

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 906**

51 Int. Cl.:
A61K 31/5377 (2006.01)
C07D 295/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08717228 .4**
96 Fecha de presentación: **28.02.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2131845**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.12.2009**

54 Título: **Mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, hidratos y polimorfos del mismo y formulaciones que comprenden estas formas**

30 Prioridad:
01.03.2007 EP 07103346

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.07.2012

73 Titular/es:
**NOVARTIS AG
LICHTSTRASSE 35
4056 BASEL, CH y
VERNALIS (R&D) LTD**

72 Inventor/es:
**DRYSDALE, Martin James;
DYMOCK, Brian William;
KRELL, Christoph;
MUTZ, Michael;
PETERSEN, Holger y
ZHENG, Weijia**

74 Agente/Representante:
Carvajal y Urquijo, Isabel

ES 2 384 906 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

Mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, hidratos y polimorfos del mismo y formulaciones que comprenden estas formas

5 La presente invención se refiere a nuevas formas de sal de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, a hidratos y polimorfos de una nueva sal de este tipo y a nuevas formulaciones que comprenden tales sales.

10 La familia de chaperonas Hsp90 está comprendida por cuatro miembros conocidos: Hsp90a y Hsp90β, ambos en el citosol, grp94 en el retículo endoplásmico, y trap-1 en la mitocondria. Hsp90 es una chaperona celular abundante requerida para el repliegue dependiente del ATP de las proteínas desnaturalizadas o "desplegadas", y para la maduración conformacional de una variedad de proteínas clave implicadas en la respuesta de crecimiento de la célula a los factores extracelulares. Estas proteínas, que se denominan como proteínas cliente, incluyen los receptores de esteroides, así como diversas proteínas cinasas. Hsp90 es esencial para la sobrevivencia celular eucariótica, y se sobreexpresa en muchos tumores. Las células cancerosas parecen ser sensibles a la inhibición transitoria de la actividad de ATPasa de Hsp90, sugiriendo que los inhibidores de Hsp90 podrían tener un potencial como nuevos fármacos anticancerígenos. Cada miembro de la familia Hsp90 tiene un sitio de unión de ATP conservado en su dominio N-terminal, que se encuentra en otras pocas proteínas de unión de ATP. La débil actividad de la ATPasa de Hsp90 se estimula después de su interacción con diversas proteínas co-chaperonas. Varios compuestos naturales, tales como geldanamicina o radicicol, se unen al sitio de unión de ATP de Hsp90, inhibiendo su actividad de ATPasa. En los sistemas celulares e *in vivo*, estos fármacos, al unirse a Hsp90, impiden el pliegue de las proteínas cliente, que entonces se degradan en el proteasoma. La 17-alil-amino-17-desmetoxigeldanamicina (17-AAG), un derivado de geldanamicina, se somete a prueba en estudios clínicos de fase I. Las experiencias clínicas iniciales con la 17-AAG han ofrecido una evidencia preliminar de que pueden alcanzarse concentraciones del fármaco asociadas con la actividad en sistemas pre-clínicos en seres humanos con una toxicidad tolerable, y han proporcionado una primera evidencia de la modulación objetivo en al menos ciertos compartimientos tumorales y sustitutos. La toxicidad limitante de la dosis de la 17-AAG es la toxicidad hepática. La pobre solubilidad de la 17-AAG la hace difícil de formular/administrar, y es difícil su síntesis (en general se obtiene mediante fermentación). Por consiguiente, se necesitan compuestos alternativos con mejores propiedades fisicoquímicas, y quizás de una especificidad más alta (la 17-AAG inhibe los cuatro parálogos de Hsp90). El documento WO 2004/072051 da a conocer tales compuestos alternativos, más específicamente una serie de derivados de isoxazol con propiedades de inhibición para las proteínas de choque térmico.

35 La etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico es un inhibidor de Hsp90 descrito en el documento WO 2004/072051 (ejemplo 78). El compuesto puede prepararse, por ejemplo, tal como se da a conocer en esta publicación. La etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico es un compuesto poco soluble en agua, que muestra una solubilidad en agua de menos de 0,1 mg/ml. La solubilidad de la base libre en HCl 0,1N es de aproximadamente 1 a 2,5 mg/ml. Adicionalmente, la base libre es ligeramente higroscópica, mostrando una máxima absorción del 1,8% de agua con una humedad relativa del 80% (r. h.) a 25°C.

40 Sorprendentemente, se encontraron nuevas formas de sal de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, incluyendo la sal de clorhidrato, tartrato, fosfato, hemi-fumarato y mesilato. Se encontró que estas sales y la base libre son cristalinas, haciendo que estas formas sean particularmente adecuadas para el desarrollo farmacéutico.

No se encontró que el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico ni el clorhidrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico fueran higroscópicos.

45 Adicionalmente, se encontró que el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico es superior, comparándose con la base libre, así como con otras sales en cuanto a solubilidad. Además de la ventaja de presentar una alta solubilidad en agua, la sal de mesilato también es adecuada para fabricarse de una manera reproducible en una clara razón de ácido/base. Este hallazgo hace que la sal de mesilato sea particularmente adecuada para el uso en formulaciones líquidas para administración oral, así como para formulaciones intravenosas.

Todas las sales de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico muestran una solubilidad más alta, comparándose con la base libre.

La solubilidad de la sal de clorhidrato en agua es de 2,5 - 5 mg/ml; a un pH de 5 es de aproximadamente 1 - 2,5 mg/ml, y es menor de 1 mg/ml en HCl 0,1N.

La solubilidad de la sal de tartrato en agua es mayor de 2 mg/ml.

La solubilidad de la sal de fosfato en agua es de aproximadamente 0,5 - 1,0 mg/ml.

La solubilidad de la sal de hemi-fumarato en agua es de aproximadamente 0,1 - 0,25 mg/ml.

5 La solubilidad de la sal de mesilato a un pH de 5 es de aproximadamente 1 - 2,5 mg/ml, y de 10 - 20 mg/ml en HCl 0,1N. Se encontró que la solubilidad en agua a un pH de 4 es de 33,5 mg/ml.

Además de lo anterior, se ha encontrado que el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, puede obtenerse en forma de hidratos. La modificación A es una forma anhidra del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y las formas H_A y H_B son las formas hidratadas del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

Como un aspecto adicional de la presente invención, se ha encontrado que pueden obtenerse diferentes formas cristalinas de la base libre y de la sal de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

15 Finalmente, se encontró que la forma cristalina del clorhidrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico no cambiaba mediante su equilibrio en suspensión sobre un intervalo de condiciones aplicadas. La falta de polimorfismo es una propiedad benéfica para una forma sólida diseñada para desarrollarse como medicamento.

Por tanto, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a nuevas sales de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, concretamente a mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y la presente descripción describe adicionalmente clorhidrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, tartrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, fosfato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y hemi-fumarato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a nuevas formas cristalinas e hidratos del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

Adicionalmente, la presente invención se refiere al uso de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico (y adicionalmente la presente descripción describe el uso de clorhidrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, tartrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, fosfato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y hemi-fumarato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por Hsp90.

35 Los términos generales usados anteriormente en el presente documento y más adelante en el presente documento, preferiblemente, dentro del contexto de esta descripción, tienen los significados, a menos que se indique de otra manera.

