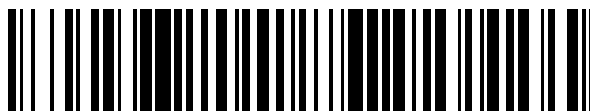


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 105**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2010** **E 10831161 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014** **EP 2504331**

54 Título: **Compuestos, ciertas formas nuevas de los mismos, composiciones farmacéuticas de los mismos y métodos para su preparación y uso**

30 Prioridad:

23.11.2009 CN 200910199259

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

16.02.2015

73 Titular/es:

HUTCHISON MEDIPHARMA LIMITED (100.0%)
720 Cai Lun Road Building 4
Pudong, Shanghai 201203, CN

72 Inventor/es:

SU, WEI-GUO;
ZHANG, WEIHAN;
JIA, HONG;
CUI, YUMIN;
REN, YONGXIN;
SAI, YANG;
WU, ZHENPING;
LI, WENJI;
SHAO, JIANGYONG y
TIAN, ZHENPING

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 529 105 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).

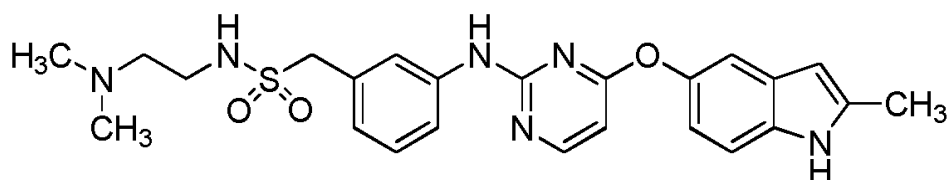
Compuestos, ciertas formas nuevas de los mismos, composiciones farmacéuticas de los mismos y métodos para su preparación y uso**Descripción**

La angiogénesis es un proceso en donde pueden crecer nuevos vasos sanguíneos desde la vasculatura existente. Ese proceso puede tener lugar en la curación de heridas del cuerpo, como la restauración del flujo sanguíneo en lesiones de tejidos, por ejemplo, una lesión de la mano. La angiogénesis excesiva, sin embargo, podría ser iniciada bajo condiciones patológicas específicas, por ejemplo tumores, AMD (degeneración macular asociada con la edad), artritis reumatoide, psoriasis, etc. Bajo dichas circunstancias, los nuevos vasos sanguíneos pueden tender indeseablemente a proporcionar a tejidos patológicos con nutrición y lesionar los tejidos normales. Por ejemplo, las células cancerosas pueden entrar en la circulación sanguínea a través de los nuevos vasos sanguíneos e invadir los tejidos normales.

El VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular) y su receptor VEGFR-2 (también denominado KDR, receptor que contiene el dominio de inserción de quinasa) pueden formar la vía principal para la formación de nuevos vasos sanguíneos. Se ha indicado que la inhibición del KD puede causar apoptosis de células endoteliales, lo que consecuentemente bloquea el proceso de angiogénesis, (Rubin M. Tuder, Chest, 2000; 117:281). Así, los inhibidores de KDR pueden ser usados para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la angiogénesis.

El FGF (Factor de Crecimiento de Fibroblastos) es una molécula pro-angiogénesis como la VEGF. Durante la angiogénesis, se cree que el VEGF es crítico en el proceso de neovascularización, y el eje FGF (Factor de Crecimiento de Fibroblastos)/FGFR (Receptor del Factor de Crecimiento de Fibroblastos) juega papeles en madurar funcionalmente los nuevos vasos formados. Además, se ha descubierto la activación aberrante de los miembros de la familia FGF y sus receptores afines en múltiples cánceres, como cánceres de mama, vejiga y próstata. El FGFR1 y sus parejas de enlace FGF1, FGF2, FGFBb y FGF17 también son elevadas. En otros tipos de tumores, el FGFR1 está implicado como un oncogén cuya expresión está aumentada en comparación con el tejido normal. Por lo tanto el bloqueo de la señalización de FGF/FGFR puede ser beneficiosa para el tratamiento de cánceres asociados con la activación de FGF/FGFR.

Se divulga en la presente un compuesto de Fórmula A, por ejemplo *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo-metanosulfonamida, y una sal farmacéuticamente acetado del mismo.

**Formula A**

N-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo-metanosulfonamida

También se divulga en la presente una composición farmacéutica, que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y el compuesto de fórmula A, y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se divulga en la presente un compuesto para su uso en el tratamiento de un sujeto con necesidad reconocida de tratamiento para al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FTFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con angiogénesis, en donde el compuesto es elegido del compuesto de Fórmula A y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A.

Se han descubierto las formas cristalinas en estado sólido I y II del compuesto de Formula A y se divulgan en la presente. La capacidad de un compuesto para existir en más de una estructura o forma de cristal se conoce como polimorfismo. Pueden existir muchos compuestos inesperadamente como cristales polimorfos y esos compuestos pueden también existir en un estado amorfo sólido. Hasta que se descubre el polimorfismo, es altamente impredecible (1) si un compuesto particular mostrará polimorfismo, (2) como hacer cualquiera de los polimorfos desconocidos y (3) que propiedades, como la estabilidad, serán de cualquiera de dichos polimorfos desconocidos. Ver por ejemplo, J. Bernstein "Polymorphism in Molecular Crystals", Oxford University Press, (2002).

Como las propiedades de cualquier material sólido dependen de la estructura así como de la naturaleza del mismo compuesto, diferentes formas de estado sólido de un compuesto pueden y a menudo exhiben diferentes

propiedades físicas y químicas. Las diferencias en las propiedades químicas pueden ser determinadas a través de una variedad de técnicas analíticas a ser usadas para caracterizar, analizar y comparar. Y esas diferencias en las propiedades químicas pueden últimamente ser usadas para diferenciar entre diferentes formas de estado sólido que se puede descubrir que existan. Además, las diferencias en las propiedades físicas, como solubilidad y biodisponibilidad, de formas de estado sólido pueden ser importantes cuando se formula un compuesto farmacéutico. Como tal, las nuevas formas de estado sólido cristalinas y amorfas de compuestos útiles farmacéuticamente, como el compuesto de Fórmula A, pueden ser importantes en el desarrollo de dichos compuestos útiles.

También se divulga en la presente una nueva forma del compuesto de Fórmula A, designado Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida.

También se divulgan en la presente métodos para preparar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida.

También se divulga en la presente una composición farmacéutica, que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida.

También se divulga en la presente un compuesto para su uso en el tratamiento de un sujeto con necesidad reconocida de tratamiento para al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FTFR1, como el cáncer, y al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis, en donde el compuesto es la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida.

También se divulga en la presente otra nueva forma del compuesto de Fórmula A, designado Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

También se divulgan en la presente métodos para preparar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

También se divulga en la presente una composición farmacéutica, que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

También se divulga en la presente un compuesto para su uso en el tratamiento de un sujeto con necesidad reconocida de tratamiento para al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FTFR1, como el cáncer, y al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis, en donde el compuesto es la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra un difractograma de rayos X de polvo de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa la difracción 2 theta, y el eje vertical (eje y) representa la intensidad (recuentos).

La Figura 2 muestra un termograma de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa la temperatura (°C), y el eje vertical (eje y) representa el flujo térmico (mW).

La Figura 3 muestra un espectro Infrarrojo de la Transformada de Fourier (FT-IR) de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa el número de onda (cm⁻¹) y el eje vertical (eje y) representa la intensidad de transmisión.

La Figura 4 muestra una curva Termogravimétrica (TG) de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa la temperatura (°C), y el eje vertical (eje y) representa el porcentaje de peso (%).

La Figura 5 muestra un difractograma de rayos X de polvo de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa la difracción 2 theta, y el eje vertical (eje y) representa la intensidad (recuentos).

La Figura 6 muestra un termograma de Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC) de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa la temperatura (°C), y el eje vertical (eje y) representa el flujo térmico (mW).

La Figura 7 muestra un espectro de Infrarrojo de la Transformada de Fourier (FT-IR) de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa el número de onda (cm⁻¹) y el eje vertical (eje y) representa la intensidad de

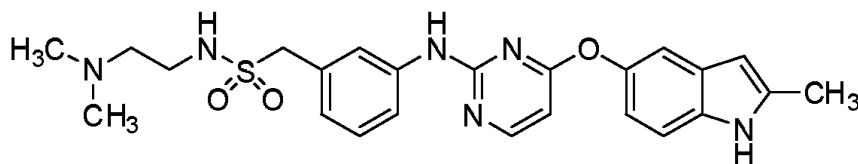
transmisión.

La Figura 8 muestra una curva Termogravimétrica (TG) de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, el eje horizontal (eje x) representa la temperatura (°C), y el eje vertical (eje y) representa el porcentaje de peso (%).

Las siguientes abreviaciones y términos tienen los significados indicados en la presente:

El término "forma nueva" como se usa en la presente se refiere a las formas cristalinas Forma I y Forma II del compuesto de Fórmula A y también a formas amorfas del compuesto de fórmula A, así como a mezclas de las mismas. "Forma Cristalina" y "polimorfo", so pueden usar de forma intercambiable en la presente.

El término "compuesto de Fórmula A", o '*N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil-metanosulfonamida', es igual a un compuesto con la estructura química de la Fórmula A (también referenciado como "Compuesto A").



Formula A

El término solución significa una mezcla apropiada para los propósitos divulgados en la presente de uno o más solutos en uno o más solventes. Solución se pretende que abarque mezclas homogéneas así como mezclas heterogéneas, como lechadas u otras mezclas que tienen una suspensión de material insoluble (no disuelto).

El término "solvente orgánico" se pretende ampliamente que signifique cualquier solvente orgánico apropiado para los propósitos divulgados en la presente.

El término "solvente orgánico de disolución" se refiere a cualquier solvente orgánico que es apropiado por ser capaz de disolver, completamente o en parte, el sustrato bajo las condiciones adecuadas, como una cantidad apropiada y una temperatura apropiada, como temperatura ambiente o una temperatura elevada.

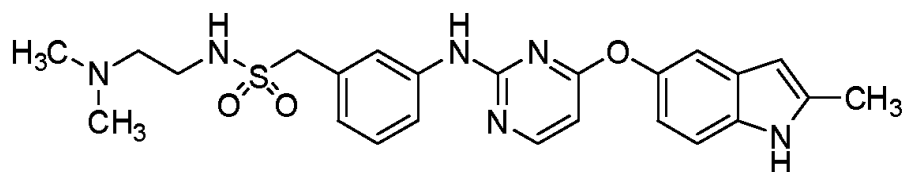
El término "solvente orgánico de anti-disolución" se refiere a cualquier solvente orgánico apropiado en el que el sustrato tiene menos solubilidad que en el solvente orgánico de disolución.

"Sales farmacéuticamente aceptables" incluyen, pero no están limitadas a, sales con ácidos inorgánicos, como clorhidrato, hidrobromato, fosfato, difosfato, sulfato, sulfinato, nitrato y sales similares; así como sales con un ácido orgánico, como malato, maleato, mandelato, fumarato, tartrato, succinato, citrato, aspartato, glutamato, atrolactato, gluconato, propionato, lactato, canforsulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato, naftalenosulfonato, p-toluensulfonato, 2-hidroxietilsulfonato, hidroxibutirato, benzoato, salicilato, estearato, y alcanato, comoacetato, HOOC-(CH₂)_n-COOH donde n es 0-4, y sales similares. De manera similar, los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitados a, sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio.

Además, si un compuesto descrito en la presente se obtiene como un sal de adición ácida, la base libre se puede obtener haciendo básica una solución de la sal ácida. Por el contrario, si el producto es una base libre, se puede producir una sal de adición, particularmente un sal de adición farmacéuticamente aceptable, disolviendo la base libre en un solvente orgánico adecuado y tratando la solución con un ácido, de acuerdo con los procedimientos convencionales para preparar sales de adición ácidas de compuestos básicos. Los expertos en la técnica reconocerán varias metodologías sintéticas que se pueden usar en el ámbito de la experimentación de rutina para preparar sales de adición farmacéuticamente aceptables no tóxicas.

El término "cantidad efectiva" del compuesto de Fórmula A, incluyendo la forma nueva, descrito en la presente significa una cantidad efectiva, cuando se administra un sujeto con necesidad reconocida, como un paciente humano o no humano, para aliviar los síntomas o parar la progresión de al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis.

