

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 094**

51 Int. Cl.:

**C07D 403/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2002 E 11156767 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 2332934**

54 Título: **Procedimientos de preparación de cristales que incluyen una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida**

30 Prioridad:

**15.08.2001 US 312353 P**

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

**10.07.2017**

73 Titular/es:

**PHARMACIA & UPJOHN COMPANY LLC (100.0%)  
7000 Portage Road  
Kalamazoo, MI 49001, US**

72 Inventor/es:

**HAWLEY, MICHAEL;  
FLECK, THOMAS, J.;  
PRESCOTT, STEPHEN, P. y  
MALONEY, MARK, T.**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 623 094 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

Procedimientos de preparación de cristales que incluyen una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar cristales, en el que los cristales incluyen una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida.

**Antecedentes**

- 10 Las PK (del inglés *Protein Kinase*) son enzimas que catalizan la fosforilación de grupos hidroxilo en restos de proteínas tirosina, serina y treonina. Las consecuencias de esta actividad aparentemente sencilla son alarmantes: crecimiento, diferenciación y proliferación celular, es decir, prácticamente todos los aspectos de la vida celular de una manera u otra, dependen de la actividad PK. Adicionalmente, la actividad PK anormal se ha relacionado con una serie de trastornos, que van desde enfermedades relativamente no amenazantes para la vida, tales como la psoriasis, a enfermedades extremadamente virulentas tales como glioblastoma (cáncer cerebral). Las PK pueden dividirse convenientemente en dos clases, las proteínas tirosina quinasas (PTK) y las serina-treonina quinasas (STK).

- 20 Uno de los aspectos principales de la actividad PTK es su implicación con los receptores de los factores de crecimiento. Los receptores de factores de crecimiento son proteínas de la superficie celular. Cuando se unen mediante un ligando del factor de crecimiento, los receptores de factores de crecimiento se convierten en una forma activa, que interactúa con las proteínas en la superficie interna de una membrana celular. Esto conduce a la fosforilación en residuos de tirosina del receptor y otras proteínas y a la formación dentro de la célula de complejos con una diversidad de moléculas de señalización citoplasmáticas que, a su vez, producen numerosas respuestas celulares tales como división celular (proliferación), diferenciación celular, crecimiento celular, expresión de efectores metabólicos al microentorno extracelular, etc.

- 25 Las moléculas pequeñas que actúan como inhibidores de PK se han identificado e incluyen, por ejemplo, compuestos 2-indolinona sustituidos con 3-pirrol como se describe en la Publicación Internacional PCT N.º WO 01/60814 (Tang y col.). Los compuestos 2-indolinona sustituidos con 3-pirrol incluyen, por ejemplo, N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida como se describe en la Publicación Internacional PCT N.º WO 01/60814 (Tang y col.). Sin embargo, la divulgación no hace ninguna mención acerca de la preparación y la naturaleza de las formas cristalinas específicas de las sales de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida. Existe una necesidad de formas cristalinas de dichos materiales que tengan propiedades químicas y/o físicas superiores que sean útiles en aplicaciones de administración de fármacos.

**Sumario de la invención**

- 35 En un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un cristal anhidro que comprende una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida en el que el cristal anhidro tiene picos de difracción característicos en 13,2 y 24,2 grados dos-theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo, comprendiendo el procedimiento:

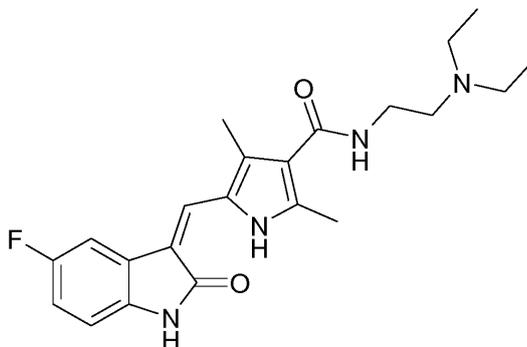
- 40 combinar ácido L-málico, N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida; y un disolvente; e

- 45 inducir la cristalización de la sal en condiciones de cristalización que comprenden: una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización de como mucho aproximadamente 100 °C; una velocidad de enfriamiento de como mucho aproximadamente 50 °C por hora; sin siembra; una relación de sobresaturación de como mucho aproximadamente 10; sin precipitación; y/o combinaciones de los mismos. Preferentemente, el disolvente incluye uno o más disolventes que incluyen, por ejemplo, acetonitrilo, metanol, etanol, isopropanol, tolueno, n-butanol, tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, acetona, agua y combinaciones de los mismos.

- 50 En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento de preparación de un cristal anhidro que comprende una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida en el que el cristal anhidro tiene picos de difracción característicos en 13,2 y 24,2 grados dos-theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo, comprendiendo el procedimiento: poner en contacto un cristal que comprende una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida y un disolvente en el que el cristal que contacta tiene solubilidad sustancial, en el que el cristal que contacta tiene picos de difracción característicos en aproximadamente 3,0 y 27,7 grados dos-theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo. Preferentemente, el disolvente incluye uno o más disolventes que incluyen, por ejemplo, acetonitrilo, etanol, metanol y combinaciones de los mismos.

Preferentemente, poner en contacto el cristal con el disolvente forma una suspensión, y la suspensión preferentemente se agita y/o se calienta. Opcionalmente, el cristal anhidro puede retirarse de la suspensión.

Es posible preparar un cristal que incluye una sal de ácido málico de un compuesto que tiene la estructura:



5 El compuesto con la estructura anterior también se conoce como N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida. La sal de ácido málico puede ser una sal de ácido D-málico; ácido D,L-málico; ácido L-málico; o combinaciones de los mismos. Preferentemente, la sal de ácido málico es una sal de ácido L-málico. Preferentemente, el cristal es anhidro. Preferentemente, el cristal tiene picos de difracción característicos a aproximadamente 13,2 y 24,2 grados dos theta y, más preferentemente, a  
10 aproximadamente 13,2, 19,4, 24,2 y 25,5 grados dos theta y, más preferentemente como se indica en la Tabla 1 para la Forma Cristalina I, en un patrón de difracción de rayos X de polvo. Preferentemente, el cristal incluye como máximo aproximadamente el 2 % en peso de agua, más preferentemente, como máximo aproximadamente el 0,5 % en peso de agua y, más preferentemente, como máximo aproximadamente el 0,2 % en peso de agua. Preferentemente, el cristal tiene un punto de fusión de al menos aproximadamente 190 °C y, más preferentemente,  
15 de al menos aproximadamente 195 °C. Pueden prepararse composiciones que incluyen los cristales descritos en el presente documento. Preferentemente, las composiciones incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de los cristales. Opcionalmente, las composiciones incluyen un excipiente, preferentemente un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 Otro cristal que incluye una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida tiene picos de difracción característicos a aproximadamente 3,0 y 27,7 grados dos theta, más preferentemente a aproximadamente 3,0, 12,1, 14,5 y 27,7 grados dos theta y, más preferentemente como se indica en la Tabla 1 para la Forma Cristalina II, en un patrón de difracción de rayos X de polvo. Típicamente, el cristal absorbe al menos aproximadamente el 5 % en peso de agua tras la exposición a un 80 % de humedad relativa y tiene un punto de fusión de como mucho aproximadamente 185 °C. También pueden  
25 prepararse composiciones que incluyen los cristales descritos en el presente documento. Preferentemente, las composiciones incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de los cristales. Opcionalmente, las composiciones incluyen un excipiente, preferentemente un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 Un procedimiento de preparación de un cristal que incluye una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida (por ejemplo, la Forma Cristalina II) incluye: combinar ácido málico; N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida; y un disolvente; e inducir la cristalización de la sal en condiciones de cristalización (por ejemplo, condiciones de cristalización de la Forma Cristalina II), que incluyen uno o más factores incluyendo: una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización de al menos aproximadamente 25 °C; una velocidad de enfriamiento de al menos aproximadamente 25 °C por hora; siembra; una relación de sobresaturación de al menos aproximadamente 2; presencia de un agente de precipitación y/o combinaciones de los  
35 mismos. Preferentemente, el disolvente incluye uno o más disolventes, incluyendo, por ejemplo, metanol, agua, mezclas de tetrahidrofurano/agua y combinaciones de los mismos. El cristal tiene picos de difracción característicos a aproximadamente 3,0 y 27,7 grados dos-theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo.