40 La expresión "trastornos mediados por Hsp90", tal como se usa en el presente documento, indica trastornos, tales como enfermedades tumorales, que resultan de la sobreexpresión, activación o mala regulación de Hsp90, o en los que esta sobreexpresión, activación o mala regulación tiene un papel prominente.

45 La expresión "libre de cualquier otra sal", tal como se usa en el presente documento, significa que no hay sales derivadas de ácidos inorgánicos u orgánicos, tales como cloruro de sodio, como agente isotónico, ni cualesquiera sales reguladoras del pH presentes. Se observó que, en la presencia de estas otras sales, se forman los cristales más pronto o más tarde, que hace que la disolución del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico sea inestable, y que es en particular un riesgo inaceptable para una formulación diseñada para usarse para la administración intravenosa.

La expresión "químicamente estable", tal como se usa en el presente documento, significa que la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico no experimenta reacciones químicas, tales como solvólisis, en especial no experimenta hidrólisis, reconfiguraciones ni oxidaciones.

50

Breve descripción de las figuras

- Las figuras 1 a 13 son diagramas de difracción de rayos-X de las formas cristalinas de la base libre, la sal de ácido metanosulfónico, la sal de ácido clorhídrico, la sal de ácido tartárico, la sal de ácido fosfórico, y la sal de ácido fumárico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico. En los diagramas de rayos-X, los ángulos de refracción 2-theta se representan sobre el eje horizontal (eje-x), y la intensidad de línea relativa (intensidad pico corregida por el fondo) sobre el eje vertical (eje-y). Los patrones de difracción en polvo de rayos-X se miden con una fuente de radiación de Cu K α (radiación K α 1, longitud de onda $\lambda = 1,54060$ Ångström).
- 5 La figura 1 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la base libre de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, forma I.
- 10 La figura 2 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la base libre de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, forma II.
- La figura 3 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la base libre de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, forma III.
- 15 La figura 4 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la base libre de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, forma IV.
- La figura 5 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la base libre de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, forma V.
- 20 La figura 6 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la base libre de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, forma VII.
- La figura 7 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la forma I de la sal de ácido metanosulfónico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- 25 La figura 8 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la forma de hidrato HA de la sal de ácido metanosulfónico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- La figura 9 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la forma de hidrato HB de la sal de ácido metanosulfónico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- 30 La figura 10 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la sal de ácido clorhídrico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- La figura 11 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la sal de ácido tartárico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- 35 La figura 12 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la sal de ácido fosfórico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- La figura 13 muestra el diagrama de difracción de rayos-X de la sal de ácido hemi-fumárico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- En una realización preferida, la forma I de la sal de ácido metanosulfónico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico pura muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la figura 7.
- 40 También se da una alta preferencia para la forma I de la sal de ácido metanosulfónico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 7, con intensidades pico significativas en los valores de 2-theta: 16,7, 19,4, y $22,7 \pm 0,2$ grados. En las muestras que están libres de cualquier material adicional (otras formas de cristal, hidratos, excipientes), debe ser posible observar los siguientes valores de 2-theta: 8,0, 11,9, 13,9, 14,2, 16,7,
- 45 18,5, 19,4, 22,7, $23,3 \pm 0,2$ grados.
- En otra realización preferida, la forma H_A de la sal de ácido metanosulfónico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-

isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico esencialmente pura, muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la figura 8.

5 También se da una alta preferencia para la forma H_A de la sal de ácido metanosulfónico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 8, con intensidades pico significativas en los valores de 2-theta: 18,1 y 20,5 ± 0,2 grados. En las muestras que están libres de cualquier material adicional (otras formas de cristal, anhídrido, excipientes), debe ser posible observar los siguientes valores de 2-theta: 11,0, 11,6, 14,1, 18,1, 20,1, 20,5, 21,1, 21,7, 21,9, 25,8 ± 0,2 grados.

10 En otra realización preferida, la forma H_B de la sal de ácido metanosulfónico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico esencialmente pura, muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la figura 9.

15 También se da una alta preferencia para la forma H_B de la sal de ácido metanosulfónico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 9, con una intensidad pico significativa en el valor de 2-theta de 25,4 + 0,2 grados. En las muestras que están libres de cualquier material adicional (otras formas de cristal, anhídrido, excipientes), debe ser posible observar los siguientes valores de 2-theta: 6,2, 10,1, 12,6, 14,5, 18,0, 18,5, 19,0, 20,4, 20,9, 21,8, 22,2, 25,4 ± 0,2 grados.

20 La presente descripción también describe la sal de ácido clorhídrico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico esencialmente pura, que muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la figura 10.

La presente descripción también describe la sal de ácido clorhídrico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 10.

25 La presente descripción también describe la sal de ácido tartárico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico esencialmente pura, que muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la figura 11.

La presente descripción también describe la sal de ácido tartárico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 11.

30 La presente descripción también describe la sal de ácido fosfórico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico esencialmente pura, que muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la figura 12.

35 La presente descripción también describe la sal de ácido fosfórico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 12.

La presente descripción también describe, la sal de ácido fumárico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico esencialmente pura, que muestra el diagrama de difracción de rayos-X mostrado en la figura 13.

40 La presente descripción también describe la sal de ácido fumárico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la figura 13.

45 El término "esencialmente pura" se entiende en el contexto de la presente invención para significar en especial que al menos el 90, preferiblemente al menos el 95, y lo más preferiblemente al menos el 99% en peso de los cristales de una sal de adición de ácido de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico están presentes en forma cristalina según la invención.

50 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una nueva formulación que comprende el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico. Más específicamente, la presente invención proporciona una disolución acuosa que comprende el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que está libre de cualquier otra sal. Preferiblemente, la disolución acuosa tiene un pH de entre 3,2 y 5,2.

Preferiblemente, la formulación comprende entre aproximadamente 4,8 y 5,2 mg/ml de disolución, más preferiblemente 5,0 mg/ml de disolución, del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico. El pH de una disolución de este tipo es de aproximadamente 4,2, y por tanto, está en el máximo de estabilidad de la sal de mesilato. Este hallazgo sorprendente hace que la disolución sea particularmente adecuada para el uso farmacéutico. En particular, permite usar la disolución sin ningún otro excipiente, tal como tampones, para estabilizar la sustancia farmacológica. Adicionalmente, en vista de su alta estabilidad, la disolución que comprende entre aproximadamente 4,8 y 5,2 mg/ml de disolución de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico puede someterse a un autoclave (por ejemplo, mediante calentamiento a aproximadamente 120°C, durante de 20 a 40 minutos, por ejemplo durante 30 minutos, bajo una presión de aproximadamente 2 bar), sin provocar cambios de color ni productos de degradación.

En una realización, la formulación consiste en la sal de mesilato de una disolución acuosa isotónica de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y el 5% p/p de glucosa o manitol. La última realización tiene la ventaja adicional de que puede evitarse la formación de cristal inclusive después de un tiempo de almacenamiento más largo, por ejemplo, varios meses. Además, la sal de mesilato es químicamente estable en esta formulación. Adicionalmente, el pH de una disolución de este tipo impide reacciones de Maillard durante el paso por autoclave de la disolución con glucosa al 5%, lo cual conduciría a una decoloración a un pH neutro.

