

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 570 934**

51 Int. Cl.:

C07D 209/14 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2007 E 07784348 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.02.2016 EP 2032531**

54 Título: **Salas de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida**

30 Prioridad:

12.06.2006 US 804523 P

14.12.2006 US 869993 P

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

23.05.2016

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

ACEMOGLU, MURAT;

BAJWA, JOGINDER S.;

KARPINSKI, PIOTR;

PAPOUTSAKIS, DIMITRIS;

SLADE, JOEL y

STOWASSER, FRANK

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 570 934 T3

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

DESCRIPCIÓN

Sales de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida

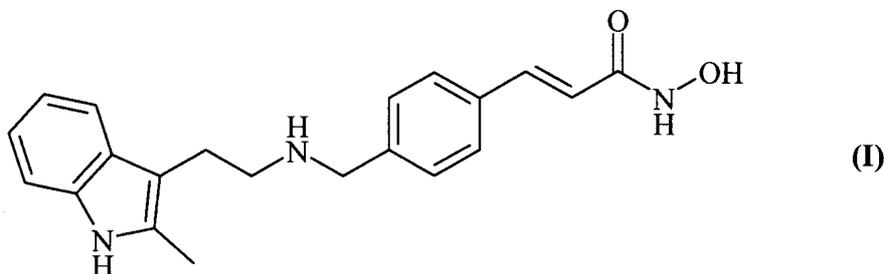
Campo de la Invención

5 Esta invención se refiere a sales de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, así como a composiciones farmacéuticas que comprenden las mismas y métodos de tratamiento utilizando las mismas que también se describen en la presente.

Técnica Relacionada

El compuesto N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida (alternativamente, N-hidroxi-3-(4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil)-acrilamida) tiene la fórmula (I):

10



15

como se describe en WO 02/22577. A este compuesto se atribuyen propiedades farmacológicas valiosas; de esta manera, se puede utilizar, por ejemplo, como un inhibidor de histona-desacetilasa útil en terapia para enfermedades que responden a la inhibición de la actividad de histona-desacetilasa. WO 02/22577 no describe ninguna sal específica o hidratos de sal o solvatos de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

20 WO2005/013958 describe compuestos inhibidores de la histona deacetilasa los cuales incluyen al anterior compuesto de fórmula (I) como agentes inmunosupresores. Sales farmacéuticamente aceptables de tales compuestos inhibidores de la histona deacetilasa se mencionan de manera general en WO2005/013958.

Breve Descripción de la Invención

25 La presente invención está dirigida a sales de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

La invención además está dirigida a composiciones farmacéuticas que comprenden, (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de la invención de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida; e (b) por lo menos un vehículo, diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable como se describe en las reivindicaciones.

30 También se describe en el presente documento un compuesto para usarse en un método para el tratamiento de una enfermedad que responde a la inhibición de la actividad de histona-desacetilasa, que comprende el paso de administrar a un sujeto con la necesidad de dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de la invención de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

Breve Descripción de los Dibujos

35 La Figura 1 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, B, C, H_A, y H_B de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

La Figura 2 muestra el patrón de difracción pulverizado de rayos X para la sal de clorhidrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-

metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

- Las Figuras 3A, 3B y 3C muestran los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, H_A y S_A, respectivamente, de la sal DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- 5 Las Figuras 3D y 3E muestran los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las sales anhidras de L-lactato y D-lactato, respectivamente, de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- La Figura 4 muestra patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A y H_A de la sal de maleato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- La Figura 5 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, B y C de la sal de hemitartrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- 10 La Figura 6 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A y B de la sal de mesilato (metansulfonato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- La Figura 7 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A y S_A de la sal de acetato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- 15 La Figura 8 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, S_A y S_B de la sal de benzoato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida de acuerdo con la presente invención.
- La Figura 9 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para la sal de citrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida de acuerdo con la presente invención.
- La Figura 10 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, B y H_a de la sal de hemifumarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- 20 La Figura 11 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para la sal de gentisato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida de acuerdo con la presente invención.
- La Figura 12 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A y S_A, de la sal de hemimaleato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida de acuerdo con la presente invención.
- 25 La Figura 13 muestran los patrones de difracción pulverizado de rayos X para la sal de malonato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida de acuerdo con la presente invención.
- La Figura 14 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para la sal de oxalato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida de acuerdo con la presente invención.
- 30 La Figura 15 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, S_A, S_B y H_A de la sal de fosfato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- La Figura 16 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A y S_A, de la sal de propionato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- La Figura 17 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A y S_A, de la sal de sulfato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.
- 35 La Figura 18 muestra los patrones de difracción pulverizado de rayos X para las formas A, B, S_A, y H_A de la sal de hemisuccinato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

Descripción Detallada de la Invención

Como se utiliza aquí, "sal" se refiere a un compuesto preparado a través de la reacción de un ácido orgánico o fármaco base con un ácido mineral u orgánico o base farmacéuticamente aceptable; como se utiliza aquí, "sal" incluye hidratos y

solvatos de sales hechas de acuerdo con esta invención. Los ácidos o bases generales u orgánicos farmacéuticamente aceptables ilustrativos se listan en los Cuadros 1-8 de *Handbook of Pharmaceutical Salts*, P.H. Stahl y C.G. Wermuth (eds.), VHCA, Zurcú 2002, pp. 334-345. Como se utiliza aquí, "polimorfo" se refiere a una "modificación de cristal" o "forma polimórfica" o "forma cristalina", que difiere una de la otra con respecto al patrón de difracción de polvo de rayos X, propiedades fisicoquímicas y/o farmacocinéticas, y estabilidad termodinámica.

La presente invención proporciona la sal anhidra de lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. La presente invención proporciona las sales anhidras de lactato de (formas DL-lactato, L-lactato, D-lactato), de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

También se describe la sal de clorhidrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]-metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación 1:1 de la sal de clorhidrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. La sal de clorhidrato tiene una buena solubilidad acuosa de 2.4 mg/mL y una buena velocidad de disolución intrínseca. También muestra alta solubilidad en metanol y una solubilidad considerable en otros solventes orgánicos comunes. Se produce como un polimorfo individual, excelentemente cristalino, anhidro/no solvatado con una temperatura descomposición de aproximadamente 235.7°C. Es no higroscópico (0.32%). y es la forma que prevalece de la N-N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida en presencia del ión de cloro a altas concentraciones. No se detectan poliformos adicionales después de equilibrio a temperatura ambiente; la sal de clorhidrato se convierte a la base libre en un regulador de pH de fosfato (pH=6.8). LA XRPD de la sal de clorhidrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se muestra en la Figura 2.

La presente invención además esta dirigida a la sal de lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente una relación de 1:1 de sal de lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, una sal de monohidrato-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal del compuesto anhidro de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. En una modalidad preferida de la invención, la sal del lactato es una sal DL-lactato, muy preferiblemente la relación de 1:1 de la sal de monohidrato-DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida o la relación 1:1 de sal de DL-lactato anhidro de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida y N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2 propenamida. Las formas polimórficas A, H_A y S_A para la sal de DL-lactato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en las figuras 3A-3C, respectivamente. La sal de DL-Lactato tiene una excelente solubilidad acuosa y una buena disolución intrínseca. La forma polimórfica A de la sal de DL-lactato (sal de DL-Lactato anhidra) se funde y descompone a aproximadamente 183-186°C y es altamente higroscópica con una pérdida después de secado (LOD) de 0.2% hasta 120°C. La forma A es más estable en solventes orgánicos y en agua que en las otras formas de la sal de DL-lactato. Bajo la mayoría de las circunstancias, la forma A no se convierte en ninguna otra forma, aunque después de equilibrio a un pH de 1 y 2, la sal de cloro se forma y a 0°C y 10°C y en una mezcla de acetona/agua la forma A se observó junto con la forma H_A de la sal de DL-lactato. La forma H_A de la sal de DL-lactato (sal de monohidrato-DL-lactato) se funde y descompone a aproximadamente 120°C y es ligeramente higroscopia con un LOD del 0.4% hasta 110°C, 3.0% hasta 130°C, y 4.4% hasta 155°C (con degradación). Bajo muchas circunstancias, la forma H_A se convierte lentamente a la forma A, aunque después de equilibrio a un pH de 1 y 2, se forma la sal de cloro. Después de equilibrio en metanol, la forma H_A de la sal de DL-lactato se convierte en la forma S_A la cual es un solvato de monometanol de la sal DL-lactato. La forma S_A se funde y descompone a aproximadamente 123°C con un LOD de 5.9% hasta 140°C (con degradación).

La presente invención también proporciona la sal de L-(+)-lactato anhidro de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. El patrón XRPD para la sal de L-(+)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se muestra en la figura 3D. La fusión y descomposición pueden tomar lugar ambas alrededor de 184.7°C para la sal de L-(+)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida en forma de anhidrato. En otra modalidad preferida de la presente invención, la sal del lactato es la sal D-(-)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida; más preferiblemente, la sal de lactato es la sal D-(-)-lactato anhidra de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. El patrón de XRPD para la sal de D-(-)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se muestra en la Figura 3E. La fusión y descomposición de ambos toma lugar alrededor de 184.1°C para la sal de D-(-)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida en forma de anhidrato.

La presente invención también proporciona la sal de maleato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de maleato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-

- metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. El ácido maleico es el único agente formador de sal de ácido dicarboxílico que forma una relación de 1:1 de sal con N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas polimórficas A y H_A para la sal de maleato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 4. La forma A de la sal de maleato, después de calentamiento, se descompone sin fusión alrededor de 177°C. Su LOD es menor que 0.2% a 150°C, y es no higroscópico. La sal de maleato tiene una buena solubilidad acuosa de 2.6 mg/mL y una buena disolución intrínseca. Se muestra alta solubilidad en metanol y etanol y una considerable solubilidad en otros solventes orgánicos comunes. La forma H_A de la sal de maleato, un hidrato de la forma A, después de calentamiento, se descompone sin fusión alrededor de 150°C. LOD es alrededor de 6.0% a 100°C.
- La presente invención además está dirigida a la sal de mesilato (o metansulfonato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de mesilato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A y B para la sal de mesilato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 5. La forma A de la sal de mesilato, después de calentamiento, se descompone sin fusión alrededor de 192°C. Su LOD es menor que 0.2% a 150°C, y la forma A es muy ligeramente higroscópica (menos de 0.35% de humedad a 85% r.h.). La sal de mesilato tiene una excelente solubilidad acuosa de 12.9 mg/mL y una alta velocidad de disolución intrínseca. Tiene una alta solubilidad en metanol y etanol y una solubilidad apreciable en solventes orgánicos restantes, después de equilibrio, la A se convierte a la forma B en agua, a la sal de clorhidrato en 0.1 N HCl, y a la base libre en un regulador de pH de fosfato (pH=6.8). La forma B de la sal de mesilato puede ser obtenida a través de la reacción en acetato de etilo a temperatura ambiente, con calentamiento subsecuente de la suspensión a 50°C o de la conversión de la forma A en agua. La sal de mesilato se aísla en por lo menos cuatro modificaciones cristalinas, dos de las cuales altamente cristalinas, ligeramente higroscópicas (0.82%), sólidos blancos (incluyendo formas A y B), y las otras dos fueron de color amarillo y contuvieron más del exceso estequiométrico del ácido metansulfónico, es decir, menos de medio mol adicional por mol de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida; las últimas dos formas son altamente higroscópicas, es decir, ganancia de peso de por lo menos aproximadamente ~40% a 93% r.h.
- La presente invención además está dirigida a la sal de tartrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 2:1 de sal de tartrato (hemi-tartarato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, y muy preferiblemente la relación 2:1 de la sal de L-tartarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A, B y C para la sal de hemi-tartarato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 6. La forma A de la sal L-tartarato, un hemi-tartarato anhidro, después de calentamiento, se descompone sin fusión alrededor de 209°C. LOD es menor que 0.3% a 150°C, y es la forma A es ligeramente higroscópica (menos de 0.5% de humedad a 85% r.h.). La sal de L-tartarato tiene una buena solubilidad acuosa de 3.5 mg/mL y una buena disolución intrínseca. Muestra buena solubilidad en acetona, acetato de etilo y otros solventes orgánicos comunes y una solubilidad limitada en alcoholes. Después de equilibrio, la forma A se convierte a la forma C en metanol, a la sal de clorhidrato en 0.1 N HCl, y a la base libre en un regulador de pH de fosfato (pH = 6.8). La forma B de la sal de tartarato, también un hemi-tartarato anhidro, después de calentamiento, se descompone sin fusión por arriba de 160°C. LOD es menor que 2.0% a 150°C, indicando su naturaleza higroscópica. La forma C de la sal de tartarato se obtiene a partir del equilibrio de la forma A en acetona a temperatura ambiente.
- La presente invención además está dirigida a la sal de acetato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de acetato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A y S_A para la sal de acetato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 7. La forma A de la sal de acetato, después de calentamiento, se descompone rápidamente sin fusión por arriba de 60°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 2 mg/mL. La forma S_A de la sal de acetato es un solvato de acetona con el LOD de 13.5% alrededor de 140°C. Este solvato es estable por abajo de 90°C.
- La presente invención además está dirigida a la sal de benzoato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de acetato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A, S_A y S_B para la sal de benzoato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 8. La forma A de la sal de benzoato aislada de la reacción en acetona tiene una excelente cristalinidad y una alta temperatura de descomposición por arriba de 160°C. Su LOD es menor que 0.6% a 140°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 0.7 mg/mL. La forma S_A de la sal de benzoato es un solvato de etanol con el LOD de 5.2% antes de la descomposición que ocurre por arriba de 110°C. La forma S_B de la sal de benzoato es un solvato 2-propanol con el LOD de 6.3% antes de la descomposición que ocurre por arriba de 100°C.

La presente invención además está dirigida a la sal de citrato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-

- 5 il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 2:1 de sal de citrato (hemi-citrato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]-metil]fenil]-2E-2-propenamida. La sal de citrato puede ser vista en el patrón XRPD mostrado en la Figura 9. La sal de hemi-citrato tiene una solubilidad acuosa aproximadamente de 1.2 mg/mL. Se produce como un polimorfo individual, cristalino y anhidro/no solvatado con una temperatura de descomposición por arriba de 180°C.
- 10 La presente invención además está dirigida a la sal de fumarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 2:1 de sal de fumarato (hemi-fumarato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A, B y H_A para la sal de hemi-fumarato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 10. La forma A de la sal de hemi-fumarato aislada de la reacción en etanol y agua (1:0.05) tiene una excelente cristalinidad y una alta temperatura de descomposición de 217°C. Su LOD es menor que 0.7% a 200°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 0.4 mg/mL. La forma de la sal hemi-fumarato aislada de la reacción en etanol, tiene buen cristalinidad y una temperatura de descomposición por arriba de 160°C. Exhibe un LDO de dos pasos: alrededor de 1.1% hasta 150°C y uno subsecuente de 1.7% de entre 150°C y 200°C. La forma H_A de la sal de hemi-fumarato, posible hidrato, aislado de la reacción en 2-propanol, tiene buena cristalinidad y temperatura de descomposición por arriba de 100°C. Exhibe un LOD de dos pasos: alrededor de 3.5% hasta 75% y uno subsecuente de 6% en de entre 75°C y 150°C.
- 15 La presente invención además está dirigida a la sal de gentisato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]-metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de gentisato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. La sal de gentisato puede verse en el patrón XRPD mostrado en la Figura 11. La sal de gentisato tiene una solubilidad acuosa aproximada de 0.3 mg/mL. Se produce como un polimorfo individual, cristalino y anhidro/no solvatado.
- 20 La presente invención además está dirigida a la sal de malato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 2:1 de sal de malato (hemi-malato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]-metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A y S_A para la sal de hemi-malato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 12. La forma A de la sal de hemi-malato aislada de la reacción en etanol y agua (1:0.05) o etanol neto y 2-propanol tiene excelente cristalinidad y una alta temperatura de descomposición de 206°C. Exhibe un LOD 2% hasta 175°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 1.4 mg/mL. La forma S_A de la sal de hemi-malato se obtuvo de la reacción de formación de sal en acetona. Tiene excelente cristalinidad, pero se descompone gradualmente empezando alrededor de 80%. Su LOD hasta 75°C representa 0.6%.
- 25 La presente invención además está dirigida a la sal de malonato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 2:1 de sal de malonato (hemi-malonato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. La sal de malonato puede verse en el patrón XRPD mostrado en la Figura 13. La sal de hemi-malonato tiene una solubilidad acuosa aproximada de 2 mg/mL. Se produce como un polimorfo individual, cristalino y anhidro/no solvatado con temperatura de descomposición por arriba de 170°C.
- 30 La presente invención además está dirigida a la sal de oxalato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. La sal de oxalato puede ser vista en el patrón XRPD mostrado en la Figura 14.
- 35 La presente invención además está dirigida a la sal de fosfato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de fosfato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A, S_A y S_B para la sal de fosfato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 15. La forma A de la sal de fosfato, aislada de la reacción en acetona, tiene excelente cristalinidad y alta temperatura de composición de 187°C. Exhibe un LOD de 1% hasta 165°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 6 mg/mL. La forma S_A de la sal de fosfato, aislada de la reacción en etanol, tiene buena cristalinidad y exhibe una pérdida de peso gradual en calentamiento. Exhibe un LOD de 6.6% hasta 150°C. La forma S_B de la sal de fosfato, aislada de la reacción en 2-propanol, tiene excelente cristalinidad y exhibe una pérdida de peso gradual en calentamiento. Exhibe un LOD de 7% hasta 150°C. La forma H_A de la sal de fosfato, un hidrato, aislada de la reacción etanol y agua (1:0.05), tiene excelente cristalinidad y una alta temperatura de descomposición alrededor de 180°C. Exhibe un LOD de 7% hasta 150°C.
- 40 La presente invención además está dirigida a la sal de propionato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de la sal de propionato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A y S_A para la sal de propionato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 16. La forma A de la sal de propionato aislada de la reacción en acetona tiene
- 45
- 50

excelente cristalinidad; su temperatura de descomposición es alrededor de 99°C. Exhibe un LOD alrededor del 7% hasta 140°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 4 mg/mL. La forma S_A de la sal de propionato, aislada de la reacción en 2-propanol, es un solvato de 2-propanol con excelente cristalinidad. Exhibe pérdida de peso gradual en calentamiento con un LOD del 15% hasta 140°C.

