

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 483 801**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.08.2011 E 11748611 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.06.2014 EP 2603509**

54 Título: **Forma cristalina de compuesto de pirmido[6,1-a]isoquinolin-4-ona**

30 Prioridad:

**09.08.2010 US 371892 P**

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

**07.08.2014**

73 Titular/es:

**VERONA PHARMA PLC (100.0%)  
Suite 21, Alpha House, 100 Borough High Street  
London SE1 1LB, GB**

72 Inventor/es:

**WALKER, MICHAEL, J., A.;  
PLOUVIER, BERTRAND, M., C.;  
NORTHEN, JULIAN, S. y  
FERNANDES, PHILIPPE**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 483 801 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

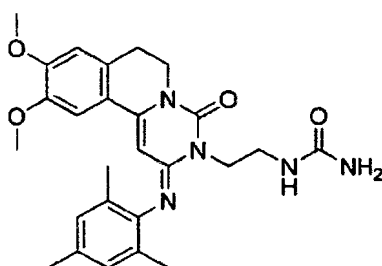
Forma cristalina de compuesto de pirrido[6,1-a]isoquinolin-4-ona

## 5 Antecedentes de la invención

El comportamiento polimórfico de fármacos pueden ser de importancia crucial en farmacia y farmacología. Los polimorfos son, por definición, cristales de la misma molécula que tienen diferentes propiedades físicas como resultado del orden de las moléculas en la red cristalina. Las diferencias en las propiedades físicas exhibidas por los polimorfos afectan a los parámetros farmacéuticos tales como estabilidad frente al almacenamiento, compresibilidad y densidad (importante en la formulación y fabricación de productos) y velocidades de disolución (un factor importante en la determinación de la biodisponibilidad). Las diferencias en cuanto a estabilidad pueden ser el resultado de cambios en la actividad química (por ejemplo, oxidación diferencial, tal como una dosificación genera decoloraciones de manera más rápida cuando está formada por un polimorfo que cuando está formada por otro polimorfo) o cambios mecánicos (por ejemplo, los comprimidos se aglutinan durante el almacenamiento debido a que el polimorfo cinéticamente favorecido se convierte termodinámicamente en un polimorfo más estable) o ambos (por ejemplo, los comprimidos de un polimorfo son más susceptibles de ruptura a valores de humedad elevada). Como resultado de las diferencias en cuanto a solubilidad/disolución, en el caso extremo, algunas transiciones de polimorfos pueden tener como resultado la pérdida de potencia o, en el otro extremo, toxicidad. Además, las propiedades físicas del cristal pueden ser importantes en el procesado: por ejemplo, un polimorfo podría ser más susceptible de formar solvatos o podría resultar difícil de filtrar y lavar las impurezas libres (es decir, la forma de partículas y la distribución podrían ser diferentes entre un polimorfo y otro).

Cada compuesto farmacéutico tiene una concentración en sangre terapéutica óptima y una concentración letal. La bio-disponibilidad del compuesto determina la intensidad de la dosificación de la formulación de fármaco necesaria para obtener el nivel sanguíneo ideal. Si el fármaco puede cristalizar en forma de dos o más polimorfos que difieren en cuanto a bio-disponibilidad, la dosis óptima depende del polimorfo presente en la formulación. Algunos fármacos muestran un margen estrecho entre concentraciones terapéutica y letal. Por ejemplo, cloramfenicol-3-palmitato (CAPP) es un antibiótico de amplio espectro que se sabe que cristaliza en al menos tres formas polimórficas y una forma amorfa. Se comercializa la forma más estable, A. La diferencia en cuanto a bio-actividad entre este polimorfo y otra forma B es un factor de ocho - que crea la posibilidad de sobredosificaciones fatales del compuesto si se administra inconscientemente como forma B debido a alteraciones durante el procesado y/o almacenamiento. Por tanto, las agencias normativas, tales como US Food and Drug Administration, han comenzado a establecer controles estrictos sobre el contenido polimórfico del componente activo en las formas de dosificación sólidas. En general, para los fármacos que existen en formas polimórficas, si se tiene que comercializar algún polimorfo termodinámicamente preferido diferente de la forma pura, la agencia normativa requiere el control lote por lote. De este modo, resulta importante, por motivos tanto médicos como comerciales, producir y comercializar el fármaco puro en su polimorfo termodinámicamente más estable, sustancialmente libre de otros polimorfos favorecidos desde el punto de vista cinético.

Las patentes de Estados Unidos Nos. 6.794.391, 7.378.424 y 7.105.663 describen un compuesto RPL-554 (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea).



RPL-554

45 Sería beneficioso proporcionar una composición de un polimorfo estable de RPL-554, que tenga las ventajas con respecto a los polimorfos menos estables o formas amorfas, incluyendo estabilidad, compresibilidad, densidad, velocidades de disolución, mayor potencia y ausencia de toxicidad.

## 50 Sumario de la invención

55 En un aspecto, la invención proporciona una forma polimórfica (I) de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) (RPL-554). Como resultado de sus propiedades de estabilidad únicas, este polimorfo proporciona una (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) altamente pura en su forma polimórfica termodinámicamente más estable.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea), en forma de un cristal sólido que consiste en más de un 99 % en peso de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea),

- 5 al menos un 95 % en forma polimórfica de un polimorfo (I) termodinámicamente estables de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea), presentando dicho polimorfo (I) los siguientes parámetros estructurales obtenidos por medio de análisis de cristal individual:

Longitud de onda	0,71073 angstrom
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P-1
Dimensiones de la célula unitaria	a = 8,1246(4) angstrom $\alpha = 91,583(4)^\circ$ .
b = 11,4573(5) angstrom	$\beta = 90,299(4)^\circ$ .
c = 13,2398(6) angstrom	$\gamma = 99,628(4)^\circ$ .
Volumen	1214,56(10)angstrom <sup>3</sup>
Z	2.

- 10 En otro aspecto, la invención proporciona un polimorfo cristalino (I) de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) que tiene un patrón de difracción de rayos-x en forma de polvo que comprende picos característicos, en términos de  $2\theta$ , a  $10,1^\circ$  y  $12,9^\circ$ .

En determinadas realizaciones, dicho patrón de difracción de rayos-x en forma de polvo comprende además picos característicos, en términos de  $2\theta$ , a  $15,3^\circ$  y  $17,6^\circ$ .

En otra realización, dicho patrón de difracción de rayos-x comprende al menos 5 picos característicos, en términos de  $2\theta$ , seleccionados entre  $6,4^\circ$ ,  $10,1^\circ$ ,  $12,6^\circ$ ,  $12,9^\circ$ ,  $13,6^\circ$ ,  $14,2^\circ$ ,  $14,7^\circ$ ,  $15,3^\circ$ ,  $15,4^\circ$ ,  $15,8^\circ$ ,  $17,0^\circ$ ,  $17,6^\circ$ ,  $18,9^\circ$ ,  $20,9^\circ$ ,  $22,4^\circ$ ,  $22,8^\circ$  y  $28,7^\circ$ .

20 En determinadas realizaciones, el polimorfo tiene un patrón de difracción de rayos-x en forma de polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 1.

En otras realizaciones, el polimorfo tiene una traza de calorimetría de barrido diferencial que muestra un máximo a aproximadamente  $248^\circ\text{C}$ .

En varias realizaciones, el polimorfo tiene una traza de calorimetría de barrido diferencial sustancialmente como se muestra en la Figura 4.

30 En otro aspecto, la invención proporciona una composición sólida que comprende el polimorfo como se describe en la presente memoria.

En una realización, la invención proporciona una composición donde al menos aproximadamente un 50 % en peso de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente como dicho polimorfo.

En otras realizaciones, la invención proporciona una composición donde al menos aproximadamente un 70 % en peso de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente en dicho polimorfo.

40 En otras realizaciones, la invención proporciona una composición donde al menos aproximadamente un 90 % en peso de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente en dicho polimorfo.

45 En otras realizaciones, la invención proporciona una composición donde al menos aproximadamente un 97 % en peso de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente en dicho polimorfo.

50 En otra realización, la invención proporciona una composición sólida que comprende el polimorfo como se ha descrito anteriormente y, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En determinadas realizaciones, la composición sólida comprende el polimorfo y uno o más compuestos adicionales.

55 En otra realización, el compuesto adicional es una sustancia terapéutica conocida.

En determinadas realizaciones, la sustancia terapéutica se usa para tratar asma, asma alérgica, rinitis polínica, rinitis alérgica, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome disneico agudo del adulto (SDAA),

fibrosis quística, trastornos cutáneos, dermatitis atópica, soriasis, inflamación ocular, isquemia cerebral o enfermedades auto-inmunitarias.

5 En otras realizaciones, la invención proporciona una composición sólida donde se usan las sustancias terapéuticas para tratar asma o EPOC.

En determinados aspectos, la invención proporciona un proceso para preparar el polimorfo de la invención que comprende:

10 (a) combinar N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) con un disolvente para formar una mezcla, y  
 (b) calentar a una temperatura de aproximadamente 50 °C o por encima de ella, durante un tiempo y en condiciones apropiadas para la formación de dicho polimorfo.

15 En determinados aspectos, la invención proporciona un proceso para preparar el polimorfo de la invención que comprende:

20 (a) combinar N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) con un disolvente para formar una mezcla,  
 (b) filtración de dicha mezcla,  
 (c) calentar a una temperatura de aproximadamente 55 °C o por encima de ella, durante un tiempo y en condiciones apropiadas para formar dicho polimorfo; y  
 (d) filtración y secado.

25 En determinadas realizaciones, el disolvente es DMSO, etanol, metanol, isopropanol, hexanos, pentano, acetato de etilo, diclorometano, o cloroformo. En otra realización, el disolvente es DMSO o etanol.

30 En otra realización, dicha mezcla se mantiene a una temperatura de aproximadamente 50 °C o por encima de ella, durante aproximadamente 24 a 96 horas. En otra realización, dicha mezcla se mantiene a una temperatura de aproximadamente 50 °C o por encima de ella, durante aproximadamente 72 horas. En otras realizaciones, dicha mezcla se mantiene a una temperatura de aproximadamente 55 °C o por encima de ella, durante aproximadamente 24 a 96 horas. En varias realizaciones, dicha mezcla se mantiene a una temperatura de aproximadamente 55 °C o por encima de ella durante aproximadamente 72 horas.

35 En otras realizaciones, dicha mezcla se seca a vacío entre 25 y 50 °C. En otra realización, dicha mezcla se seca a vacío a 40 °C.

En otra realización, la invención proporciona un polimorfo como se ha descrito anteriormente, preparado por medio del método que comprende

40 (a) combinar N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) con un disolvente para formar una mezcla, y  
 (b) calentar a una temperatura de aproximadamente 50 °C o por encima de ella, durante un tiempo, en condiciones apropiadas para formar dicho polimorfo.

45 En otra realización, la invención proporciona un polimorfo como se ha descrito anteriormente, preparado por medio del método que comprende

50 (a) combinar N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) con un disolvente para formar una mezcla,  
 (b) filtración de dicha mezcla,  
 (c) calentar a una temperatura de aproximadamente 55 °C o por encima de ella, durante un tiempo y en condiciones apropiadas para formar dicho polimorfo; y  
 (d) filtración y secado.

55 En otro aspecto, la invención proporciona un polimorfo cristalino para su uso en el tratamiento de asma, asma alérgica, rinitis polínica, rinitis alérgica, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome disneico agudo del adulto (SDAA), fibrosis quística, trastornos cutáneos, dermatitis atópica, soriasis, inflamación ocular, isquemia cerebral o enfermedades auto-inmunitarias, en un mamífero que lo precisa que es un polimorfo (I) de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea).

60 En una realización, el mamífero es un humano.

65 La forma polimorfa de RPL554 es menos estable ya que se puede transformar, con alcances variables, en varias formas polimorfas en determinadas condiciones y se puede transformar durante el almacenamiento. Debería demandarse más la producción a gran escala de la forma polimorfa, de manera más coherente con las

especificaciones de GMPc requeridas en términos de pureza así como de perfil de impurezas. Por tanto, la forma amorfa presenta retos de desarrollo de un polvo sólido seco micronizado uniforme y reproducible de RPL554 para determinadas aplicaciones de formación. Al mismo tiempo la Forma I de polimorfo cristalino se puede fabricar más fácilmente a gran escala GMPc para proporciona RPL554 sólido como ingrediente farmacéutico activo (API) en un proceso más consistente y reproducible. Los procesos de purificación y aislamiento para el producto de Forma I polimorfa cristalina son más apropiados para la producción de GMPc a gran escala. Las ventajas anteriores tienen como resultado el suministro de lotes de producto que, de manera coherente, se encuentran dentro de las especificaciones de GMPc requeridas. Como se muestra en un aspecto de la presente invención, la Forma I de polimorfo cristalino es la forma polimórfica termodinámicamente más estable de RPL554 y también cabe esperar que tenga la mayor duración útil de almacenaje. Esta ventaja se debería extender además a la duración útil potencial de cualquier producto de fármaco comercial de RPL554 que contenga la Forma I de polimorfo cristalino estable en forma de API. Además, la Forma I de polimorfo cristalino es más apropiada para el desarrollo de un polvo de RPL554 sólido seco micronizado uniforme y reproducible para determinadas aplicaciones de formulación farmacéutica.

El estudio de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) (RPL554), presentada en forma cristalina (designada Forma I), mostró que el material fue muy flexible frente a cambios y que la Forma I estaba dentro de los límites del estudio desarrollado, la forma polimórfica más estable del material conocido (véase experimental).

Se aplicó un intervalo de experimentación con el fin de descubrir la existencia de nuevos polimorfos puros del compuesto, que son: adición anti-disolvente; trabajo en disolución saturada; maduración de suspensión; re-cristalización formal; estudios con disolvente mixto; y cristalización de sistema acuoso.

Se logró la generación de la fase amorfa y esto también se usa en algunos estudios con resultados similarmente concluyentes, ya que la Forma I predominó con la excepción de únicamente unos pocos experimentos en los cuales se introdujo algún cambio. En los casos en los cuales se indujo algún cambio a pequeña escala, se llevaron a cabo intentos para escalar las cristalizaciones con el fin de caracterizar completamente las formas (pura y mixta), con el fin de determinar si este cambio se debió a solvatación o a una entidad no solvatada. En la mayoría de los casos, debido a la naturaleza delicada de las variables del proceso necesarias para repetir dichas cristalizaciones y las estabilidad totales del sistema, se devolvió la Forma I. La principal excepción fue DMSO, donde se observó un potencial elevado de fase de fusión en forma de mezcla con la Forma I, después de la fusión principal dentro del ciclo de descomposición para el material. También se pudo apreciar que DMSO devolvió otras dos fases alteradas antes del presente escalado, cada una de ellas diferentes, pero finalmente representativas de lo que, de manera más probable, fue un solvato y/o forma menos estable.

Los informes anteriores sugirieron que se podía generar ese material amorfo por medio de enfriamiento por machacado de una masa fundida. La evaporación rápida a partir de DCM proporcionó un método robusto, mientras que el enfriamiento por machacado de una masa fundida simplemente dio como resultado la descomposición (amorfo por medio de XRPD, pero < 20 % de producto por medio de análisis de HPLC).

Debido a que históricamente no se ha sabido si el proceso procedente del material generado de forma propia era amorfo o cristalino, se repitieron ensayos de solubilidad de estos materiales para actuar como guía, demostrando que la fase amorfa fue más soluble.

Por último, se vio que la Forma I estaba termodinámicamente más favorecida y aparte, la manipulación del material cristalino o amorfo se podría lograr de forma satisfactoria con referencia a la presente física alterada de materiales aislados, por ejemplo, polvo frente a un aspecto cristalino más grande.

De importancia durante la progresión de este material, fue que se la presión aplicada dio como resultado la generación de lo que se presume es un material amorfo, como viene indicado por medio de XRPD y DSC. El perfil térmico de este material mostró una cristalización exotérmica y una endoterma de fusión posterior que estuvo muy próxima a la de la Forma I. Esto se pudo verificar repitiendo con más material y aislando el producto posterior al evento exotérmico y comprobando por medio de XRPD y HPLC.

#### Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Comparación de los datos medidos de RPL554 (parte superior) frente a los datos simulados de cristal individual (parte inferior).

Figura 2: Comparación de la expansión de los dos intervalos theta (5-13 ° 2θ).

Figura 3: Perfil de XRPD de transmisión de RPL554.

Figura 4: Traza de DSC/TGA para RPL554.

Figura 5: Comparaciones de XRPD de adiciones anti-disolvente de DMSO/heptano (CG1099).

Figura 6: Comparación de XRPD de cristales de disolución saturada procedente de RPL554 y DMSO (JN376A4).

Figura 7: Solapamiento DSC de entrada de RPL554 y nueva forma a partir de disolución de DMSO saturada

(JN376A4).

Figura 8: Resultados seleccionados de maduración de suspensión que muestran la Forma I para todas las series.

Figura 9: Perfiles de XRPD para cristalizaciones mixtas acuosas (experimento PF86).

5 Figura 10: Masa fundida enfriada por machacado de Forma I de RPL554 desde 245 °C (llevado a cabo como PF84).

Figura 11: Perfil de DSC para RPL554 enfriado por machacado (desde 245 °C, PF84).

Figura 12: Perfil de DSC para la Forma I molida de RPL554.

Figura 13: Comparación de XRPD de muestra comprimida frente a RPL554 de material original (CG1099F).

10 Figura 14: Comparación de DSC de material amorfo por medio de presión frente a DSC de RPL554.

Figura 15: Comparación de DSC de RPL554 y un lote de RPL554 amorfo procedente de DCM (JN376).

Figura 16: Análisis de XRPD de RPL554 (GC1099 SM) y material amorfo (JN376F).

Figura 17: Comparación de XRPD para PF89A1 (DMSO) con Forma I de RPL554.

Figura 18: DSC/TGA combinada para PF90 de cristalización con escalado de DMSO.

15 Figura 19: Comparación de XRPD de la Forma I de RPL554 con la forma DMSO de fase mixta (PF90).

Figura 20: Conformación de resultados de RPL554 analizado por medio de difracción de rayos-x.

Figura 21: Unión de hidrógeno implicada en la estructura RPL554.

Figura 22: Motivo de empaquetamiento para RPL554.

## 20 Descripción detallada de la invención

El estudio de N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]isoquinolin-3(4H-il)etil]urea} (RPL554), presentada en forma cristalina (designada como Forma I), mostró que el material era muy flexible a cambios y que la Forma I era, dentro de los límites del estudio llevado a cabo, la forma polimórfica más estable del material conocido. Se aplicó un intervalo de experimentación con el fin de someter a ensayo esto, incluyendo dichos estudios el uso de material amorfo. Ambas fases, tras la producción, mostraron que la Forma I predominó con la excepción de únicamente unos pocos experimentos en los cuales se indujo un cambio. En los casos en los cuales se indujo un cambio a pequeña escala, se llevaron a cabo intentos para escalar las cristalizaciones con el fin de caracterizar completamente las formas (pura y mixta), para determinar si el cambio se debió a solvatación o a una entidad no solvatada. En la mayoría de los casos, debido a la naturaleza de las variables del proceso necesarias para repetir dichas cristalizaciones y las estabildades totales de los sistemas, se devolvió la Forma I. La principal excepción fue DMSO, donde se observó una fase potencial de fusión elevada en forma de mezcla con la Forma I, después de la fusión principal dentro del ciclo de descomposición del material.

Por último, la Forma I se mostró como la fase termodinámicamente favorecida y se pudo lograr la manipulación del material bien cristalino o bien amorfo con referencia a la presentación física alterada de los materiales aislados, por ejemplo, polvo frente al aspecto cristalino más grande. En este ensayo de base 3, se comenzaron las cristalizaciones con ayuda del material creciente apropiado para el análisis de cristales individuales y para complementar el indexado y el refinado de la células unitaria llevados a cabo con los datos obtenidos de polvo de alta calidad.

La difracción de rayos-x es la herramienta ideal para obtener la huella dactilar del producto farmacéutico de interés. De manera ideal, los datos de polvo están relacionados con una forma cristalina única con un XRPD único. Debido al colapso de la información cristalográfica de 3D a 2D, un XRPD típico observa el solapamiento de los picos de difracción a dos niveles elevados de theta. Debido a ello, el indexado de un patrón de difracción (que refiere los datos a parámetros celulares unitarios) sigue siendo una etapa desafiante, aunque se ha logrado un amplio avance durante los últimos años.

