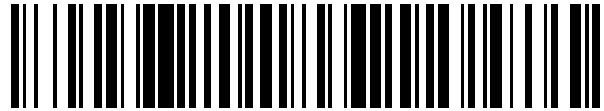


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 376**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2011 E 11790916 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014 EP 2640467**

54 Título: **Forma cristalina de un inhibidor de la interacción de MDM2/4 y p53**

30 Prioridad:

19.11.2010 WO PCT/CN2010/078927

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

09.02.2015

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BERGHAUSEN, JOERG y
REN, HAIXIA**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 528 376 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 un inhibidor de la interacción de MDM2/4 y p53

Introducción

5 La presente invención se refiere a una forma cristalina de sal de sulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona, que es útil en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociado con la interacción entre p53, o variantes del mismo, y MDM2 y/o MDM4, o variantes de los mismos, respectivamente, uniéndose especialmente a MDM2 y/o MDM4, o variantes de los mismos, a un procedimiento para la preparación de la forma cristalina, a preparaciones farmacéuticas que comprenden la forma cristalina, a usos y métodos de uso para tal forma cristalina en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno (incluyendo terapia y/o profilaxis) y/o a contenido relacionado tal como se especifica a continuación.

15 p53 se refiere a todos los genes y/o las proteínas codificadas del mismo con los nombres TP53, p53, TP73, p73, TP63, TP73L, p63. MDM2 se refiere a todos los genes y/o las proteínas codificadas del mismo con los nombres MDM2, Mdm2, HDM2, Hdm2. MDM4 se refiere a todos los genes y/o las proteínas codificadas del mismo con los nombres MDM4, Mdm4, HDM4, Hdm4, MDMX, MdmX, HDMX, HdmX.

20 Se conoce la proteína p53 como una proteína supresora de tumores que ayuda a controlar la integridad celular y previene la proliferación de células permanentemente dañadas iniciando, entre otras respuestas, la detención del crecimiento o la apoptosis (muerte celular controlada). p53 media sus efectos porque es un factor de transcripción que puede regular varios genes que regulan, por ejemplo, el ciclo celular y la apoptosis. Por tanto, p53 es un inhibidor del ciclo celular importante. Estas actividades están controladas estrechamente por MDM2, un regulador negativo importante del supresor de tumores p53. "MDM2" (originariamente a partir del oncogén "minúsculo doble murino 2") se refiere tanto al nombre del gen así como a la proteína codificada por ese gen. La proteína MDM2 funciona tanto como una E3 ubiquitina ligasa que reconoce el dominio de transactivación (TAD) N-terminal del supresor de tumores p53 y media por tanto la degradación dependiente de ubiquitina de p53, así como un inhibidor de activación transcripcional de p53.

30 El oncogén de ratón original, que codifica para la proteína MDM2, se clonó originariamente a partir de una línea celular de ratón transformada. El homólogo humano de esta proteína se identificó más tarde y algunas veces también se denomina HDM2 (para "minúsculo doble humano 2"). Apoyando adicionalmente el papel de MDM2 como oncogén, se ha mostrado que varios tipos de enfermedades proliferativas y tumorales humanas tienen niveles aumentados de MDM2, incluyendo, entre otros, sarcomas de tejidos blandos, cáncer de hueso, por ejemplo osteosarcomas, tumores de mama, cáncer de vejiga, síndrome de Li-Fraumeni, tumor cerebral, rabdomiosarcoma y carcinoma adrenocortical, y similares. Otra proteína que pertenece a la familia de MDM2 es MDM4, también conocida como MDMX.

35 La desregulación de la razón de MDM2/p53, por ejemplo, debido a mutaciones, polimorfismos o defectos moleculares en las células afectadas, puede encontrarse por tanto en muchas enfermedades proliferativas. MDM2, en vista de sus efectos mencionados, puede inhibir la actividad de la proteína supresora de tumores p53, conduciendo por tanto a la pérdida de la actividad supresora de tumores de p53 e inhibiendo mecanismos reguladores que impiden que las células proliferen de manera descontrolada. Como consecuencia, puede tener lugar la proliferación descontrolada, lo que conduce a tumores, leucemias u otras enfermedades proliferativas.

40 El documento WO2008/034039 da a conocer compuestos que tienen una estructura principal de isoquinolina, que se unen a HDM2.

La referencia en el presente documento a inhibición de la interacción de MDM2/p53 incluye la interacción de MDM2/p53 y/o la interacción de MDM4/p53 en el presente documento, en particular la interacción de Hdm2/p53 y/o Hdm4/p53.

45 Existe la necesidad de una forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona, que sea útil para proporcionar una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la interacción de MDM2/p53.

Sumario de la invención

50 Se ha encontrado que la forma cristalina I de la sal de sulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento, proporciona una mejora significativa en las propiedades de procesamiento en

comparación con la forma amorfa de base libre, y proporciona mejoras en la solubilidad y estabilidad.

Descripción detallada de la invención

5 En una realización se proporciona una forma cristalina de sal de sulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona. En particular, la sal de sulfato es la sal de bisulfato.

En otra realización se proporciona una forma cristalina de sal de bisulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona que tiene un espectro de difracción de rayos X de polvo usando radiación $K\alpha$ de Cu que incluye los picos: 18,8, 21,3 y 22,7 ángulos 2-theta, °, con un error de +/- 0,2°.

10 En otra realización, la invención proporciona una forma cristalina de sal de bisulfato de (S)-1-(4-clorofenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona que tiene un espectro de difracción de rayos X de polvo usando radiación $K\alpha$ de Cu que es sustancialmente igual al espectro de difracción de rayos X de polvo mostrado en la figura 1 o en la figura 2, en el presente documento.

15 En realizaciones individuales adicionales, la invención proporciona:

- Una forma cristalina tal como se define en el presente documento para su uso como producto farmacéutico.
- Una forma cristalina tal como se define en el presente documento, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4.
- El uso de una forma cristalina tal como se define en el presente documento, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4.
- Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma cristalina tal como se define en el presente documento, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- Un método de modulación de la actividad de MDM2 y/o MDM4 en un sujeto, que comprende la etapa de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma cristalina tal como se define en el presente documento.
- Un método para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4 que comprende la etapa de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma cristalina tal como se define en el presente documento.
- Una forma cristalina, un uso o un método tal como se describen en el presente documento, en los que la enfermedad o el trastorno es una enfermedad o un trastorno proliferativo.
- Una forma cristalina tal como se define en el presente documento, en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos.

Definiciones

35 Tal como ya se indicó anteriormente, MDM2 (especialmente cuando se menciona como MDM2 o variantes del mismo) se refiere en general a todos los genes y/o las proteínas codificadas del mismo con los nombres MDM2, Mdm2, HDM2, Hdm2, o una variante de los mismos. MDM4 (especialmente cuando se menciona como MDM4 o variantes del mismo) se refiere a todos los genes y/o las proteínas codificadas del mismo con los nombres MDM4, Mdm4, HDM4, Hdm4, MDMX, MdmX, HDMX, HdmX, o una variante de los mismos.

40 MDM2 se refiere específicamente a MDM2 tal como se describe en EMBO J. 10, 1565-9, Fakharzadeh *et al.*, 1991, una variante del mismo se refiere a una variante del mismo que todavía se une a p53 en el sistema de ensayo descrito a continuación (por ejemplo una variante de corte y empalme, una isoforma, un fragmento, un mutante o un oncogén debido a delección, inserción y/o intercambio de uno o más, por ejemplo de uno a 430, de los aminoácidos), correspondiente a las proteínas de longitud completa tal como se describieron originariamente, preferiblemente al menos con el 0,5%, más preferiblemente al menos con el 5%, el 10%, el 20%, el 30%, el 40% o especialmente el 45 50% o más de la afinidad de MDM2 por p53, y tiene al menos el 20%, más preferiblemente al menos el 25% de identidad de secuencia con respecto a MDM2 o con respecto a HDM2 tal como se describieron originariamente o tal como se menciona específicamente a continuación. Cuando no se menciona de otro modo, MDM2 se refiere de

manera general a MDM2, Mdm2, HDM2 o Hdm2, o variantes de los mismos, respectivamente, tal como acaba de definirse.

MDM4 se refiere específicamente a MDM4 tal como se describe en Genomics 43, 34-42, Shvarts *et al.*, 1997, una variante del mismo se refiere a una variante del mismo que todavía se une a p53 en el sistema de ensayo descrito a continuación (por ejemplo una variante de corte y empalme, una isoforma, un fragmento, un mutante o un oncogén debido a delección, inserción y/o intercambio de uno o más, por ejemplo de uno a 430, de los aminoácidos), correspondiente a las proteínas de longitud completa tal como se describieron originariamente, preferiblemente al menos con el 0,5%, más preferiblemente al menos con el 5%, el 10%, el 20%, el 30%, el 40% o especialmente el 50% o más de la afinidad de MDM4 por p53, y tiene al menos el 20%, más preferiblemente al menos el 25% de identidad de secuencia con respecto a MDM4, con respecto a MDMX, con respecto a HDM4 o con respecto a HDM2 tal como se describieron originariamente o tal como se menciona específicamente a continuación. Cuando no se menciona de otro modo, MDM4 se refiere de manera general a MDM4, Mdm4, HDM4, Hdm4, MDMX, MdmX, HDMX o HdmX, o variantes de los mismos, respectivamente, tal como acaba de definirse.

“Variantes de los mismos”, cuando se menciona, significa una o más variante(s).

Tal como se usa en el presente documento, el término “portador farmacéuticamente aceptable” incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardadores de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de disgregación, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes, y similares y combinaciones de los mismos, tal como conocerán los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington’s Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. Mack Printing Company, 1990, págs. 1289-1329). Excepto en tanto que cualquier portador convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

Por “combinación”, quiere decirse o bien una combinación fija en una forma unitaria de dosificación, o bien un kit de partes para la administración combinada en la que un compuesto de fórmula (I) y una pareja de combinación pueden administrarse independientemente al mismo tiempo o por separado en el plazo de intervalos de tiempo que permiten especialmente que las parejas de combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo sinérgico.

El término “una cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de la actividad de una enzima o una proteína, o mejorará síntomas, aliviará estados, ralentizará o retardará la progresión de enfermedad o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización no limitativa, el término “una cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para (1) aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar al menos parcialmente un estado, o una enfermedad o un trastorno (i) mediado por la desregulación de la razón de p53/MDM2, o (ii) asociado con la desregulación de la razón de p53/MDM2 o (iii) caracterizado por la desregulación de la razón de MDM2/p53; o (2) reducir o inhibir la actividad de la interacción de p53/MDM2. En otra realización no limitativa, el término “una cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula o un tejido o un material biológico no celular o un medio, es eficaz para reducir o inhibir al menos parcialmente la interacción de p53/MDM2.