Se proporciona *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metano-sulfonamida de la Fórmula A (Compuesto A),

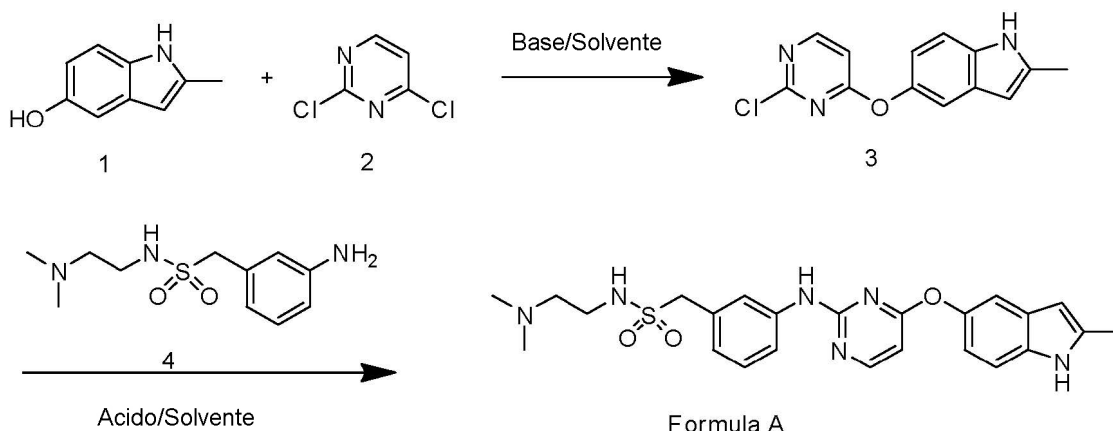


Formula A

y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

También se proporciona una composición farmacéutica, que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y el compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

El compuesto de Fórmula A puede ser sintetizado de acuerdo con el esquema descrito a continuación.



Esquema 1

Paso 1: Síntesis de 5((2-cloropirimidin-4-il)oxi)-2-metil-1H-indol (compuesto 3)

El compuesto del título 3 se puede preparar por la reacción de 5-hidroxilo-2-metil-indol (compuesto 1) con 2,4-dicloropirimidina (compuesto 2) en presencia de una base, como pero no limitado a NaHCO_3 , KOH , NaOH , K_2CO_3 , KHCO_3 , diisopropiletilamina (DIPEA), piridina, trietilamina (TEA) o timetilamina; en un solvente, como pero no limitado a acetonitrilo, N,N -dimetilformamida (DMF), dioxano, tetrahidrofurano (THF). La reacción puede realizarse a una temperatura adecuada, como una temperatura que varía de 0 a 60° C.

Paso 2: Síntesis de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil) metanosulfonamida (compuesto de la Fórmula A)

El compuesto del título de la Fórmula A puede ser sintetizado como el producto bruto del compuesto de Fórmula A por la reacción del Compuesto 3 con 1-(3-aminofenil)-*N*-(2-(dimetilamino)etil) metano-sulfonamida (Compuesto 4) en presencia de un ácido, como pero no limitado a ácido acético, ácido fórmico, HCl , H_2SO_4 , ácido toluenosulfónico, ácido trifluoroacético, o ácido etanosulfónico ácido, y en un solvente, como pero no limitado a , N,N -dimetilformamida (DMF), acetonitrilo, tetrahidrofurano, etanol, isopropanol o tolueno. La reacción puede realizarse a una temperatura adecuada, como una temperatura que varía de 40 a 100° C.

El producto bruto del compuesto de fórmula A puede ser purificada adicionalmente por cromatografía en gel de sílice, cromatografía líquida de alto rendimiento, cristalización, u otros métodos adecuados.

El producto bruto del compuesto de Fórmula A puede ser también purificado por recristalización usando solventes, como pero no limitado a, N -metilpirrolidona, diclorometano, tolueno, N , N -dimetilformamida o una mezcla de N,N -dimetilformamida/tolueno.

También se proporcionan nuevas formas de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1H-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

En algunas realizaciones, las formas nuevas descritas en la presente pueden ser identificadas por uno o más métodos analíticos de estado sólido. Por ejemplo, la Forma I y/o la Forma II pueden ser caracterizadas de acuerdo con uno o más de, por ejemplo, difracción de rayos X, contantes de células unitarias obtenidas de un único

crystal, espectroscopia infrarroja de la transformada de Fourier, datos de la curva de calorimetría diferencial de barrido y una curva termogravimétrica. Y si la caracterización por cualquiera de esos métodos es consistente con la existencia de la Forma I y/o la Forma II, no importa que uno de los otros métodos sea inconsistente con esa existencia.

En algunas realizaciones, las formas nuevas descritas en la presente pueden ser caracterizadas de acuerdo con difracción de rayos X de polvo. Sin embargo, se conoce en la técnica que la intensidad y/o picos medidos en el difractograma de rayos X de polvo de diferentes lotes de una nueva forma pueden variar debido a, por ejemplo, condiciones experimentales diferentes y/o orientaciones preferidas. Y de acuerdo con la precisión del instrumento, el error de medición del valor 2θ está en $\pm 0,2$ 2θ . Pero a pesar de los errores experimentales y de la máquina, y los principios como la orientación preferida, alguien experto en la técnica puede encontrar información suficiente en los datos de XRPD proporcionados en la presente para identificar la Forma I y la Forma II sin tener que depender de todos los datos de XRPD proporcionados.

Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Se proporciona la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

En algunas realizaciones, el difractograma de rayos X de polvo de la Forma I de como se describe en la presente puede tener picos (2θ) elegidos de los que tiene alrededor de los siguientes valores: 7,0, 8,0 y 8,6 cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2θ). En algunas realizaciones, el difractograma de rayos X de polvo de la Forma I como se describe en la presente puede tener picos (2θ) elegidos de los que tiene alrededor de los siguientes valores: 7,0, 8,0, 8,6, 11,0, 11,8, cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2θ). En algunas realizaciones, la Forma I como se describe en la presente puede tener un difractograma de rayos X de polvo sustancialmente similar al mostrado en la Figura 1.

En algunas realizaciones, la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada de acuerdo con el espectro Infrarrojo de la Transformada de Fourier (FT-IR). Por ejemplo, también se proporciona una realización de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida que tiene un espectro FT-IR que muestra picos en alrededor de 2781.4, 1218.2, 1163.1, 1124.5, 1114.8, 1085.7, 984.9, 705.0, 500.7 y 434.8 cm^{-1} . En algunas realizaciones, la Forma I como se describe en la presente puede tener un espectro FT-IR sustancialmente similar al mostrado en la Figura 3.

En algunas realizaciones, la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada de acuerdo con un termograma DSC. Por ejemplo, se proporciona una realización de la Forma I como se describe en la presente que tiene un termograma DSC sustancialmente similar al mostrado en la Figura 2. Por ejemplo, también se proporciona una realización de la Forma I como se describe en la presente que tiene un DSC con picos endotérmicos en alrededor de 167-169° C.

En algunas realizaciones, la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada por análisis termogravimétrico (TGA). Por ejemplo, se proporciona una realización de la forma I como se describe en la presente que tiene un TGA que indica la Forma I como se describe en la presente como una forma anhidra o pura. Ver Figura 4.

En algunas realizaciones, la Forma I está sustancialmente libre de la Forma II y de la forma amorfa del compuesto de la Fórmula A. Por ejemplo, la Forma I está al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90% o al menos el 80%, por peso, libre de la Forma II y de la forma amorfa del compuesto de la Fórmula A. Además por ejemplo, la Forma I está al menos el 70%, al menos el 60%, por peso, libre de la Forma II y de la forma amorfa del compuesto de la Fórmula A. Aún más por ejemplo, la Forma I está al menos más del 50% por peso libre de la Forma II y de la forma amorfa del compuesto de Fórmula A.

Métodos de Preparación de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Método A

También se proporciona un método para preparar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, que comprende:

- (1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida de la Fórmula A con al menos un solvente orgánico de disolución, después calentar la mezcla a reflujo para obtener la solución;

- (2) enfriar al solución a temperatura ambiente, como con enfriamiento lento; y
 (3) aislar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

En algunas realizaciones, el al menos un solvente orgánico de disolución apropiado se elige de solventes próticos y solventes apróticos. En algunas realizaciones, los solventes próticos son alcoholes, como metanol, etanol, isopropanol, *n*-butanol y alcoholes que comprenden menos de 6 átomos de carbono, además de dichos metanol, etanol e isopropanol. En algunas realizaciones, los solventes apróticos se eligen de acetona, acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida, tolueno, diclorometano y acetato de etilo.

En algunas realizaciones, la solución se enfría a temperatura ambiente, como enfriamiento lento con agitación, como agitación a velocidad moderada, como a una velocidad que varía de 50 a 200 rpm.

En algunas realizaciones, la cantidad de al menos un solvente de disolución es de 10 a 60 volúmenes (ml) a 1 unidad de peso (g) del compuesto de la Fórmula A usado en el paso (1).

Método B

También se proporciona un método alternativo para preparar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, que comprende:

- (1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida con al menos un solvente orgánico de disolución, después calentar la mezcla a reflujo para obtener una primera solución;
- (2) añadir al menos un solvente orgánico anti-disolución a la primera solución a temperatura de reflujo para obtener una segunda solución;
- (3) dejar que la segunda solución enfríe, como con enfriamiento lento, por sí mismo a temperatura ambiente; y
- (4) aislar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

En algunas realizaciones, el al menos un solvente de disolución es como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, el al menos un solvente de disolución es elegido de metanol, etanol, acetona, acetonitrilo y *N,N*-dimetilformamida.

En algunas realizaciones, el solvente anti-disolución apropiado, dependiendo de las condiciones, es elegido de agua, heptanos, hexanos y otros solventes hidrocarbonados saturados con menos de nueve átomos de carbono; acetato de etilo, y otros ésteres de ácidos orgánicos con menos de ocho átomos de carbono; *t*-butil metil éter, y otros éteres con menos de seis átomos de carbono; y tolueno. En algunas realizaciones, el al menos un solvente anti-disolución es elegido de agua, heptanos, hexanos y acetato de etilo.

En algunas realizaciones, la proporción de volumen del al menos un solvente de disolución con el al menos un solvente anti-disolución varía de 1:3 a 5:1.

En algunas realizaciones, la cantidad del al menos un solvente de disolución usado en este método alternativo es también de 10 a 60 volúmenes (ml) a una unidad de peso (g) del compuesto de la Fórmula A usado en el paso (1).

Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

También se proporciona la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

En algunas realizaciones, la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada de acuerdo con difracción de rayos X de polvo. En algunas realizaciones, el difractograma de rayos X de polvo de la Forma I como se describe en la presente puede tener picos (2 θ) elegidos de los que tienen alrededor de los siguientes valores: 6,8, 9,8, 10,5 y 10,7, cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2 θ). En algunas realizaciones, el difractograma de rayos X de polvo de la Forma II como se describe en la presente puede tener picos (2 θ) elegidos de los que tiene alrededor de los siguientes valores: 6,8, 9,8, 10,5, 10,7, 13,6, 15,0, cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2 θ). En algunas realizaciones, la Forma II como se describe en la presente puede tener un difractograma de rayos X de polvo sustancialmente similar al mostrado en la Figura 5. Pero a pesar de los errores experimentales y de la máquina, y los principios como la orientación preferida, alguien experto en la técnica puede encontrar información suficiente en los datos de XRPD proporcionados en la presente para identificar la Forma II sin tener que depender de

todos los datos de XRPD proporcionados.

En algunas realizaciones, la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada acuerdo con el espectro Infrarrojo de la Transformada de Fourier (FT-IR). Por ejemplo, también se proporciona una realización de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida que tiene un espectro FT-IR que muestra picos en alrededor de 2770.3, 1216.3, 1166.3, 1115.8, 1089.8, 986.5, 872.5, 695.5, 520.5, 456.0 cm⁻¹. En algunas realizaciones, la Forma II como se describe en la presente puede tener un espectro FT-IR sustancialmente similar al mostrado en la Figura 7.

