

# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 634 666

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

12 TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 02.11.2010 PCT/CN2010/001751

(87) Fecha y número de publicación internacional: 05.05.2011 WO11050590

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 02.11.2010 E 10825954 (0)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 26.04.2017 EP 2496568

(54) Título: Polimorfo de 3-(dihidroisoindolinon-2-il sustituido)-2,6-dioxopiperidina, y composiciones farmacéuticas de la misma

(30) Prioridad:

02.11.2009 CN 200910210392

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 28.09.2017 (73) Titular/es:

NANJING CAVENDISH BIO-ENGINEERING TECHNOLOGY CO., LTD. (50.0%) No. 6 Maiyue Road Maigaoqiao Pioneering Park Qixia District Nanjing Jiangsu 210028, CN y YAN, RONG (50.0%)

(72) Inventor/es:

YAN, RONG; YANG, HAO y XU, YONGXIANG

(74) Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge** 

# **DESCRIPCIÓN**

Polimorfo de 3-(dihidroisoindolinon-2-il sustituido)-2,6-dioxopiperidina, y composiciones farmacéuticas de la misma

#### 5 Campo de la invención

10

15

30

35

40

45

50

55

60

La presente invención está en el campo del polimorfo de compuestos farmacéuticos, y más específicamente se refiere al polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona, y también a los métodos de preparación y composiciones farmacéuticas de los mismos.

#### Antecedentes de la invención

Un tipo de 3-(dihidroisoindolinon-2-il sustituido)-2,6-dioxopiperidina, en particular 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona, se desveló en el artículo "Amino-substituted thalidomide analogs: Potent inhibitors of TNF-α production" (Muller etc., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 9, edición 11, 7 de junio de 1999: pp1625-1630) y la patente china ZL97180299.8. En diciembre de 2005, la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona fue autorizada como un tipo de inmunomodulador con actividades antitumorales, indicada para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos y mieloma múltiple.

Las enfermedades y síndromes que pueden tratarse por la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona incluyen, pero no se limitan a: trastorno mieloproliferativo, síndrome de mielodisplasia, vasculogénesis, cáncer, dolor, degeneración macular, asbestosis, anemia, enfermedad del sistema nervioso, disomnia, dermatosis, hipertensión pulmonar, trastorno por deficiencia inmune, enfermedades parasíticas, lesión central, etc., concretamente que se describieron en las siguientes patentes chinas con los números de solicitud, que se incorporan en el presente documento en su totalidad por referencia: 97180299.8, 98805614.3, 03825761.0, 03825567.7, 03813733.X, 03816899.5, 200610150484.3, 200380107531.0, 200710103924.4, 200380108093.X, 200380108398.0, 200480043341.1, 200480038171.8, 200480035556.9, 200480020445.0, 200480043535.1, 200480040004.7, 200480041252.3, 200480042208.4, 200580017546.7, 200580016344.0, 200580020628.7, 200580037220.0, 200580047364.4, 200580046371.2, 200580047031.1, etc.

Ocho polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona y los métodos de preparación de los mismos se describieron por US Celgene Corporation en la patente china CN 1871003A (número de publicación). Por los métodos, se añadió 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en agua o disolvente orgánico (por ejemplo, hexano, tolueno, acetona, acetonitrilo, metanol, acetato de etilo) donde es prácticamente insoluble, y entonces se disolvió calentando. Cristalizará cuando se enfríe o se transformará en cristal cuando se agite durante un largo tiempo en sistema en suspensión de difase sólido-líquido.

Debido a que la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es prácticamente insoluble en agua o disolvente orgánico (por ejemplo, hexano, tolueno, acetona, acetonitrilo, metanol, acetato de etilo, etc.), incluso en la condición de calentamiento, se necesita una gran cantidad (superior a 100 veces) de disolvente, que es desventajoso en la producción industrial; además, con el método descrito en la patente CN 1871003A, el aspecto, color y brillo de los productos pueden no mejorarse de amarillo claro a blanco o blanquecino; por tanto, no se tuvo en cuenta que el disolvente orgánico perjudicial clasificado en o por encima de la clase II (por ejemplo, tolueno y acetonitrilo, etc.) no debía ser probado para su uso en la síntesis de productos finales para minimizar los efectos negativos del disolvente orgánico residual en productos sobre el cuerpo humano.

En términos de polimorfos de fármaco, cada polimorfo tiene diferentes características químicas y físicas, que incluyen punto de fusión, estabilidad química, solubilidad aparente, velocidad de disolución, propiedades ópticas y mecánicas, presión de vapor, además de densidad. Tales características pueden influir directamente en el procesamiento o la fabricación del fármaco a granel y formulación, y también afectan la estabilidad, solubilidad y biodisponibilidad de la formulación. Por consiguiente, el polimorfo de fármaco es de gran importancia para la calidad, seguridad y eficacia de la preparación farmacéutica. Cuando se llega a 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona, todavía existe la necesidad en la materia de nuevos polimorfos adecuados para la producción industrial y con excelentes propiedades físicas y químicas también.

# Sumario de la invención

Los inventores de la presente invención han experimentado una gran cantidad de investigaciones e inesperadamente encontraron nuevos polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona para vencer las deficiencias del estado de la técnica, y las nuevas formas polimórficas tienen excelentes propiedades físicas y químicas y buenas estabilidades, que son adecuadas para producción industrial.

Un fin de la presente invención es proporcionar nuevos polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona.

# ES 2 634 666 T3

Otro fin de la presente ir	nvención es propo	rcionar los métod	os sintéticos de	e estos nuevos	polimorfos	mencionados
anteriormente.						

El tercer fin de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprendan los nuevos polimorfos mencionados.

Breve descripción de los dibujos

20

35

45

- La Fig. 1 es un patrón de XRPD del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6diona de la presente invención.
  - La Fig. 2 es un diagrama de IR del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
- La Fig. 3-1 y la Fig. 3-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
  - La Fig. 4 es un espectro de RMN <sup>13</sup>C MAS del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
  - La Fig. 5 es un patrón de XRPD del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de iluminación fuerte durante 10 días.
- La Fig. 6 es un diagrama de DSC del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6diona de la presente invención después de iluminación fuerte durante 10 días.
  - La Fig. 7 es un patrón de XRPD del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días.
- La Fig. 8 es un diagrama de DSC del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días.
  - La Fig. 9 es un patrón de XRPD del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de humedad alta durante 10 días.
  - La Fig. 10-1 y la Fig. 10-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de humedad alta durante 10 días.
- 40 La Fig. 11 es un patrón de XRPD del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses.
  - La Fig. 12-1 y la Fig. 12-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses.
  - La Fig. 13 es un patrón de XRPD del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
- La Fig. 14 es un diagrama de IR del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
  - La Fig. 15-1 y la Fig. 15-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
  - La Fig. 16 es un patrón de XRPD del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de iluminación fuerte durante 10 días.
- La Fig. 17 es un diagrama de DSC del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-60 2,6-diona de la presente invención después de iluminación fuerte durante 10 días.
  - La Fig. 18 es un patrón de XRPD del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días.
- La Fig. 19 es un diagrama de DSC del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días.

# ES 2 634 666 T3

	La Fig. 20 es un patrón de XRPD del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de humedad alta durante 10 días.
5	La Fig. 21-1 y la Fig. 21-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de humedad alta durante 10 días.
10	La Fig. 22 es un patrón de XRPD del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses.
10	La Fig. 23-1 y la Fig. 23-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses.
15	La Fig. 24 es un patrón de XRPD del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
20	La Fig. 25 es un diagrama de IR del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
20	La Fig. 26-1 y la Fig. 26-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.
25	La Fig. 27 es el patrón de XRPD del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de iluminación fuerte durante 10 días.
	La Fig. 28 es el diagrama de DSC del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de iluminación fuerte durante 10 días.
30	La Fig. 29 es un patrón de XRPD del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días.
35	La Fig. 30 es un diagrama de DSC del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días.
<b>5</b> 5	La Fig. 31 es un patrón de XRPD del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de humedad alta durante 10 días.
40	La Fig. 32-1 y la Fig. 32-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de humedad alta durante 10 días.
45	La Fig. 33 es un patrón de XRPD del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses.
<del>1</del> 0	La Fig. 34-1 y la Fig. 34-2 son respectivamente diagrama de DSC y diagrama de TGA del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención después de la prueba

Descripción detallada de la invención

acelerada a 40 °C durante seis meses.

2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención.

Más específicamente, la presente invención proporciona un Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona con media molécula de agua y sustancialmente sin otros disolventes.

La invención proporciona un Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado que tiene el patrón de difracción de rayos X de polvo usando radiación de Cu-Ka, caracterizado por picos de difracción a 11,9  $\pm$  0,2 y 22,0  $\pm$  0,2 de 2 $\theta$  indicado con grado, además, uno o múltiples (en combinación opcional, que incluye dos o más picos, o todos los picos) picos de difracción a 15,6  $\pm$  0,2, 22,5  $\pm$  0,2, 23,8  $\pm$  0,2, 26,4  $\pm$  0,2, 27,5  $\pm$  0,2 y 29,1  $\pm$  0,2; como se muestra en la Fig. 1.

La Fig. 35 es un espectro de IR comparativo del Polimorfo I, II y III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-

El Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado:

65

60

Pico Número	2θ	Anchura de flexión	Valor d	Intensidad	L/LO
1	11,940	0,212	7,4060	17891	84
2	13,020	0,235	6,7940	5996	28
3	13,780	0,188	6,4210	6550	31
6	15,620	0,235	5,6685	9017	42
9	17,960	0,259	4,9349	5895	28
10	19,080	0,235	4,6476	8374	39
11	19,480	0,235	4,5531	6273	30
12	20,580	0,235	4,3121	6162	29
15	21,980	0,235	4,0405	21530	100
16	22,520	0,259	3,9449	13747	64
18	23,760	0,259	3,7417	15053	70
19	24,400	0,212	3,6450	5016	24
21	26,440	0,282	3,3682	15819	74
22	27,520	0,353	3,2384	11455	54
23	29,060	0,306	3,0702	11190	52
24	30,980	0,306	2,8842	6238	29
25	32,000	0,376	2,7945	4934	23
26	33,040	0,306	2,7089	5313	25
28	34,440	0,259	2,6019	5469	26

El Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado proporcionado por la presente invención se caracteriza por que su DSC (calorimetría diferencial de barrido) tiene el primer pico endotérmico entre 140 °C y 180 °C, más específicamente, a 164,87 °C, y el segundo pico endotérmico, concretamente la transformación endotérmica máxima, a 268,86 °C. El diagrama de DSC del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado de la presente invención es como en la Fig. 3-1, y el diagrama TGA (análisis térmico gravimétrico) es como en la Fig. 3-2.

5

- Además, el Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado en la presente invención tiene IR (espectro de infrarrojos) en disco de KBr, que se caracteriza por picos de absorción a aproximadamente 3561,4 cm<sup>-1</sup>, 3507,4 cm<sup>-1</sup>, 3424,2 cm<sup>-1</sup>, 3345,8 cm<sup>-1</sup>, 3091,0 cm<sup>-1</sup>, 2912,5 cm<sup>-1</sup>, 1697,8 cm<sup>-1</sup>, 1658,8 cm<sup>-1</sup>, 1610,0 cm<sup>-1</sup>, 1494,3 cm<sup>-1</sup>, 1349,5 cm<sup>-1</sup>, 1201,4 cm<sup>-1</sup>; como en la Fig. 2.
- 15 El Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado en la presente invención tiene desplazamientos químicos característicos  $\delta$  (ppm) en el espectro de RMN <sup>13</sup>C en estado sólido: 22,25 ppm, 30,18 ppm, 43,63 ppm, 45,98 ppm, 50,45 ppm, 110,19 ppm, 111,24 ppm, 114,25 ppm, 115,06 ppm, 117,25 ppm, 118,18 ppm, 124,22 ppm, 125,20 ppm, 125,91 ppm, 126,88 ppm, 128,87 ppm, 129,93 ppm, 133,88 ppm, 140,62 ppm, 143,27 ppm, 168,67 ppm, 170,13 ppm, 171,38 ppm, 173,44 ppm, 174,67 ppm; como se muestra en la Fig. 4.

En una realización de la invención, la presente invención proporciona un método de preparación del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado, que incluye las siguientes etapas:

- (1). Se añade 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en dimetilformamida (DMF) o sulfóxido de dimetilo (DMSO), en el que: la relación de volumen con respecto a peso de DMF con respecto a 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es de 3,5:1 a 4:1, mientras que la relación de volumen con respecto a peso de DMSO con respecto a 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es superior a 1,5:1; más preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es de 2,5:1 a 3:1; y se disuelve por agitación y calentamiento.
- (2). Se añade agua purificada o un sistema de disolvente mixto de agua purificada y un disolvente orgánico; en el que: la relación en volumen de agua purificada o el sistema de disolvente mixto con respecto a DMF o DMSO es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación en volumen es superior a 2:1; más preferentemente, la relación en volumen es superior a 3:1; en el que, el disolvente orgánico mencionado es un tipo de disolvente o un disolvente mixto de varios tipos, en el que la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es insoluble o ligeramente soluble; preferentemente, está seleccionado del grupo que consiste en acetonitrilo, triclorometano, ciclohexano, 1,2-dicloroeteno, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, dioxano, 2-etoxietanol, etilenglicol, n-hexano, metanol, 2-metoxietanol, metilbutilcetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidona, piridina, tetralina, tetrahidrofurano, tolueno, 1,1,2-tricloroetileno, dimetilbenceno, acetona, metoxibenceno, n-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, metil terc-butil éter, isopropilbenceno, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, n-heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, butanona, metilisobutilcetona, isobutanol, n-pentano, n-pentanol, n-propanol, isopropanol, acetato de propilo, 1,1-

dietoxipropano, 1,1-dimetoximetano, 2,2-dimetoxipropano, iso-octano, isopropil éter, metilisopropilcetona, metiltetrahidrofurano y éter de petróleo; más preferentemente, está seleccionado de una o más mezclas de acetona, metoxibenceno, n-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, metil terc-butil éter, isopropilbenceno, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, n-heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, butanona, metilisobutilcetona, isobutanol, n-pentano, n-pentanol, n-propanol, isopropanol, acetato de propilo, 1,1-dietoxipropano, 1,1-dimetoximetano, 2,2-dimetoxipropano, iso-octano, isopropil éter, metilisopropilcetona, metiltetrahidrofurano y éter de petróleo, etc., en el que el sistema de disolvente mixto es un sistema de mezcla doble o múltiple que consiste en agua y disolvente orgánico, y la relación de peso de agua con respecto al disolvente orgánico mencionada anteriormente es generalmente superior al 10 %; preferentemente, esta relación fue superior al 20 %; más preferentemente esta relación fue superior al 30 %:

- (3). el sólido cristalino se precipita agitando y enfriando lentamente;
- (4). recuperar el sólido y secarlo a vacío.