En vista de los hallazgos sorprendentes mencionados anteriormente, la presente invención proporciona

• una formulación que comprende el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que preferiblemente es una disolución acuosa que comprende el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que está libre de cualquier otra sal, que tiene preferiblemente un pH de entre 3,2 y 5,2;

• en particular una formulación que consiste en una disolución acuosa isotónica de la sal de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y el 5% p/p de glucosa o manitol;

• y en particular una formulación acuosa que comprende el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico en una concentración de entre aproximadamente 4,8 y 5,2 mg/ml.

La disolución acuosa descrita anteriormente en el presente documento es particularmente útil para la administración intravenosa del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

Adicionalmente, se encontró sorprendentemente que el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico es sensible a la luz como un sólido, así como en disolución. Por tanto, en una realización adicional, la presente invención proporciona recipientes de vidrio ámbar que se cargan con la sustancia farmacológica o las formulaciones acuosas descritas anteriormente en el presente documento.

Además, la presente descripción describe un método para tratar un trastorno mediado por Hsp90 que comprende administrar a un animal de sangre caliente que lo necesita una cantidad terapéuticamente activa del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, o del clorhidrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Las temperaturas se miden en grados Celsius (°C). A menos que se indique de otra manera, las reacciones tienen lugar a temperatura ambiente.

45 Abreviaturas

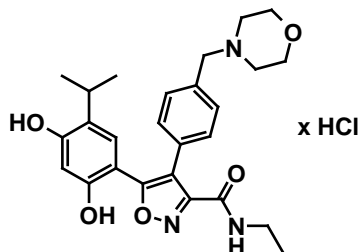
EtOAc acetato de etilo.

r. h. humedad relativa.

RT temperatura ambiente.

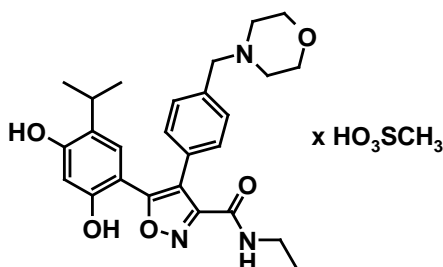
TBME Terc-butil metil éter.

Ejemplo de referencia 1: Sal de ácido clorhídrico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico



5 Se disuelve etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico (4,19 g, 19 mmol) en alcohol absoluto (19,7 ml) bajo calentamiento suave. Después de agitar durante 5 min., se añade ácido clorhídrico 6 N (1,5 ml, 9 mmol) a TA (aproximadamente 25°C). Se siembra la disolución transparente con una cantidad muy pequeña de sal de ácido clorhídrico de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, y se añade acetato de etilo (2 ml), sobre lo cual, la mezcla se hace turbia lentamente. Después de 1 hora, se añade en porciones EtOAc (5 ml), y se agita la suspensión a temperatura ambiente durante la noche. Se añade más EtOAc (2 ml). Se agita la suspensión durante aproximadamente 5 horas, y se filtra. Se lava la torta de filtro con alcohol absoluto/EtOAc, 1:1 (v/v), y se seca durante 16 horas a 45°C bajo presión reducida, para dar como resultado el compuesto del título como un polvo blanco. Punto de fusión (DSC): 237°C.

15 **Ejemplo 2:** Mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico - Condiciones (A).



20 Se calienta una suspensión con agitación de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico (7,76 g, 15 mmol, conteniendo aproximadamente el 9% en peso de TBME en acetona (15 ml) hasta 35°C. A la mezcla se le añade una disolución de ácido metanosulfónico (1,43 g, 14,85 mmol) en agua (3,33 g) durante 20 minutos. Después de 15 minutos, se calienta la disolución hasta 45°C, y se clarifica por filtración en un matraz caliente (aproximadamente 45°C). Se aclara el filtro con acetona/agua, 9:1 (v/v, 12 ml). Se diluye el filtrado caliente a 45°C con acetona (53 ml) durante 30 minutos, y se siembra con la sal del ácido metanosulfónico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico (4 mg), sobre lo cual empieza la cristalización. Después de 1 hora a 45°C, se añade acetona (30 ml). Se agita la suspensión a 45°C durante 1 hora, antes de enfriarse a 24°C durante 90 minutos. Se añade TBME (20 ml), y se agita la suspensión a aproximadamente 24°C durante 15 horas. Se añaden dos porciones más de TBME (20 ml cada una), seguidas por 2 horas de agitación cada vez. Posteriormente, se enfría la suspensión hasta 0-5°C, y se agita durante 3 horas antes de filtrarse. Se lava la torta de filtro con acetona/terc-butil metil éter, 3:1 (v/v), y se seca bajo presión reducida a 50°C durante aproximadamente 17 horas, para dar 7,18 g (85%) del compuesto del título como un polvo cristalino blanco.

Punto de fusión: 233°C.

Cuando se omite la siembra, los cristales formados son de la misma forma, pero pueden contener hasta el 1,5% en peso de acetona.

35 **Ejemplo 3:** Mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico - Condiciones (B).

5 Se disuelven 186,2 mg (0,4 mmol) del ácido metanosulfónico de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, en 0,75 ml de acetona. Se añaden 154 mg de una disolución acuosa (al 25% p/p) de ácido metanosulfónico (0,4 mmol) a temperatura ambiente, dando como resultado una disolución azul. Después de agitar durante 2 horas, se añaden 3,5 ml de acetona y 0,5 ml de TBME. Después de que la disolución se agita durante 12 horas adicionales, se añaden lentamente 3,5 ml adicionales de TBME, y se continúa la agitación durante 12 horas adicionales. Se filtra la emulsión obtenida, y se lava el sólido obtenido con 0,5 ml de TBME. Se seca el sólido durante 16 horas a 50°C a 20 mbar, para proporcionar 180 mg del compuesto del título.

10 **Ejemplo 4:** Higroscopicidad de la base libre, la sal de ácido metanosulfónico, y la sal de clorhidrato de la etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

Se mide la higroscopicidad usando un aparato Dynamic Water Sorption (DVS). Se realizan las mediciones a 25°C, utilizando aproximadamente de 8 a 10 mg de sustancia. Se cambia la h.r. en etapas del 10% de h.r. tal como sigue: 40 - 0 - 95 - 0 - 40% de humedad relativa. El tiempo de fase mínimo es de 60 minutos, y el máximo de 180 minutos; si el cambio en la masa de 10 minutos es menor del 0,002%/minuto, se cambia la h.r. hasta la siguiente etapa.

15 Se encontró que ni el mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico ni el clorhidrato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico eran higroscópicos. La base libre es altamente higroscópica, mostrando una máxima absorción del 1,8% de agua con una humedad relativa del 80% (r. h.) a 25°C.