- 5 La presente invención además está dirigida a la sal de sulfato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 1:1 de sal de sulfato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A y S_A para la sal de sulfato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 17. La forma A de la sal de sulfato aislada de la reacción en acetato de etilo como un polvo higroscópico amarillo tiene una pobre cristalinidad, una alta temperatura de descomposición alrededor de 160°C y exhibe un LOD de 7% hasta 150°C. Es visiblemente higroscópico a condiciones ambientales. La forma S_A de la sal de sulfato aislada de la reacción en 2-propanol es un solvato de 2-propanol con excelente cristalinidad y una alta temperatura de descomposición alrededor de 162°C. Exhibe un LOD alrededor de 9-12% hasta 150°C.

- 10 La presente invención además está dirigida a la sal succinato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, preferiblemente la relación de 2:1 de sal de succinato (hemi-succinato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Las formas A, B, H_A y S_A para la sal de hemi-succinato pueden verse en los patrones XRPD mostrados en la Figura 18. La forma A de la sal de hemi-succinato de manera reproducible aislada de la reacción en etanol y agua (1:0.05) o etanol neto tiene excelente cristalinidad y una temperatura de descomposición muy alta de alrededor de 204°C. Exhibe un LOD alrededor de 1.1% hasta 200°C. Tiene una solubilidad acuosa aproximada de 0.4 mg/mL. La forma B de la sal de hemi-succinato aislada de la reacción en acetona o acetato etilo, tiene buena cristalinidad y una alta temperatura de descomposición por arriba de 150°C. Se exhibe una LOD de dos pasos: alrededor de 1.5% hasta 125°C y otra de 1.3-2.9% hasta 150°C. La forma S_A de la sal de hemi-succinato aislada de la reacción en 2-propanol es un solvato de 2-propanol con buena cristalinidad y una alta temperatura de descomposición alrededor de 155°C. Exhibe un LOD de dos pasos: alrededor de 3% hasta 70°C y otro de 4.6% hasta 140°C centígrados. La forma H_A, un monohidrato de la sal de hemi-succinato aislada de la reacción en 2-propanol y agua (1:0.05) tiene excelente cristalinidad y una alta temperatura de descomposición del alrededor de 180°C. Exhibe un LOD alrededor de 4.6% hasta 160°C, correspondiendo al monohidrato.

La presente invención además está dirigida a la sal de sodio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Esta sal cristalina aislada como un polvo amarillo es visiblemente higroscópica.

- 30 La presente invención además está dirigida a la sal de potasio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Esta sal cristalina aislada como un polvo amarillo es visiblemente higroscópica.

- 35 La presente invención además está dirigida a la sal de calcio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Esta sal puede estar aislada como un material amorfo con una temperatura de transición de vidrio por arriba de la ambiental. Aunque amorfa, esta sal fue menos higroscópica que las sales de sodio o de potasio.

- 40 La presente invención además está dirigida a la sal de zinc de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Esta sal puede ser aislada como un material amorfo con una temperatura de transición de vidrio por arriba del ambiental. Aunque amorfa, esta sal fue menos higroscópica que las sales de sodio o potasio.

La segunda modalidad de la presente invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida; y

(b) por lo menos un vehículo, diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 45 Una "cantidad terapéuticamente efectiva" pretende significar la cantidad de la sal de la invención que, cuando se administra a un sujeto con la necesidad de la misma, es suficiente para efectuar el tratamiento para condiciones de enfermedad aliviadas por la inhibición de la actividad de histona-desacetilasa. La cantidad de un compuesto dado de la invención que será terapéuticamente efectiva variara dependiendo de factores tales como la condición de la enfermedad y su severidad, la identidad del sujeto que la necesita, etc., dicha cantidad puede ser determinada por rutina por aquellos

expertos en la técnica.

5 Por lo menos un vehículo, diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable puede ser fácilmente seleccionado por algún experto en la técnica y será determinado por el modo de administración deseado. Los ejemplos ilustrativos de modos adecuados de administración incluyen oral, nasal, parenteral, tópica, transdérmica y rectal. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden tomar cualquier forma farmacéutica reconocible por algún experto en la técnica como adecuada. Las formas farmacéuticas adecuadas incluyen formulaciones sólidas, semisólidas, líquidas o liofilizadas, tales como tabletas, polvos, cápsulas, supositorios, suspensiones, liposomas y aerosoles.

10 También se describe un compuesto para usarse en un método para tratar una enfermedad que responde a una inhibición de la actividad de histona-desacetilasa, que comprende el paso de administrar a un sujeto con la necesidad de dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Como se observó anteriormente, los modos ilustrativos de administración incluyen oral, nasal, parenteral, tópica, transdérmica y rectal. La administración de la forma cristalina puede lograrse a través de la administración de una composición farmacéutica de la novena modalidad de la invención o a través de cualquier otro medio efectivo.

15 Las modalidades específicas de la invención ahora serán demostradas haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

20 En los siguientes ejemplos, con respecto a cristalinidad, “excelente” se refiere a un material que tiene picos principales XRPD que son agudos y tienen intensidades por arriba de 70 cuentas; “buena” se refiere a un material que tiene picos principales XRPD que son agudos y tienen intensidades dentro de 30-70 cuentas; y “pobre” se refiere a un material que tiene picos principales XRPD que son amplios y tienen intensidades por debajo de 30 cuentas. Además, “LOD” se refiere a la pérdida de peso determinada entre temperaturas ambiental y de descomposición. La última es aproximadamente en el inicio del primer derivado de la curva termogravimétrica contra temperatura. Este no es el inicio verdadero, ya que la pérdida de peso no ocurre con la misma velocidad para todas las sales. De esta manera, la temperatura de descomposición real puede ser menor que la establecida. La formación de sal, estequiometría y la presencia o ausencia de solventes se confirma observando los desplazamientos químicos de ¹H-NMR de los agentes formadores de sal correspondientes y solventes de reacción (los cuadros contienen un desplazamiento químico característico para agentes formadores de sal o solventes). El contenido de agua no puede ser extraído de los datos de NMR, ya que los picos de agua fueron amplios. El grado de protonación de la base libre se determinó a través del cambio en el desplazamiento químico de los protones bencílicos (H_{bz}). Además, las sales de la presente invención precipitadas como polvos de flujo libre (FFP), materiales amorfos pegajosos (SAM) (los cuales tuvieron una consistencia gomosa que tendieron a aglomerarse, formando una masa esférica individual o se pegaron a las paredes del vaso de reacción) o geles amorfos (AG). Finalmente, “—” indica una medición no tomada.

EJEMPLO de Referencia 1

Preparación de la Sal de Acetato

35 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 1. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido acético. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 1

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición} (T _{desolvatación})	¹ H-NMR
Acetona	Ambiente	FFP	Excelente S _A	13.5 (107.9) 147.9	1.89 (acetato, 3H) 2.08 (acetona, 6H) 3.74 (H _{bz})
IPA	60	FFP	Buena A	~10.5 (72.5) 148.7	—
AcOEt	60	FFP	Buena A	9.3 (105.1) 147.9	1.89 (acetato, 3H) 3.73 (H _{bz})

La reacción formadora de sal en acetona produjo una sal altamente cristalina, con la relación de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida a acetato de 1:1, identificada como un solvato de acetona estequiométrico S_A. La reacción formadora de sal en alcohol isopropílico y acetato de etilo a 60°C produjo la misma sal de acetato cristalina, no solvatada (forma A). La pérdida de peso acompañante por arriba de 105°C se debió ya sea a la pérdida de agua, (si la sal es un hidrato) o a la pérdida de ácido acético o ambos.

EJEMPLO de Referencia 2

Preparación de la Sal de Benzoato

Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 2. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido benzoico. La mezcla se agitó a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 2

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	FFP	Excelente S _A	1.5 (previo a desc. a 110°C)	—
IPA:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	FFP	Excelente S _B	6.3* (isoterma a 120°C)	1.02 (IPA, 6H) 3.83 (H _{bz})
EtOH	Ambiente	FFP	Excelente S _A	5.2* (isoterma a 120°C)	1.04 (EtOH, 5H) 3.43 (EtOH, 1H) 7.93 (benzoato, 2H) 3.85 (H _{bz})
IPA	Ambiente	FFP	Excelente S _B	1.5% (previo desc. a 100°C)	—
Acetona	Ambiente	FFP	Excelente A	0.5% 160.2	7.93 (benzoato, 2H) 3.84 (H _{bz})

* Isoterma mantenida a 120°C durante 10 minutos.

La reacción formadora de sal en etanol solo y con agua produjo el mismo solvato de etanol S_A. La estequiometría de la base protonada:benzoato:etanol es de 1:1:0.5 a través de NMR. La pérdida y descomposición del solvente son eventos estrechamente separados a la velocidad de calentamiento de 10°C/min, y el contenido de etanol no pudo ser determinado inicialmente. Finalmente, se determinó manteniendo a 120°C durante 10 minutos. El LOD de 5.2% corresponde a 0.5 moles de etanol por unidad de fórmula. El alcohol isopropílico solo y con agua produjeron el mismo solvato de isopropanol (IPA) S_B. La estequiometría de la base protonada:benzoato es de 1:1 a través de NMR. La pérdida y descomposición de solvente están estrechamente separados a la velocidad de calentamiento de 10°C/min., y el contenido de isopropanol no puede ser determinado inicialmente. Finalmente, se determinó manteniendo a 120°C durante 10 minutos. El LOD de 6.3% corresponde a 0.5 moles de IPA por unidad de fórmula. Con base en el contenido de solvente y patrones de XRPD, los dos solvatos S_A y S_B parecieron isoestructurales. La reacción formadora de sal en acetona produjo la sal benzoato que no contuvo ningún solvente o agua, una sal estequiométrica de 1:1 de excelente

cristalinidad y alta temperatura de descomposición (forma A).

EJEMPLO de Referencia 3

Formación de la Sal de Clorhidrato

5 Aproximadamente 40-50 mg de la base libre N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 3. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido clorhídrico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (cuando se formó una solución clara, se continuo la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 3

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	Solución clara a FFP	Excelente A	0.5	4.20 (H _{bz})
EtOH	Ambiente	Solución clara a FFP	Excelente A	1.1 232.3	4.19 (H _{bz})
IPA	Ambiente	Polvo FFP amarillo a blanco	Excelente A	—	4.18 (H _{bz})
Acetona	Ambiente	FFP a SAM a FFP	Excelente A	—	4.18 (H _{bz})
AcOEt		FFP a SAM a FFP	Excelente A	—	—

Todas las cinco reacciones anteriores produjeron la misma sal cristalina. La sal se hizo anhidra y se descompuso a alta temperatura.

EJEMPLO de Referencia 4

Formación de la Sal de Hemi-Citrato

20 Aproximadamente 40-50 mg de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida monohidrato se suspendieron en 1 mL de un solvente como se lista en el Cuadro 4. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido cítrico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuo la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 4

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
IPA:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	0.4 184.3	3.98 (H _{bz})
Acetona	Ambiente 60	FFP a SAM a FFP	Excelente A	5.0 a 5.8	—
EtOH	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
IPA:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	0.3 181.0	—

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % Tdescomposición	¹ H-NMR
IPA:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
Acetona:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
Acetona:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	0.7 177.0	—

El calentamiento a 60°C (acetona y etanol), así como la introducción de agua (alcohol isopropílico y agua, acetona y agua a 60°C) produjeron una sal altamente cristalina que no contiene ningún solvente o agua. Un alto valor de LOD para acetona a temperatura ambiente/60°C se debió a la presencia de un material amorfo dentro del polvo cristalino. La estequiometría de la sal no pudo ser determinada mediante ¹H-NMR en DMSO-d₆, ya que el pico esperado para el ión de citrato coincide con aquel de solvente. Sin embargo, la espectroscopia de ¹³C-NMR indicó la presencia de dos señales ¹³C=O a 177.3 y 171.6 ppm. La primera se debió al grupo carboxílico protonado y la última al carboxilato no protonado.

10 EJEMPLO de Referencia 5

Formación de la Sal de Hemi-Fumarato

Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL del solvente como se presenta en el Cuadro 5. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido fumárico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 5

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % Tdescomposición	¹ H-NMR
EtOH	Ambiente	FFP a SAM a FFP	Excelente B	1.1 + 1.7 (paso 2) 213.2	3.93 (H _{bz}) 6.50 (1H, fumarato)
IPA	Ambiente	FFP	Consiste de un pico intenso H _A	3.4 + 6.0 (paso 2) 159.8	3.91 (H _{bz}) 6.50 (1H, fumarato) sólo pequeña cantidad de IPA
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	FFP a SAM a FFP	Excelente A	0.7 217.4	3.90 (H _{bz}) 6.49 (1H, fumarato)
IPA:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	FFP	Excelente A	1.5 208.2	—
IPA:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	FFP	Excelente S _A	—	—
EtOH:H ₂ O (1:0.025)	Ambiente	FFP a SAM a FFP	A	0.7 154.8	—
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	FFP a SAM a FFP	Excelente A	0.9 217.1	3.90 (H _{bz}) 6.49 (1H, fumarato)

Las reacciones formadoras de sal en alcohol isopropílico y acetona a temperatura ambiente produjeron sales de fumarato con una estequiometría de 2:1 (base protonada:fumarato), es decir sales de hemi-fumarato. Aunque ninguna de ellas fue un solvato, presentaron pobre cristalinidad y una baja temperatura de descomposición. El LOD para el alcohol isopropílico a temperatura ambiente fue muy probablemente asociado con la pérdida de agua. La reacción formadora de sal en etanol, etanol y agua, y alcohol isopropílico y agua, todos a temperatura ambiente o 60°C, produjo

5 una sal de fumarato de una estequiometría de 2:1 (base protonada:fumarato), es decir, la sal de hemi-fumarato. La reacción formadora de sal en etanol y agua y alcohol isopropílico y agua (1:0.05), temperatura ambiente o 60°C, produjo espectros de XRPD idénticos (forma anhidra A). El espectro de la sal formada por etanol a temperatura ambiente, también aunque similar, presenta algunas pequeñas diferencias y puede representar un polimorfo de hemi-fumarato único (forma B) de estructura similar.

EJEMPLO de Referencia 6

Formación de Sal de Gentisato

10 Aproximadamente 40-50 mg de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 6. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido 2,5-dihidroxibenzoico (ácido gentísico). La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 6

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	Solución clara a FFP	Excelente A	0.3 235.5	4.18(H _{bz}) 6.61 (1H _{gentisato})

La sal de gentisato preparada fue altamente cristalina, anhidra y se descompuso a una temperatura muy alta. La estequiometría de la sal es de 1:1 a través de NMR.

EJEMPLO de Referencia 7

Formación de la Sal de Monohidrato-DL-lactato

20 Aproximadamente 40-50 mg de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 7. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido láctico. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y cuando se forma una solución clara, se continuó la agitación a 4°C. Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 7

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
iPA	4	FFP	Excelente H _A	4.3 (79,3) 156.3	—
Acetona	4	FFP	Excelente H _A	4.5 (77.8) 149.5	4.18 (H _{bz})

30 La reacción formadora de sal en alcohol isopropílico y acetona a 4°C produjo una sal de DL-lactato estequiométrica (1:1), un monohidrato. La sal es cristalina, comienza a deshidratarse por arriba de 77°C, y se descompone a temperaturas mayores de 150°C.

EJEMPLO de Referencia 8

Formación de la Sal de Maleato

Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 8.

Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido maléico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 8

5

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH	RT a 4	Solución clara a FFP	Excelente H _A ?	6.2 (RT) 150	4.22 (H _{bz}) 6.01 (2H, maleato)
IPA	60	SAM a FFP	Excelente A	0.2 178.1	4.22 (H _{bz}) 6.01 (2H, maleato)
Acetona	60	SAM a FFP	Excelente A	0.2 176.1	4.22 (H _{bz}) 6.01 (2H, maleato)

- 10 La reacción formadora de sal en alcohol isopropílico y acetona a 60°C produjo sólidos anhidros, altamente cristalinos que se descomponen por arriba de ~180°C. El ácido maléico fue el único ácido dicarboxílico que produjo una sal con una relación de 1:1 con N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida. Su espectro de ¹H-NMR presenta una resonancia 6.01 ppm, que corresponde a los dos protones olefinicos, y una resonancia a 10.79 ppm debido a un ácido carboxílico no protonado. También el ácido maléico forma una sal con un alto contenido de agua que se perdió bajo condiciones de calentamiento moderado. Es muy probable que la reacción formadora de sal en etanol (temperatura ambiente a 4°C) produzca un hidrato (forma H_A)
- 15

EJEMPLO de Referencia 9

Formación de la Sal de Hemi-Maleato

- 20 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 9. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido maléico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 9

25

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	1.9 206.0	3.96 (H _{bz}) 3.83 (0.5H, malato)
EtOH	60	SAM a FFP	Excelente A	0.4 199.3	—
IPA	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
Acetona	60	SAM a FFP	Excelente S _A	0.6 95	3.97 (H _{bz}) 3.84 (0.5H, malato)
30 EtOH:H ₂ O (1:0.05)	Ambiente	SAM a FFP	Excelente A	—	—

- 35 La reacción formadora de sal en etanol y agua, etanol y alcohol isopropílico produjo la misma sal de hemi-malato cristalina y amorfa. La diferencia en el LOD entre etanol y agua (1:0.05) y etanol puede reflejar cantidades variables de material amorfo en las dos muestras. La reacción formadora de sal en acetona proporcionó una sal de hemi-malato diferente que continuamente pierde peso por arriba de aproximadamente 95°C. Esta sal es un solvato de acetona (forma S_A). La pérdida y descomposición del solvente son eventos térmicos estrechamente separados.

EJEMPLO de Referencia 10

Formación de la Sal de Hemi-Malonato

5 Aproximadamente 40-50 mg de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 10. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido malónico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, y se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 10

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
10 EtOH	60	SAM a FFP	Pobre A	1.0	
				169.5	
IPA	60	SAM a FFP	Buena A	1.5	4.00 (H _{bz}) 2.69 (1H, malonato)
				174.1	
Acetona	60	SAM a FFP	Buena A	-	-
Acetona	Ambiente	FFP a SAM a FFP	Buena A	-	-

15 Todas las reacciones proporcionaron la misma sal de hemi-malonato. La cristalinidad es usualmente buena, aunque se pudo ver un halógeno amorfo en todos los espectros de XRPD. El agua asociada con estos materiales es muy probable que se deba a una absorción de humedad incrementada por el componente amorfo. Las condiciones ambientales durante la síntesis parecen producir una sal de mejor calidad.

EJEMPLO de Referencia 11**Formación de la Sal de Mesilato**

20 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 11. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido metansulfónico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 11

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
25 Acetona	60	SAM a FFP	Excelente A + B ?	1.6	4.22 (H _{bz}) 2.33 (~5H, metano solfonato)
				172.8	
30 AcOEt	Ambiente	FFP	Excelente A	1.3 + 1.3 (paso 2)	4.22 (H _{bz}) 2.36 (~5H, metano solfonato)
				170.9	

35 La reacción formadora de sal en acetato de etilo proporciona una sal amarilla, después de agitación a temperatura ambiente. La sal (forma A) es cristalina, presenta un pérdida de peso dos pasos y, a través de NMR, no contiene ningún solvente, pero parece tener más de una molécula de metansulfonato (mesilato). La reacción formadora de sal en acetona proporcionó el aislamiento de un polvo blanco después de calentamiento a 60°C. Presentó una excelente cristalinidad pero puede ser un material compuesto de más de una forma polimórfica (formas A y B). A través de NMR, no contiene ningún solvente, pero parece contener más de una molécula de metal sulfonato. Otras reacción formadora de sal en acetato de etilo, en donde se inició se la reacción a temperatura ambiente y después la suspensión de polvo amarillento obtenido se calentó a 50°C, proporcionó el aislamiento de una nueva forma B, como se muestra en la Figura

5.

EJEMPLO de Referencia 12**Formación de la Sal de Oxalato**

5 Aproximadamente 40-50 mg de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 12. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica del agente formador de sal, ácido oxálico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 12

10

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	FFP	Pobre	—	—
IPA:H ₂ O (1:0.05)	60	FFP	Pobre	—	—
EtOH	Ambiente	Sólido ceroso	Amorfa	—	—
IPA	Ambiente	Sólido ceroso	Amorfa	—	—
Acetona	Ambiente	Sólido ceroso	Amorfa	—	—

15

Las sales de oxalato, aunque se precipitaron inmediatamente después de la adición de ácido oxálico a suspensiones de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, fueron duras para asilar y parecieron absorber agua durante filtración.

EJEMPLO de Referencia 13**Formación de la Sal de Fosfato**

20 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 13. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido fosfórico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

25

Cuadro 13

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	FFP	Excelente H _A	7.0 179.6	3.94 (H _{bz})
EtOH	Ambiente	FFP	Buena S _A	~6.6	1.1 (~1.5 H, EtOH) 4.00 (H _{bz})
IPA	Ambiente	FFP	Excelente S _B	~7-0	1.02 (3-4 H, IPA) 4.00 (H _{bz})
Acetona	RT a 60	SAM a FFP	Excelente A	1.0 187.4	4.00 (H _{bz})
AcOEt	RT a 60	SAM a FFP	Buena A	1.2 175.5	—

- 5 La reacción formadora de sal en etanol y alcohol isopropílico proporcionó hemi-solvatos de etanol e isopropanol (formas S_A y S_B, respectivamente). En etanol y agua, solamente se detectaron huellas de etanol a través de NMR, a pesar del LOD grande. El material fue ya sea higroscópico o un hidrato (forma H_A) que pierde agua después de calentamiento moderado y condiciones de vacío (la pérdida de agua medida a través de TGA se completó en ~60°C a 10°C/min). La reacción formadora de sal en acetona y acetato de etilo produjo la misma sal de fosfato cristalina y amorfa (forma A). La estequiometría es muy probablemente de 1:1. La sal presenta una alta temperatura de descomposición.

EJEMPLO de Referencia 14

Formación de la Sal de Propionato

- 10 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 14. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido propiónico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 14

15

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
IPA	60	FFP	Excelente S _A	15.1	0.97 (3H, propiónico) 1.02 (~ 4H, IPA) 3.73 (H _{bz})
Acetona	60	FFP	Excelente A	7.0 98.9	0.97 (3H, propiónico) 3.73 (H _{bz})
AcOEt	60	FFP	Excelente A	6.3 ~100	—

- 20 Una reacción formadora de sal en etanol proporcionó la base libre sin reaccionar (muy probablemente la forma H_B). El alcohol isopropílico produjo un solvato IPA de la sal de propionato (forma S_A). Basándose en NMR, el contenido de IPA es de ~0.5. La sal muestra una pérdida de peso de 15%, que corresponde a la pérdida de IPA más un componente no identificado. La reacción formadora de sal en acetona y acetato de etilo produjo la misma sal cristalina y no solvatada (forma A). Una pérdida de peso de 6.03-7%, que inició a ~100°C, se debe a agua (si la sal es un hidrato), ácido propiónico o un producto de descomposición. Después de terminar la pérdida de peso (~140°C), la sal se descompone.
- 25 Se debe señalar que cuando el material se disuelve en DMSO para NMR, se detectaron ácido propiónico libre y solamente huellas de propionato.

EJEMPLO de Referencia 15

Formación de la Sal de Sulfato

- 30 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 15. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido sulfúrico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

35 Cuadro 15

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
IPA	60	SAM a FFP	Excelente S _A	8.9 a 12 162	1.02 (6H, IPA) 1.10 (3H, IPA ⁺) 4.22 (H _{bz})
AcOEt	Ambiente	FFP	Pobre A	~ 6.7 ~160	4.22 (H _{bz})

5 La reacción formadora de sal en alcohol isopropílico proporcionó el aislamiento de una sal cristalina blanca. Se identificó como un solvato de isopropanol (forma S_A), conteniendo 1.5 moles de IPA por unidad de fórmula. En DMSO, se protonaron 0.5 moles de IPA. La reacción formadora de sal en acetato de etilo proporcionó el aislamiento de un polvo higroscópico amarillo (forma A). Durante la filtración, la humedad visiblemente absorbida de la muestra, y su pobre cristalinidad se atribuyeron a este efecto.

EJEMPLO de Referencia 16

Formación de la Sal de Hemi-Succinato

10 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 16. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido succínico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución clara, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 16

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	1.1 203.7	2.31 (2H, succinato) 3.86 (H _{bz})
IPA:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente H _A	4.6	2.31 (2H, succinato) 3.85 (H _{bz})
EtOH	Ambiente	FFP a SAM a FFP	Excelente A	1.1 194.6	2.31 (2H, succinato) 3.85 (H _{bz})
IPA	Ambiente	FFP	Buena S _A	2.8 + 4.6 (90.6) (paso 2) 155.8	1.02 (~3H, IPA) 2.32 (2H, succinato) 3.88 (H _{bz})
Acetona	Ambiente	FFP	Buena B	1.5 + 1.3 (paso 2) 162.3	2.31 (2H, succinato) 3.86 (H _{bz})
AcOEt	Ambiente	FFP	Buena B	1.3 + 2.9 154.5	—
EtOH	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
EtOH:H ₂ O (1:0.025)	60	SAM a FFP	Excelente A	1.0 197.3	2.31 (2H, succinato) 3.85 (H _{bz})
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—

25 Se aislaron cuatro sales de hemi-succinato muy diferente: un monohidrato (forma A) (etanol a temperatura ambiente), un hemi-solvato de isopropanol (forma S_A) (alcohol isopropílico), y dos formas no solvatadas A y B. La forma A presenta una cristalinidad más alta, una pérdida de peso mínima hasta 200°C, y una temperatura de descomposición más alta. Además, se puede sintetizar en forma reproducible, según demostrado en etanol y etanol y agua a 60°C.

EJEMPLO de Referencia 17

Formación de la Sal de Hemi-Tartarato

30 Aproximadamente 40-50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de un solvente como se presenta en el Cuadro 17. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica de ácido tartárico. La mezcla se agitó ya sea a 60°C o a temperatura ambiente (en donde se formó una solución transparente, se continuó la agitación a 4°C). Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD, TGA y en algunos casos ¹H-NMR.

Cuadro 17

Solvente	T, °C	Apariencia Física	Cristalinidad y Forma	LOD, % T _{descomposición}	¹ H-NMR
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	RT a 60	FFP a SAM a FFP	Excelente A	0.5 206.9	3.86 (1H, tartarato) 3.95 (H _{bz})
EtOH:H ₂ O (1:0.025)	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
EtOH:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Excelente A	0.5 207.6	3.86 (1H, tartarato) 3.95 (H _{bz})
EtOH	60	SAM a FFP	Excelente A	—	—
IPA:H ₂ O (1:0.05)	60	SAM a FFP	Buena B	1.9 y 3.4 > 106°C	3.90 (1H, tartarato) 3.96 (H _{bz})

- 5 La reacción formadora de sal de la base libre con ácido tartárico requirió del calentamiento a temperaturas elevadas. Una sal anhidra, altamente cristalina que se descompuso por arriba de 200°C se aisló como un hemi-tartarato y se marcó como la forma A. La forma B se aisló una vez en el alcohol isopropílico y agua a 60°C y, aunque muy similar en estructura con A, se dieron diferencias importantes en su patrón XRPD.

EJEMPLO 18

Formación de la Sal Anhidra de DL-Lactato

- 15 Se diluyó ácido DL-láctico (4.0g, 85% de solución en agua, correspondiendo a 3.4 g de ácido DL-láctico puro) en 27.2g de agua, y la solución se calentó a 90°C (temperatura interna) durante 15 horas. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se utilizó como una solución de ácido láctico para el siguiente paso de formación de sal.

- 20 Se colocó la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, forma H_A (10.0 g) en un matraz de reacción de 4 cuellos con un agitador mecánico. Se agregaron 110.5 g de agua desmineralizada, y la suspensión se calentó a 65°C (temperatura interna) en 30 minutos. La solución de ácido DL-láctico se agregó a esta suspensión durante 30 minutos a 65°C. Durante la visión de la solución de ácido DL-láctico, la suspensión se convirtió a una solución. El embudo de adición se enjuaga con 9.1 g de agua desmineralizada, y la solución se agitó a 65°C durante 30 minutos más. La solución se enfrió a 45°C (temperatura interna) y se agregaron, a esta temperatura, cristales de semilla o de siembra (10 mg de monohidrato de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida). La suspensión se enfrió a 33°C y se agitó durante 20 horas más a esta temperatura. La suspensión se volvió a calentar a 65°C, y se agitó durante 1 hora a esta temperatura y se enfrió a 33°C en 1 hora. Después de la agitación adicional durante 3 horas a 33°C, el producto se aisló mediante filtración y la torta de filtro se lavó con agua desmineralizada (2 x 20 g). La torta de filtro húmeda se secó al vacío a 50°C para obtener la sal de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida como un producto cristalino. El producto es idéntico a la sal de monohidrato (forma H_A) en HPLC y en ¹H-NMR. El XRPD indicó la presencia de la forma anhidrato.

En experimentos de formación de sal adicionales realizados de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente, la solución de producto se filtró a 65°C antes de enfriar a 45°C, sembrar y cristalización. En todos los casos, se obtuvo la forma A (forma anhidrato) como producto.

35 EJEMPLO 19

Formación de la Sal de DL-Lactato Anhidra

Se diluyó ácido DL-láctico (2.0 g, 85% de solución en agua, correspondiendo a 1.7 g de ácido DL-láctico puro) en 13.6 g de agua, y la solución se calentó a 90°C (temperatura interna) durante 15 horas. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se utilizó como una solución de ácido láctico para el siguiente paso de formación de sal.

- 40 Se colocó la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, forma H_A (5.0 g) en un matraz de reacción de 4 cuellos con un agitador mecánico. Se agregaron 54.85 g de agua desmineralizada, y la

5 suspensión se calentó a 48°C (temperatura interna) en 30 minutos. La solución de ácido DL-láctico se agregó a esta
 10 suspensión durante 30 minutos a 48°C. Se agregaron cristales de siembra (como una suspensión de 5 mg de la sal de
 DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida), forma A de anhídrido, en
 0.25 g de agua) y la agitación se continuó durante 2 horas más a 48°C. La temperatura se elevó a 65°C (temperatura
 interna) en 30 minutos, y la suspensión se agitó durante 2.5 horas más a esta temperatura. Después, la temperatura se
 enfrió a 48°C en 2 horas, y la agitación se continuó a esta temperatura durante 22 horas más. El producto se aisló
 mediante filtración, y la torta de filtro se lavó con agua desmineralizada (2 x 20 g). La torta de filtro húmeda se secó al
 vacío a 45-50°C para obtener la sal de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-
 propenamida anhidra (forma A) como un producto cristalino. El punto de fusión y la descomposición se presentaron
 conjuntamente a 183.3°C.

EJEMPLO 20

Conversión de Monohidrato de Sal de DL-Lactato a Anhídrido de la Sal de DL-Lactato

15 Se diluyó ácido DL-láctico (0.59 g, 85% de solución en agua, correspondiendo a 0.5 g de ácido DL-láctico puro) en 4.1 g
 de agua, y la solución se calentó a 90°C (temperatura interna) durante 15 horas. La solución se dejó enfriar a
 temperatura ambiente y se utilizó como una solución de ácido láctico para el siguiente paso de formación de sal.

20 Se colocaron 10 g del monohidrato de la sal de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-
 il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, en un matraz de reacción de 4 cuellos. Se agregaron 110.9 g de agua,
 seguido por la adición de la solución de ácido láctico. El embudo de adición del ácido láctico se enjuagó con 15.65 g de
 agua. La suspensión se calentó a 82°C (temperatura interna) para obtener una solución. La solución se agitó durante 15
 minutos a 82°C y se filtró caliente en otro matraz de reacción para obtener una solución clara. La temperatura se alzó a
 50°C y se agregaron cristales de siembra (como una suspensión de 10 mg de la sal de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-
 (2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida forma anhídrido, en 0.5 g de agua). La temperatura se
 enfrió a 33°C y la agitación se continuó durante 19 horas más a esta temperatura. La suspensión formada se calentó
 25 otra vez a 65°C (temperatura interna) en 45 minutos, se agitó a 65°C durante 1 hora y se enfrió a 33°C en una hora.
 Después de agitar a 33°C durante 3 horas más, el producto se aisló mediante filtración, y la torta de filtro húmeda se lavó
 con 50 g de agua. El producto se secó al vacío 50°C la sal de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-
 il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida anhidra (forma A).