En otra realización, se desvela un Polimorfo II solvatado de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona que tiene el patrón de difracción de rayos X de polvo usando radiación de Cu-Ka, caracterizado por picos de difracción a  $15,7\pm0,2$  y  $25,2\pm0,2$  de  $2\theta$  indicado con grado, además, uno o múltiples (en combinación opcional, que incluye dos o más picos, o todos los picos) picos de difracción a  $7,8\pm0,2$ ,  $8,6\pm0,2$ ,  $14,2\pm0,2$ ,  $17,1\pm0,2$ ,  $17,9\pm0,2$ ,  $18,8\pm0,2$ ,  $21,4\pm0,2$ ,  $21,9\pm0,2$ ,  $22,6\pm0,2$ ,  $23,4\pm0,2$ ,  $24,2\pm0,2$ ,  $27,1\pm0,2$  y  $29,3\pm0,2$ ; como se muestra en la Fig. 13

El Polimorfo II solvatado de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona:

Pico número	2θ	Anchura de flexión	Valor d	Intensidad	L/LO
1	7,780	0,212	11,3542	3887	35
2	8,580	0,259	10,2972	3889	35
4	14,180	0,259	6,2407	10819	95
5	14,600	0,188	6,0621	2759	25
6	15,040	0,235	5,8857	3457	31
7	15,680	0,212	5,6469	11410	100
8	16,360	0,212	5,4137	3413	30
9	17,060	0,212	5,1931	9678	85
10	17,920	0,259	4,9458	4770	42
11	18,760	0,235	4,7262	4035	36
12	19,520	0,212	4,5439	3733	33
13	19,920	0,235	4,4535	3350	30
14	21,400	0,212	4,1487	5096	45
15	21,940	0,259	4,0478	5065	45
16	22,580	0,235	3,9345	6307	56
17	23,380	0,376	3,8017	5613	50
18	24,160	0,235	3,6807	6624	59
19	24,540	0,235	3,6245	3649	32
20	25,160	0,235	3,5366	10617	94
21	26,800	0,188	3,3238	3634	32
22	27,060	0,188	3,2924	4818	43
24	29,300	0,259	3,0456	4521	40
26	30,480	0,212	2,9304	2319	21
27	30,860	0,235	2,8951	3105	28

El Polimorfo II solvatado (acetonitrilo) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona desvelado se caracteriza por que su DSC tiene el primer pico endotérmico entre 140 °C y 170 °C, más específicamente, a aproximadamente 152,73 °C, y el segundo pico endotérmico, concretamente la transformación endotérmica máxima, a aproximadamente 269,12 °C. El diagrama de DSC del Polimorfo II solvatado (acetonitrilo) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención es como en la Fig. 15-1, y el diagrama de TGA es como en la Fig. 15-2.

El Polimorfo II solvatado (acetonitrilo) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona desvelado tiene IR en disco de KBr, que se caracteriza por picos de absorción a aproximadamente 3466,9 cm<sup>-1</sup>, 3366,5 cm<sup>-1</sup>, 3223,8 cm<sup>-1</sup>, 3078,0 cm<sup>-1</sup>, 2957,2 cm<sup>-1</sup>, 2871,0 cm<sup>-1</sup>, 1687,2 cm<sup>-1</sup>, 1666,7 cm<sup>-1</sup>, 1346,5 cm<sup>-1</sup> y 1199,1 cm<sup>-1</sup>; como en la Fig. 14.

En una realización, se desvela un método de preparación del Polimorfo II solvatado (acetonitrilo) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro- 2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona, que incluye las siguientes etapas:

6

30

40

5

10

15

20

- (1). Se añade 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en dimetilformamida (DMF) anhidra, en el que: la relación de volumen con respecto a peso de DMF anhidro con respecto a 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es superior a 2:1; más preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es de 3,5:1 a 4:1; y se disuelve por agitación y calentamiento;
- (2). se añaden varias veces del volumen de un disolvente orgánico anhidro a DMF, en el que la 3-(4-amino-1oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es insoluble o ligeramente soluble para el disolvente orgánico anhidro, y la relación en volumen del disolvente orgánico con respecto a DMF es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación en volumen es superior a 2:1; más preferentemente, la relación en volumen es superior a 3:1. Aquí, el disolvente orgánico mencionado es un tipo de disolvente o un disolvente mixto de varios tipos; preferentemente, está seleccionado del grupo que consiste en acetonitrilo, triclorometano, ciclohexano, 1,2-dicloroeteno, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, dioxano, 2-etoxietanol, etilenglicol, n-hexano, metanol, 2metoxietanol, metilbutilcetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidona, piridina, tetralina, tetrahidrofurano, tolueno, 1.1.2-tricloroetileno, dimetilbenceno, acetona, metoxibenceno, n-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, metil tercbutil éter, isopropilbenceno, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, n-heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, butanona, metilisobutilcetona, isobutanol, n-pentano, n-pentanol, n-propanol, isopropanol, acetato de propilo, 1,1-dietoxipropano, 1,1-dimetoximetano, 2,2dimetoxipropano, iso-octano, isopropil éter, metilisopropilcetona, metiltetrahidrofurano y éter de petróleo; más preferentemente, está seleccionado de una o más mezclas de acetona, metoxibenceno, n-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, metil terc-butil éter, isopropilbenceno, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, nheptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, butanona, metilisobutilcetona, isobutanol, n-pentanol, n-pentanol, n-propanol, isopropanol, acetato de propilo, 1,1dietoxipropano, 1,1-dimetoximetano, 2,2-dimetoxipropano, iso-octano, isopropil éter, metilisopropilcetona, metiltetrahidrofurano y éter de petróleo, etc.
- (3). el sólido cristalino se precipita agitando y enfriando lentamente;
- (4). recuperar el sólido y secarlo a vacío.

5

10

15

20

25

35

30 En otra realización, se desvela un Polimorfo III solvatado de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona que tiene el patrón de difracción de rayos X de polvo usando radiación de Cu-Ka, caracterizado por picos de difracción a 17,4 ± 0,2 y 24,5 ± 0,2 de 2θ indicado con grado, además, uno o múltiples (en combinación opcional, que incluye dos o más picos, o todos los picos) picos de difracción a 14,5 ± 0,2, 15,5 ± 0,2, 18,7 ± 0,2, 21,0 ± 0,2, 21,9 ± 0,2, 22,1 ± 0,2, 24,0 ± 0,2, 25,3 ± 0,2 y 27,8 ± 0,2; como se muestra en la Fig. 24.

El Polimorfo III solvatado de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona:

Pico número	2θ	Anchura de flexión	Valor d	Intensidad	L/LO
1	7,660	0,165	11,5318	911	12
2	8,700	0,212	10,1555	970	13
3	13,980	0,212	6,3295	1777	24
4	14,480	0,212	6,1121	3334	44
6	15,440	0,212	5,7342	3384	45
7	15,720	0,165	5,6326	2108	28
8	16,300	0,212	5,4335	1679	23
9	17,340	0,235	5,1099	4285	57
10	17,780	0,235	4,9844	1551	21
11	18,140	0,212	4,8863	1585	21
12	18,640	0,212	4,7563	3080	41
13	19,380	0,188	4,5764	2319	31
14	20,200	0,329	4,3924	2199	29
15	20,920	0,235	4,2428	4001	53
16	21,820	0,188	4,0698	2919	39
17	22,120	0,188	4,0153	4094	54
18	22,740	0,235	3,9072	1962	26
19	23,540	0,235	3,7762	2590	35
20	24,020	0,282	3,7018	4122	55
21	24,520	0,282	3,6274	7608	100
22	25,240	0,235	3,5256	4272	57
23	27,760	0,235	3,2110	4234	56
24	29,540	0,212	3,0214	1965	26
25	30,040	0,235	2,9723	2254	30
26	30,300	0,212	2,9474	2162	29
30	35,700	0,306	2,5129	2036	27

El Polimorfo III solvatado (acetona) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona desvelado se caracteriza por que su DSC tiene el primer pico endotérmico entre 150 °C y 200 °C, más específicamente, a aproximadamente 188,96 °C, y el segundo pico endotérmico, concretamente la transformación endotérmica máxima, a aproximadamente 268,19 °C. El diagrama de DSC del Polimorfo III solvatado (acetona) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la presente invención es como en la Fig. 26-1, y el diagrama de TGA es como en la Fig. 26-2.

El Polimorfo III solvatado (acetona) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona desvelado tiene IR en disco de KBr, que se caracteriza por picos de absorción a aproximadamente 3466,7 cm<sup>-1</sup>, 3363,3 cm<sup>-1</sup>, 3228,2 cm<sup>-1</sup>, 3081,7 cm<sup>-1</sup>, 2958,5 cm<sup>-1</sup>, 2877,2 cm<sup>-1</sup>, 1688,5 cm<sup>-1</sup>, 1666,2 cm<sup>-1</sup>, 1609,1 cm<sup>-1</sup>, 1491,7 cm<sup>-1</sup>, 1347,3 cm<sup>-1</sup> y 1199,5 cm<sup>-1</sup>; como en la Fig. 25.

En una realización, se desvela un método de preparación del Polimorfo III solvatado (acetona) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro- 2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona, que incluye las siguientes etapas:

- (1). Se añade 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en sulfóxido de dimetilo (DMSO) anhidro, en el que: la relación de volumen con respecto a peso de DMSO anhidro con respecto a 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es superior a 2:1; más preferentemente, la relación de volumen con respecto a peso es superior a 3:1; y se disuelve por agitación y calentamiento;
- (2). se añade varias veces del volumen de un disolvente orgánico anhidro a DMSO, en el que la 3-(4-amino-1oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es insoluble o ligeramente soluble para el disolvente orgánico anhidro, y la relación en volumen de disolvente orgánico con respecto DMSO es generalmente superior a 1:1; preferentemente, la relación en volumen es superior a 2:1; más preferentemente, la relación en volumen es superior a 3:1. Aquí, el disolvente orgánico mencionado es un tipo de disolvente o un disolvente mixto de varios tipos; preferentemente, está seleccionado del grupo que consiste en acetonitrilo, triclorometano, ciclohexano, 1,2-dicloroeteno, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, dioxano, 2-etoxietanol, etilenglicol, n-hexano, metanol, 2metoxietanol, metilbutilcetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidona, piridina, tetralina, tetrahidrofurano, tolueno, 1.1,2-tricloroetileno, dimetilbenceno, acetona, metoxibenceno, n-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, metil tercbutil éter, isopropilbenceno, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, n-heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, butanona, metilisobutilcetona, isobutanol, n-pentano, n-pentanol, n-propanol, isopropanol, acetato de propilo, 1,1-dietoxipropano, 1,1-dimetoximetano, 2,2dimetoxipropano, iso-octano, isopropil éter, metilisopropilcetona, metiltetrahidrofurano y éter de petróleo; más preferentemente, está seleccionado de una o más mezclas de acetona, metoxibenceno, n-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, metil terc-butil éter, isopropilbenceno, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, nheptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, butanona, metilisobutilcetona, isobutanol, n-pentano, n-pentanol, n-propanol, isopropanol, acetato de propilo, 1,1dietoxipropano, 1,1-dimetoximetano, 2,2-dimetoxipropano, iso-octano, isopropil éter, metilisopropilcetona, metiltetrahidrofurano y éter de petróleo, etc.
- (3). el sólido cristalino se precipita agitando y enfriando lentamente;
- (4). recuperar el sólido y secarlo a vacío.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

60

65

En la presente invención, los instrumentos científicos y las condiciones de prueba implicados en la difracción de rayos X de polvo fueron: monocromador de rayos X giratorio de diana de ánodo tipo D/max-2500/PC (Japan Rigaku); diana de Cu, monocromador de grafito, voltaje del tubo de 40 kV, corriente del tubo de 100 mA, tanto ranura de divergencia como ranura anti-divergencia de 1 º, ranura receptora de 0,3 mm, velocidad de barrido de 5 º/min e intervalo de barrido de 3 a 40 º.

Los instrumentos científicos y las condiciones de prueba implicados en DSC en la presente invención fueron: US Perkin Elmer Diamond DSC; calentamiento de 25 °C a 300 °C a la tasa de 10 °C /min.

Los instrumentos científicos y las condiciones de prueba implicados en TGA en la presente invención fueron: US Perkin Elmer Thermal Analysis Piris 1 TGA; calentamiento de 25 °C a 300 °C a la tasa de 10 °C /min.

Los instrumentos científicos y las condiciones de prueba implicados en la RMN en estado sólido en la presente invención fueron: instrumentos: espectrómetro de RMN en estado sólido de perforación ancha tipo AVANCE III 400MH (BRUKER); condiciones de prueba: CP-MAS; métodos: velocidad de rotación de 14000 Hz, tiempos de barrido de 1404, retraso de la relajación de 40 s, tiempo de contacto de 2 ms, frecuencia de <sup>13</sup>C de 100,6234936 MHz y frecuencia de <sup>1</sup>H de 400,1413530 MHz.

Las condiciones y métodos de la prueba de sustancias relacionadas implicados en la presente invención fueron según HPLC (Apéndice VD de la Farmacopea China, Edición 2005).

Condiciones cromatográficas y aplicabilidad del sistema: sílice unida a octadecilsilano como carga; 0,01 mol/l de dihidrogenofosfato de potasio (ajustado a pH 3,5 por ácido fosfórico)-metanol-acetonitrilo (80:15:5) como fase móvil; la longitud de onda de detección fue 240 nm; el número de platos teóricos no debe ser inferior a 2000, calculado según el pico de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona. La resolución del pico de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de los picos de impurezas adyacentes debe cumplir los requisitos.

Las condiciones de prueba y método de la prueba de solución se refirieron al Método 1 en el Apéndice XC de la Farmacopea China, Edición 2005.

Según el método de la prueba de solución, la muestra se añadió en 500 ml (para 5 mg de concentración) o 1000 ml (para 10 mg o 25 mg de concentración) de agua como medio, y se agitó a 100 revoluciones por minuto, luego precedió al procedimiento en el método 1. Después de 45 minutos, se filtró una cantidad de la solución, y el primer filtrado se desechó y el siguiente filtrado se tomó como la solución de prueba para el estudio (para 5 mg o 10 mg de concentración); se midieron con exactitud 10 ml del siguiente filtrado para ser la solución de muestra para el estudio (para 25 mg de concentración). Entonces se midió con exactitud una cantidad apropiada de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona estándar y se mezcló con agua para ser la solución estándar que contenía 10 µg de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona por ml. Según la espectrofotometría de UV-vis (Apéndice IVA de la Farmacopea China, Edición 2005), se determinaron la absorbencia de la solución de muestra y la solución estándar a 240 nm de longitud de onda y se calculó la cantidad de solución por píldora (o comprimido) por absorbencia basándose en ESTD.

Las características del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado)

#### 1. Solubilidad

Se realizó la prueba según los ejemplos de la Farmacopea China, Edición 2005. Método: se añadió lentamente una cantidad definida del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) medida con exactitud en una cierta cantidad de disolvente, mientras que la mezcla se agitaba fuertemente durante 30 segundos cada 5 minutos y se observó el estado de disolución en el plazo de 30 minutos. Los resultados se enumeraron en la Tabla 1.

Tabla 1: Prueba de solubilidad del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado)

Disolvente	Cantidad de muestra (g)	Cantidad de disolvente(ml)	Soluto: Disolvente	Estado de disolución	Conclusión
agua	0,0113	100	1□8849,6	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
0,1 mol/l de solución de NaOH	0,0516	5	1□97,5	completamente disuelto	moderadamente soluble
0,1 mol/l de solución de HCl	0,1019	100	1□981,4	completamente disuelto	ligeramente soluble
etanol	0,0109	70	1□6422,0	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
acetonitrilo	0,0520	50	1□961,5	completamente disuelto	ligeramente soluble
acetato de etilo	0,0111	70	1□6306,3	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
metanol	0,0115	10	1□869,6	completamente disuelto	ligeramente soluble
ácido acético	0,1008	3	1□29,8	completamente disuelto	soluble
acetona	0,0521	25	1□479,8	completamente disuelto	ligeramente soluble
DMSO	0,1003	1	1: 9,97	completamente disuelto	libremente soluble
DMF	0,1011	3	1: 29,7	completamente disuelto	soluble

El Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) fue: libremente soluble en sulfóxido de dimetilo; soluble en N,N-dimetilformamida y ácido acético; moderadamente soluble en 0,1 mol/l de solución de NaOH; ligeramente soluble en 0,1 mol/l de solución de HCI, acetonitrilo, metanol y acetona; muy ligeramente soluble en agua, etanol y acetato de etilo.

9

10

15

5

25

20

35

40

## 2. Estabilidad

## 2.1 Prueba de fotoestabilidad

Se distribuyó el Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) homogéneamente en placa de Petri abierta con el espesor del material de partida no superior a 5 mm, y la distancia se ajustó para hacer la intensidad de iluminación a 4500 ± 500 Lx. La muestra se probó en el 5º y 10º día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 2. Después de la iluminación fuerte durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 5; el diagrama de DSC del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) en la Fig. 6.

