

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 098**

51 Int. Cl.:

**C07D 403/04** (2006.01)

**A61K 31/506** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2010 E 10774212 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2015 EP 2499128**

54 Título: **Sales cristalinas inhibidoras de CDC7**

30 Prioridad:

**11.11.2009 EP 09175648**

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

**14.08.2015**

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)  
11 Viale Pasteur, 10 P.O. Box 11  
20014 Nerviano (MI), IT**

72 Inventor/es:

**ZAMPIERI, MASSIMO;  
VANOTTI, ERMES;  
CIVAROLI, PAOLA y  
FORNARETTO, MARIA GIOIA**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 543 098 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Sales cristalinas inhibidoras de CDC7

5 La presente invención se refiere a nuevas sales cristalinas de maleato de un inhibidor de CDC7 o de CDC7/CDKs, a un proceso para su preparación, a su uso en terapia y a composiciones farmacéuticas que las contienen.

10 El documento WO 2007110344, presentado en nombre del presente solicitante, describe y reivindica heteropentaciclos, procesos para su preparación, composiciones farmacéuticas que los comprenden y su uso como agentes terapéuticos, particularmente en el tratamiento del cáncer y de trastornos de proliferación celular. Son compuestos representativos de heteropentaciclos, opcionalmente en la forma de sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo:

15 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-fenil-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-o-tolil-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(4-fluoro-2-metil-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,3-dimetil-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,3-difluoro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 20 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,5-difluoro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2-cloro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2-cloro-4-fluoro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,4-dicloro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 25 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2-fluoro-4-metil-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,3-dicloro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico;  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2-fluoro-3-metoxi-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico y  
 amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2-fluoro-4-cloro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico.

30 Dichos compuestos están dotados de actividad inhibidora de proteína cinasa y, más particularmente, de actividad inhibidora de CDC7 o CDC7/CDKs. Los compuestos son también activos como inhibidores de otras proteína cinasas y por tanto son eficaces en el tratamiento de enfermedades asociadas con otras proteína cinasas.

Más específicamente, dichos compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de una variedad de cánceres y de trastornos de proliferación celular.

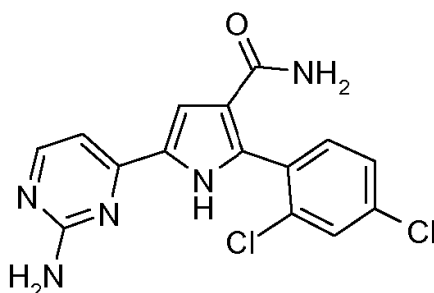
35 Estos compuestos, y análogos de los mismos, pueden ser preparados por ejemplo como se describe en la solicitud de patente WO 2007110344 mencionada anteriormente.

40 Sin embargo, la solicitud de patente mencionada anteriormente divulga únicamente algunas sales específicas de los compuestos utilizados como ejemplo en la misma y no se describe ninguna referencia a ninguna forma cristalina de base libre o sal.

45 Actualmente se ha encontrado de forma inesperada que algunas sales específicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto específico descrito en la misma, presentan diversas ventajas sobre la forma de base libre conocida y, adicionalmente, se ha encontrado inesperadamente que tales sales presentan una combinación única de buenas propiedades de formulación que las hace particularmente adecuadas en la preparación de formulaciones farmacéuticas.

50 De hecho, aunque el compuesto específico descrito en la misma es igual de eficaz que la base libre, en la práctica puede ser mejor administrado en la forma cristalina de la sal de algunos ácidos o de la base libre.

Por tanto, es un objeto de la invención proporcionar, en un primer aspecto, sales de maleato cristalinas específicas de uno de los compuestos descritos en la solicitud de patente mencionada anteriormente de la fórmula:



55

y con el nombre químico:

amida del ácido 5-(2-amino-pirimidin-4-il)-2-(2,4-dicloro-fenil)-1H-pirrol-3-carboxílico o  
1H-pirrol-3-carboxamida, 5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(2,4-diclorofenil).

En la presente solicitud, a menos que se especifique de otra forma, este compuesto está codificado como NMS-E354.

Por tanto, la presente invención se refiere a las formas cristalinas de la sal de maleato del compuesto NMS-E354.

La preparación de NMS-E354 se describe en la Solicitud de Patente Internacional WO 2007110344 mencionada anteriormente. En particular, NMS-E354 se prepara como base libre de acuerdo con el procedimiento sintético del Ejemplo 19, etapa 3 de esa solicitud, donde esencialmente un derivado de ácido carboxílico adecuado se condensa con una forma activada de amoniaco para dar la amida deseada. Tal derivado de ácido carboxílico, a su vez, se prepara de acuerdo con un procedimiento del Ejemplo 19, etapas 1 y 2, que comprende el acoplamiento de una halocetona con un beta-cetoéster, una reacción de Hantzsch y una hidrólisis.

Un proceso alternativo para la preparación de NMS-E354 se describe en la Solicitud de Patente Internacional WO 2009 133170 en nombre del presente solicitante, etapa IV del Ejemplo 1, comprendiendo la hidrólisis de un derivado nitrilo adecuado en condiciones ácidas y el subsiguiente tratamiento con una base.

NMS-E354 como base libre es un compuesto poco soluble en agua, que presenta una solubilidad acuosa inferior a 0,01 mg/ml. La solubilidad de la base libre NMS-E354 es aproximadamente 4 mg/ml en polisorbato 80 al 10% en una solución de dextrosa al 5%, aproximadamente 7 mg/ml en polietilenglicol 400 acuoso al 50% en una solución de dextrosa al 5% y aproximadamente 1-2 mg/ml cuando se formula como sal clorhidrato o fosfato *in situ*. La base libre NMS-E354 también era adecuada para suspensiones acuosas de hipromelosa a aproximadamente 10 mg/ml. Por tanto, la base libre obtenida se formuló inicialmente como solución acuosa basada en codisolvente, como sal *in situ* o suspensión de hipromelosa para permitir la administración durante la evaluación farmacológica y toxicológica inicial en los estudios farmacológicos preliminares.

Aunque se solucionó el problema de la estrategia de formulación inicial, las estrategias de formulación aplicadas no eran adecuadas para el desarrollo de una formulación oral apropiada para el uso terapéutico final deseado en clínica.

La absorción de humedad es una preocupación importante en los polvos farmacéuticos. La humedad ha mostrado tener un impacto importante, por ejemplo, en las propiedades físicas, químicas y de fabricación de fármacos, excipientes y formulaciones. También es un factor clave en la toma de decisiones relacionadas con el embalaje, almacenamiento, manejo y periodo de caducidad y un desarrollo exitoso requiere una sólida comprensión de las propiedades higroscópicas.

Por ejemplo, la conversión de una forma anhidra en un hidrato se puede observar cuando la humedad relativa supera un nivel crítico y el contenido en humedad aumenta rápidamente en el sólido. Esto no sólo tiene un impacto sobre las propiedades físicas y farmacéuticas del fármaco per se, sino también en su perspectiva biofarmacéutica. Además, es sobradamente conocido que las formas hidrato usualmente tienden a ser menos solubles que una forma anhidra homóloga, con un potencial efecto de detrimento también de las propiedades de velocidad de disolución del compuesto activo per se y de su perfil de absorción a través del tracto gastrointestinal. De la misma forma, se puede observar la conversión de una forma cristalina en una amorfa en presencia de humedad, con desventajas potenciales en términos de estabilidad física. El fármaco activo amorfo, si es deliquescente, puede absorber por ejemplo cantidades relativamente grandes de agua de la atmósfera hasta su disolución mientras que su estabilidad química también se puede ver afectada dado que la estructura amorfa, al ser activa termodinámicamente, tiene mayor tendencia a la degradación química y a la interacción química con otras especies químicas. De esta manera, el rendimiento y la eficacia tanto del ingrediente activo como de la formulación, pueden verse significativamente alterados.

Las sales suelen mostrar frecuentemente una mayor higroscopicidad que la base libre.

Adicionalmente, para obtener el efecto terapéutico deseado, los fármacos deben tener un buen comportamiento farmacocinético, en particular deben mostrar buena bio-disponibilidad. La bio-disponibilidad captura dos características esenciales, concretamente la concentración máxima en plasma (C<sub>max</sub>) y la exposición sistémica (AUC). Como es bien conocido por el experto en la materia, la concentración máxima en plasma representa la cantidad de la concentración nominal del fármaco que entra en el cuerpo (extensión de la absorción); la exposición sistémica es la rapidez con la que el fármaco entra en la circulación sistémica (velocidad de absorción). Dado que el efecto terapéutico es función de la concentración del fármaco en la sangre del paciente, estas dos propiedades de las formas de dosificación no-intravenosa son, en principio, importantes para identificar la respuesta a una dosis de fármaco. La biodisponibilidad después de dosis orales puede variar también por causa de factores relacionados con el paciente, tales como la naturaleza y hora de las comidas, edad, enfermedades, rasgos genéticos y fisiología

gastrointestinal.