Tal como se usa en el presente documento, el término “sujeto” se refiere a un animal. Normalmente el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En determinadas realizaciones, el sujeto es un primate. En aún otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “inhibir”, “inhibición” o “que inhibe” se refieren a la reducción o supresión de un estado, un síntoma, o una enfermedad o un trastorno dado, o a una disminución significativa en la actividad inicial de una actividad o un proceso biológico.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “que trata” o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refieren, en una realización, a mejorar la enfermedad o el trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización “tratar”, “que trata” o “tratamiento” se refieren a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico incluyendo los que pueden no ser apreciables por el paciente. En aún otra realización, “tratar”, “que trata” o “tratamiento” se refieren a modular la enfermedad o el trastorno, o bien físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma apreciable), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o bien ambos. En aún otra realización, “tratar”, “que trata” o “tratamiento” se refieren a prevenir o retardar la aparición o el desarrollo o la progresión de la enfermedad o el trastorno.

Tal como se usa en el presente documento, un sujeto “necesita” un tratamiento si tal sujeto se beneficiaría de tal

tratamiento desde un punto de vista biológico, médico o en cuanto a la calidad.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “un”, “una”, “el/la” y términos similares usados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) deben interpretarse como que incluyen tanto el singular como el plural a menos que se indique de otro modo en el presente documento o que se contradiga claramente por el contexto.

Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique de otro modo en el presente documento o que se contradiga claramente de otro modo por el contexto. Se pretende simplemente que el uso de todos y cada uno de los ejemplos, o de términos a modo de ejemplo (por ejemplo “tal como”) proporcionados en el presente documento, esclarezca mejor la invención y no plantea una limitación del alcance de la invención reivindicada de otro modo.

“Sal de sulfato” puede significar la sal de bisulfato o la sal de monosulfato o mezclas de las mismas.

Composiciones farmacéuticas

La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden una forma cristalina de la presente invención. Por tanto, la invención proporciona

■ una composición farmacéutica que comprende (es decir que contiene o que consiste en) la forma cristalina tal como se define en el presente documento y uno o más portadores/excipientes;

■ una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina tal como se define en el presente documento, y uno o más portadores/excipientes farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede formularse para vías de administración particulares tales como administración oral, administración parenteral y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse en forma sólida (incluyendo sin limitación cápsulas, comprimidos, pastillas, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluyendo sin limitación disoluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes, agentes lubricantes o agentes de tamponamiento convencionales, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes y tampones, etc.

Normalmente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona; si se desea

d) disgregantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio o mezclas efervescentes; y/o

e) absorbentes, colorantes, aromas y edulcorantes.

Los comprimidos pueden o bien estar recubiertos con película o tener recubrimiento entérico según métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones adecuadas para la administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires. Se preparan composiciones destinadas a uso oral según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente agradables y aceptables. Los comprimidos pueden contener el principio activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato

de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos no se recubren o se recubren mediante técnicas conocidas para retardar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal y este modo proporcionan una acción sostenida a lo largo de un período más prolongado. Por ejemplo, puede emplearse un material con retardo en el tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Pueden presentarse formulaciones para uso oral como cápsulas de gelatina duras en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blandas en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Determinadas composiciones inyectables son disoluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y se preparan ventajosamente supositorios a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones pueden estar esterilizadas y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de disolución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan según métodos de mezclado, granulación o recubrimiento convencionales, respectivamente, y contienen aproximadamente el 0,1-75%, o contienen aproximadamente el 1-50% del principio activo.

Las composiciones adecuadas para la aplicación transdérmica incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención con un portador adecuado. Los portadores adecuados para la administración transdérmica incluyen disolventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar en el paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, dispositivos transdérmicos están en forma de un vendaje que comprende un elemento de soporte, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera de control de la tasa para suministrar el compuesto de la piel del huésped a una tasa controlada y predeterminada a lo largo de un periodo de tiempo prolongado, y medios para sujetar el dispositivo a la piel.

Las composiciones adecuadas para la aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y los ojos, incluyen disoluciones acuosas, suspensiones, pomadas, cremas, geles o formulaciones pulverizables, por ejemplo, para la administración mediante aerosol o similar. Tales sistemas de administración tópica serán apropiados en particular para la aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para uso profiláctico en cremas para el sol, lociones, pulverizaciones y similares. Por tanto, son particularmente adecuadas para su uso en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticas, bien conocidas en la técnica. Estas pueden contener solubilizantes, estabilizadores, agentes de potenciación de la tonicidad, tampones y conservantes.

Tal como se usa en el presente documento, una aplicación tópica también puede referirse a una inhalación o a una aplicación intranasal. Pueden administrarse convenientemente en forma de un polvo seco (o bien solo, como una mezcla, por ejemplo una combinación seca con lactosa, o bien como una partícula de componentes mixtos, por ejemplo con fosfolípidos) desde un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverización en aerosol desde un envase a presión, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras que comprenden los compuestos de la presente invención como principios activos, puesto que el agua puede facilitar la degradación de determinados compuestos.

Pueden prepararse composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras de la invención usando componentes anhidros o de bajo contenido en humedad y condiciones de baja humedad o baja humedad ambiente. Puede prepararse una composición farmacéutica anhidra y almacenarse de manera que se mantiene su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se envasan usando materiales que se sabe que impiden la exposición al agua de manera que pueden incluirse en kits de formulación adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas metálicas selladas herméticamente, plásticos, envases de dosis unitarias (por ejemplo, viales), envases de tipo blíster y envases de tipo tiras.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad a la que se descompondrá el compuesto de la presente invención como principio activo. Tales agentes, que se denominan en el presente documento "estabilizadores", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, tampones de pH o tampones de sales, etc.

50 Usos farmacéuticos

La invención se refiere en otro aspecto al uso de la forma cristalina de la presente invención como productos farmacéuticos. La invención proporciona por tanto:

- la forma cristalina tal como se define en el presente documento para su uso como medicamento;

- la forma cristalina de la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto asociado con la actividad de MDM2 y/o MDM4;
 - el uso de la forma cristalina de la presente invención, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto asociado con la actividad de MDM2 y/o MDM4;
- 5 ■ el uso de la forma cristalina tal como se define en el presente documento, para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno proliferativo seleccionado de cáncer o enfermedades tumorales, tales como tumores benignos o malignos, un sarcoma, tal como liposarcoma, rhabdomyosarcoma o cáncer de hueso, por ejemplo osteosarcomas, un carcinoma, tal como del cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, mama, gástrico, ovario, colon, recto, próstata, páncreas, pulmón, vagina o tiroides, un glioblastoma, un mieloma múltiple, un cáncer gastrointestinal, especialmente carcinoma de colon o adenoma colorrectal, un tumor de la cabeza y el cuello, un melanoma, una hiperplasia de próstata, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, una leucemia o un linfoma, tal como de origen en células B o T, y metástasis en otros órganos, infecciones virales (por ejemplo herpes, papiloma, VIH, Kaposi, hepatitis viral);
- 10
- también se da a conocer un método de modulación de la actividad de MDM2 y/o MDM4 en un sujeto, que comprende la etapa de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina de la presente invención;
 - también se da a conocer un método para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociado con la actividad de MDM2 y/o MDM4 que comprende la etapa de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina de la presente invención tal como se describe en el presente documento.
- 15
- 20 La eficacia de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona puede demostrarse tal como se muestra en el documento WO 98/01467 o preferiblemente tal como sigue:

Ensayo de transferencia de energía de fluorescencia con resolución temporal (TR-FRET)

25 La inhibición de las interacciones de p53-Hdm2 y p53-Hdm4 se mide mediante transferencia de energía de fluorescencia con resolución temporal (TR-FRET). La transferencia de energía de fluorescencia (o transferencia de energía de resonancia de Foerster) describe una transferencia de energía entre moléculas fluorescentes donadoras yceptoras. Para este ensayo, se usan las proteínas MDM2 (aminoácidos 2-188) y MDM4 (aminoácidos 2-185), marcadas con un resto de biotina C-terminal, en combinación con una estreptavidina marcada con europio (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, EE.UU.) que actúa como el fluoróforo donador. El péptido Cy5-TFSDLWKLL (p53 aa18-26) marcado con Cy5, derivado de p53, es el aceptor de energía. Tras la excitación de la molécula donadora a 340 nm, la interacción de unión entre MDM2 o MDM4 y el péptido p53 induce una transferencia de energía y una respuesta potenciada a la longitud de onda de emisión del aceptor a 665 nm. La perturbación de la formación del complejo p53-MDM2 o p53-MDM4 debido a una molécula inhibidora que se une al sitio de unión a p53 de MDM2 o MDM4 da como resultado emisión de donador aumentada a 615 nm. La lectura del ensayo FRET radiométrico se calcula a partir de los datos sin procesar de las dos señales de fluorescencia distintas medidas en modo de resolución temporal (tasa de recuento a 665 nm / tasa de recuento a 615 nm x 1000).

30

35

La prueba se realiza en placas de microtitulación de 1536 pocillos blancas (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Alemania) en un volumen total de 3,1 µl combinando 100 nl de compuestos diluidos en el 90% de DMSO/el 10% de H₂O (concentración de DMSO final del 3,2%) con 2 µl de estreptavidina marcada con europio (concentración final de 2,5 nM) en tampón de reacción (PBS, NaCl 125 mM, Novexin al 0,001% (que consiste en polímeros de hidratos de carbono (polímeros Novexin), diseñados para aumentar la solubilidad y estabilidad de las proteínas; Novexin Ltd., Cambridgeshire, Reino Unido), gelatina al 0,01%, Pluronic al 0,2% (copolímero de bloque a partir de óxido de etileno y óxido de propileno, BASF, Ludwigshafen, Alemania), DTT 1 mM), seguido por la adición de 0,5 µl de MDM2-Bio o MDM4-Bio diluido en tampón de ensayo (concentración final de 10 nM). Se permite que la disolución preincube durante 15 minutos a temperatura ambiente, seguido por la adición de 0,5 µl de péptido Cy5-p53 en tampón de ensayo (concentración final de 20 nM). Se incuba a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de leer la placa. Para la medición de muestras, se usa un lector de microplacas multimodo Analyst GT (Molecular Devices) con los siguientes parámetros: espejo dicróico a 380 nm, excitación a 330 nm, donador de emisión a 615 nm y aceptor de emisión a 665 nm. Los valores de CI₅₀ se calculan mediante ajuste de curva usando el software XLfit. Si no se especifica, se adquieren los reactivos de Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.

40

45

50

También existen experimentos que pueden demostrar la actividad antitumoral de los compuestos de fórmula (I) *in vivo*.