En algunas realizaciones, la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada de acuerdo con un termograma DSC. Por ejemplo, se proporciona una realización de la Forma II como se describe en la presente que tiene un termograma DSC sustancialmente similar al mostrado en la Figura 6. Por ejemplo, también se proporciona una realización de la Forma II como se describe en la presente que tiene un DSC con picos endotérmicos en alrededor de 160-162° C. Ver Figura 6.

En algunas realizaciones, la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida puede ser caracterizada por análisis termogravimétrico (TGA). Por ejemplo, se proporciona una realización de la Forma II como se describe en la presente que tiene un TGA que indica la Forma II como se describe en la presente como una forma anhidra o pura. Ver Figura 8.

En algunas realizaciones, la Forma II está sustancialmente libre de la Forma I y de la forma amorfa del compuesto de la Fórmula A. Por ejemplo, la Forma II está al menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90% o al menos el 80%, por peso, libre de la Forma I y de la forma amorfa del compuesto de la Fórmula A. Además por ejemplo, la Forma II está al menos el 70%, al menos el 60%, por peso, libre de la Forma I y de la forma amorfa del compuesto de la Fórmula A. Aún más por ejemplo, la Forma II está al menos más del 50% por peso libre de la Forma I y de la forma amorfa del compuesto de Fórmula A.

Métodos de Preparación de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil) - metanosulfonamida.

Método C

También se proporciona un método alternativo para preparar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, que comprende:

- (1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida con al menos un solvente de disolución, y calentar la mezcla a reflujo para obtener una primera solución;
- (2) añadir al menos un solvente anti-disolución a la primera solución a temperatura de reflujo para obtener una segunda solución;
- (3) enfriar la segunda solución, por ejemplo, a 0-5°C, por ejemplo a una velocidad de enfriamiento de 1-40° C/minuto; y
- (4) aislar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)meta-nosulfonamida.

En algunas realizaciones, la solución se enfría a 0-5° Ca una velocidad de enfriamiento de 1-40° C/minutos mientras se agita.

En algunas realizaciones, el al menos un solvente orgánico de disolución apropiado se elige de solventes próticos y solventes apróticos. En algunas realizaciones, los solventes próticos son alcoholes, como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol y alcoholes que comprenden menos de 6 átomos de carbono, además de dichos metanol, etanol e isopropanol. En algunas realizaciones, los solventes apróticos se eligen de acetona, acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida, tolueno, diclorometano y acetato de etilo.

En algunas realizaciones, los alcoholes apropiados se eligen de metanol y etanol. En algunas realizaciones, los solventes apróticos se eligen de acetona, acetonitrilo, acetato de etilo y *N,N*-dimetilformamida.

En algunas realizaciones, la proporción del peso del compuesto de la Fórmula A con el volumen del al menos un solvente de disolución varía de 0,03:1 a 0,08:1 (g/ml).

Método D

También se proporciona un método alternativo para preparar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, que comprende:

((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, que comprende:

- (1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida con al menos un solvente de disolución, y calentar la mezcla a reflujo para obtener una solución;
- (2) enfriar la solución; después sembrar la solución enfriada con la Forma II como se describe en la presente;
- (3) enfriar la solución sembrada a temperatura ambiente; y
- (4) aislar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida

En algunas realizaciones, la solución en el paso (2) es enfriada lentamente a 45-55° C antes del sembrado.

En algunas realizaciones, la siembra de la Forma II se añade a la solución mientras se agita.

En algunas realizaciones, la solución sembrada es enfriada a temperatura ambiente dejando la solución sembrada a temperatura ambiente.

En algunas realizaciones, el al menos un solvente orgánico de disolución apropiado se elige de solventes próticos y solventes apróticos. En algunas realizaciones, los solventes próticos son alcoholes, como metanol, etanol, isopropanol, *n*-butanol y alcoholes que comprenden menos de 6 átomos de carbono, además de dichos metanol, etanol e isopropanol. En algunas realizaciones, los solventes apróticos se eligen de acetona, acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida, tolueno, diclorometano y acetato de etilo.

En algunas realizaciones, los alcoholes apropiados se eligen de metanol y etanol. En algunas realizaciones, los solventes apróticos se eligen de acetona, acetonitrilo, acetato de etilo y *N,N*-dimetilformamida.

En algunas realizaciones, la siembra de la Fórmula II se añade a la solución con agitación.

En algunas realizaciones, la proporción del peso de los compuestos de la Fórmula A con el volumen del al menos un solvente de disolución (g/ml) varía de 0,03:1 a 0,08:1.

En algunas realizaciones, la cantidad de la siembra de la Forma II varía del 0,01 al 0,5% por peso en relación al peso de la *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida usada en el paso (1). En algunas realizaciones, la cantidad de la siembra de la Forma II es del 0,5% por peso en relación al peso de la *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida usada en el paso (1).

Todos los métodos como se describen en la presente para preparar la Forma I y la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida pueden comprender opcionalmente uno o más pasos entre el paso (1) y el paso (2), en donde la solución obtenida en el paso (1) se filtra en caliente para eliminar partículas insolubles. Para evitar la precipitación durante cualquier filtración en caliente, el embudo de filtración puede ser calentado durante o antes de la filtración. Los precipitados formados durante la filtración en caliente pueden ser disueltos de nuevo calentando los filtrados antes de la siguiente operación.

Composición Farmacéutica y Métodos de Tratamiento

En algunas realizaciones, al menos un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del compuesto de Fórmula A (Compuesto A) y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y Formas I y II del compuesto de Fórmula A pueden ser útiles para el tratamiento de al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con angiogénesis. En algunas realizaciones, los trastornos relacionados con la angiogénesis se eligen de degeneración macular asociada con la edad y cánceres. Los cánceres como se describen en la presente incluyen pero no están limitados a cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de riñón y sarcoma.

En algunas realizaciones, el método para tratar a un sujeto que tiene al menos un cáncer y/o al menos una enfermedad relacionada con la angiogénesis y con necesidad reconocida de tratamiento para la misma comprende administrar a dicho sujeto con necesidad reconocida de tratamiento una cantidad efectiva de al menos un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y Formas I y II del compuesto de Fórmula A para tratar la mencionada al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis.

En algunas realizaciones, el método para tratar a un sujeto que tiene al menos una enfermedad

responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con angiogénesis y con necesidad reconocida de tratamiento para la mismo comprende administrar a dicho sujeto con necesidad reconocida de tratamiento una cantidad efectiva de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, para

tratar la mencionada al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis.

En algunas realizaciones, el método para tratar a un sujeto que tiene al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con angiogénesis y con necesidad reconocida de tratamiento para la mismo comprende administrar a dicho sujeto con necesidad reconocida de tratamiento una cantidad efectiva de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, para

tratar la mencionada al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis.

En algunas realizaciones, el método para tratar a un sujeto que tiene al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con angiogénesis y con necesidad reconocida de tratamiento para la mismo comprende administrar a dicho sujeto con necesidad reconocida de tratamiento una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende: al menos un portador farmacéuticamente activo y la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, para proporcionar dicho tratamiento.

En algunas realizaciones, el método para tratar a un sujeto que tiene al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con angiogénesis y con necesidad reconocida de tratamiento para la mismo comprende administrar a dicho sujeto con necesidad reconocida de tratamiento una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende: al menos un portador farmacéuticamente activo y la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida, para proporcionar dicho tratamiento.

La cantidad del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A efectiva para conseguir el efecto biológico deseado puede depender de un número de factores, por ejemplo, el uso pretendido, el modo de administración y la condición clínica del paciente. La dosis diaria puede, por ejemplo, variar de 0,1 mg a 3 g/día (como de 0,5 mg a 2 g/día, adicionalmente como de 100 mg a 1 g/día). Las formulaciones de única dosis que pueden ser administradas oralmente incluyen, por ejemplo, comprimidos y cápsulas.

Para la terapia de las condiciones descritas anteriormente, el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A puede ser usado como el mismo compuesto, pero típicamente cada uno de ellos será usado en la forma de una composición farmacéutica con uno o más portadores/excipientes aceptables. Los portadores/excipientes aceptables deberían ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para la salud del paciente. El portador/excipiente puede ser un sólido o un líquido o ambos y puede ser formulado con el compuesto de Fórmula A, como la Forma I y/o la Forma II descritas en la presente, como una dosis única, por ejemplo como un comprimido, que puede ser preparado de un 0,05% al 95% por peso del compuesto de Fórmula A descrito en la presente. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden producirse por métodos farmacéuticos conocidos, como aquellos que implican mezclar los ingredientes con portadores y/o excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, los portadores/excipientes representativos incluirían pero no están limitados a: celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, glicina, disgregantes como almidón, sodio reticulado carboximetil celulosa, silicatos compuestos y polietilenglicol de alto peso molecular, aglutinantes de granulación (como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina, y goma arábiga) y lubricantes (tales como estearato de magnesio, glicerina y talco).

En algunas realizaciones, el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A puede ser combinado con al menos un componente, como un portador y/o excipiente y/o diluyente, elegido de edulcorantes, agentes aromatizantes delicados, materias colorantes, colorantes y emulsionantes.

En algunas realizaciones, la Forma I o la Forma II descritas en la presente pueden no ser convertidas en el momento de la formulación con el uno o más diluyentes farmacéuticamente aceptables. En otras realizaciones, la Forma I o la Forma II descritas en la presente pueden ser convertidas, en su totalidad o en parte, a uno o más de las otras formas, incluyendo una forma no sólida, en el momento de la formulación con el uno o más

portadores/diluyentes/excipientes farmacéuticamente aceptables. Portadores/diluyentes/excipientes ejemplares incluirían pero no están limitados a, agua, etanol, propilenglicol, glicerina y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la Forma I o la Forma II descritas en la presente pueden ser disueltas cuando se formulan en una composición farmacéutica. Por consiguiente, en tales casos "disueltos", la Forma I o la Forma II no existen más en sus formas cristalinas respectivas en la composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A puede ser formulado a una forma adecuada.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden ser aquellas adecuadas para la administración oral y peroral (por ejemplo sublingual), aunque el modo adecuado de administración puede depender en cada caso individual de la naturaleza y la severidad de la condición a ser tratada y en la naturaleza del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A usado en cada caso para preparar la composición farmacéutica. También se proporcionan formulaciones recubiertas y las formulaciones de liberación lenta recubiertas. Las formulaciones resistentes al ácido y jugo gástricos también son posibles. Los recubrimientos adecuados resistentes al jugo gástricos comprenden ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, polímeros aniónicos de ácido metacrílico y metacrilato de metilo.

Las composiciones farmacéuticas para la administración oral preparadas del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A pueden estar en la forma de unidades separadas como, por ejemplo, cápsulas, obleas y comprimidos, incluyendo comprimidos para chupar, cada uno de los cuales puede ser preparado con una cantidad definida del al menos un ingrediente farmacéutico activo descrito en el presente; así como en las formas elegidas de polvos, gránulos, soluciones, suspensiones en un líquido acuoso o no acuoso, y emulsiones de aceite en agua y agua en aceite. Esas composiciones pueden, como ya se ha mencionado, ser preparadas por cualquier método de formulación farmacéutica adecuado, como los que incluyen un paso en donde el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A y un portador (que puede consistir de uno o más ingredientes adicionales, incluyendo diluyentes y excipientes) se ponen en contacto. Las composiciones pueden ser producidas generalmente por mezclado uniforme y homogéneo del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A con un líquido y/o portador sólido dividido finamente, después de lo cual se puede dar forma al producto. Así, por ejemplo, se puede producir un comprimido comprimiendo o moldeando un polvo o gránulos del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A, cuando proceda con uno o más ingredientes adicionales. Los comprimidos comprimidos pueden ser producidos comprimiendo el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A en la forma de flujo libre como, por ejemplo, un polvo o gránulos, cuando proceda mezclados con un aglutinante, deslizante, diluyente inerte y/o uno (o más) agentes tensioactivos/dispersantes en una máquina adecuada. Los comprimidos moldeados pueden ser producidos moldeando el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A en forma de polvo y después humectándolos con un diluyente líquido inerte en una máquina adecuada. Las composiciones también pueden ser preparadas por granulación húmeda. Así, por ejemplo, se puede preparar una composición por granulación húmeda mezclando el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A con uno o más ingredientes adicionales opcionales, un solvente adecuado y un aglutinante para preparar un granulado húmedo, secando el granulado húmedo y moliendo el granulado seco. El método puede comprender además añadir al menos un lubricante al granulado molido seco y comprimiendo el granulado molido seco para formar comprimidos. Los ingredientes adicionales opcionales pueden incluir, por ejemplo, al menos un diluyente y/o al menos un agente disgregante. El solvente adecuado puede ser agua. En algunas realizaciones, el diluyente se elige de carbonato de calcio, fosfato de calcio (dibásico y/o tribásico), sulfato de calcio, celulosa en polvo, dextratos, dextrina, fructosa, caolín, lactitol, lactosa anhidra, monohidrato de lactosa, maltosa, manitol, celulosa microcristalina, sorbitol, sacarosa, y almidón. En algunas realizaciones, el diluyente puede estar presente en una cantidad de alrededor del 35% a alrededor del 90% por peso del comprimido. En algunas realizaciones, el aglutinante puede ser elegido de ácido alginico, carbómero, carboximetilcelulosa sódica, dextrina, etilcelulosa, gelatina, glucosa, goma guar, hidroxipropil celulosa, maltosa, metilcelulosa, óxido de polietileno y povidona. En algunas realizaciones ejemplares, el aglutinante está presente en una cantidad de alrededor del 0,5% a alrededor del 5% por peso del comprimido. En otras realizaciones ejemplares, las preparaciones anteriormente mencionadas contienen alrededor del 0,05-5 g del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A por mililitro o por gramo de las preparaciones.

