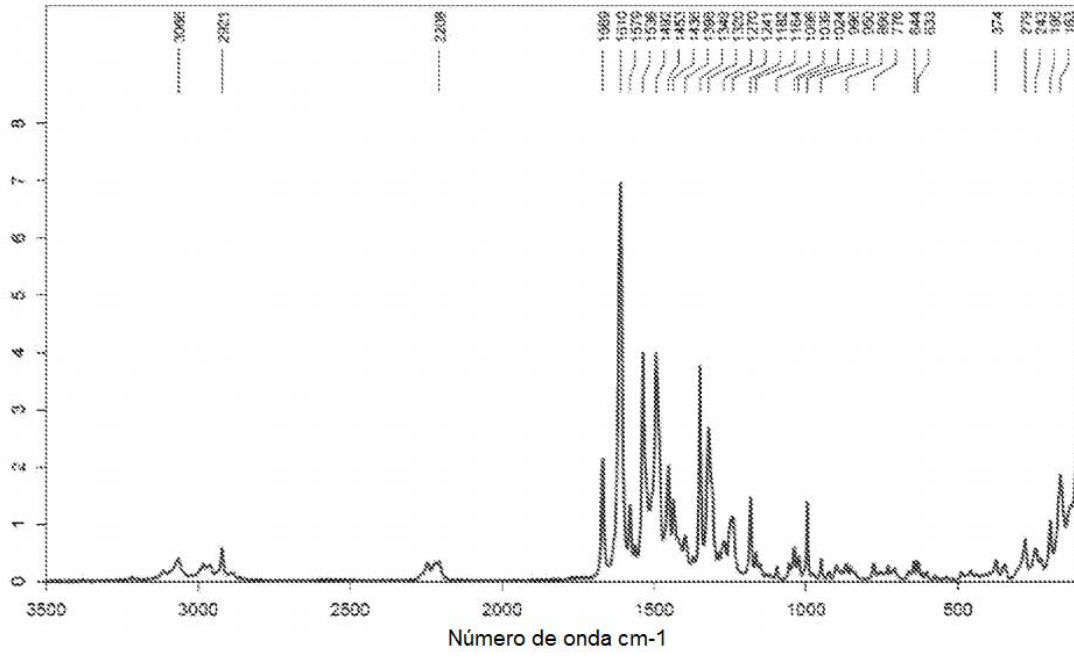


FIG. 5

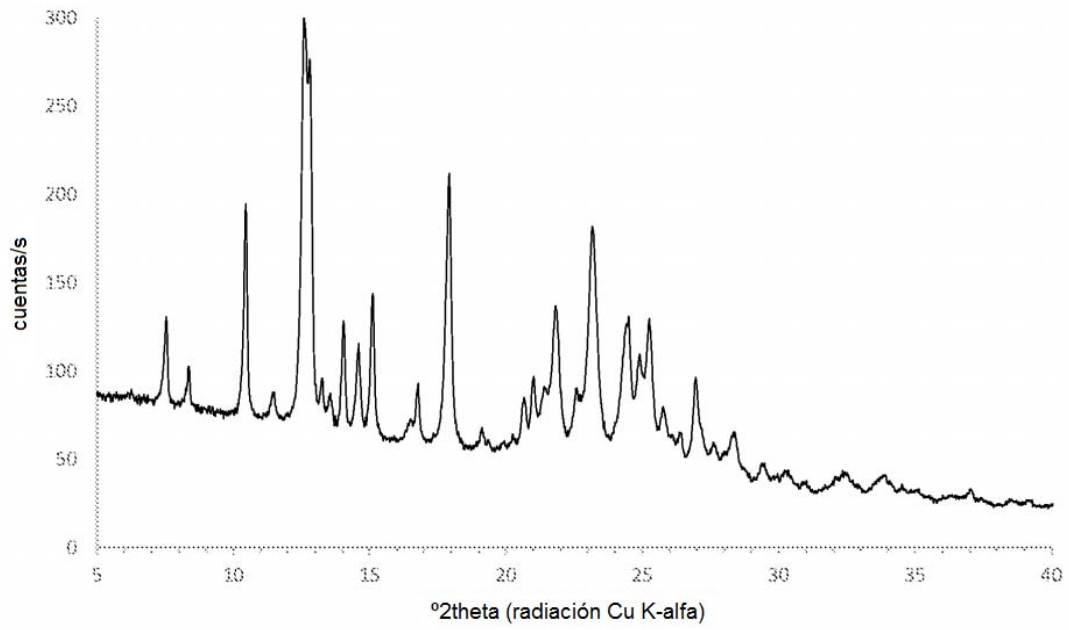


FIG. 6

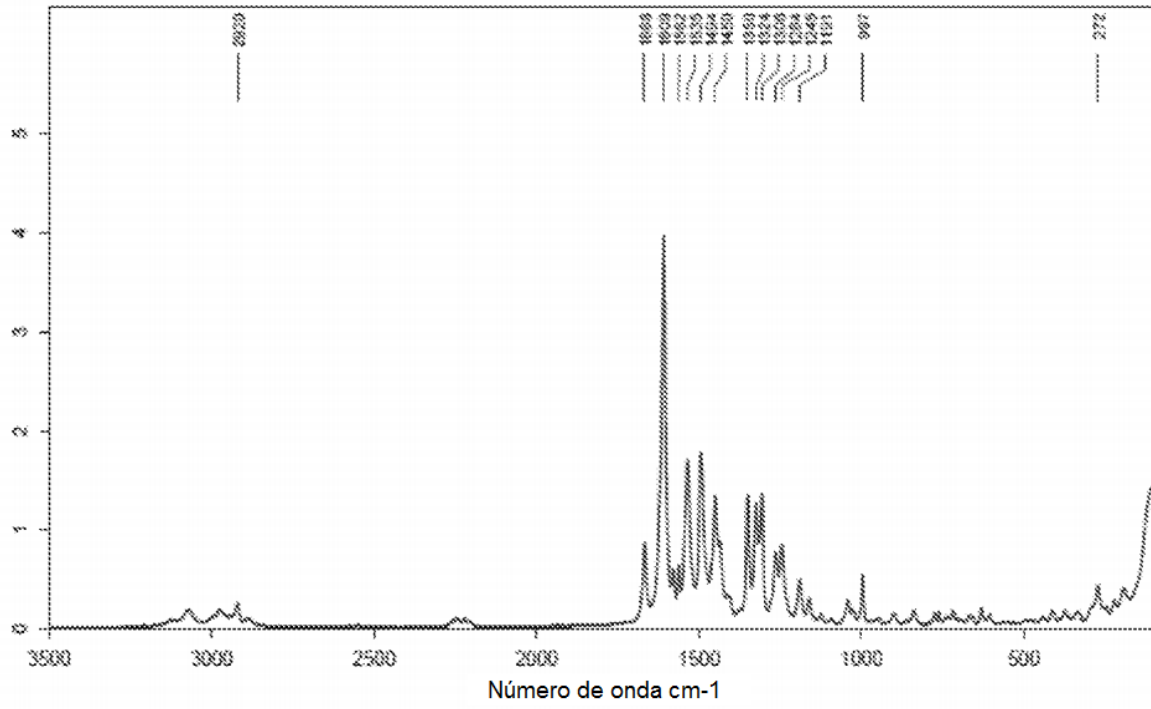


FIG. 7

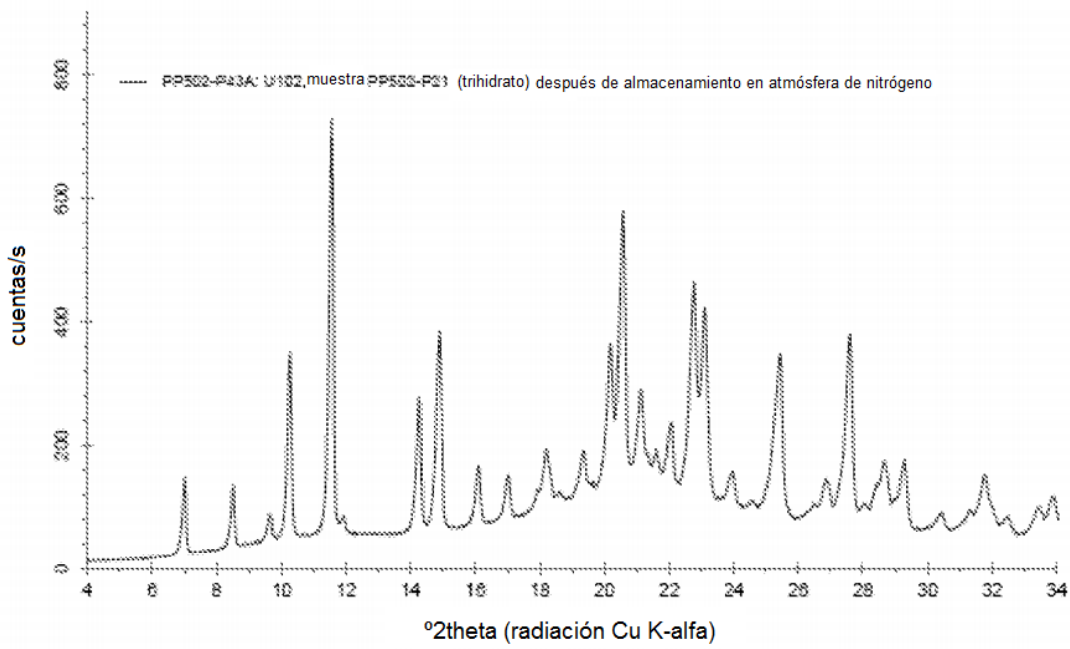


