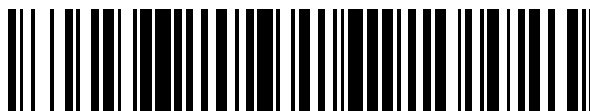


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 298**

51 Int. Cl.:

**C07D 239/48** (2006.01)

**A61K 31/506** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2013 PCT/US2013/030996**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.09.2013 WO13138502**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2013 E 13761487 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2825042**

54 Título: **Sales de un inhibidor de quinasa receptor de factor de crecimiento epidérmico**

30 Prioridad:

**15.03.2012 US 201261611400 P**

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

**04.02.2019**

73 Titular/es:

**CELGENE CAR LLC (100.0%)  
AON House, 30 Woodbourne Avenue  
Pembroke HM 08, BM**

72 Inventor/es:

**LAI, MEI;  
WITOWSKI, STEVEN, RICHARD;  
TESTER, RICHLAND, WAYNE y  
LEE, KWANGHO**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 698 298 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Sales de un inhibidor de quinasa receptor de factor de crecimiento epidérmico

Referencia cruzada a casos relacionados

5 La presente solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos número de serie 61/611.400, presentada el 15 de marzo de 2012.

Campo de la invención

10 La presente invención proporciona formas de sales del compuesto 2, de acuerdo con la reivindicación 1, útiles como inhibidores selectivos de mutantes de la quinasa receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que incluyen formas polimorfas de algunas sales. Esta invención también proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden formas de sales de la presente invención y estas composiciones para usar en el tratamiento de diferentes trastornos.

Antecedentes de la invención

15 Las proteínas tirosina quinasa son una clase de enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosfato del ATP o GTP a un resto de tirosina situado en un sustrato proteína. Los receptores tirosina quinasa actúan para transmitir señales desde fuera de la célula al interior, activando efectores mensajeros secundarios por un suceso de fosforilación. Una variedad de procesos celulares son promovidos por estas señales, incluyendo la proliferación, uso de hidratos de carbono, síntesis de proteínas, angiogénesis, crecimiento celular y supervivencia celular.

20 Hay precedentes importantes de la implicación del EGFR en el cáncer humano porque más de 60% de todos los tumores sólidos sobreexpresan al menos una de estas proteínas o sus ligandos. La sobreexpresión del EGFR se encuentra normalmente en tumores de mama, pulmón, cabeza y cuello, vejiga.

25 Se han identificado mutaciones activantes en el dominio de tirosina quinasa del EGFR en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (Lin, N. U.; Winer, E. P., *Breast Cancer Res* 6: 204-210, 2004). Los inhibidores reversibles Tarceva (erlotinib) e Iressa (gefitinib) actualmente son tratamiento de primera línea para pacientes con cáncer de pulmón no microcítico con mutaciones activantes. Las mutaciones activantes más comunes son L858R y delE746-A750.

30 Además, en la mayoría de los pacientes que recaen, se ha detectado resistencia a fármacos adquirida, tal como por mutación del resto T790M del gen portero (*gatekeeper*), en al menos la mitad de dichos pacientes clínicamente resistentes. Además, T790M también puede existir previamente; puede haber una función oncogénica, independiente, para la mutación T790M. Por ejemplo, hay pacientes con la mutación L858R/T790M que nunca han recibido tratamiento con gefitinib. Además, las mutaciones T790M del EGFR de la línea germinal están conectadas con determinados cánceres de pulmón familiar.

35 Fármacos actuales en desarrollo, que incluyen inhibidores covalentes de segunda generación, tales como BIBW2992, HKI-272 y PF-0299804, son eficaces contra la mutación de resistencia T790M pero presentan inhibición simultánea del EGFR WT. El documento WO 2010/129053 describe compuestos de pirimidina, pirrolo-pirimidina, pirrolo-piridina, piridina, purina y triazina que son capaces de modular el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), incluyendo quinasa Her, y el uso de dichos compuestos en el tratamiento de diferentes enfermedades, trastornos o afecciones. Por consiguiente, sigue siendo necesario encontrar inhibidores de quinasa EGFR selectivos de mutantes útiles como agentes terapéuticos.

Resumen de la invención

40 Ahora se ha encontrado que las nuevas sales de ácido bencenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico del compuesto 2 de la presente invención, y sus composiciones, son útiles como inhibidores selectivos de mutantes de una o más quinasa EGFR y presentan características deseables para las mismas. En general, estas sales, y  
45 composiciones farmacéuticamente aceptables de las mismas, son útiles para tratar o reducir la gravedad de una variedad de enfermedades o trastornos como se describe en detalle en la presente memoria.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa el patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) para una sal de bis-besilato del compuesto 1.

50 La figura 2 representa el patrón del análisis termogravimétrico (TGA) para una sal de bis-besilato del compuesto 1.

La figura 3 representa el patrón del análisis termogravimétrico (TGA) para una muestra seca adicional de una sal de bis-besilato del compuesto 1.

- La figura 4 representa un patrón de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para una sal de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 5 representa el espectro de infrarrojo (IR) de una sal de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 6 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de una sal de bis-besilato del compuesto 1.
- 5 La figura 7 representa el patrón de sorción de vapor dinámica (DVS) de una sal de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 8 representa los resultados de un estudio de hidratación de una sal de bis-besilato del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- La figura 9 representa los resultados de un estudio de dismutación de una sal de bis-besilato del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- 10 La figura 10 representa los resultados de un estudio de estabilidad de una sal de bis-besilato del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- La figura 11 representa los resultados de un estudio de solubilidad termodinámica de una sal de bis-besilato del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- La figura 12 representa la disolución a pH 4,5 de un disco comprimido de una sal de bis-besilato del compuesto 1.
- 15 La figura 13 representa la disolución a pH 3,0 de un disco comprimido de una sal de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 14 representa el patrón de XRPD para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 15 representa el patrón de TGA para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 16 representa el patrón de DSC para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 17 representa el espectro de IR para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- 20 La figura 18 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 19 representa el patrón de DVS para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 20 representa los resultados de un estudio de estabilidad de una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- 25 La figura 21 representa los resultados de un estudio de solubilidad termodinámica de una sal de bis-besilato del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- La figura 22 representa la disolución a pH 4,5 de un disco comprimido de una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 23 representa la disolución a pH 3,0 de un disco comprimido de una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- 30 La figura 24 representa el patrón de XRPD para una sal de monomaleato del compuesto 1.
- La figura 25 representa el patrón de TGA para una sal de monomaleato del compuesto 1.
- La figura 26 representa el patrón de DSC para una sal de monomaleato del compuesto 1.
- La figura 27 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para una sal hidrato de bis-besilato del compuesto 1.
- La figura 28 representa el patrón de XRPD para una sal de bis-hidrocloruro del compuesto 1.
- 35 La figura 29 representa el patrón de TGA para una sal de bis-hidrocloruro del compuesto 1.
- La figura 30 representa el patrón de DSC para una sal de bis-hidrocloruro del compuesto 1.
- La figura 31 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para una sal de bis-hidrocloruro del compuesto 1.
- La figura 32 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 33 representa el patrón de TGA para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- 40 La figura 34 representa el patrón de DSC para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 35 representa el espectro de IR para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

- La figura 36 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 37 representa el espectro de DVS para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 38 representa los resultados de un estudio de hidratación de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- 5 La figura 39 representa los resultados de un estudio de dismutación de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- La figura 40 representa los resultados de un estudio de estabilidad de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- La figura 41 representa los resultados de un estudio de solubilidad termodinámica de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.
- 10 La figura 42 representa la disolución a pH 4,5 de un disco comprimido de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 43 representa la disolución a pH 3,0 de un disco comprimido de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- 15 La figura 44 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 45 representa el patrón de TGA para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 46 representa el espectro de IR para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 47 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 48 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- 20 La figura 49 representa el espectro de DSC para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 50 representa los resultados de un experimento de suspensión que implica una forma de la base libre del compuesto 1 y un hidrato del bis-besilato.
- La figura 51 representa los resultados de un experimento de suspensión que implica la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1 a pH 6,2.
- 25 La figura 52 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 53 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 54 representa el espectro de IR para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 55 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 56 representa el patrón de TGA para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- 30 La figura 57 representa el patrón de DSC para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 58 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1 después de calentamiento.
- La figura 59 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 60 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- 35 La figura 61 representa el espectro de IR para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 62 representa el espectro de RMN-<sup>1</sup>H para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 63 representa el patrón de TGA para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- La figura 64 representa el patrón de DSC para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.
- 40 La figura 65 representa los resultados de un estudio de solubilidad termodinámica de la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1, analizado por los patrones de XRPD.

La figura 66 representa el patrón de XRPD para la forma I de una sal de hidrobromuro del compuesto 1, después de almacenamiento durante 1,5 meses.

La figura 67 representa el patrón de XRPD para la forma III de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 68 representa el patrón de TGA para la forma III de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

5 La figura 69 representa el patrón de DSC para la forma III de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 70 representa el espectro de IR para la forma III de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 71 representa el espectro de RMN <sup>1</sup>H para la forma III de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 72 representa el patrón de XRPD para la forma IV de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 73 representa el patrón de XRPD para la forma V de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

10 La figura 74 representa el patrón de XRPD para la forma VI de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 75 representa el patrón de XRPD para la forma VII de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 76 representa el patrón de XRPD para la forma VIII de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 77 representa el patrón de TGA para la forma VIII de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

La figura 78 representa el patrón de DSC para la forma VIII de una sal de hidrobromuro del compuesto 1.

15 La figura 79 representa el XRPD de una sal de hidrobromuro amorfa del compuesto 1.

La figura 80 representa el XRPD para la forma V de una sal de hidrobromuro del compuesto 1 después de las condiciones de desolvatación.

La figura 81 representa material introducido de la forma I de la sal de hidrobromuro del compuesto I comparado con una muestra húmeda, y después de etapas de secado.

20 La figura 82 representa el análisis de XRPD de las formas I y III de la sal de hidrobromuro que resultan de experimentos de suspensión competitiva a temperatura ambiente (22°C).

La figura 83 representa el análisis de XRPD de las formas I y III de la sal de hidrobromuro que resultan de experimentos de suspensión competitiva a 60°C.

25 La figura 84 representa análisis de XRPD de la formula I de la sal de hidrobromuro del compuesto I suspendida en mezclas de EtOH:agua.

La figura 85 representa análisis de XRPD de material en suspensión en mezclas de IPA/acetona (9:1):agua.

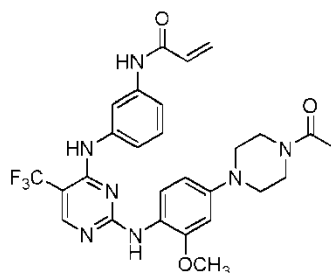
La figura 86 representa análisis de XRPD después de estudios de hidratación a 15°C y 35°C.

La figura 87 representa el diagrama de formas para la sal de hidrobromuro, que incluye 7 formas diferentes y la relación entre dichas formas.

30 Descripción detallada de la invención

Descripción general de algunos aspectos de la invención:

La solicitud de Estados Unidos número 13/286.061, publicada como US 2012/0149687 el 14 de junio, 2012 ("la solicitud 061"), presentada el 31 de octubre, 2011, describe algunos compuestos de pirimidina 2,4-disustituida con actividad de inhibición covalente e irreversible de la quinasa EGFR. Dichos compuestos incluyen el compuesto 1:

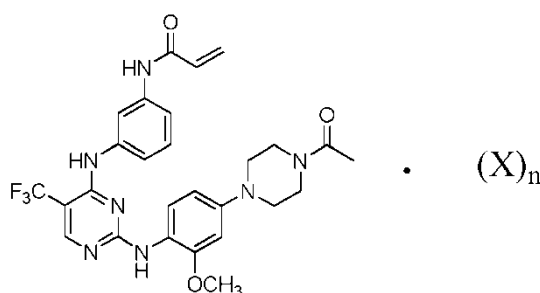


El compuesto 1 (N-(3-(2-(4-(4-acetilpiperazin-1-il)-2-metoxifenilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida)) se designa como compuesto 1-4 y la síntesis del compuesto 1 se describe con detalle en el ejemplo 3 de la solicitud 061.

5 El compuesto 1 es activo en una variedad de ensayos y modelos terapéuticos que demuestran inhibición selectiva covalente, irreversible, de la quinasa EGFR mutante (en ensayos enzimáticos y celulares). En especial, se encontró que el compuesto 1 inhibe la proliferación de células de cáncer de pulmón no microcítico tanto in vitro como in vivo. Por consiguiente, el compuesto 1 y sus sales son útiles para tratar uno o más trastornos asociados con la actividad de la quinasa EGFR mutante.

10 Sería conveniente proporcionar una forma del compuesto 1 que, en comparación con el compuesto 1, imparta características tales como solubilidad acuosa mejorada, estabilidad y facilidad de formulación. Por consiguiente, la presente invención proporciona varias sales del compuesto 1.

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona una sal del compuesto 1, representada por el compuesto 2:



2

15 donde:

n es 1 o 2; y

X es ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico.

20 El experto en la técnica apreciará que el resto ácido indicado como "X" y el compuesto 1 están unidos de forma iónica para formar el compuesto 2. Está contemplado que el compuesto 2 puede existir en una variedad de formas físicas. Por ejemplo, el compuesto 2 puede estar en disolución, suspensión o en forma sólida. En algunas realizaciones, el compuesto 2 está en forma sólida. Cuando el compuesto 2 está en forma sólida, dicho compuesto puede ser amorfo, cristalino o una mezcla de los mismos. Las formas sólidas de ejemplo se describen con más detalle más adelante.

25 En otras realizaciones, el compuesto 2 está sustancialmente exento de impurezas. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sustancialmente exento de impurezas" significa que el compuesto no contiene una cantidad significativa de materia extraña. Dicha materia extraña puede incluir exceso de ácido "X", exceso de compuesto 1, disolventes residuales, o cualesquiera impurezas que puede resultar de la preparación de, y/o aislamiento del compuesto 2. En algunas realizaciones, está presente al menos aproximadamente 90% en peso del compuesto 2. En algunas realizaciones, está presente al menos aproximadamente 95% en peso del compuesto 2. En otras realizaciones más, está presente al menos aproximadamente 99% en peso del compuesto 2.

30 De acuerdo con una realización, el compuesto 2 está presente en una cantidad de al menos aproximadamente 95, 97, 97,5, 98,0, 98,5, 99, 99,5, 99,8 por ciento en peso, donde el porcentaje se basa en el peso total de la composición. De acuerdo con otra realización, el compuesto 2 no contiene más de aproximadamente 5,0 por ciento del área de HPLC de impurezas orgánicas totales y, en algunas realizaciones, no más de aproximadamente 3,0 por ciento del área de HPLC de impurezas orgánicas totales, en algunas realizaciones, no más de aproximadamente 1,5 por ciento del área de HPLC de impurezas orgánicas totales, con respecto al área total del cromatograma de HPLC. En otras realizaciones, el compuesto 2 no contiene más de aproximadamente 1,0 por ciento del área de HPLC de cualquier impureza individual; no más de aproximadamente 0,6 por ciento del área de HPLC de cualquier impureza individual, y en algunas realizaciones, no más de aproximadamente 0,5 por ciento del área de HPLC de cualquier impureza individual, con respecto al área total del cromatograma de HPLC.

35 La estructura representada para el compuesto 2 también se pretende que incluya todas las formas tautómeras del compuesto 2. Además, las estructuras representadas aquí también se pretende que incluyan compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que

45

tienen la presente estructura, excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ , están dentro del alcance de esta invención.

Formas sólidas del compuesto 2:

5 Se ha encontrado que el compuesto 2 puede existir en una variedad de formas sólidas. Dichas formas sólidas incluyen formas polimorfas y amorfas. Las formas sólidas pueden ser solvatos, hidratos y formas no solvatadas del compuesto 2. Todas dichas formas están contempladas por la presente invención. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el compuesto 2 como una mezcla de una o más formas sólidas del compuesto 2.

Como se usa en la presente memoria, el término "polimorfo" se refiere a las diferentes estructuras cristalinas (de formas solvatadas o no solvatadas) en las que puede cristalizar un compuesto.

10 Como se usa en la presente memoria, el término "solvato" se refiere a una forma cristalina con una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de disolvente. Para los polimorfos, el disolvente se incorpora en la estructura cristalina. De forma similar, el término "hidrato" se refiere a una forma sólida con una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua. Para los polimorfos, el agua se incorpora en la estructura cristalina.

15 Como se usa en la presente memoria, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor de grados 2-zeta se refiere al valor expuesto  $\pm 0,3$  grados 2-zeta ( $^{\circ} 2\theta$ ). En algunas realizaciones, "aproximadamente" se refiere a  $\pm 0,2$  grados  $2\theta$  o  $\pm 0,1$  grados  $2\theta$ .

20 En algunas realizaciones, el compuesto 2 es un sólido cristalino. En otras realizaciones, el compuesto 2 es un sólido cristalino sustancialmente exento del compuesto 2 amorfo. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sustancialmente exento de compuesto 2 amorfo" significa que el compuesto no contiene una cantidad significativa de compuesto 2 amorfo. En algunas realizaciones, está presente al menos aproximadamente 90% en peso del compuesto 2 cristalino, o está presente al menos aproximadamente 95% en peso del compuesto 2 cristalino. En otras realizaciones más de la invención, está presente al menos aproximadamente 99% en peso del compuesto 2 cristalino.

25 En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bencenosulfónico (besilato). La sal puede ser un mono-besilato o un bis-besilato. Una sal de besilato está opcionalmente solvatada o hidratada, tal como un monohidrato.

30 De acuerdo con un aspecto, una sal de bis-besilato no solvatada tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 1. De acuerdo con una realización, una sal de bis-besilato no solvatada se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 5,62, aproximadamente 17,41, aproximadamente 18,90, aproximadamente 19,07 y aproximadamente 19,52 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de bis-besilato no solvatada se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 5,62, aproximadamente 17,41, aproximadamente 18,90, aproximadamente 19,07 y aproximadamente 19,52 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de bis-besilato no solvatada se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 5,62, aproximadamente 17,41, aproximadamente 18,90, aproximadamente 19,07 y aproximadamente 19,52 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de bis-besilato no solvatada se caracteriza por sustancialmente todos los picos de su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 5,62, 7,89, 11,23, 12,64, 17,41, 18,90, 19,07, 19,52, 22,63, 23,17, 25,28 y 28,92 grados 2-zetagrados  $2\theta$ . En una realización de ejemplo, una sal de bis-besilato no solvatada se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

35

40

° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta
3,37	17,41	27,00	36,85
3,70	18,40	27,63	37,28
5,62	18,90	27,91	38,25
7,00	19,07	28,03	38,61
7,89	19,52	28,60	39,06
8,38	19,91	28,92	39,34
9,56	20,16	29,15	40,20
10,09	20,50	29,74	41,33
10,72	21,12	29,94	41,80
10,91	21,48	30,60	41,88
11,23	21,95	31,53	42,89
11,97	22,63	32,13	43,40
12,64	23,17	32,40	43,80
12,98	23,46	32,54	44,84
13,37	23,82	32,77	45,41
14,04	24,33	32,96	46,34
14,56	24,48	34,04	46,69
14,79	24,93	35,18	47,05
15,45	25,28	35,61	47,85
16,08	25,85	35,91	48,75
16,47	26,18	36,07	48,96
16,87	26,73	36,54	

De acuerdo con otro aspecto, una sal de bis-besilato no solvatada tiene un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 2 o 3. De acuerdo con otro aspecto más, una sal de bis-besilato no solvatada tiene un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 4. De acuerdo con una realización adicional, una sal de bis-besilato no solvatada tiene un espectro de infrarrojo sustancialmente similar al representado en la figura 5. De acuerdo con otra realización adicional, una sal de bis-besilato no solvatada tiene un espectro de RMN-<sup>1</sup>H sustancialmente similar al representado en la figura 6. De acuerdo con una realización adicional, una sal de bis-besilato no solvatada tiene un espectro de infrarrojo sustancialmente similar al representado en la figura 7. Una sal de bis-besilato no solvatada se puede caracterizar por una sustancial similitud con dos o más de estas figuras simultáneamente.

De acuerdo con un aspecto, un hidrato de bis-besilato tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 14. De acuerdo con una realización, una sal de hidrato de bis-besilato se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 10,68, aproximadamente 16,10, aproximadamente 18,44 y aproximadamente 22,36 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrato de bis-besilato se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 10,68, aproximadamente 16,10, aproximadamente 18,44 y aproximadamente 22,36 grados 2θ. En algunas realizaciones, una sal de hidrato de bis-besilato se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 10,68, aproximadamente 16,10, aproximadamente 18,44 y aproximadamente 22,36 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrato de bis-besilato se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 9,33, 10,68, 16,10, 16,43, 16,64, 18,44, 20,05, 20,32, 20,74, 22,36 y 22,83 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de hidrato de bis-besilato se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente



° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta
3,05	13,95	22,83	31,66
3,30	14,62	23,04	32,85
3,50	16,10	23,58	33,22
3,64	16,43	24,09	33,96
5,31	16,64	25,01	34,11
6,02	17,21	25,92	36,94
6,89	17,67	26,51	37,87
7,77	18,06	27,41	39,33
7,90	18,44	27,73	42,63
8,86	18,82	28,03	44,95
9,33	19,45	28,43	45,79
10,68	20,05	28,86	46,36
11,38	20,32	29,20	47,16
11,76	20,74	29,63	47,85
12,19	21,28	30,29	48,86
13,12	22,05	30,53	49,09
13,60	22,36	30,92	

De acuerdo con otro aspecto, un hidrato de bis-besilato tiene un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 15. De acuerdo con otro aspecto más, una sal de hidrato de bis-besilato tiene un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 16. De acuerdo con una realización adicional, una sal de hidrato de bis-besilato tiene un espectro de infrarrojo sustancialmente similar al representado en la figura 17. De acuerdo con otra realización, un hidrato de bis-besilato tiene un espectro de RMN-<sup>1</sup>H sustancialmente similar al representado en la figura 18. De acuerdo con una realización adicional, un hidrato de bis-besilato tiene un patrón de sorción de vapor dinámica sustancialmente similar al representado en la figura 19. Un hidrato de bis-besilato se puede caracterizar por una similitud sustancial con dos o más de estas figuras simultáneamente.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido canforsulfónico (p. ej., ácido canfor-10-sulfónico). En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-canforsulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-canforsulfónico.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido 1,2-etano-disulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-1,2-etano-disulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-1,2-etano-disulfónico.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bromhídrico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-bromhídrico anhidro. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-bromhídrico anhidro. Una sal de hidrobromuro está opcionalmente solvatada o hidratada. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bromhídrico monohidrato. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bromhídrico solvatada. En algunas de dichas realizaciones, el solvato se selecciona de dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF) y 1,4-dioxano. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro seleccionado de la Forma I, Forma III, Forma IV, Forma V, Forma VI, Forma VII y Forma VIII, cada una de las cuales se describe con más detalle, más adelante.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma I. En algunas de dichas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma I anhidra. De acuerdo con un aspecto, una sal de hidrobromuro de forma I se caracteriza por el patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 60. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma I se caracteriza por el patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 59. De acuerdo con una realización, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,39, aproximadamente 19,45, aproximadamente 21,41, aproximadamente 23,56 y aproximadamente 27,45 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,39, aproximadamente 19,45, aproximadamente 21,41, aproximadamente 23,56 y aproximadamente 27,45 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,39, aproximadamente 19,45, aproximadamente 21,41, aproximadamente 23,56 y aproximadamente 27,45 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por cuatro o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,39, aproximadamente 19,45, aproximadamente 21,41, aproximadamente 23,56 y aproximadamente 27,45 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 9,84, 15,62, 17,39, 19,45, 20,69, 21,41, 22,38, 23,56, 25,08 y 27,45

grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta
3,17	19,45	31,35	40,86
3,48	20,69	32,45	41,03
3,79	21,41	32,82	41,39
5,60	22,38	34,18	42,16
7,92	23,56	34,80	42,48
8,35	24,65	35,35	42,78
9,84	25,08	36,01	44,28
11,52	26,26	36,82	45,34
14,10	27,45	37,61	45,59
15,23	28,50	37,96	46,57
15,62	29,06	38,55	47,20
16,73	29,77	39,13	47,51
17,39	29,94	40,04	
18,23	30,66	40,64	

- 5 De acuerdo con otro aspecto, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 63. De acuerdo con otro aspecto más, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 64. De acuerdo con una realización adicional, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por un espectro de infrarrojo sustancialmente similar al representado en la figura 61. De acuerdo con otra realización, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por un espectro de RMN-<sup>1</sup>H sustancialmente similar al representado en la figura 62. En algunas realizaciones, una sal de mono-hidrobromuro de forma I se caracteriza por similitud sustancial con dos o más de estas figuras simultáneamente.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma III. En algunas de dichas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma III anhidra. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por el patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 67. De acuerdo con una realización, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por cuatro o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por cinco o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por seis o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta
6,79
8,15
8,98
9,58
10,36
11,35
13,36
14,06
14,58
15,99

° 2-Zeta
16,67
17,08
17,84
18,33
18,74
19,07
19,93
20,89
21,90
22,70

° 2-Zeta
22,91
23,93
24,32
25,39
25,74
26,34
27,47
28,32
28,89
30,50

° 2-Zeta
30,76
31,39
31,75
32,39
32,68
33,33
33,77
34,48
34,57

- 5 En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 68. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 69. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por un espectro de infrarrojo sustancialmente similar al representado en la figura 70. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por un espectro de RMN-<sup>1</sup>H sustancialmente similar al representado en la figura 71. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma III se caracteriza por la similitud sustancial con dos o más de estas figuras simultáneamente.
- 10 En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma IV. En algunas de dichas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma IV es un solvato de 1,4-dioxano. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 72. De acuerdo con una realización, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por cuatro o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por cinco o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de hidrobromuro de forma IV se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta
5,99
6,45
7,23
7,84
9,31
9,71
11,07

° 2-Zeta
12,96
13,42
16,34
16,55
17,00
17,93
18,99

° 2-Zeta
19,38
19,79
21,37
21,58
22,65
23,23
24,10

° 2-Zeta
24,82
26,539
27,12
27,89
28,43
28,74

- 35 En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma V. En algunas de dichas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma V es un solvato de N,N-dimetilformamida (DMF). En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 73. De acuerdo con una realización, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50, aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50,

aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50, aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por cuatro o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50, aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por cinco o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50, aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50, aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de hidrobromuro de forma V se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta
6,17	17,72	23,12	26,64
6,99	20,20	23,41	26,97
8,76	21,06	23,66	28,12
12,50	21,38	23,88	28,42
13,56	21,66	24,16	28,61
14,14	21,90	24,57	
15,19	22,33	25,15	
17,03	22,70	25,41	

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma VI. En algunas de dichas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VI es un solvato de dimetilsulfóxido (DMSO). En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VI se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 74. De acuerdo con una realización, una sal de hidrobromuro de forma VI se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 9,38, aproximadamente 18,93 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VI se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 9,38, aproximadamente 18,93 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VI se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 9,38, aproximadamente 18,93 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrobromuro de forma VI se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 9,38, aproximadamente 18,93 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de hidrobromuro de forma VI se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta	° 2-Zeta
8,38	9,38	18,93	21,58

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma VII. En algunas de dichas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VII es un solvato de dimetilsulfóxido (DMSO). En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 75. De acuerdo con una realización, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 15,91, aproximadamente 19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 15,91, aproximadamente 19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 15,91, aproximadamente 19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por cuatro o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 15,91, aproximadamente 19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por cinco o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 15,91, aproximadamente

19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 15,91, aproximadamente 19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta. En una  
 5 realización de ejemplo, una sal de hidrobromuro de forma VII se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta
6,35
8,88
9,29
15,18
15,91

° 2-Zeta
16,54
16,88
17,56
18,22
19,10

° 2-Zeta
19,53
20,24
21,78
22,12
22,64

° 2-Zeta
23,93
24,37
25,00
25,58
26,00

10 En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de hidrobromuro de forma VIII. En algunas de dichas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII es un hidrato. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 76. De acuerdo con una realización, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de  
 15 hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por cuatro o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por cinco o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por seis o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En realizaciones particulares, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que incluye los picos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta. En una  
 35 realización de ejemplo, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

° 2-Zeta
8,79
9,00
10,22
11,13
13,15
13,30
13,65
17,19
17,65

° 2-Zeta
18,07
18,69
19,09
19,97
20,75
21,05
21,31
21,56
23,12

° 2-Zeta
23,71
24,00
24,82
25,30
25,71
26,34
26,65
27,17
28,18

° 2-Zeta
28,97
29,31
29,96
30,65
31,23
31,64
34,21
34,43

40 En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII tiene un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 77. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII tiene un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 78. En algunas realizaciones, una sal de hidrobromuro de forma VIII se caracteriza por la similitud sustancial con dos o más de estas figuras simultáneamente.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido clorhídrico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-clorhídrico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-clorhídrico.

De acuerdo con un aspecto, una sal de bis-hidrocloruro tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 28. De acuerdo con una realización, una sal de bis-hidrocloruro se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,58, aproximadamente 23,32, aproximadamente 25,53 y aproximadamente 28,37 grados 2-zeta

5 En algunas realizaciones, una sal de bis-hidrocloruro a se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,58, aproximadamente 23,32, aproximadamente 25,53 y aproximadamente 28,37 grados  $2\theta$ . En algunas realizaciones, una sal de bis-hidrocloruro se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,58, aproximadamente 23,32, aproximadamente 25,53 y aproximadamente 28,37 grados 2-zeta.

10 En realizaciones particulares, una sal de bis-hidrocloruro se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 17,58, 20,13, 22,14, 23,32, 25,53, 26,60, 27,80 y 28,37 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de bis-hidrocloruro se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

$^{\circ}$ 2-Zeta	$^{\circ}$ 2-Zeta	$^{\circ}$ 2-Zeta	$^{\circ}$ 2-Zeta
3,04	19,68	29,50	41,01
3,84	20,13	30,21	41,78
5,40	20,86	30,74	42,64
6,34	21,38	31,56	44,43
7,67	21,67	31,79	44,89
9,20	22,14	32,29	45,62
9,37	23,32	33,03	46,46
10,62	23,99	33,46	46,87
14,48	24,63	34,66	47,18
15,34	25,15	35,62	47,88
15,47	25,53	36,07	48,14
15,81	26,60	36,47	48,72
16,34	27,80	37,08	49,63
16,87	28,37	37,91	
17,58	28,73	38,71	
18,44	29,08	40,02	

15 De acuerdo con otro aspecto, una sal de bis-hidrocloruro tiene un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 29. De acuerdo con otro aspecto más, una sal de bis-hidrocloruro tiene un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 30. De acuerdo con otra realización adicional, una sal de bis-hidrocloruro tiene un espectro de RMN-<sup>1</sup>H sustancialmente similar al representado en la figura 31.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido maleico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-maleico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-maleico.

De acuerdo con un aspecto, una sal de mono-maleato tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente similar al representado en la figura 24. De acuerdo con una realización, una sal de mono-maleato se caracteriza por uno o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 23,59 y aproximadamente 23,80 grados 2-zeta

25 En algunas realizaciones, una sal de mono-maleato a se caracteriza por dos o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 23,59 y aproximadamente 23,80 grados  $2\theta$ . En algunas realizaciones, una sal de mono-maleato a se caracteriza por tres o más picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 23,59 y aproximadamente 23,80 grados  $2\theta$ . En realizaciones particulares, una sal de mono-maleato se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 8,38, 13,74, 16,35, 16,54, 20,67, 23,15, 23,59 y 23,80 grados 2-zeta. En una realización de ejemplo, una sal de mono-maleato se caracteriza por sustancialmente todos los picos en su patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente

30

35

° 2-Zeta
7,42
8,38
9,06
9,91
10,13
10,45
10,62
11,16
12,40
13,15

° 2-Zeta
13,74
14,65
15,91
16,35
16,54
17,86
19,96
20,67
22,50
23,15

° 2-Zeta
23,59
23,80
24,75
26,52
27,13
27,90
29,53
30,37
31,30
32,04

° 2-Zeta
33,68
35,05
38,51
41,05
43,03
45,85
46,06
46,44
46,69
48,23

De acuerdo con otro aspecto, una sal de mono-maleato tiene un patrón de análisis termogravimétrico sustancialmente similar al representado en la figura 25. De acuerdo con otro aspecto más, una sal de mono-maleato tiene un patrón de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente similar al representado en la figura 26. De acuerdo con otra realización, una sal de mono-maleato tiene un espectro de RMN-<sup>1</sup>H sustancialmente similar al representado en la figura 27.

Se observará que cualquiera de las formas polimorfas descritas antes se puede caracterizar, por ejemplo, por referencia a cualquiera de los picos en sus respectivos patrones de difracción de rayos X. Por consiguiente, en algunas realizaciones, un polimorfo descrito en la presente memoria se caracteriza por uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, dieciséis, diecisiete, dieciocho, diecinueve, veinte o más picos de XRPD (°2θ).

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido metanosulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-metanosulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-metanosulfónico.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido naftaleno-2-sulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-naftaleno-2-sulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-naftaleno-2-sulfónico.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-1,5-naftaleno-disulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-1,5-naftaleno-disulfónico.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido oxálico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-oxálico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-oxálico.

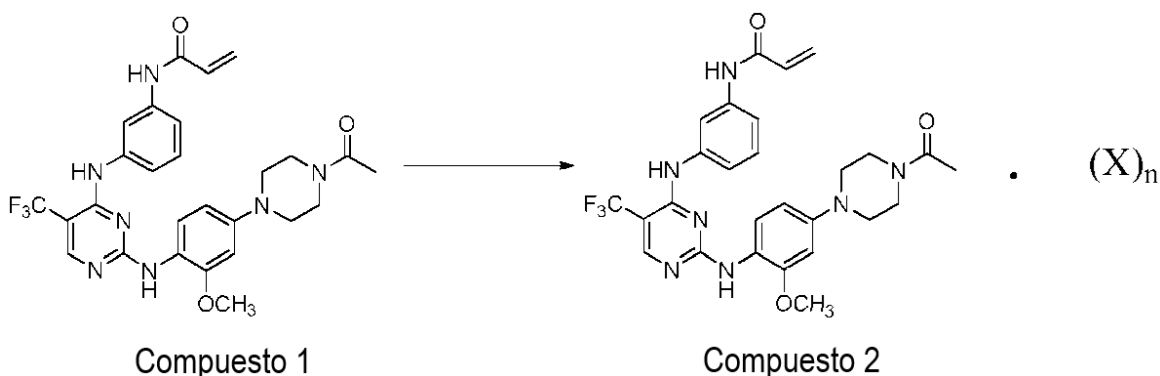
En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido p-toluenosulfónico (tosilato). En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-p-toluenosulfónico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-p-toluenosulfónico.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido mono-2,4,6-trihidroxibenzoico. En algunas realizaciones, el compuesto 2 es una sal de ácido bis-2,4,6-trihidroxibenzoico.

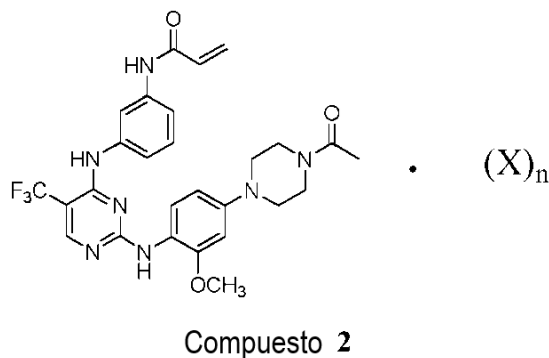
De acuerdo con otra realización, la presente descripción proporciona el compuesto 2 como un sólido amorfo. Los sólidos amorfos son bien conocidos para los expertos en la técnica y se preparan típicamente por métodos tales como liofilización, fusión y precipitación de fluido supercrítico, entre otros.

Métodos generales para proporcionar el compuesto 2:

El compuesto 1 se prepara de acuerdo con los métodos descritos en detalle en la solicitud 061. El compuesto 2 se prepara a partir del compuesto 1, de acuerdo con el siguiente esquema.

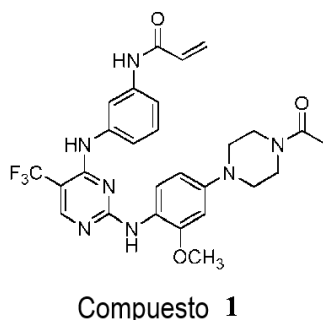


5 Como se describe en el esquema general anterior, el compuesto 2 se prepara a partir de compuesto 1 combinando el compuesto 1 con uno o dos equivalentes de ácido bencenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico para formar la sal del mismo. Por lo tanto, otro aspecto de la presente descripción proporciona un método para preparar el compuesto 2:



que comprende las etapas de:

10 proporcionar el compuesto 1:



15 combinar el compuesto 1 con uno o dos equivalentes de ácido bencenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico en un disolvente adecuado; y

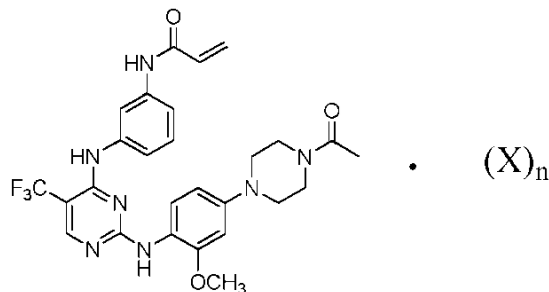
opcionalmente aislar el compuesto 2.

20 Un disolvente adecuado puede solubilizar uno o más componentes de la reacción, o alternativamente, el disolvente adecuado puede facilitar la agitación de una suspensión de uno o más de los componentes de reacción. Los ejemplos de disolventes adecuados son un disolvente prótico, un disolvente aprótico polar, un disolvente no polar, o mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, los disolventes adecuados incluyen agua, un éter, un éster, un alcohol, un disolvente halogenado, una cetona, o mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es metanol, etanol, isopropanol, acetato de etilo, acetato de isopropilo, metil-etil-cetona, metil-isobutil-cetona o acetona. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es diclorometano. En otras realizaciones, los



disolventes incluyen tetrahidrofurano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, glima, diglima, éter de metilo y butilo, t-butanol, n-butanol, y acetonitrilo. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es ciclohexano.

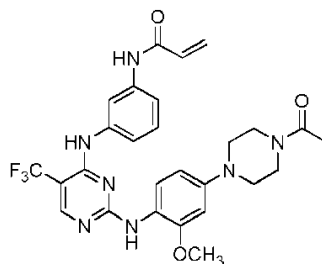
De acuerdo con otra realización, la presente descripción proporciona un método para preparar el compuesto 2:



Compuesto 2

5 que comprende las etapas de:

combinar el compuesto 1:



Compuesto 1

con un disolvente adecuado y opcionalmente calentar para formar una disolución del mismo;

10 añadir uno o dos equivalentes de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico a la disolución; y

opcionalmente aislar el compuesto 2.

15 Como se ha descrito en general antes, el compuesto 1 se disuelve o suspende en un disolvente adecuado, opcionalmente con calentamiento. En algunas realizaciones, el compuesto 1 se disuelve de aproximadamente 20 a aproximadamente 60°C. En otras realizaciones, el compuesto 1 se disuelve de aproximadamente 20 a aproximadamente 25°C, tal como a aproximadamente temperatura ambiente. En otras realizaciones más, el compuesto 1 se disuelve a la temperatura de ebullición del disolvente. En otras realizaciones, el compuesto 1 se disuelve sin calentamiento.

20 En algunas realizaciones, se añade aproximadamente 1 equivalente de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico al compuesto 1 para proporcionar el compuesto 2. En otras realizaciones, se añaden aproximadamente 2 equivalentes de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico al compuesto 1 para dar el compuesto 2. En otras realizaciones más, se añaden más de 2 equivalentes de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico al compuesto 1 para dar el compuesto 2. En otras realizaciones más, se añaden de aproximadamente 0,9 a aproximadamente 1,1 equivalentes de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico al compuesto 1 para dar el compuesto 2. En otra realización, se añaden de aproximadamente 0,99 a aproximadamente 1,01 equivalentes de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico,

ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico, al compuesto 1 para dar el compuesto 2. En realizaciones adicionales, se añaden de aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2 equivalentes, tal como de aproximadamente 1,98 a 2,02 equivalentes, de ácido benzenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico al compuesto 1 para dar el compuesto 2.

Se apreciará que el ácido se puede añadir a la mezcla del compuesto 1 en un disolvente adecuado en cualquier forma adecuada. Por ejemplo, el ácido se puede añadir en forma sólida o como una disolución o una suspensión en un disolvente adecuado. El disolvente adecuado puede ser el mismo disolvente adecuado que el que se combina con el compuesto 1 o puede ser un disolvente diferente. De acuerdo con una realización, el ácido se añade en forma sólida. En algunas realizaciones, el ácido se combina con un disolvente adecuado antes de añadir el compuesto 1. De acuerdo con otras realizaciones, el ácido se añade como una disolución en un disolvente adecuado. En algunas realizaciones, los disolventes adecuados incluyen agua, un éter, un éster, un alcohol, un disolvente halogenado, una cetona, o mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es metanol, etanol, isopropanol, acetato de etilo, acetato de isopropilo, metil-etil-cetona, metil-isobutil-cetona o acetona. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es diclorometano. En otras realizaciones, los disolventes incluyen tetrahidrofurano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, glima, diglima, éter de metilo y butilo, t-butanol, n-butanol, y acetonitrilo. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado es ciclohexano. En algunas realizaciones, el disolvente adecuado se selecciona de los anteriores y es anhidro.

En algunas realizaciones, la mezcla resultante que contiene el compuesto 2 se enfría. En otras realizaciones, la mezcla que contiene el compuesto 2 se enfría por debajo de 20°C, tal como por debajo de 10°C.

En algunas realizaciones, compuesto 2 precipita de la mezcla. En otra realización, el compuesto 2 cristaliza en la mezcla. En otras realizaciones, el compuesto 2 cristaliza en la disolución después de sembrar la disolución (es decir, añadir cristales del compuesto 2 a la disolución).

El compuesto 2 cristalino puede precipitar en la mezcla de reacción, o se puede generar eliminando una parte o todo el disolvente mediante métodos tales como evaporación, destilación, filtración (p. ej., nanofiltración, ultrafiltración), ósmosis inversa, absorción y reacción, añadiendo un antidisolvente tal como agua, MTBE o heptano, enfriando o mediante combinaciones diferentes de estos métodos.

Como se ha descrito antes en general, el compuesto 2 opcionalmente se aísla. Se apreciará que el compuesto 2 se puede aislar por cualquier medio físico conocido para el experto en la técnica. En algunas realizaciones, el compuesto 2 sólido precipitado se separa del líquido sobrenadante por filtración. En otras realizaciones, el compuesto 2 sólido precipitado se separa del líquido sobrenadante por decantación del líquido sobrenadante.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 sólido precipitado se separa del líquido sobrenadante por filtración.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 aislado se seca al aire. En otras realizaciones, el compuesto 2 aislado se seca a presión reducida, opcionalmente a temperatura elevada.

Usos, formulación y administración

Composiciones farmacéuticamente aceptables

De acuerdo con otra realización, la invención proporciona una composición que comprende el compuesto 2 y un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. La cantidad de compuesto 2 en las composiciones de esta invención es tal que es eficaz para inhibir de forma medible una proteína quinasa, en particular una quinasa EGFR, o un mutante de la misma, en una muestra biológica o en un paciente. En algunas realizaciones, una composición de la invención se formula para la administración a un paciente que necesite dicha composición. En algunas realizaciones, una composición de esta invención se formula para la administración oral a un paciente.

El término "paciente" como se usa en la presente memoria, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

La expresión "excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente, adyuvante o vehículo no tóxico, que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Los excipientes, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de alúmina, lecitina, proteínas de suero, tales como albúmina de suero humano, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tal como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, succinato de vitamina E y polietilenglicol (succinato de d-alfa-tocoferilo y polietilenglicol 1000), carboximetilcelulosa, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polioxiopropileno, gelatina,

polivinilpirrolidona-acetato de vinilo, hidroxipropilmetilcelulosa, estearato de magnesio, ácido esteárico, ácido cítrico, manitol y grasa de lana.

5 Las composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, por pulverización de inhalación, vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en la presente memoria incluye la inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa. Las formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosas. Estas suspensiones se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas en la materia, usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden usar están el agua, disolución de Ringer y disolución de cloruro sódico isotónica. Además, se usan de forma convencional aceites fijos, estériles, como un disolvente o medio de suspensión.

15 Para este fin, se puede usar cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados glicéridos son útiles en la preparación de productos inyectables, como lo son los aceites farmacéuticamente aceptables naturales, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, en especial sus versiones polioxietiladas. Estas disoluciones o suspensiones en aceite también pueden contener un diluyente o dispersante alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se usan habitualmente en la formulación de formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables, incluyendo emulsiones y suspensiones. También se pueden usar otros tensioactivos habitualmente usados, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan habitualmente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras farmacéuticamente aceptables, para los fines de la formulación.

20 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar por vía oral en cualquier forma farmacéutica aceptable por vía oral incluyendo, pero no limitado a cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosa o no acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los excipientes usados habitualmente incluyen lactosa y almidón de maíz. También están incluidos típicamente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsulas, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo típicamente se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir algunos agentes edulcorantes, de sabor o colorantes.

25 Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar en forma de supositorios para administración rectal. Estos se pueden preparar mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

30 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también se pueden administrar por vía tópica, en especial cuando el objetivo del tratamiento incluye zonas u órganos fácilmente accesibles por aplicación tópica, incluyendo enfermedades del ojo, la piel o el tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior se puede realizar en una formulación de supositorio rectal (véase antes) o en una formulación de enema adecuada. También se pueden usar parches transdérmicos tópicos.

35 Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas también se pueden formular en una pomada adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más excipientes. Los excipientes para administración tópica del compuesto 2 incluyen, pero no se limitan a aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas se pueden formular en una loción o crema adecuada que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres de cetilo, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

40 Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas se pueden formular como suspensiones micronizadas en disolución salina estéril de pH ajustado, isotónica, o preferiblemente como disoluciones en disolución salina estéril de pH ajustado, isotónica con o sin un conservante tal como cloruro de benzalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en una pomada tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también se pueden administrar mediante aerosol nasal o por inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y se pueden preparar como disoluciones en disolución salina, usando alcohol bencílico y otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se formulan para administración oral.

La cantidad del compuesto 2 que se puede combinar con los materiales excipientes para producir una composición en una sola forma farmacéutica dependerá del hospedante tratado, el modo de administración particular. En algunas realizaciones, las composiciones proporcionadas se formulan de modo que se puede administrar una dosis entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del compuesto 2 a un paciente que recibe estas composiciones.

Debe entenderse que una dosis y régimen de tratamiento específicos para cualquier paciente particular dependerán de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico usado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, y criterio del médico que trata y la gravedad de la enfermedad particular que se está tratando.

Usos de compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables

El compuesto 2 y las composiciones descritas en la presente memoria en general son útiles para la inhibición de la actividad de proteína quinasa de una o más enzimas. Los ejemplos de quinasa que son inhibidas por el compuesto 2 y composiciones descritas en la presente memoria y contra las cuales son útiles los compuestos descritos en la presente memoria incluyen quinasa EGFR o un mutante de la misma. Se ha encontrado que el compuesto 2 es un inhibidor selectivo de al menos una mutación de EGFR, en comparación con el EGFR de tipo natural ("WT"). En algunas realizaciones, al menos una mutación de EGFR es T790M. En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es una mutación activante. En algunas realizaciones, el compuesto 2 inhibe selectivamente al menos una mutación de resistencia y al menos una mutación activante en comparación con EGFR WT. El compuesto 2 inhibe selectivamente al menos una mutación de eliminación y/o al menos una mutación puntual, y es moderado en cuanto a la inhibición de EGFR WT.

Una mutación de EGFR se puede seleccionar de T790M (resistente u oncogénico), L858R (activante), delE746-A750 (activante), G719S (activante), o una combinación de las mismas.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "inhibe selectivamente", usada en comparación con inhibición de EGFR WT, significa que el compuesto 2 inhibe al menos una mutación de EGFR (es decir, al menos una mutación de eliminación, al menos una mutación activante, al menos una mutación de resistencia, o una combinación de al menos una mutación de eliminación y al menos una mutación puntual) en al menos un ensayo descrito en la presente memoria (p. ej., bioquímico o celular). En algunas realizaciones, la expresión "inhibe selectivamente", usado en comparación con inhibición de EGFR WT significa que el compuesto 2 es al menos 50 veces más potente, al menos 45 veces, al menos 40, al menos 35, al menos 30, al menos 25 o al menos 20 veces más potente como un inhibidor de al menos una mutación de EGFR, como se define y describe en la presente memoria, en comparación con el EGFR WT.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "moderado respecto al EGFR WT" significa que un inhibidor selectivo de al menos una mutación de EGFR, como se ha definido y descrito antes y en la presente memoria, inhibe el EGFR en el límite superior de detección de al menos un ensayo, tal como los descritos en la solicitud 061 (p. ej., bioquímico o celular como se describe en detalle en los ejemplos 56-58). Los ensayos in vitro incluyen ensayos que determinan la inhibición de la actividad de fosforilación y/o las posteriores consecuencias funcionales, o actividad de ATPasa del EGFR activado (WT o mutante). Los ensayos in vitro alternados cuantifican la capacidad del inhibidor para unirse al EGFR (WT o mutante). La unión inhibidora se puede medir por radiomarcaje del inhibidor antes de la unión, aislando el complejo de inhibidor/EGFR (WT o mutante) y determinando la cantidad de radiomarcador unido. Alternativamente, la unión del inhibidor se puede determinar realizando un experimento de competición donde se incuban nuevos inhibidores con el EGFR (WT o mutante) unidos a radioligandos conocidos. En algunas realizaciones, la expresión "moderado respeto al EGFR WT" significa que el compuesto 2 inhibe el EGFR WT con una  $CI_{50}$  de al menos 10  $\mu M$ , al menos 9  $\mu M$ , al menos 8  $\mu M$ , al menos 7  $\mu M$ , al menos 6  $\mu M$ , al menos 5  $\mu M$ , al menos 3  $\mu M$ , al menos 2  $\mu M$ , o al menos 1  $\mu M$ .

En algunas realizaciones, el compuesto 2 inhibe selectivamente (a) al menos una mutación activante; y (b) T790M; y (c) es moderado con respecto al WT. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S.

En algunas realizaciones, la al menos una mutación de EGFR es L858R y/o T790M.

Sin querer estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que la administración del compuesto 2 a un paciente que tiene al menos una mutación activante puede evitar la formación de la mutación de resistencia T790M. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona los compuestos reivindicados para usar en la inhibición de una mutación activante en un paciente, que comprende administrar al paciente el compuesto 2 o composición del mismo, como se describe en la presente memoria.

Un experto en la técnica apreciará que algunos pacientes tienen una forma oncogénica de la mutación T790M, es decir, la mutación T790M está presente antes de la administración de cualquier inhibidor de quinasa EGFR a un paciente y por lo tanto es oncogénica. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de T790M oncogénica en un paciente, que comprende administrar al paciente un compuesto proporcionado o composición del mismo, como se describe en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto 2 en una composición es eficaz para inhibir de forma medible al menos un mutante de EGFR selectivamente en comparación con EGFR WT y otras proteínas quinasas (p. ej., ErbB2, ErbB4, una TEC-quinasa, y/o JAK3), en una muestra biológica o en un paciente.

Como se usa en la presente memoria, los términos "tratamiento", "trata" y "tratar" se refieren a invertir, aliviar, retrasar el inicio de, o inhibir el avance de una enfermedad o trastorno, o uno o más de sus síntomas, como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el tratamiento se puede administrar después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otras realizaciones, el tratamiento se puede administrar en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento se puede administrar a un individuo susceptible antes del inicio de los síntomas (p. ej., a la luz de una historia de síntomas y/o a la luz de factores genéticos u otros factores de susceptibilidad). El tratamiento también se puede continuar después de que se hayan resuelto los síntomas, por ejemplo, para prevenir o retrasar su reaparición.

El compuesto 2 es un inhibidor de al menos un mutante de EGFR y por lo tanto es útil para el tratamiento de uno o más trastornos asociados con la actividad de uno o más mutantes de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia, o sus combinaciones). Por lo tanto, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en el tratamiento de un trastorno mediado por el EGFR mutante que comprende la etapa de administrar a un paciente que lo necesite el compuesto 2 o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se usa en la presente memoria, la expresión trastornos o afecciones "mediadas por EGFR mutante" como se usa en la presente memoria, significa cualquier enfermedad u otra afección perjudicial en la que se sabe que tiene una función al menos un mutante de EGFR. En algunas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es T790M. En algunas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es una mutación activante. En algunas realizaciones, el al menos un mutante de EGFR es L858R y/o T790M. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado inhibe selectivamente (a) al menos una mutación activante; y (b) T790M, y (c) es moderado con respecto al WT. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, una al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S.

Por consiguiente, otra realización de la presente invención se refiere a los compuestos reivindicados para usar en la reducción de la gravedad de una o más enfermedades en las que se sabe que tiene una función al menos un mutante de EGFR. Específicamente, la presente invención se refiere a compuestos para usar en el tratamiento o la reducción de la gravedad de una enfermedad o afección seleccionada de un trastorno proliferativo.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en el tratamiento o la reducción de la gravedad de uno o más trastornos seleccionados de un cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer está asociado con un tumor sólido. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de vejiga, o cáncer de pulmón de células no pequeñas. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en el tratamiento o la reducción de la gravedad de uno o más trastornos seleccionados de carcinoma de células escamosas, carcinoma de glándula salivar, carcinoma de ovario o cáncer pancreático.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en el tratamiento o la reducción de la gravedad de neurofibromatosis tipo I (NF1), neurofibromatosis tipo II (NF2) neoplasia de células de Schwann (p. ej. MPNST), o Schwannomas.

El compuesto 2 y composiciones del mismo se pueden administrar usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o reducir la gravedad de un cáncer. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente particular, su modo de administración, y similares. El compuesto 2 se formula preferiblemente en forma farmacéutica unitaria para facilidad de administración y uniformidad de la dosis. La expresión "forma farmacéutica unitaria" como se usa en la presente memoria se refiere a una unidad físicamente discreta de agente adecuada para el paciente

que se va a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención, las decidirá el médico encargado dentro del criterio médico razonable. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico usado; la composición específica usada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, ruta de administración y tasa de excreción del compuesto específico usado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto específico usado, y factores similares bien conocidos en la técnica médica. El término "paciente" como se usa en la presente memoria, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como en forma de polvos, pomadas o gotas), bucal, como una pulverización oral o nasal, similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando. En algunas realizaciones, el compuesto 2 se puede administrar por vía oral o parenteral con niveles de dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 60 mg/kg, o de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, o de aproximadamente 0,25 mg/kg a aproximadamente 45 mg/kg y preferiblemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen, pero no se limitan a emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del compuesto 2, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, polietilenglicol (p. ej., PEG 200, PEG 400, PEG 1000, PEG 2000), propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurfurilo, succinato de vitamina E y polietilenglicol (succinato de d-alfa tocoferilo y polietilenglicol 1000), polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos y sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, saborizantes y agentes perfumantes. Las formas líquidas anteriores también se pueden cargar en una cápsula blanda o dura para formar una forma farmacéutica sólida. Las cápsulas adecuadas se pueden formar, por ejemplo, de gelatina, almidón y derivados de celulosa (p. ej., hidroxilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa).

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables se pueden formular de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden usar están el agua, disolución de Ringer, disolución de cloruro sódico isotónica y U.S.P. Además, se usan de forma convencional aceites fijos, estériles, como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede usar cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de composiciones inyectables.

Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que retiene bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril y otro medio inyectable estéril antes de usar.

Con el fin de prolongar el efecto del compuesto 2 de la presente invención, a menudo es conveniente ralentizar la absorción del compuesto de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede llevar a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La tasa de absorción del compuesto depende de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y forma cristalina. Alternativamente, la absorción retrasada de una forma de compuesto administrada por vía parenteral se lleva a cabo disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo de aceite. Las formas de depósito inyectables se hacen formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poglicólido. Dependiendo de la relación de compuesto a polímero y la naturaleza del polímero particular usado, se puede controlar la tasa de compuesto liberado. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios, que se pueden preparar mezclando el compuesto 2 de esta invención con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorios, que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y por lo tanto se funden en el recto o cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Las formas farmacéuticas sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto 2 se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio, Avicel, hidroxipropilcelulosa o fosfato dicálcico y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, acetato de vinilo PVP y goma arábica, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, algunos silicatos, croscarmelosa sódica y carbonato sódico, e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril-sulfato de sodio, j) agentes solubilizantes tales como succinato de vitamina E y polietilenglicol (succinato de d-alfa tocoferilo y polietilenglicol 1000), ácido estérico y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender también agentes de tamponamiento.