Las composiciones divulgadas en la presente pueden ser administradas tópicamente o sistemáticamente.

Las composiciones farmacéuticas que son adecuadas para la administración peroral (sublingual) pueden comprimir comprimidos para chupar que pueden ser preparados del al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto del Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A, con un agente aromatizante, elegido normalmente de sacarosa, goma arábiga, tragacanto y pastillas.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden ser también las adecuadas para la administración parenteral, por aerosol de inhalación o a través de un depósito implantado. Los portadores sólidos, por ejemplo, almidón, lactosa, celulosa microcristalina, silicato de aluminio, portadores líquidos, por ejemplo, agua inyectable, alcohol de polivinilo, agentes surfactantes no ionizados, y aceite de maíz, y cualquier ingrediente adecuado para su uso pretendido. Otros excipientes usados comúnmente en formulación farmacéutica incluyen agentes colorantes, conservantes, agentes correctores del sabor y antioxidantes como la vitamina E, vitamina A, BHT y BHA.

Los compuestos de la Fórmula A, como la Forma I y la Forma II descritos en la presente, pueden ser también administrados intraperitonealmente. Y la solución y suspensión de esos compuestos puede ser preparada disolviendo o suspendiendo el compuesto en agua que contiene surfactantes adecuados. Las suspensiones dispersadas pueden ser preparadas usando glicerol, polietilenglicol (PEG), o sus mezclas con aceites adecuados. Se pueden añadir agentes conservantes a esas formulaciones para evitar el crecimiento de microorganismos durante el uso.

La formulación inyectable incluye solución o suspensión en agua esterilizada, y polvo esterilizado. En todos los casos esas formulaciones deben ser esterilizadas y eliminadas fácilmente de la jeringuilla, y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento, y estar tan libres como sea posible de contaminación y los efectos de microorganismos. Los portadores pueden ser solventes o agentes dispersantes, e incluyen agua, alcohol y algunos aceites adecuados.

El al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto del Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A puede ser también administrado en combinación con uno o más de otros ingredientes activos. Cuando se administra como una combinación, los ingredientes activos pueden ser formulados como composiciones separadas que son administradas al mismo tiempo o secuencialmente en momentos diferentes, o los ingredientes activos pueden ser administrados en una forma de dosificación única, es decir, composición única, siempre que los ingredientes activos no sean, en esa forma de dosificación única, incompatibles con otros ingredientes activos o la formulación, o estén combinados indeseablemente de otra manera en una composición única.

En algunas realizaciones, el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto del Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A puede ser administrado con uno o más agentes conocidos para el tratamiento de al menos una enfermedad responsable de la inhibición del FGFR1, como el cáncer, y/o al menos una enfermedad responsable de la inhibición del KDR, como trastornos relacionados con la angiogénesis.

La frase "co-terapia" (o "terapia de combinación") o "en combinación con", como se usa en la presente, define el uso de al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A como se usa en la presente y uno o más de otros ingredientes activos como, por ejemplo, agentes anti-neoplásicos. Como se usa en la presente, el término "agente anti-neoplásico" se refiere a cualquier agente que es administrado a un sujeto con cáncer para propósitos de tratar el cáncer. Ejemplos no limitativos de agentes anti-neoplásicos incluyen: radioterapia; inmunoterapia; agentes quimioterapéuticos que dañan el ADN; y agentes quimioterapéuticos que interrumpen la replicación celular.

Ejemplos no limitativos de agentes quimioterapéuticos que dañan el ADN incluyen inhibidores de la topoisomerasa I (por ejemplo, irinotecan, topotecan, camptotecina y análogos o metabolitos de los mismos, y doxorubicina); inhibidores de la topoisomerasa II (por ejemplo, etopósido, tenipósido, y daunorrubicina); agentes alquilantes (por ejemplo, melfalán, clorambucilo, busulfán, tiotepa, ifosfamida, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, decarbazina, metotrexato, mitomicina C y ciclofosfamida); intercaladores de ADN (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino y carboplatino); intercaladores de ADN y generadores de radicales libres como bleomicina; y miméticos de nucleósidos (por ejemplo, 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, fludarabina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina, e hidroxiurea).

Los agentes quimioterapéuticos que interrumpen la replicación celular incluyen: paclitaxel, docetaxel, y análogos relacionados; vincristina, vinblastina, y análogos relacionados; talidomida y análogos relacionados (por ejemplo, CC-5013 y CC-4047); inhibidores de la proteína tirosina quinasa (por ejemplo, mesilato de imatinib y gefitinib); inhibidores de proteasoma (por ejemplo, bortezomib); Inhibidores de NF-kappa B, incluyendo inhibidores

de la I kappa B quinasa; anticuerpos que enlazan con proteínas sobreexpresadas en cánceres y de este modo regulan negativamente la replicación celular (por ejemplo, trastuzumab, rituximab, cetuximab, y bevacizumab); y otros inhibidores de proteínas y enzimas que se conoce están reguladas positivamente, sobre-expresadas o activadas en cánceres, la inhibición de las cuales regula negativamente la replicación celular.

En la co-terapia, la administración de cada ingrediente activo puede tener lugar de una manera secuencial en un régimen para proporcionar efectos beneficiosos de la combinación de fármacos; y/o la co-administración de los componentes anteriormente mencionados puede tener lugar de una manera sustancialmente simultánea (por ejemplo, como en una forma de dosificación única, como una cápsula, que tiene una proporción fijada de los ingredientes activos o en cápsulas separadas, múltiples para cada ingrediente activo, etc.).

Así, los métodos descritos en la presente no están limitados en la secuencia de administración; el al menos un ingrediente farmacéutico activo elegido del compuesto del Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A descritos en la presente pueden ser administrados o antes, o al mismo tiempo con, o después de la administración de uno o más de otros ingredientes activos.

Se proporcionan los siguientes ejemplos no limitativos.

Experimentos

Todos los reactivos, excepto los intermediarios, usados en esta divulgación están disponibles comercialmente. Todos los nombres de compuestos excepto los reactivos se generaron por el ChemBioDraw Ultra 12.0.

A menos que se indique lo contrario, los difractogramas de rayos X de polvo se obtuvieron usando el difractómetro de rayos X Bruker D8 ADVANCE, con radiación generada de una fuente CuK α a 40 mA y 40 kV, y el instrumento puede ser operado sobre el intervalo 2 θ de 3-45° con el paso de exploración de 0,02° y velocidad de exploración a 4°/min.

El análisis térmico DSC se realizó en un PerkinElmer DSC 7, en el que se usó nitrógeno como el gas de purga a un caudal de 50 mL min⁻¹. Las muestras se midieron en recipientes de aluminio ondulados. Los instrumentos se calibraron para temperatura usando indio. Las pruebas de las muestras de los experimentos de DSC se llevaron a cabo de un modo convencional a una tasa de calentamiento de 5-10° C min⁻¹ con la temperatura variando de 25 a 200° C.

El espectro IR se registró usando el espectrómetro MagnaTI-IR750 (NICOLET), cada muestra se prensó a discos KBr.

Las curvas Termogravimétricas (TG), que se pueden usar para determinar los cambios de peso de los materiales como una función de la temperatura, se obtuvieron usando un Perkin-Elmer Thermal TGA7, con N₂ como gas de purga a un caudal de 50 mL min⁻¹, la tasa de calentamiento es de 10° C/min.

Ejemplo 1

Síntesis de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil) metanosulfonamida

Paso 1: Síntesis de 5-((2-cloropirimidin-4-il)oxi)-2-metil-1*H*-indol (Compuesto 3):

A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 L, equipado con un agitador mecánico, embudo adicional y termómetro, se le añadieron 2-metil-1*H*-indol-5-ol (compuesto 1, 3 kg), acetonitrilo anhidro (9 L) y carbonato de potasio (4,2 Kg). La mezcla de la reacción se enfrió a 0-5° C con agitación bajo N₂. Se añadió una solución de 2,4-dicloropirimidina (compuesto 2, 3,05 Kg, en 9 L de acetonitrilo) a la mezcla de la reacción gota a gota mientras se mantenía la temperatura interna de la reacción en el intervalo de 0 a 5° C. Después de que la adición se hubo completado, se permitió que la mezcla de la reacción se calentase a una temperatura que variaba de 5 a 10° C durante un periodo de 4-8 horas. Cuando la reacción se hubo completado, la mezcla de la reacción se vertió en 54 L de agua destilada en un reactor de 100 L con agitación, y se agitó durante otra hora a temperatura ambiente. Los precipitados se recogieron por filtración y la torta de filtración se lavó con agua pura para dar el Compuesto 3 (5,7 Kg).

Paso 2: Síntesis de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida (compuesto de Fórmula A):

A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 10 L, equipado con un agitador mecánico y un termómetro, se le añadieron el Compuesto 3 (1,05 Kg), 1-(3-aminofenil)-*N*-(2-(dimetilamino)etil)metanosulfonamida (compuesto 4,

1,06 Kg), ácido p-toluenosulfónico (0,86 Kg), y *N,N*-dimetilsulfonamida (5,25 L). La mezcla de la reacción se calentó cuidadosamente a una temperatura que iba desde 55 a 65° C, y se agitó a esta temperatura durante 16-20 horas. Después de la finalización de la reacción, la mezcla de la reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se transfirió en porciones a una solución de 5% de carbonato de potasio acuoso. Cuando se completó la adición, la lechada obtenida se agitó durante otras 1-2 horas. El producto bruto se recogió por filtración, y la torta de de filtración húmeda se transfirió a un reactor de 200 L.

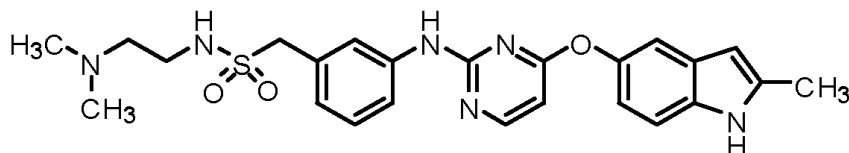
Al reactor, se le añadió tolueno (104 Kg), y la suspensión se calentó a reflujo para eliminar el agua por una trampa Dean-Stark. Después de la eliminación del agua, la solución se concentró a un volumen final de 30-40 L bajo presión reducida, se enfrió a 15-20° C. se recogió el producto y se secó para proporcionar el producto del título (Compuesto de Fórmula A, 1,07 Kg). Este material puede ser usado después para producir formas nuevas del compuesto de Fórmula A, como la Forma I y/o la Forma II.