Por ejemplo, pueden usarse ratones hembra nu/nu atómicos de Harlan (Indianápolis, Indiana, EE.UU.) con tumores SJSA-1 de osteosarcoma humano trasplantados s.c. para determinar la actividad antitumoral de los inhibidores de la

interacción de p53/MDM2. En el día 0, con los animales recibiendo narcosis por Forene® (1-cloro-2,2,2-trifluoroetilfluorometil éter, Abbot, Wiesbaden, Alemania) por vía oral, se inyectan 3×10^8 células debajo de la piel en el costado izquierdo de los animales. Cuando los tumores alcanzan un volumen de 100 mm^3 , se dividen los ratones al azar en grupos de 6-8 animales y comienza el tratamiento. Se lleva a cabo el tratamiento durante un periodo de 2-3 semanas con administración por vía oral, intravenosa o intraperitoneal dos veces al día (o menos frecuentemente) de un compuesto de fórmula (I) en un vehículo adecuado a dosis definidas. Se miden los tumores dos veces a la semana con un calibre y se calcula el volumen de los tumores.

Como alternativa a la línea celular SJSA-1, también pueden usarse otras líneas celulares de la misma manera, por ejemplo,

- 10 • la línea celular de carcinoma de colon HCT116 (n.º de la ATCC CCL-247);
- el clon LNCaP de la línea celular de carcinoma de próstata FGC (n.º de la ATCC CRL-1740);
- la línea celular de carcinoma de colon RKO (n.º de la ATCC CRL-2577);
- la línea celular de fibrosarcoma HT1080 (n.º de la ATCC CCL-121);
- la línea celular de melanoma maligno A375 (n.º de la ATCC CRL-1619),
- 15 • la línea celular de carcinoma de pulmón de células grandes NCI-H460 (n.º de la ATCC HTB-177);
- el coriocarcinoma JEG-3 (n.º de la ATCC HTB-36)
- el carcinoma ductal de mama ZR-75-1 (n.º de la ATCC CRL-1500)

Base libre de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona:

20 CI_{50} (μM) del ensayo (TR-FRET) de inhibición de p53-Hdm2: 0,0008

CI_{50} (μM) del ensayo (TR-FRET) de inhibición de p53-Hdm4: 2,10.

Sal de bisulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se da a conocer en el presente documento:

CI_{50} (μM) del ensayo (TR-FRET) de inhibición de p53-Hdm2: 0,0019

25 CI_{50} (μM) del ensayo (TR-FRET) de inhibición de p53-Hdm4: 2,2.

Combinaciones

La invención se refiere en otro aspecto a combinaciones que comprenden la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento, y a uno o más principios activos adicionales. Por tanto, la invención proporciona:

- 30 ■ una combinación, en particular una combinación farmacéutica, que comprende la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento, y uno o más agentes terapéuticamente activos, particularmente agentes antiproliferativos;
- 35 ■ una composición farmacéutica combinada, adaptada para la administración simultánea o secuencial, que comprende la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento; cantidad(es) terapéuticamente eficaz(es) de una o más parejas de combinación, particularmente agentes antiproliferativos; uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables;
- 40 ■ una composición farmacéutica combinada tal como se define en el presente documento (i) como producto farmacéutico, (ii) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4, (iii) en un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por la actividad de MDM2

y/o MDM4.

La forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento también puede usarse ventajosamente en combinación con otros compuestos antiproliferativos. Tales compuestos antiproliferativos incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la aromataasa; antiestrógenos; inhibidores de la topoisomerasa I; inhibidores de la topoisomerasa II; compuestos activos de microtúbulos; compuestos alquilantes; inhibidores de histona desacetilasa; compuestos que inducen procesos de diferenciación celular; inhibidores de la ciclooxigenasa; inhibidores de MMP; inhibidores de mTOR, tales como RAD001; antimetabolitos antineoplásicos; compuestos de platino; compuestos que seleccionan como diana/disminuyen una actividad de proteína o lípido cinasa y compuestos antiangiogénicos adicionales; compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de una proteína o lípido fosfatasa; agonistas de gonadorelina; antiandrógenos; inhibidores de la metionina aminopeptidasa; bisfosfonatos; modificadores de la respuesta biológica; anticuerpos antiproliferativos, tales como HCD122; inhibidores de la heparanasa; inhibidores de isoformas oncogénicas de Ras; inhibidores de la telomerasa; inhibidores del proteasoma; compuestos usados en el tratamiento de tumores malignos hematológicos, tales como fludarabina; compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de Flt-3, tales como PKC412; inhibidores de Hsp90 tales como 17-AAG (17-alilaminogeldanamicina, NSC330507), 17-DMAG (17-dimetilaminoetilamino-17-desmetoxi-geldanamicina, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 de Conformia Therapeutics y AUY922; temozolomida (TEMODAL™); inhibidores de proteína fusiforme cinesina, tales como SB715992 o SB743921 de Glaxo-SmithKline, o pentamidina/clorpromazina de CombinatoRx; inhibidores de PI3K, tales como BEZ235; inhibidores de RAF, tales como RAF265; inhibidores de MEK tales como ARRY142886 de Array BioPharma, AZD6244 de AstraZeneca, PD181461 de Pfizer, leucovorina, aglutinantes de EDG, compuestos antileucemia, inhibidores de la ribonucleótido reductasa, inhibidores de la S-adenosilmetionina descarboxilasa, reguladores de la apoptosis, anticuerpos antiproliferativos u otros compuestos quimioterápicos. Además, pueden usarse alternativa o adicionalmente en combinación con otros enfoques de tratamiento de tumores, incluyendo intervención quirúrgica, radiación ionizante, terapia fotodinámica, implantes, por ejemplo con corticosteroides, hormonas, o pueden usarse como radiosensibilizadores. Además, en el tratamiento antiinflamatorio y/o antiproliferativo, se incluye una combinación con fármacos antiinflamatorios. También es posible la combinación con sustancias farmacológicas antihistamínicas, fármacos broncodilatadores, AINE o antagonistas de receptores de quimiocina.

El término “inhibidor de la aromataasa” tal como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que inhibe la producción de estrógenos, es decir la conversión de los sustratos androstenediona y testosterona en estrona y estradiol, respectivamente. El término incluye, pero no se limita a, esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano y, en particular, compuestos no esteroideos, especialmente aminoglutetimida, rogletimida, piridoglutetimida, trilostano, testolactona, ketoconazol, vorozol, fadrozol, anastrozol y letrozol. Puede administrarse exemestano, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial AROMASIN. Puede administrarse formestano, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial LENTARON. Puede administrarse fadrozol, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial AFEMA. Puede administrarse anastrozol, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ARIMIDEX. Puede administrarse letrozol, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial FEMARA o FEMAR. Puede administrarse aminoglutetimida, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ORIMETEN. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterápico que es un inhibidor de la aromataasa es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos para receptores hormonales, por ejemplo tumores de mama.

El término “antiestrógeno” tal como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que antagoniza el efecto de estrógenos al nivel de receptores de estrógenos. El término incluye, pero no se limita a, tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno y clorhidrato de raloxifeno. Puede administrarse tamoxifeno, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial NOLVADEX. Puede administrarse clorhidrato de raloxifeno, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial EVISTA. Puede formularse fulvestrant tal como se da a conocer en el documento US 4.659.516 o puede administrarse, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial FASLODEX. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterápico que es un antiestrógeno es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos para receptores de estrógenos, por ejemplo tumores de mama.

El término “antiandrógeno” tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier sustancia que puede inhibir los efectos biológicos de hormonas androgénicas e incluye, pero no se limita a, bicalutamida (CASODEX™), que puede formularse, por ejemplo tal como se da a conocer en el documento US 4.636.505.

El término “agonista de gonadorelina” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, abarelix, goserelina y acetato de goserelina. La goserelina se da a conocer en el documento US 4.100.274 y puede administrarse, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ZOLADEX. Puede formularse abarelix, por ejemplo tal como se da a conocer en el documento US 5.843.901.

El término “inhibidor de la topoisomerasa I” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a topotecán, gimotecán, irinotecán, camptotecina y sus análogos, 9-nitrocamptotecina y el conjugado de camptotecina macromolecular PNU-166148 (compuesto A1 en el documento WO99/17804). Puede administrarse irinotecán, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial CAMPTOSAR. Puede administrarse topotecán, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial HYCAMTIN.

El término “inhibidor de la topoisomerasa II” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, las antraciclinas tales como doxorubicina (incluyendo formulación liposomal, por ejemplo CAELYX), daunorubicina, epirubicina, idarubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y las podofilotoxinas etopósido y tenipósido. Puede administrarse etopósido, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ETOPOPHOS. Puede administrarse tenipósido, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial VM 26-BRISTOL. Puede administrarse doxorubicina, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ADRIBLASTIN o ADRIAMYCIN. Puede administrarse epirubicina, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial FARMORUBICIN. Puede administrarse idarubicina, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ZAVEDOS. Puede administrarse mitoxantrona, por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial NOVANTRON.

El término “compuesto activo de microtúbulos” se refiere a compuestos estabilizantes de microtúbulos, desestabilizantes de microtúbulos e inhibidores de la polimerización de microtubulina incluyendo, pero sin limitarse a, taxanos, por ejemplo paclitaxel y docetaxel, alcaloides de la vinca, por ejemplo, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolidas, colchicina y epotilonas y derivados de las mismas, por ejemplo epotilonas B o D o derivados de las mismas. Puede administrarse paclitaxel, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo TAXOL™. Puede administrarse docetaxel, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial TAXOTERE. Puede administrarse sulfato de vinblastina, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial VINBLASTIN R.P. Puede administrarse sulfato de vincristina, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial FARMISTIN. Puede obtenerse discodermolida, por ejemplo, tal como se da a conocer en el documento US 5.010.099. También se incluyen derivados de epotilonas que se dan a conocer en los documentos WO 98/10121, US 6.194.181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 y WO 00/31247. Se prefieren especialmente epotilonas A y/o B.

El término “compuesto alquilante” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán o nitrosourea (BCNU o Gliadel). Puede administrarse ciclofosfamida, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial CYCLOSTIN. Puede administrarse ifosfamida, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial HOLOXAN.

El término “antimetabolito antineoplásico” incluye, pero no se limita a, 5-fluorouracilo o 5-FU, capecitabina, gemcitabina, compuestos desmetilizantes del ADN, tales como 5-azacitidina y decitabina, metotrexato y edatrexato, y antagonistas de ácido fólico tales como pemetrexed. Puede administrarse capecitabina, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial XELODA. Puede administrarse gemcitabina, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial GEMZAR.

El término “compuesto de platino” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, carboplatino, cisplatino, cis-platino y oxaliplatino. Puede administrarse carboplatino, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial CARBOPLAT. Puede administrarse oxaliplatino, por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ELOXATIN.