También se pueden usar composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas cargadas duras y blandas usando excipientes tales como lactosa o sacarosa así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser una composición que libera el o los principios activos solo, o de forma preferencial, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una forma retardada. Los ejemplos de composiciones de inserción que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. También se pueden usar composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas cargadas duras y blandas usando excipientes tales como lactosa o sacarosa así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

El compuesto 2 también puede estar en una forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado antes. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos cosméticos, revestimientos entéricos, revestimientos de liberación controlada y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas farmacéuticas el compuesto activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte tal como un polímero, sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas pueden comprender también, como en la práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, p. ej., lubricantes para la formación de comprimidos y otros auxiliares para la formación de comprimidos tales como estearato magnésico y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas pueden comprender también agentes de tamponamiento. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser una composición que libera el o los principios activos solo, o de forma preferencial, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una forma retardada. Los ejemplos de composiciones de inserción que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica del compuesto 2 incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, disoluciones, pulverizadores, inhaladores o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un excipiente farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampones necesarios que pueda requerirse. La formulación oftálmica, gotas para los oídos y colirios también están contemplados como dentro del alcance de esta invención. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tiene la ventaja añadida de proporcionar suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Dichas formas farmacéuticas se pueden hacer disolviendo o dispersando el compuesto en el medio adecuado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad se puede controlar proporcionando una membrana controladora de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

De acuerdo con una realización, la descripción se refiere a un método de inhibición de la actividad de proteína quinasa en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicha muestra biológica con el compuesto 2 o una composición que comprende dicho compuesto.

De acuerdo con otra realización, la descripción se refiere a un método para inhibir la actividad de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicha muestra biológica con el compuesto 2 o una composición que comprende el compuesto. En algunas realizaciones, la invención se refiere a un método para inhibir de forma irreversible la actividad de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicha muestra biológica con el compuesto 2 o una composición que comprende el compuesto.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 inhibe selectivamente en una muestra biológica (a) al menos una mutación activante, (b) T790M, y (c) es moderado con respecto al WT. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una

mutación puntual. En algunas realizaciones, una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, una mutación activante es G719S.

La expresión "muestra biológica" como se usa en la presente memoria incluye, sin limitación, cultivos celulares o sus extractos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

La inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en una muestra biológica es útil para una variedad de fines que son conocidos para el experto en la técnica. Los ejemplos de dichos propósitos incluyen, pero no se limitan a transfusión de sangre, trasplante de órganos, almacenamiento de muestra biológica y ensayos biológicos.

Otra realización de la presente invención se refiere a los compuestos reivindicados para usar en la inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en un paciente que comprende la etapa de administrar al paciente el compuesto 2 o una composición que comprende el compuesto. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de (a) al menos una mutación activante, y (b) T790M en un paciente, y (c) son moderados con respecto a WT, en donde el método comprende administrar al paciente el compuesto 2 o composición del mismo. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante es una mutación puntual. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de al menos un mutante de EGFR en un paciente, en donde una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de al menos un mutante de EGFR en un paciente, en donde una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de al menos un mutante de EGFR en un paciente, en donde una mutación activante es G719S.

De acuerdo con otra realización, la presente invención se refiere a un método de inhibición de la actividad de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en un paciente que comprende la etapa de administrar al paciente el compuesto 2 o una composición que comprende el compuesto. De acuerdo con algunas realizaciones, la invención se refiere a un método de inhibición de forma irreversible de la actividad de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en un paciente que comprende la etapa de administrar a dicho paciente el compuesto 2 o una composición que comprende el compuesto. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de forma irreversible de (a) al menos una mutación activante, y (b) T790M en un paciente, y (c) son moderados con respecto a WT, en donde dicho método comprende administrar al paciente el compuesto 2 o composición del mismo. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante inhibida de forma irreversible es una mutación de eliminación. En algunas realizaciones, la al menos una mutación activante inhibida de forma irreversible es una mutación puntual. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de forma irreversible de al menos un mutante de EGFR en un paciente, en donde una mutación activante es delE746-A750. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de forma irreversible de al menos un mutante de EGFR en un paciente, en donde una mutación activante es L858R. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en la inhibición de forma irreversible de al menos un mutante de EGFR en un paciente, en donde una mutación activante es G719S.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en el tratamiento de un trastorno mediado por uno o más de al menos un mutante de EGFR (p. ej., una mutación de eliminación, una mutación activante, una mutación de resistencia o combinaciones de las mismas) en un paciente que lo necesite que comprende la etapa de administrar a dicho paciente el compuesto 2 o una composición del mismo farmacéuticamente aceptable. Dichos trastornos se describen con detalle en la presente memoria.

Dependiendo de la afección, o enfermedad, particular que se va a tratar, también pueden estar presentes agentes terapéuticos adicionales, que normalmente se administran para tratar esa afección, en las composiciones de esta invención o como parte de un régimen de tratamiento que incluye el compuesto 2. Como se usa en la presente memoria, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar una enfermedad, o afección, particular, se conocen como "adecuados para la enfermedad o afección que se va a tratar".

Por ejemplo, el compuesto 2 o una composición farmacéuticamente aceptable de la misma se usa en combinación con agentes quimioterapéuticos para tratar enfermedades proliferativas y cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos conocidos incluyen, pero no se limitan a adriamicina, dexametasona, vincristina, ciclofosfamida, fluorouracilo, topotecán, taxol, interferones, derivados de platino, taxano (p. ej., paclitaxel), alcaloides de la vinca (p. ej., vinblastina), antraciclina (p. ej., doxorubicina), epipodofilotoxinas (p. ej., etopósido), cisplatino, un inhibidor de mTOR (p. ej., rapamicina), metotrexato, actinomicina D, dolastatina 10, colchicina, emetina, trimetrexato, metoprina, ciclosporina, daunorubicina, tenipósido, anfotericina, agentes alquilantes (p. ej., clorambucilo), 5-



flourouracilo, camptotecina, cisplatino, metronidazol, y Gleevec™, entre otros. En otras realizaciones, el compuesto 2 se usa en combinación con un agente biológico, tal como avastina o VECTIBIX.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo se usa en combinación con un agente antiproliferativo o quimioterapéutico seleccionado de uno cualquiera o más de abarelix, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, amifostina, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa, azacitidina, BCG Live, bevacuzimab, fluorouracilo, bexaroteno, bleomicina, bortezomib, busulfano, calusterona, capecitabina, camptotecina, carboplatino, carmustina, celecoxib, cetuximab, clorambucilo, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, dactinomicina, darbeopetina alfa, daunorubicina, denileukina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina (neutral), hidrocloreuro de doxorubicina, dromostanolona propionato, epirubicina, epoetina alfa, erlotinib, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, filgrastim, floxuridina fludarabina, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, acetato de goserelina, acetato de histrelina, hidroxurea, ibritumomab, idarubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, irinotecán, lenalidomida, letrozol, leucovorina, acetato de leuprolida, levamisol, lomustina, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, 6-MP, mesna, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, nandrolona, nelarabina, nofetumomab, oprelvekin, oxaliplatino, paclitaxel, palifermina, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, pegfilgrastim, pemetrexed disódico, pentostatina, pipobroman, plicamicina, porfimer sódico, procarbazona, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sargramostim, sorafenib, estreptozocina, sunitinib maleate, talc, tamoxifen, temozolomide, teniposide, VM-26, testolactone, tioguanina, 6-TG, tiotepá, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, ATRA, mostaza de uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, zoledronato, o ácido zoledrónico

Otros ejemplos de agentes con los que se pueden combinar los inhibidores de esta invención incluyen, sin limitación: tratamientos para la enfermedad de Alzheimer como el hidrocloreuro de donepezilo (Aricept®) y rivastigmina (Exelon®); tratamientos para la enfermedad de Parkinson tales como L-DOPA / carbidopa, entacapona, ropinrol, pramipexol, bromocriptina, pergolida, trihexefendilo y amantadina; agentes para tratar la esclerosis múltiple (EM), tales como el interferón beta (p. ej., Avonex® y Rebif®), acetato de glatiramer (Copaxone®) y mitoxantrona; tratamientos para el asma, como albuterol y montelukast (Singulair®); agentes para tratar la esquizofrenia tales como zyprexa, risperdal, seroquel y haloperidol; agentes antiinflamatorios tales como corticosteroides, bloqueadores de TNF, IL-1 RA, azatioprina, ciclofosfamida y sulfasalazina; agentes inmunomoduladores e inmunosupresores tales como ciclosporina, tacrolimus, rapamicina, micofenolato de mofetilo, interferones, corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina y sulfasalazina; factores neurotróficos tales como inhibidores de la acetilcolinesterasa, inhibidores de la MAO, interferones, anticonvulsivos, bloqueadores de los canales iónicos, riluzol y agentes antiparkinsonianos; agentes para tratar enfermedades cardiovasculares tales como bloqueadores beta, inhibidores de la ACE, diuréticos, nitratos, bloqueadores de canales de calcio y estatinas; agentes para el tratamiento de enfermedades hepáticas tales como corticosteroides, colestiramina, interferones y agentes antivirales; agentes para tratar trastornos de la sangre, tales como corticosteroides, agentes anti-leucémicos y factores de crecimiento; y agentes para tratar trastornos de inmunodeficiencia tales como gamma globulina.

En algunas realizaciones, el compuesto 2 o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo se usa en combinación con un anticuerpo monoclonal o un producto terapéutico ARNip.

Los agentes adicionales se pueden usar por separado de la composición que contiene el compuesto 2, como parte de un régimen de dosificación múltiple. Alternativamente, esos agentes pueden ser parte de una forma farmacéutica individual, mezclados junto con el compuesto 2 en una composición individual. Si se usa como parte de un régimen de dosificación múltiple, los dos agentes activos se pueden presentar simultáneamente, secuencialmente o en un periodo de tiempo uno del otro (p. ej., una hora, dos horas, seis horas, doce horas, un día, una semana, dos semanas, un mes).

Como se usa en la presente memoria, los términos "combinación", "combinado" y términos relacionados se refieren a la administración simultánea o secuencial de agentes terapéuticos de acuerdo con esta invención. Por ejemplo, el compuesto 2 se puede usar con otro agente terapéutico simultánea o secuencialmente en formas farmacéuticas unitarias separadas o juntos en una sola forma farmacéutica unitaria. Por consiguiente, la presente invención proporciona una sola forma farmacéutica unitaria que comprende el compuesto 2, un agente terapéutico adicional y un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La cantidad del compuesto 2 y agente terapéutico (en aquellas composiciones que comprenden un agente terapéutico adicional como se ha descrito antes) que se puede combinar con los materiales excipientes para producir una sola forma farmacéutica dependerá del hospedante tratado y el modo de administración particular. Preferiblemente, las composiciones de esta invención se deben formular de modo que se pueda usar una dosis de entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del compuesto 2.

En aquellas composiciones que incluyen un agente terapéutico adicional, este agente terapéutico adicional y el compuesto 2 pueden actuar de forma sinérgica. Por lo tanto, la cantidad del agente terapéutico adicional en dichas composiciones puede ser menos que la requerida en una monoterapia usando solo ese agente terapéutico. En dichas composiciones, se puede usar una dosis entre 0,01 - 1.000 µg/kg de peso corporal/día del agente terapéutico adicional.

La cantidad del agente terapéutico adicional presente en las composiciones de esta invención no será más que la cantidad que normalmente se usaría en una composición que comprende ese agente terapéutico como el único agente activo. Preferiblemente, la cantidad de agente terapéutico adicional en las composiciones presentes descritas estará en el intervalo de aproximadamente 50% a 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprende ese agente como el único agente terapéuticamente activo.

El compuesto 2 o composiciones farmacéuticas del mismo también se pueden incorporar en composiciones para recubrimiento de un dispositivo médico implantable, tales como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, endoprótesis vasculares y catéteres. Las endoprótesis vasculares, por ejemplo, se han usado para superar la reestenosis (reestrechamiento de la pared del vaso después de lesión). Sin embargo, los pacientes que usan endoprótesis vasculares u otros dispositivos implantables tienen riesgo de formación de coágulo o activación de plaquetas. Estos efectos indeseados se pueden prevenir o mitigar mediante pre-recubrimiento del dispositivo con una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un inhibidor de quinasas. Los dispositivos implantables recubiertos con el compuesto 2 son otra realización de la presente invención.

Todas las características de cada uno de los aspectos de la invención se aplican a todos los demás aspectos haciendo los cambios necesarios.

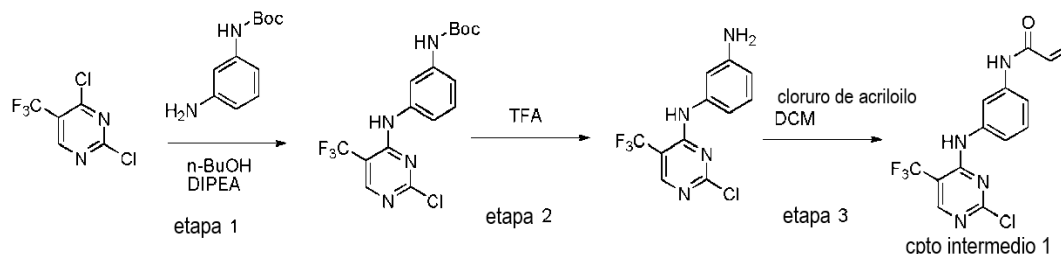
Con el fin de que la invención descrita en la presente memoria se pueda entender de forma más completa, se exponen los siguientes ejemplos. Debe entenderse que estos ejemplos tienen solo fines ilustrativos y no deben considerarse como limitantes de esta invención de ninguna forma.

### Ejemplos

Como se representa en los siguientes ejemplos, en algunas realizaciones de ejemplo, los compuestos se preparan de acuerdo con los siguientes procedimientos generales. Se apreciará que, aunque los métodos generales representan la síntesis de determinados compuestos de la presente invención, los siguientes métodos generales y otros métodos conocidos para el experto en la técnica, se pueden aplicar a todos los compuestos y subclases y especies de cada uno de estos compuestos, como se describe en la presente memoria.

#### Preparación del compuesto 1

La síntesis del compuesto 1 se describe con detalle en el ejemplo 3 de la solicitud 061.



#### Etapa 1:

En un matraz de fondo redondo de 3 bocas, de 25 ml, previamente equipado con un agitador magnético, adaptador de termómetro y tubo protector de  $\text{CaCl}_2$ , se cargaron N-Boc-1,3-diaminobenceno (0,96 g) y n-butanol (9,00 ml). La mezcla de reacción se enfrió a  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió 2,4-dicloro-5-trifluorometilpirimidina (1,0 g) gota a gota a la mezcla de reacción a  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió gota a gota diisopropiletilamina (DIPEA) (0,96 ml) a la mezcla de reacción anterior a  $0^\circ\text{C}$  y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h de  $0^\circ\text{C}$  a  $5^\circ\text{C}$ . Finalmente, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante otras 4 h a temperatura ambiente. La terminación de la reacción se siguió por TLC usando hexano:acetato de etilo (7:3). El sólido precipitado se separó por filtración y se lavó con 1-butanol (2 ml). El sólido se secó a presión reducida a  $40^\circ\text{C}$  durante 1 h. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1,48 (S, 9 H), 7,02 (m, 1 H), 7,26 (m, 2 H), 7,58 (S, 1 H), 8,57 (S, 1 H), 9,48 (S, 1 H), 9,55 (S, 1 H).

#### Etapa 2:

Al producto bruto anterior (3,1 g) en diclorometano (DCM) (25 ml) se añadió ácido trifluoroacético (TFA) (12,4 ml) lentamente a  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante otros 10 min a temperatura ambiente. El producto bruto se concentró a presión reducida.

#### Etapa 3:

El producto bruto se disolvió en DIPEA (2,0 ml) y diclorometano (25 ml) y después se enfrió a  $-30^\circ\text{C}$ . Se añadió a la mezcla de reacción lentamente cloruro de acrililo (0,76 g) a  $-30^\circ\text{C}$ . La masa de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1,0 h. La reacción se siguió por TLC usando hexano:acetato de

etilo (7:3) como fase móvil. La reacción se había completado después de 1 h. La etapa 3 dio el producto intermedio 1.

#### Etapa 4:

5 Para obtener una sal del compuesto 1, una mezcla del compuesto intermedio 1 (16 mg) y 2-metoxi-4-(4-acetilpiperazinil)anilina en dioxano (1,0 ml) con ácido trifluoroacético se agitó durante la noche a 50°C. El producto bruto se concentró a presión reducida y se purificó usando HPLC (modificador TFA) para dar el compuesto 1 en forma de una sal de TFA. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10,2 (S, 1 H), 8,2 (ancho, 1 H), 8,30 (S, 1 H), 7,73 (ancho, 1 H), 7,52 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,45 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,26 (J = 8,2 Hz, 1 H), 7,14 (be, 1 H), 6,60 (S, 1 H), 6,42 (dd, J = 11,4, 16,9 Hz, 1 H), 6,24 (d, J = 16,9 Hz, 1 H), 5,75 (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 3,76 (S, 3 H), 3,04 (ancho, 4 H), 2,04 (S, 3 H); masa calculada para C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>: 555,2, encontrada: 556,2 (M+H<sup>+</sup>).

#### Etapa 5:

15 Para obtener la forma de base libre del compuesto 1 a partir de la sal de TFA, la sal se añadió al DCM y se enfrió a 0°C. Se añadió disolución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (9,6% en p/p) a 0°C. La mezcla se calentó a 20°C y se agitó durante 35 min. El pH de la capa acuosa era > 8. Se separaron las capas. La extracción de la fase acuosa se llevó a cabo usando DCM. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron con salmuera. La capa orgánica se recogió y evaporó para dar un sólido del compuesto 1.

#### Preparación general del compuesto 2

20 Para cada contraíón y sistema de disolvente, se suspendieron aproximadamente 25 o 50 mg de la base libre del compuesto 1 en 200-300 µl del disolvente asignado. Los disolventes incluían acetona, diclorometano, ciclohexano, acetato de etilo, metanol (metil-etil-cetona para contraíones que contienen ácido sulfónico), metil-isobutil-cetona, 2-propanol (acetato de isopropilo para contraíones que contienen ácido sulfónico), tetrahidrofurano y acetonitrilo:agua (90:10). El respectivo contraíón también se disolvió/suspendió en 200-300 µl del disolvente asignado. Los contraíones incluían ácido bencenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico y ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico. Se usó un equivalente de cada contraíón y se llevaron a cabo experimentos adicionales con dos equivalentes de ácido bencenosulfónico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido p-toluenosulfónico. Después la solución/suspensión de ácido se añadió a la suspensión del compuesto 1 en pequeñas partes alícuotas con el fin de minimizar el riesgo de degradación. Después se comprobó el pH de la reacción usando papel indicador universal.

30 Las mezclas del compuesto 1/contraíón/disolvente creadas usando el procedimiento anterior se sometieron a ciclos de temperatura entre aproximadamente 0°C y temperatura ambiente (aproximadamente 22°C) mientras se agitaba, en ciclos de 1 hora durante un período de 1-2 días. Durante la noche, las muestras se mantuvieron a aproximadamente 2-5°C. Las mezclas se comprobaron visualmente determinando cualquier signo obvio de degradación (es decir, cambios de color) y después, si visualmente no se habían degradado, se aisló cualquier sólido presente y se dejó secar en condiciones ambiente antes del análisis. Los sólidos representan el compuesto 2 aislado.

#### Procedimientos generales

40 La solubilidad de las potenciales sales se analizó usando un método de matraz con agitación por el cual se preparó una suspensión de cada sal en agua desionizada y el pH de la reacción se redujo por debajo de 2, añadiendo una pequeña cantidad del contraíón usado para la formación de la sal. El pH se analizó usando papel indicador universal. Después de aproximadamente 24 horas de agitación, las suspensiones se filtraron para determinar la solubilidad usando análisis por HPLC.

45 Difracción de rayos X de polvo. El análisis de difracción de rayos X de polvo (XRPD) se llevó a cabo en un Siemens D5000, con barrido de las muestras entre 3 y 30, 35 o 50° 2θ. Para muestras <100 mg, aproximadamente 5-10 mg de muestra se comprimieron suavemente sobre un portaobjetos de vidrio ajustado en el soporte de muestra. Para muestras >100 mg, aproximadamente 100 mg de muestra se comprimieron suavemente sobre un soporte de muestra de plástico, de modo que la superficie de la muestra fuera lisa y justo por encima del nivel del soporte de muestra. Las mediciones se hicieron usando las siguientes condiciones experimentales:

posición inicial	3,00° 2θ
posición final	30, 35 o 50° 2θ
tamaño de paso	0,02° 2θ
tiempo de etapa de barrido	1 s
tipo de barrido	continuo
offset	0° 2θ
tipo de rendija de divergencia	fija
tamaño de rendija de divergencia	2,0000 °
tamaño de rendija receptora	0,2 mm

temperatura	20°C
material del ánodo	cobre (Cu)
K-Alfa1	1,54060 Angstroms
K-Alfa2	1,54443 Angstroms
K-Beta	1,39225 Angstroms
Relación K-A2/K-A1	0,50000
Ajustes del generador	40 mA, 40 kV
radio del goniómetro	217,50

5 Microscopía de luz polarizada. En la microscopía de luz polarizada (PLM), la presencia de cristalinidad (birrefringencia) se determinó usando un microscopio de polarización Olympus BX50 equipado con una cámara Motic y software de captura de imágenes (Motic Images Plus 2,0). Todas las imágenes se registraron usando el objetivo 20x, salvo que se esponga otra cosa.

10 Análisis Termogravimétrico. Para el análisis termogravimétrico (TGA), se pesaron con precisión aproximadamente 5-10 mg de material en un crisol de aluminio abierto y se cargó en un analizador termogravimétrico/térmico diferencial simultáneo (TG/DTA) y se mantuvo a temperatura ambiente. Después la muestra se calentó a una velocidad de 10°C/min de 25°C a 300°C durante cuyo tiempo se registró el cambio en el peso de la muestra junto con cualesquiera eventos términos diferenciales (DTA). Se usó nitrógeno como el gas de purga, con un caudal de 100 cm<sup>3</sup>/min.

15 Calorimetría diferencial de barrido. Para la calorimetría diferencial de barrido (DSC), se pesaron aproximadamente 5-10 mg de material en un crisol de DSC de aluminio y se cerró de forma no hermética con una tapa de aluminio perforada. Después el crisol de muestra se cargó en un Seiko DSC6200 (equipado con un refrigerante) se enfrió y se mantuvo a 25°C. Una vez que se obtuvo una respuesta de flujo de calor estable, la muestra y la referencia se calentaron a aproximadamente 260°C-280°C a una velocidad de barrido de 10°C/min y se vigiló la respuesta de flujo de calor resultante.

20 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear. Los experimentos de RMN <sup>1</sup>H se llevaron a cabo en un Bruker AV400 (frecuencia de <sup>1</sup>H: 400 MHz). Los experimentos de <sup>1</sup>H de cada muestra se llevaron a cabo en DMSO deuterado y cada muestra se preparó hasta aproximadamente 1 mg/ml de concentración.

25 Sorción de vapor dinámica. Para la sorción de vapor dinámica (DVS), se pusieron aproximadamente 10-20 mg de muestra en un crisol de balanza de sorción de vapor de malla metálica y se carga en una balanza de sorción de vapor dinámica DVS-1 por Surface Measurement Systems. La muestra se sometió a un perfil de aumento de 20-90% de humedad relativa (HR) en incrementos de 10%, manteniendo la muestra en cada etapa hasta lograr un peso estable (terminación de etapa 99,5%). Tras completarse el ciclo de sorción, la muestra se secó usando el mismo procedimiento, pero llevado a 0% de HR y finalmente se devolvió al punto de partida de 20% de HR. Se representó gráficamente el cambio de peso durante los ciclos de sorción/desorción, permitiendo determinar la naturaleza higroscópica de la muestra.

30 Espectroscopía de infrarrojo. La espectroscopía de infrarrojo (IR) se llevó a cabo en un espectrómetro Bruker ALPHA P. Se puso suficiente material sobre el centro de la placa del espectrómetro y se obtuvieron los espectros usando los siguientes parámetros.

resolución	4 cm <sup>-1</sup>
tiempo de barrido de fondo	16 barridos
tiempo de barrido de muestra	16 barridos
Recogida de datos	de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup>
espectro resultado	transmitancia
software	OPUS versión 6

35 Para la valoración coulométrica de Karl Fischer (KF), se pesaron con precisión 10-15 mg de material sólido en un vial. Después el sólido se introdujo manualmente en la celda de valoración de un dispositivo de valoración Mettler Toledo C30 Compact. El vial se volvió a pesar después de la adición del sólido y se introdujo en el instrumento el peso del sólido añadido. La valoración se inició una vez que la muestra se había disuelto totalmente en la celda. El contenido de agua lo calculó automáticamente el instrumento como un porcentaje y se imprimieron los datos.

Se llevó a cabo la cromatografía líquida de alto rendimiento con gradiente de fase inversa (HPLC) en un instrumento Agilent 1100 equipado con una columna C18, 3,0 x 100 mm x 3,5 µm. La longitud de onda de detección era 240 nm.

40 Se usó un baño de disolución Sotax AT7 (aparato USP 2, EP 2) para el estudio de disolución en el que se usaron palas para agitar el medio. Todos los ensayos se llevaron a cabo a 37°C y una velocidad de las palas de 100 rpm.

Ejemplo 1

Cribado primario de sales

Los resultados del cribado primario de sales, basados en la preparación general del compuesto 2, se muestran en la tabla 1. La tabla 1 indica el contraíón, el disolvente y la(s) forma(s) sólida(s) obtenida(s).

Tabla 1. Resultados del cribado primario de sales

Contraíón	Equivalentes de ácido	Disolvente								
		Acetona	Diclorometano	Ciclohexano	Acetato de etilo	Metanol o MEK	Metilisobutilcetona	2-Propanol (IPA) o Acetato de isopropilo	Tetrahidrofurano	Acetonitrilo: agua (10%)
2,4,6-Trihidroxibenzoico	1	CL	CL AL	CL AL	AM	S1	CL	CL	S2	S2
Ácido bencenosulfónico	1	S1	XR	CL	CL	S1 S2	S2	S2	S1 CL	XR
Ácido bencenosulfónico	2	S1	AM	CL	S1	S1	CL	CL	S1	S2
Ácido clorhídrico	1	AM	CL	CL	CL	CL	AM	CL	CL	S1
Ácido clorhídrico	2	AM	S1	CL	XR	S1 XR	S1 S2	S XR	AM	S1
Ácido maleico	1	XR	S1	CL AL	XR XR	S2	CL	CL	S3	S2 XR
Ácido metanosulfónico	2	S1	AM	CL	AM	S1	AM	AM	S1	AM
Ácido oxálico	1	S1	AM	CL AL	S1	S1	AM	AM	AM	S2
Ácido sulfúrico	1	GM	CL	CL	CL	AM	CL	AM	CL SP	AM
Ácido sulfúrico	2	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL
Ácido p-toluenosulfónico monohidrato	1	S1	S1	CL	S1	S1	S1	CL	S2	AM
Ácido p-toluenosulfónico monohidrato	2	S1	S1	CL	S1	S2	AM	AM	S2 XR	AM
Ácido 1,2-etano disulfónico deshidrato	1	AM	AM	CL	CL	S1	CL	CL	AM	S2
Ácido 1,2-etano disulfónico deshidrato	2	AM	AM	CL	AM	S1	CL	CL	AM	S2
Ácido bromhídrico	1	AM	S1	CL/S1	S1	S1(?)	S1	S1	S1	S1
Ácido bromhídrico	2	S1/XR	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S2	S1
Ácido naftaleno-2-sulfónico	1	S1	S1	CL	S1	S1	S1	S1	AM	S1
Ácido naftaleno-2-sulfónico	2	S1	S2	CL	AM	S2	XR	AM	S3	S4
Ácido 1,5-naftalenodisulfónico	1	AM	CL	CL	CL	XR	CL	CL	CL	S1
Ácido 1,5-naftalenodisulfónico	2	XR	AM	AL	AL/CL	AL/CL	XR	AL	AM	S1
Ácido canfor-10-sulfónico	1	S1	S1	CL	S1	S1	S1	S1	S1	S2
Ácido canfor-10-sulfónico	2	AM	AM	AL/CL	XR/S1	S1/XR	AM	CL	AM	AM

- 5 S1 = sal, forma polimórfica 1  
 S2 = sal, forma polimórfica 2  
 S3 = sal, forma polimórfica 3  
 S4 = sal, forma polimórfica 4  
 SP = sal, parcialmente cristalina  
 10 AL = ácido libre  
 CL = compuesto 1 libre  
 XR = patrón de XRPD diferente, pero solo algunos picos en el difractograma (indicando posiblemente degradación)  
 AM = amorfo  
 GM = sólido que se convierte rápidamente en goma después de aislarlo

15 Ejemplo 2

Cribado primario de sales

Para las potenciales sales obtenidas durante el cribado primario de sales en el ejemplo 1, las muestras se prepararon para estudios de estabilidad de 1 semana a 40°C/75% de HR (viales abiertos) y 80°C (viales abiertos). Se llevó a cabo el TGA después de los estudios de estabilidad para las muestras que contenían suficiente material.

## ES 2 698 298 T3

También se ensayó la solubilidad de las muestras en un medio acuoso (pH < 2). Los resultados de los estudios de estabilidad y solubilidad se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de estabilidad y solubilidad de potenciales sales obtenidas en el cribado primario de sales

Sal potencial	Forma	Solubilidad aproximada (mg/ml)	40°C/75% de HR (condiciones abiertas)	80°C (condiciones abiertas)
2,4,6-Trihidroxibenzoato	Forma I	Por debajo del LDC	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina
2,4,6-Trihidroxibenzoato	Forma II	Por debajo del LDC	No hay cambio de forma, pero mala cristalinidad	No hay cambio de forma, pero cristalinidad mala
Besilato (1 equiv.)	Forma I	0,047	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina
Besilato (1 equiv.)	Forma II	0,055	No hay cambio de forma, algo de disminución de la cristalinidad	No hay cambio de forma, algo de disminución de la cristalinidad
Besilato (2 equiv.)	Forma I	4,264	Sólido/goma presente. Cambio en la forma polimórfica (probablemente hidratada), pero cristalinidad mala.	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina. El TGA muestra pérdida de peso inicial de 1,95% probablemente debida a compuestos volátiles no unidos. No hay más pérdidas de peso antes de la probable degradación.
Besilato (2 equiv.)	Forma II	0,044	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina
Hidrocloruro (1 equiv.)	Forma I	0,400	No hay cambio de forma, parcialmente cristalina.	No hay cambio de forma, escasamente cristalina.
Hidrocloruro (2 equiv.)	Forma I	0,196	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina. El TGA muestra una pérdida de peso inicial de aprox. 2% debida a compuestos volátiles no unidos. Una pérdida de peso adicional de aprox. 8% a partir de aprox. 150°C, seguido directamente de pérdida de peso adicional probablemente debida a degradación. Probablemente hidratada o solvatada.	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina
Maleato	Forma I	0,168	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina. El TGA muestra una pérdida de peso de aprox. 11% a partir de aprox. 160°C. El contenido de DCM requerido para un solvato de mono-DCM es 11,23%.	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina.
Maleato	Forma II	0,271	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina. El TGA muestra una pérdida de peso inicial de 1,76% probablemente debido a compuestos volátiles no unidos. Se observa una pérdida de peso de aprox. 6,3% adicional a partir de aprox. 130°C, probablemente debida a disolvente/agua unido.	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina
Maleato	Forma III	0,251	No hay cambio de forma clara pero escasamente cristalina (marrón)	No hay cambio de forma clara pero escasamente cristalina (marrón)
Mesilato	Forma I	7,286	Goma formada	Sólido amorfo

ES 2 698 298 T3

Sal potencial	Forma	Solubilidad aproximada (mg/ml)	40°C/75% de HR (condiciones abiertas)	80°C (condiciones abiertas)
Oxalato	Forma I	0,158	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina. El TGA muestra una pérdida de peso de aprox. 14,4% asociada con una endoterma a aprox. 200°C.	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina.
Oxalato	Forma II	0,22	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina	Sólido marrón amorfo
Tosilato (1 equiv.)	Forma I	0,104	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina	No hay cambio de forma, parcialmente cristalina.
Tosilato (1 equiv.)	Forma II	0,422	Goma formada	Posible cambio de forma, parcialmente cristalina.
Tosilato (2 equiv.)	Forma I	0,089	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina	No hay cambio de forma, permanece predominantemente cristalina
Tosilato (2 equiv.)	Forma II	0,303	Goma formada	Posible cambio de forma, parcialmente cristalina.
ácido 1,2-etano-disulfónico (1 eq.)	Forma I	0,21	Perdida de cristalinidad significativa	Perdida de cristalinidad significativa
ácido 1,2-etano-disulfónico (1 eq.)	Forma II	0,62	No hay cambio de forma, pero algo de pérdida de cristalinidad	Perdida de cristalinidad significativa
ácido 1,2-etano-disulfónico (2 eq.)	Forma I	0,34	No hay cambio de forma, permanece parcialmente cristalina.	No hay cambio de forma, permanece parcialmente cristalina. El TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 6,28% que podría indicar potencial solvatación (8,4% necesario para 1 equiv. de MEK). No hay más pérdidas de peso antes de la degradación
ácido 1,2-etano-disulfónico (2 eq.)	Forma II	0,25	XRPD predominantemente similar al material de entrada.	XRPD predominantemente similar al material de entrada. Parcialmente cristalina. El TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 3,7% que podría indicar potencial hidratación o material higroscópico (el monohidrato tendría 2,23% de agua). No hay más pérdidas de peso antes de la degradación
HBr (1 eq.) (Forma I tanto para 1 como para 2 equiv. era la misma forma)	Forma I	1,27	No hay cambio de forma, ligera pérdida de cristalinidad	No hay cambio de forma. Ligera pérdida de cristalinidad. El TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 0,83% probablemente debida a compuestos volátiles no unidos. No hay más pérdidas de peso antes de la degradación
HBr (2 eq.)	Forma II	2,38	Cambio a forma I, escasamente cristalina.	Nueva forma potencial, pero escasamente cristalina.
Ácido naftaleno-2-sulfónico (1 eq.)	Forma I	0,34	No hay cambio de forma, pequeña pérdida de cristalinidad	No hay cambio de forma, pequeña pérdida de cristalinidad, el TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 1,86% probablemente debido a compuestos volátiles no unidos. No hay más pérdidas de peso antes de la degradación
Ácido naftaleno-2-sulfónico (2 eq.)	Forma I	0,87	No hay cambio de forma, cristalinidad mala.	No hay cambio de forma, cristalinidad mala.

ES 2 698 298 T3

Sal potencial	Forma	Solubilidad aproximada (mg/ml)	40°C/75% de HR (condiciones abiertas)	80°C (condiciones abiertas)
Ácido naftaleno-2-sulfónico (2 eq.)	Forma II	0,86	No hay cambio de forma, permanece parcialmente cristalina. El TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 0,71% probablemente debida a compuestos volátiles no unidos y una segunda pérdida de 1,61% asociada con la fusión (aprox. 138°C) que podría indicar algo de agua o disolvente unido (el monohidrato tendría 1,82% en peso de agua).	No hay cambio de forma, pero pérdida de cristalinidad.
Ácido naftaleno-2-sulfónico (2 eq.)	Forma III	0,74	Convertida a la forma II, pero parcialmente cristalina.	Convertida a la forma II, pero parcialmente cristalina. El TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 1,41% probablemente debido a compuestos volátiles no unidos y una segunda pérdida de 1,32% asociada con la fusión (aprox. 135°C). Podría indicar algo de agua o disolvente unido.
Ácido naftaleno-2-sulfónico (2 eq.)	Forma IV	0,76	Convertida a la forma II, pero escasamente cristalina.	Convertida a la forma II, pero escasamente cristalina.
Ácido 1,5-naftalenodisulfónico (1 eq.)	Forma I	Por debajo del LDC	No hay cambio de forma, permanece parcialmente cristalina. El TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 2,94% probablemente debida a compuestos volátiles no unidos y otra pérdida de 6,00%, que podría indicar potencial solvatación (el solvato de monoacetnitrilo tendría aprox. 4,29% en peso). No hay más pérdida de peso antes de la degradación.	Posible cambio de forma, pero escasamente cristalina.
Ácido 1,5-naftalenodisulfónico (2 eq.)	Forma I	Por debajo del LDC	No hay cambio de forma, pero pérdida de cristalinidad	Predominantemente amorfo.
Ácido canfor-10-sulfónico (1 eq.)	Forma I	1,05	No hay cambio de forma, pequeña pérdida de cristalinidad, el TGA mostraba una pérdida de peso inicial de 2,13% probablemente debida a compuestos volátiles no unidos. No hay más pérdida de peso antes de la degradación.	No hay cambio de forma, ligera pérdida de cristalinidad
Ácido canfor-10-sulfónico (1 eq.)	Forma II	0,58	Mezcla de la forma I y forma II. Algo de pérdida de cristalinidad. El TGA mostraba una pérdida de peso de 3,3% entre 25-120°C. Posible agua/disolvente unido y no unido presente. No hay más pérdidas de peso antes de la degradación	Convertida a la forma I, parcialmente cristalina.
Ácido canfor-10-sulfónico (2 eq.)	Forma I	0,89	Amorfa	Amorfa

A partir de estos resultados, se seleccionó la sal de bis-besilato para aumentar la escapa, usando acetona como disolvente. Además, se seleccionó la sal de hidrobromuro para aumentar de escala, usando acetnitrilo:agua (90:10) como disolvente. Las sales de monomaleato y bis-hidrocloruro también se seleccionaron para experimentos de aumento de escala para evaluar si estas están solvatadas/hidratadas.



## Ejemplo 3

## Cribado secundario de sal de bis-besilato

Se añadieron aproximadamente 5 ml de acetona a aproximadamente 800 mg de compuesto 1 para formar una suspensión. En un vial separado, se añadieron aproximadamente 3 ml de acetona a 2 equivalentes de ácido bencenosulfónico para disolver el ácido. Después se añadió la disolución de ácido en pequeñas partes alícuotas a la suspensión de base libre mientras se agitaba. Después de la adición completa del ácido, se formó inicialmente un material de tipo goma/aceite, sin embargo, este se convirtió en un sólido después de aprox. 30 minutos de agitación. La reacción se agitó durante aproximadamente 1,5 días antes de aislamiento y secado. El material se secó inicialmente a temperatura ambiente con vacío (aprox. 22°C) durante 3 días, sin embargo, en esta etapa había todavía aproximadamente 6,7% de acetona. Después se secó una parte durante 2 días adicionales a 40°C con vacío, después de lo cual quedaba aprox. 2,7% de acetona. Después el material se secó durante 2 días adicionales a 60°C a vacío. El rendimiento era 1,1 g de material (86%).

Para examinar si el ácido cítrico en los tampones estaba teniendo efecto en los valores de solubilidad obtenidos para pH 3, 4,5 y 6,6, se repitieron los experimentos de solubilidad termodinámica a estos valores de pH usando KHP/HCl para pH 3, KHP/ NaOH para pH 4,5 y fosfato/NaOH para pH 6,6. Los sólidos restantes se analizaron por análisis de XRPD para establecer si se producía algún cambio en la forma sólida.

El análisis de XRPD (figura 1) mostraba que el material era cristalino. El difractograma está de acuerdo con los difractogramas de la forma I del bis-besilato a pequeña escala obtenidos durante el cribado primario de sales.

El TGA/DTA se llevó a cabo después de 3 días de secado a temperatura ambiente con vacío, así como después de secado adicional durante 2 días a 40°C con vacío y 2 días a 60°C con vacío. Después del procedimiento de secado a temperatura ambiente, el TGA mostraba una pérdida de peso de 6,7% entre aprox. 50-150°C (figura 2) para un solvato de acetona, 1 equivalente molar de acetona sería aprox. 6,3% en peso). Después del secado adicional, el TGA mostraba una pérdida de peso de 0,47% desde el inicio, probablemente debido a humedad o disolvente no unido. Una pequeña pérdida de peso adicional de 0,16% correspondía a la endoterma de inicio a aprox. a 142°C (figura 3).

El análisis de DSC (figura 4) indicaba una endoterma ancha desde el inicio debida probablemente a disolvente no unido. Había presente una segunda endoterma de inicio a aprox. a 139,4°C (pico a 146,1°C).

La microscopía de luz polarizada (no se muestra) mostraba partículas birrefringentes sin morfología claramente definida presente.

La espectroscopía de IR (figura 5) mostraba una serie de diferencias y desplazamientos en comparación con la base libre y el ácido bencenosulfónico.

La espectroscopía de RMN de <sup>1</sup>H (figura 6) indicaba que una serie de picos del compuesto 1 y el ácido bencenosulfónico parecía que se solapaban, sin embargo, la estequiometría es ácido bencenosulfónico:compuesto 1 aproximadamente 2:1. La acetona presente no parecía ser una cantidad estequiométrica.

El análisis de DVS (figura 7) mostró una absorción de agua de aprox. 2,2% entre 20 y 70% de HR. La diferencia entre la masa del primer ciclo de sorción y el ciclo de desorción y segundo de sorción al 20% de HR probablemente se debe a la pérdida de exceso de acetona en el primer ciclo. El material también parece que se hidrata durante el análisis de DVS como indicaba el cambio en la forma polimórfica vista por análisis de XRPD posterior al DVS (no se muestra). El difractograma de XRPD también mostraba algo de pérdida de cristalinidad.

La coulometría de Karl Fischer indicaba un contenido de agua de aprox. 0,77% (Nota: debido a la introducción manual del material sólido en la celda de valoración, los valores medidos por debajo de 1% en general son ligeramente superiores que el contenido de agua real).

La evaluación de la pureza por HPLC (no se muestra) indicaba una pureza de aprox. 97,6% para la sal de bis-besilato eluyendo el pico principal a un tiempo de retención de aprox. 13,05 minutos.

Se crearon suspensiones de la sal de bis-besilato en mezclas de acetona:agua (3%, 5% y 10%) y se agitaron a temperatura ambiente durante aprox. 4 días. Los sólidos resultantes se analizaron por XRPD para determinar si se había producido algún cambio al formar la suspensión. Los resultados del estudio de hidratación a partir del análisis de XRPD (figura 8) se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados del estudio de hidratación

Sistema de disolventes	Resultado de la suspensión
Acetona:agua (3%)	Corresponde al material de sal de bis-besilato introducido.
Acetona:agua (5%)	Parece que es una mezcla del material introducido y un posible hidrato.
Acetona:agua (10%)	Diferente del material de bis-besilato introducido, probablemente hidratado. Los picos se corresponden con los picos de XRPD después de DVS

5 La sal de bis-besilato se suspendió en agua desionizada a temperatura ambiente (aprox. 22°C). Se tomó una muestra de sólido a las 24 y 48 horas y se analizó por XRPD. También se vigiló el pH del líquido sobrenadante. Los resultados del estudio de dismutación de la sal a partir del análisis de XRPD (figura 9) se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados del estudio de dismutación

Tiempo de medición	Sistema de disolventes	Resultado de la suspensión
1 h	pH 2-3	Goma amarilla presente.
24 h	pH 1-2	Diferente del material de partida, parece que se ha hidratado (corresponde a la muestra de hidratación de acetona:agua (90:10%).
48 h	pH 1-2	Diferente del material de partida, parece que se ha hidratado (corresponde a la muestra de hidratación de acetona:agua (90:10%).

10 La sal de bis-besilato se expuso a entornos de 40°C/75% de HR (humedad relativa, vial abierto y cerrado) y 80°C (vial abierto) durante 1 semana para determinar la estabilidad. Los sólidos resultantes se analizaron por XRPD y HPLC para establecer si se había producido algún cambio. Los resultados del estudio de estabilidad de 1 semana a partir del XRPD (figura 10) y el análisis de HPLC (no se muestra) a 40°C/75% de HR usando un vial abierto y cerrado y a 80°C usando un vial abierto se indican en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados del estudio de estabilidad de 1 semana

Condiciones de almacenamiento	HPLC	XRPD
40°C/75% de HR (vial abierto)	97,22%	Cambio en la forma polimorfa, probablemente debido a hidratación.
40°C/75% de HR (vial con cápsula plegada)	97,35%	No hay cambio en la forma polimorfa
80°C (vial abierto)	97,20%	Corresponde predominantemente al material introducido, sin pérdida de cristalinidad.

15 Se crearon suspensiones de la sal de bis-besilato en medios de diferentes pH (pH 1; pH 3; pH 4,5 y pH 6,6) y se agitaron durante aprox. 24 horas. Después de 24 horas, las suspensiones se filtraron y la solución se analizó por HPLC con el fin de determinar la solubilidad a diferentes niveles de pH. Los sólidos restantes se analizaron por análisis de XRPD para establecer si se producía algún cambio en la forma sólida. Para las disoluciones de tampones, se usó KCl/HCl para pH 1 y combinaciones de citrato/fosfato para pH 3, 4,5 y 6,6. Los estudios de solubilidad termodinámica indicaban los resultados mostrados en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de solubilidad termodinámica

pH	Tampones usados	Solubilidad (mg/ml)	XRPD de los sólidos en exceso (figura 11)
pH 1,0	KCl/HCl	4,93 mg/ml	El difractograma corresponde al bis-besilato hidratado.
pH 3,0	Citrato/Fosfato	0,24 mg/ml	Cambio en el difractograma - no corresponde a ninguna forma conocida del bis-besilato o compuesto 1. No corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 4,5	Citrato/Fosfato	0,43 mg/ml	Cambio en el difractograma - no corresponde a ninguna forma conocida del bis-besilato o compuesto 1. No corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 6,6	Citrato/Fosfato	0,66 mg/ml	Cambio en el difractograma - no corresponde a ninguna forma conocida del bis-besilato o compuesto 1. No corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 3,0	KHP/HCl	0,26 mg/ml	Cambio en el difractograma - no corresponde a ninguna forma conocida del bis-besilato o compuesto 1. No corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 4,5	KHP/ NaOH	0,10 mg/ml	Cambio en el difractograma - no corresponde a ninguna forma conocida del bis-besilato o compuesto 1. No corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 6,6	Fosfato/NaOH	0,17 mg/ml	Cambio en el difractograma - no corresponde a ninguna forma conocida del bis-besilato o compuesto 1. No corresponde a los sólidos usados en los tampones.

5 Cuando se formaron inicialmente las suspensiones para las determinaciones de solubilidad termodinámica, se obtuvieron gomas en todos los medios de pH usados, sin embargo, después de agitar, las gomas se convirtieron en sólidos después de aprox. 2 horas. El análisis de XRPD del sólido en exceso de las suspensiones después de los experimentos de solubilidad, indica que para pH 1, la sal de bis-besilato se hidrata mientras se forma la suspensión. Por lo tanto, el valor de solubilidad obtenido es probablemente una indicación de la solubilidad del material hidratado. Los difractogramas para las muestras restantes aparecen diferentes del material introducido, así como como de todas las formas identificadas del bis-besilato y la base libre del compuesto 1. Los difractogramas también aparecen diferentes de los difractogramas de los sólidos usados para preparar los tampones. Los valores de solubilidad obtenidos usando estos tampones de pH es probable que no sean representativos de la sal de bis-besilato que se puso inicialmente en las disoluciones.

10 Se comprimieron aproximadamente 100-120 mg de cada forma en discos, poniendo el material en una hilera (diámetro: 13 mm) y comprimiendo la hilera bajo 5 toneladas de presión en una prensa hidráulica durante aprox. 2 minutos. Se usó un instrumento de disolución Sotax AT7 (de acuerdo con EP2 y USP2) que contenía palas para agitar el medio a 100 rpm. Los medios de disolución de pH 3 (SDS al 1%) y pH 4,5 (SDS al 1%) se prepararon usando tampón de citrato/fosfato. Todos los materiales se ensayaron en 750 ml del medio tampón. Los discos se añadieron en el tiempo = 0 segundos y se dejó que se hundieran al fondo del recipiente de disolución antes de empezar la agitación. Se extrajeron partes alícuotas de aprox. 1 ml de los medios de los recipientes de disolución en los tiempos 1, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240 minutos y 24 horas, y se analizó la concentración de sal disuelta por HPLC-UV. Los ensayos de disolución se llevaron a cabo por duplicado. Para ambos medios de disolución, las áreas de los picos para los tiempos de medición iniciales (hasta 15 minutos), disminuyeron por debajo del límite de cuantificación, sin embargo, cuando se representó gráficamente la velocidad de disolución frente al tiempo, la parte más pronunciada de la curva se encuentra durante estos tiempos de medición tempranos.

15 Para pH 4,5, cuando se representó la curva de velocidad de disolución frente a tiempo (figura 12), los valores de disolución intrínseca obtenidos desde los primeros tiempos de medición en la curva (la parte más pronunciada de la curva) eran aproximadamente 0,61 mg/cm<sup>2</sup>/min para los comprimidos tanto 1 como 2. En los tiempos de medición posteriores, se obtuvieron valores de disolución intrínseca de 0,09 mg/cm<sup>2</sup>/min y 0,08 mg/cm<sup>2</sup>/min para los comprimidos 1 y 2, respectivamente.

20 Para pH 3,0, cuando se representó la curva de velocidad de disolución frente a tiempo (figura 13), los valores de disolución intrínseca obtenidos desde los primeros tiempos de medición en la curva (la parte más pronunciada de la curva) eran aproximadamente 0,36 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 1 y 0,38 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 2. En los tiempos de medición posteriores, se obtuvieron valores de disolución intrínseca de 0,08 mg/cm<sup>2</sup>/min y 0,07 mg/cm<sup>2</sup>/min para los comprimidos 1 y 2, respectivamente.

#### Ejemplo 4

##### Cribado secundario de la sal de bis-besilato hidratado

35 Se añadieron aproximadamente 3 ml de acetona a aprox. 500 mg de compuesto 1 para formar una suspensión. En un vial separado, se añadieron aprox. 1 ml de acetona a 2 equivalentes de ácido bencenosulfónico con el fin de disolver el ácido. Después se añadió la disolución de ácido en pequeñas partes alícuotas a la suspensión de base libre mientras se agitaba. La reacción se agitó durante aprox. 1 día mientras la temperatura se variaba en ciclos entre 0 y temperatura ambiente (aprox. 22°C). Después de 1 día, se añadió agua desionizada a la mezcla de reacción y la suspensión se dejó agitar durante aprox. 3 horas antes de aislar y secar a temperatura ambiente con vacío.

40 El análisis de XRPD (figura 14) mostraba que el material era cristalino. El difractograma está de acuerdo con el hidrato de bis-besilato obtenido de los estudios de hidratación de la sal de bis-besilato.

45 El TGA/TDA indicaba una pérdida de peso de aprox. 2,1% entre aprox. 70 - 100°C (figura 15). Esto corresponde a aproximadamente 2,03% en peso de agua necesaria para un monohidrato. Estaba presente una pérdida de peso de aprox. 2,2% desde el inicio hasta aprox. 70°C, debida probablemente a agua no unida. Aunque la pérdida de peso total de aprox. 4,2% corresponde aproximadamente a un dihidrato, la primera pérdida de peso ocurre desde el inicio seguida de una segunda pérdida de peso clara que corresponde con cantidades de agua de monohidrato. Puesto que la primera pérdida de peso se produce a aprox. 25°C, esta probablemente se debía a agua no unida.

50 El análisis de DSC indicaba una endoterma ancha entre aprox. 40-115°C. Después estaban presentes dos endotermas adicionales de inicio a 119,7°C (pico a 134,3°C) y de inicio a 153,8°C (pico a 165,1°C) (figura 16).

55 El análisis de PLM mostraba algo de birrefringencia, sin embargo, el tamaño de partículas es muy pequeño y no se podía ver una morfología clara (no se muestra). Se llevó a cabo microscopía térmica en etapas en una muestra del hidrato de bis-besilato. No se observaron cambios visuales antes de que el material se fundiera y degradara (se volviera marrón) a aprox. 160°C.

El análisis de IR (figura 17) mostraba diferencias con los espectros tanto de la base libre como del ácido bencenosulfónico, así como algunas diferencias cuando se comparaban los espectros de la sal de bis-besilato introducida con los del material hidratado.

5 La espectroscopía de RMN de <sup>1</sup>H (figura 18) indicaba que una serie de picos del compuesto 1 y el ácido bencenosulfónico parece que se superponen, sin embargo, la estequiometría parece que es ácido bencenosulfónico:compuesto 1 aproximadamente 2:1. Había una pequeña cantidad no estequiométrica de acetona presente en el espectro.

10 El análisis de DVS (figura 19) mostró una absorción de agua de aprox. 1,3% entre 20 y 70% de HR. No se observaba histéresis entre los ciclos de sorción y desorción. El difractograma de XRPD del material después del análisis de DVS estaba de acuerdo con el difractograma del material de hidrato de bis-besilato introducido (no se muestra).

Los datos de estabilidad de 1 semana a 40°C/75% de HR (recipiente abierto) indicaban que por XRPD, el material seguía estando de acuerdo con el material introducido sin cambios en la forma polimórfica (figura 20).

15 Las determinaciones de pureza por HPLC indicaban una pureza inicial de aprox. 98,4% y una pureza de aprox. 98,3% después de 1 semana de almacenamiento a 40°C/75% de HR.

Los estudios de solubilidad termodinámica del hidrato de bis-besilato indicaban los resultados mostrados en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de solubilidad termodinámica

pH	Tampones	Solubilidad (mg/ml)	XRPD de los sólidos en exceso (figura 21)
pH 1,0	KCl/HCl	4,39 mg/ml	Muy poco sólido presente para el XRPD, sin embargo los picos que son visibles en el difractograma parece que corresponden al difractograma del bis-besilato hidratado.
pH 3,0	Citrato/Fosfato	0,016 mg/ml	Muy poco sólido presente para el XRPD, sin embargo, se ve un cambio en el difractograma que no corresponde a ninguna forma identificada de la sal de bis-besilato del compuesto 1. Tampoco corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 4,5	Citrato/Fosfato	Por debajo del LDC	Muy poco sólido presente para el XRPD, sin embargo, se ve un cambio en el difractograma que no corresponde a ninguna forma identificada de la sal de bis-besilato del compuesto 1. Tampoco corresponde a los sólidos usados en los tampones.
pH 6,6	Citrato/Fosfato	No detectado por HPLC.	Muy poco sólido presente para el XRPD, sin embargo, se ve un cambio en el difractograma que no corresponde a ninguna forma identificada de la sal de bis-besilato del compuesto 1. Tampoco corresponde a los sólidos usados en los tampones.

20 Se llevaron a cabo ensayos de disolución intrínseca usando pH 4,5 (SDS al 1%) y pH 3,0 (SDS al 1%). Para ambos medios de disolución, las áreas de los picos para los tiempos de medición iniciales (hasta 15 minutos), disminuyeron por debajo del límite de cuantificación, sin embargo, cuando se representó gráficamente la velocidad de disolución frente al tiempo, la parte más pronunciada de la curva se encuentra durante estos tiempos de medición tempranos. Para pH 4,5, cuando se representó la curva de velocidad de disolución frente a tiempo (figura 22), los valores de disolución intrínseca obtenidos desde los primeros tiempos de medición en la curva (la parte más pronunciada de la curva) eran aproximadamente 0,43 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 1 y 0,44 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 2. En los tiempos de medición más tarde (hacia el final del estudio de disolución), se obtuvieron valores de disolución intrínseca de 0,012 mg/cm<sup>2</sup>/min y 0,006 mg/cm<sup>2</sup>/min para los comprimidos 1 y 2, respectivamente.

30 Para pH 3,0, cuando se representó la curva de velocidad de disolución frente a tiempo (figura 23), los valores de disolución intrínseca obtenidos desde los primeros tiempos de medición en la curva (la parte más pronunciada de la curva) eran aproximadamente 0,38 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 1 y 0,39 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 2. En los tiempos de medición posteriores, se obtuvieron valores de disolución intrínseca de 0,01 mg/cm<sup>2</sup>/min para los comprimidos tanto 1 como 2.

35 Se preparó un lote grande de la sal de bis-besilato usando el siguiente procedimiento. Se añadieron aproximadamente 20 ml de acetona a aprox. 14 mg de compuesto 1 en un matraz de fondo redondo para formar una suspensión. En un matraz separado, se añadieron aprox. 10 ml de acetona a 2 equivalentes de ácido bencenosulfónico con el fin de disolver el ácido. Después se añadió la disolución de ácido en pequeñas partes alícuotas a la suspensión de base libre mientras se agitaba a aprox. 0°C. La suspensión resultante después se dejó agitar a temperatura ambiente durante aprox. 2 horas. Después se puso a aprox. 5°C durante 2 días antes de agitar durante 3 horas adicionales a temperatura ambiente. Después se separó la acetona y se añadieron aprox. 20 ml de agua al material. La suspensión se sometió a ciclos de temperatura (0°C - temperatura ambiente (aprox. 22°C)) en

ciclos 2 horas durante aprox. 1 día. Después el sólido se aisló por filtración y se dejó secar en condiciones ambientales con vacío antes del análisis. El secado se continuó durante aprox. 10 días.

5 Las propiedades del material de este lote más grande eran similares a las descritas antes. Además de estas propiedades, se observó que cuando el hidrato de bis-besilato se dejó en la mesa de trabajo durante 2 horas y se llevó a cabo de nuevo el TGA, la muestra parecía coger agua para tener una pérdida de peso total de aprox. 4,5% en el TGA final. No parecía que fuera posible eliminar el 2% restante de agua no unida mediante secado ya que esta se vuelve a ganar en condiciones ambientales. Además, la valoración de KF determinó que el contenido de agua del material era aprox. 3,97%. Aunque el aprox. 4% en peso de agua se correspondería teóricamente con un dihidrato, la pérdida de peso en el TGA parece que empieza desde el inicio seguido por una segunda pérdida de peso más clara que corresponde a aproximadamente 1 equivalente de agua. El material probablemente muestra algo de higroscopicidad que da como resultado la pérdida de peso inicial en el TGA.

