

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 791**

51 Int. Cl.:

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

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2013 PCT/GB2013/050623**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.09.2013 WO13136075**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2013 E 13711104 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2825202**

54 Título: **Estabilización de composiciones farmacéuticas**

30 Prioridad:

13.03.2012 US 201261610012 P
13.03.2012 US 201261610023 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.01.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 650 791 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

Estabilización de composiciones farmacéuticas

Campo de la invención

5 La presente invención proporciona el uso de un agente estabilizador en partículas y lactosa en partículas para incrementar la estabilidad de un compuesto que inhibe fosfoinositida 3 cinasas (PI3 cinasas) en una formulación farmacéutica de polvo seco para inhalación. La formulación es útil en terapia, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como EPOC y asma.

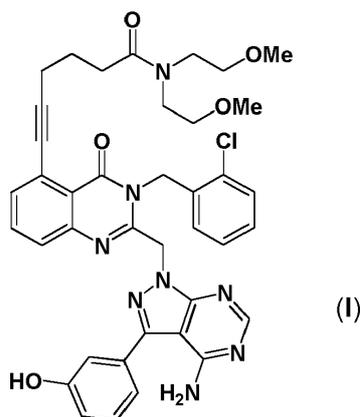
Antecedentes de la invención

10 Las cinasas lipídicas catalizan la fosforilación de lípidos para producir especies involucradas en la regulación de una amplia gama de procesos fisiológicos, incluyendo migración y adhesión celulares. Las P13 cinasas son proteínas asociadas de membrana y pertenecen a la clase de enzimas que catalizan la fosforilación de lípidos, ellos mismos asociados con membranas celulares. La isoenzima delta de la PI3 cinasa (PI3 cinasa δ) es una de cuatro isoformas de PI3 cinasas de tipo I responsable de generar varias fosfoinositidas 3'-fosforiladas, que median la señalización celular y ha estado implicada en inflamación, señalización de factor de crecimiento, transformación maligna e inmunidad [véase la revisión por Rameh, L. E. y Cantley, L. C. J. Biol. Chem., 1999, 274:8347-8350].

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

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

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



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

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

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

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

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

30 Las formulaciones para inhalación de polvo seco típicamente consisten en una mezcla de partículas de fármaco (de tamaño inferior a 10 micrómetros y normalmente por debajo de 5 micrómetros) con un diluyente, típicamente lactosa. Debido a que las dosis usuales requeridas para terapias inhaladas están en el intervalo de los microgramos, el diluyente facilita el procesamiento farmacéutico y la dispensación de dosis individuales, por ejemplo en cápsulas o blísteres, o la medición de dosis a partir de un depósito a granel, para la administración subsecuente al paciente. Por lo tanto, típicamente, la masa del diluyente (siendo el más común la lactosa) puede ser mayor que la de la sustancia del fármaco. En este ambiente, las formulaciones aceptables de algunos productos se pueden lograr simplemente mezclando el fármaco con lactosa. Otros productos pueden requerir otros excipientes adicionales u otras etapas de procesamiento para que el producto cumpla con los requisitos de las autoridades reguladoras.

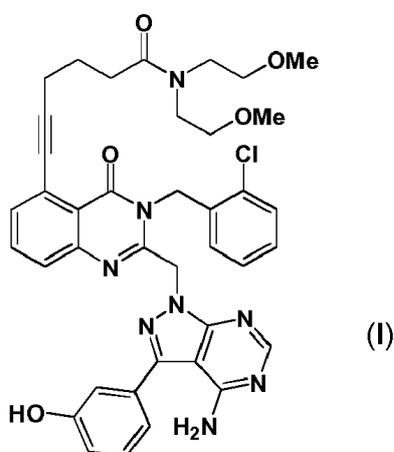
35 Uno de tales excipientes adicionales es estearato de magnesio, que se sabe que mejora ciertas propiedades de las formulaciones que lo contienen. De este modo, el documento US7186401 B2 (Jagotec AG et al.) describe que la adición de estearato de magnesio a formulaciones de polvo seco para la inhalación mejora la resistencia a la humedad de las formulaciones y permite que una dosis de partículas muy finas o una fracción de partículas finas se mantenga en condiciones húmedas. El documento WO00/53157 (Chiesi) describe estearato de magnesio como lubricante a emplear en formulaciones de polvo seco para inhalación que es capaz de incrementar la dosis de partículas finas de ciertos fármacos. El documento US2006/0239932 (Monteith) describe una formulación farmacéutica sólida inhalable que comprende ciertas sustancias de ingrediente activo susceptibles a interacción química con lactosa, lactosa y estearato de magnesio. Se describe que el estearato de magnesio inhibe la degradación inducida por la lactosa del ingrediente activo, presumiblemente por medio de la reacción de Maillard que implica la reacción de un grupo amina en el ingrediente activo con lactosa. El documento US2012/0082727

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

Así, sigue existiendo la necesidad de proporcionar formas de inhibidores selectivos de PI3 cinasa para usarse en terapia de inhalación que tengan potencial para proporcionar eficacia terapéutica en asma, EPOC y otras enfermedades inflamatorias de los pulmones. En particular, sigue siendo un objetivo proporcionar una formulación del compuesto de fórmula (I) que tenga estabilidad física y química apropiada y otras propiedades necesarias para terapia de inhalación.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona el uso de un agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico y sales metálicas de estearil fumarato en una formulación farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula (I)



que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, incluyendo todos los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de la misma, y solvatos de los mismos, en forma de partículas, como ingrediente activo, y lactosa en partículas para incrementar la estabilidad del compuesto de fórmula (I) frente a la degradación química, en el que el agente estabilizador en partículas actúa como agente protector frente a la degradación química del grupo alquino en el compuesto de fórmula (I).

Tal formulación que comprende el compuesto de fórmula (I), un agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico y sales metálicas de estearil fumarato, y lactosa en partículas, se denomina aquí en lo sucesivo como "una formulación de la invención".

Como se explica en los Ejemplos, las formulaciones de la invención parecen tener buena estabilidad física (según se determina mediante análisis de XRPD e IR) y buena estabilidad química (según se determina mediante análisis de HPLC). Sin estar limitados por la teoría, parece de los descubrimientos de los inventores que el grupo alquino del compuesto de fórmula (I) es susceptible a la degradación oxidativa catalizada por metales, que implican la hidratación del alquino. También parece de los descubrimientos de los inventores que el anillo de pirimidinona del compuesto de fórmula (I) es susceptible a escisión hidrolítica. Los experimentos llevados a cabo por los inventores han determinado que las formulaciones de la invención que contienen lactosa y una sal metálica de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio, tienen una estabilidad química superior a las formulaciones correspondientes que no contienen una sal metálica de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio. De acuerdo con el conocimiento de los inventores, no se ha dado a conocer antes que una sal metálica de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio, puede actuar como grupo protector frente a la degradación química de compuestos que contienen alquinos (especialmente con respecto a la degradación oxidativa catalizada por metales que implica la hidratación del alquino) en formulaciones de inhalación de polvo seco. Según el conocimiento de los inventores, tampoco se ha dado a conocer antes que una sal metálica de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio, puede actuar como agente protector frente a la escisión hidrolítica de una sustancia farmacéutica que contiene un anillo de pirimidinona. Los inventores extrapolan estos hallazgos con sales metálicas de ácido esteárico a sales metálicas de estearil fumarato.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un patrón de XRPD adquirido sobre una muestra del compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida.

La Figura 2 muestra un espectro de IR de una muestra de una mezcla de compuesto de fórmula (I) en forma anhidra (micronizada) con Lactohale200® y estearato de magnesio.

