

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 705**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2013 PCT/GB2013/050624**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.09.2013 WO13136076**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2013 E 13711105 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.08.2016 EP 2834244**

54 Título: **Inhibidores de PI3 cinasa cristalinos**

30 Prioridad:

13.03.2012 US 201261610023 P
13.03.2012 US 201261610012 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.02.2017

73 Titular/es:

RESPIVERT LIMITED (100.0%)
50-100 Holmers Farm Way
High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG, GB

72 Inventor/es:

BROECKX, RUDY LAURENT MARIA;
FILLIERS, WALTER FERDINAND MARIA;
NIESTE, PATRICK HUBERT J;
COPMANS, ALEX HERMAN;
VANHOUTTE, FILIP MARCEL C y
LEYS, CARINA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 600 705 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

Inhibidores de PI3 cinasa cristalinos

Campo de la invención

5 La presente invención proporciona una forma cristalina novedosa de un compuesto que inhibe fosfoinositida 3 cinasas (PI3 cinasas), y su uso en terapia, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias como EPOC y asma. La forma cristalina novedosa es adecuada para usarse en formulaciones de polvo seco para inhalación.

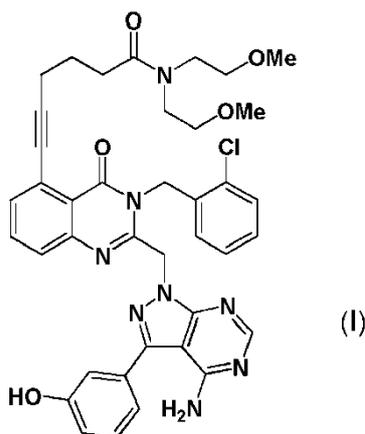
Antecedentes de la invención

10 Las cinasas lipídicas catalizan la fosforilación de lípidos para producir especies involucradas en la regulación de una amplia gama de procesos fisiológicos, incluyendo migración y adhesión celulares. Las PI3 cinasas son proteínas asociadas de membrana y pertenecen a la clase de enzimas que catalizan la fosforilación de lípidos, ellos mismos asociados con membranas celulares. La isoenzima delta de la PI3 cinasa (PI3 cinasa δ) es una de cuatro isoformas de PI3 cinasas de tipo I responsable de generar varias fosfoinositidas 3'-fosforiladas, que median la señalización celular y ha estado implicada en inflamación, señalización de factor de crecimiento, transformación maligna e inmunidad [véase la revisión por Rameh, L. E. and Cantley, L. C. J. Biol. Chem., 1999, 274:8347-8350].

15 La participación de las PI3 cinasas en el control de la inflamación se ha confirmado en varios modelos que usan inhibidores de pan-PI3 cinasas, como LY-294002 y wortmanina [Ito, K. et al., J Pharmacol. Exp. Ther., 2007, 321:1-8]. Se han realizado estudios recientes usando inhibidores selectivos de PI3 cinasa o en ratones genosuprimidos que carecen de una isoforma enzimática específica. Estos estudios han demostrado el papel de rutas controladas por enzimas PI3 cinasas en la inflamación. Se encontró que el inhibidor selectivo de PI3 cinasa δ IC-87114 inhibe la hipersensibilidad de las vías respiratorias, la liberación de IgE, la expresión de citocinas pro-inflamatorias, la acumulación de células inflamatorias en el pulmón y la permeabilidad vascular en ratones sensibilizados con ovoalbúmina, expuestos a ovoalbúmina [Lee, K. S. et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2006, 118:403-409 y Lee, K. S. et al., FASEB J., 2006, 20:455-65]. Además, IC-87114 disminuyó la acumulación de neutrófilos en los pulmones de ratones y la función de neutrófilos, estimuladas por TNF α [Sadhu, C. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 2003, 308:764-9]. La isoforma δ de PI3 cinasa es activada por insulina y otros factores de crecimiento, así como por medio de citocinas inflamatorias y de señalización de proteínas acopladas a proteína G. Recientemente, se dio a conocer que el inhibidor de PI3 cinasa dual δ/γ TG100-115 inhibe la eosinofilia pulmonar y la interleucina-13 así como la acumulación de mucina e hipersensibilidad de las vías respiratorias en un modelo murino, cuando se administra por aerosolización. Los mismos autores también dieron a conocer que el compuesto era capaz de inhibir la neutrofilia pulmonar provocada por LPS o humo de cigarro [Doukas, J. et al., J Pharmacol. Exp. Ther., 2009, 328:758-765].

20 Ya que también se activa por estrés oxidativo, es probable que la isoforma de PI3 cinasa δ sea relevante como una diana para la intervención terapéutica en aquellas enfermedades en las que está implicado un alto nivel de estrés oxidativo. Los mediadores aguas abajo de la ruta de transducción de la señal de PI3 cinasa incluyen Akt (una serina/treonina proteína cinasa) y la diana mamífera de rapamicina, la enzima mTOR. Un estudio reciente ha sugerido que la activación de la PI3 cinasa δ , que conduce a la fosforilación de Akt, es capaz de inducir un estado de resistencia a corticosteroides en células de otra forma sensibles a corticosteroides [To, Y. et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2010, 182:897-904]. Estas observaciones han conducido a la hipótesis de que esta cascada de señalización podría ser un mecanismo responsable de la insensibilidad a corticosteroides de la inflamación observada en los pulmones de pacientes que padecen EPOC, así como aquellos asmáticos que fuman, sometiendo así a sus pulmones a un mayor estrés oxidativo. De hecho, se ha sugerido que la teofilina, un compuesto usado en el tratamiento tanto de EPOC como de asma, invierte la insensibilidad a esteroides a través de mecanismos que involucran la interacción con rutas controladas por PI3 cinasa δ [To, Y. et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2010, 182:897-904].

45 La solicitud de patente internacional WO2011/048111 describe muchos compuestos que son inhibidores de PI3 cinasas, particularmente PI3 cinasa δ , incluyendo 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazololo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en la forma de base libre que se describe en la misma como el Ejemplo 83. Este compuesto también se describe en el documento WO2012/052753.



El compuesto antes mencionado se denomina en la presente como “compuesto de fórmula (I)” o “base libre del compuesto de fórmula (I)”.

5 Antes de la descripción más reciente del solicitante (documento WO2011/048111), los inhibidores de PI3 cinasa descritos a la fecha típicamente han estado pensados para administración oral. Sin embargo, una consecuencia no deseada de este enfoque es que los tejidos corporales no-objetivos, especialmente el hígado y el intestino, tienen probabilidades de estar expuestos a concentraciones farmacológicamente activas del fármaco. Una estrategia alternativa es diseñar regímenes de tratamiento en los que el fármaco se dosifique directamente en el órgano inflamado por medio de terapia tópica. En el caso de controlar la inflamación (o proporcionar otro efecto terapéutico) en los pulmones, esto se puede lograr por medio de inhalación del fármaco, lo cual tiene el beneficio de retener el fármaco predominantemente en los pulmones, minimizando así los riesgos de toxicidad sistémica. Para lograr una duración sostenida de acción, se puede usar una formulación apropiada que genere un “depósito” del fármaco activo.

15 En consecuencia, el compuesto de fórmula (I), ha sido descrito como útil para la administración tópica al pulmón (véase el documento WO2011/048111).

20 Un fármaco para administración tópica al pulmón por medio de inhalación también se debe formular para proporcionar una dosis predecible del fármaco así como para proporcionar afinidad para el órgano diana y eficacia sostenida, el cual a su vez debe tener propiedades predecibles y reproducibles. El lograr estabilidad química y física aceptable y reproducible del fármaco en la formulación es una meta clave en el desarrollo de productos farmacéuticos para todos los tipos de formas de dosificación farmacéuticas. Se prefieren las formas cristalinas, ya que son formas sensibles a la micronización.

25 Para uso por inhalación, hay 3 formas de dosificación principales - un inhalador de polvo seco (DPI), un inhalador de dosis medida (MDI) y un nebulizador de base acuosa (portátil o de sobremesa). Sin embargo, la mayoría de las ventas globales de productos para inhalación son DPIs y así proporcionan una forma bien aceptada de suministrar fármacos por inhalación. Hay numerosos productos comercializados de DPI, como Flixotide (propionato de fluticasona), Advair (propionato de fluticasona/salmeterol), Symbicort (budesonida/formoterol), Pulmicort (budesonida), Serevent (salmeterol), Foradil (formoterol).

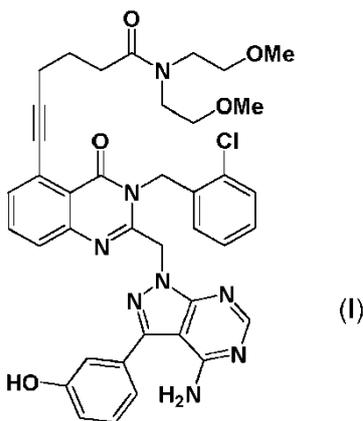
30 Las formulaciones para inhalación de polvo seco típicamente consisten en una mezcla de partículas de fármaco (de tamaño inferior a 10 micrómetros y normalmente por debajo de 5 micrómetros) con un diluyente, típicamente lactosa. Debido a que las dosis usuales requeridas para terapias inhaladas están en el intervalo de los microgramos, el diluyente facilita el procesamiento farmacéutico y la dispensación de dosis individuales, por ejemplo en cápsulas o blísteres, o la medición de dosis a partir de un depósito a granel, para la administración subsecuente al paciente. Por lo tanto, típicamente, la masa del diluyente (siendo el más común la lactosa) puede ser mayor que la de la sustancia del fármaco. En este ambiente, las formulaciones aceptables de algunos productos se pueden lograr simplemente mezclando el producto de fármaco con lactosa. Otros productos pueden requerir otros excipientes adicionales u otras etapas de procesamiento para que el producto cumpla con los requisitos de las autoridades reguladoras. Por ejemplo, el documento US7186401 B2 (Jagotec AG et al.) describe que la adición de estearato de magnesio a formulaciones de polvo seco para la inhalación mejora la resistencia a la humedad de las formulaciones y permite que una dosis de partículas muy finas o una fracción de partículas finas se mantenga en condiciones húmedas. El documento WO00/53157 (Chiesi) describe estearato de magnesio como lubricante a emplear en formulaciones de polvo seco para inhalación que es capaz de incrementar la dosis de partículas finas de ciertos fármacos. El Documento US2006/0239932 (Monteith) describe una formulación farmacéutica sólida inhalable que comprende ciertas sustancias de ingrediente activo susceptibles a interacción química con lactosa, lactosa y estearato de magnesio. Se describe que el estearato de magnesio inhibe la degradación inducida por la lactosa del ingrediente activo, presumiblemente por medio de la reacción de Maillard que involucra la reacción de un grupo amina en el ingrediente activo con lactosa. El documento US2012/0082727 (Chiesi) describe un método para inhibir o reducir la

degradación química de un ingrediente activo que posee un grupo susceptible a hidrólisis seleccionado del grupo que consiste en un grupo carbonato, un grupo carbamato y un grupo éster en una formulación en polvo para inhalación que comprende partículas de portador (como partículas de lactosa), comprendiendo dicho método revestir al menos una porción de la superficie de dichas partículas de portador con estearato de magnesio.

5 Así, sigue existiendo la necesidad de proporcionar formas de inhibidores selectivos de PI3 cinasa para usarse en terapia de inhalación que tengan potencial para proporcionar eficacia terapéutica en asma, EPOC y otras enfermedades inflamatorias de los pulmones. En particular, sigue siendo un objetivo proporcionar un compuesto de fórmula (I) en una forma cristalina que tenga estabilidad física y química apropiada, preferiblemente sensible a micronización, y compatible con excipientes farmacéuticos para terapia de inhalación, especialmente lactosa.

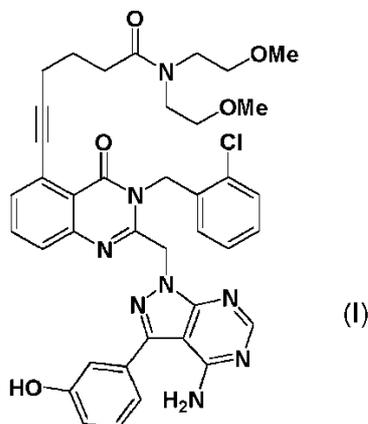
10 Sumario de la invención

Como referencia, la presente descripción proporciona un compuesto de fórmula (I)



que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en forma de un hidrato cristalino sólido.

15 La presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en forma anhidra cristalina sólida.

20 Esta sustancia se denomina en lo sucesivo en la presente como "forma cristalina sólida de la invención". Las formulaciones farmacéuticas que contienen la forma cristalina sólida de la invención (opcionalmente micronizada) se denominan en lo sucesivo en la presente como "formulaciones de la invención".

25 Como se explica en los Ejemplos, la forma de hidrato cristalino sólido y la forma cristalina sólida de la invención tienen punto de fusión alto (alrededor de 183°C o mayor), parecen tener buena estabilidad física (como se determinó por medio de análisis de XRPD, TGA, DSC, DVS e IR) y tienen buena estabilidad química (como se determinó por medio de análisis de HPLC). La forma de hidrato cristalino sólido y la forma cristalina sólida de la invención tienen buena estabilidad física cuando se combinan con lactosa. La forma de hidrato cristalino sólido tiene buena estabilidad química cuando se combina con lactosa. La forma anhidra cristalina sólida tiene buena estabilidad química cuando se combina con lactosa en presencia de una sal metálica de ácido esteárico como estearato de magnesio.

La forma de hidrato cristalino sólido y la forma anhidra cristalina sólida parecen tener estructuras de cristal relacionadas (pero distintas).

Breve descripción de las figuras

- 5 La Figura 1 muestra un patrón de XRPD adquirido en una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido.
- La Figura 2 muestra un patrón de XRPD adquirido en una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.
- La Figura 3 muestra una gráfica de isoterma de DVS de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido.
- 10 La Figura 4 muestra un cambio de DVS en la gráfica de masas de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido.
- La Figura 5 muestra una gráfica de isoterma de DVS de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.
- 15 La Figura 6 muestra un cambio de DVS en la gráfica de masas de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.
- La Figura 7 muestra un espectro de IR de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido.
- La Figura 8 muestra un espectro de IR de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.
- 20 La Figura 9 muestra el análisis térmico de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido por medio de DSC.
- La Figura 10 muestra el análisis térmico de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida por medio de DSC.
- 25 La Figura 11 muestra el análisis térmico de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido por medio de TGA.
- La Figura 12 muestra el análisis térmico de una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida por medio de TGA.
- La Figura 13 muestra una gráfica de isoterma de DVS de una muestra del compuesto micronizado de la fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.
- 30 La Figura 14 muestra un espectro de IR de una muestra de una mezcla del compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato cristalino sólido y Lactohale200®.
- La Figura 15 muestra un patrón de XRPD adquirido sobre una muestra de una mezcla del compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato cristalino sólido y Lactohale200®.
- 35 La Figura 16 muestra un espectro de IR de una muestra de una mezcla del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida (micronizada) y Lactohale200®.
- La Figura 17 muestra un patrón de XRPD adquirido sobre una muestra de una mezcla del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida (micronizada) y Lactohale200®.
- La Figura 18 muestra un espectro de IR de una muestra de una mezcla del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida (micronizada), Lactohale200® y estearato de magnesio.
- 40 La Figura 19 muestra un patrón de XRPD adquirido sobre una muestra de una mezcla del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida (micronizada), Lactohale200® y estearato de magnesio.

Descripción detallada de la invención

Compuesto de fórmula (I) como ingrediente activo

- 45 El compuesto de fórmula (I) es un inhibidor dual de PI3K delta y PI3K gamma, en el que el término inhibidor como se emplea en la presente está pensado para referirse a un compuesto que reduce (por ejemplo, por ejemplo en al menos 50%) o elimina la actividad biológica de la proteína diana, por ejemplo, la isoenzima de PI3K delta, en un ensayo enzimático *in vitro*. La expresión inhibidor delta/gamma como se emplea en la presente se refiere al hecho

de que el compuesto inhibe, hasta cierto punto, ambas isoformas enzimáticas, aunque no necesariamente en el mismo grado. El compuesto de fórmula (I) está activo en sistemas de cribado basados en células y por tanto demuestra que posee propiedades adecuadas para penetrar las células y por tanto ejercer efectos farmacológicos intracelulares.

- 5 Los procedimientos genéricos para sintetizar el compuesto de fórmula (I) se describen en el documento WO2011/048111, y se puede emplear un método similar al del Ejemplo 1. Véase también el documento WO2012/052753, en el que se proporciona un método específico para sintetizar el compuesto de fórmula (I) en el Ejemplo. El compuesto adecuado de fórmula (I) está protegido de la luz durante y después de la síntesis, por ejemplo por medio del uso de material de vidrio ámbar o envoltura impermeable a la luz (por ejemplo, envoltura de papel de aluminio).

La formulación farmacéutica de la invención comprende un compuesto de fórmula (I) como ingrediente activo en una cantidad terapéuticamente eficaz. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) se define como una cantidad suficiente, para una dosis dada o una pluralidad de dosis divididas, para lograr un efecto terapéuticamente significativo en un sujeto cuando se administra a dicho sujeto en un protocolo de tratamiento.

- 15 Las formulaciones farmacéuticas de la invención son formulaciones farmacéuticas de polvo seco adecuadas para inhalación.

En una realización, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 0,004% en peso a alrededor de 50% en peso del compuesto de fórmula (I) basándose en el peso de la formulación farmacéutica de polvo seco y basándose en el peso del compuesto de la fórmula (I) como base libre; por ejemplo, de alrededor de 0,02% en peso a alrededor de 50% en peso, de alrededor de 0,02% en peso a alrededor de 25% en peso, o de alrededor de 0,02% en peso a alrededor de 15% en peso o de alrededor de 0,02% en peso a alrededor de 20% en peso. Preferiblemente, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 0,1% en peso a alrededor de 20% en peso, por ejemplo de alrededor de 0,1% en peso a alrededor de 5% en peso del compuesto de fórmula (I) basándose en el peso de la formulación farmacéutica de polvo seco.

- 20 Una formulación farmacéutica de la invención puede contener el compuesto de fórmula (I) como único ingrediente activo. Sin embargo, la formulación farmacéutica puede contener ingredientes activos adicionales. La formulación farmacéutica también se puede co-administrar junto con uno o más ingredientes activos distintos (o una o más formulaciones farmacéuticas que contienen uno o más ingredientes activos).

Los ingredientes activos adicionales ejemplares se mencionan más adelante. El compuesto de fórmula (I) se prepara adecuadamente en forma de partículas de modo que sea adecuado para inhalación de polvo seco.

Una formulación farmacéutica de la invención típicamente puede contener partículas de fármaco que tienen un diámetro mediano de volumen (D50) de alrededor de 0,5 μm a alrededor de 10 μm , particularmente de alrededor de 1 μm a alrededor de 5 μm .

Un método adecuado para determinar el tamaño de partículas es la difracción por láser, por ejemplo usando un instrumento Mastersizer 2000S de Malvern Instruments. Los instrumentos también están disponibles en Sympatec. Para las distribuciones de tamaño de partículas, el valor mediano D50 es el tamaño en micrómetros que divide la distribución de tamaño de partículas con la mitad arriba y la mitad abajo. El resultado primario obtenido de la difracción por láser es una distribución de volúmenes, por lo tanto D50 de hecho es Dv50 (mediana para una distribución de volúmenes), y como se usa en la presente se refiere a distribuciones de tamaño de partículas obtenidas usando difracción por láser. Los valores D10 y D90 (cuando se usan en el contexto de difracción por láser, tomados para representar los valores Dv10 y Dv90) se refieren al tamaño de partículas en el que el 10% de la distribución se encuentra por debajo del valor D10, y el 90% de la distribución se encuentra por debajo del valor D90, respectivamente.

Las partículas de tamaño adecuado para usarse en una formulación para inhalación de polvo seco se pueden preparar por medio de cualquier método adecuado conocido para el experto en la técnica. Las partículas de fármaco de tamaño adecuado para inhalación se pueden preparar por medio de métodos de reducción de tamaño de partículas, que incluyen molienda o más preferiblemente micronización, por ejemplo usando un dispositivo de micronización de molino de chorro (por ejemplo, fabricado por Hosokawa Alpine). Alternativamente, los particulados de tamaño adecuado se pueden producir en primera instancia por medio de secado por pulverización, congelamiento por pulverización, enfoques de cristalización controlada, por ejemplo precipitación controlada, cristalización de fluido supercrítico, sonocristalización u otro procedimiento de cristalización adecuado, por ejemplo en un aparato de cristalización continua. Así, un aspecto de la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) en forma micronizada.

Solvatos - forma de hidrato del compuesto de fórmula (I)

- 55 Como referencia, se proporciona un compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato. En particular, se proporciona un compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato cristalino sólido obtenido por cristalización del compuesto de fórmula (I) a partir de diclorometano, opcionalmente mezclado con metanol (por ejemplo, que contiene hasta 20%,

por ejemplo hasta 10%, por ejemplo 4,8% v/v de metanol) a temperatura ambiente, por ejemplo alrededor de 22°C. Se encontró que la formación del hidrato no requiere la adición de agua a la mezcla de reacción (es decir, cualquier agua residual en el disolvente, o portado en el producto de una etapa de reacción previa y/o la humedad en la atmósfera es suficiente). Sin embargo, se puede añadir agua al disolvente, por ejemplo se puede añadir 0,1 a 5% de agua. La preparación detallada de tal hidrato cristalino sólido del compuesto de fórmula (I) se proporciona en el Ejemplo 1.

También se proporciona una forma de hidrato cristalino sólido del compuesto de fórmula (I) que tiene un patrón de XRPD sustancialmente como se muestra en la Figura 1. El método para obtener los datos de XRPD se describe en los Procedimientos Generales y los datos se discuten en el Ejemplo 3.

Así, se proporciona una forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) en una forma cristalina que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con al menos un (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece o todos los catorce) picos en 5,6, 7,6, 9,6, 11,1, 12,2, 12,6, 13,3, 13,9, 15,9, 17,0, 18,9, 20,3, 21,8, 23,1 ($\pm 0,2$ grados, valores 2-theta), siendo estos picos característicos de la forma de hidrato cristalino. Los picos en 9,6, 13,3, 13,9, 17,0, 18,9, 20,3 y 23,1 son particularmente característicos de la forma de hidrato, y por lo tanto se prefiere ver al menos uno (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o todos los siete) de estos picos.

Sin estar limitados por la teoría, la forma de hidrato cristalino sólido del compuesto de fórmula (I) puede ser una forma de hidrato de canal. Alternativamente, puede residir agua en poros en el cristal o en la superficie del cristal. En cualquier caso, como se muestra en los Ejemplos, el agua no forma una parte esencial de la red cristalina, y la forma de cristal es estable para eliminación o adición de agua.

Se investigaron las estabildades físicas y químicas de la forma de hidrato cristalino sólido del compuesto de fórmula (I) descrito en la presente.

Para evaluar la estabilidad física, se almacenaron muestras de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) en contenedores abiertos a la atmósfera ambiental a diferentes temperaturas y humedades relativas. La estabilidad física de las muestras se investigó usando análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría de barrido diferencial (DSC), sorción de vapor dinámica (DVS), espectroscopía infrarroja (IR) y difracción de polvo de rayos X (XRPD). Los procedimientos experimentales completos se proporcionan en la sección de Procedimientos Generales, y los resultados se resumen en el Ejemplo 4 (Tabla 3). Como se discute en el Ejemplo 4, se encontró que la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) tiene buena estabilidad física en general. Sin embargo, bajo análisis de DVS, se registró una pérdida de peso del 2,2% y se encontró que el producto seco obtenido es higroscópico. Se observaron pequeñas diferencias en los datos de IR y XRPD para las muestras en condiciones más secas; sin embargo, estas diferencias se atribuyeron a la pérdida de agua observada en los estudios de DVS, y la integridad de la estructura cristalina se retuvo después de la pérdida de agua y la subsecuente rehidratación.