20 **Ejemplo 5:** Fabricación de 50 mg/10 ml de líquido en una ampolla de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

25 Se disuelven 391,95 g de la sal de mesilato AUY922 (que corresponde a 325 g de la base libre), y 3,25 kilogramos de glucosa, en 65 litros de agua para inyección. Se obtiene una disolución de incolora a ligeramente amarillenta con una densidad de $1,018 \pm 0,005$ g/ml a 20°C, una osmolaridad de 315 ± 15 mOsm/kilogramo, y un pH de $4,2 \pm 1,0$. Se filtra la disolución a través de 0,22 μ m. Se cargan $10,5 \pm 0,4$ ml de la disolución en una ampolla de vidrio ámbar. Se sella la ampolla bajo una atmósfera de nitrógeno, y se pasa por autoclave durante 30 minutos a 121°C.

Ejemplo 6: Dilución de 50 mg/10 ml del concentrado del ejemplo 5.

Se diluyen 10 ml de la ampolla de 50 mg/ml del ejemplo 5 con 250 ml de la disolución de glucosa al 5% comercialmente disponible, y se administran por medio de una línea de infusión gravimétrica por vía intravenosa al paciente.

30 **Ejemplo 7:** Solubilidad del mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico

Se determinó la solubilidad de la sal de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico (AUY922) en diferentes medios acuosos, y se encontró que es tal como sigue:

35 Agua (pH de la disolución saturada = 3,6), 37,5 mg/ml; disolución de NaCl al 0,9%, 12,8 mg/ml; disolución de glucosa al 5%, 39 mg/ml; disolución de manitol al 5%, 39 mg/ml; disolución de glucosa al 5%, pH de 4, 35,6 mg/ml; disolución de glucosa al 5%, pH de 7, 37,5 mg/ml; disoluciones tampón, pH de 4,0 (tampón acetato), 14,6 mg/ml; pH de 5,0 (tampón acetato), 3,2 mg/ml; pH de 6,0 (tampón fosfato), 0,6 mg/ml; pH de 7,0 (tampón fosfato), 0,7 mg/ml; pH de 8,0 (tampón borato), 1,8 mg/ml.

40 Se encontraron altas solubilidades en las disoluciones de glucosa y manitol. En las disoluciones tamponadas a un pH de 4, se condujo a solubilidades más altas.

Ejemplo 8: Pruebas de tensión en disoluciones o suspensiones de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.

45 Se determinó la estabilidad de la sal de mesilato AUY922 en diferentes medios acuosos en condiciones de tensión (4 semanas a 50°C), y se encontró el siguiente aspecto/recuperación de contenido/suma de subproductos de degradación:

Agua: Disolución incolora/97,0%/0,32%; NaCl al 0,9%: disolución incolora/98,5%/0,34%; disolución de glucosa al 5%: disolución incolora/99,6%/0,34%.

ES 2 384 906 T3

5 Disoluciones tampón, pH de 1,0 (HCl): disolución incolora/96,7%/2,83%; pH de 2,0 (tampón citrato): disolución incolora/97,8%/0,58%; pH de 3,0 (tampón citrato): disolución incolora/99,2%/0,47%; pH de 4,0 (tampón acetato): disolución incolora/100,5%/0,36%; pH de 5,0 (tampón acetato): disolución incolora/99,1%/0,50%; pH de 6,0 (tampón fosfato): suspensión incolora/96,2%/0,49%; pH de 6,8 (tampón fosfato): suspensión incolora/96,3%/0,79%; pH de 8,0 (tampón borato): suspensión incolora/88,5%/0,26%.

Estos datos demuestran la máxima estabilidad de la sal de mesilato de AUY922 a un pH de 4. Además, se demostró que la disolución de glucosa al 5% daba como resultado la máxima estabilidad, comparándose con otros medios acuosos.

REIVINDICACIONES

1. Mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- 5 2. Forma cristalina de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
3. Forma cristalina según la reivindicación 2, que es un anhidrato de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico.
- 10 4. Forma cristalina I de anhidrato de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico que tiene un patrón de difracción de rayos-X, expresado en cuanto a valores de 2 theta, que comprende picos a 8,0, 11,9, 13,9, 14,2, 16,7, 18,5, 19,4, 22,7, 23,3 ± 0,2 grados.
- 5 6. Forma de hidrato H_A de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico que muestra un diagrama de difracción de rayos-X, expresado en cuanto a valores de 2 theta, que comprende picos a 11,0, 11,6, 14,1, 18,1, 20,1, 20,5, 21,1, 21,7, 21,9, 25,8 ± 0,2 grados.
- 15 7. Forma de hidrato H_B de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico que muestra un diagrama de difracción de rayos-X, expresado en cuanto a valores de 2 theta, que comprende picos a 6,2, 10,1, 12,6, 14,5, 18,0, 18,5, 19,0, 20,4, 20,9, 21,8, 22,2, 25,4 ± 0,2 grados.
- 20 8. Formulación que comprende mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico que es una disolución acuosa que comprende mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico, que está libre de cualquier otra sal, que tiene un pH de entre 3,2 y 5,2.
9. Formulación que consiste en una disolución acuosa isotónica de la sal de mesilato de etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico y el 5% p/p de glucosa o manitol.