El término “compuestos que seleccionan como diana/disminuyen una actividad de proteína o lípido cinasa”; o una “actividad de proteína o lípido fosfatasa”; o “compuestos antiangiogénicos adicionales” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, inhibidores de proteína tirosina cinasa y/o serina y/o treonina cinasa o inhibidores de lípido cinasa, por ejemplo,

a) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), tales como compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de PDGFR, especialmente compuestos que inhiben el receptor de PDGF, por ejemplo un derivado de N-fenil-2-pirimidin-amina, por ejemplo imatinib, SU101, SU6668 y GFB-111;

b) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR);

c) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad del receptor I del factor de

crecimiento similar a la insulina I (IGF-IR), tales como compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de IGF-IR, especialmente compuestos que inhiben la actividad cinasa del receptor de IGF-I, tales como los compuestos dados a conocer en el documento WO 02/092599, o anticuerpos que seleccionan como diana el dominio extracelular del receptor de IGF-I o sus factores de crecimiento;

- 5 d) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de tirosina cinasas receptoras Trk, o inhibidores de efrina B4;
- e) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de tirosina cinasas receptoras Axl;
- f) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de tirosina cinasas receptoras Ret;
- 10 g) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de tirosina cinasa receptora Kit/SCFR, es decir tirosina cinasas receptoras c-Kit (parte de la familia de PDGFR), tales como compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de tirosina cinasa receptora c-Kit, especialmente compuestos que inhiben el receptor de c-Kit, por ejemplo imatinib;
- 15 h) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia de c-Abl, sus productos de fusión génica (por ejemplo BCR-Abl cinasa) y mutantes, tales como compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de los miembros de la familia de c-Abl y sus productos de fusión génica, por ejemplo un derivado de N-fenil-2-pirimidin-amina, por ejemplo imatinib o nilotinib (AMN107); PD180970; AG957; NSC 680410; PD173955 de ParkeDavis; o dasatinib (BMS-354825)
- 20 i) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia de proteína cinasa C (PKC) y Raf de serina/treonina cinasas, miembros de la familia de MEK, SRC, JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt y Ras/MAPK, y/o miembros de la familia de cinasas dependientes de ciclina (CDK), y son especialmente los derivados de estaurosporina dados a conocer en el documento US 5.093.330, por ejemplo midostaurina; los ejemplos de compuestos adicionales incluyen, por ejemplo, UCN-01, safingol, BAY 43-9006, briostatina 1, perifosina; ilmofosina; RO 318220 y RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196; compuestos de isoquinolina tales como los dados a conocer en el documento WO 00/09495; FTI; BEZ235 (un inhibidor de P13K) o AT7519 (inhibidor de CDK);
- 25 j) los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de inhibidores de proteína tirosina cinasas, tales como compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de inhibidores de proteína tirosina cinasas, incluyen mesilato de imatinib (GLEEVEC™) o tirfostina. Una tirfostina es preferiblemente un compuesto de bajo peso molecular (Mr < 1500), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, especialmente
- 30 un compuesto seleccionado de la clase de bencilidenmalonitrilo o la clase de compuestos de S-arilbencenomalonitrilo o de bisustrato de quinolina, más especialmente cualquier compuesto seleccionado del grupo que consiste en tirfostina A23/RG-50810; AG 99; tirfostina AG 213; tirfostina AG 1748; tirfostina AG 490; tirfostina B44; enantiómero (+) de tirfostina B44; tirfostina AG 555; AG 494; tirfostina AG 556, AG957 y adafostina (éster adamantílico del ácido 4-[[[(2,5-dihidroxifenil)metil]amino]-benzoico; NSC 680410, adafostina);
- 35 k) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de factores de crecimiento epidérmicos de tirosina cinasas receptoras (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homo o heterodímeros) y sus mutantes, tales como compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de receptores de factores de crecimiento epidérmicos, son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben miembros de la familia de tirosina cinasas receptoras de EGF, por ejemplo receptor de EGF, ErbB2, ErbB3 y
- 40 ErbB4 o se unen a EGF o ligandos relacionados con EGF, y son en particular los compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales dados a conocer de manera genérica y específica en el documento WO 97/02266, por ejemplo el compuesto del ej. 39, o en los documentos EP 0 564 409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0 566 226, EP 0 787 722, EP 0 837 063, US 5.747.498, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 y, especialmente, los documentos WO 96/30347 (por ejemplo el compuesto conocido como CP 358774), WO 96/33980
- 45 (por ejemplo el compuesto ZD 1839) y WO 95/03283 (por ejemplo el compuesto ZM105180); por ejemplo trastuzumab (Herceptin™), cetuximab (Erbix™), Iressa, Tarceva, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 o E7.6.3, y derivados de 7H-pirrol-2,3-d]pirimidina que se dan a conocer en el documento WO 03/013541; y
- l) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad del receptor c-Met, tales como
- 50 compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de c-Met, especialmente compuestos que inhiben la actividad cinasa del receptor c-Met, o anticuerpos que seleccionan como diana el dominio extracelular de c-Met o se unen a HGF;
- m) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de PI3K, tales como BEZ235 o BKM120;

n) compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de cinasas dependientes de ciclina, tales como PD 0332991.

Los compuestos antiangiogénicos adicionales incluyen compuestos que tienen otro mecanismo para su actividad, por ejemplo no relacionado con la inhibición de proteína o lípido cinasa, por ejemplo talidomida (THALOMID) y TNP-470.

Compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de una proteína o lípido fosfatasa son, por ejemplo, inhibidores de fosfatasa 1, fosfatasa 2A o CDC25, por ejemplo ácido okadaico o un derivado del mismo.

Compuestos que inducen procesos de diferenciación celular son, por ejemplo, ácido retinoico, α -, γ - o δ -tocoferol o α -, γ - o δ -tocotrienol.

10 El término inhibidor de la ciclooxigenasa tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, por ejemplo, inhibidores de Cox-2, ácido 2-arilaminofenilacético sustituido con 5-alquilo y derivados, tales como celecoxib (CELEBREX™), rofecoxib (VIOXX™), etoricoxib, valdecoxib o un ácido 5-alquil-2-arilaminofenilacético, por ejemplo ácido 5-metil-2-(2'-cloro-6'-fluoroanilino)fenilacético, lumiracoxib.

15 El término "bisfosfonatos" tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, ácido etidróico, clodróico, tiludróico, pamidróico, alendróico, ibandróico, risedróico y zoledróico. Puede administrarse "ácido etidróico", por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial DIDRONEL. Puede administrarse "ácido clodróico", por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial BONEFOS. Puede administrarse "ácido tiludróico", por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial SKELID. Puede administrarse "ácido pamidróico", por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial AREDIA. Puede administrarse "ácido alendróico", por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial FOSAMAX. Puede administrarse "ácido ibandróico", por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial BONDRANAT. Puede administrarse "ácido risedróico", por ejemplo, en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ACTONEL. Puede administrarse "ácido zoledróico", por ejemplo en la forma tal como se comercializa, por ejemplo con el nombre comercial ZOMETA.

El término "inhibidores de mTOR" se refiere a compuestos que inhiben la diana de mamífero de rapamicina (mTOR) y que tienen actividad antiproliferativa tales como sirolimús (Rapamune™), everolimús (Certican™ o Afinitor™), CCI-779 y ABT578.

30 El término "inhibidor de la heparanasa" tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la degradación del sulfato de heparina. El término incluye, pero no se limita a, PI-88.

El término "modificador de la respuesta biológica" tal como se usa en el presente documento se refiere a una linfocina o a interferones, por ejemplo interferón γ .

35 El término "inhibidor de isoformas oncogénicas de Ras", por ejemplo H-Ras, K-Ras o N-Ras, tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad oncogénica de Ras, por ejemplo, un "inhibidor de la farnesil transferasa", por ejemplo, L-744832, DK8G557 o R115777 (Zarnestra).

40 El término "inhibidor de la telomerasa" tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la telomerasa. Compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la telomerasa son especialmente compuestos que inhiben el receptor de telomerasa, por ejemplo, telomestatina.

45 El término "inhibidor de la metionina aminopeptidasa" tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la metionina aminopeptidasa. Compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la metionina aminopeptidasa son, por ejemplo, bengamida o un derivado de la misma.

El término "inhibidor del proteasoma" tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad del proteasoma. Los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad del proteasoma incluyen, por ejemplo, bortezomid (Velcade™) y MLN 341.

50 El término "inhibidor de la metaloproteinasa de matriz" o (inhibidor de "MMP") tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, inhibidores peptidomiméticos y no peptidomiméticos de colágeno, derivados de tetrazolilo, por ejemplo, inhibidor peptidomimético de hidroxamato batimastat y su análogo marimastat (BB-2516),

prinomastat (AG3340), metastat (NSC 683551) BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211, MMI270B o AAJ996 biodisponible por vía oral.

5 El término “compuestos usados en el tratamiento de tumores malignos hematológicos” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, inhibidores de tirosina cinasas similares a FMS, por ejemplo, compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de receptores de tirosina cinasas similares a FMS (Flt-3R); interferón, 1-b-D-arabinofuranosil-citosina (ara-c) y busulfano; e inhibidores de ALK, por ejemplo, compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la cinasa de linfoma anaplásico.

10 Compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de receptores de tirosina cinasas similares a FMS (Flt-3R) son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben miembros de la familia de cinasas receptoras Flt-3R, por ejemplo PKC412, TKI258, midostaurina, un derivado de estaurosporina, SU11248 y MLN518.

15 El término “inhibidores de HSP90” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de ATPasa intrínseca de HSP90; que degradan, seleccionan como diana, disminuyen o inhiben las proteínas clientes de HSP90 mediante la ruta de proteasoma de ubiquitina. Compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de ATPasa intrínseca de HSP90 son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben la actividad de ATPasa de HSP90, por ejemplo, 17-alilamino-17-desmetoxi-geldanamicina (17AAG), un derivado de geldanamicina; otros compuestos relacionados con geldanamicina; radicicol e inhibidores de HDAC. Un ejemplo de un inhibidor de HSP90 es AUY922.

20 El término “reguladores de la apoptosis” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia de Bcl2 (tales como ABT-263) y miembros de la familia de IAP (tales como AEG40826); o que inducen apoptosis mediante mecanismo(s) de acción conocido(s) o no conocido(s) (por ejemplo anticuerpo TRAIL, anticuerpo DR5).

25 El término “anticuerpos antiproliferativos” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, trastuzumab (Herceptin™), trastuzumab-DM1, erbitux, bevacizumab (Avastin™), rituximab (Rituxan™), PRO64553 (anti-CD40), anticuerpo 2C4 y anticuerpo HCD122 (anti-CD40). Por anticuerpos quiere decirse, por ejemplo, anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos formados a partir de al menos 2 anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos siempre que presenten la actividad biológica deseada.

