

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 317**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2012 E 12730525 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016 EP 2729461**

54 Título: **Polimorfos de hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona**

30 Prioridad:

08.07.2011 EP 11305891

29.12.2011 EP 11306034

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

21.04.2016

73 Titular/es:

SANOFI (100.0%)

54, rue La Boétie

75008 Paris, FR

72 Inventor/es:

NAGEL, NORBERT;

BAUMGARTNER, BRUNO;

BERCHTOLD, HARALD;

PLETTENBURG, OLIVER;

KADEREIT, DIETER;

MOHNICKE, MANDY;

GESSLER, SIMON y

TILLNER, JOACHIM

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 567 317 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).

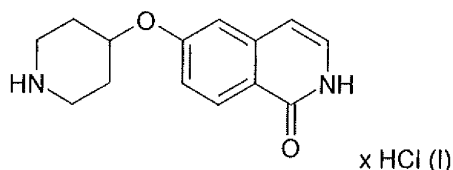
DESCRIPCIÓN

Polimorfos de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

La presente invención se refiere a nuevos polimorfos cristalinos de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, a procedimientos para su preparación y a su uso, en particular para la preparación de medicamentos.

6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona es conocido como un compuesto farmacéuticamente activo. 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona se describe como base libre en el documento WO 2007/065916. Los documentos WO2007/012421, WO2008/077550 y WO 2009/080335 describen la síntesis de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona y su hidrocloreto, pero no contienen evidencia alguna de un proceso de cristalización controlada reproducible. El material descrito solamente se obtiene por liofilización.

La sal del ácido clorhídrico (HCl) de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona es el compuesto de fórmula (I)



El compuesto de fórmula (I) también pueden existir en su forma tautómera como 1-hidroxi-isoquinolina y este tautómero es una forma de realización adicional de la presente invención.

El polimorfismo es la capacidad de un solo compuesto para existir en más de una estructura o forma cristalina. Diferentes polimorfos representan sólidos distintos que comparten la misma fórmula molecular. Un compuesto único puede dar lugar a una diversidad de formas polimórficas, en la que cada una de las formas puede tener propiedades físicas diferentes y distintas tales como diferentes perfiles de solubilidad, diferente estabilidad termodinámica, diferente comportamiento de cristalización, diferente filtrabilidad, diferentes temperaturas de punto de fusión y/o diferentes picos de difracción de rayos X. La diferencia en las propiedades físicas de diferentes formas polimórficas resulta de diferentes interacciones de orientación e intermoleculares de moléculas adyacentes en el sólido. Formas polimórficas de un compuesto pueden distinguirse por difracción de rayos X y por otros métodos tales como espectroscopía infrarroja o espectroscopía Raman, por ejemplo. Estas afirmaciones se aplican igualmente a solvatos, es decir, compuestos de adición sólidos, con un disolvente tal como agua (hidrato) o un disolvente orgánico. De acuerdo con la invención, la expresión de un hidrato del compuesto (I) incluye todos los solvatos acuosos de compuesto (I) en donde el agua está presente en cualquier relación en el compuesto (I).

Sin embargo, como se reconoce por la persona experta en la técnica, no puede preverse la presencia de nuevas formas polimórficas sólidas o incluso más de solvatos de un compuesto químico conocido. No se puede prever ni la existencia de fases cristalinas (formas anhidra y libre de disolventes, hidratos o solvatos) ni el número de formas polimórficas. También, las condiciones en las que tiene lugar la cristalización para dar una forma específica, y no se pueden predecir las características de las formas polimórficas y solvatos. Dado que pueden variar propiedades tales como la solubilidad y la estabilidad y, en consecuencia, la idoneidad para el uso y el almacenamiento de cada uno de los polimorfos y solvatos, la identificación de la existencia de polimorfos es esencial para proporcionar productos farmacéuticos con una estabilidad incrementada durante el almacenamiento o perfiles de solubilidad predecibles.

Era el objeto de la presente invención proporcionar nuevas formas sólidas de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (compuesto (I)). En particular, el objetivo era proporcionar nuevas formas sólidas cristalinas de compuesto (I). En particular, el objetivo era proporcionar nuevas formas sólidas cristalinas de compuesto (I), que tienen un perfil de propiedades favorable o son útiles en la preparación del compuesto. En particular, el objetivo era proporcionar nuevas formas sólidas cristalinas de compuesto (I), que tengan estas propiedades favorables, que hacen más favorable el uso de compuesto (I) como un compuesto farmacéuticamente activo.

En particular, el objetivo era proporcionar nuevas formas sólidas cristalinas de compuesto (I), que tienen propiedades favorables con respecto a la estabilidad, solubilidad, procesabilidad, higroscopicidad, fluidez, filtrabilidad o velocidad de cristalización.

Los objetivos de la invención se cumplen por las siguientes realizaciones.

En una realización, la presente invención se refiere a un polimorfo cristalino de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, en donde el polimorfo exhibe en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ al menos una reflexión característica dentro de los dos intervalos seleccionados de

1) 15,4-15,8 y

2) 16,5-16,8 $\pm$ 0,2 grados 2 θ .

5 En una realización adicional, la forma cristalina de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona exhibe en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación CuK α_1 una reflexión característica adicional en 21,5-21,7 grados 2 θ $\pm$ 0,2 grados 2 θ .

Una realización adicional de la presente invención se refiere a un polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona que se selecciona del grupo que consiste en polimorfo-1, polimorfo 2, polimorfo 3 y polimorfo 4, y una mezcla de uno cualquiera de los mismos.

10 En el contexto de la presente invención, el término polimorfo o la expresión forma polimórfica siempre se refieren a un polimorfo o forma polimórfica de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (I) o un polimorfo, forma polimórfica de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona solvato. Los términos "polimorfo", "forma" y "fase" pueden utilizarse indistintamente en esta memoria. Las formas anhidras y libres de disolvente, así como los hidratos y solvatos orgánicos de la presente invención se obtuvieron como se describe en los Ejemplos proporcionados más adelante.

15 Descripción de las Figuras

Figura 1 - Patrón de difracción de rayos-X de polvo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato, medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: difracción de ángulo 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

Figura. 2 - Termograma TGA del dihidrato de compuesto (I).

20 Figura 3 - Transiciones de fase DVS y contenido en agua como una función de la humedad relativa (25-40°C) del dihidrato que, debido a un período de secado al comienzo antes de iniciar el primer ciclo de sorción, se había convertido en la Fase 2.

25 Figura 4 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del polimorfo 2 del compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

Figura 5 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del polimorfo 1 de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

30 Figura 6 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del polimorfo 3 de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

Figura 7 - transiciones de fase y contenido en agua en función de la humedad relativa a 25°C a partir de la Fase 3 (según se determina a partir de DVS y XRPD resuelta en humedad).

35 Figura 8 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del polimorfo 4 de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

Figura 9 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del solvato de 1,4-dioxano de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

40 Figura 10 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del solvato de acetonitrilo de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

45 Figura 11 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X del solvato de acetato de metilo de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

Figura 12 - Patrón de difracción de polvo de rayos-X de la forma amorfa de compuesto (I), medida en el modo de transmisión con radiación CuK α_1 a temperatura ambiente (eje x: ángulo de difracción 2 θ (2 θ) [°]; eje y: intensidad relativa [% de la más alta reflexión]).

Figura 13 - Sorción de vapor de agua DVS en función de la humedad relativa del dihidrato a 25°C.

Figura 14 - Sorción de vapor de agua DVS en función de la humedad relativa de la forma amorfa del compuesto (I) a 25°C para el propósito de comparación con el dihidrato.

Hidrato

5 Una realización de la presente invención es un hidrato cristalino de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (I). Otra realización de la presente invención es un hidrato cristalino del compuesto (I), en donde el hidrato contiene aproximadamente 10,5 - 12,5% de agua (p/p). Otra realización de la presente invención es un hidrato en donde el hidrato contiene 1,85 - 2,2 moléculas de agua por molécula de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (I). Otra realización, de la presente invención es un hidrato en donde el hidrato contiene 2 moléculas de agua por molécula de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (I).

10 Un hidrato cristalino que contiene 1,85 - 2,2 moléculas de agua por molécula se denomina en esta memoria "dihidrato" y es una realización de la presente invención.

En otra realización del hidrato, el contenido en agua es 10,5 - 11,4% de agua (p/p). En una realización adicional, el hidrato contiene aproximadamente 1,85 - 2,0 moléculas de agua.

15 En una realización adicional del hidrato, el contenido en agua es 11,4% (p/p). En una realización adicional el hidrato contiene 2,0 moléculas de agua por molécula (I). Aunque la fase de hidrato normalmente contiene aproximadamente 10-12,5% de agua, también puede aparecer con un menor contenido en agua. La estructura cristalina del hidrato se mantiene incluso si el dihidrato se seca y el contenido en agua restante desciende a aproximadamente 3%. La absorción de agua es reversible si la humedad en el ambiente se eleva de nuevo. El contenido en agua en el producto aislado depende de las condiciones de secado utilizadas durante el tratamiento del hidrato después de la cristalización.

20 En una realización, el dihidrato tiene la propiedad de que tiene al menos una reflexión característica en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ a $7,7 \pm 0,2$ grados 2theta.

25 En otra realización, el dihidrato tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ a 7,7 (fuerte), 15,2 (fuerte) y 16,8 (media) grados 2theta $\pm 0,2$ grados 2theta.

En otra realización, el dihidrato tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en 7,7 (fuerte), 15,2 (fuerte), 16,8 (media), 18,4 (media), 20,4 (media), 22,4 (fuerte), 25,0 (fuerte), 26,6 (fuerte) y 30,3 (media) grados 2theta $\pm 0,2$ grados 2theta.

30 En otra realización, el dihidrato puede también caracterizarse por su patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente por el que se muestra en la Figura 1, que ha sido obtenido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en donde las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

El dihidrato también puede caracterizarse por sus parámetros de cristal que han sido determinados por análisis de la estructura cristalina única.

35 Se encontró que el dihidrato cristaliza en el grupo espacial P-1, Z = 2 con una molécula (I) y dos moléculas de agua en la unidad asimétrica.

Los datos medidos de la celda unitaria se dan en la Tabla 1.

TABLA 1. Parámetros de celda unidad del dihidrato de compuesto (I) a temperatura ambiente

Fase	Dihidrato
Sistema cristalino	triclínico
Grupo espacial	P-1 ; Z=2
Fórmula empírica	$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_4$
Dimensiones de la celda	a = 6,904 Å b = 9,907 Å c = 12,256 Å

Fase	Dihidrato
Volumen de la celda V (1)	$\alpha = 107,60^\circ$ $\beta = 96,70^\circ$ $\gamma = 102,73^\circ$ $764 \text{ \AA}^3$
Densidad ρ (1)	$1,377 \text{ Mg/m}^3$

(1) calculado

Las moléculas de agua cristalina se encuentran en canales paralelos al eje cristalográfico a y las moléculas de agua forman enlaces hidrógeno con el anión cloruro, así como con el catión molecular.

5 El dihidrato también puede estar caracterizado por su diagrama de TGA tal como se muestra en la Figura 2. Al calentar el dihidrato en un ambiente seco, se inicia una pérdida de peso significativa ya a temperatura ligeramente elevada y termina en aproximadamente 110°C . En este ejemplo, el diagrama muestra una pérdida de peso de 0,57 mg de agua, correspondientes a un 10,8% en masa de agua, lo que significa que esta muestra perdió aproximadamente 1,9 moles de agua por mol de compuesto (I) tras el calentamiento.

10 El contenido en agua en el dihidrato también puede ser determinado por otros métodos conocidos en la técnica tal como la titulación de Karl-Fischer.

Además de ello, el dihidrato puede también caracterizarse por sus isotermas de sorción de vapor de agua DVS (sorción dinámica de vapor) y desorción medidas a 25°C tal como se muestra en la Figura 3. Antes de iniciar el ciclo de sorción, la muestra dihidrato se trata con gas nitrógeno seco que resulta en una transformación en fase 2 tal como se muestra por la XRPD resuelta en humedad. Tal como se muestra en la Figura 3, las isotermas de sorción y desorción son casi las mismas. En el ciclo de sorción, el contenido en agua de la muestra aumenta rápidamente cuando la fase 2 se expone a humedades relativas entre 1 y 20% y se mantiene casi constante entre 20 y 95%. En el ciclo de desorción, el contenido en agua se mantiene casi constante cuando el dihidrato se expone a humedades relativas entre 95% y 20%. Se inicia una pérdida de peso por debajo de una humedad relativa del 20% y se hace fuerte por debajo de 10%, especialmente por debajo de 5%. El cambio en la masa a baja humedad relativa es completamente reversible y cuando la humedad aumenta de nuevo, la rehidratación prosigue rápidamente con muestras pequeñas. Sin embargo, para muestras a granel la rehidratación de muestras secadas en exceso puede tardar mucho más tiempo y la rehidratación puede requerir varios días. Se observan isotermas de sorción y desorción de agua casi idénticas a 40°C .

25 Dependiendo de las condiciones del entorno y de almacenamiento del dihidrato, especialmente si la humedad es inferior a aproximadamente 10%, especialmente inferior a aproximadamente 5%, el dihidrato puede transformarse, en parte o completamente, en el polimorfo 2. El grado de conversión depende de la humedad, del tamaño de la muestra y de la duración de la exposición a un entorno seco. Así, en una realización adicional, la invención se refiere al dihidrato que comprende una cantidad de polimorfo 2 en un intervalo de 1% a 99%, especialmente en un intervalo de 1 a 10%. Para los propósitos de definición, cualquier cantidad de otro polimorfo se calcula en relación con la cantidad de dihidrato.

35 El análisis XRPD en una cámara de humedad reveló que en lugar de una humedad relativa baja (2%) y cuando la muestra está casi completamente deshidratada, tiene lugar una transformación a la fase 2. Para la medición de la humedad relativa (h.r.) en la cámara se redujo primero linealmente de 50% a 2% en 6 horas, se mantuvo en 2% durante 6 horas, después se cicló dos veces entre 2% y 95% durante 6 horas (manteniendo la muestra en 95% y 2% durante 6 horas) y finalmente se incrementó a 50% durante 7 horas. Se observó una transformación reversible para el hidrato en la fase 2 en una h.r. de 2%, la transformación de nuevo en el dihidrato tiene lugar en una h.r. entre 8 y 10%. Cuando la XRPD controlada en humedad se realizó a 25 y 40°C , se obtuvieron resultados ampliamente idénticos.

40 Por otra parte, la XRPD resuelta en temperatura muestra que esta pérdida de agua va acompañada o es seguida por la transformación en la fase 3, cuya transformación comienza a tener lugar a aproximadamente 90°C .

Sobre la base de estos hallazgos, el dihidrato es estable por debajo de 90°C y, por lo tanto, también a temperatura ambiente. Por lo tanto, en comparación con los otros polimorfos anhidros descritos, el dihidrato es particularmente adecuado cuando se desea una alta estabilidad. Es el único que se puede almacenar a humedades relativas entre

20 y 95% en diferentes entornos por debajo de 90°C, que son condiciones de almacenamiento habituales, sin el riesgo de transformación en otra fase cristalina descrita. Incluso si se expone a un entorno muy seco, una posible pérdida de agua es reversible y el agua que falta se recupera una vez que el compuesto vuelve a un entorno que tiene condiciones de humedad habituales. Por lo tanto, el dihidrato es en particular adecuado para la preparación de medicamentos y composiciones farmacéuticas con estabilidad mejorada.

Además de ello, el material amorfo correspondiente es higroscópico y el contenido en agua varía mucho más intensamente con la humedad relativa en comparación con el dihidrato. Esta absorción de agua y la variabilidad en el contenido en agua hace difícil una dosificación precisa durante la fabricación de producto farmacéutico. En contraposición, el dihidrato ha demostrado ser estable durante más de dos años en condiciones de almacenamiento habituales (sin descomposición detectable a 25°C/humedad relativa del 65%). Por consiguiente, el dihidrato cristalino, por lo tanto, es la forma sólida preferida para la fabricación de productos farmacológicos.