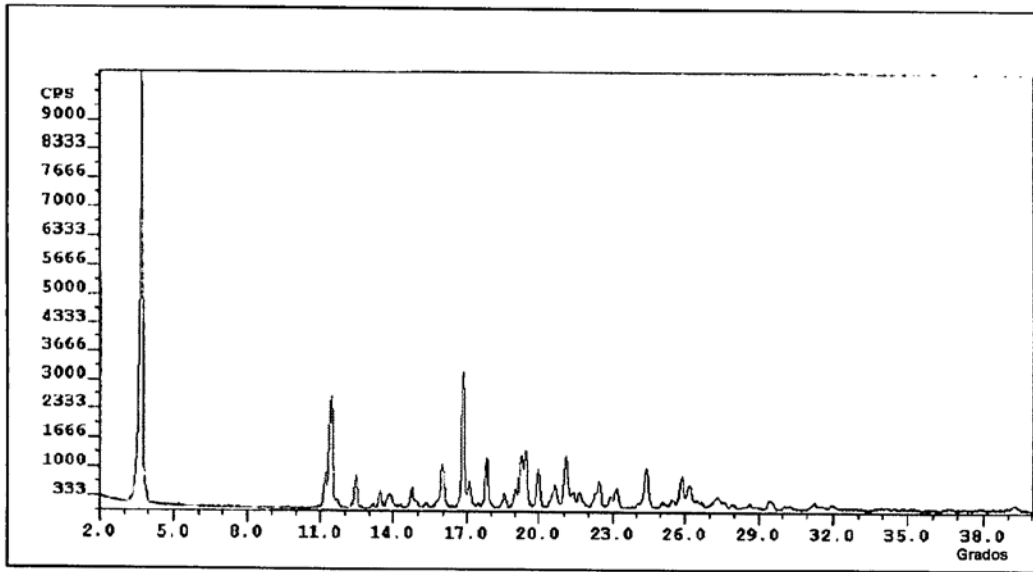


FIG. 1

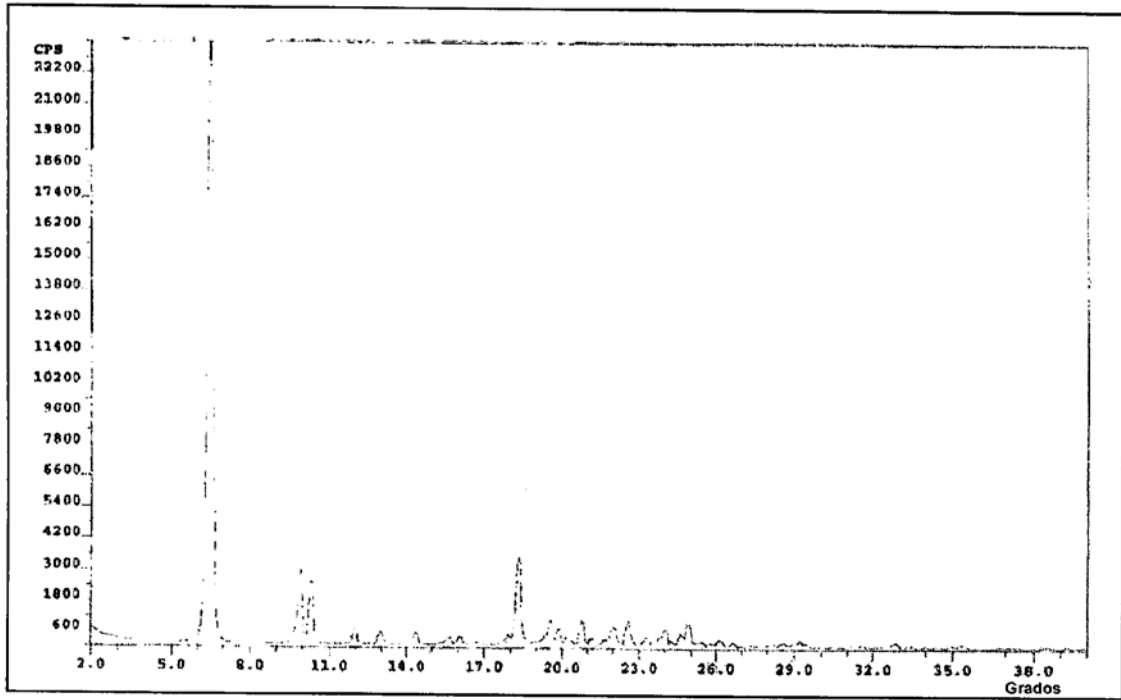


FIG. 2

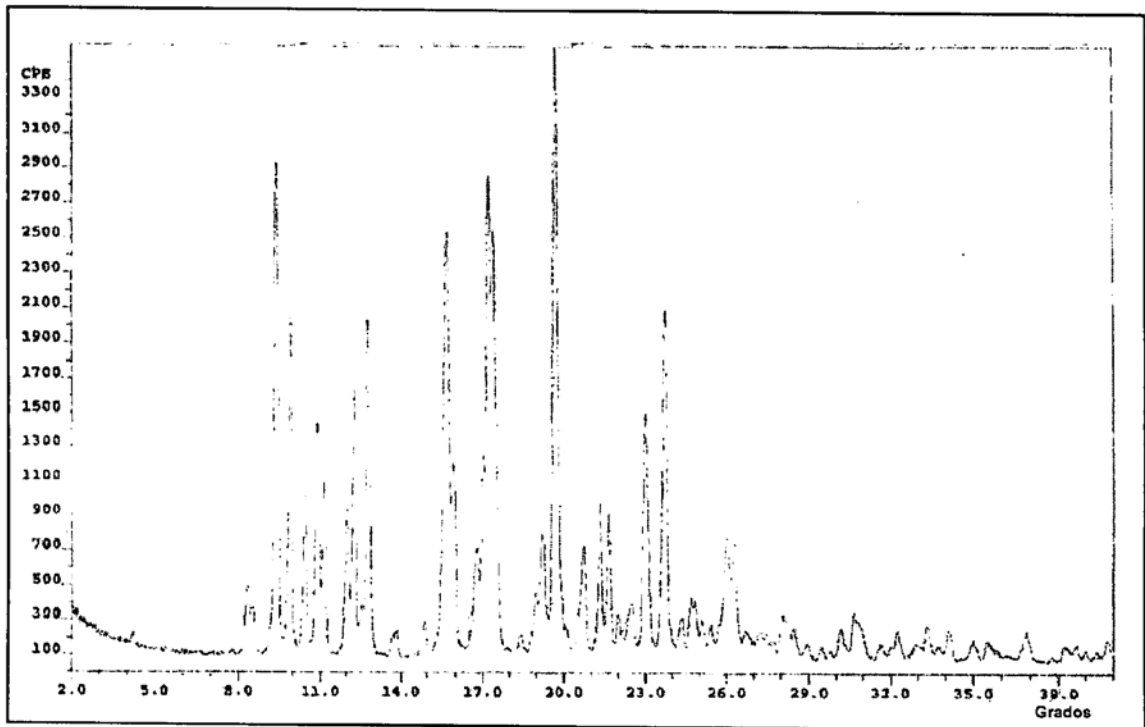


FIG. 3