Los datos presentados en la presente memoria se refieren potencialmente a parámetros de célula unitaria correcta de RPL554. El algoritmo del soporte lógico permite la obtención de los ajustes de célula unitaria con figuras de mérito. Cuanto mayores son estos valores, mayores con los cambios para obtener para obtener la célula unitaria correcta.

Difracción de Rayos-X en Forma de Polvo (XRPD) PANalytical X'Pert PRO: se recogieron los patrones de difracción de rayo-x en forma de polvo sobre un difractor PANalytical usando radiación de Cu K $\alpha$  (45 kV, 40 mA), goniómetro  $\theta$ - $\theta$ , espejo de enfoque, rendija de divergencia (1/2 pulgada, 1,27 cm), rendijas de soller tanto en el haz incidente como en el haz divergente (4 mm) y detector de PIXcel. El soporte lógico usado para la recogida de datos fue X'Pert Data Collector, versión 2.2f, y se presentaron los datos usando X'Pert Data Viewer, versión 1.2 d.

Se procesaron las muestras en condiciones ambientales y se analizaron por medio de XRPO de papel metalizado de transmisión, usando el polvo tal y como se recibió. Se montaron aproximadamente 2-5 mg de la muestra en la placa de muestra de posición 96 sobre un soporte de película de poliimida (Kapton, espesor de 12,7  $\mu$ m). Se recogieron los datos dentro del intervalo 3-40° 2 $\theta$  con un barrido continuo (velocidad 0,146° 2 $\theta$ /s).

Calorimetría de barrido diferencial (DSC): se recogieron los datos de DSC en un PerkinElmer Pyris 4000 DSC. Se verificó el instrumento en cuanto a calibración de energía y temperatura usando indio certificado. Se colocó una

cantidad predefinida en miligramos mg de la muestra en una cazoleta de aluminio agujereada y normalmente se calentó a  $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  desde  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta  $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ , o se varió según dictó la experimentación. El control instrumental y los datos de análisis fueron Pyris Software v9.0.1.0174.

5 Análisis Termo-Gravimétrico (TGA): se recogieron los datos en un Pyris 1 TGA equipado con un dispositivo automático de toma de muestra de 20 posiciones. Se calibró el instrumento usando indio certificado. Se introdujo una cantidad predefinida en miligramos de la muestra sobre un crisol de aluminio pre-pesado y se calentó a  $40\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  desde temperatura ambiente hasta  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se mantuvo una purga de nitrógeno a  $20\text{ ml min}^{-1}$  sobre la muestra. El control instrumental y el análisis de datos fue Pyris Software v9.0.1.0174.

10 Sorción de Vapor Gravimétrica: se obtuvieron isotermas de sorción usando un analizador de sorción de humedad Hiden Isochema (modelo IGAsorp.) controlado por medio de IGAsorp Systems Software V6.50.48. Se mantuvo la muestra a temperatura constante ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por medio de los controles instrumentales. Se controló la humedad por medio de corrientes de mezcla de nitrógeno seco y húmedo, con un flujo total de  $250\text{ ml min}^{-1}$ . Se verificó el contenido de humedad relativa del instrumento midiendo tres disoluciones salinas Rotronic calibradas (10-50-88%). Se controló el cambio de peso de la muestra como una función de la humedad por medio de un micro-equilibrio (precisión  $\pm 0,005\text{ mg}$ ). Se colocó una cantidad definida de muestra en un recipiente de acero inoxidable con malla metálica previamente pesado en condiciones ambientales. Un ciclo experimental completo consistió en dos barridos (sorción y desorción) a una temperatura constante ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e intervalos de 10 % de humedad relativa durante un intervalo de un 10-90 % (90 minutos para cada nivel de humedad). Este tipo de experimento debería demostrar la capacidad de las muestras estudiadas para absorber humedad (o no) con respecto a un conjunto de intervalos de humedad bien definidos.

25 Resonancia Magnética Nuclear (RMN): Se recogieron los espectros de RMN  $^1\text{H}$  en un instrumento Bruker 270MHz equipado con un dispositivo automático de toma de muestras y controlado por una consola de DRX400. Se adquirieron experimentos automatizados usando Delta RMN Processing & Control Software versión 4.3. Se prepararon las muestras en DMSO- $d_6$ , a menos que se afirmara lo contrario. El análisis se llevó a cabo usando ACD/Specmanager 7.11.

30 Solubilidad Acuosa Termodinámica por medio de HPLC: se determinó la solubilidad acuosa por medio de suspensión del compuesto suficiente en agua de calidad de HPLC para proporcionar una concentración final máxima de  $\geq 20\text{ mg ml}^{-1}$  del compuesto parental. Se equilibró la suspensión a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Posteriormente, se filtró la suspensión a través de un filtro al interior de un vial de HPLC. Posteriormente, se diluyó el filtrado por un factor apropiado. Se ejecutó la cuantificación por medio de HPLC con referencia a una disolución patrón de aproximadamente  $0,5\text{ mg ml}^{-1}$  en Acetonitrilo : Agua (1:1). Se inyectaron diferentes volúmenes de las disoluciones de muestra patrón, diluida y no diluida. Se calculó la solubilidad usando las áreas de pico determinadas por medio de integración del pico encontrado al mismo valor de tiempo de retención como pico principal en la inyección del patrón.

40 Se llevó a cabo el análisis en un cromatógrafo de líquidos de la serie Agilent 1100, equipado con un detector de UV (DAD o VWD) @  $254\text{ nm}$  usado el soporte lógico Chemstation Rev. B.01.03 para el procesado de datos. Determinación de pureza química por medio de HPLC.

#### Composiciones Farmacéuticas

45 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un polimorfo de la presente invención formulado junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Según se usa en la presente memoria, la expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un material de encapsulado, diluyente o carga líquida, semi-sólida o sólida, inerte y no tóxica o formulación auxiliar de cualquier tipo. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar a humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (en forma de polvos, pomadas o gotas), bucal o como pulverización oral o nasal. Otras rutas de administración de fármacos incluyen inhalación del medicamento procedente de una disolución o suspensión de las composiciones farmacéuticas de la presente invención en un inhalador de dosificación controlada (MDI) o nebulizador, o inhalación de un fármaco en forma de polvo que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un polimorfo de la presente invención generalmente mezclado con un excipiente o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, a partir de un inhalador de polvo seco (DPI).

60 Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua, alcohol u otros disolventes, agentes de solubilización y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilen glicol, polisorbato, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), mono- o diglicéridos, glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán y sus mezclas. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, antioxidantes, edulcorantes,

aromatizantes y agentes de perfumado. La forma de dosificación líquida también se puede encapsular en una cápsula de gelatina, donde se puede disolver un compuesto de la presente invención en un excipiente farmacéuticamente aceptable que contiene, por ejemplo, uno o más agentes de solubilización (por ejemplo, polisorbato 80 y mono y diglicéridos) y otros excipientes apropiados (por ejemplo, antioxidantes tales como palmitato de ascorbilo, o un agente edulcorante o aromatizantes).

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones oleaginosas o acuosas inyectables estériles, se pueden formular de acuerdo con la técnica conocidas, usando agentes humectantes o dispersantes apropiados y agentes suspensores. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución inyectable estéril, suspensión o emulsión en un disolvente o diluyente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos aceptables y disolventes que se pueden emplear están agua, disolución de Ringer, U.S.P. y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites estériles y fijos como disolvente o medio de suspensión. Para esta finalidad, se puede emplear cualquier aceite fijo blando incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, se usan los ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de las formulaciones inyectables.

Con el fin de prolongar el efecto del fármaco, con frecuencia resulta deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede conseguir por medio del uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con pobre solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño de los cristales y de la forma de los cristales. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra por medio de disolución o suspensión del fármaco en un vehículo oleoso. También se contemplan las formas de liberación inmediata por parte de la presente invención.

Preferentemente, las composiciones para administración rectal o vaginal son supositorios que se pueden preparar por medio de mezcla de los compuestos de la presente invención con excipiente no irritantes apropiados o vehículos tales como manteca de coco, polietilenglicol o cera para supositorios, que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y por tanto se funden en la cavidad de la vagina o del recto y liberan el polimorfo de compuesto activo.

También se pueden emplear las composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina de relleno blando o duro que usan dichos excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los polimorfos activos también pueden estar en forma micro-encapsulada con uno o más excipientes como se ha comentado anteriormente.

Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos entéricos, revestimientos que controlan la liberación y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. En dichas formas de dosificación sólida, se puede mezclar el compuesto activo con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como práctica normal, sustancias adicionales diferentes de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de formación de comprimidos y otros coadyuvantes de formación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender agentes tamponadores.

Preferentemente, se formula un polimorfo de la invención en una dispersión sólida, donde el polimorfo se puede suspender molecularmente en una matriz que comprende un polímero hidrófilo farmacéuticamente aceptable. La matriz también puede contener un tensioactivo farmacéuticamente aceptable. La tecnología de dispersión sólida apropiada para la formulación de un polimorfo de la invención incluye, pero sin limitarse a, extrusión en masa fundida, secado por pulverización o evaporación de disolvente.

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un polimorfo de la presente invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, disoluciones, pulverizaciones, inhaladores o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un excipiente farmacéuticamente aceptable y cualesquiera conservantes necesarios o tampones que pudieran requerirse. También se contemplan la formulación oftálmica, gotas para los oídos, pomadas oculares, polvos y disoluciones dentro del alcance de la presente invención.

Las pomadas, cremas, pastas y geles pueden contener, además de un polimorfo de la presente invención, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc o sus mezclas.

Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de los polimorfos de la presente invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas



sustancias. De manera adicional, las pulverizaciones pueden contener propelentes habituales tales como clorofluorohidrocarburos.

5 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un polimorfo al cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar por medio de disolución o suministro del polimorfo en el medio apropiado. También se pueden usar mejoradores de absorción para aumentar el flujo del polimorfo a través de la piel. Se puede controlar la velocidad bien proporcionando una membrana de control de velocidad o bien suministrando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

#### 10 Actividad biológica

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de polimorfo que comprende un polimorfo de la invención y un diluyente o excipiente aceptable desde el punto de vista veterinario o farmacéutico. Preferentemente, la composición es una composición farmacéutica para medicina humana. En otro aspecto, la composición de la presente invención es una composición para medicina veterinaria.

15 Los compuestos de polimorfo de la presente invención son inhibidores de PDE y, de este modo, poseen propiedades farmacológicas valiosas, tales como actividad broncodilatadora, como queda demostrado por medio de la inhibición de la contracción estimulada por campo de la traquea aislada en cobayas, y la actividad anti-inflamatoria como queda ilustrado en estudios con células mononucleares humanas estimuladas por PHA (fitohemaglutinina). Los datos in vivo e in vitro indica que los compuestos tienen una acción de larga duración, como queda demostrado por los efectos protectores persistentes frente al broncoespasmo inducido por histamina en cobayas cuando se produce la inhalación directa en los pulmones en forma de polvo seco. Por tanto, la invención también se refiere al tratamiento agudo, crónico y profiláctico de pacientes que padecen trastornos respiratorios incluyendo, en particular, asma, asma alérgica, rinitis polínica, rinitis alérgica, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome disneico agudo del adulto (SDAA) y fibrosis quística. También se pueden tratar de forma tópica trastornos cutáneos tales como dermatitis atópica y soriasis, o inflamación ocular o cualquier otra enfermedad incluyendo isquemia cerebral o enfermedades auto-inmunitarias, en las cuales el aumento de las concentraciones intracelulares de cAMP se considera beneficioso.

20 Uno o más polimorfos compuestos pueden estar presentes en asociación con uno o más excipientes no tóxicos farmacéutica y/o veterinariamente aceptables y/o diluyentes y/o adyuvantes y/o propelentes y, si se desea, otros ingredientes activos. Excipientes o diluyentes apropiados se conocen en la técnica (por ejemplo Handbook of Pharmaceutical Excipients (1994) 2ª edición, Eds. A. Wade/PJ Weller, The Pharmaceutical Press, American Pharmaceutical Association).

25 De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona un polimorfo compuesto para su uso en medicina. Los compuestos de polimorfo de la presente invención son útiles como inhibidores de las isoenzimas de fosfodiesterasa. Los polimorfos de los compuestos o composiciones de la presente invención se pueden usar para evitar o tratar cualquier enfermedad en la cual son útiles los compuestos o composiciones, pero en particular una enfermedad en la cual resulta deseable el aumento de la concentración intracelular de cAMP. Ejemplos de enfermedades frente a las cuales los compuestos son útiles incluyen trastornos respiratorios que incluyen, en particular, asma, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome disneico agudo del adulto (SDAA), asma alérgica, rinitis polínica, rinitis alérgica y fibrosis quística. También se pueden usar de forma tópica en trastornos cutáneos tales como dermatitis atópica y soriasis, inflamación ocular o cualquier otra enfermedad incluyendo isquemia cerebral o enfermedades auto-inmunitarias, en las cuales el aumento de las concentraciones intracelulares de cAMP se considera beneficioso.

30 Este aspecto de la invención es particularmente relevante para el tratamiento de humanos, pero resulta aplicable a la industria veterinaria general, en particular animales domésticos tales como perros y gatos y animales de granja tales como caballos, cerdos, vacas, ovejas, etc.

35 Los niveles de dosificación del orden de aproximadamente 0,02 mg a aproximadamente 200 mg, tomados tres veces al día, son útiles para el tratamiento de los trastornos anteriormente mencionados. Más particularmente, un intervalo de dosificación de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 20 mg, tomado tres veces al día, resulta eficaz. No obstante, el régimen particular de dosificación vendrá determinado finalmente por el médico que presta la atención y tendrá en consideración factores tales como la medicación que se usa, edad, peso, gravedad de los síntomas y/o gravedad del tratamiento que se aplica, métodos de administración de la medicación, reacciones adversas y/o otras contraindicaciones.

40 La medicación de acuerdo con el presente aspecto de la invención se puede proporcionar a un paciente junto con otros agentes activos, que pueden por ejemplo ser un compuesto diferente o un polimorfo de la presente invención, u otros compuestos. Ejemplos incluyen agonistas del adrenoreceptor- $\beta_2$ , esteroides de glucocorticoides tópicos, derivados de xantina, compuestos de antihistamina, antagonistas de leucotrieno, inhibidores de la síntesis de leucotrieno y/o sus combinaciones.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un polimorfo de la invención en la fabricación de un inhibidor de isoenzima de fosfodiesterasa de tipo III/IV (PDE3/4). La invención engloba el uso de un polimorfo de la invención en la fabricación de un broncodilatador y/o una medicación anti-asmática y/o un medicamento para la prevención o tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

La invención también se refiere a un polimorfo cristalino para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad en un mamífero, donde cabría esperar que un inhibidor de la isoenzima de fosfodiesterasa y/o broncodilatador resulte beneficioso, comprendiendo el método administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz y no tóxica de un polimorfo de la invención. La invención engloba un polimorfo cristalino para su uso en el tratamiento o la prevención de asma y/o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en mamíferos.

### Ejemplos

Los compuestos y procesos de la presente invención se comprenderán mejor junto con los siguientes ejemplos, que se pretende que sean únicamente ilustrativos y no limitantes del alcance de la invención. Varios cambios y modificaciones con respecto a las realizaciones descritas resultarán evidentes para el experto en la materia y dichos cambios y modificaciones, sin limitación, los que se refieren a estructuras químicas, sustituyentes, derivados, formulaciones y/o métodos de la invención, que se pueden llevar a cabo sin alejarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

#### Ejemplo 1

Se disolvieron aproximadamente 50 mg de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirrido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) (RPL554) en 0,5 ml de DMF a 70 °C. Se dejó enfriar la disolución transparente amarilla muy lentamente con purga de nitrógeno hasta aproximadamente 30 °C durante 4 días. Se observó un lote inicial de material dentro de los licores (aproximadamente 0,4 ml) que fue de naturaleza cristalina. Se repitió dos veces este proceso y se suministró material apropiado para el análisis de los cristales individuales dentro de un volumen de licor de aproximadamente 0,2 ml. Se sometió la muestra a análisis inalterado dentro del licor materno.

Se midieron los datos de cristales individuales a baja temperatura (123 K) y a diferente longitud de onda (0,71073 angstrom). Con el fin de proporcionar un dibujo que proporcione una comparación directa, fueron necesarios ajustes manuales del valor de longitud de onda. Tras varios ajustes, se obtuvo la Figura 1 y muestra el solapamiento de separación entre los datos medidos para RPL554 070638 por medio de XRPD (parte superior) y el XRPD simulado procedente de los datos de cristal individual (Copia de onix2010a, parte inferior).

Una inspección más próxima (Figura 2) en el intervalo de dos theta (5-13 °C, 2 $\theta$ ) demuestra claramente las similitudes existentes entre los datos observados y el patrón de polvo simulado.

El algoritmo en el soporte lógico compara numéricamente los datos observados (RPL554 070638) medidos por medio de XRPD de transmisión y los valores numéricos procedentes del análisis de cristal individual. Los datos clave procedentes del análisis de cristal individual se muestran a continuación:

Temperatura	123(2) K	
Longitud de onda	0,71073 angstrom	
Sistema cristalino	Triclínico	
Grupo espacial	P-1	
Dimensiones de la célula unitaria	a = 8,1246(4) angstrom	$\alpha = 91,583(4)^\circ$
	b = 11,4573(5) angstrom	$\beta = 90,299(4)^\circ$
	c = 13,2398(6) angstrom	$\gamma = 99,628(4)^\circ$
Volumen	1214,56(10) angstrom <sup>3</sup>	
Z	2	

El soporte lógico aplicado para la comparación lee el archivo medido (RPL554 070638) y favoreció la entrada de los parámetros de célula unitaria extraídos a partir de los datos de cristal individual. Posteriormente, el refinado de Pawley (algoritmo) devuelve los valores numéricos, pero el soporte lógico también ilustra este valor numérico por medio de una pantalla gráfica del resultado. El valor numérico para la bondad del ajuste entre los valores medidos y teóricos para RPL554 fue de 2,9. Este valor expresa la calidad de los datos. Cuanto menor es el valor, mejor es el dato y, normalmente, un valor menor de 10 se considera como un éxito positivo.

Los valores numéricos de RPL554 estuvieron en buena sintonía con los procedentes del cristal individual medido a 123 K. De este modo, los datos de cristal individual proporcionan un ajuste excelente con los datos de polvo recogidos para RPL554 de forma propia y, por tanto, es representativo del perfil cristalográfico del polimorfo conocido termodinámicamente favorecido (Forma I).

**Ejemplo 2. Material de partida**

Se toma una muestra de 9,0 g de ex-GMP de reserva de RPL554 (070638-9) y se analizan por medio de XRPD (Figura 3 y Tabla 1) y DSC (Figura 4) para su uso como conjunto de datos de referencia actual.

5

Tabla 1

Pos. [°2 Th]	Altura [cuentas]
6,3827	2406,64
10,1448	3293,52
12,6314	2495,28
12,8735	3362,54
13,6461	1682,38
14,2043	1714,62
14,7078	1191,12
15,2706	2566,43
15,4230	1230,41
15,8229	1877,13
16,9786	1303,49
17,6393	3211,22
18,8932	938,79
20,9592	1298,36
22,4382	1587,30
22,8201	1112,59
28,6947	876,91

Otros estudios tales como RMN de protón y HPLC en esta coyuntura no fueron críticos para el inicio del proyecto, ya que los resultados ya se había recogido con carácter previo. La realizaciones de estudios de solubilidad del material usando un intervalo de materiales orgánicos comunes, de igual forma, resulta innecesario ya que los estudios previos había aportado una indicación sobre el comportamiento del material. El inicio de la investigación en presencia de otras formas de RPL554 se consideró prioritario.