Tabla 2: Prueba de fotoestabilidad (4500 ± 500 Lx)

Tiempo			Puntos				
(días)	Aspecto	Sustancia relacionada	Contenido	Punto de fusión (punto de descomposición)			
0	polvo blanquecino	0,05 %	99,87 %	268,66 °C			
5	polvo blanquecino	0,05 %	99,85 %	1			
10	10 polvo blanquecino 0,05 % 99,86 % 267,08 °C						
Nota: la f	Nota: la fluctuación de temperatura fue entre 23 °C y 26 °C; la humedad relativa estuvo entre el 56 % y el 63 %.						

#### 15 2.2 Prueba a temperatura alta

20

30

35

Se puso el material de partida de Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) en una botella de vidrio cerrada transparente y entonces se puso en la cámara de secado termostática a 60 °C. La muestra se probó en el 5° y 10° día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 3. Después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 7; el diagrama de DSC en la Fig. 8.

Tabla 3: Prueba a temperatura alta (60 °C)

	rabia e. r rabba a temperatara ana (ee e)					
Tiempo	Puntos					
(días)	Aspecto	Sustancia relacionada	Contenido	Punto de fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	0,05 %	99,87 %	268,66		
5	polvo blanquecino	0,05 %	99,86 %	/		
10	polvo blanquecino	0,06 %	99,84 %	267,32		
Nota: la variación de humedad relativa estuvo entre el 54 % y el 62 %.						

#### 25 2.3 Prueba a humedad alta

Se distribuyó homogéneamente el material de partida de Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) en placa de Petri abierta con espesor del material de partida no superior a 5 mm y se puso en estufa de incubación termostática y humidostática a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y 75 ± 5 % de humedad relativa. La muestra se probó en el 5° y 10° día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 4. Después de la prueba a humedad alta de 75 ± 5 % de humedad relativa durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 9; el diagrama de DSC en la Fig. 10-1; el diagrama de TGA en la Fig. 10-2.

Tabla 4: Prueba a humedad alta (temperatura ambiente y 75 ± 5 % de humedad relativa)

Tiempo	Puntos					
(días)	Aspecto	Contenido	Punto de			
		absorción de humedad (%)	(%)	fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	1	99,87	268,66		
5	polvo blanquecino	0,65	99,85	/		
10	polvo blanquecino	0,66	99,85	267,16		
Nota: la fluctuación de temperatura estuvo entre 23 °C y 26 °C.						

# 2.4 Prueba acelerada

Se envasó herméticamente el material de partida de Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona (hemihidratado) en bolsas de plástico de película de polietileno y se puso en estufa de incubación termostática y humidostática a 40 ± 2 °C y 75 ± 5 % de humedad relativa durante seis meses. La muestra se probó al final del 1°, 2°, 3° y 6° mes, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del mes cero. Los resultados se enumeraron en la Tabla 5. Después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 11; el diagrama de DSC en la Fig. 12-1; el diagrama de TGA en la Fig. 12-45

Tabla 5: Prueba acelerada (40 °C y 75 % de humedad relativa)

Tiempo(meses)	Puntos					
	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)		
0	Polvo blanquecino	0,05	99,87	268,66		
1	Polvo blanquecino	0,05	99,85	/		
2	Polvo blanquecino	0,05	99,81	/		
3	Polvo blanquecino	0,06	99,78	/		
6	Polvo blanquecino	0,07	99,75	267,50		

Como se sabe de los resultados anteriores, en la prueba de fotoestabilidad y la prueba a temperatura alta tanto el aspecto como el contenido de Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (hemihidratado) obtenido por la presente invención tuvieron poca variación significativa, que demostraron la característica de estabilidad; en la prueba de humedad alta, tanto el aspecto como el contenido de este producto tuvieron poco cambio obvio, que verificó la característica de absorción de humedad muy ligera.

En la prueba de observación de almacenamiento de muestra a largo plazo, no se encontró transformación del cristal, que significa que la morfología de cristal de este polimorfo es relativamente estable.

Además, el proceso de pérdida de peso del Polimorfo I se produjo durante un periodo de 100 °C a 180 °C, que podría identificar la existencia de fuerzas de van der Waals entre moléculas, pérdida de peso calculada: 100,2825 % - 96,8165 % = 3,466 % según el diagrama de barrido de TGA del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (Fig. 3-2), que verificó que el Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es hemihidratado.

Las características del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona

## 20 1. Solubilidad

15

25

Se realizó la prueba según los ejemplos de la Farmacopea China, Edición 2005. Método: se añadió lentamente una cantidad definida del Polimorfo II solvatado (acetonitrilo) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona medida con exactitud en una cierta cantidad de disolvente, mientras que la mezcla se agitó fuertemente durante 30 segundos cada 5 minutos y se observó el estado de disolución en el plazo de 30 minutos. Los resultados se enumeraron en la Tabla 61.

Tabla 6: Prueba de solubilidad del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2h-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona

Disolvente	Cantidad de muestra (g)	Cantidad de disolvente (ml)	Soluto: Disolvente	Estado de disolución	Conclusión
agua	0,0102	105	1□10294	no puede disolverse completamente	prácticamente insoluble
0,1 mol/l de solución de NaOH	0,0515	50	1□970,9	completamente disuelto	ligeramente soluble
0,1 mol/l de solución de HCl	0,0510	5	1□98,0	completamente disuelto	moderadamente soluble
etanol	0,0108	50	1□4629,6	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
acetonitrilo	0,0114	10	1□877,2	completamente disuelto	ligeramente soluble
acetato de etilo	0,0109	105	1□9633,0	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
metanol	0,0107	50	1□4672,9	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
ácido acético	0,0508	5	1□98,4	completamente disuelto	moderadamente soluble
acetona	0,0512	50	1□976,6	completamente disuelto	ligeramente soluble
DMSO	0,1012	1	1□9,88	completamente disuelto	libremente soluble
DMF	0,1023	1	1□9,78	completamente disuelto	libremente soluble

30 El Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2h-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona fue: libremente soluble en sulfóxido de dimetilo y N,N-dimetilformamida; moderadamente soluble en ácido acético y 0,1 mol/l de solución de HCl; ligeramente soluble en acetonitrilo, acetona y 0,1 mol/l de solución de NaOH; muy ligeramente soluble en metanol, etanol y acetato de etilo; casi insoluble en agua.

## 2. Estabilidad

## 2.1 Prueba de fotoestabilidad

Se distribuyó homogéneamente el Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindole- 2-il)-piperidin-2,6-diona en placa de Petri abierta con el espesor del material de partida no superior a 5 mm y la distancia se ajustó para hacer la intensidad de iluminación a 4500 ± 500 Lx. La muestra se probó en el 5º y 10º día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 7. Después de iluminación fuerte durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 16; el diagrama de DSC en la Fig. 17.

Tabla 7: Prueba de fotoestabilidad (4500 ± 500 Lx)

		1			
Tiempo	Puntos				
(días)	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)	
0	polvo blanquecino	0,09	99,89	269,12	
5	polvo blanquecino	0,09	99,89	1	
10	polvo blanquecino	0,09	99,88	268,69	
Nota: la fluctuación de temperatura fue entre 23 °C y 26 °C; la humedad relativa estuvo entre 56 % y					
63 %					

### 2.2 Prueba a temperatura alta

Se puso el material de partida de Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en una botella de vidrio cerrada transparente y entonces se puso en la cámara de secado termostática a 60 °C. La muestra se probó en el 5° y 10° día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 8. Después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 18; el diagrama de DSC en la Fig. 19.

Tabla 8: Prueba a temperatura alta (60 °C)

	rabia of rabba a temperatura ana (oo o)						
Tiempo		Puntos					
(días)	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)			
0	Polvo blanquecino	0,09	99,89	269,12			
5	Polvo blanquecino	0,09	99,86	1			
10	Polvo blanquecino	0,10	99,87	269,11			
Nota: la va	Nota: la variación de humedad relativa estuvo entre el 54 % y el 62 %.						

# 2.3 Prueba a humedad alta

Se distribuyó homogéneamente el material de partida de Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona en placa de Petri abierta con espesor del material de partida no superior a 5 mm y se puso en estufa de incubación termostática y humidostática a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y 75 ± 5 % de humedad relativa. La muestra se probó en el 5° y 10° día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 9. Después de la prueba de humedad alta de 75 ± 5 % de humedad relativa durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 20; el diagrama de DSC en la Fig. 21-1; el diagrama de TGA en la Fig. 21-2.

Tabla 9: Prueba de humedad alta (temperatura ambiente y 75 ± 5 % de humedad relativa)

Tiempo		Puntos				
(días)	Aspecto	Aumento de peso de la	Contenido	Punto de		
		absorción de humedad (%)	(%)	fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	1	99,89	269,12		
5	polvo blanquecino	1,33	99,87	/		
10	polvo blanquecino	2,15	99,87	268,68		
Nota: la fluc	Nota: la fluctuación de temperatura estuvo entre 23 °C y 26 °C.					

#### 2.4 Prueba acelerada

Se envasó herméticamente el material de partida de Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en bolsas de plástico de película de polietileno y se puso en estufa de incubación termostática y humidostática a 40 ± 2 °C y 75 ± 5 % de humedad relativa durante seis meses. La muestra se probó al final del 1°, 2°, 3° y 6° mes, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del mes cero. Los resultados se enumeraron en la Tabla 10. Después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 22; el diagrama de DSC en la Fig. 23-1; el diagrama de TGA en la Fig. 23-2.

20

25

30

15

35

40

Tabla 10: Prueba acelerada (40 °C y 75 % de humedad relativa)

Tiempo	Puntos					
(meses)	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	0,09	99,89	269,12		
1	polvo blanquecino	0,09	99,85	/		
2	polvo blanquecino	0,10	99,77	/		
3	polvo blanquecino	0,10	99,72	/		
6	polvo blanquecino	0,12	99,68	268,82		

Como se sabe de los resultados anteriores, en la prueba de fotoestabilidad y la prueba a temperatura alta (60 °C) tanto el aspecto como el contenido de Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona obtenido por la presente invención tuvieron poca variación significativa, que verificó la característica de estabilidad; en la prueba de humedad alta, tanto el aspecto como el contenido de este producto tuvieron poco cambio obvio, pero hay absorción de humedad más baja. En la prueba de observación de almacenamiento de muestra a largo plazo en humedad alta, se reveló por barrido de DSC que una pequeña cantidad del Polimorfo II se había transformado en el Polimorfo I.

Las características del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona

#### 1. Solubilidad

10

20

Se realizó la prueba según los ejemplos de la Farmacopea China, Edición 2005. Método: se añadió lentamente una cantidad definida del Polimorfo III solvatado (acetona) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona medida con exactitud en una cierta cantidad de disolvente, mientras que la mezcla se agitó fuertemente durante 30 segundos cada 5 minutos y se observó el estado de disolución en el plazo de 30 minutos. Los resultados se enumeraron en la Tabla 11.

Tabla 11: Prueba de solubilidad del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona

				,o annaio zi i loomaoi z ii	/ p.pea =;e a.e
Disolvente	Cantidad de muestra (g)	Cantidad de disolvente(ml)	Soluto: Disolvente	Estado de disolución	Conclusión
agua	0,0106	110	1□10377	no puede disolverse completamente	prácticamente insoluble
0,1 mol/l de solución de NaOH	0,0512	5	1□97,7	completamente disuelto	moderadamente soluble
0,1 mol/l de solución de HCl	0,1030	100	1□970,9	completamente disuelto	ligeramente soluble
etanol	0,0101	70	1□6930,7	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
acetonitrilo	0,0524	50	1□954,2	completamente disuelto	ligeramente soluble
acetato de etilo	0,0108	70	1□6481,5	completamente disuelto	muy ligeramente soluble
metanol	0,0115	10	1□869,6	completamente disuelto	ligeramente soluble
ácido acético	0,1010	9	1□89,1	completamente disuelto	moderadamente soluble
acetona	0,0522	25	1□478,9	completamente disuelto	ligeramente soluble
DMSO	0,1017	3	1: 29,5	completamente disuelto	soluble
DMF	0,1016	3	1: 29,5	completamente disuelto	soluble

El Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona fue: soluble en sulfóxido de dimetilo y N,N-dimetilformamida; moderadamente soluble en ácido acético y 0,1 mol/l de solución de NaOH; ligeramente soluble en 0,1 mol/l de solución de HCl, acetonitrilo, metanol y acetona; muy ligeramente soluble en agua, etanol y acetato de etilo.

## 2. Estabilidad

25

# 30 2.1 Prueba de fotoestabilidad

Se distribuyó homogéneamente el Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en placa de Petri abierta con el espesor del material de partida no superior a 5 mm y la distancia se ajustó para hacer la intensidad de iluminación a 4500 ± 500 Lx. La muestra se probó en el 5º y 10º día, respectivamente, y los

resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 12. Después de iluminación fuerte durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 27; el diagrama de DSC en la Fig. 28.

Tabla 12: Prueba de fotoestabilidad (4500 ± 500 Lx)

Tiempo	Puntos					
(días)	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	0,07	99,86	268,19		
5	polvo blanquecino	0,07	99,85	/		
10	polvo blanquecino	0,07	99,85	268,15		
Nota: la fluctu	Nota: la fluctuación de temperatura fue entre 23 °C y 26 °C; la humedad relativa estuvo entre 56 % y 63 %.					

## 2.2 Prueba a temperatura alta

Se puso el material de partida de Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro -2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en una botella de vidrio cerrada transparente y entonces se puso en la cámara de secado termostática a 60 °C. La muestra se probó en el 5° y 10° día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 13. Después de la prueba a temperatura alta de 60 °C durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 29; el diagrama de DSC en la Fig. 30.

Tabla 13: Prueba a temperatura alta (60 °C)

	rabia 10.1 rabba a tom boratara ana (00 °C)						
Tiempo		Puntos					
(días)	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)			
0	polvo blanquecino	0,07	99,86	268,19			
5	polvo blanquecino	0,07	99,84	/			
10	polvo blanquecino	0,08	99,83	268,11			
Nota: la varia	Nota: la variación de humedad relativa estuvo entre el 54 % y el 62 %.						

#### 2.3 Prueba a humedad alta

Se distribuyó homogéneamente el material de partida de Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro -2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en placa de Petri abierta con espesor del material de partida no superior a 5 mm y se puso en estufa de incubación termostática y humidostática a temperatura ambiente (aproximadamente  $25\,^{\circ}$ C) y  $75\pm5\,^{\circ}$  de humedad relativa. La muestra se probó en el  $5^{\circ}$  y  $10^{\circ}$  día, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del día 0. Los resultados se enumeraron en la Tabla 14. Después de la prueba de humedad alta de  $75\pm5\,^{\circ}$  de humedad relativa durante 10 días, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 31; el diagrama de DSC en la Fig. 32-1; el diagrama de TGA en la Fig. 32-2.

Tabla 14: Prueba de humedad alta (temperatura ambiente y 75 ± 5 % de humedad relativa)

Tiempo		Puntos				
(días)	aspecto	Aumento de peso de la	Contenido	Punto de		
		absorción de humedad (%)	(%)	fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	1	99,86	268,19		
5	polvo blanquecino	1,25	99,83	1		
10	polvo blanquecino	1,37	99,82	268,10		
Nota: la fluc	Nota: la fluctuación de temperatura estuvo entre 23 °C y 26 °C.					

# 2.4 Prueba acelerada

Se envasó herméticamente el material de partida de Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro -2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en bolsas de plástico de película de polietileno y se puso en estufa de incubación termostática y humidostática a 40 ± 2 °C y 75 ± 5 % de humedad relativa durante seis meses. La muestra se probó al final del 1°, 2°, 3° y 6° mes, respectivamente, y los resultados se contrastaron con los del mes cero. Los resultados se enumeraron en la Tabla 15. Después de la prueba acelerada a 40 °C durante seis meses, el patrón de difracción de rayos X de polvo se mostró en la Fig. 33; el diagrama de DSC en la Fig. 34-1; el diagrama de TGA en la Fig. 34-2.