- 5 La Figura 3 muestra un patrón de XRPD adquirido sobre una muestra de una mezcla de compuesto de fórmula (I) en forma anhidra (micronizada) con Lactohale200® y estearato de magnesio.

Descripción detallada de la invención

Compuesto de fórmula (I) como ingrediente activo

10 El compuesto de fórmula (I) es un inhibidor dual de PI3K delta y PI3K gamma, en el que el término inhibidor como se emplea en la presente está pensado para referirse a un compuesto que reduce (por ejemplo, en al menos 50%) o elimina la actividad biológica de la proteína diana, por ejemplo la isoenzima de PI3K delta, en un ensayo enzimático *in vitro*. La expresión inhibidor delta/gamma como se emplea en la presente se refiere al hecho de que el compuesto inhibe, hasta cierto punto, ambas isoformas enzimáticas, aunque no necesariamente en el mismo grado. El compuesto de fórmula (I) está activo en sistemas de cribado basados en células y por tanto demuestra que posee propiedades adecuadas para penetrar las células y por tanto ejercer efectos farmacológicos intracelulares.

15 Los procedimientos genéricos para sintetizar el compuesto de fórmula (I) se describen en el documento WO2011/048111, y se puede emplear un método similar al del Ejemplo 1. Véase también el documento WO2012/052753, en el que se proporciona un método específico para sintetizar el compuesto de fórmula (I) en el Ejemplo.

20 Adecuadamente, el compuesto de fórmula (I) está protegido de la luz durante y después de la síntesis, por ejemplo por medio del uso de material de vidrio ámbar o envoltura impermeable a la luz (por ejemplo, envoltura de papel de aluminio).

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

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

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

40 El compuesto de fórmula (I) se prepara en forma de partículas de modo que sea adecuado para inhalación de polvo seco. Una formulación farmacéutica de la invención típicamente puede contener partículas de fármaco que tienen un diámetro mediano de volumen (D50) de alrededor de 0,5 μm a alrededor de 10 μm , particularmente de alrededor de 1 μm a alrededor de 5 μm .

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

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

- 5 En una realización, el compuesto de fórmula (I) está en forma de base libre, en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, o en forma de un solvato de cualquiera de los dos. Adecuadamente, el compuesto de fórmula (I) está en forma de base libre, por ejemplo en forma anhidra.

Adecuadamente, el compuesto de fórmula (I), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, está en forma cristalina sólida.

- 15 Sales farmacéuticamente aceptables de compuesto de fórmula (I)

En una realización, se proporciona una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I).

- 20 Las sales farmacéuticamente aceptables como se mencionan aquí anteriormente comprenden las formas de sales de adición de ácidos no tóxicas terapéuticamente activas que es capaz de formar el compuesto de fórmula (I). Estas sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables se pueden obtener convenientemente tratando la forma de base con tal ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos halohídricos, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico, y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácidos acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoico, y similares.

- 25 De este modo, los ejemplos específicos de sales de compuesto de fórmula (I) incluyen las sales adicionales de ácidos formadas con HCl, HBr y ácido p-toluenosulfónico.

Solvatos

- 30 La invención también se extiende a solvatos del compuesto de fórmula (I). Los ejemplos de solvatos incluyen hidratos y productos higroscópicos tales como hidratos de canal.

Fórmula anhidra del compuesto de fórmula (I)

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

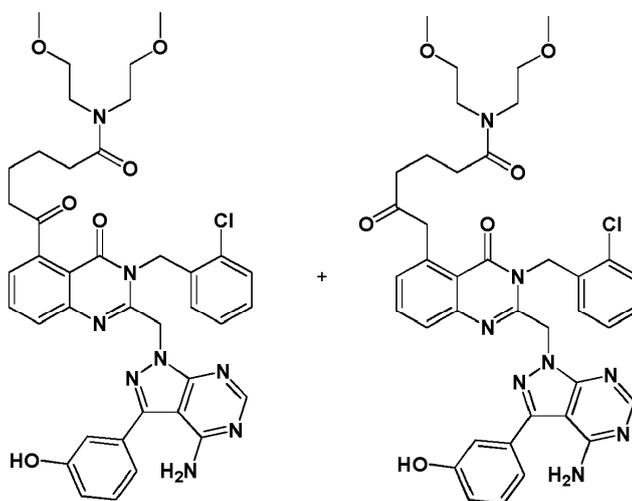
- 45 Un ejemplo de un depurador de metales comercialmente disponible adecuado es SiliaMetS® Thiol (un gel de sílice derivatizado con tiol, adecuado para depurar una variedad de metales, incluyendo Pd, Pt, Cu, Ag y Pb). Adecuadamente, el depurador de metales está presente en una cantidad suficiente para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

En una realización, se proporciona una forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) que tiene un patrón de XRPD sustancialmente como se muestra en la Figura 1. El método para obtener los datos de XRPD se describe en los Procedimientos Generales, y los datos se discuten en el Ejemplo 3.

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

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

A fin de evaluar la compatibilidad química, se analizaron mediante HPLC composiciones de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con lactosa. Los resultados se resumen en el Ejemplo 4, en el que se indica que en ciertas condiciones la composición de la forma anhidra y lactosa sufrió degradación. Se investigaron los productos de degradación, y el degradante principal se identificó mediante espectrometría de masas como una o ambas de las
15 dos sustancias mostradas como D019328:



D019328

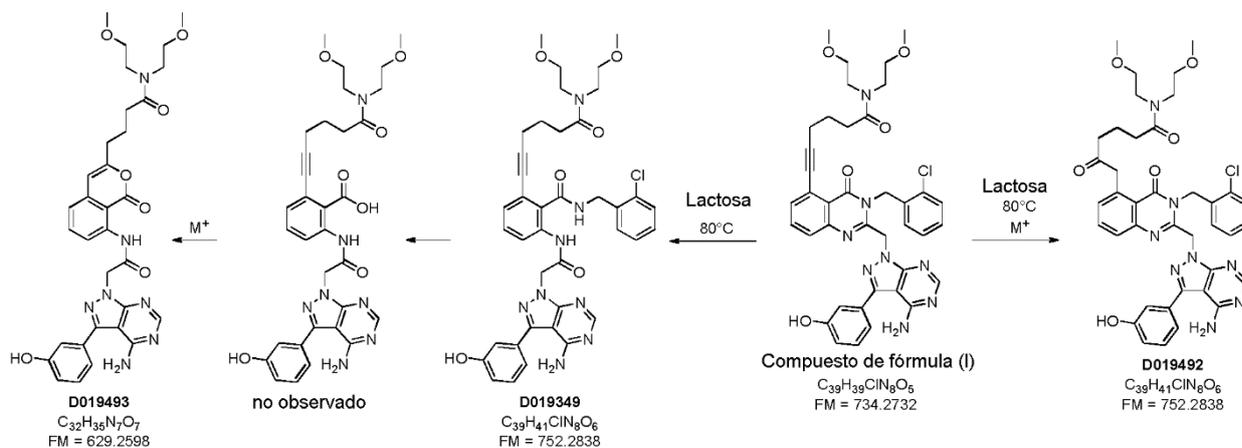
$C_{39}H_{41}ClN_8O_5$

FM = 752,2838

20 Probablemente este producto de degradación es el resultado de la adición de agua a lo largo del triple enlace alquínico, y puede existir como una de dos formas con masa idéntica (o puede existir en ambas formas), dependiendo de la orientación de la adición del agua a través del triple enlace. Se ha observado el mismo degradante durante la degradación forzada de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con iones metálicos. Como resultado de estudios adicionales, parece que la degradación de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) requiere iones metálicos y agua, y es acelerada por temperatura elevada.