30 Para el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML), puede usarse la forma sólida de la invención en el presente documento en combinación con terapias contra la leucemia convencionales, especialmente en combinación con terapias usadas para el tratamiento de AML. En particular, puede administrarse dicha forma sólida en combinación con, por ejemplo, inhibidores de la farnesil transferasa y/u otros fármacos útiles para el tratamiento de AML, tales como daunorubicina, adriamicina, Ara-C, VP-16, tenipósido, mitoxantrona, idarubicina, carboplatino y PKC412.

35 El término “compuestos antileucémicos” incluye, por ejemplo, Ara-C, un análogo de pirimidina, que es el derivado de 2'-alfa-hidroxi-ribosa (arabinósido) de desoxicitidina. También se incluye el análogo de purina de hipoxantina, 6-mercaptopurina (6-MP) y fosfato de fludarabina.

40 Compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de inhibidores de histona desacetilasas (HDAC) tales como butirato de sodio y ácido suberoilánilida-hidroxiámico (SAHA) inhiben la actividad de las enzimas conocidas como histona desacetilasas. Los inhibidores de HDAC específicos incluyen MS275, SAHA, FK228 (anteriormente FR901228), tricoestatina A, LDH589 dado a conocer en el documento WO 02/22577 y compuestos dados a conocer en el documento US 6.552.065, en particular, *N*-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1*H*-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2*E*-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y *N*-hidroxi-3-[4-[[2-hidroxi-2-(1*H*-indol-3-il)etil]-amino]metil]fenil]-2*E*-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, especialmente la sal de lactato.

45 Antagonistas de receptor de somatostatina tal como se usan en el presente documento, se refieren a compuestos que seleccionan como diana, tratan o inhiben el receptor de somatostatina, tales como octreotida y SOM230 (pasireotida).

50 Enfoques de daño de células tumorales se refieren a enfoques tales como radiación ionizante. El término “radiación ionizante”, al que se hizo referencia anteriormente y a continuación en el presente documento, significa radiación ionizante que se produce o bien como rayos electromagnéticos (tales como rayos X y rayos gamma) o bien como partículas (tales como partículas alfa y beta). Se proporciona radiación ionizante en, pero sin limitarse a, radioterapia y se conoce en la técnica. Véase Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles and Practice of Oncology, Devita *et al.*, eds., 4ª edición, vol. 1, págs. 248-275 (1993).

El término “aglutinantes de EDG” tal como se usa en el presente documento se refiere a una clase de inmunosupresores que modulan la recirculación de linfocitos, tales como FTY720.

El término “inhibidores de la ribonucleótido reductasa” se refiere a análogos de nucleósidos de pirimidina o purina incluyendo, pero sin limitarse a, fludarabina y/o arabinósido de citosina (ara-C), 6-tioguanina, 5-fluorouracilo, cladribina, 6-mercaptopurina (especialmente en combinación con ara-C frente a ALL) y/o pentostatina. Inhibidores de la ribonucleótido reductasa son especialmente derivados de hidroxurea o 2-hidroxi-1H-isoindol-1,3-diona, tales como PL-1, PL-2, PL-3, PL-4, PL-5, PL-6, PL-7 o PL-8 mencionados en Nandy *et al.*, *Acta Oncologica*, vol. 33, n.º 8, págs. 953-961 (1994).

El término “inhibidores de la S-adenosilmetionina descarboxilasa” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, los compuestos dados a conocer en el documento US 5.461.076.

También se incluyen en particular los compuestos, las proteínas o los anticuerpos monoclonales de VEGF dados a conocer en el documento WO 98/35958, por ejemplo 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)ftalazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, por ejemplo el succinato, o en los documentos WO 00/09495, WO 00/27820, WO 00/59509, WO 98/11223, WO 00/27819 y EP 0 769 947; los descritos por Prewett *et al.*, *Cancer Res*, vol. 59, págs. 5209-5218 (1999); Yuan *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 93, págs. 14765-14770 (1996); Zhu *et al.*, *Cancer Res*, vol. 58, págs. 3209-3214 (1998); y Mordenti *et al.*, *Toxicol Pathol*, vol. 27, n.º 1, págs. 14-21 (1999); en los documentos WO 00/37502 y WO 94/10202; angiostatina, descrita por O'Reilly *et al.*, *Cell*, vol. 79, págs. 315-328 (1994); endostatina, descrita por O'Reilly *et al.*, *Cell*, vol. 88, págs. 277-285 (1997); amidas del ácido antranílico; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; bevacizumab; o anticuerpos anti-VEGF o anticuerpos anti-receptores de VEGF, por ejemplo rhuMAb y RHUFab, aptámero de VEGF por ejemplo Macugen; inhibidores de FLT-4, inhibidores de FLT-3, anticuerpo IgG1 contra VEGFR-2, angiozima (RPI 4610) y bevacizumab (Avastin™).

Terapia fotodinámica tal como se usa en el presente documento se refiere a terapia que usa determinados productos químicos conocidos como compuestos fotosensibilizantes para tratar o prevenir cánceres. Los ejemplos de terapia fotodinámica incluyen tratamiento con compuestos, tales como, por ejemplo, VISUDYNE™ y porfímero sódico.

Esteroides angiostáticos tal como se usan en el presente documento se refieren a compuestos que bloquean o inhiben la angiogénesis, tales como, por ejemplo, anecortave, triamcinolona, hidrocortisona, 11- α -epihidrocortisol, cortexolona, 17 α -hidroxiprogesterona, corticosterona, desoxicorticosterona, testosterona, estrona y dexametasona.

Implantes que contienen corticosteroides se refieren a compuestos, tales como, por ejemplo, fluocinolona, dexametasona.

“Otros compuestos quimioterápicos” incluyen, pero no se limitan a, alcaloides vegetales, compuestos hormonales y antagonistas; modificadores de la respuesta biológica, preferiblemente linfocinas o interferones; oligonucleótidos antisentido o derivados de oligonucleótidos; ARNhc o ARNip; o compuestos diversos o compuestos con mecanismo de acción distinto o no conocido.

La estructura de los compuestos activos identificados mediante n.ºs de código, nombres genéricos o comerciales pueden tomarse de la edición actual del compendio convencional “The Merck Index” o de bases de datos, por ejemplo Patents International (por ejemplo IMS World Publications).

Ninguna de las citas de referencias hechas dentro de la presente divulgación debe entenderse como una admisión de que las referencias citadas sean técnica anterior que afectaría negativamente a la patentabilidad de la presente invención.

Los compuestos mencionados anteriormente, que pueden usarse en combinación con la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento, pueden prepararse y administrarse tal como se describe en la técnica.

Administración

La invención también proporciona una preparación farmacéutica, que comprende la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxopiperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

Dicha forma cristalina tal como se describe en el presente documento puede administrarse sola o en combinación con uno o más de otros compuestos terapéuticos, posible terapia de combinación que adopta la forma de combinaciones fijas o la administración de un compuesto de la invención y uno o más de otros compuestos

terapéuticos (incluyendo profilácticos) de manera escalonada o administrados independientemente entre sí, o la administración combinada de combinaciones fijas y uno o más de otros compuestos terapéuticos. Dicha forma sólida puede administrarse además o de manera adicional especialmente para terapia contra tumores en combinación con quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, fototerapia, intervención quirúrgica o una combinación de éstas. La terapia a largo plazo es igualmente posible al igual que una terapia adyuvante en el contexto de otras estrategias de tratamiento, tal como se describió anteriormente. Otros posibles tratamientos son terapia para mantener el estado del paciente tras la regresión tumoral, o incluso terapia quimiopreventiva, por ejemplo en pacientes en riesgo.

La dosificación del principio activo depende de una variedad de factores incluyendo el tipo, la especie, la edad, el peso, el sexo y el estado médico del paciente; la gravedad del estado que va a tratarse; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto particular empleado. Un doctor, un médico o un veterinario experto habitual puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz del fármaco requerida para prevenir, contrarrestar o detener la progresión del estado. La precisión óptima para conseguir una concentración de fármaco dentro del intervalo que produce eficacia requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad del fármaco en sitios diana. Esto implica considerar la distribución, el equilibrio y la eliminación de un fármaco.

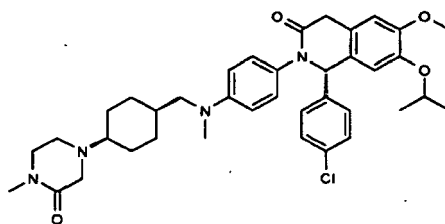
La dosis de la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento que va a administrarse a animales de sangre caliente, por ejemplo seres humanos de aproximadamente 70 kg de peso corporal, es preferiblemente de desde aproximadamente 3 mg hasta aproximadamente 15 g, más preferiblemente de desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 3 g, aún más preferiblemente de desde aproximadamente 50 mg hasta 1,5 g por persona al día, no dividida en 1 dosis o dividida preferiblemente en de 2 a 4, por ejemplo en 2 ó 3, dosis individuales que pueden, por ejemplo, ser del mismo tamaño. Habitualmente, los niños reciben la mitad de la dosis para adultos.

Dicha forma sólida puede administrarse mediante cualquier vía convencional, en particular por vía parenteral, por ejemplo en forma de disoluciones o suspensiones inyectables, por vía entérica, por ejemplo por vía oral, por ejemplo en forma de comprimidos o cápsulas, por vía tópica, por ejemplo en forma de lociones, geles, pomadas o cremas, o en forma nasal o de supositorio. La administración tópica es, por ejemplo, a la piel. Una forma adicional de administración tópica es al ojo. Pueden fabricarse composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención en asociación con al menos un portador o diluyente farmacéutico aceptable de manera convencional mediante mezcla con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz, especialmente una cantidad eficaz en el tratamiento de uno de los trastornos mencionados anteriormente, de la forma cristalina de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona tal como se describe en el presente documento, junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la administración tópica, entérica, por ejemplo oral o rectal, o parenteral y que pueden ser inorgánicos u orgánicos, sólidos o líquidos. Para la administración oral pueden usarse especialmente comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con diluyentes, por ejemplo lactosa, dextrosa, manitol y/o glicerol y/o lubricantes y/o polietilenglicol. Los comprimidos también pueden comprender aglutinantes, por ejemplo silicato de magnesio y aluminio, almidones, tales como almidón de maíz, de trigo o de arroz, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona, y, si se desea, disgregantes, por ejemplo almidones, agar, ácido algínico o una sal del mismo, tal como alginato de sodio, y/o mezclas efervescentes, o adsorbentes, colorantes, aromatizantes y edulcorantes. También es posible usar los compuestos farmacológicamente activos de la presente invención en forma de composiciones que pueden administrarse por vía parenteral o en forma de disoluciones para infusión. Las composiciones farmacéuticas pueden estar esterilizadas y/o pueden comprender excipientes, por ejemplo conservantes, estabilizadores, compuestos humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Se preparan las presentes composiciones farmacéuticas, que pueden comprender, si se desea, otras sustancias farmacológicamente activas, de una manera conocida en sí misma, por ejemplo por medio de procedimientos de mezclado, granulación, fabricación, disolución o liofilización convencionales, y comprenden aproximadamente desde el 1% hasta el 99%, especialmente desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 20%, del/de los principio(s) activo(s).