En consecuencia, había una gran necesidad en la terapia de una forma de NMS-E354 dotada de una mejor solubilidad en agua, baja higroscopicidad y buenas, así como reproducibles, propiedades biofarmacéuticas que permitan una administración más segura y eficaz en comparación con la base libre.

Como es bien conocido por el experto en la materia, la formación de la sal no implica siempre una mejora de las características de solubilidad (véase por ejemplo: Shozo Miyazaki, y col. International Journal of Pharmaceutics 1980; 6(1), 77-85) y además el comportamiento de las diferentes sales en términos de solubilidad y/o disolución y/o sensibilidad al efecto del contraíón puede ser diferente según las propiedades de cada pareja fármaco-contraíón.

Sorprendentemente, los presentes inventores han resuelto el problema técnico descrito anteriormente mediante la aportación de nuevas sales así como nuevas formas cristalinas de sales de NMS-E354, que tienen mejores propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas.

De hecho, las nuevas sales son sólidos cristalinos, de rápida disolución con alta solubilidad en agua; además, estas sales son moderadamente o poco higroscópicas, introduciendo esencialmente así importantes ventajas en el manejo, almacenamiento y formulación etc.; finalmente, estas sales tienen un perfil farmacocinético sorprendentemente mejor que el de la base libre y además poseen todas las demás ventajas, particularmente ventajas terapéuticas, exhibidas por la base libre cuando se formula como sal in situ o suspensión en methocel.

Sorprendentemente, se encontró y demostró que las nuevas formas de sales de NMS-E354, así como de la base libre, eran cristalinas. Inesperadamente, las sales de la presente invención son de baja higroscopicidad, comparable a la de la base libre conocida.

Por consiguiente, los presentes inventores han resuelto los problemas técnicos descritos previamente mediante la aportación de nuevas formas cristalinas de sales de NMS-E354, así como de formas cristalinas de la base libre, que tienen mejores propiedades fisicoquímicas. De hecho, las nuevas sales son sólidos cristalinos, no higroscópicos con una adecuada solubilidad en agua y que introducen sustancialmente importantes ventajas en el manejo, almacenamiento y formulaciones etc., además de poseer todas las demás propiedades favorables, particularmente, propiedades terapéuticas favorables mostradas por la base libre cuando se formula como una solución acuosa basada en co-disolvente, como una sal in situ o como una suspensión de hipromelosa.

La propiedad de ser polvos cristalinos hace que estas formas sean particularmente adecuadas para el desarrollo farmacéutico.

### Breve descripción de los dibujos

La invención está ilustrada también en referencia a los dibujos adjuntos descritos a continuación.

La Fig.1 muestra el difractograma de rayos-X de la base libre de NMS-E354 forma I (A), y de las sales hemifumarato forma I (B), maleato forma I (C), clorhidrato forma I (D), mesilato forma I (E), sulfato forma I (F), L-aspartato forma I (G), L-tartrato forma I (H), fosfato forma I (I), preparadas de acuerdo con los ejemplos 1 a 3. El gráfico del difractograma de rayos-X representa ángulos 2-theta (grados) en el eje x mientras que la intensidad (CPS) se representa en el eje y.

La Fig.2 muestra los difractogramas de rayos-X de la base libre de NMS-E354 forma I (A), como referencia y preparado de acuerdo con el ejemplo 1; de sales maleato forma I (B), hemifumarato forma I (C), mesilato forma I (D), sulfato forma I (E), preparadas de acuerdo con el ejemplo 4. El gráfico del difractograma de rayos-X representa el ángulo 2-theta (grados) en el eje x mientras que la intensidad (CPS) se representa en el eje y.

La Fig.3 muestra el difractograma de rayos-X de la sal maleato forma I de NMS-E354 preparada de acuerdo con el ejemplo 5. El gráfico del difractograma de rayos-X representa el ángulo 2-theta (grados) en el eje x mientras que la intensidad (CPS) se representa en el eje y.

La Fig.4 muestra los termogramas de DSC (Calorimetría de barrido diferencial) de la base libre forma I (A) de NMS-E354 cristalina, y de las sales hemifumarato forma I (B), maleato forma I (C), clorhidrato forma I (D), mesilato forma I (E), sulfato forma I (F), L-aspartato forma I (G), L-tartrato forma I (H), fosfato forma I (I), preparadas de acuerdo con los ejemplos 1 a 3. El termograma representa la temperatura (°C) en el eje x mientras que el flujo de calor normalizado (W/g) se representa en el eje y.

La Fig.5 muestra los termogramas de DSC de la base libre forma I (A) de NMS-E354, preparada de acuerdo con el ejemplo 1, y de las sales maleato forma I (B), hemifumarato forma I (C), mesilato forma I (D), sulfato forma I (E), preparadas de acuerdo con el ejemplo 4. El termograma representa la temperatura (°C) en el eje x mientras que el flujo de calor normalizado (W/g) se representa en el eje y.

La Fig.6 muestra el termograma de DSC de la sal maleato forma I de NMS-E354 preparada de acuerdo con el ejemplo 5. El termograma representa la temperatura (°C) en el eje x mientras que el flujo de calor (W/g) se representa en el eje y.

Se encontró que las nuevas formas cristalinas de la sal maleato de NMS-E354 de la presente invención son cristalinas, haciendo estas formas particularmente adecuadas para el desarrollo farmacéutico.

5 Dichas sales de NMS-E354 se pueden obtener mediante métodos análogos conocidos mediante la adición estequiométrica deseada de disolvente o soluciones acuosas del contraión a la base libre disuelta en un disolvente adecuado. Dicho disolvente es agua o un disolvente orgánico, anhidro en particular, preferiblemente elegido entre metanol, etanol y sus mezclas. Si es necesario, la precipitación o cristalización de la sal obtenida se puede favorecer mediante la adición o reprocesado en un disolvente apolar anhidro, como por ejemplo éter dietílico, n-hexano o ciclohexano.

10 En particular, una alícuota de base libre de NMS-E354 se puede disolver a temperatura ambiente en una cantidad adecuada de disolvente adecuado, obteniendo una concentración nominal deseada. Después, la formación de la sal se puede llevar a cabo mediante la adición de las cantidades apropiadas de los contraiones a la solución de base libre de NMS-E354 preparada de tal forma a la misma temperatura. Las cristalizaciones se realizan mediante el enfriamiento y el mantenimiento subsiguiente de la solución en reposo durante los tiempos adecuados. La base libre utilizada como material de partida puede ser preparada como se cita en las Solicitudes Internacionales anteriormente mencionadas, o como una forma cristalina (I) tal y como se describe a continuación.

15 Los precipitados obtenidos se recogen mediante filtración al vacío y se secan. Para favorecer la cristalización, las soluciones se pueden concentrar opcionalmente mediante evaporación. Se puede llevar a cabo un paso adicional de re-cristalización (p.ej. triturando el compuesto en un disolvente apolar tal como el éter dietílico) para aislar la forma cristalina deseada.

20 La identificación química de NMS-E354 y de su contraión ácido se puede realizar mediante <sup>1</sup>H-RMN.

25 Otro objeto de la invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 como se define arriba, como ingrediente activo y un excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable.

30 Otro objeto de la invención es proporcionar una forma cristalina de la sal maleato de NMS-E354 como se define anteriormente para su uso como un medicamento.

35 Otro objeto de la invención es proporcionar una forma cristalina de la sal maleato de NMS-E354 como se define anteriormente para su uso en el tratamiento de un mamífero, incluyendo seres humanos, que sufre de algún estado patológico tratable.

40 La presente invención también divulga un método para el tratamiento de un mamífero, incluyendo seres humanos, que necesita la inhibición de CDC7 o CDC7/CDKs, que comprende la administración a dicho mamífero de una cantidad terapéuticamente efectiva de una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 como se define anteriormente.

45 Adicionalmente, la presente invención describe una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 como se define anteriormente, para el tratamiento de un mamífero, incluyendo seres humanos, que sufre de algún estado patológico tratable, lo que significa desórdenes de proliferación celular como cáncer, infecciones virales, enfermedades auto-inmunes y desórdenes neurodegenerativos. Consiguientemente, una forma cristalina de la sal maleato de NMS-E354 como se define anteriormente, bien sola o bien en asociación con otros agentes terapéuticos, es útil para el tratamiento de un mamífero, incluyendo seres humanos, que sufre de algún estado patológico tratable, o en la preparación de un medicamento para dicho tratamiento.

50 Por lo tanto, la presente invención divulga también el uso de una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 como se define anteriormente, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un estado patológico tratable.