25 Una investigación adicional que implica un ensayo de estabilidad acelerado (es decir, exposición de la sustancia farmacéutica a 80°C en un vial cerrado, véase el Ejemplo 7) ha conducido a los inventores a confirmar que se genera al menos el producto de degradación mostrado como D019492 en el Esquema 1 (a continuación). Además, los inventores también concluyeron que un producto de degradación adicional (D019493) puede resultar de la escisión hidrolítica del anillo de pirimidinona y la reacción intramolecular subsiguiente con el grupo alquínico. D019349 es un producto de degradación intermedio supuesto que se observó en ciertas circunstancias de
30 temperatura y RH en el ensayo de estabilidad (datos no mostrados).

Esquema 1



Se investigó la adición de estearato de magnesio a la combinación de forma anhidra del compuesto de fórmula (I) y lactosa. Se encontró que la combinación de forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con lactosa y estearato de magnesio es físicamente estable (Ejemplo 5). Sin embargo, sorprendentemente, se encontró que la adición de estearato de magnesio provocó un incremento en la estabilidad química de la combinación de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) y la lactosa (Ejemplo 6). Se encontró un efecto estabilizante similar usando otras sales metálicas de ácido esteárico, específicamente estearato de sodio y estearato de calcio (Ejemplo 7).

Sin desear estar atados por la teoría, parece que la sal metálica de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio (o, se cree, una sal metálica de estearil fumarato), puede actuar como un grupo protector frente a la degradación química del grupo alquino en el compuesto de fórmula (I) y frente a la degradación química del anillo de pirimidinona en el compuesto de fórmula (I) que se observa cuando la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) está en una mezcla con lactosa.

Lactosa en partículas como vehículo

Como se usa aquí, el término "lactosa" se refiere a un componente que contiene lactosa, incluyendo α -lactosa monohidratada, β -lactosa monohidratada, α -lactosa anhidra, β -lactosa anhidra, y lactosa amorfa. Los componentes de lactosa se pueden procesar mediante micronización, tamizado, molienda, compresión, aglomeración o secado por pulverización. También están englobadas las formas comercialmente disponibles de lactosa en diversas formas, por ejemplo los productos de Lactohale® (lactosa de grado de inhalación; Frieslandfoods), InhaLac®70 (lactosa tamizada para inhalador de polvo seco; Meggle) y Respitose® (lactosa de grado de inhalación tamizada; DFE Pharma). En una realización, el componente de lactosa se selecciona del grupo que consiste en α -lactosa monohidratada, α -lactosa anhidra, y lactosa amorfa. Preferiblemente, la lactosa es α -lactosa monohidratada.

A fin de penetrar de forma suficientemente profunda en los pulmones, el ingrediente activo en partículas (en este caso, el compuesto (I)) debe tener un tamaño adecuado como se describe anteriormente. Estas partículas pequeñas tendrán tendencia a aglomerarse. El uso de un vehículo tal como lactosa evita esta aglomeración, y puede mejorar la capacidad de fluidez. Además, el uso de un vehículo asegura que una dosis correcta y consistente alcanza los pulmones. El ingrediente activo formará habitualmente una monocapa sobre la partícula de lactosa más grande, después durante la inhalación, el ingrediente activo y el vehículo se separan, y el ingrediente activo se inhala, mientras que la mayoría del vehículo no es inhalado. Como tal, el uso de lactosa en partículas como vehículo para el ingrediente activo asegura que cada dosis de la formulación farmacéutica de polvo seco libera la misma cantidad del ingrediente activo.

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

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

La formulación farmacéutica de polvo seco de la presente invención comprende lactosa en partículas como vehículo en una cantidad suficiente para asegurar que la dosis correcta y consistente del ingrediente activo alcanza los pulmones. En una realización, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 40% en peso a alrededor de 99,88% en peso, por ejemplo de alrededor de 50% en peso a alrededor de 99,88% en peso, por ejemplo de alrededor de 65% en peso a alrededor de 99,88% en peso, por ejemplo de alrededor de 75% en peso a alrededor de 99,99% en peso de lactosa en partículas, basado en el peso de la formulación farmacéutica de polvo

seco. Preferiblemente, la formulación farmacéutica de polvo seco comprende de alrededor de 80% en peso a alrededor de 99,98% en peso, o por ejemplo de alrededor de 80% en peso a alrededor de 99,9% en peso, por ejemplo de alrededor de 85% en peso a alrededor de 99,98% en peso, por ejemplo de alrededor de 95% en peso a alrededor de 99% en peso de lactosa en partículas, basado en el peso de la composición farmacéutica de polvo seco.

Sal metálica en partículas de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio, o sal metálica de estearil fumarato como agente estabilizador

Una sal metálica ejemplar de ácido esteárico es estearato de magnesio.

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

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

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

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

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

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

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

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

- 5 (i) de alrededor de 0,02 a 50% en peso de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, incluyendo todos los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de los mismos, y solvatos de los mismos, en forma en partículas como ingrediente activo;
- (ii) de alrededor de 40% en peso a alrededor de 99,88% en peso de lactosa en partículas; y
- (iii) de alrededor de 0,1% en peso a alrededor de 10% en peso de agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico (como estearato de magnesio) y sales metálicas de estearil fumarato.

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

- (i) de alrededor de 0,02 a 50% en peso de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida en forma de base libre;
- 15 (ii) de alrededor de 40% en peso a alrededor de 99,88% en peso de lactosa en partículas; y
- (iii) de alrededor de 0,1% en peso a alrededor de 10% en peso de agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico (como estearato de magnesio) y sales metálicas de estearil fumarato.

El agente estabilizador preferido es estearato de magnesio.

20 Usos farmacéuticos y métodos de administración

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de una formulación farmacéutica de la invención como inhibidor de PI3 cinasa.

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

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

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

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

35 Así, un aspecto de la invención incluye un dispositivo de inhalación que comprende una o más dosis de una formulación farmacéutica según la invención. Los dispositivos de inhalación para formulaciones de polvo seco típicamente se operan con la respiración, de modo que la dosis se retira del dispositivo y se administra al sujeto usando la energía de los pulmones del sujeto inhalando desde una boquilla. Sin embargo, opcionalmente, se puede proporcionar energía externa para ayudar a la administración de la dosis. Típicamente, el dispositivo de inhalación comprenderá una pluralidad de dosis de una formulación farmacéutica según la invención, por ejemplo 2 o 4 u 8 o 40 28 o 30 o 60 o más dosis. Así, el dispositivo de inhalación puede comprender el abastecimiento de dosis de un mes. Opcionalmente, las dosis están divididas, por ejemplo, de modo que una dosis se administre usando dos (o más) inhalaciones del dispositivo de inhalación. Según una realización de la invención, las dosis de la formulación se premiden en el dispositivo de inhalación. Por ejemplo, las dosis premedidas pueden estar contenidas en las bolsas de una tira o disco de blísteres o dentro de cápsulas. En una realización, una dosis se mide en una cápsula para uso 45 una por una en un dispositivo de inhalación adaptado para suministrar los contenidos de una cápsula a un sujeto tras la inhalación. Según otra realización de la invención, las dosis se miden al usarse. Así, el dispositivo de inhalación contiene un depósito de polvo seco, y el dispositivo mide una dosis de polvo (típicamente sobre una base de volumen fijo) antes o en el momento de la administración.