Además de ello, el dihidrato puede también caracterizarse por sus isotermas de sorción de vapor de agua DVS (sorción dinámica de vapor) y desorción medidas a 25°C tal como se muestra en la Figura 13. Al igual que ello, es posible una comparación con la caracterización del compuesto amorfo (I) por sus isotermas de sorción de vapor de agua DVS (sorción dinámica de vapor) y desorción medidas a 25°C según se muestra en la Figura 14. El dihidrato pertenece, de forma sorprendente e inesperada, a la clase rara de hidratos estequiométricos, es decir, el dihidrato mantiene un contenido en agua bastante constante cuando se expone a un amplio intervalo de humedades relativas. Esta propiedad es ventajosa, por ejemplo, cuando el ingrediente farmacéutico activo se seca después de la cristalización o se pesa durante la fabricación de la forma de dosificación, así como durante el almacenamiento de la forma de dosificación sólida.

Como ya se ha mencionado, el material amorfo es higroscópico y ajusta su contenido en agua a la humedad relativa ambiente (Figura 13). Un peso (molecular) estable de este material sólo se alcanza, si por casualidad el contenido en agua se corresponde con el contenido en agua de equilibrio en la humedad relativa ambiente a la que la muestra se expone. Además de ello, muchas de las propiedades clave del cambio de material amorfo con su contenido en agua tales como la movilidad molecular, la velocidad de disolución y la tendencia a transformarse en otras fases sólidas. Así, el material amorfo higroscópico tiene que ser considerado como desfavorable para formas de dosificación sólidas orales. Inesperadamente, el dihidrato estrechamente relacionado es adecuado como un sólido para la fabricación de productos farmacológicos debido a sus propiedades y estabilidad favorables.

Polimorfo 2

Otro aspecto de la presente invención se refiere a polimorfo 2 del compuesto (I) que tiene la propiedad de tener al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

8,1 (media),

15,8 (fuerte) y

16,5 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

En otro aspecto, el polimorfo 2 tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

8,1 (media), 15,8 (fuerte), 16,5 (media), 22,2 (media), 25,0 (media) y 26,6 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

En otro aspecto, el polimorfo 2 tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

8,1 (media), 15,8 (fuerte), 16,5 (media), 17,7 (media), 19,6 (media), 20,8 (media), 22,2 (media), 25,0 (media), 26,6 (media) y 30,5 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

En otra realización, el polimorfo 2 también se puede caracterizar por su patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como el que se muestra en la Figura 4.

Éste se ha obtenido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en el que las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

El polimorfo 2 también se puede caracterizar por su sorción de vapor de agua DVS, en donde se transforma en el dihidrato, y las isotermas de desorción, en donde se transforma de nuevo en la forma 2. Para más detalles, véase la descripción del dihidrato y la figura 3.

El polimorfo 2 no se obtiene directamente por la cristalización en disolución. Se forma típicamente a temperatura ambiente o a 40°C, cuando el dihidrato se expone a una humedad relativa más bien baja (preferiblemente menos de

5%, más preferiblemente menos de 2%) y se transforma de nuevo en el dihidrato cuando el polimorfo 2 se expone a una humedad creciente, preferiblemente a una humedad relativa por encima de aproximadamente 10%. Por consiguiente, el polimorfo 2 es especialmente útil si se tuviera que obtener el dihidrato.

- 5 Dependiendo de las condiciones del entorno y de almacenamiento de polimorfo 2, especialmente si la humedad se incrementa por encima de aproximadamente 10%, el polimorfo 2 se transforma parcial o totalmente en el dihidrato y, por lo tanto, la muestra puede comprender el dihidrato en un intervalo de 0,1% a 100%.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a los polimorfos 1, 3 y 4 del compuesto (I), que, a diferencia del polimorfo 2, se pueden obtener directamente a partir del compuesto (I) y que a continuación también se pueden convertir en el dihidrato.

- 10 Así, la utilidad de los polimorfos 1, 2, 3 y 4, que se pueden convertir en el dihidrato, ofrece la ventaja de seleccionar una preparación optimizada del dihidrato. Sin embargo, los parámetros tales como temperatura, humedad relativa del ambiente o disolventes o cualquier otro parámetro de la forma de almacenamiento, de transporte o de purificación del compuesto (I) se pueden elegir de una diversidad de polimorfos 1, 2, 3 y 4, y sus propiedades especiales dan una suficiente versatilidad para preparar el dihidrato del compuesto (I) de una manera optimizada.

- 15 En un aspecto, los tres polimorfos anhidros se caracterizan por exhibir en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ reflexiones al menos características a

1) 15,4 grados 2theta y dentro de cada uno de los intervalos seleccionados de

2) 16,6 - 16,8 y

3) 21,5-21,7 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

20 Polimorfo 1

Otro aspecto de la presente invención se refiere a polimorfo 1 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X (XRPD) utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5 (media),

- 25 15,4 (fuerte),

16,8 (fuerte),

21,7 (media) y

24,7 (media) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

- 30 En otro aspecto, el polimorfo 1 tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5 (media), 15,4 (fuerte), 16,8 (fuerte), 21,7 (media), 22,8 (fuerte) y 24,7 (media) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

En otro aspecto, el polimorfo 1 tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

- 35 4,5 (media), 15,4 (fuerte), 16,8 (fuerte), 19,8 (débil), 21,7 (media), 22,5 (fuerte), 22,8 (fuerte), 24,7 (media) y 27,3 (media) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

En otra realización, el polimorfo 1 también se puede caracterizar por su patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como el que se muestra en la Figura 5.

Éste se ha obtenido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en el que las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

- 40 El polimorfo 1 puede también caracterizarse por sus características de fusión tales como su punto de fusión con un DSC. Tras el calentamiento, la fase 1 comienza a fundirse a aproximadamente 300°C, precedido y acompañado de descomposición química. Antes de la fusión no se observa transformación alguna en otra fase cristalina.

- 45 La exposición a una humedad elevada provoca la transformación en el dihidrato tal como se determina con el XRPD controlado en humedad, realizado a 25°C. La humedad relativa en la cámara se mantuvo primero en 2% durante 6 horas, luego se incrementó linealmente a 95% durante 19 horas, se mantuvo en 95% durante 6 horas, se redujo

linealmente a 2% durante 19 horas y se mantuvo en 2% durante otras 10 horas. La fase 1 se transformó en el dihidrato después de aproximadamente 15 min a 95%, que a su vez cambió a la fase 2 después de aproximadamente 40 min a 2% de h.r.

- 5 También el almacenamiento de la fase 1 a 20°C y 75% de humedad relativa provocó una conversión completa en el dihidrato en el espacio de 3 semanas. La tasa de conversión se correlaciona con la humedad relativa.

Experimentos de maduración con suspensiones partiendo de mezclas de fases (véanse los experimentos de maduración) indican que en el intervalo de temperaturas de 0 a 40°C fase 1 es sólo un polimorfo metaestable.

El polimorfo 1 puede, por lo tanto, utilizarse en la preparación del dihidrato y, además, en la preparación de polimorfo 2.

10 Polimorfo 3

Otro aspecto de la presente invención se refiere a polimorfo 3 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona que tiene la propiedad de tener al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5 (media),

- 15 15,4 (fuerte),

16,7 (fuerte),

21,7 (fuerte) y

25,5 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

- 20 En otro aspecto, el polimorfo 3 tiene la propiedad de que tiene reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en 4,5 (media), 15,4 (fuerte), 16,7 (fuerte), 21,7 (fuerte), 22,3 (media) y 25,5 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

En otro aspecto, el polimorfo 3 tiene la propiedad de que tiene reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

- 25 4,5 (media), 15,4 (fuerte), 16,7 (fuerte), 21,7 (fuerte), 22,0 (media), 22,3 (media) y 25,5 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

El polimorfo 3 también se puede caracterizar por su patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como el que se muestra en la Figura 6. Éste se ha obtenido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en el que las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar, y representan otra realización de la invención.

- 30 El polimorfo 3 puede también caracterizarse por sus características de fusión tales como su punto de fusión con un DSC. Tras el calentamiento, la fase 3 comienza a fundirse a aproximadamente 300°C, precedido y acompañado de descomposición química. Antes de la fusión no se observa transformación alguna en otra fase cristalina.

- 35 La exposición a una humedad elevada provoca la transformación en el dihidrato tal como se determina con el XRPD controlado en humedad, realizado a 25°C. La humedad relativa (h.r.) en la cámara se redujo primero linealmente de 50% a 2% durante 6 horas, se mantuvo en 2% durante 6 horas, luego se incrementó linealmente a 95% durante 12 horas, se mantuvo en 95% durante 6 horas, se redujo linealmente a 2% durante 12 horas y se mantuvo en 2% durante otras 6 horas. Como resultado, la fase 3 se transformó en el dihidrato después de aproximadamente 30 min a 95%, que a su vez cambió a la fase 2 después de aproximadamente 30 min a 2% de h.r.

- 40 Además de ello, la fase 3 puede también caracterizarse por sus isotermas de sorción de vapor de agua DVS (sorción dinámica de vapor) y desorción medidas a 25°C (Figura 7) La Figura muestra de acuerdo con el XRPD controlado en humedad descrito antes, que la fase 3 permanece con el aumento de la humedad y cambió al dihidrato por encima de aproximadamente 80% de humedad relativa (ciclo 1, sorción). Con la disminución de la humedad, el dihidrato se convierte de nuevo a baja humedad (por debajo de aproximadamente 10% de h.r.) en la fase 2 (ciclo 1, desorción). La fase 2 se convierte a continuación en el dihidrato con el aumento de la humedad y a lo largo de la misma isoterma se convierte de nuevo con la disminución de la humedad en el polimorfo 2 (ciclo 2, véase también la Figura 3).

Las Figuras de DVS correspondientes para las transformaciones de fase 1 y fase 4 en el dihidrato, que luego se convierte de nuevo en la fase 2, parecen similares.

También el almacenamiento de fase 3 a 20°C y 75% de humedad relativa provocó una conversión completa en el dihidrato en el espacio de 3 semanas. La tasa de conversión se correlaciona con la humedad relativa. Cuando se suspendió en agua, la transformación completa en el dihidrato se observó casi inmediatamente (<10 min).

- 5 Además de ello, experimentos de maduración con suspensiones partiendo de mezclas de fases (véanse los Ejemplos) indican que en el intervalo de temperaturas de 0 a 40°C, la fase 3 es la fase anhidra más estable. Estos datos demuestran que el polimorfo 3 es, a y en torno a la temperatura ambiente, la fase más estable a baja humedad relativa (menos de aproximadamente 10% de humedad relativa).

El polimorfo 3 se puede obtener fácilmente por cristalización a partir de diversos disolventes anhidros a temperaturas elevadas y, por lo tanto, es adecuado para el aislamiento y la purificación del compuesto bruto (I).

10 Polimorfo 4

La presente invención se refiere, además, a polimorfo 4 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona que tiene la propiedad de tener al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación CuK α_1 en

15,4 (media),

- 15 16,7 (media),

21,5 (fuerte) y

30,7 (media) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

- 20 En otro aspecto, el polimorfo 4 tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación CuK α_1 en 15,4 (media), 16,7 (media), 16,9 (media), 21,5 (fuerte), 22,4 (media) y 30,7 (débil) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

En otro aspecto, el polimorfo 4 tiene la propiedad de que tiene al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación CuK α_1 en

15,4 (media), 16,7 (media), 16,9 (media), 21,5 (fuerte), 21,9 (débil), 22,4 (media), 23,2 (débil), 27,6 (débil) y 30,7 (débil) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

- 25 En otra realización, el polimorfo 4 también se puede caracterizar por su patrón de difracción de polvo de rayos X como el que se muestra en la Figura 8. Éste se ha obtenido utilizando radiación CuK α_1 en modo de transmisión, en el que las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

- 30 El polimorfo 4 puede también caracterizarse por sus características de fusión tales como su punto de fusión determinado con DSC (calorimetría diferencial de barrido).

Tras el calentamiento, la fase 4 comienza a fundirse a aproximadamente 300°C, precedido y acompañado de descomposición química. Antes de la fusión no se observa transformación alguna en otra fase cristalina 1, 2 ó 3.

- 35 La exposición a una humedad elevada provoca la transformación en el dihidrato tal como se determina con el XRPD controlado en humedad. Primero, la humedad se redujo linealmente de 50% a 2% durante 6 horas, se mantuvo en 2% durante 6 horas, luego se incrementó linealmente a 95% durante 12 horas, se mantuvo en 95% durante 6 horas, se redujo linealmente a 2% durante 12 horas y se mantuvo en 2% durante otras 6 horas. Como resultado, la fase 4 se transformó en el dihidrato después de aproximadamente 15 min a 95%, que a su vez cambió a la fase 2 después de aproximadamente 20 min a 2% de h.r.

- 40 El polimorfo 4 puede también caracterizarse por sus isotermas de sorción de vapor de agua DVS (sorción dinámica de vapor) y desorción. El comportamiento de sorción/desorción del polimorfo 4 es similar al representado en la Figura 7 para el polimorfo 3.

También el almacenamiento de la fase 4 a 20°C y 75% de humedad relativa provocó la conversión completa del dihidrato en el espacio de 3 semanas. La tasa de conversión aparentemente se correlaciona con la humedad relativa.

- 45 Experimentos de maduración con las suspensiones partiendo de mezclas de fase en disolventes orgánicos secos indican que en el intervalo de temperatura de 0 a 40°C la fase 4 es sólo una metaestable.

Solvatos

Sólo los ejemplos y realizaciones cubiertos por las reivindicaciones forman parte de la invención.

Además de ello, la presente invención se refiere a un solvato de 1,4-dioxano, un solvato de acetato de metilo y un solvato de acetonitrilo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona.

5 El solvato de 1,4-dioxano de acuerdo con la invención muestra reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en 15,1 (fuerte) y 22,5 (fuerte) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

En otro aspecto, el solvato de 1,4-dioxano tiene la propiedad de tener al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en 15,1 (fuerte), 19,7 (media), 20,3 (media), 21,6 (media), 22,5 (fuerte), 23,8 (media), 24,9 (media) y 30,2 (media) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

10 En otra realización, el solvato de 1,4-dioxano puede también caracterizarse por su patrón de difracción de polvo de rayos X como el que se muestra en la Figura 9. Éste se ha obtenido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en donde las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

15 De acuerdo con la difracción de polvo de rayos X resuelta en temperatura, DSC y TGA, el solvato de 1,4-dioxano mostró una pérdida de peso de 16,6% en el análisis termogravimétrico principalmente en un intervalo de temperaturas de 80 a 120°C., en comparación con el esperado de 16,6% para un hemi-solvato y de 23,9% para un equivalente molar de dioxano. En este intervalo de temperaturas se observó la transformación en la fase 3 según se determina por XRPD. El solvato es, por lo tanto, relativamente estable.

20 Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso del solvato de 1,4-dioxano para la producción de polimorfo 3 secando el solvato de 1,4-dioxano a temperatura elevada, p. ej., en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 80 a 120°C.

En otro aspecto, el dihidrato se puede preparar secando el solvato de 1,4-dioxano y exponiendo el producto libre de disolvente a una atmósfera húmeda a aproximadamente 0 a 40°C para obtener el dihidrato.

La relación molar de 1,4-dioxano y el compuesto (I) en el solvato de 1,4-dioxano puede variar.

25 En una realización de la invención, el contenido en 1,4-dioxano oscila entre aproximadamente 1,1 y aproximadamente 0,1, en otra realización entre aproximadamente 1,1 y aproximadamente 0,3, en otra realización entre aproximadamente 1 y aproximadamente 0,3, en otra realización entre aproximadamente 0,7 y aproximadamente 0,3, en otra realización entre aproximadamente 0,5 equivalentes molares de 1,4-dioxano, último contenido en 1,4-dioxano que se corresponde a la pérdida de peso de muestras del solvato de dioxano tal como se determina por TGA. Un objeto particular es, por lo tanto, un hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona x 0,5 solvato de 1,4-dioxano.