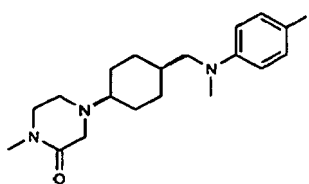
Vía de síntesis:

Ejemplo 106: (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona.



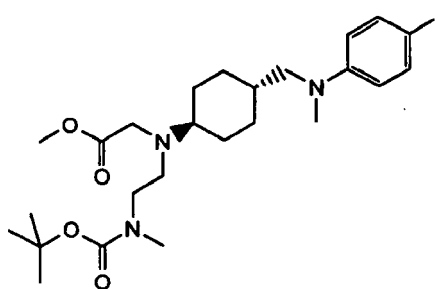
Se cargó un matraz de reacción sellable con fosfato de potasio (4,44 g, 20,29 mmol), se evacuó y se calentó durante 15 min a 170°C. Se rellenó el matraz de reacción con argón a TA y se añadieron posteriormente el producto intermedio 75.6 (3,64 g, 10,15 mmol), el producto intermedio 106.1 (5,48 g, 12,18 mmol), dioxano (75 ml) y (+/-)-trans-1,2-diaminociclohexano (0,37 ml, 3,04 mmol). Se evacuó cuidadosamente el matraz de reacción a vacío (2 veces) y se rellenó con argón (2 veces) y se añadió yoduro de cobre (I) (0,586 g, 3,04 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 22,5 h a 95°C. Se extrajo la mezcla entre EtOAc (3 veces) y agua (3 veces). Se lavaron las fases orgánicas con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna de fase normal, eluyendo con de EtOAc al 100% a MeOH al 20%/EtOAc seguido por HPLC prep. de fase inversa proporcionó la sal de TFA que se extrajo entre EtOAc (2 veces) y NaHCO₃ acuoso 1 M (1 vez). Se lavaron las fases orgánicas con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad lo que dio el compuesto del título como un sólido blanco (1,59 g, 2,41 mmol, 23,8%): HPLC: $E_{t_{Ret}} = 4,57$ min; CL-EM: m/z 659,2 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) 0,88 - 1,01 (m, 2H), 1,05 - 1,14 (m, 2H), 1,16 (d, J = 5,86 Hz, 3H), 1,21 (d, J = 6,25 Hz, 3H), 1,48 - 1,62 (m, 1H), 1,73 (dd, 4H), 2,14 - 2,27 (m, 1H), 2,65 (t, J = 5,47 Hz, 2H), 2,76 (s, 3H), 2,85 (s, 3H), 3,02 (s, 2H), 3,06 - 3,20 (m, 4H), 3,54 (d, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,87 (d, J = 19,53 Hz, 1H), 4,39 - 4,47 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 6,54 (d, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,87 (d, 2H), 7,02 (s, 1H), 7,33 (s, 4H).

Producto intermedio 106.1: 4-(4-[[[(4-yodo-fenil)-metilamino]-metil]-trans-ciclohexil]-1-metil-piperazin-2-ona.



A una disolución del producto intermedio 106.2 (13,3 g, 20,9 mmol) en dioxano (52,3 ml) se le añadió disolución de HCl en dioxano 4 M (105 ml, 418 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 0,5 h. Se concentró la disolución y se disolvió el residuo en MeOH (157 ml), se añadió gota a gota trietilamina (27,3 ml, 196 mmol) a 0°C y se agitó la mezcla durante 1 h a TA. Se concentró la mezcla de reacción y se extrajo el residuo entre EtOAc (2 veces) y NaHCO₃ acuoso 1 M (1 vez). Se lavaron las fases orgánicas con salmuera y se secaron sobre Mg₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. Se suspendió el material curado en Et₂O (50 ml), y tras agitar y sonicación durante 30 min, se filtró en papel, se lavó con Et₂O (50 ml) y se llevó a sequedad a alto vacío dando un polvo blanco (8,11 g, 18,0 mmol, 86%). HPLC: $E_{t_{Ret}} = 4,035$ min; CL-EM: m/z 442,1 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) 0,84 - 1,02 (m, 2H), 1,02 - 1,12 (m, 2H), 1,52 - 1,60 (m, 1H), 1,60 - 1,84 (m, 4H), 2,16 - 2,27 (m, 1H), 2,65 (t, J = 5,47 Hz, 2H), 2,76 (s, 3H), 2,85 (s, 3H), 3,02 (s, 2H) 3,10 (d, J = 7,03 Hz, 2H), 3,14 - 3,20 (m, 2H), 6,47 (d, 2H), 7,37 (d, 2H).

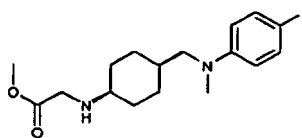
Producto intermedio 106.2: éster metílico del ácido [[2-(terc-butoxicarbonil-metilamino)-etil]-4-[[[(4-yodo-fenil)-metil-amino]-metil]-trans-ciclohexil]-amino]-acético.



A una suspensión del producto intermedio 105.3 (9,45 g, 21,6 mmol), éster terc-butílico del ácido metil-(2-oxo-etil)-carbámico (4,11 g, 23,7 mmol) y AcOH (3,7 ml, 64,7 mmol) en DCM (108 ml) se le añadió en porciones NaBH(OAc)₃ (13,7 g, 64,7 mmol) a 0°C. Tras agitar durante 1 h a TA, a la mezcla de reacción se le añadió cuidadosamente NaHCO₃ acuoso saturado hasta pH 8 seguido por extracción con DCM (2 veces). Se secaron las fases orgánicas sobre Mg₂SO₄, se filtraron y se evaporaron, lo que dio el producto intermedio del título en bruto (13,3 g, 20,9 mmol,

el 97% con una pureza del 90%). Se usó este material para la siguiente etapa sin purificaciones adicionales. HPLC: $E_{tRet} = 5,32$ min; CL-EM: m/z 574,3 $[M+H]^+$.

Producto intermedio 105.3: éster metílico del ácido (4-[(4-yodo-fenil)-metil-amino]-metil)-transciclohexilamino)-acético.

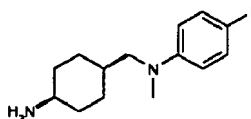


5

A una disolución del producto intermedio 105.4 (16,9 g, 49,2 mmol) en DMF (300 ml) se le añadió sucesivamente carbonato de potasio (14,3 g, 103 mmol) y 2-bromoacetato de metilo (4,77 ml, 51,7 mmol) a -10°C . Se agitó la suspensión durante 4,5 h a de -10°C a 10°C . Se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc, se lavó la fase orgánica con agua y salmuera, y se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó hasta sequedad. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna de fase normal, eluyendo con de DCM al 100% a EtOAc al 100%, dio el compuesto del título como un aceite marrón (9,45 g, 21,6 mmol, 43,8%). HPLC: $E_{tRet} = 4,22$ min; CL-EM: m/z 417,0 $[M+H]^+$.

10

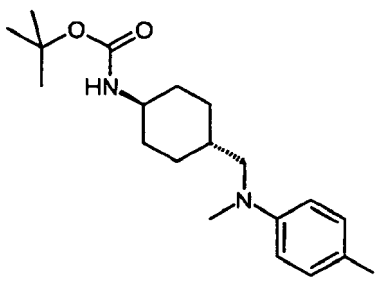
Producto intermedio 105.4: (trans-4-amino-ciclohexilmetil)-(4-yodo-fenil)-metilamina.



A una disolución del producto intermedio 77.1 (21,9 g, 49,5 mmol) en DCM (300 ml) se le añadió gota a gota TFA (114 ml, 1484 mmol) a 0°C . Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a TA, entonces se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con EtOAc, y se ajustó a pH 9 a 0°C mediante la adición de NaOH 2 M. Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con EtOAc. Se lavó la fase orgánica con agua y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se filtró. La concentración a vacío dio el compuesto del título como un sólido gris (16,9 g, 47,8 mmol, 97%). HPLC: $E_{tRet} = 3,92$ min; CL-EM: m/z 345,1 $[M+H]^+$.

20

Producto intermedio 77.1: éster terc-butílico del ácido (4-[(4-yodo-fenil)-metil-amino]-metil)-trans-ciclohexil)-carbámico.

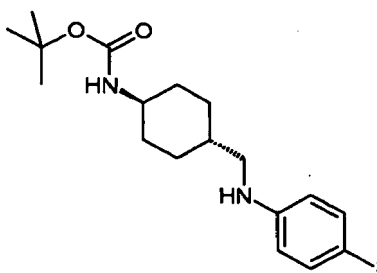


A una disolución del producto intermedio 75.7 (748 mg, 1,74 mmol) en DCM (15 ml) se le añadieron sucesivamente AcOH (0,199 ml, 3,48 mmol), formaldehído (al 37% en agua, 0,259 ml, 3,48 mmol) y $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (737 mg, 3,48 mmol) a TA. Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 2 h entonces se diluyó con DCM y se lavó con una disolución acuosa de Na_2CO_3 2 M (2 veces). Se secó la fase orgánica sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO_2 ; elución en gradiente, heptano/AcOEt 98:2 \rightarrow 7:3) produciendo el compuesto del título (584 mg, 1,31 mmol, 76%) como un sólido incoloro. CCF: $R_F = 0,36$ (heptano/AcOEt 3:1); HPLC: $A_{tRet} = 2,76$ min; CL-EM: m/z 445,4 $[M+H]^+$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 0,90 - 1,13 (m, 4H), 1,36 (s, 9H), 1,48 - 1,66 (m, 3H), 1,69 - 1,81 (m, 2H), 2,87 (s, 3H), 3,08 - 3,21 (m, 1H), 3,12 (d, $J = 7,1$, 2H), 6,45 - 6,54 (m, 2H), 6,68 (d, $J = 8,1$, 1H), 7,34 - 7,43 (m, 2H).

25

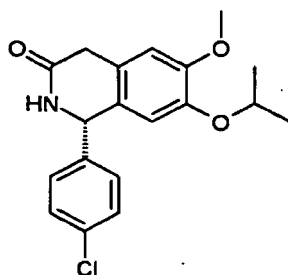
30

Producto intermedio 75.7: éster terc-butílico del ácido {4-[(4-yodo-fenilamino)-metil]-trans-ciclohexil)-carbámico.