50 Los dispositivos de inhalación de polvo seco ejemplares incluyen SPINHALER, ECLIPSE, ROTAHALER, HANDIHALER, AEROLISER, CYCLOHALER, BREEZHALER/NEOHALER, FLOWCAPS, TWINCAPS, X-CAPS, TURBOSPIN, ELPENHALER, DISKHALER, TURBUHALER, MIATHALER, TWISTHALER, NOVOLIZER, DISKUS, SKYEHALER, inhalador de polvo seco ORIEL, MICRODOSE, ACCUHALER, PULVINAL, EASYHALER,

ULTRAHALER, TAIFUN, PULMOJET, OMNIHALER, GYROHALER, TAPER, CONIX, XCELOVAIR, PROHALER y CLICKHALER. Otro ejemplo es el inhalador MONODOSE.

5 Opcionalmente, el dispositivo de inhalación se puede envolver para almacenamiento para protegerlo frente a la entrada de humedad. Opcionalmente se puede emplear un desecante dentro de una envoltura o dentro del dispositivo. Adecuadamente, la formulación farmacéutica según la invención en el dispositivo de inhalación está protegida de la luz.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

50 Las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden tener la ventaja de que tienen estabilidad física mejorada (por ejemplo medida por medio de análisis de XRPD y/o IR), estabilidad química mejorada (por ejemplo medida por medio de HPLC), compatibilidad física mejorada con lactosa, compatibilidad química mejorada con lactosa, distribución mejorada de tamaño de partículas en la administración (como se evidencia por la masa mejorada de

partículas finas), o pueden tener otras propiedades favorables en comparación con formulaciones similares que no contienen un agente estabilizador seleccionado de sal metálica de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio, y sales metálicas de estearil fumarato.

Abreviaturas

5	ac	acuoso
	EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
	d	doblete
	DCM	diclorometano
	DMAP	4-dimetilaminopiridina
10	DMSO	dimetilsulfóxido
	DPI	inhalador de polvo seco
	DSC	calorimetría de barrido diferencial
	DVS	sorción dinámica de vapor
	EDC.HCl	hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
15	(ES ⁺)	ionización por electropulverización, modo positivo
	EtOAc	acetato de etilo
	HPLC	cromatografía de líquidos de altas prestaciones
	HPLC-MS	cromatografía de líquidos de altas prestaciones-espectrometría de masas
	h	hora(s)
20	IR	infrarrojo
	LPS	lipopolisacárido
	(M+H) ⁺	ion molecular protonado
	MDI	inhalador de dosis medida
	MeOH	metanol
25	MEK	metiletilcetona
	MHz	megahercio
	min.	minuto(s)
	mm	milímetro(s)
	ms	espectrometría de masas
30	mTOR	diana mamífera de rapamicina
	m/z	relación de masa a carga
	NH ₄ OAc	acetato de amonio
	RMN	resonancia magnética nuclear (espectroscopía)
	Pd(dppf)Cl ₂	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)
35	ppm	partes por millón
	q	cuartete
	quin	quintete

	RH	humedad relativa
	RRT	tiempo relativo de retención
	R ^t	tiempo de retención
	TA	temperatura ambiente
5	s	singlete
	t	triplete
	TBDMSCI	cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsililo
	TGA	análisis termogravimétrico
	TNF α	factor alfa de necrosis tumoral
10	XRPD	difracción de polvo de rayos X

EJEMPLOS

Procedimientos Generales

HPLC-MS

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

Espectros de masas (MS)

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

Espectros de RMN

Los espectros de RMN ¹H (excepto los del Ejemplo 7) se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz usando disolvente no deuterado residual como referencia.

El espectro de RMN ¹H para el Ejemplo 7 se adquirió en un espectrómetro Bruker Avance a 600 MHz usando disolvente no deuterado residual como referencia.

Difracción de Polvo de Rayos X (XRPD)

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

	modo de barrido:	continuo
	intervalo de barrido:	3 a 50° 2 θ
	tamaño de las etapas:	0,02°/etapa
	tiempo de recuento:	30 s/etapa
40	tiempo de revolución del rotor:	1 s
	tipo de radiación:	CuK α

Trayectoria del haz incidente

rendija de divergencia programada:	15 mm
------------------------------------	-------

ES 2 650 791 T3

rendija Soller:	0,04 rad
máscara de haz:	15 mm
rendija anti-dispersión:	1°
cuchilla de haz:	+

5 Trayectoria del haz difractado

pantalla larga anti-dispersión:	+
rendija Soller:	0,04 rad
Filtro de Ni:	+
detector:	X'Celerator

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

Espectrometría Infrarroja (IR)

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

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

15 Estabilidad química – cromatografía de líquidos de altas prestaciones (HPLC)

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

Columna Waters Xbridge C18 (150 x 3,0 x 3,5 mm) o equivalente (una columna se considera equivalente si se cumple con el rendimiento como está especificado en SST y si se demuestra una separación comparable de todos los compuestos relevantes).

Temperatura de la columna 35°C

Temperatura de la muestra 10°C

Caudal 0,45 ml/min.

Volumen de inyección: El volumen de inyección se puede ajustar siempre y cuando los límites de calificación del sistema no se excedan (detector e inyector), y la forma del pico del compuesto principal sea aceptable. Como guía, 30 µl se consideran adecuados.

Detección detección UV a 255 nm

Fase móvil Preparación y composición:

- A acetato de amonio 10 mM (0,771 g/l) + 0,1%, v/v de ácido trifluoroacético en agua
- B Acetonitrilo

ES 2 650 791 T3

Gradiente El tiempo de experimento analítico es 41 minutos

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

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

Estabilidad química - Cromatografía de líquidos de presión ultra elevada (UPLC)

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

Columna Acquity BEH C₁₈; 2,1 x 150 mm; 1,7 µm o equivalente (una columna se considera equivalente si se cumple con el rendimiento como está especificado en SST y se demuestra una separación comparable de todos los compuestos relevantes)

Temperatura de la columna 35°C

Temperatura de la muestra 10°C

Caudal 0,40 ml/min.

Volumen de inyección El volumen de inyección se puede ajustar siempre y cuando los límites de calificación del sistema no se excedan (detector e inyector), y la forma del pico del compuesto principal sea aceptable. Como guía, 4 µl se consideran adecuados.

Detección detección UV a 255 nm

Fase móvil Preparación y composición:

A acetato de amonio 10 mM (0,771 g/l) + 0,1%, v/v de ácido trifluoroacético en agua

B Acetonitrilo

Gradiente El tiempo de experimento analítico es 23 minutos

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

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

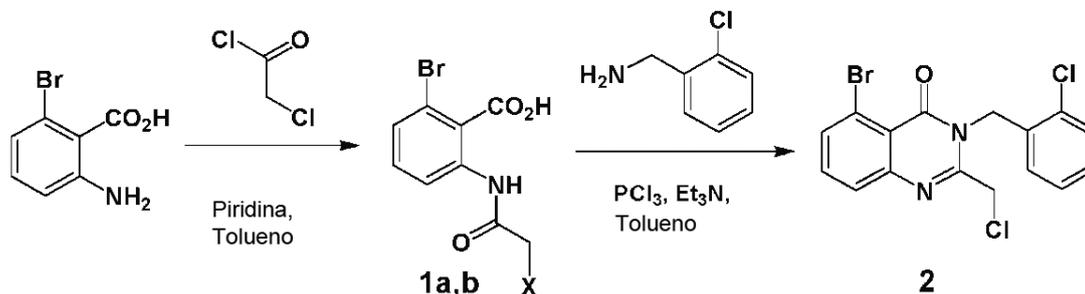
Reactivos y proveedores

10 Lactohale200®: suministrado por Frieslandfoods. Tamaño de partículas (Sympatec): D10: 5-15 µm; D50: 50-100 µm; D90: 120-160 µm.