40 La Forma Cristalina I anhidra es ventajosa con respecto a la Forma Cristalina II para muchas aplicaciones debido a que las propiedades que la Forma Cristalina I ofrece incluyen preferentemente, por ejemplo, mayor estabilidad termodinámica, una mayor cristalinidad y menor higroscopicidad que las respectivas propiedades de la Forma Cristalina II.

45 Numerosos factores afectan a las condiciones de cristalización, y se conocen bien por una persona experta en la materia. Tales factores incluyen, por ejemplo: la concentración de la sal en la solución de cristalización; la diferencia, si la hay, entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización; la velocidad de enfriamiento, en su caso; la tasa de vaporización de disolvente, si la hay; la siembra; relación de sobresaturación y presencia de un agente de precipitación. Con la guía de la divulgación proporcionada en el presente documento, una persona con conocimientos en la materia, sin experimentación indebida, puede seleccionar y/o ajustar uno o más factores apropiados para llegar a las condiciones de cristalización para proporcionar la Forma Cristalina I y/o la Forma

## Cristalina II.

Como se usa en el presente documento, "relación de sobresaturación" se refiere a la relación de la concentración del material en solución a la concentración del material en una solución saturada a la temperatura de cristalización.

5 Como se usa en el presente documento, "siembra" se refiere a la técnica de añadir un cristal "semilla" a la solución de cristalización para promover la formación de cristales. Preferentemente, la composición del cristal semilla es la misma que la composición de los cristales que se están formando.

10 Como se usa en el presente documento, "agente de precipitación" significa una sustancia que tiende a inducir cristalización cuando se añade a una solución de cristalización. Los agentes de precipitación útiles incluyen, por ejemplo, no disolventes para la sal y soluciones incluyendo el exceso de contraiones. Como se usa en el presente documento, un no disolvente es un disolvente en el que la sal tiene preferentemente una solubilidad de como mucho aproximadamente el 1 % en peso, más preferentemente como mucho aproximadamente el 0,1 % en peso y, más preferentemente, como mucho aproximadamente el 0,01 % en peso.

15 Como se usa en el presente documento, "cristal anhidro" significa un cristal en el que el agua no está unida específicamente. Preferentemente los cristales anhidros no incluyen cantidades sustanciales de agua. El contenido de agua puede determinarse mediante procedimientos conocidos en la técnica incluyendo, por ejemplo, valoraciones de Karl Fischer. Preferentemente un cristal anhidro incluye como máximo aproximadamente el 2 % en peso de agua, más preferentemente, como máximo aproximadamente el 0,5 % en peso de agua y, más preferentemente, como máximo aproximadamente el 0,2 % en peso de agua.

20 Como se usa en el presente documento, "cristalino" significa un material que tiene una estructura molecular ordenada, de largo alcance. El grado de cristalinidad de una forma cristalina puede determinarse mediante muchas técnicas que incluyen, por ejemplo, difracción de rayos X de polvo, absorción de humedad, calorimetría diferencial de barrido, calorimetría de solución y propiedades de disolución.

25 Como se usa en el presente documento, "más cristalino" significa que un material tiene un mayor grado de cristalinidad que el material con el que se está comparando. Los materiales con grados de cristalinidad más altos generalmente tienen una estructura molecular altamente ordenada, de largo alcance, con menos defectos en la estructura cristalina que los materiales con grados de cristalinidad más bajos. El mayor grado de cristalinidad puede evaluarse con relación a la otra forma mediante técnicas que incluyen, por ejemplo, reflexiones más nítidas en el patrón de difracción de rayos X de polvo, menor absorción de humedad para partículas de tamaño similar a una humedad relativa especificada, menor calor de la solución, mayor calor de fusión, menor velocidad de disolución y combinaciones de los mismos.

30 Como se usa en el presente documento, "menos cristalino" significa que un material tiene un menor grado de cristalinidad que el material con el que se está comparando. Los materiales con grados de cristalinidad más bajos generalmente tienen menos orden de largo alcance y más defectos en la estructura cristalina que los materiales con grados de cristalinidad más altos. El grado de cristalinidad más bajo puede ser evaluado con relación a la otra forma mediante técnicas que incluyen, por ejemplo, reflexiones más amplias y/o en menor cantidad en el patrón de difracción de rayos X de polvo, mayor absorción de humedad para partículas de tamaño similar a una humedad relativa especificada, mayor calor de la solución, menor calor de fusión, velocidad de disolución más rápida y combinaciones de los mismos.

35 Como se hace referencia en la presente solicitud, "estable" en los ensayos de estabilidad de fármaco a granel significa que al menos aproximadamente el 97 % en peso, preferentemente al menos aproximadamente el 98 % en peso y, más preferentemente, al menos aproximadamente el 99 % en peso del fármaco permanece inalterado después de su almacenamiento en las condiciones indicadas durante el tiempo indicado.

**Breve descripción de las figuras**

45 La Figura 1 es una ilustración de los datos de difracción de rayos X de polvo (PXRD) para la Forma Cristalina I de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida. El patrón es distinto de otras formas cristalinas de la sal y la base libre, y es más cristalina que la Forma Cristalina II (por ejemplo, la Figura 2).

50 La Figura 2 es una ilustración de los datos de difracción de rayos X de polvo (PXRD) para la Forma Cristalina II de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida. El patrón es distinto de otras formas cristalinas de la sal y la base libre, y es menos cristalino que la Forma Cristalina I tal como se evidencia por las reflexiones más amplias en el patrón de difracción de rayos X de polvo (por ejemplo, la Figura 1).

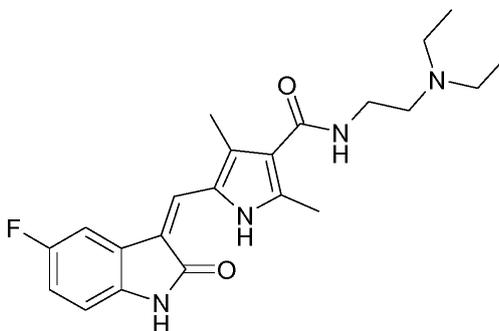
55 La Figura 3 es una ilustración de la isoterma de absorción mediante gravimetría de absorción de humedad dinámica (DMSG) para los perfiles de adsorción de humedad para la Forma Cristalina I y la Forma Cristalina II de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida. La Forma Cristalina I, más polimorfa y cristalina, es de menor higroscopicidad, absorbe

menos del 0,5 % de agua en todo el intervalo de humedad relativa 0-90 %. La Forma Cristalina II, polimorfa y menos cristalina, es muy higroscópica, absorbe más del 15 % de agua en todo el intervalo de humedad relativa 0-90 %.

La Figura 4 es una ilustración de los datos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que muestran los perfiles de DSC para la Forma Cristalina I y la Forma Cristalina II de la sal del ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida. Las transiciones exotérmicas se indican en la dirección hacia arriba. La Forma Cristalina I se funde a una temperatura más alta (aproximadamente 196 °C) con una entalpía de fusión más alta (aproximadamente 141 J/g) que la Forma Cristalina II, que se funde a aproximadamente 181 °C con una entalpía de fusión de aproximadamente 105 J/g. Esto sugiere que las dos formas cristalinas son monotrópicas, aunque la degradación se produce después de que los cristales se funden. El monotropismo se confirma por la conversión de la Forma Cristalina II a la Forma Cristalina I en una suspensión a temperatura ambiente como se describe en el presente documento.