El solvato de acetonitrilo es otro objeto de la presente invención. Este solvato muestra al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ a 6,8 (media), 11,3 (media) y 27,7 (fuerte) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

35 En otro aspecto, el solvato de acetonitrilo tiene la propiedad de tener al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

6,8 (media), 11,3 (media), 15,3 (fuerte), 20,9 (media), 23,9 (fuerte), 24,0 (media), 27,4 (media) y 27,7 (fuerte) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

40 En otra realización, el solvato de acetonitrilo puede también caracterizarse por su patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como se muestra en la Figura 10, que se ha obtenido en suspensión utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en donde las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

El solvato de acetonitrilo se puede utilizar en la purificación del compuesto (I) por recristalización del mismo en la forma de este solvato partiendo de compuesto (I).

45 Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso del solvato de acetonitrilo del compuesto (I) para purificar el compuesto (I).

El solvato de acetato de metilo de acuerdo con la invención muestra al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X medido en suspensión (capilares) utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en el modo de transmisión a 15,0 (fuerte) y 23,7 (fuerte) grados $2\theta \pm 0,2$ grados 2θ .

50 En otro aspecto, el solvato de acetato de metilo tiene la propiedad de tener al menos reflexiones características en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en 6,9 (media), 15,0 (fuerte), 20,8 (media), 22,8

(media), 23,7 (fuerte), 24,0 (media), 25,1 (media) y 28,0 (media) grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

En otra realización, el solvato de acetato de metilo puede también caracterizarse por su patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como se muestra en la Figura 11, que ha sido obtenido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en modo de transmisión, en donde las intensidades de las reflexiones representadas en la Figura, así como las de las reflexiones especificadas anteriormente no son un requisito previo, sino que pueden variar.

Fuera de las aguas madres, el solvato de acetato de metilo es sólo moderadamente estable y en presencia de humedad comienza a transformarse en el hidrato. Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso del solvato de acetato de metilo del compuesto (I) para la producción del hidrato, por ejemplo sometándolo a condiciones tales como una temperatura y/o humedad elevadas que facilitan la pérdida de acetato de metilo y atraen agua.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de una forma polimórfica o una mezcla de formas polimórficas y del hidrato de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con la presente invención como un producto farmacéutico o medicamento.

En una realización, la invención se refiere al uso de una forma polimórfica seleccionada de las formas polimórficas 1, 2, 3, 4 y el hidrato o una mezcla de estas formas que comprenden al menos una de las formas polimórficas 1, 2, 3, 4 y el hidrato como un producto farmacéutico o medicamento.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica sólida que comprende al menos una forma polimórfica o solvato de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con la presente invención, especialmente una forma seleccionada de formas polimórficas 1, 2, 3, 4, y el hidrato y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, es decir, sustancias inactivas tales como diluyentes y otros agentes auxiliares. En una realización de la invención, la composición farmacéutica comprende una de las formas polimórficas 1, 2, 3 ó 4, especialmente el polimorfo 2, y en segundo lugar el hidrato en cualquier relación. En otra realización, la composición farmacéutica comprende el hidrato.

Las composiciones farmacéuticas sólidas, que pueden emplearse cuando se utiliza el compuesto (I) como medicamento en la medicina humana y la medicina veterinaria, contienen normalmente un polimorfo o polimorfos de compuesto (I) o el hidrato en un porcentaje de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 90% en peso, en particular de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20% en peso, por ejemplo de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% en peso, y con una cantidad de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 100 mg, en particular de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, por unidad de dosis.

Todos los valores mencionados se calculan sobre la base de la base libre 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona que tiene un peso molecular de 244,12.

Sin embargo, dependiendo del tipo de composición farmacéutica y de otros particulares del caso específico, el porcentaje y la cantidad pueden desviarse de los indicados.

En general, excipientes adecuados son conocidos para el experto en la técnica. Un diluyente, o sustancia de soporte, es cualquier compuesto que sea farmacéuticamente aceptable y adecuado para aumentar el volumen aparente de la composición farmacéutica sólida, de modo que el producto final tiene la forma y el volumen apropiados para la administración y la dosificación por el paciente o el médico. Ejemplos de diluyentes son grasas y aceites vegetales, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, carbonato de calcio, fosfato de calcio, caolín, celulosa microcristalina, almidón, etc., y combinaciones de los mismos. Ejemplos de otros agentes auxiliares que pueden estar presentes en una composición farmacéutica para lograr el perfil de propiedades deseado y/o el apoyo de su fabricación, son antiadherentes, aglutinantes (p. ej. goma de acacia, gelatina, celulosa, derivados de celulosa, polivinilpirrolidona, alginato de sodio, almidón, sacarosa, polietilenglicol, etc.), sales tampón, revestimientos (p. ej., celulosa, polímeros sintéticos, goma laca, polisacáridos, etc.), disgregantes (p. ej., almidón, celulosa, polivinilpirrolidona reticulada, glicolato de almidón de sodio, carboximetil-celulosa de sodio, metil-celulosa, gomas tales como agar, guar, etc.), sabores y colores, deslizantes, lubricantes (p. ej., talco, sílice, estearato de magnesio, etc.), conservantes (p. ej., antioxidantes tales como vitamina A, vitamina E, vitamina C, palmitato de retinilo y selenio, metionina, cisteína, ácido cítrico, citrato de sodio, metilparabeno, propilparabeno, etc.), sorbentes, edulcorantes, agentes humectantes y otros, incluyendo, p. ej., gelatina, caseína, lecitina, goma arábica, colesterol, tragacanto, ácido esteárico, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, monoestearato de glicerol, alcohol cetosteárico, ésteres de sorbitán, ésteres de polioxietilen-alquilo, derivados de aceite de ricino de polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de polioxietilen-sorbitán, polietilenglicoles, estearatos de polioxietileno, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, derivados de celulosa, silicato de magnesio y aluminio, trietanolamina, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, etc., así como cualquier combinación de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden tener cualquier forma adecuada para la

dosificación y la administración en el uso deseado del compuesto (I) y, p. ej., pueden ser una suspensión, comprimido, píldora, cápsula dura o blanda, pastillas y similares. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar, por ejemplo, por vía oral, bucal, rectal, parenteral, subcutánea, nasal, tópica, por inhalación o por rutas oftálmicas o transdérmicas, especialmente por vía oral, dependiendo la administración preferida del caso particular.

5 La dosificación, que se emplea en el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano, con compuesto (I) en forma de uno o más polimorfos o el hidrato de acuerdo con la invención y que es eficaz para obtener el resultado terapéutico o profiláctico, varía y es determinada por el médico a la vista de los particulares del caso específico. Tal como se conoce en la técnica, la dosificación depende de una diversidad de factores tales como, por ejemplo, la gravedad de la afección a tratar, la salud general, la vía de administración, el peso corporal, el sexo, la dieta, el tiempo y la vía de administración, la duración deseada del tratamiento, las tasas de absorción y excreción, combinación con otros fármacos, y otros. La dosis diaria total de una fase cristalina o una mezcla de fases cristalinas (anhidras y/o hidratadas) de compuesto (I) de acuerdo con la invención se puede administrar a un paciente en una dosis única o dosis divididas.

10 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una forma polimórfica o una mezcla de formas polimórficas y del hidrato de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-ilo)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con la presente invención como un producto farmacéutico o medicamento en combinación con uno o más ingredientes farmacológicamente activos que tienen, por ejemplo, efectos favorables sobre trastornos metabólicos o trastornos asociados frecuentemente con los mismos. Ejemplos de este tipo de medicamentos son

1. medicamentos que reducen la glucosa en sangre, antidiabéticos,
- 20 2. ingredientes activos para el tratamiento y/o la prevención de complicaciones provocadas por la diabetes o asociadas con la diabetes,
3. ingredientes activos para el tratamiento de dislipidemias,
4. medicamentos antiateroscleróticos,
5. agentes antiobesidad,
- 25 6. ingredientes activos antiinflamatorios,
7. ingredientes activos antitrombóticos,
8. ingredientes activos para el tratamiento de la hipertensión arterial,
9. ingredientes activos para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.

30 Se pueden combinar con los compuestos de la invención de la fórmula (I), en particular para una mejora sinérgica en el efecto. La administración de la combinación de ingredientes activos puede tener lugar ya sea por administración separada de los ingredientes activos al paciente o en forma de productos de combinación en el que una pluralidad de ingredientes activos está presente en una preparación farmacéutica.

35 Ingredientes activos adicionales adecuados para los productos de combinación son especialmente: todos los agentes antidiabéticos que se mencionan en la Rote Liste 2011, Capítulo 12; todos los agentes contra la hipertensión que se mencionan en la Rote Liste 2011, Capítulo 17; todos los agentes de adelgazamiento/supresores del apetito que se mencionan en la Rote Liste 2011, Capítulo 19; todos los bloqueadores de los receptores beta, bloqueadores de los canales de calcio e inhibidores del sistema renina-angiotensina que se mencionan en la Rote Liste 2011, Capítulo 27, por ejemplo Amlodipino; todos los agentes adelgazantes/supresores del apetito que se mencionan en la Rote Liste 2011, Capítulo 1; todos los reductores de lípidos que se mencionan en la Rote Liste 2011, Capítulo 58. En una realización, se pueden combinar con inhibidores de la ACE (enzima convertidora de angiotensina) tales como benazepril, captopril, cilazapril, enalapril, fosinopril, imidapril, lisinopril, moexipril, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril, trandolapril o zofenopril.

45 En una realización, se pueden combinar con bloqueadores de canales de calcio tales como verapamilo, galopamilo, fendilina, diltiazem, nifedipina, felodipina, amlodipina, nifedipina, lercanidipino, nimodipino, nicardipina, lacidipina, isradipina, nisoldipina, nilvadipina o manidipina.

Se pueden combinar con el compuesto de la invención de la fórmula I, especialmente para la mejora sinérgica de la acción. La combinación de ingredientes activos se puede administrar ya sea por adición separada de los ingredientes activos al paciente o en forma de preparados de combinación, en el que una pluralidad de ingredientes activos está presente en una formulación farmacéutica. La mayoría de los ingredientes activos mencionados más adelante se dan a conocer en el Diccionario USP de USAN and International Drug Names, Farmacopea de los Estados Unidos, Rockville 2006.

En una realización de la presente invención, una fase anhidra o una mezcla de fases anhidras de compuesto (I) y/o el hidrato de acuerdo con la invención, o una composición farmacéutica que comprende los mismos, se utiliza en el tratamiento, incluida la terapia y/o la profilaxis/prevención, de enfermedades asociadas con Rho-quinasa y/o la fosforilación mediada por Rho-quinasa de miosina fosfatasa de cadena ligera, en particular para el tratamiento y/o la prevención de hipertensión, hipertensión pulmonar, hipertensión ocular, retinopatía, glaucoma, trastorno circulatorio periférico, enfermedad arterial oclusiva periférica (PAOD), enfermedad cardíaca coronaria, angina de pecho, hipertrofia cardíaca, insuficiencia cardíaca, enfermedades isquémicas, lesión del órgano final incluida insuficiencia isquémica de órganos, pulmón fibroide, hígado fibroide, insuficiencia hepática, nefropatía (incluyendo nefropatías inducidas por hipertensión, no inducidas por hipertensión y diabéticas), insuficiencia renal, riñón fibroide, glomeruloesclerosis renal, hipertrofia de órganos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos, trastornos trombóticos, accidente cerebrovascular, vasoespasma cerebral, isquemia cerebral, dolor, p. ej., dolor neuropático; degeneración neuronal, lesión de la médula espinal, enfermedad de Alzheimer, nacimiento prematuro, disfunción eréctil, disfunciones endocrinas, arteriosclerosis, hipertrofia prostática, diabetes y complicaciones de la diabetes, síndrome metabólico, restenosis de vasos sanguíneos, aterosclerosis, inflamación, enfermedades autoinmunes, osteopatía tal como osteoporosis, infección de los tractos digestivos con bacterias, sepsis, desarrollo y progresión del cáncer, p. ej., los cánceres de mama, colon, próstata, ovarios, cerebro y pulmón y sus metástasis.

Por consiguiente, un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una forma polimórfica o una mezcla de formas polimórficas y/o el hidrato de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento, especialmente un medicamento para el tratamiento, incluida la terapia y/o profilaxis/prevención, de hipertensión, hipertensión pulmonar, hipertensión ocular, retinopatía, glaucoma, trastorno circulatorio periférico, enfermedad arterial oclusiva periférica (PAOD), enfermedad coronaria del corazón, angina de pecho, hipertrofia cardíaca, insuficiencia cardíaca, enfermedades isquémicas, lesión del órgano final incluida insuficiencia isquémica de órganos, pulmón fibroide, hígado fibroide, insuficiencia hepática, nefropatía, incluyendo nefropatías inducidas por hipertensión, no inducidas por hipertensión y diabéticas, insuficiencia renal, riñón fibroide, glomeruloesclerosis renal, hipertrofia de órganos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos, trastornos trombóticos, accidente cerebrovascular, vasoespasma cerebral, isquemia cerebral, dolor, p. ej., dolor neuropático; degeneración neuronal, lesión de la médula espinal, enfermedad de Alzheimer, nacimiento prematuro, disfunción eréctil, disfunciones endocrinas, arteriosclerosis, hipertrofia prostática, diabetes y complicaciones de la diabetes, síndrome metabólico, restenosis de vasos sanguíneos, aterosclerosis, inflamación, enfermedades autoinmunes, SIDA, osteopatía tal como osteoporosis, infección de los tractos digestivos con bacterias, sepsis, desarrollo y progresión del cáncer, p. ej., los cánceres de mama, colon, próstata, ovarios, cerebro y pulmón y sus metástasis.

De acuerdo con una realización de la invención, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención contiene polimorfo 1 de compuesto (I). De acuerdo con otra realización, contiene polimorfo 1 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 2 de compuesto (I) y/o polimorfo 3 de compuesto (I) y/o polimorfo 4 de compuesto (I), por ejemplo polimorfo 1 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 3 de compuesto (I) o polimorfo 1 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 4 de compuesto (I). De acuerdo con otra realización de la invención, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención contiene polimorfo 3 de compuesto (I). De acuerdo con otra realización, contiene polimorfo 3 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 1 de compuesto (I) y/o polimorfo 2 de compuesto (I) y/o polimorfo 4 de compuesto (I), por ejemplo polimorfo 3 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 4.

De acuerdo con otra realización de la invención, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención contiene polimorfo 4 de compuesto (I). De acuerdo con otra realización, contiene polimorfo 4 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 1 de compuesto (I) y/o polimorfo 2 de compuesto (I) y/o polimorfo 3 de compuesto (I), por ejemplo polimorfo 4 de compuesto (I) en combinación con polimorfo 2.

De acuerdo con otra realización de la invención, la composición farmacéutica contiene el hidrato de compuesto (I). De acuerdo con otra realización, la composición farmacéutica contiene el hidrato de compuesto (I) en combinación con polimorfo 1 de compuesto (I) y/o polimorfo 2 de compuesto (I) y/o polimorfo 4 de compuesto (I), por ejemplo el hidrato de compuesto (I) en combinación con polimorfo 2. En una realización de la presente invención, el hidrato se utiliza solo, es decir, se utiliza sustancialmente libre de los otros polimorfos, en la composición farmacéutica. Medios sustancialmente libre que contienen menos de 10%, preferiblemente menos de 5%, más preferiblemente menos de 1% de uno o más de los otros polimorfos, especialmente de polimorfo 2.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos para la preparación de las formas polimórficas y solvatos de acuerdo con la invención. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un procedimiento para la purificación de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, que comprende una etapa de cristalización, en el que se obtiene polimorfo 1, polimorfo 2, polimorfo 3, polimorfo 4 o el hidrato de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona descrito anteriormente. Dicho procedimiento comprende preferiblemente la preparación de polimorfo 1, polimorfo 2, polimorfo 3, polimorfo 4 o un dihidrato tal como se indica más adelante. En

otra realización de un procedimiento para la purificación de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona se puede preparar y utilizar un solvente de acetato de metilo, solvente de 1,4-dioxano o solvente de acetonitrilo de los mismos.