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

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

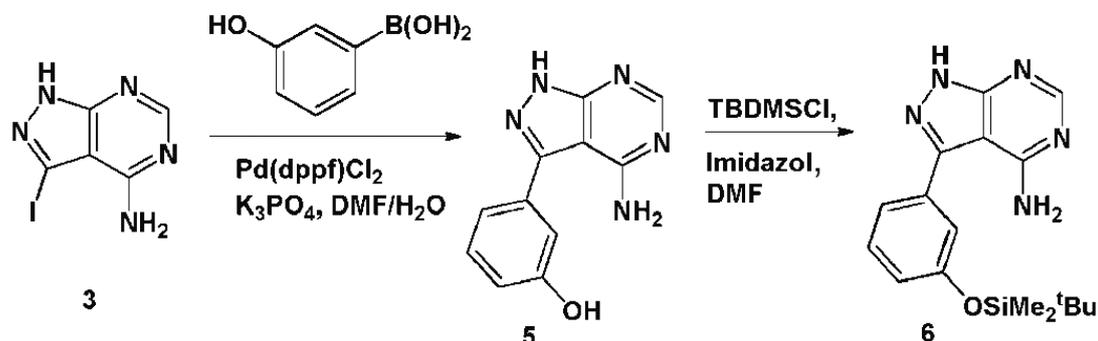
5-Bromo-3-(2-clorobencil-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona (2)



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

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

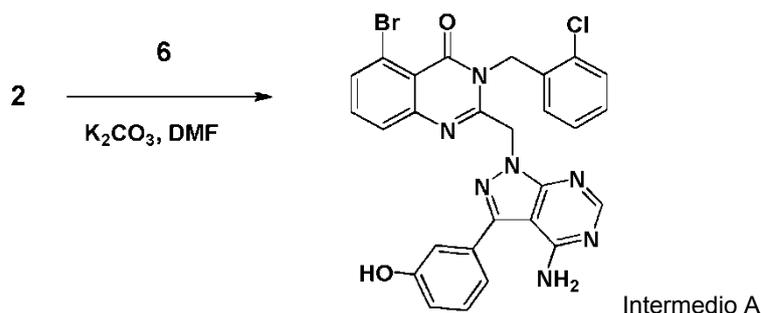
3-(3-(terc-Butildimetilsililo)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (6).



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

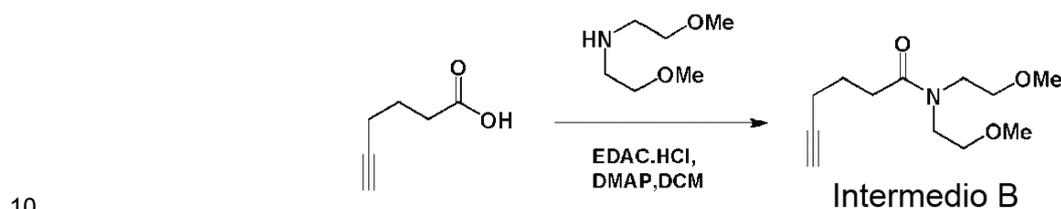
30 A una disolución agitada del fenol (5) (4,69 g, 20,66 mmoles) e imidazol (2,10 g, 30,99 mmoles) en DMF seca (100 ml) se añadió TBDMSCl (4,70 g, 30,99 mmoles). Después de 16 h, se añadieron alícuotas adicionales de imidazol (2,10 g, 30,99 mmoles) y TBDMSCl (4,70 g, 30,99 mmoles), y la mezcla se agitó durante 48 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (120 ml) y se extrajo con DCM (2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 200 ml), se secaron, se filtraron, y el volumen se redujo hasta aproximadamente 100 ml mediante evaporación *a vacío*. La suspensión resultante se filtró, y el sólido se lavó con heptano (50 ml) para producir el compuesto del título (6) (6,05 g, 85%) como un sólido blanquecino: m/z 343 (M+H)⁺ (ES⁺).

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



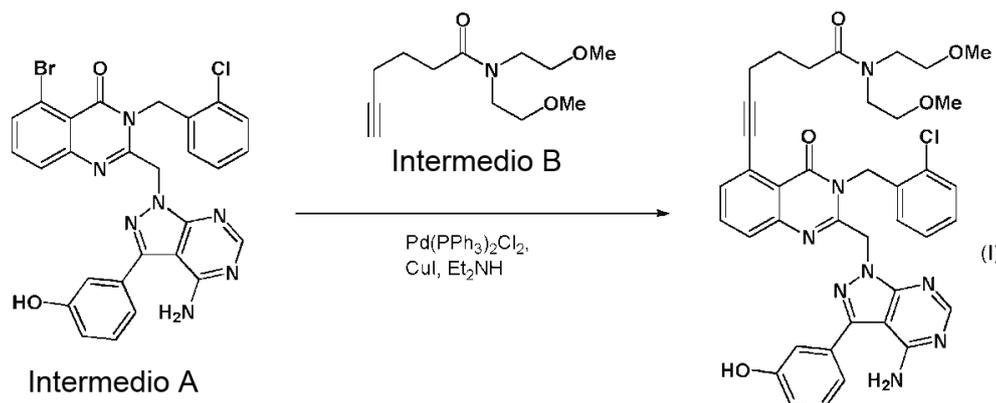
5 A una mezcla agitada de 5-bromo-3-(2-clorobencil-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona (2) (100 mg, 0,25 mmoles) y carbonato de potasio (42 mg, 0,30 mmoles) en DMF (2,5 ml) se añadió una disolución de 3-(3-(terc-butildimetilsililo)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (6) (94 mg, 0,28 mmoles) en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

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



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

15 6-(2-((4-Amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida (I)



20 El Intermedio A ((2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-5-bromo-3-(2-clorobencil)quinazolin-4(3H)-ona (65,7 g, 1,0 eq.)), yoduro de cobre(I) (1,06 g, 0,05 moles/mol), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (3,92 g, 0,05 moles/mol), el Intermedio B (*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida (63,42 g, 2,5 moles/mol) y dietilamina (837,05 ml; 591,21 g, 7,5 l/mol) se añadieron a un reactor de 2 l, y la mezcla se desgasificó con purga de argón. La mezcla de reacción se calentó hasta 55°C (temperatura de reflujo) durante 30 minutos y después se agitó a 55°C. Después de 2 horas, la mezcla se enfrió hasta 22°C antes de concentrarla a vacío para producir un residuo semisólido pardo oscuro (201,0 g). Después, el residuo se disolvió en MEK (781 ml) y se añadió agua (223 ml). Después de agitar fuertemente durante 5 minutos, las capas se separaron, y la capa acuosa se desechó. La capa orgánica se lavó con NH₄OAc acuoso al 10% p/v (300 ml) y NaCl acuoso al 2% p/v (112 ml) antes de ser parcialmente concentrada a vacío hasta una mezcla heterogénea en MEK (230 g). La mezcla se agitó durante 16 horas y después se filtró, y el precipitado se lavó con MEK (3 x 25 ml). El sólido resultante se

secó a 50°C *a vacío* durante 18 horas para dar 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida "bruta" (compuesto de fórmula (I)) (54,13 g; 0,66 equiv.; 65,97% de rendimiento).