#### Ejemplo 5

Cribado secundario de sal de mono-maleato

15 Se añadieron aproximadamente 3 ml de diclorometano a aprox. 200 mg de compuesto 1 para formar una suspensión. En un vial separado, se añadió aprox. 1 ml de diclorometano a 1 equivalente de ácido maleico con el fin de disolver el ácido. Después se añadió la disolución de ácido en pequeñas partes alícuotas a la suspensión de base libre mientras se agitaba. La suspensión obtenida era de color amarillo. La reacción se agitó durante aprox. 1,5 días entre 0°C y temperatura ambiente (aprox. 22°C) y se mantuvo a aprox. 4°C durante 2 días adicionales antes de aislamiento y secado a temperatura ambiente. El material se secó a temperatura ambiente con vacío (aprox. 22°C) durante aprox. 2 días.

20 El análisis de XRPD (figura 24) mostraba que el material era cristalino. El difractograma está de acuerdo con el difractograma de la forma I del mono-maleato a pequeña escala obtenido durante el cribado primario de sales.

25 El TGA/DTA se llevó a cabo después de 2 días de secado a temperatura ambiente con vacío. El TGA mostraba una pérdida de peso de 0,4% desde el inicio, probablemente debida a humedad o disolvente no unido. Una pérdida de peso grande de 10,9% está asociada con sucesos endotérmicos/exotérmicos en el DTA entre aprox. 145-185°C, seguido de pérdidas de peso adicionales debidas a la probable degradación (figura 25).

El análisis de DSC indicaba una endoterma de inicio a 160,4°C (pico a 163,8°C), seguido directamente por una exoterma, probablemente debido a la recristalización y después degradación final (figura 26).

30 La espectroscopía de RMN de <sup>1</sup>H (figura 27) indicaba estequiometría de compuesto 1:ácido maleico aproximadamente 1:1. No había diclorometano presente en el espectro. Por lo tanto, la sal de mono-maleato no parece que esté solvatada.

#### Ejemplo 6

Cribado secundario de sal de bis-hidrocloruro (Forma I)

35 Se añadieron aproximadamente 1,5 ml de acetonitrilo:H<sub>2</sub>O (90:10) a aprox. 200 mg de compuesto 1 para formar una suspensión. En un vial separado, se añadió aprox. 1 ml de acetonitrilo:H<sub>2</sub>O (90:10) a 2 equivalente de ácido clorhídrico. Después se añadió la disolución de ácido en pequeñas partes alícuotas a la suspensión de base libre mientras se agitaba. La reacción se agitó durante aprox. 1,5 días entre 0°C y temperatura ambiente (aprox. 22°C) y se mantuvo a aprox. 4°C durante 2 días adicionales antes de aislamiento y secado a temperatura ambiente. El material se secó a temperatura ambiente con vacío (aprox. 22°C) durante aprox. 2 días.

40 El análisis de XRPD (figura 28) mostraba que el material era cristalino. El difractograma está de acuerdo con el difractograma de la forma I del bis-hidrocloruro a pequeña escala obtenido durante el cribado primario de sales.

El TGA/DTA se llevó a cabo después de 2 días de secado a temperatura ambiente con vacío. El TGA mostraba una pérdida de peso gradual de 2,7% desde el inicio a aprox. 180°C. Se observa una pérdida de peso adicional de 4,3% a aprox. 180-210°C, que corresponde a una endoterma en la señal de DTA (figura 29).

45 El análisis de DSC indicaba una endoterma ancha entre aprox. 30-160°C. Se encuentra una endoterma adicional al inicio de 206,4°C (pico a 226,5°C) directamente seguida por una endoterma menor de pico a 238,2°C (figura 30).

El análisis de Karl Fischer mostraba un contenido de agua de aprox. 3,3% (aprox. 2,8% de agua necesaria para un monohidrato).

50 La espectroscopía de RMN de <sup>1</sup>H (figura 31) indicaba que el espectro se había desplazado en comparación con el compuesto 1, indicando probablemente la formación de sal. No se podían ver signos de degradación. El pico de la base libre parece que está parcialmente solapado con la región para el acetonitrilo, sin embargo, no parece que haya presente cantidades significativas de acetonitrilo.

Ejemplo 7

Cribado secundario de sal de hidrobromuro (1 equiv.)

5 Se añadieron aproximadamente 5 ml de acetonitrilo:H<sub>2</sub>O (10%) a aprox. 1 g de la base libre del compuesto 1 para formar una suspensión. En un vial separado, se añadieron aprox. 3 ml de acetonitrilo:H<sub>2</sub>O (10%) a 1 equivalente de ácido bromhídrico (48%). Después la disolución de ácido se añadió gota a gota a lo largo de un periodo de 1 hora a la suspensión de la base libre mientras se agitaba y manteniendo la temperatura entre 0-5°C. Después de la adición completa del ácido, se añadieron 3 ml adicionales de acetonitrilo:H<sub>2</sub>O (10%). La reacción se agitó durante aprox. 1 día antes de aislamiento y secado a temperatura ambiente (aprox. 22°C). Se obtuvo un rendimiento de aprox. 79%.

10 Se llevó a cabo el análisis de XRPD (figura 32) en la muestra húmeda y después de secado. El análisis indicaba que el material experimenta un cambio de forma tras el secado. El difractograma del material a mayor escala, tanto antes como después de secado, era diferente del difractograma de la muestra de hidrobromuro del cribado primario.

El TGA/DTA mostraba una pérdida de peso de 1,01% desde el inicio, probablemente debida a humedad o disolvente no unido. No se observaron pérdidas de peso adicionales antes de la degradación al inicio a aprox. 230°C (figura 33).

15 El análisis de DSC (figura 34) indicaba una endoterma ancha desde el inicio debida probablemente a disolvente/agua no unido. Después se observó una segunda endoterma de inicio a 230°C (pico a 238°C), seguida por probable degradación.

La microscopía de luz polarizada mostraba partículas muy pequeñas sin morfología claramente definida presente (no se muestra).

20 La espectroscopía de IR (figura 35) mostraba una serie de diferencias y desplazamientos en comparación con la base libre.

La espectroscopía de RMN de <sup>1</sup>H (figura 36) indicaba una serie de desplazamientos de picos en comparación con la base libre.

25 El análisis de DVS (figura 37) mostraba una absorción de agua de 0,97% entre 20 y 70% de HR. La absorción de agua entre 0-90% de HR es reversible mostrando muy poca histéresis. El análisis de XRPD después de DVS indicaba que parece que la forma polimórfica permanece consistente después de exposición a condiciones de % de HR variables (no se muestra).

El coulometría de Karl Fischer indicaba un contenido de agua de aprox. 1,65%.

30 La evaluación de la pureza por HPLC indicaba una pureza de aprox. 97,5% para la sal de hidrobromuro eluyendo el pico principal a un tiempo de retención de aprox. 13 minutos.

Se crearon suspensiones de la sal de hidrobromuro en mezclas de acetona:agua (3%, 5% y 10%) y se agitaron a temperatura ambiente durante aprox. 3 días. Los sólidos resultantes se analizaron después por XRPD para determinar si se había producido algún cambio al formar la suspensión. Los resultados del estudio de hidratación a partir del análisis de XRPD (figura 38) se resumen en la tabla 8.

35 Tabla 8. Resultados del estudio de hidratación

Sistema de disolventes	Resultado de la suspensión
Acetona:agua (3%)	Corresponde a la forma de hidrobromuro introducida. Mejora de la cristalinidad.
Acetona:agua (5%)	Corresponde a la forma de hidrobromuro introducida. Mejora de la cristalinidad.
Acetona:agua (10%)	Corresponde a la forma de hidrobromuro introducida. Mejora de la cristalinidad.

40 La sal de hidrobromuro se suspendió en agua desionizada a temperatura ambiente (aprox. 22°C). Se tomó una muestra de sólido a las 1, 24 y 48 horas y se analizó por XRPD. También se vigiló el pH del líquido sobrenadante. Los resultados del estudio de dismutación de la sal a partir del análisis de XRPD (figura 39) se resumen en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados del estudio de dismutación

Tiempo de medición	pH	XRPD
1 h	pH 1	Parece que el material es una mezcla del material de hidrobromuro introducido y una forma sólida que también se obtenía de la suspensión del material en diferentes disoluciones de pH durante los estudios de solubilidad termodinámica.
24 h	pH 1	Parece que el material es una mezcla del material de hidrobromuro introducido y una forma sólida que se obtenía de la suspensión del material en diferentes disoluciones de pH durante los estudios de solubilidad termodinámica.
48 h	pH 1	Parece que el material es una mezcla del material de hidrobromuro introducido y una forma sólida que se obtenía de la suspensión del material en diferentes disoluciones de pH durante los estudios de solubilidad termodinámica.

5 La sal de hidrobromuro se expuso a entornos de 40°C/75% de HR (vial abierto y cerrado) y 80°C (vial abierto) durante 1 semana para determinar la estabilidad. Los sólidos resultantes se analizaron por XRPD y HPLC para establecer si se había producido algún cambio. Los resultados del estudio de estabilidad de 1 semana a partir del XRPD (figura 40) y el análisis de HPLC a 40°C/75% de HR usando un vial abierto y cerrado y a 80°C usando un vial abierto se indican en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados del estudio de estabilidad de 1 semana

Condiciones	HPLC	XRPD
40°C/ 75% de HR (vial cerrado)	97,2%	No se observaron cambios en la forma polimórfica durante el almacenamiento.
40°C/75% de HR (vial abierto)	97,2%	No se observaron cambios en la forma polimórfica durante el almacenamiento.
80°C (vial abierto)	97,1%	No se observaron cambios en la forma polimórfica durante el almacenamiento.

10 Se crearon suspensiones de la sal de hidrobromuro en medios de diferentes pH (pH 1; pH 3; pH 4,5 y pH 6,2) y se agitaron durante aprox. 24 horas. Después de 24 horas, las suspensiones se filtraron y la solución se analizó por HPLC con el fin de determinar la solubilidad a diferentes niveles de pH. Los sólidos restantes se analizaron por análisis de XRPD para establecer si se producía algún cambio en la forma sólida. Para las disoluciones de tampones, se usó KCl/HCl para pH 1 y combinaciones de ácido cítrico/citrato sódico para pH 3, 4,5 y 6,2. Los estudios de solubilidad termodinámica indicaban los resultados mostrados en la tabla 11.

15

Tabla 11. Resultados de solubilidad termodinámica

pH	Tampones usados	Solubilidad (mg/ml)	XRPD de los sólidos en exceso (figura 41)
pH 1,0	KCl/HCl	3,78	Aparece predominantemente amorfo por análisis de XRPD. El material sólido se convertía en una goma después de ponerlo en un soporte de muestra de XRPD en forma de suspensión.
pH 3,0	Ácido cítrico/citrato sódico	0,21	El difractograma parece diferente del material de hidrobromuro introducido, todas las formas conocidas de la base libre del compuesto 1 y el ácido cítrico usado en la preparación del tampón. El difractograma también parece que se corresponde con los difractogramas obtenidos para los experimentos de solubilidad termodinámica llevados a cabo en la sal de bis-besilato.
pH 4,5	Ácido cítrico/citrato sódico	0,08	El difractograma parece diferente del material de hidrobromuro introducido, todas las formas conocidas de la base libre del compuesto 1 y el ácido cítrico usado en la preparación del tampón. El difractograma también parece que se corresponde con los difractogramas obtenidos para los experimentos de solubilidad termodinámica llevados a cabo en la sal de bis-besilato.
pH 6,2	Ácido cítrico/citrato sódico	0,03	El difractograma parece diferente del material de hidrobromuro introducido, todas las formas conocidas de la base libre del compuesto 1 y el ácido cítrico usado en la preparación del tampón. El difractograma también parece que se corresponde con los difractogramas obtenidos para los experimentos de solubilidad termodinámica llevados a cabo en la sal de bis-besilato.

20 Los difractogramas para los experimentos a pH 3,0, 4,5 y 6,2 aparecían diferentes del material introducido, así como como de todas las formas identificadas de la sal de hidrobromuro y la base libre del compuesto 1. Los difractogramas también aparecían diferentes de los difractogramas de los sólidos usados para preparar los tampones. Los valores de solubilidad obtenidos usando estos tampones de pH es probable que no sean representativos de la sal de hidrobromuro que se puso inicialmente en las disoluciones.

Se comprimieron aproximadamente 100-120 mg de material en discos, poniendo el material en una hilera (diámetro: 13 mm) y comprimiendo la hilera bajo 5 toneladas de presión en una prensa hidráulica durante aprox. 2 minutos. Se usó un instrumento de disolución Sotax AT7 (de acuerdo con EP2 y USP2) que contenía palas para agitar el medio a 100 rpm. Los medios de disolución de pH 3 (SDS al 1%) y pH 4,5 (SDS al 1%) se prepararon usando tampón de citrato/fosfato. Todos los materiales se ensayaron en 750 ml del medio tampón. Los discos se añadieron en el tiempo = 0 segundos y se dejó que se hundieran al fondo del recipiente de disolución antes de empezar la agitación. Se extrajeron partes alícuotas de aprox. 1 ml de los medios de los recipientes de disolución en los tiempos 1, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240 minutos y 24 horas, y se analizó la concentración del API por HPLC-UV. Los ensayos de disolución se llevaron a cabo por duplicado. Para ambos medios de disolución, las áreas de los picos para los tiempos de medición iniciales (hasta 15 minutos), disminuyeron por debajo del límite de cuantificación, sin embargo, cuando se representó gráficamente la velocidad de disolución frente al tiempo, la parte más pronunciada de la curva se encuentra durante estos tiempos de medición tempranos.

Para pH 4,5, cuando se representó la curva de velocidad de disolución frente a tiempo (figura 42), los valores de disolución intrínseca obtenidos desde los primeros tiempos de medición en la curva (la parte más pronunciada de la curva) eran aproximadamente 0,27 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 1 y 0,28 mg/cm<sup>2</sup>/min para el comprimido 2.

Para pH 3,0, cuando se representó la curva de velocidad de disolución frente a tiempo (figura 43), los valores de disolución intrínseca obtenidos desde los primeros tiempos de medición en la curva (la parte más pronunciada de la curva) eran aproximadamente 0,35 mg/cm<sup>2</sup>/min para los comprimidos tanto 1 como 2.

#### Ejemplo 8

20 Cribado secundario de sal de hidrobromuro (2 equiv.)

Se añadió aproximadamente 1 ml de metanol a aprox. 200 mg de compuesto 1 para formar una suspensión. En un vial separado, se añadió aprox. 1 ml de metanol a 2 equivalente de ácido bromhídrico (48%). Después la disolución de ácido se añadió gota a gota a lo largo de un periodo de 1 hora a la suspensión de la base libre mientras se agitaba y manteniendo la temperatura entre 0-5°C. Después de la adición completa del ácido, se añadió 1 ml adicional de metanol. La reacción se agitó durante aprox. 3 días antes de aislamiento y secado. Se obtuvo un rendimiento de aproximadamente 68%.

Se llevó a cabo el análisis de XRPD (figura 44) después de filtración y el difractograma obtenido era consistente con el material de la forma I obtenido usando tanto 1 como 2 equivalentes de HBr en el cribado primario de sales.

30 El TGA/DTA (figura 45) mostraba una pérdida de peso de 1,2% desde el inicio a aprox. 100°C, probablemente debida a humedad o disolvente no unido. No se observaron pérdidas de peso adicionales antes de la degradación al inicio a aprox. 230°C. El TGA/DTA es similar a la señal obtenida para la forma a escala de 1 equivalente del ejemplo 6.

La espectroscopía de IR (figura 46) mostraba una serie de diferencias y desplazamientos en comparación con la base libre y la sal de hidrobromuro (1 equiv.) a mayor escala.

#### 35 Ejemplo 9

Cribado secundario de sal de hidrobromuro (forma desconocida)

40 Los experimentos de solubilidad termodinámica llevados a cabo en la sal de hidrobromuro dieron como resultado la formación de una forma sólida desconocida. Intentando caracterizar esta forma, así como establecer la tasa de conversión de esta forma mientras se suspende el material, se llevaron a cabo los siguientes experimentos. Inicialmente, se suspendieron aproximadamente 100 mg de material de hidrobromuro (1 equiv.) en una disolución acuosa de pH 6,2 a temperatura ambiente y se llevó a cabo el análisis de XRPD en los tiempos de medición de 5 min, 1 h, 2 h, 4 h y 8 h. También se llevó a cabo un análisis adicional del material convertido.

45 El análisis de XRPD (figura 47) llevado a cabo en la muestra de sal de hidrobromuro (1 equiv.) después de suspensión del sólido en un medio acuoso a pH 6,2 durante 5 min, 1 h, 2 h, 4 h y 8 h, indicaba que la conversión del sólido desconocido se produce entre 2-4 horas.

El análisis por PLM llevado a cabo en una suspensión del material indicaba un tamaño de partículas muy pequeño. Se observó algo de birrefringencia (no se muestra). Tras secado el material se volvió vítreo.

Se llevó a cabo el análisis de RMN de <sup>1</sup>H de este material que mostró un espectro que era diferente en términos de posiciones de los picos tanto del espectro de la base libre como del espectro del hidrobromuro (figura 48).

50 También se intentó el análisis de DSC del material vítreo, sin embargo, se observa una endoterma ancha grande desde el inicio a aprox. 110°C, seguido de un patrón característico de material amorfo (figura 49).

El experimento de suspensión de la base libre del compuesto 1 y el hidrato de bis-besilato (llevado a cabo para intentar producir más de esta forma para el análisis) no tuvo éxito en la producción de esta forma sólida



desconocida. Para la suspensión de la base libre, el material que quedaba como la forma I de la base libre y para la suspensión del hidrato de bis-besilato, el material perdía algo de cristalinidad, pero permanecía como el hidrato de bis-besilato (figura 50).

5 El aumento de escala adicional de la sal de hidrobromuro (1 equiv.) y la posterior suspensión en un medio acuoso a pH 6,2 daba como resultado la obtención de esta forma de sólido desconocida (figura 51), sin embargo, fracasaron todos los intentos de filtración del material pasando el material a través del filtro sinterizado y múltiples hojas de papel de filtro, debido al pequeño tamaño de partículas. De nuevo, los intentos de separación por evaporación del disolvente dieron como resultado la obtención de un material vítreo. Esto parece indicar que la forma desconocida es inestable cuando se aísla.

#### 10 Ejemplo 10

Cribado terciario de la sal de hidrobromuro (1 equiv.)

15 Se añadieron aproximadamente 85 ml de acetonitrilo:agua (90:10) a aprox. 20 g de compuesto 1 en un matraz de fondo redondo para formar una suspensión. En un matraz separado, se añadió 1 equivalente de bromuro de hidrógeno (aprox. 4.073 ml) a aprox. 70 ml de acetonitrilo:agua (90:10). Después se añadió la disolución de ácido en pequeñas partes alícuotas a la suspensión de base libre mientras se agitaba a aprox. 4°C. La suspensión resultante después se dejó agitar a temperatura ambiente durante aprox. 2 horas. Después se puso a aprox. 5°C durante 1 día antes de agitar durante 4 horas adicionales a temperatura ambiente. Después la reacción se filtró y el sólido se secó a vacío a temperatura ambiente (aprox. 22°C). El secado se continuó durante aprox. 2 días. Debido a la naturaleza parcialmente cristalina del material después de secado, el material después se suspendió en aprox. 50 ml de una mezcla de acetona:agua (90:10). La reacción se sometió a ciclos de temperatura entre aprox. 4-22°C en ciclos de 1 hora mientras se agitaba durante aprox. 2 días. Después la reacción se filtró y se secó a temperatura ambiente durante aprox. 4 días antes de ser analizada. El rendimiento después de la suspensión adicional era 16,4 (63%).

25 El análisis de XRPD (figura 52) llevado a cabo en el material a mayor escala inicial mientras estaba húmedo, mostraba que la muestra era muy cristalina. Después de secado, el sólido se convertía en una forma polimórfica diferente y también perdía algo de cristalinidad. El análisis de XRPD (figura 53) del material después de suspensión adicional en acetona:agua (10%) y posterior secado, indicaba un material cristalino. El difractograma se correspondía con la muestra de hidrobromuro a menor escala obtenida después de secado durante el ejemplo 1.

La espectroscopía de IR (figura 54) mostraba diferencias cuando se comparaba con el espectro de la base libre. El espectro también parecía estar de acuerdo con el espectro obtenido para la sal de hidrobromuro en el ejemplo 1.

30 La PLM (no se muestra) mostraba partículas pequeñas sin morfología definida y un poco de birrefringencia.

La RMN de <sup>1</sup>H (figura 55) indicaba una serie de desplazamientos de picos en comparación con la base libre. Había una pequeña cantidad no estequiométrica de acetona presente en el espectro.

35 El TGA/DTA (figura 56) mostraba una pérdida de peso desde el inicio de aprox. 0,4%, probablemente debida a humedad o disolvente no unido. No se observaron pérdidas de peso significativas adicionales antes de la degradación al inicio a aprox. 230°C.

El análisis de DSC (figura 57) indicaba una endoterma ancha, poco profunda, desde el inicio debida probablemente a disolvente/agua no unido. Después se había una segunda endoterma al inicio de 240°C (pico a 244°C), seguida por probable degradación.

Además, el análisis de KF determinó que el contenido de agua del material era aprox. 0,76%.

40 La determinación de la pureza por HPLC indicaba una pureza de aprox. 98,1%.

45 El contenido de carbono, hidrógeno y nitrógeno en el material se determinó poniendo las muestras en una cápsula de estaño, puesta dentro de un tambor de inyector de muestra automático de un sistema de análisis elemental. El entorno de la muestra se purgó mediante un flujo continuo de helio y las muestras se bajaron a intervalos prefijados a un tubo de cuarzo vertical mantenido a 900°C. La mezcla de gases de combustión se separó y se detectó mediante un detector de conductividad térmica dando una señal proporcional a la concentración de los componentes individuales de la mezcla. El contenido de bromo en el material se determinó por la combustión en matraz con oxígeno de la muestra. Una vez que se había producido la combustión y absorción en disolución, las muestras se valoraron usando una disolución de nitrato mercúrico calibrada. El análisis elemental (CHN y bromo) indicaba los siguientes porcentajes:

ELEMENTO	C	H	N	Br
% Teórico	51,03	4,44	15,42	12,57
% Encontrado	50,36	4,32	16,47	12,11

50

Se llevó a cabo la cromatografía iónica usando un cromatógrafo iónico 761 Compact de Metrohm para el análisis de iones en disoluciones acuosas. Se prepararon los patrones de calibración a partir de disoluciones madre de 100 ppm certificadas. La cromatografía iónica mostraba la presencia de 12,38% de bromuro.

- 5 Con el fin de examinar el efecto de eliminar el agua que es retenida por el material (a pesar de periodos prolongados de secado), se calentó una muestra pequeña a 100°C en un platillo y después se llevó a cabo el análisis de XRPD (figura 58). El análisis indica algo de pérdida de cristalinidad, sin embargo, la forma polimórfica sigue siendo similar después de separar el aprox. 0,5% de agua por calentamiento. No obstante, parece que el material es ligeramente higroscópico.

Ejemplo 11

- 10 Preparación a gran escala de la sal de hidrobromuro (1 equiv.)

Se añadió aproximadamente 1 litro de acetona:agua (90:10) a aprox. 319 g del compuesto 1 en un recipiente de reacción de 5 litros con la temperatura del reactor fijada a 4°C. Se obtuvo una suspensión. La suspensión se agitó a 450 rpm. En un matraz separado, se añadió 1 equivalente de bromuro de hidrógeno (48%) (aprox. 65 ml) a aprox. 750 ml de acetona:agua (90:10). Después la disolución de ácido se añadió al reactor de 5 litros a lo largo de un periodo de 1 hora, mientras se mantenía la temperatura a aprox. 4°C. Después de 30 minutos, se añadieron 700 ml adicionales de acetona:agua (90:10) al reactor. Después de completarse la adición de la disolución de HBr, la temperatura del reactor se elevó a 20°C durante 2 horas. La reacción después se enfrió de nuevo a aprox. 4°C y se mantuvo a esta temperatura durante 3 horas adicionales. Después la mezcla de reacción se filtró y se secó a vacío a temperatura ambiente (aprox. 22°C) durante 3 días. El sólido se agitó periódicamente durante el procedimiento de secado. El rendimiento después de secado era 258,1 (71%).

El análisis de XRPD (figura 59) llevado a cabo en el material a mayor escala inicial mientras estaba húmedo, mostraba que la muestra era muy cristalina. Después de secado, el sólido se convertía en una forma polimórfica diferente (figura 60). El material secado es la misma forma que la obtenida del cribado primario de sal.

25 La espectroscopía de IR (figura 61) mostraba diferencias cuando se comparaba con el espectro de la base libre. El espectro también parecía estar de acuerdo con el espectro obtenido para la sal de hidrobromuro en los ejemplos 1 y 7.

El análisis de PLM mostraba una morfología fibrosa, de tipo agujas, cuando estaba húmedo (no se muestra). Tras secado y por lo tanto conversión de polimorfo, se perdía la morfología de tipo agujas produciendo partículas pequeñas.

30 La RMN de <sup>1</sup>H (figura 62) indicaba una serie de desplazamientos de picos en comparación con la base libre. Estaban presentes cantidades en trazas de acetona en el espectro.

35 El TGA/DTA (figura 63) mostraba una pérdida de peso desde el inicio de aprox. 0,4%, probablemente debida a humedad o disolvente no unido. No se observaron pérdidas de peso significativas adicionales antes de la degradación al inicio a aprox. 230°C. Por lo tanto, el material parecía retener aprox. 0,5% de agua en condiciones ambiente a pesar de periodos prolongados de secado y por lo tanto parece que es ligeramente higroscópico.

El análisis de DSC (figura 64) indicaba una endoterma ancha, poco profunda, desde el inicio debida probablemente a disolvente/agua no unido. Después había una segunda endoterma de inicio a 241°C (pico a 245°C), seguida por probable degradación.

El análisis de KF determinó que el contenido de agua del material era aprox. 0,74%.

40 La determinación de la pureza por HPLC indicaba una pureza de aprox. 99,1%.

45 Se prepararon suspensiones de la sal de hidrobromuro en medios acuosos tamponados a pH 1,0 (tampón de HCl/KCl), pH 3,0 (tampón de citrato), pH 4,5 (tampón de citrato) y pH 6,2 (tampón de citrato) así como en una disolución acuosa con pH reducido por debajo de 2 usando HBr (48%). Las respectivas suspensiones se agitaron durante un periodo de 24 horas a 22°C. Después los sólidos se separaron por filtración y se ensayaron por análisis de XRPD. Las aguas madre se analizaron por HPLC para determinar la solubilidad del API. La determinación de la solubilidad por HPLC en medios con diferentes pH mostraba los siguientes resultados:

Condiciones de pH	Conc. (mg/ml)
Disolución acuosa con pH reducido por debajo de 2 usando HBr.	3,52
pH 1,0 (tampón de HCl/KCl)	4,09
pH 3,0 (tampón de citrato)	0,20
pH 4,5 (tampón de citrato)	0,17
pH 6,2 (tampón de citrato)	0,04

El análisis de XRPD de los sólidos recuperados después de los experimentos de solubilidad (figura 65) mostraba que todas las muestras correspondían predominantemente al material de sal de hidrobromuro introducido, mostrando las muestras en los tampones de pH 3,0, 4,5 y 6,2 trazas de una forma previamente identificada de los estudios de dismutación y suspensión previa de la sal de hidrobromuro en los tampones de pH > pH 3.

5 El análisis elemental (CHN y bromo) indicaba los siguientes porcentajes:

ELEMENTO	C	H	N	Br
% Teórico	51,03	4,44	15,43	12,57
% Encontrado	50,42	4,60	15,14	12,54

10 Una pequeña suspensión del material a escala grande se almacenó durante aprox. 1,5 meses a aprox. 4°C. Tras volver a analizar el material por análisis de PLM, los cristales aparecían como partículas en forma de varilla, muy planos en comparación con las partículas de tipo agujas, fibrosas observadas previamente (no se muestra). El material se convertía en la misma forma que el obtenido tras el secado con un cambio en la morfología cristalina de cristales de tipo agujas fibrosos a cristales de tipo varilla planos. El análisis de XRPD ((**figura 66**) indicaba un difractograma que corresponde al material de la sal de hidrobromuro seca (picos a 7,59, 15,28, 21,10, 23,21, 30,88, 35,54, 43,58 y 47,13° 2-Zeta). Los picos aparecen muy agudos con algo de orientación preferida en el difractograma.

Ejemplo 12

15 Cribado primario de polimorfo de sal de hidrobromuro

Preparación del material amorfo. El material de sal de hidrobromuro se trituro usando un molino de bolas Retsch durante aprox. 25 minutos, con una interrupción de 5 minutos a la mitad para prevenir que la muestra se sobrecalentara. Después la muestra se analizó por XRPD para determinar la forma y por HPLC para comprobar la degradación. Después de trituración el análisis de XRPD mostraba que el material de sal de hidrobromuro era amorfo con una pureza por HPLC de aprox. 99,5%. (Figura 79). El material amorfo era conveniente con el fin tanto de aumentar la solubilidad como de no desviar el estudio de cribado hacia una forma particular.

25 Cribado de la solubilidad en disolvente. Se pusieron aproximadamente 10 mg de la sal de hidrobromuro amorfa en cada uno de 24 viales y se añadieron al vial 5 partes alícuotas en volumen del sistema de disolventes adecuado. Entre cada adición, se comprobó la disolución de la mezcla. Este procedimiento se continuó hasta observar la disolución o hasta haber añadido 100 volúmenes de disolvente. Se encontró que el material de sal de hidrobromuro amorfa era muy soluble en 3 de los 24 sistemas de disolventes, pero presentaba solubilidad baja en los demás disolventes. Los valores de solubilidad aproximados de la sal de hidrobromuro amorfa en los 24 sistemas de disolventes se presentan en la tabla 12:

Tabla 12. Solubilidad aproximada en disolventes seleccionados

Disolvente	Solubilidad aproximada (mg/ml)
Acetona	<10
Acetona:agua (10%)	<10
Acetonitrilo	<10
1-Butanol	<10
Ciclohexano	<10
Diclorometano	<10
Éter diisopropílico	<10
Dimetilformamida	aprox. 67
Dimetilsulfóxido	aprox. 50
1,4-Dioxano	<10
Etanol	<10
Acetato de etilo	<10
Heptano	<10
Acetato de isopropilo	<10
3-Metil-1-butanol	<10
Metiletilcetona	<10
Metilisobutilcetona	<10
N-Metil-2-pirrolidona	aprox. 20
Nitrometano	<10
2-Propanol	<10
Éter de <i>terc</i> -butilo y metilo	<10
Tetrahydrofurano	<10
Tolueno	<10
Agua	<10

- 5 Experimentos de ciclos de temperatura. Los resultados obtenidos de los experimentos de aproximación de la solubilidad se usaron para preparar suspensiones para los ciclos de temperatura. Las suspensiones se sometieron a ciclos de temperatura entre 4°C y 25°C en ciclos de 4 horas durante un periodo de 72 horas (las suspensiones se mantuvieron a 4°C durante 4 horas seguido de un mantenimiento a temperatura ambiente durante 4 horas, las velocidades de enfriamiento/calentamiento después de los periodos de mantenimiento de 4 horas era aprox. 1°C/min). Después se recuperó el material sólido para el análisis.
- 10 Experimentos de enfriamiento acelerado. Los experimentos de enfriamiento acelerado se llevaron a cabo poniendo disoluciones saturadas del material, en cada uno de los 24 sistemas de disolventes seleccionados, en entornos de 2°C y -18°C durante un mínimo de 48 horas. Después se recuperó cualquier material sólido para el análisis.
- Experimentos de evaporación rápida. Los experimentos de evaporación rápida se llevaron a cabo evaporando los disolventes de disoluciones saturadas, filtradas, en cada uno de los 24 sistemas de disolventes seleccionados, a vacío. Después, se recuperó cualquier material sólido y se analizó después de haber evaporado el disolvente hasta sequedad.
- 15 Experimentos de adición de antidisolvente. Los experimentos de adición de antidisolvente se llevaron a cabo a temperatura ambiente por adición del antidisolvente seleccionado a disoluciones saturadas, filtradas del material, en cada uno de los 24 sistemas de disolventes seleccionados. El antidisolvente seleccionado era heptano, con éter de *terc*-butilo y metilo y agua, usados para disolventes inmiscibles con heptano. La adición del antidisolvente se continuó hasta que no hubo precipitación adicional o hasta que no se pudo añadir más antidisolvente. Se recuperó cualquier material sólido y se analizó rápidamente con el fin de prevenir los cambios de forma.
- 20 Experimentos de evaporación lenta. Los experimentos de evaporación lenta se llevaron a cabo evaporando los disolventes de disoluciones saturadas, filtradas, en cada uno de los 24 sistemas de disolventes en condiciones ambientales. Después, se recuperó cualquier material sólido y se analizó después de haber evaporado el disolvente hasta sequedad.
- 25 Desolvatación de formas solvatadas. Las potenciales formas solvatadas se sometieron a calentamiento en un instrumento de TGA a una temperatura ligeramente más allá de la pérdida de peso inicial. Después se podía determinar mediante el posterior análisis de XRPD si la forma había cambiado como resultado de la pérdida de moléculas de disolvente. Después de calentar a 180°C usando un instrumento de TGA, se encontró que el solvato de la forma V había revertido a la forma I por análisis de XRPD. El difractograma resultante se muestra en la figura 30. El intento de desolvatación de la forma VII dio como resultado una goma después de calentamiento.
- 35 Investigación de muestras húmedas y secas de la forma I. Inicialmente, las muestras húmedas de la forma 1 mostraban algunas diferencias en los difractogramas de XRPD con los de las muestras secas. Se llevó a cabo una investigación adicional, que incluía estudios de secado seguido de análisis de XRPD, TGA y análisis de XRPD con centrifugación. Para la forma I, el material húmedo mostraba una orientación significativa preferida y se observó desplazamiento en los difractogramas cuando se compararon con el material seco. La figura 81 muestra material introducido de la forma I comparado con una muestra húmeda, y después de etapas de secado.
- Los resultados de los experimentos llevados a cabo durante el cribado primario de polimorfos se muestran en la tabla 13. Los resultados se obtuvieron de la PLM y el análisis de XRPD. En general se puede ver que se identificaron múltiples potenciales formas polimórficas durante los experimentos de cribado.
- 40
- La forma I se obtuvo de múltiples experimentos de ciclos de temperaturas.
  - La forma III, una forma anhidra, se obtuvo de la evaporación rápida de DMSO, enfriamiento acelerado a 2°C en etanol, y adición de antidisolvente de acetona, acetonitrilo y etanol.
  - La forma IV, un solvato de 1,4-dioxano, se obtuvo del ciclo de temperaturas en 1,4-dioxano.
  - La forma V, un solvato de DMF, se obtuvo del ciclo de temperaturas y la evaporación rápida de DMF.
- 45
- La forma VI, un solvato de DMSO, se obtuvo del ciclo de temperaturas en DMSO.
  - La forma VII, un solvato de DMSO, se obtuvo de la evaporación lenta de DMSO.

Tabla 13. Resultados del cribado primario de sales de hidrobromuro

	Disolvente	Ciclo de temperatura	Evaporación	Evaporación rápida	Enfriamiento acelerado (2°C)	Enfriamiento acelerado (-18°C)	Adición de antidisolvente
1	Acetona	Forma I	AM/PLM <sup>+</sup>	AM/PLM <sup>+</sup>	NS	NS	Forma III (heptano)
2	Acetona:agua (10%)	CB	Forma I	CB <sup>§</sup>	CB <sup>§</sup>	CB	NS (heptano)
3	Acetonitrilo	Forma I*	AM/PLM <sup>+</sup>	AM/PLM <sup>+</sup>	NS	NS	Forma III (tBME)
4	1-Butanol	Forma I	NS	AM/PLM <sup>+</sup>	NS	NS	AM/PLM (heptano)
5	Ciclohexano	AM	NS	NS	NS	NS	NS (heptano)
6	Diclorometano	Forma I	AM/PLM <sup>+</sup>	AM	NS	PLM	AM/PLM (heptano)
7	Éter diisopropílico	Forma I	NS	NS	NS	NS	NS (heptano)
8	Dimethylformamida	Forma V	Forma I	Forma V	NS	NS	WD (tBME)
9	Dimethylsulfóxido	Forma VI	Forma VII	Forma III (WD)	NS	AM/PLM <sup>#†</sup>	AM (agua)
10	1,4-Dioxano	Forma IV	NS	AM/PLM <sup>+</sup>	NS	NS	NS (heptano)
11	Etanol	Forma I	AM/PLM <sup>†</sup>	AM	Forma III <sup>^</sup>	PLM	Forma III (heptano)
12	Acetato de etilo	Forma I	NS	NS	NS	NS	AM/PLM (heptano)
13	Heptano	AM	NS	NS	NS	NS	NS (tBME)
14	Acetato de isopropilo	Forma I	NS	NS	NS	NS	AM/PLM (heptano)
15	3-Metil-1-butanol	Forma I	AM/PLM <sup>+</sup>	AM/PLM <sup>+</sup>	NS	NS	AM/PLM (heptano)
16	Metiletilcetona	Forma I	AM/PLM <sup>+</sup>	AM	NS	NS	AM (heptano)
17	Metilisobutilcetona	Forma I	NS	NS	NS	NS	AM/PLM (heptano)
18	N-Metil-2-pirrolidona	Forma I	NS	NS	NS	NS	AM (tBME)
19	Nitrometano	Forma I	AM/PLM	AM/PLM	NS	PLM	AM (tBME)
20	2-Propanol	Forma I	AM	AM	NS	NS	AM/PLM (heptano)
21	Éster de terc-Butilo y metilo	Forma I	NS	NS	NS	NS	NS (heptano)
22	Tetrahidrofurano	Forma I	AM/PLM <sup>#</sup>	AM/PLM <sup>#</sup>	NS	NS	AM (heptano)
23	Tolueno	Forma I	NS	NS	NS	NS	NS (heptano)
24	Agua	CB	NS	NS	NS	NS	NS

AM - sólido amorfo

NS - no se observa sólido

AM/PLM - amorfo por XRPD, birrefringencia observada por PLM

5 CB - Compuesto 1 base libre

PLM - birrefringencia por PLM

WD - dato débil

- \* - escasamente cristalino
- + - morfología no clara
- ^ - solo 2 picos presentes; morfología de tipo agujas
- # - morfología de tipo placas
- 5 † - similar a la forma VI
- ‡ - morfología de tipo varillas
- § - picos ausentes

## Ejemplo 13

Cribado secundario de polimorfos de la sal de hidrobromuro y evaluación de la capacidad de desarrollo

- 10 Se obtuvo la forma III de la sal de hidrobromuro del compuesto I (1 equiv.) durante el cribado primario de polimorfos de múltiples experimentos. Por lo tanto, esta forma se llevó al aumento de escala y análisis adicional.

- 15 Preparación de la forma III de la sal de hidrobromuro. Se suspendieron aproximadamente 500 mg del material de sal de HBr del compuesto 2 amorfo en aprox. 6 ml de acetonitrilo. Después la suspensión se sometió a ciclos de temperaturas entre 4 y 25°C en ciclos de cuatro horas durante aprox. 2 días. Se llevó a cabo el análisis del cribado secundario en el material cuando estaba húmedo, debido a la inestabilidad de la forma III.

- 20 Durante el aumento de escala de la forma III de la sal de hidrobromuro, el material permanecía de color amarillo. El análisis de XRPD mostró que el material producido en el aumento de escala era cristalino y estaba de acuerdo con el difractograma de la forma III de la sal de hidrobromuro de pequeña escala. El análisis de PLM indicaba cristales en forma de aguja, birrefringentes cuando estaban húmedos. La microscopía térmica en etapas indicaba que al separarse el disolvente por secado entre 40 y 50°C, la morfología del cristal cambiaba a cristales más similares a varillas. A aprox. 250°C se observaba que el material se fundía. Para el análisis de TGA/DTA, se puso una muestra húmeda de la forma III en el platillo de TGA. Se observó una pérdida de peso inicial de 10,3% debido al disolvente no unido. El cambio de forma que ocurre entre 40 y 50°C por microscopía térmica en etapas estaba enmascarada por la pérdida de disolvente. Se observó una endoterma adicional que correspondía a la forma I de la sal de hidrobromuro de inicio a aprox. 239°C (pico a aprox. 245°C). El análisis de DSC indicaba una endoterma inicial desde el inicio hasta aproximadamente 100°C. Se observaba una endoterma final de inicio a aprox. 233°C (pico a aprox. 247°C), que parecía estar de acuerdo con el fundido de la forma I. La espectroscopía de IR indicaba diferencias muy pequeñas entre los espectros de IR de las formas I y III.

El análisis de DVS mostraba las siguientes observaciones:

- 30 - Ciclo 1 - Sorción 20-90% de HR

La muestra absorbe gradualmente aprox. 1,045% de masa.

- Ciclo 2 - Desorción 90-0% de HR

Entre 90-0% de HR, la masa de muestra disminuye gradualmente en aprox. 1,983%.

- Ciclo 3 - Sorción 0-20% de HR

- 35 Absorción de humedad de aprox. 0,535% entre 0-20% de HR.

- 40 Se observaba que el material era ligeramente higroscópico. El XRPD después de DVS indicaba que el material se convertía en la forma I de la sal de hidrobromuro durante el análisis de DVS. La espectroscopía de RMN de <sup>1</sup>H llevada a cabo en DMSO mostraba un espectro que correspondía a la forma I de la sal de hidrobromuro. El análisis de KF indicaba la presencia de 1,4% de agua. El análisis de la pureza por HPLC indicaba una pureza de aprox. 99,43%. La cromatografía iónica indicaba la presencia de 12,17% de bromuro (aprox. 12,57% necesario para 1 equivalente).

- 45 El análisis de XRPD llevado a cabo en los sólidos del experimento de solubilidad termodinámica que quedaban después de 24 horas, indicaba que para los experimentos a pH 6,6 y 4,5, la forma III de la sal de hidrobromuro se convertía en una forma de hidrato de base libre, el sólido del experimento a pH 3,0 se convertía en amorfo y el sólido del experimento a pH 1 permanecía predominantemente de acuerdo con la forma III del hidrobromuro, con algo de pérdida de cristalinidad.

- 50 Estudios de estabilidad de 7 días a 25°C, 80°C, 40°C/75% de HR (condiciones abiertas y cerradas). Se pusieron aproximadamente 15 mg de la forma III en viales y después se expusieron a entornos de 25°C, 80°C, 40°C/75% de HR (viales abiertos y cerrados) durante 1 semana para determinar la estabilidad. Los sólidos resultantes se analizaron por XRPD y HPLC para establecer si se había producido algún cambio. Los estudios de estabilidad de 1 semana llevados a cabo en viales abiertos y cerrados a 25°C, 80°C, 40°C/75% de HR, indicaban los siguientes resultados:

Tabla 14. Estudios de estabilidad de 7 días (recipiente abierto)

Condiciones	Pureza	Análisis de XRPD
40°C/75% HR	98,3%	Forma I
80°C	98,7%	Forma I (algo de pérdida de cristalinidad)
25°C	98,2%	Forma I

Tabla 15. Estudios de estabilidad de 7 días (recipiente cerrado)

Condiciones	Pureza	Análisis de XRPD
40°C/75% HR	99,0%	Forma I
80°C	99,0%	Forma I
25°C	98,9%	Forma I

5 A partir de la caracterización llevada a cabo en la forma III, se determinó que esta forma era una forma metaestable, probablemente forma anhidra de la sal de hidrobromuro. Se observó que la forma III era muy inestable produciéndose la conversión a la forma I tras aislamiento y secado del material.

10 Estudios de solubilidad termodinámica. Se crearon suspensiones de la forma III en medios de diferentes pH (pH 1; pH 3; pH 4,5 y pH 6,6) y se agitaron durante aprox. 24 horas. Después de 24 horas, las suspensiones se filtraron y la solución se analizó por HPLC con el fin de determinar la solubilidad a diferentes niveles de pH. Para las disoluciones de tampones, se usó KCl/HCl para pH 1 y combinaciones de citrato/fosfato para pH 3, 4,5 y 6,6 (10 mM). El pH de las disoluciones también se midió antes del análisis de HPLC. Se llevó a cabo el análisis de XRPD en los sólidos que quedaban después de 24 horas de agitación.

15 Los experimentos de solubilidad termodinámica llevados a cabo en tampones a pH 1, 3,0, 4,5 y 6,6, indicaban los siguientes resultados:

Tabla 16. Estudios de solubilidad termodinámica.

pH del tampón	pH antes del análisis	Solubilidad (mg/ml)
1	0,95	13,88
3	1,53	0,84
4,5	1,79	0,28
6,6	1,79	0,42

20 Experimentos de suspensión competitiva. Se configuraron experimentos de suspensión competitiva en acetona, isopropanol, acetona:agua (80:20) y acetato de isopropilo tanto a temperatura ambiente (aprox. 22°C) como a 60°C. Se pusieron aproximadamente 200 mg de cada uno de los materiales de las formas I y III en un vial y se añadieron 4 ml del sistema de disolventes adecuado para producir una suspensión. Para cada experimento, las suspensiones se dejaron agitar durante aprox. 3 días. Después se llevó a cabo el análisis por XRPD para determinar la forma del sólido resultante. Los experimentos de suspensión competitiva de la forma I frente a la forma III se llevaron a cabo en 4 sistemas de disolventes y los sólidos resultantes se analizaron por análisis de XRPD (figura 82 y figura 83). Los resultados se resumen en la tabla 17.

Tabla 17. Resumen de los resultados de los experimentos de suspensión competitiva

Formas entrantes	Disolvente	Temperatura	Resultado
I y III	Acetona	TA (aprox. 22°C)	Forma I
I y III	Acetona	60°C	Forma I
I y III	Isopropanol	TA (aprox. 22°C)	Forma I
I y III	Isopropanol	60°C	Forma I
I y III	Acetona:agua (80:20)	TA (aprox. 22°C)	Forma VIII
I y III	Acetona:agua (80:20)	60°C	Forma VIII
I y III	Acetato de isopropilo	TA (aprox. 22°C)	Forma I
I y III	Acetato de isopropilo	60°C	Forma I

30 A partir de los experimentos de suspensión competitiva, se encontró que la forma I era la forma termodinámicamente más estable en acetona, isopropanol y acetato de isopropilo tanto a temperatura ambiente como a 60°C. En acetona:agua (80:20), se producía la conversión a una forma no identificada (marcada como forma VIII).

Caracterización de la forma VIII. Se hizo una evaluación inicial de la forma VIII, obtenida de los experimentos de suspensión competitiva de las formas I y III en acetona:agua (80:20), con el fin de determinar la naturaleza de la

5 forma y evaluar si está de acuerdo con el material base libre o la sal de HBr. El material resultante de los experimentos de suspensión competitiva aparecía de color amarillo claro. El análisis de PLM indicaba material birrefringente sin morfología claramente definida. Después de secado a vacío durante aprox. 24 horas, el TGA/DTA indicaba una pérdida de peso de 5,2% desde el inicio seguido de una segunda pérdida de peso de 1,2%, con endotermas en la señal de DTA a aprox. 40°C y aprox. 96°C. Se observaba una endoterma final en la señal de DTA de inicio a aprox. 184°C (pico a aprox. 194°C). Se observó cambio muy pequeño por microscopía térmica en etapas antes de la fusión a aprox. 197°C. El análisis de DSC indicaba una endoterma ancha que empezaba desde el inicio (pico a aprox. 93°C) seguido de una segunda endoterma con pico a aprox. 140°C y una tercera endoterma de inicio a aprox. 178°C (pico a aprox. 193°C). La cromatografía iónica indicaba un contenido de bromuro de 12,8% (aproximadamente 1 equivalente).

15 Con el fin de examinar el efecto de la desolvatación/deshidratación de la forma VIII, el material se calentó a 150°C en un platillo de TGA y después se llevó a cabo el análisis de XRPD. La forma polimórfica parecía que seguía siendo la misma. Después de calentar a 150°C y llevar a cabo en análisis de XRPD, se llevó a cabo de nuevo el análisis de TGA en el mismo material y mostró una pérdida de peso de 6,0% desde el inicio seguido de una segunda pérdida de peso de 0,9%, con endotermas en la señal de DTA a aprox. 42°C y 96°C. Se observó una endoterma final en la señal de DTA al inicio de aprox. 186°C (pico a aprox. 194°C) La muestra parecía que se rehidratava cuando se exponía a condiciones atmosféricas. Esto explicaría probablemente la similitud entre los difractogramas de XRPD antes y después de la desolvatación/deshidratación.

20 Estudios de hidratación a 55°C. Se crearon suspensiones usando aprox. 200 mg del material de sal de la forma I en 2 ml del sistema de disolventes adecuado. Estas se agitaron a aprox. 55°C durante 6 horas. Los sistemas de disolventes usados se dan en la tabla 18.

Tabla 18. Sistemas de disolventes para los estudios de hidratación a 55°C

Sistema de disolventes
Etanol:agua (1%)
Etanol:agua (2%)
Etanol:agua (5%)
Etanol:agua (10%)
IPA/acetona (9:1):agua (1%)
IPA/acetona (9:1):agua (2%)
IPA/acetona (9:1):agua (5%)
IPA/acetona (9:1):agua (10%)

25 Después de los estudios de hidratación, el material se analizó por XRPD para determinar si se había producido hidratación o dismutación a los diferentes niveles de actividad de agua. El análisis de XRPD de las muestras en EtOH:agua puso de manifiesto que con 1, 2 y 5% de agua, los difractogramas resultantes correspondían a la forma I del material de sal de HBr introducido. Con 10% de agua, se formaba el hidrato de HBr. Surgía el mismo patrón para las muestras en suspensión en mezclas de IPA/acetona(9:1):agua, donde con 1, 2 y 5% de agua los difractogramas resultantes correspondían a la forma I de la sal de HBr introducida, sin embargo, con 10% de agua, se obtenía el hidrato de HBr. Los difractogramas se pueden ver en la figura 84 y figura 85.

30 Estudios de hidratación a 15°C y 35°C. Se crearon suspensiones usando aprox. 200 mg de material de sal de forma I en 2 ml del sistema de disolventes adecuado. Estas se agitaron a aprox. 15°C y aprox. 35°C durante 24 horas. Los sistemas de disolventes usados se dan en la tabla 19.

Tabla 19. Sistemas de disolventes para los estudios de hidratación a 15°C y 35°C

Sistema de disolventes	Temperatura
Etanol:agua (2%)	35°C
Etanol:agua (2%)	15°C
IPA/acetona (9:1):agua (2%)	35°C
IPA/acetona (9:1):agua (2%)	15°C

35 Después de los estudios de hidratación, el análisis de XRPD de las muestras puso de manifiesto que los difractogramas resultante correspondían a la forma I de la sal de HBr y no se producía hidratación con el nivel de agua de 2%. Los difractogramas se pueden ver en la figura 86.

40 Los resultados del cribado de polimorfos para la sal de hidrobromuro del compuesto 1 (hidrobromuro del compuesto 2) se representan en la figura 87. El hidrobromuro del compuesto 2 existe en ocho (8) formas sólidas diferentes, que incluyen formas amorfas, anhidras, solvatadas e hidratadas. La figura 87 ilustra la interconversión entre varias de las formas identificadas, presentando la forma I estabilidad particular en una variedad de condiciones.



## Ejemplo 14

## Estudio PK 1 en perros

La base libre del compuesto 1 y el compuesto 2, como la forma I de la sal de monohidrobromuro (HBr), se evaluaron en un estudio PK cruzado en perros. La cápsula de la base libre del compuesto 1 consistía en la base libre del compuesto 1 en vitamina E TPGS y PEG400 cargados en una cápsula. La cápsula de la forma I de la sal de hidrobromuro consistía en la forma I del HBr sola cargada en una cápsula.

La cápsula de la base libre del compuesto 1 y la cápsula de la forma I del HBr se administraron por vía oral en 28,5 y 24,5 mg/kg (como principio activo) 1 vez al día, respectivamente, a tres perros beagle macho, que habían recibido tratamiento anteriormente, en ayunas (intervalo de peso corporal: 10,1 - 10,8 kg) con un periodo de lavado de 5 días. Se administraron aproximadamente 5 ml de agua corriente por vía oral para impulsar la deglución y asegurar el suministro de las cápsulas al estómago. Se recogieron muestras de plasma antes de la dosis y a las 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de la dosis. Las concentraciones plasmáticas del compuesto 1 se determinaron mediante un método de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS). Los resultados se proporcionan en la tabla 20.

Cuando se administra por vía oral el compuesto 1 a perros en ayunas en 24,5 - 28,5 mg/kg 1 vez al día, la exposición al compuesto 1 (basado en la AUC y  $C_{m\acute{a}x}$ ) es significativamente mayor cuando el fármaco se administra como la forma I de la sal de HBr en comparación con la forma de la base libre.

Tabla 20. Parámetros farmacocinéticos medios (% CV) del compuesto 1 en perros en ayunas (n=3) que recibían cápsula del compuesto 1 (base libre) y cápsula del compuesto 2 (hidrobromuro forma I) por vía oral

Parámetros PK en perros	Valores de PK (% CV)	
	Cápsula de compuesto 1 (base libre) 28,5 mg/kg	Cápsula de compuesto 2 (hidrobromuro forma I) 24,5 mg/kg
$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	120*	1420 (47%)
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	1* (mediana)	2 (mediana)
AUC <sub>0-24</sub> (ng.h/ml)	278*	5260 (74%)
$T_{1/2}$ (h)	2,1*	2,4

\* El perro n° 3 tuvo emesis 30 min después de la dosis. En el tiempo de medición de 1 h, se encontró una cápsula parcial bajo su jaula. Por lo tanto, los datos del perro n° 3 no se incluyeron en el cálculo de los parámetros PK.

## Ejemplo 15

## Estudio PK 2 en perros

La base libre del compuesto 1 y el compuesto 2, como la forma I de la sal de monohidrobromuro (HBr), se evaluaron en un estudio PK cruzado en perros, en el que perros macho se trataron previamente con pentagastrina (para disminuir el pH gástrico) o famotidina (para aumentar el pH gástrico) antes de la administración oral para controlar el pH gástrico. Además, también se evaluó el efecto del alimento en la exposición sistémica al compuesto 1 en perros que recibían la forma I del HBr con pretratamiento de pentagastrina. La cápsula de la base libre del compuesto 1 consistía en la base libre del compuesto 1 en vitamina E TPGS y PEG400 cargados en una cápsula. La cápsula de la forma I de la sal de hidrobromuro consistía en la forma I del HBr sola cargada en una cápsula.

Las cápsulas de base libre del compuesto 1 y forma I de HBr se administraron por vía oral en 30 mg/kg (como principio activo) 1 vez al día a tres perros beagle macho, que habían recibido tratamiento anteriormente (intervalo de peso corporal: 9,6 - 10,5 kg) a los que se trató previamente con administración de 1) pentagastrina y en ayunas, 2) famotidina y en ayunas, o 3) pentagastrina y alimentados. Había un periodo de lavado mínimo de 6 días entre dosis. El día de la administración en condiciones con alimento, se dio a los perros 60 gramos de una dieta con alto contenido en grasa (Harlan Teklad 2027C) y se dejó que consumieran todo el alimento en 15-20 minutos. Se dio a los animales un periodo de descanso de 10 minutos y después se administraron las dosis en las cápsulas. Se recogieron muestras de plasma antes de la dosis y a las 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de la dosis. Los resultados se proporcionan en la tabla 21.

Cuando se administró el compuesto 1 por vía oral a perros, 30 mg/kg 1 vez al día, la exposición al compuesto 1 era significativamente mayor cuando el fármaco se administraba como la sal de HBr en comparación con la forma de base libre, en condiciones de pH gástrico tanto bajo como alto. En perros que recibían las cápsulas de la base libre en condiciones de pH gástrico alto, se observó una reducción de 32 a 48 veces en la exposición al compuesto 1 en comparación con aquellos en condiciones de pH bajo. El efecto de la variación de pH en la exposición sistémica al compuesto 1, medido como la  $C_{m\acute{a}x}$  y AUC, se minimizaba mucho cuando se administraba la forma I del HBr. La administración de la forma I del HBr dio como resultado un aumento de la  $C_{m\acute{a}x}$  y AUC, del compuesto 1 en perros.

Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos medios (% CV) del compuesto 1 en perros (n=3) que recibían cápsula del compuesto 1 (base libre) y cápsula del compuesto 2 (hidrobromuro forma I) por vía oral después de tratamiento de ajuste del pH gástrico

Tratamiento de perros antes de la administración de dosis	Valores de PK (% CV)			
	Cápsula de compuesto 1 (base libre)		Cápsula de compuesto 2 (hidrobromuro forma I)	
	$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	AUC <sub>0-24</sub> (ng.h/ml)	$C_{m\acute{a}x}$ (ng/ml)	AUC <sub>0-24</sub> (ng.h/ml)
Pentagastrina, ayunas	1820 (20%)	7810 (73%)	2860 (39%)	9450 (31%)
Famotidina, ayunas	57 (24%)	163 (3%)	1180 (20%)	4010 (54%)
Pentagastrina, alimento	No administrado	No administrado	3970 (28%)	13900 (26%)

Ejemplo 16

Administración a voluntarios sanos

5 El objetivo principal del estudio es comparar los perfiles farmacocinéticos (PK) del compuesto 1 de las dosis individuales de las formulaciones de la forma I del monohidrobromuro con los de la base libre del compuesto 1 en varones adultos sanos.