Para evaluar la estabilidad química, se prepararon muestras de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) en metanol y se analizaron por medio de HPLC. Los resultados se resumen en el Ejemplo 5 (Tabla 6), en el que se indica que se encontró que la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) es químicamente estable, aunque se detectó algo de sensibilidad a la luz.

Las formulaciones farmacéuticas de polvo seco típicamente comprenden lactosa como portador adecuado para el ingrediente activo. Por lo tanto, se investigó la compatibilidad de la lactosa de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I).

Se investigaron las compatibilidades tanto físicas como químicas de la forma de hidrato cristalino sólido de la fórmula (I) con lactosa.

Para evaluar la compatibilidad física, se prepararon composiciones de alta concentración de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) y lactosa, y después se analizaron a varias temperaturas y humedades, como se resume en el Ejemplo 6. Es evidente que las mezclas ensayadas fueron físicamente compatibles en todas las condiciones investigadas.

Para evaluar la compatibilidad química, se prepararon composiciones de concentración inferior (en relación con aquellas usadas en los estudios de compatibilidad física) de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) con lactosa en metanol, y se analizaron por medio de HPLC. Los resultados se resumen en el Ejemplo 7 (Tabla 9), en el que se indica que la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) y la lactosa son químicamente compatibles.

Como resultado de los estudios de los inventores, se puede concluir que la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) tiene buena estabilidad física y química. La combinación de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) con lactosa tiene estabilidad tanto química como física, indicando idoneidad para usarse en una formulación farmacéutica.

Forma anhidra del compuesto de fórmula (I)

En una realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) en forma anhidra. En particular, se proporciona un compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida, obtenido por cristalización de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) en 1-propanol. Adecuadamente, el 1-propanol es seco, por ejemplo que contiene un máximo de alrededor de 0,9% p/p de agua. En una realización, el 1-propanol tiene un máximo de 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2% o 0,05% p/p de agua. Adecuadamente, el 1-propanol tiene un máximo de 0,2% p/p de agua. Adecuadamente, la cristalización se realiza en presencia de un depurador de metales. Los depuradores de metales adecuados son materiales que adsorben el metal a la vez que son fácilmente separables del compuesto de interés (es decir, el compuesto de fórmula (I)). Por ejemplo, las sílices funcionalizadas son particularmente útiles como depuradores de metales, ya que una vez que el metal se ha adsorbido, el complejo de metal-sílice entonces se puede separar fácilmente del compuesto de interés por medio de filtración. Los grupos funcionales que forman complejos estables con iones metálicos incluyen grupos que contienen uno o más centros de nitrógeno y/o azufre, y los expertos en la técnica los conocen bien.

Un ejemplo de un depurador de metal adecuado y comercialmente disponible es SiliaMetS® Thiol (un gel de sílice derivado de tiol adecuado para depurar una variedad de metales, incluyendo Pd, Pt, Cu, Ag y Pb). Adecuadamente, el depurador de metal está presente en una cantidad suficiente para asegurar que la concentración resultante del ion metálico esté por debajo de 20 ppm, preferiblemente por debajo de 10 ppm. En una realización, el depurador de metal está presente en 1 a 10% p/p, por ejemplo 2 a 8% p/p o 5% p/p basándose en el peso del compuesto de fórmula (I). Adecuadamente, la cristalización se realiza enfriando la disolución del compuesto de fórmula (I) y el disolvente desde temperatura elevada, continuamente (es decir, enfriamiento continuo) o por etapas (es decir, alternando entre enfriamiento y manteniendo la disolución a una temperatura particular). Los gradientes adecuados de temperatura (continuos o separados) para enfriamiento incluyen 95-15°C, 95-20°C, 90-20°C, 80-20°C 95-90°C, 95-85°C, 95-80°C 90-85°C, 80-20°C. En una realización, la disolución se enfría desde 80-95°C hasta temperatura ambiente (por ejemplo, alrededor de 20-22°C). La preparación detallada de tal forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) se proporciona en el Ejemplo 2.

En una realización, se proporciona una forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como se muestra en la Figura 2. El método para obtener los datos de XRPD se describe en los Procedimientos Generales, y los datos se discuten en el Ejemplo 3.

Así, se proporciona un compuesto de fórmula (I) en una forma anhidra cristalina que tiene un patrón de XRPD con al menos un (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o los diez) picos en 5,6, 7,9, 11,2, 12,3, 15,6, 17,6, 18,4, 21,4, 22,5, 24,2 (\pm 0,2 grados, valores 2-theta), siendo estos picos característicos de la forma anhidra cristalina. Los picos en 17,6, 18,4, 22,5 y 24,2 son particularmente característicos de la forma anhidra, y por lo tanto se prefiere ver al menos uno (por ejemplo, uno, dos, tres o los cuatro) de estos picos.

Se investigaron las estabilidades física y química del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.

Para evaluar la estabilidad física, se almacenaron muestras de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) en forma no micronizada y micronizada en contenedores abiertos a la atmósfera ambiental a diferentes temperaturas y humedades relativas. La estabilidad física se investigó usando TGA, DSC, DVS, IR y XRPD como se describió anteriormente para la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I). Los resultados se resumen en el Ejemplo 4.

Como se discute en el Ejemplo 4, se encontró que la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (tanto no micronizada como micronizada) es físicamente estable en todas las condiciones investigadas.

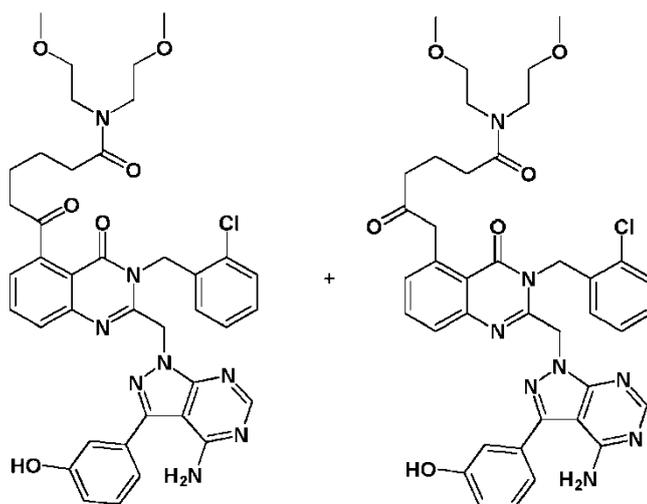
Para evaluar la estabilidad química, se prepararon muestras de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (no micronizada y micronizada) en metanol, y se analizaron por medio de HPLC. Los resultados se resumen en el Ejemplo 5 (Tablas 7 y 8), en el que se indica que se encontró que la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (tanto no micronizada como micronizada) es químicamente estable, aunque se detectó algo de sensibilidad a la luz. Es evidente que la estabilidad química de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) es comparable con la estabilidad química de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I).

Se investigó la compatibilidad de la lactosa de la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I).

Se investigó la compatibilidad tanto física como química de la forma anhidra del compuesto (I) con lactosa.

Para evaluar la compatibilidad física, se prepararon composiciones de alta concentración de la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) y lactosa, y después se analizaron a varias temperaturas y humedades, como se resume en el Ejemplo 6. Es evidente que las mezclas ensayadas fueron físicamente compatibles en todas las condiciones investigadas.

Para evaluar la compatibilidad química, se analizaron, por medio de HPLC, composiciones de menor concentración (con respecto a aquellas usadas en los estudios de compatibilidad física) de la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) con lactosa. Los resultados se resumen en el Ejemplo 7 (Tabla 10), en el que se indica que bajo ciertas condiciones la composición de la forma anhidra y lactosa sufrió degradación. Los productos de degradación se investigaron, y el degradante principal se identificó por medio de espectrometría de masas como una o ambas de las dos sustancias mostradas como D019328:



D019328

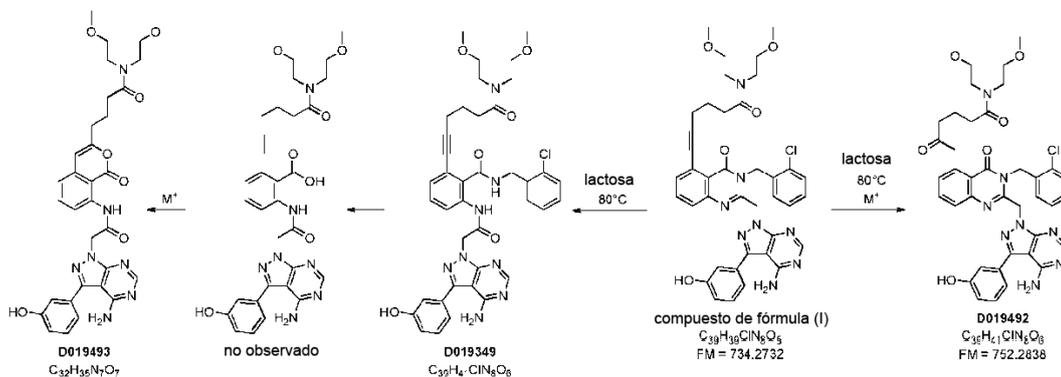
$C_{39}H_{41}ClN_8O_5$

FM = 752,2838

- 5 Es probable que este producto de degradación sea el resultado de la adición de agua a través del enlace triple alquínico y puede existir como una de dos formas (o puede existir en ambas formas) dependiendo de la orientación de la adición de agua a través del enlace triple. Se ha observado el mismo degradante durante la degradación forzada de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con iones metálicos. Como resultado de estudios adicionales, parece ser que la degradación de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) requiere iones metálicos y agua y se acelera mediante temperatura elevada.

La investigación adicional que implica el ensayo de estabilidad acelerada (es decir, exposición de la sustancia del fármaco a 80°C en un frasco cerrado, véase el Ejemplo 10) ha conducido a los inventores a confirmar que al menos se genera el producto de degradación mostrado como D019492 en el Esquema 1 (más adelante). Además, los inventores también concluyeron que un producto de degradación adicional (D019493) puede resultar de la escisión hidrolítica del anillo de pirimidinona y la subsecuente reacción intramolecular con el grupo alquínico. Se supone que D019349 es un producto de degradación intermedio que se observó en ciertas circunstancias de temperatura y HR en ensayos de estabilidad (datos no mostrados).

Esquema 1



- 20 Se investigó la adición de estearato de magnesio a la combinación de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) y lactosa. Se encontró que la combinación de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con lactosa y estearato de magnesio es físicamente estable (Ejemplo 8). Sin embargo, sorprendentemente, se encontró que la adición de estearato de magnesio causó un incremento en la estabilidad química de la combinación de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) y lactosa (Ejemplo 9). Se encontró un efecto estabilizador similar usando otras sales metálicas de ácido esteárico, específicamente estearato de sodio y estearato de calcio (Ejemplo 10).

Sin desear estar limitados por la teoría, parece ser que la sal metálica de ácido esteárico, como estearato de magnesio, puede actuar como un agente protector contra la degradación química del grupo alquínico en el

compuesto de fórmula (I) y contra la degradación química del anillo de pirimidinona en el compuesto de fórmula (I) que se observa cuando la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) está en una mezcla con lactosa.

5 En resumen, los inventores han descubierto que la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) tiene estabilidad física mayor que la forma de hidrato cristalino sólido del compuesto de fórmula (I) en estado aislado, pero encontraron que la forma anhidra era menos estable con lactosa. Sin embargo, los inventores han descubierto que este problema se puede superar mediante la adición de una sal metálica de estearato, como estearato de magnesio. Los inventores extrapolan estos descubrimientos con sales metálicas de ácido esteárico a sales metálicas de estearil fumarato.

Formulaciones farmacéuticas para inhalación

10 La invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden la forma cristalina sólida de la invención mezclada con uno o más diluyentes o portadores. Adecuadamente, la composición contiene lactosa como diluyente o portador.

15 Como se usa en la presente, el término "lactosa" se refiere a un componente que contiene lactosa, incluyendo monohidrato de α -lactosa, monohidrato de β -lactosa, α -lactosa anhidra, β -lactosa anhidra y lactosa amorfa. Los componentes de lactosa se pueden procesar por micronización, tamizado, molienda, compresión, aglomeración o secado por pulverización. Las formas de lactosa comercialmente disponibles en varias formas también están abarcadas, por ejemplo, productos de Lactohale® (lactosa de grado de inhalación; Frieslandfoods), InhaLac®70 (lactosa tamizada para inhalador de polvo seco; Meggle) y Respitose®. En una realización, el componente de lactosa se selecciona del grupo que consiste en monohidrato de α -lactosa, α -lactosa anhidra y lactosa amorfa.

20 Preferiblemente, la lactosa es un monohidrato de α -lactosa.

25 Para penetrar lo suficientemente lejos en los pulmones, el ingrediente activo en partículas (en este caso el compuesto de fórmula (I)) debe ser de un tamaño adecuado como se describió anteriormente. Estas partículas pequeñas tendrán una tendencia a aglomerarse. El uso de un portador como la lactosa previene esta aglomeración y puede mejorar la fluidez. Adicionalmente, el uso de un portador asegura que una dosificación correcta y consistente alcance los pulmones. El ingrediente activo usualmente formará una monocapa sobre la partícula más grande de lactosa, entonces durante la inhalación el ingrediente activo y el portador se separan y el ingrediente activo se inhala, mientras que la mayoría del portador no. Como tal, el uso de lactosa en partículas como portador para el ingrediente activo asegura que cada dosis de la formulación farmacéutica de polvo seco libera la misma cantidad del ingrediente activo.

30 Generalmente, para prevenir aglomeración de las partículas pequeñas activas, se usa un portador como lactosa con un tamaño de partículas de aproximadamente o al menos diez veces el del ingrediente activo (por ejemplo, se usa lactosa que tiene un D50 aproximadamente o al menos diez veces el del ingrediente activo).

En una realización, la formulación de polvo seco de la presente invención comprende lactosa en partículas que tiene D50 en el intervalo de 40 a 150 μm .

35 La formulación farmacéutica de polvo seco de la presente invención comprende lactosa en partículas como portador en una cantidad suficiente para asegurar que la dosificación correcta y consistente del ingrediente activo alcance los pulmones. En una realización, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 40% en peso a alrededor de 99,88 o 99,98% en peso, por ejemplo de alrededor de 50% en peso a alrededor de 99,88 o 99,98% en peso, de alrededor de 65% en peso a alrededor de 99,88 o 99,98% en peso, o de alrededor de 75% en peso a alrededor de 99,88 o 99,98% en peso de lactosa en partículas basándose en el peso de la formulación farmacéutica de polvo seco. Preferiblemente, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 80% en peso a alrededor de 99,98% en peso o por ejemplo de alrededor de 80% en peso a alrededor de 99,9% en peso, por ejemplo de alrededor de 85% en peso a alrededor de 99,88 o 99,98% en peso, por ejemplo de alrededor de 95% en peso a alrededor de 99% en peso de lactosa en partículas basándose en el peso de la formulación farmacéutica de polvo seco.

45

Opcionalmente (y especialmente cuando se usa la forma anhidra cristalina sólida), la composición contiene un agente estabilizador seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico como estearato de magnesio y sales metálicas de estearil fumarato.

50 Una sal metálica ejemplar de ácido esteárico es estearato de magnesio. Las sales metálicas alternativas de ácido esteárico que se pueden emplear incluyen sales de ácido esteárico formadas con metales del Grupo I y otros del Grupo II, como estearato de sodio, estearato de calcio y estearato de litio. Otras sales metálicas de ácido esteárico que se pueden mencionar incluyen estearato de cinc y estearato de aluminio.

55 Las sales metálicas de estearil fumarato (por ejemplo, estearil fumarato de sodio) parecen tener propiedades similares a las de aquellas sales metálicas de ácido esteárico (véase Shah et al, Drug development and Industrial pharmacy 1986, Vol. 12 No. 8-9, 1329-1346). En la opinión de los inventores, se pueden emplear como una alternativa a las sales metálicas de ácido esteárico en la presente invención.

Como se usa en la presente, la expresión “estearato de magnesio” incluye trihidrato de estearato de magnesio, dihidrato de estearato de magnesio, monohidrato de estearato de magnesio y estearato de magnesio amorfo. El estearato de magnesio como se define en la presente incluye una tolerancia en el que cualquier material definido como “estearato de magnesio” puede contener hasta 25% (por ejemplo hasta 10%, por ejemplo hasta 5%, por ejemplo hasta 1%) de sal de palmitato.

Más generalmente, las sales metálicas de ácido esteárico o sales metálicas de estearil fumarato se pueden emplear en forma anhidra o como un hidrato, y pueden contener hasta 25% (por ejemplo hasta 10%, por ejemplo hasta 5%, por ejemplo hasta 1%) de sal de palmitato.

Como se usa en la presente, la expresión “agente estabilizador seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico como estearato de magnesio y sales metálicas de estearil fumarato” puede incluir una mezcla de sales metálicas de ácido esteárico y/o estearil fumarato, aunque se preferiría el uso de una sola sal.

La sal metálica de ácido esteárico como estearato de magnesio o sal metálica de estearil fumarato típicamente se obtiene como un polvo fino que no necesita micronizarse. Adecuadamente, el D50 de la sal metálica de ácido esteárico como estearato de magnesio o sal metálica de estearil fumarato es mayor que 5 µm, por ejemplo alrededor de 10 µm o mayor que 10 µm, por ejemplo en el intervalo de 5 a 100 µm, por ejemplo 5 a 50, por ejemplo 5 a 20 µm, por ejemplo 10 a 20 µm. El estearato de magnesio puede, por ejemplo, obtenerse de Avantor (marca Hyqual 2257) o Peter Greven. El estearato de sodio y el estearato de calcio pueden, por ejemplo, obtenerse de Sigma-Aldrich. El estearil fumarato de sodio puede, por ejemplo, obtenerse de ScienceLab.

La formulación farmacéutica de polvo seco de la presente invención opcionalmente comprende un agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico como estearato de magnesio y sales metálicas de estearil fumarato en una cantidad suficiente para asegurar la estabilidad química de la formulación (“una cantidad estabilizadora”). La estabilidad química se demuestra, por ejemplo, cuando la producción de degradante D019328 (una o ambas sustancias) está al nivel de menos de 0,2% en peso después del almacenamiento de la composición que contiene el Compuesto de fórmula (I) durante 4 semanas a 50°C. Alternativamente o de forma adicional, la estabilidad química se demuestra, por ejemplo, cuando la producción de degradante D019493 está al nivel de menos de 0,5% en peso después del almacenamiento de la composición que contiene el Compuesto de fórmula (I) durante 2 semanas a 80°C. Alternativamente, o de forma adicional, la estabilidad química se demuestra, por ejemplo, cuando la producción de degradante D019492 está al nivel de menos de 0,4% en peso después del almacenamiento de la composición que contiene el Compuesto de fórmula (I) durante 2 semanas a 80°C. En una realización, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 0,01% en peso a alrededor de 15% en peso, por ejemplo 0,1% en peso a alrededor de 10% en peso, 10% en peso, 5% en peso, 2% en peso o 1% en peso de sal metálica en partículas de ácido esteárico como estearato de magnesio o sal metálica de estearil fumarato basándose en el peso de la formulación farmacéutica de polvo seco. Preferiblemente, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 0,5% en peso a alrededor de 5% en peso, por ejemplo 1 a 2% p/p de sal metálica en partículas de ácido esteárico como estearato de magnesio o sal metálica de estearil fumarato basándose en el peso de la formulación farmacéutica de polvo seco. Adecuadamente, la sal metálica de ácido esteárico como estearato de magnesio o sal metálica de estearil fumarato está presente en una cantidad suficiente para asegurar la estabilidad física de la formulación. La estabilidad física se demuestra, por ejemplo, cuando el espectro de IR y el patrón de XRPD de la composición (especialmente en relación con picos característicos del Compuesto de fórmula (I)) están sustancialmente inalterados después del almacenamiento de la composición que contiene el Compuesto de fórmula (I) durante 4 semanas a 50°C.

En una realización, la formulación farmacéutica de polvo seco para inhalación de la presente invención comprende:

(i) De alrededor de 0,02 a 50% en peso de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en forma anhidra cristalina sólida en forma en partículas como ingrediente activo;

(ii) de alrededor de 40 a alrededor de 99,88% en peso de lactosa en partículas; y

(iii) de alrededor de 0,1 a alrededor de 10% en peso de agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico (como estearato de magnesio) y sales metálicas de estearil fumarato.

Como referencia, la formulación farmacéutica de polvo seco para inhalación comprende:

(i) De alrededor de 0,02 a 50% en peso de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en forma de un hidrato cristalino sólido en forma en partículas como ingrediente activo

(ii) de alrededor de 40% en peso a alrededor de 99,98% en peso de lactosa en partículas; y

(iii) opcionalmente de alrededor de 0,1% en peso a alrededor de 10% en peso de agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico (como estearato de magnesio) y sales metálicas de estearil fumarato.

Usos farmacéuticos y métodos de administración

Se proporciona según un aspecto de la presente invención, la forma cristalina sólida de la invención para uso como un medicamento.

5 En una realización, se proporciona el uso de una formulación farmacéutica de la invención para el tratamiento de EPOC y/o asma, en particular EPOC o asma severa, mediante inhalación, es decir, mediante administración tópica al pulmón. Ventajosamente, la administración al pulmón permite que se realicen los efectos benéficos de los compuestos mientras se minimizan los efectos secundarios para los pacientes.

En una realización, la formulación farmacéutica de la invención es adecuada para sensibilizar los pacientes al tratamiento con un corticosteroide.

10 Las formulaciones farmacéuticas se pueden administrar convenientemente en forma de unidad de dosificación, y se pueden preparar por medio de cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985).

La administración tópica al pulmón se logra mediante el uso de un dispositivo de inhalación.

15 Así, un aspecto de la invención incluye un dispositivo de inhalación que comprende una o más dosis de una formulación farmacéutica según la invención. Los dispositivos de inhalación para formulaciones de polvo seco típicamente se operan con la respiración, de modo que la dosis se retira del dispositivo y se administra al sujeto usando la energía de los pulmones del sujeto inhalando desde una boquilla. Sin embargo, opcionalmente, se puede proporcionar energía externa para ayudar a la administración de la dosis. Típicamente, el dispositivo de inhalación
20 comprenderá una pluralidad de dosis de una formulación farmacéutica según la invención, por ejemplo 2 o 4 u 8 o 28 o 30 o 60 o más dosis. Así, el dispositivo de inhalación puede comprender el abastecimiento de dosis de un mes. En una realización, una dosis se mide en una cápsula para uso una por una en un dispositivo de inhalación adaptado para suministrar los contenidos de una cápsula a un sujeto tras la inhalación. Opcionalmente, las dosis están divididas, por ejemplo, de modo que una dosis se administre usando dos (o más) inhalaciones del dispositivo
25 de inhalación. Según una realización de la invención, las dosis de la formulación se pre-miden en el dispositivo de inhalación. Por ejemplo, las dosis pre-medidas pueden estar contenidas en las bolsas de una tira o disco de blísteres o dentro de cápsulas. Según otra realización de la invención, las dosis se miden al usarse. Así, el dispositivo de inhalación contiene un depósito de polvo seco, y el dispositivo mide una dosis de polvo (típicamente sobre una base de volumen fijo) antes o en el momento de la administración.