EJEMPLO 21

Formación de la Sal de DL-Lactato Anhidra

30 Se diluyó ácido DL-láctico (8.0g, 85% de solución en agua, correspondiendo a 6.8 g de ácido DL-láctico puro) con 54.4 g
 de agua, y la solución se calentó a 90°C (temperatura interna) durante 15 horas. La solución se dejó enfriar a
 temperatura ambiente y se utilizó como una solución de ácido láctico para el siguiente paso de formación de sal.

35 Se colocó la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, forma H_A (20
 g) en un reactor de vidrio de 1 litro, y se agregó etanol/agua (209.4 g de una mezcla de 1:1 p/p). La suspensión de color
 amarillo claro se calentó a 60°C (temperatura interna) en 30 minutos, y La solución de ácido láctico se agregó durante 30
 minutos a esta temperatura. El embudo de adición se enjuagó con 10 g de agua. La solución se enfrió a 38°C en dos
 horas y se agregaron, a 38°C, cristales de siembra (20 mg de la sal de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-
 3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida forma de anhídrido). Después de agitar a 38°C durante 2 horas más, la
 40 mezcla se enfrió a 25°C en 6 horas. El enfriamiento se continuó de 25°C a 10°C en 5 horas, de 10°C a 5°C en 4 horas y
 de 5°C a 2°C en 1 hora. La suspensión se agitó durante 2 horas más a 2°C, y el producto se aisló mediante filtración. La
 torta de filtro se lavó con agua (2 x 30 g), y el producto se secó a vacío a 45°C para obtener la sal de DL-lactato de N-
 hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida anhidra (forma A).

EJEMPLO de Referencia 22

Formación de Sal de Sodio

45 Aproximadamente 50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-
 il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de metanol. Subsecuentemente se agregó a la
 suspensión una cantidad estequiométrica del hidróxido de sodio. La mezcla se agitó a 50°C. Una vez que se formó una
 solución clara, la agitación se continuó a 4°C. Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante

XRPD y TGA. La sal de sodio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se aisló como un polvo altamente higroscópico de color amarillo, el cual absorbió humedad durante filtración.

EJEMPLO de Referencia 23

Formación de la Sal de Potasio

- 5 Aproximadamente 50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de metanol. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica del hidróxido de potasio. La mezcla se agitó a 50°C. Una vez que se formó una solución clara, la agitación se continuó a 4°C. Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD y TGA. La sal de potasio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se aisló como un polvo altamente higroscópico de color amarillo, el cual absorbió humedad durante filtración.

EJEMPLO de Referencia 24

Formación de Sal de Calcio

- 15 Aproximadamente 50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de metanol. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica del hidróxido de sodio. La mezcla se agitó a 50°C. Una vez que se formó una solución clara, se agregó una cantidad estequiométrica de dicloruro de calcio ocasionando la precipitación inmediata de un sólido amarillento. Los recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD y TGA. La sal de calcio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida fue menos higroscópica que la sal de potasio o de sodio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida y se pudo aislar fácilmente.

EJEMPLO de Referencia 25

Formación de Sal de Zinc

- 25 Aproximadamente 50 mg del monohidrato de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida se suspendieron en 1 mL de metanol. Subsecuentemente se agregó a la suspensión una cantidad estequiométrica del hidróxido de sodio. La mezcla se agitó a 50°C. Una vez que se formó una solución clara, se agregó una cantidad estequiométrica de sulfato de zinc ocasionando una precipitación inmediata de un sólido amarillento. Los sólidos se recogieron a través de filtración y se analizaron mediante XRPD y TGA. La sal de zinc de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida fue menos higroscópica que la sal de sodio o potasio de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida y pudo aislarse fácilmente.

EJEMPLO 26

Formación de la Sal de Clorhidrato

- 35 Se cargaron 3.67 g (10 mmoles) del monohidrato de base libre (N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida) y 40 mL de etanol absoluto en un matraz de 3 cuellos de 250 mL equipado con un agitador magnético y un embudo de adición. A la suspensión agitada se le agregaron, gota a gota, 7.5 mL de 2 M HCl (15 mmoles, 50% de exceso), proporcionando una solución clara. Una solución blanca se precipitó en 10 minutos, y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 2 horas más. La mezcla se enfrió en baño de hielo durante aproximadamente 30 minutos, y el sólido blanco se recuperó a través de filtración. Se lavó una vez con 10 mL de etanol frío y se secó durante la noche bajo vacío para producir 3.72 g de la sal de cloruro de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida (96.2%).

- 45 Se debe observar que el HCl se utilizó en exceso para mejorar el rendimiento, aunque cantidades equimolares proporcionaron rendimiento de más del 80%. La formación de Di-sal a través de protonación del anillo metil-1H-indol-2-ilo no ocurre aún cuando se utilizó HCl en un gran exceso. Las reacciones con 1, 1.5 y 2 equivalentes de HCl proporcionaron la misma sal de monocloruro como un producto. Además, los datos de NMR no muestran desplazamientos para ninguno de los protones cerca del anillo, como podría suceder después de protonación.

EJEMPLO de Referencia 27**Formación de la Sal de L-Tartarato**

5 Se cargaron 3.67 g (10 mmoles) del monohidrato de base libre (N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida) y 50 mL de etanol absoluto en un matraz de 3 cuellos de 250 mL equipado con un agitador magnético y un embudo de adición. La mezcla se calentó a 60°C y a la suspensión caliente se le agregaron, gota a gota, 0.83 g (5.5 mmoles, 10% de exceso) de ácido L-tartárico disuelto en 15 mL de etanol absoluto. Inicialmente, se formaron grandes aglomerados de color amarillo que evitaron una adecuada agitación, pero con el tiempo estos se convirtieron en polvo amarillo de flujo libre y que se puede agitar. La agitación se continuó a 60°C durante 2 horas. La mezcla subsecuentemente se enfrió a temperatura ambiente y se colocó en un baño de hielo durante aproximadamente 30 minutos. El producto amarillo se recuperó a través de filtración y se lavó una vez con 10 mL de etanol absoluto frío. Se secó durante la noche bajo vacío para producir 4.1 g de la sal de L-tartarato (hemitartarato) de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida (96.6%).

EJEMPLO de Referencia 28**Formación de la Sal de Monohidrato de DL-Lactato**

15 Se cargaron 3.67 g (10 mmoles) del monohidrato de base libre forma H_A (N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida) y 75 mL de acetona en un matraz de 3 cuellos de 250 mL equipado con un agitador magnético y un embudo de adición. A la suspensión agitada se le agregaron, gota a gota, 10 mL de 1 M ácido láctico en 10 mmoles de agua disuelto en 20 mL de acetona, proporcionando una solución clara. La agitación continuó a temperatura ambiente y se precipitó un sólido blanco después de aproximadamente 1 hora. La mezcla se enfrió en baño de hielo y se agitó durante 1 hora más. El sólido blanco se recuperó a través de filtración y se lavó una vez con 15 mL de acetona fría. Subsecuentemente se secó bajo vacío para producir 3.94 g de la sal de monohidrato de DL-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida (86.2%).

EJEMPLO de Referencia 29**Formación de la Sal de Mesilato**

25 Se cargaron 3.67 g (10 mmoles) del monohidrato de base libre (N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida) y 75 mL de Caetano de etilo en un matraz de 3 cuellos de 250 mL equipado con un agitador mecánico y un embudo de adición. A la suspensión agitada se le agregaron, gota a gota, 0.65 mL (10 mmoles) de ácido metan sulfónico disuelto en 20 mL de acetato de etilo, proporcionando una suspensión que se puede agitar de un polvo amarillo de flujo libre. La mezcla se calentó a 50°C y se mantuvo así durante la noche, y durante ese tiempo el polvo amarillo se convirtió a un sólido blanco. La suspensión se enfrió a temperatura ambiente y el sólido blanco se recuperó mediante filtración. Se lavó una vez con 15 mL de Caetano de etilo frío y se secó durante la noche bajo vacío para producir 4.38 g de la sal de mesilato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida (98.3%).

35 Se debe observar que el polvo amarillo inicialmente formado es un polimorfo de la sal de mesilato que contiene más de la cantidad equimolar de ácido metan sulfónico. Como resultado, este sólido es muy altamente higroscópico. Después del calentamiento moderado a 40°C o 50°C en 2-4 horas, el polvo amarillo se convirtió a un sólido cristalino blanco que contiene la cantidad equimolar del ácido metan sulfónico. Esta sal es no higroscópica. También se observó que la adición del ácido metan sulfónico se realiza a temperatura ambiente y la temperatura se incrementó posteriormente. Se observó que la adición a una temperatura más alta proporcionó la inmediata precipitación de la sal como un material suave y gomoso.

EJEMPLO de Referencia 30**Formación de la Sal de Maleato**

45 Se cargaron 3.67 g (10 mmoles) del monohidrato de base libre (N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida) y 75 mL de acetona en un matraz de 3 cuellos de 250 mL equipado con un agitador mecánico y un embudo de adición. La mezcla se calentó a 45°C y a la suspensión caliente se le agregaron, gota a gota, 1.16 g (10 mmoles) de ácido maléico disuelto en 25 mL de acetona. Aunque la adición fue lenta, la sal se

5 precipitó como un sólido gomoso suave impidiendo la agitación. La agitación se continuó durante la noche a 45°C y durante ese tiempo el sólido se convirtió a un polvo de flujo libre blanco. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se colocó en un baño de hielo durante aproximadamente 30 minutos. El sólido blanco se recuperó a través de filtración. Se lavó una vez con 15 mL de acetona fría, y se secó durante la noche bajo vacío para producir 4.21 g de la sal de maleato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida (90.5%).

Se debe observar que un solvente muy preferible para la síntesis es 2-propanol. Durante la optimización, sin embargo, se observó que, además de la forma deseada, otro polimorfo con una baja temperatura de descomposición (118.9°C) pudo ser aislado de 2-propanol como un polvo amarillo.

EJEMPLO 31

10 Formación de la Sal de L-(+)-Lactato Anhidra

15 Se trataron 20.0 g de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida con 6.8 g de ácido L-(+)-láctico de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 19 para obtener la sal de L-(+)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, forma de anhidrato. El punto de fusión y la descomposición se presentaron conjuntamente a 184.7°C. El patrón de XRPD es como se muestra en la Figura 3D (2θ=9.9, 11.4, 13.8, 18.1, 18.5, 19.7, 20.2, 21.6, 25.2, 29.9).

EJEMPLO 32

Formación de la Sal de D-(-)-Lactato Anhidra

20 Se trataron 20.0 g de la base libre de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida con 6.8 g de ácido D-(-)-láctico de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 19 para obtener la sal de D-(-)-lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, forma de anhidrato. El punto de fusión y la descomposición se presentaron conjuntamente a 184.1°C. El patrón de XRPD es como se muestra en la Figura 3E (2θ=9.9, 11.4, 13.8, 18.1, 18.5, 19.7, 20.2, 21.6, 25.2).

Caracterización Física de Sales de Base Libre, Clorhidrato, DL-Lactato, Maleato, Mesilato y Tartarato

25 Para cada una de las sales de base libre, de cloruro, de maleato, de mesilato y tartarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, se condujo un número de estudios, principalmente para determinar la composición elemental, estequiometría, pureza, punto de fusión o de descomposición, pH de solución saturada, solubilización, termogravimetría, propiedades higroscópicas, disolución intrínseca y estabilidad.

Método HPLC:

30 Instrumento: Agilent 1100
 Columna: Zorbax SB-C18 (3.5µm), 150mm L x 3.0mm ID
 Fase móvil: (A) 0.1% de ácido trifluoroacético en agua (v/v)
 (B) 0.1% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (v/v)
 Velocidad de Flujo: 0.8 mL/min.
 Temperatura de columna: 50°C

35 Gradiente:

Tiempo	% A	% B
0.00	97.0	3.0
2.00	97.0	3.0
15.00	77.0	23.0
25.00	55.0	45.0

Tiempo	% A	% B
27.01	97.0	3.0
35.00	97.0	3.0

Volumen de Inyección: 5 µL

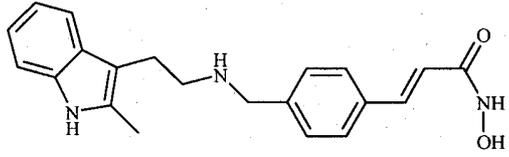
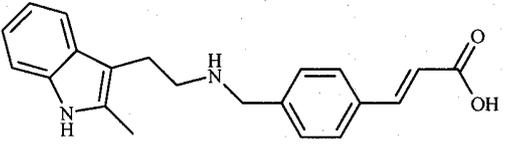
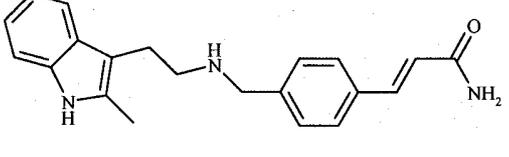
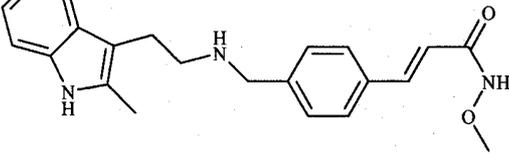
Masa inyectada: 1 µg

Detección: UV,280 nm

5 Solvente de muestra: Metanol

Todas las muestras se prepararon/diluyeron a una concentración de 0.2 mg/mL en metanol antes del análisis en a través de HPLC. Se utilizó una muestra recientemente preparada de cada sal como el estándar de referencia para el análisis de calibración estándar externo.

Análisis LC/MS:

Identidad	TA (min.)	Masa (neutral)	Estructura propuesta
Base libre	15.4	349	
Producto de Hidrólisis	16.3	334	
Sub-producto	18.3	333	
Metilación	25.0	348	

Los espectros de $^1\text{H-NMR}$ se registraron en DMSO-d_6 .

DSC: Las seis sustancias se descomponen antes de la fusión y por lo tanto no fue aplicable la calorimetría de exploración diferencial.

5 Valor de pH: El pH temperatura ambiente de una solución saturada o 1% de suspensión de sustancia de fármaco en agua se registró.

10 Solubilidad Acuosa: Se disolvió una cantidad cuidadosamente cargada (20-50 mg) de la muestra en 1 ml de solvente con equilibrio de 24 horas a temperatura ambiente. La solubilidad se determinó ya sea gravimétricamente o a través de espectrometría de UV-VIS. También se midió el pH de la solución clara. Sin embargo, la dificultad para determinar las solubilidades de sal en agua debe ser acentuada, ya que después de la disolución, es posible la disociación a la forma libre, lo cual afecta tanto la solubilidad como el pH. No es muy probable que los intentos para hacer soluciones de una sal a una concentración muy por abajo de la solubilidad reportada de la sal sean sin éxito (para una discusión completa ver: M. Pudipeddi, A.T.M. Serajuddin, D. J. W. Grant, and P. H. Stahl en "Handbook of Pharmaceutical Salts Properties Selection and Use" pág. 27, y referencias citadas ahí.

15 Las soluciones claras de la sal de mesilato a una concentración por abajo de la solubilidad reportada pueden hacerse en forma inicial, pero con el tiempo ocurre la precipitación de sólido al almacenamiento. Además, se observó una transformación polimórfica para la sal de mesilato en soluciones acuosas. El residuo en ambos casos fue analizado a través de espectroscopia de masas y se encontró ser la base libre, indicando que el precipitado no es un producto de descomposición.

20 Disolución Intrínseca: Aproximadamente 30 mg de cada sustancia se comprimieron a pellas de 0.13 cm^2 . La mayor parte de la pella de base libre se desintegró después del contacto con el medio de disolución acuoso, y de esta manera la velocidad de disolución reportada anteriormente no corresponde a la disolución intrínseca verdadera de la base libre. En 0.1 N HCl la pella de base libre se desintegró por completo y la velocidad de disolución no se determinó. Las pellas de las otras sales permanecieron intactas durante por lo menos varios minutos permitiendo la determinación de la velocidad de disolución intrínseca. Se realizaron estudios de velocidad de disolución utilizando el método de disco de rotación (VanKell Instrument). Se utilizó una velocidad de rotación individual de 200 r.p.m. para disolver la sustancia de fármaco en un recipiente de 500 mL a 37°C . La solución se bombeo continuamente a través de una medición de celda UV y regresó al recipiente de disolución.

25

Los resultados para los estudios antes observados se presentan en el Cuadro 18 a continuación.