55 El término "estado patológico tratable" significa que el tratamiento de acuerdo con la invención proporciona remisión o estabilización del estado de enfermedad o al menos una mejora de las condiciones y calidad de vida del mamífero bajo tratamiento. Más específicamente, los compuestos de esta invención son útiles en el tratamiento de una variedad de cánceres incluyendo, pero no limitado a: carcinoma tal como carcinoma de vejiga, mama, colon, recto, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula biliar, ovario, páncreas, estómago, cérvix, tiroides, próstata y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de estirpe linfóide, incluyendo leucemia, leucemia linfoblástica aguda y crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de Burkitt y mieloma múltiple; tumores hematopoyéticos de estirpe mieloide, incluyendo leucemias mielógenas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico; tumores de origen mesenquimático, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannoma; otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xerodermia pigmentaria, queratinoxantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

65

Debido al rol clave de las proteína cinasas, y en particular de CDC7 o CDKs, en la regulación de la proliferación celular, estos heteropentaciclos también son útiles en el tratamiento de una variedad de desórdenes de proliferación celular tales como, por ejemplo, hiperplasia benigna de próstata, adenomatosis familiar, poliposis, neurofibromatosis, psoriasis, proliferación de células vasculares lisas asociada con aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis, glomerulonefritis y, estenosis y reestenosis postoperatoria.

La dosis eficaz de sales cristalinas y de base libre de NMS-E354 puede variar de acuerdo con la enfermedad, severidad del desorden y las condiciones del paciente a tratar. Por lo tanto, como siempre, el médico debe determinar la dosis óptima para cada paciente. De todos modos, el intervalo de dosis eficaz puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 1000 mg por dosis, desde 1 a 10 veces al día, preferiblemente de aproximadamente 20 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup>/día (calculado como base libre), bien como dosis individual o dividido en múltiples dosis diarias. Por ejemplo, el compuesto se puede administrar oralmente durante siete o catorce días consecutivos cada dos o tres semanas respectivamente.

Una forma cristalina, solvato o hidrato de cualquier sal o base libre de NMS-E354 como se define anteriormente, preferiblemente de la sal maleato o sulfato, incluso más preferentemente de la sal maleato, se absorbe oralmente de forma fácil, por lo tanto, es preferible su administración oral. Huelga decir que los compuestos de la presente invención se pueden administrar también por cualquier otra vía de administración, por ejemplo, vía parenteral, tópica, rectal y nasal.

Las sales maleato de NMS-E354 preferidas son sustancias que muestran un comportamiento de baja higroscopicidad y alto punto de fusión. Las sales de NMS-E354 muestran una solubilidad en agua mejorada en comparación con la base libre, por ejemplo, la solubilidad de las sales maleato y sulfato en solución de NaCl al 0,9% es respectivamente de 0,07 a 0,15 mg/ml.

Además de la ventaja de presentar una solubilidad en agua mejorada, las sales de NMS-E354, en particular las sales maleato y sulfato, son particularmente adecuadas también para su fabricación de forma reproducible con una relación clara ácido/base.

Este descubrimiento hace a estas sales particularmente adecuadas para su uso en formulaciones líquidas para formulaciones intravenosas así como orales.

**Tabla 1 - Propiedades de estado sólido de formas cristalinas de sales representativas y de la base libre de NMS-E354.**

Forma cristalina de NMS-E354	PXR D		Picos significativos de PXR D (2-theta, grados) (**)	Fig. DSC
	Fig.	Tabla		
Sal maleato*	1C, 2B, 3	2	5,8,10,6, 12,6, 14,7, 16,1, 16,6, 17,4, 21,2, 22,6, 23,7, 25,0, 25,2, 25,6, 27,9, 32,2	4C, 5B, 6
Sal sulfato*	1F, 2E	3	12,0, 12,3, 16,2, 16,7, 18,5, 20,5, 21,8, 23,4, 24,8, 25,3, 26,5, 28,1, 28,8, 31,1, 38,7	4F, 5E
Sal mesilato*	1E, 2D	4	12,4, 16,5, 19,0, 19,7, 20,0, 21,9, 22,2, 23,8, 24,5, 25,0, 25,4, 25,9, 28,1, 34,1, 38,6	4E, 5D
Sal hemifumarato*	1B, 2C	5	3,6, 7,3, 12,5, 13,1, 14,5, 16,7, 19,3, 22,2, 22,9, 25,3, 26,4, 27,6, 28,0, 28,7, 39,3	4B, 5C
Base libre	1A, 2A	6	7,1, 11,7, 14,1, 15,2, 15,5, 17,3, 20,2, 20,7, 21,2, 23,1, 23,4, 25,3, 26,0, 28,5, 30,9	4A, 5A
Nota *: Forma I, si no se especifica de otra forma, las sales descritas están previstas en una relación molar 1:1 entre la base libre y el contraión.				
Nota **: Los picos PXR D (el significado se aclara más adelante) declarados se han seleccionado de acuerdo con su intensidad más alta entre el conjunto completo de datos descritos en la tabla de PXR D especificada.				

Las referencias en la 2<sup>a</sup> y 5<sup>a</sup> columnas están formadas por:

- el número de las figuras de PXR D y DSC pertinentes
- una letra mayúscula que identifica la curva si es que hay más de una en las figuras.

El mismo tipo de referencia se utiliza en toda la presente memoria descriptiva, a menos que se especifique de otra forma. En una realización preferida, la forma I de la sal maleato esencialmente pura 1:1 de NMS-E354 muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la Fig. 3.

También se otorga una alta preferencia por la forma I de la sal maleato 1:1 de NMS-E354 que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la Fig. 3, con intensidades de pico significativas a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 1 anterior.

En muestras libres de cualquier material adicional (otras formas cristalinas, excipientes), debiera ser posible observar picos de difracción a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 2 más adelante.

5 En otra realización preferida, la forma I de la sal sulfato esencialmente pura 1:1 de NMS-E354 muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la Fig. 2E.

10 También se otorga una alta preferencia por la forma I de la sal sulfato 1:1 de NMS-E354 que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la Fig. 2E, con intensidades de pico a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 1 anterior. En muestras libres de cualquier material adicional (otras formas cristalinas, excipientes), debiera ser posible observar picos de difracción a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 3 más adelante.

15 En otra realización preferida, la forma I de la sal mesilato esencialmente pura 1:1 de NMS-E354 muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la Fig. 2D.

20 También se otorga una alta preferencia por la forma I de la sal mesilato 1:1 de NMS-E354 que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la Fig. 2D, con intensidades de pico a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 1 anterior. En muestras libres de cualquier material adicional (otras formas cristalinas, excipientes), debiera ser posible observar picos de difracción a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 4 más adelante.

25 En otra realización preferida, la forma I de la sal hemifumarato esencialmente pura 1:1 de NMS-E354 muestra un diagrama de difracción de rayos-X indicado en la Fig. 2C.

30 También se otorga una alta preferencia por la forma I de la sal hemifumarato 1:1 de NMS-E354 que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la Fig. 2C, con intensidades de pico a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 1 anterior. En muestras libres de cualquier material adicional (otras formas cristalinas, excipientes), debiera ser posible observar picos de difracción a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 5 más adelante.

En otra realización preferida, la forma I cristalina de la base libre esencialmente pura 1:1 de NMS-E354 muestra el diagrama de difracción de rayos-X indicado en la Fig. 2A.

35 También se otorga una alta preferencia por la forma I de la base libre 1:1 de NMS-E354 que muestra un diagrama de difracción de rayos-X del tipo mostrado en la Fig. 2A, con intensidades de pico a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 1 anterior.

40 En muestras libres de cualquier material adicional (otras formas cristalinas, excipientes), debiera ser posible observar picos de difracción a aproximadamente los valores de 2-theta (grados) descritos en la tabla 6 más adelante.

45 Esencialmente puro significa que las formas cristalinas de la presente invención tienen una pureza de al menos 90%. Más preferiblemente, las formas cristalinas de la presente invención tienen una pureza de al menos 95%, y más preferiblemente al menos el 99% en peso de los cristales de sal una adición de ácidos o de base libre de NMS-E354 están presentes en la forma cristalina de la presente invención.

#### Solubilidad de las sales cristalinas de NMS-E354 y de la base libre

50 La determinación de solubilidad de sales de NMS-E354 ha sido realizada de acuerdo al siguiente procedimiento: cantidades conocidas de sales cristalinas de NMS-E354 o de base libre se agitaron durante 4 horas a temperatura ambiente en una solución al 0,9% de NaCl, en condiciones de exceso de sólido considerando una concentración objetivo de 10 mg/ml. Las preparaciones obtenidas se filtraron y se analizaron mediante HPLC. Los resultados se especifican en la Tabla 1a a continuación.

55 **Tabla 1a – Solubilidad de las formas cristalinas de sales representativas y de la base libre de NMS-E354**

Forma cristalina de NMS-E354	Valor de solubilidad en agua
Sal maleato	0,07 mg/ml
Sal sulfato	0,15 mg/ml
Sal mesilato	0,12 mg/ml
Sal hemifumarato	0,02 mg/ml
Base libre	<0,01 mg/ml

Resultados analíticos mediante Difracción de Polvo de Rayos-X (PXRD)

Las sales de NMS-E354 se caracterizaron por difracción de rayos-X de polvo realizada utilizando un aparato Thermo/ARL XTRA, irradiando muestras de polvo con una fuente de  $\text{CuK}\alpha$  (45 kV, 40 mA, 1,8 kW - radiación  $\text{K}\alpha_1$ , longitud de onda  $\lambda = 1,54060$  Angstrom) entre  $5^\circ$  y  $40^\circ$  de 2-theta, a temperatura ambiente.