En general, las formas polimórficas y los solventes de la invención se pueden obtener por cristalización o recristalización del compuesto (I), partiendo de una disolución de compuesto (I) o de una suspensión de compuesto (I) o de compuesto sólido (I). Una disolución de compuesto (I), o una suspensión de compuesto (I) puede haber sido obtenida al final de la síntesis química de compuesto (I), o puede haber sido obtenida por disolución o suspensión de compuesto (I) bruto previamente sintetizado. La expresión "compuesto (I) bruto" comprende cualquier forma de compuesto (I), p. ej., el material directamente obtenido a partir de la síntesis química, una forma polimórfica distinta o solvente o una mezcla de formas polimórficas y/o solventes, que puede no haber sido caracterizado con respecto a sus propiedades de cristalinidad, y que ha de ser transformado en una forma polimórfica distinta o solvente o en otra forma polimórfica distinta o solvente.

Más específicamente, las formas polimórficas 1, 3 y 4 y solventes de la invención se pueden obtener al

(a) proporcionar una disolución o suspensión de compuesto (I), por ejemplo disolviendo o suspendiendo compuesto (I) bruto en un disolvente adecuado tal como un alcohol, p. ej., metanol, etanol, isopropanol; una cetona, p. ej., acetona o metil-etil-cetona; un éter, p. ej., tetrahidrofurano o dioxano; u otros disolventes tales como acetonitrilo o acetato de metilo, en donde una disolución de compuesto (I) es generalmente una disolución transparente y puede opcionalmente haber sido filtrada,

(b) mantener, calentar, enfriar y/o concentrar la disolución o suspensión y/o añadir uno o más disolventes adicionales, con o sin agitación, tal como sacudimiento, para formar cristales de un polimorfo o solvente distinto deseado o para permitir la formación de un polimorfo o solvente distinto deseado, y

(c) aislar el polimorfo o solvente distinto.

Los procedimientos para preparar formas polimórficas y solventes de compuesto (I) se pueden realizar con un equipo convencional y de acuerdo con procedimientos estándares. Por ejemplo, la concentración de una disolución o suspensión en la etapa (b) se puede realizar destilando el disolvente parcial o totalmente a presión atmosférica o a presión reducida. El aislamiento de un polimorfo o solvente en la etapa (c) puede realizarse por cualquier técnica convencional tal como filtración o filtración en vacío o centrifugación. El aislamiento también puede comprender secar, p. ej., aplicando temperaturas elevadas y/o presión reducida, por ejemplo a una presión moderadamente reducida a aproximadamente la temperatura ambiente, es decir, una temperatura de aproximadamente 18°C a aproximadamente 25°C, por ejemplo de aproximadamente 20°C o de aproximadamente 40°C.

En una realización preferida, la disolución o suspensión se pueden sembrar en la etapa (a) o en la etapa (b) para fomentar la cristalización o la transformación de polimorfo. La siembra se realiza preferentemente con una pequeña cantidad del polimorfo o solvente deseado, por ejemplo polimorfo 1, polimorfo 3 o polimorfo 4.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato, comprendiendo el procedimiento las etapas de

(a) disolver hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona en un disolvente adecuado que contiene agua o en agua sola a una temperatura adecuada para obtener una disolución, (b) concentrar la disolución por evaporación del disolvente parcialmente suficiente para permitir la formación de cristales de dihidrato o

enfriar la disolución y mantener durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de cristales de dihidrato y

(c) aislar el dihidrato.

Un disolvente adecuado o mezcla de disolventes para la disolución y cristalización de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona se puede seleccionar a partir de acetona/agua, metil-etil-cetona/agua, metanol/agua, etanol/agua, isopropanol/agua, tetrahidrofurano/agua, acetonitrilo/agua o agua.

La temperatura adecuada para obtener una disolución es de aproximadamente 55°C a aproximadamente 70°C, preferiblemente a aproximadamente 65°C.

El período suficiente para permitir la formación de un precipitado de cristales de dihidrato mediante concentración es, por ejemplo, de aproximadamente 1 hora a 10 días tal como aproximadamente 2 días. El enfriamiento de la disolución puede realizarse, por ejemplo, dejándola reposar a temperatura ambiente y/o mediante enfriamiento activo en el espacio de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 30 minutos, y puede variar en función del tamaño de la muestra. La temperatura obtenida por enfriamiento es de aproximadamente 0°C.

- El contenido en agua en las mezclas de disolventes mencionadas anteriormente puede variar dependiendo del disolvente utilizado, pero puede variar dentro de un amplio intervalo para el disolvente orgánico y agua. Puede estar, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 4:1 - 1:4 (v/v) para mezclas de disolventes tales como etanol/agua, 2-propanol/agua o acetona/agua, pero incluso se puede utilizar más agua y también agua pura. En una realización, se utiliza una mezcla de disolvente/agua de 4:1. En otra realización, se utiliza una mezcla de acetona/agua. En una realización, se utiliza una relación de 3:1 (v/v), en otra realización se utiliza un intervalo de 3:2 (v/v) de acetona/agua. De acuerdo con una realización preferida, la disolución puede sembrarse con cristales de dihidrato, preferiblemente durante la etapa (b).
- El secado del dihidrato obtenido se puede hacer, p. ej., con una corriente de nitrógeno que tiene una humedad definida (más de aproximadamente 30% de agua) con el fin de evitar un secado excesivo del dihidrato y una pérdida de agua del cristal.
- Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de polimorfo 2 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de
- (a) exponer hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a una temperatura de aproximadamente 20 hasta aproximadamente 40°C a más bien baja humedad, preferiblemente un gas tal como nitrógeno o aire, con menos de 2% de humedad relativa;
- (b) mantener el hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a aproximadamente la temperatura ambiente durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de polimorfo 2 del compuesto (I), por ejemplo durante aproximadamente 1 día a aproximadamente 50 días tal como durante aproximadamente 28 días; y
- (c) aislar polimorfo 2.
- El período de tiempo de exposición al aire puede variar dependiendo del tamaño de la muestra y también puede ser menor que un día para muestras pequeñas.
- Un aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de polimorfo 1 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de
- (a) disolver hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona o el dihidrato del mismo en una mezcla de disolventes de metanol e isopropanol, preferiblemente en una relación de aproximadamente 2 a 1, para obtener una disolución, preferiblemente por calentamiento a una temperatura de aproximadamente 55°C a aproximadamente 65°C;
- (b) enfriar, por ejemplo a una temperatura de aproximadamente 0°C, durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de cristales de polimorfo 1, por ejemplo durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 4 horas; y
- (c) aislar polimorfo 1.
- Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de polimorfo 3 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de
- (a) disolver hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona o el dihidrato del mismo en un disolvente adecuado tal como metanol para obtener una disolución, por ejemplo a aproximadamente temperatura ambiente o a una temperatura de aproximadamente 55°C a aproximadamente 65°C;
- (b) enfriar, por ejemplo a una temperatura de aproximadamente 0°C, durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de cristales de polimorfo 3, por ejemplo durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 4 horas; y
- (c) aislar polimorfo 3; o
- (a') suspender hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a aproximadamente la temperatura ambiente en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol y acetona para obtener una suspensión;
- (b') mantener la suspensión a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 45°C, preferiblemente de aproximadamente 15°C a aproximadamente 25°C, más preferiblemente a aproximadamente 20°C, durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la formación de cristales de polimorfo 3, por ejemplo durante aproximadamente 1 día a aproximadamente 50 días tal como durante aproximadamente 35 días; y
- (c') aislar polimorfo 3.

Dependiendo de las condiciones de cristalización, en este procedimiento el polimorfo 3 se puede obtener junto con otro polimorfo, por ejemplo el polimorfo 1 ó 4. De acuerdo con una realización preferida, la disolución puede sembrarse con cristales de polimorfo 3, preferiblemente durante la etapa (b).

- 5 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de polimorfo 4 de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de

(a) suspender hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a aproximadamente la temperatura ambiente en 2-butanol para obtener una suspensión;

- 10 (b) mantener la suspensión a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 45°C, preferiblemente a aproximadamente 15°C hasta aproximadamente 25°C, más preferiblemente a aproximadamente 20°C, durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de cristales de polimorfo 4, por ejemplo durante aproximadamente 1 día a aproximadamente 50 días, tal como durante aproximadamente 35 días;

(c) aislar polimorfo 4.

De acuerdo con una realización preferida, la disolución se puede sembrar con el cristales de polimorfo 4, preferiblemente durante la etapa (b).

- 15 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de solvato de acetato de metilo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de

- 20 (a) suspender hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a aproximadamente la temperatura ambiente en acetato de metilo para obtener una suspensión; (b) mantener la suspensión a aproximadamente la temperatura ambiente durante un período de tiempo suficiente para formar un solvato de acetato de metilo, por ejemplo durante aproximadamente 1 día a aproximadamente 50 días tal como durante aproximadamente 35 días;

(c) aislar el solvato de acetato de metilo.

Dependiendo de las condiciones de aislamiento, el solvato se puede transformar parcialmente en otros polimorfos tal como el dihidrato, forma 1 ó 3.

- 25 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de solvato de hidrocloreto de 1,4-dioxano de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de

(a) suspender hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a aproximadamente la temperatura ambiente en 1,4-dioxano para obtener una suspensión;

- 30 (b) mantener la suspensión a aproximadamente la temperatura ambiente durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de solvato de 1,4-dioxano, por ejemplo durante aproximadamente 1 día a aproximadamente 50 días tal como durante aproximadamente 28 días;

(c) aislar el precipitado de solvato de 1,4-dioxano.

- 35 Dependiendo de las condiciones de aislamiento, se puede obtener el solvato de dioxano y, adicionalmente, el dihidrato.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de solvato de acetonitrilo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, comprendiendo el procedimiento las etapas de

- 40 (a) suspender hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato a aproximadamente la temperatura ambiente en acetonitrilo para obtener una suspensión;

(b) mantener la suspensión a aproximadamente la temperatura ambiente durante un período de tiempo suficiente para permitir la formación de solvato de acetonitrilo, por ejemplo durante aproximadamente 1 día a aproximadamente 50 días tal como durante aproximadamente 35 días;

(c) aislar el precipitado de solvato de acetonitrilo.

- 45 Dependiendo de las condiciones de aislamiento, se pueden obtener el solvato de acetonitrilo, pero también el dihidrato, así como, adicionalmente, las formas 1 y 3.

Ejemplos

(Sólo los ejemplos o realizaciones cubiertos por las reivindicaciones forman parte de la invención)

Los siguientes ejemplos ilustran la formación de los polimorfos y solvatos de la presente invención a modo de ejemplo. El compuesto (I), como material de partida para la preparación de los polimorfos y solvatos, se puede obtener según se describe en el documento WO 2007/012421. Cuando se utilice u obtenga el dihidrato, esto se especifica. Hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona se abrevia como "compuesto (I)".

Si no se menciona lo contrario, el secado se llevó a cabo en todos los experimentos de formación y maduración mencionados más adelante durante la noche a presión reducida (aproximadamente < 50 mbar) a 40°C. Los polimorfos, hidratos y solvatos se identificaron y caracterizaron por su patrón de XRPD.

1) Formación de dihidrato (C₁₄H₂₁ClN₂O₄, PM = 316,78)

a) 10 g de hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona bruto se disolvieron en 25 mL de agua a 70°C. La disolución se enfrió a 55°C y se añadieron 75 mL de acetona. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente en el espacio de 3 horas y se dejó reposar durante dos días para la cristalización. Después de enfriar (4°C) durante 6 horas, el producto se aisló mediante filtración, se lavó con acetona/agua (3:1) y se secó en vacío. Se obtuvieron 7,9 g (pureza 97,1%) de hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato.

Contenido en agua (Karl Fischer): 10,52%

b) 8,5 g de hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona bruto se disolvieron en 21,5 mL de agua a 65°C. La temperatura se bajó a 50°C en 1 h y se añadieron 32,3 mL de acetona en el espacio de 30 min. La temperatura se bajó a 40°C y la mezcla se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se recogió el material cristalino, se lavó con agua/acetona (1/3) y se secó para dar 4,54 g (pureza > 99,9%) de hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona dihidrato.

Contenido en agua (Karl Fischer) 10,6%

¹H RMN (500 MHz, d₆-DMSO) δ 1,85-1,95 (m, 2H), 2,13 - 2,22 (m, 2H), 3,04 - 3,14 (m, 2H), 3,20 - 3,29 (m, 2H), 4,79-4,86 (m, 1H), 6,44 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,10 (dd, J = 8,9, 2,5 Hz, 1H), 7,14 (dd, J = 7,2, 6,7 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,09 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 8,97-9,13 (s ancho, 2H) 11,09 (d ancho, J = 5 Hz, 1H).

c) 0,205 g de compuesto (I) (dihidrato) se disolvieron en 20 mL de etanol y 3 mL de agua a aproximadamente 65°C. El disolvente se dejó evaporar a partir de la disolución agitada a la misma temperatura durante la noche.

d) 0,200 g del compuesto (I) (dihidrato) se disolvieron en 20 mL de etanol y 4 mL de agua a 65°C. La disolución se enfrió rápidamente a 0°C. Después de 45 minutos, el producto se aisló mediante filtración en vacío y se secó.

De la misma manera se obtuvo el dihidrato si el etanol se reemplazó por tetrahidrofurano o metil-etil-cetona en los Ejemplos c) y d).

e) 0,204 g del compuesto (I) (dihidrato) se disolvieron en 3 mL de agua a 65°C. La disolución se enfrió rápidamente a 0°C. Después de 30 minutos, el producto se aisló mediante filtración en vacío y se secó.

2) Formación de polimorfo 1 (C₁₄H₁₇N₂O₂Cl, PM = 280,76)

1,2 g de hidrocloruro de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona se suspendieron en isopropanol y se agitó durante 6 h. El material sólido (1,14 g) se aisló mediante filtración. 60,7 mg del mismo se suspendieron en una mezcla de 0,352 mL de isopropanol y 0,647 mL de metanol. La mezcla se calentó hasta que se obtuvo una disolución transparente. Tras enfriar se obtuvo el producto cristalino que se aisló mediante filtración.

3) Formación de polimorfo 2 (C₁₄H₁₇N₂O₂Cl, PM = 280,76)

Aproximadamente 3 mg de compuesto (I) (dihidrato) se expusieron a 25°C a una atmósfera de nitrógeno seco (corriente de nitrógeno) durante al menos 6 horas. Después de este tratamiento, el patrón de difracción de rayos X de la muestra corresponde a la fase 2.

4) Formación del polimorfo 3 (C₁₄H₁₇N₂O₂Cl, PM = 280,76)

a) 0,201 g de compuesto (I) (dihidrato) se disolvieron en 20 mL de acetonitrilo y 3 mL de agua a 65°C. El disolvente se dejó evaporar a partir de la disolución agitada a la misma temperatura durante la noche. Se obtuvieron polimorfo 3 y trazas del dihidrato.

b) 0,208 g del compuesto (I) (dihidrato) se disolvieron en 10 mL de metanol a 65°C. La disolución agitada se enfrió rápidamente a 0°C. Después de 30 minutos, el producto se aisló mediante filtración en vacío y se secó.

c) 0,203 g de compuesto (I) (dihidrato) se suspendieron en 1,2 mL de metanol a 20°C y se agitaron durante 35 días. El producto se aisló mediante filtración en vacío y se secó.

Se obtuvo el mismo producto (polimorfo 3), si el dihidrato de compuesto (I) se suspendió en etanol, 1-propanol o 2-propanol.

5 5) Formación del polimorfo 4 ($C_{14}H_{17}N_2O_2Cl$, PM = 280,76)

a) 0,202 g de compuesto (I) (dihidrato) se suspendieron en 2,0 mL de 2-butanol a 20°C y se agitaron durante 35 días. El producto se aisló mediante filtración en vacío y se secó.