Cuadro 18

	Análisis elemental	Formas de Sales									
		Base libre		HCl		L-Tartarato		Mesilato		Maleato	
		Calc	Fnd	Calc	Fnd	Calc	Fnd	Calc	Fnd	Calc	Fnd
5	%C	68.64	68.53	65.36	65.09	65.08	65.24	59.31	59.13	64.51	64.19
	% H	6.86	6.74	6.27	6.64	6.17	6.36	6.11	6.12	5.85	5.65
	% N	11.44	1.41	10.89	10.77	9.90	9.94	9.43	9.39	9.03	8.92
	% S			-	-			7.20	7.26		
	% Cl			9.19	9.06						
	Estequiometría										
	¹ H-NMR	NA		1:1		2:1		1:1		1:1	
	Pureza-DSC										
	Vel. Calentamiento 2°C/min	No aplicable		No aplicable		No aplicable		No aplicable		No aplicable	
10	Pureza-HPLC (e.g. área-%)										
		99.41		99.63		99.62		99.30		99.48	
	Punto de Fusión (DSC)										
	Vel. Calentamiento [10 K/min] en °C	No aplicable		No aplicable		No aplicable		No aplicable		No aplicable	
	Entalpía de fusión (J/g)	No aplicable		No aplicable		No aplicable		No aplicable		No aplicable	
	pH de Solución Saturada										
	En agua	8.7		5.65		6.07		4.34		5.54	
	En regulador de pH, pH=6.8	6.91		5.67		5.57		5.38		5.70	
15	Solubilidad (aprox. a 25°C, mg/mL)										
	Metanol	2.3		2.6		2.6		>115		57.0	
	Etanol	1.5		2.1		0.5<		14.6		7.2	
	2-Propanol	4.0		0.8		0.3<		2.2		1.6	
	Acetona	6.5		4.5		4.6		3.0		3.0	
	Acetato de Etilo	5.6		6.5		3.9		6.4		5.6	
	Agua	0.004		2.4		3.5		12.9		2.6	
	0.1 N HCl	0.3		0.2		0.4		0.6		0.7	
20	pH = 6.8 buffer	0.3		0.7		1.9		4.1		1.5	
	Propilen glicol	4.9		13.2		7.2		46.5		32.4	
	Termogravimetría (Pérdida de Peso en %)										
	LOD en %	4.8%		0-4%		0.3%		0.2%		0.1%	
	Temperatura de deshidratación T _{inicio}	Ambiente		—		—		—		—	
	Temperatura de descomposición T _{inicio}	157.4°C		235.7°C		209.0°C		192.4°C		176.7°C	
	Velocidad de Disolución Intrínseca (mg min ⁻¹ cm ⁻²)										
25	HCl 0.1N	NA		0.13		1.16		6.51		1.00	
	Agua	0.15		0.68		0.38		10.17		0.32	

Como se puede a partir del Cuadro 18, cada una de las sales supera la solubilidad de la base libre en aproximadamente 3 ordenes de magnitud. Las sales de clorhidrato, maleato y L-tartarato tienen solubilidades muy similares a aproximadamente 0.3%. La sal de mesilato es la más soluble de todas a 1.3%. (Se estimaron solubilidades aproximadas a partir de la concentración en mg/mL, asumiendo que la densidad de una solución es de 1 g/mL). Por consiguiente, las velocidades de disolución intrínseca variaron.

Además, para cada una de la sal de monohidrato de DL-lactato y la sal anhidra de DL-lactato, se condujo un número de estudios, principalmente para determinar la pureza, punto de fusión o de descomposición, termogravimetría, propiedades higroscópicas y disolución intrínseca. Los resultados de estos estudios se presentan en el Cuadro 19 a continuación.

Cuadro 19

	Sal de Monohidrato de DL-lactato	Sal Anhidra de DL-lactato
Pureza (HPLC)	98.4%	NA
Inicio de fusión DSC	111C	181C
Termogravimetría (TG, 10K/min)	2.7% (hasta 130°C)	0.39% (hasta 130°C)
Contenido de agua (Karl Fischer)	4.3%	0.69%
Higroscopicidad (DVS)	Ligero 0.55% a 80% r.h.	Ligero 0.69% a 80% r.h.
Velocidad de disolución intrínseca		
0.1 N HCl	0.02	0.13
pH = 4	0.08	0.09
Agua	0.06	0.14

También se condujeron experimentos de agitación con respecto a las sales de monohidrato y anhidra de DL-lactato. En particular, una mezcla de las formas A y H_A de la sal de DL-lactato se agitó durante ciertos tiempos y temperaturas. Los resultados de estos experimentos se establecen a continuación en los Cuadros 20 y 21.

Cuadro 20

Temperatura (°C)/tiempo de agitación	2	10	20	25	30
2 días	Sin cambio	Sin cambio	Sin cambio	Sin cambio	Sin cambio
8 días	Sin cambio	Sin cambio	Incremento de A	Conversión a A	Conversión a A
24 días	Incremento de A	Incremento de A	Conversión a A	Conversión a A	Conversión a A

Cuadro 21

Temperatura (°C)	25	35	50	70
Después de 24 horas	Sin cambio	Incremento de A	Conversación a A	Conversación a A

La estabilidad de cada uno de la base libre, la sal de clorhidrato, la sal de maleato, la sal de monohidrato-DL-lactato, la sal de mesilato y las sales de hemi-tartarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida en solución (Cuadro 22) en estado sólido (Cuadro 23) y en presencia de mezclas de excipiente (Cuadro 24) también fue determinada.

25 15 10 5

CUADRO 22 Estabilidad de Solución

	Forma de Sal											
	Base		Mesilato		Tartrato		Clorhidrato		DL-Lactato Monohidrato		Maleato	
Area sin acentuar (% Area)	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL
2 ml/mg soluciones/suspensiones p/100 mM regulador de pH de lactate, pH 3.5 durante 1 semana a 50°C	3.60		3.48		3.58		3.52		3.57		3.51	
pH de mezcla inicial	1.47	A	1.60	A	1.53	A↓*	1.30	A↓*	1.31	A↓*	1.59	A↓*
Resultados de estabilidad	[97.21]		[99.25]		[96.89]		[96.61]		[99.12]		[97.48]	
2 ml/mg soluciones/suspensiones en agua durante 1 semana a 50°C	9.59		6.55		6.82		5.93		6.30		5.40	
pH de mezcla inicial	0.73	A↓	1.16	A	1.21	A↓	0.89	A↓*	1.22	A↓	0.80	A↓
Resultados de estabilidad	[98.73]		[99.30]		[98.91]		[97.53]		[98.85]		[97.26]	
2 ml/mg soluciones/suspensiones en metanol durante 1 semana a 50°C	1.50	A	0.62	A	0.86	A↓	0.38	A	0.71	A	0.83	A
Resultados de estabilidad	[100.2]		[101.2]		[100.5]		[99.25]		[102.8]		[100.7]	
2% soluciones/suspensiones, 1 día a temperatura ambiente	0.64	A	0.74	A↓	0.62	A↓	0.46	A↓	0.49	A↓	0.58	A↓
0.5% CMC	[98.07]		[79.72]		[79.98]		[85.28]		[77.50]		[77.42]	
0.5% HPMC 4000	0.65	A	0.66	A	0.54	A	0.43	A	0.41	A	0.60	A
	[100.4]		[97.30]		[97.54]		[100.0]		[96.42]		[94.63]	
0.5% Klucel HF	0.65	A	0.66	A	0.58	A	0.43	A	0.43	A	0.55	A
	[99.28]		[97.63]		[96.39]		[100.6]		[96.99]		[96.78]	
0.8% Tween 80	0.67	A	0.63	A	0.54	A	0.43	A	0.42	A	0.66	A
	[98.91]		[98.05]		[96.60]		[97.83]		[95.06]		[96.83]	
5% solución, 1 día a temperatura ambiente (diluída 1:100 en regulador de pH 6.8)	0.69	A↓	0.78	A	0.71	A↓	1.40	A↓	0.52	A↓	0.67	A↓
Resultados de estabilidad	[100.4]		[99.30]		[98.39]		[98.91]		[99.24]		[97.92]	

25 15 10 5

CUADRO 23 Estabilidad de Estado Sólido

	Forma de Sal												
	Base		Mesilato		Tartrato		Clorhidrato		DL-Lactato Monohidrato		Maleato		
	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	% DP [ensayo]	CL	
Estabilidad a granel, 2 semanas													
50°C	0.71 [97.76]	A	0.80 [99.35]	A	0.84 [99.48]	A	0.44 [99.38]	A	0.43 [99.31]	A	0.71 [102.2]	A	
50°C/75% r.h.	0.66 [98.61]	A	1.20 [100.0]	A	1.36 [97.66]	A	0.56 [99.04]	A	0.43 [99.86]	A	0.58 [100.0]	A	
50°C/20% agua	0.72 [99.48]	A	1.48 [97.36]	A	1.61 [97.07]	A	0.56 [100.6]	A	0.51 [100.3]	A	0.71 [101.1]	A	
Studio de luz													
1200 kLux (300 - 800nm)	2.22 [99.39]	B	1.16 [98.28]	B	0.82 [100.4]	A	2.58 [98.15]	C	1.68 [98.65]	C	3.02 [96.72]	D	
Estabilidad a granel, 1 semana (XRPD)													
80°C	Cambiado al mod.C		Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		
80°C/75% r.h.	Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		Sin cambio		
Corrosión													
Apariencia	A		A		A		A		A		A		

1. DP = productos de degradación totales (% área). % total de productos de degradación (DP) y ensayo no totalizan 100% ya que los factores de respuesta relative de las impurezas desconocidas no han sido determinados.
2. El ensayo se determina a través de análisis estándar externo comparado con un estándar recientemente preparado de la sal correspondiente.
3. = suspensión; * = solución clara después de prueba de tensión; ↓↓ = no se disolvió por completo en el solvente de muestra después de prueba de tensión.
4. Apariencia: A = sin cambio, B = ligera decoloración, C = decoloración media, D = decoloración fuerte

25 20 15 10 5

CUADRO 24 Estabilidad de Mezclas

	Forma de Sal											
	Base		Mesilato		Tartrato		Clorhidrato		DL-Lactato Monohidrato		Maleato	
	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP	% DP
Estándar	99.5	0.5	99.5	0.5	99.4	0.6	99.7	0.3	99.6	0.4	99.8	0.2
Mezcla 1	98.8	1.2	99.2	0.8	98.8	1.2	99.4	0.6	99.4	0.6	99.5	0.5
Mezcla 2	99.4	0.6	99.3	0.7	98.7	1.3	99.5	0.5	99.6	0.4	99.7	0.3
Mezcla 3	99.3	0.6	99.3	0.7	98.7	1.3	99.4	0.6	99.5	0.5	99.7	0.3
Mezcla 4	99.4	0.5	99.2	0.8	98.7	1.3	99.5	0.5	99.5	0.5	99.7	0.3
Mezcla 5	99.2	0.8	99.2	0.8	98.7	1.3	99.5	0.5	99.5	0.5	99.7	0.3
Mezcla 6	99.4	0.6	99.3	0.7	98.7	1.3	99.5	0.5	99.3	0.6	99.7	0.3
Mezcla 7	99.5	0.5	99.4	0.6	98.7	1.3	99.5	0.5	99.5	0.5	99.7	0.3
Mezcla 8	98.6	0.6	-	-	98.7	1.3	99.5	0.5	99.4	0.6	99.6	0.4

1. El estándar usado se preparó recientemente; 2. DP = total de productos de degradación (% área) y DS = substancia de fármaco (% área);
3. - = no realizado

- Mezcla 1: 50% PVP + 50% Crospovidona
- Mezcla 2: 50% almidón 1500 + 50% MCC 102
- Mezcla 3: 5% PVP + 5% Crospovidona + 10% almidón 1500 + 80% MCC 102
- Mezcla 4: 99% Lactosa + 1% BHT/BHA
- Mezcla 5: 99% Manitol + 1% BHT/BHA
- Mezcla 6: 50% Manitol + 47% HPCLH21 + 1% BHT/BHA + 2% estearato de magnesio (Nota: 1% estearato de magnesio mezclado p/ sal primero)
- Mezcla 7: 50% Alcohol cetílico + 49% HPCLH21 + 1% estearato de magnesio
- Mezcla 8: 100% PEG 3350

5 Cada una de la base libre, sal de clorhidrato, sal de DL-lactato, sal de maleato, sal de mesilato y sales de tartarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida exhibieron características muy buenas de estabilidad tanto en solución como en el estado sólido. Aproximadamente 1.5% de la degradación total se observó para todas las sales y la base libre como soluciones en regulador de pH de lactato (pH 3.5), agua y metanol. Las sales también exhibieron muy buena estabilidad en todas las soluciones probadas (CMC, HPMC, Klucel y Tween-80).

Además, cada una de la base libre, sal de clorhidrato, sal de DL-lactato, sal de maleato, sal mesilato y sales de tartarato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida también exhibieron una muy buena estabilidad con todas las mezclas de excipiente probadas después de 2 semanas a 50°C/75% r.h.

Prueba Suplemental

10 Se determinó una solubilidad aproximada de las sales listadas más adelante en agua y a un pH de 1 suspendiendo 5-15 mg de la sal en 1 mL de solvente. Las muestras se dejaron equilibrar a temperatura ambiente durante al menos 20 horas. El sobrenadante se filtró y se utilizó para la determinación de solubilidad, la cual se realizó gravimétricamente, para la solubilidad acuosa, y a través de espectroscopia de UV-VIS para un pH de 1. El residuo sólido se analizó mediante XRPD. Además, las muestras sólidas de las sales listadas más adelante se mantuvieron a 93% r.h. ya sea durante 7 ó 10 días. Subsecuentemente se analizaron a través de XRPD y TGA, si la última se consideró necesaria. Solamente se pudieron detectar eventos irreversibles o lentamente reversibles. Los resultados se listan en el Cuadro 25 a continuación.

Cuadro 25

20	Sal (Relación Base:SFA)	Solución (EQ t>20 horas)			Estado Sólido (EQ 93% r.h.)	
		Agua		pH 1		
		S mg/mL	Cristalinidad y forma por XRPD	S mg/mL		Patrón XRPD
	Acetato (1:1)	2.18	Buena B (nueva forma)	0.27	Corresponde a sal de clorhidrato	Cristalinidad y forma por XRPD LOD por TGA Bueno B LOD=8.8% (105°C)
	Benzoato (1:1)	0.69	Excelente B (nueva forma)	0.50	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (7 días)
25	Citrato	1.25	Sin cambio	0.28	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (10 días)
	Fumarato (2:1)	0.41	Excelente C (nueva forma)	0.35	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (10 días)
	Gentisato	0.25	Sin cambio	0.30	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (10 días)
	Malato	1.38	Sin cambio	0.42	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (10 días)
30	Malonato	1.92	Amorfos	0.49	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (10 días)
	Propionato	4.19	NA residuo de base libre	0.34	Corresponde a sal de clorhidrato	Poor crystallinity
35	Fosfato	6.26	(cristalinidad pobre) Sin cambio	0.61	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (7 días)

Sal (Relación Base:SFA)	Solución (EQ t>20 horas)				Estado Sólido (EQ 93% r.h.)
	Agua		pH 1		
	S mg/mL	Cristalinidad y forma por XRPD	S mg/mL	Patrón XRPD	Cristalinidad y forma por XRPD LOD por TGA
Succinato	0.39	Excelente C (nueva forma)	0.29	Corresponde a sal de clorhidrato	Sin cambio (10 días)

5 Como se puede ver en el Cuadro 25 anterior, la mayoría de las sales no experimentó ninguna transformación irreversible después de almacenamiento a 93% RH ya sea durante 7 ó 10 días. Sin embargo, se observaron los siguientes puntos: el acetato se convirtió a una nueva forma, la cual también se aisló después de equilibrio de la sal en agua. Es probable que esta nueva forma constituya un hidrato.

Los residuos sólidos del equilibrio en agua se examinaron a través de XRPD y otras técnicas cuando se considero necesario. Los resultados se pueden resumir como sigue:

- No se observó ningún cambio estructural en las sales de citrato, genticato, malato y fosfato.
 - El residuo sólido del equilibrio de propionato consistió solamente de la base libre.
- 10 • El acetato, benzoato, fumarato y succinato se convirtieron a nuevos polimorfos de sal.

En vista del hecho de que el análisis XRPD mostró que en todos los casos, con la excepción de la sal de propionato, la solución estuvo en equilibrio con la sal correspondiente, las solubilidades acuosas en el Cuadro 25 son representativas de la sal (Chapter 2, in *Handbook of Pharmaceuticals SaltsK*; Authors: M. Pudipeddi, A.T.M: Serajuddin, D.J.W. Grant, y P.H. Stahl).

15 Durante el equilibrio en soluciones reguladoras de pH, pH 1, todas las sales se convirtieron a la sal de cloruro. Esto se reflejó en la estrecha escala de solubilidades observadas, las cuales todas se encuentran entre 0.3 y 0.6 mg/ml (S=0.25 mg/mL para la sal de cloruro).

REIVINDICACIONES

1. Una sal anhidra de lactato de N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)etil]amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida.

2. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sal de lactato es una sal DL-lactato 1:1.

3. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sal de lactato es una sal L-lactato.

5 4. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sal de lactato es una sal D-lactato.