10 Este es un estudio de una sola dosis, abierto, no aleatorizado, de un solo centro, en sujetos varones sanos. Los sujetos se cribarán según los criterios de admisión para participar en el estudio, hasta 28 días antes de la administración de dosis. Se admitirá a los sujetos en la unidad clínica aproximadamente a las 09:00 de la mañana el día anterior a la administración de dosis (día -1) y permanecerán en el sitio hasta 24 h después de cada dosis. Cada sujeto tendrá una consulta de seguimiento de 4 a 6 días después de la dosis final.

En un esfuerzo para obtener los datos descritos antes, se administrará la dosis a un grupo de 12 sujetos. Cada sujeto recibirá las siguientes formulaciones en una investigación cruzada. Las dosis estarán separadas por al menos 7 días.

- 15
- Régimen A: Cápsula de compuesto 1 (base libre) de 150 mg
  - Régimen B: 50 mg como formulación de comprimido del compuesto 2 activo (forma I HBr)
  - Régimen C: ≤150 mg como formulación de comprimido del compuesto 2 activo (forma I HBr)

20 Todas las formulaciones se administrarán por la mañana, después de ayuno durante la noche. Se permitirá el agua a los sujetos hasta 2 h antes del tiempo de administración programado y se proporcionará 240 ml de agua 2 h después de la dosis. Se permitirán fluidos descafeinados a voluntad desde la comida el día de la administración.

Si por razones técnicas la administración se retrasa en más de 2 h más allá del tiempo de administración esperado, los sujetos recibirán 200 ml de Lucozade Sport en el tiempo de administración programado originalmente, o más temprano si es posible.

25 Se proporcionará a los sujetos un tentempié ligero y después ayunarán de todo alimento y bebida (excepto agua) durante un mínimo de 8 h el día antes de la dosis hasta aproximadamente 4 h después de la dosis, momento en el que se les proporcionará la comida. Se proporcionará una comida por la tarde aproximadamente 9 h después de la dosis y un tentempié por la tarde aproximadamente 14 h después de la dosis. Los días posteriores, se proporcionarán las comidas en los tiempos adecuados.

30 Se extraerán muestras de sangre venosa mediante una cánula permanente o mediante venopunción en los siguientes tiempos después de la dosis (horas): 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 8, y 12.

35 El criterio de valoración principal del estudio es comparar los perfiles PK de una formulación de la forma I del HBr con la del compuesto 1 en forma de base libre, midiendo los siguientes parámetros:  $T_{lag}$ ,  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $T_{m\acute{a}x}$ , AUC<sub>(0-último)</sub>, AUC<sub>(0-inf)</sub>, AUC%<sub>extrap</sub>,  $F_{rel}$ ,  $\lambda$ -z,  $T_{1/2el}$ . El criterio de valoración secundario del estudio es recoger información sobre la seguridad y tolerabilidad del compuesto 1 (base libre) y el compuesto 2 (forma I de la sal de HBr) evaluando: exploraciones físicas, ensayos de laboratorio de seguridad, signos vitales, electrocardiogramas (ECG), temperatura corporal y AA.

40 Los datos de concentración plasmática se tabularán y representarán gráficamente para cada sujeto para el que las concentraciones sean cuantificables. El análisis PK de los datos de concentración y tiempo se llevarán a cabo usando las técnicas no compartimentales adecuadas para obtener estimaciones de los siguientes parámetros PK

$T_{lag}$  el tiempo de toma de muestra antes de la primera concentración cuantificable del compuesto 1 en un perfil de concentración frente a tiempo.

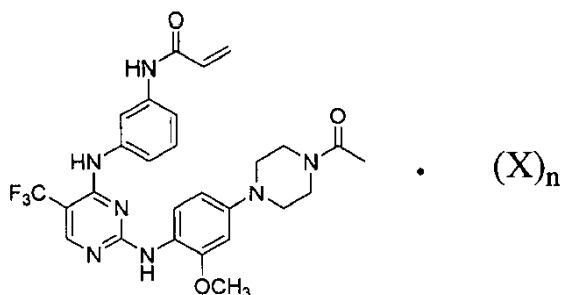
$C_{m\acute{a}x}$  la concentración plasmática máxima observada

$T_{m\acute{a}x}$  el tiempo de administración en el que se produce la  $C_{m\acute{a}x}$

- $AUC_{(0-\text{último})}$  el área bajo la curva de concentración frente a tiempo desde el tiempo cero hasta el último tiempo de medición medido
- $AUC_{(0-\text{inf})}$  el área bajo la curva de concentración frente a tiempo desde el tiempo cero extrapolado al infinito
- $AUC\%_{\text{extrap}}$  el porcentaje del  $AUC_{(0-\text{inf})}$  tenido en cuenta para la extrapolación
- 5  $AUC_{(0-\tau)}$  el área bajo la curva de concentración frente a tiempo dentro del intervalo de administración de dosis, calculado usando la regla del trapecio [lineal o lineal/log hacia abajo]
- $AUC_{(0-24)}$  el área bajo la curva de concentración frente a tiempo desde el tiempo cero hasta 24 horas después de la dosis de la mañana
- RA acumulación relativa
- 10  $F_{\text{rel}}$  biodisponibilidad relativa de las formulaciones de ensayo en comparación con la formulación de referencia, p. ej. régimen B o C (ensayo) en comparación con el régimen A (referencia)
- $\lambda\text{-z}$  pendiente de la recta de regresión que pasa por la fase de eliminación aparente en una gráfica de concentración frente a tiempo
- $T_{1/2\text{el}}$  la semivida de eliminación aparente
- 15 Evaluación de proporcionalidad de la dosis, cuando sea adecuado p. ej.,  $C_{\text{max}}/D$ ;  $AUC/D$
- La dosis inicial de 5 mg del HBr seleccionada para el régimen B (determinada por el AUC) se prevé que es la que se espera que de una exposición similar a la de 150 mg de base libre. También se espera que esta dosis proporcione menos variabilidad de un paciente a otro.
- 20 Habrá un análisis intermedio después de completarse los regímenes A y B durante el cual se revisarán los datos de seguridad, tolerabilidad y PK. Estos datos se usarán para evaluar si es necesario el ajuste de la dosis. Para proceder a la selección de la dosis, deben estar disponibles datos de seguridad de un mínimo de 8 sujetos evaluables (definidos como sujetos que han recibido el fármaco del estudio y han completado todas las evaluaciones de seguridad hasta 24 h) en un grupo, para la revisión. La dosis seleccionada para el régimen C será la que se espera que de una exposición similar a la de 150 mg de base libre. Sin embargo, si la dosis de 50 mg del HBr usada en el régimen B supera la exposición de la de 150 mg de base libre, y es bien tolerada y está dentro de los límites definidos dentro del protocolo, no se producirá el régimen C.
- 25 Si se cambia la dosis, se administrará de nuevo la formulación de la forma I del HBr en la dosis revisada (régimen C). Después seguirá un periodo de análisis intermedio para confirmar que la dosis del régimen C proporciona, 1) una dosis activa menor en comparación con el régimen A que proporciona una exposición equivalente o superior y/o
- 30 proporciona menos variabilidad de un paciente a otro, o 2) una dosis activa similar a la del régimen A con una exposición mayor y/o proporciona menos variabilidad de un paciente a otro.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto 2:



en donde:

5 n es 1 o 2; y

X es ácido bromhídrico, ácido bencenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, ácido oxálico, ácido 4-toluenosulfónico o ácido 2,4,6-trihidroxi benzoico.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es ácido bromhídrico.

10 3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma I caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 17,39, aproximadamente 19,45, aproximadamente 21,41, aproximadamente 23,56 y aproximadamente 27,45 grados 2-zeta.

15 4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma I caracterizada por sustancialmente todos los picos en un patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 9,84, 15,62, 17,39, 19,45, 20,69, 21,41, 22,38, 23,56, 25,08 y 27,45 grados 2-zeta.

5. El compuesto de la reivindicación 4, en donde el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma I caracterizada por sustancialmente todos los picos en un patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a

° 2-Zeta
3,17
3,48
3,79
5,60
7,92
8,35
9,84
11,52
14,10
15,23
15,62
16,73
17,39
18,23

° 2-Zeta
19,45
20,69
21,41
22,38
23,56
24,65
25,08
26,26
27,45
28,50
29,06
29,77
29,94
30,66

° 2-Zeta
31,35
32,45
32,82
34,18
34,80
35,35
36,01
36,82
37,61
37,96
38,55
39,13
40,04
40,64

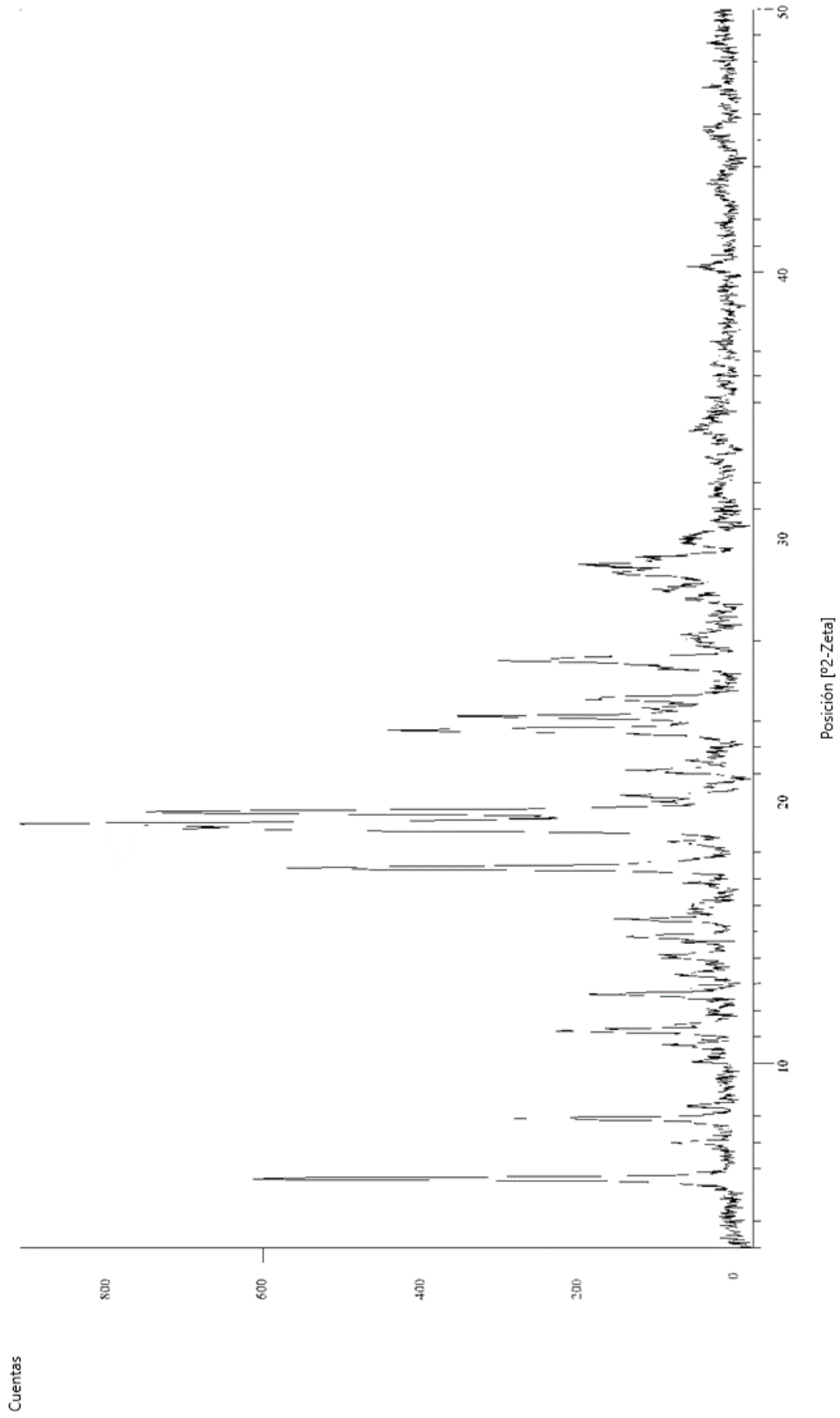
° 2-Zeta
40,86
41,03
41,39
42,16
42,48
42,78
44,28
45,34
45,59
46,57
47,20
47,51

20 6. El compuesto de la reivindicación 2, en donde (i) el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma III caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 6,79, aproximadamente 13,36, aproximadamente 19,93, aproximadamente 20,89, aproximadamente 21,90, aproximadamente 22,70, aproximadamente 22,91 y aproximadamente 26,34 grados 2-zeta, o:

25 en donde (ii) el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma IV caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 6,45, aproximadamente 12,96, aproximadamente 19,38, aproximadamente 19,79, aproximadamente 21,37 y aproximadamente 21,58 grados 2-zeta, o:

30 en donde (iii) el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma V caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 6,17, aproximadamente 6,99, aproximadamente 12,50, aproximadamente 14,14, aproximadamente 17,72 y aproximadamente 23,12 grados 2-zeta, o:

- en donde (iv) el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma VI caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 8,38, aproximadamente 9,38, aproximadamente 18,93, and aproximadamente 21,58 grados 2-zeta, o:
- 5 en donde (v) el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma VII caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 15,91, aproximadamente 19,10, aproximadamente 19,53, aproximadamente 20,24, aproximadamente 22,64 y aproximadamente 25,58 grados 2-zeta.
7. El compuesto de la reivindicación 2, en donde el compuesto es una sal de ácido bromhídrico de forma VIII caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos a aproximadamente 8,79, aproximadamente 11,13, aproximadamente 19,97, aproximadamente 21,31, aproximadamente 21,56, aproximadamente 25,30 y aproximadamente 26,65 grados 2-zeta.
- 10 8. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es ácido bencenosulfónico, preferiblemente en donde el compuesto es un hidrato, en donde además el compuesto tiene uno o más picos en un patrón de difracción de rayos X de polvo seleccionados de aquellos a aproximadamente 10,68, aproximadamente 16,10, aproximadamente 18,44 y aproximadamente 22,36 grados 2-zeta.
- 15 9. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es ácido canforsulfónico, o:  
 en donde X es ácido 1,2-etano-disulfónico, o:  
 en donde X es ácido clorhídrico, o:  
 en donde X es ácido maleico, o:  
 en donde X es ácido metanosulfónico, o:
- 20 en donde X es ácido naftaleno-2-sulfónico, o:  
 en donde X es ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, o:  
 en donde X es ácido oxálico, o:  
 en donde X es ácido p-toluenosulfónico, o:  
 en donde X es ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico.
- 25 10. Una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una composición del mismo, para usar en la inhibición de al menos un mutante del EGFR selectivamente en comparación con el EGFR de tipo natural (WT), en una muestra biológica.
- 30 12. El compuesto o composición para usar según la reivindicación 11, en donde dicho compuesto es moderado para el EGFR WT, o:  
 en donde el al menos un mutante es un mutante activante, un mutante de eliminación, una mutación puntual o un mutante seleccionado de T790M, delE746-A750, L858R, G719S.
- 35 13. Una composición según la reivindicación 10 para usar en el tratamiento de un trastorno o afección mediado por un mutante de EGFR, preferiblemente en donde el trastorno o afección es un cáncer.



**Figura 1**

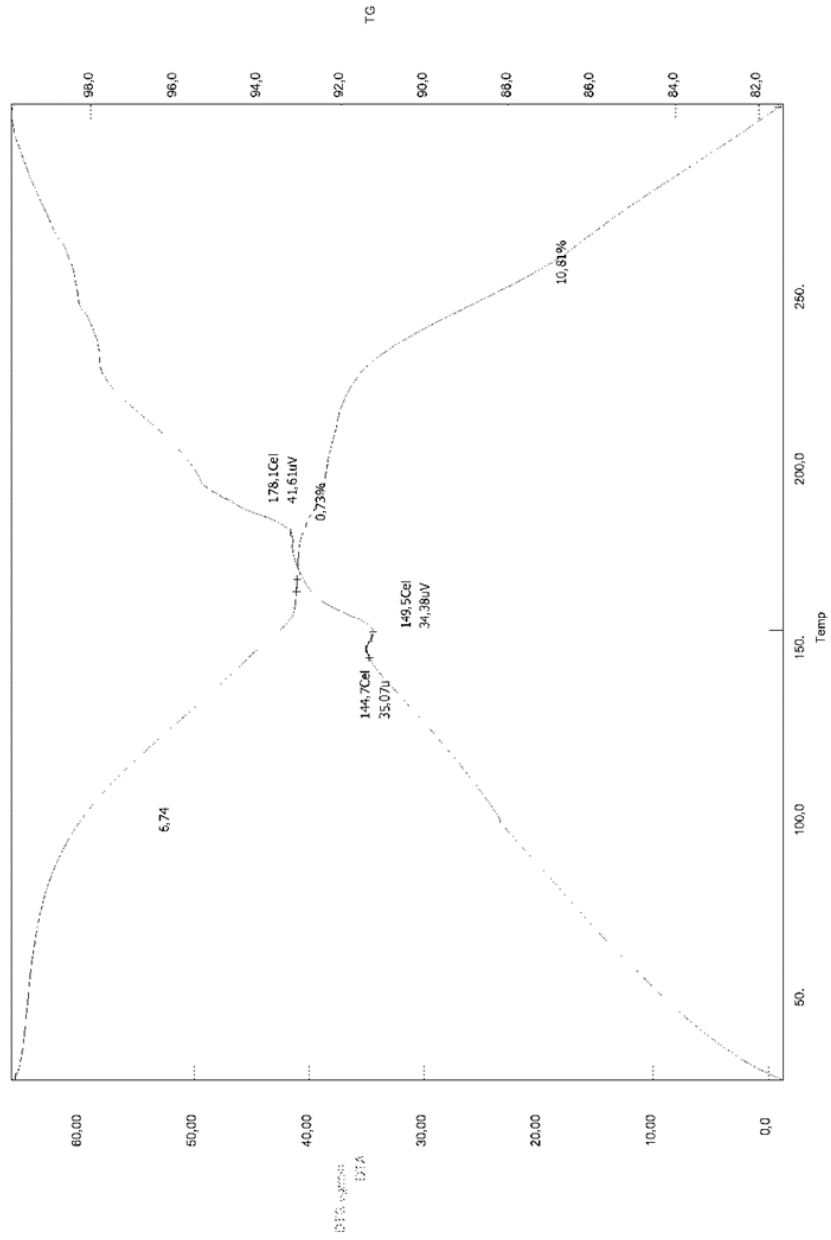


Figure 2

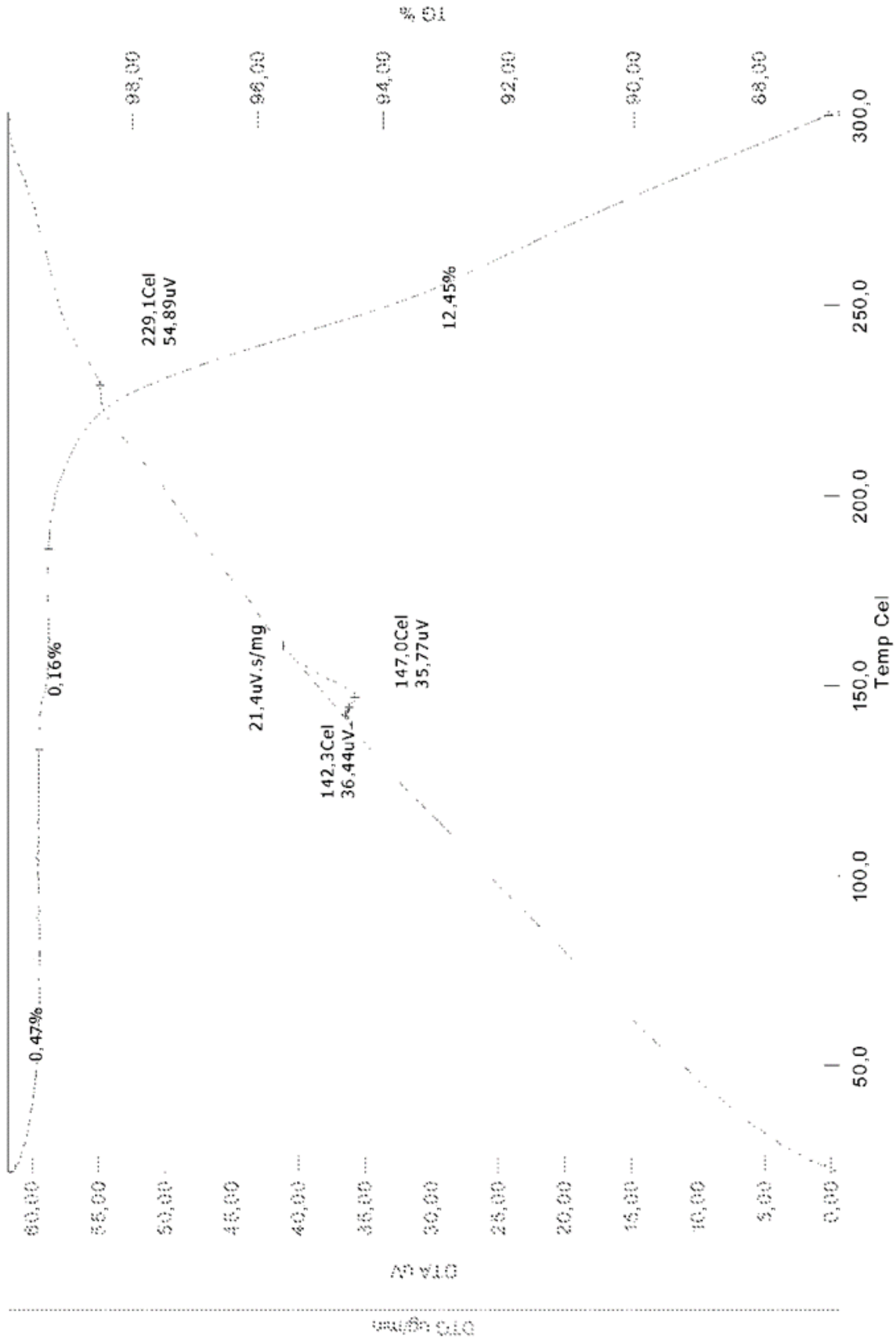


Figura 3



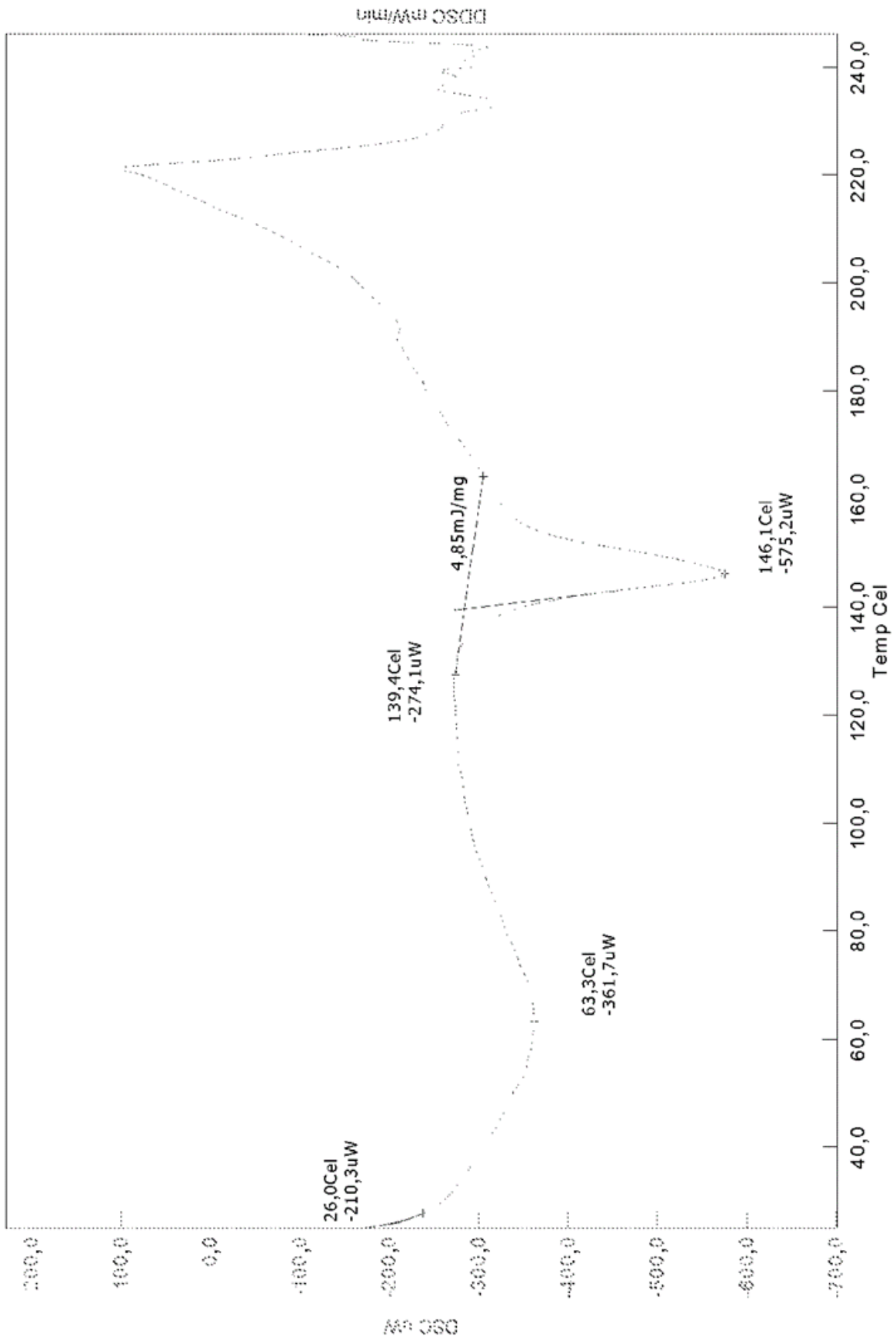
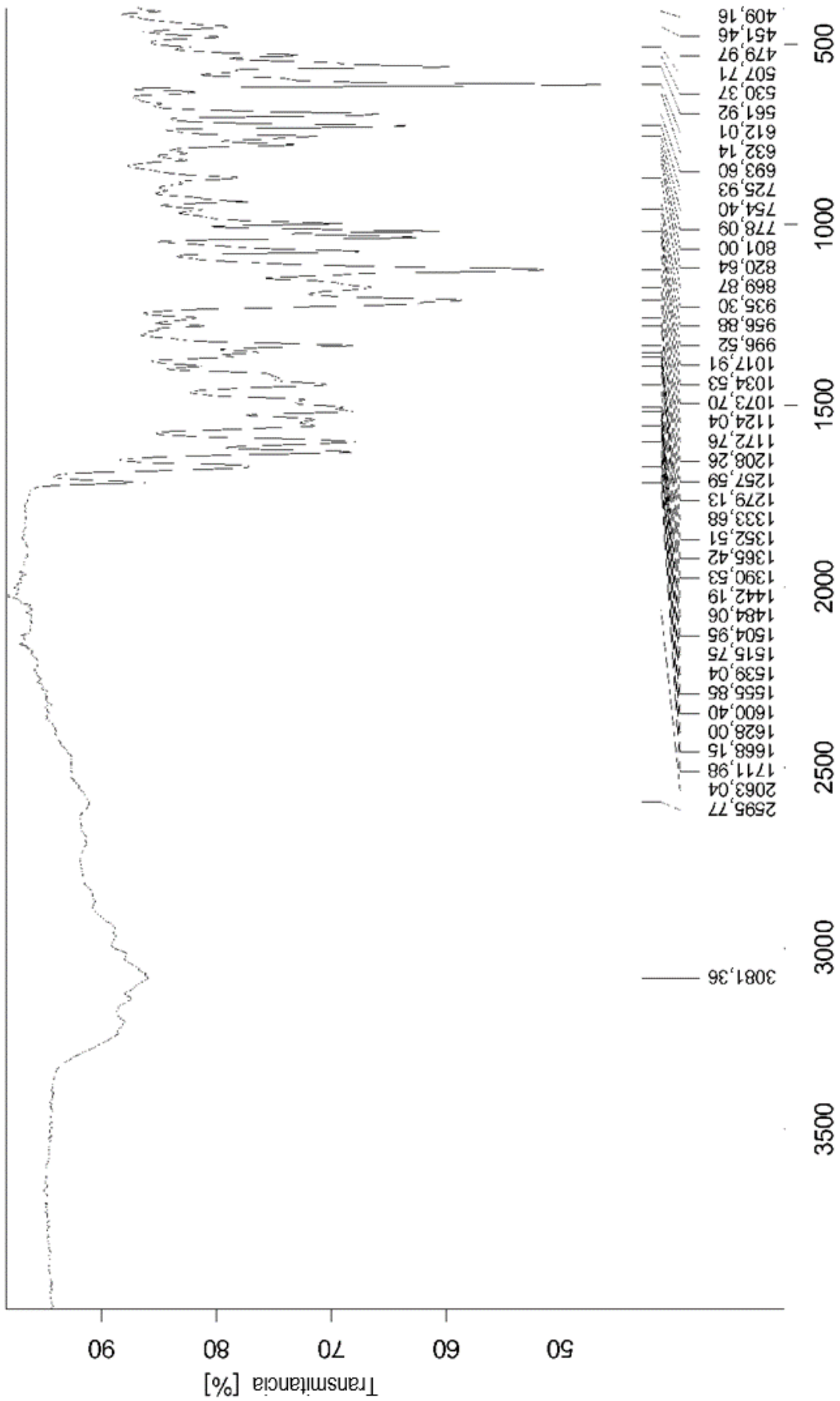


Figura 4



Número de onda cm-1

Figura 5

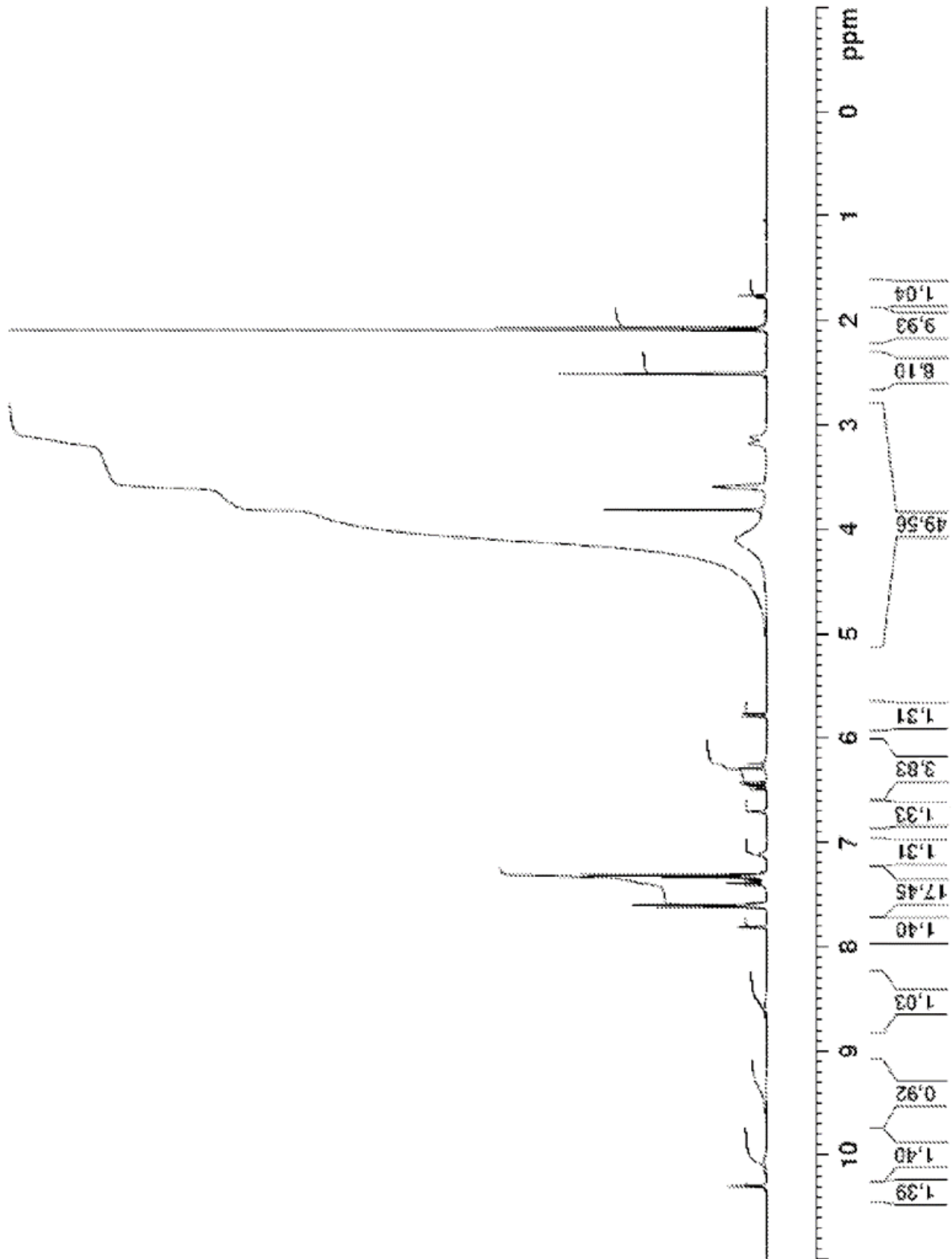


Figura 6

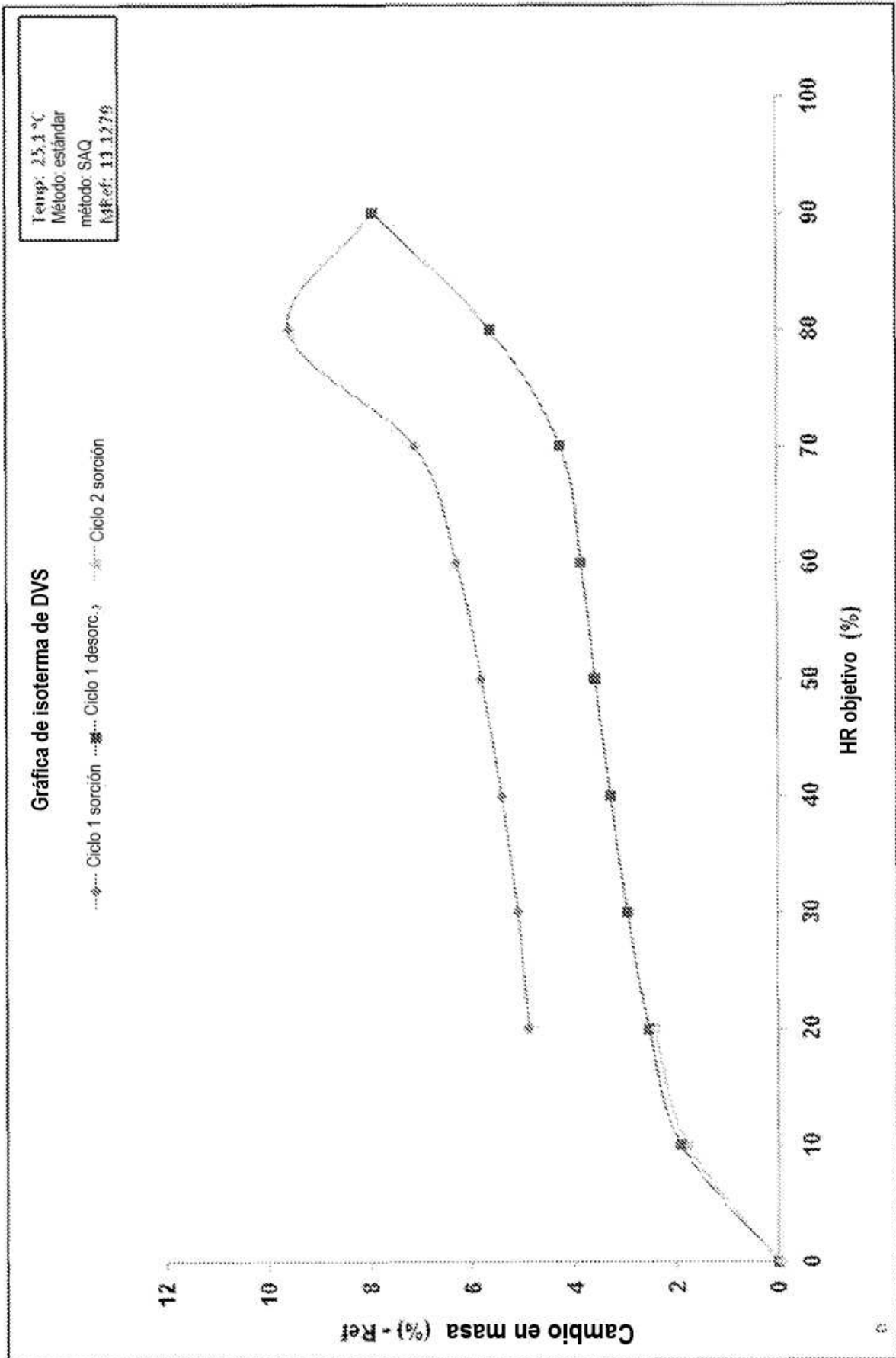


Figura 7

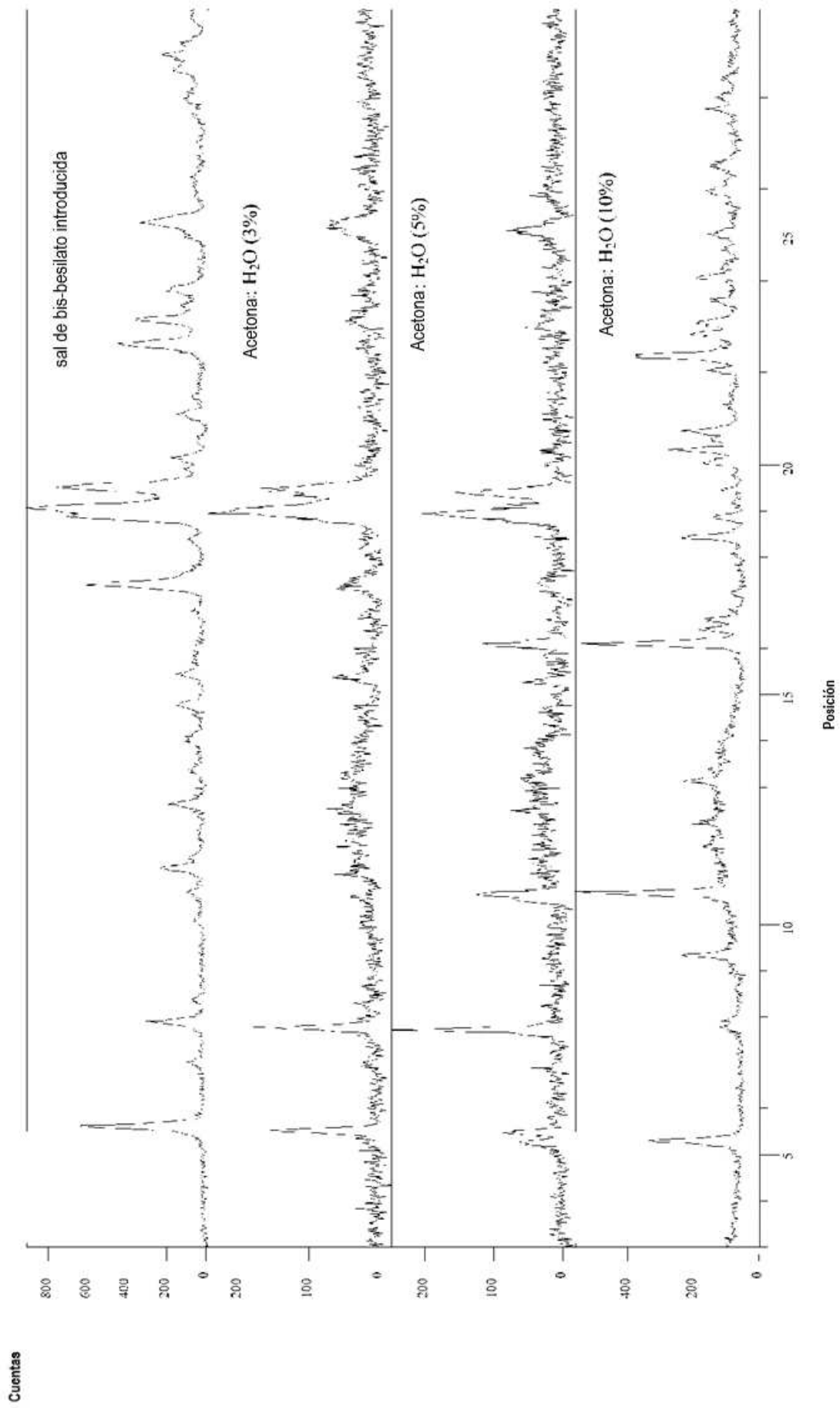


Figura 8

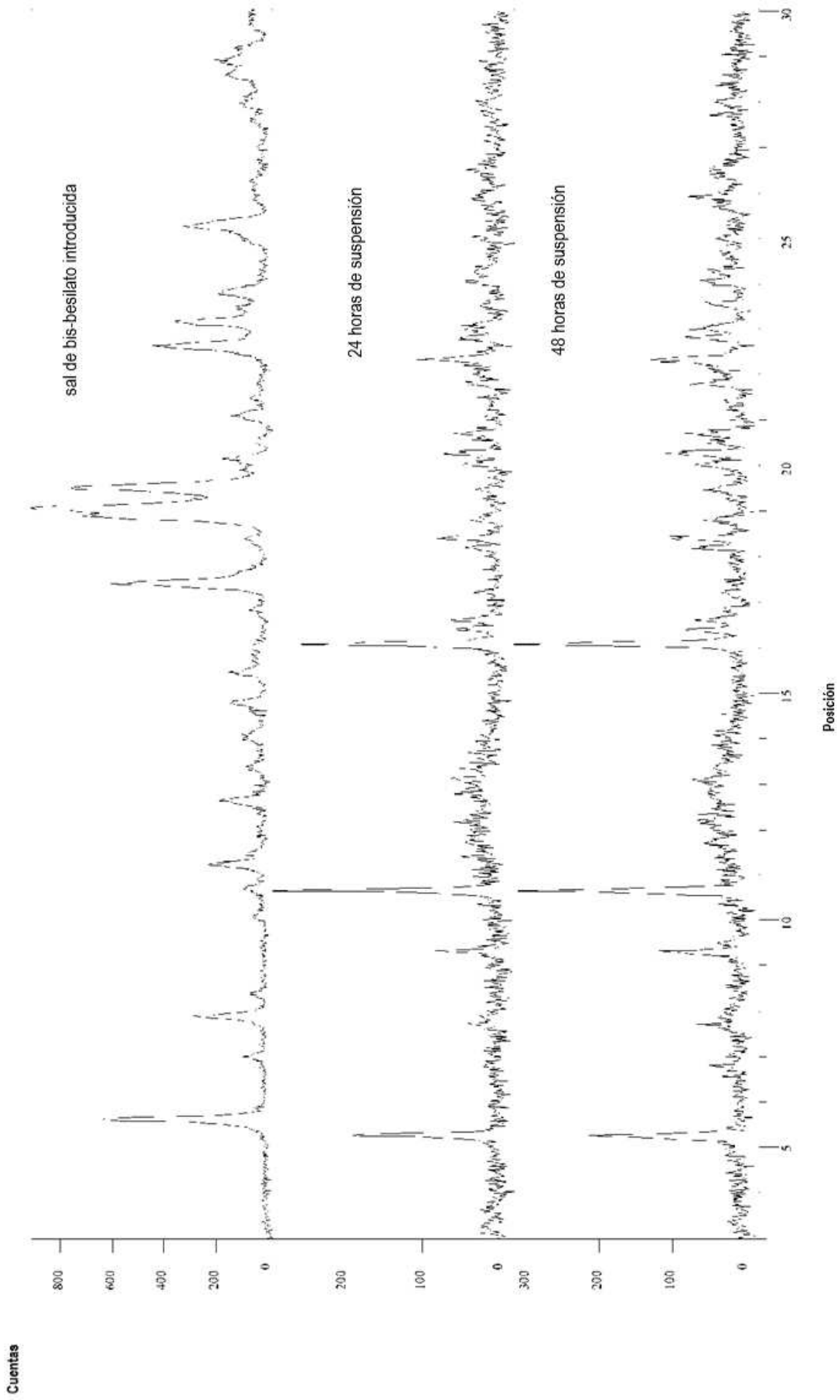
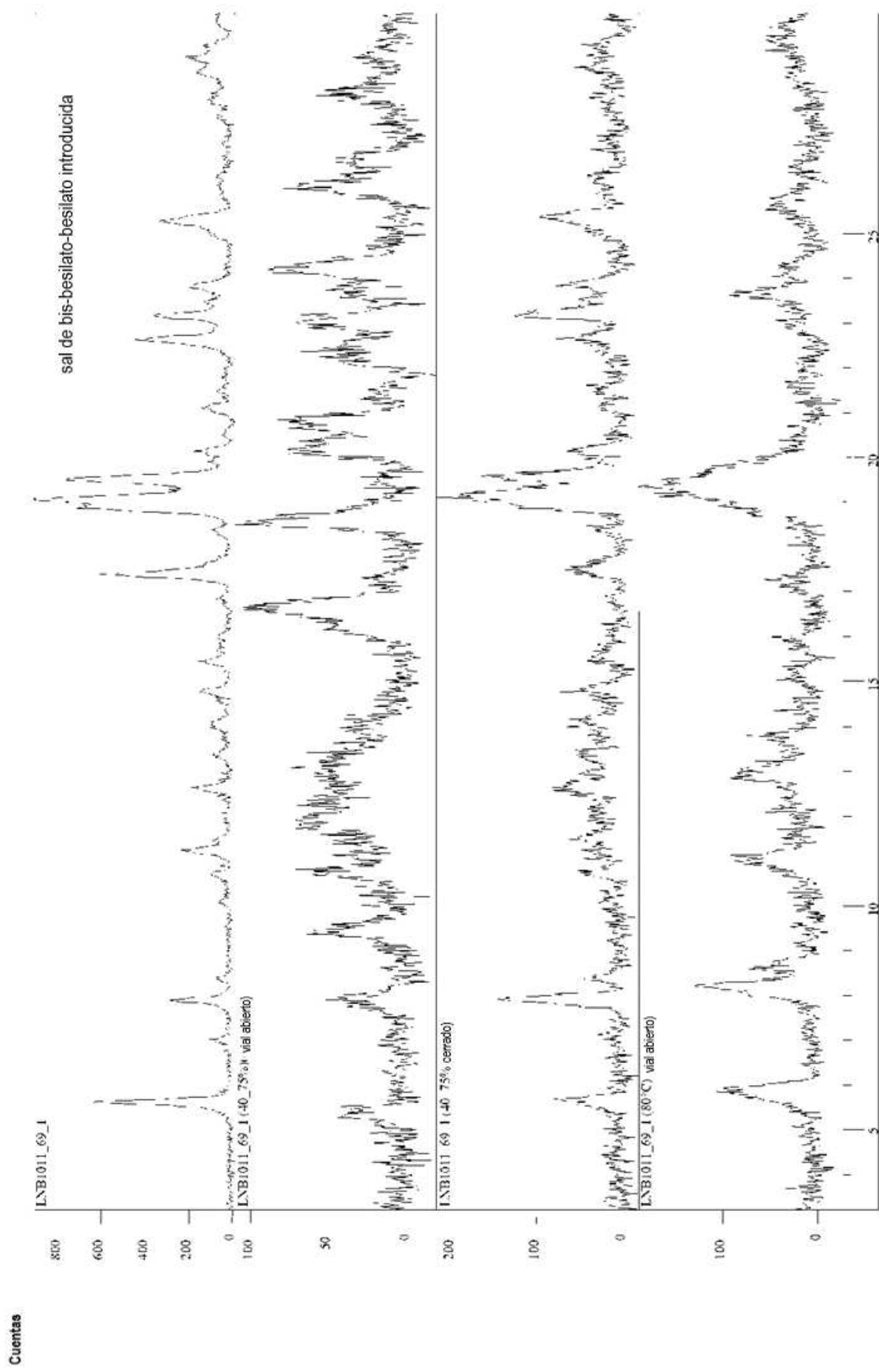
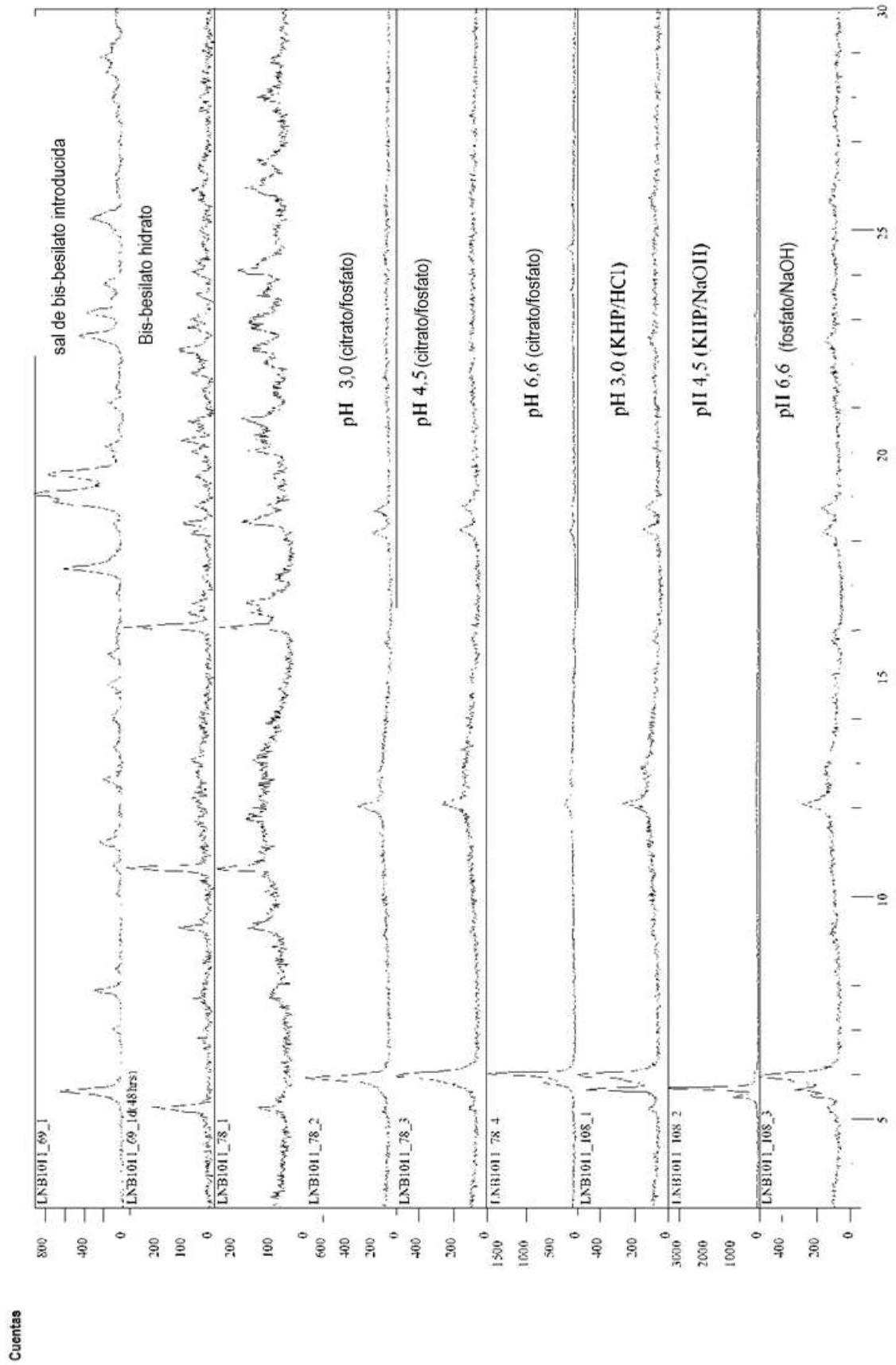


Figura 9



Posición [° 2-Zeta]

Figura 10

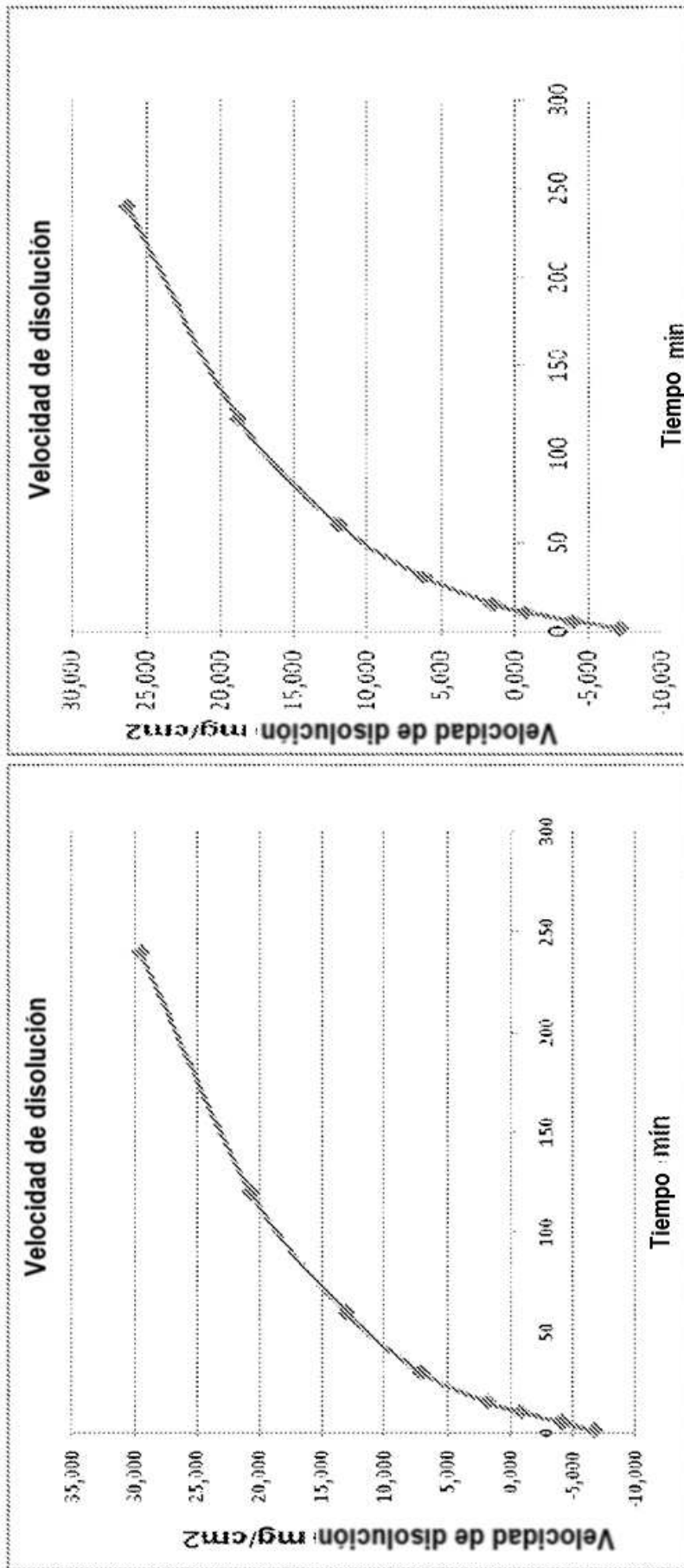


Posición [ 2-Zeta]