10

Como se sabe, el material es cristalino, con un comienzo de fusión de 246 °C para la entoterma individual, sin cristalización posterior apreciada o transición, diferente de la descomposición térmica. Se aprecia una pérdida de peso inicial de aproximadamente un 4,2 % por medio de TGA, que corresponde a la endoterma de fusión, que no está relacionada con el disolvente (probablemente pérdida de amoníaco delante de la fragmentación total). Habiéndose obtenido los datos, se inició la experimentación con el material, con el objetivo de producir posteriormente el material amorfo. A partir de esta coyuntura, los datos anteriores son denominados Forma I.

15

20

Se asume que el proceso para producir RPL554 suministra el material en la forma corriente y que las suspensiones procedentes de alcohol usadas para mejorar su pureza mejoran su cristalinidad, o de manera más importante, convierte el material amorfo en una forma cristalina.

**Ejemplo 3. Adición anti-disolvente**

25

La adición anti-disolvente es un método bien conocido para obtener el material amorfo, nuevos polimorfos y también fases mixtas. Teniendo esto presente, se produjo una disolución de reserva de RPL554 en DMSO. Se escogió DMSO como material que tiene una solubilidad razonable en este disolvente, que es también ampliamente miscible. Condiciones experimentales (CG1099):

30

Se disolvieron 300 mg de RPL554 en DMSO caliente (2 ml de disolución de reserva) y se añadieron 0,15 ml de esta disolución con agitación intensa, por partes, sobre 12 tubos fríos que contenían varios disolventes (1,0 ml) a temperatura ambiente. En casi todos los casos, se observó precipitación instantánea. Se llevó a cabo el aislamiento por medio de filtración y secado a vacío a 40 °C. La Tabla 2 siguiente recoge los resultados:

35

Tabla 2. Listado de disolventes y detalles para adiciones anti-disolvente basadas en DMSO

Disolvente	Resultado inicial	Sólidos aislados
Cumeno	sol <sup>n</sup> → ppt	F1
nBuOAc	ppt	F1
Dioxano	sol <sup>n</sup>	F1 tras secado
Agua	ppt	F1
Heptano	capa-Bi/aceite → ppt	F1
IPA	ppt	F1
CH <sub>3</sub> CN	ppt	F1

Disolvente	Resultado inicial	Sólidos aislados
MEK	ppt	F1
ETOH	ppt	F1
EtOAc	ppt	F1
TBME	ppt	F1
DCM	sol <sup>II</sup>	F1 tras secado

Todas las muestras que devolvieron el estado sólido, una vez secadas a vacío a 45 °C y analizadas por medio de XRPD mostraron la devolución de la Forma I. Las excepciones notables fueron dioxano, DCM y heptano. Dioxano y DCM dieron lugar a disoluciones que se dejaron reposar y evaporar, dando lugar finalmente a la Forma I.

5 Heptano fue más interesante en esas dos capas formadas, ambas disoluciones coloreadas, que gradualmente experimentaron formación de aceite tras agitación prolongada y períodos de reposo (capa DMSO). Tras aproximadamente 24 horas, los sólidos se formaron en el aceite opaco y, de este modo, se decantó la mezcla y se secó a vacío a 45 °C. Desafortunadamente, aunque cabía esperar la formación del material amorfo, se observó la  
10 Forma I. No obstante, se consideró que una repetición del experimento quedó garantizada, pero con menos tiempo transcurrido tras la formación del aceite precipitado. Esto formó de nuevo dos capas transparentes y dio como resultado, gradualmente, una capa de DMSO precipitada que se decantó y se analizó tanto en húmedo como en seco (CG1110Awet y CG1110A2 respectivamente). Se dejó reducir el licor de DMSO hasta un sólido que se secó a vacío (CG1110B2). Los resultados que muestra la Figura 5 mostraron que todas las muestras fueron finalmente  
15 idénticas al material de partida (CG1099SM).

#### Ejemplo 4. Disoluciones saturadas

Las disoluciones saturadas son, con mucho, el mejor método para la obtención de nuevos polimorfos. Por tanto, se disolvieron cantidades conocidas de Forma I de RPL554 o se suspendieron con el tiempo para obtener una disolución saturada a temperatura, seguido de una filtración con pulido para retirar cualquier forma de memoria (seminal). Posteriormente, se usó en enfriamiento controlado para favorecer la cristalización.

Experimental (JN376):

25 Se agitaron 24 disolventes a 45 °C en presencia de 30 mg de Forma I de RPL554 para dejar una suspensión inicial. Se calentaron las suspensiones a 45 °C durante un período de 4,5 horas antes de la filtración en caliente en el interior de tubos pre-calentados que posteriormente se dejaron evaporar lentamente delante del secado a vacío a 45 °C y análisis. Nótese que las entradas A y B (de la Tabla 3) se calentaron a 35 °C bajo nitrógeno para ayudar a la evaporación durante 24 horas.  
30

Tabla 3. Listados de disolventes y resultados para los experimentos de disolución saturada (JN376)

Disolvente	Entrada de retícula	Observación	XRPD
Tetralina	A1	Sol <sup>n</sup> → goma/aceite	n/a
NMP	A2	crecimiento de XT fino	Forma I
Etilen glicol	A3	insol	n/a
DMSO	A4	Crecimiento de XT grueso	Nueva Forma DSC recogido
Anisol	A5	insol/aceite de traza	n/a
DMF	A6	aceite XT plus, secado en horno	Forma I
Cumeno	B1	insol	n/a
3-Me-1-BuOH	B2	Polvo/goma, secado en horno	Insuficiente
n-BuoAc	B3	insol/aceite de traza	n/a
Tolueno	B4	insol/aceite de traza	n/a
Dioxano	B5	vidrio traza, secado en horno	Forma I
Agua	B6	insol	n/a
Heptano	C1	insol	n/a
n-PrOH	C2	polvo de traza	Insuficiente
IPA	C3	polvo de traza	Forma I
CH <sub>3</sub> CN	C4	XT fino	Forma I
MEK	C5	polvo de traza	Insuficiente

Disolvente	Entrada de retícula	Observación	XRPD
EtOH	C6	polvo de traza	n/a
EtOAc	D1	insol	n/a
THF	D2	insol	n/a
MeOH	D3	insol	n/a
Acetona	D4	insol	n/a
TBME	D5	insol	n/a
DCM	D6	polvo	Forma I

Clave: XT = cristalino, insol = insoluble/muy poco material, polvo de traza - insuficiente = material no suficiente para analizar

A partir de la tabla se puede observar que muchos de los experimentos no disuelven una cantidad suficiente de material para permitir el análisis y devolvieron bien un mancha de aceite o bien polvo en la parte inferior del tubo después del secado. No obstante, a pesar de esto, un número de experimentos devolvió el material a la forma de polvo que permitió la recogida del análisis de XRPD. Se recolectaron los experimentos más satisfactorios, que habían mostrado la proliferación de cristales formales a partir de licores maternos, y únicamente una entrada mostró algún cambio de forma relevante (DMSO).

Los resultados de la entrada de DMSO se muestran a continuación (Figuras 6 y 7) y aunque el material muestra alguna similitud con la Forma I, se piensa que un nuevo polimorfo está presente, en base a XRPD y permitiendo una orientación preferida. El análisis DSC del material proporciona una indicación clara del cambio de forma con una aparición mucho menor de la endoterma principal. Hubo material insuficiente para el análisis TGA y RMN. Según el punto de vista de los inventores esta es una forma menos estable de RPL554.

#### 15 Ejemplo 5. Maduraciones de suspensión

Se llevaron a cabo 24 maduraciones de suspensión en un intento para forzar el sólido cristalino actual a que experimente una transformación de forma. El método más eficaz para dicha cuestión consiste en utilizar ciclos de calor/frío prolongados, como se sometió a la Forma I de RPL554.

Experimental (CG1100):

Se agitaron 20 mg de material en tubos de vidrio en aproximadamente 30 volúmenes de disolvente y se sometieron a ciclado entre periodos isoterms (8 horas) de 20 °C y 50 °C. Tras 4 días de ciclado, se filtraron los sólidos y se secaron *a vacío* a 45 °C antes del análisis por medio de XRPD. Se compararon todos los resultados con el material de partida, RPL554 (Forma I); véase la Tabla 4.

Tabla 4. Experimentación de maduración de suspensión para RPL554 (CG1100)

Disolvente	Entrada de retícula	Observación	XRPD
Tetralina	A1	Sol <sup>n</sup> → evap lenta	Goma/aceite
NMP	A2	Sol <sup>n</sup> → evap lenta	Goma/aceite
Etilen glicol	A3	sólido gomoso	n/a
DMSO	A4	polvo	Forma I
Anisol	A5	polvo	Forma I
DMF	A6	polvo	Forma I
Cumeno	B1	Sol <sup>n</sup> → evap lenta	Goma/aceite
3-Me-1-BuOH	B2	polvo	Forma I
n-BuoAc	B3	polvo	Forma I
Tolueno	B4	polvo	Forma I
Dioxano	B5	polvo	Forma I
Agua	B6	polvo	Forma I
Heptano	C1	polvo	Forma I
n-PrOH	C2	polvo	Forma I
IPA	C3	polvo	Forma I
CH <sub>3</sub> CN	C4	polvo	Forma I
MEK	C5	polvo	Forma I

Disolvente	Entrada de retícula	Observación	XRPD
EtOH	C6	polvo	Forma I
EtOAc	D1	polvo	Forma I
THF	D2	polvo	Forma I
MeOH	D3	polvo	Forma I
Acetona	D4	polvo	Forma I
TBME	D5	polvo	Forma I
DCM	D6	polvo	Forma I

Todas las muestras mostraron el mismo perfil de XRPD cuando se compararon con el material de partida, demostrando que la Forma I de RPL554 fue extremadamente flexible para modificar y muy probablemente era la forma termodinámicamente más estable del compuesto (Figura 8).

5

### Ejemplo 6. Re-cristalizaciones de disolvente mixto

Debido a que los perfiles de solubilidad pueden verse modificados en gran medida por la presencia de sistemas de disolvente mixto y que estas tendencias pueden ser muy difíciles de predecir, se planificaron una serie de re-cristalizaciones usando una variedad de sistemas. Esto se consideró otra forma apropiada de inducir el cambio de forma que conduce al descubrimiento de nuevos polimorfos.

10

Durante los estudios, se aprecia que dioxano y cumeno (distintos de DMF, DMSO y Tetralina normales), muestran un grado de eficacia a la hora de disolver RPL554. Estos disolventes formaron la base de determinados ensayos iniciales que adoptaron disoluciones filtradas con pulido de cada disolvente y RPL554 y posteriormente se mezclaron en caliente con un intervalo de anti-disolventes conocidos de varios tipos, manteniendo una disolución y posteriormente dejando enfriar de forma lenta.

15

Experimental (PF87):

20

Se prepararon disoluciones de reserva con 100 mg de RPL 554 por medio de agitación del sólido en 5 ml del disolvente principal y dejando calentar hasta 50 °C para mejorar la disolución. Se añadió un 1 ml extra (más si fuese necesario) de co-disolvente para mejorar la disolución y formar la mezcla de reserva final. Se dejaron agitar las muestras a 50 °C durante 30 minutos. Sobre un tubo caliente pre-calentado, (50 °C), se añadió la disolución de reserva seguido de 2 ml del anti-disolvente mostrado en la tabla; se dejaron agitar las muestras y evaporar. Se filtraron las muestras y se secaron durante la noche en un horno de vacío a 50 °C delante del análisis por medio de XRPD (véase la Tabla 5).

25

Tabla 5. Cristalización de disolvente mixto de los co-disolventes de reserva indicados con adición de anti-disolvente (PF87)

30

PF87	Anti-disolventes	2-butanona	EtOAc	Heptano	IPA	MTBE
Sistemas de disoluciones de reserva						
Dioxano/DMSO (5/1)	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I
Dioxano/DMSO (5/2)	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I
2MeTHF/DMSO (5/1)	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I
DCM/Dioxano (5/1)	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I	Forma I

Todos los experimentos listados en el experimento PF87 devolvieron la Forma I, lo que actúa como prueba adicional de la estabilidad termodinámica de RPL554.

### Ejemplo 7. Ensayos de cristalización en sistemas acuosos mixtos.

Se investigó una serie de cristalizaciones de disolvente mixto que tenían una base acuosa en el experimento PF86.

Experimental (PF86):

40

Se añadió una disolución de reserva caliente de RPL554 (Forma I) en DMSO (1 ml, 15 mg.ml<sup>-1</sup>) a una disolución caliente de disolvente, se mezcló con agua (1:1, v/v, 1 ml) como viene indicado en la Tabla 6 (50 °C). Se dejaron agitar las disoluciones a temperatura durante 48 horas, se enfriaron, se filtraron y posteriormente se secaron en el horno durante la noche (40 °C). Se llevó a cabo el análisis de XRPD y se comparó con el material de partida.

Tabla 6. Sumario de los resultados de las cristalizaciones mixtas acuosas (experimento PF86)

Sistema de disolvente (+ agua)	Expt	XRPD
Acetonitrilo	PF86A	Idéntico a la Forma I
Dioxano	PF86B	Idéntico a la Forma I
Etanol	PF86C	Idéntico a la Forma I
IPA	PF86D	Idéntico a la Forma I
MeOH	PF86E	Idéntico a la Forma I
THF	PF86F	Idéntico a la Forma I

Los resultados para esta serie de experimentos (Figura 9) de nuevo mostraron que la Forma I fue dominante.

### 5 Ejemplo 8. Generación de material amorfo

Debido a que existía una prueba experimental histórica de generación de material amorfo por medio de calentamiento de la Forma I de RPL554 hasta 245 °C y rápido enfriamiento de la masa fundida, se llevó a cabo una repetición de este método (base TGA) y produjo el mismo material transparente, amarillo de tipo vítreo. Posteriormente, se analizó esta muestra de ensayo por medio de XRPD y se demostró que era amorfa (véase la Figura 10).

Posteriormente, se procesó este material sobre el instrumento de DSC en un intento de observar la transición vítrea y, en caso de ser posible, cualesquiera re-cristalizaciones. La Figura 11 muestra los resultados.

Se puede observar una transición vítrea propuesta a aproximadamente 120 °C, sin re-cristalización formal observada. Aunque este experimento estaba operativo, se envió la muestra a análisis LC, ya que se sabe que la estabilidad a temperatura es una cuestión potencial (observación de TGA). El cromatograma mostró la presencia de picos múltiples con únicamente un 26 % del material que era el material de partida, RPL554. Este resultado indicó que bien era necesario llevar a cabo el enfriamiento por machacado con márgenes experimentales más sensibles o bien el método resultó inválido. Se repitió el experimento a una temperatura baja (240 °C), tratando de evitar así la descomposición y, de este modo, devolver un perfil mejor en términos de pureza. El análisis de LC devolvió un perfil similar de muy baja pureza y varios productos secundarios. Por tanto, resultó evidente que, de este modo, no se generaría el material amorfo.

Posteriormente, se llevaron a cabo un número de otros intentos para generar la fase amorfa, comenzando con la manipulación física (molienda, presión aplicada) y posteriormente la evaporación rápida de la disolución diluida a partir de disolventes tales como DCM y cumeno. En este experimento, se demostró que la muestra molida (mortero y triturador) era muy electrostática y falló en cuanto a la transferencia a la placa de Kapton para el análisis XRPD. No obstante, la muestra se transfirió de forma satisfactoria a una cazoleta DSC; el punto de fusión observado fue más bajo que el del material de referencia, indicando la posibilidad de cambio de forma. Se requiere no obstante una repetición de este experimento para esta investigación adicional; no obstante, la fase amorfa no fue la próxima a partir de este enfoque (Figura 12).

Presión aplicada (100 KN): se dejaron 10 mg de RPL554 en un sistema de discos de presión durante la noche, formando un disco fino y uniforme con un espesor de menos que 0,1 mm. Se molió el disco de manera uniforme y se analizó por medio de XRPD (Figura 13).

La comparación de XRPD del material presurizado con la Forma de partida (CG1099F referencia usada) demuestra que la compresión del material cristalino genera una fase amorfa. Tras estas observaciones, se llevó a cabo un análisis térmico (DSC) y se demostró que el material era amorfo (Figura 14).

La transición a partir del material amorfo se muestra por medio de Tg a 75 °C, que posteriormente recristaliza a aproximadamente 131 °C antes de la fusión a 242,6 °C y 262,7° C, consecutivamente. La primera endoterma parecer ser ligeramente más baja que el material de referencia y podría estar potencialmente relacionada con una forma diferente (las comparaciones de pureza serían un estudio sensible para llevar a cabo antes de asignar una nueva forma). También se podría considerar la segunda masa fundida como entidad cristalina diferentes, aunque se debe recalcar que ésta está en la región de descomposición para este material.

Evaporación rápida de disolvente: se disolvió un matraz que contenía RPL554-070638 completamente en un gran volumen de DCM a temperatura ambiente (290 ml, 2,0 g). Posteriormente, se retiró el disolvente de forma rápida a temperatura, manteniendo RPL554-070638 completamente disuelto, evitando una precipitación lenta de la materia prima y la presencia de la Forma I. El análisis de HPLC mostró un pureza química elevada y RMN de protón indicó una traza de DCM residual.

XRPD del lote inicial mostró una fase amorfa (JN367E), que se confirmó por medio de DSC (Figura 15). El proceso

de calentamiento induce una exoterma grande, lo que ilustra una cristalización a 152 °C, seguido de una endoterma para la masa fundida esperada de la Forma I, aunque ligeramente suprimida. Nótese las pequeñas diferencias entre este lote y el material amorfo derivado de la presión aplicada (la diferencia principal en la temperatura de la exoterma inicial y el perfil después de la fusión principal).

5 Habiendo asilado satisfactoriamente una pequeña cantidad de material amorfo, se escaló esta técnica para que funcionaran en cuanto a gramos de material para su uso en la disolución saturada y suspensión. La Figura 16 muestra el perfil de XRPD de referencia para este lote (JN376F).

#### 10 Ejemplo 9. Disoluciones saturadas con material amorfo

Como viene indicado, las disoluciones saturadas son el mejor método de obtención de fases puras de nuevos polimorfos. Para ello, se tomó el material amorfo y se llevó a cabo un estudio usando disoluciones saturadas, como en JN376, con el objetivo de obtener una concentración de partida total elevada.

15 Experimental (PF89):

Se agitaron 24 disolventes a 45 °C en presencia de 30 mg de RPL554 (JN76F) para dejar una suspensión inicial (más concentrada) que con la fase cristalina. Se calentaron las suspensiones durante un período de 4,5 horas para aumentar la solubilidad. Se comprobó cada tubo para la disolución completa del material. Si quedaron sólidos, se añadió 1 ml extra del disolvente conocido hasta que se disolvió por completo. Se evaluó cada tubo antes de la filtración en caliente en tubos pre-calentados que posteriormente se dejaron evaporar de forma lenta. Nótese que los tubos se colocaron bajo nitrógeno para contribuir a la evaporación durante 24 horas. La tabla siguiente (Tabla 7) muestra los resultados de este experimento.

25

Tabla 7. Experimentos de disolución saturada (entrada de fase amorfa, expt PF89)

Disolvente	Entrada de retícula	Observación	XRPD
Tetralina	A1	Aceite	N/A
NMP	A2	No seco	Húmedo pero Forma I
Etilen glicol	A3	No se observó precipitación	N/A
DMSO	A4	Líquido + cristales	Forma mixta (medido en húmedo)
Anisol	A5	Goma/aceite	N/A
DMF	A6	Líquido + cristales	Forma I
Cumeno	B1	Líquido	Malla insuficiente
3-Me-1-BuOH	B2	Cristales	Forma I
n-BuoAc	B3	Cristales	Forma I
Tolueno	B4	Cristales	Forma I
Dioxano	B5	Cristales	Forma I
Agua	B6	Insol	N/A
Heptano	C1	Sólido	Forma I
n-PrOH	C2	Sólido	Forma I
IPA	C3	Sólido	Forma I
CH <sub>3</sub> CN	C4	Picos extra	Forma I
MEK	C5	Picos extra	Forma I
EtOH	C6	Sólido	Forma I
EtOAc	D1	Sólido	Forma I
THF	D2	Picos extra	Forma I
MeOH	D3	Separación 1 <sup>er</sup> pico	Forma I
Acetona	D4	-	Malla insuficiente
TBME	D5	Amorfo	N/A
DCM	D6	Amorfo	N/A

30 A partir de la tabla, se puede observar que algunos experimentos disolvieron una cantidad insuficiente de material para permitir el análisis, o devolvieron bien una mancha de aceite o polvo amorfo en la parte inferior del tubo después del secado. No obstante, a pesar de esto, un número de experimentos devolvió material en forma de polvo que permitió la recogida del análisis de XRPD. Se han recogido a los experimentos más satisfactorios, mostrando



algunos cristales formales en desarrollo a partir de licores maternos, y únicamente una entrada mostró algún cambio de forma relevante (PF89A4, DMSO).