5. Una composición farmacéutica que comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4;

Y

(b) al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10

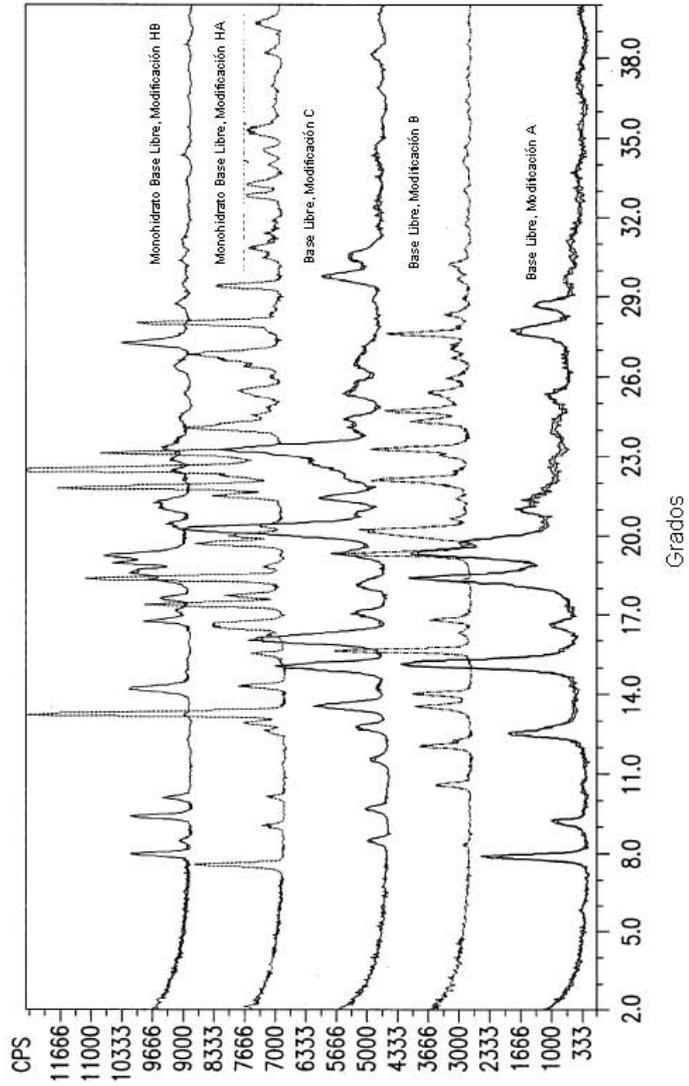


FIG.1

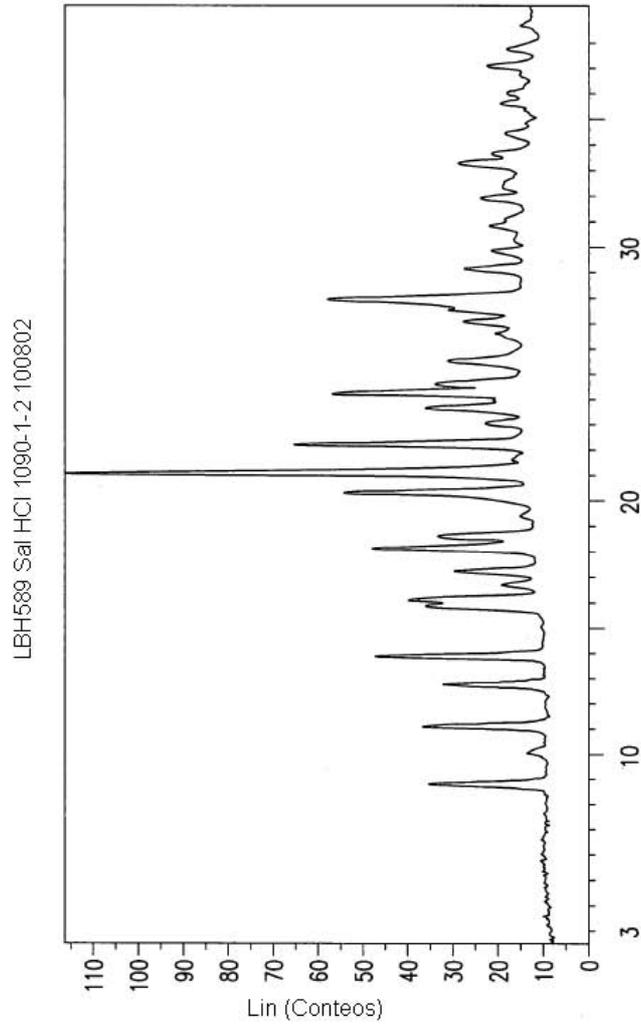


FIG.2

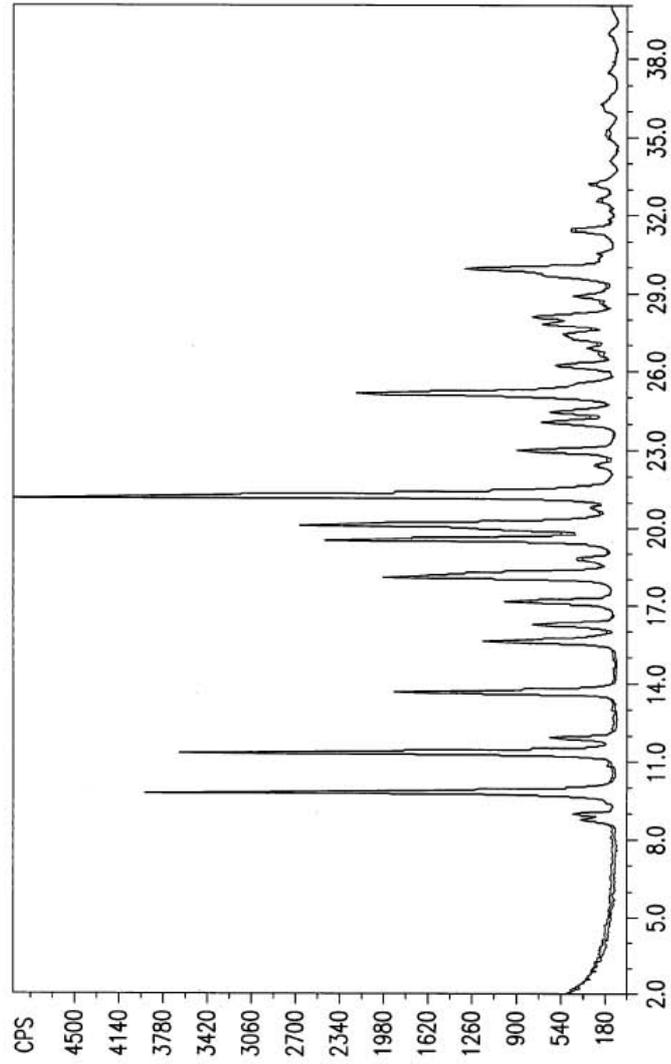


FIG.3A

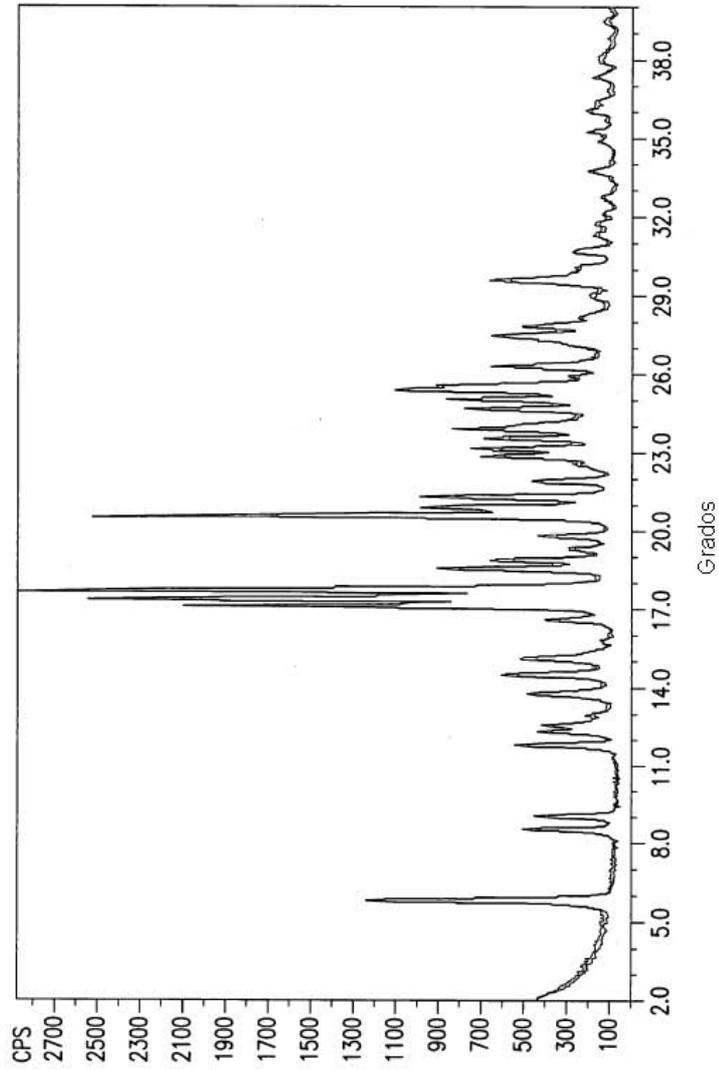


FIG.3B

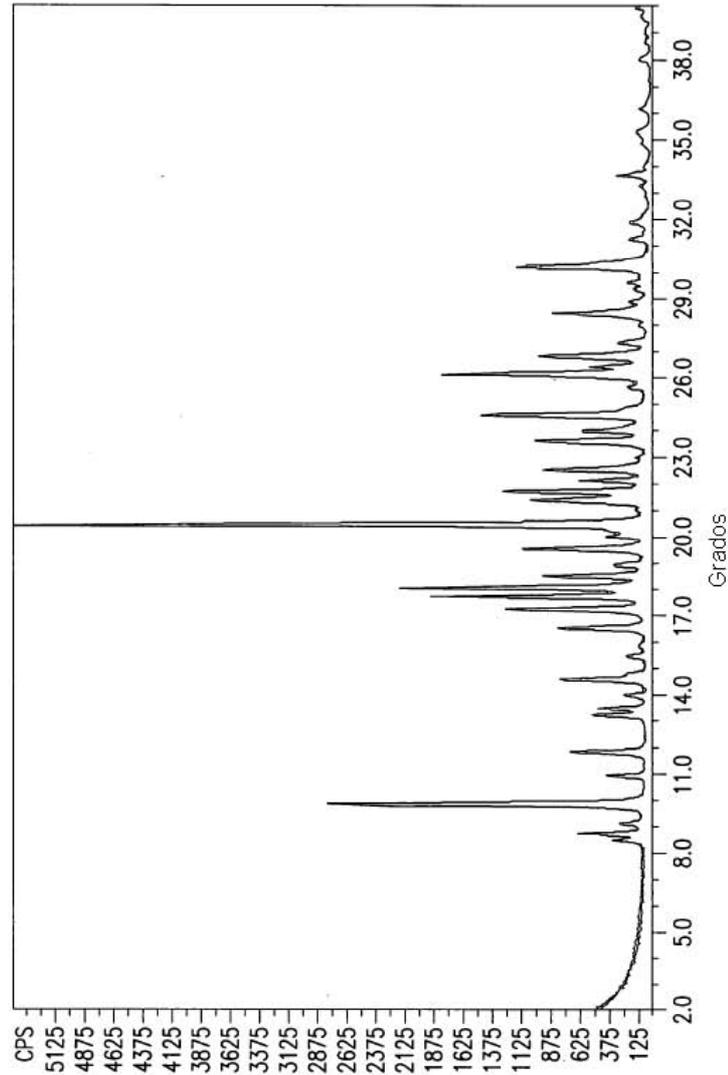


FIG.3C

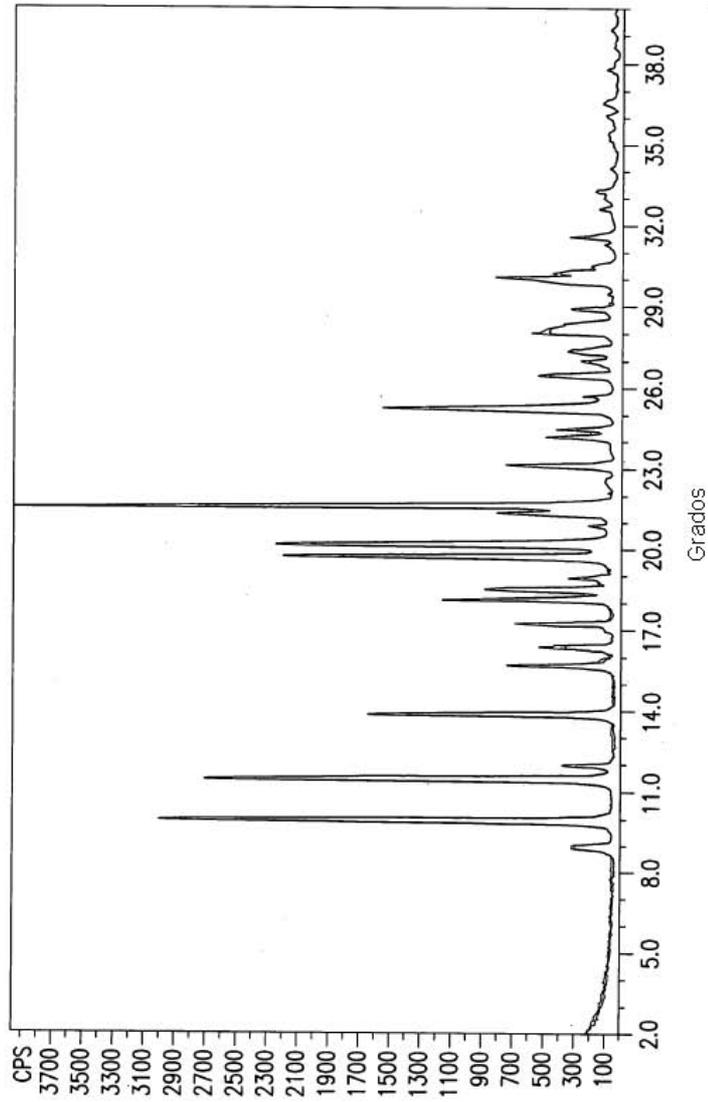


FIG.3D

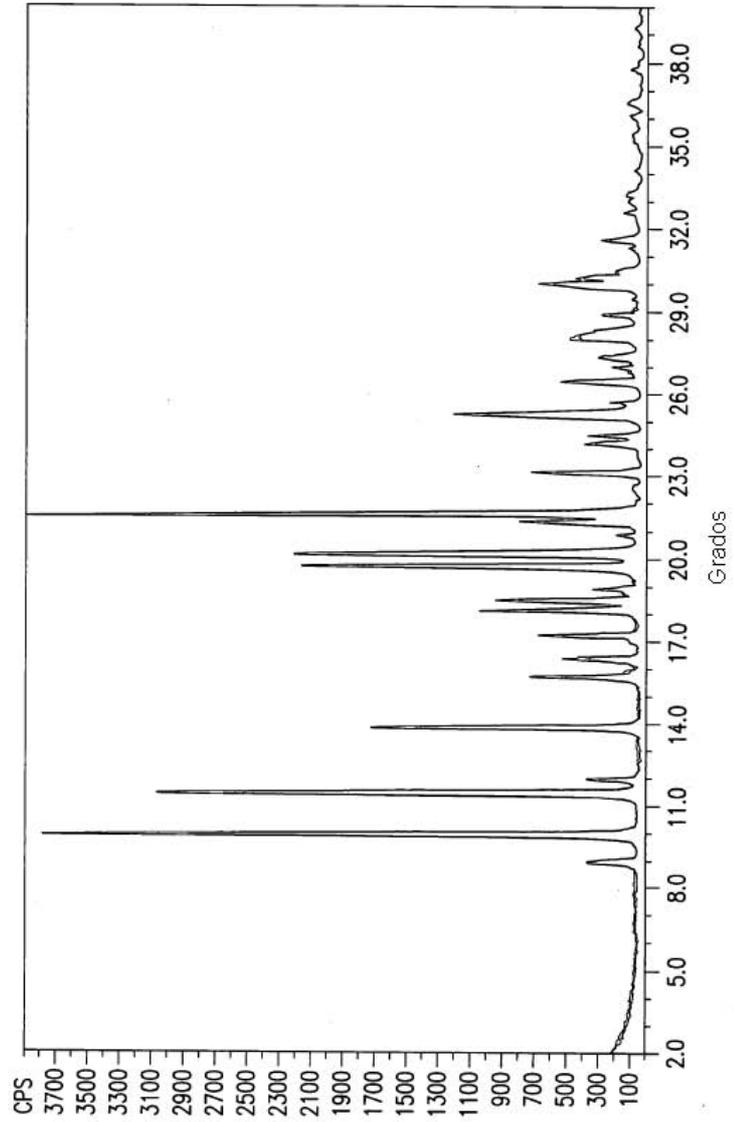
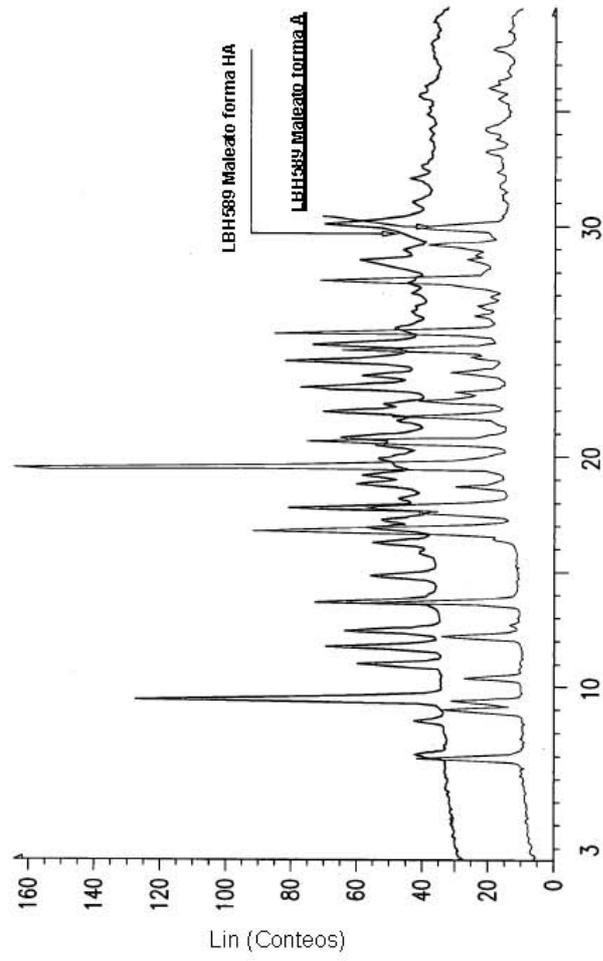