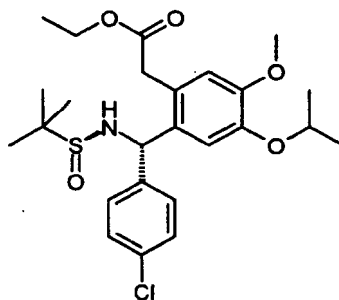
5 A una disolución de 4-yodo-fenilamina (1 g, 4,57 mmol) en DCM (25 ml) se le añadieron sucesivamente AcOH (0,523 ml, 9,13 mmol), éster terc-butílico del ácido (4-formil-ciclohexil)-carbámico (1,14 g, 5,02 mmol) y NaBH(OAc)₃ (1,94 g, 9,13 mmol) a TA. Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 1 h entonces se diluyó con Et₂O y se lavó sucesivamente con una disolución acuosa de HCl 2 M y una disolución acuosa de Na₂CO₃ 2 M. Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO₂; elución en gradiente, heptano/AcOEt 95:5 → 1:1) produciendo el compuesto del título (1,56 g, 3,62 mmol, 79%) como un sólido incoloro. CCF: R_F = 0,72 (heptano/AcOEt 1:1); HPLC: $t_{Ret} = 2,64$ min; CL-EM: m/z 431,4 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 0,87 - 1,03 (m, 2H), 1,03 - 1,17 (m, 2H), 1,32 - 1,48 (m, 1H), 1,37 (s, 9H), 1,70 - 1,86 (m, 4H), 2,76 - 2,86 (m, 2H), 3,08 - 3,25 (m, 1H), 5,77 - 5,89 (m, 1H), 6,34 - 6,46 (m, 2H), 6,59 - 6,71 (m, 1H), 7,24 - 7,35 (m, 2H).

Producto intermedio 75.6: (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona.



15 Se agitó una disolución del producto intermedio 75.5 (3,96 g, 7,98 mmol) en HCl 1,25 M en MeOH (128 ml) a TA durante 30 min. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y se disolvió el residuo resultante en MeOH (40 ml). Se añadió Et₃N (5,56 ml, 39,9 mmol) a TA, entonces se agitó la mezcla durante 15 min y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO₂; elución en gradiente, [heptano/DCM 1:1]/TBME 9:1 → TBME al 100%) produciendo el compuesto del título (2,51 g, 7,24 mmol, 91%, e.e. del 92%) como un sólido blanquecino. CCF: R_F = 0,13 (heptano/DCM/TBME 1:1:2); HPLC: $t_{Ret} = 2,03$ min; CL-EM: m/z 346,4 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 1,16 (d, J = 6,1, 3H), 1,21 (d, J = 6,1, 3H), 3,36 (d, J = 19,8, 1H), 3,51 (d, J = 19,8, 1H), 3,72 (s, 3H), 4,40 (spt, J = 6,1, 1H), 5,55 (d, J = 3,4, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 7,26 - 7,33 (m, 2H), 7,35 - 7,42 (m, 2H), 8,49 (d, J = 3,9, 1H).

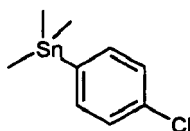
Producto intermedio 75.5: éster etílico del ácido {2-((S)-(4-cloro-fenil)-((S)-2-metil-propano-2-sulfinilamino)-metil]-4-isopropoxi-5-metoxi-fenil}-acético.



25 Se cargó un matraz de 250 ml con el producto intermedio 75.3 (10,97 g, 28,6 mmol) y THF anhidro (50 ml) entonces se evacuó a vacío y relleno con argón (3 veces). Se añadieron sucesivamente el producto intermedio 75.4 (15,75 g, 57,2 mmol) y tetrafluoro-borato de bis(acetonitrilo)(1,5-ciclooctadieno)rodio (I) (1,09 g, 2,86 mmol) a TA y se calentó la suspensión naranja resultante a 60°C y se agitó durante 2 h. Se añadió tetrafluoroborato de bis(acetonitrilo)(1,5-ciclooctadieno)rodio (I) adicional (1,09 g, 2,86 mmol) a 60°C y se agitó adicionalmente la mezcla durante 4 h. Se

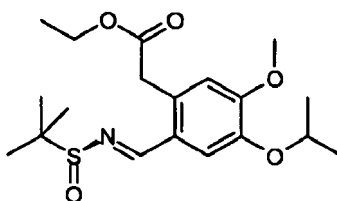
- 5 enfrió la mezcla de reacción hasta TA, se diluyó con AcOEt y se lavó con agua. Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO₂; elución en gradiente, heptano/AcOEt 95:5 → 3:7) produciendo el compuesto del título (3,96 g, 7,98 mmol, 28%) como una resina parduzca. CCF: R_F = 0,29 (heptano/AcOEt 1:1); HPLC: $t_{Ret} = 2,70$ min; CL-EM: m/z 496,3 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 1,10 - 1,19 (m, 15H), 1,23 (d, J = 5,9, 3H), 3,57 (d, J = 16,4, 1H), 3,68 (d, J = 16,1, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,93 - 4,05 (m, 2H), 4,37 - 4,45 (m, 1H), 5,62 (d, J = 6,1, 1H), 5,82 (d, J = 6,1, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 7,25 - 7,30 (m, 2H), 7,36 - 7,41 (m, 2H).

Producto intermedio 75.4: (4-cloro-fenil)-trimetil-estannano.



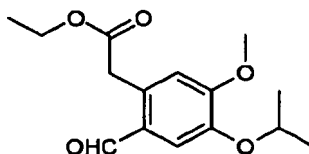
- 10 A una disolución 1 M de cloruro de trimetilestano en THF (92 ml, 92 mmol) se le añadió lentamente una disolución 1 M de bromuro de 4-clorofenilmagnesio en Et₂O (92 ml, 92 mmol) a lo largo de un periodo de 40 min a -10°C de modo que la temperatura nunca superó 0°C. Tras la adición, se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la suspensión resultante a TA durante 1 h. Se añadió una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (14 ml) seguido por
- 15 se extrajo con Et₂O (3 veces). Se secaron las fracciones orgánicas combinadas sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO₂; elución isocrática con ciclohexano) produciendo el compuesto del título (24,47 g, 89 mmol, 97%) como un aceite incoloro. CCF: R_F = 0,76 (ciclohexano/AcOEt 95:5); HPLC: $t_{Ret} = 3,25$ min; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 0,31 (s, 9H), 7,32 - 7,36 (m, 2H), 7,41 - 7,45 (m, 2H).

- 20 Producto intermedio 75.3: éster etílico del ácido (4-isopropoxi-5-metoxi-2-[(E)-(S)-2-metil-propano-2-sulfinilimino]-metil)-fenil)-acético.



- 25 A una disolución del producto intermedio 75.2 (9,14 g, 32,6 mmol) y (S)-(-)-2-metil-2-propanosulfonamida (5,93 g, 48,9 mmol) en DCM (200 ml) se le añadió Ti(OEt)₄ (27,3 ml, 130 mmol) a 0°C (baño de hielo). Se calentó a reflujo la mezcla de reacción, se agitó durante 5 h, entonces se enfrió hasta TA y se extinguió mediante la adición cuidadosa de agua (14,7 ml). Se filtró el precipitado blanco resultante a través de un lecho de Celite, se lavó la torta de filtro con DCM y entonces se evaporó el filtrado hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante
- 30 cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO₂; elución en gradiente, heptano/AcOEt 95:5 → 1:1) produciendo el compuesto del título (11,07 g, 28,9 mmol, 89%) como un aceite amarillo. CCF: R_F = 0,40 (heptano/AcOEt 1:1); HPLC: $t_{Ret} = 2,35$ min; CL-EM: m/z 384,5 [M+H]⁺; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): 1,17 (t, J = 7,1, 3H), 1,15 (s, 9H), 1,27 (d, J = 6,1, 6H), 3,83 (s, 3H), 3,94 - 4,07 (m, 4H), 4,58 - 4,66 (m, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,49 (s, 1H).

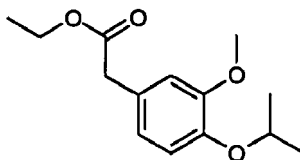
Producto intermedio 75.2: éster etílico del ácido (2-formil-4-isopropoxi-5-metoxi-fenil)-acético.



- 35 A una disolución del producto intermedio 75.1 (11,94 g, 47,3 mmol) y dicloro-metoxi-metano (8,56 ml, 95 mmol) en DCM (350 ml) se le añadió lentamente SnCl₄ (disolución 1 M en DCM, 95 ml, 95 mmol) a lo largo de un periodo de 45 min a 0°C (baño de hielo). Tras la adición, se agitó adicionalmente la mezcla de reacción a 0°C durante 45 min entonces se vertió en agua y se extrajo con DCM (2 veces). Se lavó la fase orgánica con una disolución acuosa de Na₂CO₃ 2 M, entonces se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el material en bruto
- 40 resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO₂; elución en gradiente, heptano/AcOEt 95:5 → 1:1) produciendo el compuesto del título (11,13 g, 39,7 mmol, 84%) como un aceite amarillo

que cristalizó dejándolo estar dando un sólido blanquecino. CCF: $R_F = 0,50$ (heptano/AcOEt 1:1); HPLC: $t_{Ret} = 1,93$ min; CL-EM: m/z 281,4 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6): 1,18 (t, $J = 7,1$, 3H), 1,28 (d, $J = 6,1$, 6H), 3,84 (s, 3H), 4,01 (s, 2H), 4,07 (q, $J = 7,1$, 2H), 4,56 - 4,68 (m, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 9,93 (s, 1H).

Producto intermedio 75.1: éster etílico del ácido (4-isopropoxi-3-metoxi-fenil)-acético.



5

Se calentó una mezcla de éster etílico del ácido etil(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-acético (11,22 g, 53,4 mmol) y K_2CO_3 (22,13 g, 160 mmol) en DMF (100 ml) a 60°C. Se añadió 2-yodopropano (9,06 ml, 91 mmol) y se agitó vigorosamente la mezcla a 60°C durante 5 h. Se enfrió la mezcla de reacción hasta TA, se diluyó con AcOEt y se lavó con agua. Se separó la fase acuosa y se extrajo adicionalmente con AcOEt. Se secaron las fracciones orgánicas combinadas sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. Se purificó el material en bruto resultante mediante cromatografía en columna Combi-Flash Companion™ (Isco Inc.) (SiO_2 ; elución en gradiente, heptano/AcOEt 98:2 \rightarrow 3:1) produciendo el compuesto del título (11,94 g, 47,3 mmol, 89%) como un aceite incoloro. CCF: $R_F = 0,44$ (heptano/AcOEt 7:3); HPLC: $t_{Ret} = 2,14$ min; CL-EM: m/z 253,4 $[M+H]^+$; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 1,28 (t, $J = 7,1$, 3H), 1,38 (d, $J = 6,1$, 6H), 3,56 (s, 2H), 3,87 (s, 3H), 4,17 (q, $J = 7,1$, 2H), 4,50 (h, $J = 6,1$, 1H), 6,77 - 6,89 (m, 3H).