5 Los resultados para la entrada de DMSO se muestran a continuación, y mientras el material muestra cierta similitud con la Forma I, se piensa que un nuevo polimorfo está presente en base a XRPD y permite una orientación preferida. El análisis de DSC del material proporciona una indicación clara del cambio de forma con una aparición mucho más baja de la endoterma principal. Hubo material insuficiente para el análisis TGA y RMN. Se escaló este resultado para investigación posterior, aunque se aprecia que este material no presentó el mismo perfil, sino un perfil relativo alterado con respecto a RPL554 como JN376A4 (disolución saturada a partir de DMSO, Figuras 6 y 7). Se consideró que esto se debía al nivel relativo de solvatación.

15 Con el fin de contribuir a la comprensión del análisis descrito, y debido al hecho de que se había conseguido información de modelado de alta calidad a partir de los parámetros de célula unitaria predichos (experimento de indexado) para RPL554, se comparó la nueva fase con estos datos teóricos.

20 El análisis numérico demuestra que la mayoría del material está en forma I con algunos picos que no ajustan. Esto indicó una fuerte evidencia de que la muestra fue una mezcla de dos formas, una potencialmente un producto solvatado. Los resultados no se han presentado por completo y fueron concluyentes en cuanto a que la Forma I se observó en todos los casos en los cuales quedó material suficiente para la recogida, excepto para DMSO, en cuyo caso se apreció un cambio pequeño en el perfil de XRPD.

#### Ejemplo 10. Experimento automatizado (estudio anti-disolvente expandido)

25 Se inició un experimento para ampliar el intervalo de disolvente a partir del que se usó en el trabajo de adición de anti-disolvente y para llevar a cabo dicha mezcla de disolvente a temperatura, en lugar del enfriamiento por machacado por medio del uso de anti-disolvente (CG1099).

Experimental (PF85):

30 Se añadió una cantidad definida de RPL554 (1,5 g) y 20 ml de DMSO a un tubo calentado a 50 °C para mejorar la disolución. Se colocaron 200 µl de disolución de reserva en un pocillo caliente (50 °C). Se añadieron 200 µl del disolvente listado (tabla siguiente) al pocillo y se dejó en agitación durante 72 horas antes del asilamiento. Posteriormente se transfirieron las muestras sobre una placa de Kapton para el análisis de XRPD. Se procesaron los resultados y se compararon con el material de partida RPL554 (Tabla 8). Cuando XRPD fue insuficiente para diferenciarse del material de partida, se llevó a cabo análisis térmico con el fin de definir los puntos de fusión (material que se deja).

Tabla 8. Cristalizaciones automatizadas de disolvente mixto caliente (PF85), detallando los resultados iniciales por medio de XRPD y DSC cuando fue posible

Disolvente	Entrada de retícula	DSC (aparición/pico) Forma I ref.= (246/248)	Conclusión de XRPD	Conclusión total (DSC/XRPD)
Formamida	A12	Muestra húmeda	Forma I	Forma I
N-metil-2-pirrolidinona (NMP)	A11	241 °C/247 °C	Difracción pobre (probablemente Forma I)	Forma I
Etilenglicol	A10	Goma	Forma I	Forma I
Sulfóxido de dimetilo (DMSO)	A9	243 °C/248 °C	Forma I + picos extra	Forma I
N,N-dimetilacetamida	A8		Forma I + picos extra	Forma I
Anisol	A7		Forma I + picos extra	Forma I
N,N-dimetilformamida	A6		Forma I + picos extra	Forma I
Cumeno	A5	Goma 240 °C/246,2 °C	Diferente del material de partida	Forma II
1-pentanol	A4		Difracción pobre (probablemente Forma I)	Forma I
Clorobenceno	A3	241 °C/246,7 °C	Ligeramente diferente	Forma II
3-metil-1-butanol	A2		Forma I	Forma I

Disolvente	Entrada de retícula	DSC (aparición/pico) Forma I ref.= (246/248)	Conclusión de XRPD	Conclusión total (DSC/XRPD)
Metilbutil cetona = 2-hexanona	A1		Forma I	Forma I
Acetato de butilo	B12	Goma	Forma I	Forma I
2-metoxietanol	B11		Forma I	Forma I
Ácido acético	B10	241,6 °C/247,4 °C	Orientación fuertemente preferida	Forma II
1-Butanol	B9	Goma	Muestra húmeda pero Forma I	Forma I
Metilisobutil cetona = 4 Metil 2 pentanona	B8		Forma I	Forma I
Acetato de isobutilo	B7		Forma I	Forma I
Piridina	B6		Forma I	Forma I
Tolueno	B5	239,5 °C/246 °C	Orientación preferida (lo más probable Forma I)	Forma II
2-Metil-1-propanol	B4	233 °C/243 °C	Orientación preferida	Forma III
Propilacetato	B3		Forma I + picos extra	Forma I
Nitrometano	B2		Forma I + picos extra	Forma I
Dioxano	B1	243 °C/248 °C	Incierto debido a orientación preferida	Forma I
Metilciclohexano	C12		Forma I	Forma I
Ácido fórmico	C11		Forma I	Forma I
Agua	C10	243 °C/247 °C		Forma I
2-Butanol	C9		Forma I	Forma I
Heptanos	C8		Forma I	Forma I
1-Propanol	C7	242 °C/247 °C	Forma I	Forma I
Acetato de isopropilo	C6			Forma I
1,2-Dimetoxi-etano (glime, DME)	C5	242,3 °C/248 °C		Forma I
2-Propanol	C4		Forma I	Forma I
Acetonitrilo	C3		Forma I	Forma I
Ciclohexano	C2		Forma I	Forma I
Etanol	C1		Forma I	Forma I
Acetato de etilo	D12	Goma. Dos endotermas, 226 °C/268 °C	PO o diferente	2 endos, potencialmente Forma IV y V
1,1,2-Tricloroetano	D11		Forma I + picos extra	Forma I
Hexano	D10	223,6 °C	Orientación preferida	Forma IV pura
Tetrahidrofurano (THF)	D9	Goma	Orientación preferida para la Forma I	Forma I
Metanol	D8	242 °C/247 °C	Diferente o Forma I (PO?)	Forma I
Cloroformo	D7		Forma I + picos extra	Forma I
Acetato de metilo	D6		Forma I	Forma I
Acetona	D5		Forma I	Forma I
Éter terc-butilmetílico (MTBE)	D4		Forma I + picos extra	Forma I
Formiato de etilo	D3		Forma I	Forma I
Diclorometano	D2		Forma I	Forma I
1,2-Dicloroetano	D1		Forma I + picos extra	Forma I

Se puede observar a partir de los resultados tabulados, especialmente los indicaos por las trazas recogidas de DSC, que se aislaron determinadas fases mixtas o potencialmente nuevas a partir de la biblioteca de anti-disolvente más amplia. Aunque los patrones de XRPD puedan parecer inicialmente diferentes, debido a las intensidades de pico, pueden estar presentes orientaciones preferidas y de este modo puede resultar necesario un análisis más en profundidad (se consideró posible la orientación preferida debido a la observación visual de los cristales transferidos a partir del experimento automatizado) (resultados no mostrados). También se presentó dicho análisis por medio de comparación numérica de los nuevos patrones de XRPD con el patrón predicho de la Forma I a partir del indexado. La idea fue ganar muchos datos de calidad sobre la presencia de una nueva fase cierta o si el resultado fue, de hecho, una mezcla a partir de las muestras iniciales.

Para el experimento PF85, los resultados proporcionaron cierta información relativamente interesante sobre la capacidad de RPL554 de exhibir diferentes formas cristalinas. Las herramientas analíticas combinadas (XRPD/DSC) revelaron que existieron potencialmente al menos cinco formas cristalinas a lo largo de la Forma I de RPL554, aunque la sensación fue que éstas fueron mezclas en su mayoría. Los experimentos que devolvieron la evidencia más probable de nuevas fases y se seleccionaron para el escalado fueron (nótese que otros sistemas pueden replicar estos resultados):

PF85A3	Clorobenceno/DMSO
PF85A5	Cumeno/DMSO
PF85B4	1-Metil-2-propanol/DMSO
PF85D10	Hexano/DMSO
PF8512	Acetato de etilo/DMSO

Comparación numérica de las 5 formas anteriores con el patrón de Forma I de RPL554 calculado.

Los datos que se refieren a los nuevos polimorfo potenciales de RPL554 y el perfil calculado de la Forma I (datos no mostrados). Para este estudio, se hace referencia a los parámetros de célula unitaria encontrados al tiempo que se pretende indexar la Forma I de RPL554. El algoritmo en el soporte lógico permite la entrada de parámetros de célula unitaria, en este caso los relacionados con la Forma I. Posteriormente, el soporte lógico calcula un perfil, permitiendo de este modo al usuario comparar visualmente con los datos medidos. Este enfoque contribuye a la confirmación de la existencia de una nueva forma y/o una nueva forma que coexiste con la Forma I (mezcla). En casi todos los casos anteriores, los resultados apreciados apuntan a que la Forma I estuvo presente y se han presentado principalmente mezclas en lugar de una fase pura nueva, con el potencial para que D10 sea la excepción. Se escogieron todos los candidatos anteriores para el escalado.

#### Ejemplo 11. Escalado de las formas nuevas potenciales

Se inició una serie de experimentos de escalado con el fin de generar más material de formas nuevas y/o mixtas. De este modo, se podría llevar a cabo un estudio detallado y se podrían intentar suspensiones de cruzamiento. Debería apreciarse que dicho escalado puede no resultar trivial, especialmente cuando se han inducido formas menos estables sobre escalas pequeñas (las sutilezas del proceso significan que el escalado puede estar siendo sometido a ensayo).

Experimental (PF90 y JN386):

Se preparó una disolución de reserva de RPL554 en DMSO caliente. Se filtró con pulido la disolución y se añadieron 1,75 ml (aproximadamente, 200 mg de contenido) a un volumen (4 ml) de disolvente caliente (55 °C).

Se dejaron las muestras en agitación y evaporación lenta con el tiempo con el fin de simular las condiciones que generaron los nuevos polimorfos potenciales. Tras la precipitación, se filtraron las muestras y se secaron a vacío a 40 °C antes del análisis por medio de XRPD. La tabla siguiente (Tabla 9) recoge los experimentos de escalado para RPL554.

Tabla 9. Resultados para el escalado de polimorfos potenciales que muestran el predominio de la Forma I

Disolventes (DMSO y...)	Observaciones	XRPD
Acetato de etilo (JN3 84A)	Precipitado en forma de polvo, en 24 horas	Forma I
2-Me-1-propanol PF90	Cristales finos	Forma I
Ácido acético PF90	Goma	N/A
Clorobenceno PF90	Se colocó una pequeña parte de la muestra húmeda sobre XRD	Forma I
Cumeno PF90	Polvo muy fino	Forma I

Disolventes (DMSO y...)	Observaciones	XRPD
DMSO PF90	Se formó un sólido con cristales de tamaño decente	XRPD ligeramente diferente (véase a continuación)
Hexano PF90	Se dejó la muestra evaporar lentamente sin agitación	Forma I

Con los materiales a mano, sería aplicable el análisis tal como TGA para determinar si la solvatación es la causa de las diferencias en cuanto a los perfiles de XRPD (por ejemplo, la fase mixta de la Forma 1 y un solvato), o si se debe a la mezcla de formas no solvatadas. En el caso de acetato de etilo, por ejemplo, se puede observar que el escalado del proceso devuelve la Forma 1 y, de este modo, lo más probable es que las diferencias más marcadas en cuanto al perfil original de XRPD se deban a una mezcla de la Forma 1 y una forma menos estable que se ha convertido en el polimorfo más estable (la endoterma de pf bajo presente en DSC, no dentro de la fase de descomposición resulta de apoyo en esta cuestión). El mismo contenido resulta cierto para los otros disolventes excepto ácido acético, que devolvió una goma y DMSO, que devolvió una mezcla. En este caso, hubo suficiente material disponible para confirmar la presencia de la Forma I y una forma menos estable que, con el tiempo se convierte en la forma más estable. Debería apreciarse que esto no es idéntico a las formas menos estables identificadas a partir de DMSO en PF98A4 y JN376A4, mostrando que esta disolvente proporciona un número de cambios a la forma principal, pero que el escalado de la Forma I fue todavía el componente principal.

El análisis (Figuras 18 y 19) está relacionado con el experimento de escalado que implica DMSO. Los datos de XRPD de nuevo muestran la presencia de picos que no pertenecen a la Forma I. Como queda demostrado en el análisis térmico, la Forma I está presente en la mayoría (comienzo de fusión a 246,1 °C), mientras que coexiste la presencia de un compuesto de fusión elevada (comienzo a 261 °C). El análisis gravimétrico demuestra la presencia de DMSO libre en la muestra, que se evapora bajo corriente de nitrógeno en TGA cuando se produce el calentamiento de la muestra desde temperatura ambiente hasta 100 °C. Esto no puede estar relacionado con la inclusión del disolvente en el compuesto de fusión elevada. Aunque parece que todo el DMSO libre desaparece tras el calentamiento, la curva de TGA muestra una pérdida de peso lenta pero estacionaria entre 100 °C y 200 °C que puede estar relacionada con DMSO "incluido", aunque sin aislamiento de una fase pura, esta suposición es difícil de asumir. RMN de protón, como cabe esperar, muestra la presencia de DMSO en la muestra.

A modo de conclusión, los experimentos de escalado para RPL554 demuestran que la Forma I sigue siendo privilegiada y también cinéticamente más favorecida. Es probable que la mayoría de las fases mixtas observadas se conviertan finalmente en la Forma I.

### 30 Ejemplo 12. Solubilidad acuosa

Debido a que el material amorfo y la Forma I estuvieron a mano, se expusieron ambas muestras a un estudio directo de solubilidad acuosa en agua purificada a 25 °C. Se llevó a cabo el experimento ya que se desconocía el aislamiento inicial propio del material cristalino o amorfo durante una campaña de síntesis previa.

35 Experimental:

Se mezcló una suspensión de 20 mg del candidato en agua purificada (1 ml, pH 7). Se equilibró la suspensión a 25 °C durante 24 horas. A continuación, se filtró la suspensión en un recipiente de HPLC y a continuación se diluyó el filtrado por medio de un factor apropiado, llevándose a cabo la cuantificación por medio de HPLC con referencia a una disolución patrón.

Resultado:

JN376F	amorfo	0,03 mg/ml
RPL554	Forma I	0,001 mg/ml

45 Como cabía esperar, se demostró que la fase amorfa, aunque bastante insoluble, era más soluble que la Forma I en este ensayo básico. Desafortunadamente, ambas muestras fueron demasiado finas para la filtración eficaz y aislamiento para re-análisis por medio de XRPD, aunque se sabe que la Forma I procede de dichas suspensiones.

### 50 Ejemplo 13. Datos de rayos-X. Parámetros relevantes relacionados con el cristal individual RPL554

Se pueden encontrar los datos de rayos-x para RPL554 en las Tablas 10-15, y las Figuras 20-22.

Tabla 10. Datos de cristal y refinado de estructura para RPL554 (onyx2010a).

Código de identificación	onyx2010a
Fórmula empírica	C26 H31 N5 O4
Peso de fórmula	477,56

Temperatura	123(2) K
Longitud de onda	0,71073 angstrom
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P-1
Dimensiones de la célula unitaria	a = 8,1246(4) angstrom $\alpha = 91,583(4)^\circ$
b = 11,4573 (5) angstrom	$\beta = 90,299(4)^\circ$
c = 13,2398 (6) angstrom	$\gamma = 99,628(4)^\circ$
Volumen	1214,56(10) angstrom <sup>3</sup>
Z	2
Densidad (calculada)	1,306 Mg/m <sup>3</sup>
Coefficiente de absorción	0,090 mm <sup>-1</sup>
F(000)	508
Tamaño del cristal	0,32 x 0,22 x 0,08 mm <sup>3</sup>
Intervalo theta para la recogida de datos	2,86 hasta 30,72°
Intervalos de índice	-11<=h<=11, -16<=k<=16, -17<=l<=7
Reflexiones recogidas	13256
Reflexiones independientes	6619 [R(int)= 0,0281]
Plenitud hasta theta = 27,50 °	99,9 %
Corrección de absorción	Semi-empírica a partir de equivalentes
Transmisión máx. y min.	1,00000 y 0,94889
Método de refinado	Mínimos cuadrados de matriz completa sobre F <sup>2</sup>
Datos / limitaciones / parámetros	6619/0/333
Bondad del ajuste sobre F <sup>2</sup>	0,854
Índices R finales [ I>2 sigma(I)]	R1 = 0,0420, wR2 = 0,0852
Índices R (todos los datos)	R1 = 0,0802, wR2 = 0,0913
Mayor diferencia de pico y valle	0,309 y -0,240 e angstrom <sup>-3</sup>

Tabla 11. Coordinados atómicos ( $\times 10^4$ ) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente (angstrom<sup>2</sup>  $\times 10^3$ ) para onyx2010a. U(eq) se define como un tercio de la traza del tenso U<sup>j</sup> convertido en ortogonal.

	x	y	z	U(eq)
O(1)	2377(1)	8343(1)	861(1)	21(1)
O(2)	-7077(1)	8128(1)	3364(1)	22(1)
O(3)	-7605(1)	5925(1)	2796(1)	22(1)
O(4)	3558(1)	13706(1)	485(1)	24(1)
N(1)	-69(1)	8094(1)	1717(1)	16(1)
N(2)	1803(1)	9907(1)	1810(1)	16(1)
N(3)	1201(1)	11536(1)	2713(1)	18(1)
N(4)	4497(2)	11982(1)	120(1)	21(1)
N(5)	6214(2)	13771(1)	-66(1)	21(1)
C(1)	1430(2)	8757(1)	1440(1)	16(1)
C(2)	742(2)	10441(1)	2447(1)	16(1)
C(3)	-772(2)	9687(1)	2707(1)	17(1)
C(4)	-1198(2)	8572(1)	2327(1)	15(1)
C(5)	-2840(2)	7838(1)	2490(1)	15(1)
C(6)	-3091(2)	6628(1)	2273(1)	16(1)
C(7)	-1613(2)	6080(1)	1962(1)	20(1)
C(8)	-487(2)	6879(1)	1271(1)	20(1)
C(9)	-4174(2)	8364(1)	2861(1)	17(1)
C(10)	-5720(2)	7695(1)	2993(1)	17(1)
C(11)	-6002(2)	6483(1)	2709(1)	17(1)
C(12)	-4684(2)	5960(1)	2371(1)	18(1)
C(13)	-6739(2)	9152(1)	4018(1)	26(1)
C(14)	-7922(2)	4669(1)	2626(1)	27(1)
C(15)	16(2)	12112(1)	3230(1)	17(1)

	x	y	z	U(eq)
C(16)	318(2)	12495(1)	4241(1)	20(1)
C(17)	-752(2)	13173(1)	4697(1)	23(1)
C(18)	-2120(2)	13474(1)	4191(1)	23(1)
C(19)	-2386(2)	13077(1)	3191(1)	22(1)
C(20)	-1340(2)	12405(1)	2698(1)	19(1)
C(21)	1802(2)	12195(1)	4804(1)	31(1)
C(22)	-3260(2)	14224(1)	4688(1)	34(1)
C(23)	-1614(2)	12080(1)	1592(1)	29(1)
C(24)	3339(2)	10637(1)	1453(1)	18(1)
C(25)	3023(2)	11218(1)	464(1)	20(1)
C(26)	4689(2)	13185(1)	189(1)	17(1)

Tabla 12. Longitudes de enlace [angstrom] y ángulos [°] para onyx2010a.