La velocidad de barrido fue de  $1,20^\circ/\text{min}$  ( $0,020^\circ$  de paso con un tiempo de conteo de 1 segundo por paso). En los difractogramas de rayos-X, los ángulos de difracción 2-theta se representaron en el eje horizontal (eje-x) y la línea de intensidad en el eje vertical (eje-y).

En los párrafos que definen los picos de difracción de rayos-X del polvo para las formas cristalinas de las sales y la base libre de NMS-E354, el término 'aproximadamente a' se utiliza en la expresión '...aproximadamente a los ángulos 2-theta en la tabla...' para indicar que la posición precisa de los picos (p. ej. los valores recitados de 2-theta) no se deben interpretar como valores absolutos porque, como se podrá apreciar por el experto en la materia, la posición precisa de los picos puede variar ligeramente entre una máquina y otra, entre diferentes muestras, o como resultado de pequeñas variaciones en las condiciones de medición.

También se menciona en los párrafos precedentes que las formas cristalinas de las sales y de la base libre de NMS-E354 proporcionan patrones de difracción de polvo de rayos-X 'sustancialmente' iguales a los patrones de difracción de polvo de rayos-X mostrados en las Figuras 1, 2 y 3, tienen sustancialmente los picos más prominentes en valores de ángulo 2-theta mostrados en las tablas 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Se podrá apreciar que con el uso del término 'sustancialmente' en este contexto se pretende indicar que los valores del ángulo 2-theta de los patrones de difracción de polvo de rayos-X pueden variar ligeramente de una máquina a otra, de una muestra a otra, o como resultado de pequeñas variaciones en las condiciones aplicadas en la medición, con lo que las posiciones mostradas de los picos en las figuras o mencionadas en las tablas tampoco se pueden interpretar como valores absolutos.

A este respecto, es conocido en la técnica que un patrón de difracción de polvo de rayos-X se pueden obtener con uno más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tales como la preparación de la muestra, equipo o máquina utilizada). En particular, es de conocimiento general que las intensidades en un patrón de difracción de polvo de rayos-X pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición y la preparación de la muestra.

Por ejemplo, las personas expertas en la materia de la difracción de polvo de rayos-X se darán cuenta que la intensidad relativa de los picos puede verse afectada, por ejemplo, por tamaño de grano por encima de 50 micras y por relaciones aspectos no unitarias, que pueden afectar el análisis de muestras.

La persona experta en la materia se dará cuenta de que la posición de reflexión puede verse afectada por la altura precisa a la que descansa la muestra en el difractómetro y la calibración del cero del difractómetro.

La planitud de la superficie de la muestra también puede tener un pequeño efecto.

Por consiguiente, una persona experta en la materia podrá apreciar que los datos de patrones de difracción presentados aquí no se deben interpretar como absolutos (para más información, véase "Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization", Pecharsky y Zavalij, Kluwer Academic Publishers, 2003). Por lo tanto, se debería entender que la forma cristalina de las sales y la base libre de NMS-E354 descritas en la presente invención no está limitada a los cristales que proporcionan un patrón de difracción de polvo de rayos-X idéntico a los patrones de difracción de polvo de rayos-X mostrados en las Figuras 1, 2 y 3, y que cualesquiera cristales que proporcionen patrones de difracción de polvo de rayos-X sustancialmente iguales a los mostrados en las Figuras 1, 2 y 3 están dentro del ámbito de la presente invención.

Una persona experta en la materia de la difracción de polvo de rayos-X es capaz de juzgar la identidad sustancial de patrones de difracción de polvo de rayos-X.

Generalmente, un error de medición de un ángulo de difracción en un difractograma de polvo de rayos-X es de aproximadamente 2-theta = 0,5 grados o menos (o, más adecuadamente, aproximadamente 2-theta = 0,2 grados o menos) y este grado de error de medición debe ser tenido en cuenta cuando se consideran los patrones de difracción de polvo de rayos-X de la Figuras 1, 2 y 3, y cuando se interpretan las posiciones de los picos referidos tanto en el texto como en las tablas 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

Por lo tanto, donde se menciona, por ejemplo, que las sales y la base libre de NMS-E354 tienen un patrón de difracción de rayos-X con al menos un pico específico de aproximadamente 2-theta = 5,3 grados (o cualquier otro de los ángulos mencionados), entonces esto se puede interpretar como 2-theta = 5,3 grados más o menos 0,5 grados, o 2-theta = 5,3 grados más o menos 0,2 grados.

Los ángulos 2-theta de los picos principales de difracción de rayos-X de las sales de maleato, sulfato, mesilato, hemifumarato y clorhidrato y la base libre de NMS-E354 se describen en la tabla 1 anterior, mientras que los



conjuntos de datos completos se presentan en las tablas 2, 3, 4, 5 y 6.

**Tabla 2 - Sal maleato de NMS-E354**

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
5,8	1692,9	100,0
10,6	247,7	14,6
11,5	170,5	10,1
12,2	12,3	0,7
12,6	1675,2	99,0
14,7	280,0	16,5
15,5	69,7	4,1
16,1	309,8	18,3
16,6	600,2	35,5
17,4	748,9	44,2
19,5	73,4	4,3
19,9	175,7	10,4
20,9	67,5	4,0
21,2	352,9	20,9
22,0	100,1	5,9
22,6	300,0	17,7
23,2	172,5	10,2
23,4	106,0	6,3
23,7	247,1	14,6
24,0	50,9	3,0
24,4	123,1	7,3
25,0	417,3	24,7
25,2	220,9	13,1
25,6	497,2	29,4
25,9	156,7	9,3
26,7	68,4	4,0
27,0	132,8	7,9
27,2	158,2	9,4
27,9	826,8	48,8
29,0	139,9	8,3
31,4	80,6	4,8
32,2	265,6	15,7
33,6	107,2	6,3
34,7	167,8	9,9
35,0	37,8	2,2
35,4	160,2	9,5
37,3	52,6	3,1
37,5	35,2	2,1
38,3	37,2	2,2
39,3	31,0	1,8

5

**Tabla 3 - Sal sulfato de NMS-E354**

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
12,0	195,0	32,1
12,3	83,1	13,7
16,2	52,0	8,6

ES 2 543 098 T3

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
16,7	90,2	14,9
17,0	36,4	6,0
18,5	46,0	7,6
19,1	17,9	3,0
19,9	29,3	4,8
20,5	126,5	20,8
21,8	606,7	100,0
23,4	99,9	16,5
24,1	30,1	5,0
24,8	164,2	27,1
25,3	134,8	22,2
25,6	18,0	3,0
26,0	34,7	5,7
26,5	100,6	16,6
28,1	49,5	8,2
28,8	438,3	72,2
29,6	25,3	4,2
31,1	58,5	9,6
38,7	52,2	8,6

Tabla 4 - Sal mesilato de NMS-E354

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
6,3	49,2	11,2
10,3	49,7	11,3
12,4	232,1	52,7
15,4	41,1	9,4
15,9	44,4	10,1
16,5	93,2	21,2
19,0	123,1	28,0
19,7	79,3	18,0
20,0	168,0	38,2
20,4	42,5	9,7
20,7	50,2	11,4
21,2	46,5	10,6
21,3	39,7	9,0
21,9	249,6	56,7
22,2	98,5	22,4
23,8	171,8	39,0
24,1	32,2	7,3
24,5	440,1	100,0
25,0	51,5	11,7
25,4	230,5	52,4
25,9	180,5	41,0
26,1	11,8	2,7
28,1	191,5	43,5
31,2	13,5	3,1
31,6	36,3	8,3
34,1	86,5	19,6

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
34,6	40,8	9,3
35,9	36,7	8,3
36,5	22,0	5,0
37,3	33,3	7,6
38,6	102,1	23,2

**Tabla 5 - Sal hemifumarato de NMS-E354**

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
3,6	162,3	56,6
7,3	100,8	35,2
12,5	108,6	37,9
13,1	80,4	28,1
14,5	286,6	100,0
16,7	282,8	98,7
19,3	157,9	55,1
19,8	40,8	14,2
20,0	14,1	4,9
20,7	15,4	5,4
22,2	81,1	28,3
22,9	52,9	18,4
25,3	247,3	86,3
26,4	135,0	47,1
27,6	115,8	40,4
28,0	210,6	73,5
28,7	146,6	51,2
29,0	12,3	4,3
29,3	38,9	13,6
29,5	22,9	8,0
31,1	15,3	5,4
31,3	23,1	8,1
32,0	22,6	7,9
33,2	23,6	8,2
33,7	30,0	10,5
35,6	44,3	15,5
37,2	23,2	8,1
37,4	25,3	8,8
39,3	53,0	18,5

**Tabla 6 - Base libre de NMS-E354**

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
7,1	338,7	21,6
11,7	1567,2	100,0
14,1	121,3	7,7
15,2	134,8	8,6
15,5	96,3	6,1
17,0	26,7	1,7
17,3	85,7	5,5
17,6	30,0	1,9
20,2	66,4	4,2

Posición (Grados)	Intensidad (CPS)	Intensidad Relativa (%)
20,7	89,7	5,7
21,2	95,7	6,1
22,1	41,6	2,7
22,3	29,7	1,9
23,1	77,7	5,0
23,4	120,7	7,7
25,3	87,9	5,6
26,0	157,0	10,0
27,3	30,6	2,0
28,0	47,4	3,0
28,5	97,7	6,2
30,9	66,0	4,2
34,0	20,0	1,3

#### Resultados analíticos mediante Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)

5 Los análisis de DSC se llevaron a cabo con un aparato Perkin-Elmer DSC-7. Cápsulas de DSC de aluminio se cargaron con unos 2 mg de muestra. El intervalo de temperaturas de los análisis estuvo entre 30 °C y un valor máximo de 350 °C.