Tabla 15: Prueba de tiempo corto (40 °C y 75 % de humedad relativa)

		1 \		,		
Tiempo	Puntos					
(meses)	Aspecto	Sustancia relacionada (%)	Contenido (%)	Punto de fusión (°C)		
0	polvo blanquecino	0,07	99,86	268,19		
1	polvo blanquecino	0,07	99,81	1		
2	polvo blanquecino	0,07	99,76	1		
3	polvo blanquecino	0,08	99,71	1		
6	polvo blanquecino	0,08	99,62	268,08		

15

20

25

10

5

30

Como se sabe de los resultados anteriores, en la prueba de iluminación y la prueba a temperatura alta (60 °C) tanto el aspecto como el contenido de Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona obtenido por la presente invención tuvieron poca variación significativa, que demostró la característica de estabilidad; en la prueba de humedad alta, tanto el aspecto como el contenido de este producto tuvieron poco cambio obvio, pero hay absorción de humedad más baja. En la prueba de observación de almacenamiento de muestra a largo plazo en humedad alta, se reveló por barrido de DSC que una pequeña cantidad de Polimorfo II se había transformado en el Polimorfo I.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

En otra realización de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más del Polimorfo I, II y III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona y un excipiente farmacéutico; preferentemente, la composición farmacéutica contiene 500 mg del Polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona; más preferentemente, contiene 5 mg, 10 mg, 15 mg o 25 mg del Polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona. Según la enseñanza en el estado de la técnica de este campo y con referencia a las patentes citadas por la presente invención, las composiciones farmacéuticas de la presente invención podrían prepararse en todos los tipos de formulaciones y podría seleccionarse el excipiente farmacéutico apropiado. Por ejemplo, según las enfermedades y objetivos, las composiciones farmacéuticas de la presente invención podrían administrarse mediante tales vías de administración: oral, parenteral (por ejemplo, inyección intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, intracerebroventricular, intracisternal y subcutánea, o infusión), administración por espray de inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual o local; preferentemente, es formulaciones sólidas orales, tales como comprimidos, gránulos o cápsulas.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención que contienen el Polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona podrían comprender otros componentes terapéuticos dependiendo de las necesidades.

La composición farmacéutica de la presente invención se administró una vez o múltiples veces cada día basándose en la dosis diaria, y la dosis diaria fue aproximadamente de 0,10 mg a 500 mg por día, más preferentemente de 1 mg a 250 mg por día. Alternativamente, la composición farmacéutica se administró cada dos días a la dosis de aproximadamente de 0,10 mg a 150 mg por día o de 1 mg a 250 mg por día.

Las enfermedades y síndromes que pueden tratarse por 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona de la invención incluyen, pero no se limitan a: trastorno mieloproliferativo, síndrome de osteomielodisplasia, vasculogénesis, cáncer, dolor, degeneración macular, asbestosis, anemia, enfermedad del sistema nervioso, disomnia, dermatosis, hipertensión pulmonar, trastorno por deficiencia inmune, enfermedades parasíticas y lesión central, etc., y los métodos específicos y dosis podrían referirse a las patentes chinas con los números de solicitud: 97180299.8, 98805614.3, 03825761.0, 03825567.7, 03813733.X, 03816899.5, 200610150484.3, 200380107531.0, 200710103924.4, 200380108093.X, 200380108398.0, 200480043341.1, 200480038171.8, 200480035556.9, 200480020445.0, 200480043535.1, 200480040004.7, 200480041252.3, 200480042208.4, 200580017546.7, 200580016344.0, 200580020628.7, 200580037220.0, 200580047364.4, 200580046371.2 y 200580047031.1.

Las ventajas técnicas de la presente invención incluyen: aunque se ha informado de ocho polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona y los métodos de preparación de los mismos en la documentación de patente de CN 1871003A, por los polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona preparados por los métodos de la patente CN 1871003A se verificó que el Polimorfo A y el Polimorfo B tenían mala estabilidad química en 0,1 mol/l de solución diluida de HCl y en el experimento de destrucción por oxidación, y también el método de transformación de cristal descrito en la patente fue inadecuado para producción industrial.

Por la técnica existente en el documento de patente CN 1871003A, el método de preparación fue que: se añadió 3- (4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en agua o disolvente orgánico (por ejemplo, hexano, tolueno, acetona, acetonitrilo, metanol y acetato de etilo) donde es prácticamente insoluble, después de disolverse calentando, se precipitó el cristal cuando se enfriaba o se transformó en cristal cuando se agitaba durante un largo tiempo en el sistema en suspensión de la difase sólido-líquido.

- 1. En el documento de patente US 5635517 y la patente china CN 101080400A, para preparar la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona objetivo, en la última etapa de reacción química, se redujo nitro por el método de hidrogenación con Pd/C dando el compuesto objetivo, mientras que la mala solubilidad de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en todos los tipos de sistemas de reacción condujo fácilmente al exceso de metal pesado en los productos obtenidos por este método;
- 2. Debido a que la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona fue prácticamente insoluble en agua o los disolventes orgánicos mencionadas anteriormente, debe usarse una gran cantidad (superior a 100 veces) de disolvente incluso en la condición de calentamiento. Y no se tuvo en cuenta que el disolvente orgánico perjudicial clasificado en o por encima de la clase II (por ejemplo, tolueno y acetonitrilo, etc.) no debía ser probado para su uso en la síntesis de productos finales para minimizar los efectos negativos del disolvente orgánico residual en productos sobre el cuerpo humano;

- 3. Por el método de transformación en cristal descrito en las patentes de CN 1871003A y CN 101080400A, el aspecto, color y brillo de los productos pueden no mejorarse, por ejemplo, del amarillo claro original a blanco o blanquecino;
- 4. El Polimorfo A y el Polimorfo B por los métodos de preparación de polimorfo enseñados en los documentos de patente de CN1871003A y CN 101080400A fueron fácilmente destruidos para ser descompuestos en un tiempo más corto en 0,1 mol/l de solución diluida de HCl y en la destrucción por oxidación, que indicó su mala estabilidad química.
- 5. Técnica de transformación de cristal para preparar polimorfos en las patentes CN1871003A y CN 101080400A, que requería tiempo con mala controlabilidad, era inadecuada para la producción industrial.
- En una palabra, los métodos de preparación de polimorfos en las patentes CN1871003A v CN 101080400A fueron 15 inadecuados para producción industrial.

Sin embargo, la presente invención proporcionó los métodos adecuados para fabricar industrialmente los polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona, que vencieron los problemas en la técnica existente.

En términos de los tres nuevos polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en la presente invención, las condiciones de cristalización fueron en vista de la insolubilidad de 3-(4-amino-1-oxo-1,3dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en la mayoría de los disolventes y la difícil purificación, y se adoptaron métodos de preparación fáciles:

- 1. la técnica de preparación de la presente invención era simple, bastante fácil de operación y conveniente para producción industrial, y la calidad de los productos era controlable y los polimorfos tenían buena estabilidad adecuada para almacenamiento a largo plazo;
- 2. por los métodos de transformación de cristal, se eliminaron fácilmente fuertes impurezas polares, produciendo 30 reducción espectacular en la sustancia relacionada;
  - 3. el exceso o por encima del límite del residuo de metal pesado podría ser reducido significativamente:
- 35 4. la aparición, color y brillo de los productos podría mejorarse evidentemente a partir de amarillo claro a blanco o blanquecino;
  - 5. por comparación con el Polimorfo A descrito en la patente CN1871003A, el Polimorfo I de la presente invención tuvo mejor estabilidad en aqua, 0,1 mol/l de solución de HCl y en el experimento de destrucción por oxidación, donde no se descompuso sustancialmente o el grado de descomposición fue obviamente inferior al del Polimorfo A desvelado en la patente CN1871003A. Así, el Polimorfo de la presente invención tuvo más ventajas para la formulación;
- 6. por los métodos de preparación de polimorfos en la presente invención, la cantidad de disolvente orgánico usada en la transformación del cristal podría reducirse enormemente, que condujo a coste reducido de 45 productos:
  - 7. por los métodos de la presente invención, podrían usarse selectivamente agua o disolventes orgánicos en Clase III con baja toxicidad para preparar los polimorfos de la presente invención, evitando los efectos tóxicos sobre el cuerpo humano por los disolventes orgánicos tales como tolueno y metiletilcetona, etc., con toxicidad potencial alta usados en la patente CN1871003A.

Debido a las ventajas anteriormente mencionadas, la presente invención fue beneficiosa para la espectacular mejora en la calidad de los productos y adecuada para producción industrial.

# **Ejemplos**

Preparación de los polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona

60 Ejemplo 1

Preparación del Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona:

Se añadieron 100 g de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en 400 ml de DMF (o 300 ml de DMSO), y se disolvieron por agitación y calentamiento. Entonces se añadieron 1600 ml de agua (o un sistema de disolventes mixto de 1000 ml de agua y 600 ml de disolvente orgánico, concretamente un sistema doble o de

16

5

10

20

25

40

55

50

múltiples mezclas que consiste en agua y disolvente orgánico tal como acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, diclorometano, isopropanol, metanol, etanol y etc., en el que la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona era insoluble) y precipitó cristal cuando la mezcla se agitó y se enfrió lentamente. El sólido se recuperó y se secó a vacío dando el Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona.

Sistema de DMF/agua: el producto pesó 78 g y el rendimiento fue del 78 %;

Sistema de DMSO/agua: el producto pesó 90 g y el rendimiento fue del 90 %.

Contrastes	Índice de material de partida antes de la transformación	Índice de Polimorfo I
Aspecto	Polvo de cristal amarillo	Polvo de cristal de blanco a blanquecino
Sustancia relacionada	< 0,31 %	≤ 0,05 ppm
Metal pesado	≥ 20 ppm, ≤ 50 ppm	≤ 10 ppm
Contenido de agua	0,097 %	3,613 %
Punto de fusión	263,97 °C	268,86 °C

Eiemplo 2

Preparación del Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona:

Se añadieron 100 g de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en 400 ml de DMF anhidra y se disolvieron por agitación y calentamiento; entonces se añadieron 1800 ml de anhidro etanol (o 1600-2000 ml de disolventes únicos o mixtos que consisten en metanol, acetona, acetato de etilo, acetonitrilo, diclorometano y etc.) y precipitó cristal cuando la mezcla se agitó y se enfrió lentamente. El sólido se recuperó y se secó a vacío dando el Polimorfo II de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona.

El producto pesó 72 g y el rendimiento fue del 72 %.

Contrastes	Índice de material de partida antes	Índice de Polimorfo □
Puntos	de la transformación	
Aspecto	Polvo de cristal amarillo	Polvo de cristal de blanco a blanquecino
Sustancia relacionada	< 0,31 %	≤ 0,09 ppm
Metal pesado	≥ 20 ppm, ≤ 50 ppm	≤ 10 ppm
Pérdida de peso antes	0,097 %	11,31 °C
de 180 °C por TGA		
Fusión por DSC	263,97 °C	269,12 °C

Ejemplo 3

Preparación del Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona:

Se añadieron 100 g de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidina-2,6-diona en 300 ml de DMSO anhidro y se disolvió por agitación y calentamiento. Entonces se añadieron 2000 ml de etanol anhidro (disolvente orgánico alternativo tal como metanol, acetona, acetato de etilo, acetonitrilo, diclorometano y etc., en el que la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona era insoluble) y precipitó cristal cuando la mezcla se agitó y se enfrió lentamente. El sólido se recuperó y se secó a vacío dando el Polimorfo III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona.

35 El producto pesó 86 g y el rendimiento fue del 86 %.

Contrastes	Índice de material de partida antes	Índice de Polimorfo □
Puntos	de la transformación	
Aspecto	Polvo de cristal amarillo	Polvo de cristal de blanco a blanquecino
Sustancia relacionada	< 0,31 %	≤ 0,09 ppm
Metal pesado	≥ 20 ppm, ≤ 50 ppm	≤ 10 ppm
Pérdida de peso antes de 200 °C por TGA	0,097 %	12,663 °C
Punto de fusión por DSC	263,97 °C	268,19 °C

10

20

25

30

5

Ejemplo 4

Prescripción y método de preparación de comprimidos:

5 Según los métodos mencionados a continuación, se formularon varios excipientes y el Polimorfo I o II o III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona anteriormente mencionado o una mezcla del Polimorfo I, II y III en cualquier relación en comprimidos que contenían 10 mg por comprimido.

Material de partida y advuyante	Cantidad (g/1000 comprimidos)	
Material de partida y adyuvante	Receta 1	Receta 2
3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (I, II, III)	10 g	10 g
lactosa anhidra	30 g	15 g
almidón	30 g	50 g
celulosa microcristalina	20 g	15 g
croscarmelosa sódica	9 g	1
carboximetilalmidón sódico	1	7 g
solución al 10 % de PVP	50 ml	40 ml
estearato de magnesio	0,25 g	0,15 g

El método de fabricación de comprimidos que contenían el Polimorfo I o II o III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona o una mezcla del Polimorfo I, II y III anteriormente mencionado en cualquier relación fue: se mezclaron homogéneamente los excipientes anteriormente mencionados con el Polimorfo I o II o III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona o una mezcla del Polimorfo I, II y III anteriormente mencionado en cualquier relación, y se añadió una cantidad apropiada de solución al 10 % de PVP para formar la masa húmeda, que entonces se granuló por tamización. Los gránulos húmedos se secaron y el tamaño se estabilizó por tamizado, y entonces se añadieron estearato de magnesio y polvo de talco para que la mezcla fuera homogénea, que se comprimió finalmente.

Comprimido de polimorfo I --- % de solución acumulada

Tiempo	1#	2#	3#	4#	5#	% en promedio	% de DE	% de RSD
0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	64,40	65,14	69,30	60,78	70,55	66,0	3,94	5,97
10	97,72	96,74	99,01	97,49	99,00	98,0	0,99	1,01
20	98,85	96,49	98,54	97,94	87,07	95,8	4,95	5,17
30	97,98	96,99	100,27	98,03	97,55	98,2	1,25	1,27
45	96,76	95,27	97,51	96,59	96,83	96,6	0,82	0,84
60	97,08	94,62	96,16	96,59	96,73	96,2	0,96	1,00

20

Ejemplo 5

Prescripción y método de preparación de cápsulas:

Según los métodos mencionados a continuación, se formularon varios excipientes y el Polimorfo I o II o III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-iI)-piperidin-2,6-diona o una mezcla de los polimorfos anteriormente mencionados en cualquier relación en cápsulas que contenían 10 mg por cápsula.

Material de partida y adyuvante	Cantidad (g/1000 cápsulas)			
	Receta 1	Receta 2	Receta 3	
3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il) -piperidin-2,6- diona (I, II, III)	10 g	10 g	10 g	
lactosa anhidra	30 g	50 g	/	
almidón	30 g	/	60 g	
celulosa microcristalina	30 g	40 g	25 g	
croscarmelosa sódica	/	6,5 g	7,5	
carboximetilalmidón sódico	8 g	/	/	
solución al 10 % de PVP	45 ml	55 ml	35 ml	
estearato de magnesio	0,3 g	0,2 g	0,25 g	

30

35

El método de fabricación de cápsulas que contienen el Polimorfo I o II o III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona o una mezcla del Polimorfo I, II y III anteriormente mencionado en cualquier relación fue: se mezclaron homogéneamente los excipientes anteriormente mencionados con el Polimorfo I o II o III de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona o una mezcla de los tres polimorfos anteriormente mencionados en cualquier relación y se añadió una cantidad apropiada de solución al 10 % de PVP para formar los gránulos húmedos, que se secaron y el tamaño se estabilizó por tamizado. Entonces se añadió estearato de

magnesio para que la mezcla fuera homogénea, que se encapsuló. Alternativamente, sin granulación, la mezcla homogénea de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona y los excipientes anteriormente mencionados se tamizó y se encapsuló directamente.