Ejemplo 2

Estudios in vitro de la actividad de inhibición de la quinasa de KDR

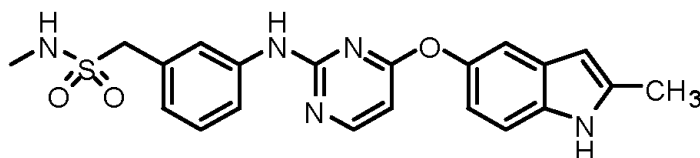
Compuestos probados:

-*N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida (Compuesto de Fórmula A)



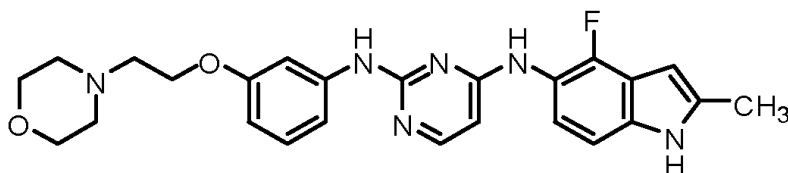
Formula A

-*N*-metil-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida (Compuesto de Fórmula B)



Formula B

-*N*⁴-(4-fluor-2-metil-1*H*-indol-5--il)-*N*²-(3-(2-morfolinoeto)fenil)pirimidina-2,4-diamina (Compuesto de Fórmula C)



Formula C

La actividad de inhibición de la quinasa KDR de los anteriores tres compuestos se probó usando el kit de ensayo Z-Lyte.

Materiales y Método:

El péptido Z'-LYTE™ Tyr1 (Invitrogen, Cat. PV3190) se usa para probar la actividad inhibitoria de la quinasa KDR de los tres compuestos anteriores. El sistema de prueba contiene 300 ng/mL del dominio catalítico de KDR humano recombinante, 10 μM de ATP, q μM de péptido del sustrato, y un compuesto de prueba a una serie de diferentes concentraciones en una placa de 384 pocillos (Thermo Labsystems, Cat. 7805); el volumen total es 10 μL. La inhibición enzimática procede a temperatura ambiente (25° C) durante 1 hora en el agitador, seguido por la

adición de 5 µL de potenciador y la incubación durante 1 hora adicional a temperatura ambiente en el agitador. Se añadieron 5 µL de solución de parada a la reacción. La actividad de inhibición de la quinasa de KDR de un compuesto de prueba se calcula en base al método recomendado por el fabricante. Los valores de IC₅₀ de la actividad de inhibición de la quinasa de KDR se calculan usando software XLfit.

Método de Ensayo

(1) Dilución de los compuestos de prueba: cada uno de los tres compuestos anteriores se disuelve en DMSO para preparar 10 µM de solución madre y se almacena en congelador a -20° C. La solución madre se diluye a la concentración cuatro veces de la concentración de prueba deseada con un 8% de DMSO antes del uso.

(2) 1.33 x tampón de ensayo: Diluir 5 x tampón de ensayo con agua destilada en 1.33 x tampón de ensayo.

(3) Dilución del dominio catalítico de quinasa de KDR (KDR CD): Diluir las existencias originales de KDR CD con 1.33 x tampón de ensayo 10 veces. Alicuotar en 5 µL/vial y almacenar a -80° C. Se debe evitar descongelación y congelación repetidos.

(4) Mezcla quinasa/sustrato: añadir existencias de KDR CD y péptido Tyr1 en 1.33 x tampón de ensayo, para obtener una mezcla que contiene 0,6 ng/µL de KDR CD y péptido Tyr1 diluido 250 veces. Mantener la mezcla en hielo hasta el uso.

(5) Mezcla para pocillo C3 de control: diluir el sustrato de fosfo-péptido en 1.33 x tampón de ensayo 250 veces. Mezclar cuidadosamente y mantener en hielo.

(6) Solución de ATP: Diluir 10 mM de solución madre de ATP en agua destilada 250 veces. Se obtienen 40µM de solución de ATP y se alicuotan en 100 µL/vial y se almacenan a -20° C.

(7) Inhibición de quinasa: Añadir los siguientes componentes sucesivamente en una placa de 384 pocillos. Los pocos duplicados se prueban para cada concentración de cada compuesto de prueba y se usa el valor medio para el cálculo.

a) Añadir 2,5 µL de compuesto de prueba diluido obtenido del paso (1) en todos los pocillos excepto para los pocillos de control C1, C2 y C3. Añadir 2,5 µL de 8% de DMSO en lugar de la solución del compuesto de prueba en los pocillos de control C1, C2 y C3.

b) Añadir 5 µL de la mezcla de quinasa-sustrato obtenida del paso (4) en todos los pocillos, incluyendo los pocillos de control C1 y C2, pero no el C3. Se añaden 5 µL de la mezcla de C3 derivada del paso (5) en el pocillo de control C3.

c) Añadir 2,5 µL de de la solución de 40 µM de ATP obtenida del paso (6) en todos los pocillos incluyendo el pocillo C2 pero no el C1 y C3. Se añaden 2,5 µL de del 1.33 x tampón de ensayo en los pocillos de control C1 y C3 en lugar de la solución de ATP.

d) La placa se centrifuga brevemente a 1000 rpm para hacer que todos los componentes de la reacción sedimenten en el pocillo. Sellar la placa con lámina de aluminio y permitir que la reacción proceda a temperatura ambiente (25° C) durante 1 hora en el agitador (250 rpm).

e) Dilución de la solución potenciadora (justo antes del uso): de acuerdo con la recomendación del fabricante, diluir existencias del potenciador con tampón de dilución de desarrollo 128 veces.

f) Potenciación de fluorescencia: añadir 5µL/pocillo de la solución potenciadora diluida en todos los pocillos, girar brevemente a 1000 rpm, sellar de nuevo la placa y dejar que proceda la reacción a temperatura ambiente durante una hora adicional en el agitador.

g) Añadir 5 µL/pocillo de solución de parada a todos los pocillos, girar brevemente a 1000 rpm. Mezclar a temperatura ambiente durante 2 minutos en el agitador, y leer las señales de fluorescencia en el Victor3 (Perkin Elmer) a excitación de 400 nm, emisión 445 nm/530 nm.

Cálculo de la actividad de inhibición de quinasa de KDR:

(1) Cálculo de ER (Relación de Emisión):

$$\text{Relación de Emisión} = \frac{\text{Emisión de cumarina (445 nm)}}{\text{Emisión de Fluoresceína (520 nm)}}$$

(2) Cálculo de tasa de fosforilación (%)

$$\% \text{ de Fosforilación} = 1 - \frac{(\text{Tasa de Emisión} \times F_{100\%}) - C_{100\%}}{(C_{0\%} - C_{100\%}) + [\text{Tasa de Emisión} \times (F_{100\%} - F_{0\%})]}$$

en donde:

Relación de Emisión = Relación de Cumarina/Fluoresceína de los pocillos de la muestra
 $C_{100\%}$ = Señal de emisión de Cumarina Media del 100% del Control de Fos. (C3, 445 nm)
 $C_{0\%}$ = Señal de emisión de Cumarina Media del 0% del Control de Fos. (C1, 445 nm)
 $F_{100\%}$ = Señal de emisión de Fluoresceína Media del 100% del Control de Fos. (C3, 520 nm)
 $F_{0\%}$ = Señal de emisión de Fluoresceína Media del % del Control de Fos. (C1, 520 nm)

En base a las condiciones de ensayo anteriores, se determinó la actividad de inhibición de la quinasa de KDR de los compuestos de Fórmula A, B y C

Resultados: Los IC_{50} de la actividad de inhibición de la quinasa de KDR para los compuestos de Fórmula A, B, C son 0,021 μ M, 0,038 μ M y 0,111 μ M, respectivamente.

Ejemplo 3

Estudios in vitro de la actividad de inhibición de la quinasa de FGFR1

Se usa la tecnología Transcreeper FP de Bellbrook Labs en el ensayo de actividad de la quinasa de FGFR1. La reacción de quinasa se hizo en una placa negra de superficie media de 96 pocillos (Greiner, Cat. 675076). En cada pocillo, se añadieron 5 μ L de los compuestos de prueba en 5% de DMSO, 10 μ L de 0,3 ng/ μ L quinasa de FGFR1 (Invitrogen, PV3146) diluidos en tampón de ensayo. La reacción se comenzó por la adición de 10 μ L de 62,5 ng/ μ L sustrato de poli (Glu:Tyr, 4:1) (Sigma, P0275) y 25 μ mol/L de mezcla de ATP y se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente. Las condiciones finales para el ensayo de quinasa fueron 10 μ M de ATP, 0,12 ng/ μ L de quinasa de FGFR1, 25 ng/ μ L de sustrato, 53,6 mmol/L de HEPES (pH 7,5), 21,6 mmol/L de $MgCl_2$, 0,536 mmol/L de $MnCl_2$, 1 mmol/L de DTT y 0,01% de Triton X-100, 1% de DMSO.

Al mismo tiempo, se realizó una curva estándar de ADP. La curva estándar imita una reacción de quinasa en ausencia de compuesto de prueba, quinasa y sustrato lípido. La curva estándar contenía 12 puntos de concentración, y el total [ATP-ADP] varió de 10 μ M a 0,01 μ M. Se añadieron 5 μ L de 5% de DMSO y 10 μ L de tampón de ensayo en lugar del compuesto de prueba para la quinasa de FGFR1, respectivamente. Otras condiciones fueron las mismas que las descritas anteriormente.

Después de reaccionar durante 60 minutos a temperatura ambiente, se añadieron 25 μ L del reactivo del Kit de quinasa transcreeper - Mezcla de Detección de ADP (Bellbrook Labs) y se reaccionaron durante 1,0 hora adicionales. Las placas se leyeron después en un Tecan Infinite F500 a una excitación de 610 nm y una emisión de 670 nm. La curva estándar se creó usando software Origin 8.0. La inhibición del compuesto de prueba en la producción de ADP se calculó en base a la concentración de ADO calculada de la curva estándar. El IC_{50} se obtuvo usando el software Xlfit 2.0.

Resultados

Compuesto	IC_{50} (μ M)
Compuesto de Fórmula A	0.053

Ejemplo 4: Ensayo hERG

4.1 Cultivo celular

Se usó para el estudio una línea celular de CHO transfectada establemente con hERG ADNc y que expresaba canales de hERG. Las células se cultivaron en un medio que comprendía:

Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM/F12)
 10% (v/v) de suero bovino fetal inactivado por calor (FBS)
 1% (v/v) penicilina/estreptomicina
 500 μ g/ml de reactivo Geneticin® (G418)

Antes de probarlas, las células fueron recolectadas usando un Accumax (Innovative Cell Technologies).

Para los registros electrofisiológicos, se usaron las siguientes soluciones:

4.2 Solución

Tabla: Composición de soluciones interna y externas usadas en parche hERG

	abrazadera	estudios	
5	Reactivo	Solución externa (mM)	Solución Interna (mM)
	CaCl ₂	1.8	-
	MgCl ₂	1.0	1
	KCl	4	130
	NaCl	137	-
10	Glucosa	10	-
	HEPES	10	10
	EGTA	-	5
	ATP	-	5
15	pH	7.4 (ajustado con NaOH), Osmolaridad ~280 mOsm	7.25 (ajustado con KOH), osmolaridad ~280 mOsm

4.3 Sistema de Registro

Se realizó registro celular completo usando un 700B (Axon Instruments). Las células fueron fijadas a un voltaje a un potencial de retención de -80 mV. La corriente de hERG se activo despolarizando a +20 mV durante 2 segundos, después de lo cual la corriente se llevó de vuelta a -50 mV durante 2 segundos para eliminar la inactivación y observar la corriente de cola de desactivación. El primer paso a -50 mV se usó como una línea de base para medir la amplitud del pico de la corriente de cola.

4.4 Manejo del Compuesto y diluciones

El compuesto de prueba se preparó como una solución madre de DMSO de 10 mM en un vial de cristal. La solución madre se mezcló vigorosamente durante 10 minutos a temperatura ambiente. La solución madre se diluyó en un vial de cristal usando Solución externa; la dilución se preparó no más de 30 minutos antes del uso. Al final de la dilución había presentes cantidades iguales de DMSO (0,1%).

4.5 Procedimientos de electrofisiología

Después de conseguir la configuración celular completa, las células se monitorizaron durante 60 segundos para evaluar la estabilidad y se lavaron con solución externa durante 66 segundos. El protocolo de voltaje descrito anteriormente se aplicó entonces a las células cada 20 segundos a lo largo del procedimiento completo. Solo se permitió que entrasen en el procedimiento de prueba del compuesto las células estables con parámetros de registro por encima del umbral.