Las muestras se analizaron bajo flujo de nitrógeno con una velocidad de calefacción de 10 °C/min.

10 La endoterma de fusión observada de la sal maleato de NMS-E354 estaba aproximadamente a 217 °C (pico de temperatura) mostrando un  $\Delta H_f$  de aproximadamente 148 J/g (véase Fig.6).

15 Otro aspecto concerniente a la caracterización del estado sólido mediante DSC, es que se ha encontrado que las sales de L-aspartato, fosfato y L-tartrato de NMS-E354, caracterizadas como materiales cristalinos mediante PXRD, muestran perfiles de DSC complejos (véase Fig.2). Dichas sales sufren transiciones térmicas que implican procesos de desolvatación/deshidratación y las subsiguientes fusiones de las formas desolvatadas/deshidratadas caracterizadas por los picos de temperatura de fusión de sus DSC. Se pueden dar transiciones térmicas adicionales cuando, por ejemplo, ocurre degradación.

20 Se entenderá que los valores del inicio y/o de la temperatura de pico del DSC pueden variar ligeramente de una máquina a otra, de un método a otro o de una muestra a otra y, por lo tanto, los valores referenciados no se deben interpretar como absolutos. De hecho, las temperaturas observadas dependerán de la velocidad de cambio de temperatura así como de la técnica de preparación de muestra y el instrumento en particular empleado. Será estimado y tenido en cuenta que los valores de temperatura obtenidos aplicando diferentes condiciones pueden  
25 variar aproximadamente 4 °C más o menos.

#### Resultados analíticos mediante Absorción Dinámica de Vapor (DVS)

30 La absorción de agua de las sales cristalinas y la base libre de NMS-E354 se investigaron sometiendo una muestra de dichas sustancias a un ensayo de higroscopicidad mediante un DVS 1000 (SMS). El aparato es una "microbalanza de atmósfera controlada" donde la muestra pesada se expone a una variación programada de la humedad relativa (HR) a una temperatura constante y controlada. Los parámetros medidos (peso, tiempo y HR), presentados en hojas de Excel, permiten obtener curvas de higroscopicidad en el intervalo de HR comprobado. Los  
35 ciclos de Absorción/Desorción entre 0% y 90% de HR se pueden llevar a cabo a una temperatura controlada de 25 °C. Las variaciones progresivas de HR pueden estar entre 10% y 3%; éstas están controladas por el software en el equilibrado del peso de la muestra. Esta condición se puede definir a una velocidad constante de la variación del porcentaje en peso, p. ej. 0,005 %/min. Los resultados experimentales muestran que las sales preferidas de maleato, sulfato, mesilato y hemifumarato de NMS-E354 se caracterizan por una captación de agua baja a  
40 moderada no mayor de un 2%. Estos compuestos se pueden considerar de baja higroscopicidad, mostrando un comportamiento comparable a aquel de la base libre cristalina, una sustancia de baja higroscopicidad cuando se somete a modificaciones de humedad relativa (HR) de hasta un 90% a 25°C.

#### Análisis de identificación por RMN

45 Los experimentos de <sup>1</sup>H-RMN se llevaron a cabo a temperatura constante de 28 °C en un espectrómetro Varian Inova 500 operando a 499,8 MHz. Una pequeña cantidad de cada muestra se disolvió en 0,75 ml de DMSO-d<sub>6</sub> y se transfirió a un tubo de RMN de 5 mm para los subsiguientes análisis. Los análisis permiten confirmar la estructura

química esperada tanto de la molécula como de los contraiones.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, una composición farmacéutica puede ser formulada de acuerdo con métodos conocidos en la técnica en cualquiera de las formas farmacéuticas conocidas en la técnica para la administración a un mamífero, incluyendo seres humanos.

El experto en la materia apreciará a partir de los datos descritos y de los ejemplos experimentales más adelante, que las nuevas sales de NMS-E354 descritas en la invención son una herramienta nueva, mejorada y valiosa en terapia.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención se preparan usualmente siguiendo métodos convencionales y se administran en una forma farmacéuticamente adecuada.

Por ejemplo, las formas sólidas orales pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, p. ej. lactosa, dextrosa, sacarosa o sucrosa, celulosa, almidón de patata o maíz; lubricantes, p. ej. sílice, talco, ácido esteárico, magnesio o estearato cálcico, y/o polietilenglicoles; lubricantes, p. ej. dióxido de silicio coloidal; aglutinantes, p. ej. almidones, goma arábiga, gelatina de metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinil pirrolidona; agentes disgregantes, p. ej. almidón, ácido algínico, alginatos o almidón glicolato de sodio; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y en general, sustancias no-tóxicas y farmacológicamente inactivas utilizadas en las formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas se pueden fabricar de forma conocida, por ejemplo, mediante la mezcla, granulado, compresión, grageado, o procesos de recubrimiento con película.

Las dispersiones líquidas para administración oral pueden ser, p. ej. jarabes, emulsiones y suspensiones.

Como ejemplo, los jarabes pueden contener, como portador, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y sorbitol.

Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplo de portadores, goma natural, agar, alginato sódico, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, o alcohol polivinílico.

Las suspensiones o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el compuesto activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p. ej. agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, p. ej. propilenglicol y, si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína.

Las soluciones para inyecciones intravenosas o infusiones pueden contener, como portador, agua estéril o preferiblemente pueden estar en la forma de soluciones salinas, isotónicas, acuosas, estériles o pueden contener propilenglicol como portador.

Los supositorios pueden contener, junto con el compuesto activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p. ej. manteca de cacao, polietilenglicol, un surfactante éster de ácido graso polioxietileno sorbitán o lecitina.

Por ejemplo, una composición farmacéutica que contiene una sal NMS-E354, como se define aquí en asociación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

#### 45 Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Las temperaturas se midieron en grados Celsius (°C).

A menos que se indique lo contrario, las reacciones o experimentos tienen lugar a temperatura ambiente.

Abreviaturas:

55 TA: temperatura ambiente  
HR: humedad relativa

#### Ejemplo 1: Forma cristalina I de la base libre de NMS-E354

60 Una solución de base libre (preparada como se describe en el Ejemplo 19, etapas 1-3 del documento WO 2007 110344) en metanol a reflujo (75 vol) se trató con carbón decolorante (10% p/p). La mezcla caliente se filtró y el filtrado transparente se mantuvo a +4°C durante 20 horas. El precipitado sólido se recogió mediante filtración, se lavó en el filtro con éter dietílico (5 vol) y se secó bajo vacío a +50°C rindiendo el producto cristalizado como sólido blanco.

65

Ejemplo 2: sal maleato de NMS-E354

Una alícuota de la base libre de NMS-E354 (aprox. 40 mg) se disolvió a temperatura ambiente en 10 ml de metanol, obteniendo una concentración nominal de 4 mg/ml.

La formación de la sal se llevó a cabo mediante la adición de una cantidad equimolar de ácido maleico disuelto en metanol a la solución preparada a TA de la base libre de NMS-E354.

La cristalización por enfriamiento se realizó a -30°C con un tiempo de reposo de aproximadamente 24-36 horas. El precipitado obtenido se recogió mediante filtración al vacío y se secó a 40°C bajo vacío.

Ejemplo 3: sales de NMS-E354

Operando de forma análoga al Ejemplo 2, pero empleando una cantidad equimolar del contraión ácido apropiado en un disolvente (metanol, etanol o agua) se prepararon también las sales siguientes:

sal L-aspartato de NMS-E354, sal hemifumarato de NMS-E354, sal clorhidrato de NMS-E354, sal mesilato de NMS-E354, sal fosfato de NMS-E354, sal sulfato de NMS-E354 y sales L-tartrato de NMS-E354.

Si la cristalización no tuvo lugar, las soluciones se concentraron mediante evaporación a TA bajo flujo suave de nitrógeno para permitir la precipitación. En algunos casos se requirió un paso adicional de re-cristalización (p. ej. compuesto triturado en éter dietílico) para aislar una muestra cristalina o, al menos, una muestra en polvo a partir de un residuo pegajoso.

La identificación química de NMS-E354 y el contraión ácido en los compuestos obtenidos se realizó mediante 1H-RMN como se describe anteriormente.