FIG. 8

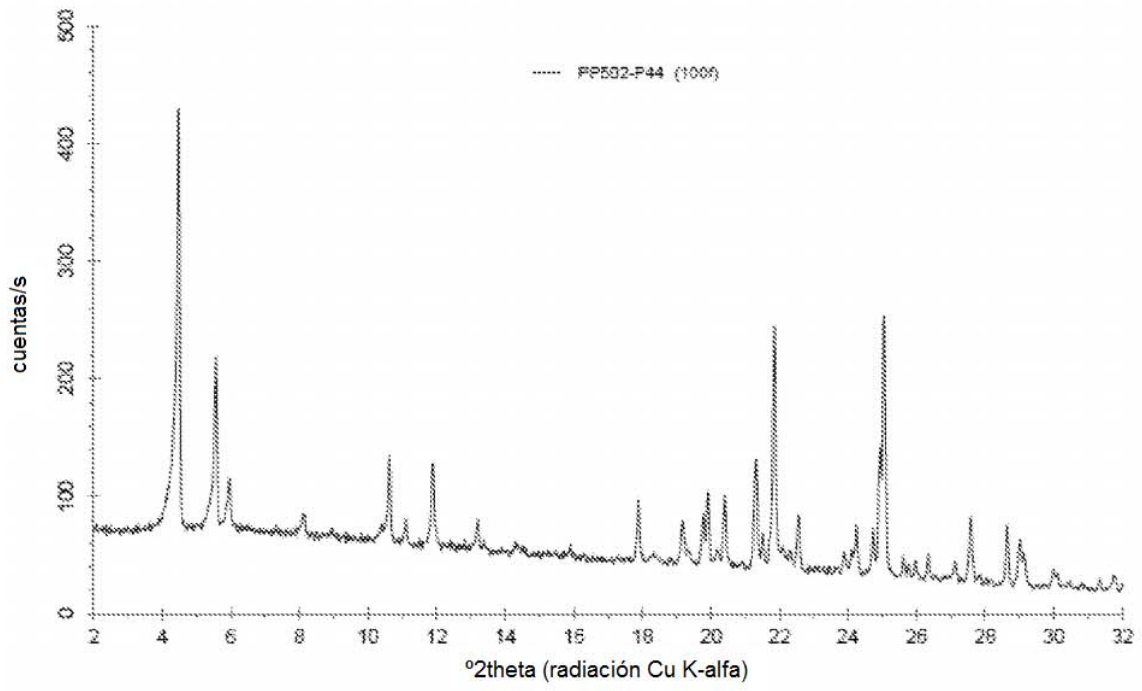


FIG. 9

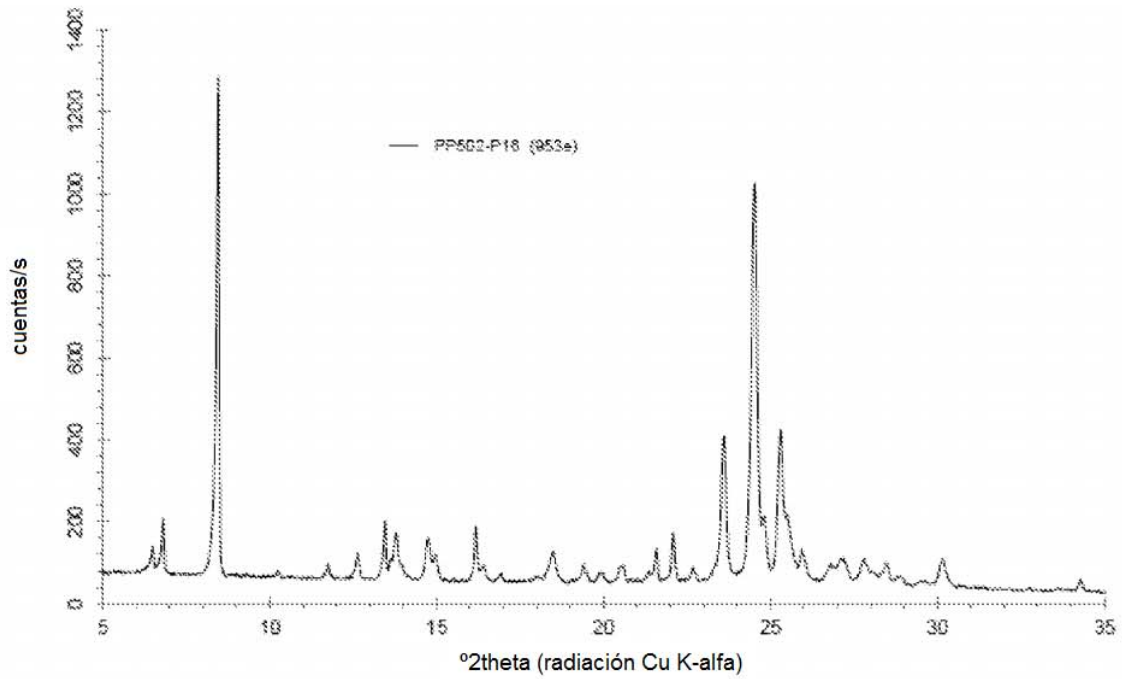


FIG. 10

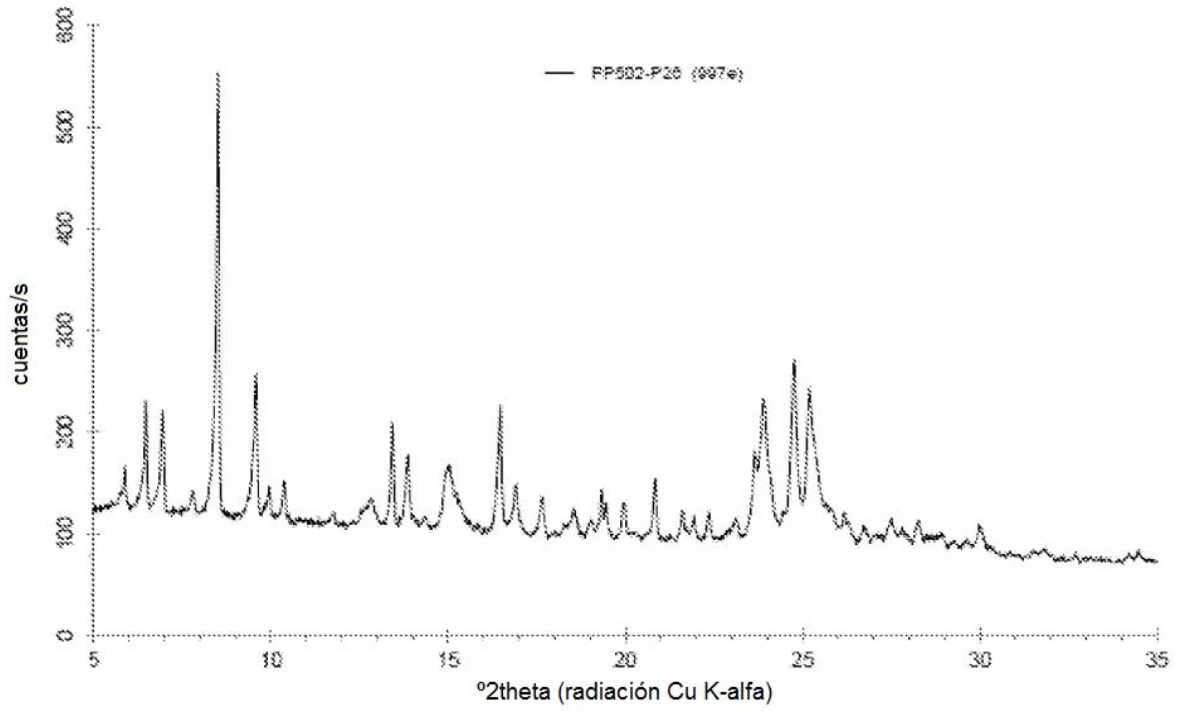


FIG. 11

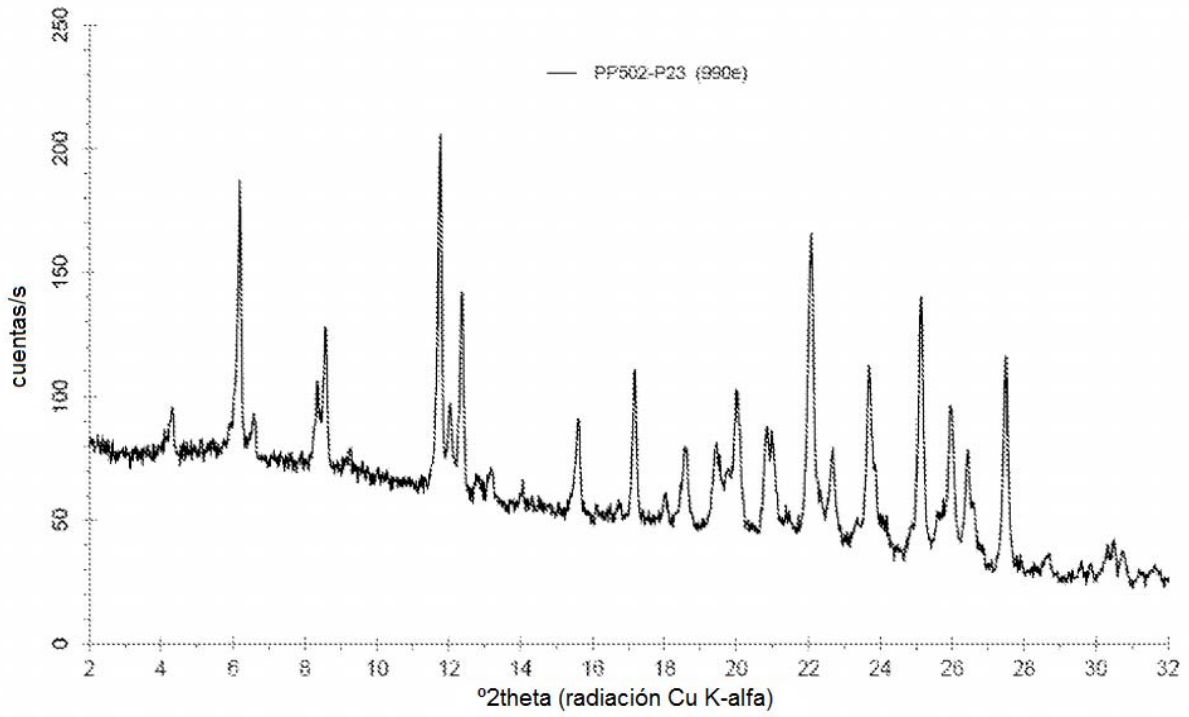