6) Formación de solvato de acetato de metilo

10 a) 0,208 g de compuesto (I) (dihidrato) se suspendieron en 2,5 mL de acetato de metilo. La disolución se agitó en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 35 días. El sólido presente en la suspensión era el solvato de acetato de metilo tal como se determina por XRPD en suspensión.

Después de filtración en vacío y secado se obtuvo el dihidrato que contiene las formas 1 y 3.

7) Formación de solvato de 1,4-dioxano

15 a) 0,204 g de compuesto (I) (dihidrato) se disolvieron en 2,5 mL de 1,4-dioxano a 20°C durante 35 días con agitación continua. El sólido presente en la suspensión era el solvato de acetato de metilo según se determina por XRPD en suspensión.

Después de filtración en vacío y secado se obtuvo el solvato que contiene dihidrato.

8) Formación de solvato de acetonitrilo

20 a) 0,206 g de compuesto (I) (dihidrato) se suspendieron en 2,5 mL de acetonitrilo. La suspensión se agitó a 20°C durante 35 días. El sólido presente en la suspensión era el solvato de acetonitrilo según se determina por XRPD en suspensión. El sólido presente en la suspensión se aisló mediante filtración en vacío y se secó durante la noche a presión reducida a temperatura ambiente.

Después de filtración en vacío y secado se obtuvo el dihidrato que contiene las formas 1 y 3.

9) Ejemplos de maduración

25 Mediante experimentos de maduración (conversión en suspensión) a la temperatura dada se investigó la estabilidad relativa de los polimorfos de compuesto (I) y el hidrato.

Se realizó el siguiente experimento de maduración agitando la suspensión en las condiciones especificadas, partiendo del dihidrato. La muestra se investigó mediante XRPD en suspensión, después de la filtración en vacío, así como después de secar durante la noche a 40°C en vacío (< 50 mbar). El material aislado también fue investigado mediante DSC y TGA.

30 a) Maduración de 0,210 g de dihidrato de compuesto (I) en 0,4 mL de agua a 20°C durante 35 días. De manera similar, la maduración del dihidrato se hizo en agua/metanol (vol/vol 1:1) y en agua/etanol (vol/vol 1:1). En todos los experimentos de maduración del sólido se mantuvo como dihidrato.

35 Los siguientes experimentos de maduración se realizaron agitando la suspensión en las condiciones especificadas y aislando el sólido mediante filtración en vacío, partiendo del dihidrato de compuesto (I). La muestra se investigó mediante XRPD en suspensión después de la filtración de vacío, así como después del secado. El material aislado también fue investigado mediante DSC y TGA.

(b) Maduración de 0,203 g de dihidrato de compuesto (I) en 1,2 mL de metanol a 20°C durante 35 días.

40 (c) La maduración también se realizó como en (b) utilizando etanol, 1-propanol o 2-propanol. En todos los experimentos (b) y (c) se obtuvo el polimorfo 3.

(d) Maduración de 0,202 g de dihidrato de compuesto (I) en 2,0 mL de 2-butanol a 20°C durante 35 días. Se obtuvo polimorfo 4 después del secado.

45 Los siguientes experimentos de maduración de suspensiones de mezclas en fase del dihidrato de compuesto (I) y las fases que consisten en los polimorfos 1, 3 y 4 se realizaron a 0, 20 y 40°C. El producto se aisló mediante filtración en vacío y se analizó después del secado.

(e) Maduración de una mezcla de 0,3 mg de fase 1, 23,9 mg de fase 3, 29,9 mg de fase 4 y 27,9 mg del dihidrato en

0,7 mL de 2-propanol a 0°C durante 2 semanas.

(f) Maduración de una mezcla de 0,3 mg de fase 1, 27,2 mg de fase 3, 18,1 mg de fase 4 y 29,6 mg del dihidrato en 2,0 mL de 2-butanol a 0°C durante 2 semanas.

- 5 (g) Se realizaron experimentos similares, como en e) y f) con mezclas correspondientes de fase 1, fase 3, fase 4 y el dihidrato en 2-propanol y 2-butanol a 20°C y 40°C, respectivamente.

En todos los experimentos e), f) y g) se obtuvo el polimorfo 3 después de la filtración y el secado.

Los experimentos de maduración realizados demuestran que entre los polimorfos encontrados la fase 3 es la forma anhidra termodinámicamente más estable en el intervalo de temperaturas investigado.

10) Formación de compuesto (I) amorfo

- 10 80 mg de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona se disolvieron en 40 ml de agua y la disolución se sometió a liofilización: La disolución se congeló en nitrógeno líquido y se expuso a un alto vacío durante aproximadamente 16 horas. A continuación, el liofilizado obtenido se sometió a difracción de polvo de rayos X, que demostró que la muestra obtenida es amorfa según se determina por rayos X (Figura 12).

Métodos analíticos y condiciones de operación

- 15 Difracción de polvo de rayos X (XRPD)

Toda la difracción de polvo de rayos X se realizó con difractómetros de transmisión Stoe Stadi-P utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ (Lambda es 1,54060 Angström). Para el sitio de difracción de polvo a temperatura ambiente se utilizaron detectores sensibles a la posición lineal mientras que para la XRPD resuelta en temperatura se utilizaron detectores sensibles de posición de una placa de imagen (IP-PSDs). A menos que se indique lo contrario, la difracción de polvo de rayos X se llevó a cabo a temperatura ambiente. Las muestras secas fueron investigadas en una preparación plana, mientras que las suspensiones fueron investigadas en capilares de vidrio de cuarzo. Se evaluaron los datos medidos y se representaron con el Software WinXPOW V2.12.

- 20 Los difractogramas de polvo de rayos X observados de las fases 1, 2, 3 y 4, el dihidrato, así como del solvato de acetato de metilo, solvato de 1,4-dioxano y solvato de acetonitrilo de compuesto (I) se muestran en la Figuras. Los patrones de difracción de polvo de rayos X mostrados en las Figuras están sustraídos en el fondo.

- 25 Los ángulos 2θ (2theta) se especifican en ° (grados). Los ángulos 2θ (2theta) especificados en ° (grados) se entendieron con una varianza potencial de $\pm 0,6$ grados 2θ .

- 30 Las intensidades relativas de reflexiones características se especifican como sigue. La intensidad relativa de una reflexión se designa como "fuerte" si es más de 75% de la intensidad de la más intensa reflexión o es la reflexión más intensa en sí, y como "media" si está entre 20% y 75% de la intensidad de la reflexión más intensa. Por debajo de 20% la intensidad se designa "débil".

Difractogramas de polvo de rayos X resueltos en temperatura demostraron que las fases 1, 2, 3 y 4 del compuesto (I) se fundieron sin transiciones sólido-sólido precedentes.

Análisis termogravimétrico (TGA)

- 35 Los análisis termogravimétricos se realizaron con un aparato METTLER TGA851e (módulo TGA/SDTA851e/SF1100/042). Se utilizaron crisoles de Al de 100 μl sellados con tapa. El cambiador de muestras perfora un agujerito en la tapa inmediatamente antes del inicio de la medición. La celda del horno se purga con un flujo de gas nitrógeno de aproximadamente 50 mL/min. Las mediciones comienzan típicamente con un tiempo de retención de aproximadamente 25 min a 25°C, seguido de calentamiento de la muestra con una tasa de 10°/min.

- 40 La temperatura y la pérdida de peso se verificaron mediante una muestra de referencia de oxalato de calcio hidrato.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

- 45 Todas las mediciones de DSC se realizaron con un aparato Mettler DSC822e (módulo DSC822e/700/109/414935/0025). Si no se indica de otra manera, se utilizaron crisoles de Al de 40 μl con tapa sellada y orificio. Todas las mediciones se llevaron a cabo en un caudal de gas de nitrógeno de 50 mL/minuto. La tasa de calentamiento fue de 10°C/minuto a menos que se indique lo contrario. La temperatura y el flujo de calor fueron calibrados a través del pico de fusión de una referencia de indio.

Los datos medidos se evaluaron con el software STARe V6.1.

Sorción de vapor dinámica (DVS)

5 Las isothermas de sorción/desorción de la humedad se registraron en un aparato DVS-1 de Surface Measurement Systems. Se realizaron dos ciclos a 25°C, en los que la muestra se trató primero con gas nitrógeno seco y luego la humedad relativa se aumentó escalonadamente de 0 a 95% y subsiguientemente se redujo de nuevo a 0% y se midió el peso de la muestra. Los tiempos de medición típicos totales para ambos ciclos son de aproximadamente 20-30 horas.

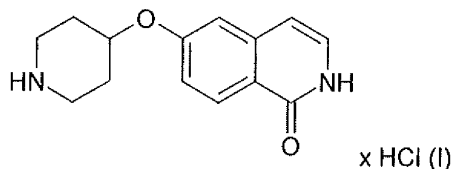
Los datos se evaluaron con el software DVSWin V. 2.15.

Estructuras cristalinas

10 La estructura cristalina del dihidrato de compuesto (I) se determinó mediante análisis de rayos X de la estructura de cristal único. Se recogieron datos de difracción de rayos X de cristal único a temperatura ambiente en un difractómetro de tres círculos Bruker/AXS, equipado con un detector de área SMART APEX y un generador de ánodo giratorio K α de molibdeno, hecho funcionar a 50 kV/120 mA y se ajustaron a un enfoque fino de 0,5 x 5 mm².

REIVINDICACIONES

1. Un polimorfo cristalino de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona que tiene la fórmula



en donde el polimorfo exhibe en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ al menos reflexiones características dentro de los dos intervalos seleccionados de

1) 15,4-15,8 y

2) 16,5-16,8 $\pm$ 0,2 grados 2theta.

2. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 1, que es polimorfo 2 y tiene al menos reflexión en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

8,1, 15,8 y 16,5 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

3. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 2, que es polimorfo 2 y tiene al menos reflexión en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

8,1, 15,8, 16,5, 22,2, 25,0 y 26,6 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

4. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 1, que es polimorfo 1 y tiene al menos reflexiones en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5, 15,4, 16,8, 21,7 y 24,7 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

5. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 4, que es polimorfo 1 y tiene al menos reflexiones en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5, 15,4, 16,8, 21,7, 22,8 y 24,7 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

6. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 1, que es polimorfo 3 y tiene al menos reflexiones en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5, 15,4, 16,7, 21,7 y 25,5 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

7. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 6, que es polimorfo 3 y tiene al menos reflexiones en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

4,5, 15,4, 16,7, 21,7, 22,3 y 25,5 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

8. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 1, que es polimorfo 4 y tiene al menos reflexiones en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

15,4, 16,7, 21,5 y 30,7 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

9. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según la reivindicación 8, que es polimorfo 4 y tiene al menos reflexiones en un difractograma de polvo de rayos X utilizando radiación $\text{CuK}\alpha_1$ en

15,4, 16,7, 16,9, 21,5, 22,4 y 30,7 grados 2theta $\pm$ 0,2 grados 2theta.

10. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso como un medicamento.

11. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de hipertensión, hipertensión pulmonar, hipertensión ocular, retinopatía, glaucoma, trastorno circulatorio periférico, enfermedad arterial oclusiva periférica (PAOD), enfermedad cardíaca coronaria, angina de pecho, hipertrofia cardíaca, insuficiencia cardíaca, enfermedades isquémicas, lesión del órgano final, pulmón fibroide, hígado fibroide,

- insuficiencia hepática, nefropatía, insuficiencia renal, riñón fibroide, glomeruloesclerosis renal, hipertrofia de órganos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos, trastornos trombóticos, accidente cerebrovascular, vasoespasmo cerebral, isquemia cerebral, dolor, degeneración neuronal, lesión de la médula espinal, enfermedad de Alzheimer, nacimiento prematuro, disfunción eréctil, disfunciones endocrinas, arteriosclerosis, hipertrofia prostática, diabetes y complicaciones de la diabetes, síndrome metabólico, restenosis de vasos sanguíneos, aterosclerosis, inflamación, enfermedades autoinmunes, osteopatía, infección de los tractos digestivos con bacterias, sepsis o desarrollo y progresión del cáncer.
- 5 12. Una composición farmacéutica sólida que comprende el polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y uno o más excipientes farmacéuticos aceptables.
- 10 13. La composición según la reivindicación 12, para el tratamiento y/o la prevención de hipertensión, hipertensión pulmonar, hipertensión ocular, retinopatía, glaucoma, trastorno circulatorio periférico, enfermedad arterial oclusiva periférica (PAOD), enfermedad cardíaca coronaria, angina de pecho, hipertrofia cardíaca, insuficiencia cardíaca, enfermedades isquémicas, lesión del órgano final, pulmón fibroide, hígado fibroide, insuficiencia hepática, nefropatía, insuficiencia renal, riñón fibroide, glomeruloesclerosis renal, hipertrofia de órganos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos, trastornos trombóticos, accidente cerebrovascular, vasoespasmo cerebral, isquemia cerebral, dolor, degeneración neuronal, lesión de la médula espinal, enfermedad de Alzheimer, nacimiento prematuro, disfunción eréctil, disfunciones endocrinas, arteriosclerosis, hipertrofia prostática, diabetes y complicaciones de la diabetes, síndrome metabólico, restenosis de vasos sanguíneos, aterosclerosis, inflamación, enfermedades autoinmunes, osteopatía, infección de los tractos digestivos con bacterias, sepsis o desarrollo y progresión del cáncer.
- 15 20 14. El polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de nefropatía.
15. El polimorfo para uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la nefropatía es nefropatía diabética.
- 25 16. Un producto farmacéutico que comprende uno o más compuestos según una o más de las reivindicaciones 1 a 9 y al menos un ingrediente activo adicional.
17. El producto farmacéutico según la reivindicación 16, que comprende, como ingrediente activo adicional, uno o más agentes antidiabéticos. ingredientes hipoglucémicos activos o agentes anti-hipertensión.
- 30 18. El producto farmacéutico según la reivindicación 16, que comprende, como un ingrediente activo adicional, uno o más bloqueadores de los receptores beta, bloqueadores de los canales de calcio o inhibidores de renina-angiotensina.
19. El producto farmacéutico según la reivindicación 18, que comprende, como un ingrediente activo adicional, verapamilo, galopamilo, fendilina, diltiazem, nitrendipina, felodipina, amlodipina, nifedipina, lercanidipino, nimodipino, nicardipina, lacidipina, isradipina, nisoldipina, nilvadipina o manidipina.
- 35 20. El producto farmacéutico según la reivindicación 19, que comprende, como un ingrediente activo adicional, amlodipina.
21. El producto farmacéutico según la reivindicación 16, que comprende, como un ingrediente activo adicional, uno o más inhibidores de la ACE (enzima convertidora de angiotensina).
- 40 22. El producto farmacéutico según la reivindicación 21, que comprende, como un ingrediente activo adicional, benazepril, captopril, cilazapril, enalapril, fosinopril, imidapril, lisinopril, moexipril, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril, trandolapril o zofenopril.
23. Uso del polimorfo de hidrocloreto de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona según las reivindicaciones 1 a 9, que es polimorfo 1, polimorfo 2, polimorfo 3 o polimorfo 4, para la preparación del dihidrato de 6-(piperidin-4-iloxi)-2H-isoquinolin-1-ona.