Ejemplo 4: sales de maleato, sulfato, mesilato, hemifumarato y clorhidrato de NMS-E354

La base libre de NMS-E354 (372 mg, 1,07 mmol) se disolvió en metanol caliente (60 ml) y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. El ácido apropiado (1,05 equivalentes) se añadió bajo agitación disuelto en metanol o agua en el caso del ácido fumárico. Las mezclas resultantes se envejecieron a 4°C durante 48 horas y luego se concentraron a la mitad del volumen en vacío. Se filtraron los sólidos, se lavaron con éter dietílico y finalmente se secaron a 40°C bajo vacío rindiendo las sales deseadas.

Ejemplo 5: sal maleato de NMS-E354

710 g de la base libre de NMS-E354 se calentaron a reflujo y bajo agitación en 60 l de etanol 95% durante 20 min permitiendo la completa disolución del material de partida (concentración de aproximadamente 12 g/l).

Se disolvió aproximadamente 1 equivalente de ácido maleico (250 g) en 1,45 l de etanol 95% (concentración de aproximadamente 170 g/l) y se añadió a la solución de la base libre. Después de 10 min a reflujo (la precipitación de la sal empezó después permanecer la misma cantidad de minutos a reflujo), se interrumpió la calefacción y se dejó descender espontáneamente la temperatura de la mezcla a aproximadamente 25°C.

Después de la interrupción de la calefacción, la mezcla se agitó durante aproximadamente 21 horas, se filtró lavando con 1,5 l de etanol 95%, y después se secó bajo vacío a una temperatura externa establecida a 50°C, obteniendo 564 g del compuesto del título.

Ejemplo 6: preparación de cápsulas de gelatina dura, intervalo de potencia entre 2,5 y 60 mg

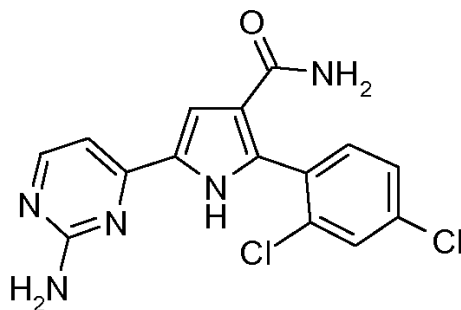
Las composiciones farmacéuticas orales que contenían los compuestos de la invención se prepararon con un método de mezclado convencional, junto con el compuesto activo y otros excipientes en los intervalos de porcentajes mencionados en la Tabla 7.

**Tabla 7**

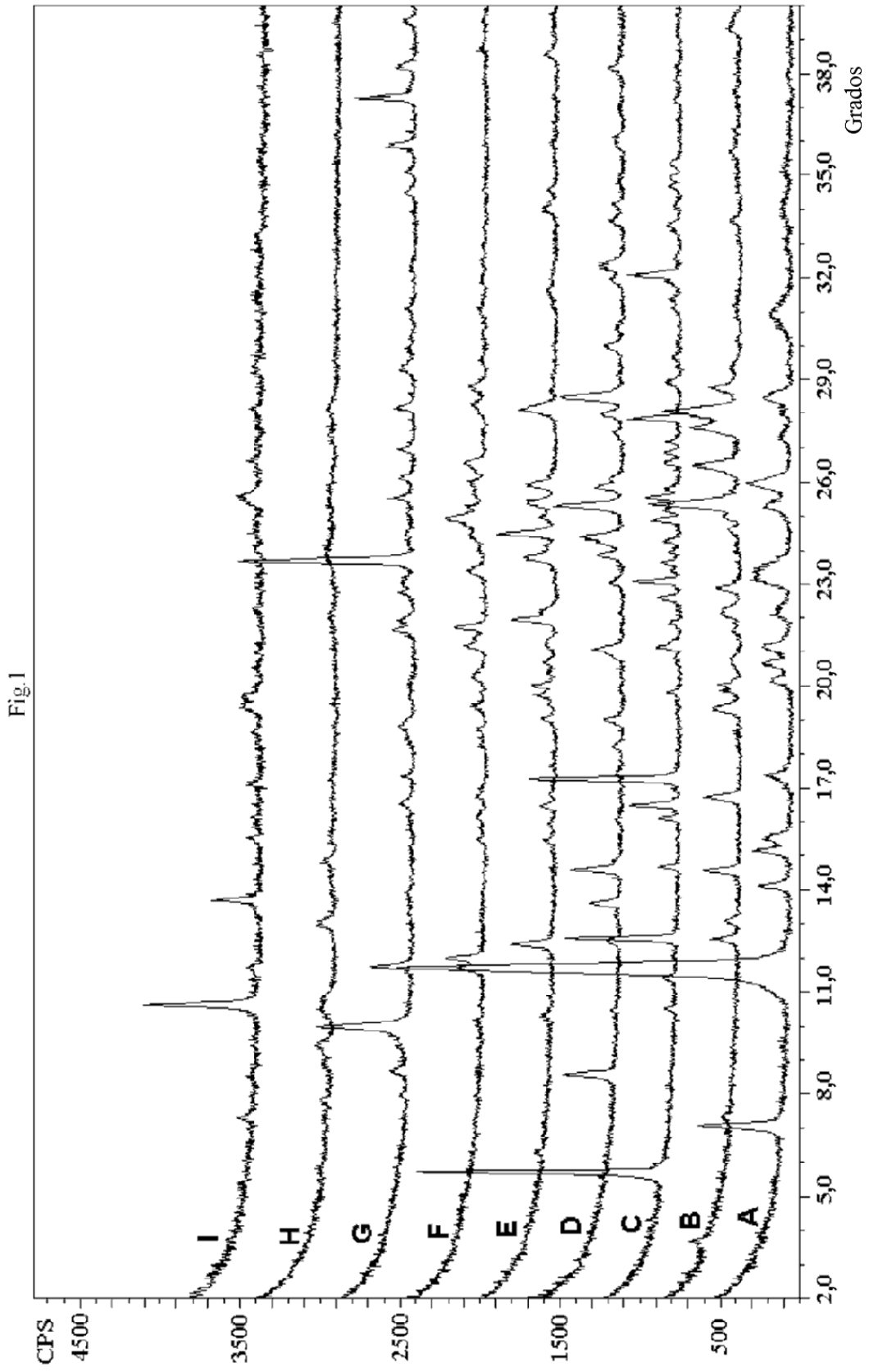
Ingrediente	Intervalo %
Compuesto activo: sal maleato de NMS-E354	3,0 ÷ 38,0
Diluyente: lactosa monohidrato	0,0 ÷ 52,0
Diluyente: almidón pre-gelatinizado	8,0 ÷ 97,0
Lubricante: estearato de magnesio	0,8 ÷ 1,0
Deslizante: dióxido de silicio coloidal	0,0 ÷ 0,7

## REIVINDICACIONES

1. Formas cristalinas de la sal maleato del compuesto de NMS-E354 con la fórmula:



- 5 y polimorfos del mismo.
- 10 2. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de la sal maleato de NMS-E354 como se define en la reivindicación 1, como ingrediente activo y un excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable.
3. Una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 como se define en la reivindicación 1 para su uso como un medicamento.
- 15 4. Una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 como se define en la reivindicación 1 para el uso en el tratamiento de un mamífero, incluyendo seres humanos, que sufre de un estado patológico tratable caracterizado por que el estado patológico tratable es un trastorno de proliferación celular, infección vírica, enfermedad auto-inmune o un trastorno neurodegenerativo.
- 20 5. Una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada por que el trastorno de proliferación celular es cáncer.
- 25 6. Una forma cristalina de sal maleato de NMS-E354 de acuerdo con la reivindicación 5 caracterizada por que el cáncer incluye todos los tipos de carcinomas, tumores hematopoyéticos de estirpe mieloide o linfoide, tumores de origen mesenquimático, tumores del sistema nervioso central o periférico, melanoma, mesotelioma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma y sarcoma de Kaposi.