FIG. 12

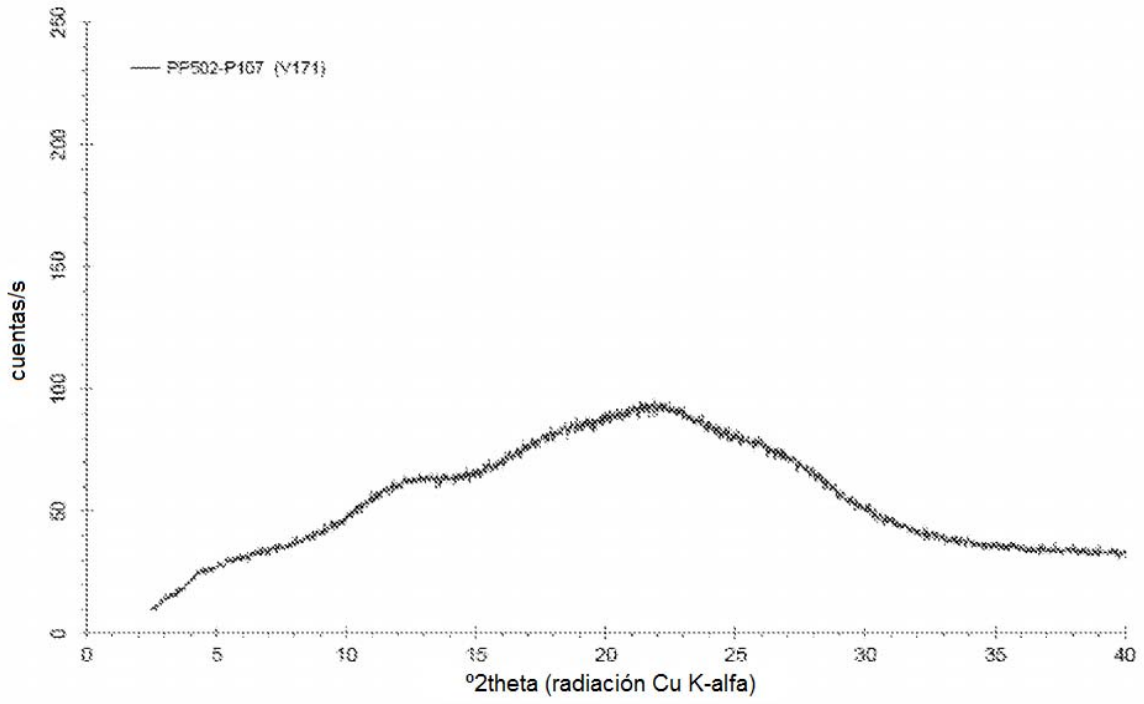


FIG. 13

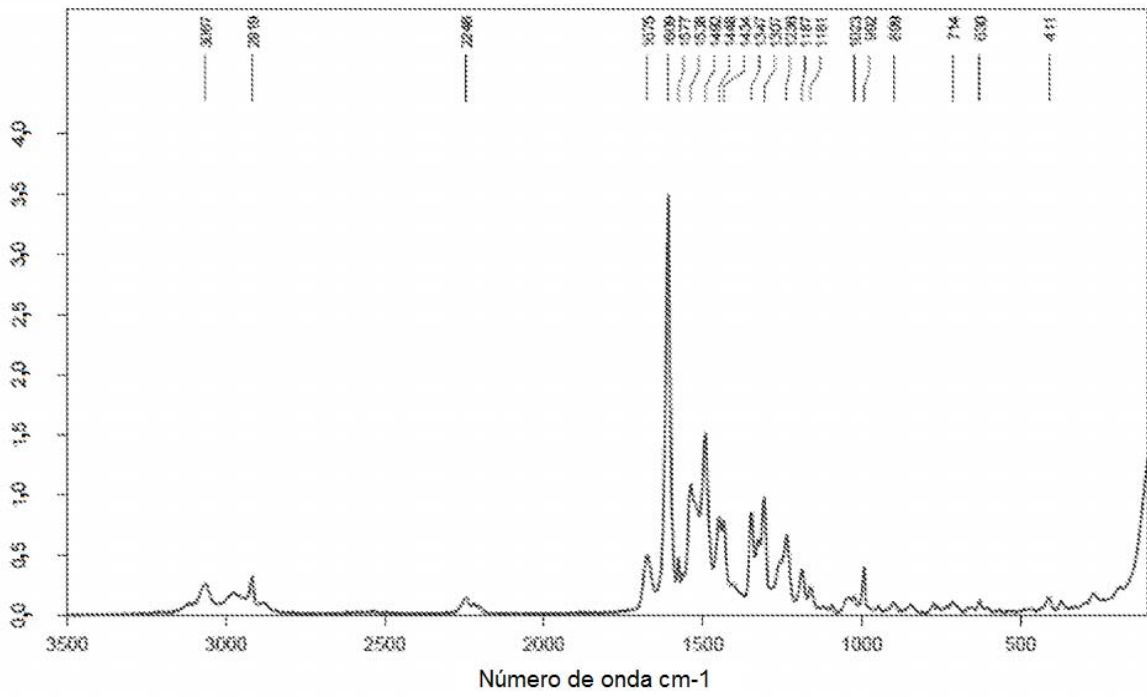


FIG. 14

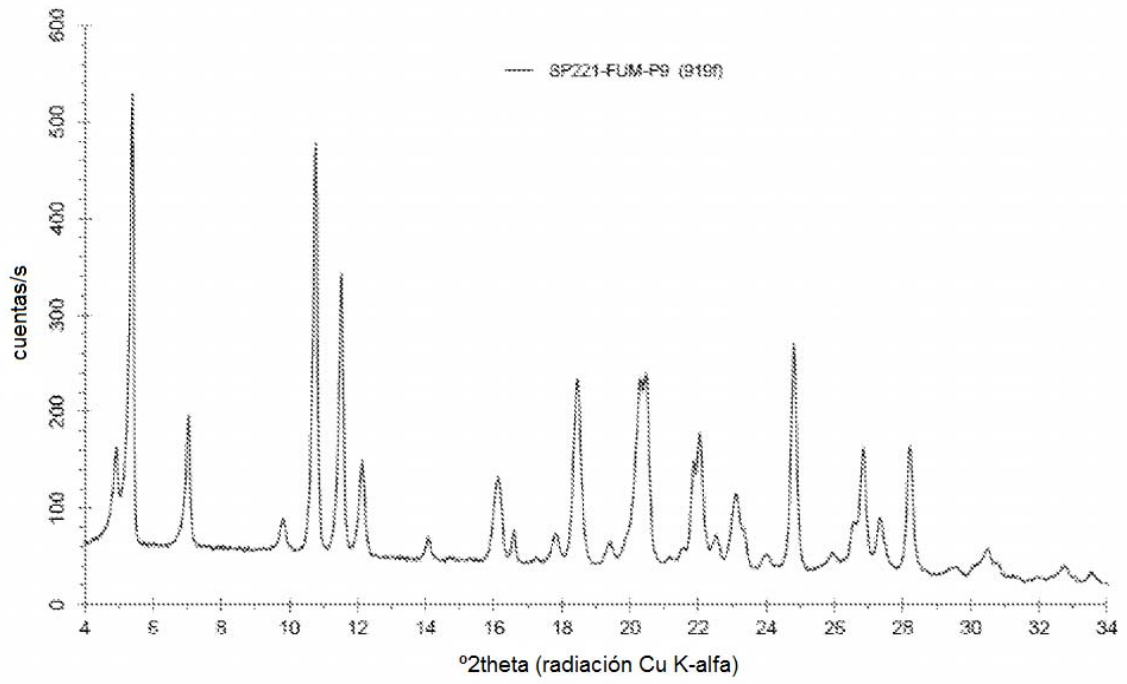


FIG. 15