Cápsula de Polimorfo I ---% de solución acumulada

Tiempo	1#	2#	3#	4#	5#	% en promedio	% de DE	% de RSD
0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	60,86	59,90	35,00	50,84	22,77	45,9	16,57	36,12
10	91,04	93,30	85,66	91,23	83,92	89,0	4,02	4,51
20	94,08	96,78	92,84	95,18	93,02	94,4	1,64	1,73
30	95,38	96,14	93,62	95,42	93,56	94,8	1,17	1,23
45	93,02	95,66	93,91	94,11	93,00	93,9	1,09	1,16
60	94,63	94,10	93,38	93,83	92,08	93,6	0,97	1,03

## Prueba comparativa

5

Siguen los métodos del experimento de destrucción del Polimorfo I de la presente invención (denominado en lo sucesivo "Polimorfo I") que contrastan con el Polimorfo A y B de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona preparado por el método en CN 1871003A (denominado en lo sucesivo "Polimorfo A" y "Polimorfo B") y los resultados de estabilidad:

Tabla 16: Resultados de estabilidad del Polimorfo A, Polimorfo B y Polimorfo I en la prueba de destrucción

Tipo de polimorfo		·				
	Polimorfo A		Polimorfo B		Polimorfo I	
Condiciones Resultados						
	Total		Total		Total	
Impurezas principales en los	Impurezas: 0,06 %		Impurezas: 0,07 %		Impurezas: 0,04 %	
materiales de partida antes de la	tR 5,948	0,01 %	tR 5,921	0,01 %	tR 5,872	0,01 %
destrucción	tR 6,855	0,01 %	tR 6,847	0,01 %	tR 10,961	0,03 %
	tR 11,165	0,04 %	tR 11,165	0,05 %		
	Total		Total		Total	
	Impurezas: 0,82 %		Impurezas: 0,89 %		Impurezas: 0,16 %	
Impurezas principales generadas	tR 5,655	0,39 %	tR 5,649	0,36 %	tR 5,660	0,09 %
por destrucción por oxidación	tR 10,401	0,08 %	tR 10,397	0,11%	tR 10,372	0,03 %
	tR 32,318	0,08 %	tR 32,302	0,10 %	tR 32,279	0,01 %
	tR 35,098	0,14 %	tR 35,063	0,13 %	tR 35,082	0,02 %
	Tota		Total		Total	
Impurezas principales generadas	Impurezas: 1,13 %		Impurezas: 1,22 %		Impurezas: 0,62 %	
por 0,1 mol/l de destrucción por	tR 4,722	0,33 %	tR 4,717	0,33 %	tR 4,737	0,20 %
ácido durante 1 hora	tR 7,378	0,72 %	tR 7,367	0,72 %	tR 7,381	0,41 %
	tR 11,100	0,04 %	tR 11,096	0,04 %	tR 11,067	0,01 %

# Procedimiento:

15

20

25

Destrucción por ácido: Se añadieron 50 mg de muestra pesada con exactitud en el matraz aforado de 100 ml, y se añadieron 10 ml de 0,1 mol/l de solución de HCl. Después de dejar reposar a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió una cantidad igual de 0,1 mol/l de solución de NaOH para la neutralización. Entonces, la mezcla se diluyó con fase móvil hasta la escala y se agitó para ser homogénea, y se determinó por HPLC.

Destrucción por oxidación: Se añadieron 50 mg de muestra pesada con exactitud en el matraz aforado de 100 ml, y se añadieron 10 ml de 30 % de  $H_2O_2$ . Después de dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla se diluyó con fase móvil hasta la escala y se agitó para ser homogénea, y se determinó por HPLC.

#### Determinación de sustancias relacionadas

Condiciones de HPLC y aplicabilidad del sistema: sílice unida a octadecilsilano como carga; 0,01 mol/l de dihidrogenofosfato de potasio (ajustado a pH 3,5 por ácido fosfórico)-metanol-acetonitrilo (80:15:5) como fase móvil; la longitud de onda de detección fue 240 nm; el número de platos teóricos no debe ser inferior a 2000, calculado según el pico de lenalidomida. La resolución del pico de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona a partir de los picos de impurezas adyacentes debe cumplir los requisitos.

Método de determinación: La muestra se disolvió en fase móvil para ser la solución que contenía 0,5 mg por 1 ml. Se inyectaron 20 µl de tal solución en el cromatógrafo de líquidos y se registró el cromatograma hasta cuatro veces el tiempo de retención del pico del componente principal. Si hubo picos de impurezas en el cromatograma de la

# ES 2 634 666 T3

solución de muestra, se calcularon las impurezas totales y la impureza única por el método de normalización basándose en el área del pico.

Como se revela en los resultados experimentales, comparando con el Polimorfo A y Polimorfo B, el Polimorfo I de la presente invención tuvo mejor estabilidad tanto en la condición de ácido como en la condición de oxidación, que indica que el Polimorfo I era más adecuado para ser preparado en productos farmacéuticos.

## **REIVINDICACIONES**

- 1. Un Polimorfo I de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona hemihidratado, caracterizado por picos de difracción a 11,9 ± 0,2,22,0 ± 0,2,15,6 ± 0,2, 22,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, 26,4 ± 0,2, 27,5 ± 0,2, y 29,1 ± 0,2 de 2θ indicado con grado en su patrón de difracción de rayos X de polvo usando radiación de Cu-Ka; que tiene un pico endotérmico a 164,87 °C, y la transformación endotérmica máxima a 268,86 °C en su diagrama de DSC.
- 2. El Polimorfo I según la reivindicación 1, cuyo patrón de difracción de rayos X de polvo es sustancialmente del siguiente modo:

Pico Número	2θ	Anchura de flexión	Valor d	Intensidad	L/LO
1	11,940	0,212	7,4060	17891	84
2	13,020	0,235	6,7940	5996	28
3	13,780	0,188	6,4210	6550	31
6	15,620	0,235	5,6685	9017	42
9	17,960	0,259	4,9349	5895	28
10	19,080	0,235	4,6476	8374	39
11	19,480	0,235	4,5531	6273	30
12	20,580	0,235	4,3121	6162	29
15	21,980	0,235	4,0405	21530	100
16	22,520	0,259	3,9449	13747	64
18	23,760	0,259	3,7417	15053	70
19	24,400	0,212	3,6450	5016	24
21	26,440	0,282	3,3682	15819	74
22	27,520	0,353	3,2384	11455	54
23	29,060	0,306	3,0702	11190	52
24	30,980	0,306	2,8842	6238	29
25	32,000	0,376	2,7945	4934	23
26	33,040	0,306	2,7089	5313	25
28	34,440	0,259	2,6019	5469	26

- 3. El Polimorfo I según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado por picos de absorción a aproximadamente  $3561.4~\rm cm^{-1},\ 3507.4~\rm cm^{-1},\ 3424.2~\rm cm^{-1},\ 3345.8~\rm cm^{-1},\ 3091.0~\rm cm^{-1},\ 2912.5~\rm cm^{-1},\ 1697.8~\rm cm^{-1},\ 1658.8~\rm cm^{-1},\ 1610.0~\rm cm^{-1},\ 1494.3~\rm cm^{-1},\ 1349.5~\rm cm^{-1},\ 1201.4~\rm cm^{-1}$  en su espectro de infrarrojos en disco de KBr.
- 4. Un método de preparación del Polimorfo I según una cualquiera de la reivindicación 1 a la reivindicación 3 incluye las siguientes etapas:
  - (1) se añade 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona en dimetilformamida, y se disuelve por agitación y calentamiento;
  - (2) se añade agua purificada o un sistema de disolvente mixto de agua purificada y un disolvente orgánico; en el que el disolvente orgánico mencionado es un tipo disolvente o un disolvente mixto de varios tipos, en el que la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona es insoluble o ligeramente soluble;
  - (3) el sólido se precipita agitando y enfriando lentamente;
- (4) recuperar el sólido y secarlo a vacío.

5

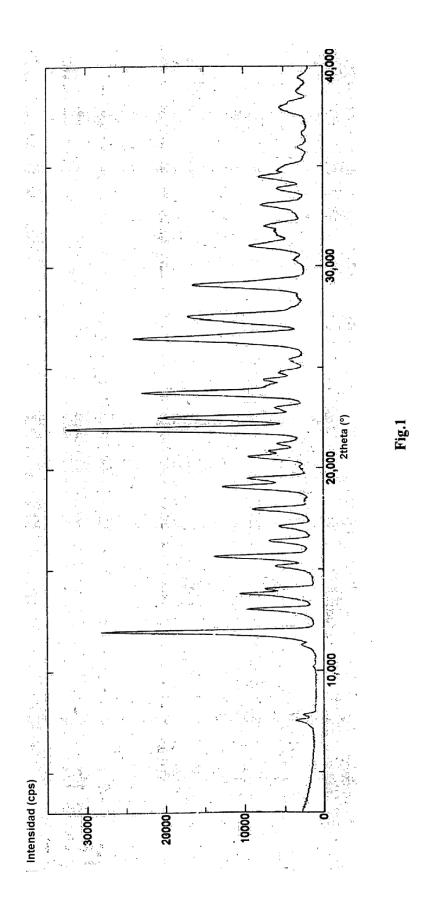
10

15

20

25

5. Composiciones farmacéuticas que comprenden el polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona según una cualquiera de la reivindicación 1 a 3.



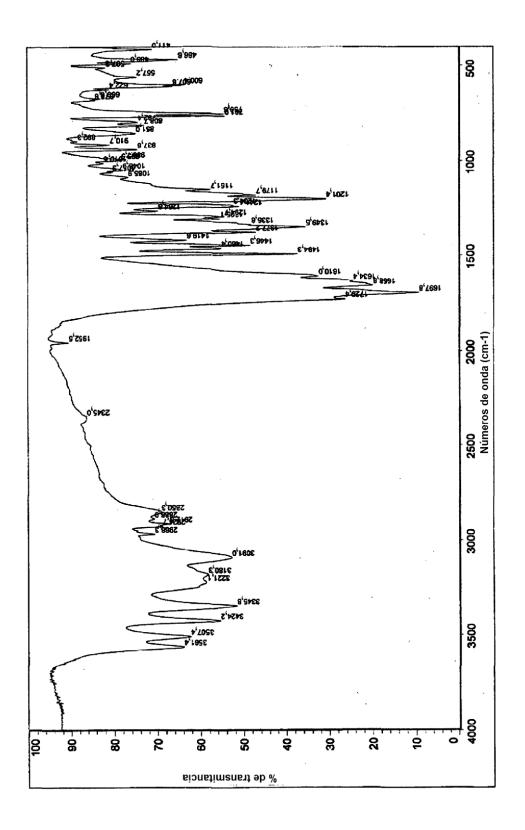
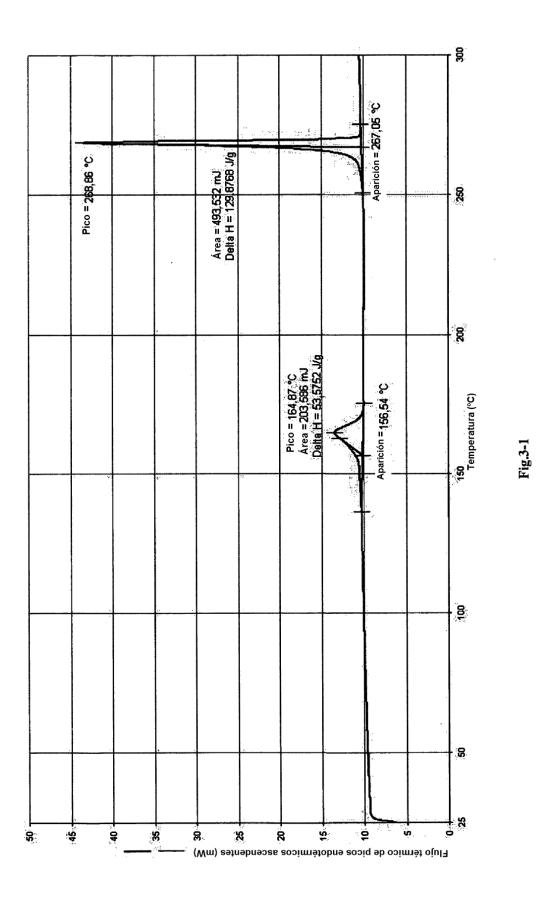
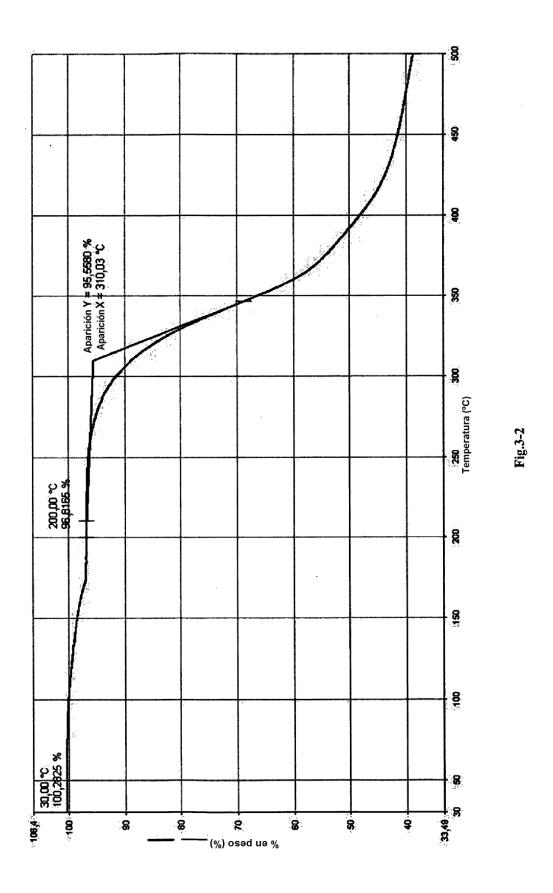