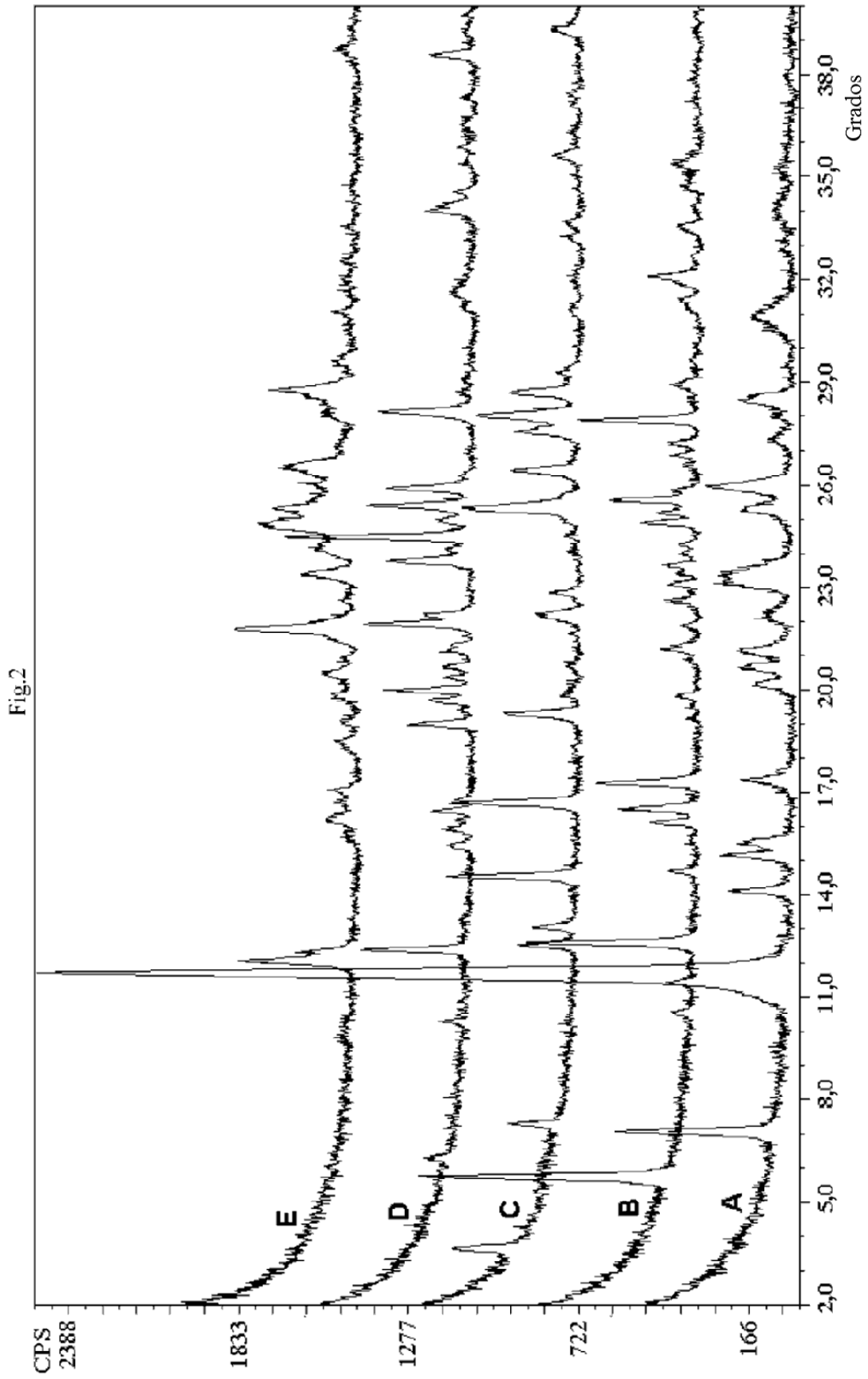
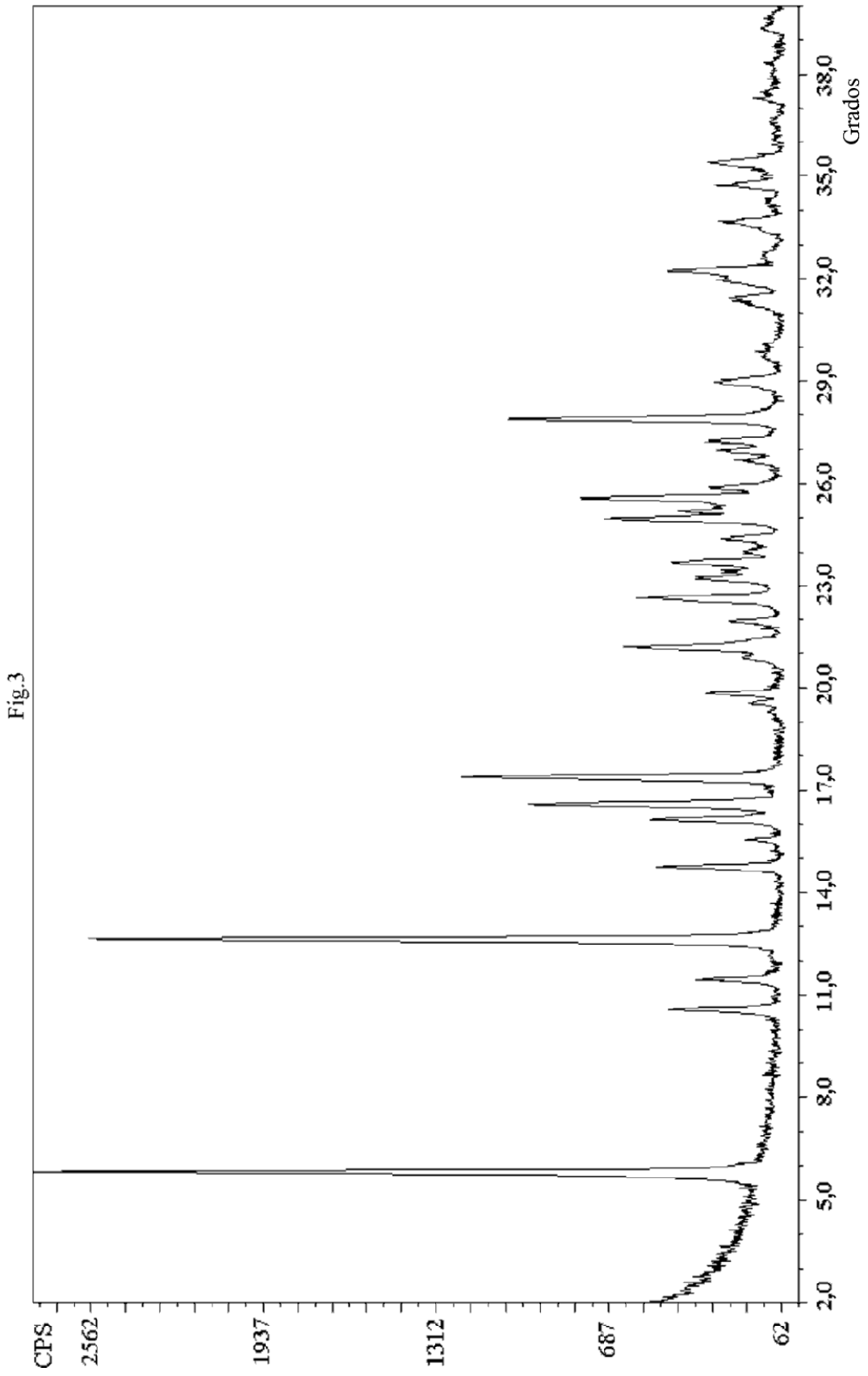
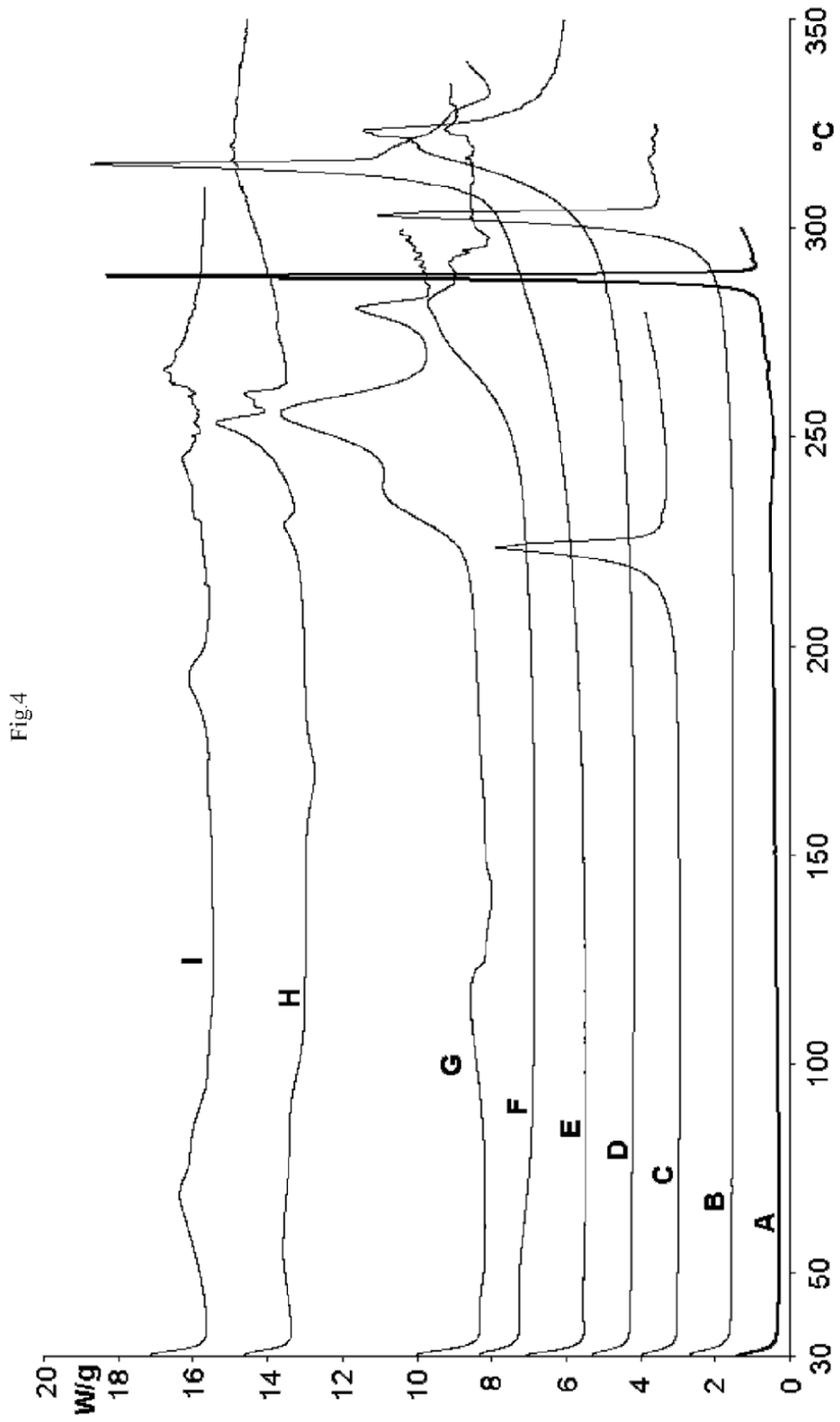
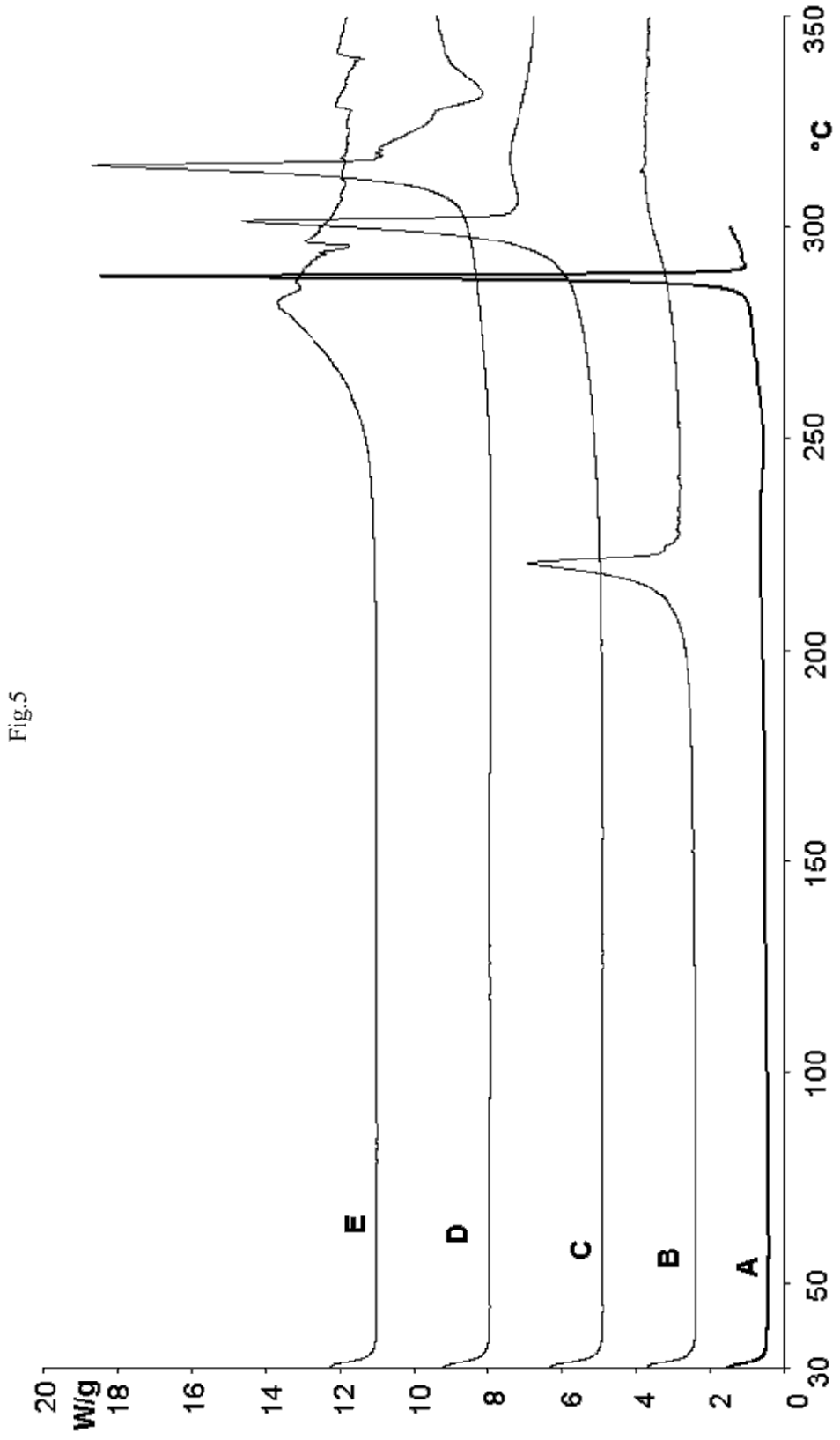