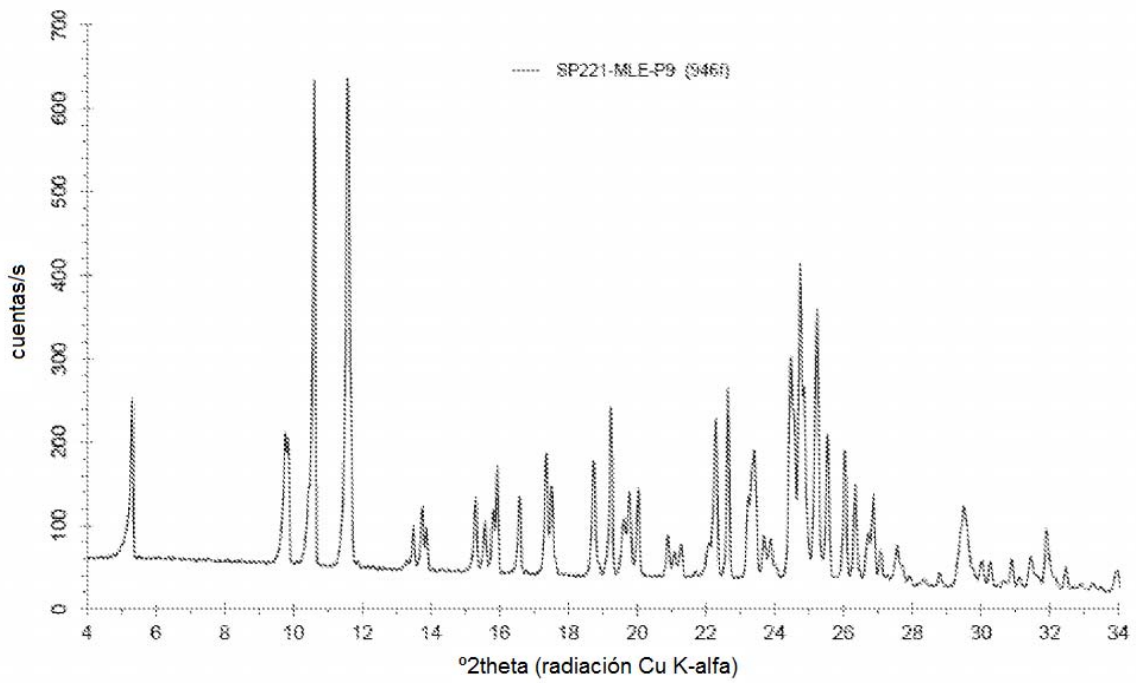


FIG. 16

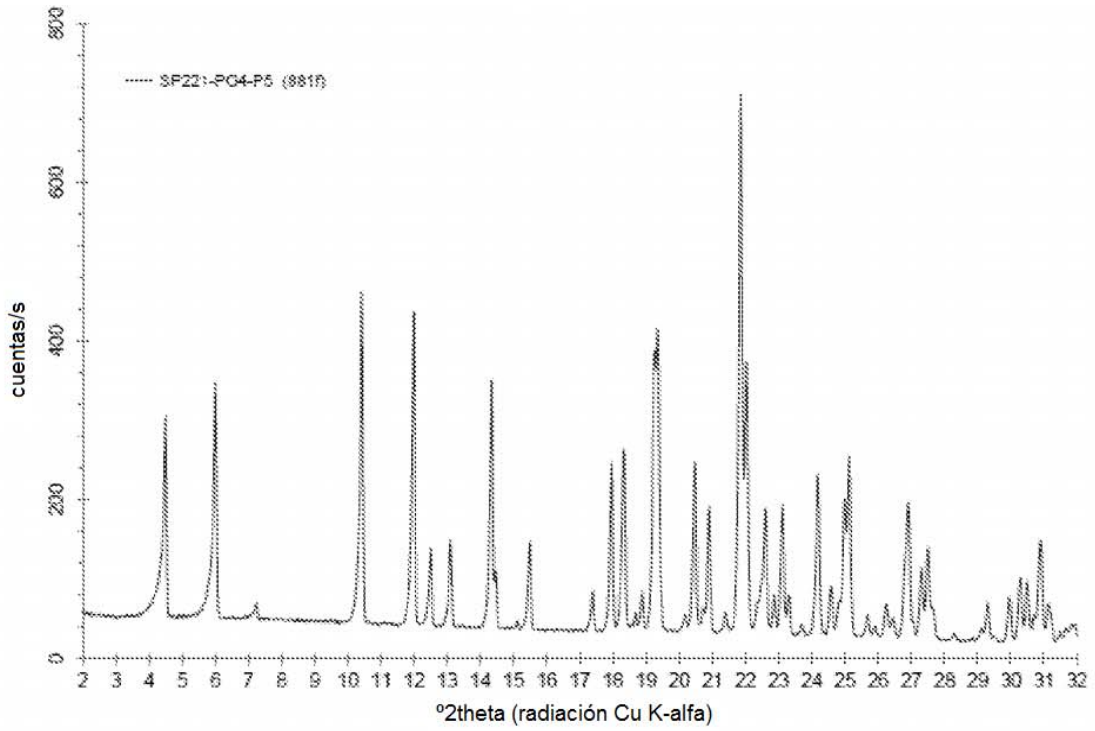


FIG. 17

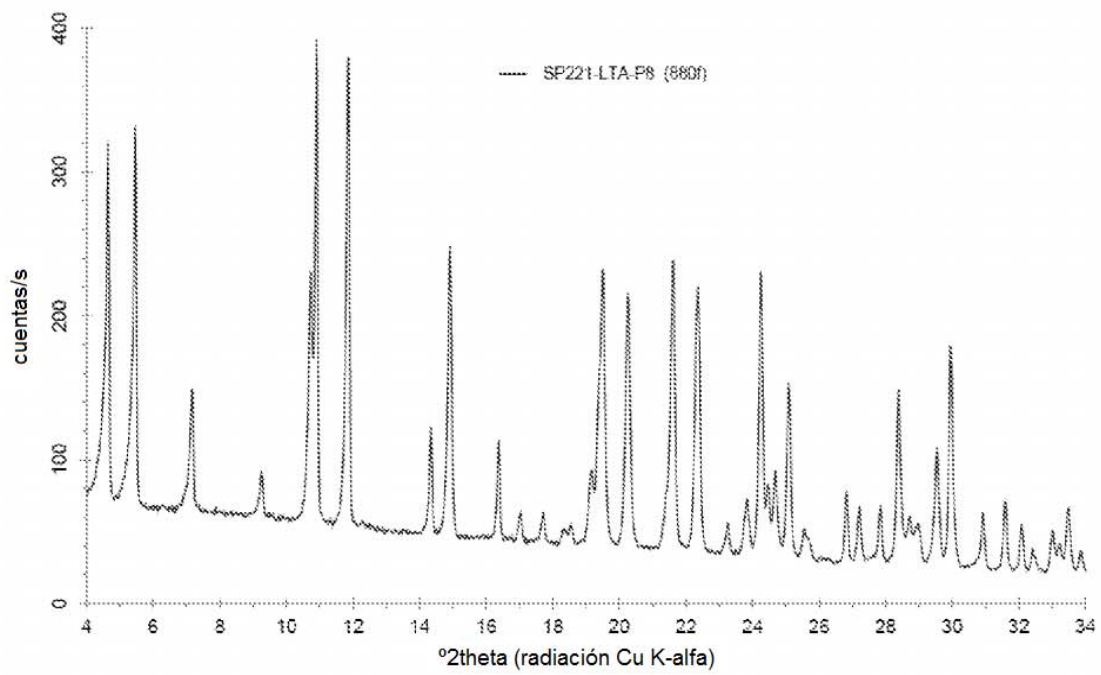


FIG. 18

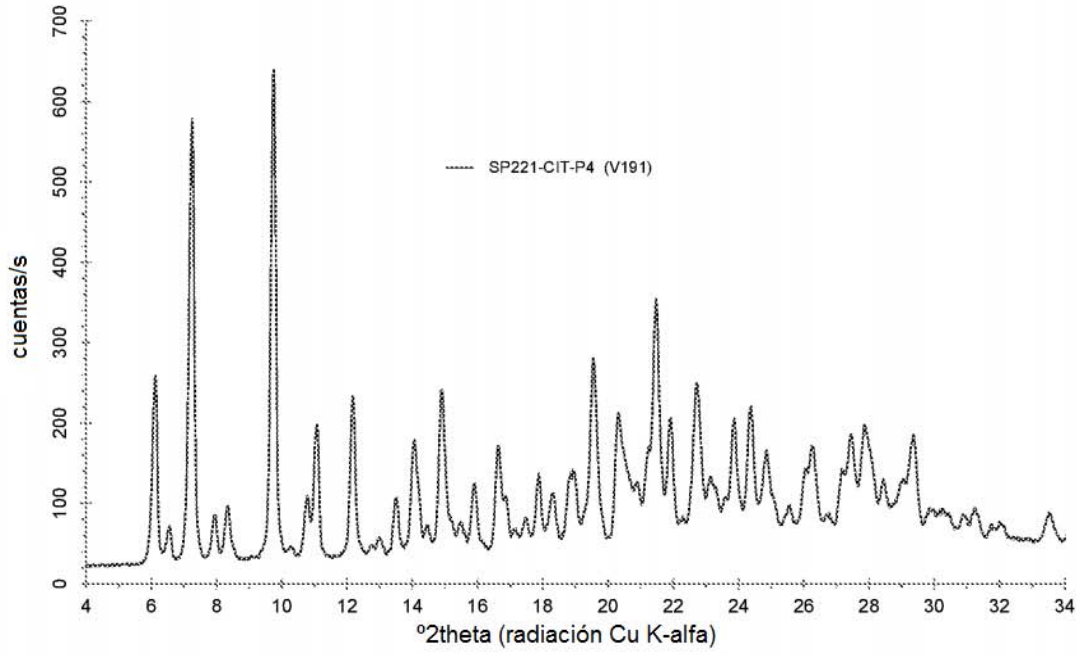


FIG. 19