30 Los dispositivos de inhalación de polvo seco ejemplares incluyen SPINHALER, ECLIPSE, ROTAHALER, HANDIHALER, AEROLISER, CYCLOHALER, BREEZHALER/NEOHALER, FLOWCAPS, TWINCAPS, X-CAPS, TURBOSPIN, ELPENHALER, DISKHALER, TURBUHALER, MIATHALER, TWISTHALER, NOVOLIZER, DISKUS, SKYEHALER, inhalador de polvo seco ORIEL, MICRODOSE, ACCUHALER, PULVINAL, EASYHALER, ULTRAHALER, TAIFUN, PULMOJET, OMNIHALER, GYROHALER, TAPER, CONIX, XCELOVAIR, PROHALER y
35 CLICKHALER. Otro ejemplo es el inhalador MONODOSE.

Opcionalmente, el dispositivo de inhalación se puede envolver para almacenamiento para protegerlo frente a la entrada de humedad.

Opcionalmente se puede emplear un desecante dentro de una envoltura o dentro del dispositivo. Adecuadamente, la formulación farmacéutica según la invención en el dispositivo de inhalación está protegida de la luz.

40 Las formulaciones farmacéuticas según la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos respiratorios que incluyen EPOC, bronquitis crónica, enfisema, asma, asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis y fibrosis pulmonar idiopática, y especialmente asma, bronquitis crónica y EPOC.

Las formulaciones farmacéuticas según la invención pueden comprender el compuesto de fórmula (I) como el único ingrediente activo, o pueden comprender ingredientes activos adicionales, por ejemplo ingredientes activos
45 adecuados para tratar las afecciones anteriormente mencionadas. Por ejemplo, las combinaciones posibles para el tratamiento de trastornos respiratorios incluyen combinaciones con esteroides (por ejemplo, budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, furoato de mometasona, furoato de fluticasona, flunisolida, ciclesonida, triamcinolona), agonistas beta (por ejemplo, terbutalina, bambuterol, salbutamol, levalbuterol, salmeterol, formoterol, clenbuterol, fenoterol, broxaterol, indacaterol, reproterol, procaterol, vilanterol) y/o xantinas
50 (por ejemplo, teofilina), antagonistas muscarínicos (por ejemplo, ipratropio, tiotropio, oxitropio, glicopirronio, glicopirrolato, aclidinio, tropio), antagonistas de leucotrienos (por ejemplo, zafirlukast, pranlukast, zileuton, montelukast) y/o un inhibidor de p38 MAP cinasa. Se entenderá que cualquiera de los ingredientes activos anteriormente mencionados se puede emplear en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

55 En una realización, la formulación farmacéutica de la invención se administra en combinación con un agente antiviral, por ejemplo aciclovir, oseltamivir (Tamiflu®), zanamivir (Relenza®) o interferón.

En una realización, la combinación del compuesto de fórmula (I) y otro(s) ingrediente(s) activos se co-formula en la formulación farmacéutica de la invención. En otra realización, el (los) otro(s) ingrediente(s) activo(s) se administra(n) en una o más formulaciones farmacéuticas independientes.

5 En una realización, el compuesto de fórmula (I) se co-formula en la formulación farmacéutica de la invención o se co-administra en una formulación independiente con un corticosteroide, por ejemplo para usarse en terapia de mantenimiento de asma, EPOC o cáncer de pulmón, incluyendo la prevención de éste último.

En una realización, la formulación farmacéutica de la invención se administra por inhalación y un corticosteroide se administra oralmente o por inhalación ya sea en combinación o independientemente.

10 La formulación farmacéutica de la invención también puede resensibilizar la afección del paciente al tratamiento con un corticosteroide, cuando la afección del paciente previamente se había vuelto refractaria al mismo.

En una realización de la invención, una dosis de la formulación farmacéutica empleada es igual a aquella adecuada para usarse como monoterapia pero administrada en combinación con un corticosteroide.

15 En una realización, se emplea una dosis de la formulación farmacéutica que sería sub-terapéutica como un solo agente, y se administra en combinación con un corticosteroide, restaurando por tanto la respuesta del paciente a éste último, en casos en los que el paciente ya previamente se había vuelto refractario al mismo.

Adicionalmente, la formulación farmacéutica de la invención puede exhibir actividad antiviral y ser útil en el tratamiento de exacerbaciones virales de afecciones inflamatorias como asma y/o EPOC.

La formulación farmacéutica de la presente invención también puede ser útil en la profilaxis, tratamiento o mejora del virus de la gripe, rinovirus y/o virus sincitial respiratorio.

20 En una realización, las formulaciones farmacéuticas actualmente descritas son útiles en el tratamiento o prevención del cáncer, en particular cáncer de pulmón, especialmente mediante administración tópica al pulmón.

Así, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica como se describe en la presente para usarse en el tratamiento de una o más de las afecciones anteriormente mencionadas.

25 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica como se describe en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las afecciones anteriormente mencionadas.

Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente también se pueden usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las enfermedades anteriormente identificadas.

La palabra "tratamiento" está pensada para abarcar profilaxis, así como tratamiento terapéutico.

30 A menos que se especifique de otra manera, los valores en porcentaje como se usan en la presente son valores en porcentaje en peso (porcentaje en peso).

35 Las formas cristalinas sólidas de la invención, y las formulaciones farmacéuticas que las contienen, pueden tener la ventaja de que tienen cristalinidad mejorada (por ejemplo medida por medio de XRPD), estabilidad física mejorada (por ejemplo medida por medio de análisis de XRPD, IR, DVS, DSC, o TGA), estabilidad química mejorada (por ejemplo medida por medio de HPLC), compatibilidad física mejorada con lactosa (opcionalmente cuando se combina con otros excipientes), compatibilidad química mejorada con lactosa (opcionalmente cuando se combina con otros excipientes), distribución mejorada de tamaño de partículas en la administración (como se evidencia por la masa mejorada de partículas finas), o pueden tener otras propiedades favorables en comparación con formas sólidas de la técnica anterior del compuesto de fórmula (I).

40 Abreviaturas

ac	acuoso
EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
d	doblete
DCM	diclorometano
45 DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMSO	dimetilsulfóxido
DPI	inhalador de polvo seco

ES 2 600 705 T3

	DSC	calorimetría de barrido diferencial
	DVS	sorción dinámica de vapor
	EDC.HCl	hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
	(ES ⁺)	ionización por electropulverización, modo positivo
5	EtOAc	acetato de etilo
	HPLC	cromatografía de líquidos de altas prestaciones
	HPLC-MS	cromatografía de líquidos de altas prestaciones-espectrometría de masas
	h	hora(s)
	IR	infrarrojo
10	LPS	lipopolisacárido
	(M+H) ⁺	ion molecular protonado
	MDI	inhalador de dosis medida
	MeOH	metanol
	MEK	metiletilcetona
15	MHz	megahercio
	min.	minuto(s)
	mm	milímetro(s)
	ms	espectrometría de masas
	mTOR	diana mamífera de rapamicina
20	m/z	relación de masa a carga
	NH ₄ OAc	acetato de amonio
	RMN	resonancia magnética nuclear (espectroscopía)
	Pd(dppf)Cl ₂	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)
	ppm	partes por millón
25	q	cuartete
	quin	quintete
	HR	humedad relativa
	RRT	tiempo relativo de retención
	R ^t	tiempo de retención
30	TA	temperatura ambiente
	s	singlete
	t	triplete
	TBDMSCI	cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsililo
	TGA	análisis termogravimétrico
35	TNF α	factor alfa de necrosis tumoral
	XRPD	difracción de polvo de rayos X

EJEMPLOS

Procedimientos Generales

HPLC-MS

5 Realizada en sistemas Agilent HP1200 usando columnas Agilent Extend C18 (1,8 μm , 4,6 x 30 mm) a 40°C y un caudal de 2,5-4,5 ml min^{-1} , eluyendo con un gradiente de H₂O-MeCN que contiene 0,1% v/v de ácido fórmico durante 4 min. Información de gradiente: 0-3,00 min., llevado desde 95% de H₂O-5% de MeCN a 5% de H₂O-95% de MeCN; 3,00-3,01 min., mantenido a 5% de H₂O-95% de MeCN, el caudal se incrementó a 4,5 ml min^{-1} ; 3,01-3,50 min., mantenido a 5% de H₂O-95% de MeCN; 3,50-3,60 min., devuelto a 95% de H₂O-5% de MeCN; el caudal se redujo hasta 3,50 ml min^{-1} ; 3,60-3,90 min., mantenido a 95% de H₂O-5% de MeCN; 3,90-4,00 min., mantenido a 95% de H₂O-5% de MeCN, el caudal se redujo hasta 2,5 ml min^{-1} . La detección de UV se realizó a 254 nm usando un detector de longitud de onda variable Agilent G1314B.

Espectros de masas (MS)

15 Se obtuvieron usando ionización por electropulverización (ESI) a lo largo del intervalo de 60 a 2000 m/z a una velocidad de muestreo de 1,6 s/ciclo usando un Agilent G1956B, a lo largo de 150 a 850 m/z a una velocidad de muestreo de 2 Hz usando un Waters ZMD, o a lo largo de 100 a 1000 m/z a una velocidad de muestreo de 2 Hz usando un sistema de LC-MS Shimadzu 2010.

Espectros de RMN

20 Los espectros de RMN ¹H (excepto los del Ejemplo 10) se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz usando disolvente no deuterado residual como referencia.
El espectro de RMN ¹H para el Ejemplo 10 se adquirió en un espectrómetro Bruker Avance a 600 MHz usando disolvente no deuterado residual como referencia.

Sorción dinámica de vapor (DVS)

25 Se obtuvo usando un modelo de sorción dinámica de vapor de Surface Measurement Systems DVS-1. Usando alrededor de 19 mg de la muestra, el cambio de peso registrado con respecto a la humedad atmosférica a 25°C se determinó usando los siguientes parámetros:

- secado: 60 minutos en nitrógeno seco
- equilibrio: 0,01%/min. durante mín.: 15 min. y máx.: 60 min.
- intervalo de datos: 0,05% o 2,0 min.

Puntos de medición de HR (porcentaje):

30 primer conjunto: 5,10,20,30,40,50,60,70,80,90,95,90,80,70,60,50,40,30,20,10,5
segundo conjunto: 10,20,30,40,50,60,70,80,90,95,90,80,70,60,50,40,30,20,10,5,0.

Difracción de Polvo de Rayos X (XRPD)

35 Los patrones de XRPD se adquirieron en un difractorómetro PANalytical (Philips) X'PertPRO MPD equipado con un tubo de rayos X Cu LFF (45 kV; 40 mA; Bragg-Brentano; etapa del rotor) usando radiación de CuK α y las siguientes condiciones de medida:

- modo de barrido: continuo
- intervalo de barrido: 3 a 50° 2 θ
- tamaño de las etapas: 0,02°/etapa
- tiempo de recuento: 30 s/etapa
- 40 tiempo de revolución del rotor: 1 s
- tipo de radiación: CuK α
- Trayectoria del haz incidente
- rendija de divergencia programada: 15 mm
- rendija Soller: 0,04 rad

ES 2 600 705 T3

	máscara de haz:	15 mm
	rendija anti-dispersión:	1°
	cuchilla de haz:	+
	Trayectoria del haz difractado	
5	pantalla larga anti-dispersión:	+
	rendija Soller:	0,04 rad
	Filtro de Ni:	+
	detector:	X'Celerator

Las muestras se prepararon esparciéndolas en un soporte de muestras de fondo cero.

10 Espectrometría Infrarroja (IR)

Se usó la Reflectancia Total Micro-Atenuada (microATR), y la muestra se analizó usando un accesorio microATR adecuado y las siguientes condiciones de medición:

Aparato:	espectrómetro de FTIR Thermo Nexus 670
Número de barridos:	32
resolución:	1 cm ⁻¹
Intervalo de longitudes de onda:	4000 a 400 cm ⁻¹
detector:	DTGS con ventanas de KBr
divisor de haz:	Ge en KBr
accesorio de micro ATR:	Harrick Split Pea con cristal de Si

Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)

- 15 Los datos de DSC se recogieron en un TA-Instruments Q2000 MTDSC equipado con una unidad de enfriamiento RCS. Típicamente, se calentaron 3 mg de cada compuesto, en una bandeja de muestra estándar de aluminio TA-Instrument a 10°C/min. desde 25°C hasta 250/300°C. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 50 ml/min. sobre la muestra.

Análisis Termoaravimétrico (TGA)

- 20 Los datos de TGA se recogieron en un termogravímetro TA-Instruments Q500. Típicamente, se transfirieron 10 mg de cada muestra a una bandeja de aluminio previamente pesada y se calentaron a 20°C/min. desde la temperatura ambiente hasta 300°C o < 80 [% (p/p)] a menos que se especifique de otra manera.

Estabilidad química - HPLC

El análisis de HPLC se llevó a cabo usando las siguientes condiciones de operación:

Columna	Waters Xbridge C18 (150 x 3,0 x 3,5 mm) o equivalente (una columna se considera equivalente si se cumple con el rendimiento como está especificado en SST y si se demuestra una separación comparable de todos los compuestos relevantes).
Temperatura de la columna	35°C
Temperatura de la muestra	10°C
Caudal	0,45 ml/min.
Volumen de inyección:	El volumen de inyección se puede ajustar siempre y cuando los límites de calificación del sistema no se excedan (detector e inyector), y la forma del pico del compuesto

ES 2 600 705 T3

principal sea aceptable. Como guía, 30 µl se consideran adecuados.

Detección	detección UV a 255 nm
Fase móvil	Preparación y composición:
A	acetato de amonio 10 mM (0,771 g/l) + 0,1%, v/v de ácido trifluoroacético en agua
B	Acetonitrilo
Gradiente	El tiempo de experimento analítico es 41 minutos

Disolvente	Tiempo (minutos)					
	0	35	36	41	42	48
%A	95	30	0	0	95	95
%B	5	70	100	100	5	5

Con este método de HPLC, el degradante D019492 eluye a RRT0,86.

Estabilidad química - Cromatografía de Líquidos de Presión Ultra Elevada (UPLC)

El análisis de UPLC se llevó a cabo usando las siguientes condiciones de operación:

Columna	Acquity BEH C ₁₈ ; 2,1 x 150 mm; 1,7 µm o equivalente (una columna se considera equivalente si se cumple con el rendimiento como está especificado en SST y se demuestra una separación comparable de todos los compuestos relevantes)
Temperatura de la columna	35°C
Temperatura de la muestra	10°C
Caudal	0,40 ml/min.
Volumen de inyección	El volumen de inyección se puede ajustar siempre y cuando los límites de calificación del sistema no se excedan (detector e inyector), y la forma del pico del compuesto principal sea aceptable. Como guía, 4 µl se consideran adecuados.
Detección	detección UV a 255 nm
Fase móvil	Preparación y composición:
A	acetato de amonio 10 mM (0,771 g/l) + 0,1%, v/v de ácido trifluoroacético en agua
B	Acetonitrilo
Gradiente	El tiempo de experimento analítico es 23 minutos

Disolvente	Tiempo (minutos)					
	0	19	20	23	23.5	28
%A	95	30	0	0	95	95
%B	5	70	100	100	5	5

5

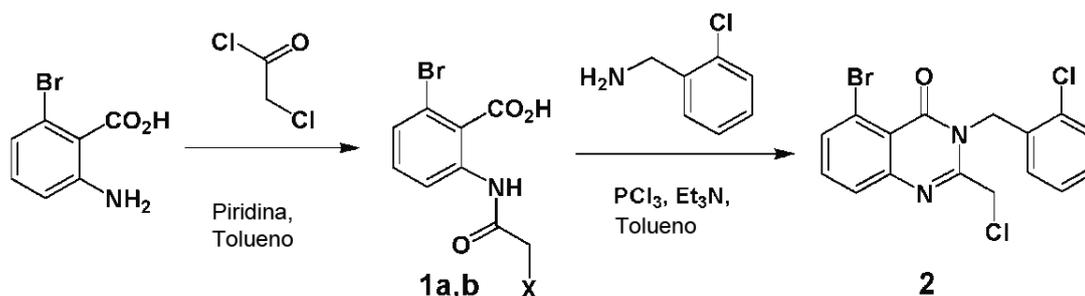
Con este método de UPLC, el degradante D019492 eluye a RRT0,92-0,93, y el degradante D019493 eluye a RRT 0,86-0,87.

Reactivos y proveedores

Lactohale200®: Tamaño de partículas (Sympatec): D10: 5-15 µm; D50: 50-100 µm; D90: 120-160 µm. Estearato de magnesio: Grado Hyqual® 2257; suministrado por Avantor. Tamaño de partículas: D10: típicamente 3 µm; D50: típicamente 11,5 µm (10,5 - 16,5 µm); D90: típicamente 24 µm (18 - 28 µm). Suministrado como un polvo fino.

5 **Ejemplo 1 - Preparación de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida (Compuesto de fórmula (I)) en forma de un hidrato cristalino sólido (compuesto de referencia)**

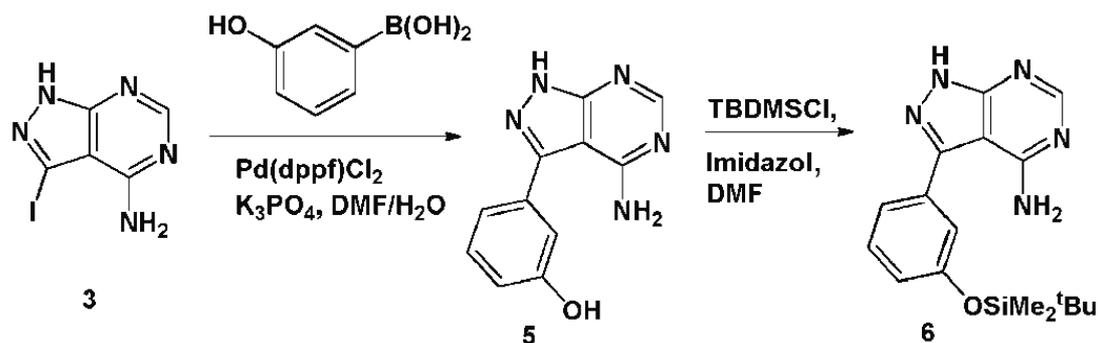
5-Bromo-3-(2-clorobencil-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona (2)



10 A una disolución agitada de ácido 2-amino-6-bromo-benzoico (3,06 g, 14,2 mmoles) en tolueno (75 ml) enfriado a 0°C en un baño con hielo se añadió piridina (0,60 ml, 7,10 mmoles) seguido de una disolución de cloruro de cloroacetilo (2,26 ml, 28,4 mmoles) en tolueno (75 ml) gota a gota durante 1 h. La mezcla de reacción se dejó calentar a TA y se calentó a 115°C durante 3 h y después se dejó enfriar a TA. El volumen del disolvente se redujo a la mitad por evaporación a vacío. Después de dejar reposar durante la noche, el producto se precipitó y se recogió mediante filtración para producir ácido 2-bromo-6-(2-cloroacetamido)benzoico (1a, X = Cl) (1,44 g) como un sólido blanco: m/z 290/292 (M+H)⁺ (ES⁺). El filtrado se concentró a vacío, y el residuo se trituró con etanol/heptano para producir ácido 2-bromo-6-(2-hidroxiacetamido)benzoico (1b X = OH) (1,02 g, rendimiento combinado, 59%): m/z 274/276 (M+H)⁺ (ES⁺). Tanto 1a como 1b se pueden usar sin purificación adicional en la siguiente etapa.

20 A una mezcla agitada del compuesto (1a) (7,50 g, 27,4 mmoles), 2-clorobencilamina (5,00 ml, 41,05 mmoles) y trietilamina (5,70 ml, 41,1 mmoles) en tolueno (250 ml) se añadió una disolución de tricloruro de fósforo (2,60 ml, 30,1 mmoles) en tolueno (250 ml) gota a gota durante 1 h. La mezcla de reacción se calentó a 110°C durante 24 h, con lo cual la disolución caliente se decantó y se concentró a vacío. El residuo se trituró con propan-2-ol (50 ml) para producir el compuesto del título (2) (6,41 g, 59%) como un sólido amarillo: R^t 2,67 min.; m/z 397/399 (M+H)⁺ (ES⁺).

3-(3-(terc-Butildimetilsililo)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (6).

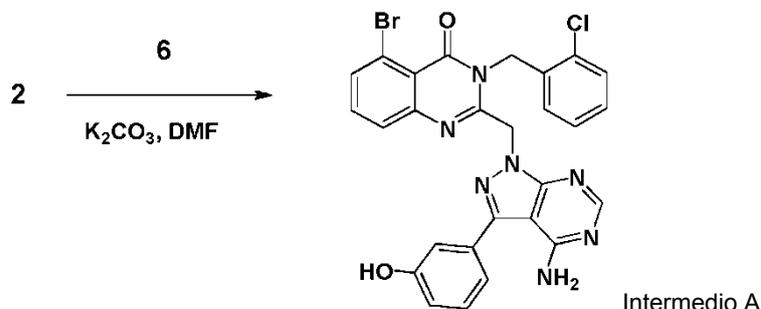


25 A una suspensión agitada de 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (3) (8,22 g, 31,5 mmoles) ácido 3-fenolborónico (13,0 g, 94,5 mmoles) y fosfato de potasio (10,0 g, 47,3 mmoles) en DMF/agua desgasificada (3:2, 140 ml) se añadió Pd(dppf)Cl₂ (13,0 g, 15,7 mmoles). La mezcla de reacción se enjuagó con nitrógeno, se calentó a 120°C durante 2 horas y después se dejó enfriar a TA. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (500 ml) y ácido clorhídrico (2 M, 500 ml), y la suspensión resultante se filtró. El filtrado se extrajo con ácido clorhídrico (2 M, 2 x 500 ml). Los extractos acuosos combinados se basificaron con una disolución acuosa saturada de carbonato de sodio hasta pH 10. El precipitado formado se filtró, y el filtrado se extrajo con EtOAc (3 x 1 l). Los extractos orgánicos combinados se secaron, se filtraron, y el disolvente se eliminó a vacío para producir un sólido gris. Todos los materiales sólidos generados durante el procedimiento de elaboración se combinaron y trituraron con DCM para producir 3-(4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenol (5) (6,04 g, 84%) como un sólido gris: m/z 228 (M+H)⁺ (ES⁺).

A una disolución agitada del fenol (5) (4,69 g, 20,66 mmoles) e imidazol (2,10 g, 30,99 mmoles) en DMF seca (100 ml) se añadió TBDMSCl (4,70 g, 30,99 mmoles). Después de 16 h, se añadieron alícuotas adicionales de imidazol

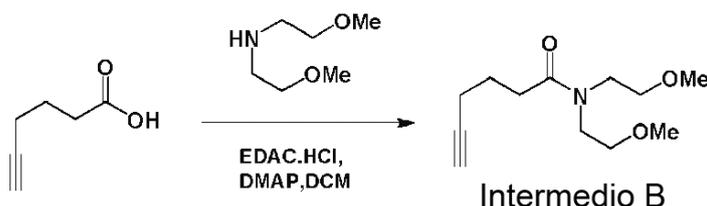
(2,10 g, 30,99 mmoles) y TBDMSCI (4,70 g, 30,99 mmoles), y la mezcla se agitó durante 48 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (120 ml) y se extrajo con DCM (2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 200 ml), se secaron, se filtraron, y el volumen se redujo hasta aproximadamente 100 ml mediante evaporación *a vacío*. La suspensión resultante se filtró, y el sólido se lavó con heptano (50 ml) para producir el compuesto del título (6) (6,05 g, 85%) como un sólido blanquecino: m/z 343 (M+H)⁺ (ES⁺).