### **Descripción detallada de las realizaciones preferentes**

La N-[2-(dietilamino)etil]-5-[fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida es un compuesto 2-indolinona sustituido con 3-pirrol que tiene la estructura siguiente:



La N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida puede prepararse como la base libre mediante procedimientos sintéticos convencionales que incluyen, por ejemplo, aquellos divulgados en la Publicación Internacional PCT N.º WO 01/60814 (Tang y col.). Aunque la base libre puede cristalizarse en forma de partículas pequeñas, es deseable en operaciones a gran escala, por ejemplo, tener cristales de tamaño de partícula mayor para facilitar la filtración. Para este fin, se prepararon sales de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida para evaluar las propiedades resultantes relacionadas con el procesamiento de la sal y la preparación de composiciones farmacéuticas orales de las mismas.

Las formas cristalinas de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida que incluyen la base libre y sales de las mismas (por ejemplo, sales de ácido cíclámico, ácido maleico, ácido bromhídrico, ácido mandélico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido p-toluenosulfónico, ácido cítrico y ácido málico) se exploraron por sus propiedades relacionadas con el procesamiento de la sal y la preparación de composiciones farmacéuticas orales de las mismas, incluyendo, por ejemplo, cristalinidad (por ejemplo, cristalino o amorfo, grado de cristalinidad, cristales anhidros o hidratados), toxicidad, higroscopicidad, estabilidad y morfología. En base al cribado anterior, se determinó una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida para proporcionar el mejor equilibrio entre las propiedades deseadas. Tras un estudio adicional, se encontró que una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida cristalizó en múltiples formas cristalinas.

En el presente documento se describen procedimientos de preparación de formas cristalinas que incluyen una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida y la identificación de esas formas cristalinas. La preparación de cristales anhidros que incluyen una sal de ácido L-málico se describe en el presente documento. La Forma Cristalina I anhidra tiene propiedades superiores para muchas aplicaciones.

### **FORMA CRISTALINA I**

En una realización, se ha preparado una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida como cristales anhidros (por ejemplo, Forma Cristalina I). La Forma Cristalina I anhidra es termodinámicamente más estable que otras formas cristalinas (por ejemplo, Forma Cristalina II). En un procedimiento, la Forma Cristalina I puede prepararse, por ejemplo, mediante la inducción de la cristalización de una sal de ácido L-málico en las condiciones de cristalización de la Forma Cristalina I a partir de una solución sobresaturada.

Como se usa en el presente documento, "condiciones de cristalización de la Forma Cristalina I" se refiere a condiciones de cristalización que proporcionan la forma cristalina termodinámica (por ejemplo, Forma Cristalina I). Tales condiciones se denominan comúnmente condiciones de cristalización "lenta". Un experto en la materia puede seleccionar uno o más factores que incluyen, por ejemplo: una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización de preferentemente como máximo aproximadamente 100 °C, más preferentemente, como máximo aproximadamente 50 °C, incluso más preferentemente, como máximo aproximadamente 25 °C y, más preferentemente, de aproximadamente 0 °C; una velocidad de enfriamiento preferentemente como máximo aproximadamente 50 °C por hora, más preferentemente, como máximo aproximadamente 20 °C por hora, todavía más preferentemente, como máximo aproximadamente 2 °C por hora y, más preferentemente, de aproximadamente 0 °C por hora; sin siembra; una relación de sobresaturación preferentemente como máximo aproximadamente 10, más preferentemente, como máximo aproximadamente 5 y, más preferentemente, como máximo aproximadamente 1,5; sin agentes de precipitación y/o sus combinaciones para proporcionar condiciones de cristalización para la Forma Cristalina I.

Los disolventes útiles para preparar la solución de cristalización incluyen, por ejemplo, acetonitrilo, metanol, etanol, isopropanol, tolueno, n-butanol, tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, acetona, agua y combinaciones de los mismos.

En otro procedimiento, la Forma Cristalina I puede prepararse, por ejemplo, proporcionando una suspensión de la Forma Cristalina II en disolventes en los que la Forma Cristalina II tiene una solubilidad sustancial. Como se usa en el presente documento, "solubilidad sustancial" significa que un cristal es preferentemente soluble en el disolvente en concentraciones de al menos aproximadamente el 0,1 % en peso, más preferentemente, al menos aproximadamente el 1 % en peso y, más preferentemente, al menos aproximadamente el 10 % en peso, a aproximadamente temperatura ambiente (por ejemplo, de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 30 °C). Opcionalmente, el cristal puede disolverse en el disolvente a la concentración indicada a temperatura ambiente.

Tales disolventes incluyen, por ejemplo, acetonitrilo, etanol, metanol y combinaciones de los mismos.

## FORMA CRISTALINA II

En otra realización, se ha preparado una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida en otra forma cristalina (por ejemplo, Forma Cristalina II). La Forma Cristalina II es útil, por ejemplo, como un intermedio en la preparación de la Forma Cristalina I anhidra.

La Forma Cristalina II puede prepararse, por ejemplo, induciendo la cristalización de una sal de ácido málico bajo condiciones de cristalización de la Forma Cristalina II a partir de una solución sobresaturada.

Como se usa en el presente documento, "condiciones de cristalización de la Forma Cristalina II" se refiere a condiciones de cristalización que proporcionan una forma cristalina distinta de la forma termodinámica. Tales condiciones se denominan comúnmente condiciones de cristalización "rápida". Un experto en la materia puede seleccionar uno o más factores que incluyen, por ejemplo: una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización de preferentemente al menos aproximadamente 25 °C, más preferentemente, al menos aproximadamente 50 °C y, más preferentemente, al menos aproximadamente 100 °C; una velocidad de enfriamiento de preferentemente al menos aproximadamente 25 °C por hora, más preferentemente, al menos aproximadamente 100 °C por hora y, más preferentemente, al menos aproximadamente 300 °C por hora; siembra; una relación de sobresaturación de preferentemente al menos aproximadamente 2, más preferentemente al menos aproximadamente 5 y más preferentemente, al menos aproximadamente 10; presencia de un agente de precipitación; y/o las combinaciones de los mismos para proporcionar condiciones de cristalización para la Forma Cristalina II.

Los disolventes útiles para la solución de cristalización incluyen, por ejemplo, metanol, agua, mezclas de tetrahidrofurano/agua y combinaciones de los mismos.

## DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVO (PXRD)

Los compuestos orgánicos cristalinos consisten en un gran número de átomos que se disponen en una matriz periódica en el espacio tridimensional. La periodicidad estructural se manifiesta normalmente en distintas propiedades físicas, tales como características espectrales nítidas y explícitas con la mayoría de las sondas espectroscópicas (por ejemplo, difracción de rayos X, infrarrojos y RMN en estado sólido). La difracción de rayos X (XRD) se recibe como uno de los procedimientos más sensibles para determinar la cristalinidad de los sólidos. Los cristales producen máximos de difracción explícitos que surgen a ángulos específicos consistentes con las separaciones entre planos de una red, tal como predice la ley de Bragg. Por el contrario, los materiales amorfos no poseen orden de largo alcance. Frecuentemente, retienen volumen adicional entre las moléculas, como en el estado líquido. Normalmente, los sólidos amorfos revelan un patrón de difracción de rayos X sin rasgos, halos difusos, amplios debido a la ausencia del orden de largo alcance de una red cristalina repetitiva.

Se ha informado acerca del uso de la difracción de rayos X de polvo para caracterizar diferentes formas cristalinas de compuestos orgánicos (por ejemplo, compuestos útiles en composiciones farmacéuticas). Véase, por ejemplo, las

patentes de EE.UU. N.º 5.504.216 (Holoan y col.), N.º 5.721.359 (Dunn y col.), N.º 5.910.588 (Wangnick y col.), N.º 6.066.647 (Douglas y col.), N.º 6.225.474 (Matsumoto y col.), N.º 6.239.141 (Allen y col.), N.º 6.251.355 (Murata y col.), N.º 6.288.057 (Harkness), N.º 6.316.672 (Stowell y col.), N.º 6.329.364 (Groleau) y las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. N.º 2001/0003752 (Talley y col.), N.º 2002/0038021 (Barton y col.) y N.º 2002/0045746 (Barton y col.).