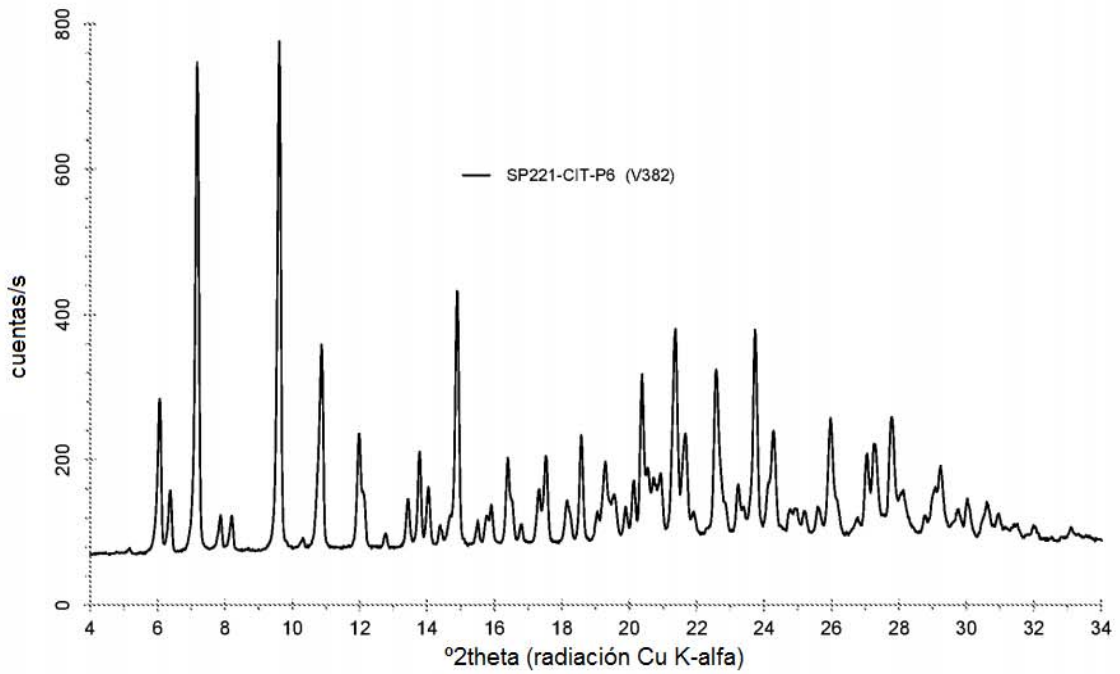


FIG. 20

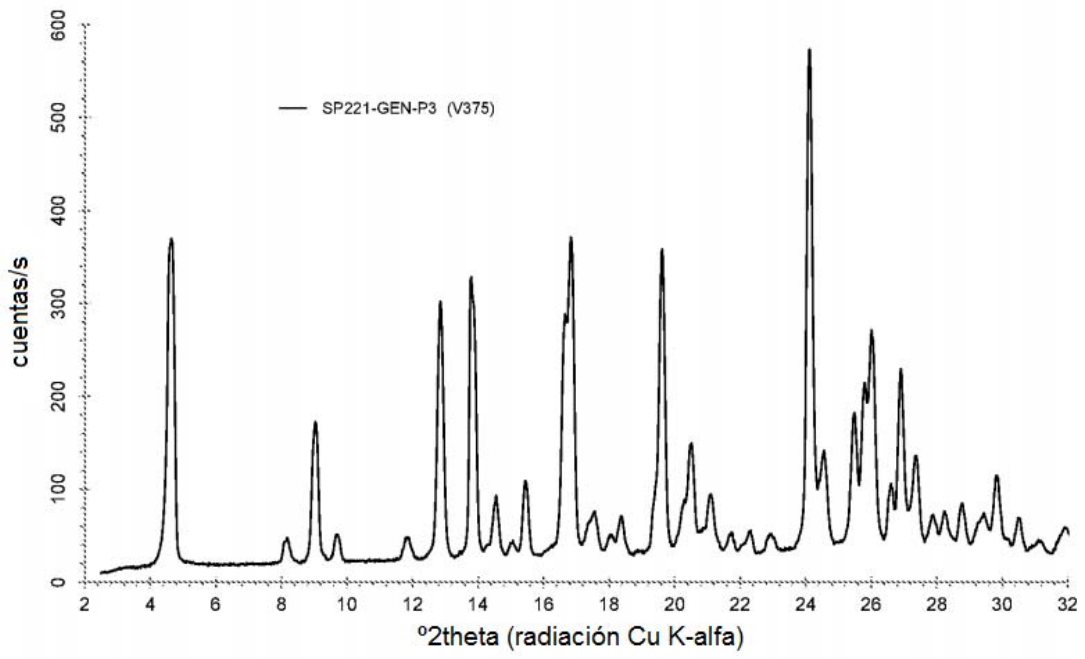


FIG. 21

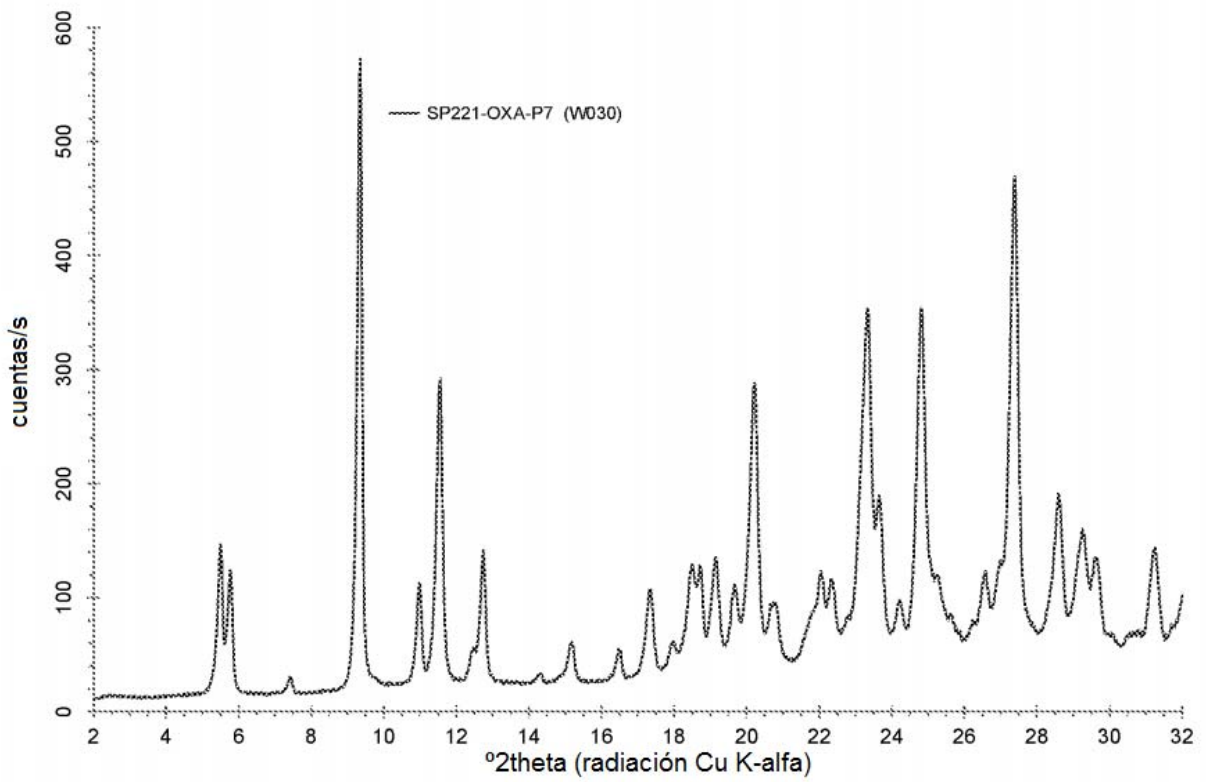


FIG. 22

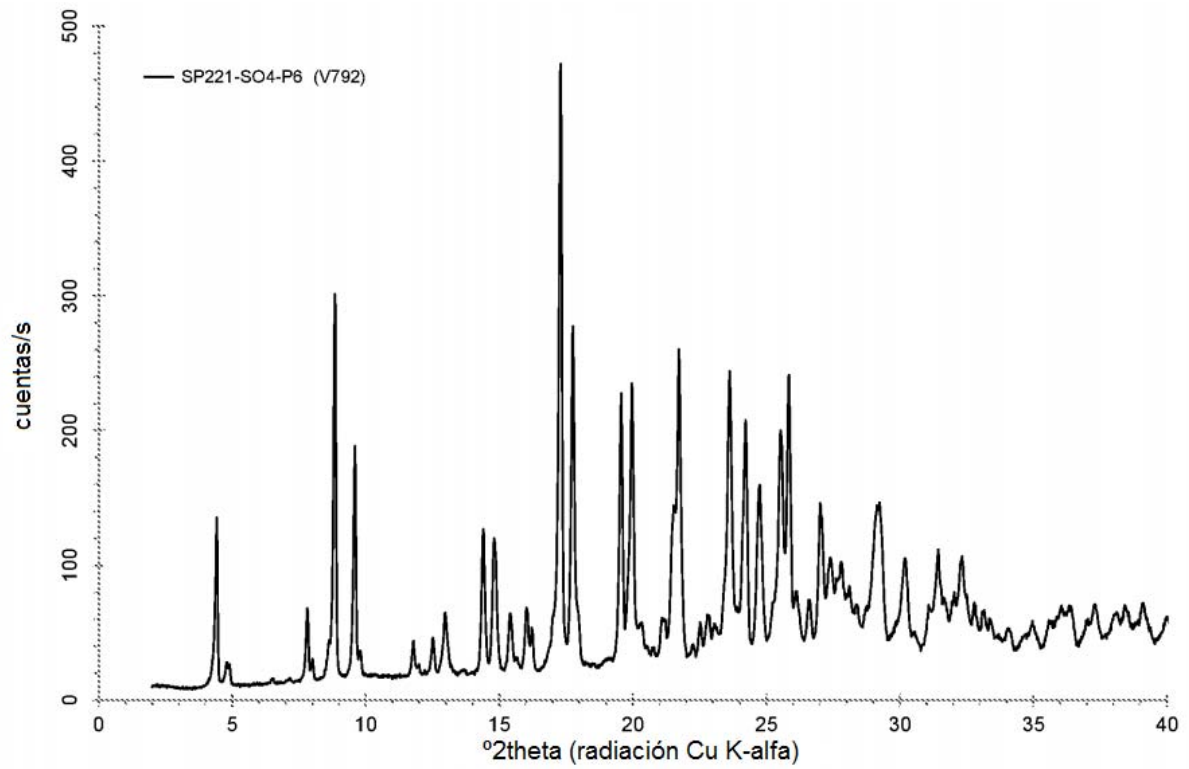