Se aplicó a las células solución externa que contenía 0,1% de DMSO (vehículo) para establecer la línea de base. Después de permitir que la corriente se estabilizase durante 3 minutos, se aplicó el compuesto de prueba. La solución del compuesto de prueba se añadió en 4 pasos y las células se mantuvieron en la solución de prueba hasta que el efecto del compuesto alcanzó un estado estable o durante un máximo de 6 minutos. Posteriormente, se añadió el control positivo (10 nM de Cisaprida). Se realizó lavado con solución externa hasta que la recuperación de la corriente alcanzó un estado estable.

4.6 Análisis de Datos

Los datos se analizaron usando Clampfit /ambos de Axon Instruments) y Origin 7 (Originlab Corporation).

El compuesto de Fórmula C inhibió las corrientes de hERG con un IC₅₀ de 0,547 uM, mientras que el compuesto de Fórmula A inhibió el hERG con un IC₅₀ de 6,8 uM.

Ejemplo 5: Estudio de Farmacocinéticas (PK)

Método Experimental: Las farmacocinéticas de los compuestos de prueba se estudiaron con ratones ICR macho (n=6 para cada grupo, peso 20~30 g) después de una dosificación intravenosa (i.v.) y oral (p.o) única a 2,5 y 10 mg/kg, respectivamente. Para la formulación de dosificación i.v., el compuesto de prueba se disolvió en DMSO (0,25%)-soluto (10%) -etanol(10%)-solución salina fisiológica (79,75%) a la concentración de 0,25 mg/mL. Y la formulación de dosificación p.o. (1 mg/mL) se preparó con 0,5% de CMC-Na. Después de la dosificación i.v. o p.o., se recogieron las muestras de sangre a través de la vena oftálmica a 0 (pre-dosis), 5, 15, 30 minutos y 1, 1,5, 2, 4, 8, 24 horas, anti-coaguladas con heparina-Na. Después de la centrifugación, las muestras de plasma se separaron y se precipitó la proteína con acetonitrilo (conteniendo estándar interno). La concentración de los compuestos de prueba en estas muestras de plasma fue después determinada por LC/MS/MS.

Resultados: Después de la dosificación oral de 10 mg/kg. El AUC y Cmax del Compuesto B fueron de 26 ng/mL.h y 20 ng/mL, respectivamente. En la misma dosis oral (10 mg/kg), el AUC y Cmax del Compuesto A fueron 397 ng/mL.h y 138 ng/mL, respectivamente. Como se puede observar, el compuesto de Fórmula A mostro exposiciones de plasma mucho más altas, como AUC y Cmax más altas, que el Compuesto B después de la administración oral en el ratón.

Los siguientes ejemplos 6-10 muestran procesos diferentes para la preparación de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Preparación de la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Ejemplo 6

El compuesto de Fórmula A (151 mg) se disolvió en 3 mL de etanol con calentamiento y agitación. La solución se filtró en caliente para eliminar las partículas insolubles. El filtrado se calentó después durante otros 5 minutos para obtener una solución clara y después se enfrió lentamente a temperatura ambiente con agitación. A temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 4 horas adicionales a una velocidad de agitación media (100 rpm). Los precipitados se recogieron por filtración y se secaron a 60° C durante 2 horas bajo vacío, para proporcionar un polvo cristalina blanco (Forma I, 136 mg), mp (DSC): 166-168.2° C.

El difractograma de rayos X de polvo de la Forma I obtenido se muestra en la Figura 1. Tiene picos (2 θ) elegidos de los que tienen alrededor de los siguientes valores: 7,1, 8,0, 8,7, 11,1, 11,8, cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2 θ), en donde los picos característicos (2 θ) se identifican como 7,1, 8,0 y 8,7.

La prueba de DSC mostró que el intervalo de fusión de la Forma I obtenida era de 166,6-168,2° C.

Ejemplo 7

El compuesto de Fórmula A (152 mg) se disolvió en 3 mL de acetonitrilo con calentamiento y agitación. El calentamiento y agitación se mantuvieron hasta que se obtuvo la disolución completa. Las partículas insolubles se eliminaron por filtración en caliente. El filtrado se sometió a reflujo durante 5 minutos para obtener una solución clara, y después se dejó que enfriase a temperatura ambiente por sí mismo con agitación a velocidad de agitación media (100 rpm).

Después de que la suspensión se hubo agitado durante otras 2 horas, los precipitados se recogieron por filtración y se secaron a 60° C en horno de vacío durante 4 horas para dar el producto de la Forma I (113 mg, rendimiento 74,3%).

El difractograma de rayos X de polvo es esencialmente el mismo que para el de la Forma I obtenido en el Ejemplo 5.

Ejemplo 8

El compuesto de Fórmula A (141,8 mg) se disolvió en 8 mL de tolueno con calentamiento y agitación. El calentamiento y agitación se mantuvieron hasta que se obtuvo la disolución completa. Se dejó después que enfriase a temperatura ambiente por sí mismo con agitación a velocidad de agitación media (100 rpm). Después de que la suspensión se hubo agitado durante otras 2 horas, los precipitados se recogieron por filtración y se secaron a 60° C en horno de vacío durante 4 horas para dar el producto de la Forma I (86 mg).

El difractograma de rayos X de polvo es esencialmente el mismo que para el de la Forma I obtenido en el Ejemplo 5.

Ejemplo 9

El compuesto A (150 mg) se disolvió en 2,5 mL de acetona con calentamiento y agitación. Las partículas insolubles se eliminaron por filtración en caliente. El filtrado se sometió a reflujo durante 5 minutos para obtener una solución clara. Después se le añadieron 2,5 mL de agua a la solución. Después de la adición, se dejó que la solución enfriase a temperatura ambiente por sí misma con agitación a velocidad de agitación media (100 rpm).

La suspensión se agitó durante 4 horas. Los precipitados se recogieron por filtración y se secaron a 60° C en horno de vacío para dar el producto de la Forma I (123 mg). Punto de fusión (medido por DSC): 165.6-167.5° C.

El difractograma de rayos X de polvo es esencialmente el mismo que para el de la Forma I obtenido en el

Ejemplo 5.

Ejemplo 10

El compuesto de Fórmula A (180,3 mg) se disolvió en 6.0 mL de metanol con calentamiento y agitación. El calentamiento y agitación se mantuvieron hasta que se obtuvo la disolución completa. Las partículas insolubles se eliminaron por filtración en caliente. El filtrado se sometió a reflujo durante 5 minutos para obtener una solución clara. A esta solución se le añadió lentamente heptano (6,0 mL). Después de la adición, la mezcla se concentró hasta el volumen final de 10 mL y después a temperatura ambiente por sí misma.

Los precipitados se recogieron por filtración y se secaron a 60° C en horno de vacío para dar el producto de la Forma I (118 mg).

El difractograma de rayos X de polvo es esencialmente el mismo que para el de la Forma I obtenido en el Ejemplo 6.

Los siguientes ejemplos 11-12 muestran procesos diferentes para la preparación de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Preparación de la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Ejemplo 11

El Compuesto a (2,4 g) se disolvió en 35 ml de acetona con calentamiento y agitación. La agitación y el calentamiento se mantuvieron hasta que se obtuvo una disolución completa. Las partículas insolubles se eliminaron por filtración en caliente. El filtrado se sometió a reflujo durante 5 minutos para obtener una solución clara. Se añadió después heptano (20 mL) a la solución con agitación. Después de que se completó la adición, fue rápidamente enfriada a 0-5° C con agitación. A esta temperatura, la mezcla se agitó durante otras 4 horas.

Los precipitados se recogieron por filtración y se secaron a 60° C durante 2 horas en un horno de vacío para dar el producto de la Forma II (2,0 g, rendimiento 83,3%), mp (DSC); 160,3-161,6° C.

El difractograma de rayos X de polvo de la Forma II obtenido se muestra en la Figura 5. Tiene picos (2θ) elegidos de los que tienen alrededor de los siguientes valores: 6,8, 9,8,10,5,10,7, 13,6, 15,0, cada uno de los ángulos de difracción siendo ±0,2 grados (2θ), en donde los picos característicos (2θ) se identifican como 6,8, 9,8, 10,5 y 10,7.

Ejemplo 12

El Compuesto A (17 g) se disolvió en 425 mL de etanol con calentamiento y agitación. La agitación y el calentamiento se mantuvieron hasta que se obtuvo una disolución completa. Las partículas insolubles se eliminaron por filtración en caliente. El filtrado se sometió a reflujo durante 5 minutos para obtener una solución clara. la solución se enfrió a 50° C y se le añadió 0,34 g (2% p/p) de sembrados de la Forma II. Después de la adición, se dejó que enfriase a temperatura ambiente por sí misma. La mezcla se agitó durante otras 4 horas a temperatura ambiente y los precipitados se recogieron por filtración, se secaron a 60° C en horno de vacío para dar 15 g del producto de la Forma II de cristal, rendimiento 88,0%.

El difractograma de rayos X de polvo fue esencialmente el mismo que el del producto de la Forma II obtenido en el Ejemplo 11.

Las mediciones de DSC mostraron que la temperatura de inicio de la Forma II obtenida fue en 160,3° C, y apareció un pico en 161,6° C.

Ejemplo 13

Estudios de Higroscopicidad de la Forma I y la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

Se probó la higroscopicidad de los productos de la Forma I y la Forma II con el método de solución de sal saturada.

Se pesaron alrededor de 1 g de muestras de la Forma I y la Forma II con precisión respectivamente, y las muestras se pusieron en un desecador que contenía solución de NaCl saturada. El desecador se cerró y se dejó reposar durante 10 días a 25° C. Después se sacaron las muestras y se pesaron de nuevo, y se calculó la ganancia

de peso.

material	Día 0	10 días	
	Forma	Forma	Peso ganado (% p/p)
Muestra de la Forma I	I	I	<0.1%
Muestra de la Forma II	II	II	<1%

Se descubrió que la muestra de la Forma I era no higroscópica, y su ganancia de peso bajo un 92,5% de RH fue menor del 0,1%. Se descubrió que la muestra de la forma era ligeramente higroscópica con menos de un 1% de ganancia de peso. Se analizaron las muestras de la Forma I y la Forma II después de la prueba por un difractómetro de rayos X y se descubrió que los difractogramas eran comparables a los de la Figura 1 y la Figura 5 respectivamente.

Los resultados de la prueba de higroscopicidad indicaron que tanto la Forma I como la forma II son estables bajo las condiciones de humedad de la muestra, y la ligera absorción superficial de humedad no cambia las formas cristalinas. Y por lo tanto, tanto la Forma I como la Forma II se pueden usar en productos farmacéuticos para las aplicaciones descritas en la presente.

Ejemplo 14

Comparación de estabilidad termodinámica

Se agitó una suspensión de la mezcla de la Forma I y la Forma II en metanol a 60° C durante 20 horas. Después la suspensión se filtró con un embudo Buchner y disco de papel, y se seco en un horno de vacío. La muestra seca fue después analizada por un difractograma de rayos X de polvo, y el difractograma se encontró comparable al de la Figura 1.

Los picos de difracción característicos de la Forma II no se encontraron en el difractograma de rayos X obtenido, indicando que la Forma II en la suspensión se transformó en la Forma I durante el proceso de lechada, y la Forma I era física y/o termodinámicamente más estable que la Forma II bajo las condiciones de transformación.

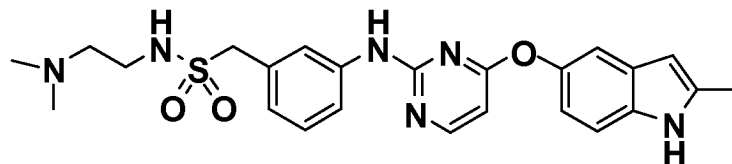
La Forma I puede por lo tanto ser también preparada por la transformación de la Forma II en solventes adecuados.

Resultados:

- La Forma I es estable tanto bajo condiciones de alta humedad y en solventes de recristalización, y puede ser preparada a una escala industrial,
- La Forma II puede ser usada como un intermediario para preparar la Forma I, que puede ser usada como una forma cristalina en estado sólido adecuada en una dosificación farmacéutica. Y la Forma II también puede ser usada en una dosificación farmacéutica debido a su buena estabilidad.

Reivindicaciones

1. *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo)-metanosulfonamida.