Los materiales cristalinos se prefieren en muchas aplicaciones farmacéuticas. Generalmente las formas cristalinas son termodinámicamente más estables que las formas amorfas de la misma sustancia. Esta estabilidad termodinámica se refleja preferentemente en una menor solubilidad y una mejor estabilidad física de la forma cristalina. Preferentemente el empaquetamiento regular de las moléculas en el sólido cristalino deniega la incorporación de impurezas químicas. Por lo tanto, los materiales cristalinos poseen generalmente una mayor pureza química que sus contrapartes amorfas. Generalmente, el empaquetamiento en el sólido cristalino limita las moléculas a posiciones bien definidas en la red y reduce la movilidad molecular, que es el prerrequisito para las reacciones químicas. Por lo tanto, los sólidos cristalinos, con muy pocas excepciones notables, son químicamente más estables que los sólidos amorfos de la misma composición molecular. Preferentemente, las formas cristalinas de las sales de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida divulgadas en la presente solicitud poseen una o más de las propiedades químicas y/o físicas ventajosas divulgadas en el presente documento.

Las formas cristalinas de sales de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida divulgadas en la presente solicitud tienen preferentemente perfiles de difracción de rayos X de polvo distintos. Por ejemplo, los cristales anhidros que incluyen una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida pueden distinguirse preferentemente de la otra forma cristalina que incluye una sal de ácido málico divulgada en el presente documento por la presencia de picos de difracción característicos. Los picos de difracción característicos como se usan en el presente documento son picos seleccionados de los picos más intensos del patrón de difracción observado. Preferentemente, los picos característicos se seleccionan de aproximadamente 20 de los picos más intensos, más preferentemente, de aproximadamente 10 de los picos más intensos y, más preferentemente, de aproximadamente 5 de los picos más intensos en el patrón de difracción.

Las Figuras 1 y 2 muestran los patrones de difracción de rayos X de polvo para las Formas Cristalinas I y II, respectivamente, de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida.

La Tabla 1 contiene la lista de los picos más intensos de cada patrón PXRD entre 2 y 35 grados dos theta. La base libre, la Forma Cristalina I y la Forma Cristalina II se distinguen fácilmente por sus patrones PXRD únicos.

Preferentemente un cristal anhidro que incluye una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida (por ejemplo, Forma Cristalina I) tiene picos de difracción característicos a aproximadamente 13,2 y 24,2 grados dos theta, más preferentemente a aproximadamente 13,2, 19,4, 24,2 y 25,5 grados dos theta y, más preferentemente, tiene los picos de difracción característicos como se lista en la Tabla 1 para la Forma Cristalina I.

Preferentemente la Forma cristalina II de una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida tiene picos de difracción característicos a aproximadamente 3,0 y 27,7 grados dos theta, más preferentemente, a aproximadamente 3,0, 12,1, 14,5 y 27,7 grados dos theta y, más preferentemente, tiene los picos de difracción característicos como se lista en la Tabla 1 para la Forma Cristalina II.

TABLA1: Tabla de picos de difracción de rayos X de polvo para las Formas Cristalinas I y II

Forma Cristalina I		Forma Cristalina II	
Dos Theta (grados)	Intensidad relativa	Dos Theta (grados)	Intensidad relativa
11,39	7	3,02	100
11,90	7	5,93	12
13,16	82	7,61	18
15,92	27	9,26	7
16,79	25	12,08	32
17,18	24	14,54	42
19,40	76	17,54	19
20,30	20	19,46	28
21,26	31	23,36	54

(continuación)

Forma Cristalina I		Forma Cristalina II	
Dos Theta (grados)	Intensidad relativa	Dos Theta (grados)	Intensidad relativa
21,68	28	24,77	28
22,13	48	27,71	80
22,91	21		
24,17	100		
25,46	79		
26,06	23		
26,96	26		
27,56	28		
32,27	13		
32,93	17		
34,43	23		

#### PUREZA Y ESTABILIDAD EN ESTADO SÓLIDO

5 La pureza de la Forma Cristalina I de una sal de ácido málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida se evaluó mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Los resultados mostraron un área de pureza superior a aproximadamente el 98 % con menos de aproximadamente el 2 % área de impurezas detectadas (Tabla 2).

10 Se realizó también un estudio de estabilidad en estado sólido de la Forma Cristalina I de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida (Tabla 2). Los datos de cuatro semanas después de un envejecimiento a 60 °C/humedad relativa ambiente, 60 °C/75 % de humedad relativa y 80 °C/humedad relativa ambiente no mostraron ninguna degradación significativa. La difracción de rayos X de polvo correspondiente a las muestras de dos semanas tampoco indicó ningún cambio en la forma cristalina.

TABLA 2: Estabilidad de la Forma Cristalina I en base a un análisis HPLC

Condición	Pureza (% área)	Impurezas totales (% área)
Inicial	99,7	1,5
2 semanas a 60 °C/HR ambiente*	98,2	1,1
2 semanas a 60 °C/75 % de HR	99,6	1,2
2 semanas a 80 °C/HR ambiente	99,5	1,2
4 semanas a 60 °C/HR ambiente	100,4	1,2
4 semanas a 60 °C/75 % de HR	100,1	2,2
4 semanas a 80 °C/HR ambiente	98,0	3,1
*Humedad relativa (HR)		

15

#### DATOS DE ABSORCIÓN DE HUMEDAD

20 Los datos de absorción de humedad a 25 °C para las Formas cristalinas I y II de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida se muestran en la Figura 3. La Forma Cristalina I, más polimorfa y cristalina, es de baja higroscopicidad, absorbiendo menos del 0,5 % de agua en todo el intervalo de humedad relativa 0-90 %. La Forma Cristalina II, menos polimorfa y cristalina, es muy higroscópica y absorbe más del 15 % de agua en todo el intervalo de humedad relativa 0-90 %.

#### DATOS TÉRMICOS

25 Los datos de calorimetría diferencial de barrido se muestran en la Figura 4. La Forma Cristalina I anhidra de sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida se funde a aproximadamente 196 °C, mientras que la Forma Cristalina II se funde a aproximadamente 181 °C. Los eventos observados después de la fusión inicial sugieren que es probable que haya cierta

descomposición asociada a la fusión. Por lo tanto, no pudo medirse un calor de fusión de manera fácil y precisa.

Los datos TGA para la Forma Cristalina I (no mostrada) no mostraron una pérdida de peso considerable hasta el punto de fusión, lo que indica falta de disolvente residual y/o agua retenida en los cristales.