FIG. 23

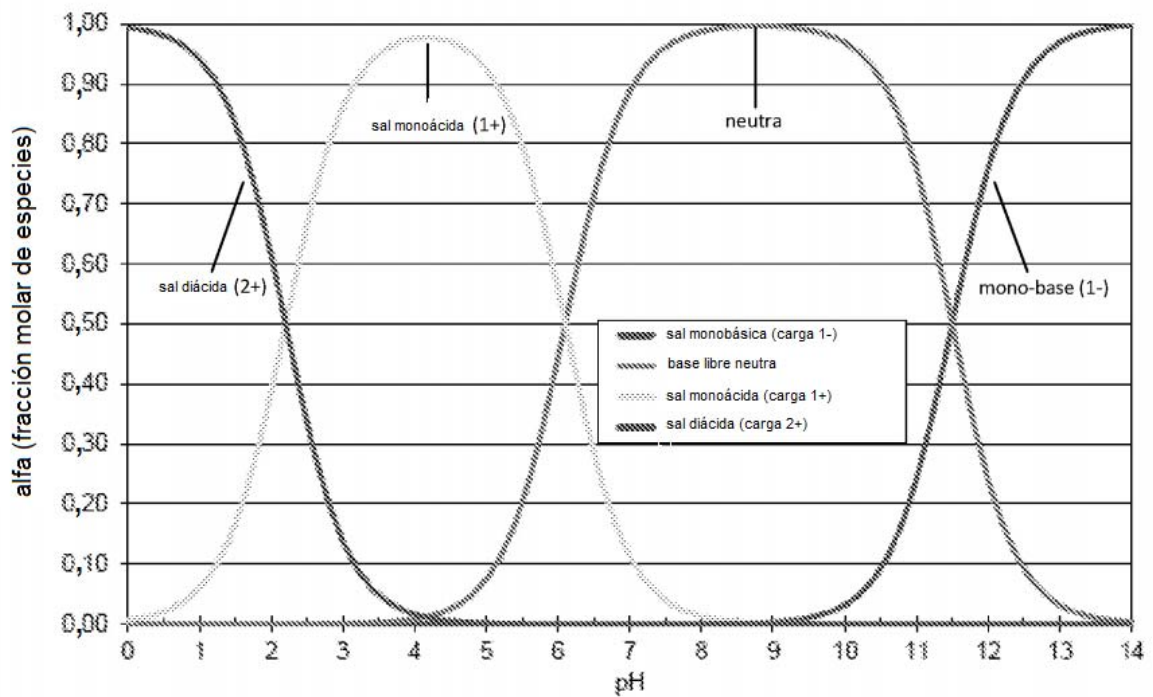


FIG. 24

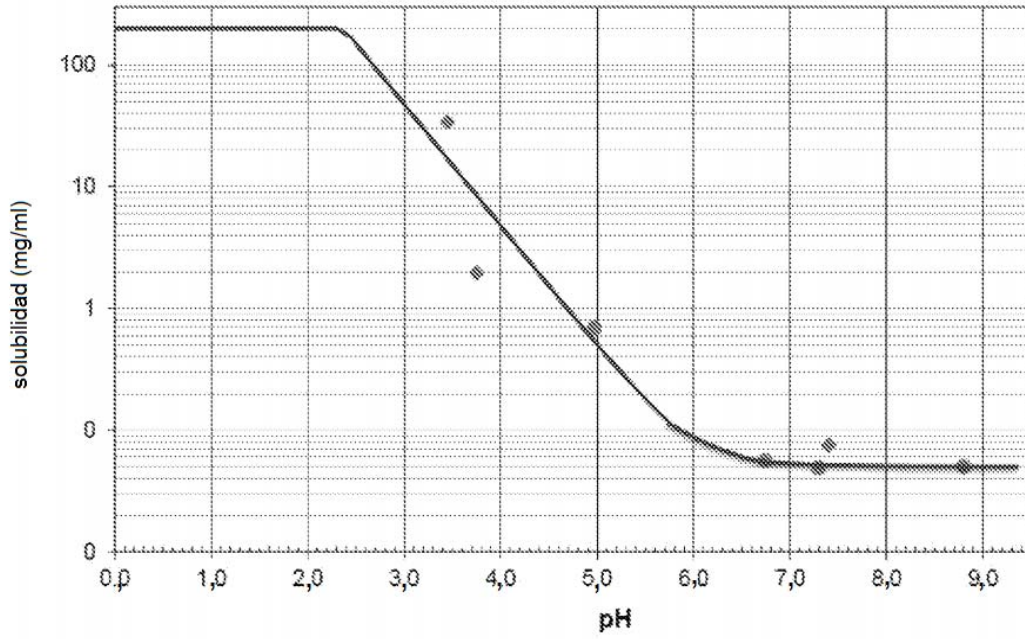


FIG. 25

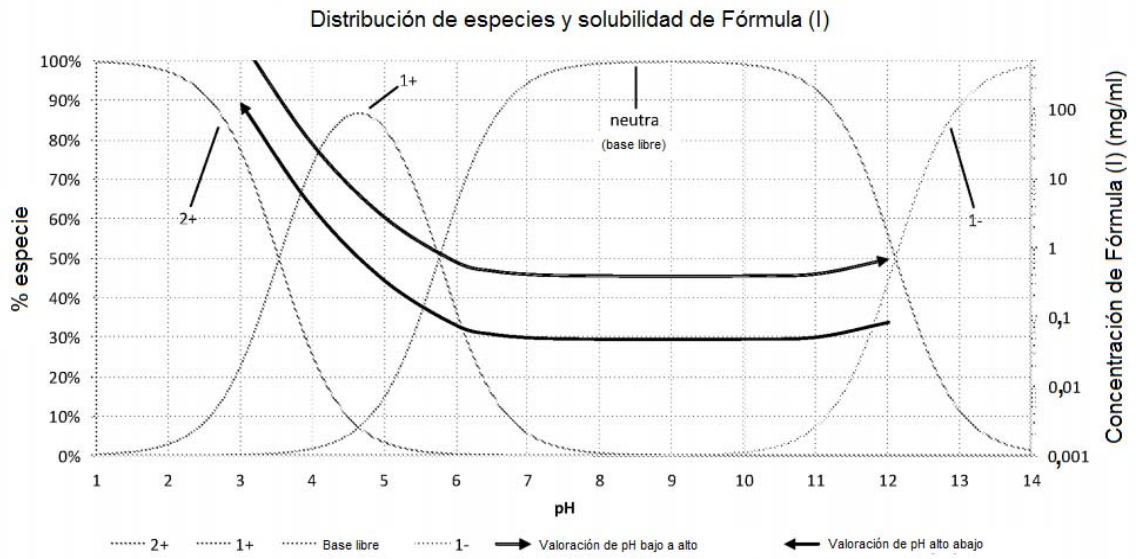


FIG. 26