Intermedio A: 2-((4-Amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-5-bromo-3-(2-clorobencil)quinazolin-4(3H)-ona



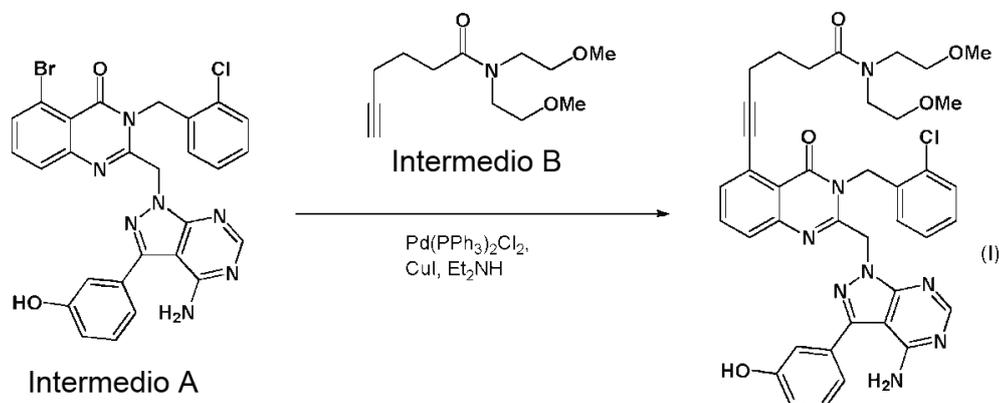
A una mezcla agitada de 5-bromo-3-(2-clorobencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona (2) (100 mg, 0,25 mmoles) y carbonato de potasio (42 mg, 0,30 mmoles) en DMF (2,5 ml) se añadió una disolución de 3-(3-(terc-butildimetilsililo)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (6) (94 mg, 0,28 mmoles) en DMF (2,5 ml), y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 18 horas. Se añadió carbonato de potasio (3 x 35 mg, 0,75 mmoles) en tres porciones durante 30 h, después de lo cual el disolvente se eliminó *a vacío*, y el material bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida, eluyendo con 4,5% de metanol en DCM, para producir el compuesto del título, Intermedio A, (94 mg, 64%) como un sólido blanquecino: R^t 2,01 min.; m/z 588/590 (M+H)⁺, (ES⁺).

Intermedio B: *N,N*-bis(2-Metoxietil)hex-5-inamida



A una disolución de ácido hex-5-inoico (7,11 g, 63,4 mmoles), EDC.HCl (14,0 g, 72,9 mmoles) y DMAP (387 mg, 3,17 mmoles) en DCM (600 ml) a 0°C se añadió bis(2-metoxietil)amina (9,3 ml, 63 mmoles). La mezcla resultante se calentó hasta TA durante 20 horas y después se lavó con ácido clorhídrico (1 M, 2 x 500 ml) y con agua (500 ml). La capa orgánica se secó y se evaporó *a vacío* para producir el compuesto del título, Intermedio B, como un aceite amarillo (16 g, 97%): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 1,88 (3H, m), 2,26 (2H, m), 2,49 (2H, m), 3,32 (6H, s), 3,51 (4H, m), 3,55 (4H, m)

6-((2-((4-Amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida (I)



El Intermedio A ((2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-5-bromo-3-(2-clorobencil)quinazolin-4(3H)-ona (65,7 g, 1,0 eq.)), yoduro de cobre(I) (1,06 g, 0,05 moles/mol), cloruro de

5 bis(trifenilfosfina)paladio(II) (3,92 g, 0,05 moles/mol), el Intermedio B (N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida (63,42 g, 2,5 moles/mol) y dietilamina (837,05 ml; 591,21 g, 7,5 l/mol) se añadieron a un reactor de 2 l, y la mezcla se desgasificó con purga de argón. La mezcla de reacción se calentó hasta 55°C (temperatura de reflujo) durante 30 minutos y después se agitó a 55°C. Después de 2 horas, la mezcla se enfrió hasta 22°C antes de concentrarla a vacío para producir un residuo semisólido pardo oscuro (201,0 g). Después, el residuo se disolvió en MEK (781 ml) y se añadió agua (223 ml). Después de agitar fuertemente durante 5 minutos, las capas se separaron, y la capa acuosa se desechó. La capa orgánica se lavó con NH₄OAc acuoso al 10% p/v (300 ml) y NaCl acuoso al 2% p/v (112 ml) antes de ser parcialmente concentrada a vacío hasta una mezcla heterogénea en MEK (230 g). La mezcla se agitó durante 16 horas y después se filtró, y el precipitado se lavó con MEK (3 x 25 ml). El sólido resultante se secó a 50°C a vacío durante 18 horas para dar 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida "bruta" (compuesto de fórmula (I)) (54,13 g; 0,66 equiv.; 65,97% de rendimiento).

15 El compuesto bruto de fórmula (I) (53,5 g; 1,00 equiv.), metanol (7,28 ml, 0,1 l/mol) y diclorometano (145,53 ml, 2 l/mol) se agitaron en un reactor de 250 ml a 22°C. Después de 4 horas, el sólido se filtró y se lavó con diclorometano (29 ml) antes de secarlo a vacío a 40°C durante 18 horas para obtener el compuesto de fórmula (I) (el compuesto del título) en forma de un hidrato (45,3 g; 0,85 equiv.; 84,67% de rendimiento de cristalización) como un sólido blancuzco.

Ejemplo 2 - Preparación del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida

20 Todas las reacciones descritas dentro de este ejemplo se llevaron a cabo bajo un flujo de gas nitrógeno. El Compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato, como se preparó en el Ejemplo 1 (14,0 g), y 1-propanol (210 ml, 15 l/kg) se añadieron a una vasija de cristalización de 400 ml. La mezcla heterogénea resultante se agitó y se calentó hasta 90°C (haciéndose la mezcla homogénea a 85°C). Una vez que la disolución había alcanzado 90°C, se añadió un depurador de metales (SiliaMetS® Thiol 0,7 g (5% p/p)), y la mezcla se calentó hasta 95°C. Después de agitar durante 15 minutos a 95°C, la mezcla se enfrió hasta 90°C y se agitó durante 2 horas adicionales a 90°C. El depurador de metales se filtró después, y el filtrado homogéneo se agitó una vez más y se calentó hasta 95°C, antes de enfriarlo hasta 85°C, y se agitó durante 8 horas. Después, el filtrado se enfrió durante 8 horas hasta 20°C y se agitó durante 6 horas adicionales a 20°C. Después, el producto se filtró y se lavó con 1-propanol (6 ml) antes de secarlo a vacío a 50°C durante 18 horas para producir el compuesto de fórmula (I) en forma anhidra (12,6 g, 90%) como un sólido blanco.

30 El método anterior se puede adaptar opcionalmente para facilitar la cristalización con siembra.

Ejemplo 3 - Análisis de XRPD del Compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato cristalino sólido y en forma anhidra

35 El análisis de XRPD de las formas de hidrato y anhidra del compuesto de fórmula (I) se realizó usando el método descrito en los Procedimientos Generales. Los patrones resultantes de difracción se muestran en las Figuras 1 y 2. Ambos patrones de XRPD mostraron picos de difracción sin la presencia de un halo, indicando por tanto que ambos materiales son cristalinos. Los picos e intensidades de las dos formas se dan más adelante en las Tablas 1 y 2:

Tabla 1 - Picos característicos de XRPD para el compuesto de la fórmula (I) en forma de hidrato

pico de XRPD ($\pm 0,2$ grados, valores 2-theta)
5,6
7,6
9,6
11,1
12,2
12,6
13,3
13,9
15,9
17,0
18,9

pico de XRPD ($\pm 0,2$ grados, valores 2-theta)
20,3
21,8
23,1

Tabla 2 - Picos característicos de XRPD para la forma anhidra del compuesto (I)

pico de XRPD ($\pm 0,2$ grados, valores 2-theta)
5,6
7,9
11,2
12,3
15,6
17,6
18,4
21,4
22,5
24,2

5 Las dos formas cristalinas sólidas tienen algunos picos en común, indicando que parecen tener estructuras cristalinas relacionadas (pero distintas).

Ejemplo 4 - Análisis térmico del compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato y anhidra (forma anhidra con y sin micronización)

10 El análisis térmico de la forma de hidrato y de la forma anhidra (la forma anhidra no micronizada y micronizada) del compuesto de fórmula (I) se realizó usando TGA, DVS, XRPD, IR y DSC como se describe en los Procedimientos Generales. En donde sea apropiado, se comparó una muestra a temperatura y humedad relativa ambientales (muestra de referencia/"0 días") con muestras almacenadas a varias temperaturas y humedades relativas (muestras comparativas).

15 La forma anhidra micronizada del compuesto de fórmula (I) se preparó usando un dispositivo de micronización de molino de chorro (1,5 bares) (fabricado por Hosokawa Alpine). La distribución de tamaño de partículas se midió usando difracción por láser (instrumento Malvern Mastersizer). La forma anhidra micronizada del compuesto de fórmula (I) tuvo la siguiente distribución de tamaño de partículas: D10 de 1,40 μm ; D50 de 2,77 μm y D90 de 5,29 μm .

Las condiciones de almacenamiento ensayadas fueron 4 semanas a TA <5% HR, TA 56% HR, TA 75% HR, 50°C y 40°C 75% HR. Los datos de XRPD e IR también se adquirieron después de 1 semana a 80°C.

20 Forma de hidrato cristalino sólido

25 TGA: La muestra de referencia (t = 0) y las muestras comparativas (expuestas a diferentes condiciones de almacenamiento) se calentaron a 20°C/min. de TA hasta 300°C. La curva de TGA de la muestra de referencia (t = 0) se ilustra en la Figura 11, y los resultados para todas las muestras se ilustran en la Tabla 3. A partir de la Figura 11, es evidente que la pérdida de peso de 1,1% se observó en la región de temperatura de TA hasta 45°C debido a la evaporación de disolvente libre o agua higroscópica (evidenciada por el primer pico entre 29,39°C y 44,82°C). La pérdida de peso de 1,5% se observó entre 45°C y 190°C debido a la evaporación de disolvente unido, y la pérdida de peso por encima de 190°C se debió a la evaporación y descomposición del producto. Al comparar este perfil de pérdida de peso con los de las muestras comparativas en la Tabla 3, no se observaron diferencias significativas.

30 DVS: La gráfica de la isoterma de DVS para la muestra de referencia se ilustra en la Figura 3, y la gráfica de cambio en la masa de DVS se ilustra en la Figura 4. Durante la etapa de secado inicial, se registró una pérdida de peso de

2,2% y se encontró que el producto seco obtenido es higroscópico. El producto higroscópico adsorbió hasta 2,1% de humedad dependiendo de la humedad atmosférica y se secó completamente durante el ciclo de desorción. El producto obtenido después de la adsorción/desorción se investigó con XRPD e IR, y se encontró que es comparable con la muestra de referencia. Estos datos indican que la forma de hidrato es higroscópica.

- 5 XRPD e IR: El patrón de difracción de XRPD de la muestra de referencia (t = 0) se ilustra en la Figura 1, y la traza de IR se ilustra en la Figura 7. Este patrón de difracción y la traza de IR se compararon con los de las muestras comparativas (expuestas a diferentes condiciones de almacenamiento), y los resultados se ilustran en la Tabla 3. Los patrones de difracción y las trazas de IR fueron idénticos o muy similares para la mayoría de las muestras; sin embargo, se observaron algunas pequeñas diferencias en los patrones de difracción de XRPD y de las trazas de IR después del almacenamiento a temperaturas elevadas de 50°C y 80°C y en condiciones secas (TA/< 5% HR), cuando se comparan con la muestra de referencia (como se evidencia por las entradas “±Ref” en la Tabla 3). Estas mismas pequeñas diferencias también se observaron en el patrón de XRPD y en la traza de IR de la muestra de referencia después de DVS, sugiriendo que las diferencias observadas en las muestras de 50°C, 80°C y TA < 5% HR se debieron al secado del producto.
- 10
- 15 DSC: La muestra de referencia (t = 0) y las muestras comparativas (expuestas a diferentes condiciones de almacenamiento) se calentaron a 10°C/min. de 25°C hasta 300°C. La curva de DSC de la muestra de referencia se ilustra en la Figura 9, y los resultados para todas las muestras se ilustran en la Tabla 3. A partir de la Figura 9, es evidente que la muestra de referencia fundió con descomposición a alrededor de 183,5°C con una señal endotérmica a 64,5°C debido a la evaporación del disolvente.
- 20 En resumen, es evidente que el hidrato tiene buena estabilidad física. El producto parece ser higroscópico y experimenta algo de pérdida de agua en condiciones secas. Sin embargo, la forma cristalina parece ser estable a la pérdida de agua y a la ganancia de agua.

Tabla 3 - Datos de estabilidad para la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I)

Producto	Condición	TGA		XRD	IR	DSC		Aspecto
		<45°C	<190°C			Max. (°C)	Extra (°C)	
Hidrato	0 día*	1,1	1,5	Crist., Ref	Crist., Ref	183,5	64,5 (44 J/g)	blanca
	RT/<5% RH	0,7	0,9	±Ref	±Ref	183,6	62,7 (23 J/g)	blanca
	RT/56%RH	1,0	1,1	~ Ref	~ Ref	183,5	66,0 (40 J/g)	blanca
	RT/75% RH	1,2	1,3	~ Ref	~ Ref	183,5	65,3 (40 J/g)	blanca
	80°C (1 semana)	-	-	±Ref	±Ref	-	-	blanca
	50°C	1,0	1,0	±Ref	±Ref	183,7	64,7 (37 J/g)	blanca
	40°C/75%RH	0,9	1,0	~ Ref	~ Ref	183,4	66,9 (39 J/g)	blanca

* temperatura ambiente y humedad relativa

Crist. Ref.: referencia cristalina

~Ref: idéntico a la referencia cristalina

+/- Ref: comparable a la referencia cristalina

- 25 Forma anhidra cristalina sólida (no micronizada)

TGA (Tabla 4 y Figura 12): La muestra de referencia y las muestras comparativas se calentaron a 20°C/min. de temperatura ambiente hasta 300°C. La curva de TGA de la muestra de referencia (t = 0) se ilustra en la Figura 12, y los resultados para todas las muestras se ilustran en la Tabla 4. A partir de la Figura 12, es evidente que, para la muestra de referencia, la pérdida de peso de 0,2% se observó en la región de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 100°C debido a la evaporación de disolvente libre y/o agua higroscópica. Se observó pérdida de

30

peso de 0,4% entre 100°C y 200°C, probablemente debido a la evaporación y descomposición del producto. Al comparar este perfil de pérdida de peso con los de las muestras comparativas - se observaron diferencias en condiciones secas de TA/< 5% HR, en las que se produjeron menores pérdidas de porcentaje en peso de 0,7% y 0,9%.

- 5 DVS: La gráfica de isoterma de DVS para la muestra de referencia se ilustra en la Figura 5, y la gráfica del cambio en masa de DVS se ilustra en la Figura 6. Durante la etapa de secado inicial, se registró una pérdida de peso de 0,1%. El producto seco obtenido no exhibió comportamiento higroscópico y permaneció en la misma forma de estado sólido durante el ensayo.
- 10 XRPD e IR: El patrón de difracción de XRPD de la muestra de referencia se ilustra en la Figura 2, y la traza de IR se ilustra en la Figura 8. Este patrón de difracción y la traza de IR se compararon con los de las muestras comparativas, y los resultados se ilustran en la Tabla 4. Se encontró que los patrones de difracción y las trazas de IR son idénticos para todas las muestras, indicando que no ocurrieron cambios del estado sólido después del almacenamiento bajo diferentes condiciones.
- 15 DSC: La muestra de referencia y las muestras comparativas se calentaron a 10°C/min. desde 25°C hasta 250°C. La curva de DSC de la muestra de referencia se ilustra en la Figura 10, y los resultados para todas las muestras se ilustran en la Tabla 4. A partir de la Figura 10, es evidente que la muestra de referencia fundió (con posible descomposición) a alrededor de 187,0°C. Al comparar los datos de DSC de la muestra de referencia con los datos para las muestras comparativas, es evidente que las condiciones de almacenamiento no han alterado el punto de fusión de la sustancia.
- 20 En resumen, es evidente que la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) fue físicamente estable en todas las condiciones investigadas.

Tabla 4 - Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (no micronizada)

Producto	Condición	TGA		XRD	IR	DSC Max (°C)	Aspecto
		<100	<200°C				
Forma anhidra (no micronizada)	0 días	0,2	0,4	Crist., Ref	Crist., Ref	187,0	blanca
	80°C	-	-	~ Ref	~ Ref	-	blanca
	RT/<5% RH	0,3	0,5	~ Ref	~ Ref	187,6	blanca
	RT/56%RH	0,4	0,5	~ Ref	~ Ref	187,4	blanca
	RT/75% RH	0,3	0,4	~ Ref	~ Ref	187,0	blanca
	50°C	0,3	0,4	~ Ref	~ Ref	187,2	blanca
	40°C/75%RH	0,4	0,5	~ Ref	~ Ref	187,2	blanca

Forma anhidra cristalina sólida (micronizada)

- 25 TGA: La muestra de referencia y las muestras comparativas se calentaron a 20°C/min. desde la temperatura ambiente hasta 300°C, y los resultados para todas las muestras se ilustran en la Tabla 5.
- DVS: La gráfica de isoterma de DVS para la muestra de referencia se ilustra en la Figura 13. Durante la etapa de secado inicial, se registró una pérdida de peso de 0,1%. Se observó que el producto es ligeramente higroscópico, adsorbiendo hasta 0,9% de humedad dependiendo de las condiciones atmosféricas. Durante el ciclo de desorción,
- 30 se encontró que el producto se secó completamente.
- XRPD e IR: Este patrón de difracción y la traza de IR de la muestra de referencia se compararon con los de las muestras comparativas, y los resultados se ilustran en la Tabla 5. Se encontró que los patrones de difracción y las trazas de IR son idénticos para todas las muestras, indicando que no ocurrieron cambios del estado sólido después del almacenamiento bajo diferentes condiciones.
- 35 DSC: La muestra de referencia y las muestras comparativas se calentaron a 10°C/min. desde 25°C hasta 250°C. Los resultados para todas las muestras se ilustran en la Tabla 5. La curva de DSC para la muestra de referencia mostró fusión del producto (con posible descomposición) a alrededor de 186°C. Se observó una señal exotérmica extra a alrededor de 124°C, probablemente debida a la recristalización del material amorfo o a artefactos de cristal presentes en la muestra generada durante la molienda.

En resumen, es evidente que la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) en forma micronizada fue físicamente estable en todas las condiciones investigadas, aunque es ligeramente higroscópica.

Tabla 5 - Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada)

Producto	Condición	TGA		XRD	IR	DSC		Aspecto
		<100	<200°C			Max (°C)	Extra (°C)	
Forma anhidra (micronizada)	0 día	0,2	0,4	Crist., Ref	Crist., Ref	185,6	123,4 (4 J/g)	blanca
	80°C	-	-	~ Ref	~ Ref	-	-	blanca
	RT/<5% RH	0,3	0,4	~ Ref	~ Ref	185,7	123,7 (4 J/g)	blanca
	RT/56%RH	0,4	0,4	~ Ref	~ Ref	185,5	123,0 (4 J/g)	blanca
	RT/75% RH	0,3	0,4	~ Ref	~ Ref	185,6	123,3 (4 J/g)	blanca
	50°C	0,5	0,4	~ Ref	~ Ref	185,4	124,9 (4 J/g)	blanca
	40°C/75%RH	0,2	0,3	~ Ref	~ Ref	185,7	124,5 (2 J/g)	blanca

5 Ejemplo 5 - Análisis de HPLC del Compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato cristalino sólido y forma anhidra cristalina sólida (forma anhidra – no micronizada y micronizada)

La estabilidad química de la forma de hidrato cristalino sólido y la forma anhidra cristalina sólida (forma anhidra tanto no micronizada como micronizada) del compuesto de fórmula (I) se determinó comparando una muestra a temperatura y humedad relativa ambiente (muestra de referencia) con muestras almacenadas a varias temperaturas y humedades relativas (muestras comparativas). Las muestras se almacenaron bajo diversas condiciones durante 1, 4 u 8 semanas como se muestra en las Tablas 6, 7 y 8. Después, las muestras se analizaron por medio de HPLC usando el método en los Procedimientos Generales y por medio de inspección visual.

Forma de hidrato

15 A partir de los datos proporcionados en la Tabla 6, es evidente que la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) es químicamente estable, aunque se observó algo de sensibilidad a la luz.

Tabla 6 - Datos de estabilidad para la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I)

Producto	Condición	Suma de impurezas de HPLC			Aspecto		
		1 semana	4 semanas	8 semanas	1 semana	4 semanas	8 semanas
Hidrato	Referencia	1,52	-	-	blanca	-	-
	Luz ICH 0,3 días *	1,61	-	-	blanca	-	-
	80°C	1,58	-	-	blanca	-	-
	40°C/75% RH	1,54	1,46	1,54	blanca	blanca	blanca
	50°C	1,53	1,53	1,59	blanca	blanca	blanca
	RT/<5%RH	-	1,50	1,53	-	blanca	blanca
	RT/56%RH	-	1,53	1,54	-	blanca	blanca
	RT/75%RH	-	1,48	1,60	-	blanca	blanca

*luz de día estimulada (gabinete de luz 700 W/m²)

Forma anhidra (no micronizada)

5 A partir de los datos proporcionados en la Tabla 7, es evidente que la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) es sensible a la luz. Después del almacenamiento en luz ICH durante 0,3 días, se observó un producto de degradación a RRT 1,12 y RRT 1,24.

Tabla 7 - Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (estado sólido)

Producto	Condición	Suma de impurezas de HPLC			Aspecto		
		1 semana	4 semanas	8 semanas	1 semana	4 semanas	8 semanas
Forma anhidra (no micronizada)	Referencia	0,72	-	-	blanca	-	-
	Luz ICH 0,3 da	1,08	-	-	ligeramente amarilla	-	-
	80°C	0,71	-	-	blanca	-	-
	40°C/75% RH	0,71	0,72	0,72	blanca	blanca	blanca
	50°C	0,71	0,71	0,73	blanca	blanca	blanca
	RT/<5%RH	-	0,72	0,74	-	blanca	blanca
	RT/56%RH	-	0,71	0,77	-	blanca	blanca
	RT/75%RH	-	0,71	0,74	-	blanca	blanca

Forma anhidra (micronizada)

10 A partir de la Tabla 8, es evidente que la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) en forma micronizada es sensible a la luz. Después del almacenamiento en luz ICH durante 0,3 días, se observó un producto de degradación a RRT 1,12.

Tabla 8 - Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada)

Producto	Condición	Suma de impurezas de HPLC			Aspecto		
		1 semana	4 semanas	8 semanas	1 semana	4 semanas	8 semanas
Forma anhidra (micronizada)	Referencia	0,72	-	-	blanca	-	-
	Luz ICH 0,3 da	0,89	-	-	ligeramente amarilla	-	-
	80°C	0,71	-	-	blanca	-	-
	40°C/75% RH	0,72	0,71	0,76	blanca	blanca	blanca
	50°C	0,71	0,71	0,76	blanca	blanca	blanca
	RT/<5%RH	-	0,70	0,73	-	blanca	blanca
	RT/56%RH	-	0,71	0,74	-	blanca	blanca
	RT/75%RH	-	0,73	0,75	-	blanca	blanca

Los estudios de HPLC indican que las estabildades químicas de las formas de hidrato y anhidra (tanto no micronizadas como micronizadas) del compuesto de fórmula (I) son comparables, aunque todas las formas muestran algo de sensibilidad a la luz.