#### ADMINISTRACIÓN Y COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

- 5 Los cristales de la presente invención pueden administrarse como tales a un paciente humano o pueden administrarse en composiciones farmacéuticas en las que el cristal anterior se mezcla con vehículos o excipiente o excipientes adecuados. Las técnicas de formulación y administración de fármacos pueden encontrarse en "Remington's Pharmacological Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA., Última edición.
- 10 Como se usan en el presente documento, "administrar" o "administración" se refieren al suministro de un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo a un organismo con el fin de prevenir o tratar un trastorno relacionado con PK.
- Las vías de administración adecuadas pueden incluir, sin limitación, la administración oral, rectal, transmucosa o intestinal o inyección intramuscular, subcutánea, intramedular, intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intravítrea, intraperitoneal, intranasal o intraocular. Las vías de administración preferentes son la oral y la parenteral.
- 15 Alternativamente, uno puede administrar el cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo en una manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante inyección del cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo directamente a un tumor sólido, frecuentemente en una formulación de depósito o de liberación sostenida.
- 20 Adicionalmente, el fármaco puede administrarse en un sistema de administración dirigida de fármacos, por ejemplo, en un liposoma recubierto con un anticuerpo específico de tumor. Los liposomas se dirigirán al tumor y serán absorbidos selectivamente por el mismo.
- Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden fabricarse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por medio de procedimientos convencionales de mezclado, disolución, granulación, elaboración de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.
- 25 Las composiciones farmacéuticas para su uso según la presente invención pueden formularse de manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que incluyen excipientes y adyuvantes que facilitan el procesamiento de los cristales de la presente invención en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.
- 30 Para la inyección, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer o tampón de solución salina fisiológica. Para la administración transmucosa, se usan agentes de penetración apropiados para la barrera a permearse en la formulación. Dichos agentes de penetración se conocen generalmente en la técnica.
- 35 Para la administración oral, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden formularse combinando un cristal de la presente invención con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten que los cristales de la presente invención se formen como comprimidos, píldoras, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden fabricarse usando un excipiente sólido, opcionalmente moliendo la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir otros adyuvantes adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes útiles son, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz y almidón de patata y otros materiales tales como gelatina, goma de tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinil-pirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como polivinil pirrolidona reticulada, agar o ácido alginico. También puede usarse una sal tal como alginato de sodio.
- 40 45
- A los núcleos de las grageas se proporcionan recubrimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse soluciones de azúcar concentradas, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a los recubrimientos de comprimidos o grageas para identificar o caracterizar diferentes combinaciones de dosis activas.
- 50
- Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse oralmente incluyen cápsulas de ajuste por presión hechas de gelatina, así como cápsulas selladas blandas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste por presión pueden contener los ingredientes activos mezclados con una carga tal como lactosa, un aglutinante tal como almidón y/o un lubricante tal como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los cristales de la presente invención pueden estar disueltos o suspendidos
- 55

en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. También pueden añadirse estabilizantes en estas formulaciones.

5 Las cápsulas pueden ser empaquetadas en botellas de vidrio marrón o de plástico marrones para proteger de la luz los cristales de la presente invención o las composiciones farmacéuticas de los mismos. Los recipientes que contienen la formulación activa de la cápsula deben almacenarse a temperatura ambiente controlada (por ejemplo, de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 30 °C).

10 Para la administración por inhalación, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo se administra convenientemente en la forma de una pulverización de aerosol usando un envase presurizado o un nebulizador y un propulsor adecuado, por ejemplo, sin limitación, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede controlarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contienen una mezcla en polvo de un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo, y una base en polvo adecuada, tal como lactosa o almidón.

15 Un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden formularse también para la administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes de múltiples dosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener materiales de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

20

25 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de una forma soluble en agua de un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo. Además, pueden prepararse suspensiones de cristales de la presente invención o composiciones farmacéuticas de los mismos en un vehículo lipófilo. Los vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo y triglicéridos, o materiales tales como liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes y/o agentes que aumentan la solubilidad de los cristales de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

30 Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

Un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden formularse también en composiciones rectales, tales como supositorios o enemas de retención, usando, por ejemplo, bases de supositorio convencionales, tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

35 Además de las formulaciones descritas anteriormente, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden formularse también como preparaciones de depósito. Dichas formulaciones de acción prolongada pueden administrarse mediante implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden formularse para esta vía de administración con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, en una emulsión con un aceite farmacológicamente aceptable), con resinas de intercambio iónico, o como un derivado poco soluble.

40

45 Adicionalmente, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden administrarse usando un sistema de liberación sostenida, tal como matrices semipermeables de polímeros sólidos hidrófobos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido diversos materiales de liberación sostenida y se conocen bien por aquellos expertos en la materia. Las cápsulas de liberación sostenida pueden liberar, dependiendo de su naturaleza química, una sal o una composición farmacéutica de la misma durante unas pocas semanas hasta más de 100 días. Dependiendo de la naturaleza química y la estabilidad biológica del reactivo terapéutico, pueden emplearse estrategias adicionales para la estabilización de proteínas.

50 Las composiciones farmacéuticas del presente documento pueden incluir también vehículos o excipientes adecuados en fase sólida o gel. Los ejemplos de dichos vehículos o excipientes incluyen, pero no se limitan a, carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

55 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están contenidos en una cantidad suficiente para conseguir el fin destinado, por ejemplo, la modulación de la actividad PK o el tratamiento o prevención de un trastorno relacionado con PK.

Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de cristales de la presente invención o composiciones farmacéuticas de los mismos eficaz para prevenir, aliviar o mejorar los síntomas de la

enfermedad o prolongar la supervivencia del sujeto bajo tratamiento.

La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de la capacidad de las personas con conocimientos en la materia, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

- 5 Para cualquiera de los cristales de la presente invención o composiciones farmacéuticas de los mismos usados en los procedimientos de la invención, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. A continuación, la dosificación puede ser formulada para su uso en modelos animales para conseguir un intervalo de concentración circulante que incluye el valor  $IC_{50}$  según se determina en el cultivo celular (es decir, la concentración de los cristales de la presente invención o composiciones farmacéuticas de los mismos que consigue una inhibición del 50 % con respecto a la máxima actividad PK). A continuación, dicha información puede ser usada para determinar más exactamente las dosis útiles en seres humanos.

- 15 La toxicidad y la eficacia terapéutica de un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, mediante la determinación de los valores  $CI_{50}$  y  $DL_{50}$  (ambos de los cuales se describen en otro lugar en el presente documento) para un cristal objeto de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivo celular y estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación, la vía de administración y la dosificación exactas pueden seleccionarse por el médico individual en vista del estado del paciente. (Véase, por ejemplo, Fingl, y col., 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Cap. 1 p. 1).

- 20 La cantidad y el intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles plasmáticos de las especies activas que son suficientes para mantener los efectos moduladores de quinasa. Estos niveles plasmáticos se denominan concentraciones eficaces mínimas (CEM). La CEM variará para cada cristal de la presente invención o composición farmacéutica del mismo, pero puede estimarse a partir de datos *in vitro*, por ejemplo, la concentración necesaria para alcanzar una inhibición del 50-90 % de una quinasa puede determinarse usando los ensayos descritos en el presente documento. Las dosificaciones necesarias para conseguir la CEM dependerán de las características del individuo y la vía de administración. Pueden usarse ensayos HPLC o bioensayos para determinar las concentraciones plasmáticas.

- 25 Los intervalos de dosificación pueden determinarse también usando el valor CEM. Un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo deben administrarse usando un régimen que mantenga los niveles plasmáticos por encima de la CEM durante el 10-90 % del tiempo, preferentemente entre el 30-90 % y, más preferentemente, entre el 50-90 %.

- 30 En los casos de administración local o absorción selectiva, la concentración local eficaz del fármaco puede no estar relacionada con la concentración plasmática y pueden emplearse otros procedimientos conocidos en la técnica para determinar la cantidad y el intervalo de dosis correctos.

- 35 Por supuesto, la cantidad de una composición administrada dependerá del sujeto a tratarse, la gravedad de la afección, la manera de administración, la opinión del médico, etc.

- 40 Si se desea, las composiciones pueden presentarse en un envase o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas de dosificación unitarias que contienen el principio activo. El envase puede incluir, por ejemplo, una lámina metálica o de plástico, tal como un envase blíster. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado por instrucciones para la administración. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado también de una notificación relacionada con el envase en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, cuya notificación es un reflejo de la aprobación por parte de la agencia de la forma de las composiciones o de la administración humana o veterinaria. Tal notificación, por ejemplo, puede ser un etiquetado aprobado por la U.S. Food and Drug Administration para medicamentos recetados o un prospecto de producto aprobado. Las composiciones que incluyen un cristal de la presente invención, formuladas en un vehículo farmacéutico compatible también pueden prepararse, colocarse en un envase apropiado y etiquetarse para el tratamiento de una afección indicada. Las condiciones adecuadas indicadas en la etiqueta pueden incluir el tratamiento de un tumor, la inhibición de angiogénesis, el tratamiento de fibrosis, diabetes y similares.