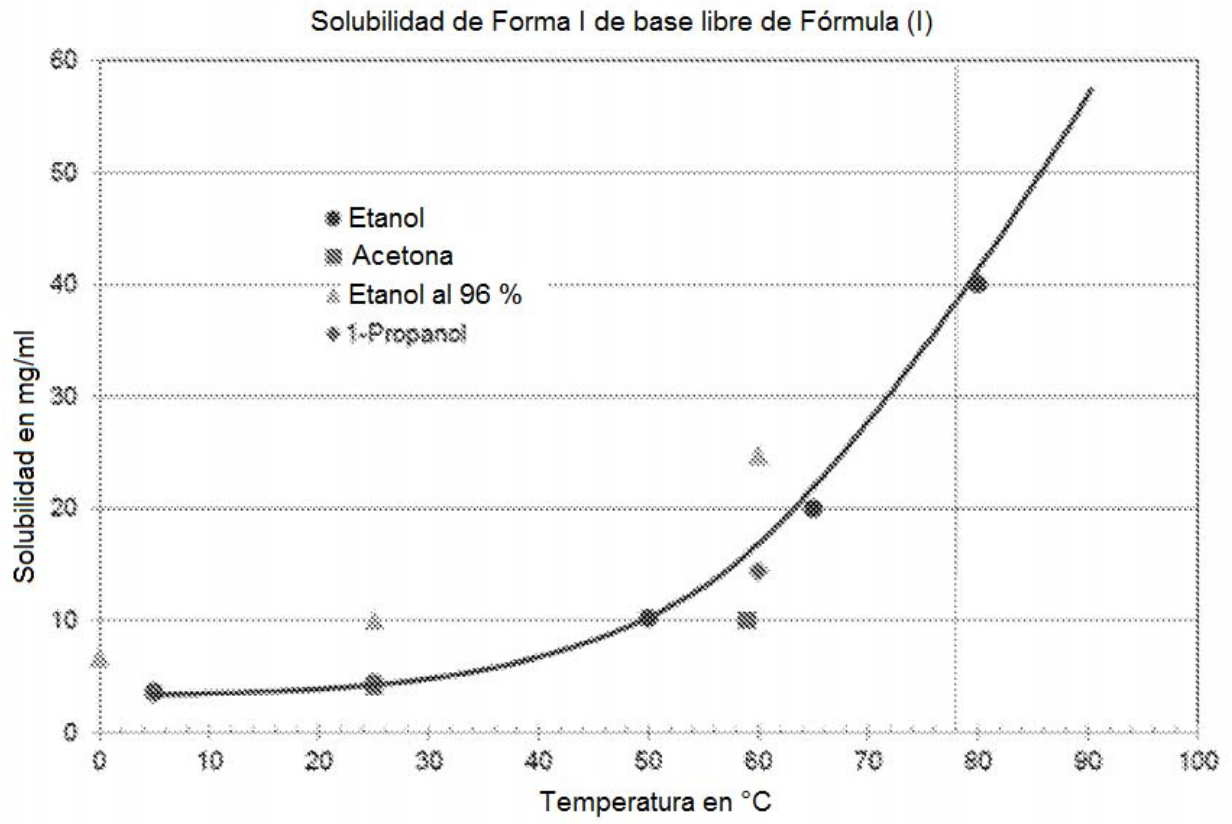


FIG. 27

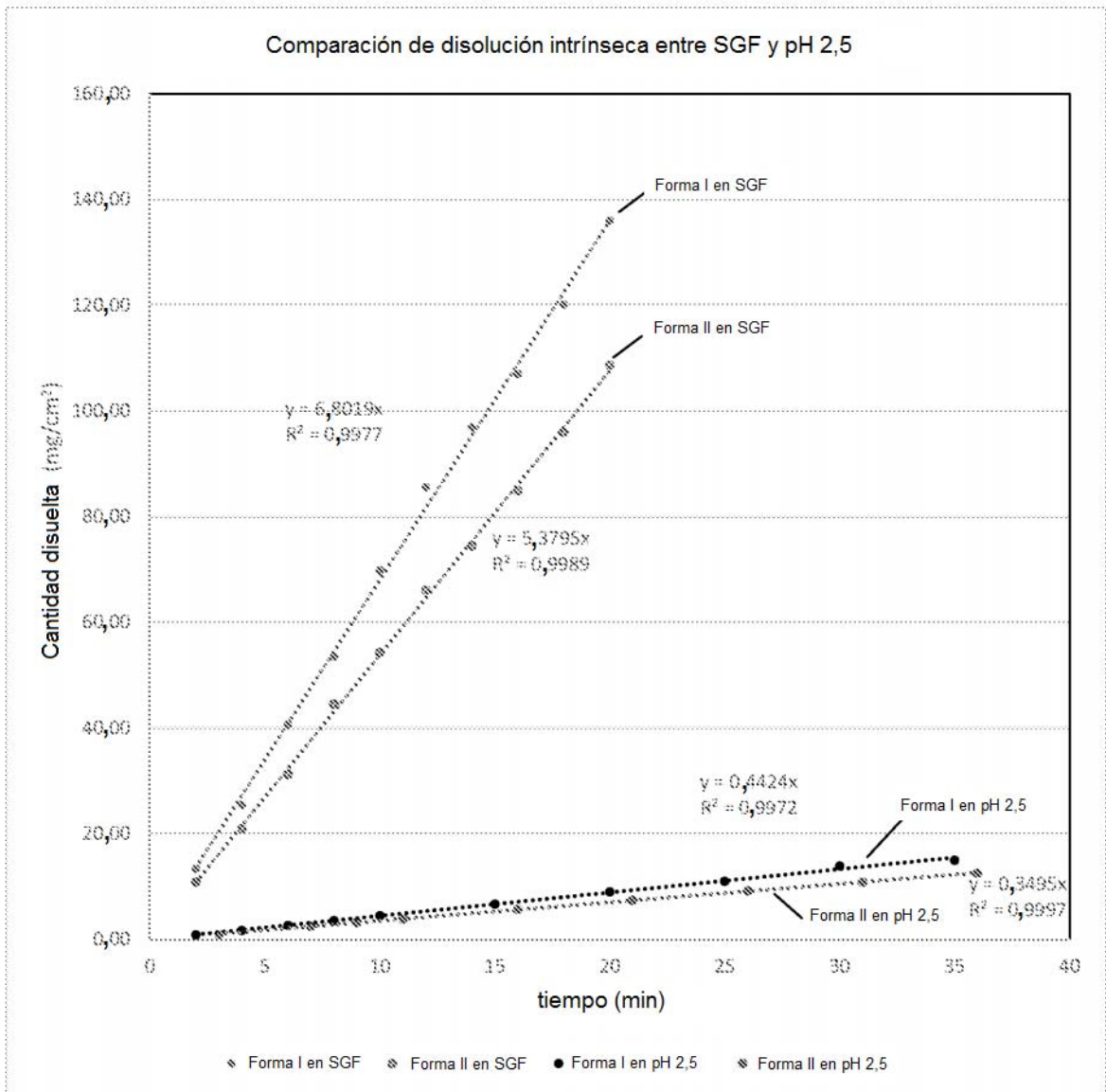


FIG. 28

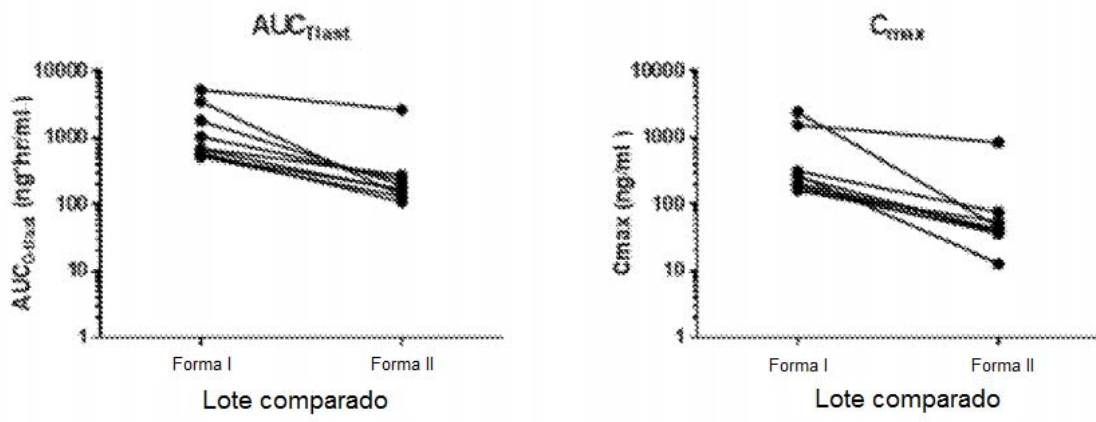


FIG. 29

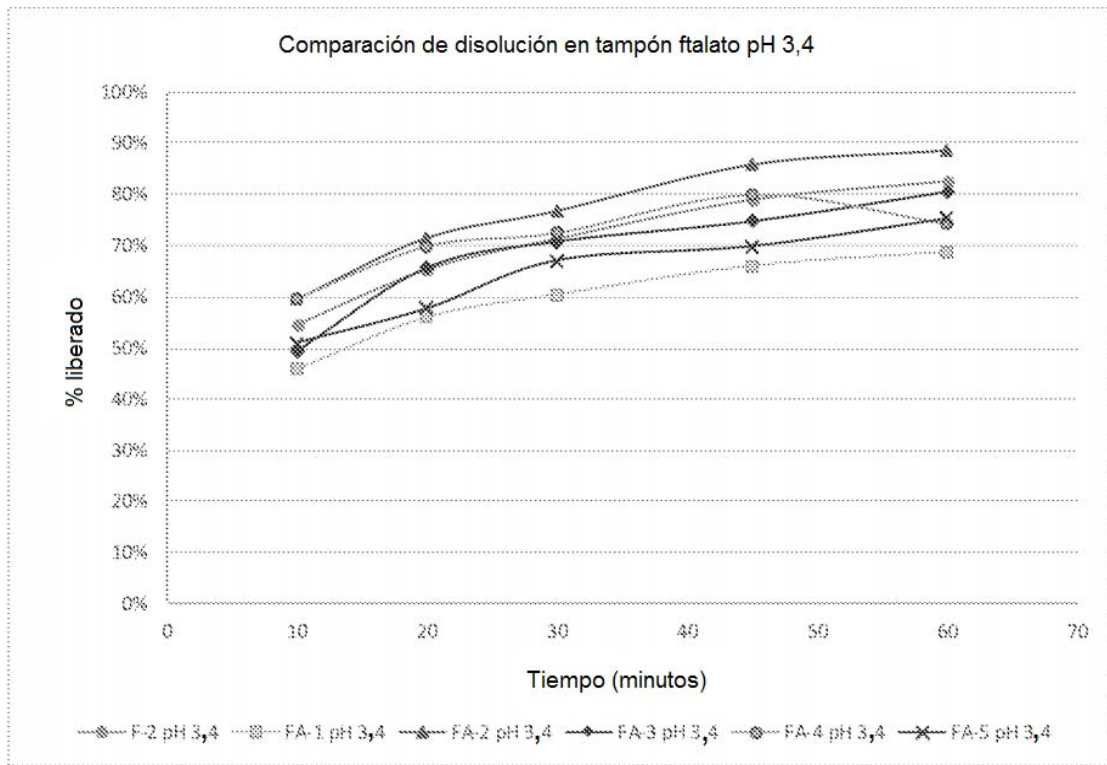


FIG. 30