Ejemplo 6 - Análisis de XRPD/IR del Compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato con lactosa, y en forma anhidra con lactosa

5 Se prepararon mezclas de la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) con lactosa, y la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) con lactosa (en cada caso 50%/50%), usando LactoHale® como fuente de lactosa (proporcionada por DOMO®/Frieslandfoods). Las mezclas se almacenaron a diferentes temperaturas y humedades y se analizaron por medio de XRPD e IR en tiempo cero y después de 1 semana y 4 semanas de almacenamiento. Los espectros de IR y los patrones de XRPD de las muestras de estabilidad de 1 semana y 4 semanas se compararon con el espectro de IR y el patrón de XRPD generados en el tiempo cero.

Hidrato cristalino sólido

15 Preparación de la mezcla: se añadieron alrededor de 250 mg del compuesto de fórmula (I) en forma de hidrato y 250 mg de Lactohale200® a un mortero de ágata antes de mezclarlos usando una mano de mortero y una cuchilla de plástico (Feton) durante 5 minutos. Las mezclas físicas se introdujeron en matraces de vidrio marrones de 10 ml con tapa roscada (cerrados) y sin tapa (abiertos). Se usaron las siguientes condiciones de almacenamiento:

80°C: 1 semana cerrados;

50°C: 1 y 4 semanas cerrados;

40°C/75% HR: 1 y 4 semanas abiertos.

20 En la Figura 14 se muestra un espectro de IR de referencia de una muestra de una mezcla de la forma de hidrato cristalino sólido con lactosa. Los espectros de IR se adquirieron después de varias condiciones de almacenamiento. No se observaron diferencias entre los espectros de IR de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas y el espectro de IR en el tiempo cero. No se observó interacción entre la forma de hidrato y la lactosa, y la forma de hidrato se mantuvo estable en todas las condiciones de almacenamiento.

25 En la Figura 15 se muestra un patrón de XRPD de referencia de una muestra de una mezcla de la forma de hidrato cristalino sólido con lactosa. Los patrones de XRPD se adquirieron después de varias condiciones de almacenamiento. Los patrones de XRPD generados de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas fueron similares a los patrones de difracción en el tiempo cero. Fue claramente visible que los picos típicos de difracción de la forma de hidrato no cambiaron en presencia de Lactohale200®, indicando que la forma de hidrato es físicamente estable en presencia de lactosa.

30 Los espectros de IR no mostraron interacción entre la forma de hidrato y la lactosa, y los resultados de XRPD mostraron que no había conversión de estado sólido de la forma de hidrato. Como tal, se puede concluir que la forma de hidrato es físicamente compatible con la lactosa.

Forma anhidra cristalina sólida

35 Preparación de la mezcla: se añadieron alrededor de 500 mg del compuesto anhidro de la fórmula (I) (micronizado) y 500 mg de Lactohale200® a un mortero de ágata antes de mezclarlos usando una mano de mortero y una cuchilla de plástico (Feton) durante 5 minutos. Las mezclas físicas se introdujeron en matraces de vidrio marrones de 10 ml con tapa roscada (cerrados) y sin tapa (abiertos). Se usaron las siguientes condiciones de almacenamiento:

80°C: 1 semana cerrados;

40 50°C: 1 y 4 semanas cerrados;

40°C/75% HR: 1 y 4 semanas abiertos.

45 En la Figura 16 se muestra un espectro de IR de referencia de una muestra de una mezcla de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) con lactosa. Los espectros de IR se adquirieron después de varias condiciones de almacenamiento. No se observaron diferencias entre los espectros de IR de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas y el espectro de IR en el tiempo cero. No se observó interacción entre la forma anhidra y la lactosa, y la forma anhidra se mantuvo estable en todas las condiciones de almacenamiento.

50 En la Figura 17 se muestra un patrón de XRPD de referencia de una muestra de una mezcla de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) con lactosa. Los patrones de XRPD se adquirieron después de varias condiciones de almacenamiento. Los patrones de XRPD generados de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas son similares al patrón de difracción en el tiempo cero. Es claramente visible que los picos típicos de difracción de la forma anhidra no cambiaron en presencia de Lactohale200®, indicando que la forma anhidra es físicamente estable en presencia de lactosa.

Los espectros de IR no mostraron interacción entre la forma anhidra y la lactosa, y los resultados de XRPD mostraron que no había conversión de estado sólido de la forma anhidra. Como tal, se puede concluir que la forma anhidra es físicamente compatible con la lactosa.

5 **Ejemplo 7 - Análisis de HPLC del Compuesto de la fórmula (I) en forma de hidrato cristalino sólido con lactosa, y en forma anhidra cristalina sólida con lactosa**

La compatibilidad química de la forma de hidrato y de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa se determinó por medio de análisis de HPLC.

Hidrato

10 Preparación de la mezcla: Se añadieron 2 mg de forma de hidrato y 2 mg de Lactohale200® a un mortero de ágata antes de mezclarlos usando una mano de mortero y una cuchilla de plástico (Feton) durante 5 minutos. Se mezclaron alícuotas adicionales de Lactohale200® (partiendo de 4 mg) en la mezcla, duplicando cada vez el volumen de la mezcla, hasta que la mezcla contenía 6000 mg de Lactohale200® en total.

15 Las mezclas se analizaron por medio de HPLC en tiempo cero y después de diferentes condiciones de almacenamiento. Las muestras se almacenaron en las siguientes condiciones: (i) 1, 2 y 3 semanas a 50°C, (ii) 1 semana a 80°C, (iii) 1, 2 y 3 semanas a 40°C/75% HR. A partir de la Tabla 9, es evidente que la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) es estable en combinación con lactosa durante hasta 3 semanas, indicando su compatibilidad química.

Tabla 9 - Datos de estabilidad para la forma de hidrato del compuesto de fórmula (I) con lactosa

Condiciones	RRT* 0,80	RRT* 0,84	RRT* 0,86	RRT* 1,11	RRT* 1,14	RRT* 1,32
T = cero	0,15	0,13	0,15	0,09	0,15	0,92
1 semana 50°C	0,14		0,31		0,15	0,94
1 semana 80°C		0,15		0,12	0,15	0,91
1 semana	0,16	0,13	0,18		0,24	0,93
40°C/75%RH						
2 semanas 50°C	0,15	0,13	0,12	0,10	0,16	0,91
2 semanas	0,13	0,13	0,15	0,10	0,17	0,92
40°C/75%RH						
3 semanas 50°C	0,14	0,11	0,17	0,08	0,14	0,99
3 semanas	0,14	0,10	0,13	0,08	0,14	1,00
40°C/75%RH						

* % de área mediante de HPLC al RRT indicado. El compuesto de fórmula (I) tiene un RRT = 1,0

20 **Anhidra (micronizada)**

La forma anhidra micronizada del compuesto de fórmula (I) se preparó como se describe en el Ejemplo 4.

El lote de ensayo se tomó de un lote madre que contiene 3,519 mg de forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada) y 6006,64 mg de Lactohale200®.

25 Las mezclas se analizaron por medio de HPLC en tiempo cero y después de diferentes condiciones de almacenamiento. Las muestras se almacenaron en las siguientes condiciones: (i) 1, 2, 3 y 4 semanas a 50°C, (ii) 1 semana a 80°C, (iii) 1, 2, 3 y 4 semanas a 40°C/75% HR.

La Tabla 10 indica que se observó degradación significativa después del almacenamiento durante 1 semana a 80°C, y también se observó degradación después del almacenamiento a temperaturas elevadas de 50°C.

30 Estos resultados sugieren que la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) no es químicamente estable en combinación con lactosa, y por lo tanto los dos componentes no serían compatibles en una formulación farmacéutica.

El pico al RRT 0,86 se ha atribuido al (los) derivado(s) hidratado(s) D019328 mostrado(s) anteriormente.

Tabla 10 - Datos de estabilidad para la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) (micronizada) con lactosa

Condiciones	RRT* 0,80	RRT* 0,86	RRT* 0,97	RRT* 1,14	RRT* 1,32
T = cero	0,21	0,12		0,12	0,13
1 semana 50°C	0,17	0,23		0,10	0,12
1 semana 80°C	0,52	2,53	0,78	0,19	0,12
1 semana 40°C/75%RH	0,19	0,12		0,11	0,13
2 semanas 50°C	0,19	0,30		0,12	0,13
2 semanas 40°C/75%RH	0,17	0,11		0,12	0,13
3 semanas 50°C	0,19	0,38		0,12	0,14
3 semanas 40°C/75%RH	0,19	0,08		0,11	0,14
4w 50°C	0,19	0,54		0,11	0,13
4w 40°C/75%RH	0,18	0,20		0,11	0,14
* % de área mediante de HPLC al RRT indicado. El compuesto de fórmula (I) tiene un RRT = 1,0					

5 Ejemplo 8 - Análisis de XRPD/IR del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida con lactosa y estearato de magnesio

Se preparó una mezcla de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) del compuesto de fórmula (I) con lactosa con la adición de 1% de estearato de magnesio. Las mezclas se almacenaron a diferentes temperaturas y humedades, y se analizaron por medio de XRPD e IR en tiempo cero y después de 1 semana y 4 semanas de almacenamiento.

Preparación de la mezcla: se añadieron alrededor de 500 mg de Lactohale200® y alrededor de 10 mg de estearato de magnesio a un mortero de ágata antes de mezclarlos usando una mano de mortero y una cuchilla de plástico (Feton) durante 5 minutos. Se añadieron alrededor de 500 mg del compuesto anhidro de la fórmula (I) (micronizado) a la mezcla, y la mezcla se mezcló durante 5 minutos adicionales. Las muestras de la mezcla se almacenaron después en las diversas condiciones descritas en el Ejemplo 6.

En la Figura 18 se muestra un espectro de IR de referencia de una muestra de una mezcla de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) con lactosa y estearato de magnesio. Los espectros de IR se adquirieron después de varias condiciones de almacenamiento. No se observaron diferencias entre los espectros de IR de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas y el espectro de IR en el tiempo cero. No se observó interacción entre la forma anhidra, lactosa y estearato de magnesio, y la forma anhidra se mantuvo estable en todas las condiciones de almacenamiento.

En la Figura 19 se muestra un patrón de XRPD de referencia de una muestra de una mezcla de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) con lactosa y estearato de magnesio. Los patrones de XRPD se adquirieron después de varias condiciones de almacenamiento. Los patrones de XRPD generados de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas fueron similares al patrón de difracción en el tiempo cero. Fue claramente visible que los picos típicos de difracción de la forma anhidra no cambiaron en presencia de Lactohale200® y estearato de magnesio, indicando que la forma anhidra es físicamente estable en presencia de lactosa y estearato de magnesio.

Los espectros de IR no mostraron interacción entre la forma anhidra, la lactosa y el estearato de magnesio, y los resultados de XRPD mostraron que no había conversión de estado sólido de la forma anhidra. Como tal, se puede concluir que la forma anhidra es físicamente compatible con la lactosa y el estearato de magnesio.

Ejemplo 9 - Análisis de HPLC del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra con lactosa y estearato de magnesio

La compatibilidad química de la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa y 1% de estearato de magnesio se determinó por medio de análisis de HPLC.

El lote de ensayo se tomó del lote madre que contiene 3,704 mg de forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada), 6017,90 mg de Lactohale200 y 67,33 mg de estearato de magnesio.

5 Los datos mostrados en la Tabla 11 indican un incremento significativo en la estabilidad química en comparación con la misma composición con la ausencia de estearato de magnesio (véase la Tabla 10), como se evidencia por solo una pequeña cantidad de degradación observada después del almacenamiento durante 1 semana a 80°C (véase, por ejemplo, RRT 0,86, 0,28%). Estos resultados sugieren que la estabilidad química de la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) con lactosa se ve mejorada significativamente por la adición de estearato de magnesio a la composición. Como tal, la adición de estearato de magnesio mejora la compatibilidad química de la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa, de modo que podrían ser compatibles en una formulación farmacéutica.

10 Tabla 11 - Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada) con lactosa y estearato de magnesio

Condiciones	RRT* 0,80	RRT* 0,86	RRT* 1,14	RRT* 1,32
T = cero	0,21	0,10	0,12	0,13
1 semana 50°C	0,20	0,11	0,11	0,13
1 semana 80°C	0,19	0,28	0,11	0,13
1 semana 40°C/75%RH	0,20	0,11	0,11	0,13
2 semanas 50°C	0,20	0,08	0,11	0,14
2 semanas 40°C/75%RH	0,21	0,11	0,11	0,13
3 semanas 50°C	0,20	0,13	0,11	0,13
3 semanas 40°C/75%RH	0,20	0,11	0,11	0,14
4 semanas 50°C	0,19	0,12	0,11	0,14
4 semanas 40°C/75%RH	0,20	0,10	0,10	0,13
* % de área mediante UPLC al RRT indicado. El compuesto de fórmula (I) tiene un RRT = 1,0				

15 **Ejemplo 10 - Análisis de UPLC del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra con lactosa y sales metálicas de ácido esteárico**

La compatibilidad química de la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) (micronizada) en combinación con lactosa y 1% de sal metálica de ácido esteárico (estearato de magnesio, estearato de sodio y estearato de calcio) se determinó por medio de análisis de UPLC (micronización del compuesto de fórmula (I) como se describe en el Ejemplo 4).

20 Las muestras de ensayo se prepararon como se describe en la Tabla 12 a continuación:

Tabla 12 - Muestras de ensayo para análisis de UPLC después del ensayo de estabilidad acelerado

Muestra	Forma anhidra cristalina sólida de compuesto de fórmula (I) (micronizada) muestra 1 / muestra 2	Lactohale 200 muestra 1 / muestra 2	Sal metálica de ácido esteárico muestra 1 / muestra 2
Fármaco solamente	0,50 mg / 0,47 mg		
Fármaco y lactosa	0,58 mg / 0,47 mg	749,84 mg / 750,06 mg	
Fármaco, lactosa, estearato de Mg	0,46 mg / 0,51 mg	749,97 mg / 751,59 mg	7,40 mg / 7,55 mg
Fármaco, lactosa, estearato de Ca	0,49 mg / 0,45 mg	751,08 mg / 753,53 mg	7,67 mg / 7,80 mg
Fármaco, lactosa, estearato	0,48 mg / 0,45 mg	750,20 mg / 750,42 mg	7,78 mg / 7,59 mg

Muestra	Forma anhidra cristalina sólida de compuesto de fórmula (I) (micronizada) muestra 1 / muestra 2	Lactohale 200 muestra 1 / muestra 2	Sal metálica de ácido esteárico muestra 1 / muestra 2
de Na			

Las muestras se dispensaron en viales, se cerraron con tapas y se mantuvieron a 80°C durante 1 ó 2 semanas. La muestra 1 se usó para los estudios de 1 semana, y la muestra 2 se usó para los estudios de 2 semanas. Los resultados se muestran en la Tabla 13 a continuación:

5 Tabla 13 - Resultados del análisis de UPLC después del ensayo de estabilidad acelerado

Muestra	1 semana 80°C RRT* 0,87	1 semana 80°C RRT* 0,92	2 semanas 80°C RRT* 0,87	2 semanas 80°C RRT* 0,92
Fármaco solamente	0,00	0,08	0,00	0,08
Fármaco y lactosa	0,58	0,39	1,80	0,77
Fármaco, lactosa, estearato de Mg	0,28	0,29	0,06	0,18
Fármaco, lactosa, estearato de Ca	0,11	0,19	0,17	0,19
Fármaco, lactosa, estearato de Na	0,00	0,09	0,00	0,09

* % de área mediante UPLC al RRT indicado. El compuesto de fórmula (I) tiene un RRT = 1,0

El análisis de espectroscopía de masas indica que la sustancia con RRT 0,87 es D019493, y la sustancia con RRT 0,92 es D019492 (confirmado por medio de RMN) (véase el Esquema 1). Las asignaciones de resonancia de RMN para D019492 se dan en la Tabla 14:

10 Tabla 14 - Asignaciones de resonancia de RMN ¹H para D019492

	Asignaciones de RMN ¹ H (600 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm
D019492	1,59 (quin, J=7,30 Hz, 2 H) 2,20 (t, J=7,55 Hz, 2 H) 2,46 - 2,49 (m, 2 H) 3,18 (d, J=7,90 Hz, 6 H) 3,29 - 3,39 (m, 8 H) 4,23 (s, 2 H) 5,24 (s, 2 H) 5,76 (s, 2 H) 6,08 (d, J=7,55 Hz, 1 H) 6,75 (t, J=7,55 Hz, 1 H) 6,83 (dd, J=8,12, 1,70 Hz, 1 H) 6,90 (d, J=7,55 Hz, 1 H) 6,91 - 6,93 (m, 1 H) 7,01 (t, J=7,55 Hz, 1 H) 7,09 (d, J=7,55 Hz, 1 H) 7,29 (m, J=7,93, 7,93 Hz, 1 H) 7,32 (d, J=7,18 Hz, 1 H) 7,66 (d, J=7,93 Hz, 1 H) 7,77 - 7,82 (m, 1 H) 8,17 (s, 1 H) 9,67 (s, 1 H)

15 Los datos mostrados en la Tabla 13 indican un incremento significativo en la estabilidad química para formulaciones que contienen una sal metálica de ácido esteárico en comparación con la misma composición en ausencia de una sal metálica de ácido esteárico, como se evidencia por medio de una cantidad comparativamente pequeña de degradación observada después del almacenamiento durante 1 o 2 semanas a 80°C. Estos resultados sugieren que la estabilidad química de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con lactosa se ve mejorada significativamente por la adición de sales metálicas de ácido esteárico a la composición. Por lo tanto, la adición de sales metálicas de ácido esteárico mejora la compatibilidad química de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa, de modo que podrían ser compatibles en una formulación farmacéutica.

20 **Ejemplo 11 - Preparación de formulaciones farmacéuticas según la invención**

Una formulación farmacéutica ejemplar de la invención consiste en 0,5% en peso del compuesto de fórmula (I) (forma anhidra cristalina sólida, micronizada), 98,5% en peso de monohidrato de lactosa (grado de inhalación) y 1,0% en peso de estearato de magnesio, en la que el porcentaje en peso de todos los componentes está basado en el peso de la formulación farmacéutica seca.

25 Sumario de los resultados descritos en los Ejemplos

Se han identificado las formas de hidrato y anhidra cristalinas sólidas del compuesto de fórmula (I).

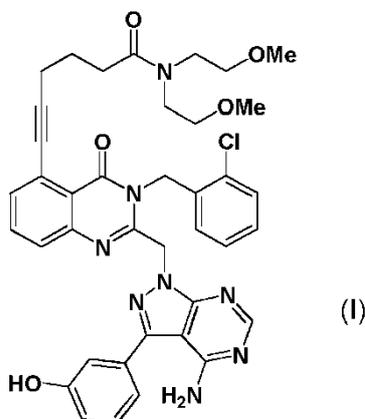
- 5 A partir de los estudios de TGA, DVS, XRPD, IR y DSC, es evidente que la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) (en forma tanto no micronizada como micronizada) y la forma de hidrato cristalino sólido son ambas estables, aunque la forma de hidrato tiene la tendencia a perder algo de agua en condiciones secas, aparentemente sin impacto sobre su estructura cristalina. Las estabilidades químicas de las formas de hidrato y anhidra del compuesto de fórmula (I) son comparables.

Cuando las formas de hidrato y anhidra cristalinas sólidas se ensayaron para determinar su compatibilidad química con lactosa, aunque se encontró que ambas formas eran físicamente compatibles, se observó degradación química para la forma anhidra cristalina sólida en presencia de lactosa.

- 10 Sin embargo, se encontró sorprendentemente que la adición de estearato de magnesio, estearato de calcio o estearato de sodio (ejemplos de una sal metálica de ácido esteárico) a la combinación de la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) y lactosa reduce significativamente la degradación química. Como tal, una formulación farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida, lactosa y una sal metálica de ácido esteárico como estearato de magnesio tiene buena estabilidad física y química.
- 15 A lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo requiera de otro modo, se entenderá que la palabra “comprender” y variaciones como “comprendé” y “que comprende” implican la inclusión de un entero establecido, etapa, grupo de enteros o grupo de etapas, pero no la exclusión de cualquier otro entero, etapa, grupo de enteros o grupo de etapas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I)



5 que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en forma anhidra cristalina sólida.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) está en forma cristalina sólida que tiene el patrón de difracción de polvo de rayos X sustancialmente como se muestra en la Figura 2.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) está en forma cristalina sólida que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que contiene picos a ($\pm 0,2$) 17,6, 18,4, 22,5 y 24,2 grados 2-theta.

10 4. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para uso como un medicamento.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en mezcla con uno o más diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 5, que contiene lactosa como diluyente o portador.

7. Una composición farmacéutica según la reivindicación 6, en la que la lactosa es monohidrato de alfa-lactosa.

15 8. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 5, 6 y 7, que contiene un agente estabilizador seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico y sales metálicas de estearil fumarato.

9. Una composición farmacéutica según la reivindicación 8, en la que el agente estabilizador es una sal metálica de ácido esteárico

20 10. Una composición farmacéutica según la reivindicación 9, en la que el agente estabilizador es estearato de magnesio.

11. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, que comprende el compuesto de fórmula (I) en forma micronizada.

12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, para uso en el tratamiento o prevención de una afección seleccionada de:

25 EPOC (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma incluyendo asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, caquexia e inhibición del crecimiento y metástasis de tumores pulmonares incluyendo carcinoma pulmonar no microcítico.

30 13. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende la etapa de cristalizar un compuesto de fórmula (I) en 1-propanol seco.

14. Un procedimiento según la reivindicación 13, en el que la etapa de cristalización implica enfriar desde temperatura elevada.

15. Un dispositivo de inhalación que comprende una o más dosis de una formulación farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11.