FIG.3E



Escala 2-Theta

FIG.4

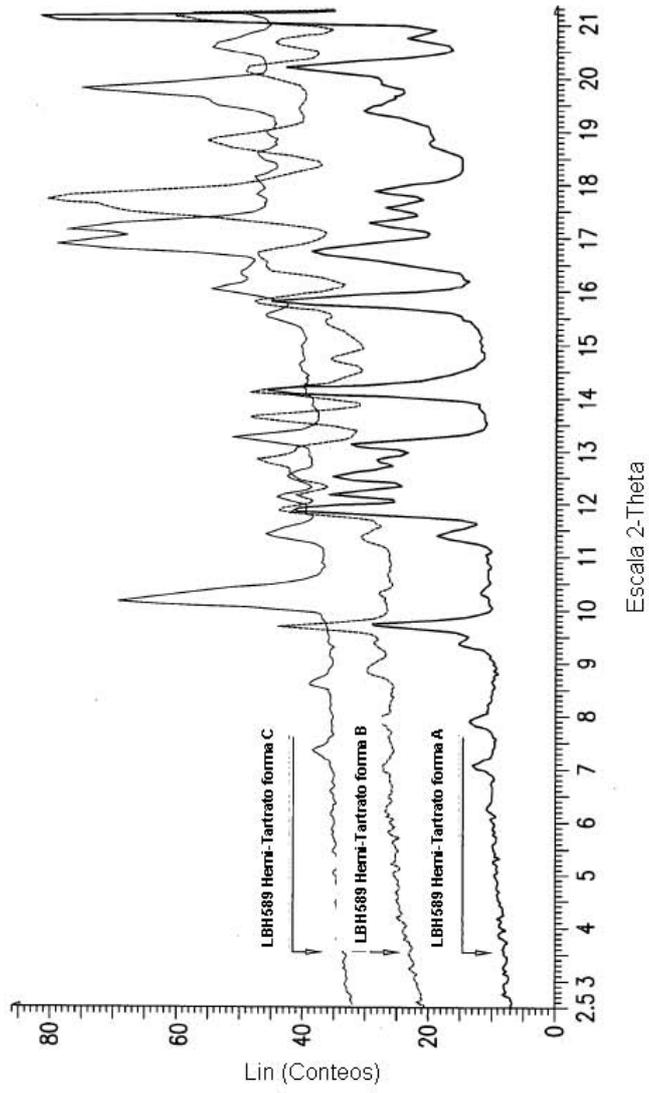
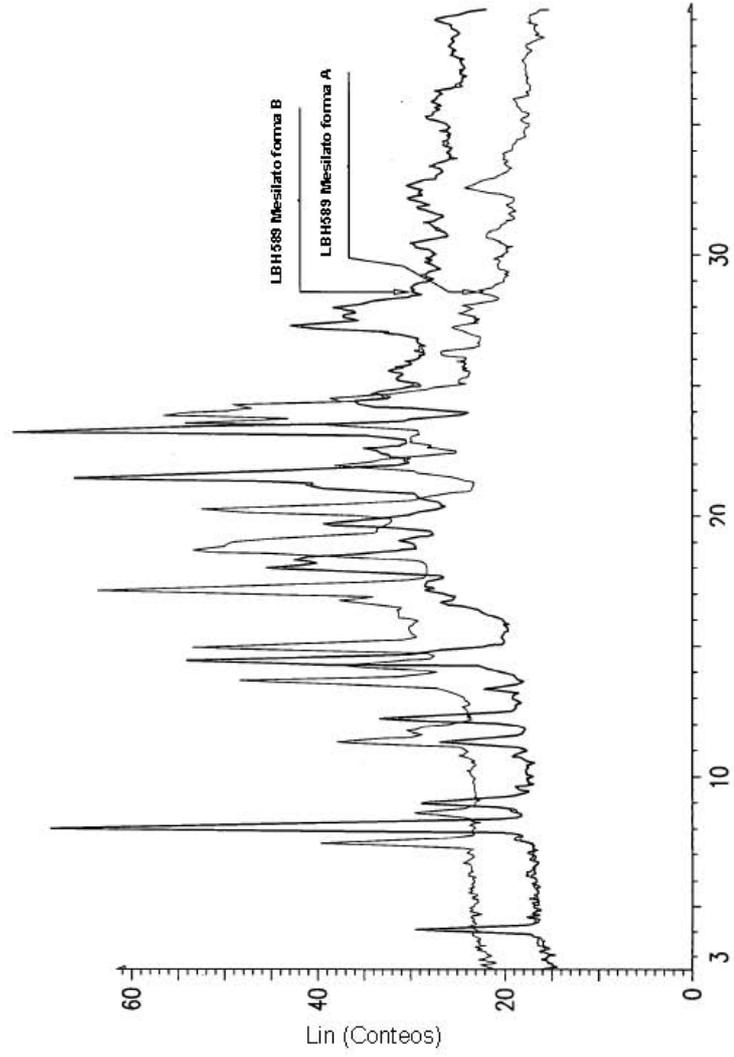
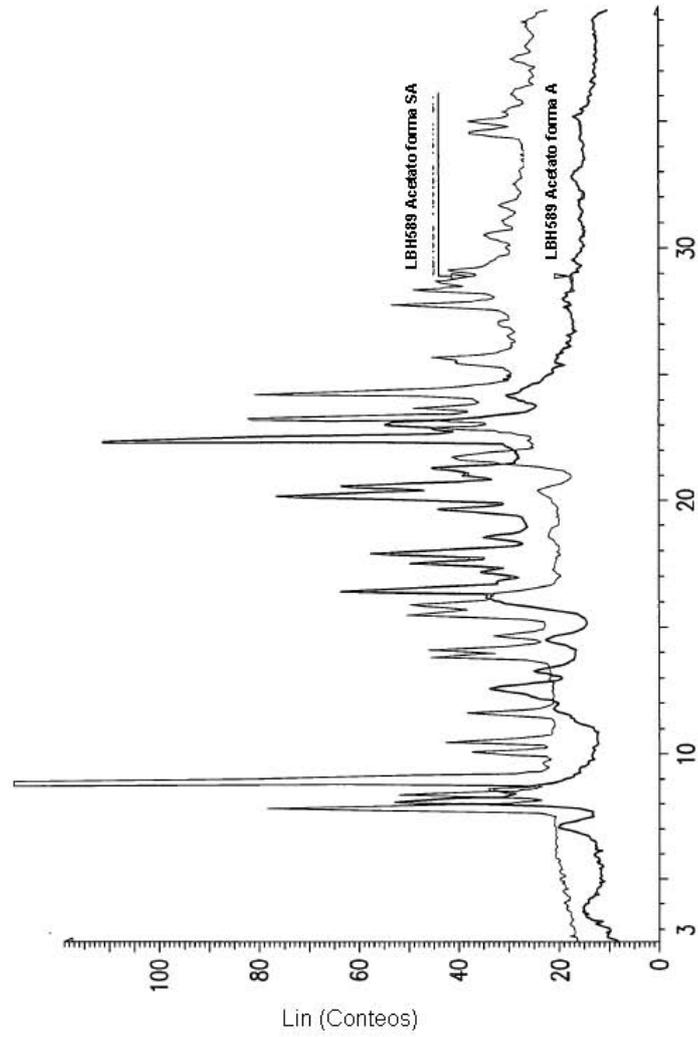


FIG.5



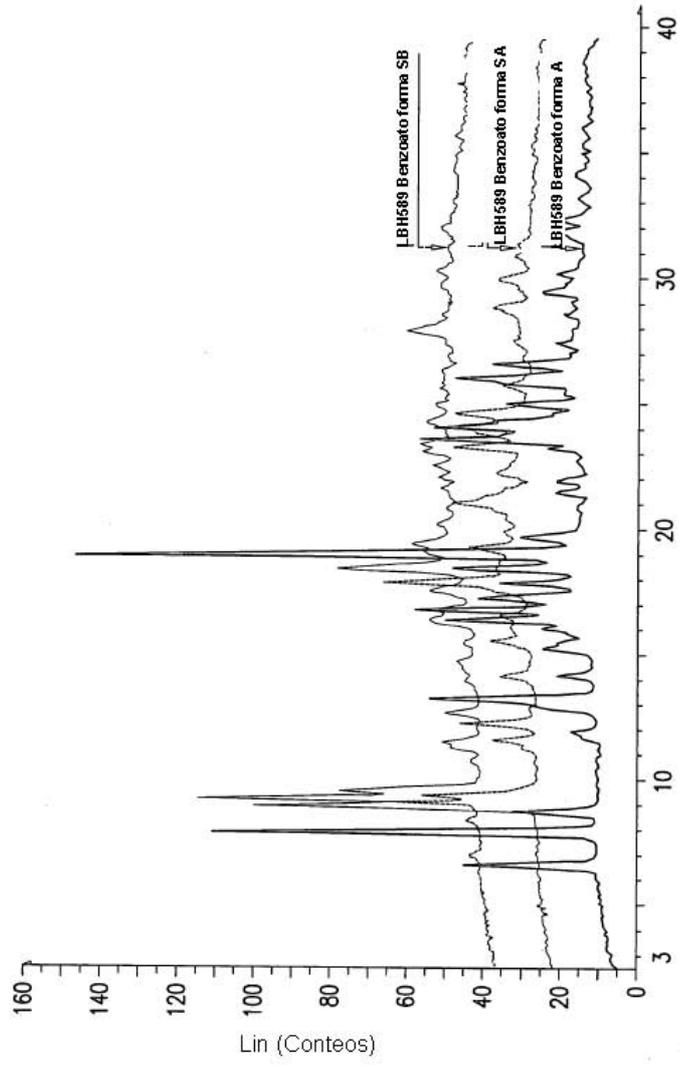
Escala 2-Theta

FIG.6



Escala 2-Theta

FIG.7



Escala 2-Theta

FIG.8

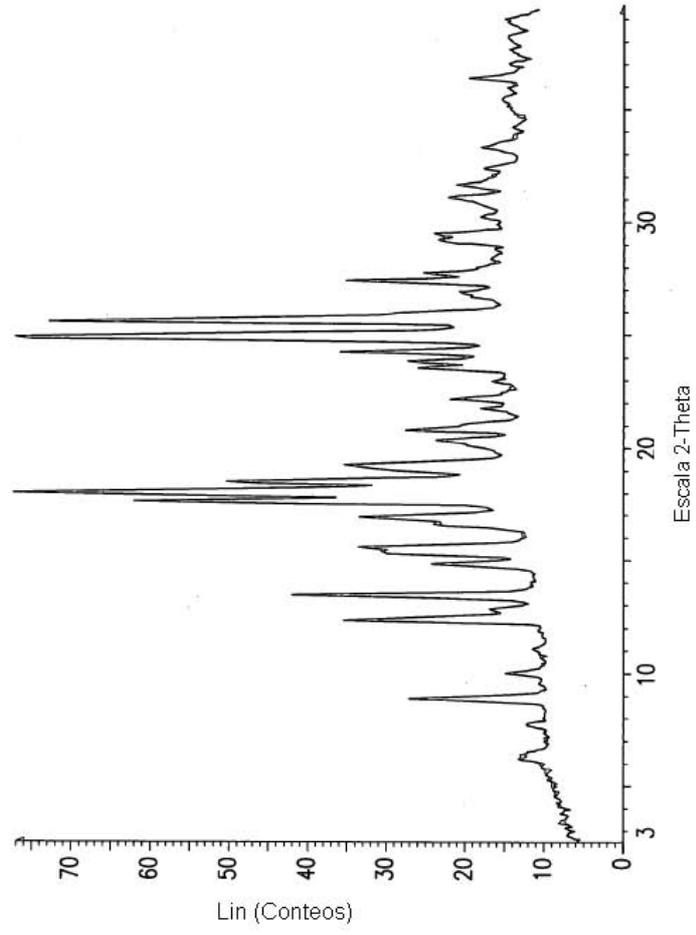
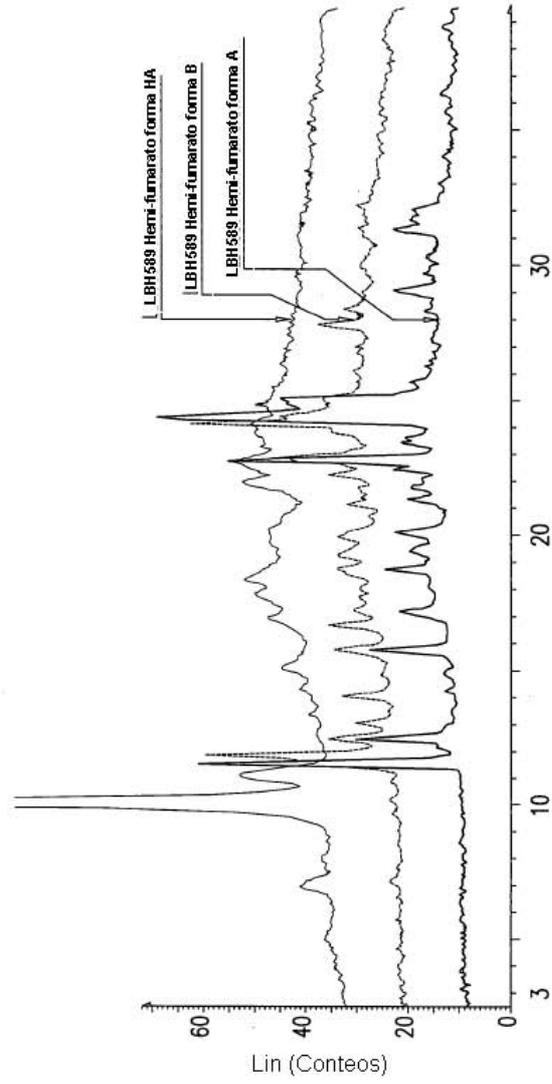
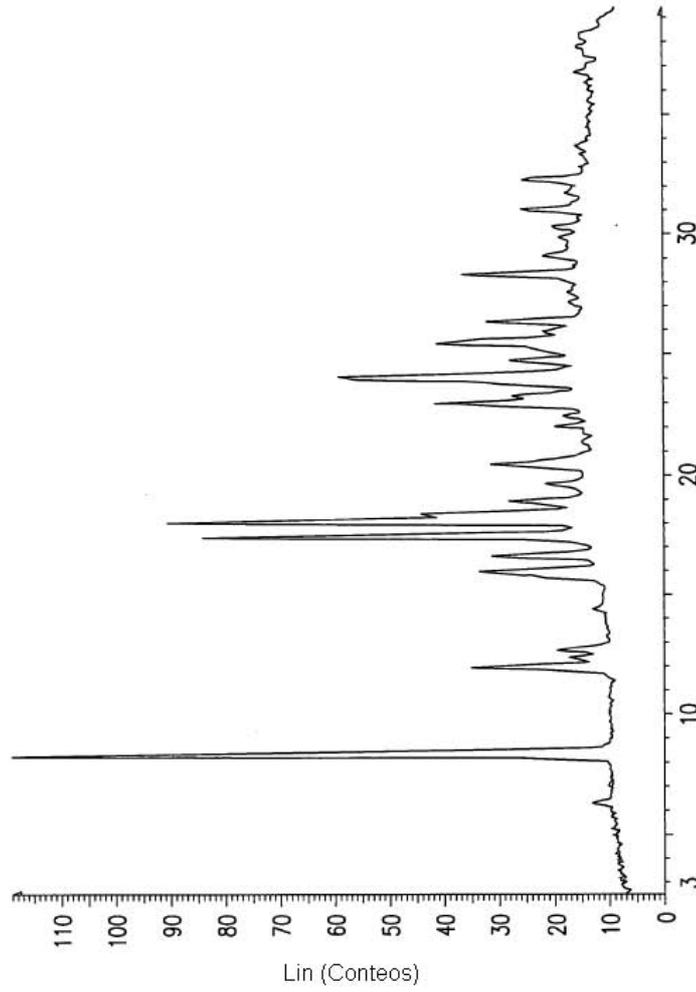