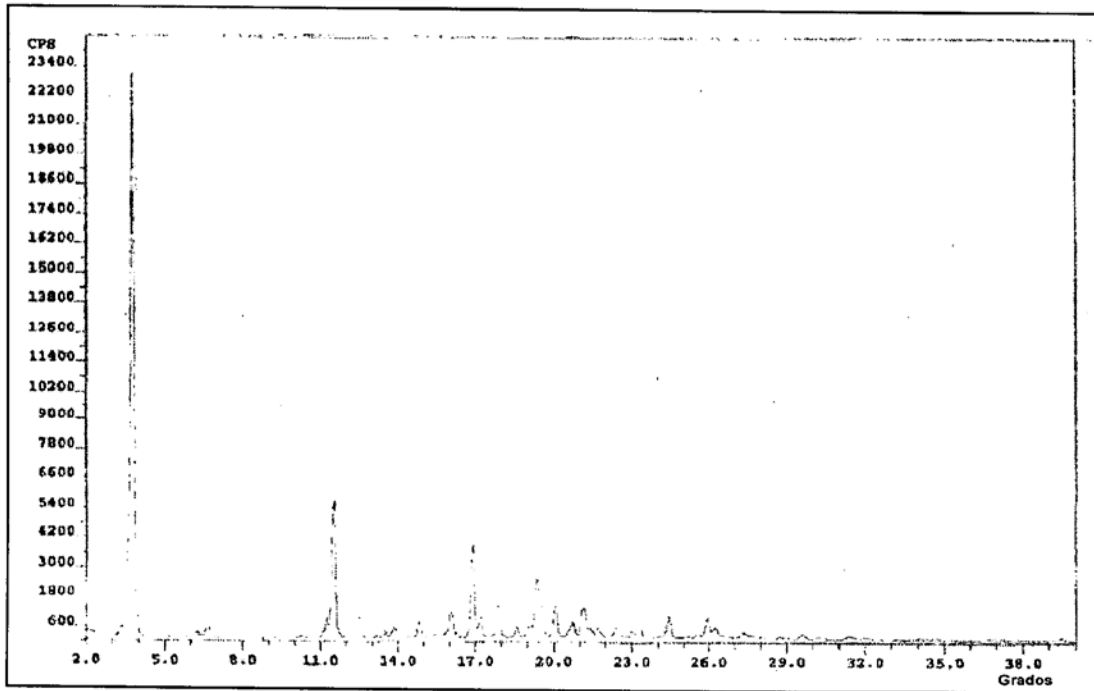


FIG. 4

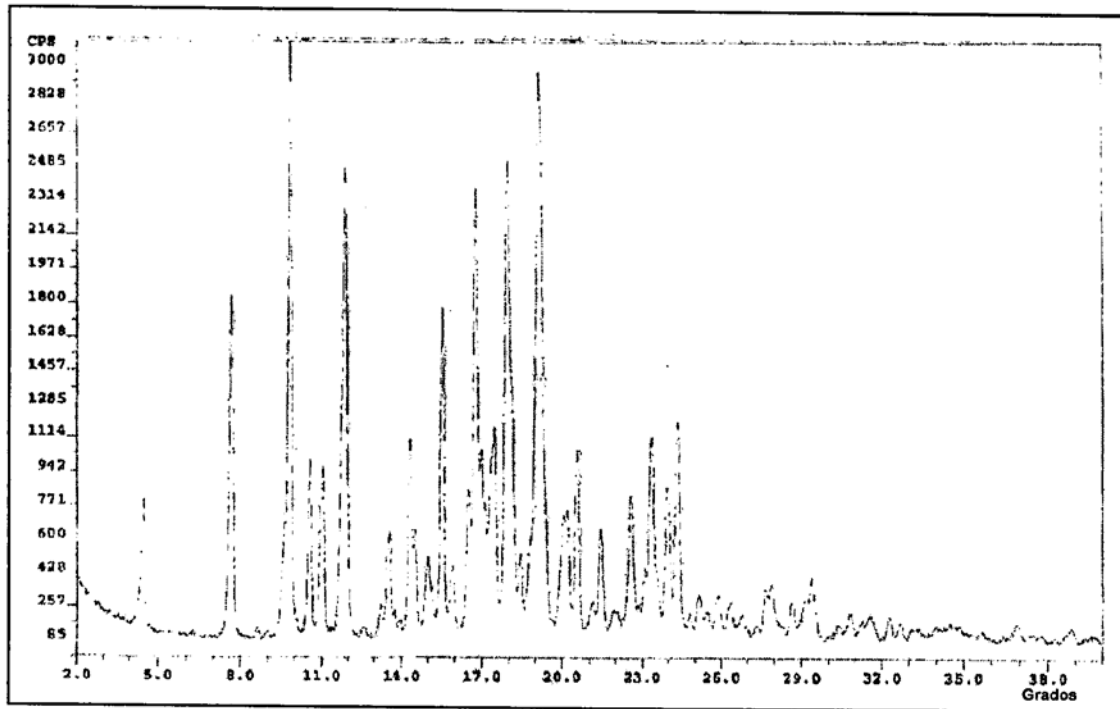


FIG. 5

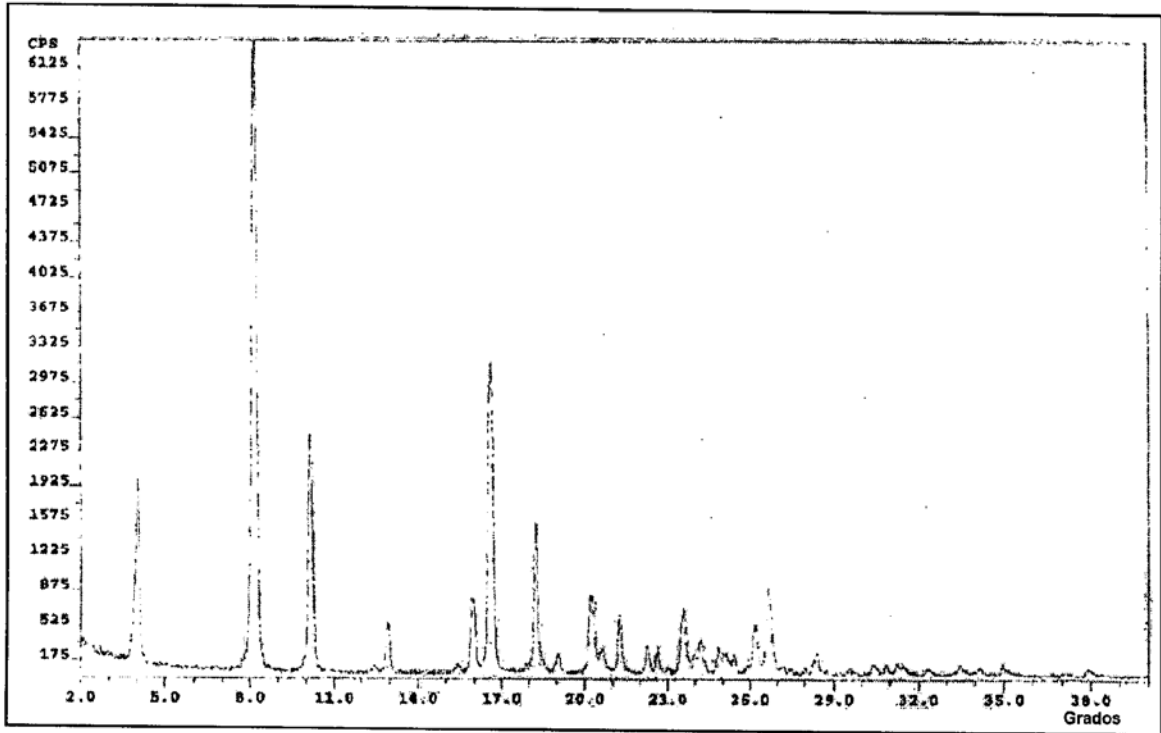


FIG. 6

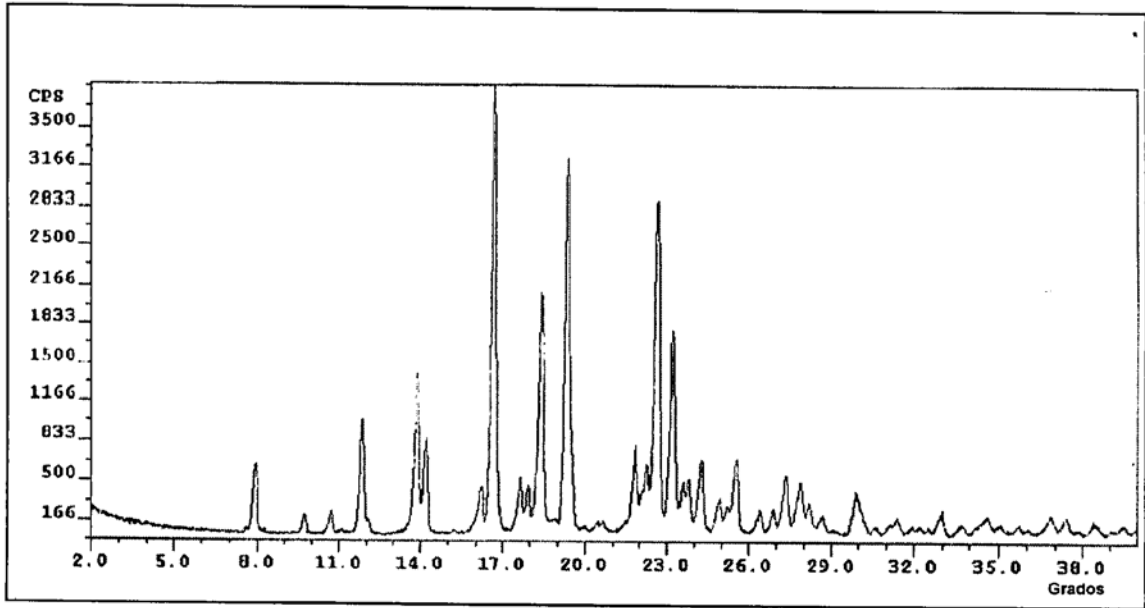