O(1)-C(1)	1,2296(13)
O(2)-C(10)	1,3707(14)
O(2)-C(13)	1,4268(15)
O(3)-C(11)	1,3583(15)
O(3)-C(14)	1,4299(16)
O(4)-C(26)	1,2363(14)
N(1)-C(1)	1,3803(16)
N(1)-C(4)	1,3948(14)
N(1)-C(8)	1,4812(16)
N(2)-C(1)	1,3779(16)
N(2)-C(2)	1,4084(15)
N(2)-C(24)	1,4686(16)
N(3)-C(2)	1,2858(16)
N(3)-C(15)	1,4240(15)
N(4)-C(26)	w1,3610(17)
N(4)-C(25)	1,4436(17)
N(4)-H(1N)	0,847(14)
N(5)-C(26)	1,3558(17)
N(5)-H(3N)	0,897(16)
N(5)-H(2N)	0,876(15)
C(2)-C(3)	1,4300(18)
C(3)-C(4)	1,3488(17)
C(3)-H(3)	0,9500
C(4)-C(5)	1,4735(17)
C(5)-C(6)	1,3896(17)
C(5)-C(9)	1,4093(16)
C(6)-C(12)	1,3971(18)
C(6)-C(7)	1,4998(17)
C(7)-C(8)	1,5121(18)
C(7)-H(7A)	0,9900
C(7)-H(7B)	0,9900
C(8)-H(8A)	0,9900
C(8)-H(8B)	0,9900
C(9)-C(10)	1,3725(18)
C(9)-H(9)	0,9500
C(10)-C(11)	1,4099(18)
C(11)-C(12)	1,3826(17)
C(12)-H(12)	0,9500
C(13)-H(13A)	0,9800
C(13)-H(13B)	0,9800
C(13)-H(13C)	0,9800

ES 2 483 801 T3

C(14)-H(14A)	0,9800
C(14)-H(14B)	0,9800
C(14)-H(14C)	0,9800
C(15)-C(20)	1,3972(18)
C(15)-C(16)	1,4038(17)
C(16)-C(17)	1,3884(17)
C(16)-C(21)	1,5074(19)
C(17)-C(18)	1,3923(19)
C(17)-H(17)	0,9500
C(18)-C(19)	1,3918(18)
C(18)-C(22)	1,5072(17)
C(19)-C(20)	1,3914(17)
C(19)-H(19)	0,9500
C(20)-C(23)	1,5068(18)
C(21)-H(21A)	0,9800
C(21)-H(21B)	0,9800
C(21)-H(21C)	0,9800
C(22)-H(22A)	0,9800
C(22)-H(22B)	0,9800
C(22)-H(22C)	0,9800
C(23)-H(23A)	0,9800
C(23)-H(23B)	0,9800
C(23)-H(23C)	0,9800
C(24)-C(25)	1,5258(18)
C(24)-H(24A)	0,9900
C(24)-H(24B)	0,9900
C(25)-H(25A)	0,9900
C(25)-H(25B)	0,9900
C(10)-O(2)-C(13)	116,55(10)
C(11)-O(3)-C(14)	117,16(10)
C(1)-N(1)-C(4)	121,65(11)
C(1)-N(1)-C(8)	116,95(10)
C(4)-N(1)-C(8)	121,24(11)
C(1)-N(2)-C(2)	123,78(11)
C(1)-N(2)-C(24)	117,51(10)
C(2)-N(2)-C(24)	118,54(11)
C(2)-N(3)-C(15)	117,37(11)
C(26)-N(4)-C(25)	122,90(11)
C(26)-N(4)-H(1N)	118,4(11)
C(25)-N(4)-H(1N)	118,7(10)
C(26)-N(5)-H(3N)	116,1(10)
C(26)-N(5)-H(2N)	118,0(10)
H(3N)-N(S)-H(2N)	117,6(14)
O(1)-C(1)-N(2)	121,24(12)
O(1)-C(1)-N(1)	121,00(12)
N(2)-C(1)-N(1)	117,73(10)
N(3)-C(2)-N(2)	118,03(12)
N(3)-C(2)-C(3)	127,18(11)
N(2)-C(2)-C(3)	114,78(11)
C(4)-C(3)-C(2)	122,70(11)
C(4)-C(3)-H(3)	118,7
C(2)-C(3)-H(3)	118,7
C(3)-C(4)-N(1)	119,19(12)
C(3)-C(4)-C(5)	123,14(11)

ES 2 483 801 T3

---

N(1)-C(4)-C(5)	117,61(11)
C(6)-C(5)-C(9)	119,51(12)
C(6)-C(5)-C(4)	120,45(11)
C(9)-C(5)-C(4)	120,04(11)
C(5)-C(6)-C(12)	119,59(11)
C(5)-C(6)-C(7)	118,11(12)
C(12)-C(6)-C(7)	122,29(12)
C(6)-C(7)-C(8)	111,05(11)
C(6)-C(7)-H(7A)	109,4
C(8)-C(7)-H(7A)	109,4
C(6)-C(7)-H(7B)	109,4
C(8)-C(7)-H(7B)	109,4
H(7A)-C(7)-H(7B)	108,0
N(1)-C(8)-C(7)	110,91(10)
N(1)-C(8)-H(8A)	109,5
C(7)-C(8)-H(8A)	109,5
N(1)-C(8)-H(8B)	109,5
C(7)-C(8)-H(8B)	109,5
H(8A)-C(8)-H(8B)	108,0
C(10)-C(9)-C(5)	120,58(12)
C(10)-C(9)-H(9)	119,7
C(5)-C(9)-H(9)	119,7
O(2)-C(10)-C(9)	124,53(12)
O(2)-C(10)-C(11)	115,61(12)
C(9)-C(10)-C(11)	119,83(11)
O(3)-C(11)-C(12)	125,46(12)
O(3)-C(11)-C(10)	115,06(11)
C(12)-C(11)-C(10)	119,48(12)
C(11)-C(12)-C(6)	120,80(12)
C(11)-C(12)-H(12)	119,6
C(6)-C(12)-H(12)	119,6
O(2)-C(13)-H(13A)	109,5
O(2)-C(13)-H(13B)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13B)	109,5
O(2)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13B)-C(13)-H(13C)	109,5
O(3)-C(14)-H(14A)	109,5
O(3)-C(14)-H(14B)	109,5
H(14A)-C(14)-H(14B)	109,5
O(3)-C(14)-H(14C)	109,5
H(14A)-C(14)-H(14C)	109,5
H(14B)-C(14)-H(14C)	109,5
C(20)-C(15)-C(16)	120,45(11)
C(20)-C(15)-N(3)	119,62(11)
C(16)-C(15)-N(3)	119,56(12)
C(17)-C(16)-C(15)	118,75(12)
C(17)-C(16)-C(21)	121,09(12)
C(15)-C(16)-C(21)	120,15(11)
C(16)-C(17)-C(18)	122,27(12)
C(16)-C(17)-H(17)	118,9
C(18)-C(17)-H(17)	118,9
C(19)-C(18)-C(17)	117,49(12)
C(19)-C(18)-C(22)	120,62(13)
C(17)-C(18)-C(22)	121,87(12)

---



C(20)-C(19)-C(18)	122,35(13)
C(20)-C(19)-H(19)	118,8
C(18)-C(19)-H(19)	118,8
C(19)-C(20)-C(15)	118,69(12)
C(19)-C(20)-C(23)	119,92(12)
C(15)-C(20)-C(23)	121,26(11)
C(16)-C(21)-H(21A)	109,5
C(16)-C(21)-H(21B)	109,5
H(21A)-C(21)-H(21B)	109,5
C(16)-C(21)-H(21C)	109,5
H(21A)-C(21)-H(21C)	109,5
H(21B)-C(21)-H(21C)	109,5
C(18)-C(22)-H(22A)	109,5
C(18)-C(22)-H(22B)	109,5
H(22A)-C(22)-H(22B)	109,5
C(18)-C(22)-H(22C)	109,5
H(22A)-C(22)-H(22C)	109,5
H(22B)-C(22)-H(22C)	109,5
C(20)-C(23)-H(23A)	109,5
C(20)-C(23)-H(23B)	109,5
H(23A)-C(23)-H(23B)	109,5
C(20)-C(23)-H(23C)	109,5
H(23A)-C(23)-H(23C)	109,5
H(23B)-C(23)-H(23C)	109,5
N(2)-C(24)-C(25)	110,92(11)
N(2)-C(24)-H(24A)	109,5
C(25)-C(24)-H(24A)	109,5
N(2)-C(24)-H(24B)	109,5
C(25)-C(24)-H(24B)	109,5
H(24-A)-C(24)-H(24B)	108,0
N(4)-C(25)-C(24)	111,97(11)
N(4)-C(25)-H(25A)	109,2
C(24)-C(25)-H(25A)	109,2
N(4)-C(25)-H(25B)	109,2
C(24)-C(25)-H(25B)	109,2
H(25A)-C(25)-H(25B)	107,9
O(4)-C(26)-N(5)	122,27(13)
O(4)-C(26)-N(4)	122,15(13)
N(5)-C(26)-N(4)	115,55(12)

Tabla 13. Parámetros de desplazamiento anisotrópico ( $\text{angstrom}^2 \times 10^3$ ) para onyx2010a. El exponente del factor de desplazamiento anisotrópico adopta la forma:  $-2\pi^2[h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$	
O(1)	19(1)	20(1)	24(1)	-1(1)	6(1)	4(1)
O(2)	16(1)	20(1)	28(1)	-4(1)	4(1)	3(1)
O(3)	16(1)	16(1)	32(1)	-1(1)	2(1)	-2(1)
O(4)	23(1)	20(1)	30(1)	1(1)	8(1)	7(1)
N(1)	15(1)	14(1)	19(1)	-1(1)	2(1)	2(1)
N(2)	14(1)	14(1)	19(1)	1(1)	4(1)	0(1)
N(3)	17(1)	16(1)	19(1)	-1(1)	1(1)	1(1)
N(4)	20(1)	16(1)	28(1)	3(1)	10(1)	3(1)
N(5)	20(1)	15(1)	28(1)	3(1)	6(1)	2(1)
C(1)	16(1)	16(1)	17(1)	2(1)	0(1)	3(1)
C(2)	16(1)	16(1)	16(1)	2(1)	0(1)	3(1)
C(3)	15(1)	16(1)	19(1)	0(1)	3(1)	2(1)

ES 2 483 801 T3

$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$	
C(4)	14(1)	16(1)	16(1)	3(1)	1(1)	3(1)
C(5)	15(1)	15(1)	14(1)	1(1)	-1(1)	1(1)
C(6)	16(1)	15(1)	17(1)	1(1)	0(1)	2(1)
C(7)	19(1)	14(1)	27(1)	-1(1)	1(1)	2(1)
C(8)	19(1)	14(1)	25(1)	-4(1)	3(1)	1(1)
C(9)	18(1)	14(1)	19(1)	0(1)	1(1)	1(1)
C(10)	17(1)	19(1)	16(1)	2(1)	1(1)	5(1)
C(11)	14(1)	18(1)	19(1)	3(1)	-1(1)	-1(1)
C(12)	20(1)	13(1)	20(1)	0(1)	0(1)	0(1)
C(13)	24(1)	24(1)	32(1)	-6(1)	4(1)	6(1)
C(14)	22(1)	17(1)	39(1)	-1(1)	7(1)	-5(1)
C(15)	16(1)	12(1)	21(1)	0(1)	3(1)	-2(1)
C(16)	23(1)	16(1)	21(1)	2(1)	1(1)	1(1)
C(17)	31(1)	21(1)	17(1)	0(1)	3(1)	3(1)
C(18)	26(1)	19(1)	24(1)	2(1)	8(1)	4(1)
C(19)	20(1)	20(1)	26(1)	3(1)	0(1)	3(1)
C(20)	20(1)	14(1)	21(1)	0(1)	0(1)	-1(1)
C(21)	37(1)	34(1)	22(1)	-3(1)	-7(1)	11(1)
C(22)	38(1)	38(1)	30(1)	-2(1)	7(1)	16(1)
C(23)	33(1)	34(1)	23(1)	-4(1)	-7(1)	13(1)
C(24)	13(1)	16(1)	23(1)	1(1)	3(1)	0(1)
C(25)	17(1)	18(1)	24(1)	3(1)	3(1)	0(1)
C(26)	20(1)	17(1)	15(1)	1(1)	1(1)	2(1)

Tabla 14. Coordinados de hidrógeno ( $\times 10^4$ ) y parámetros de desplazamiento anisotrópico ( $\text{angstrom}^2 \times 10^3$ ) para ony2010a.

	x	y	z	U(eq)
H(3)	-1508	9983	3166	20
H(7A)	-2003	5309	1609	24
H(7B)	-974	5932	2570	24
H(8A)	552	6554	1154	24
H(8B)	-1053	6906	610	24
H(9)	-4000	9189	3022	20
H(12)	-4863	5137	2202	21
H(13A)	-5908	9037	4528	40
H(13B)	-7771	9279	4352	40
H(13C)	-6305	9845	3621	40
H(14A)	-7656	4481	1925	40
H(14B)	-9101	4366	2750	40
H(14C)	-7224	4300	3085	40
H(17)	-542	13440	5379	28
H(19)	-3315	13270	2832	26
H(21A)	1975	12671	5434	46
H(21B)	2798	12366	4385	46
H(21C)	1596	11352	4961	46
H(22A)	-4074	13725	5103	51
H(22B)	-3849	14592	4168	51
H(22C)	-2599	14843	5117	51
H(23A)	-2496	12476	1324	44
H(23B)	-1945	11221	1508	44
H(23C)	-577	12334	1225	44
H(24A)	4208	10135	1350	21
H(24B)	3754	11257	1972	21
H(25A)	2653	10595	-60	24
H(25B)	2114	11687	560	24
H(1N)	5292(18)	11670(13)	-118(11)	31(4)

	x	y	z	U(eq)
H(3N)	6273(19)	14542(14)	-193(11)	31(4)
H(2N)	6881(19)	13378(14)	-400(12)	36(5)

Tabla 15: Ángulos de torsión [°] para onyx2010a

C(2)-N(2)-C(1)-O(1)	177,74(12)
C(24)-N(2)-C(1)-O(1)	2,58(17)
C(2)-N(2)-C(1)-N(1)	-0,33(17)
C(24)-N(2)-C(1)-N(1)	-175,49(11)
C(4)-N(1)-C(1)-O(1)	-176,36(11)
C(8)-N(1)-C(1)-O(1)	-1,08(18)
C(4)-N(1)-C(1)-N(2)	1,72(17)
C(8)-N(1)-C(1)-N(2)	177,00(11)
C(15)-N(3)-C(2)-N(2)	170,96(11)
C(15)-N(3)-C(2)-C(3)	-7,54(19)
C(1)-N(2)-C(2)-N(3)	-177,51(12)
C(24)-N(2)-C(2)-N(3)	-2,40(17)
C(1)-N(2)-C(2)-C(3)	1,18(17)
C(24)-N(2)-C(2)-C(3)	176,30(11)
N(3)-C(2)-C(3)-C(4)	174,92(13)
N(2)-C(2)-C(3)-C(4)	-3,63(18)
C(2)-C(3)-C(4)-N(1)	5,10(19)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-172,25(12)
C(1)-N(1)-C(4)-C(3)	-4,08(18)
C(8)-N(1)-C(4)-C(3)	-179,16(12)
C(1)-N(1)-C(4)-C(5)	173,41(11)
C(8)-N(1)-C(4)-C(5)	-1,67(17)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	-166,10(12)
N(1)-C(4)-C(5)-C(6)	16,51(17)
C(3)-C(4)-C(5)-C(9)	14,28(19)
N(1)-C(4)-C(5)-C(9)	-163,11(11)
C(9)-C(5)-C(6)-C(12)	3,69(18)
C(4)-C(5)-C(6)-C(12)	-175,93(11)
C(9)-C(5)-C(6)-C(7)	-174,98(11)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	5,40(18)
C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	-39,51(16)
C(12)-C(6)-C(7)-C(8)	141,86(13)
C(1)-N(1)-C(8)-C(7)	152,41(11)
C(4)-N(1)-C(8)-C(7)	-32,29(16)
C(6)-C(7)-C(8)-N(1)	51,19(15)
C(6)-C(5)-C(9)-C(10)	-1,21(19)
C(4)-C(5)-C(9)-C(10)	178,41(12)
C(13)-O(2)-C(10)-C(9)	-26,55(18)
C(13)-O(2)-C(10)-C(11)	155,32(12)
C(5)-C(9)-C(10)-O(2)	178,92(11)
C(5)-C(9)-C(10)-C(11)	-3,02(19)
C(14)-O(3)-C(11)-C(12)	7,02(18)
C(14)-O(3)-C(11)-C(10)	-173,21(11)
O(2)-C(10)-C(11)-O(3)	3,21(16)
C(9)-C(10)-C(11)-O(3)	-175,02(11)
O(2)-C(10)-C(11)-C(12)	-177,01(11)
C(9)-C(10)-C(11)-C(12)	4,76(19)
O(3)-C(11)-C(12)-C(6)	177,47(12)
C(10)-C(11)-C(12)-C(6)	-2,28(19)
C(5)-C(6)-C(12)-C(11)	-1,94(19)

ES 2 483 801 T3

C(7)-C(6)-C(12)-C(11)	176,67(12)
C(2)-N(3)-C(15)-C(20)	-72,70(16)
C(2)-N(3)-C(15)-C(16)	114,22(14)
C(20)-C(15)-C(16)-C(17)	-0,3(2)
N(3)-C(15)-C(16)-C(17)	172,16(12)
C(20)-C(15)-C(16)-C(21)	-178,86(13)
N(3)-C(15)-C(16)-C(21)	-5,84(19)
C(15)-C(16)-C(17)-C(18)	0,7(2)
C(21)-C(16)-C(17)-C(18)	179,27(14)
C(16)-C(17)-C(18)-C(19)	-0,5(2)
C(16)-C(17)-C(18)-C(22)	-179,15(14)
C(17)-C(18)-C(19)-C(20)	-0,2(2)
C(22)-C(18)-C(19)-C(20)	178,52(14)
C(18)-C(19)-C(20)-C(15)	0,6(2)
C(18)-C(19)-C(20)-C(23)	-175,26(14)
C(16)-C(15)-C(20)-C(19)	-0,4(2)
N(3)-C(15)-C(20)-C(19)	-173,37(12)
C(16)-C(15)-C(20)-C(23)	175,44(13)
N(3)-C(15)-C(20)-C(23)	2,4(2)
C(1)-N(2)-C(24)-C(25)	85,94(13)
C(2)-N(2)-C(24)-C(25)	-89,49(13)
C(26)-N(4)-C(25)-C(24)	-105,34(4)
N(2)-C(24)-C(25)-N(4)	177,45(10)
C(25)-N(4)-C(26)-O(4)	-5,4(2)
C(25)-N(4)-C(26)-N(5)	173,13(12)

A menos que se defina lo contrario, todos los términos científicos y técnicos usados en la presente memoria están de acuerdo con el significado que se conoce por parte del experto común en la materia.