Figura 1

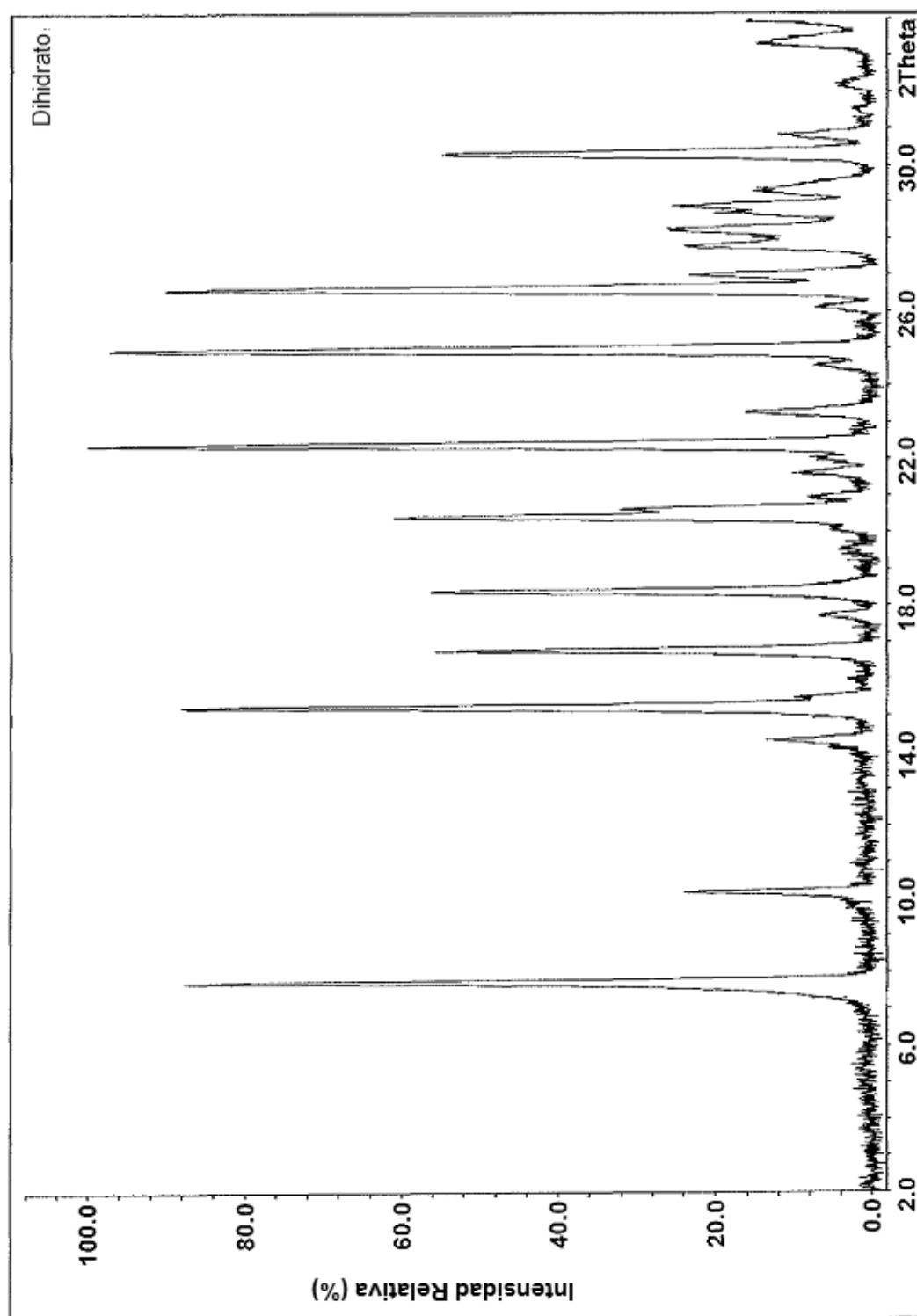


Figura 2

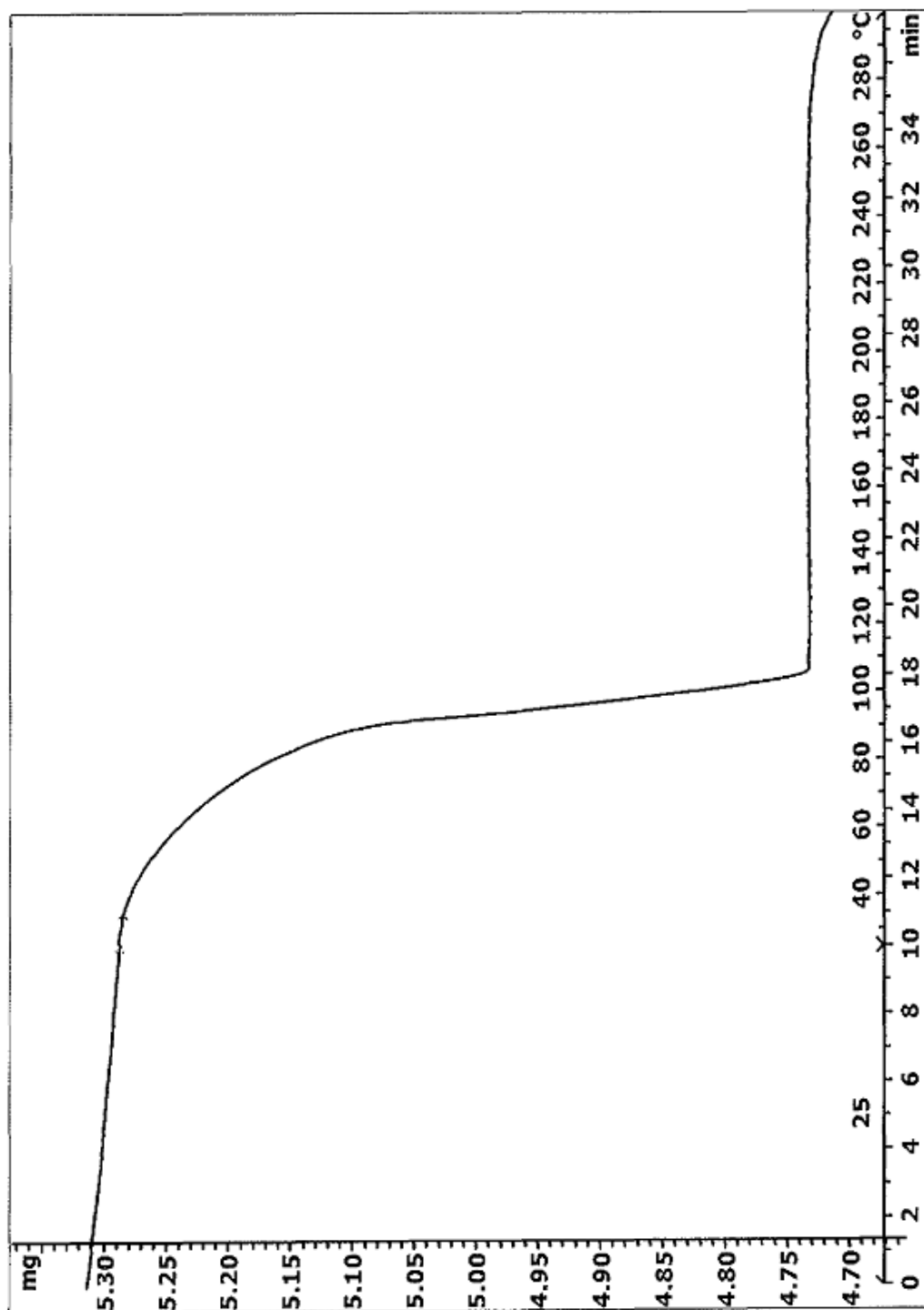


Figura 3

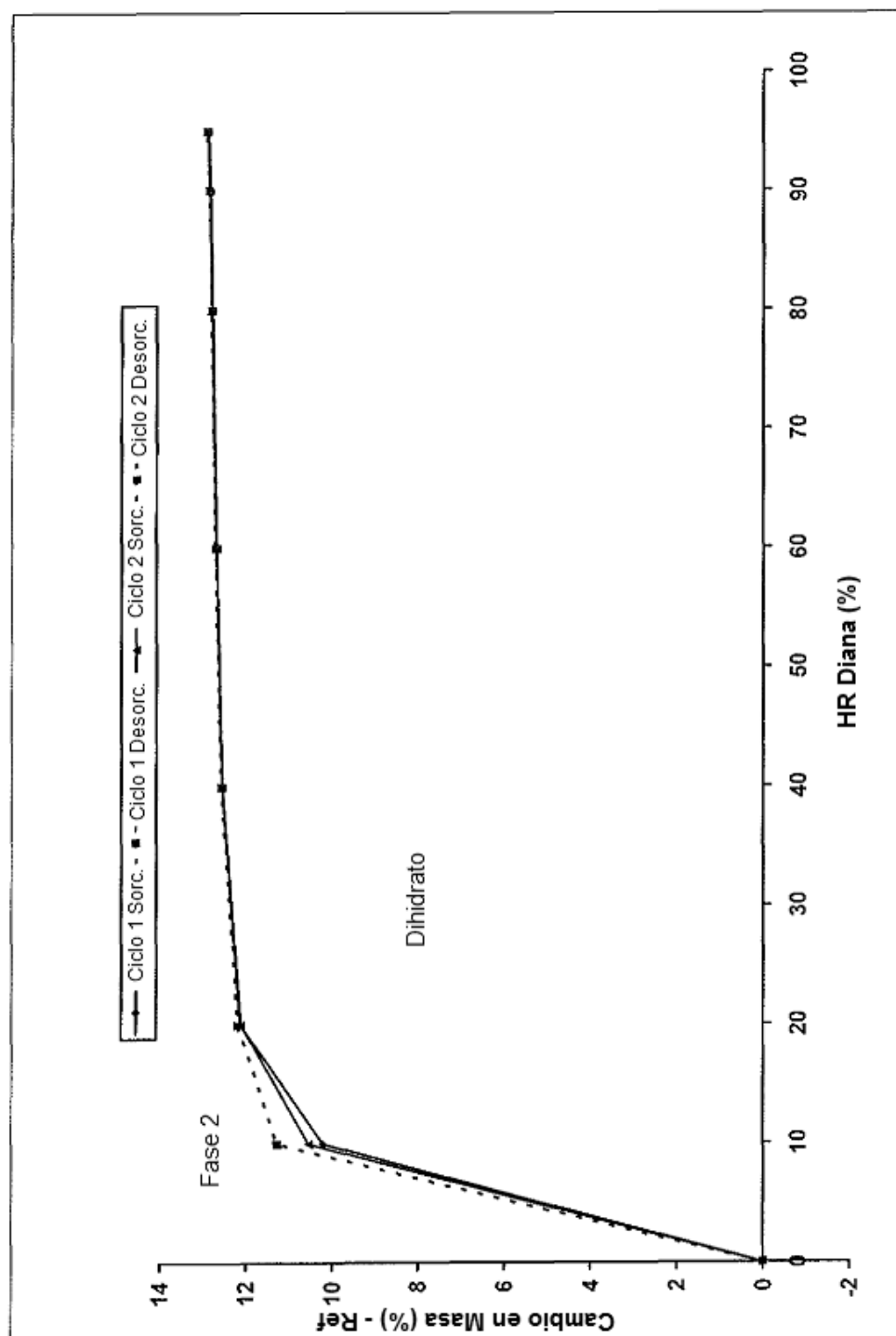


Figura 4

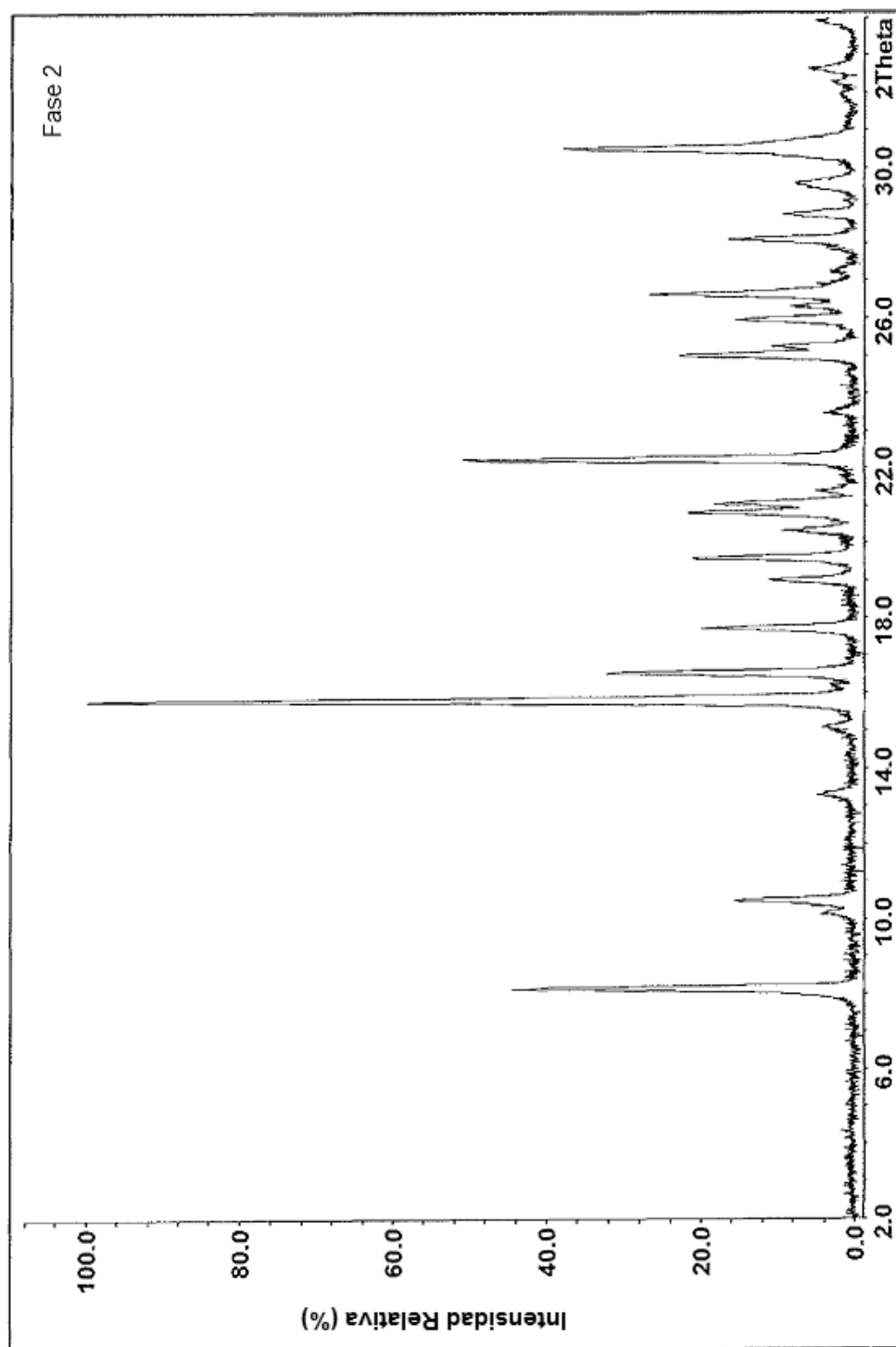


Figura 5