FIG. 7

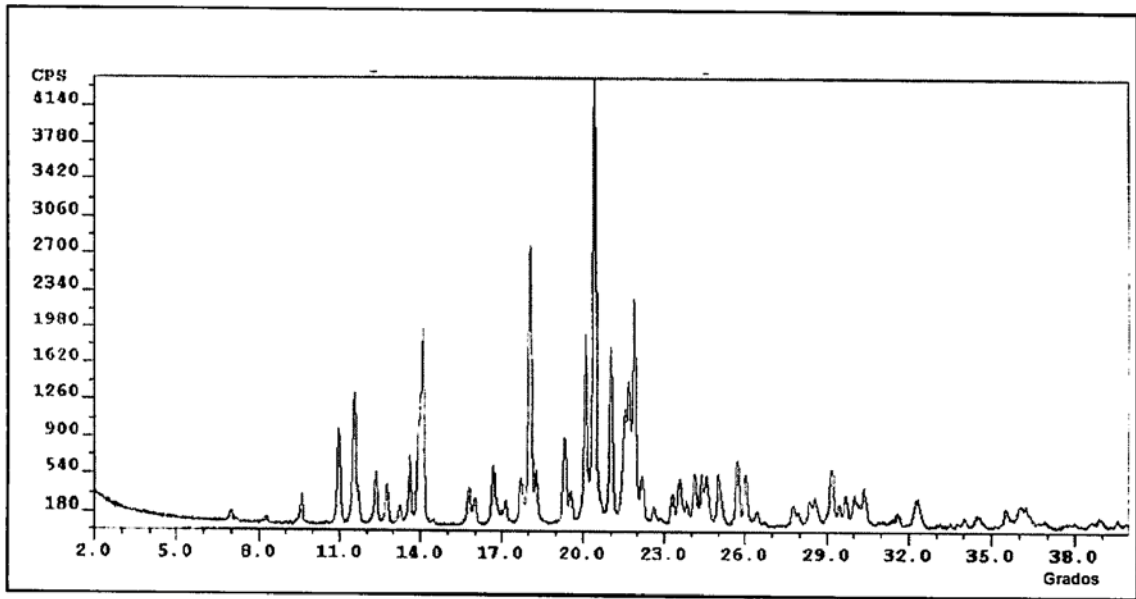


FIG. 8

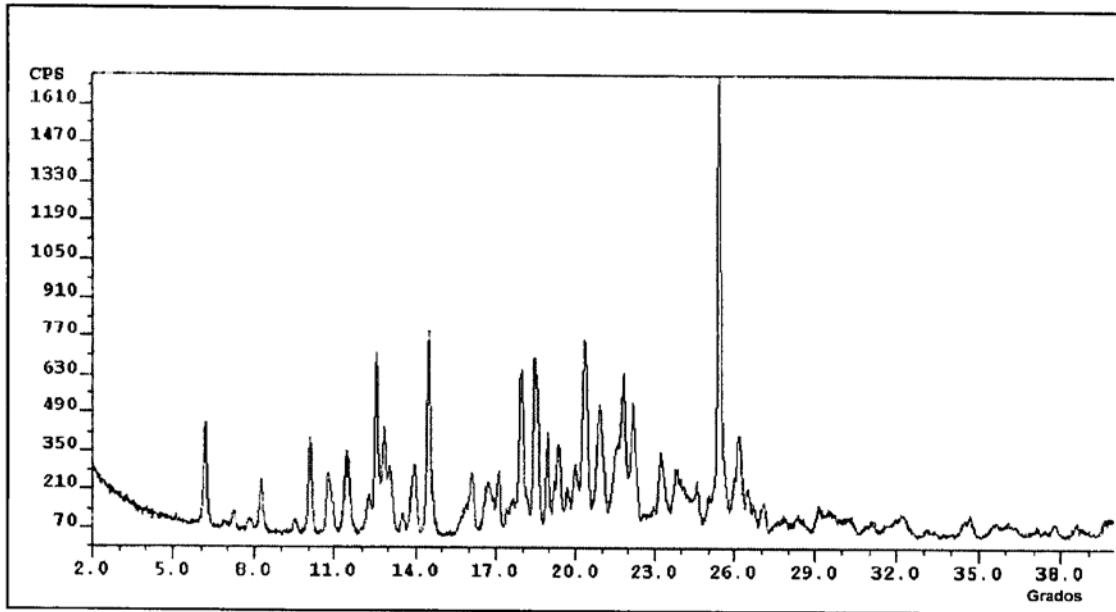


FIG. 9

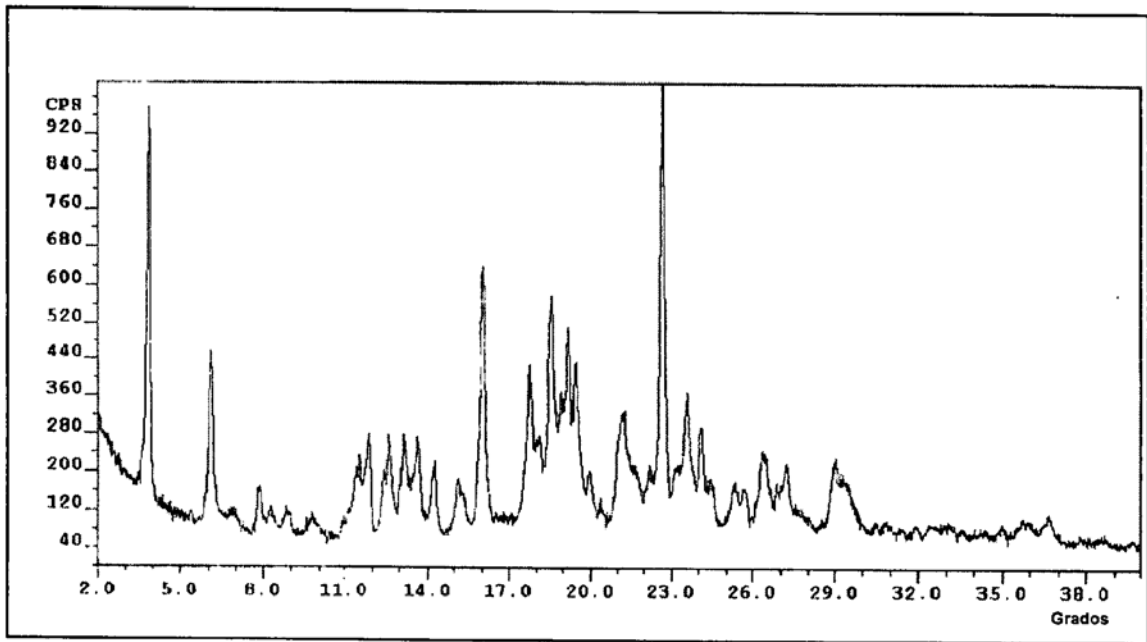