- 45 También es un aspecto de la presente invención que un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo, puedan combinarse con otros agentes quimioterapéuticos para el tratamiento de las enfermedades y trastornos indicados anteriormente. Por ejemplo, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo podrían combinarse con agentes alquilantes, tales como fluorouracilo (5-FU) solo o en combinación adicional con leucovorina; u otros agentes alquilantes tales como, sin limitación, otros análogos de pirimidina tales como UFT, capecitabina, gemcitabina y citarabina, los sulfonatos de alquilo, por ejemplo, busulfán (usado en el tratamiento de la leucemia granulocítica crónica), improsulfan y piposulfan; aziridinas, por ejemplo, benzodepa, carboquona, meturedpa y uredepa; etileniminas y metilmelaminas, por ejemplo,

altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolmelamina; y las mostazas de nitrógeno, por ejemplo, clorambucilo (usado en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica, macroglobulinemia primaria y linfoma no Hodgkin), ciclofosfamida (usada en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, tumor de Wilm y rhabdomyosarcoma), estramustina, ifosfamida, novembrichina, prednimustina y mostaza de uracilo (usada en el tratamiento de trombocitosis primaria, linfoma no de Hodgkin, enfermedad de Hodgkin y cáncer de ovario); y triazinas, por ejemplo, dacarbazina (usada en el tratamiento de sarcoma de tejido blando).

Un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo, pueden usarse también en combinación con otros agentes quimioterapéuticos antimetabolitos tales como, sin limitación, análogos de ácido fólico, por ejemplo metotrexato (usado en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda, coriocarcinoma, micosis fungoide, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello y sarcoma osteogénico) y pteropterina; y los análogos de purina, tales como mercaptopurina y tioguanina que encuentran uso en el tratamiento de leucemias granulocítica aguda, linfocítica aguda y granulocítica crónica.

Se contempla que un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo puedan usarse también en combinación con agentes quimioterapéuticos basados en productos naturales tales como, sin limitación, los alcaloides de vinca, por ejemplo, vinblastina (usada en el tratamiento de cáncer de mama y cáncer testicular), vincristina y vindesina; las epipodofilotoxinas, por ejemplo, etopósido y tenipósido, ambos de los cuales son útiles en el tratamiento de cáncer testicular y sarcoma de Kaposi; los agentes quimioterapéuticos antibióticos, por ejemplo, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina (usada para tratar cáncer de estómago, cuello uterino, de colon, de mama, de vejiga y de páncreas), dactinomicina, temozolomida, plicamicina, bleomicina (usada en el tratamiento de cáncer de piel, de esófago y de tracto genitourinario); y los agentes quimioterapéuticos enzimáticos, tales como L-asparaginasa.

Además de lo indicado anteriormente, un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo podrían usarse también en combinación con los complejos de coordinación de platino (cisplatino, etc.); ureas sustituidas, tales como hidroxurea; derivados de metilhidrazina, por ejemplo, procarbazona; supresores adrenocorticales, por ejemplo, mitotano, aminoglutetimida; y hormonas y antagonistas de hormonas, tales como los adrenocorticosteroides (por ejemplo, prednisona), progestinas (por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona), estrógenos (por ejemplo, dietilestilbesterol); antiestrógenos tales como tamoxifeno, andrógenos, por ejemplo, propionato de testosterona; e inhibidores de aromatasa, tales como anastrozol.

Finalmente, también se contempla que la combinación de un cristal de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo serán eficaces en combinación con mitoxantrona o paclitaxel para el tratamiento de cánceres de tumores sólidos o leucemias, tales como, sin limitación, leucemia mielógena aguda (no linfocítica).

La presente invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos. Debe entenderse que los ejemplos, materiales, cantidades y procedimientos particulares deben interpretarse ampliamente según el ámbito y el espíritu de la invención como se expone en el presente documento.

### Ejemplos

Se midieron patrones de difracción de rayos X (XRD) en un difractor Scintag X2 (Thermo ARL, Ecublens, Suiza) equipado con un goniómetro theta-theta. Los puntos de fusión se determinaron usando un calorímetro de barrido diferencial TA Instruments 2920 (TA Instruments, New Castle, DE) con cápsulas selladas convencionales y una velocidad de calentamiento de 10 °C/minuto. La higroscopicidad se evaluó mediante gravimetría dinámica de absorción de humedad (DMSG) usando un Controlled Atmosphere Microbalance (Pharmacia Corp., Kalamazoo, MI). Todas las sustancias químicas usadas están disponibles en Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, a menos que se especifique lo contrario. N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida se preparó como la base libre mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 80 de la Publicación Internacional PCT N.º WO 01/60814 (Tang y col.).

### PROCEDIMIENTOS

*Difracción de rayos X de polvo (DRX).* Se realizó una difracción de rayos X de polvo usando un sistema de difracción avanzado Scintag X2 funcionando bajo Scintag DMS/NT 1.30a y el software de Microsoft Windows NT 4.0. El sistema usa una fuente de rayos X de cobre mantenida a 45 kV y 40 MA para proporcionar una emisión de CuK<sub>(α1)</sub> de 1,5406 Å y un detector de estado sólido con refrigeración Peltier. La abertura del haz se controló usando divergencia del tubo y rendijas anti-dispersión de 2 y 4 mm y un detector anti-dispersión y rendijas de recepción de 0,5 y 0,2 mm de ancho. Se recogieron datos de 2 a 35° dos-theta usando una etapa de barrido de 0,03°/punto con un tiempo de recuento de un segundo por etapa. Se usaron copas de muestra de acero inoxidable, redondas, de carga superior, con inserciones de 12 mm de diámetro para los experimentos. El fármaco a granel se muestreó, tal como es, y se colocó en la bandeja de muestras sin ningún tipo de preparación. Algunas muestras específicas fueron trituradas a mano también en un mortero antes de su procesamiento. El análisis de datos se completó usando Origin 6.0 (Microcal Software, Northampton MA).

*Gravimetría de absorción de humedad dinámica (DMSG).* Se recogieron isotermas DMSG sobre la microbalanza de

atmósfera controlada y temperatura variable. Se usaron aproximadamente 10 mg de muestras en la balanza. Las muestras se analizaron tal como se recibieron. La humedad se estableció secuencialmente entre el 0 y el 90 % de humedad relativa (HR) en etapas del 3 % de HR. La masa se midió cada dos minutos. La HR se cambió al siguiente valor cuando la masa de la muestra era estable dentro de 0,5 microgramos en 480 segundos. Se usó un programa de Visual Basic para controlar la recogida de datos y exportar la información a una hoja de cálculo Excel.

**Análisis Térmico.** Los datos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se obtuvieron sellando la muestra en polvo en cápsulas DSC de aluminio. Las muestras se analizaron tal como se recibieron, los tamaños eran de aproximadamente 1 mg. Típicamente, las temperaturas se escanearon a 320 °C a una velocidad de barrido de 10 °C por minuto. El DSC era un calorímetro TA Instruments 2920. El software de análisis de datos usado fue TA's Universal Analysis V 1. 1 OB.

Los datos de análisis termogravimétrico (TGA) se obtuvieron en un dispositivo TA Instruments TGA 2950. Las muestras se equilibraron en el TGA a 25°C, con un punto de rocío de 20°C durante 30 minutos antes de iniciar el programa de temperatura. La rampa de temperatura era de 10 °C/minuto, pero se escaneó en condiciones de alta resolución propiedad de TA. Esta técnica disminuye la velocidad de barrido cuando se está produciendo una transición, mejorando la capacidad del instrumento para resolver los eventos de pérdida de peso independientes.

**EJEMPLO 1: Preparación de la Forma Cristalina I Anhidra de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida.**

**Preparación A:** Se añadió N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida (130 mg, 0,326 mmol) a 20 ml de metanol, y la mezcla se agitó. Se añadió ácido L-málico (47,2 mg, 0,352 mmol), dando como resultado una rápida disolución de todos los sólidos. El metanol se retiró a presión reducida para producir un sólido de color naranja poco cristalino. Se añadió acetonitrilo (5 ml), y la suspensión se agitó y se calentó durante aproximadamente 10 minutos. Se continuó la agitación mientras que la suspensión se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los cristales se filtraron y se secaron, dando como resultado 149 mg de sólidos (rendimiento del 86 %) de la Forma Cristalina I.