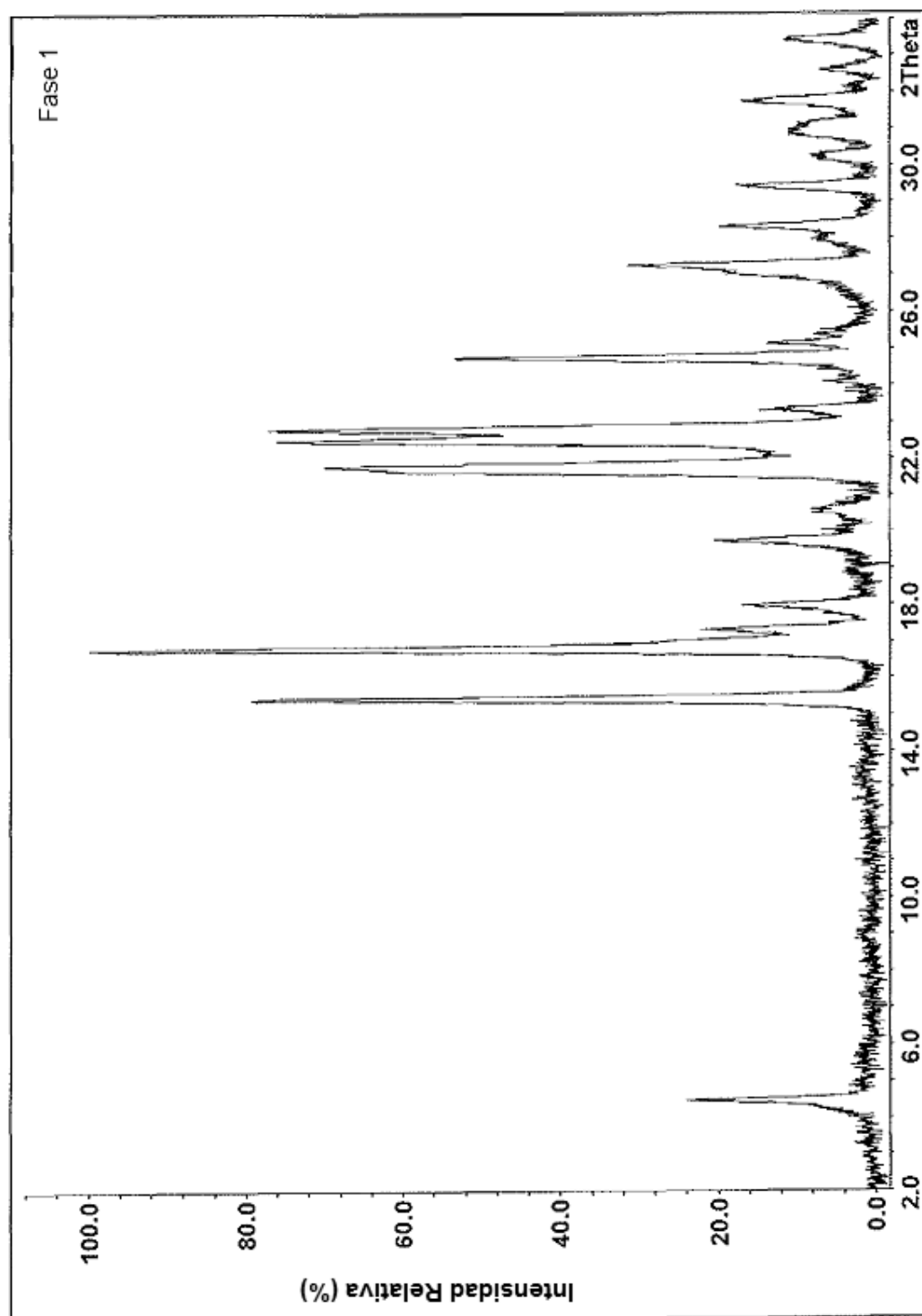


Figura 6

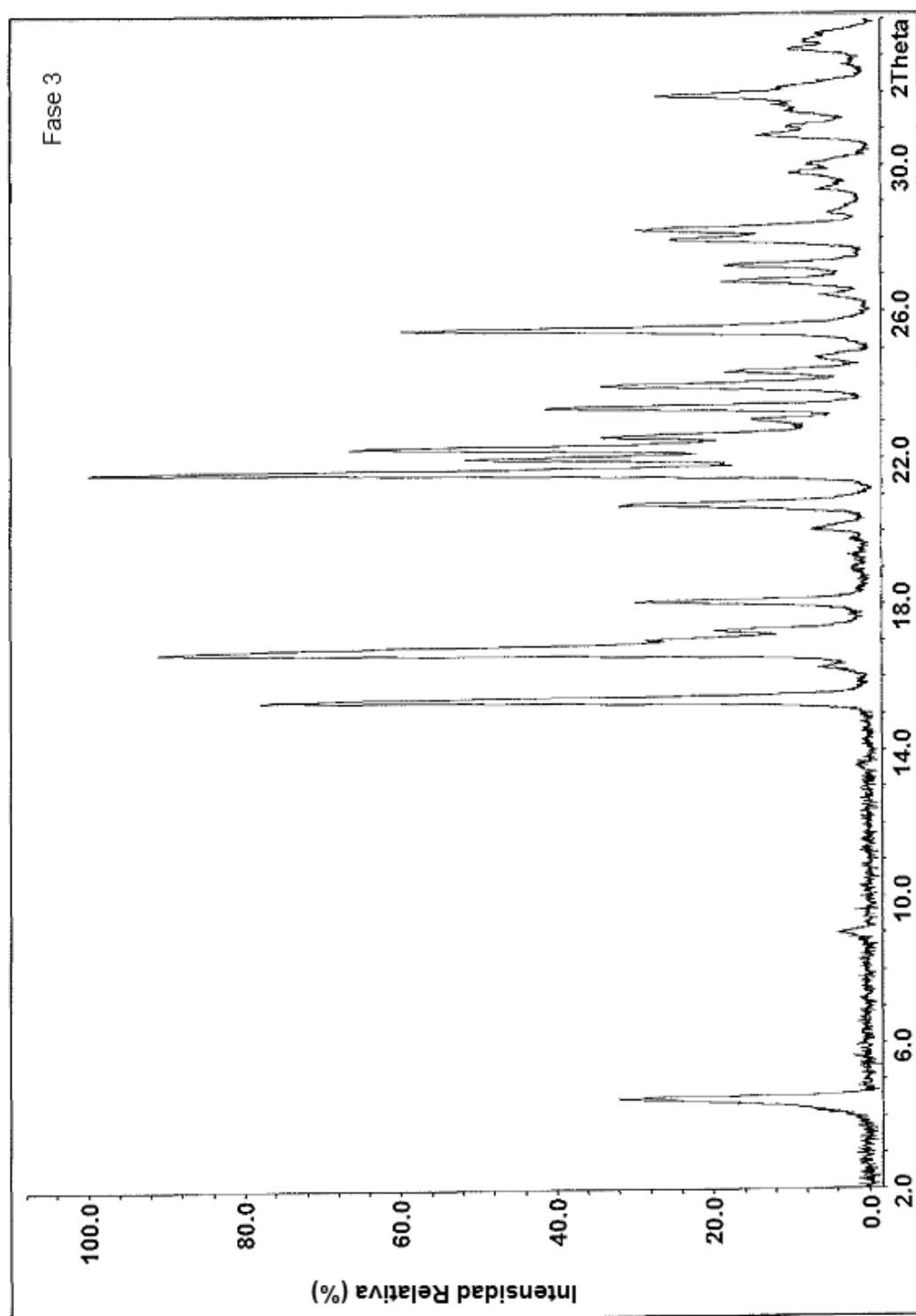


Figura 7

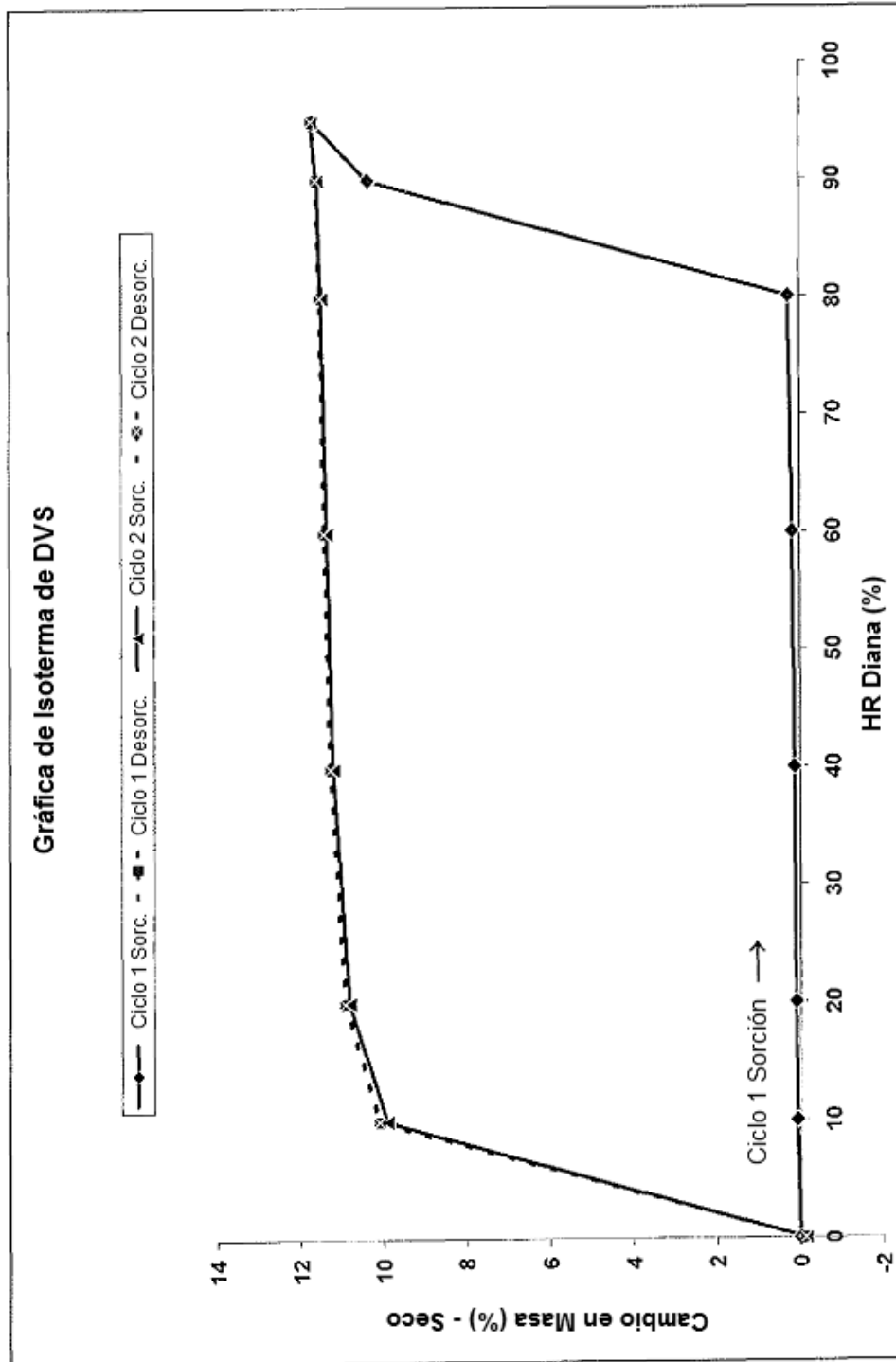


Figura 8

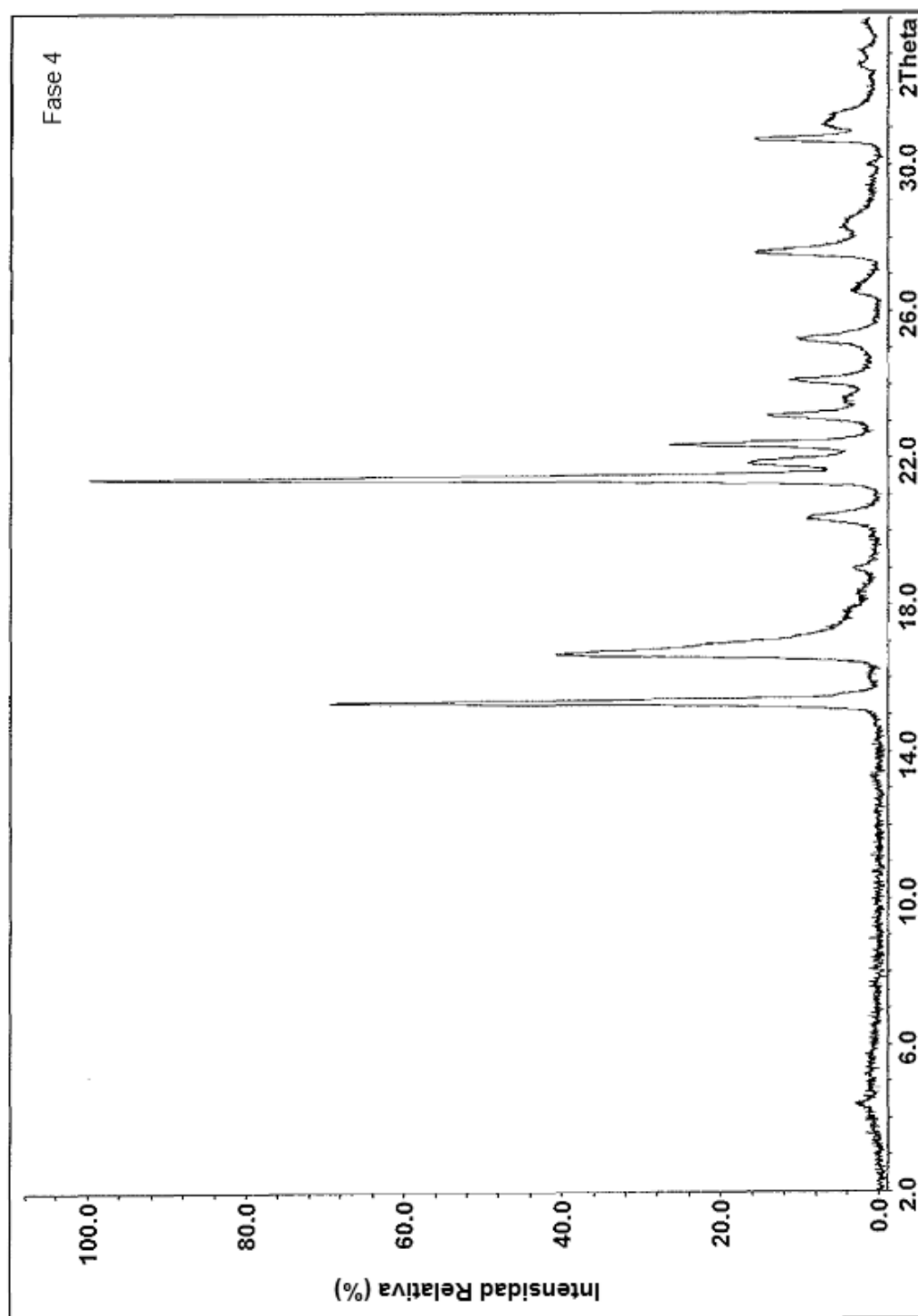


Figura 9

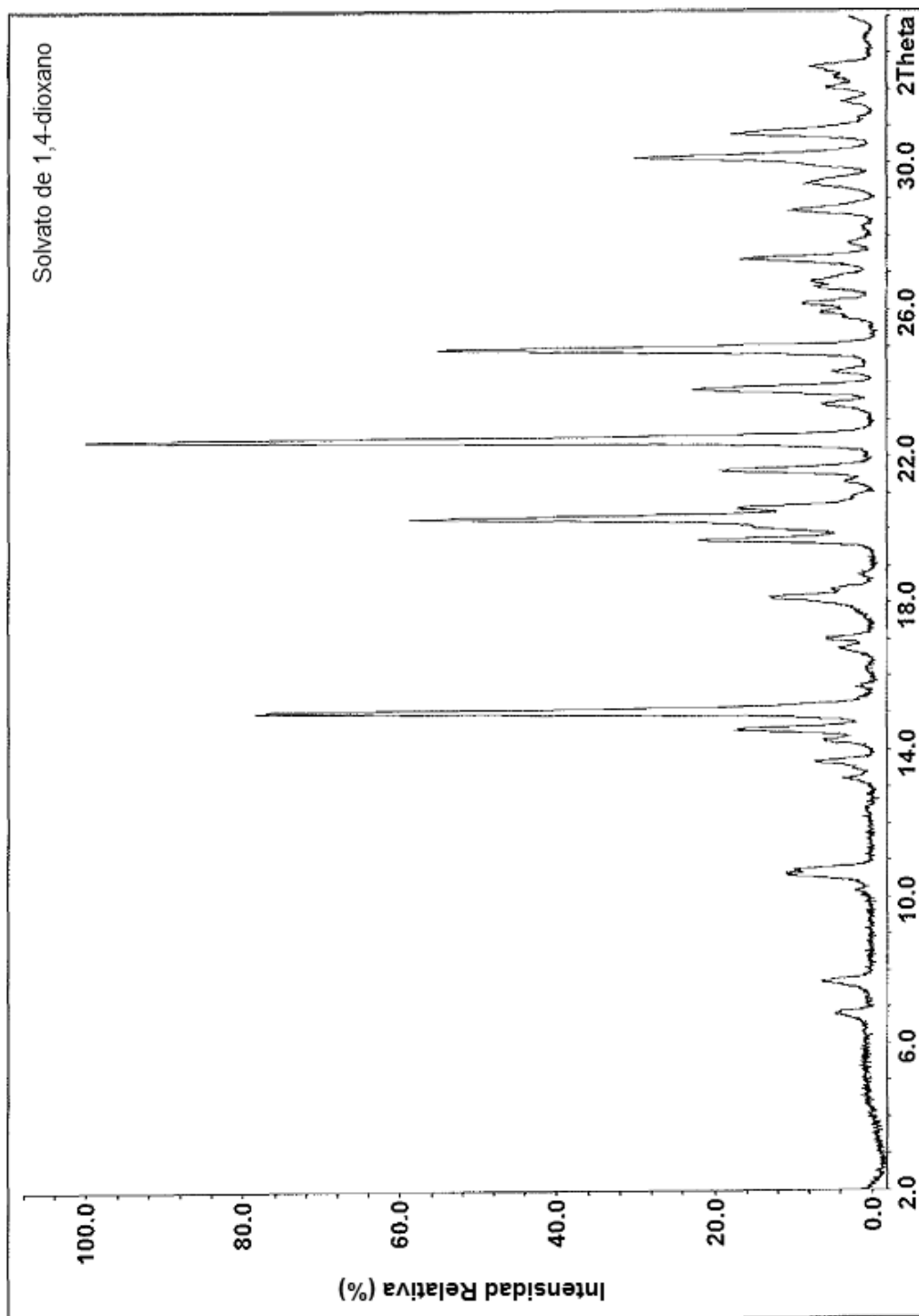