FIG. 10

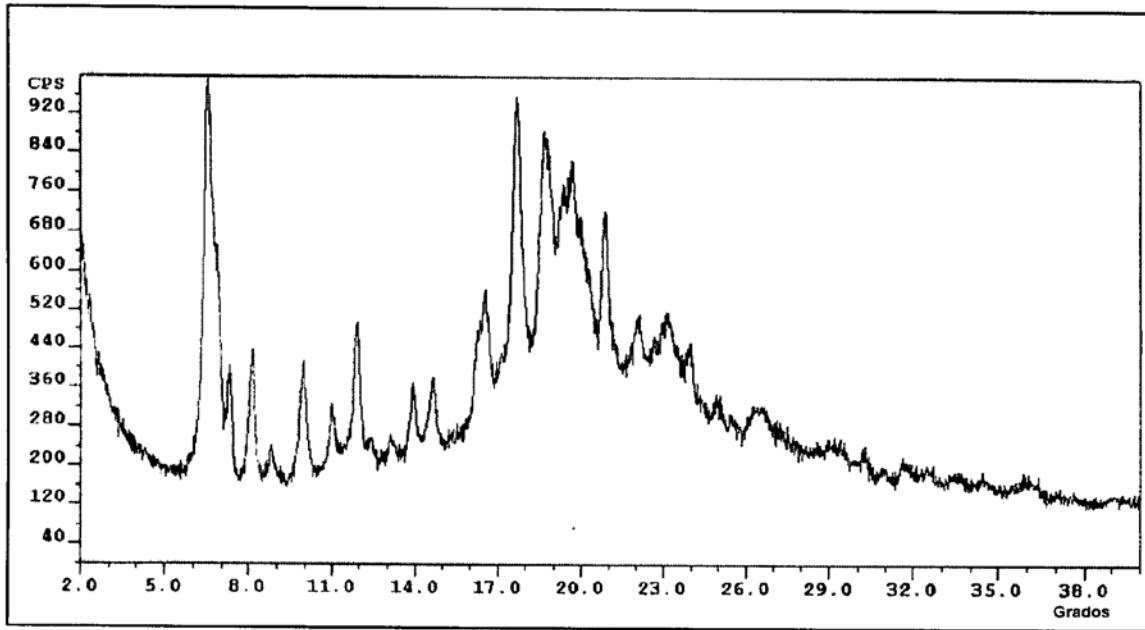


FIG. 11

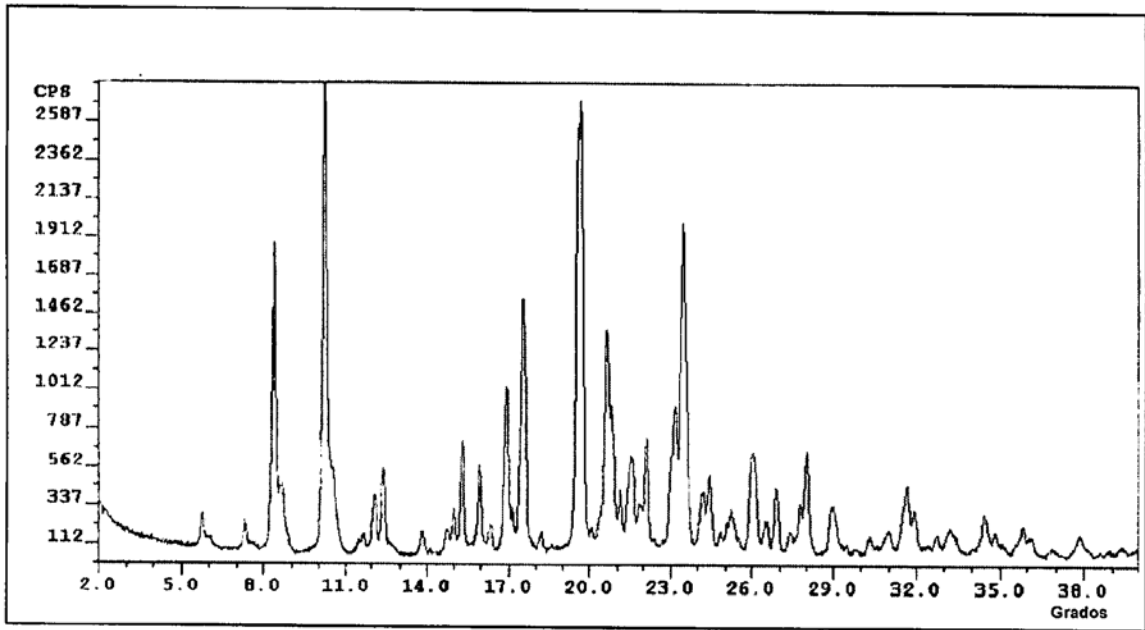


FIG. 12

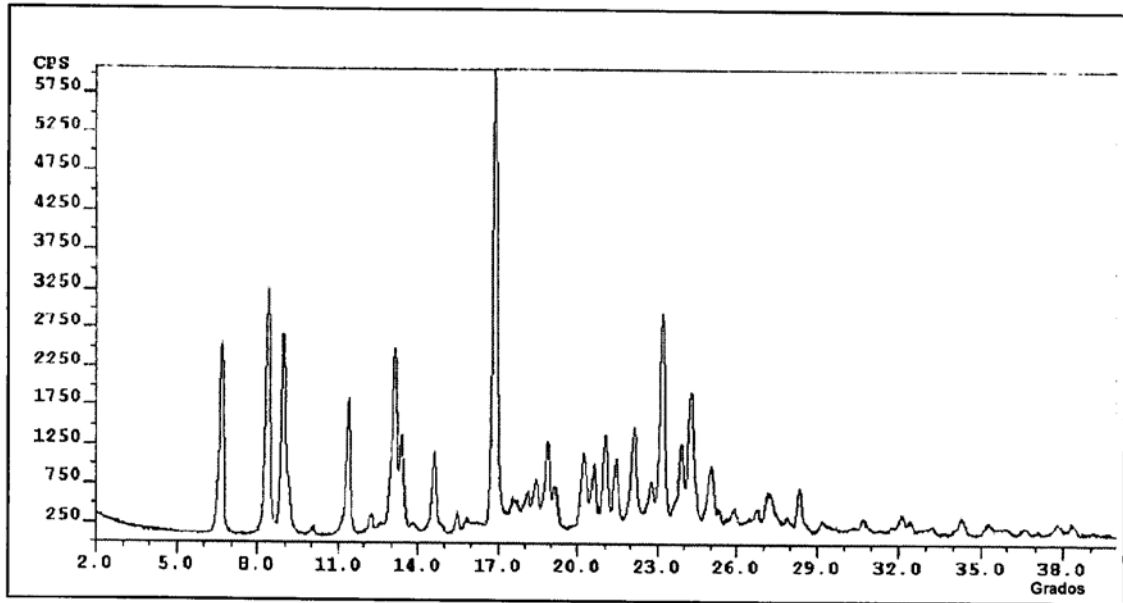


FIG. 13