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

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

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

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

Ejemplo 3 - Análisis de XRPD del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida

- 25 El análisis de XRPD de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (Ejemplo 2) se realizó usando el método descrito en los Procedimientos Generales. El patrón resultante de difracción se muestra en la Figura 1. El patrón de XRPD mostró picos de difracción sin la presencia de un halo, indicando por tanto que ambos materiales son cristalinos. Los picos característicos de las formas se dan más adelante en la Tabla 1:

Tabla 1 - Picos característicos de XRPD para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I)

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

Ejemplo 4 - Análisis de HPLC térmico del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra cristalina sólida (micronizada) con lactosa

- 30 La compatibilidad química de la forma anhidra cristalina sólida del compuesto de fórmula (I) (micronizada) en combinación con lactosa se determinó mediante análisis de HPLC.

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

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

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

- 45 Los datos mostrados en la Tabla 2 indican que se observó degradación significativa tras el almacenamiento durante 1 semana a 80°C, y también se observó degradación después del almacenamiento durante 4 semanas a 50°C. Estos resultados sugieren que la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) no es químicamente estable en combinación con lactosa; por lo tanto, los dos componentes no serían compatibles en una formulación farmacéutica.

El pico a RRT 0,86 se ha atribuido al derivado o derivados hidratados D019328 mostrado anteriormente.

Tabla 2 – Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada) con lactosa

Condiciones	RRT* 0,80	RRT* 0,86	RRT* 0,97	RRT* 1,14	RRT* 1,32
T = cero	0,21	0,12		0,12	0,13
1 semana 50°C	0,17	0,23		0,10	0,12
1 semana 80°C	0,52	2,53	0,78	0,19	0,12
1 semana 40°C/75% RH	0,19	0,12		0,11	0,13
2 semanas 50°C	0,19	0,30		0,12	0,13
2 semanas 40°C/75% RH	0,17	0,11		0,12	0,13
3 semanas 50°C	0,19	0,38		0,12	0,14
3 semanas 40°C/75% RH	0,19	0,08		0,11	0,14
4 semanas 50°C	0,19	0,54		0,11	0,13
4 semanas 40°C/75% RH	0,18	0,20		0,11	0,14

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

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

5 Se preparó una mezcla de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) del compuesto de fórmula (I) con lactosa, con la adición de 1% de estearato de magnesio (micronización del compuesto de fórmula (I) como se describe en el Ejemplo 4).

10 Preparación de la mezcla: Se añadieron alrededor de 500 mg de Lactohale200® y alrededor de 10 mg de estearato de magnesio a un mortero de ágata antes de mezclarlos usando una mano de almirez y una cuchilla de plástico (Feton) durante 5 minutos. Se añadieron a la mezcla alrededor de 500 mg de compuesto de fórmula (I) anhidro (micronizado), y la mezcla se mezcló durante otros 5 minutos.

15 Las mezclas se almacenaron a diferentes temperaturas y humedades, y se analizaron mediante XRPD e IR en tiempo cero y después de 1 semana y 4 semanas de almacenamiento. Las condiciones para el almacenamiento durante 1 semanas fueron: 40°C/75% RH abierta; 1 semana 50°C cerrada; y 1 semana 80°C cerrada. Las condiciones para la estabilidad durante el almacenamiento de 4 semanas fueron: 4 semanas 50°C abierta; 4 semanas 40°C/75% RH abierta.

20 En la Figura 2 se muestra el espectro de IR adquirido en tiempo cero. Los espectros de IR se prepararon para muestras en los estudios de estabilidad. No se observaron diferencias entre los espectros de IR de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas y el espectro de IR en tiempo cero. No se observó interacción entre la forma anhidra, lactosa y estearato de magnesio, y la forma anhidra permaneció estable en todas las condiciones de almacenamiento.

25 En la Figura 3 se muestra el espectro de XRPD adquirido en tiempo cero. Los espectros de XRPD se prepararon para muestras en los estudios de estabilidad. Los patrones de XRPD generados de las muestras de estabilidad de 1 y 4 semanas fueron similares al patrón de difracción en tiempo cero. Fue claramente evidente que los picos de difracción típicos de la forma anhidra no cambiaron en presencia de Lactohale200® y estearato de magnesio, indicando que la forma anhidra es físicamente estable en presencia de lactosa y estearato de magnesio.

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

30 **Ejemplo 6 – Análisis de HPLC del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra con lactosa y estearato de magnesio**

La compatibilidad química de la forma anhidra cristalina sólida (micronizada) del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa y 1% de estearato de magnesio se determinó mediante análisis de HPLC (micronización del compuesto de fórmula (I) como se describe en el Ejemplo 4).

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

5 Los datos mostrados en la Tabla 3 indican un incremento significativo en la estabilidad química en comparación con la misma composición con ausencia de estearato de magnesio (véase la Tabla 2), como se evidencia por solamente una pequeña cantidad de degradación observada tras el almacenamiento durante 1 semana a 80°C (véase, por ejemplo, RRT 0,86, 0,28%). Estos resultados sugieren que la estabilidad química de la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) con lactosa está significativamente mejorada por la adición de estearato de magnesio a la composición. Como tal, la adición de estearato de magnesio mejora la compatibilidad química de la forma anhidra (micronizada) del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa, de manera que pudieran ser compatibles en una formulación farmacéutica.

10 Tabla 3 – Datos de estabilidad para la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) (micronizada) con lactosa y estearato de magnesio

Condiciones	RRT* 0,80	RRT* 0,86	RRT* 1,14	RRT* 1,32
T = cero	0,21	0,10	0,12	0,13
1 semana 50°C	0,20	0,11	0,11	0,13
1 semana 80°C	0,19	0,28	0,11	0,13
1 semana 40°C/75% RH	0,20	0,11	0,11	0,13
2 semanas 50°C	0,20	0,08	0,11	0,14
2 semanas 40°C/75% RH	0,21	0,11	0,11	0,13
3 semanas 50°C	0,20	0,13	0,11	0,13
3 semanas 40°C/75% RH	0,20	0,11	0,11	0,14
4 semanas 50°C	0,19	0,12	0,11	0,14
4 semanas 40°C/75% RH	0,20	0,10	0,10	0,13

15 **Ejemplo 7 - Análisis de UPLC del Compuesto de fórmula (I) en forma anhidra con lactosa y sales metálicas de ácido esteárico**

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

20 Las muestras de ensayo se prepararon como se describe en la Tabla 4 a continuación:

Tabla 4 - Muestras de ensayo para análisis de UPLC después del ensayo de estabilidad acelerado

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

Las muestras se dispensaron en viales, se cerraron con tapas y se mantuvieron a 80°C durante 1 o 2 semanas. La muestra 1 se usó para los estudios de 1 semana, y la muestra 2 se usó para los estudios de 2 semanas. Los resultados se muestran en la Tabla 5 a continuación:

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

Muestra	1 semana 80°C RRT* 0,87	1 semana 80°C RRT* 0,92	2 semanas 80°C RRT* 0,87	2 semanas 80°C RRT* 0,92
Fármaco solamente	0,00	0,08	0,00	0,08
Fármaco y lactosa	0,58	0,39	1,80	0,77
Fármaco, lactosa, estearato de Mg	0,28	0,29	0,06	0,18
Fármaco, lactosa, estearato de Ca	0,11	0,19	0,17	0,19
Fármaco, lactosa, estearato de Na	0,00	0,09	0,00	0,09
* % de área mediante UPLC al RRT indicado. El compuesto de fórmula (I) tiene un RRT = 1,0				

5

El análisis de espectroscopía de masas indica que la sustancia con RRT = 0,87 es D019493, y la sustancia con RRT = 0,92 es D019492 (confirmado por medio de RMN) (véase el Esquema 1). Las asignaciones de resonancia de RMN para D019492 se dan en la Tabla 6:

Tabla 6 - Asignaciones de resonancia de RMN ¹H para D019492

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

10

Los datos mostrados en la Tabla 5 indican un incremento significativo en la estabilidad química para formulaciones que contienen una sal metálica de ácido esteárico en comparación con la misma composición en ausencia de una sal metálica de ácido esteárico, como se evidencia por medio de una cantidad comparativamente pequeña de degradación observada después del almacenamiento durante 1 o 2 semanas a 80°C. Estos resultados sugieren que la estabilidad química de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) con lactosa se ve mejorada significativamente por la adición de sales metálicas de ácido esteárico a la composición. Por lo tanto, la adición de sales metálicas de ácido esteárico mejora la compatibilidad química de la forma anhidra del compuesto de fórmula (I) en combinación con lactosa, de modo que podrían ser compatibles en una formulación farmacéutica.