Figura 10

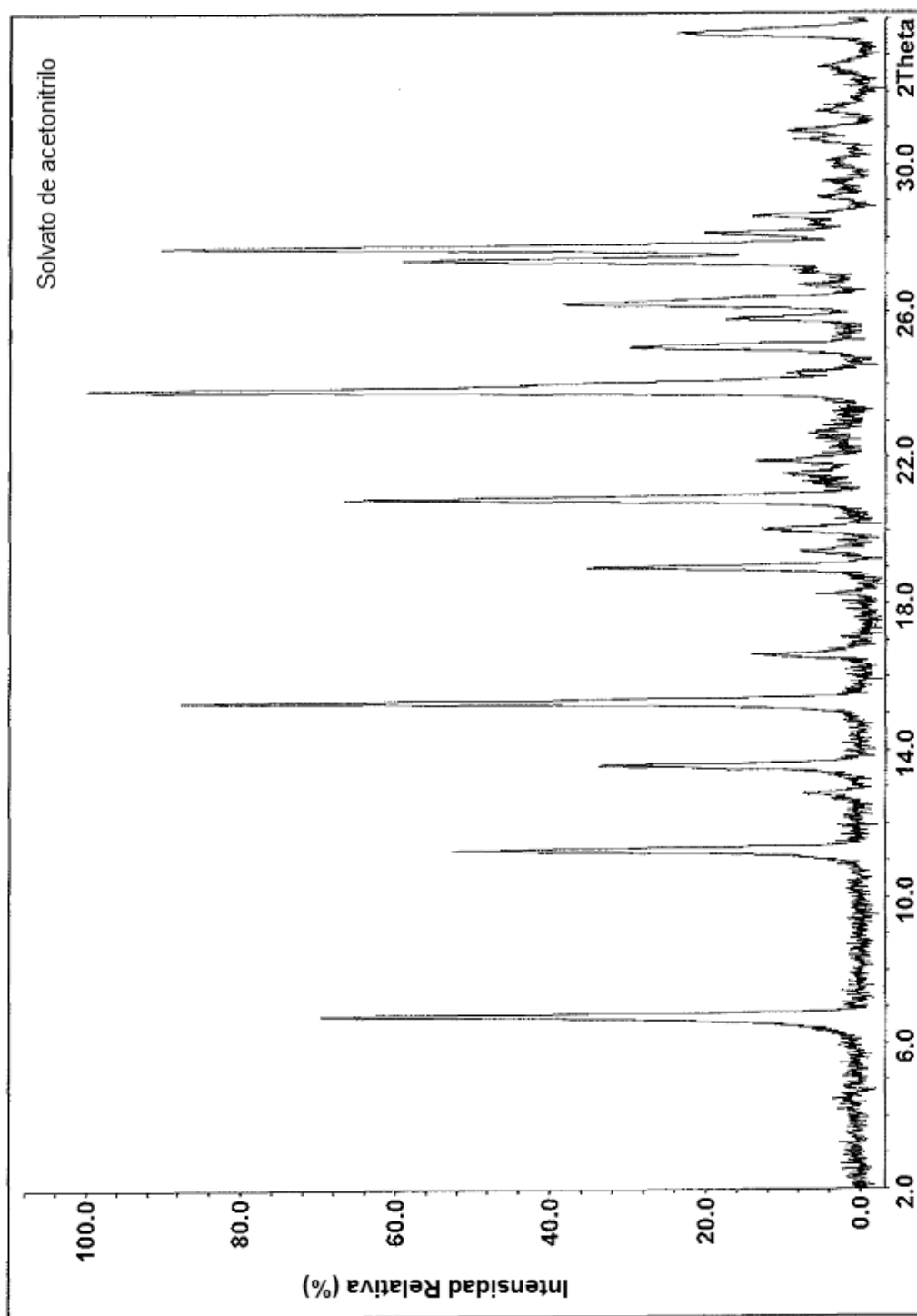


Figura 11

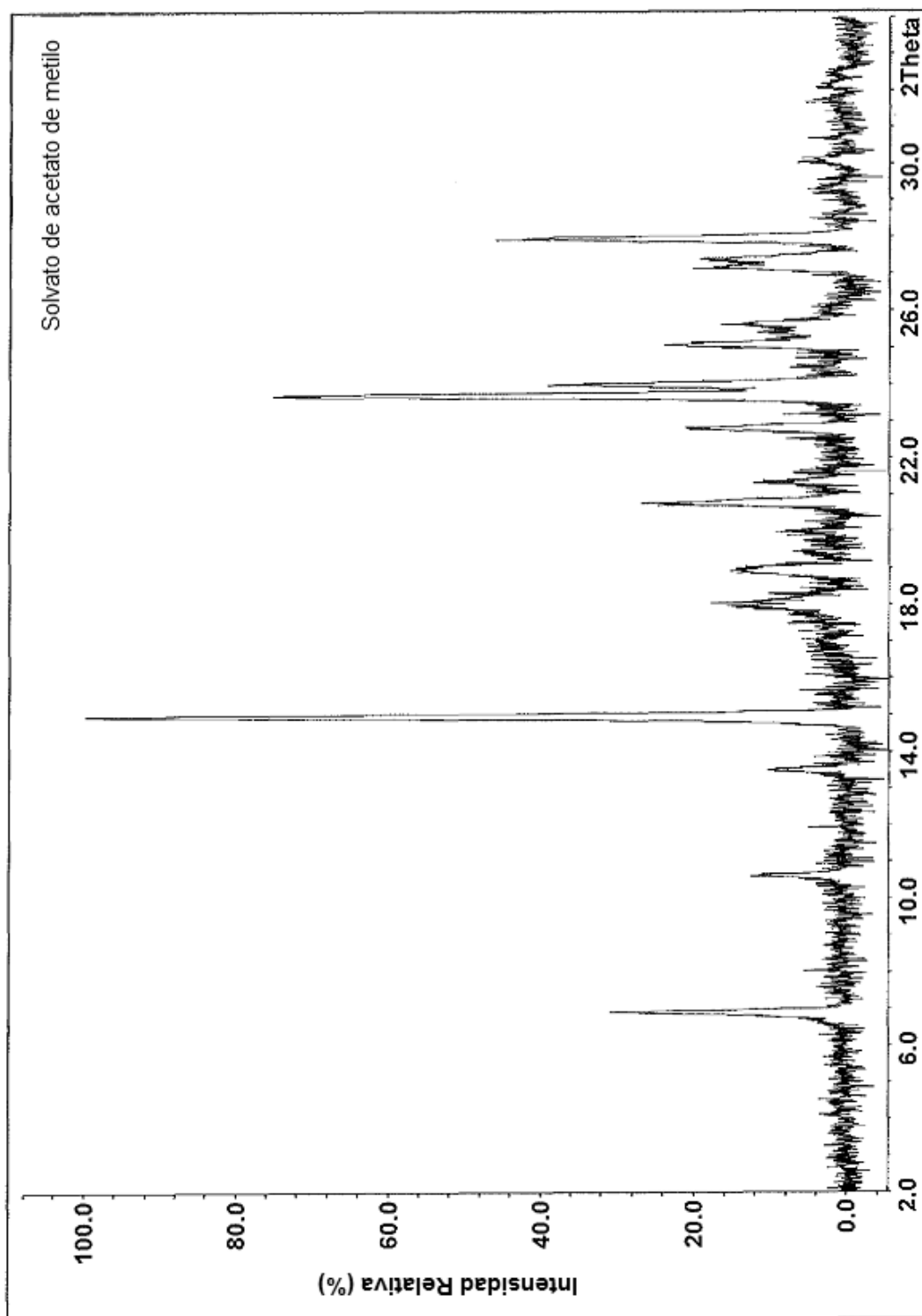


Figura 12

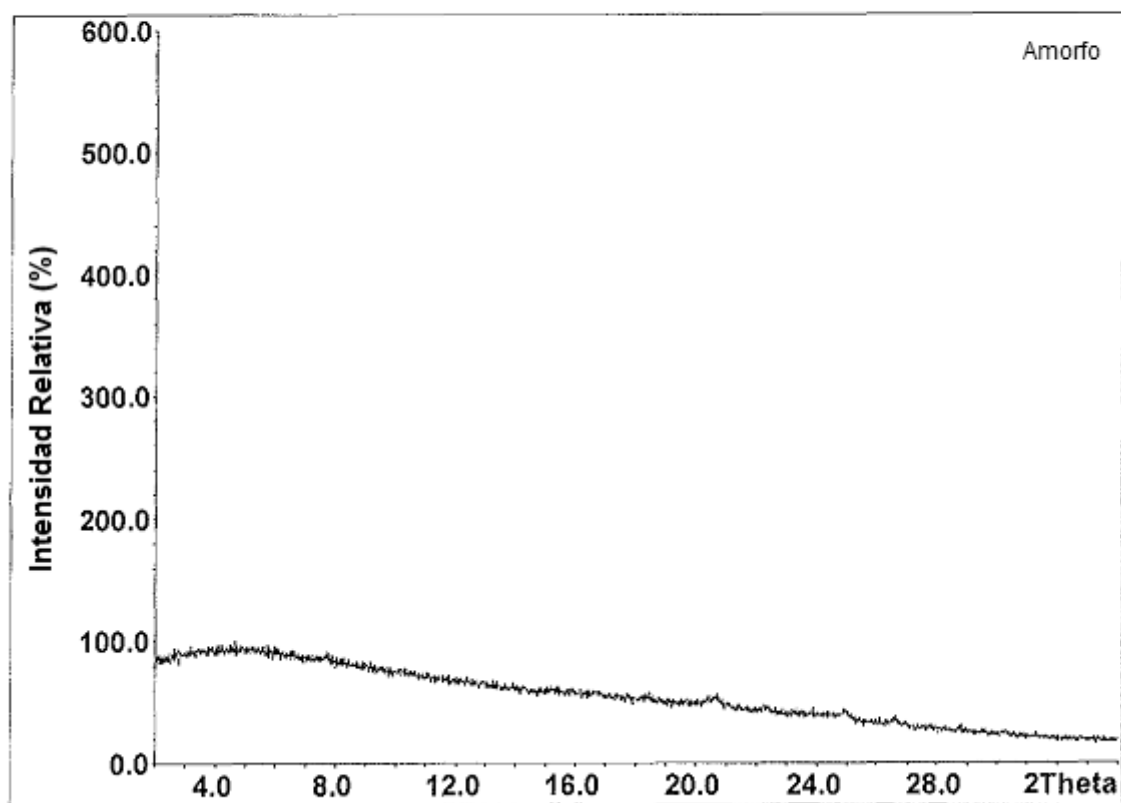


Figura 13

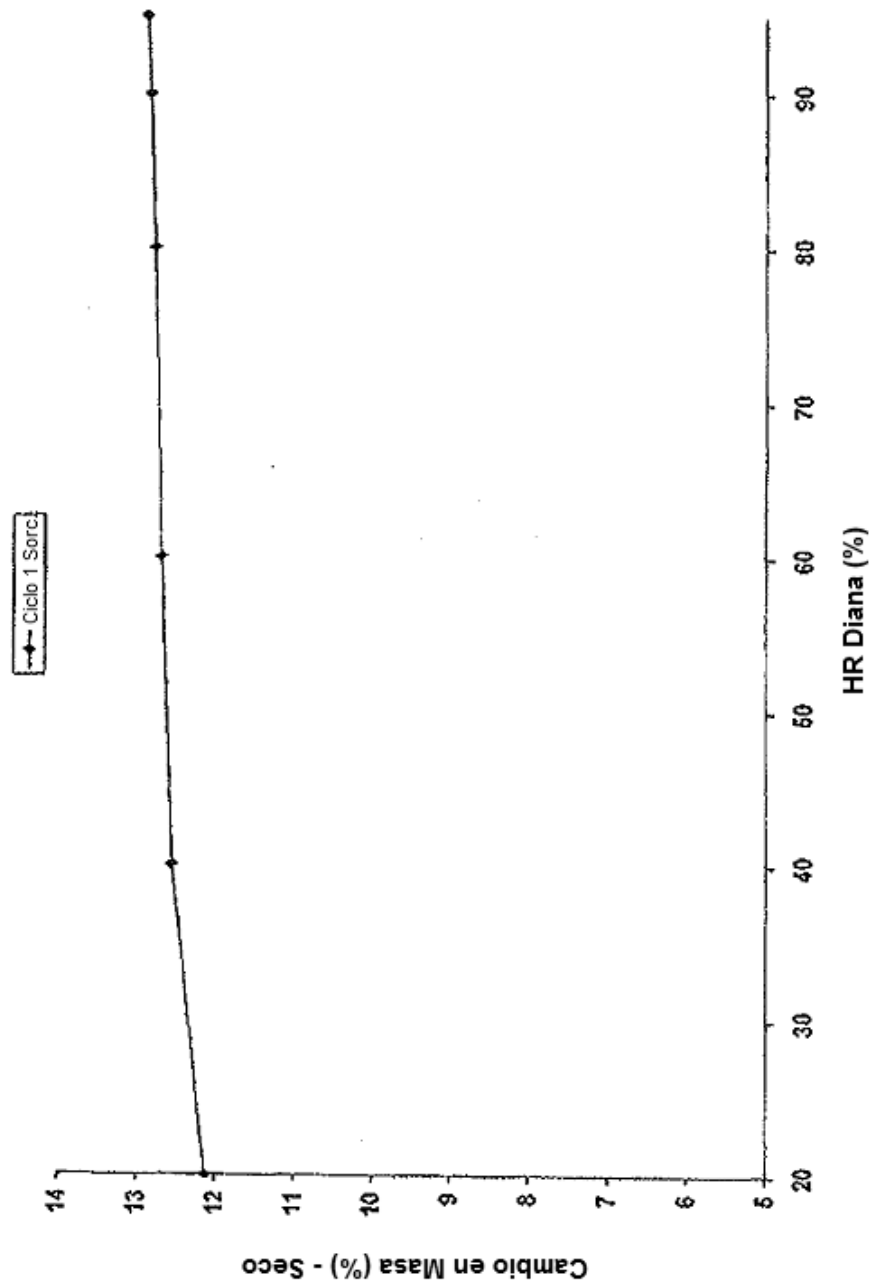


Figura 14