Figura 11

Cuentas





Comprimido 2

Comprimido 1

Figura 12

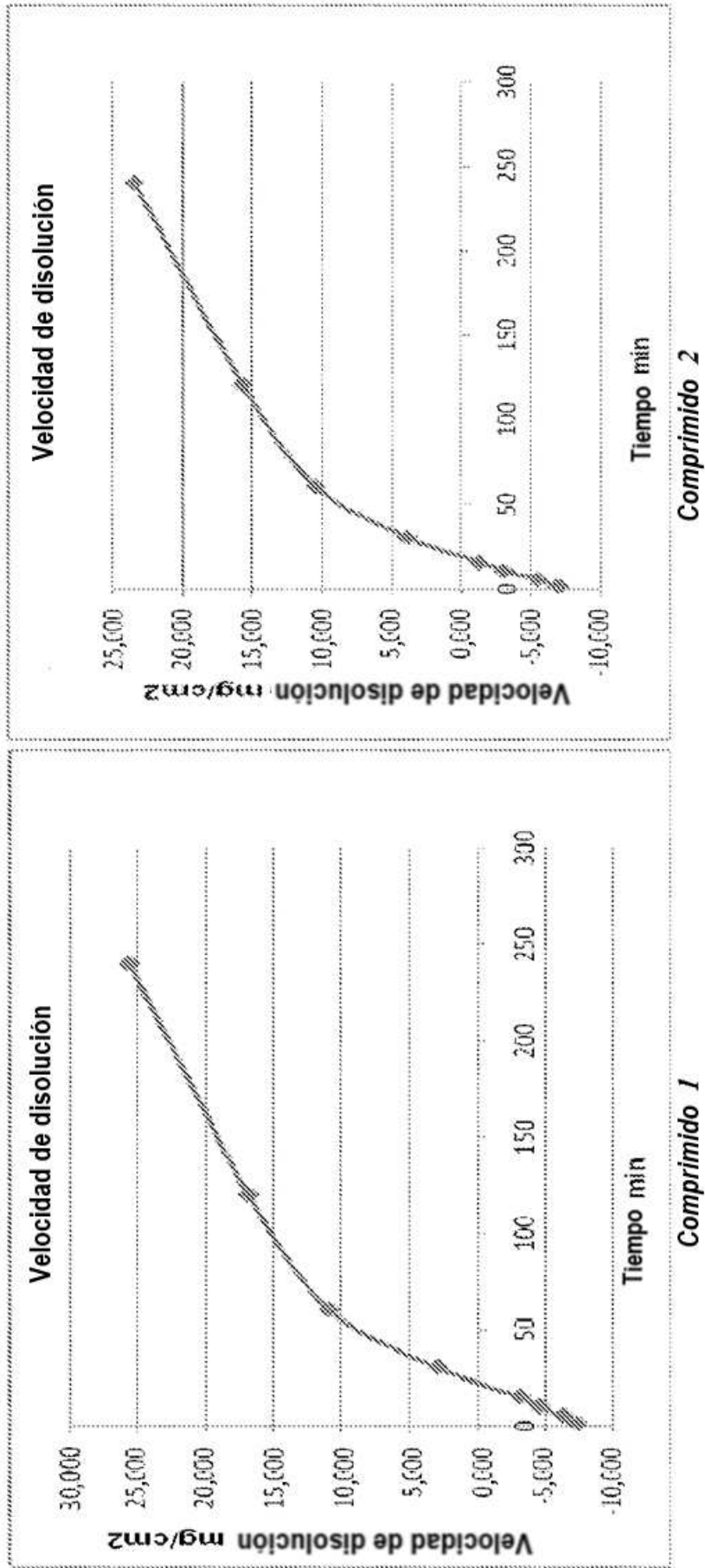


Figura 13

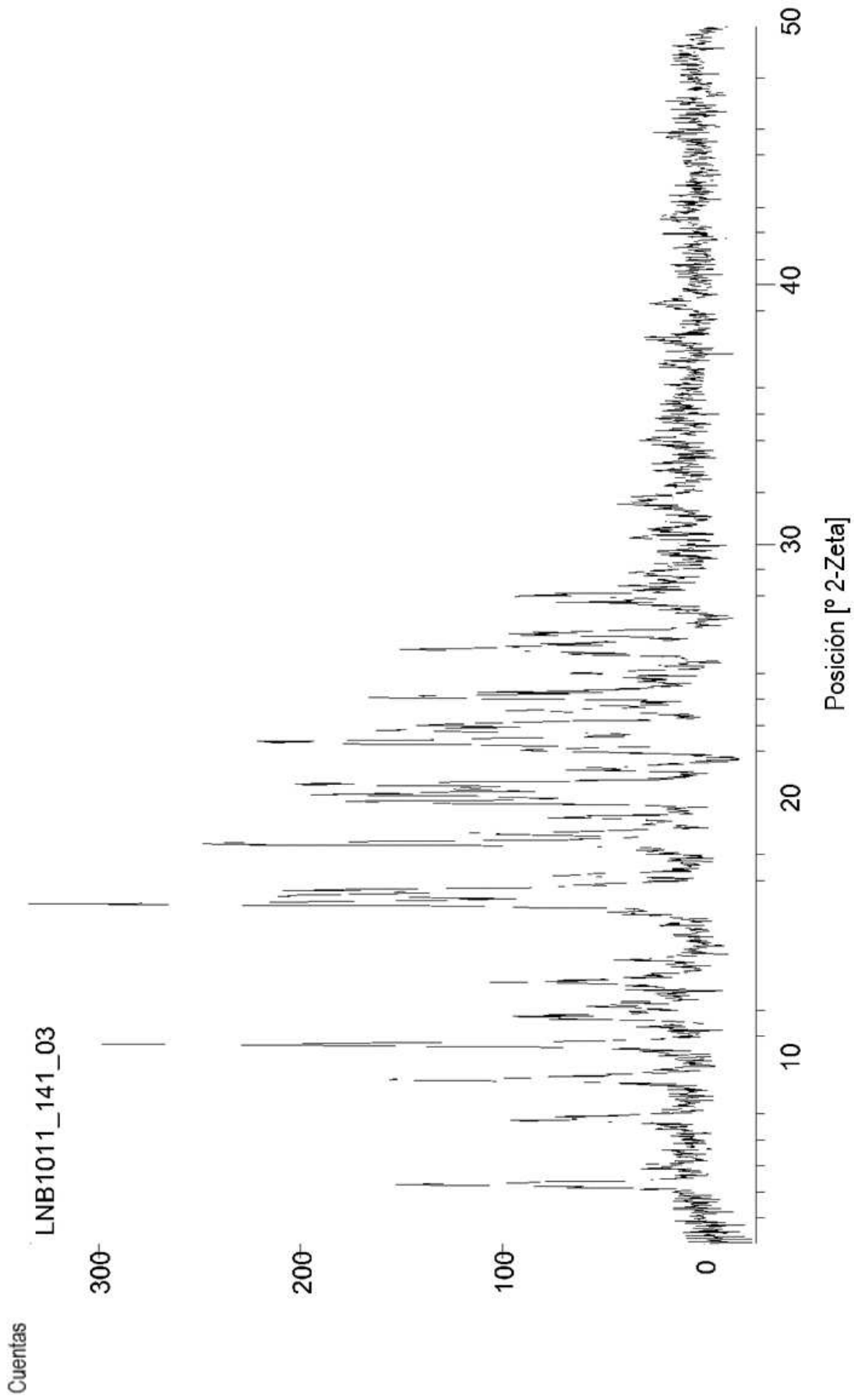


Figura 14

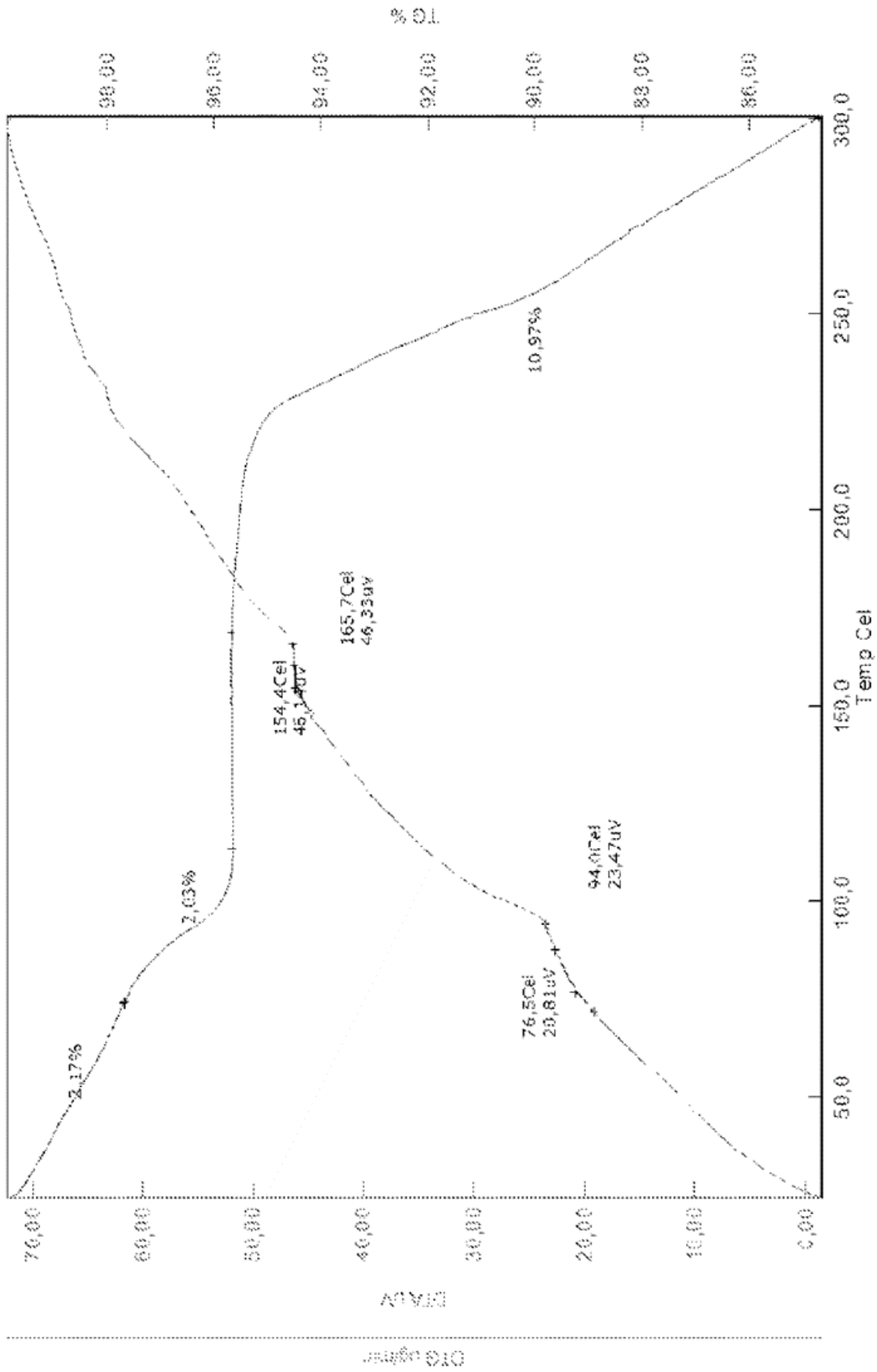


Figura 15

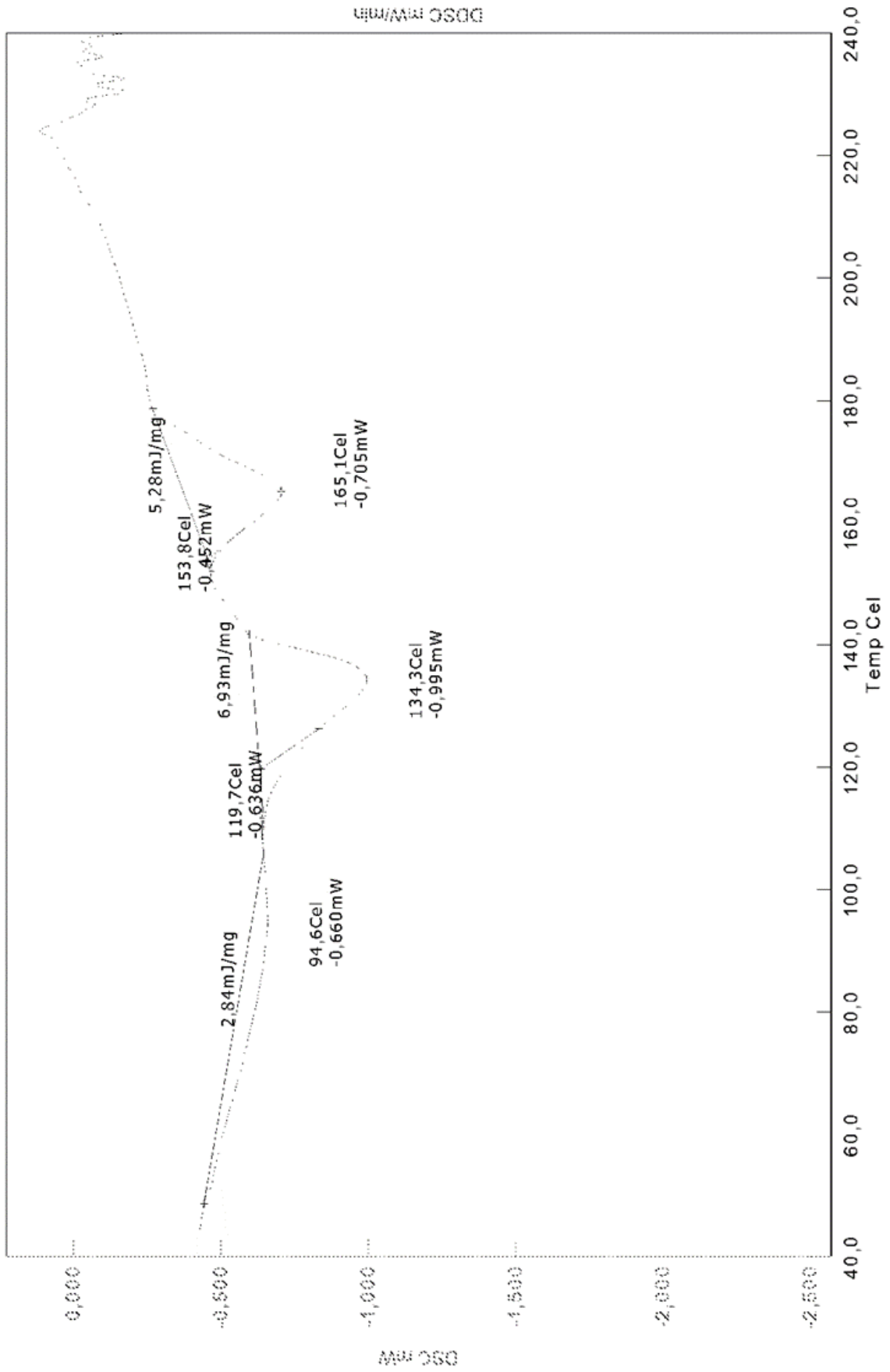


Figura 16

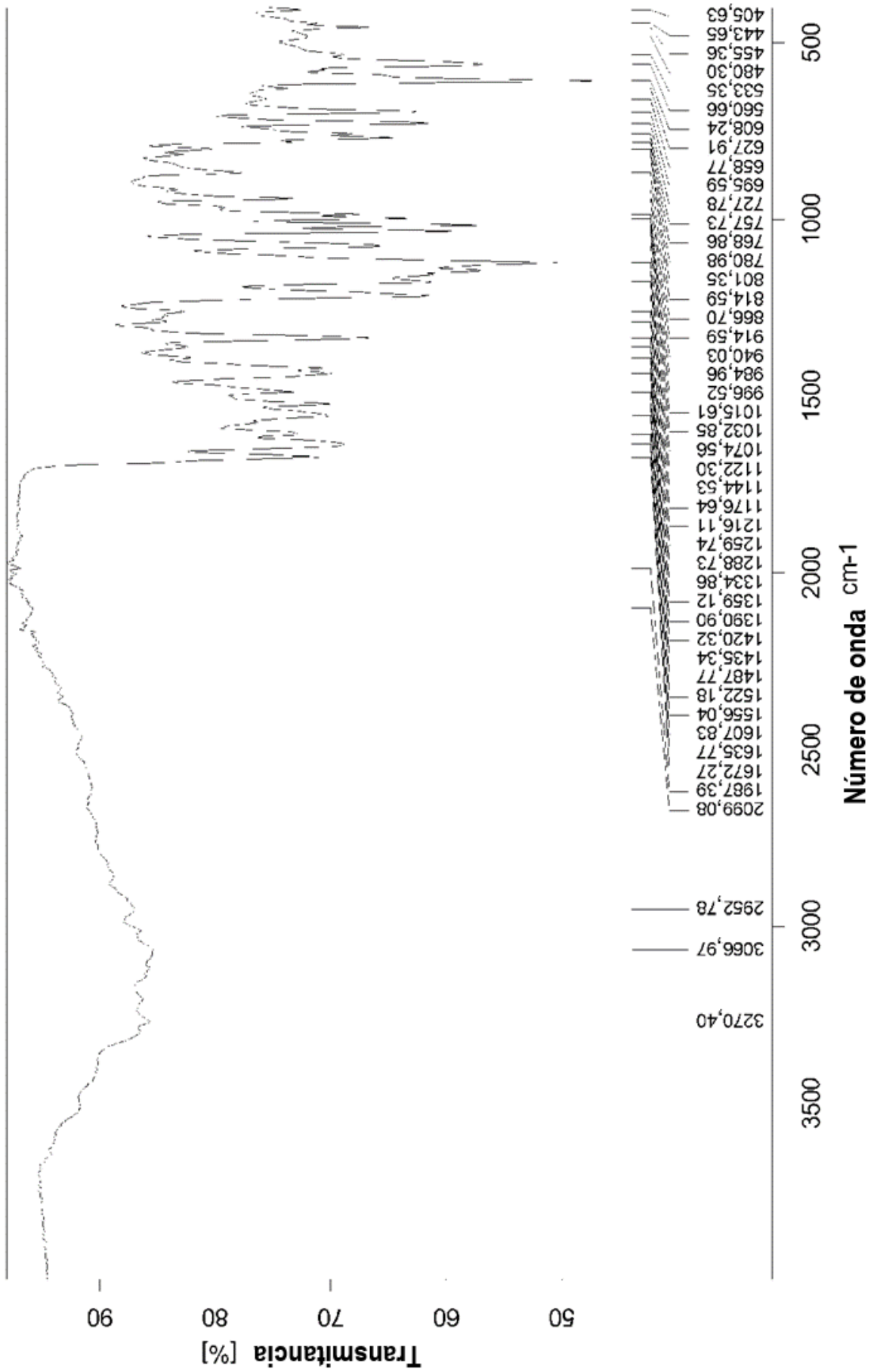


Figura 17

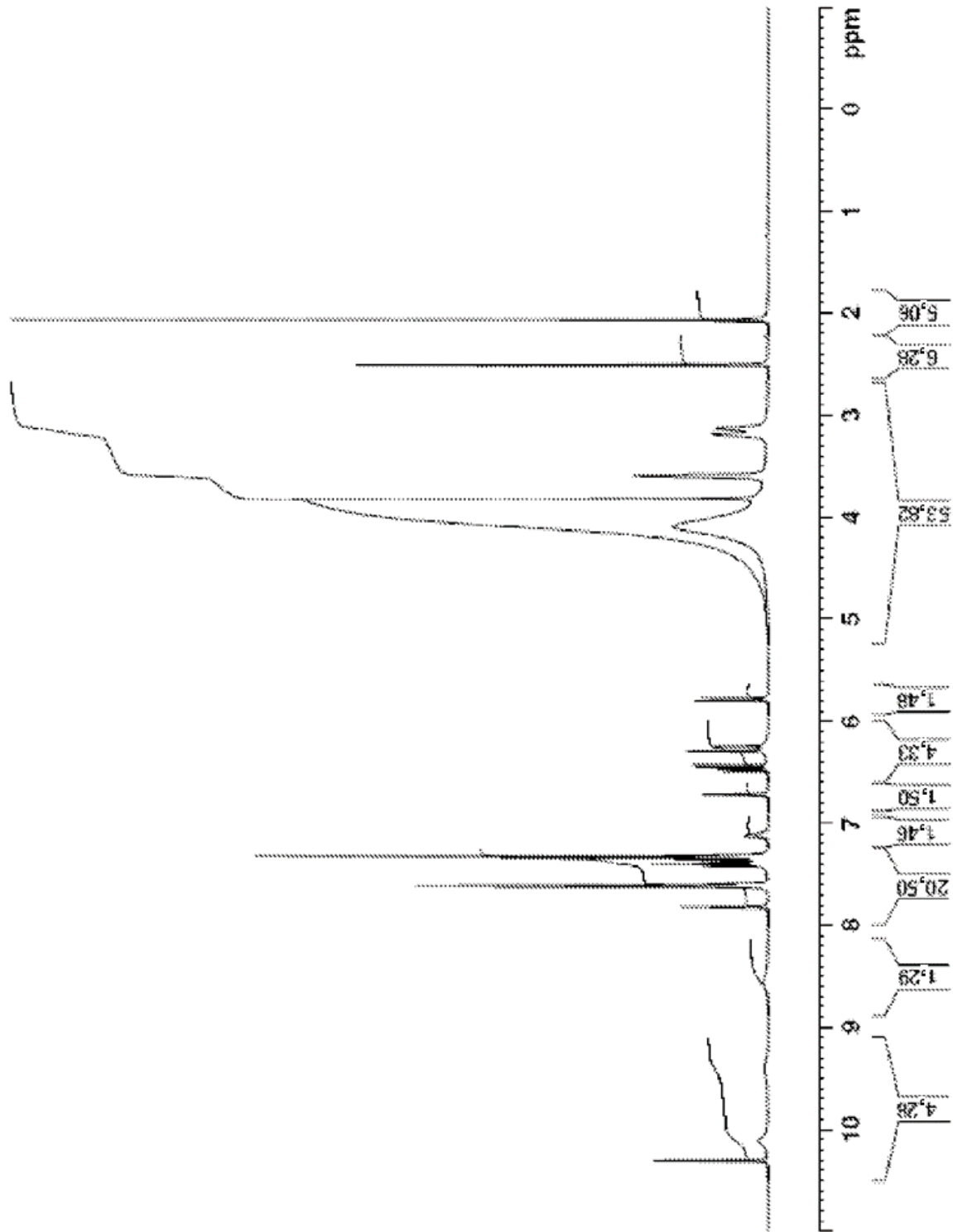


Figura 18

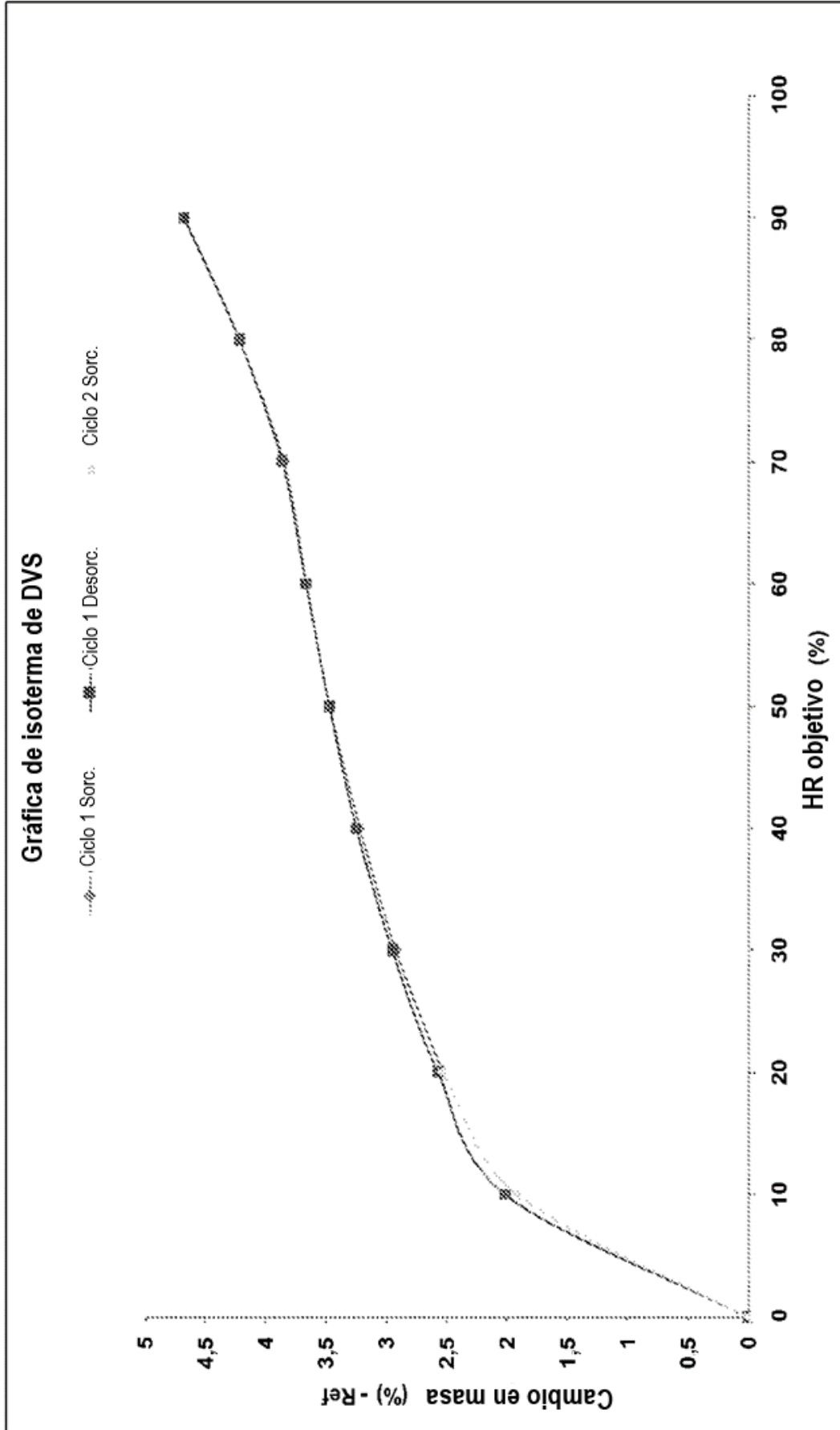
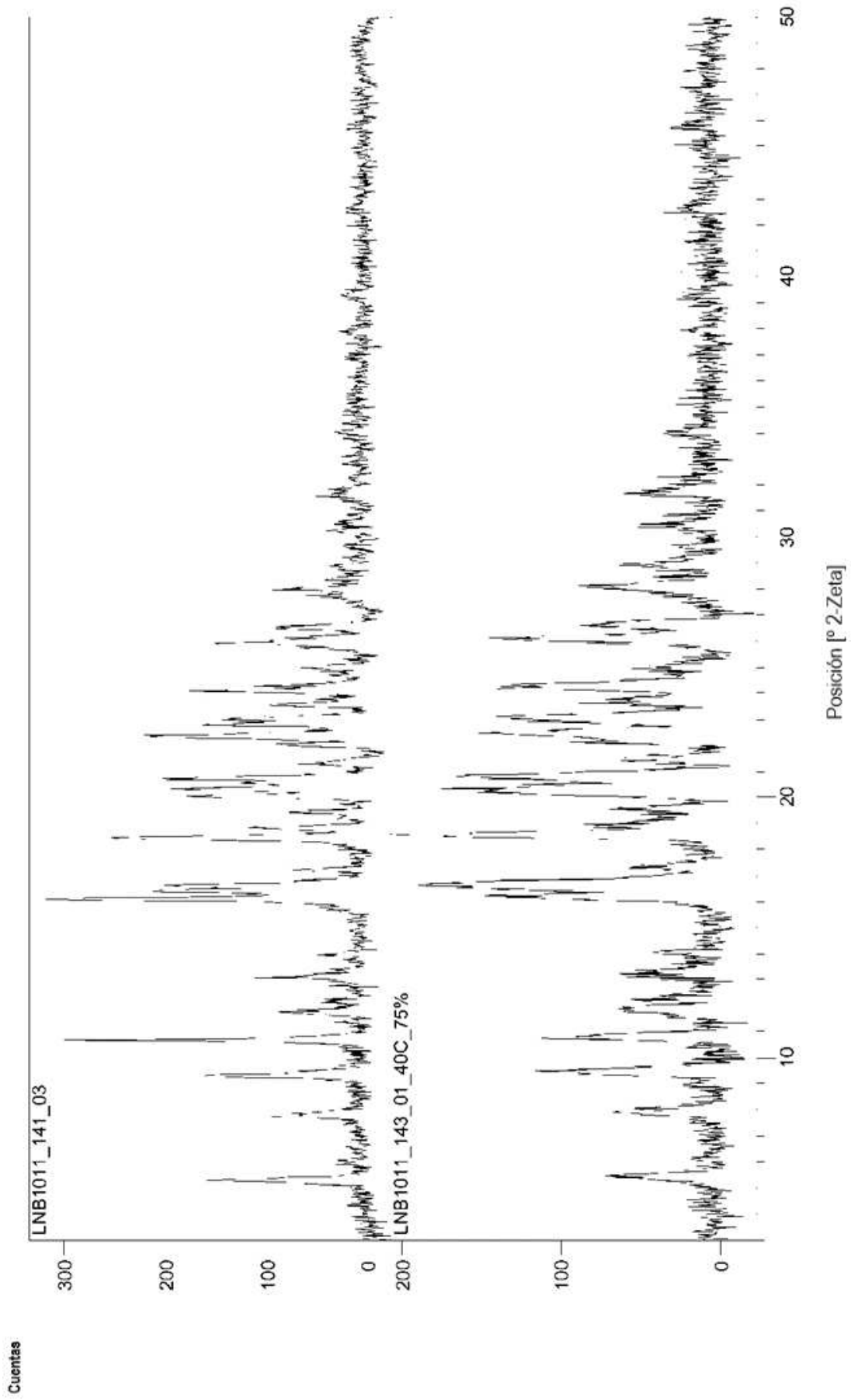


Figura 19





**Figura 20**

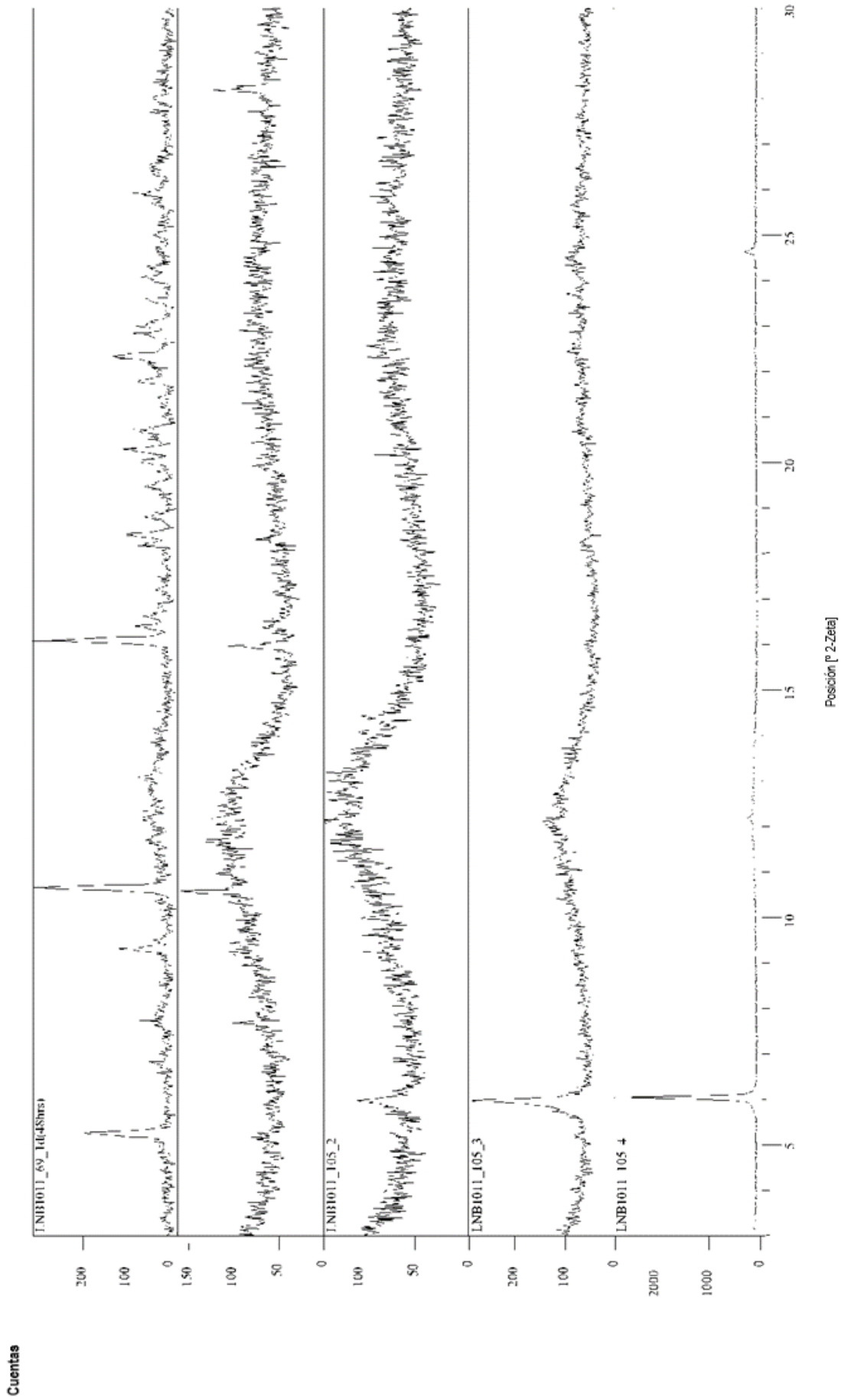


Figura 21

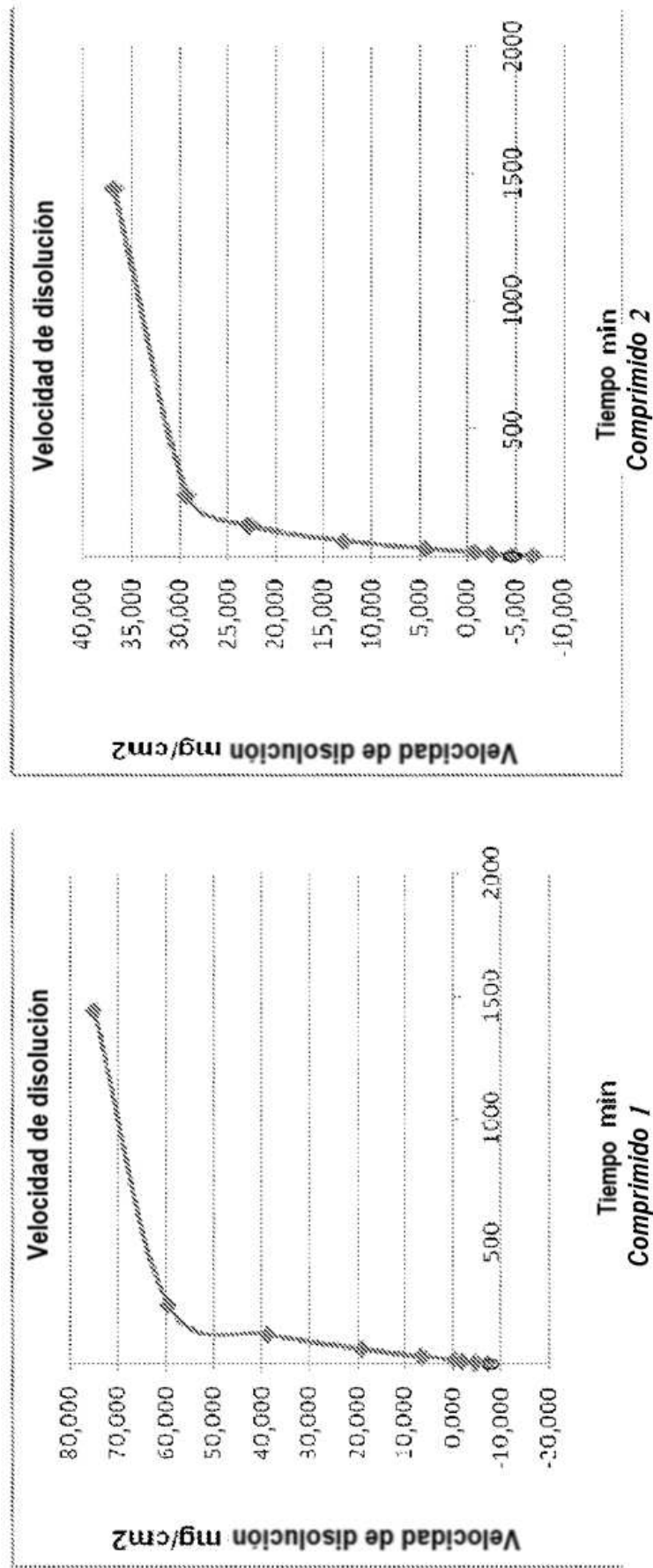
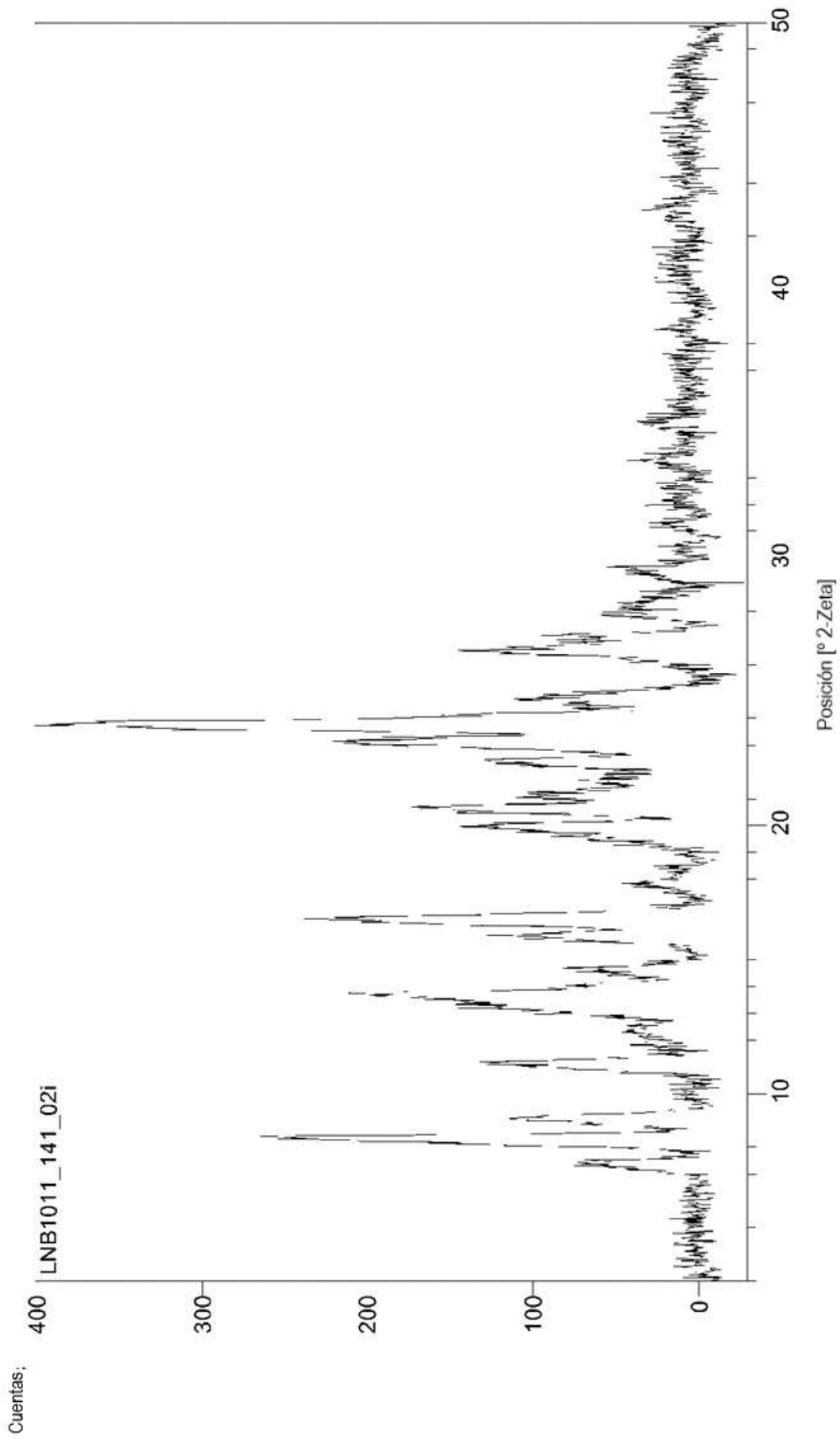