Formula A

y/o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

2. La Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo)-metanosulfonamida, que tiene

(a) un difractograma de rayos X de polvo que tiene picos (2 θ) que tienen alrededor de los siguientes valores:

7,0, 8,0 y 8,6 cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2 θ); y/o

(b) un espectro de FT-IR que muestra picos en alrededor de 2781.4, 1218.2, 1163.1, 1124.5, 1114.8, 1085.7, 984.9, 705.0, 500.7 y 434.8 cm^{-1} ; y/o

(c) un DSC con picos endotérmicos en alrededor de 167-169° C.

3. La Forma I de la reivindicación 2, en donde la Forma I está sustancialmente libre de la forma amorfa del compuesto de Fórmula A y también sustancialmente libre de la Forma II del compuesto de Fórmula A.

4. Un método para preparar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo)-metanosulfonamida, que comprende:

(1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida de la Fórmula A con al menos un solvente orgánico de disolución, después calentar la mezcla a reflujo para obtener la solución;

(2) enfriar la solución a temperatura ambiente; y

(3) aislar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

5. El método de la reivindicación 4, en donde el al menos un solvente orgánico de disolución se elige de alcoholes y solventes apróticos.

6. El método de la reivindicación 5, en donde los alcoholes se eligen de metanol, etanol e isopropanol.

7. Un método para preparar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo)-metanosulfonamida, que comprende:

(1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida con al menos un solvente de disolución, después calentar la mezcla a reflujo para obtener una primera solución;

(2) añadir al menos un solvente orgánico anti-disolución a la primera solución a temperatura de reflujo para obtener una segunda solución;

(3) dejar que la segunda solución enfríe a temperatura ambiente; y

(4) aislar la Forma I de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida.

8. El método de la reivindicación 7, en donde el al menos un solvente de disolución se elige de metanol, etanol, acetona, acetonitrilo, y *N,N*-dimetilformamida.

9. El método de la reivindicación 7, en donde el al menos un solvente anti-disolución se elige de agua, heptano, hexano y acetato de etilo.

10. El método de la reivindicación 7, en donde la proporción de volumen del al menos un solvente de disolución con el al menos un solvente anti-disolución varía de 1:3 a 5:1.

11. La Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenilo)-metanosulfonamida, que tiene

- a) un difractograma de rayos X de polvo que tiene picos (2θ) que tienen alrededor de los siguientes valores: 6,8, 9,8, 10,5 y 10,7 cada uno de los ángulos de difracción siendo $\pm 0,2$ grados (2θ); y/o
 (b) un espectro de FT-IR que muestra picos en alrededor de 2770.3, 1216.3, 1166.3, 1115.8, 1089.8, 986.5, 872.5, 695.5, 520.5, 456.0 cm^{-1} ; y/o
 (c) un DSC con picos endotérmicos en alrededor de 160-162° C.

12. La Forma II de la reivindicación 11, en donde la Forma II está sustancialmente libre de la forma amorfa del compuesto de Fórmula A y también sustancialmente libre de la Forma I del compuesto de Fórmula A.

13. Un método para preparar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida, que comprende:

- (1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida con al menos un solvente de disolución, y calentar la mezcla a reflujo para obtener una primera solución;
- (2) añadir al menos un solvente orgánico anti-disolución a la primera solución a temperatura de reflujo para obtener una segunda solución;
- (3) enfriar la segunda solución a 0-5°C a una velocidad de enfriamiento de 1-40° C/minuto; y
- (4) aislar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)meta-nosulfonamida.

14. Un método para preparar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino)etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida, que comprende:

- (1) mezclar *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)metanosulfonamida con al menos un solvente de disolución, y calentar la mezcla a reflujo para obtener una solución;
- (2) enfriar la solución; después sembrar dicha solución enfriada con la Forma II;
- (3) enfriar la solución sembrada a temperatura ambiente; y
- (4) aislar la Forma II de *N*-(2-(dimetilamino) etil)-1-(3-((4-((2-metil-1*H*-indol-5-il)oxi)pirimidin-2-il)amino)fenil)-metanosulfonamida.

15. El método de la reivindicación 14, en donde la solución se enfría lentamente a 45-55° C.

16. El método de la reivindicación 14, en donde la solución sembrada se enfría lentamente a temperatura ambiente.

17. El método de la reivindicación 13 o 14, en donde el al menos un solvente de disolución se elige de alcoholes y solventes apróticos.

18. El método de la reivindicación 17, en donde los alcoholes se eligen de metanol y etanol.

19. El método de la reivindicación 5 ó 17, en donde los solventes apróticos se eligen de acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, tolueno, diclorometano, y *N,N*-dimetilformamida.

20. Una composición farmacéutica, que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 11.

21. Un compuesto para su uso en el tratamiento de un sujeto con necesidad reconocida de tratamiento para al menos un trastorno relacionado con al angiogénesis, en donde el compuesto se elige del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A.

22. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 21, en donde el al menos un trastorno relacionado con al angiogénesis se elige de cáncer y degeneración macular asociada con la edad.

23. Un compuesto para su uso en el tratamiento de un sujeto con necesidad reconocida de tratamiento para al menos una enfermedad responsable de la inhibición de FGFR1, en donde el compuesto se elige del compuesto de Fórmula A y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y las Formas I y II del compuesto de Fórmula A, en donde la al menos una enfermedad responsable de la inhibición de FGFR1 se elige de cánceres.

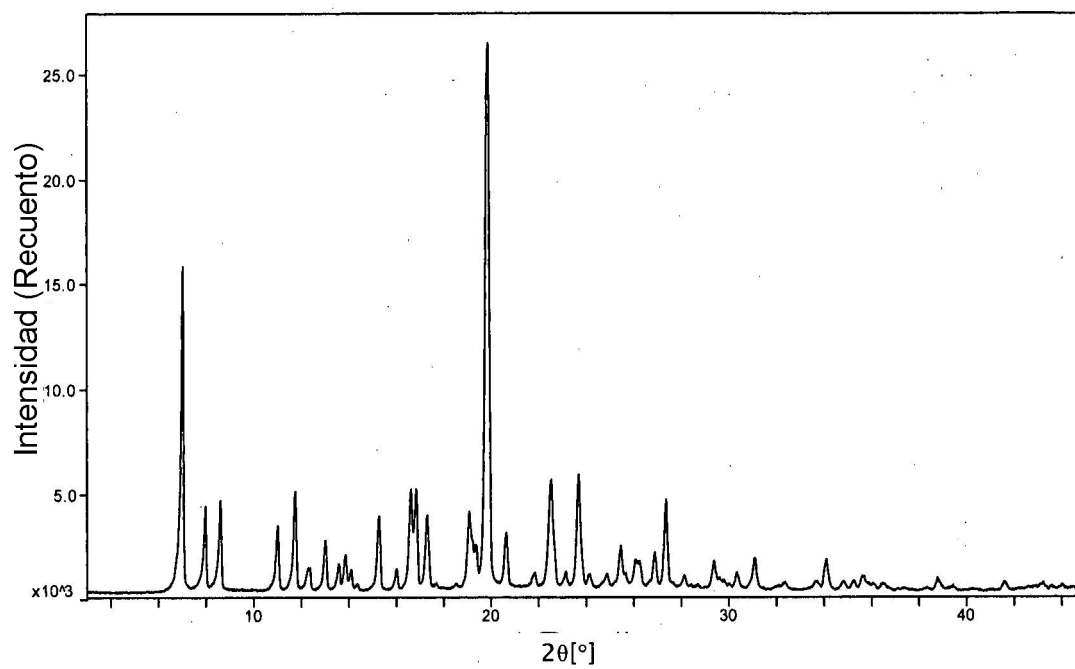


Figura 1: XRPD de la Forma I

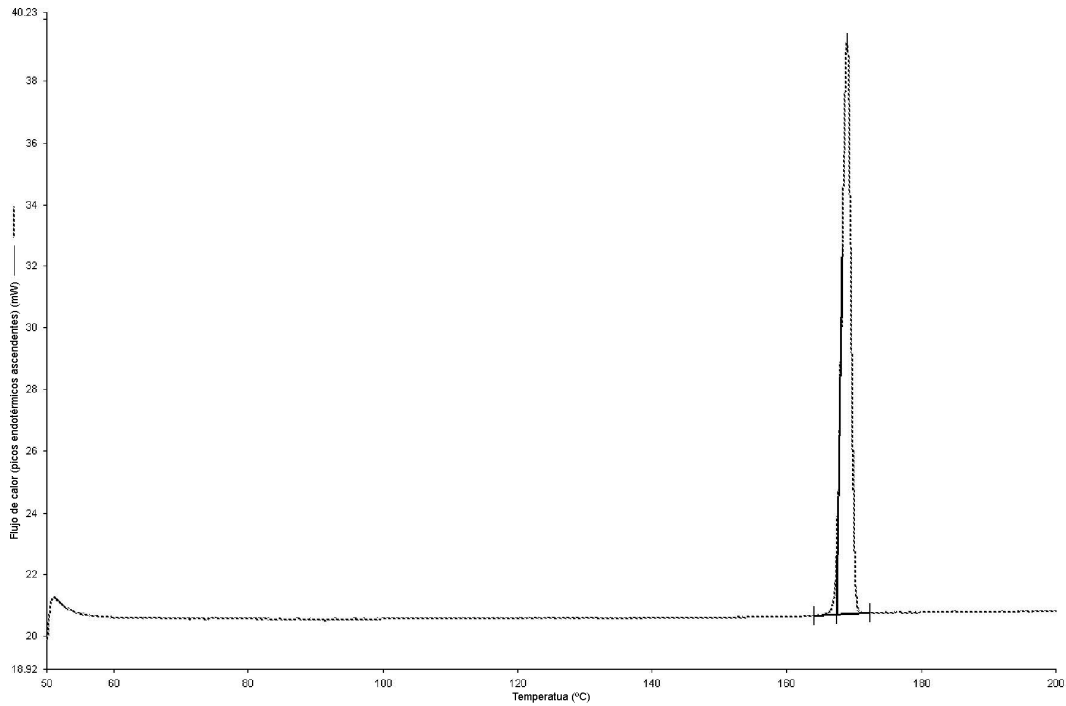


Figura 2 : Termograma de Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC) de la Forma I

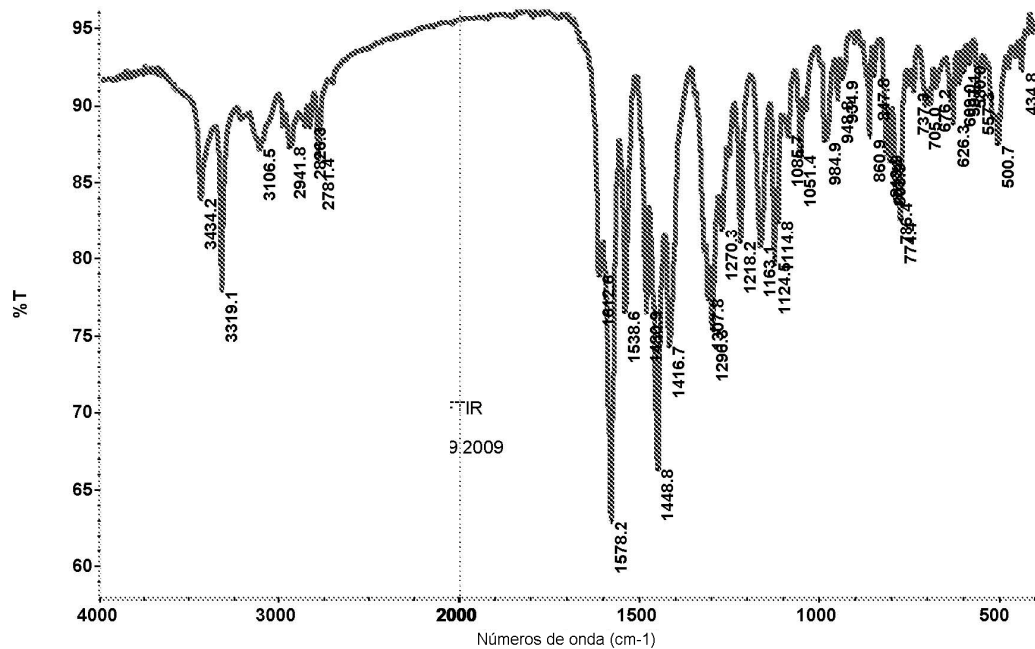


Figura 3: Espectro Infrarrojo de la Transformada de Fourier (FT-IR) de la Forma I