**Preparación B:** La N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida puede purificarse mediante un lavado acuoso a pH = 11 antes de la formación de la sal de ácido L-málico. Se preparó una solución de la base libre en una mezcla de n-butanol:agua 80:20 (v:v) a 80 °C. Después de enfriar a 20 °C y agitar durante 1 hora, se observó una cristalización considerable. Se analizó una muestra mediante PXRD y se encontró que era la Forma Cristalina I. La filtración, el secado y la co-molienda de los cristales resultaron en un rendimiento del 99 %.

**EJEMPLO 2: Preparación de la Forma cristalina II de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida.**

Se añadieron cristales de la Forma Cristalina I de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida (25 mg) a tetrahidrofurano (2 ml), seguido por la adición de agua (250 microlitros). La mezcla se calentó para disolver los cristales. El disolvente se dejó evaporar durante la noche, dando como resultado cristales de la Forma Cristalina II.

**EJEMPLO 3: Preparación de la Forma Cristalina I anhidro de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida a partir de la Forma Cristalina II.**

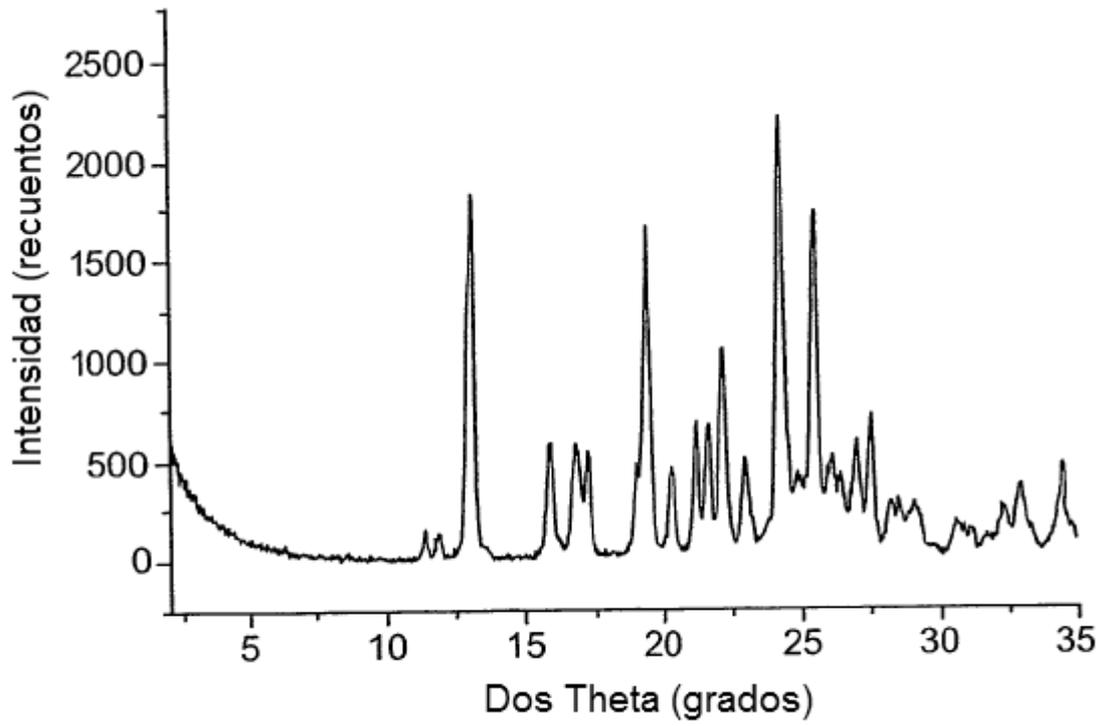
Se añadió acetonitrilo (aproximadamente 5 ml) a la Forma Cristalina II (150 mg). La suspensión se agitó y se calentó durante aproximadamente 10 minutos. Se continuó la agitación mientras la suspensión se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los cristales se filtraron y se secaron, dando como resultado cristales de la Forma Cristalina I.

**EJEMPLO 4: Solubilidad de la Forma Cristalina I de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida**

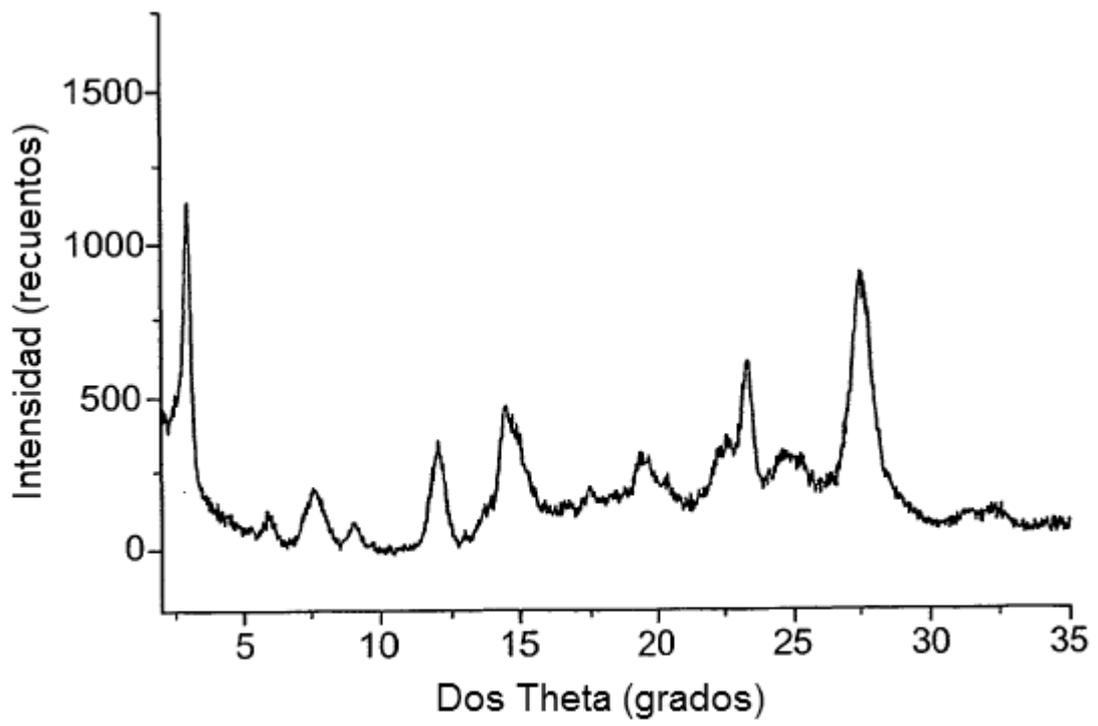
Se determinó que la solubilidad de la Forma Cristalina I de la sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida era de 5 mg/ml en agua a 25 °C. Esto indica que la solubilidad no debe ser un factor limitante en la biodisponibilidad del material.