Figura 22



Figura 23



**Figura 24**

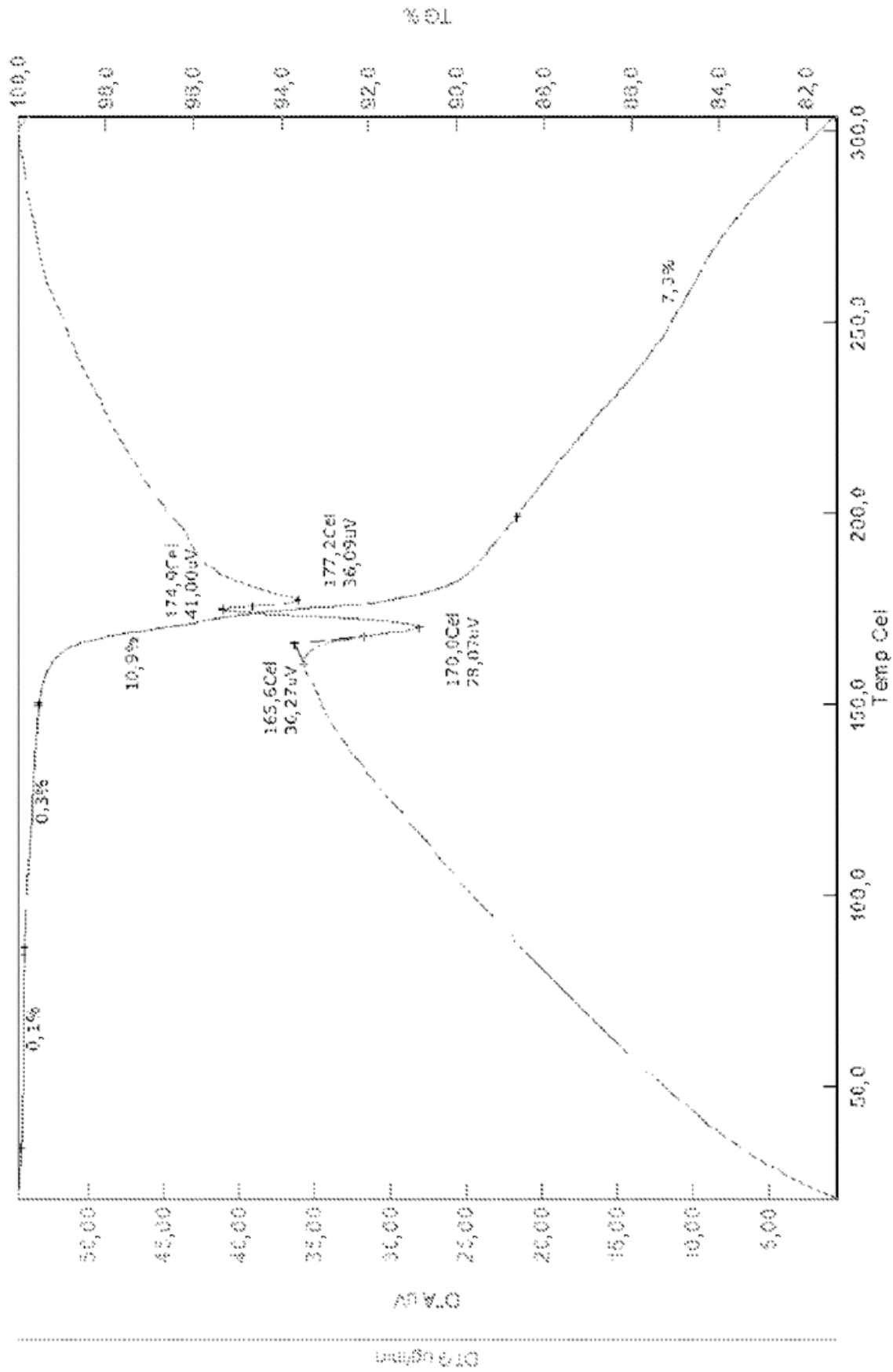


Figura 25

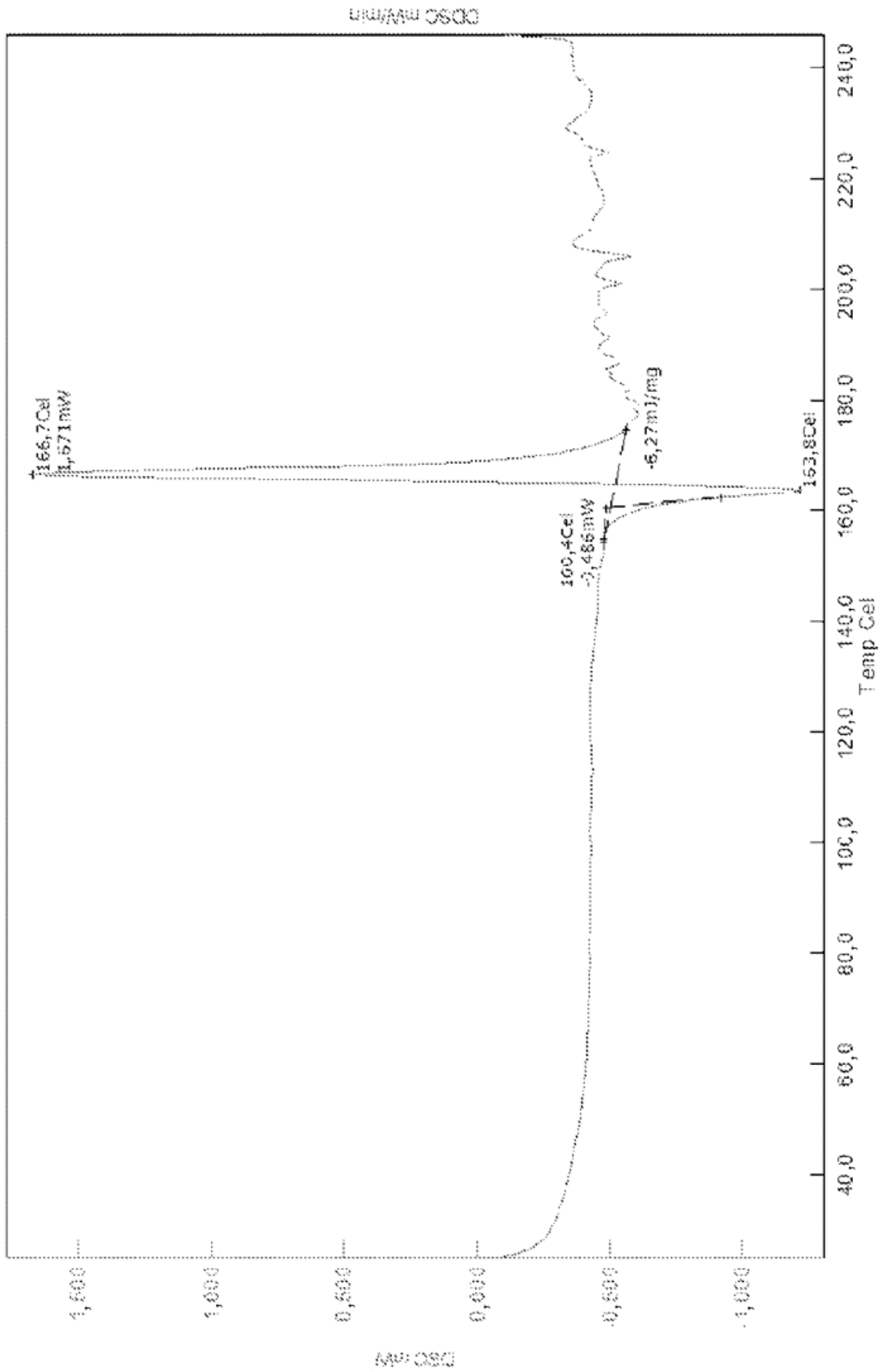


Figura 26

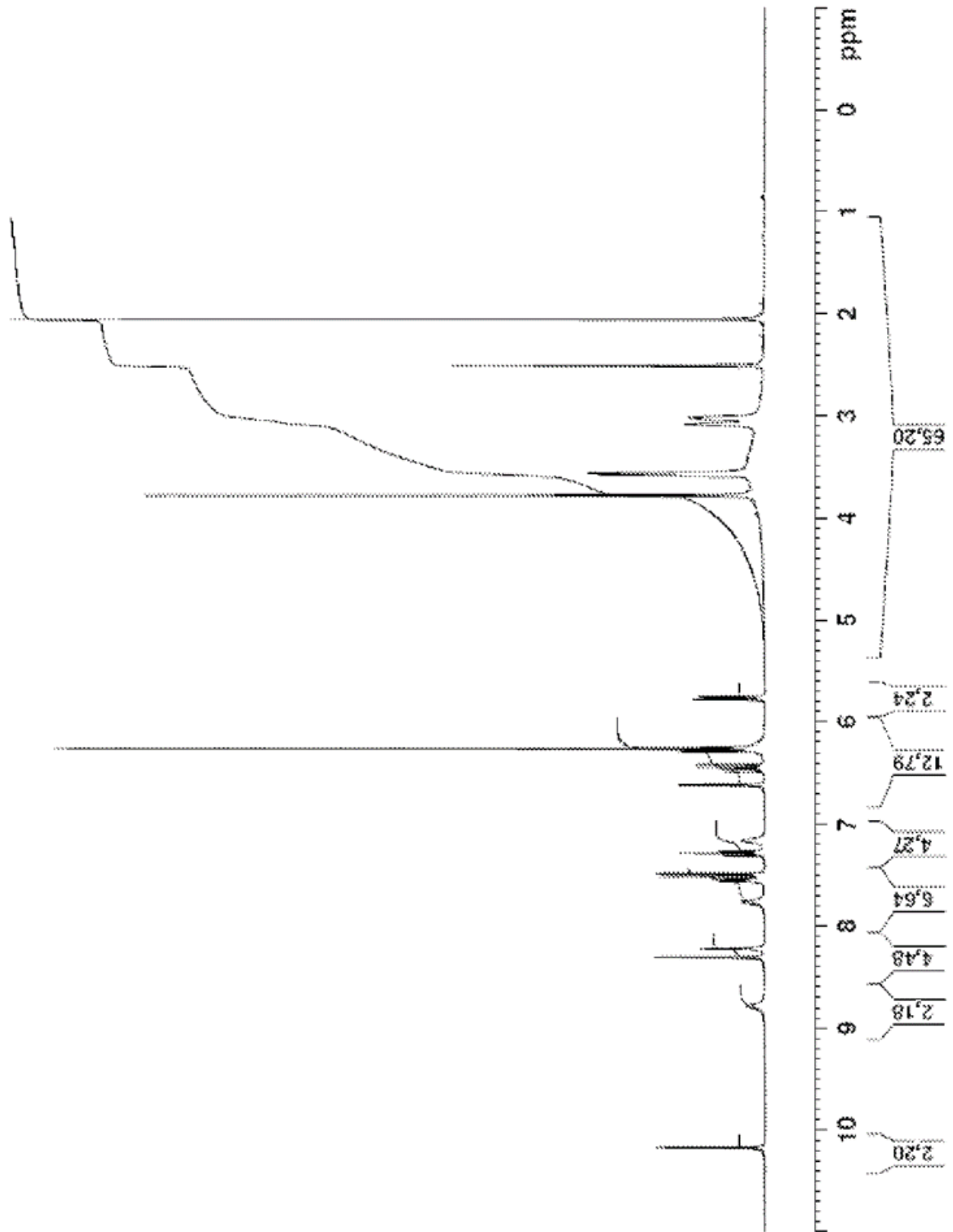


Figura 27



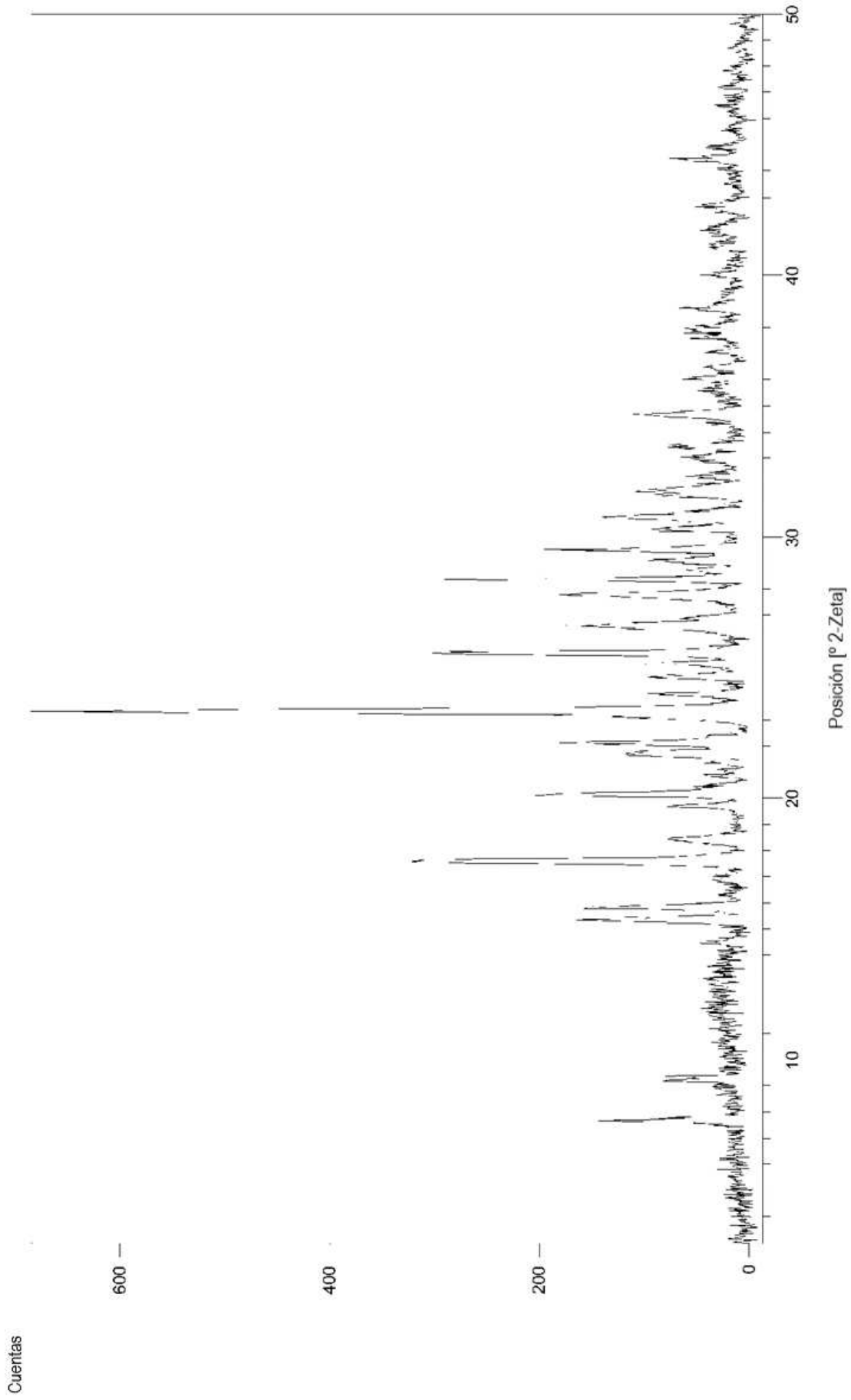


Figura 28

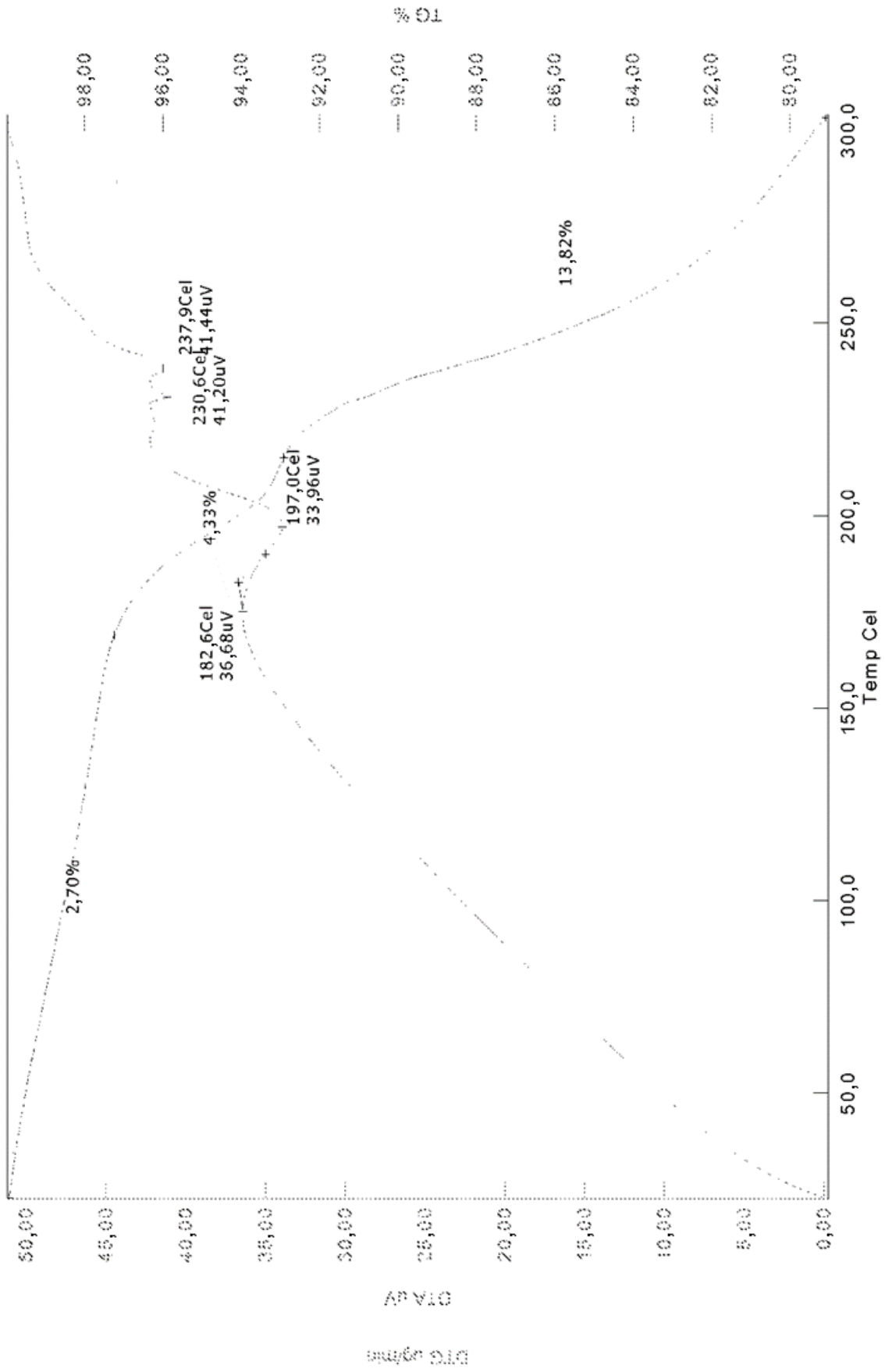


Figura 29

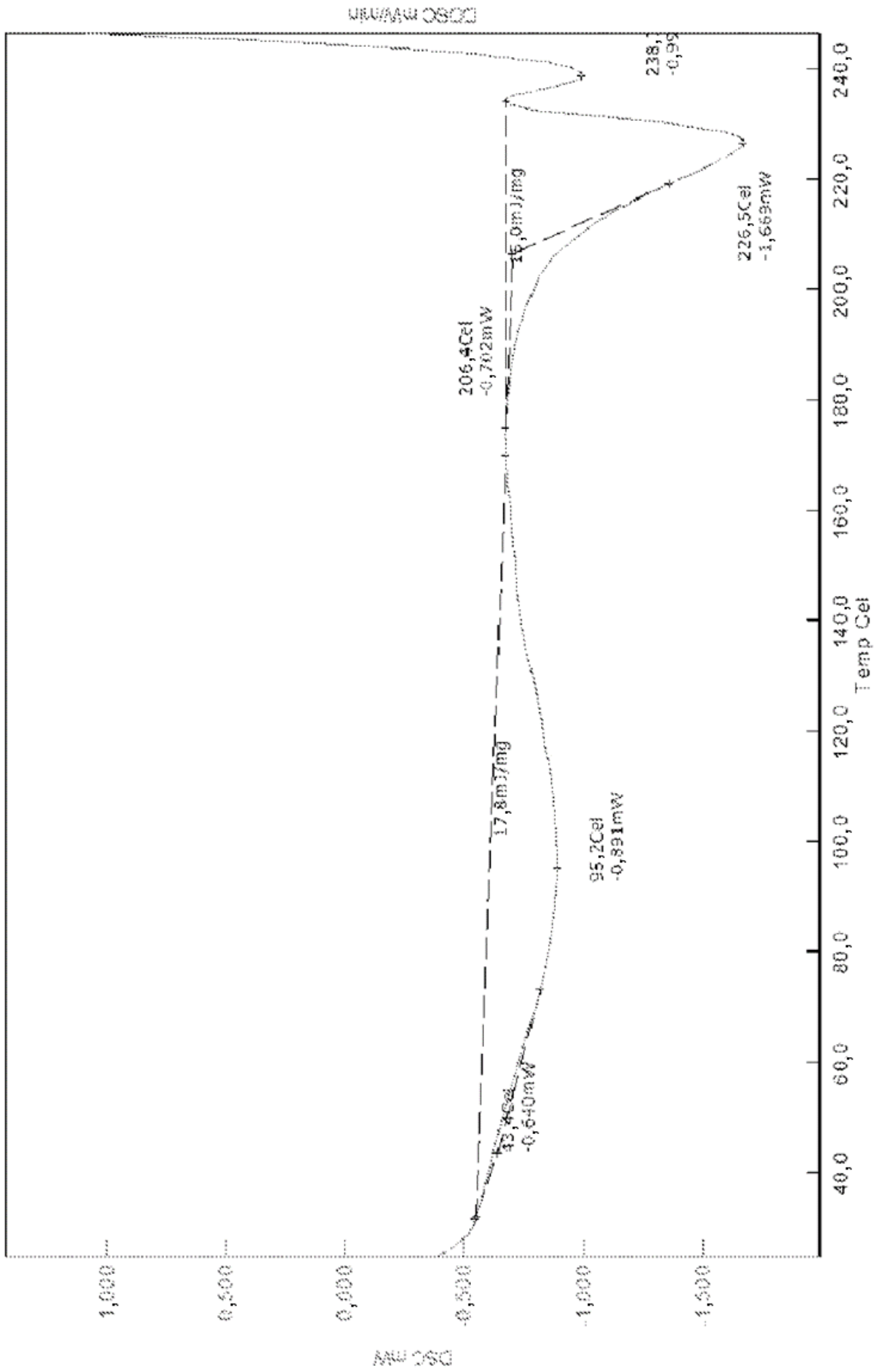


Figura 30

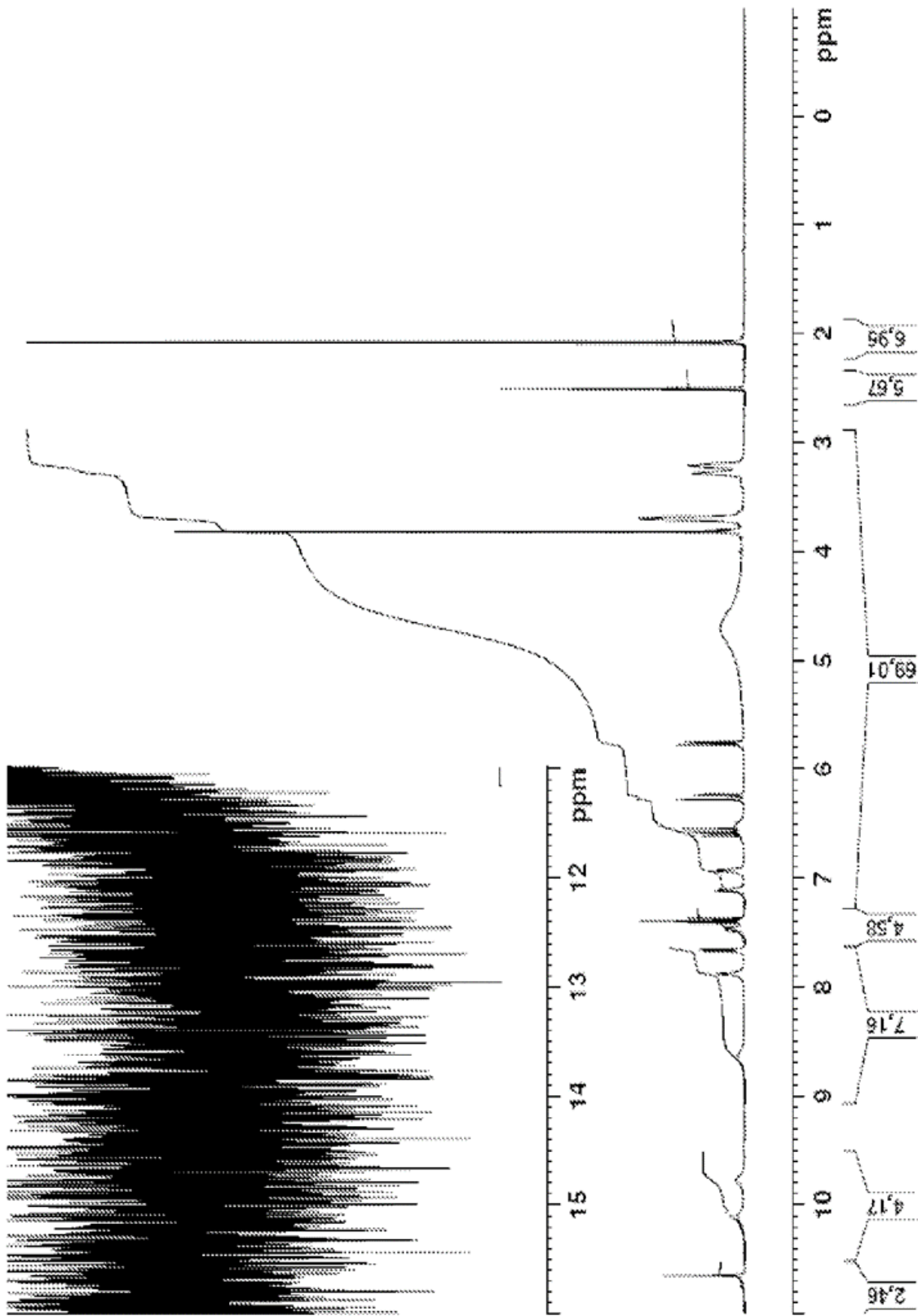


Figura 31

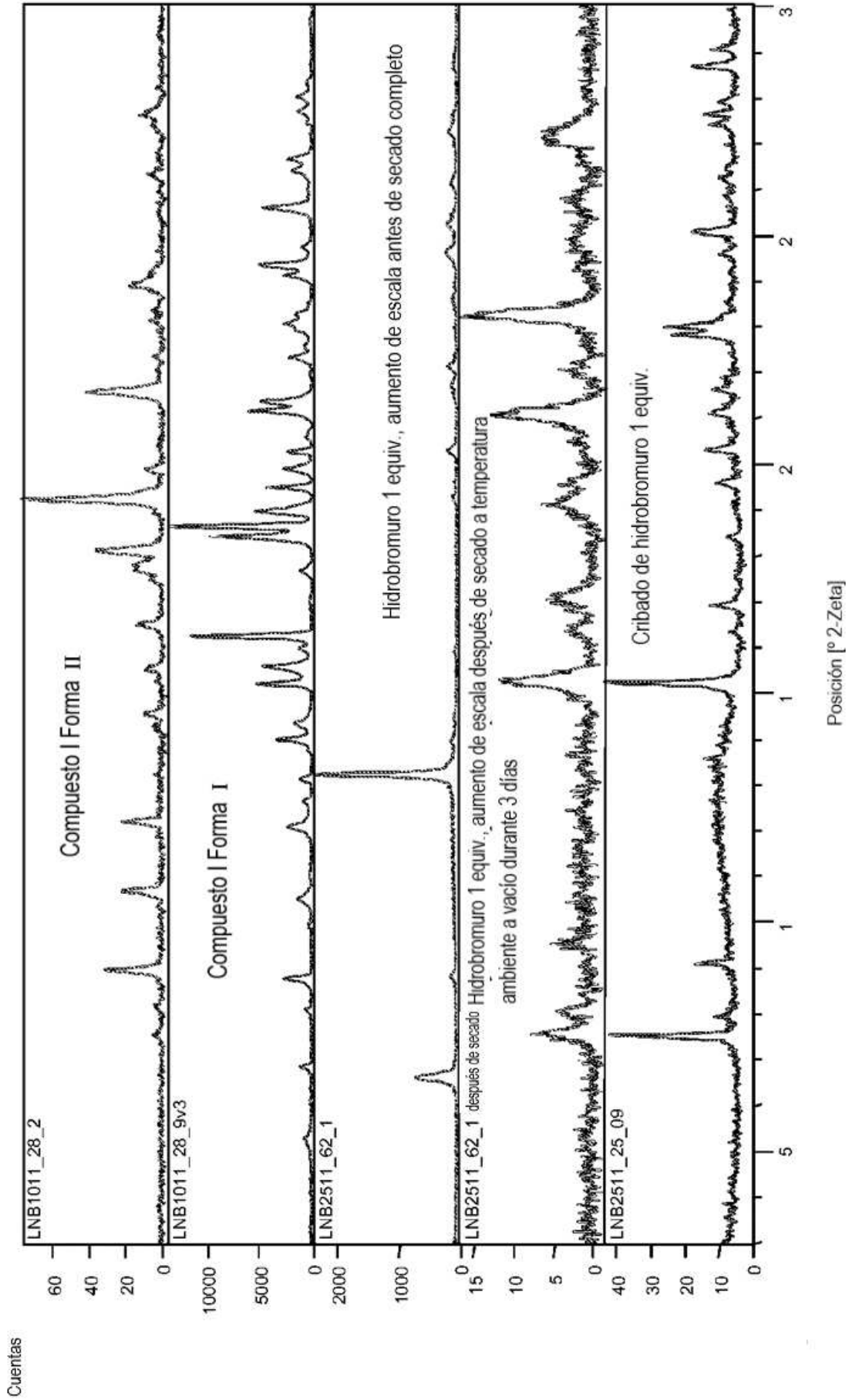


Figura 32

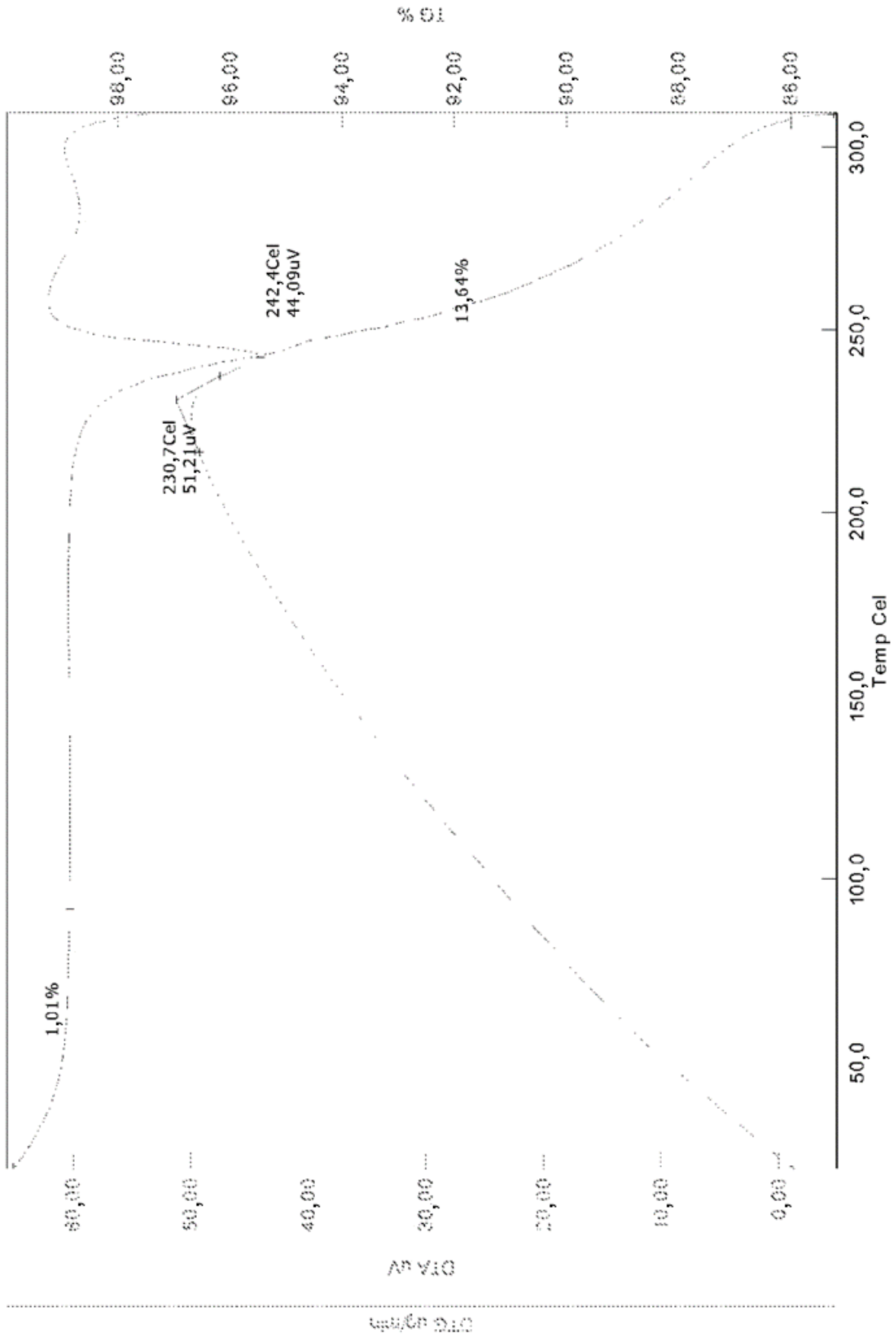


Figura 33

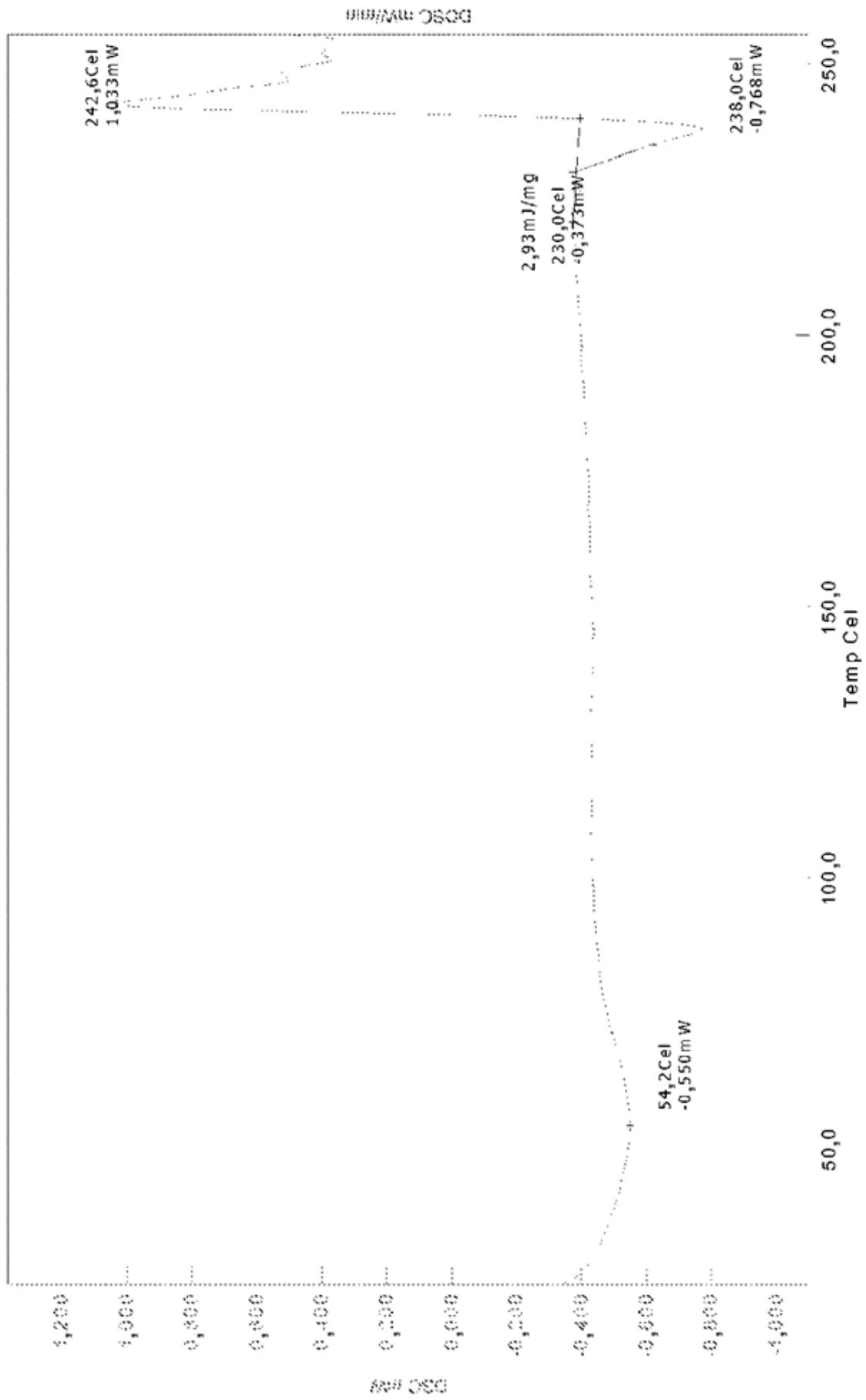


Figura 34

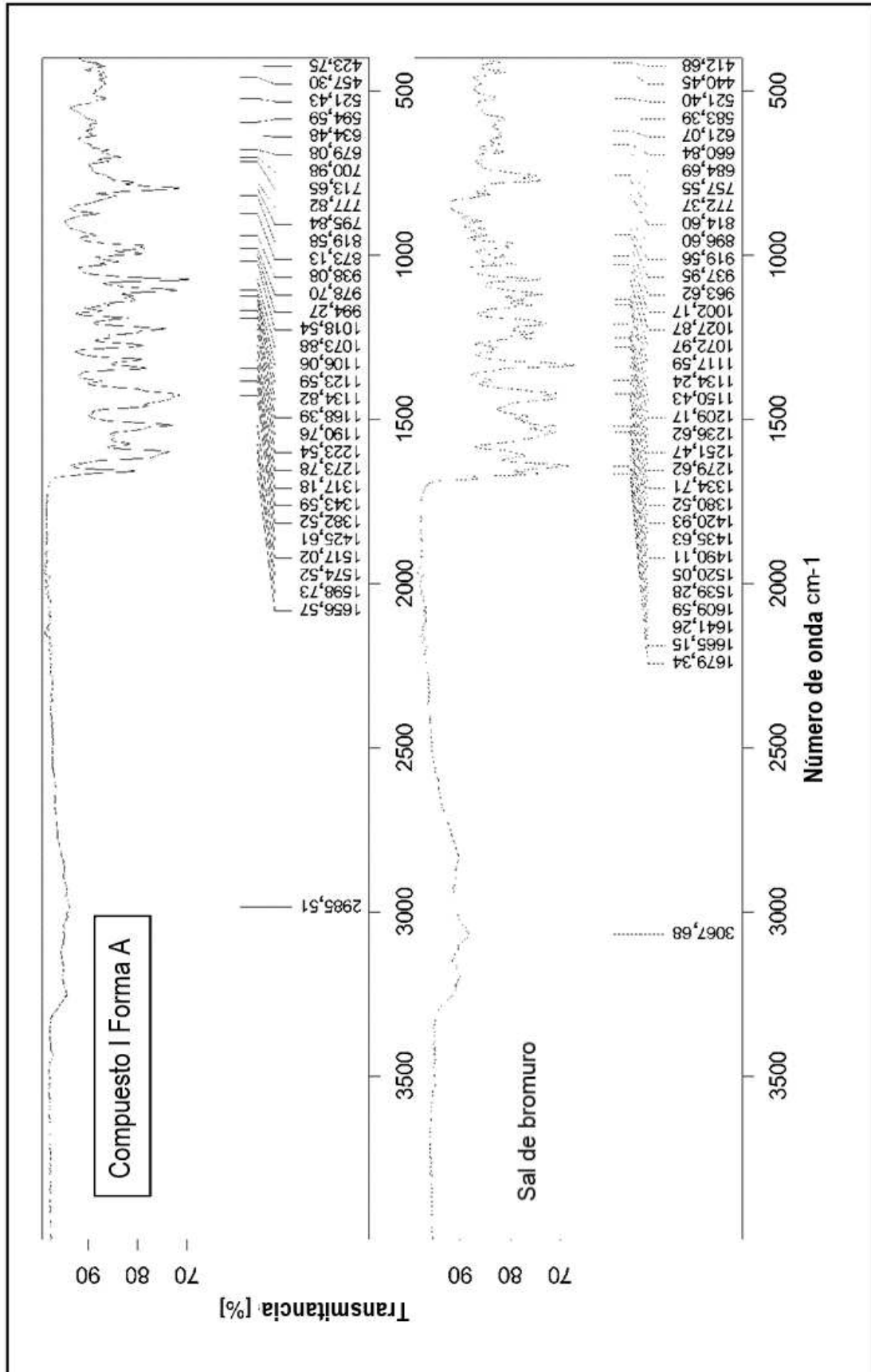


Figura 35



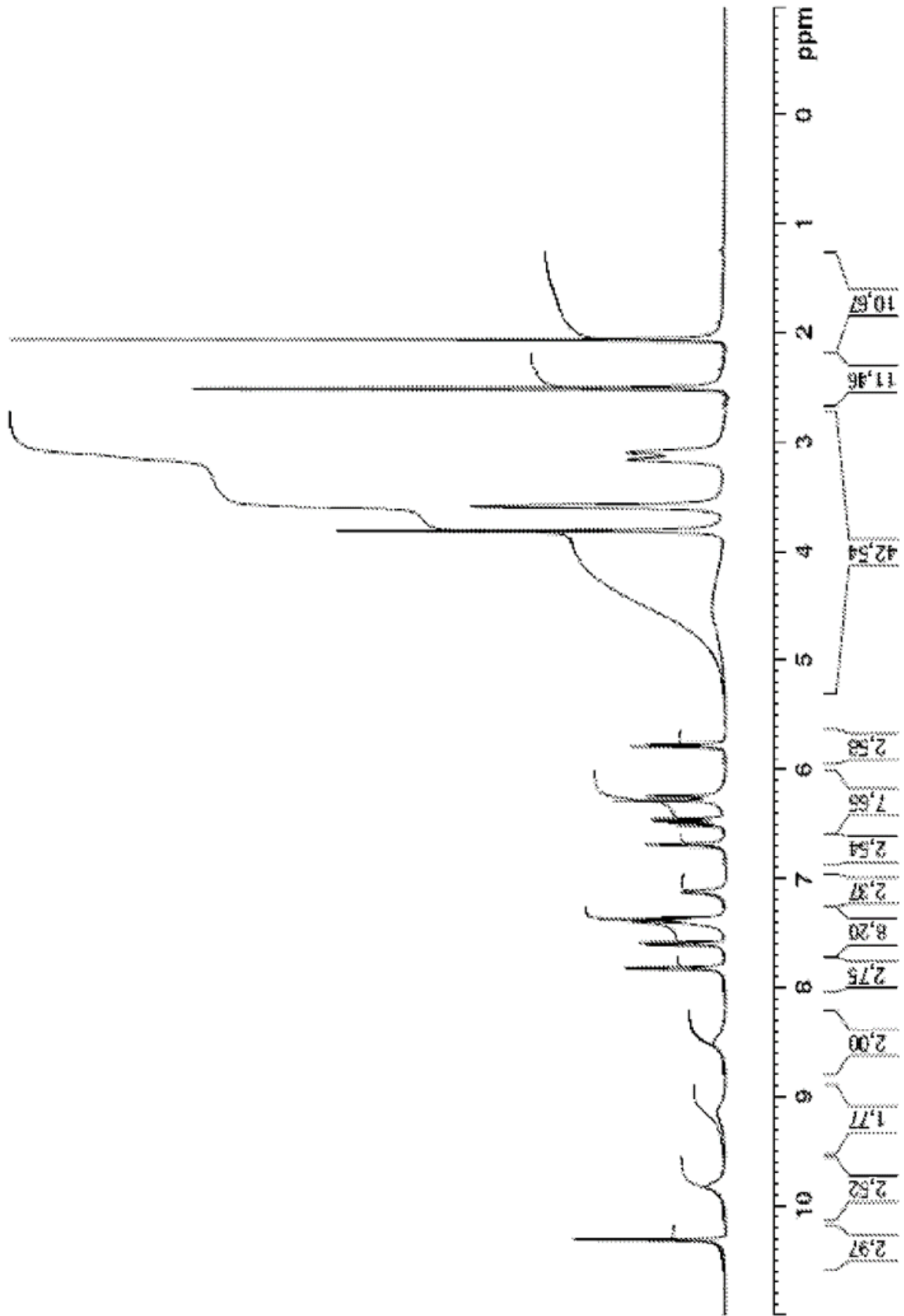


Figura 36

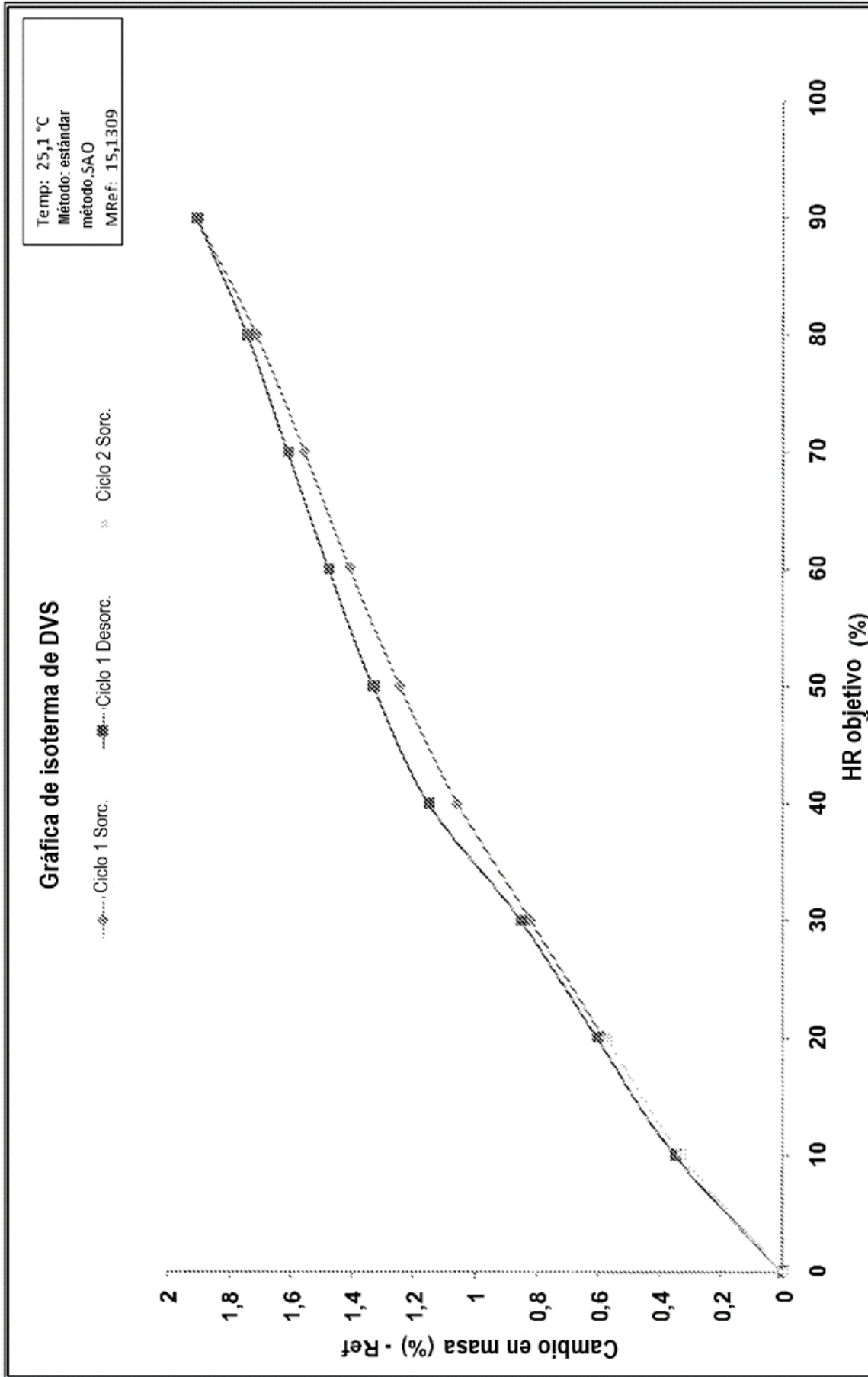


Figura 37

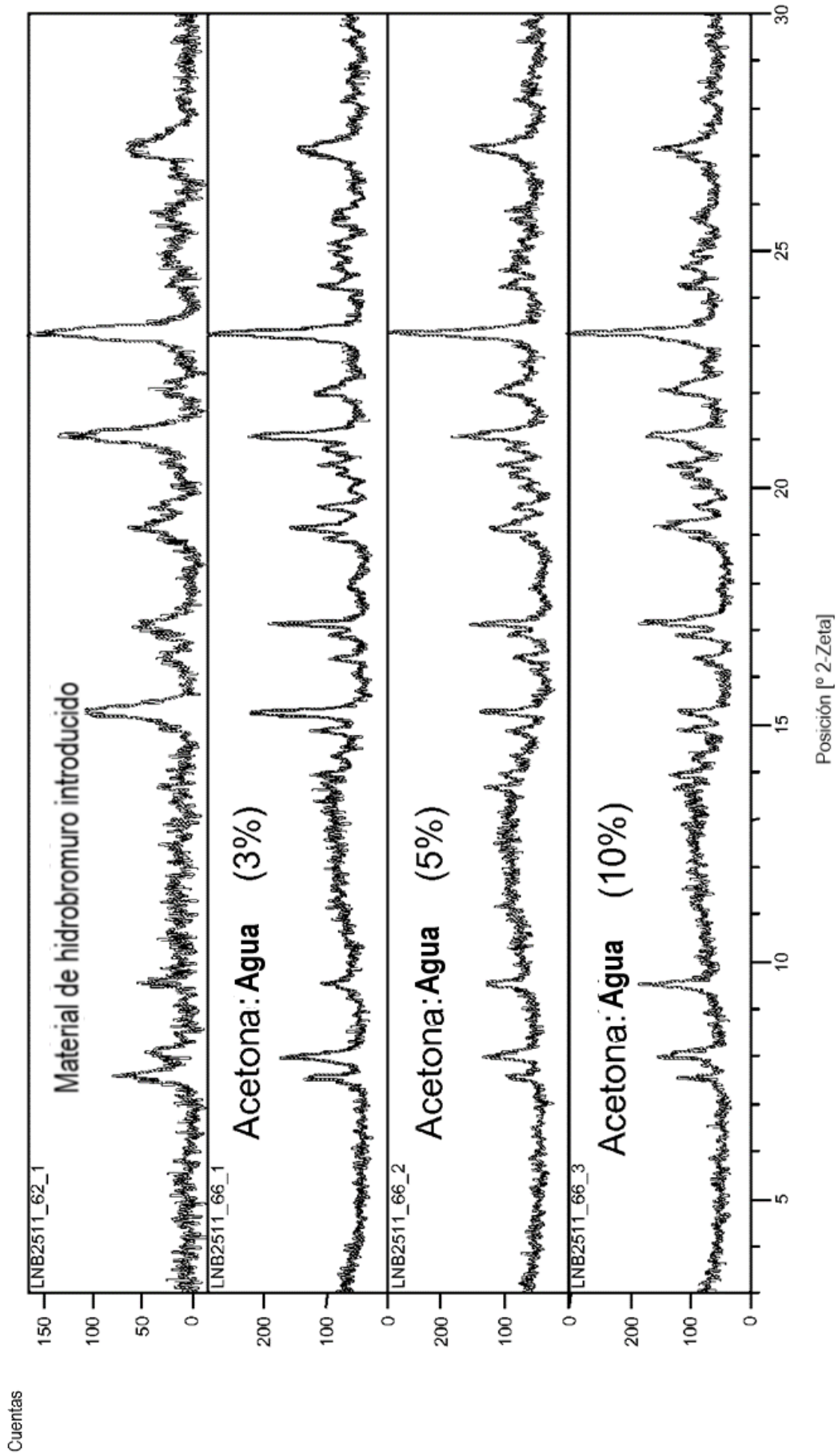


Figura 38

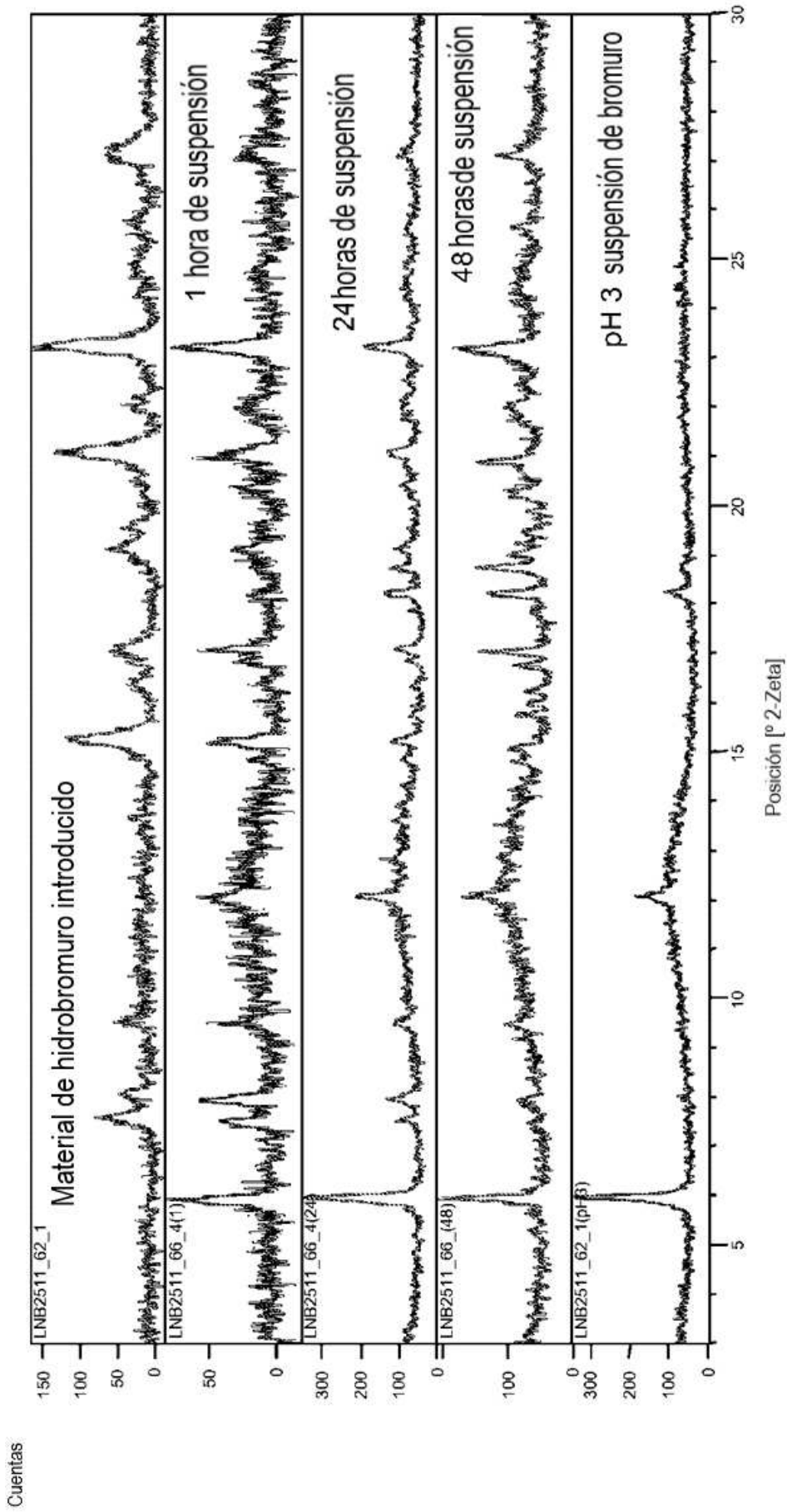


Figura 39

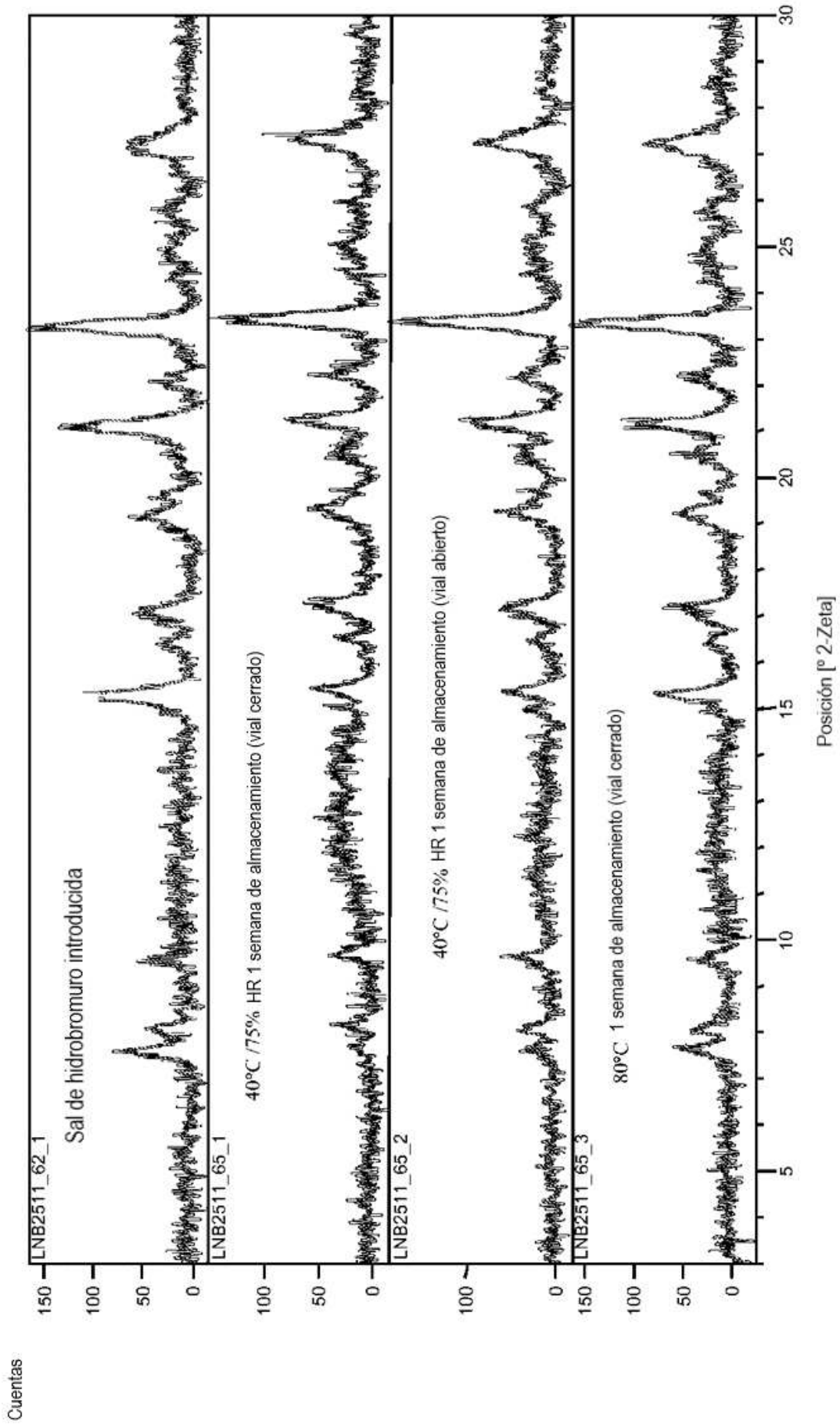


Figura 40

Cuentas

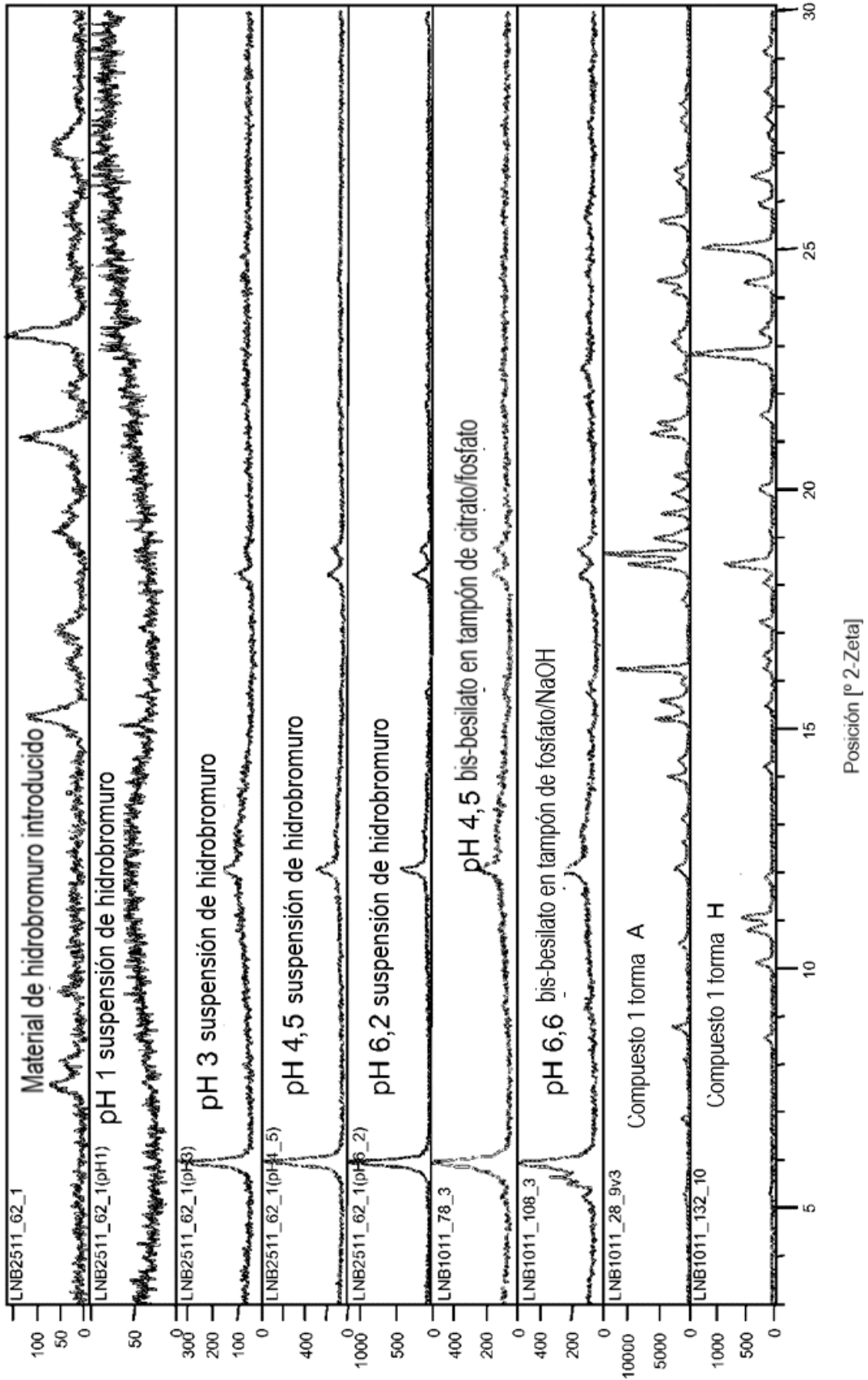


Figura 41

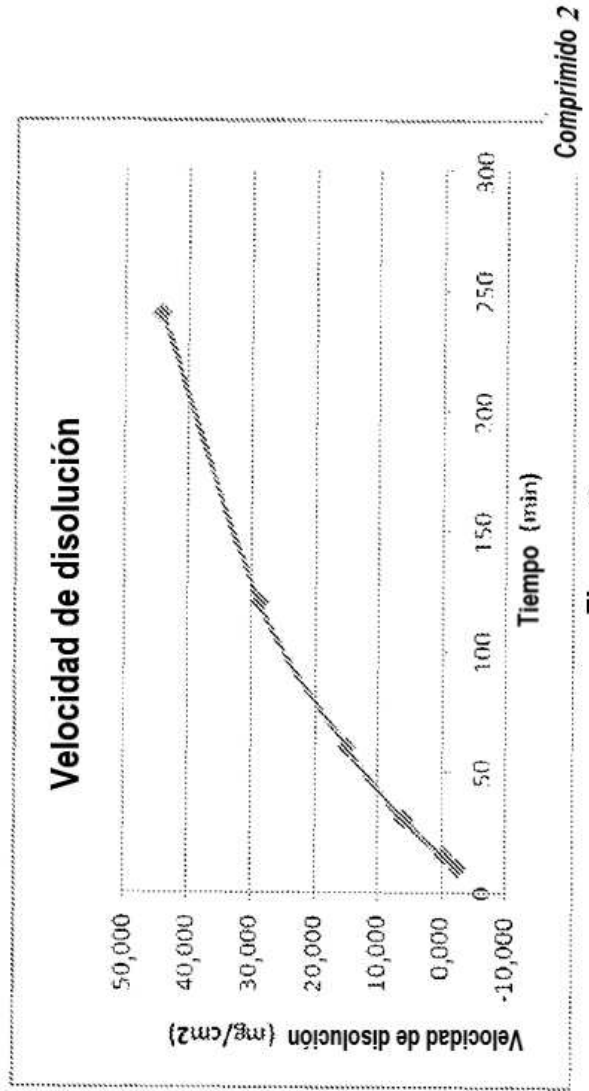
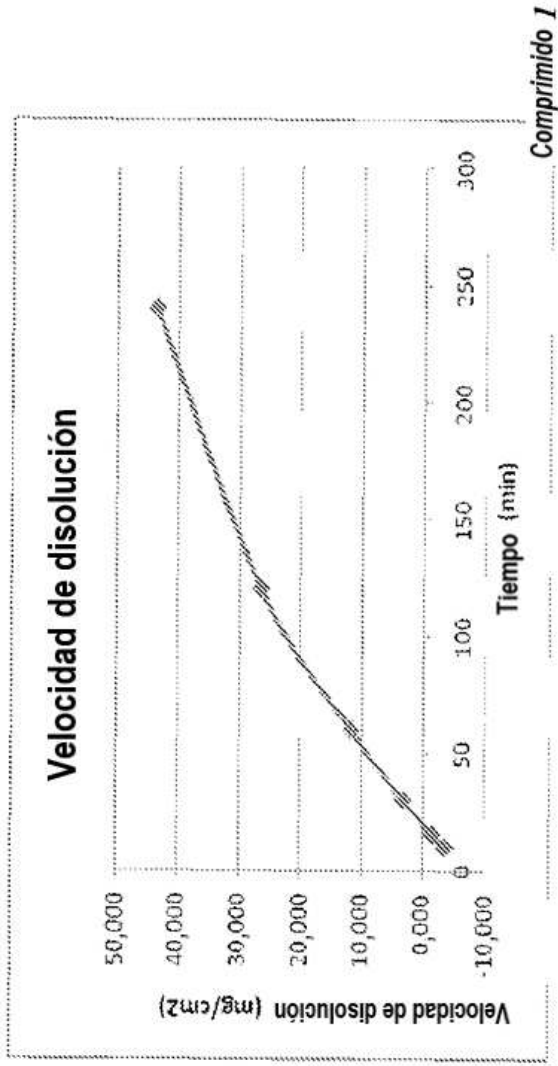