Fig.2





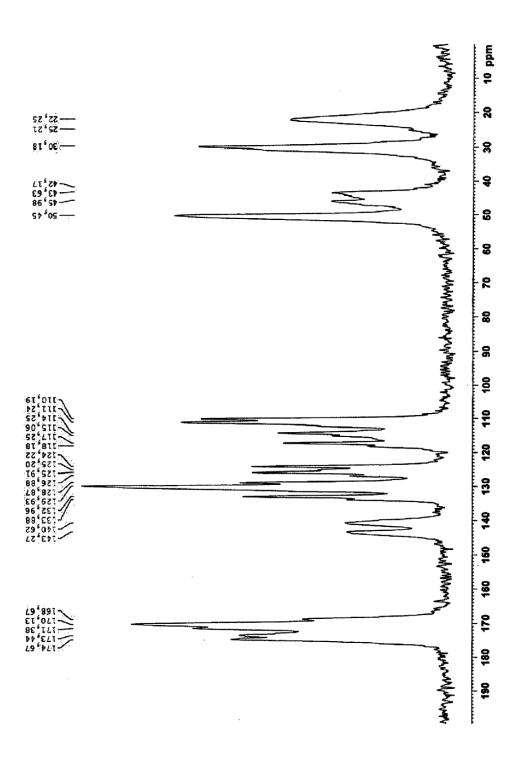
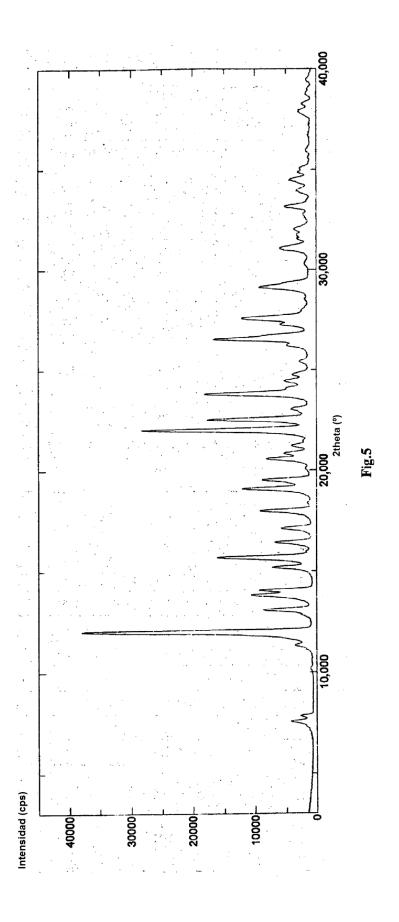
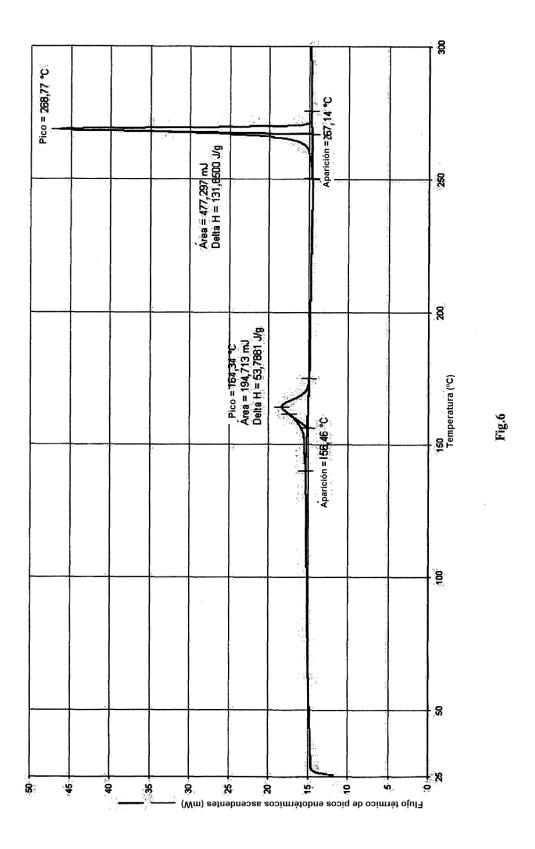
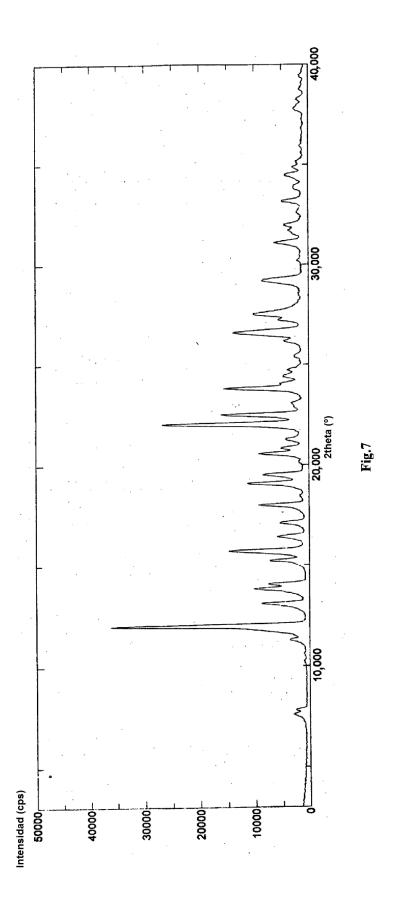
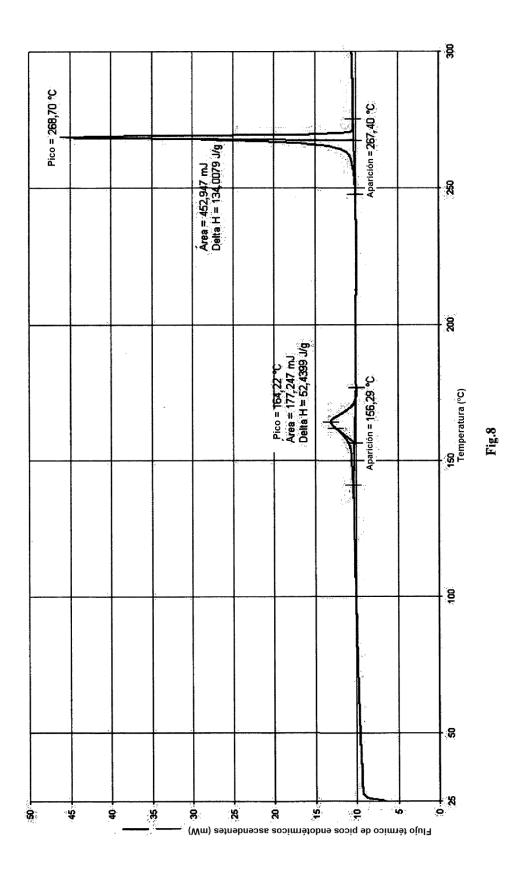


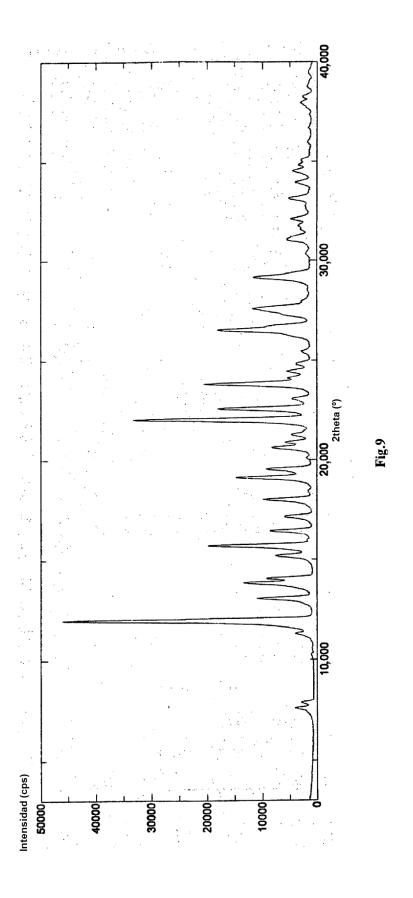
Fig.4

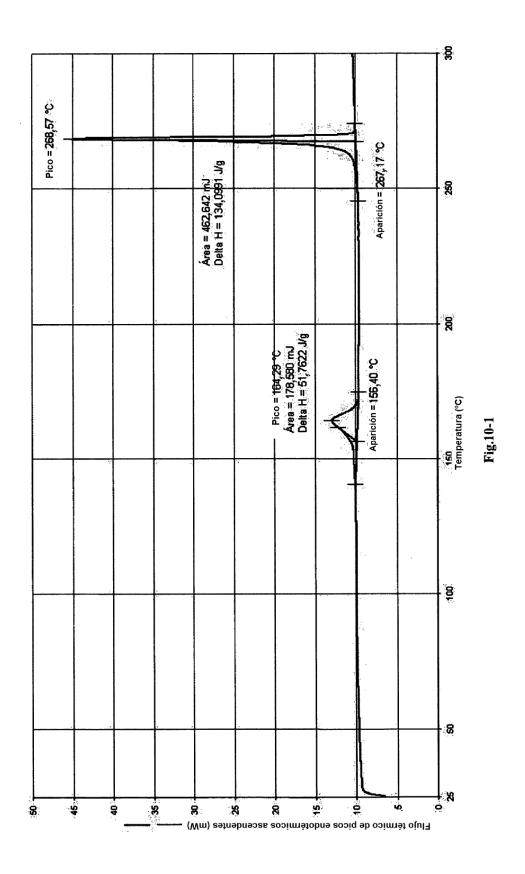


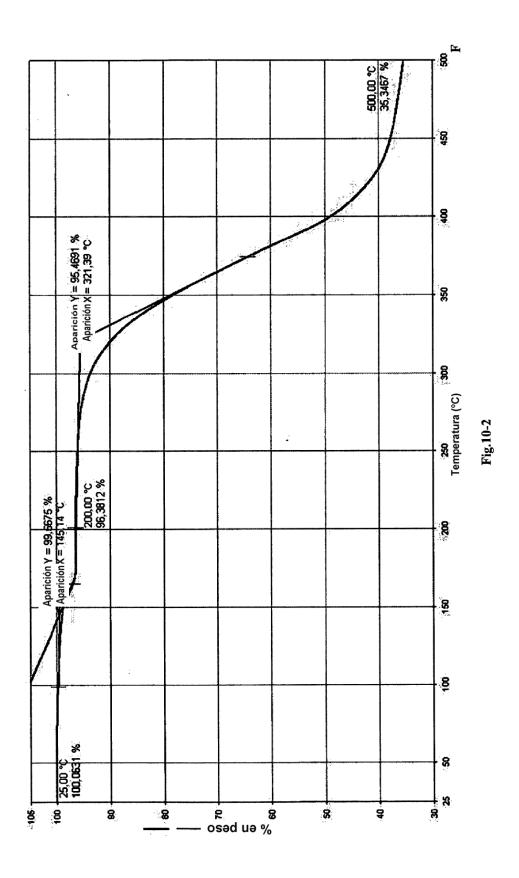


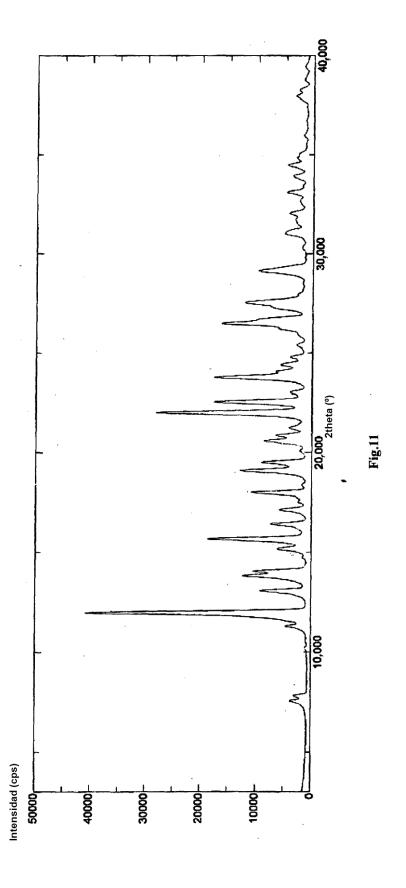


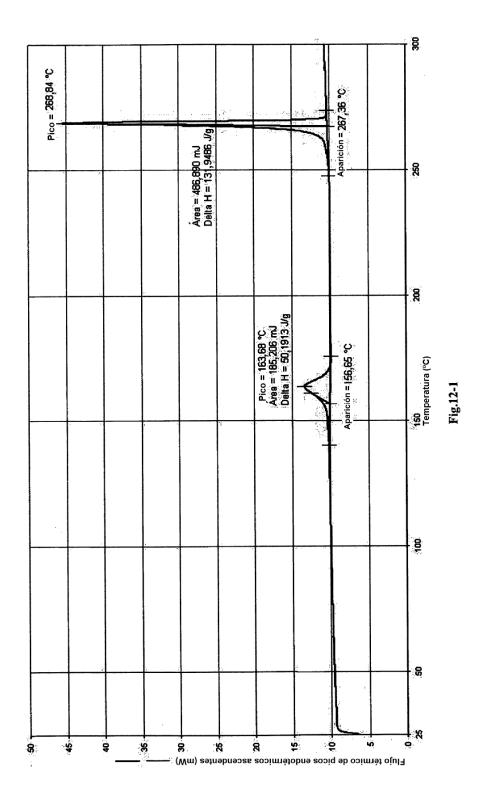


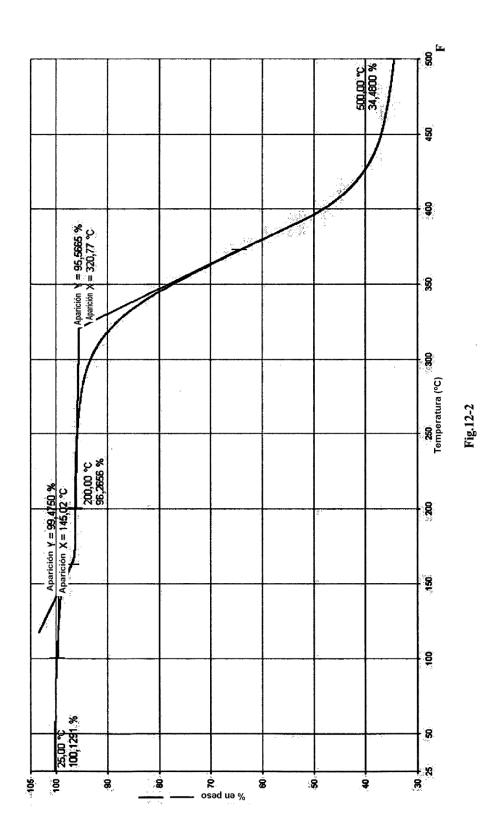


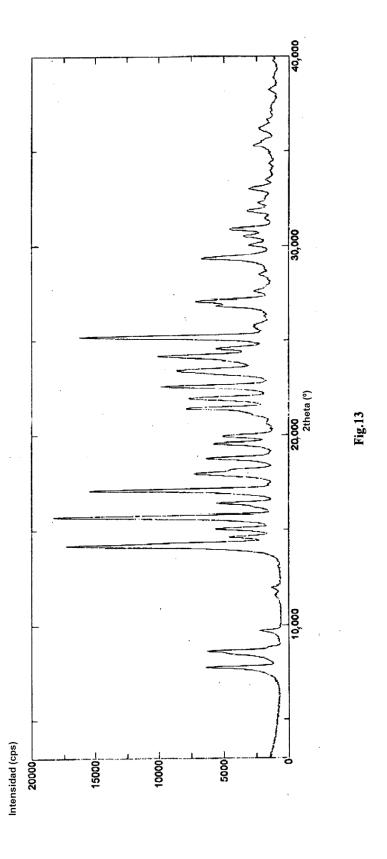












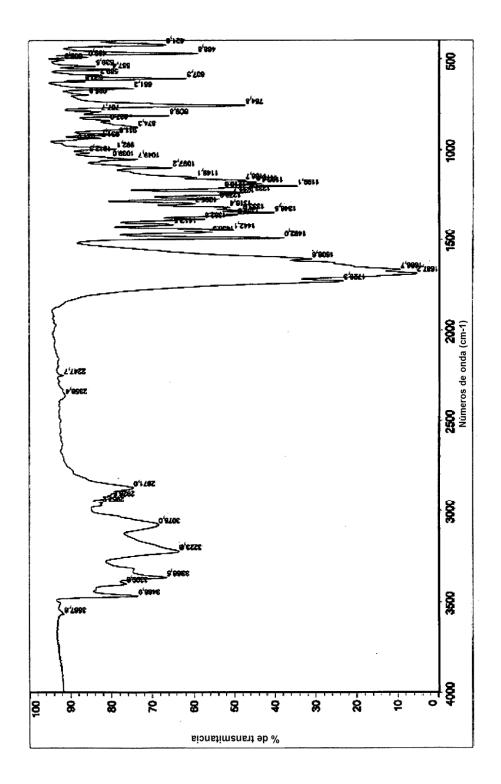
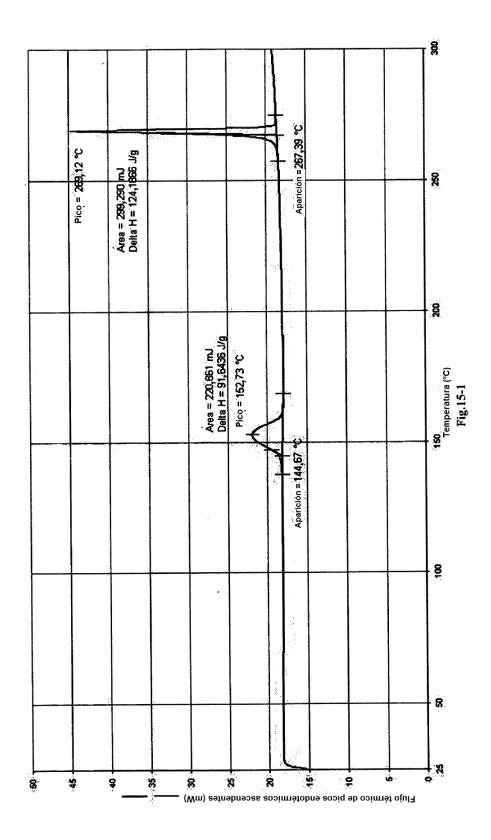