10

15

Procedimiento para preparar la forma cristalina I de la sal de sulfato del compuesto del ejemplo 106:

A: Método de suspensión espesa

Disolvente: alcohol isopropílico

- (1) Se disolvieron en primer lugar aproximadamente 5 mg de sustancia farmacológica en 100 μ l de IPA.
- (2) Se añadieron muy lentamente 364 μ l de ácido sulfúrico 0,025 N a la disolución, permitiendo precipitación lenta durante la agitación a 60°C.
- (3) Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante la noche.
- (4) Se retiró el sobrenadante mediante centrifugación.
- (5) Se secó el producto sólido en horno a vacío a 40°C durante la noche y se analizó mediante XRPD (difracción de rayos X de polvo). Se amplió la escala del procedimiento, y se caracterizaron adicionalmente muestras de ampliación a escala usando XRPD. Se obtuvo la forma cristalina I.

20

25

Se recogieron los datos de difracción de rayos X a temperatura ambiente usando un difractómetro de rayos X de polvo D8 Discover de Bruker AXS GMBH (radiación $K\alpha$ de Cu) equipado con un cambiador de muestras automático, un goniómetro theta-theta, hendiduras de divergencia de haz automáticas, un monocromador secundario y un contador de centelleo. Se prepararon muestras para análisis prensando cuidadosamente el compuesto en un filtro de vidrio. Se hizo rotar la muestra mientras se estaba irradiando con rayos X $K\alpha_1$ de cobre (longitud de onda = 1,54184 Ångstroms) haciéndose funcionar el tubo de rayos X a 40 kV/40 mA. Se realizaron los análisis ejecutando el goniómetro en modo continuo configurado para un recuento de 120 segundos por escalones de 0,02 grados a lo largo de un intervalo dos theta de 5 grados a 45 grados. Se alinearon los picos obtenidos con respecto al patrón de referencia de silicio.

35

Nombre del instrumento: difractómetro de rayos X

Modelo: D8 Discover

Fabricante: Bruker AXS GMBH

Longitud de onda: 1,54184 Å (Cu)

40 Configuración del generador: 40,00 kV, 40,00 mA

Monocromador

Detector: HI-STAR

Tamaño de marco: 1024 píxeles, 107,79 mm

Método de experimento:

5 Inicio 2-theta: 5,0 grados

Final 2-theta: 45,0 grados

Superposición de píxeles: 20%

Tamaño de escalón de integración: 0,02 grados

Tiempo de barrido: 120 segundos

10 Temperatura: temperatura ambiente

Tabla A: datos de XRPD de la forma cristalina I de sal de sulfato del ejemplo 106 (A: método de suspensión espesa)

Ángulo	Valor d	% de intensidad
2-theta ^o	Angstroms	%
17,1	5,20	126
18,7	4,74	103
20,4	4,35	89,2
21,4	4,14	93,5
22,9	3,89	183
23,5	3,78	111
24,1	3,68	132
28,3	3,15	88,9

B: Método de antidisolvente

Disolventes: alcohol isopropílico

- 15 (1) Se disolvieron en primer lugar aproximadamente 5 mg de sustancia farmacológica en 91 µl de ácido sulfúrico 0,025 N-IPA.
- (2) Se añadió antidisolvente metil-terc-butil éter para precipitar el compuesto durante la agitación a 55-60°C.
- (3) Se agitó la suspensión a 55-60°C durante la noche.
- (4) Se retiró el sobrenadante mediante centrifugación.
- 20 (5) Se secó el producto sólido en el horno a vacío a 40°C durante la noche y se analizó mediante XRPD. Se amplió la escala del procedimiento. Se caracterizaron adicionalmente muestras de ampliación a escala usando XRPD. Se obtuvo la forma cristalina I.

Se formó bisulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona monohidratado usando este método.

Tabla B: datos de XRPD de la forma cristalina I de sal de sulfato del ejemplo 106 (B: método de antidisolvente)

Ángulo	Valor d	% de intensidad
2-theta ^o	Angstroms	%
13,5	6,56	89,1
16,6	5,35	117
16,9	5,24	226
18,8	4,73	114
19,8	4,48	167
21,3	4,17	117
22,7	3,92	270
23,9	3,72	172
24,9	3,57	180

5 error de +/- 0,2°.

El experto en cristalografía apreciará que las intensidades relativas de los diversos picos notificados en las tablas y figuras pueden variar debido a varios factores tales como los efectos de la orientación de los cristales en el haz de rayos X y la pureza del material que se está analizando. Las posiciones de los picos también pueden desplazarse para variaciones en peso de muestra pero seguirán siendo sustancialmente iguales.

10 Se cree que la sal de sulfato formada es la sal de bisulfato.

La invención también se refiere a la fabricación de la forma cristalina I de sal de sulfato del ejemplo 106, tal como se describe en el presente documento.

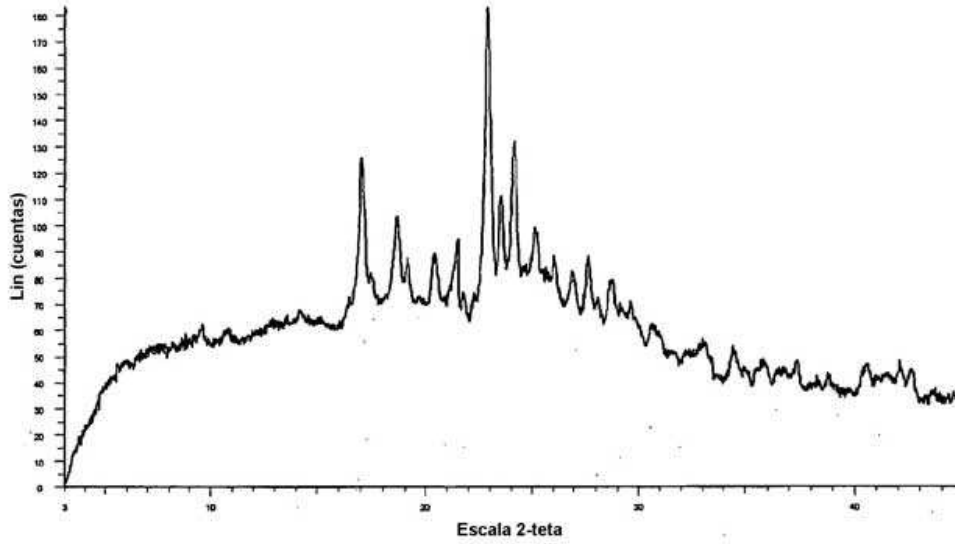
La figura 1 da a conocer los datos de difracción de rayos X de polvo para la forma cristalina I de sal de sulfato del ejemplo 106, obtenidos usando el método de suspensión espesa.

15 La figura 2 da a conocer los datos de difracción de rayos X de polvo para la forma cristalina I de sal de sulfato del ejemplo 106, obtenidos usando el método de antidisolvente.

REIVINDICACIONES

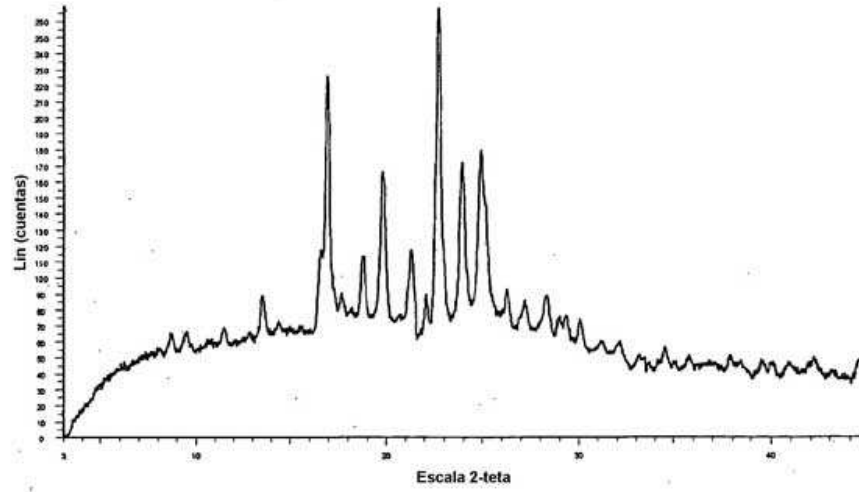
1. Forma cristalina de sal de sulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona.
- 5 2. Forma cristalina de sal de sulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona según la reivindicación 1, en la que la sal de sulfato es la sal de bisulfato.
- 10 3. Forma cristalina de sal de bisulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que tiene un espectro de difracción de rayos X de polvo usando radiación $K\alpha$ de Cu que incluye los picos: 18,8, 21,3 y 22,7 ángulos 2-theta , °, con un error de +/- 0,2°.
- 15 4. Forma cristalina de sal de bisulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 ó 3, que tiene un espectro de difracción de rayos X de polvo usando radiación $K\alpha$ de Cu que es sustancialmente igual al espectro de difracción de rayos X de polvo mostrado en la figura 1 en el presente documento.
- 20 5. Forma cristalina de sal de bisulfato de (S)-1-(4-cloro-fenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-{metil-[4-(4-metil-3-oxo-piperazin-1-il)-trans-ciclohexilmetil]-amino}-fenil)-1,4-dihidro-2H-isoquinolin-3-ona según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 ó 3, que tiene un espectro de difracción de rayos X de polvo usando radiación $K\alpha$ de Cu que es sustancialmente igual al espectro de difracción de rayos X de polvo mostrado en la figura 2 en el presente documento.
6. Forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5, para su uso como producto farmacéutico.
7. Forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4.
- 25 8. Uso de una forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4.
9. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5 y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- 30 10. Forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5, para su uso en la modulación de la actividad de MDM2 y/o MDM4 en un sujeto, que comprende la etapa de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina.
- 35 11. Forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5, para su uso en el tratamiento según la reivindicación 7 o su uso según la reivindicación 8, en la que la enfermedad o el trastorno es una enfermedad o un trastorno proliferativo.
12. Forma cristalina según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5 en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos.

FIGURA 1



**Datos de XRPD para la forma cristalina de sal de sulfato del ejemplo 106
(método de suspensión espesa)**

FIGURA 2



Datos de XRPD para la forma cristalina de sal de sulfato del ejemplo 106 (método de antisolvente)