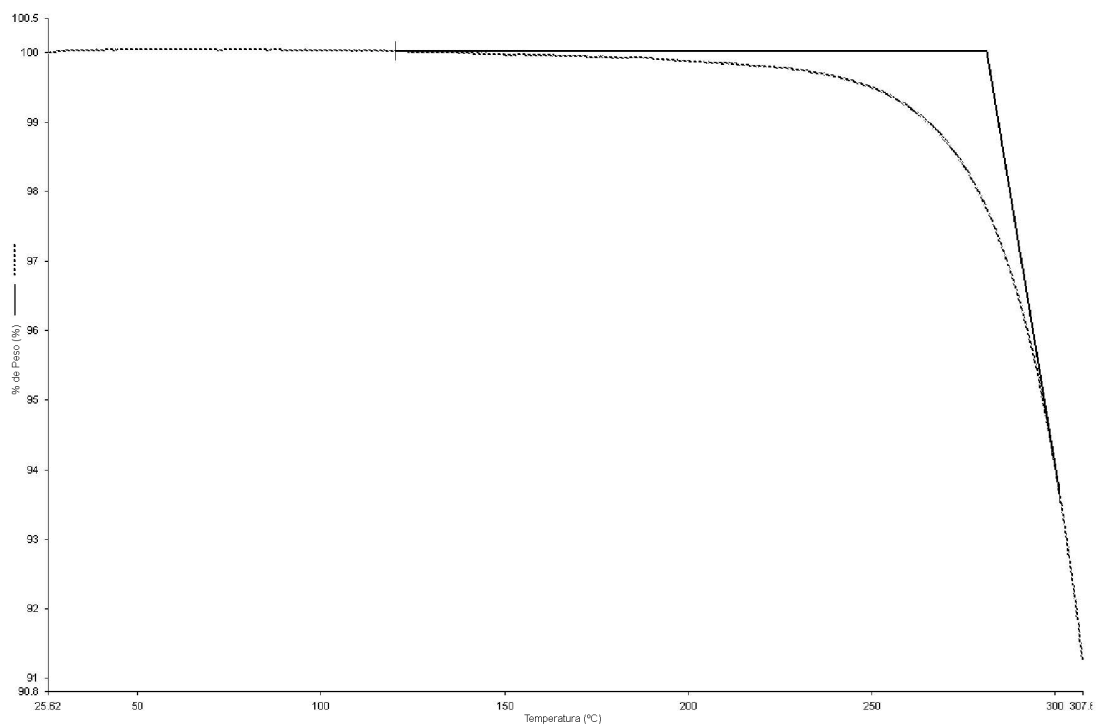


Figura 4: Curva Termogravimétrica (TG) de la Forma I

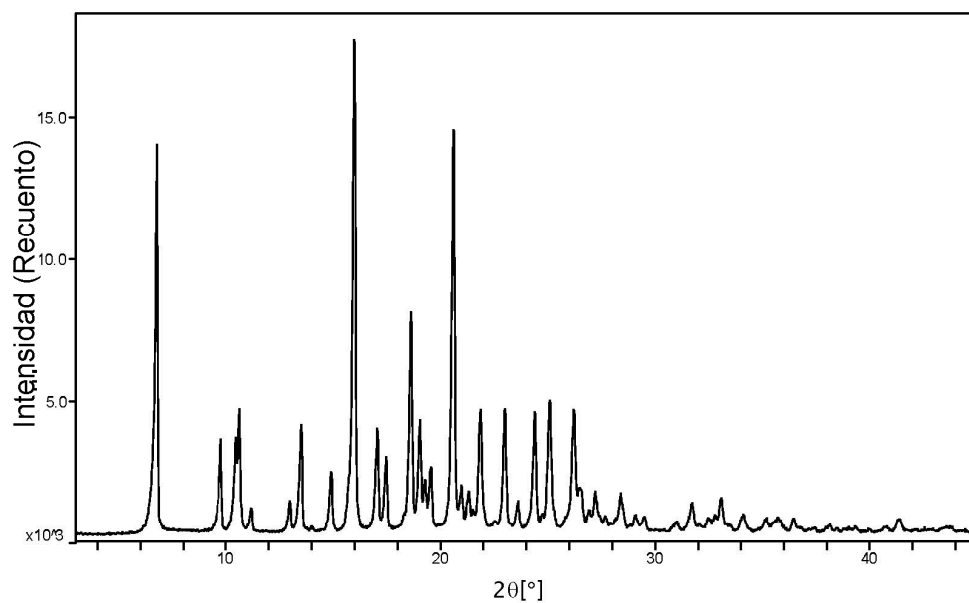


Figura 5: XRPD de la Forma II

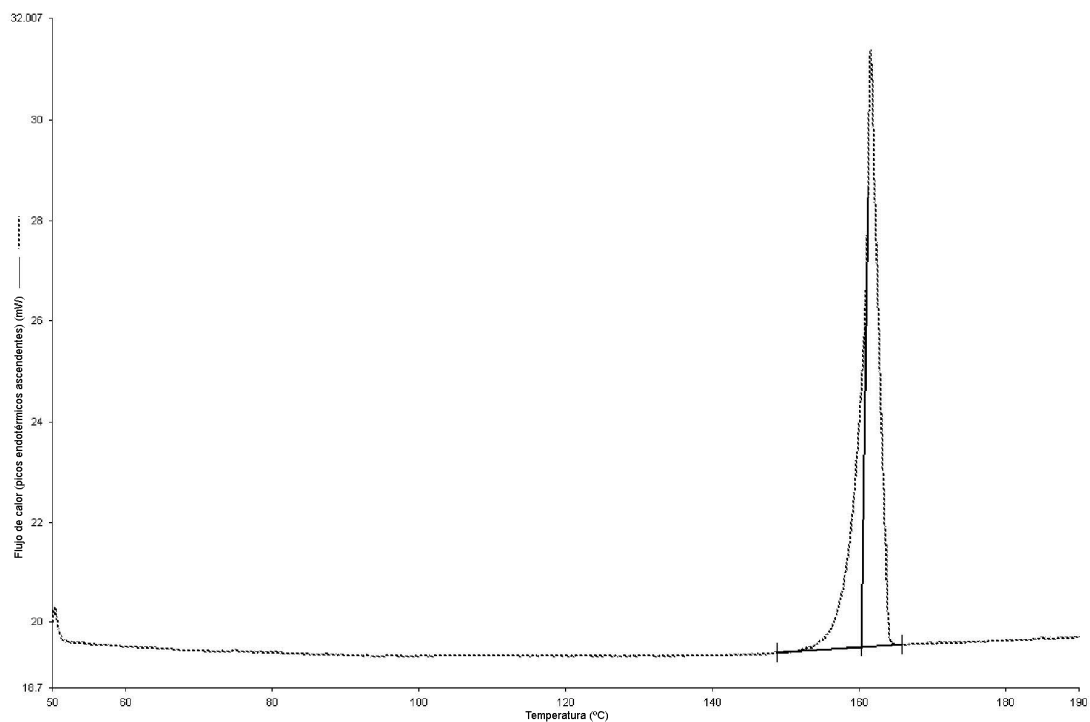


Figura 6: Termograma de Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC) de la Forma II

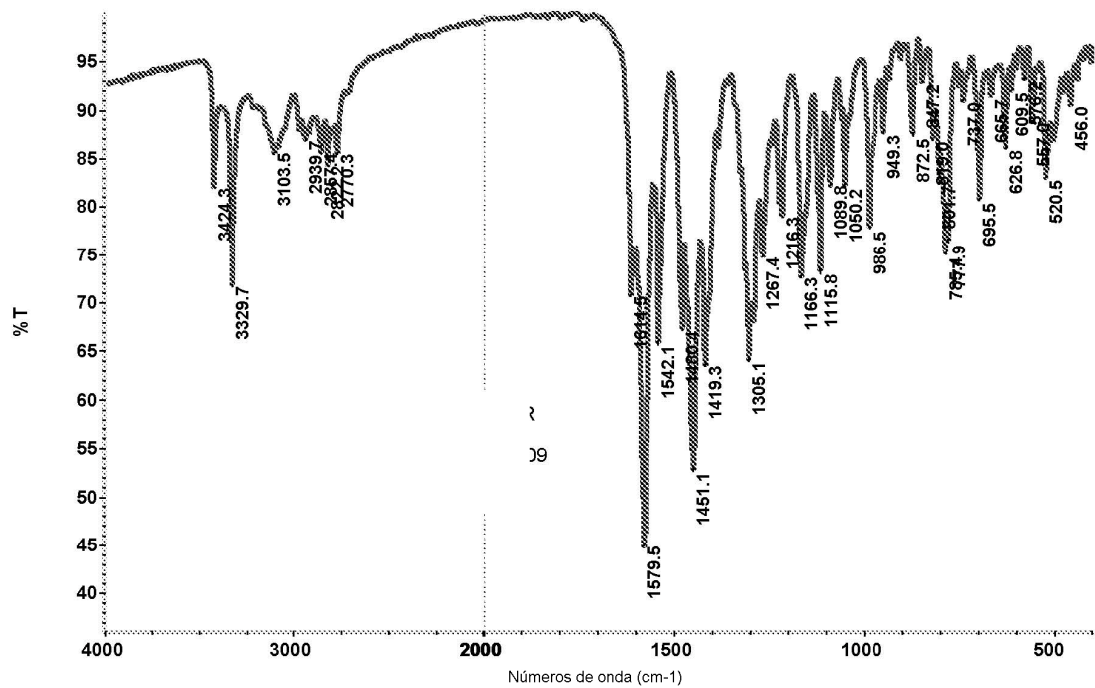


Figura 7: Espectro de Infrarrojo de la Transformada de Fourier (FT-IR) de la Forma II

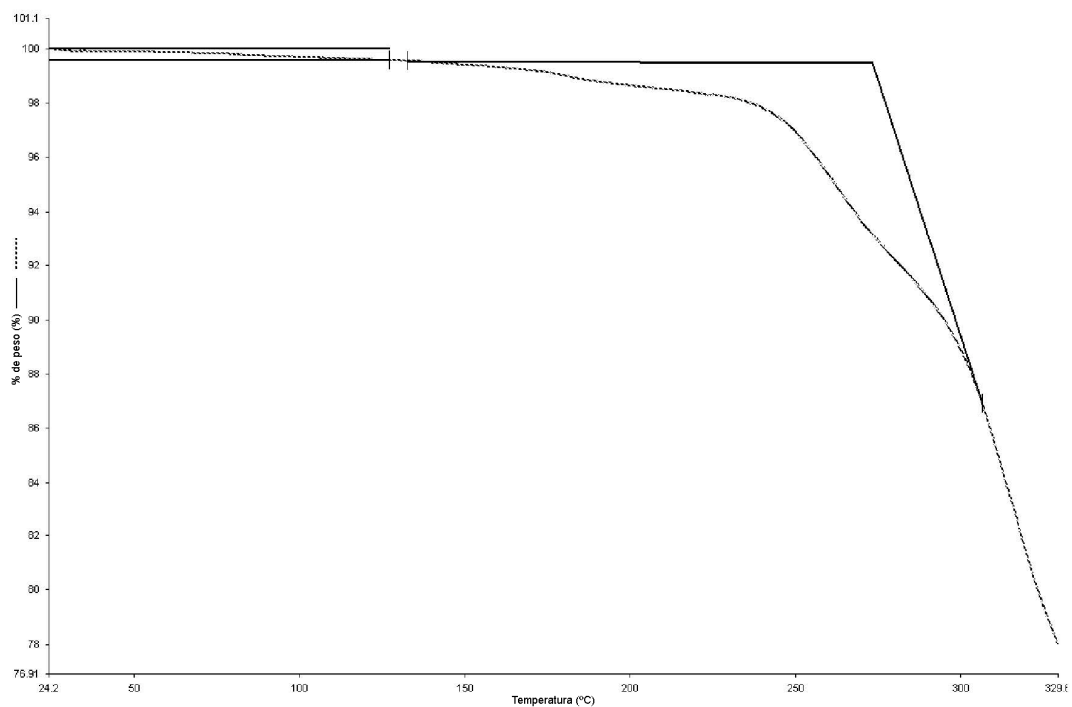


Figura 8: Curva Termogravimétrica (TG) de la Forma II