Fig.2







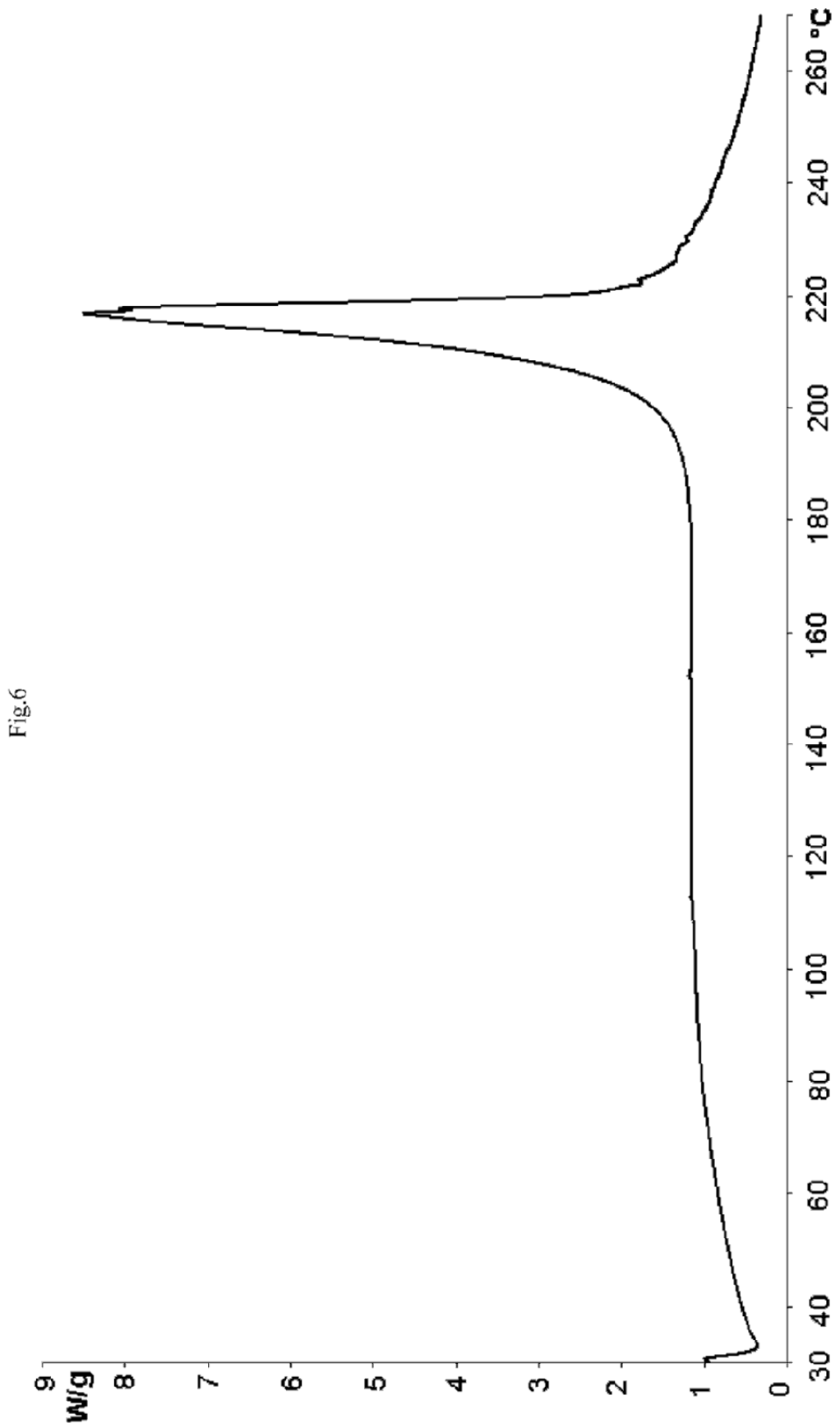


Fig.6