35

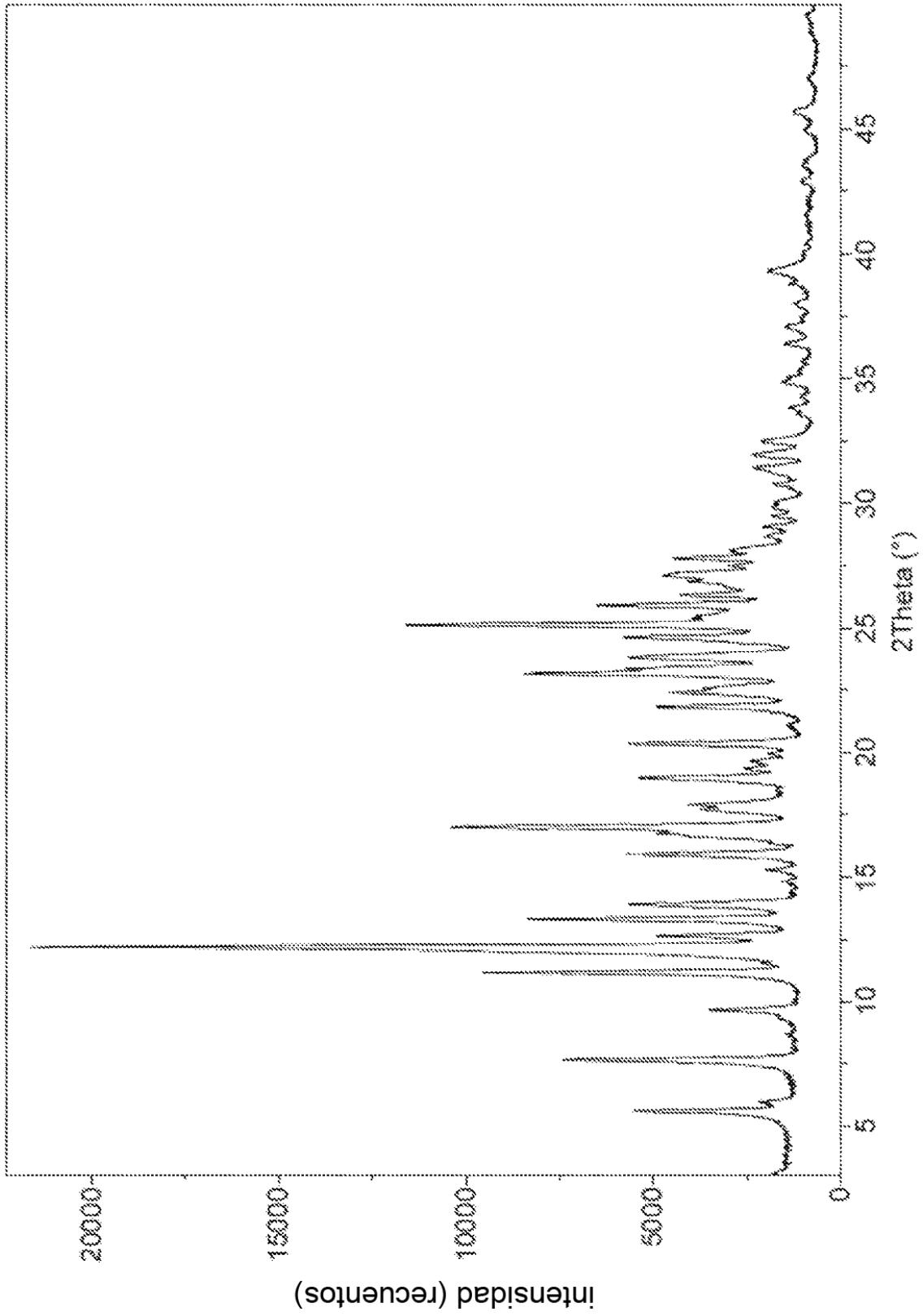


FIG. 1

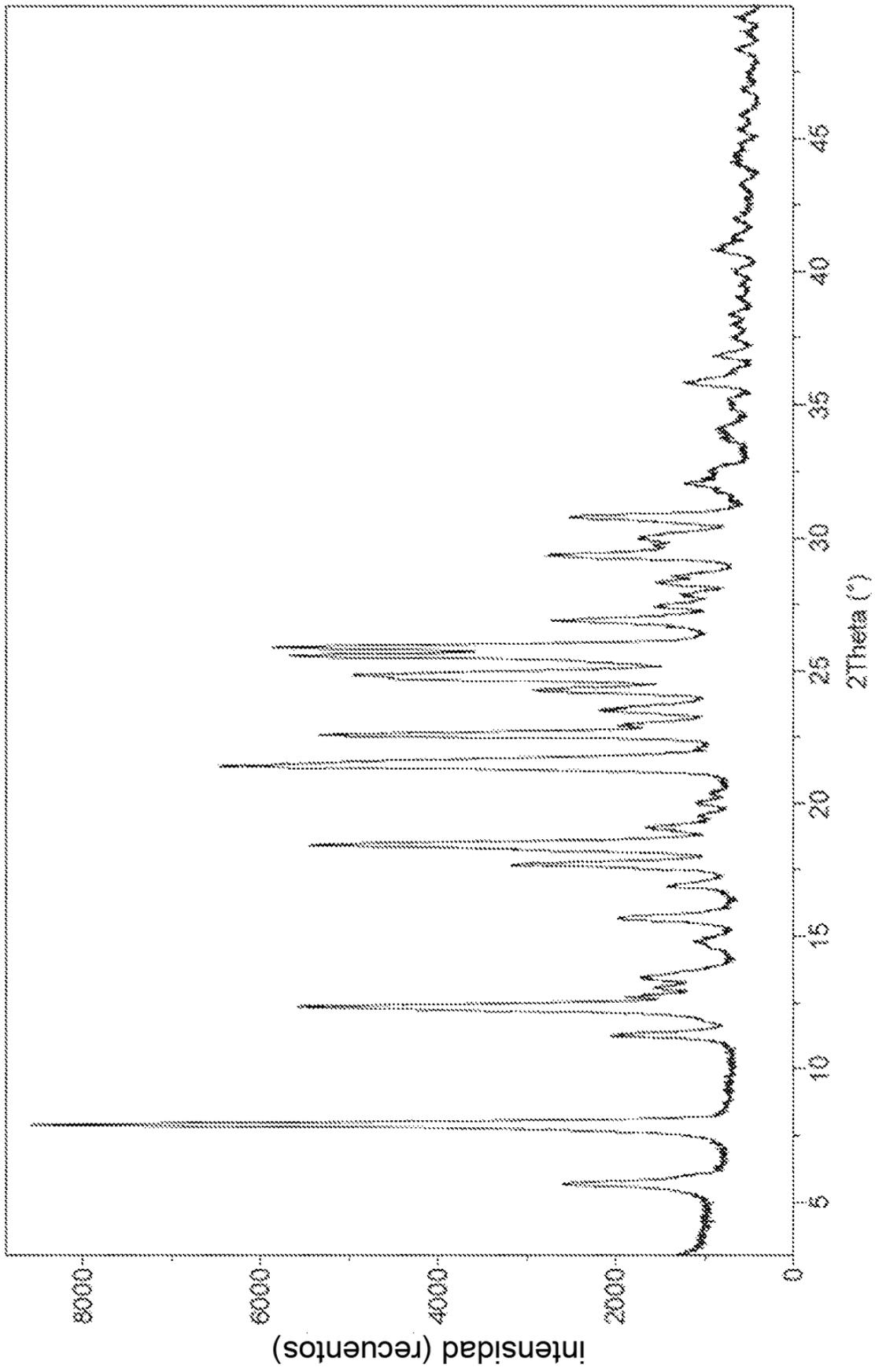


FIG. 2

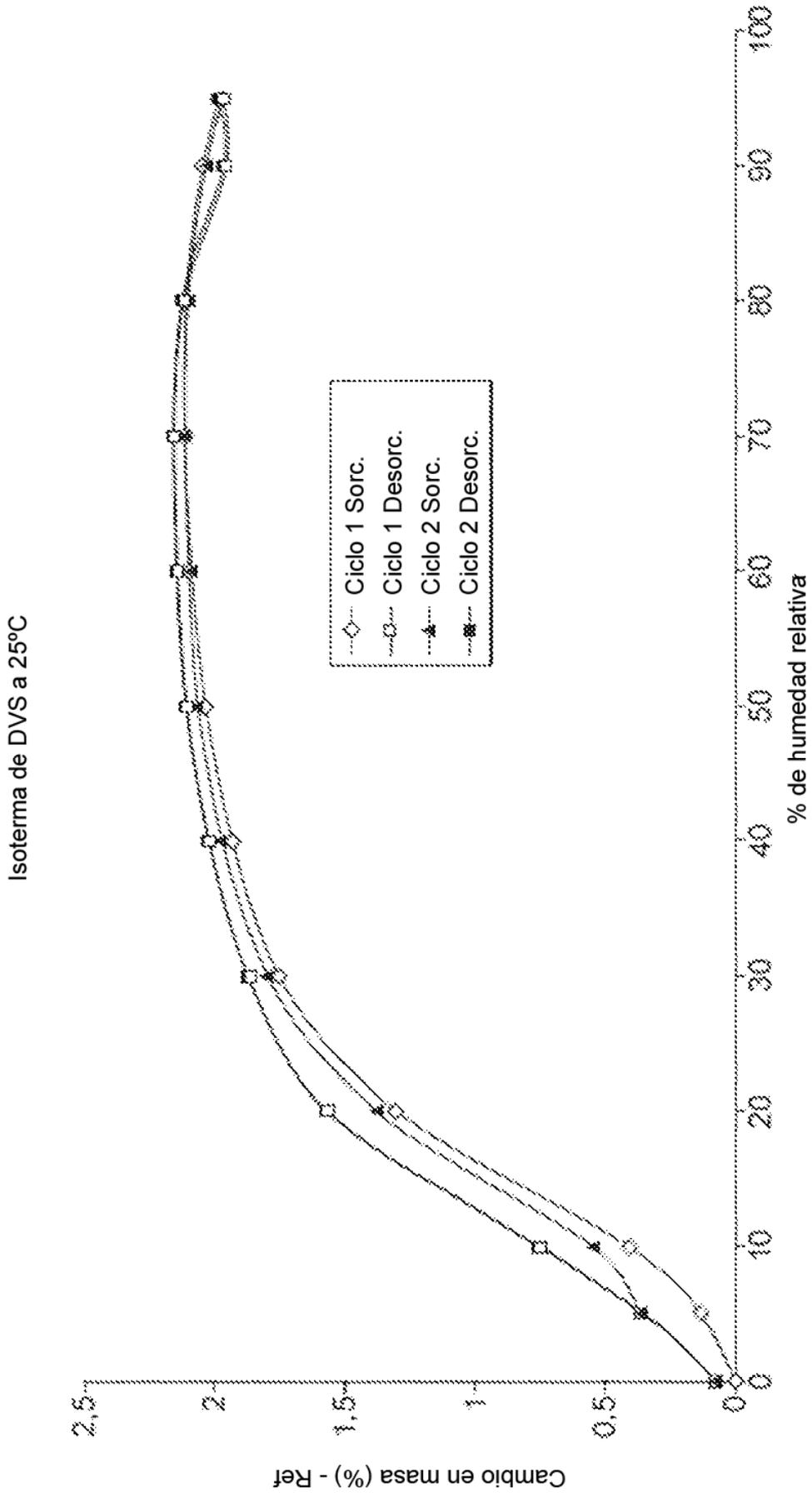


FIG. 3

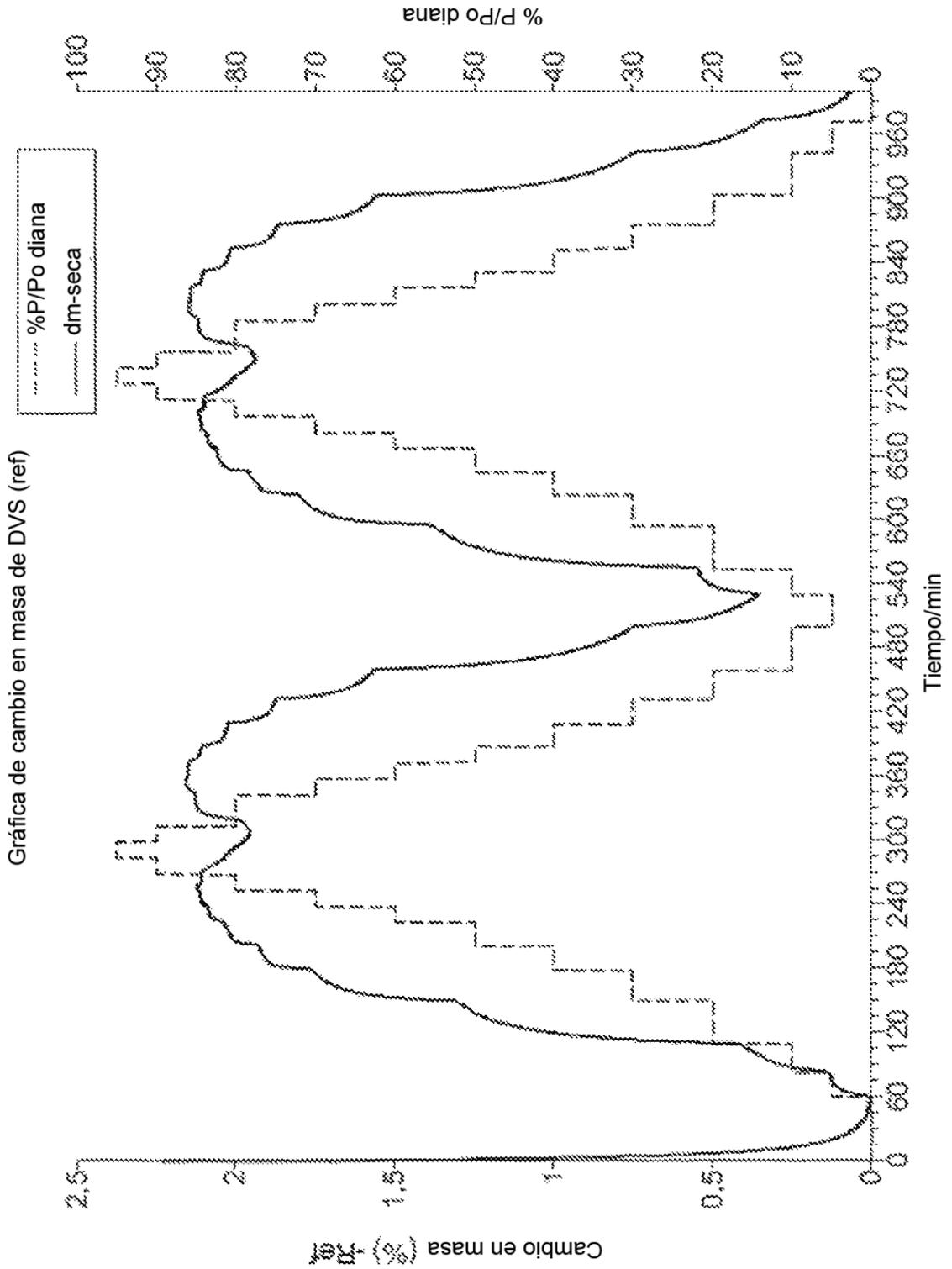


FIG. 4

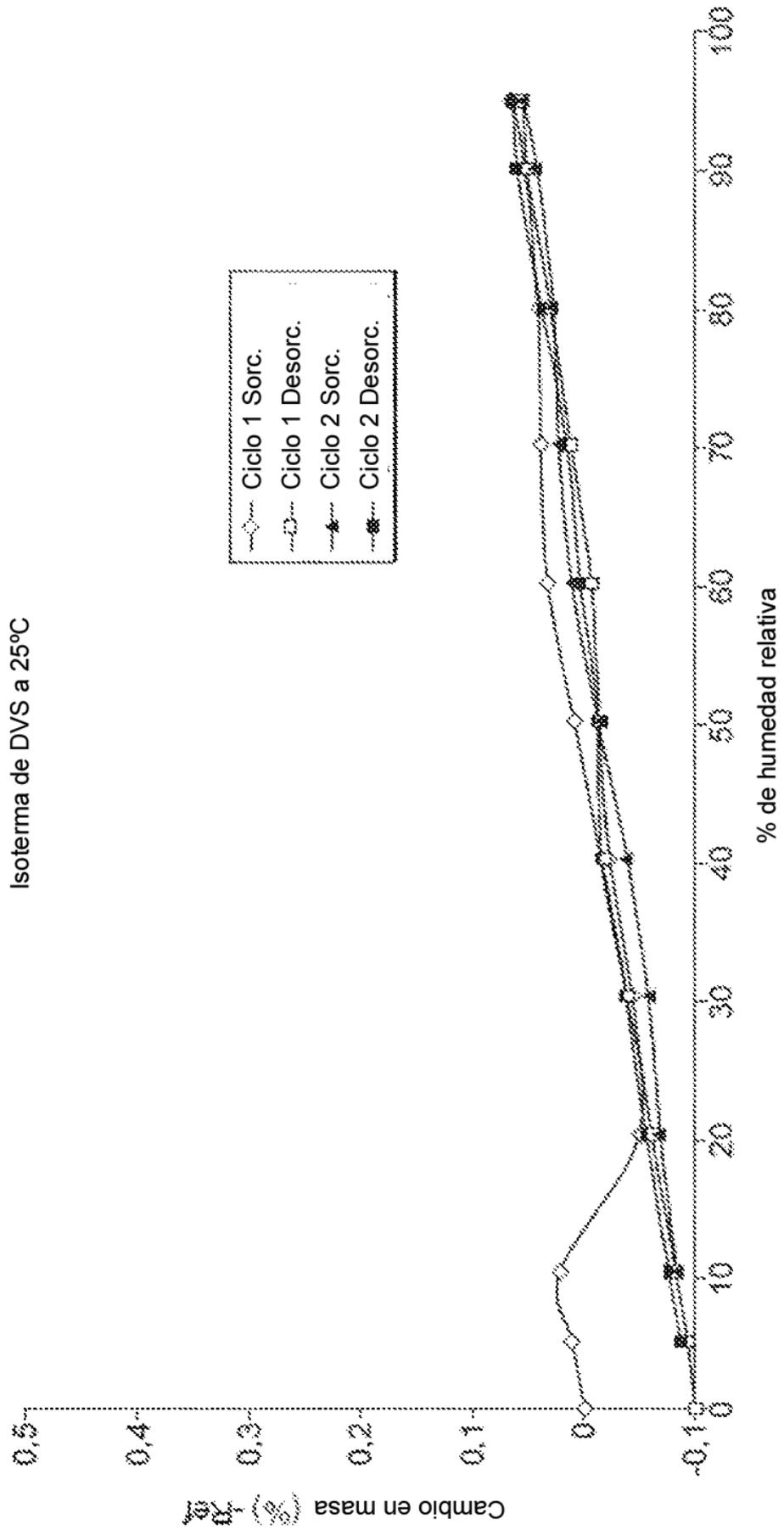


FIG. 5

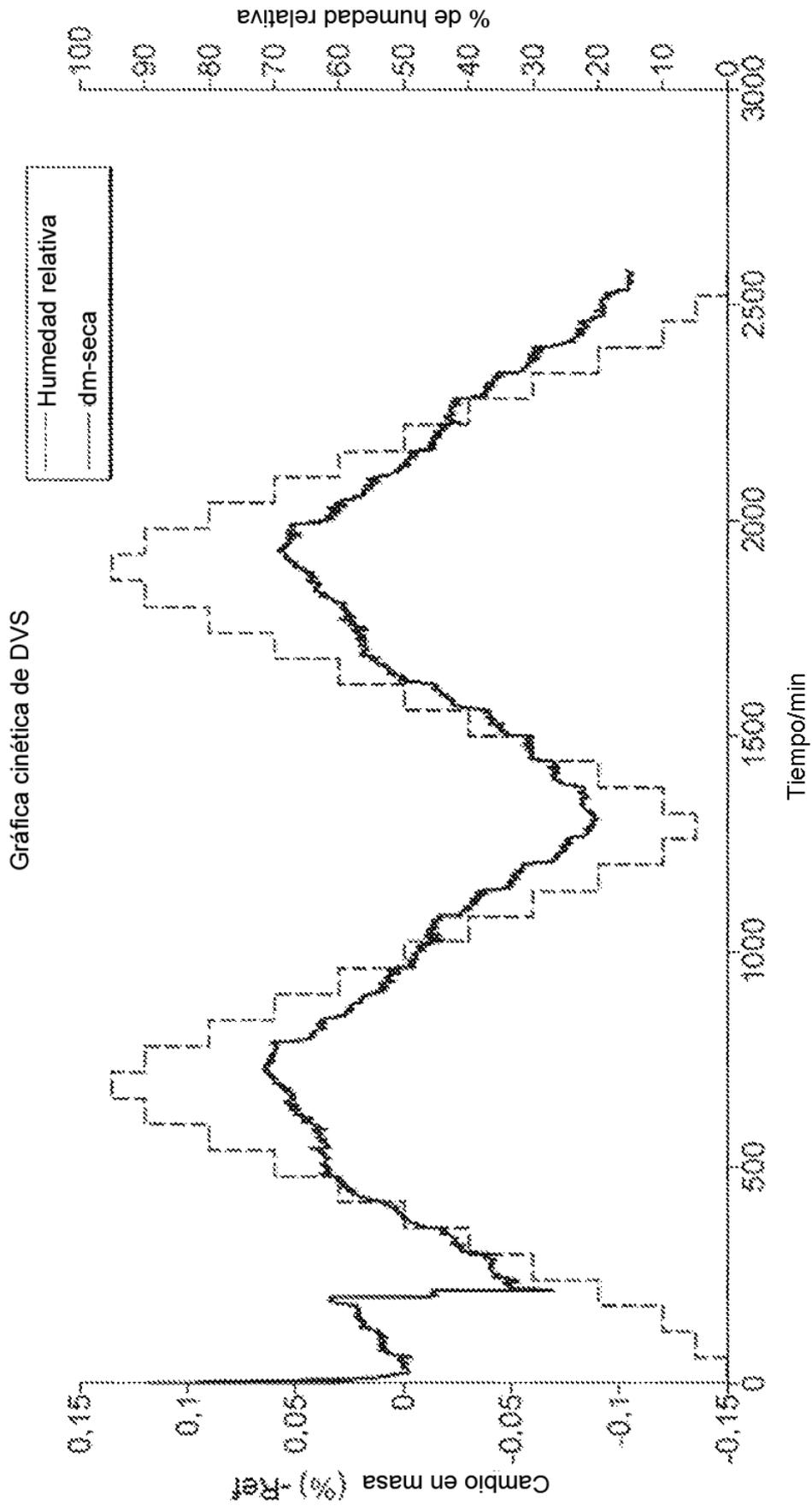


FIG. 6