## REIVINDICACIONES

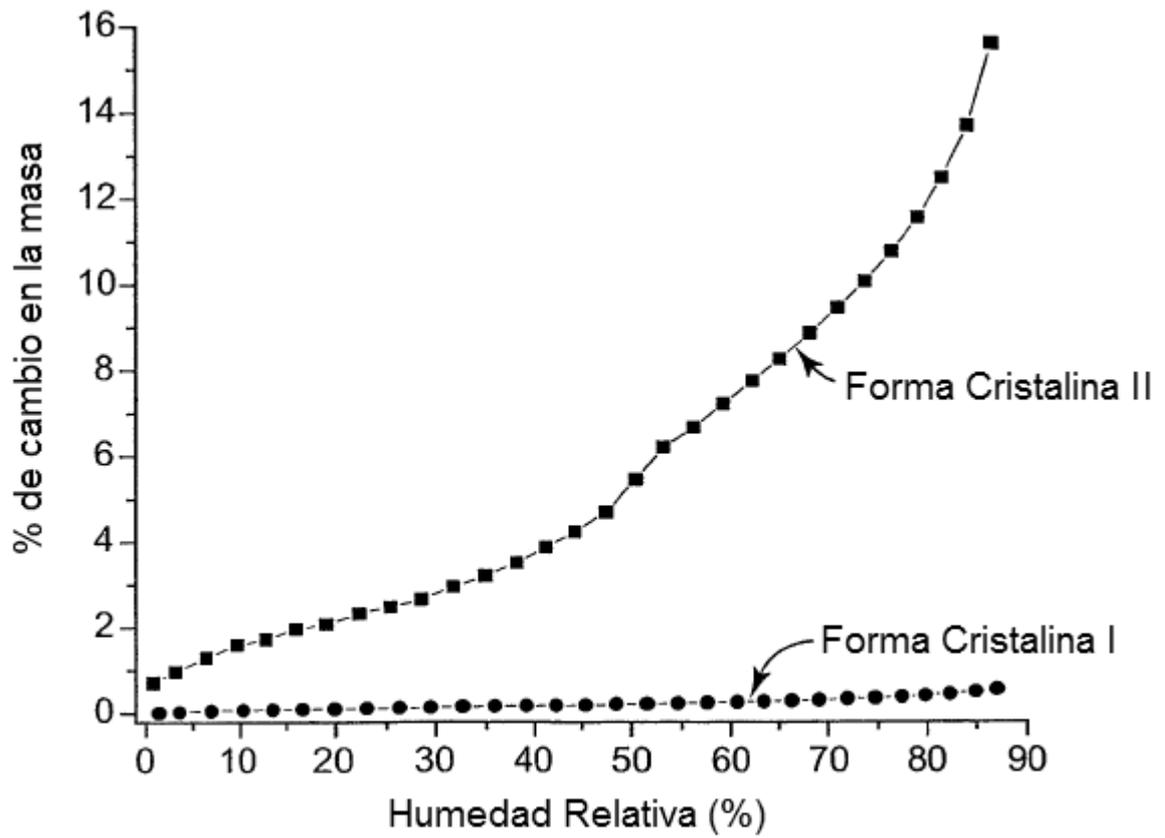
1. Un procedimiento de preparación de un cristal anhidro que comprende una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida en el que el cristal anhidro tiene picos de difracción característicos en 13,2 y 24,2 grados dos theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo, comprendiendo el procedimiento:
- 5 combinar ácido L-málico; N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida; y un disolvente; e inducir la sal a cristalizar en condiciones de cristalización que comprenden uno o más factores que comprenden una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización máxima aproximadamente 100 °C; una velocidad de enfriamiento máxima aproximadamente 50 °C por hora; sin siembra; una relación de sobresaturación máxima aproximadamente 10; sin precipitante; y/o combinaciones de los mismos.
- 10 2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el uno o más factores comprenden: una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización máxima aproximadamente 50 °C; una velocidad de enfriamiento máxima aproximadamente 20 °C por hora; una relación de sobresaturación máxima aproximadamente 5; y/o combinaciones de los mismos.
- 15 3. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que el uno o más factores comprenden: una diferencia entre las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización máxima aproximadamente 25 °C; una velocidad de enfriamiento máxima aproximadamente 2 °C por hora; una relación de sobresaturación máxima aproximadamente 1,5; y/o combinaciones de los mismos.
- 20 4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que las temperaturas inicial y final de la solución de cristalización son las mismas.
5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el disolvente se selecciona del grupo que consiste en acetonitrilo, metanol, etanol, isopropanol, tolueno, n-butanol, tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, acetona, agua y combinaciones de los mismos.
- 25 6. Un procedimiento de preparación de un cristal anhidro que comprende una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida en el que el cristal anhidro tiene picos de difracción característicos en 13,2 y 24,2 grados dos theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo, comprendiendo el procedimiento poner en contacto un cristal que comprende una sal de ácido L-málico de N-[2-(dietilamino)etil]-5-[(5-fluoro-1,2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-iliden)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida con un disolvente en el que el cristal que contacta tiene solubilidad sustancial, en el que el cristal que contacta tiene picos de difracción característicos en 3,0 y 27,7 grados dos-theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo.
- 30 7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que el cristal que contacta tiene picos de difracción característicos en 3,0, 12,1, 14,5 y 27,7 grados dos theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo.
- 35 8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que el cristal que contacta tiene picos de difracción característicos en un patrón de difracción de rayos X de polvo según se enumeran en la Tabla 1 para la Forma Cristalina II.
9. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que el disolvente se selecciona del grupo que consiste en acetonitrilo, etanol, metanol y combinaciones de los mismos.
- 40 10. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que poner en contacto el cristal con el disolvente forma una suspensión.
11. El procedimiento de la reivindicación 10 que comprende además agitar la suspensión.
12. El procedimiento de la reivindicación 10 que comprende además calentar la suspensión.
13. El procedimiento de la reivindicación 10 que comprende además retirar el cristal anhidro de la suspensión.
- 45 14. El procedimiento de la reivindicación 1 o 6, en el que el cristal anhidro tiene picos de difracción característicos en 13,2, 19,4, 24,2 y 25,5 grados dos theta en un patrón de difracción de rayos X de polvo.
15. El procedimiento de la reivindicación 14, en el que el cristal anhidro tiene picos de difracción característicos en un patrón de difracción de rayos X de polvo según se enumeran en la Tabla 1 para la Forma Cristalina I.



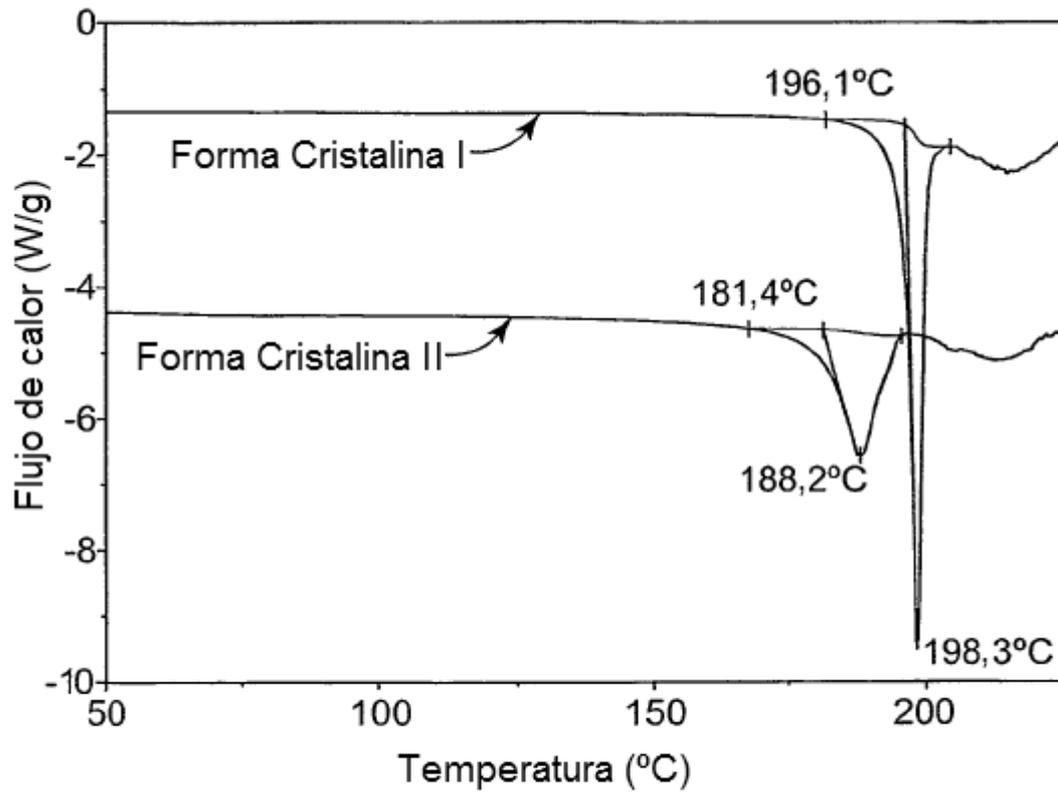
**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**



**Figura 4**