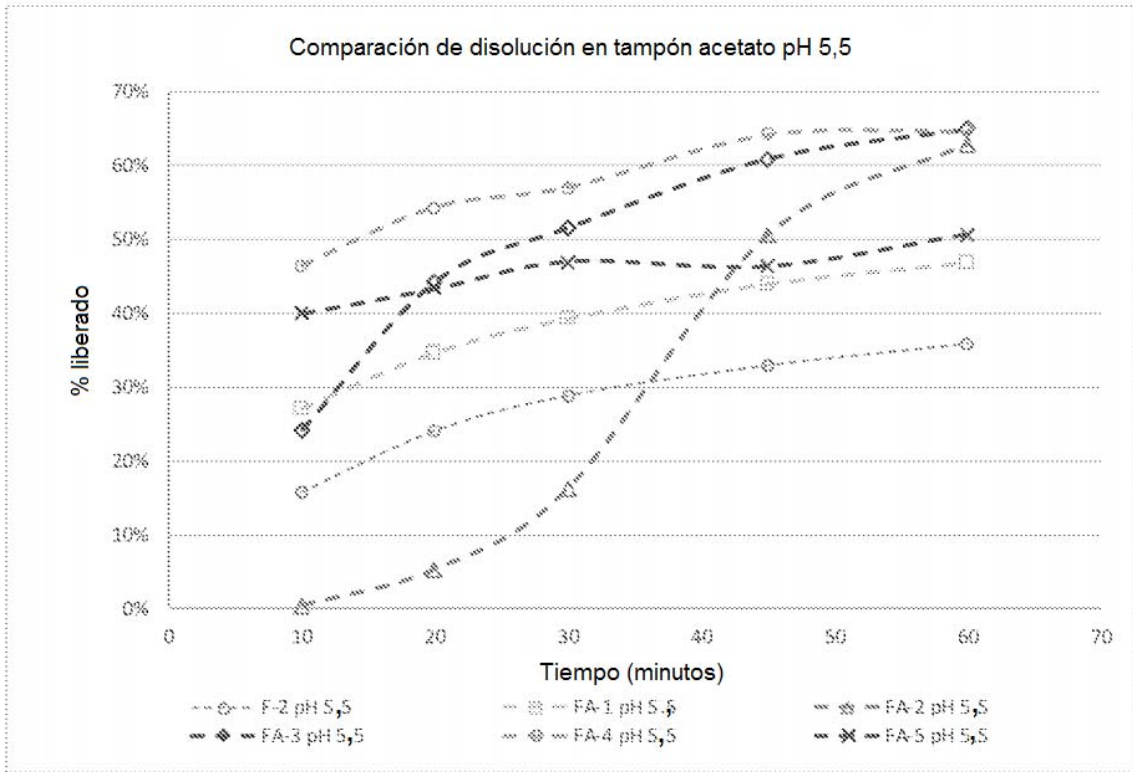


FIG. 31

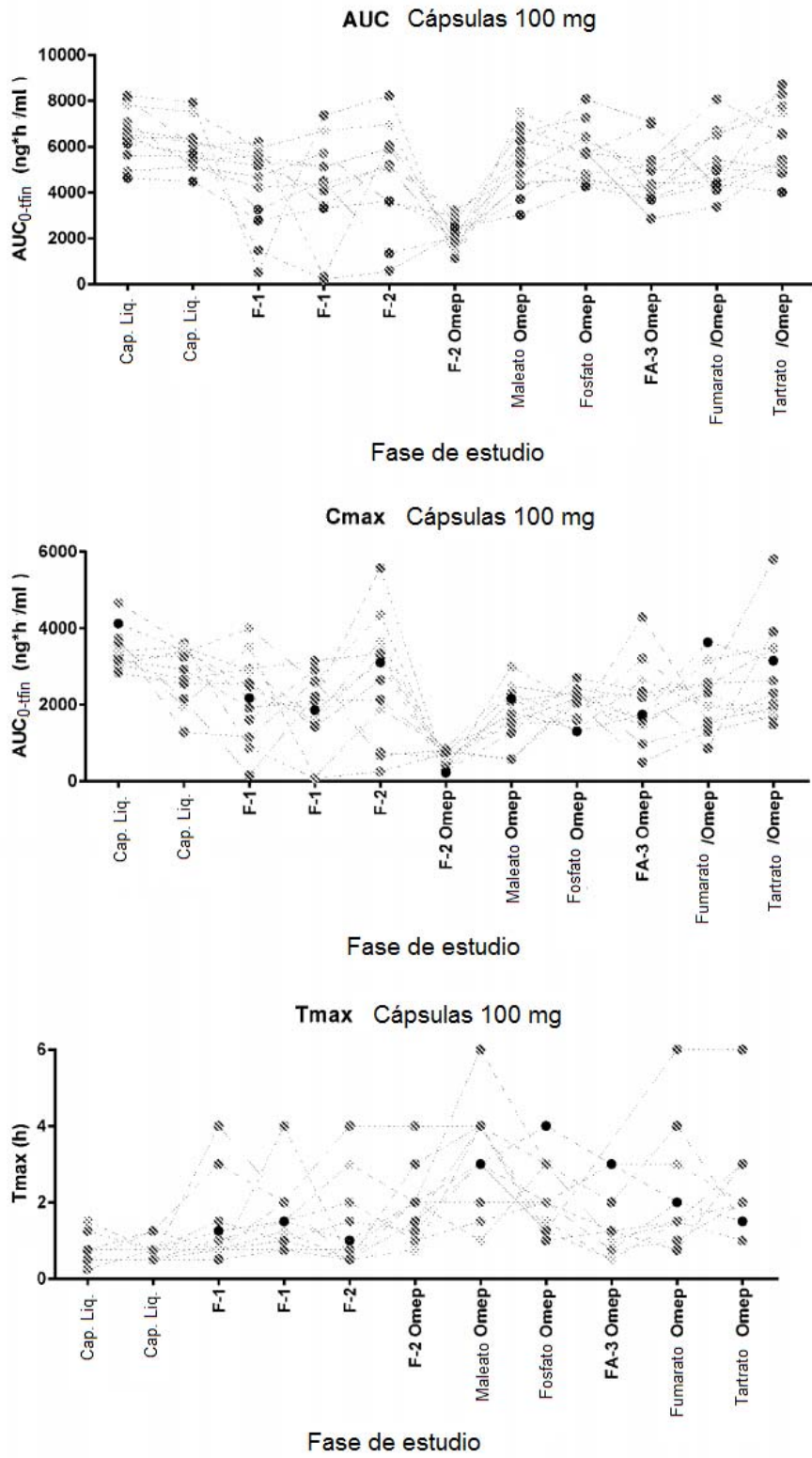


FIG. 32

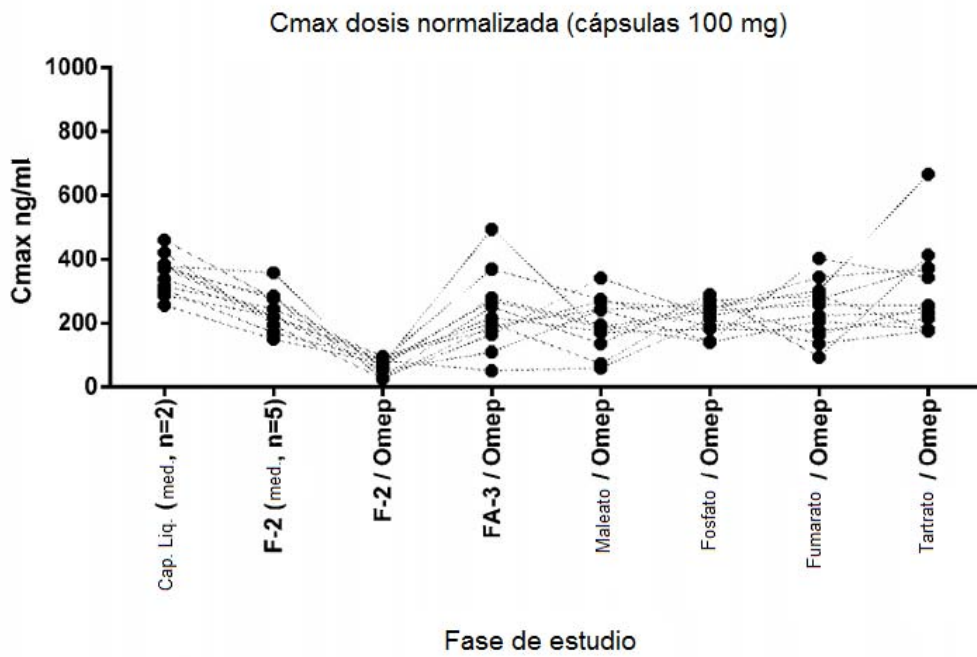
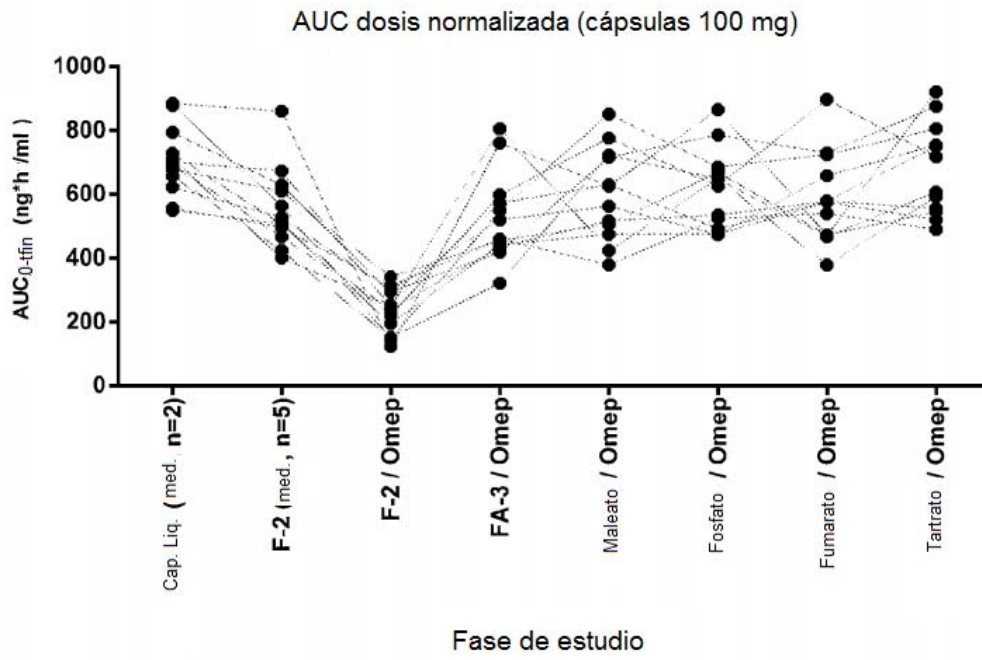


FIG. 33