## REIVINDICACIONES

1. Un polimorfo cristalino (I) de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) que tiene un patrón de difracción de rayos-X en forma de polvo que comprende picos característicos, en términos de  $2\theta$ , a  $10,1^\circ$  y  $12,9^\circ$ .
2. El polimorfo de la reivindicación 1, donde dicho patrón de difracción de rayos-X en forma de polvo comprende además picos característicos, en términos de  $2\theta$ , a  $15,3^\circ$  y  $17,6^\circ$ .
3. El polimorfo de la reivindicación 1, donde dicho patrón de difracción de rayos-X en forma de polvo comprende al menos 5 picos característicos en términos de  $2\theta$ , seleccionados entre  $6,4^\circ$ ,  $10,1^\circ$ ,  $12,6^\circ$ ,  $12,9^\circ$ ,  $13,6^\circ$ ,  $14,2^\circ$ ,  $14,7^\circ$ ,  $15,3^\circ$ ,  $15,4^\circ$ ,  $15,8^\circ$ ,  $17,0^\circ$ ,  $17,6^\circ$ ,  $18,9^\circ$ ,  $20,9^\circ$ ,  $22,4^\circ$ ,  $22,8^\circ$  y  $28,7^\circ$ .
4. El polimorfo cristalino (I) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene los siguientes parámetros estructurales obtenidos por medio de análisis de cristal individual:
- |                                   |                                  |
|-----------------------------------|----------------------------------|
| Longitud de onda                  | 0,71073 angstrom                 |
| Sistema cristalino                | Triclínico                       |
| Grupo espacial                    | P-1                              |
| Dimensiones de la célula unitaria |                                  |
| a = 8,1246(4) angstrom            | $\alpha = 91,583(4)^\circ$ .     |
| b = 11,4573(5) angstrom           | $\beta = 90,299(4)^\circ$ .      |
| c = 13,2398(6) angstrom           | $\gamma = 99,628(4)^\circ$ .     |
| Volumen                           | 1214,56(10)angstrom <sup>3</sup> |
| Z                                 | 2.                               |
5. El polimorfo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que tiene una traza de calorimetría de barrido diferencial que muestra un máximo a  $248^\circ\text{C}$ .
6. Una composición sólida que comprende el polimorfo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde al menos un 50 % en peso de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente como dicho polimorfo.
7. La composición de la reivindicación 6, donde al menos un 70 % en peso de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente como dicho polimorfo.
8. La composición de la reivindicación 6, donde al menos un 90 % en peso de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente como dicho polimorfo.
9. La composición de la reivindicación 6, donde al menos un 97 % en peso de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea) total de dicha composición está presente como dicho polimorfo.
10. Una composición sólida que comprende el polimorfo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. Una composición sólida que comprende el polimorfo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y una sustancia terapéutica conocida que se usa para tratar asma, asma alérgica, rinitis polínica, rinitis alérgica, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome disneico agudo del adulto (SDAA), fibrosis quística, trastornos cutáneos, dermatitis atópica, soriasis, inflamación ocular, isquemia cerebral o enfermedades auto-inmunitarias.
12. La composición sólida de la reivindicación 11, donde la sustancia terapéutica se usa para tratar asma o EPOC.
13. Un polimorfo cristalino como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento de asma, asma alérgica, rinitis polínica, rinitis alérgica, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome disneico agudo del adulto (SDAA), fibrosis quística, trastornos cutáneos, dermatitis atópica, soriasis, inflamación ocular, isquemia cerebral o enfermedades auto-inmunitarias, en un mamífero que lo necesita.
14. El polimorfo cristalino para su uso en la reivindicación 13, donde el mamífero es un humano.

15. Un compuesto de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea), en forma de un sólido cristalino que consiste en más de un 99 % en peso de (N-{2-[(2E)-2-(mesitilimino)-9,10-dimetoxi-4-oxo-6,7-dihidro-2H-pirimido[6,1-a]-isoquinolin-3(4H)-il]etil}urea), al menos un 95 % en peso en forma polimórfica del polimorfo cristalino de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