15

Ejemplo 8 - Preparación de formulaciones farmacéuticas según la invención

20

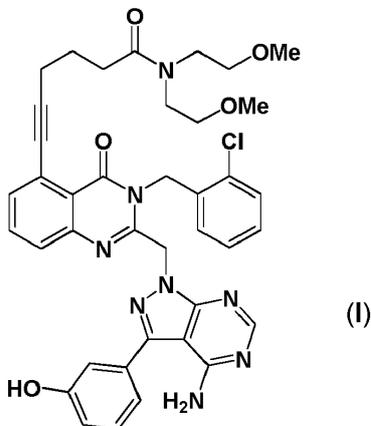
Una formulación farmacéutica ejemplar de la invención consiste en 0,5% en peso del compuesto de fórmula (I) (forma anhidra cristalina sólida, micronizada), 98,5% en peso de monohidrato de lactosa (grado de inhalación) y 1,0% en peso de estearato de magnesio, en la que el porcentaje en peso de todos los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

25

A lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo requiera de otro modo, se entenderá que la palabra “comprender” y variaciones como “comprende” y “que comprende” implican la inclusión de un entero establecido, etapa, grupo de enteros o grupo de etapas, pero no la exclusión de cualquier otro entero, etapa, grupo de enteros o grupo de etapas.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un agente estabilizador en partículas seleccionado de sales metálicas de ácido esteárico y sales metálicas de estearil fumarato en una formulación farmacéutica que contiene un compuesto de la fórmula (I)



5 que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, incluyendo todos los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de la misma, y solvatos de los mismos, en forma de partículas, como ingrediente activo, y lactosa en partículas para incrementar la estabilidad del compuesto de fórmula (I) frente a la degradación química, en el que el agente estabilizador en partículas actúa como agente protector frente a la degradación química del grupo alquino en el compuesto de fórmula (I).

- 10 2. Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) está en su forma de base libre.
3. Uso según la reivindicación 2, en el que el compuesto de fórmula (I) está en forma anhidra cristalina sólida.
- 15 4. Uso según la reivindicación 2, en el que el compuesto de fórmula (I) está en forma cristalina sólida que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que contiene uno, dos, tres o cuatro picos seleccionados de (\pm 0,2) 17,6, 18,4, 22,5 y 24,2 grados 2-theta.
5. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el agente estabilizador es una sal metálica de ácido esteárico.
6. Uso según la reivindicación 5, en el que el agente estabilizador es estearato de magnesio.
7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la lactosa es monohidrato de α -lactosa.
- 20 8. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el ingrediente activo se ha micronizado.