Fig.14



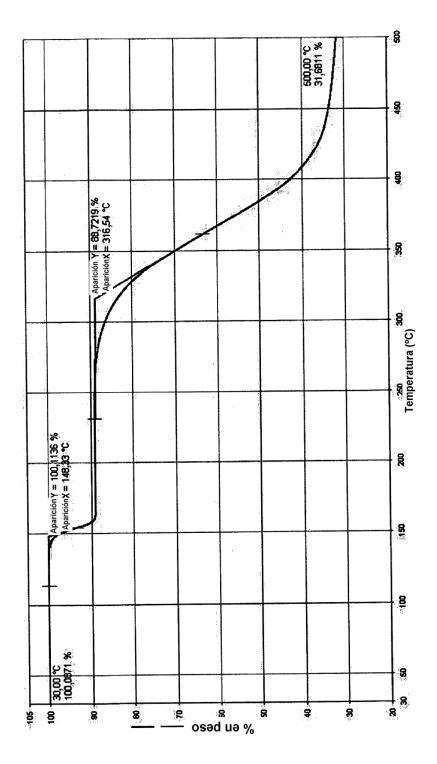
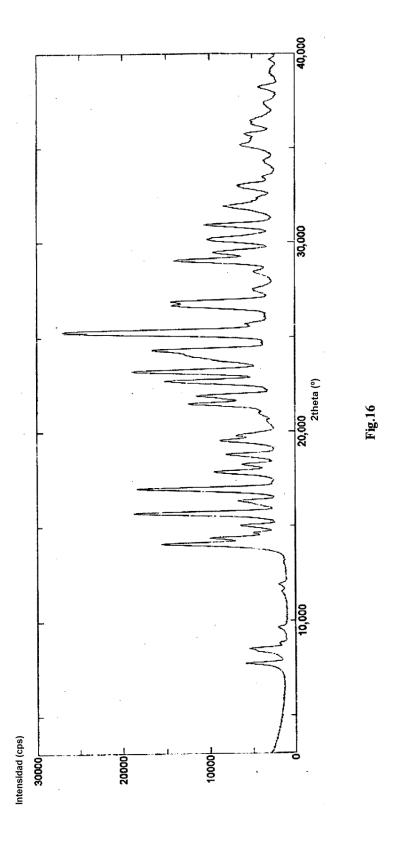
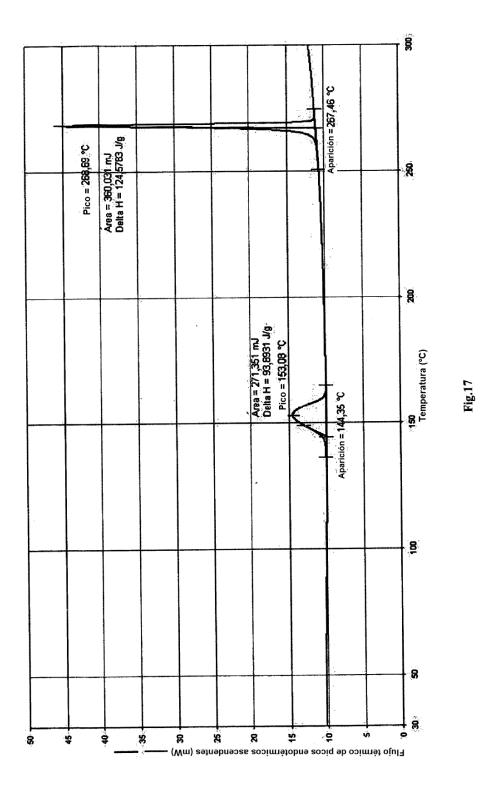
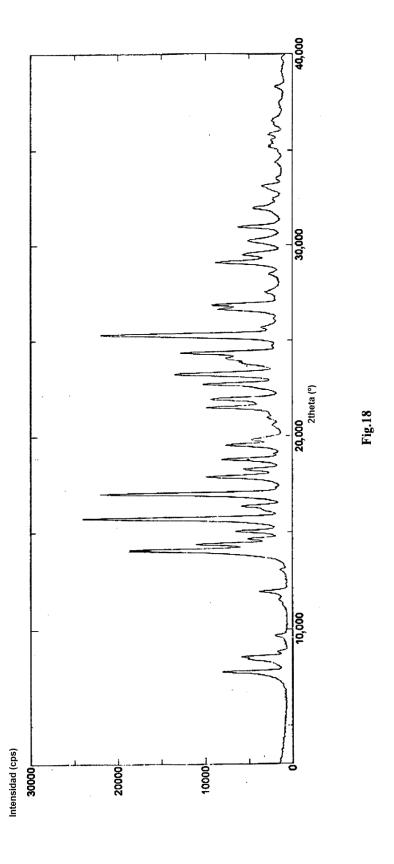
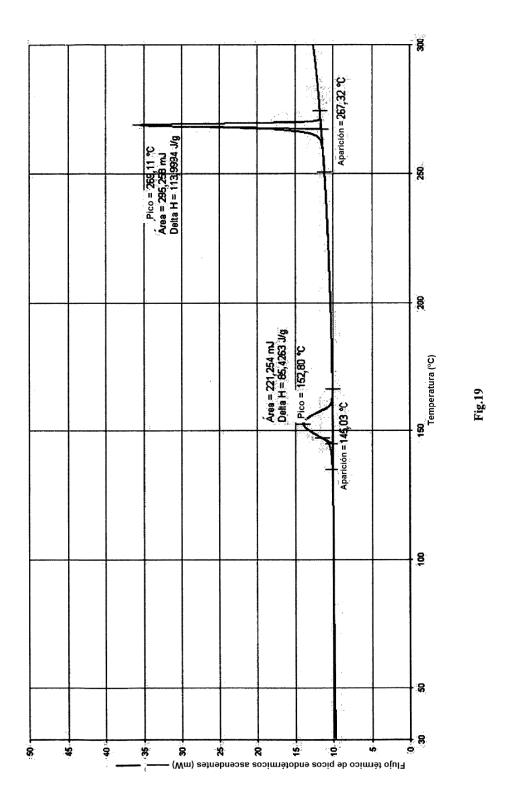


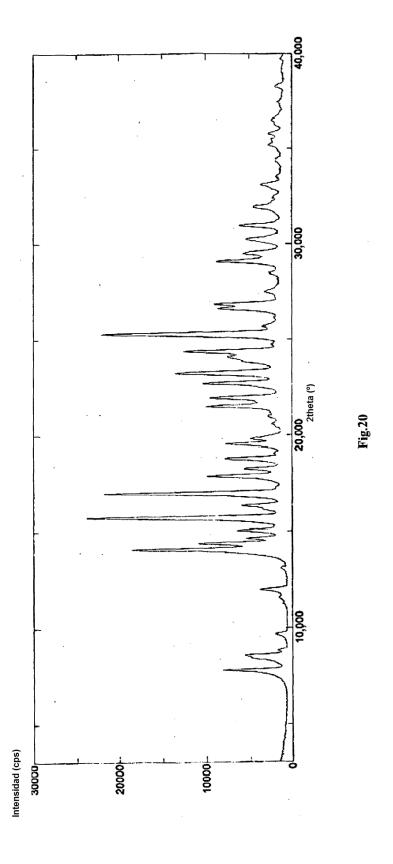
Fig. 15-2

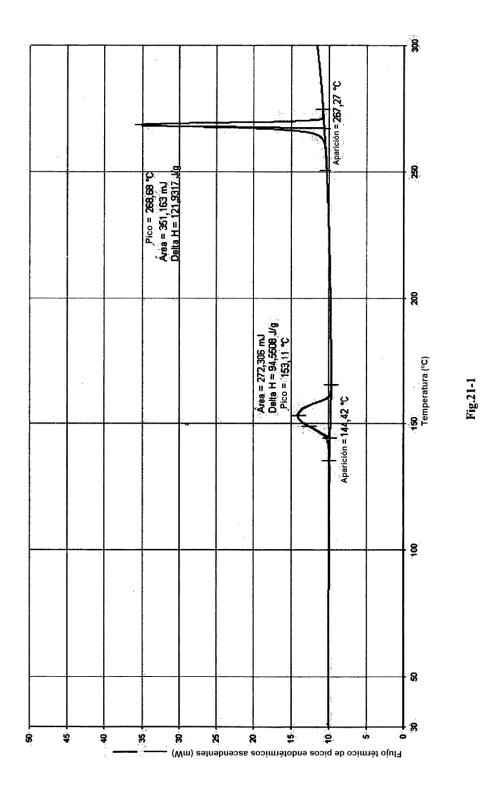


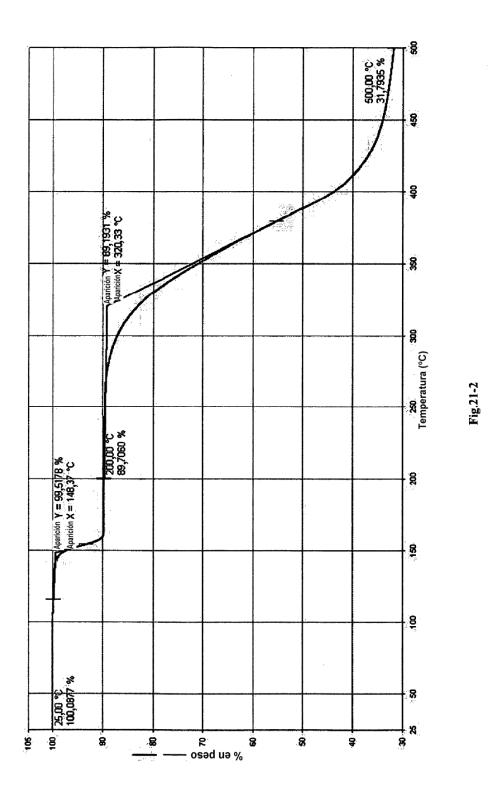


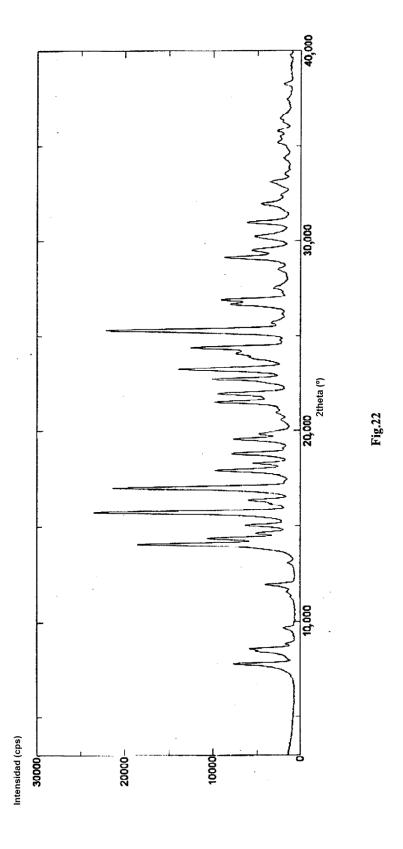












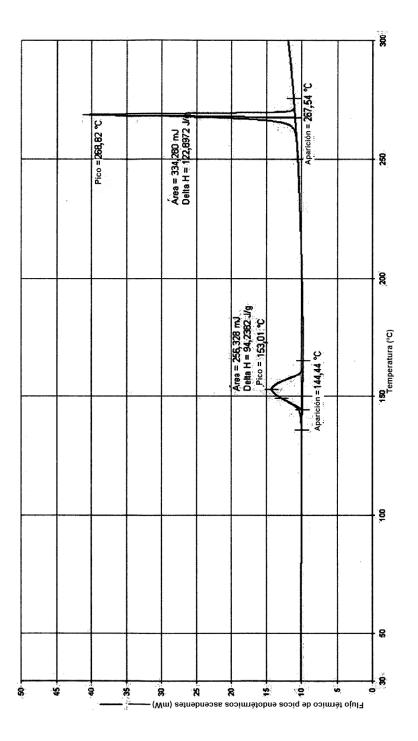
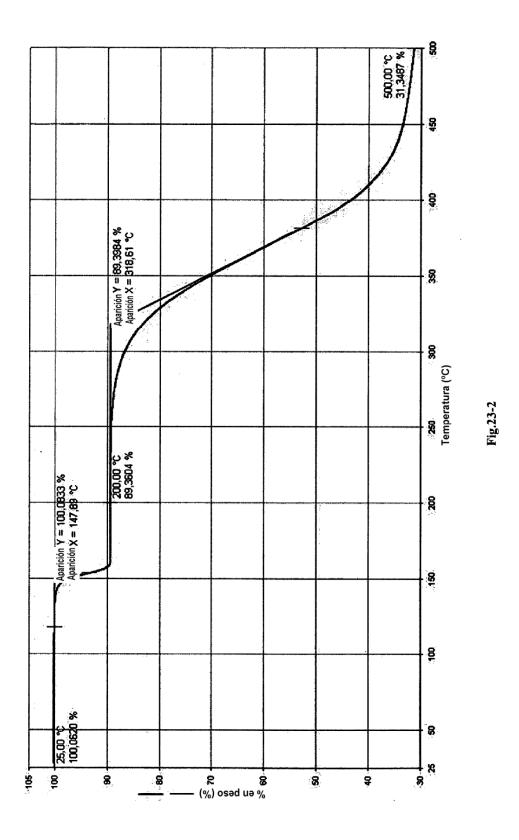
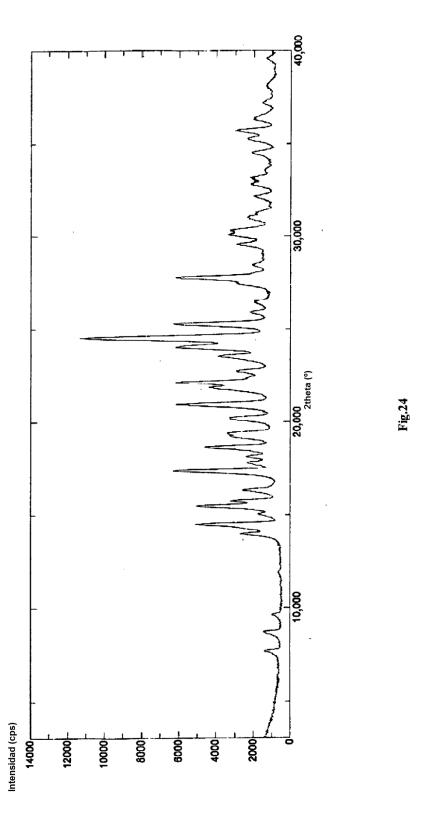