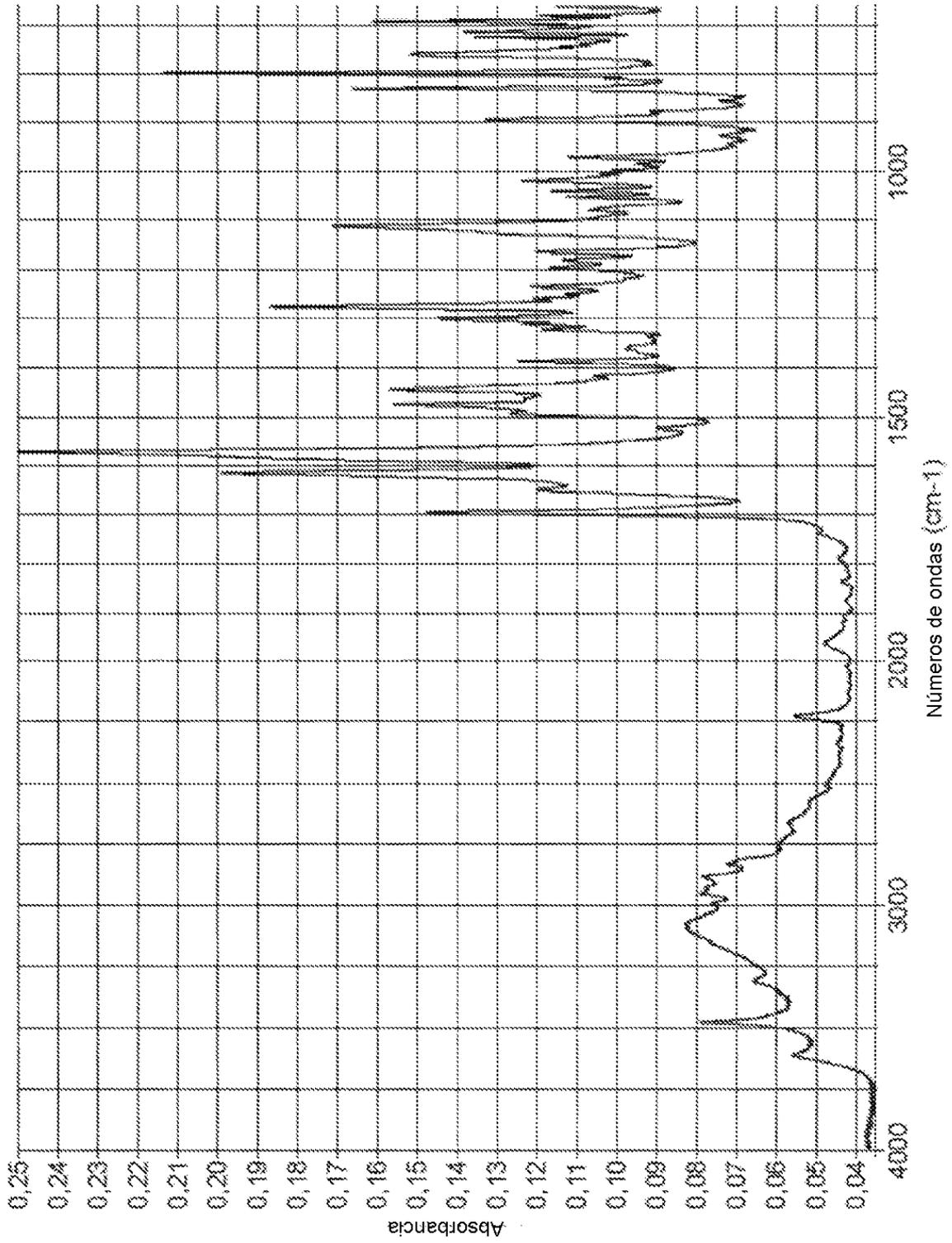


FIG. 7

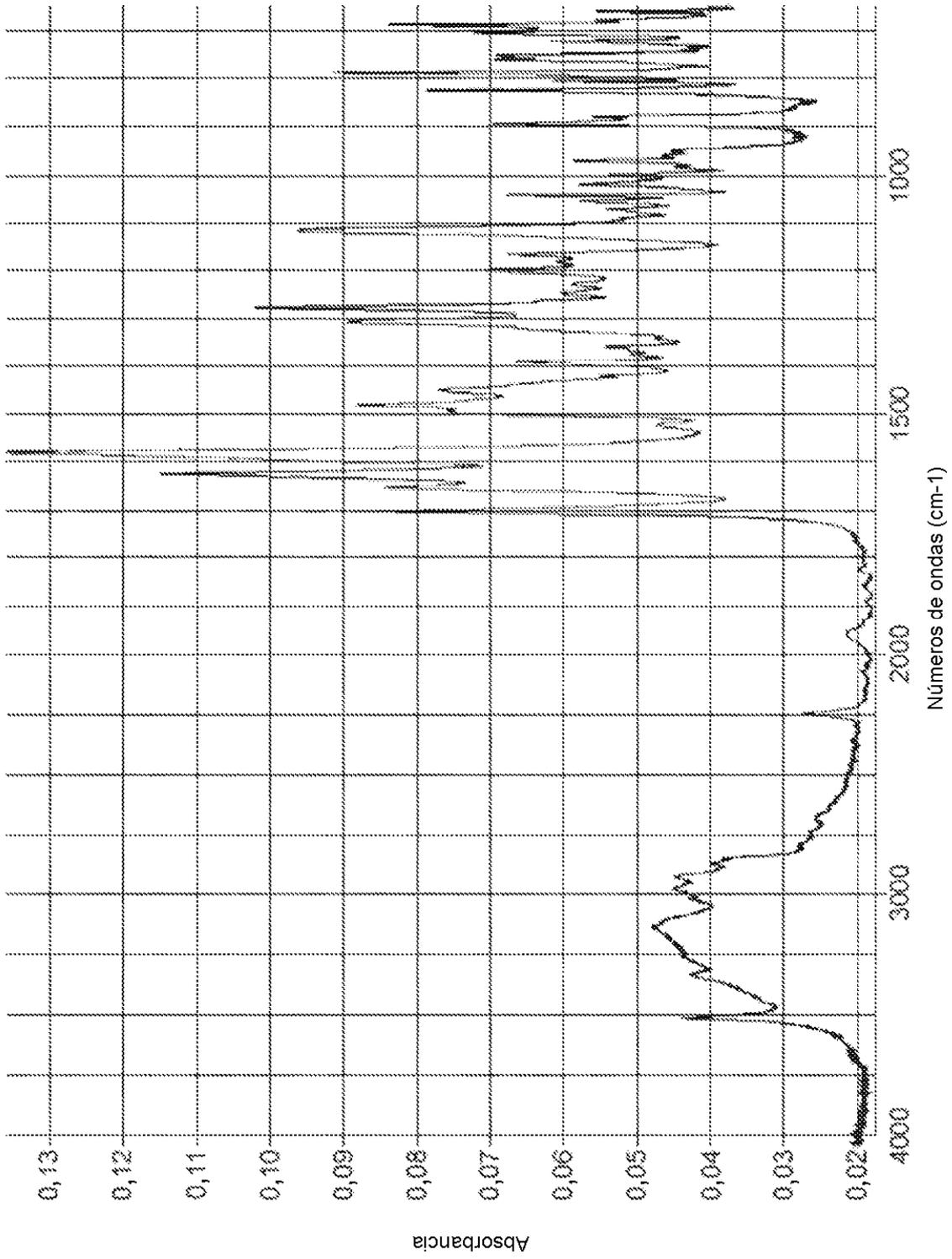


FIG. 8

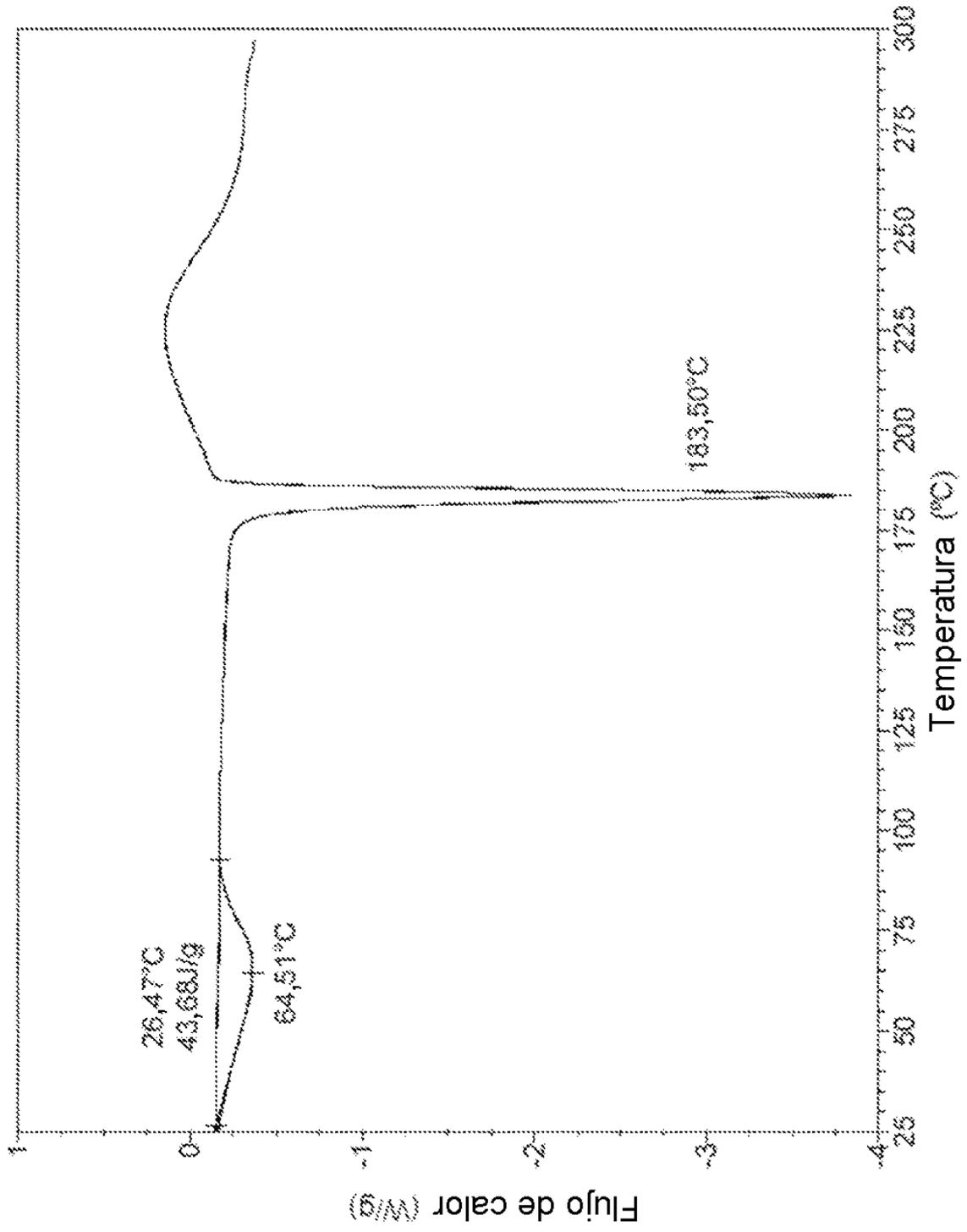


FIG. 9

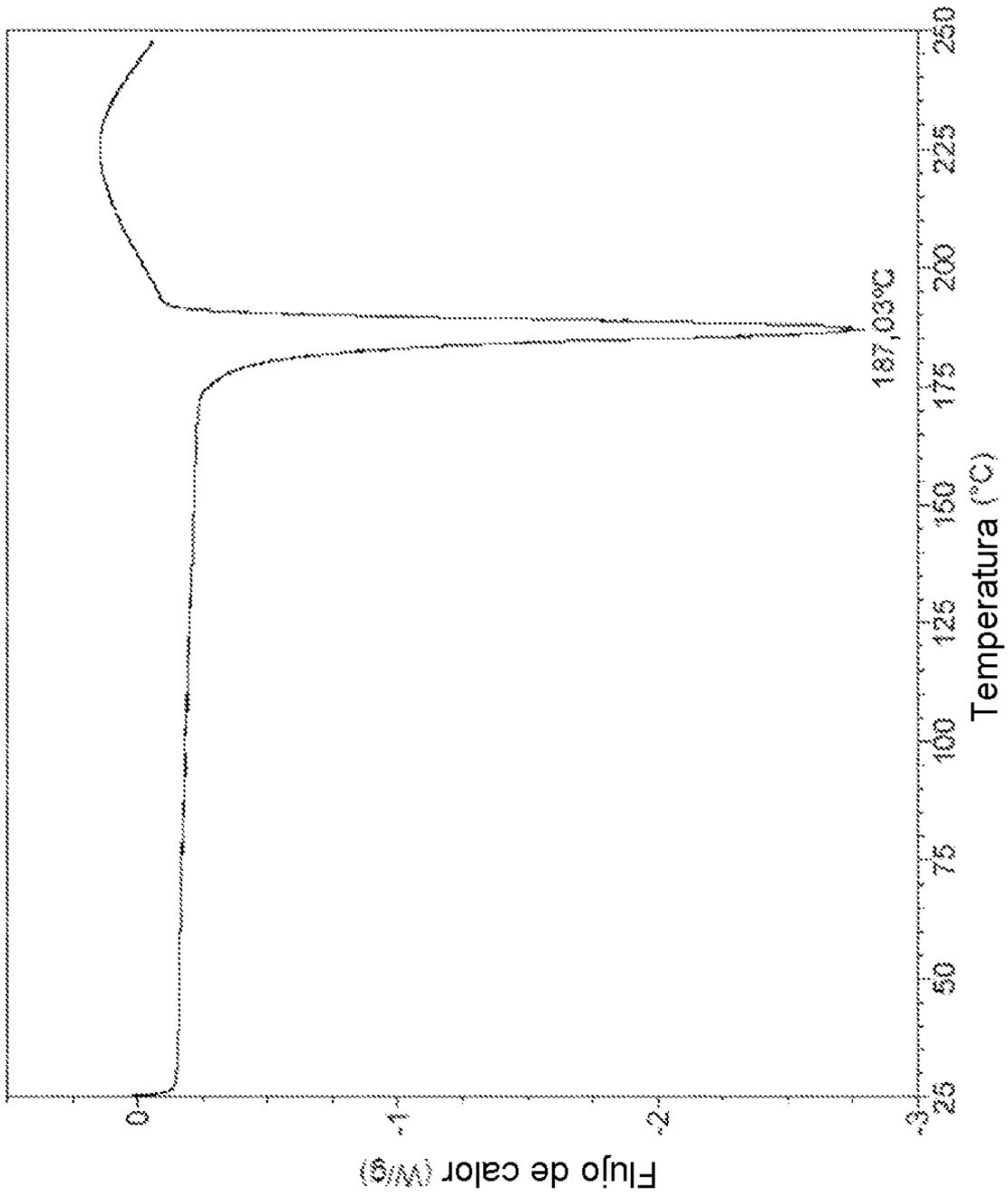


FIG. 10

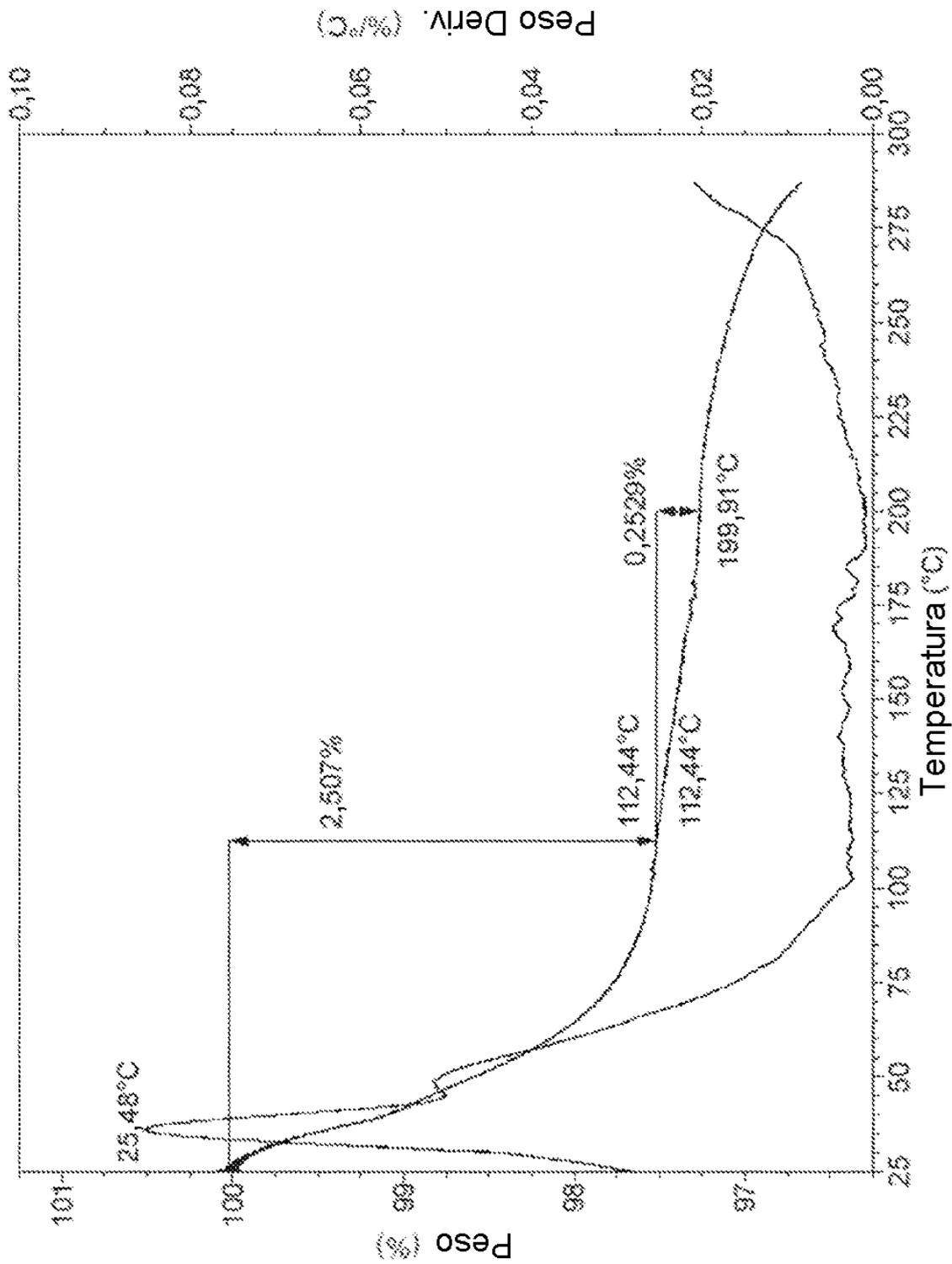


FIG. 11

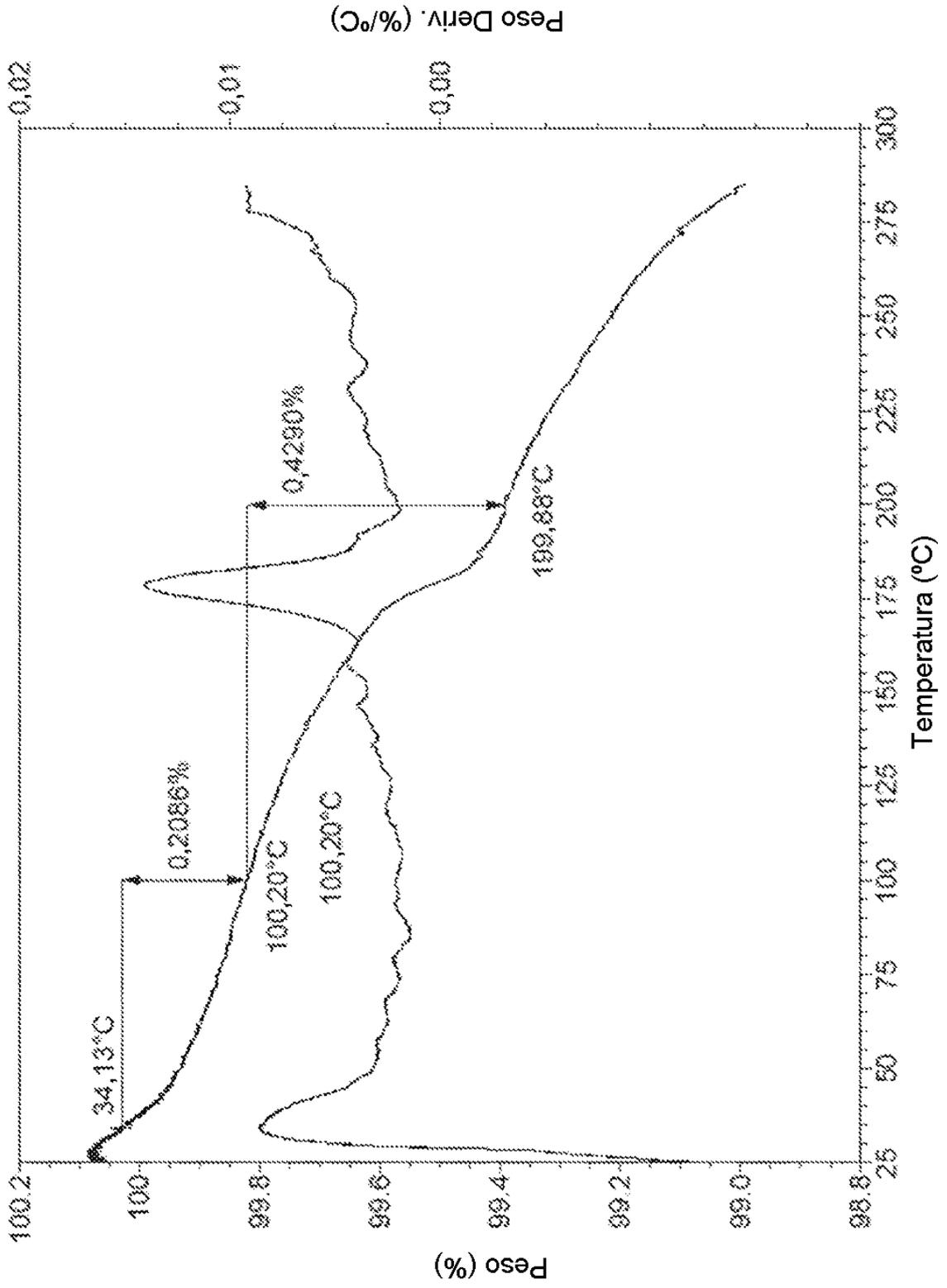


FIG. 12

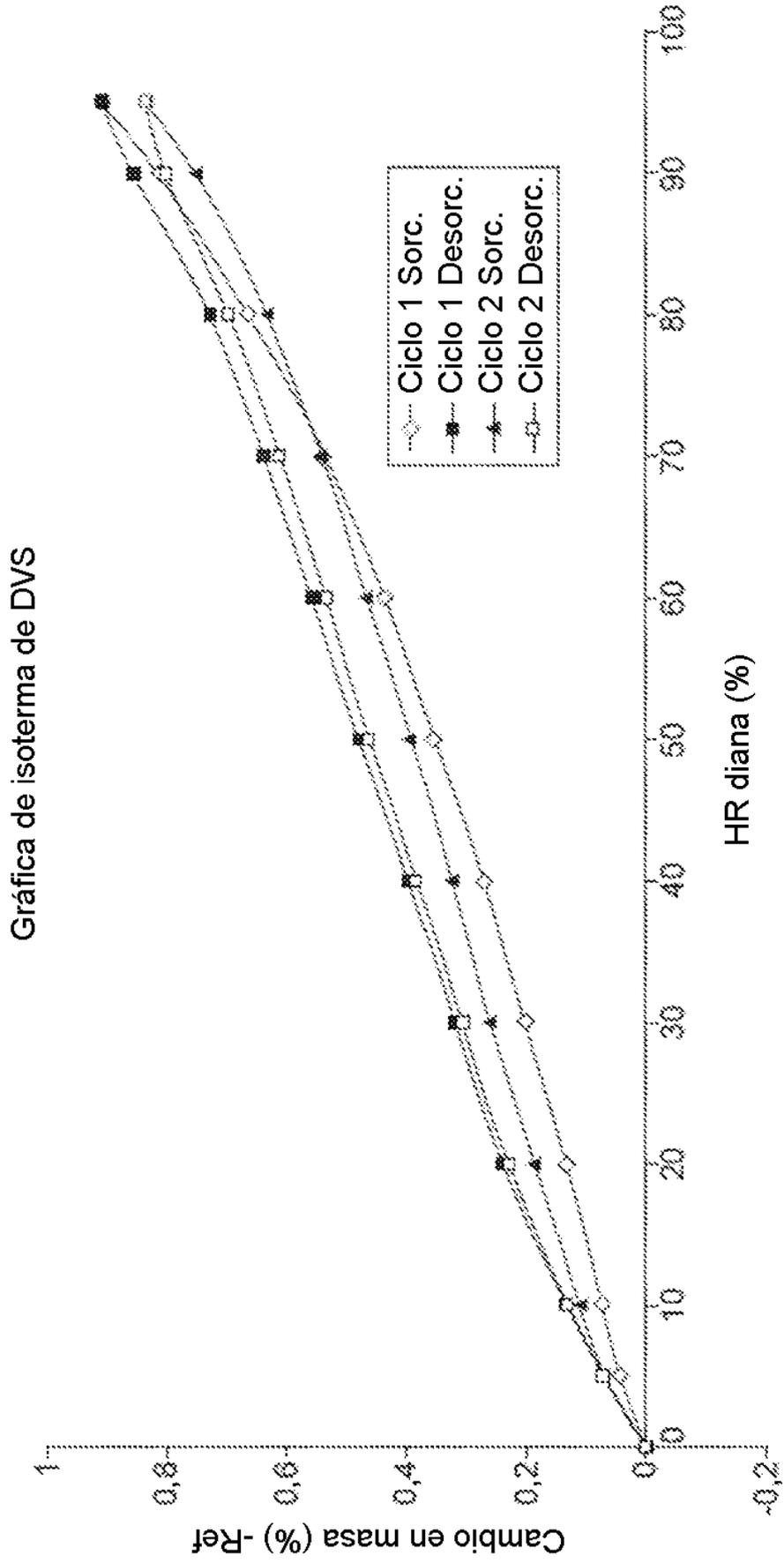