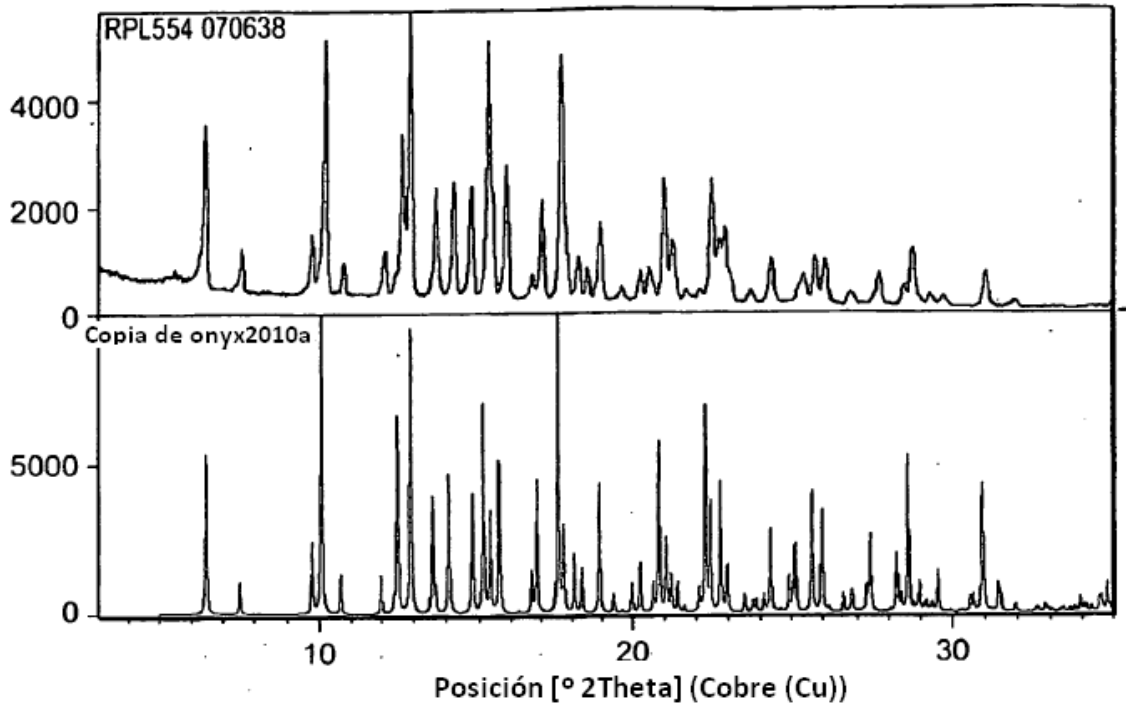


FIG. 1

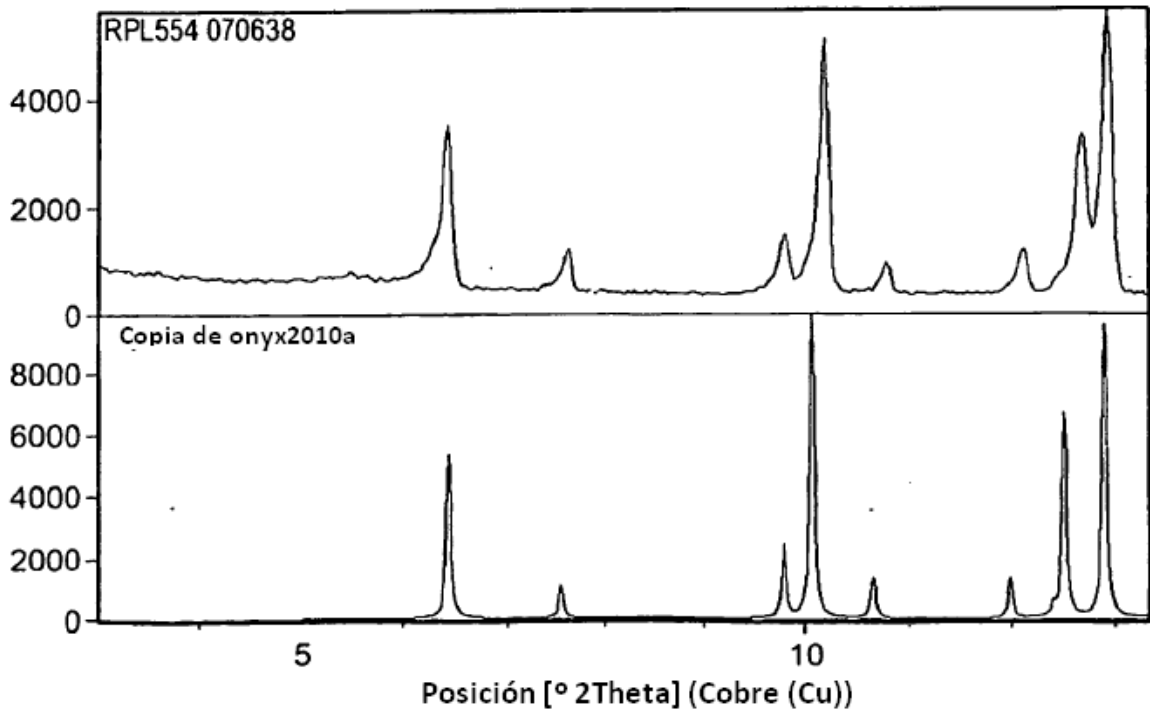


FIG. 2

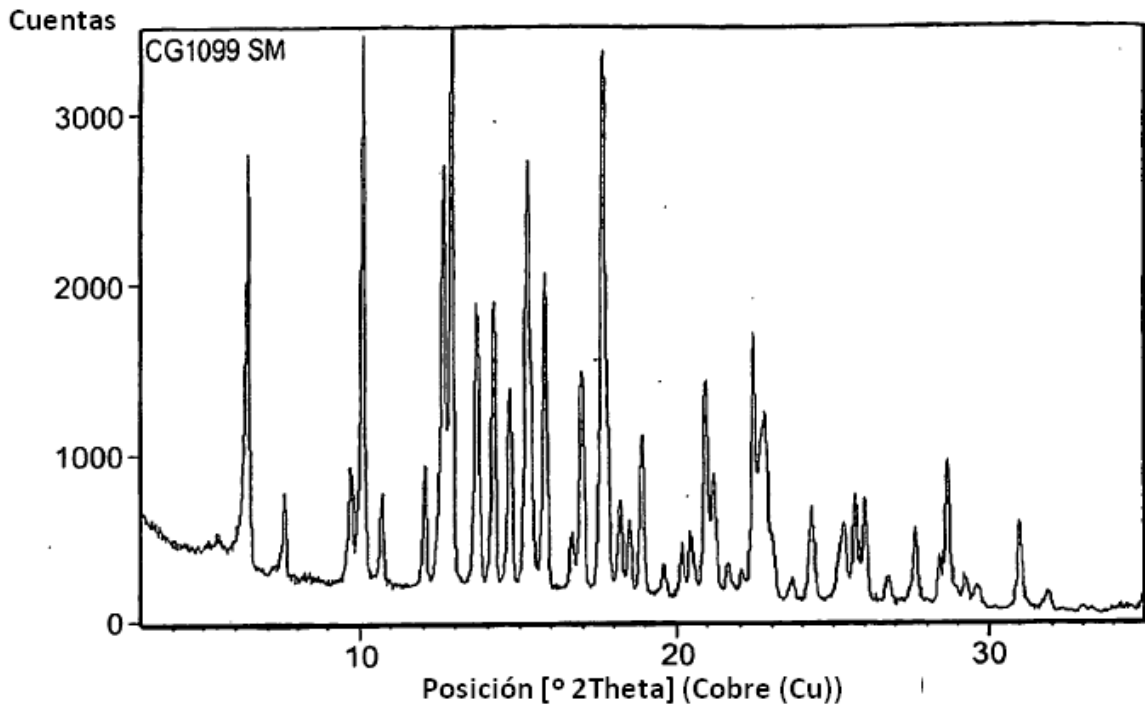


FIG. 3

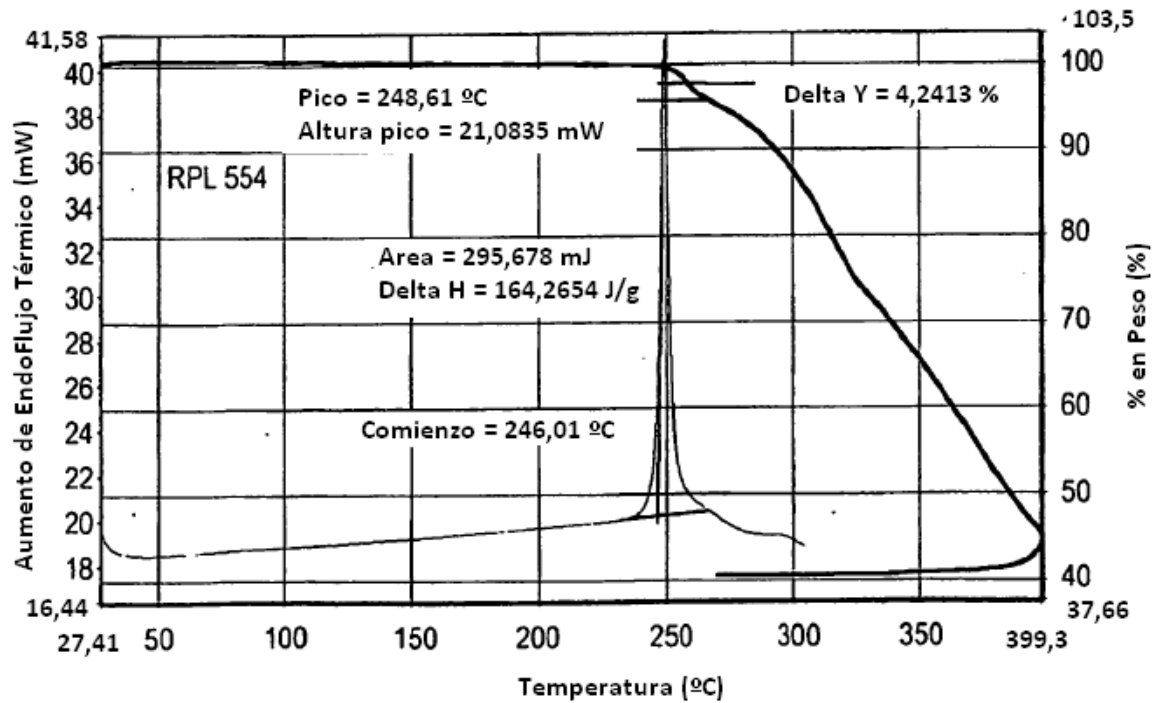


FIG. 4



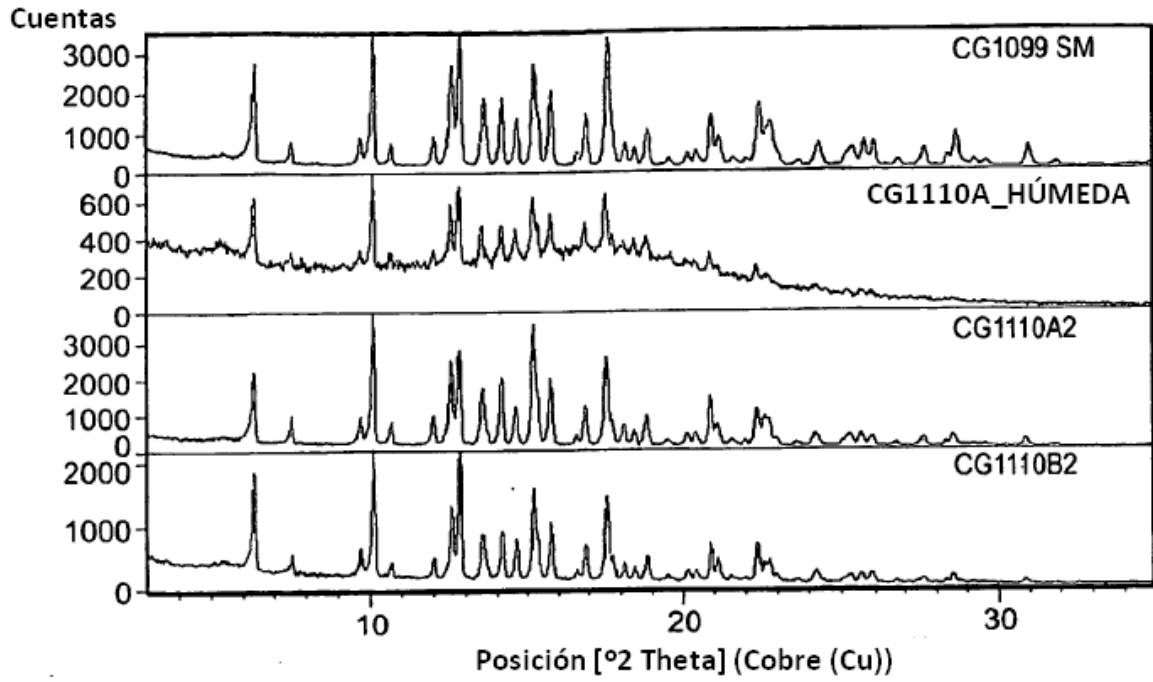


FIG. 5

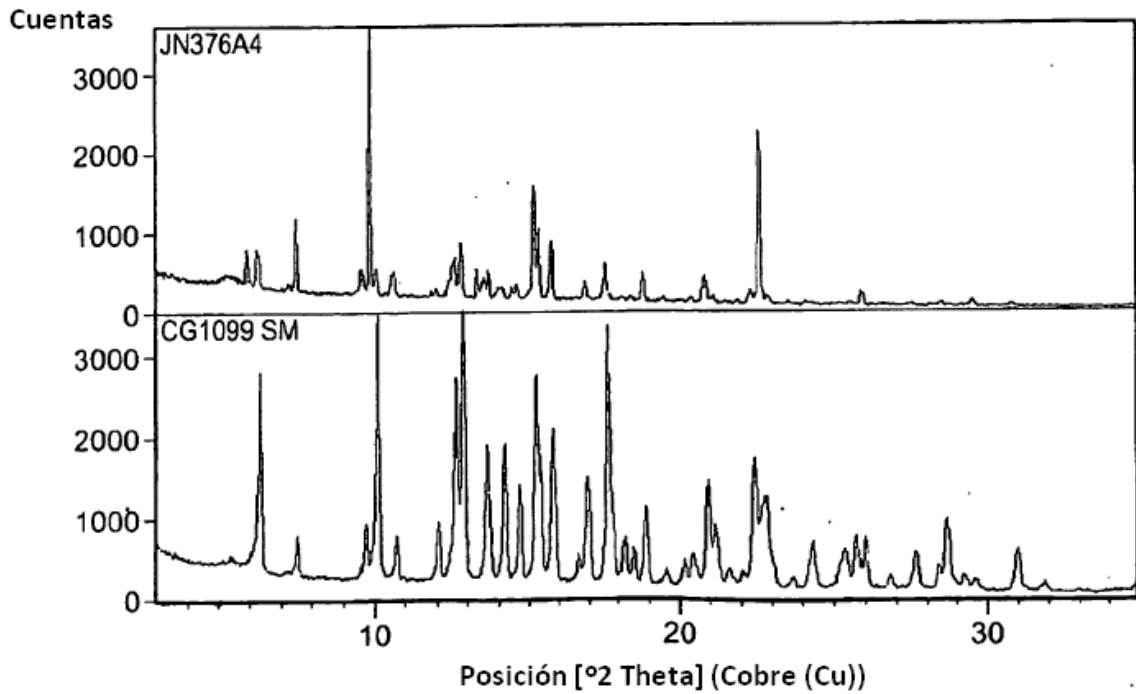


FIG. 6

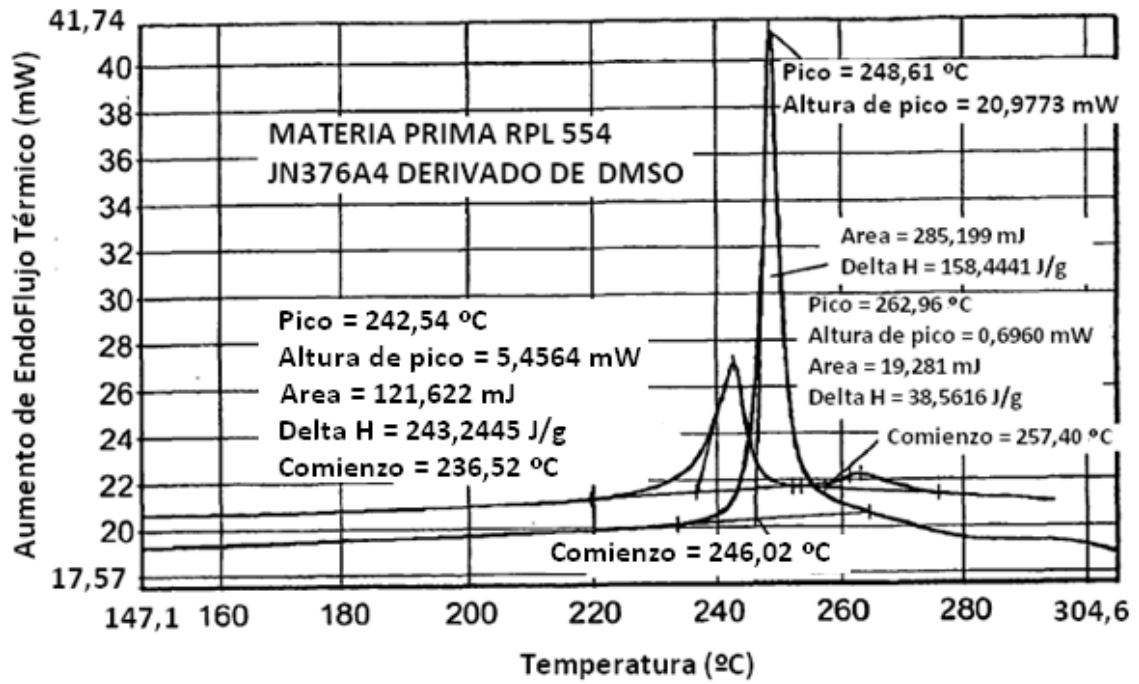


FIG. 7

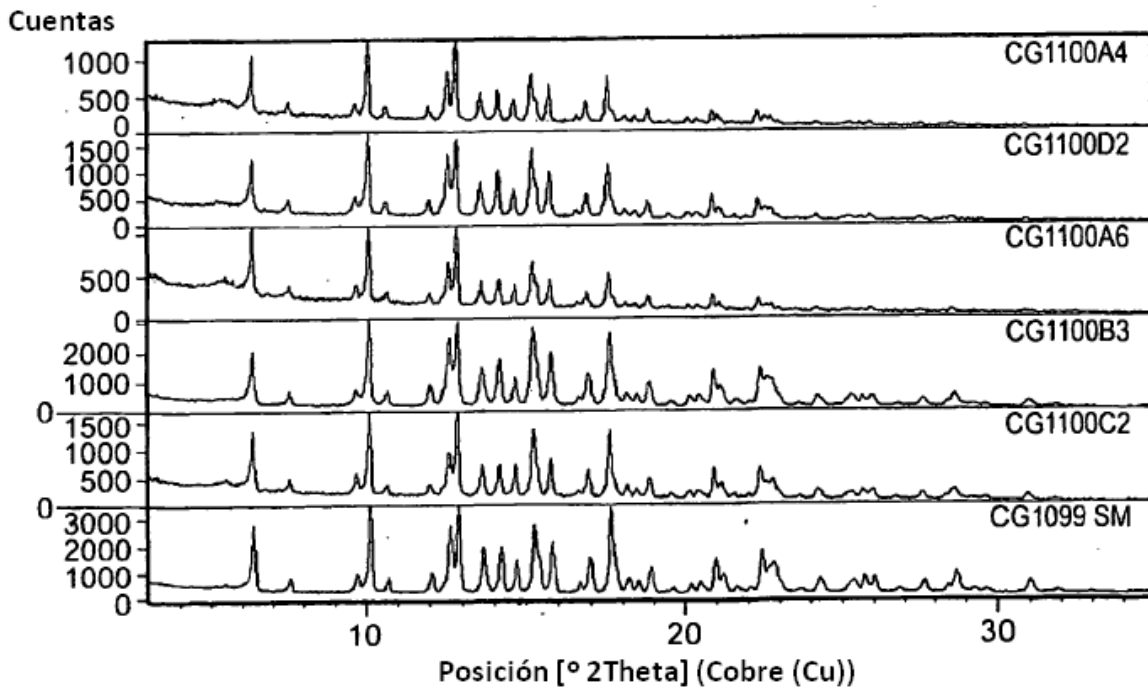


FIG. 8

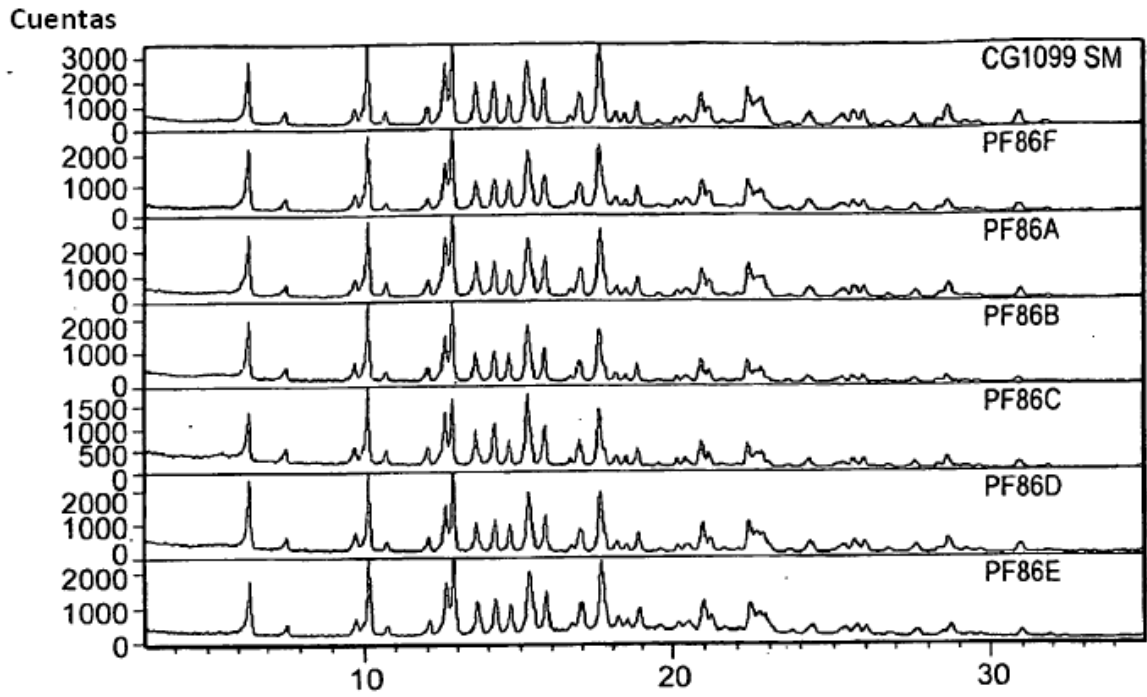


FIG. 9

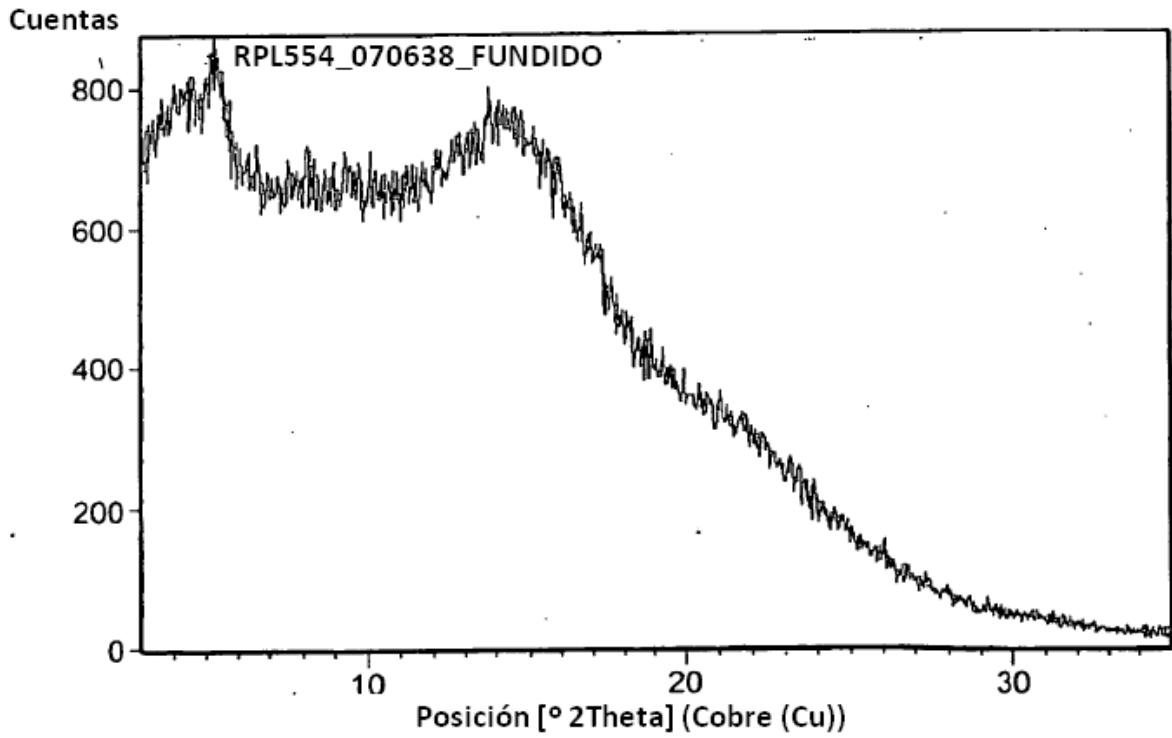


FIG. 10

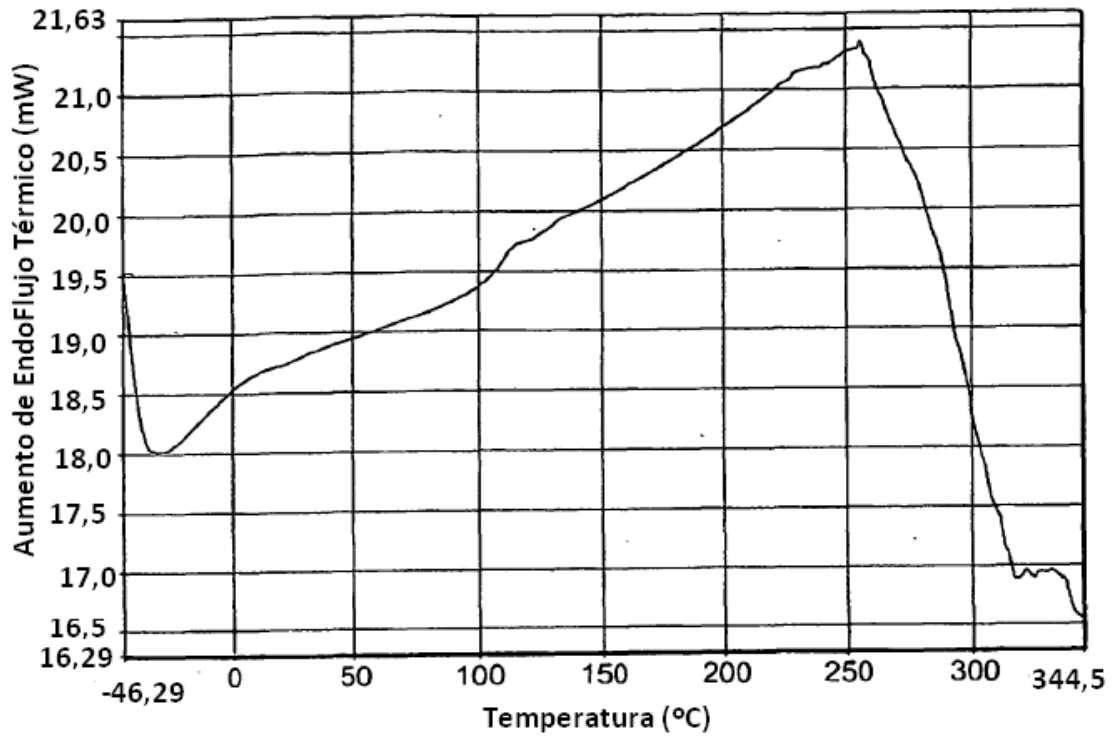


FIG. 11