Figura 42

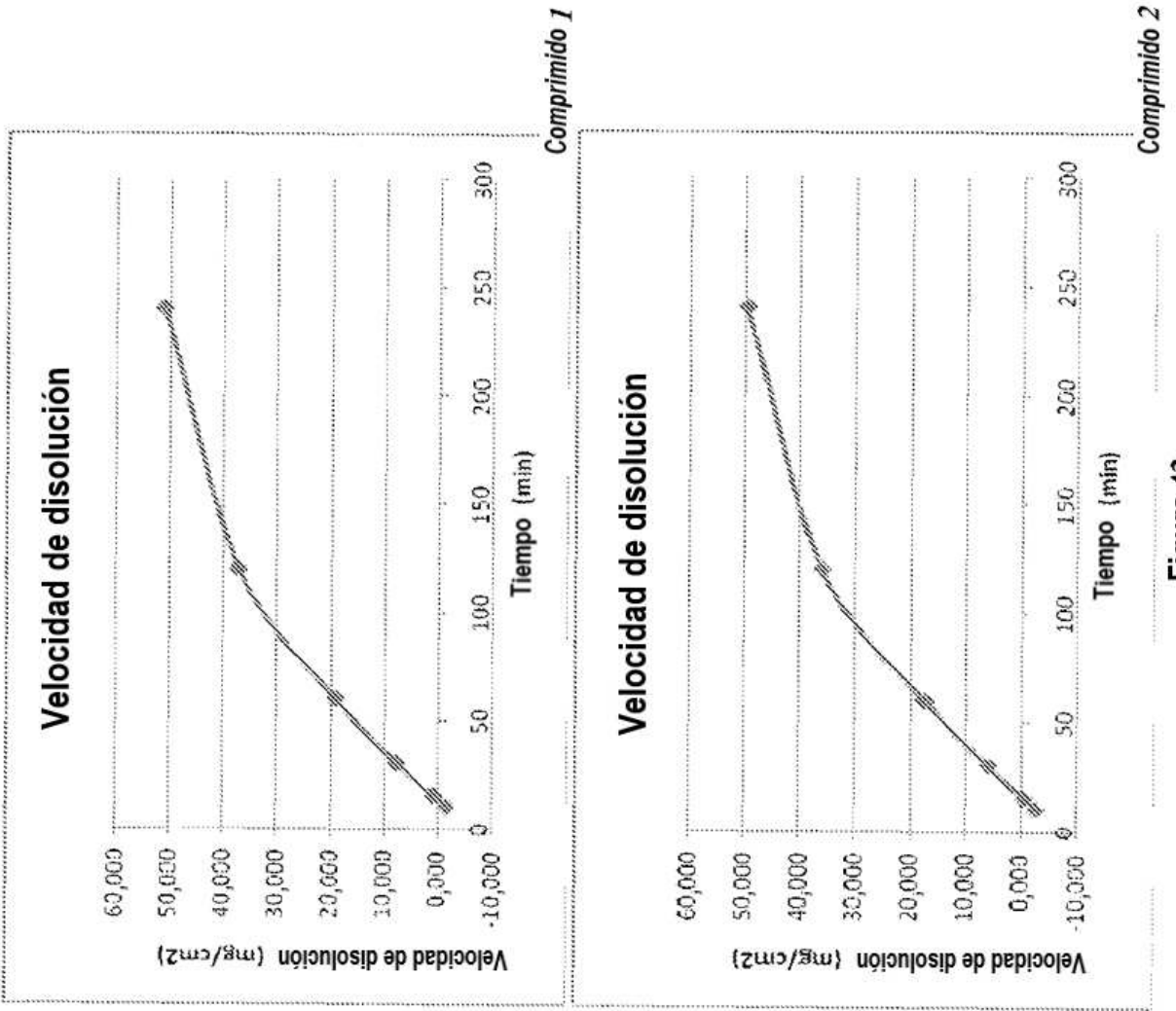


Figura 43



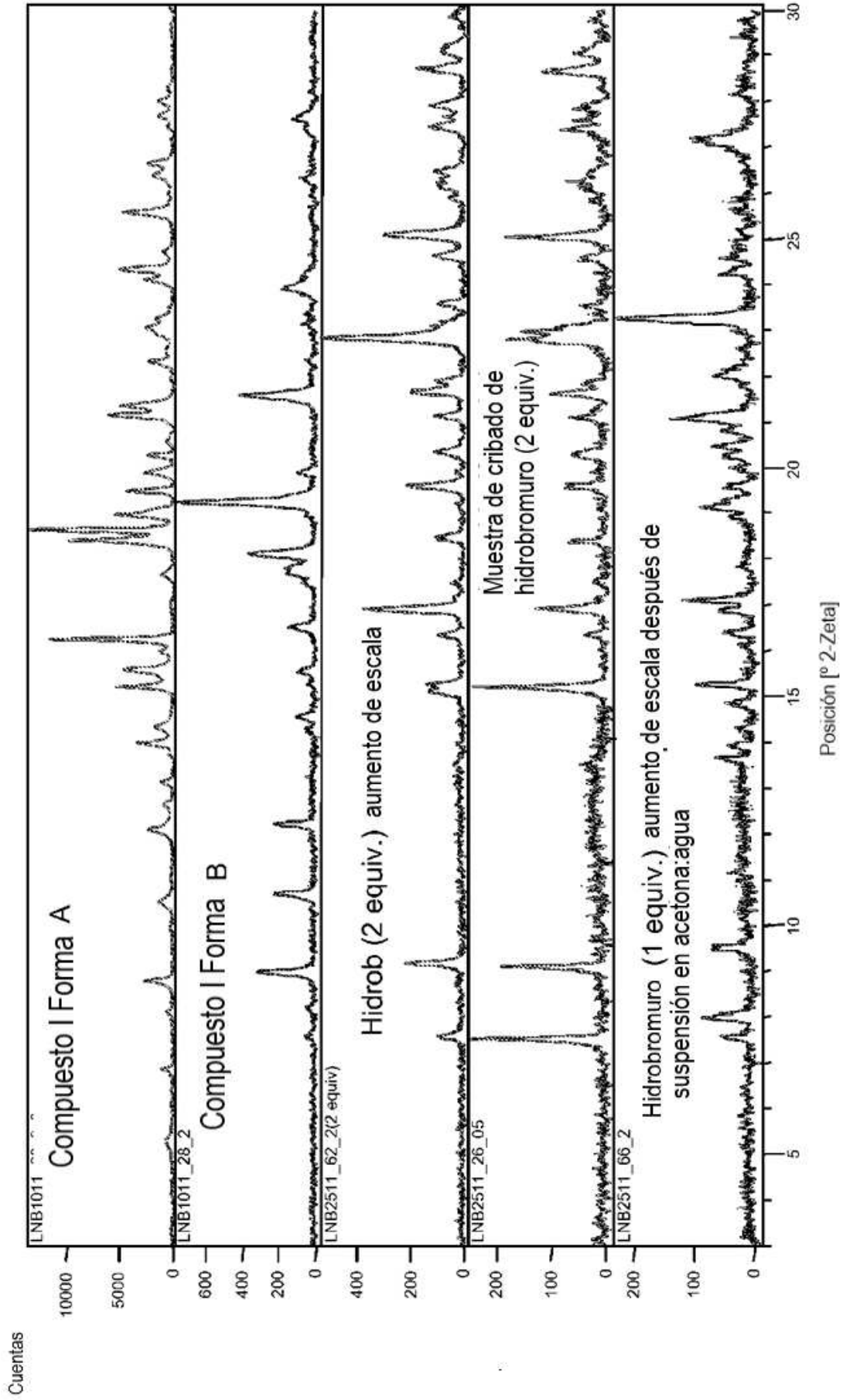


Figura 44

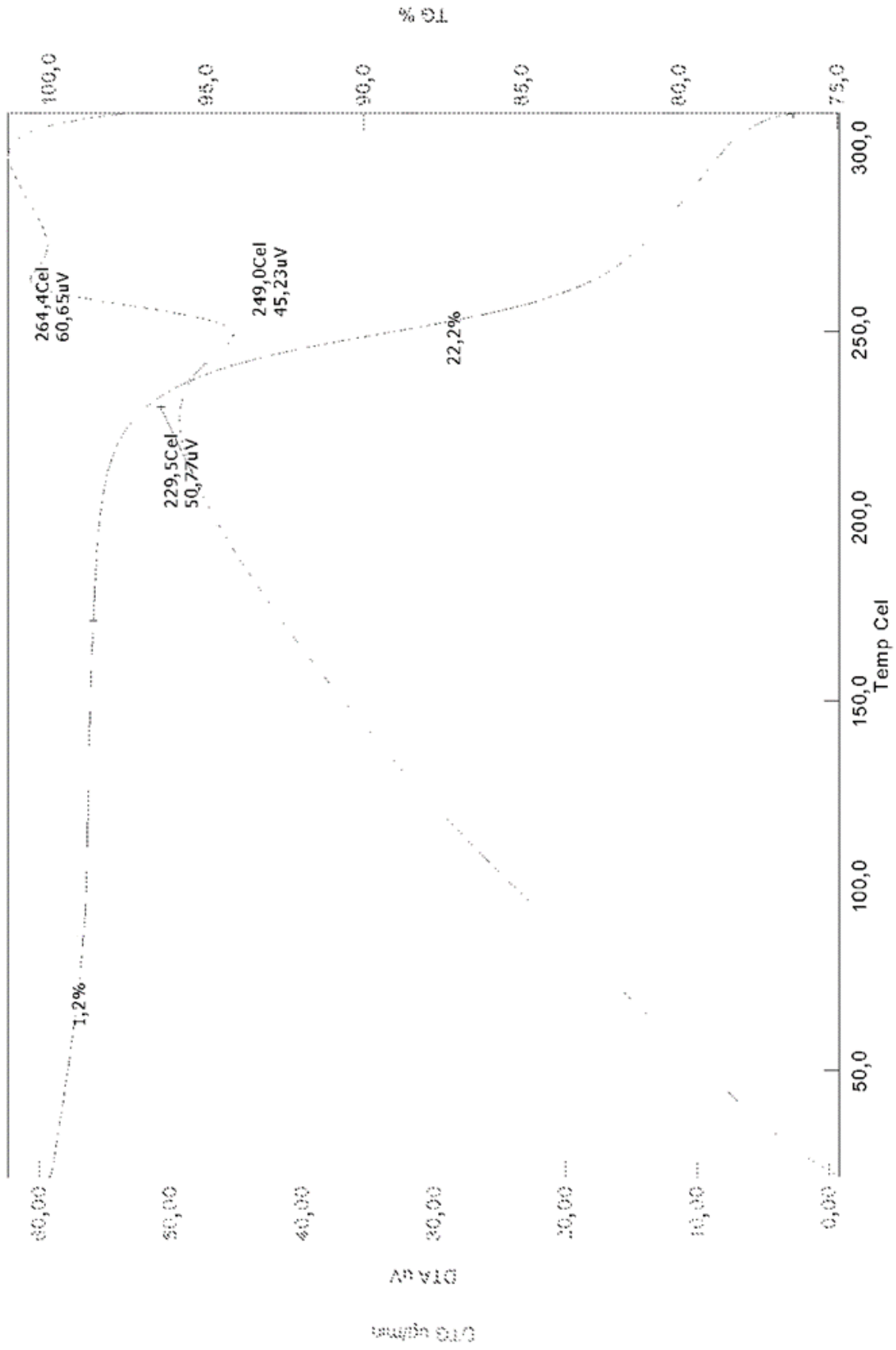


Figura 45

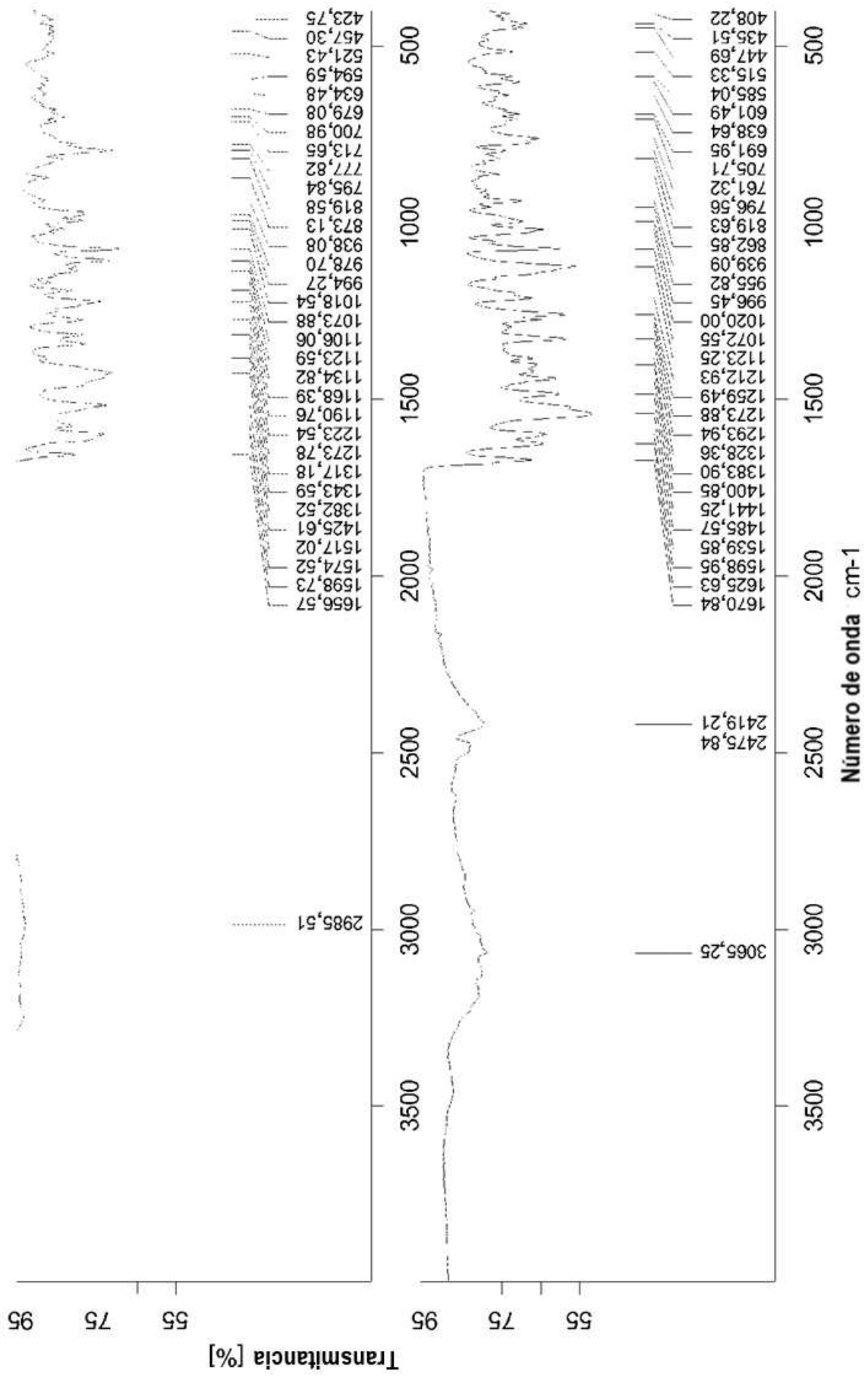


Figura 46

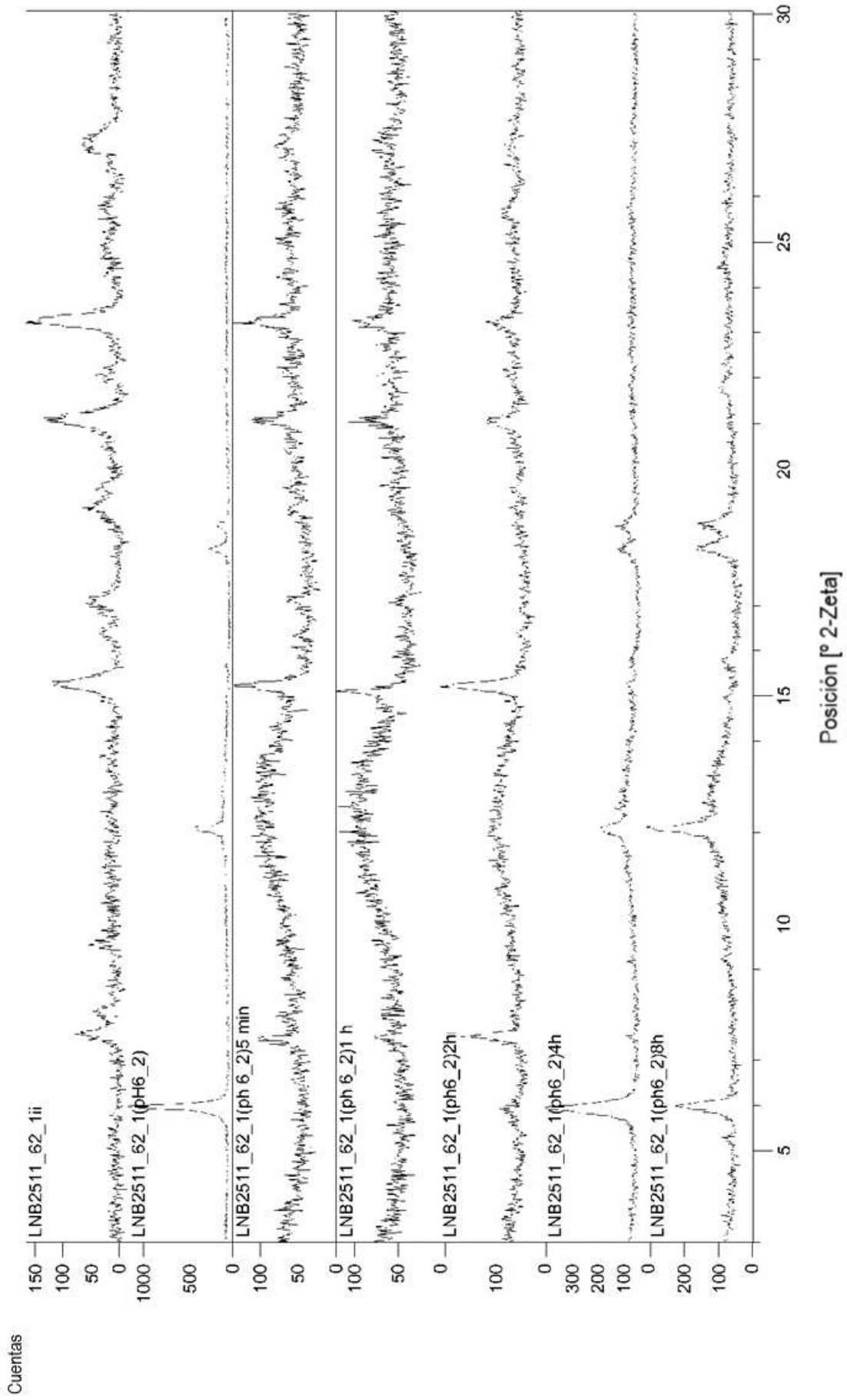


Figura 47

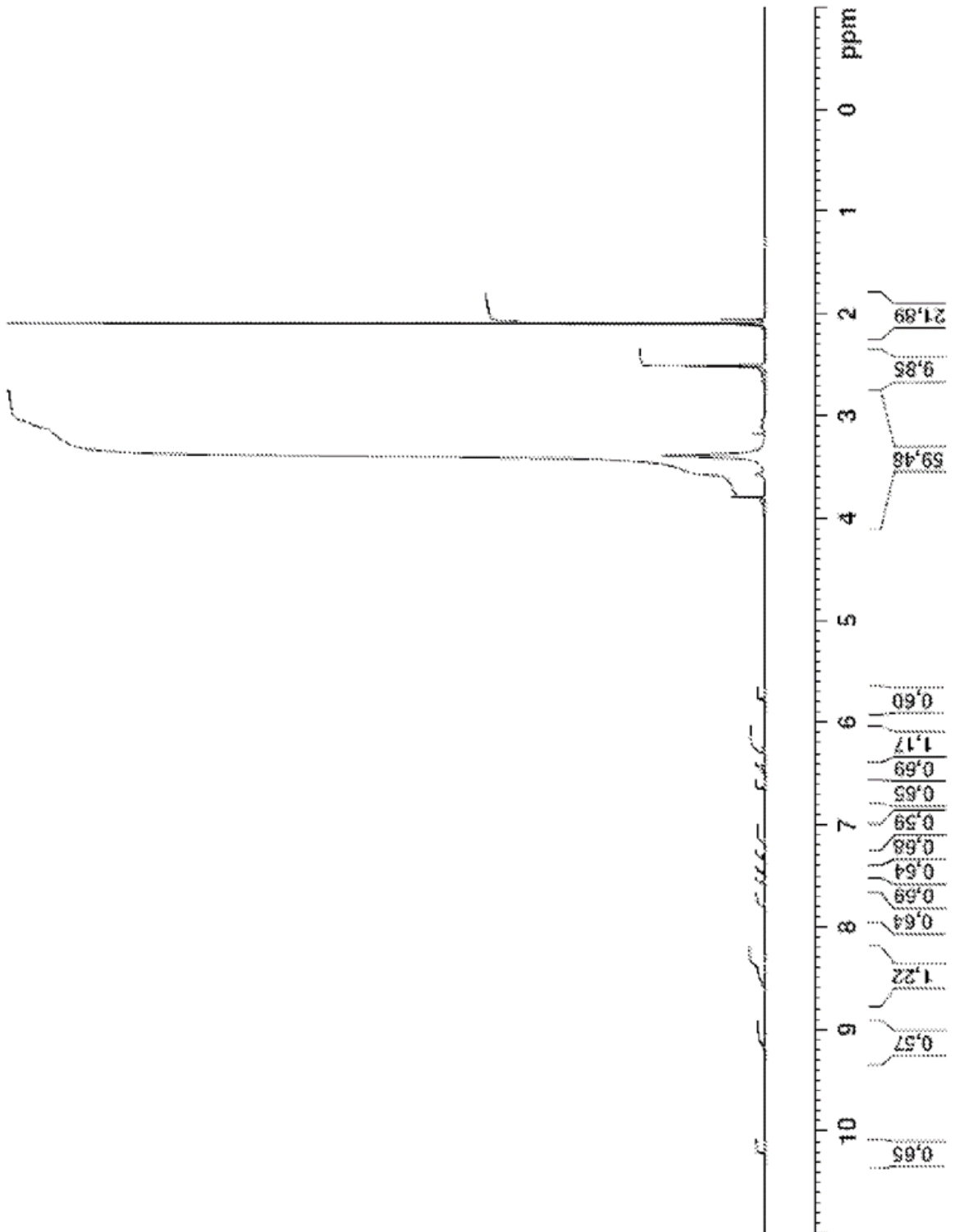


Figura 48

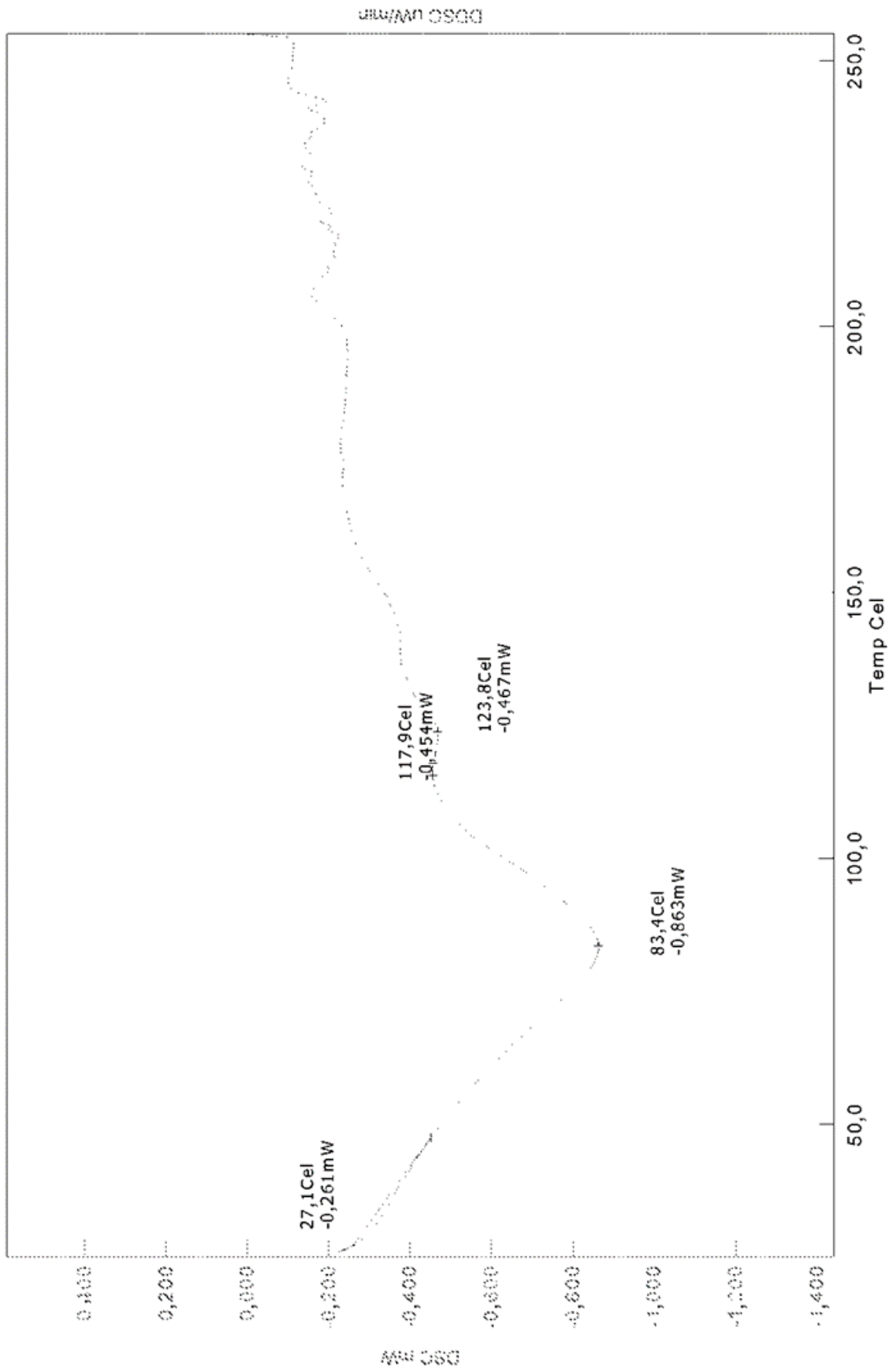


Figura 49

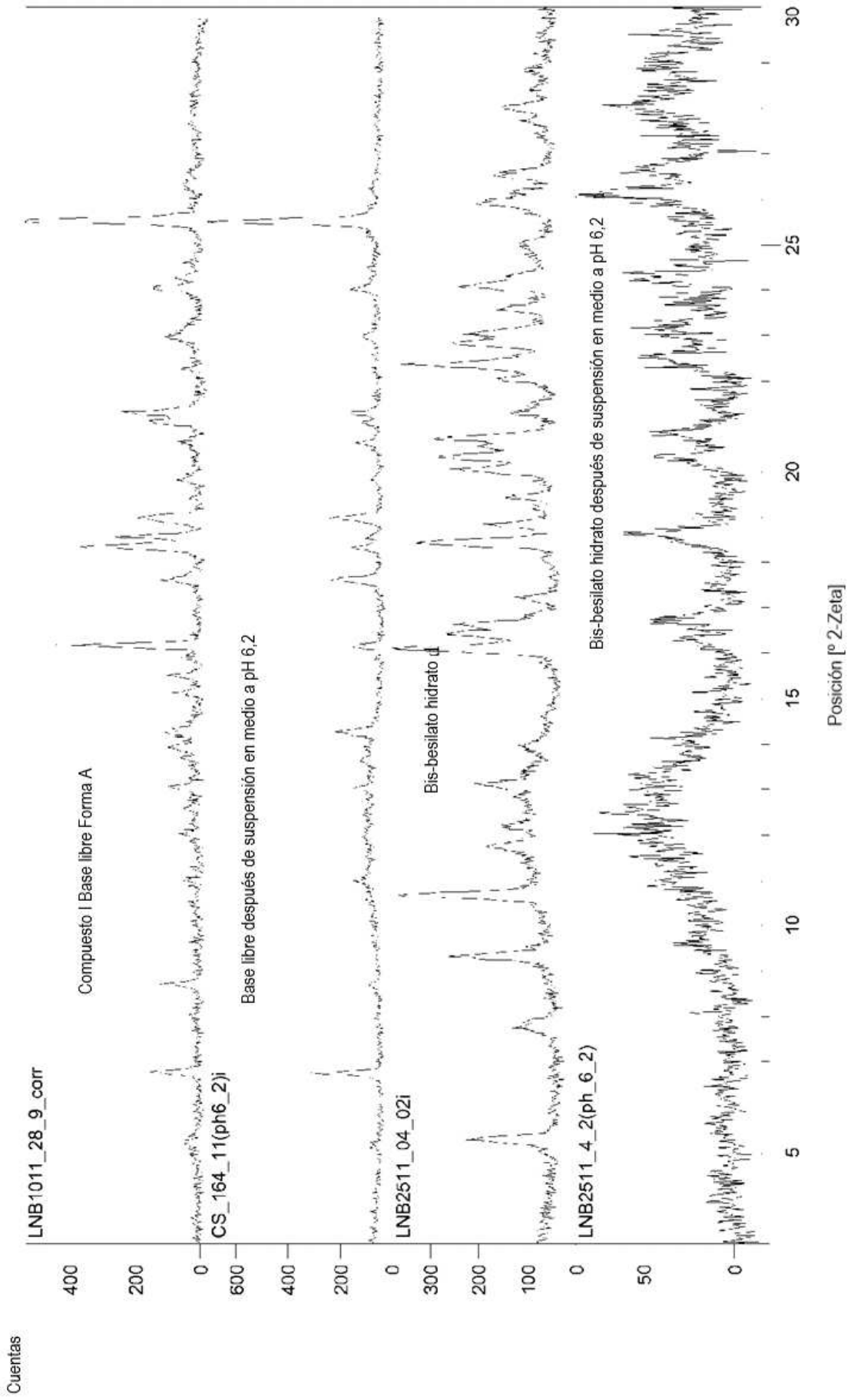


Figura 50

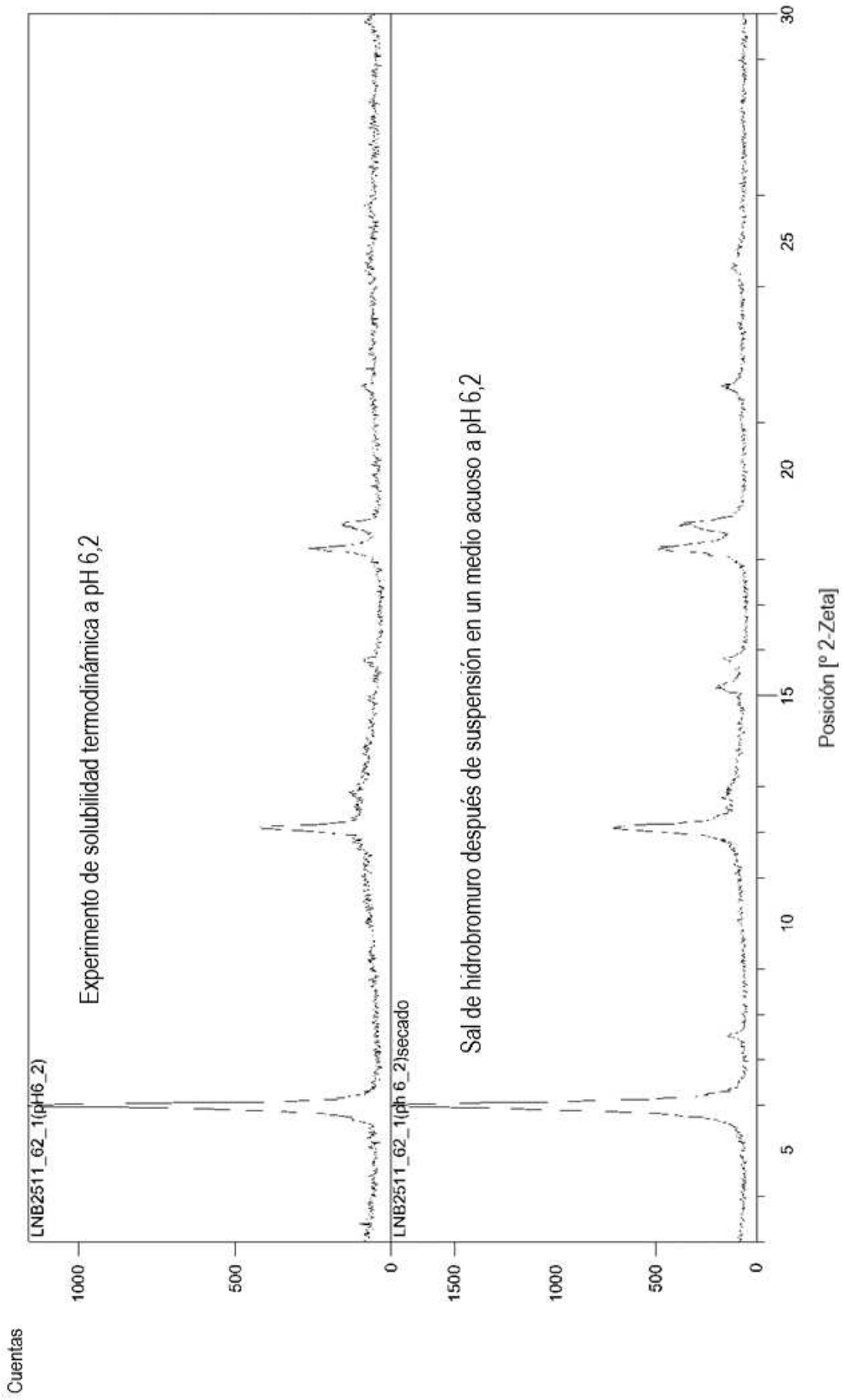


Figura 51



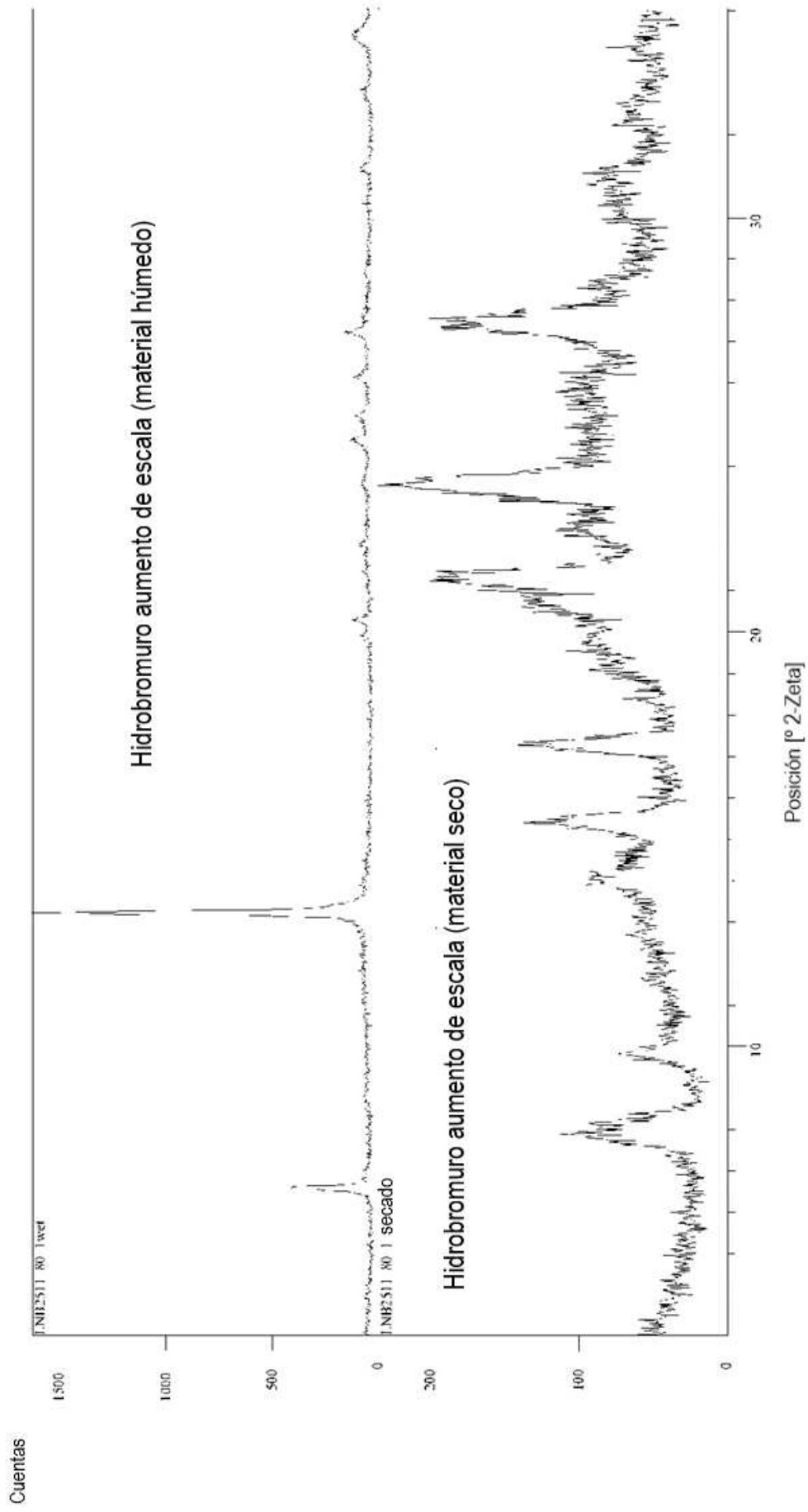


Figura 52

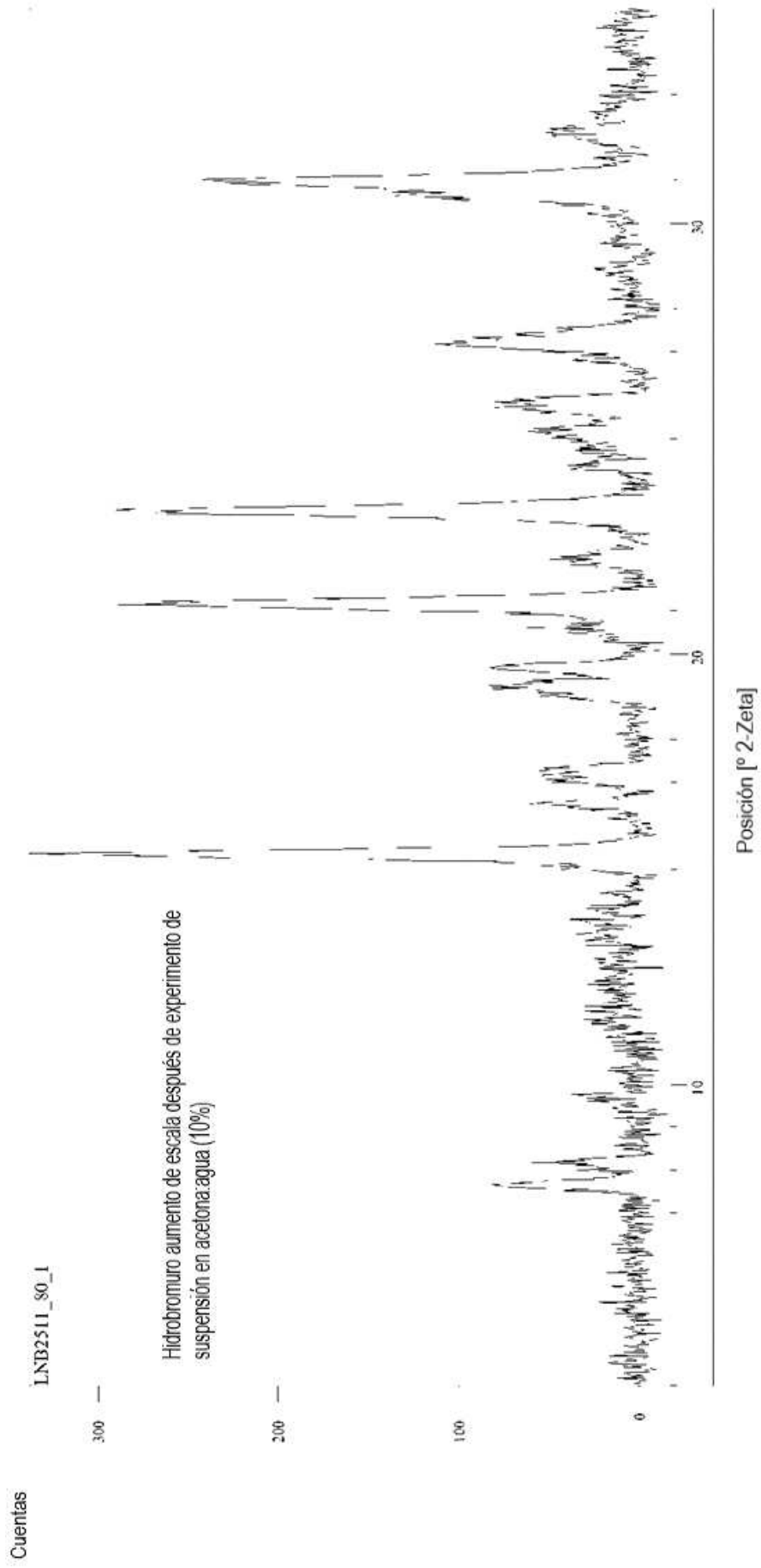


Figura 53

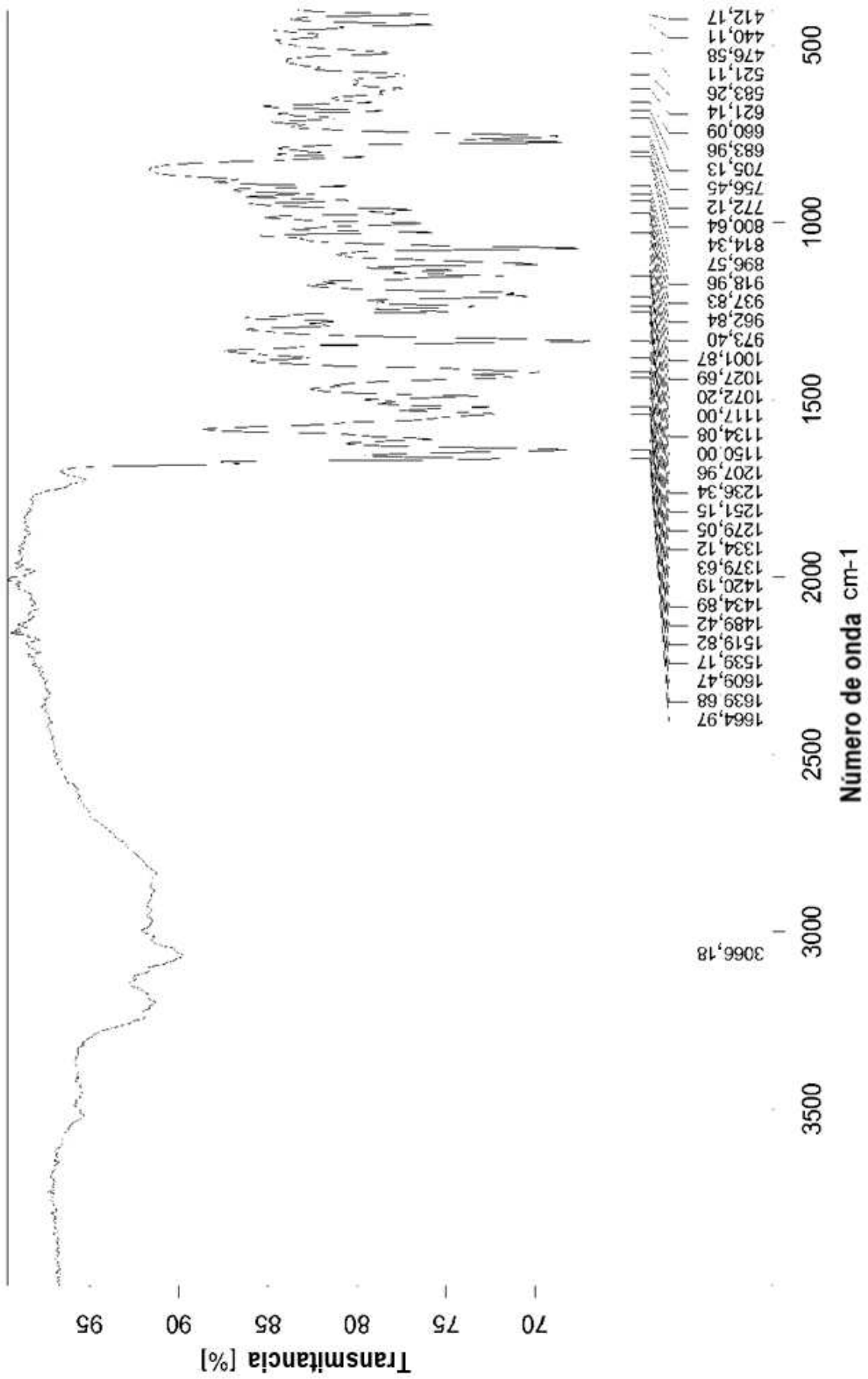


Figura 54

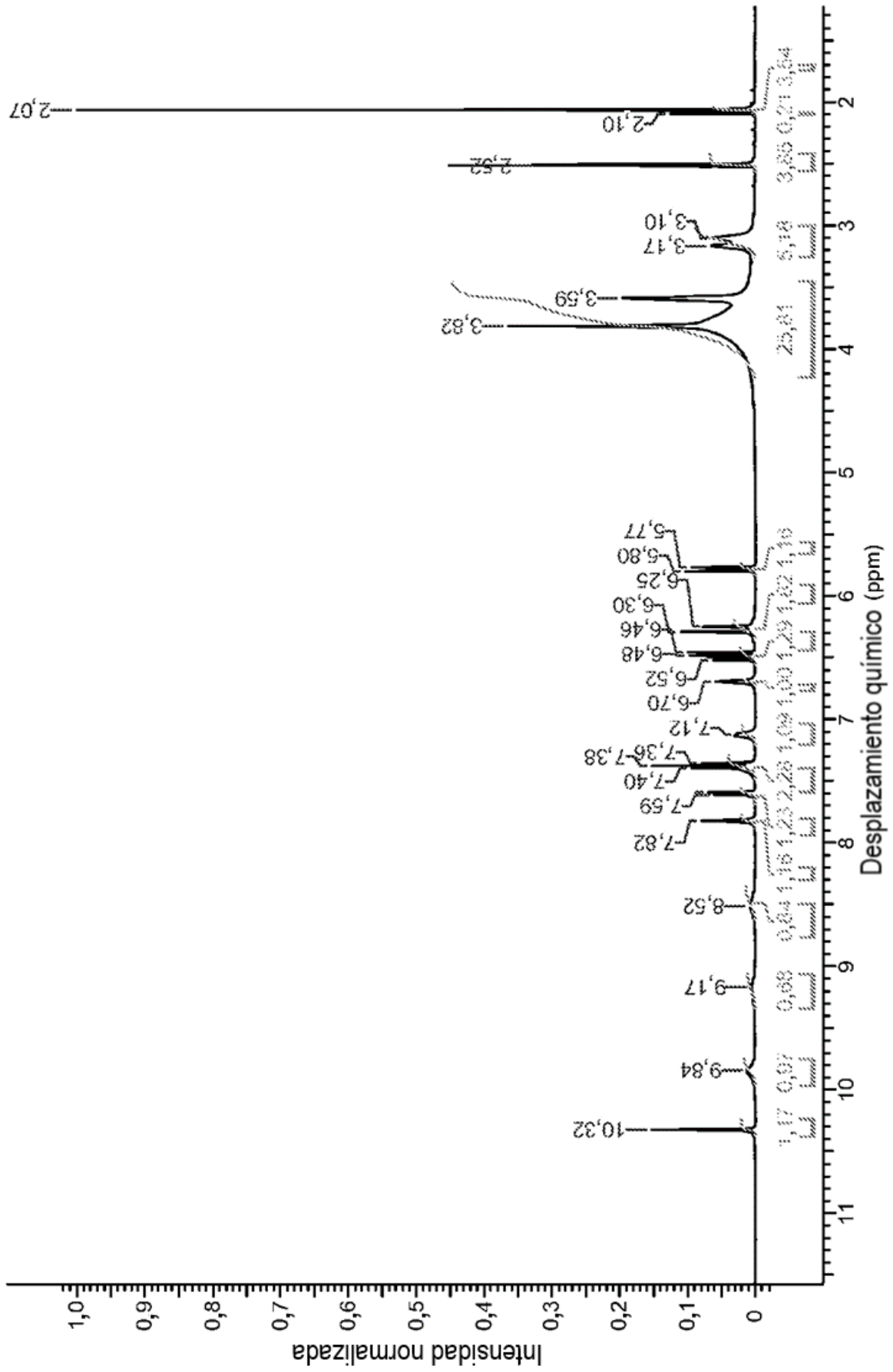


Figura 55

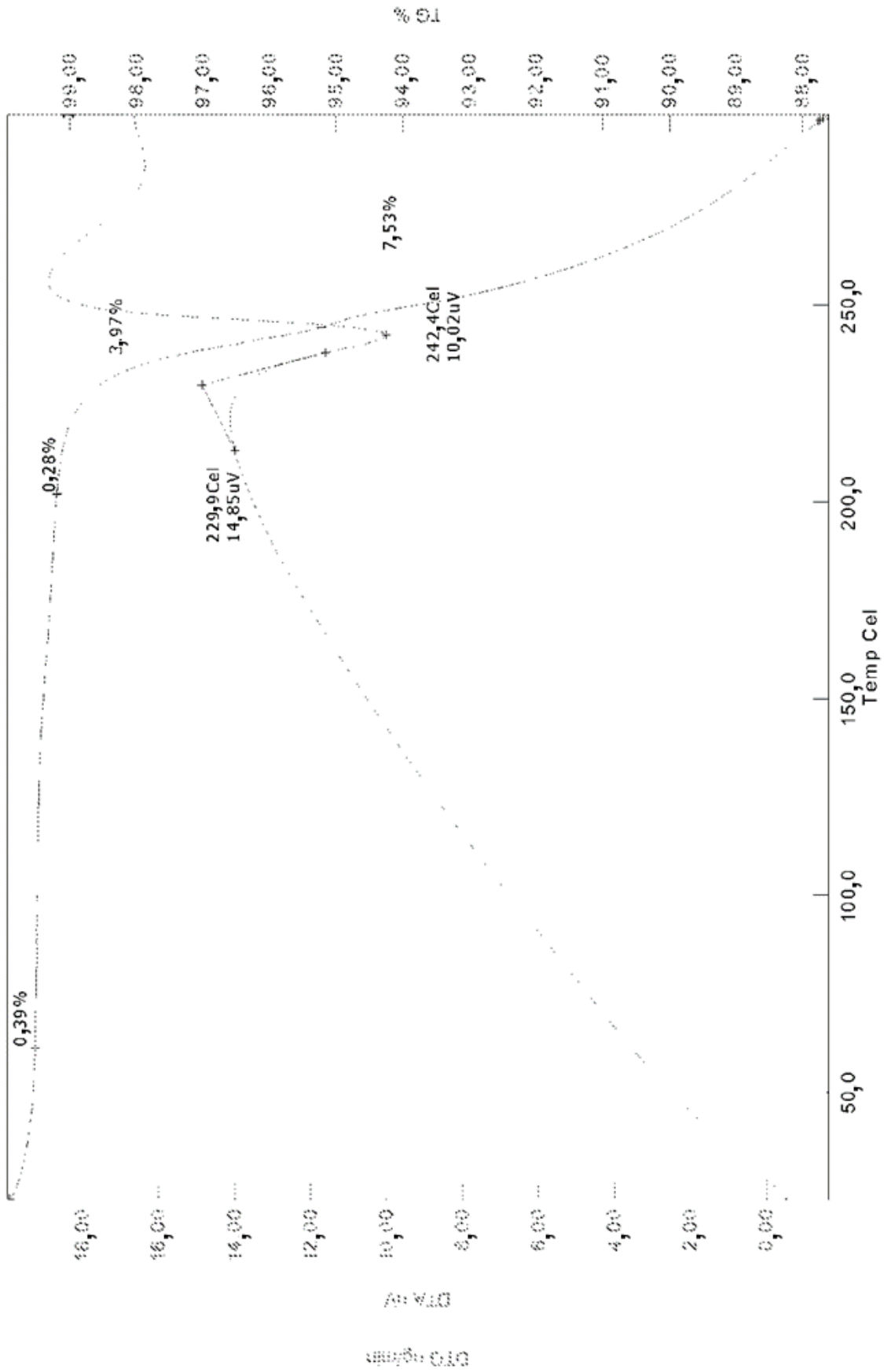


Figura 56

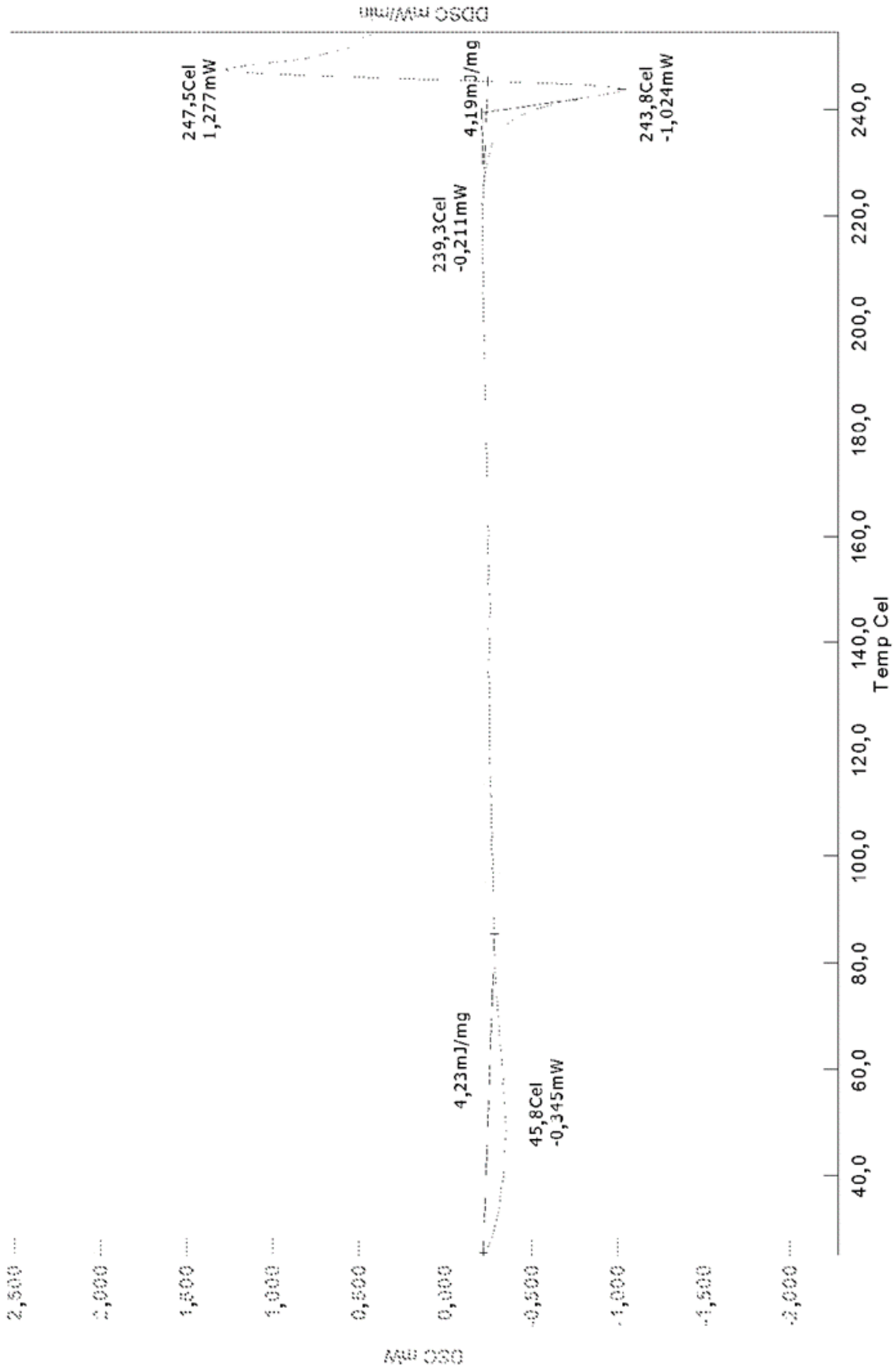


Figura 57

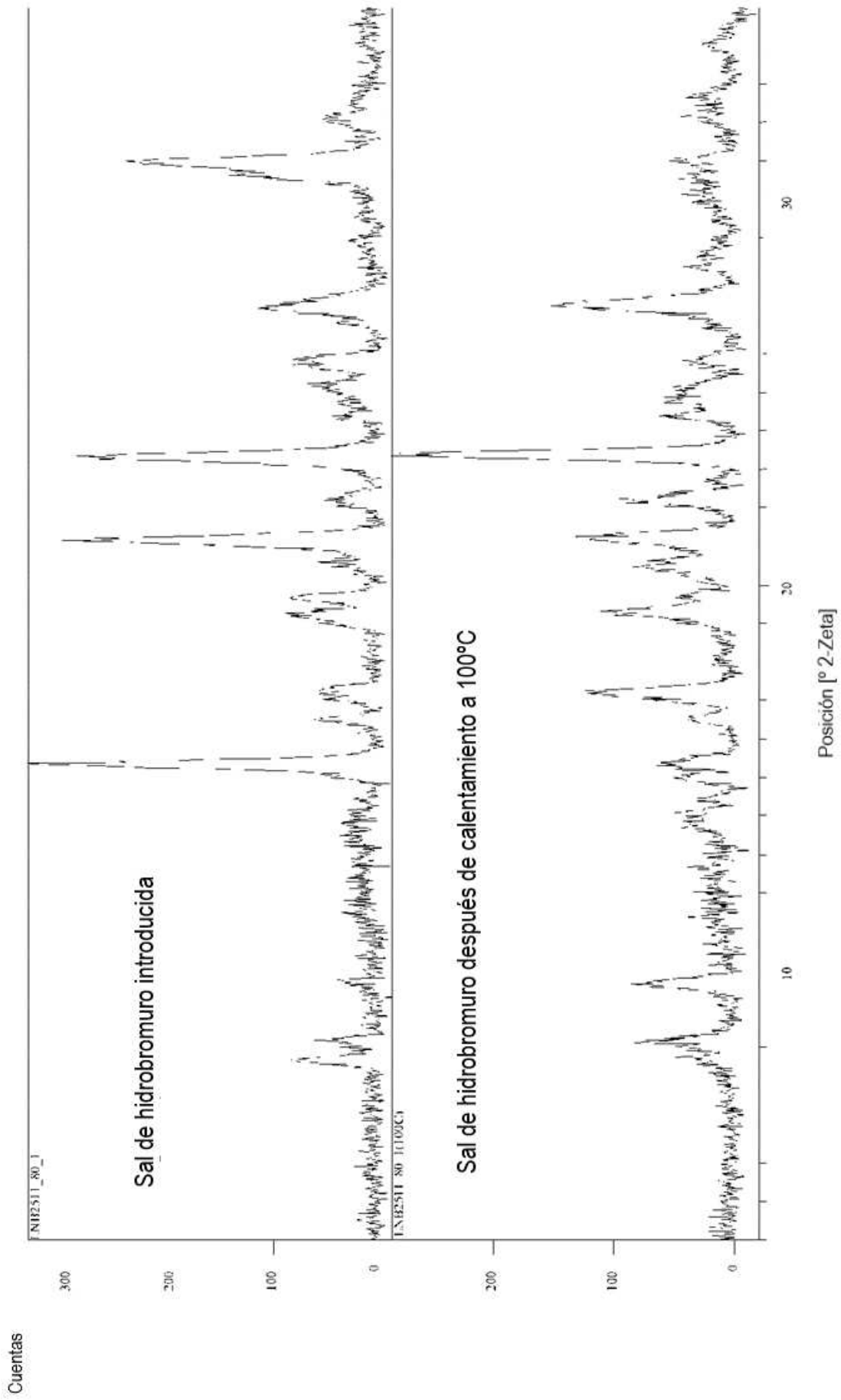


Figura 58