FIG. 13

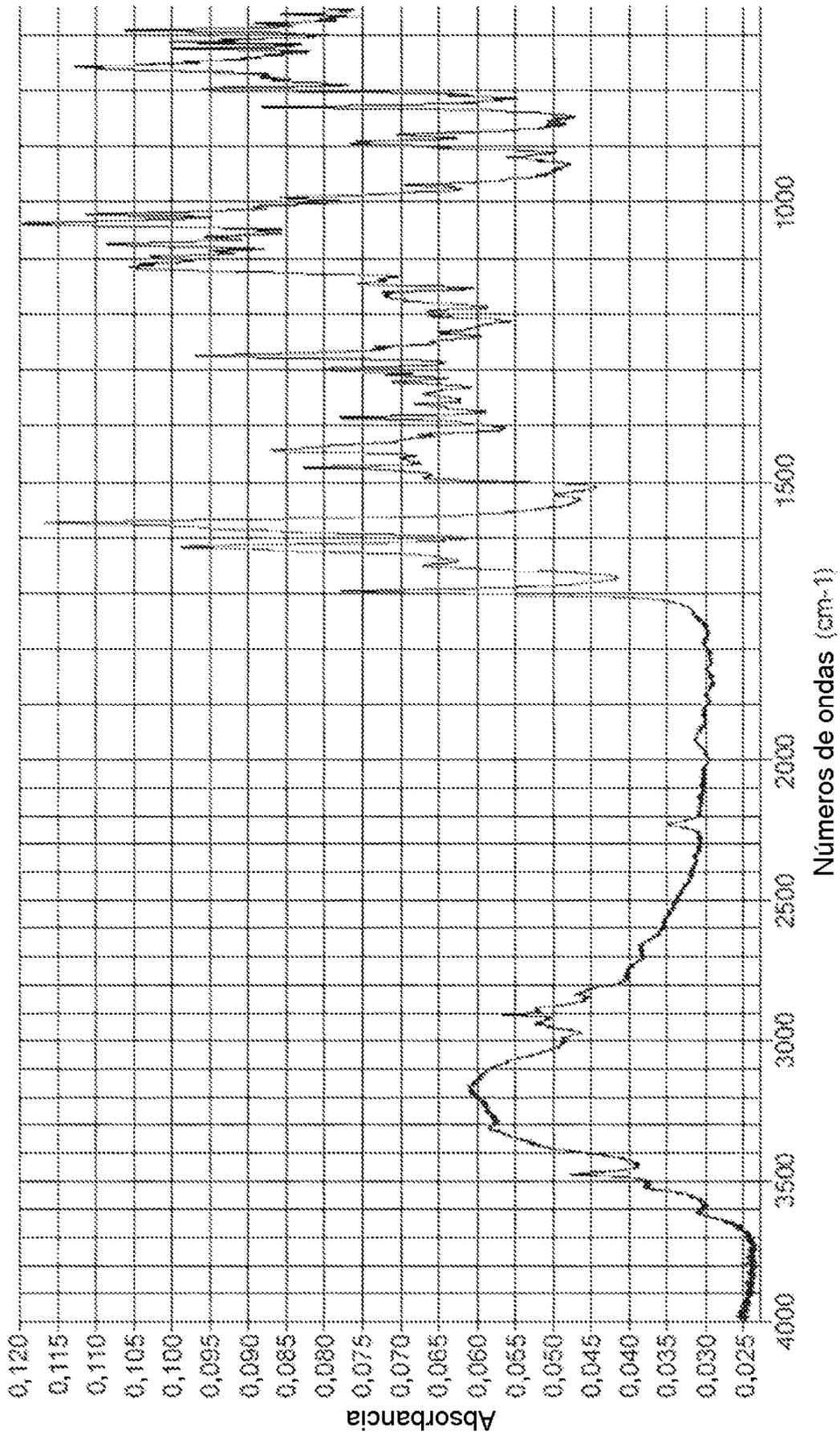


FIG. 14

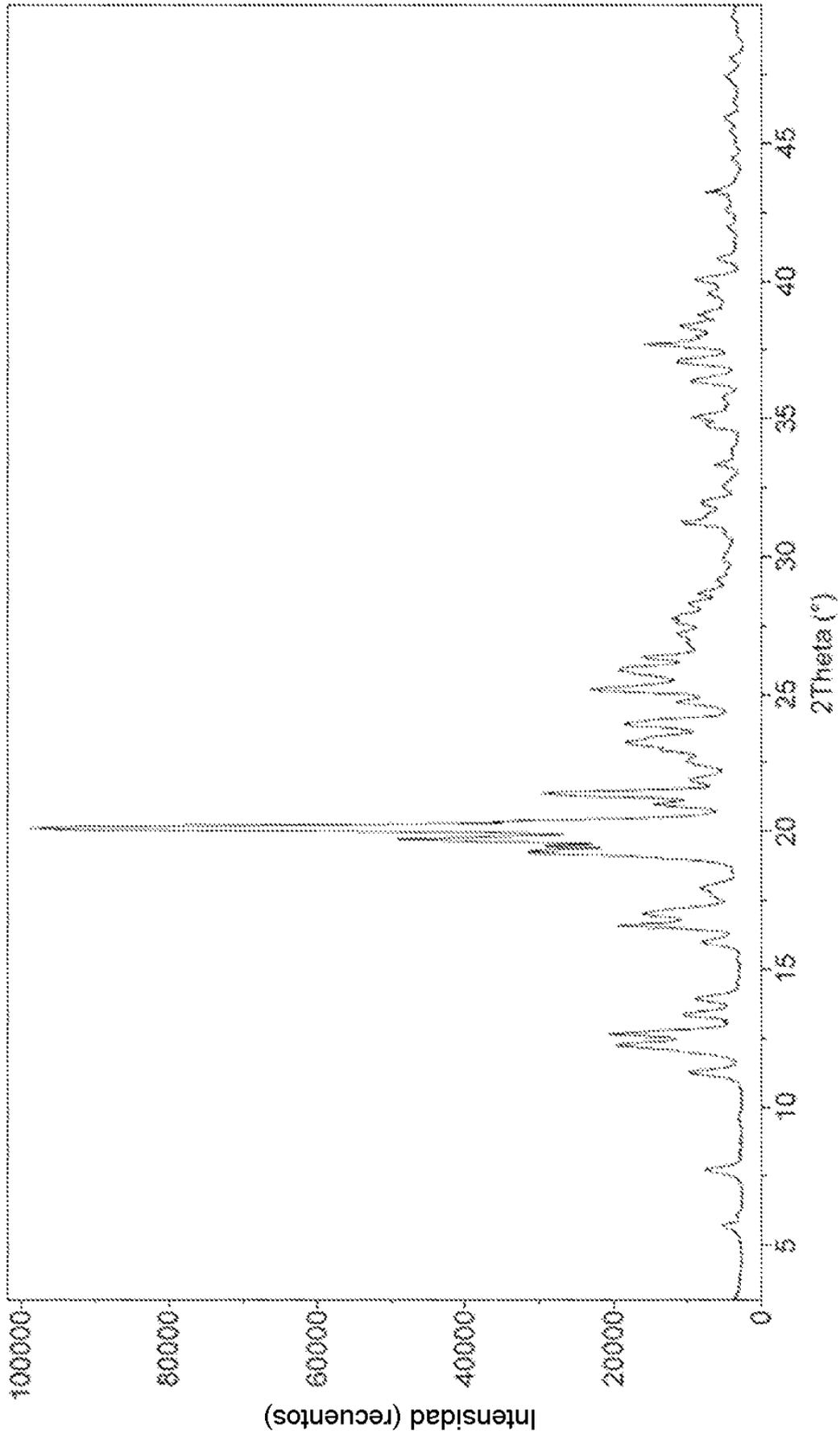


FIG. 15

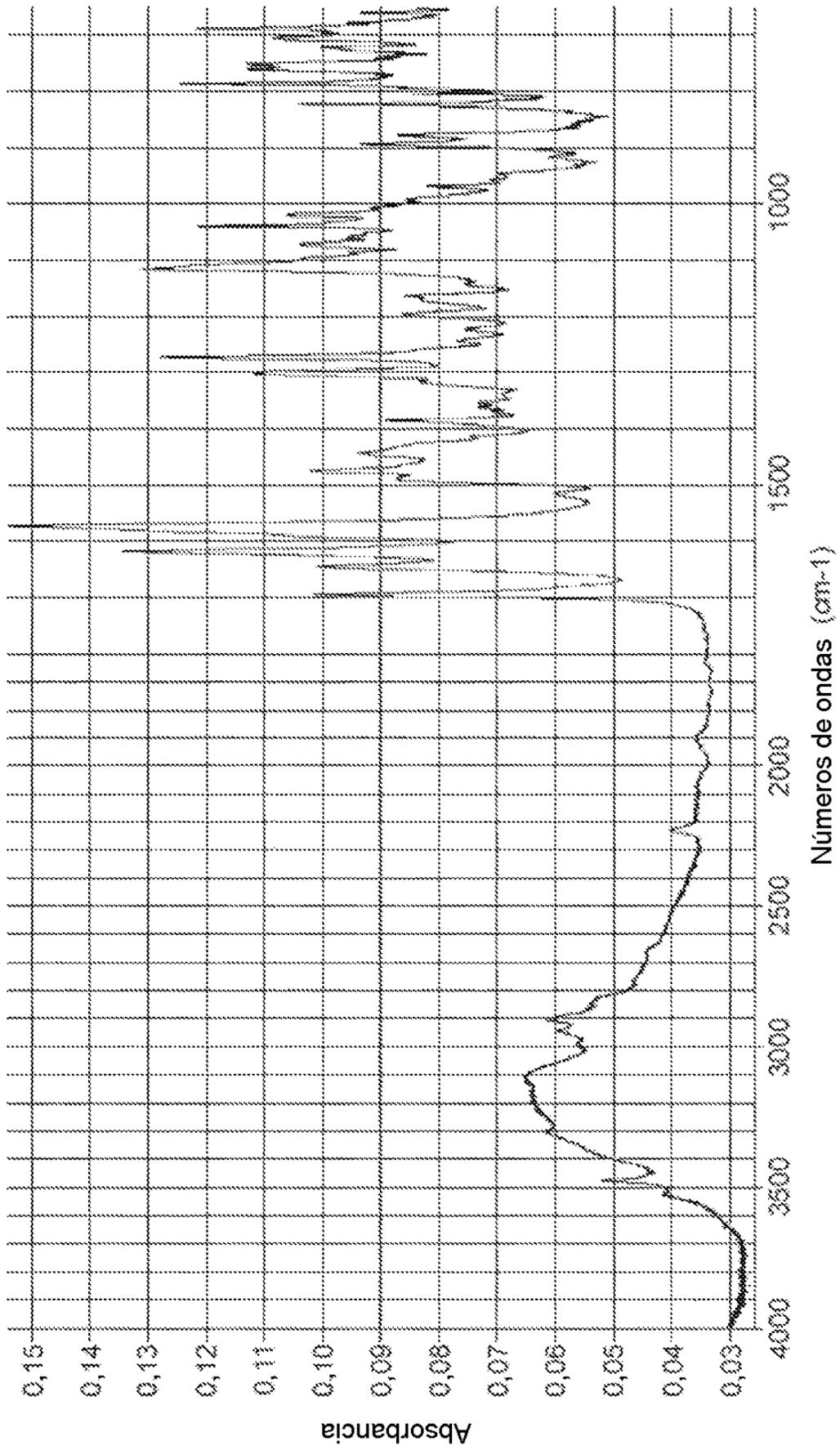


FIG. 16

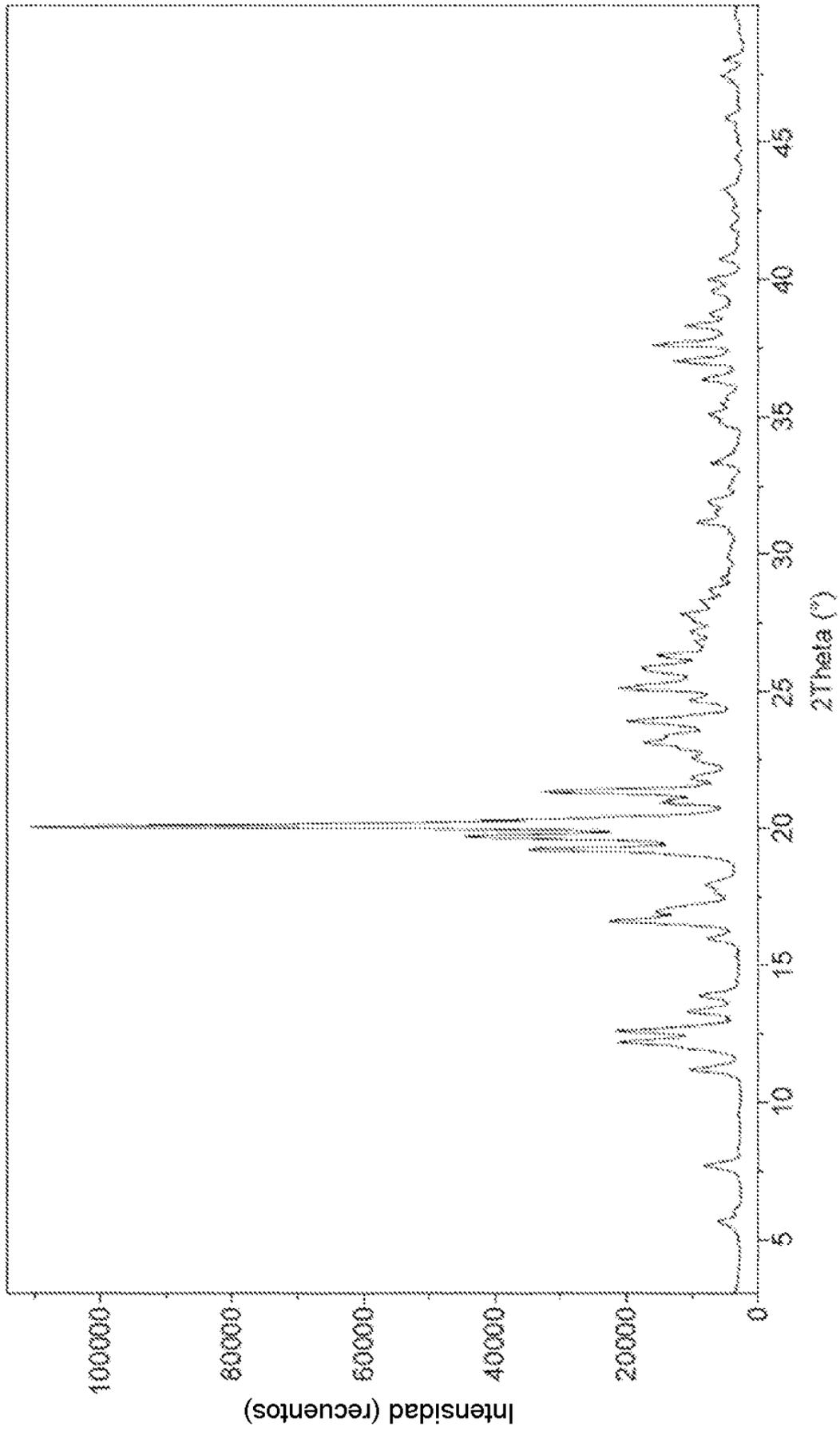


FIG. 17

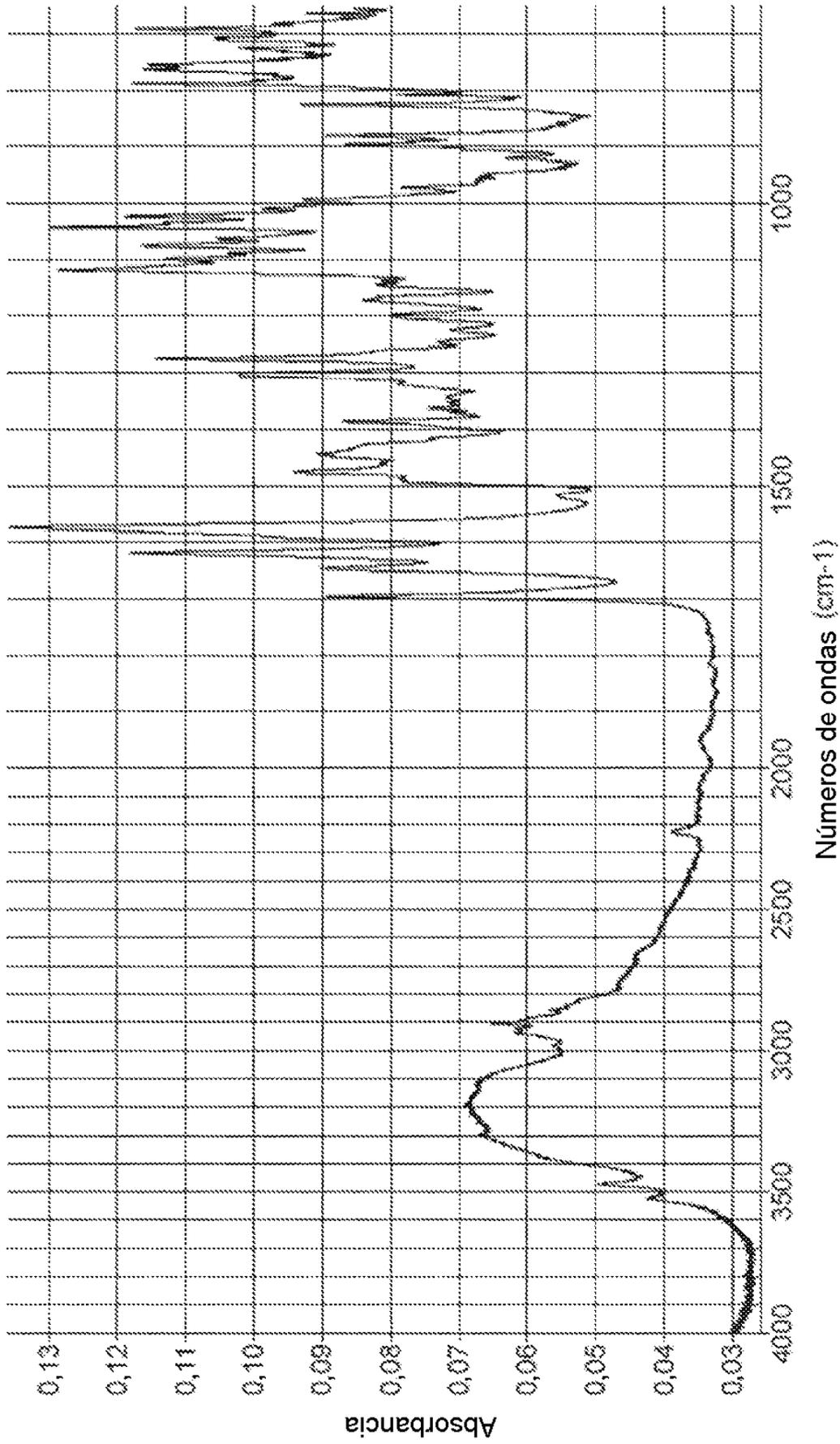


FIG. 18

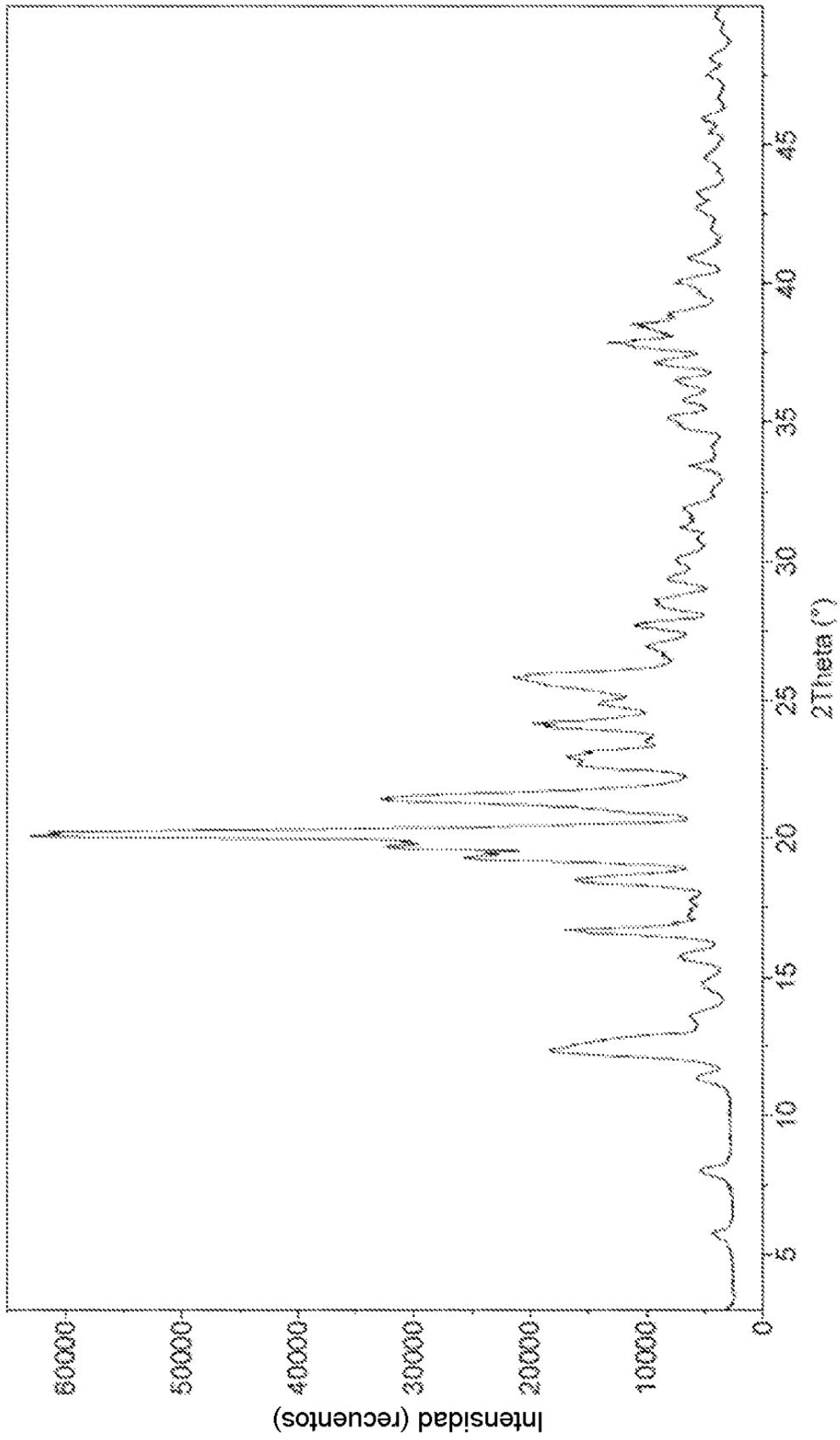


FIG. 19