Fig.23-1





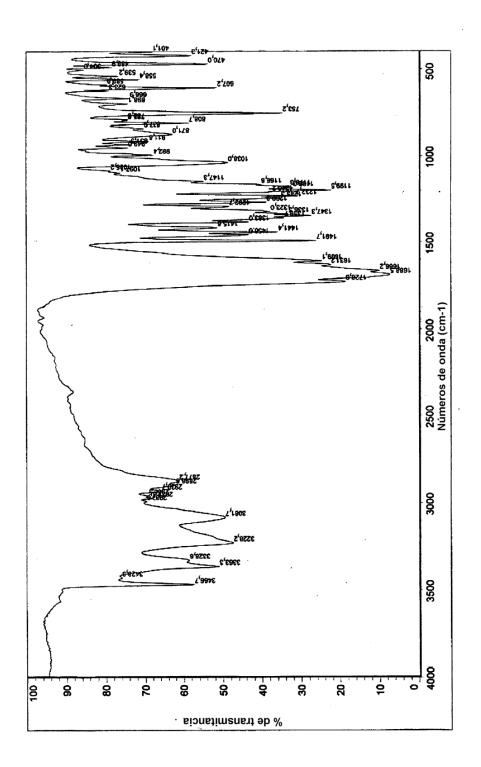
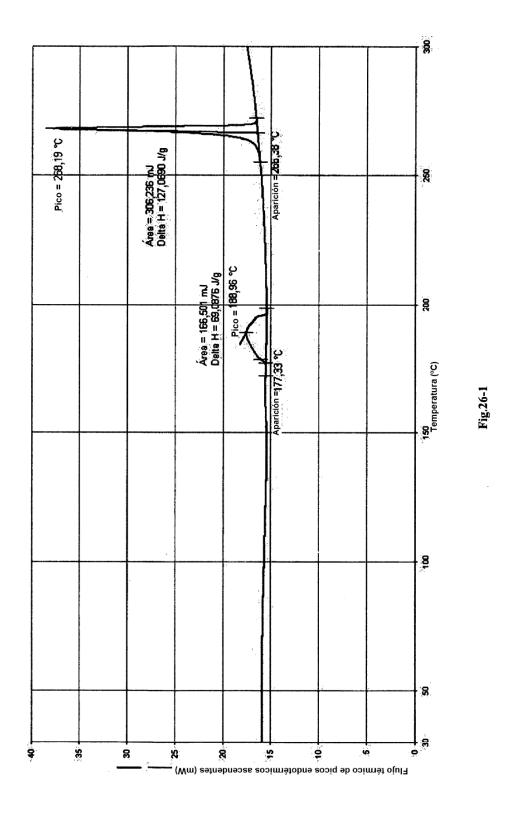
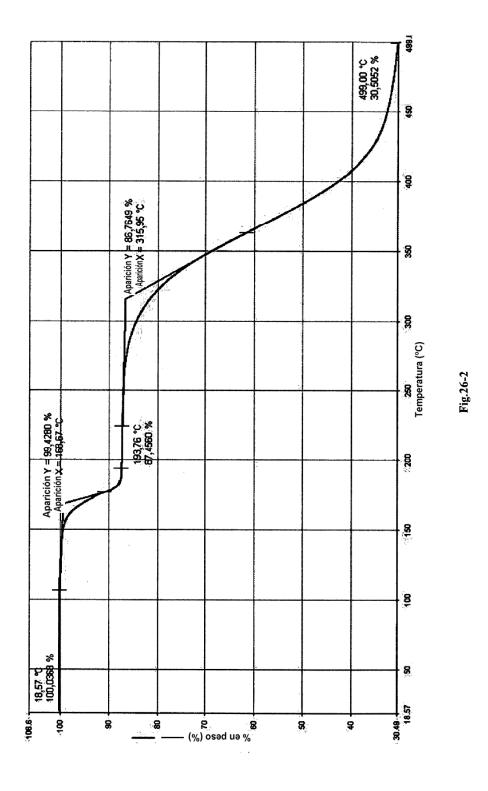
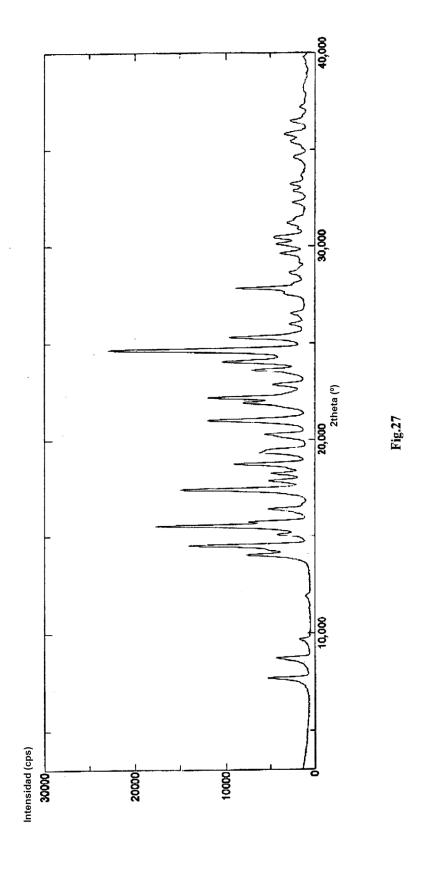
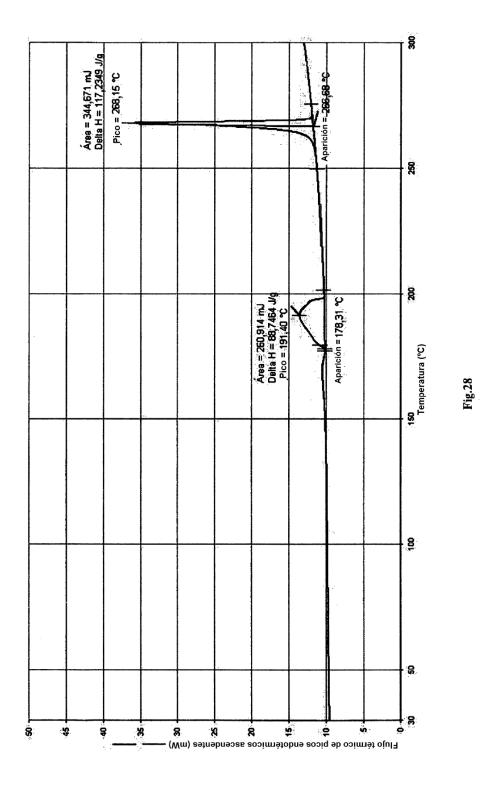


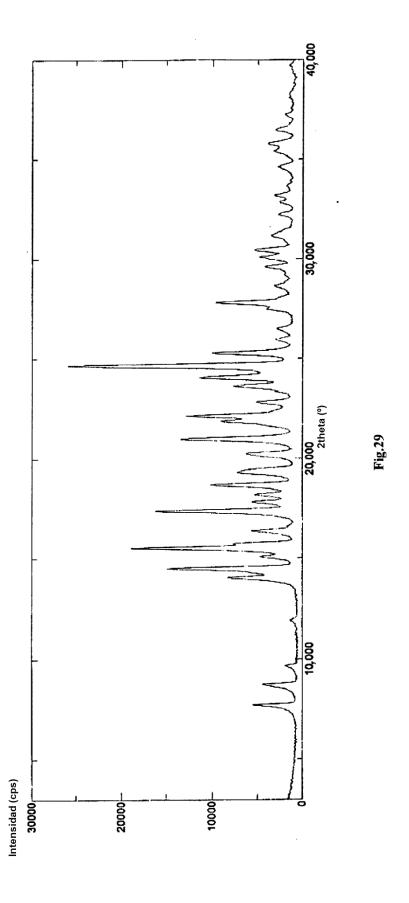
Fig.25

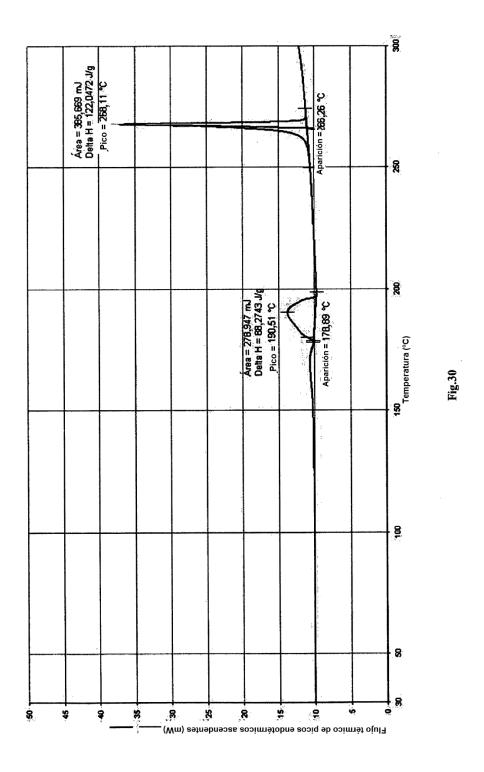


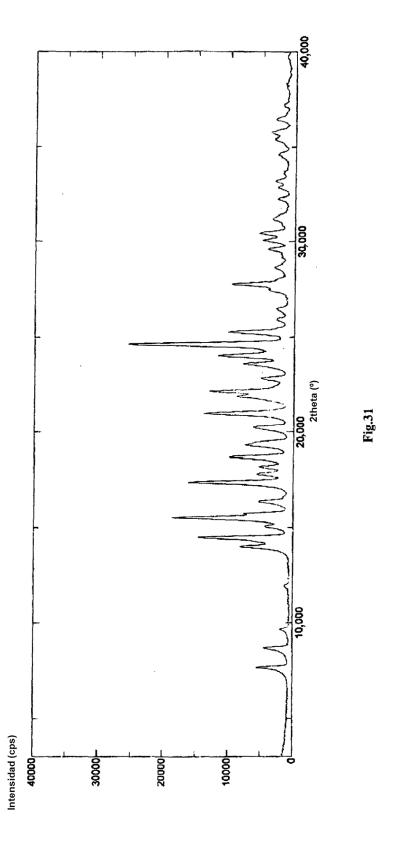


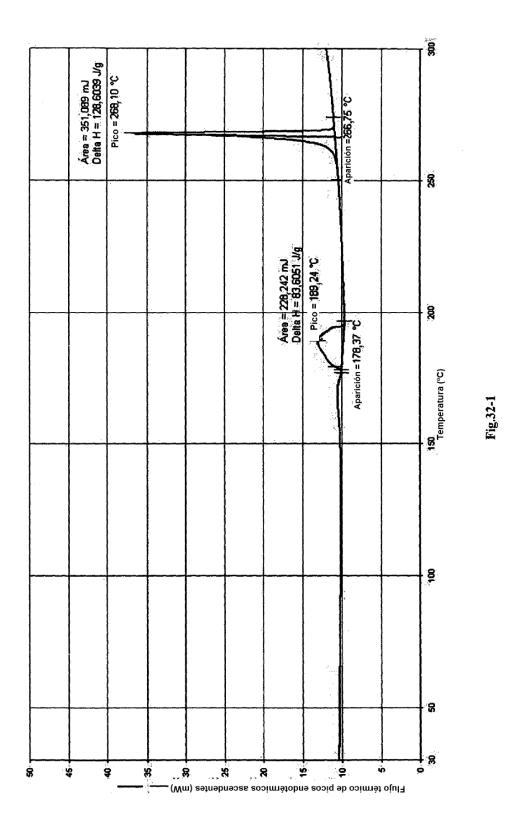


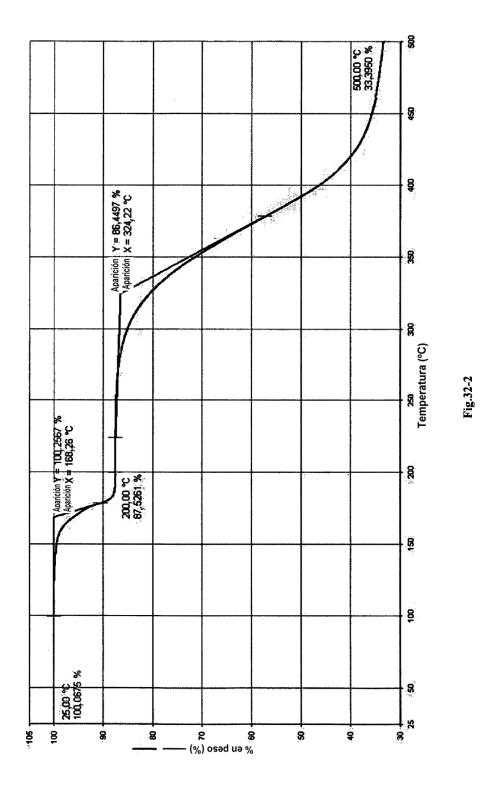


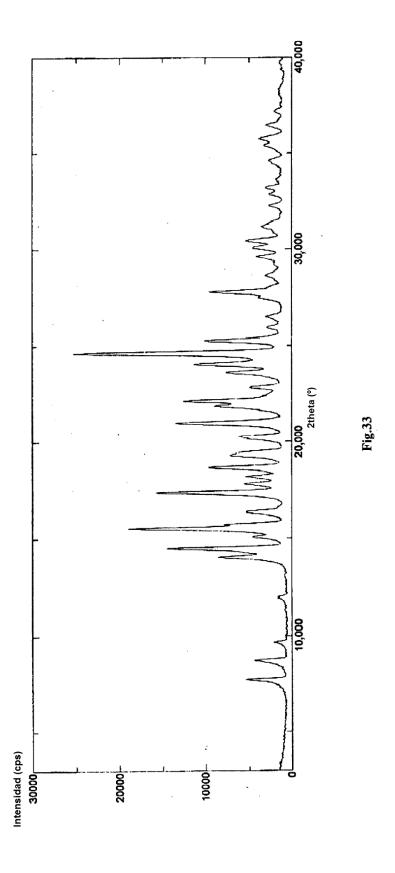


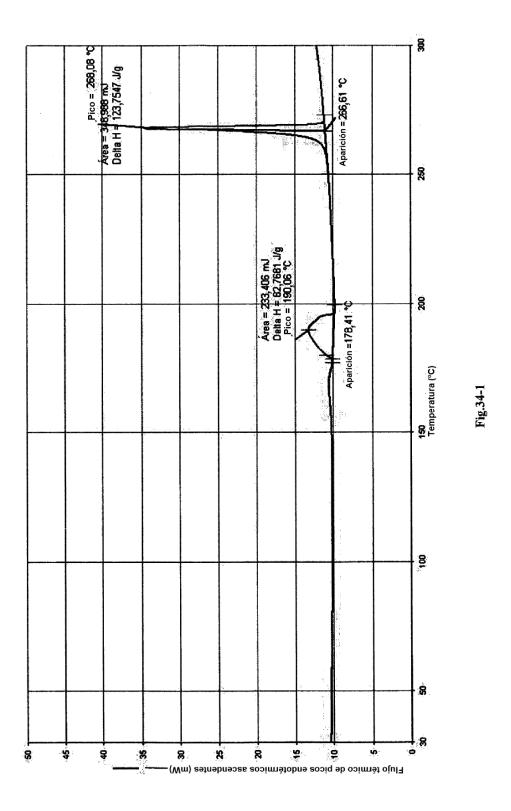


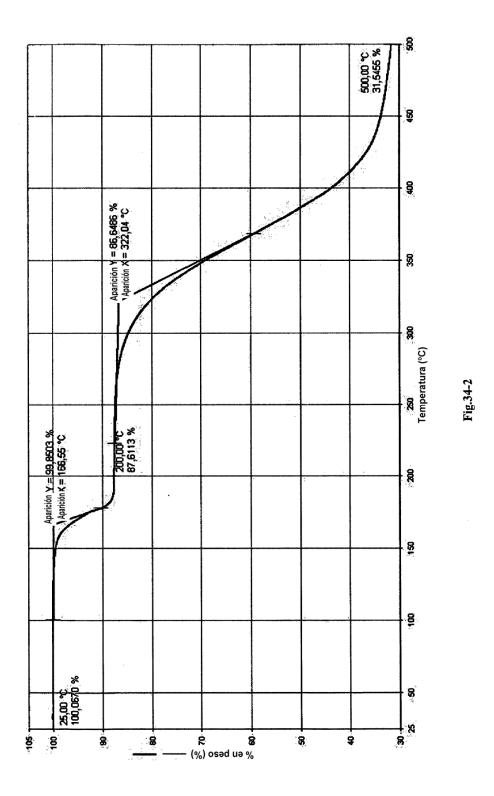












64