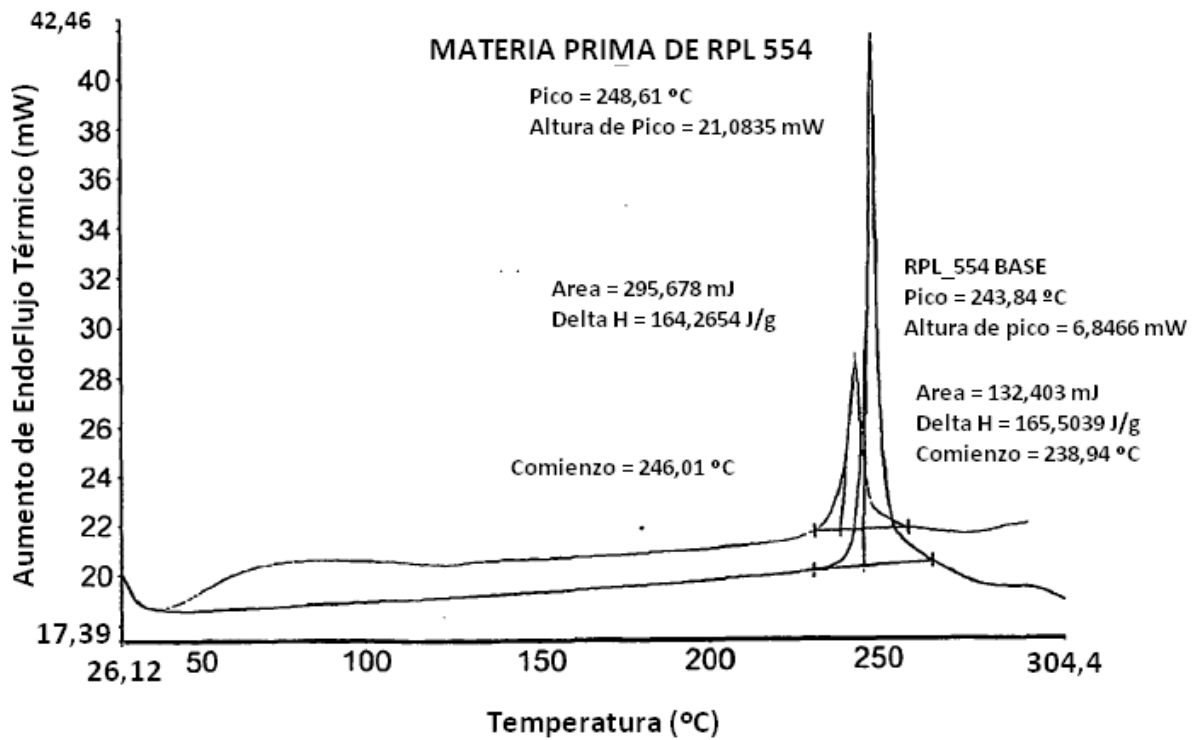


FIG. 12

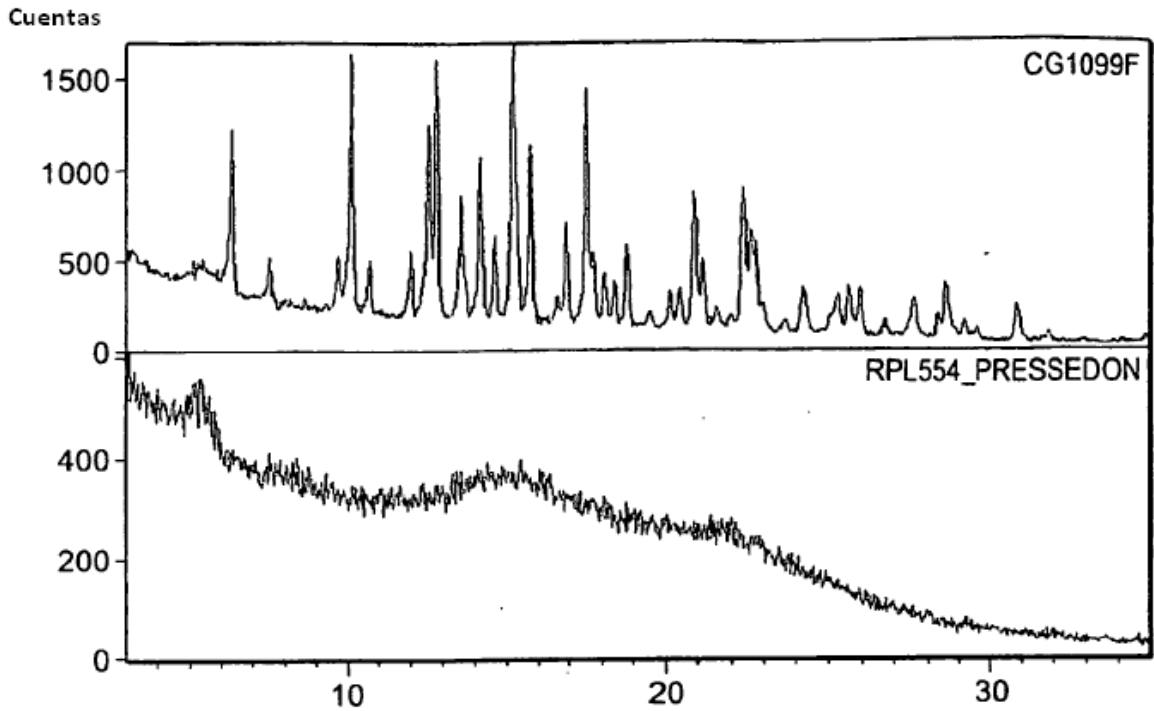


FIG. 13

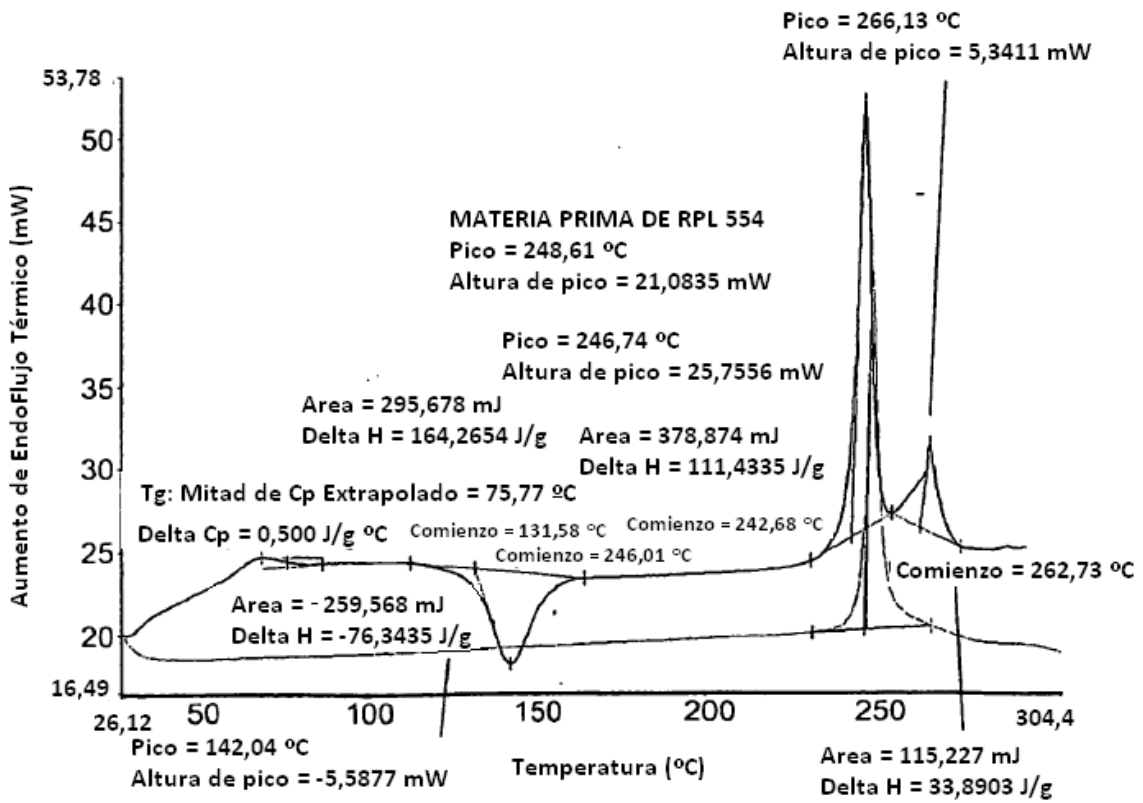


FIG. 14

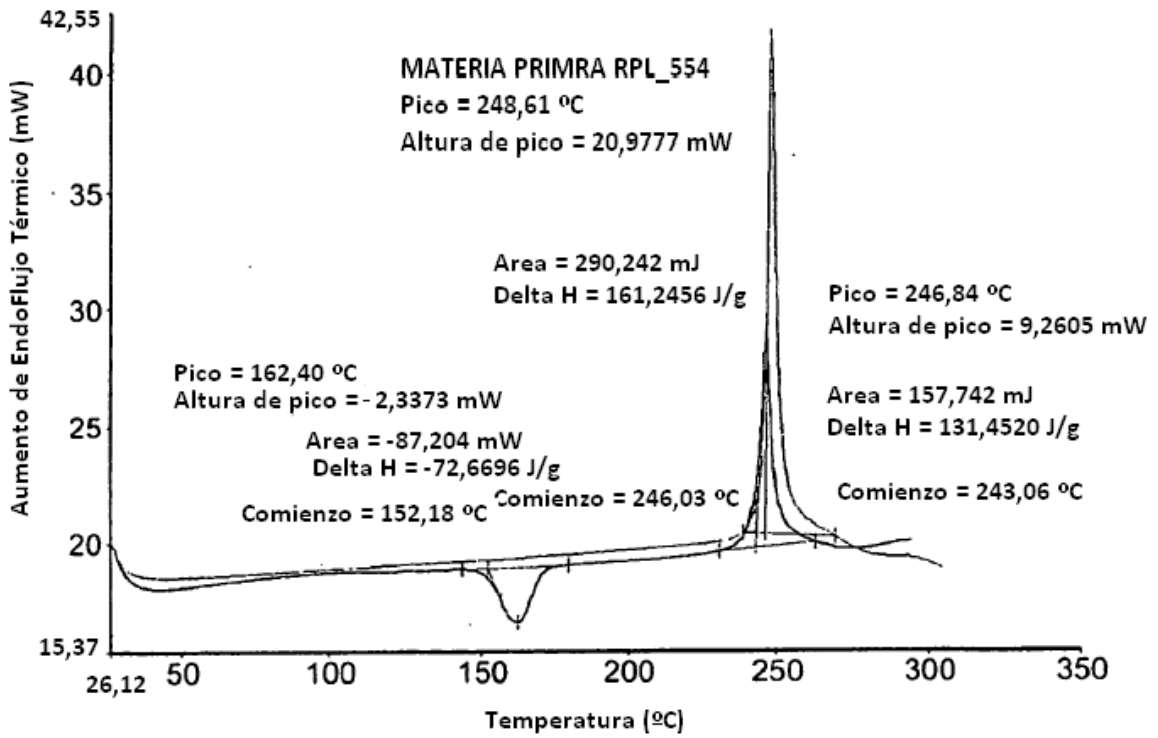


FIG. 15

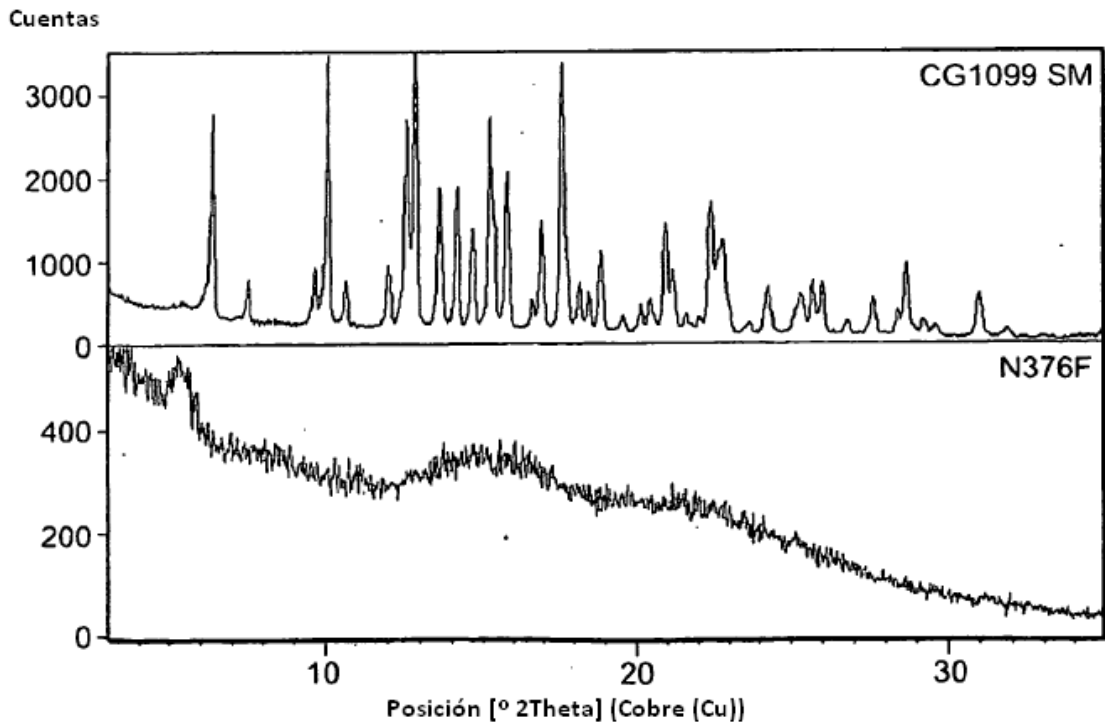


FIG. 16

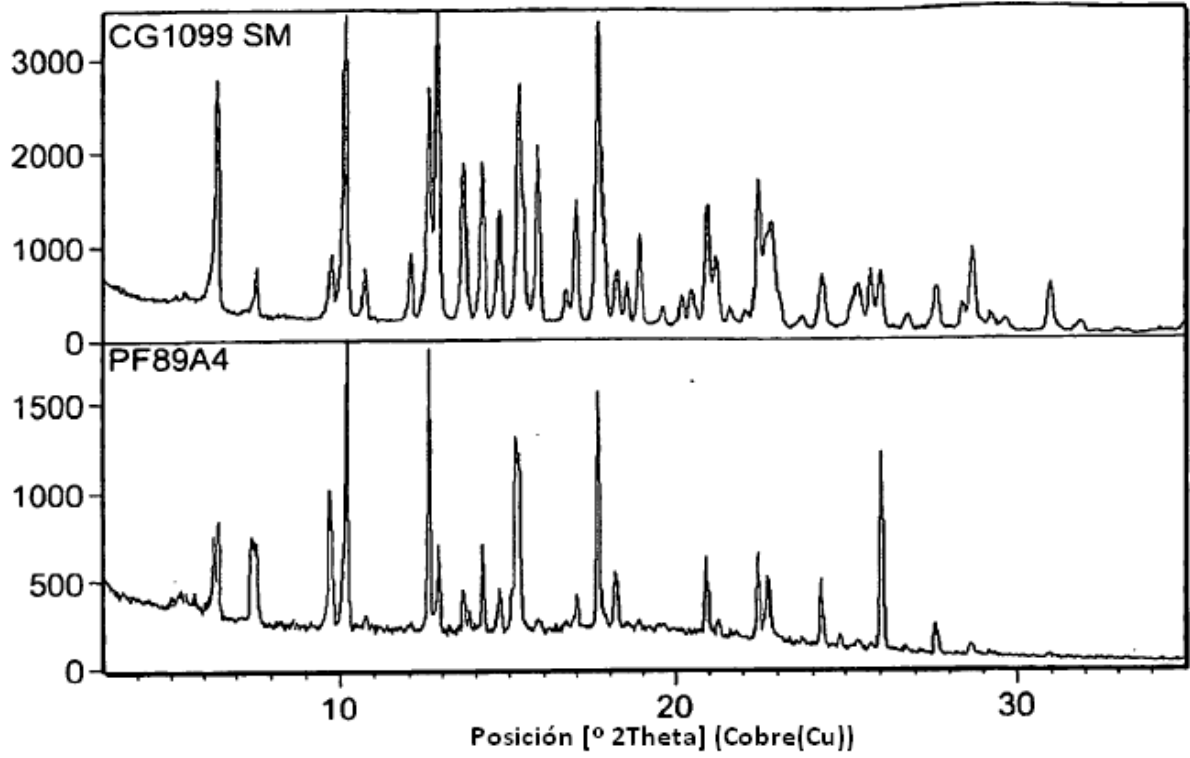


FIG. 17

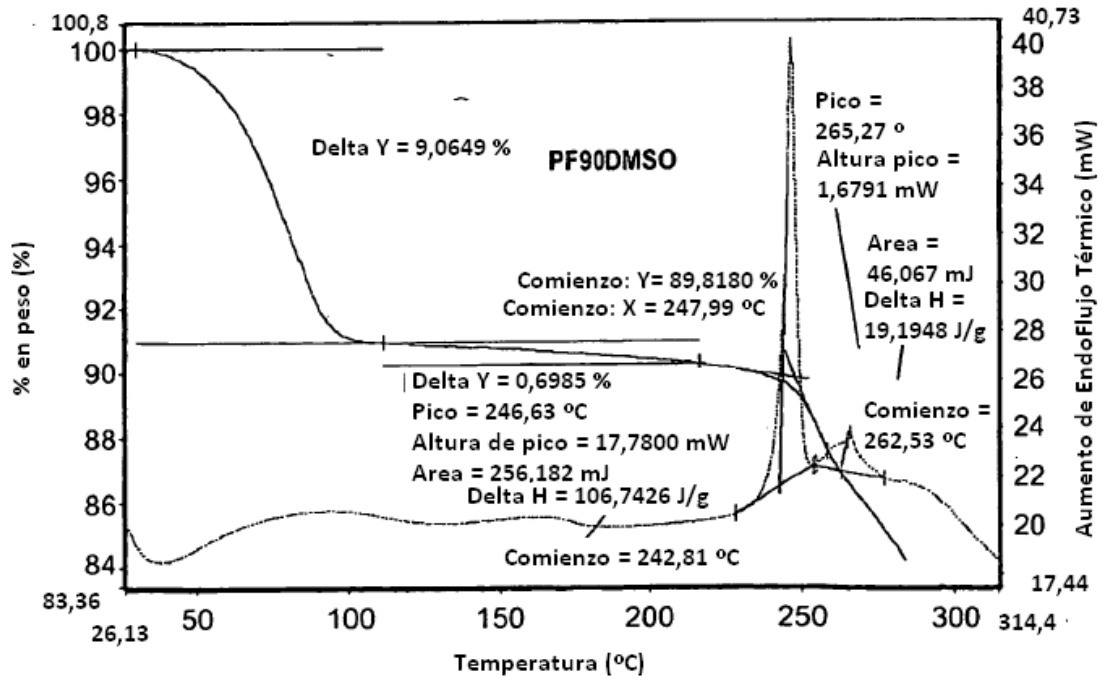


FIG. 18

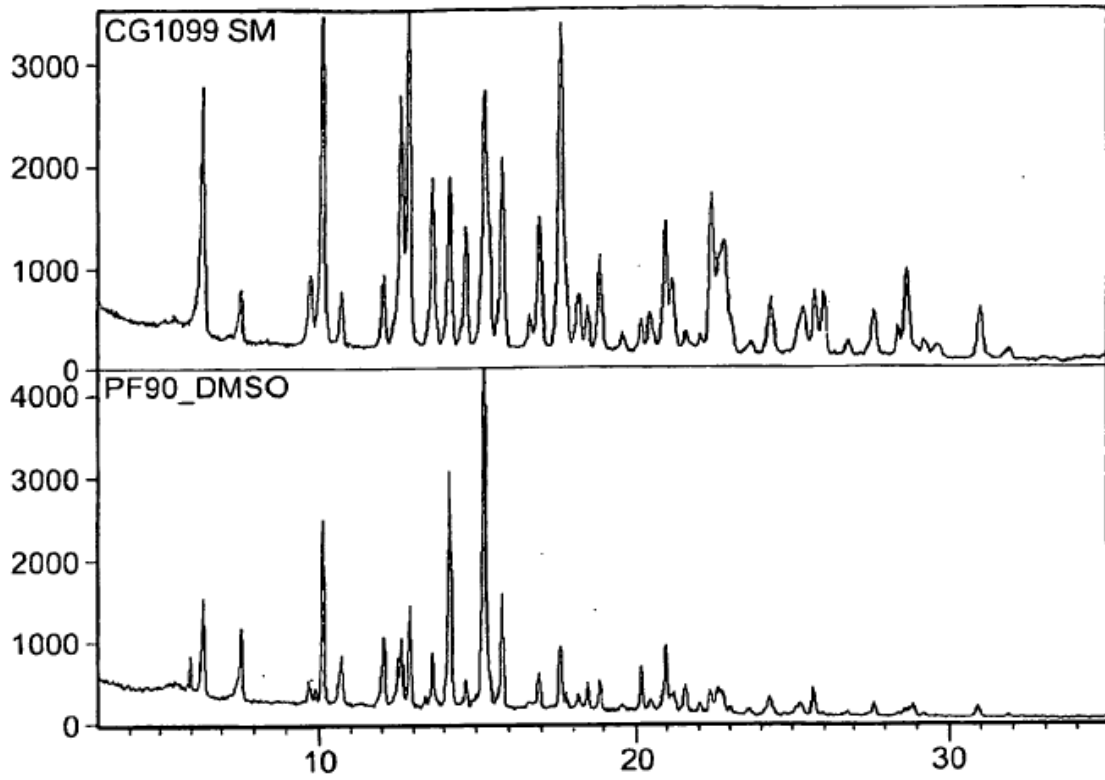
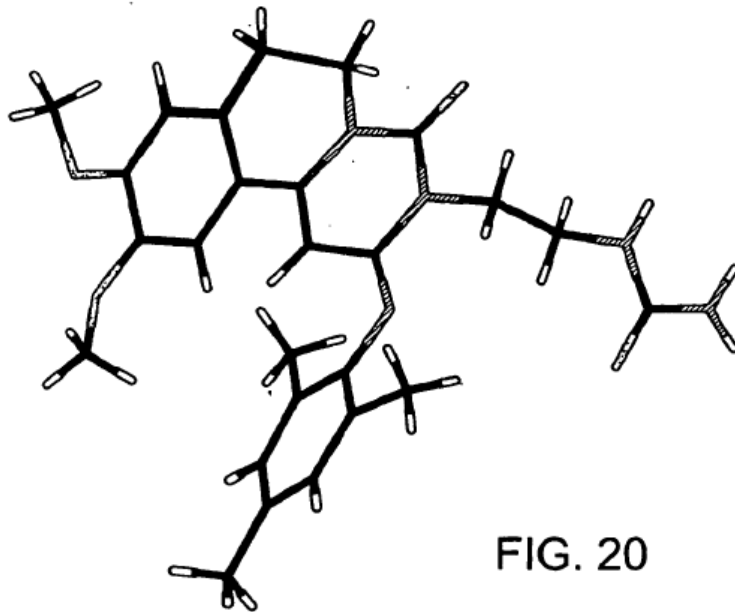


FIG. 19





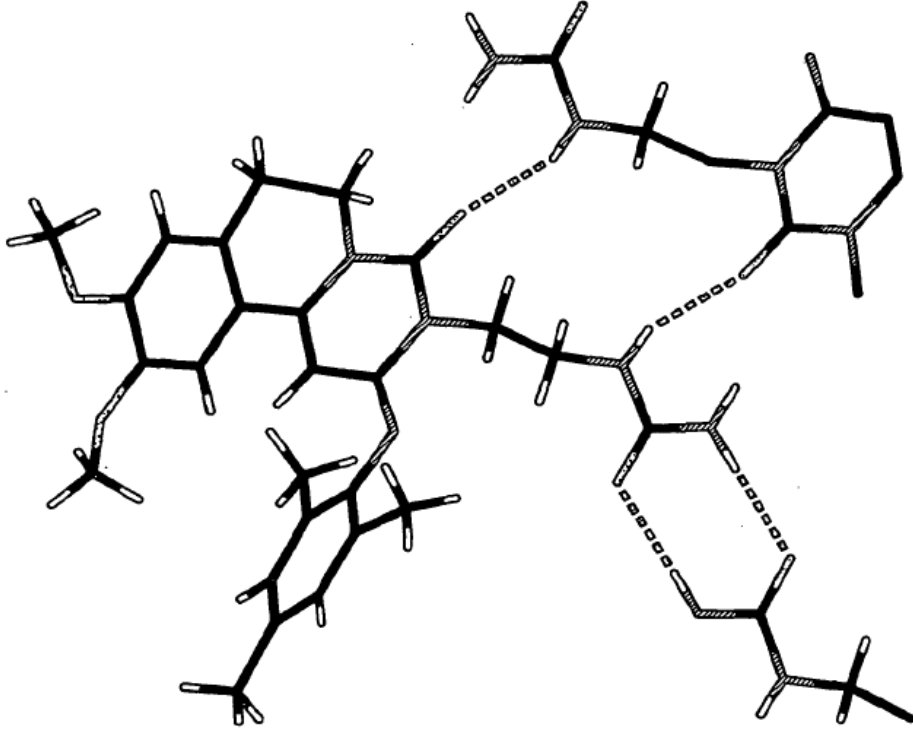


FIG. 21

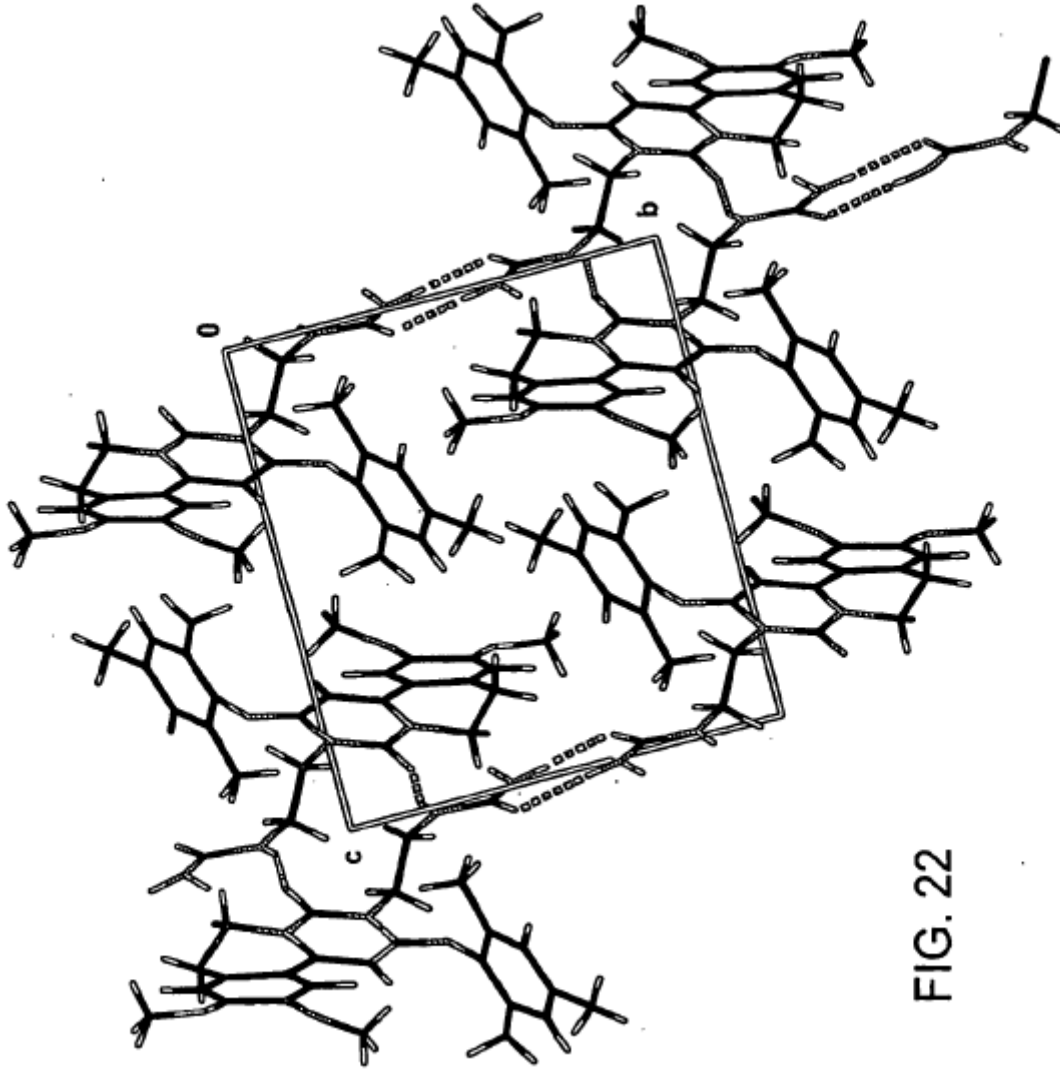


FIG. 22