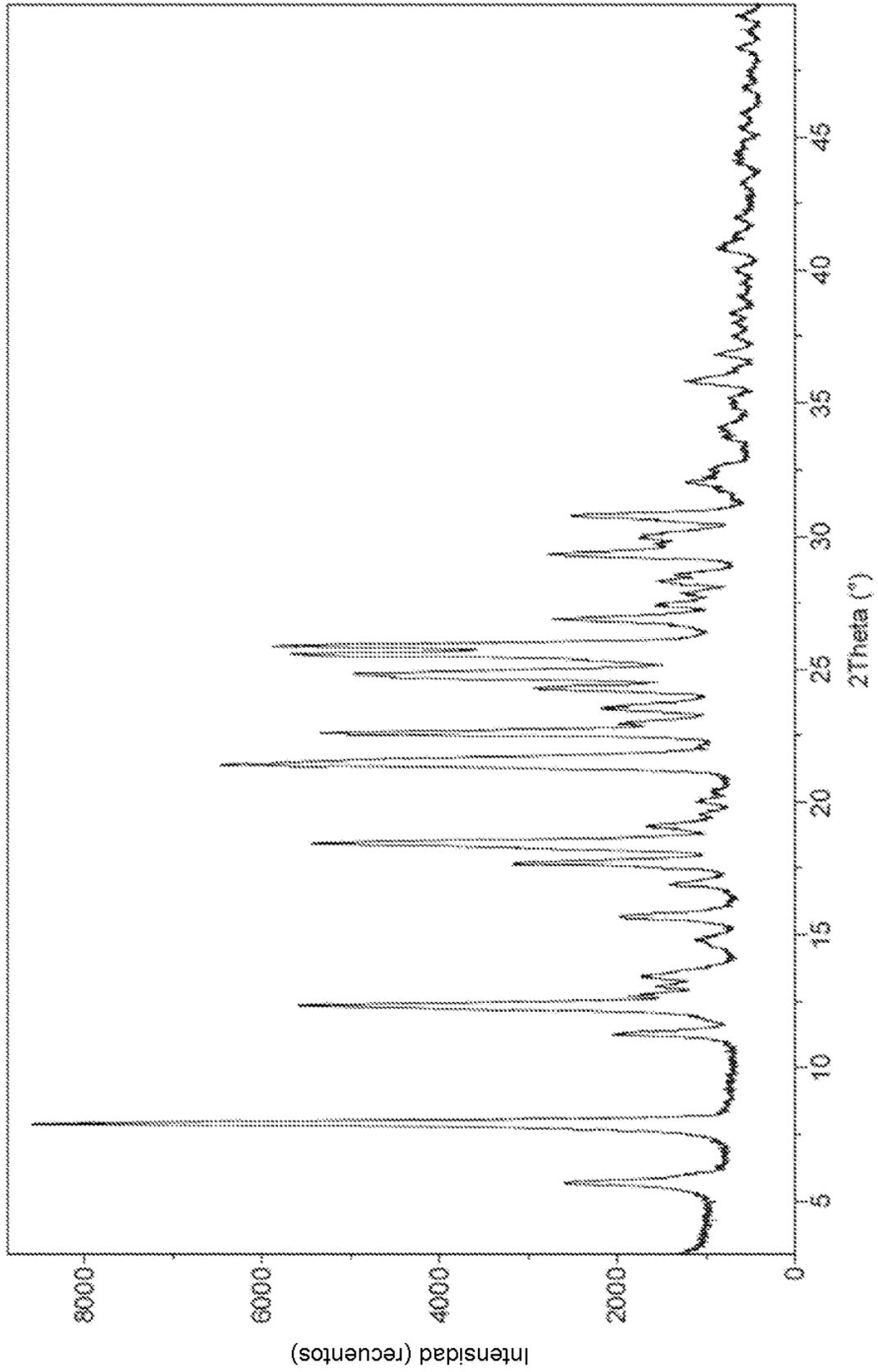


FIG. 1

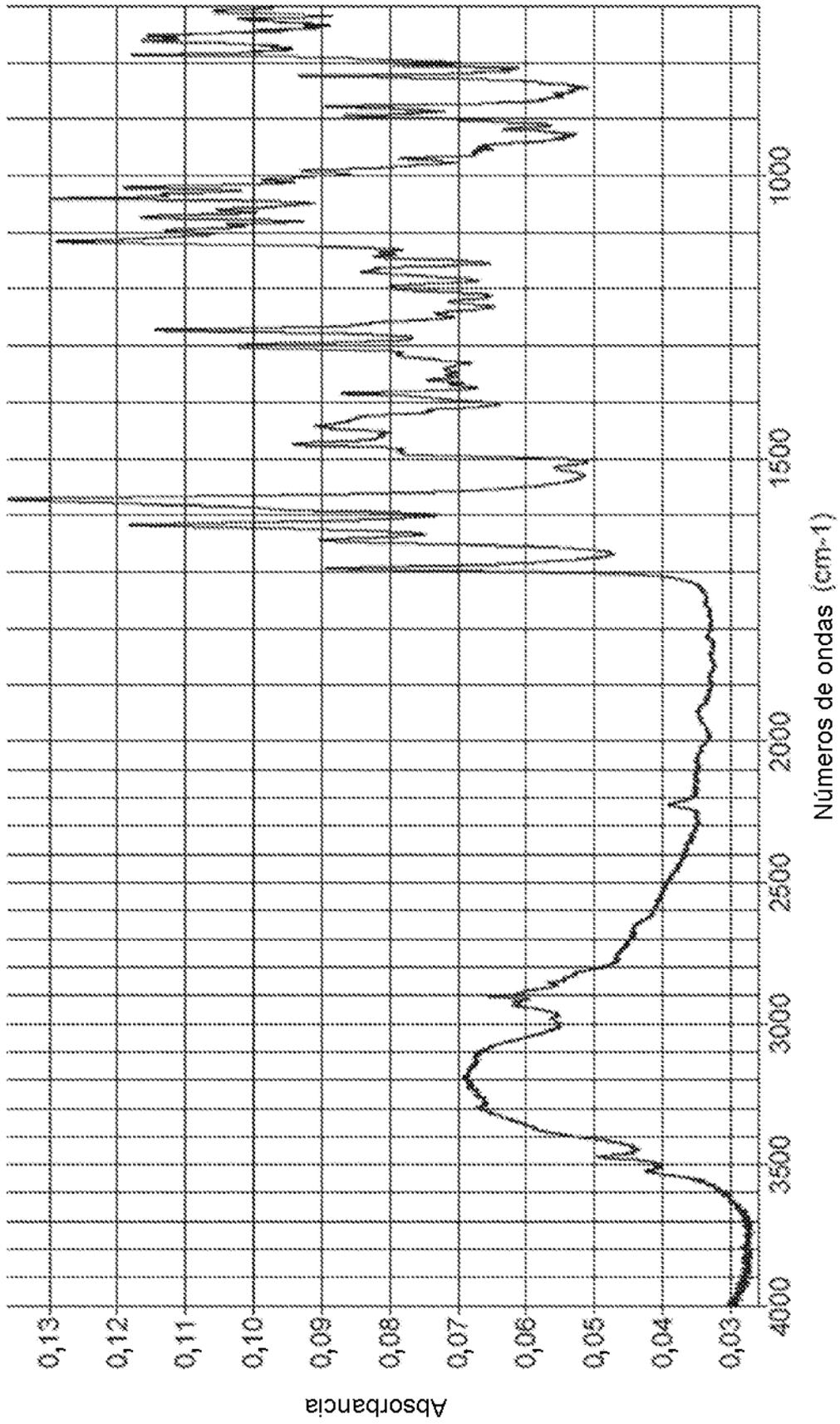


FIG. 2

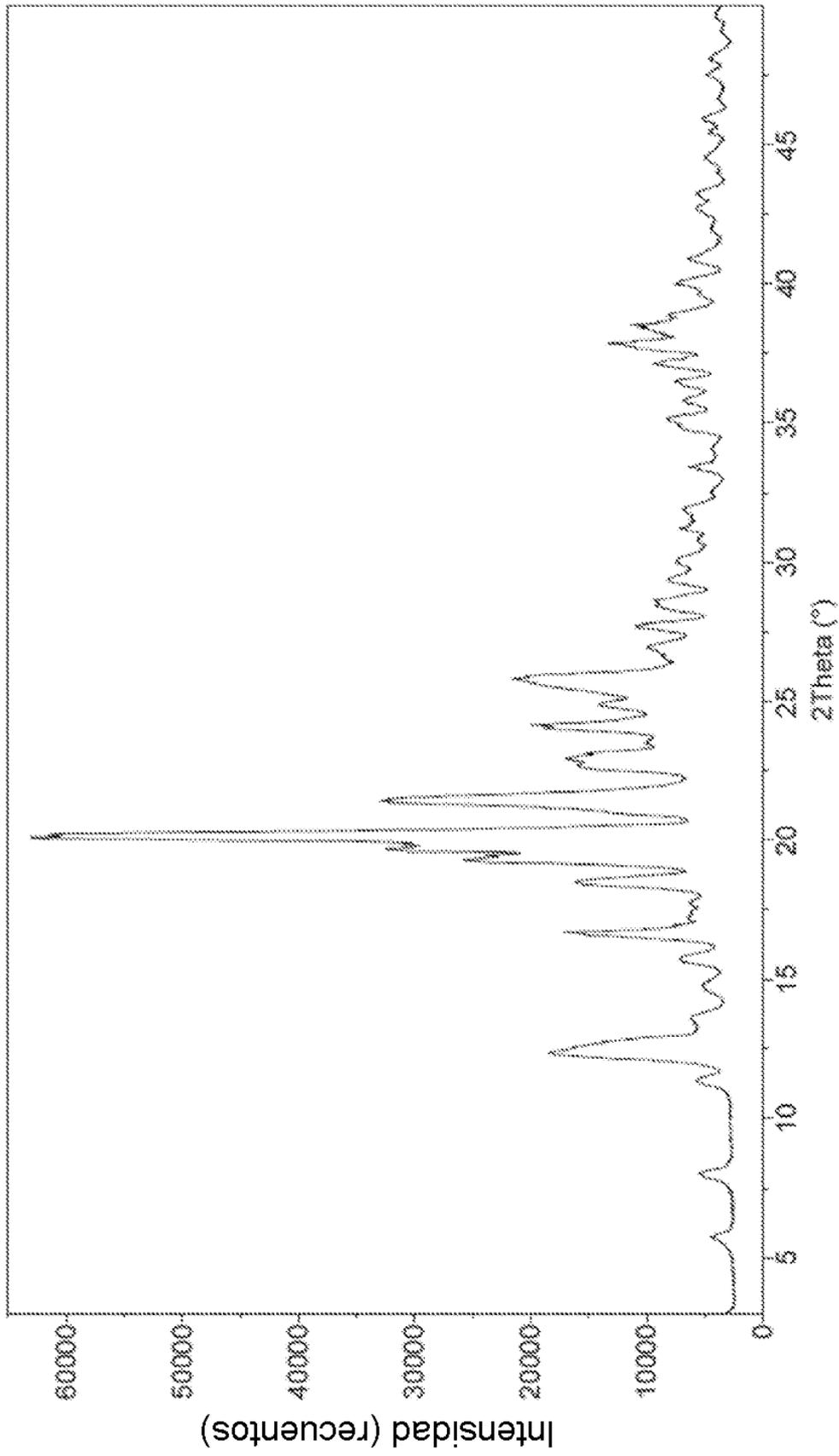


FIG. 3