FIG.9



Escala 2-Theta

FIG.10



Escala 2-Theta
FIG. 11

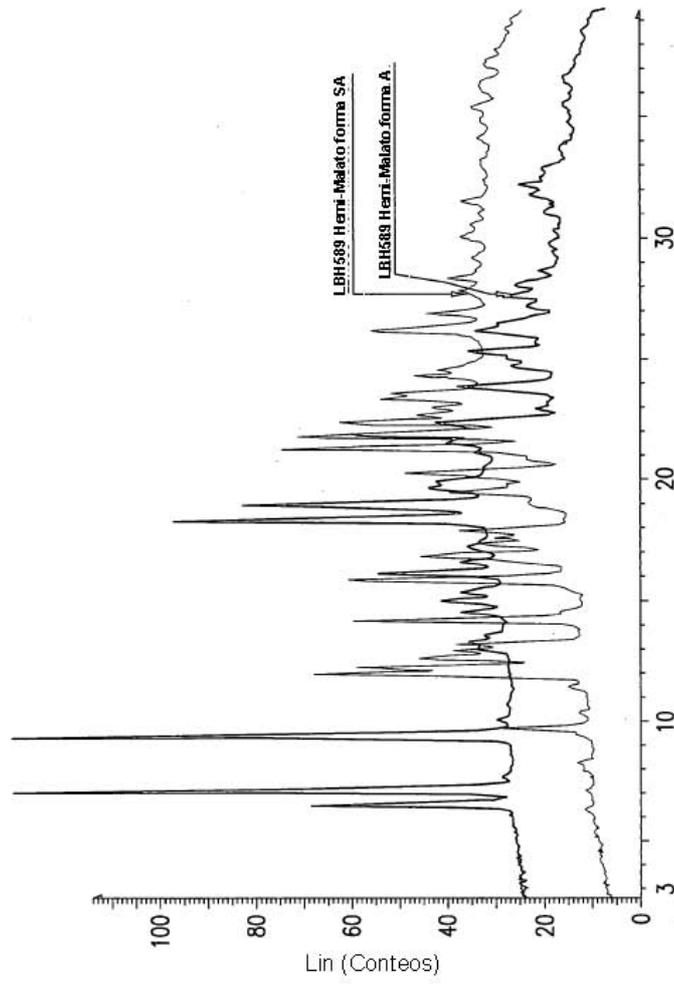
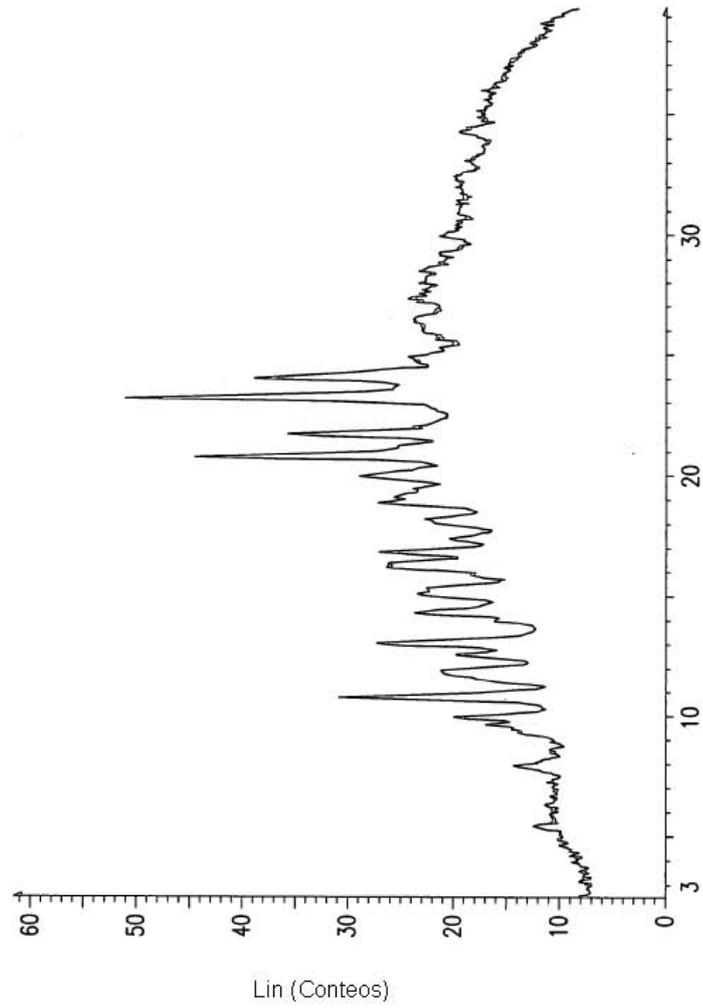
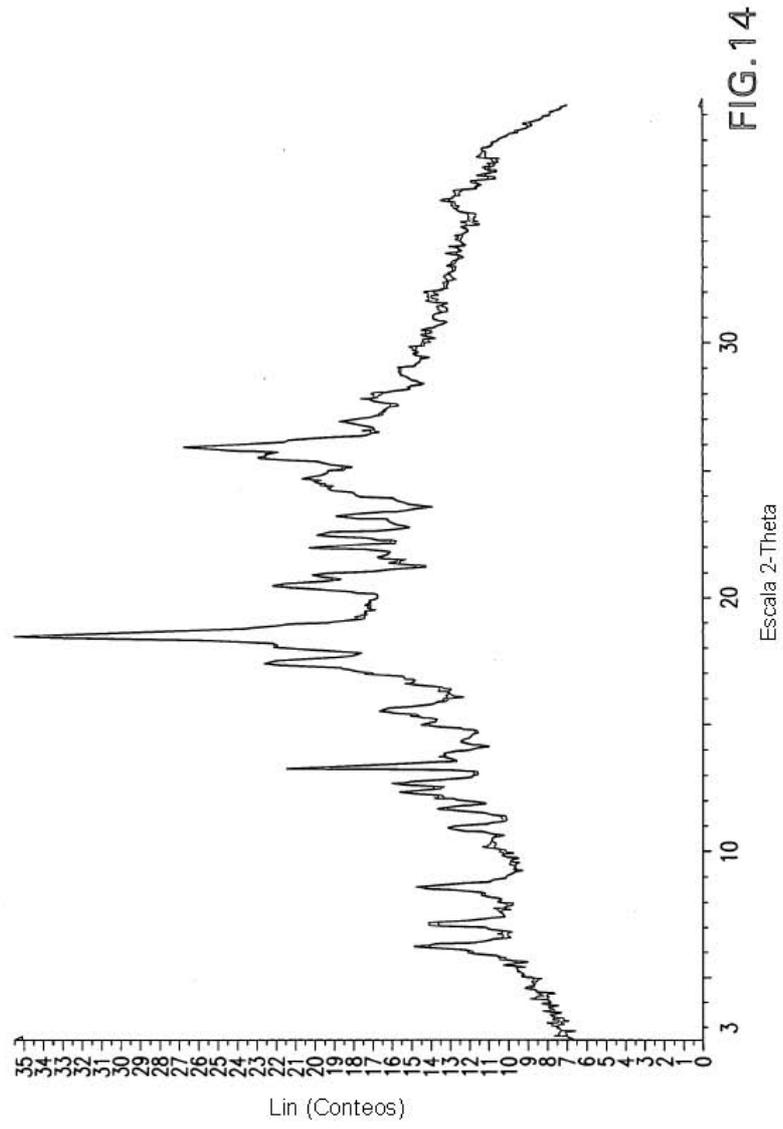


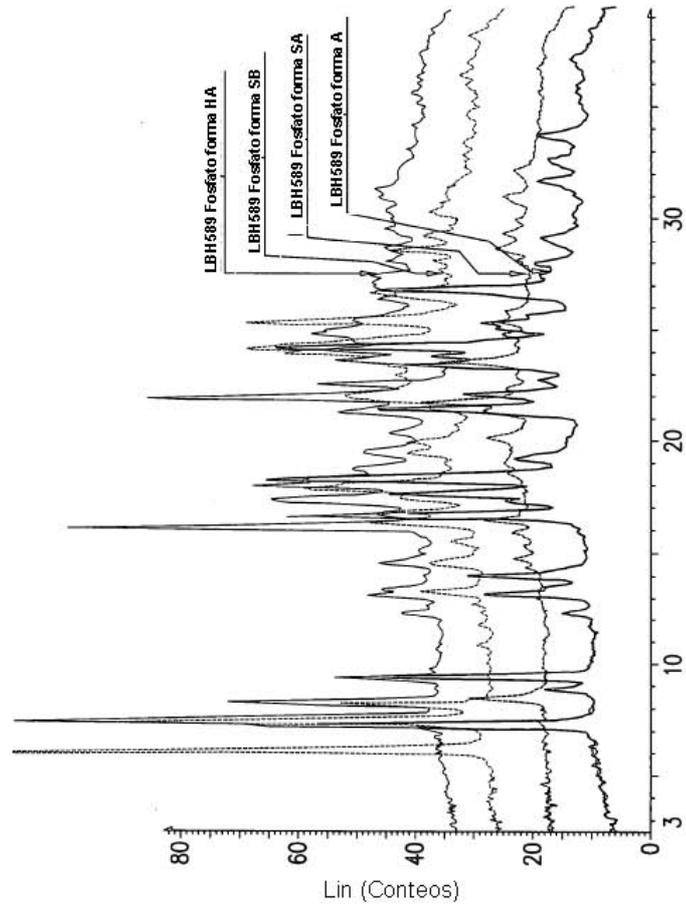
FIG.12



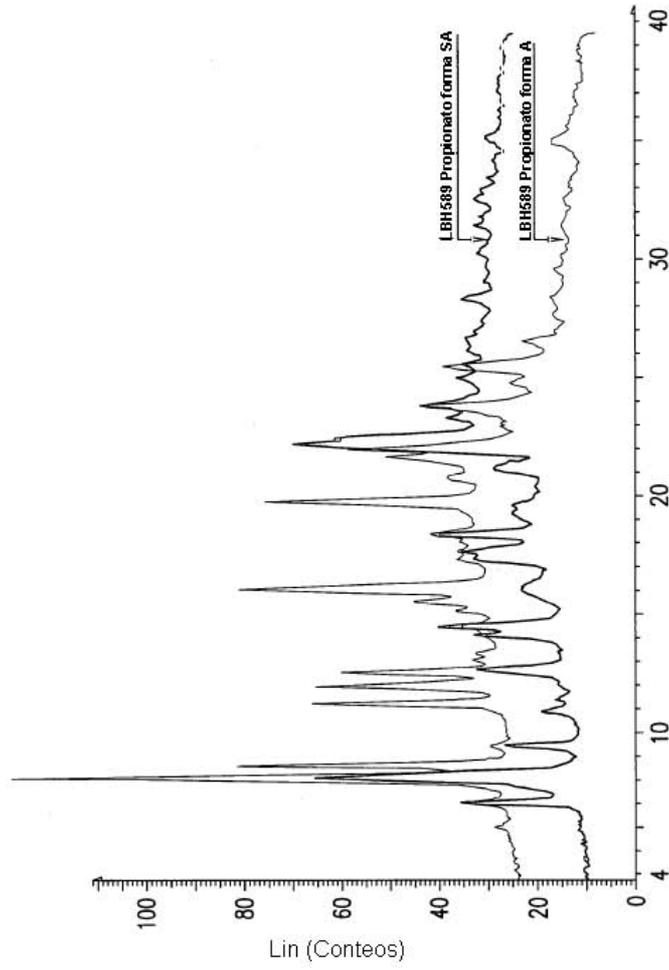
Escala 2-Theta

FIG. 13





Escala 2-Theta
FIG. 15



Escala 2-Theta

FIG. 16

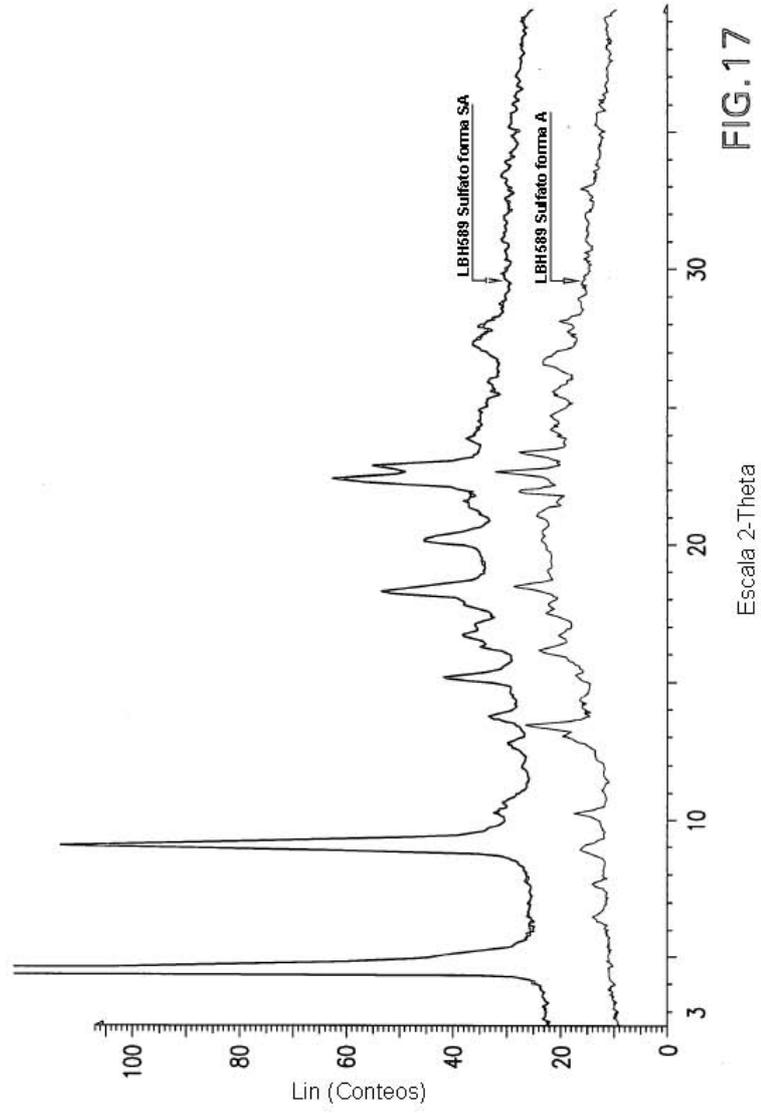


FIG.17

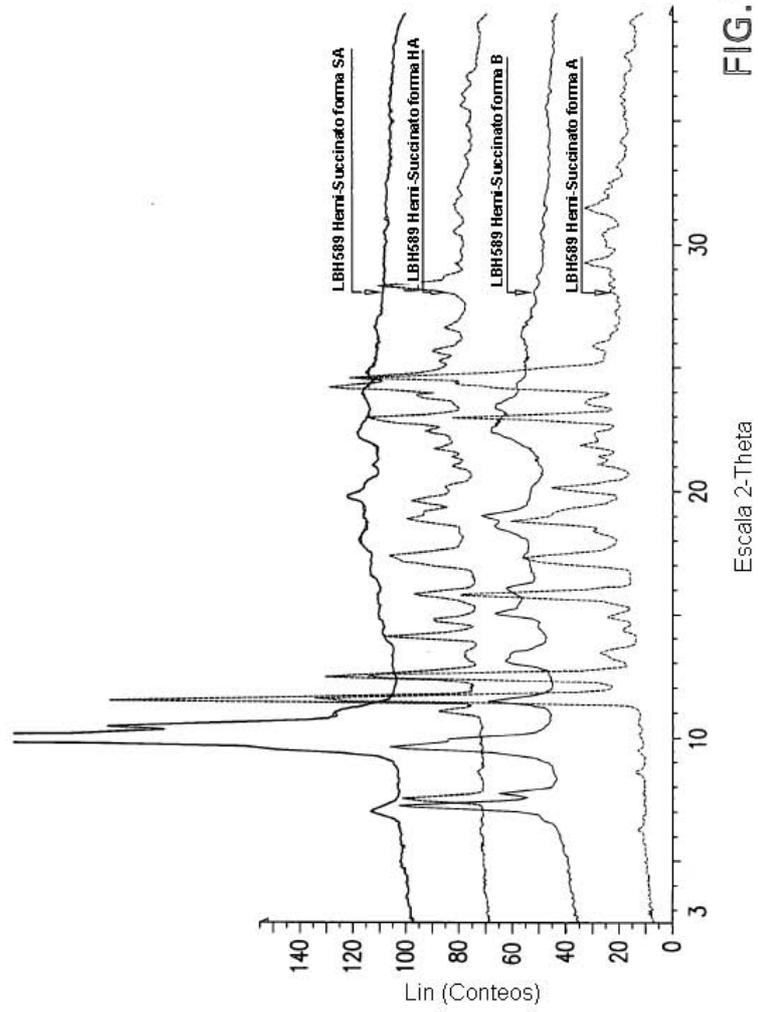


FIG.18