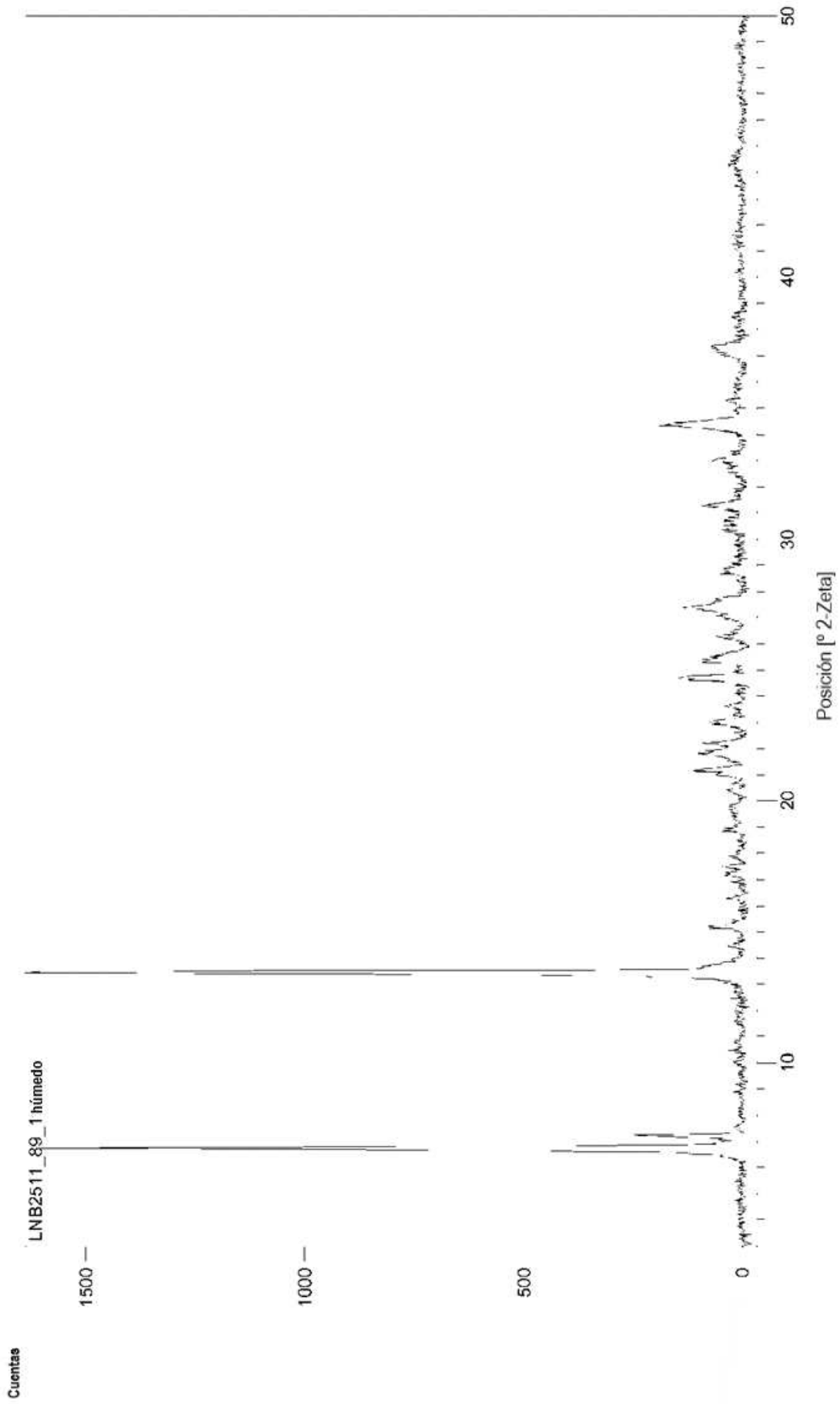


Figura 59



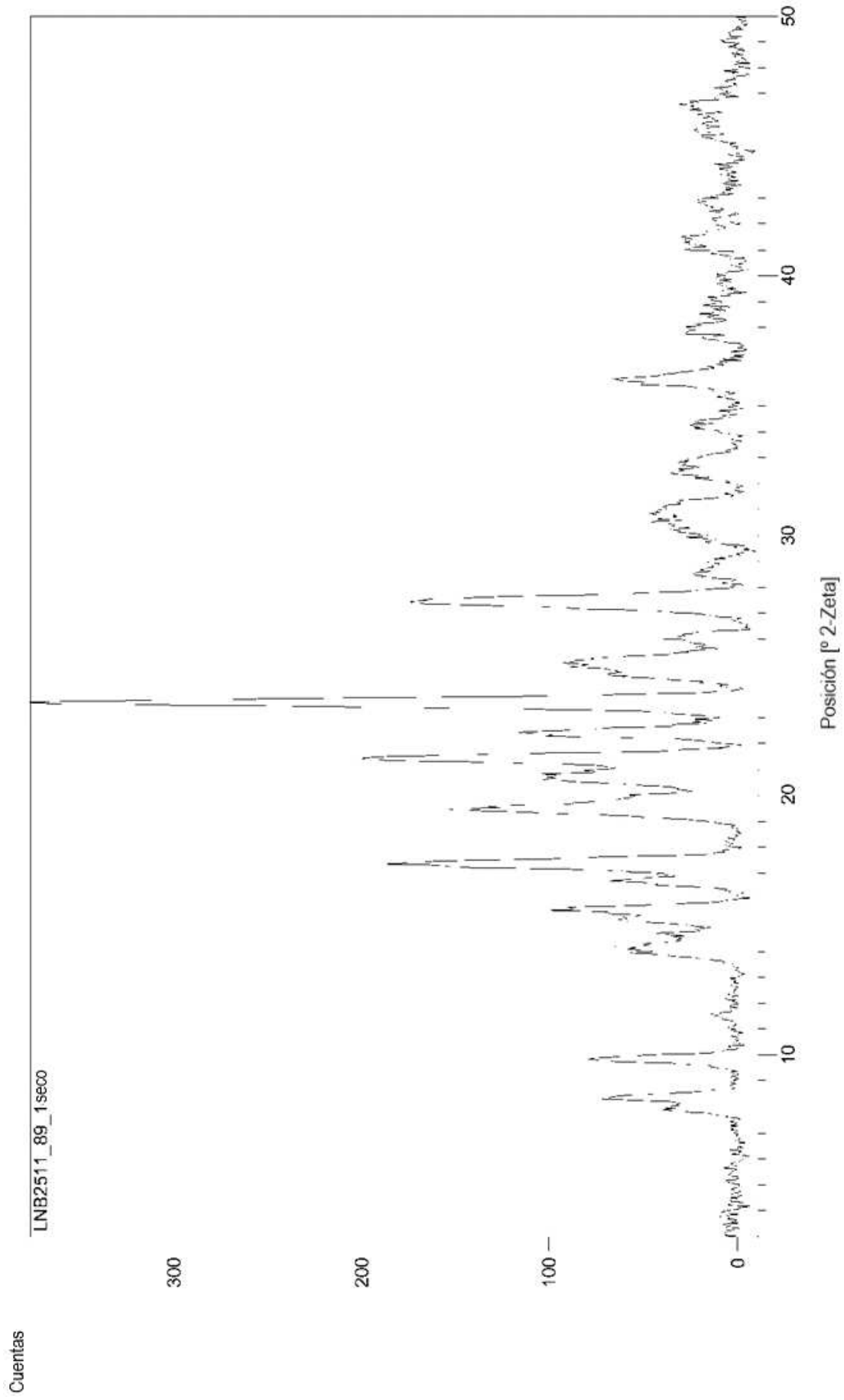


Figura 60

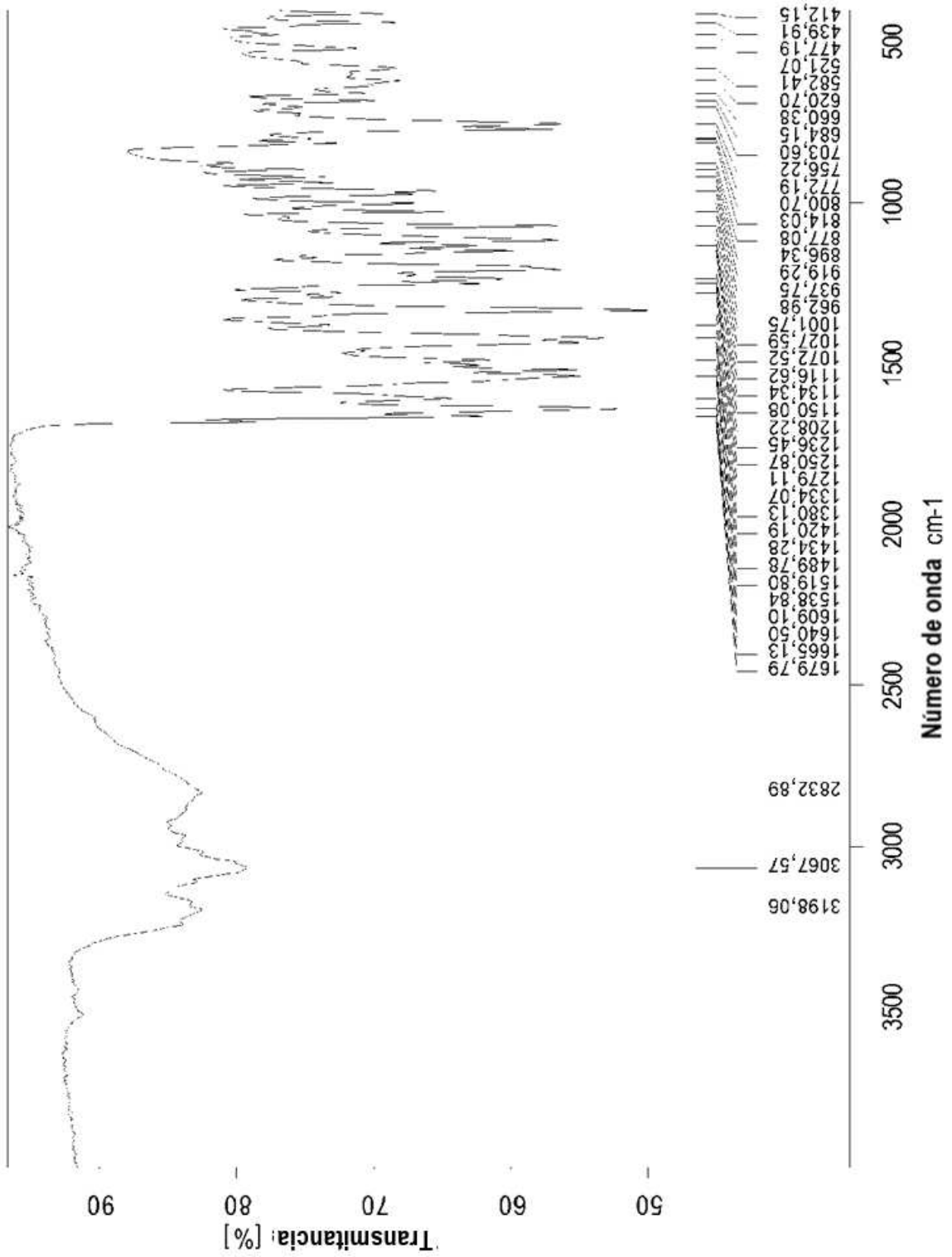


Figura 61

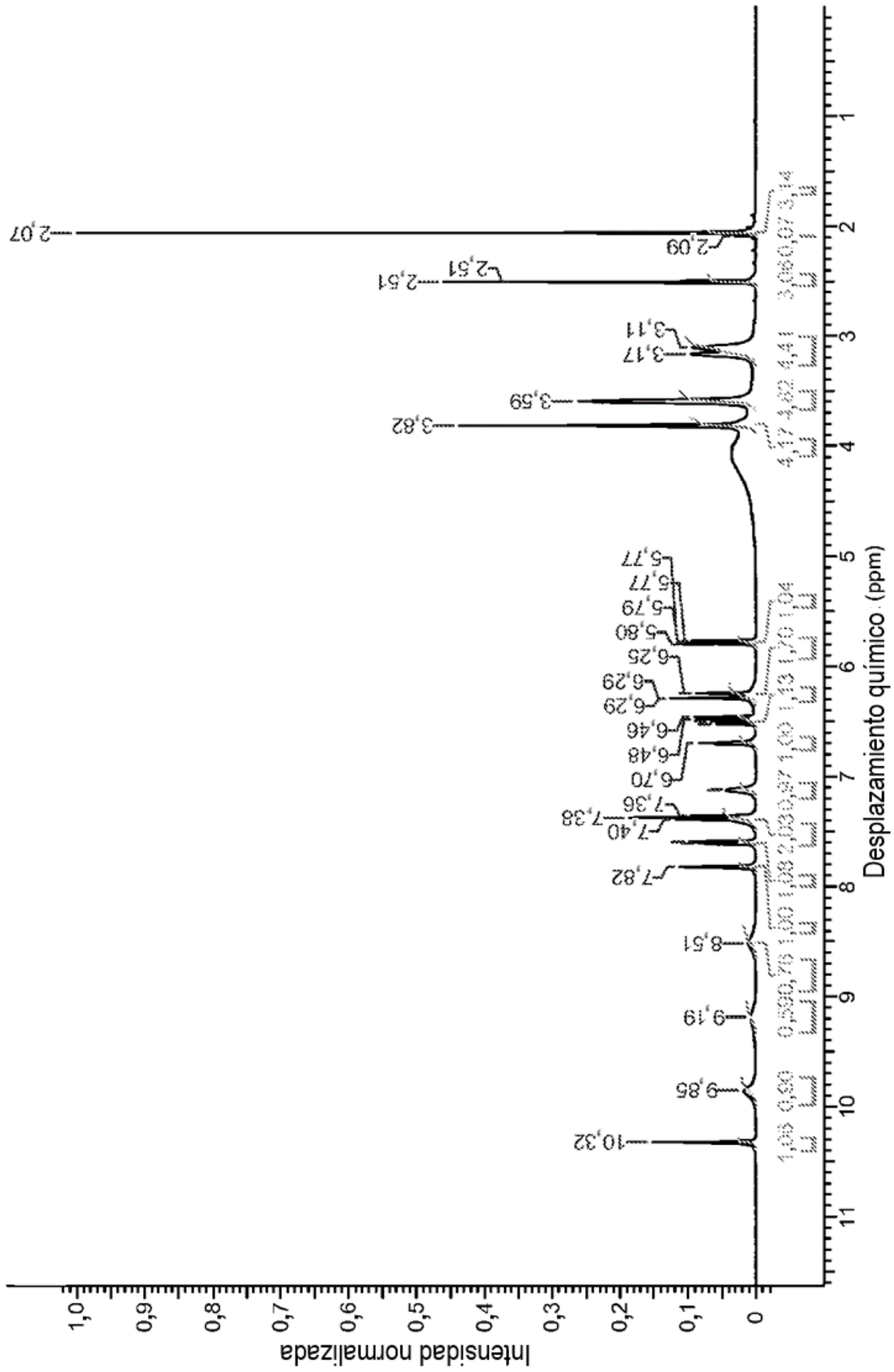


Figura 62

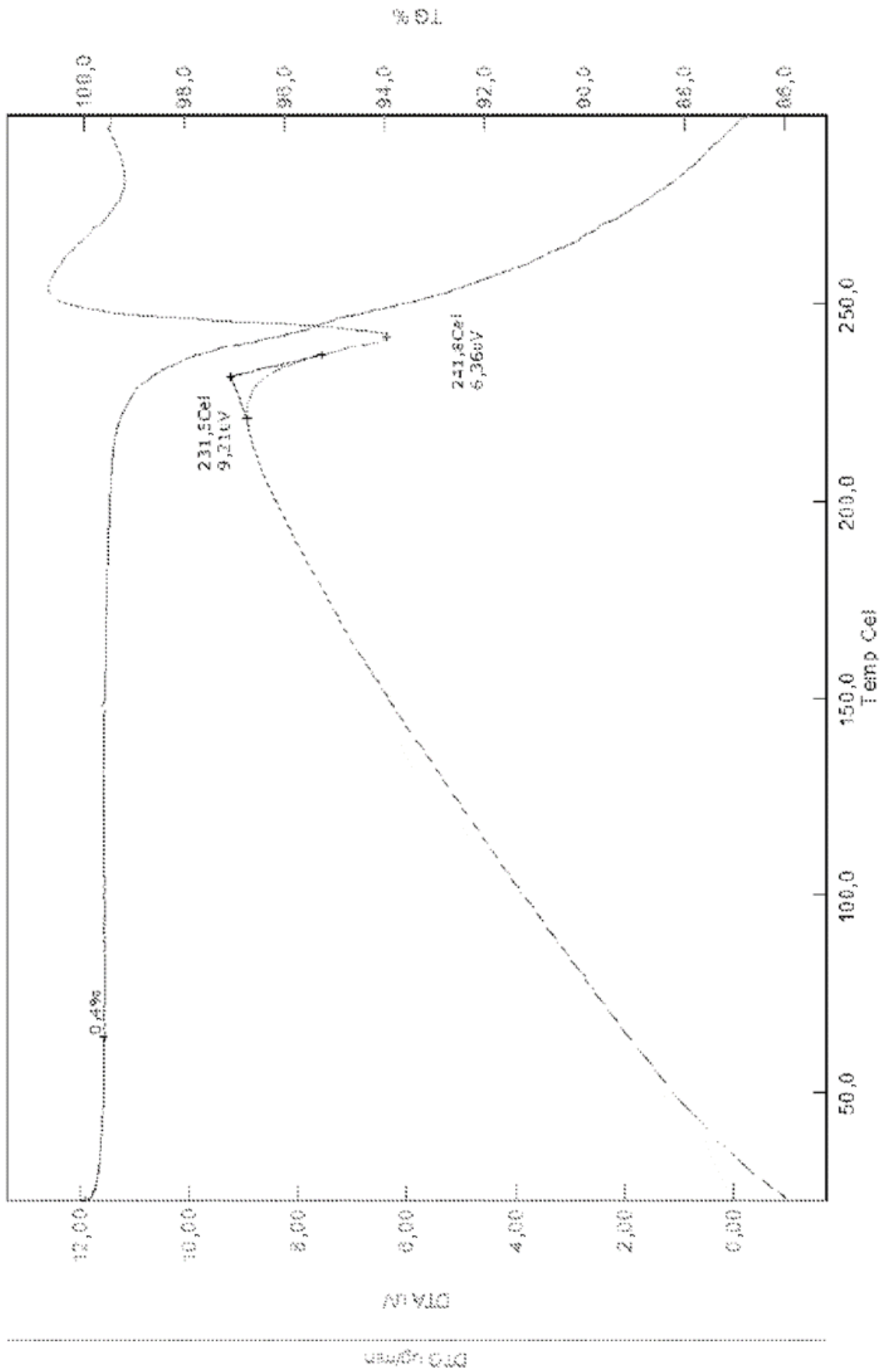


Figura 63

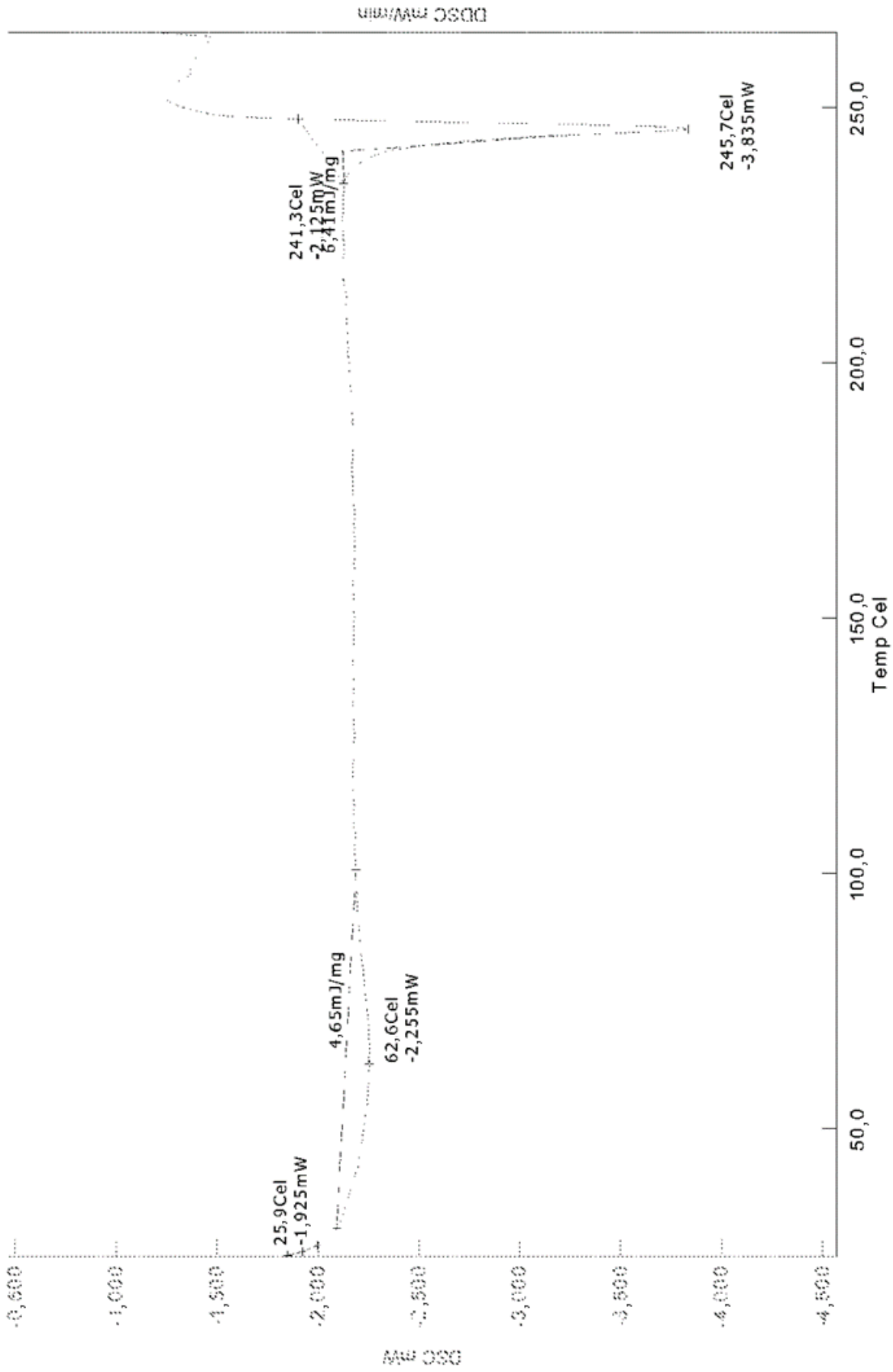


Figura 64

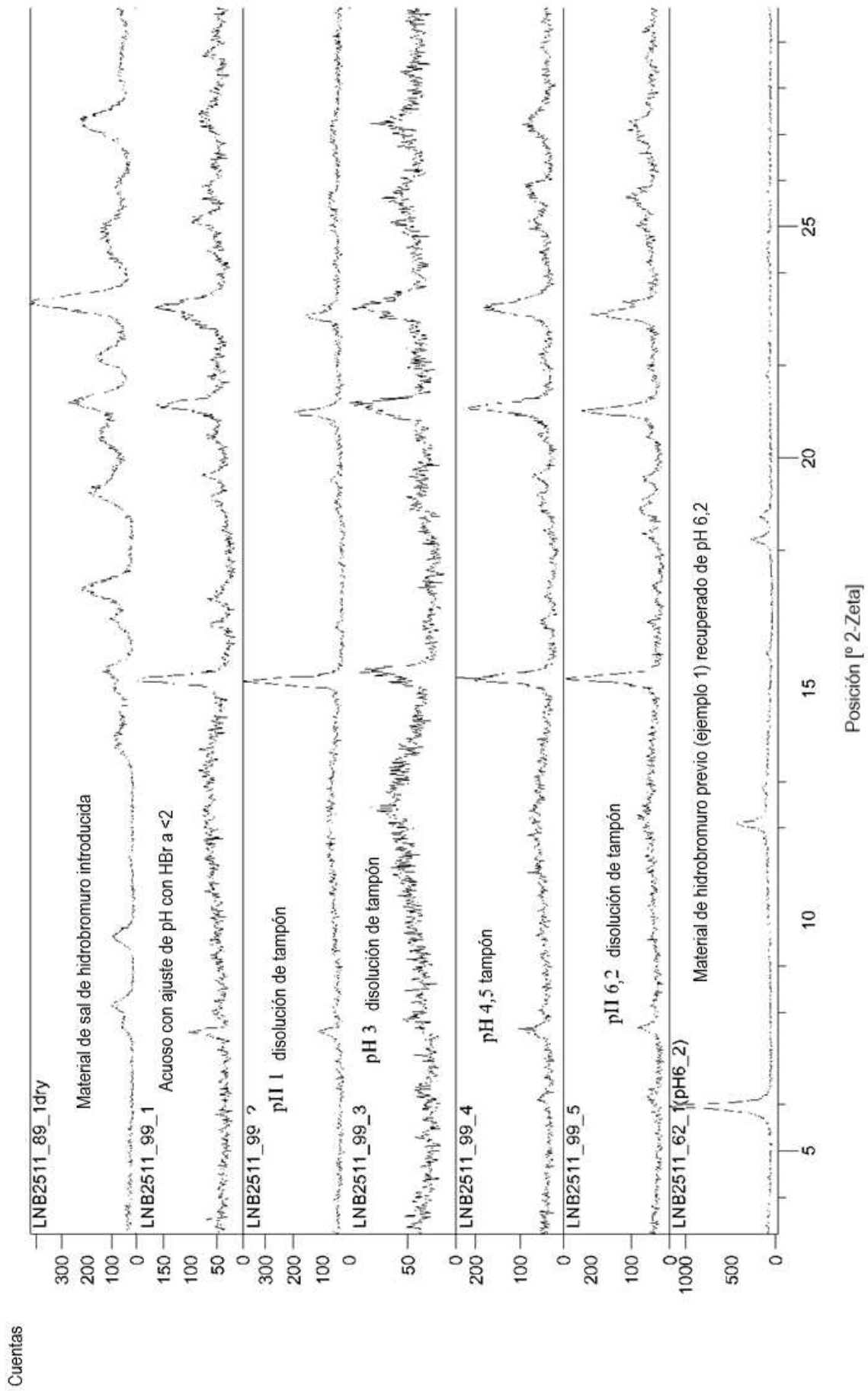


Figura 65

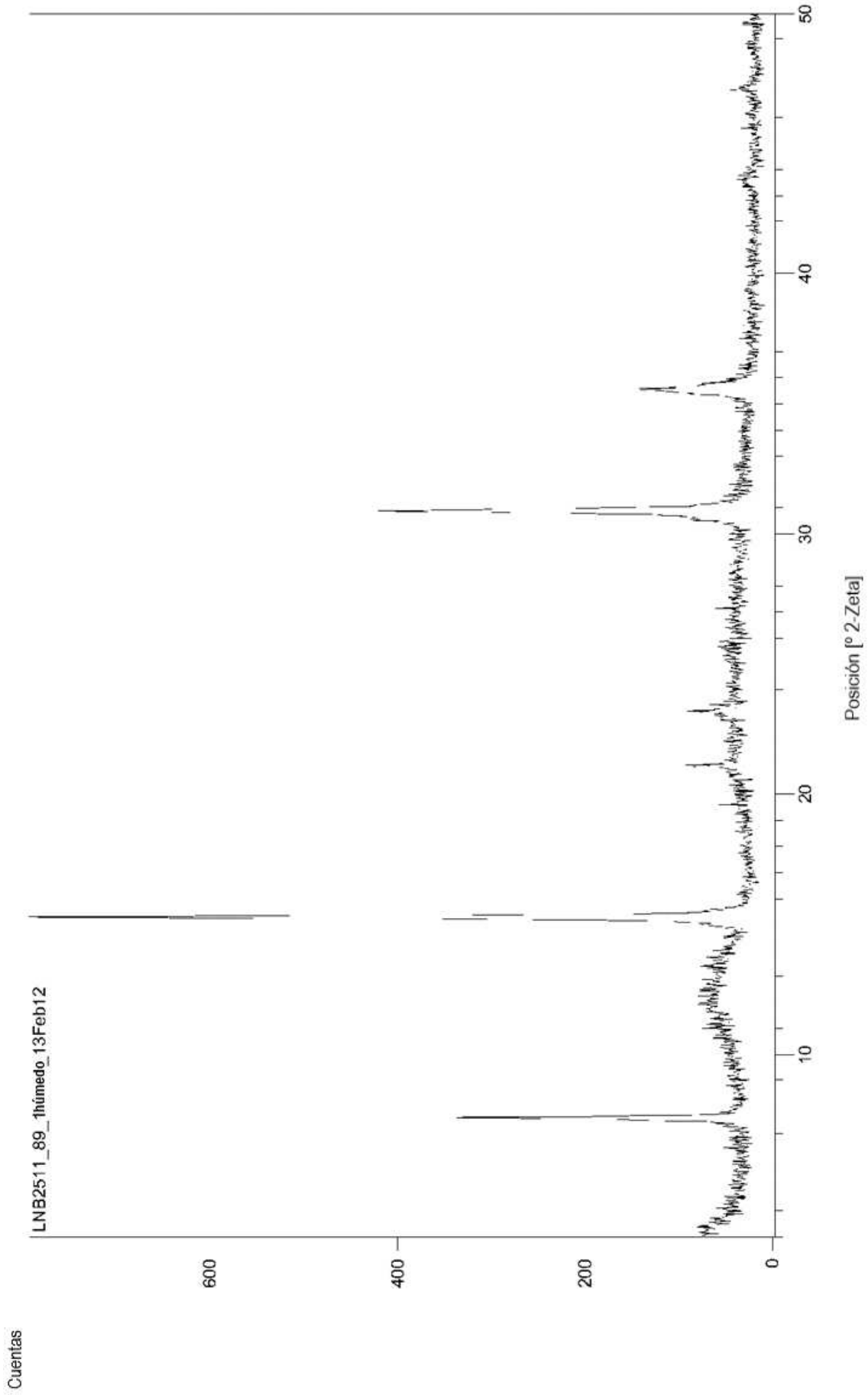
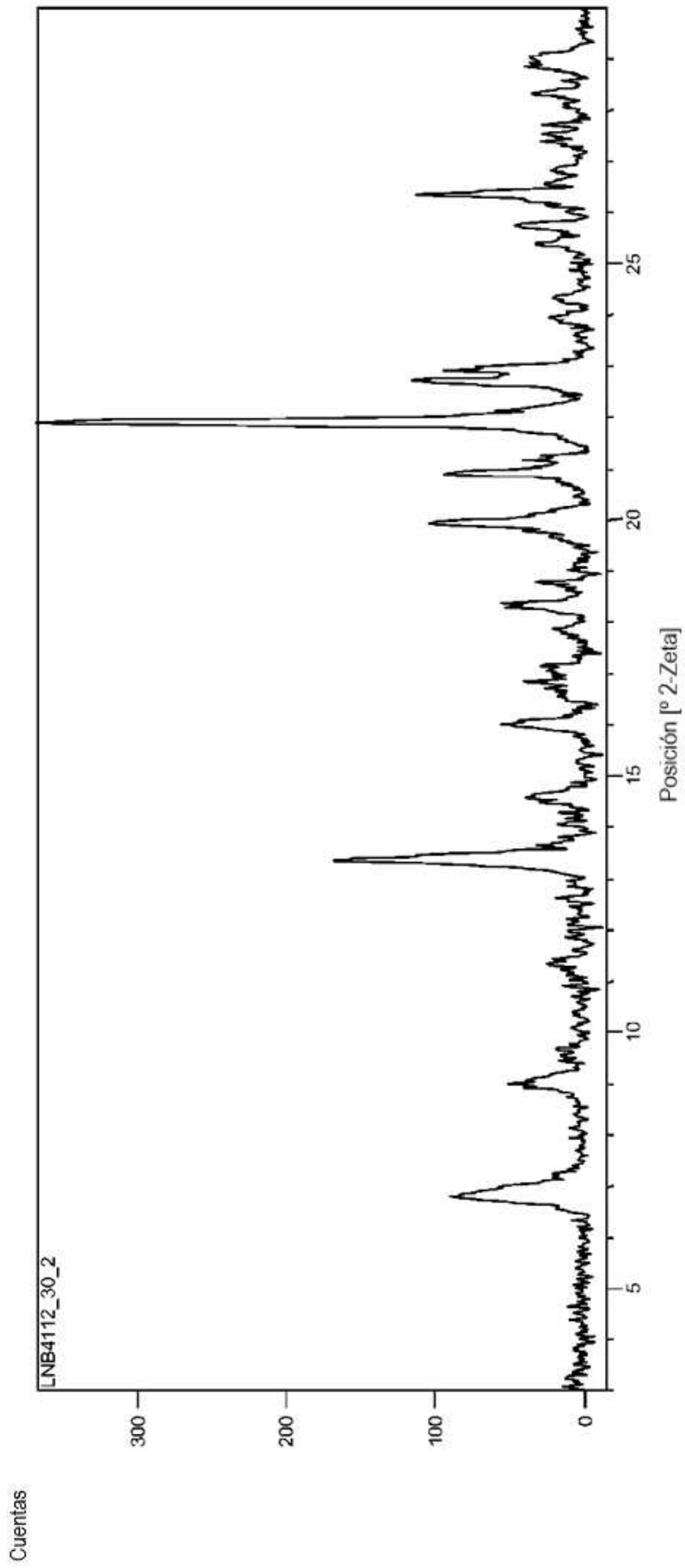


Figura 66



**Figura 67**



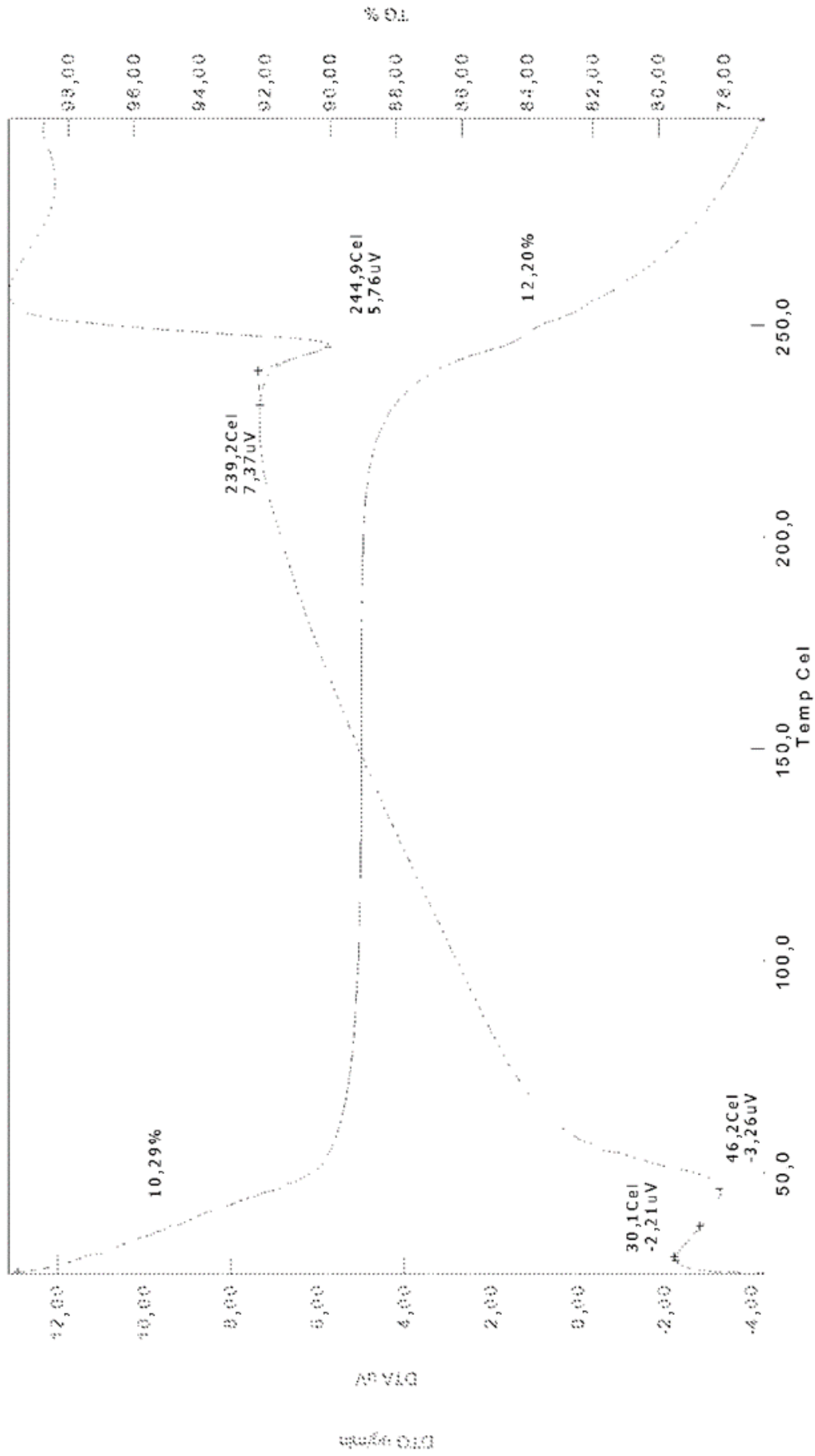


Figura 68

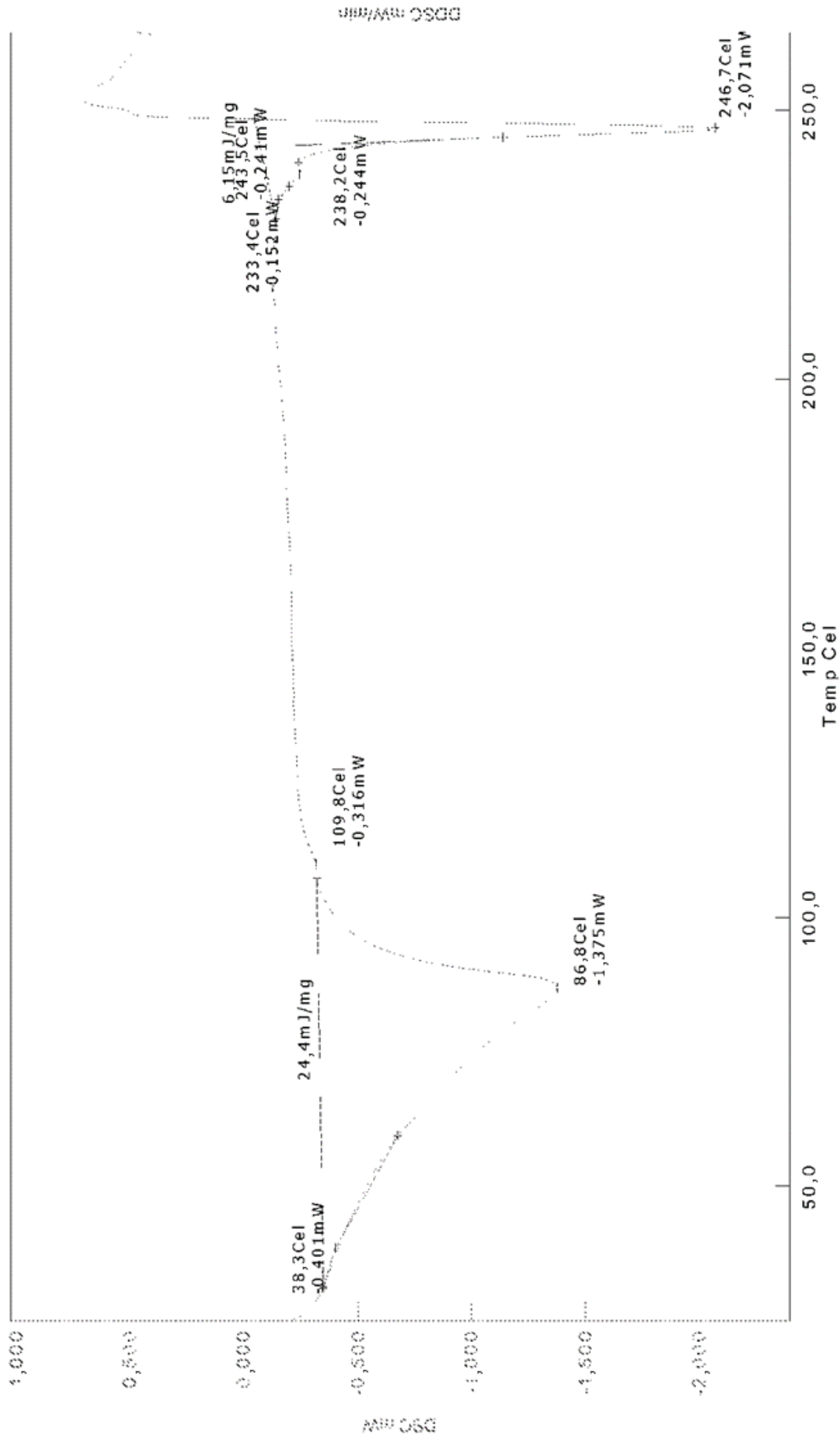


Figura 69

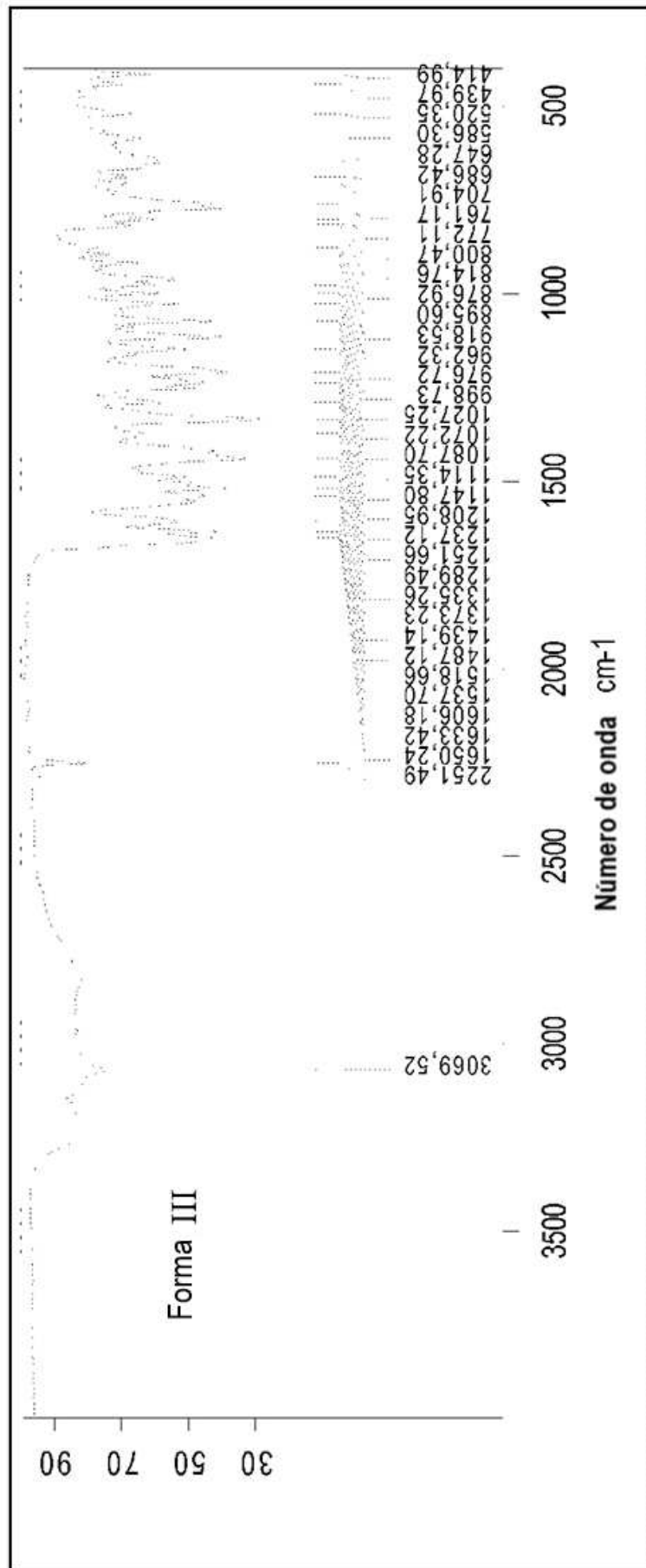


Figura 70

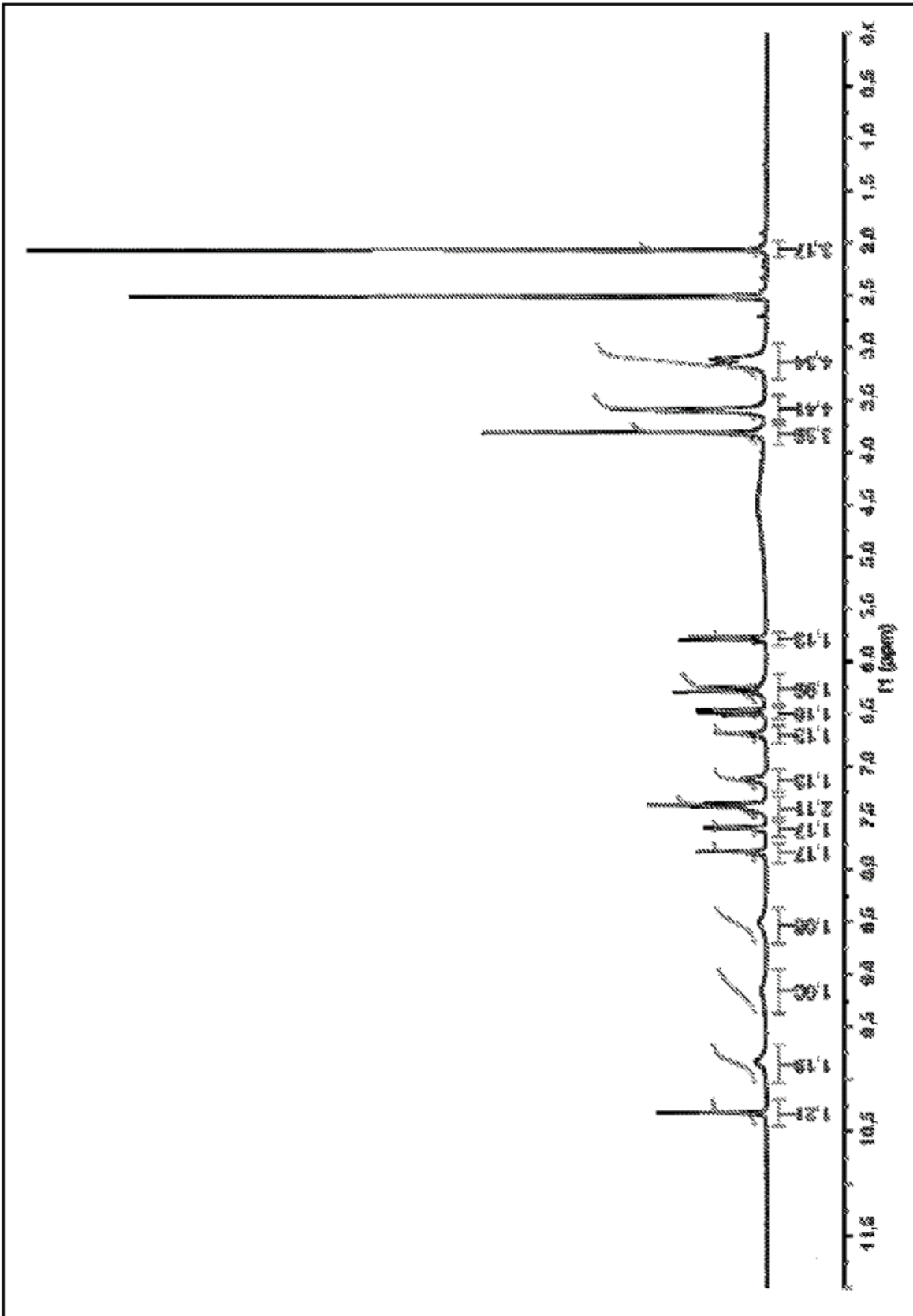


Figure 71

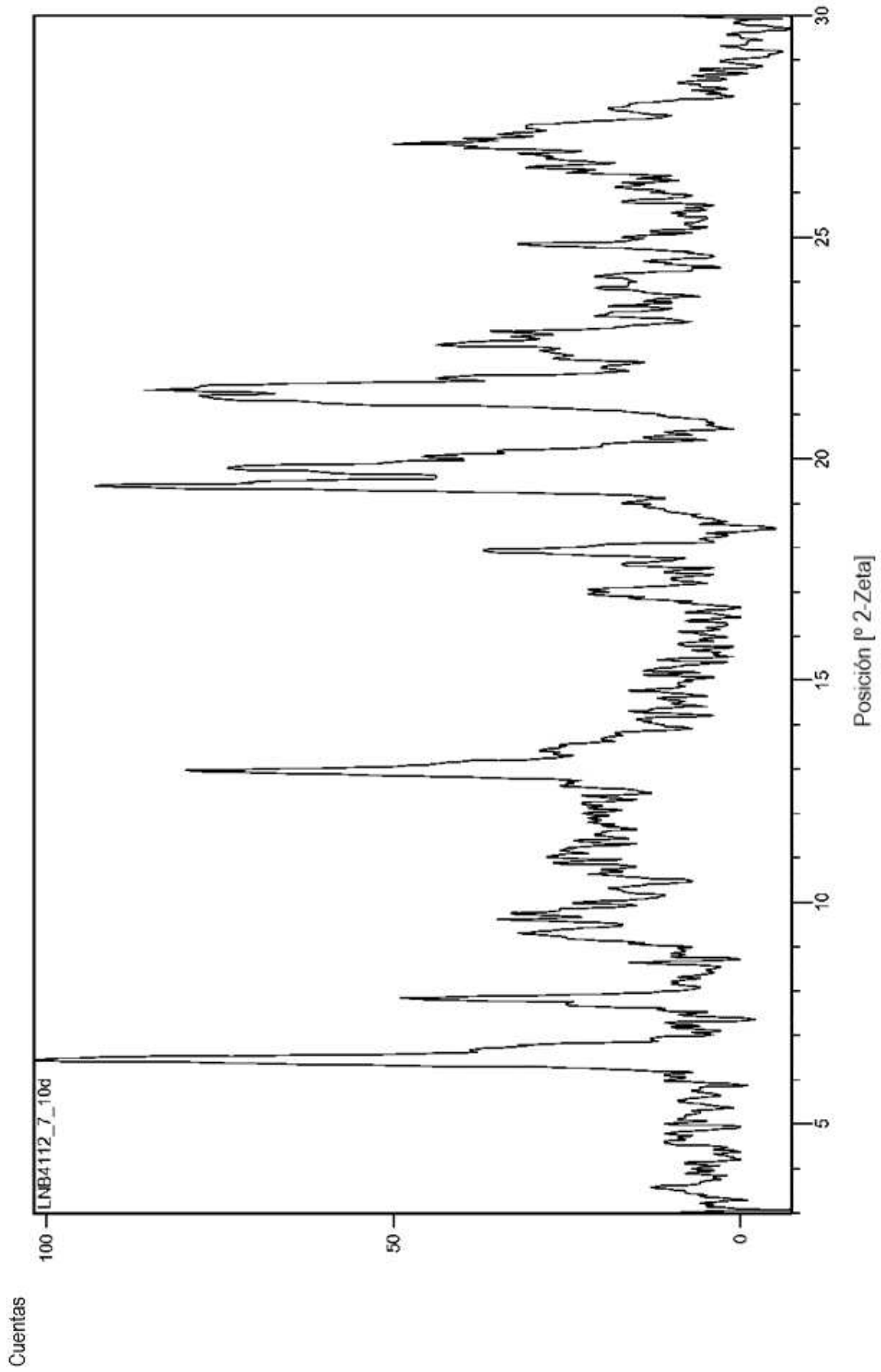
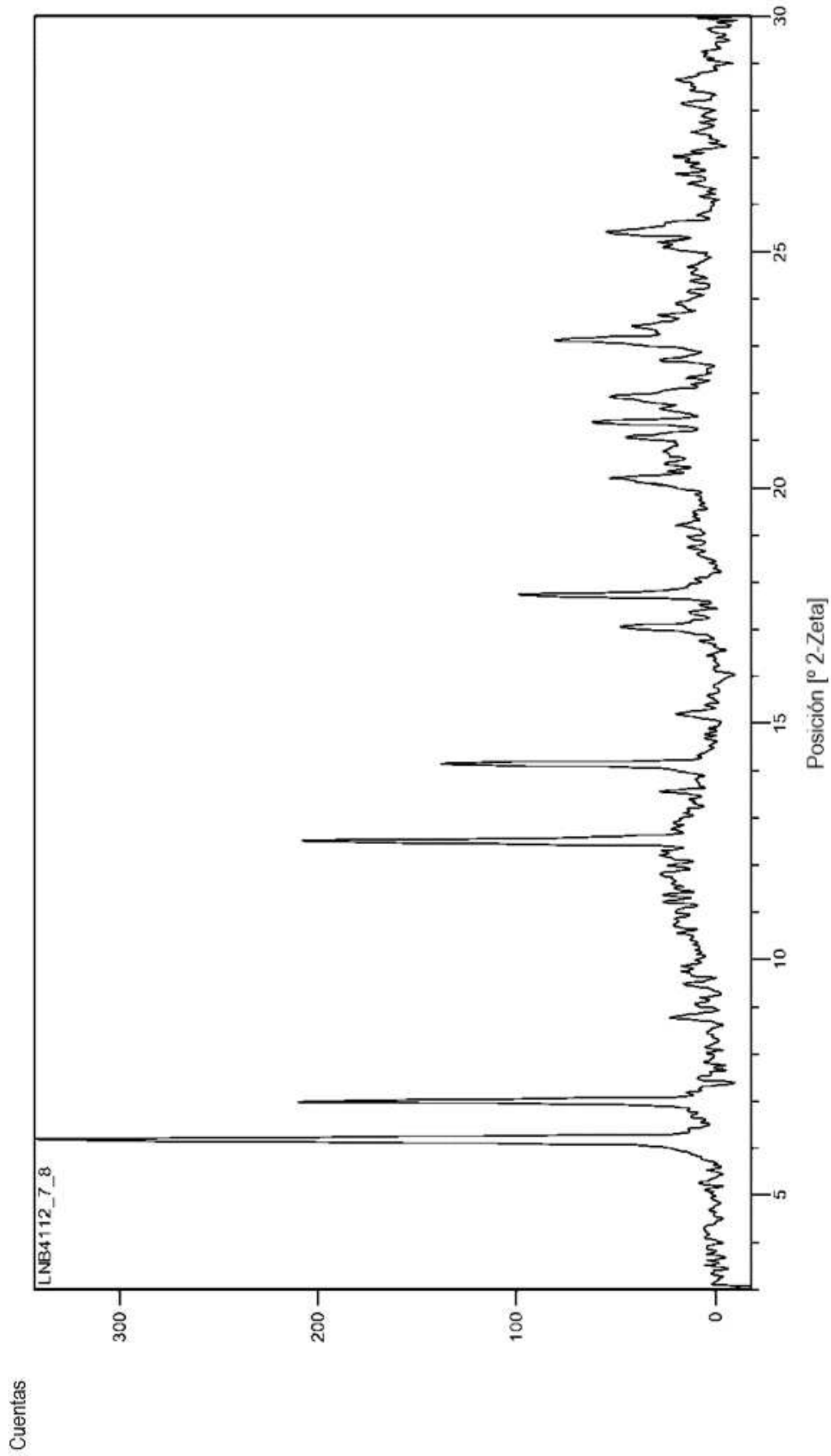
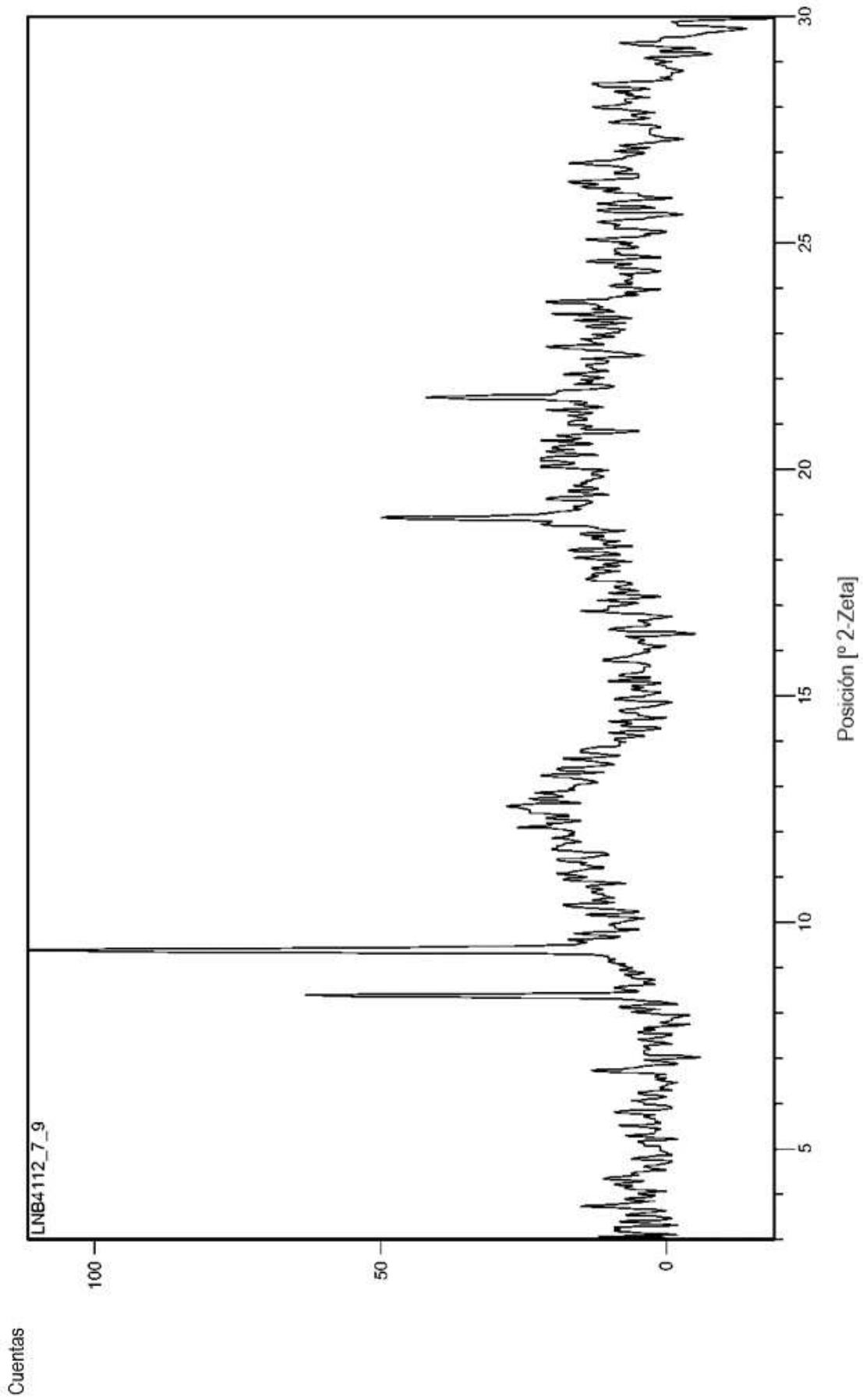


Figura 72



**Figura 73**



**Figura 74**

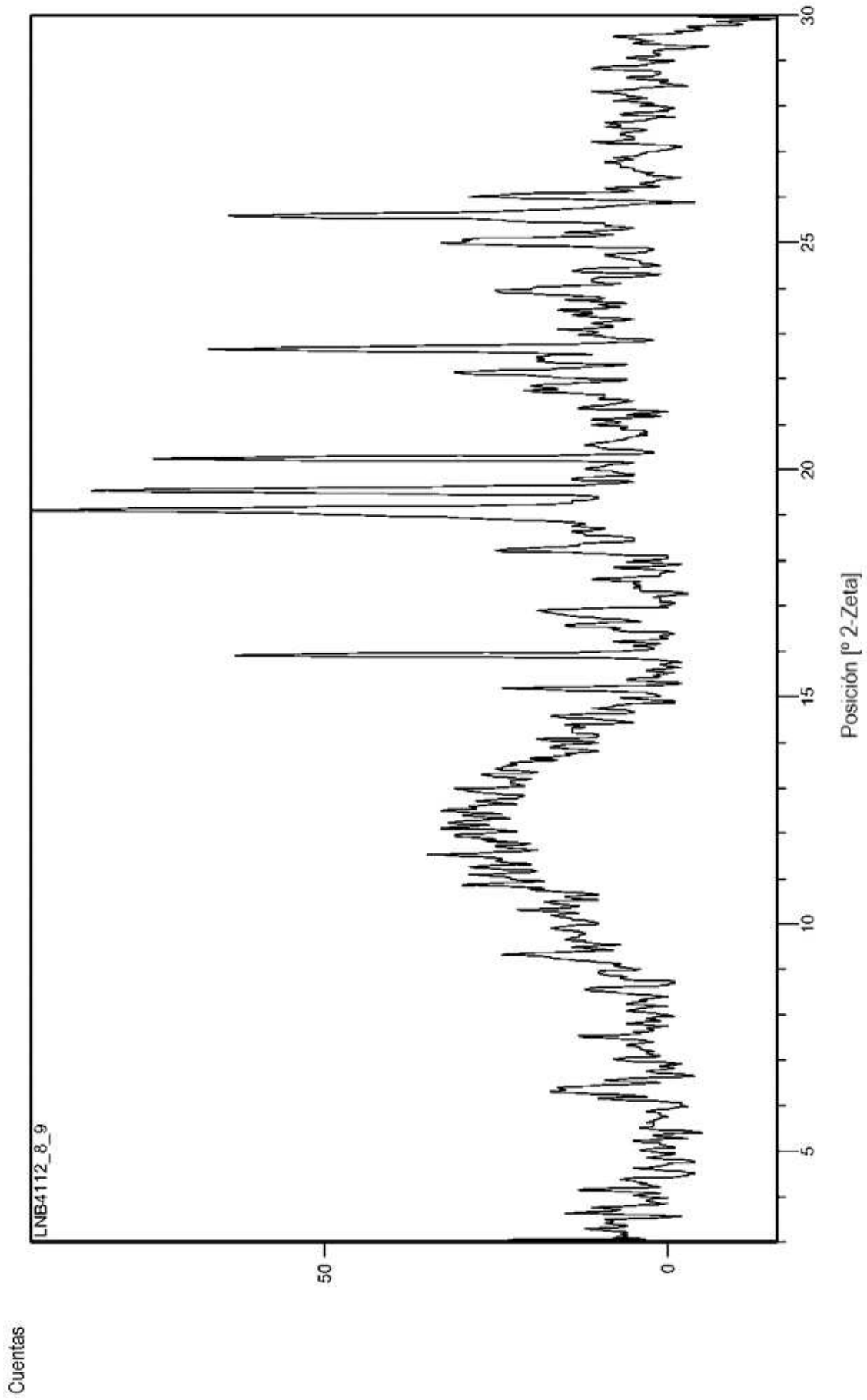
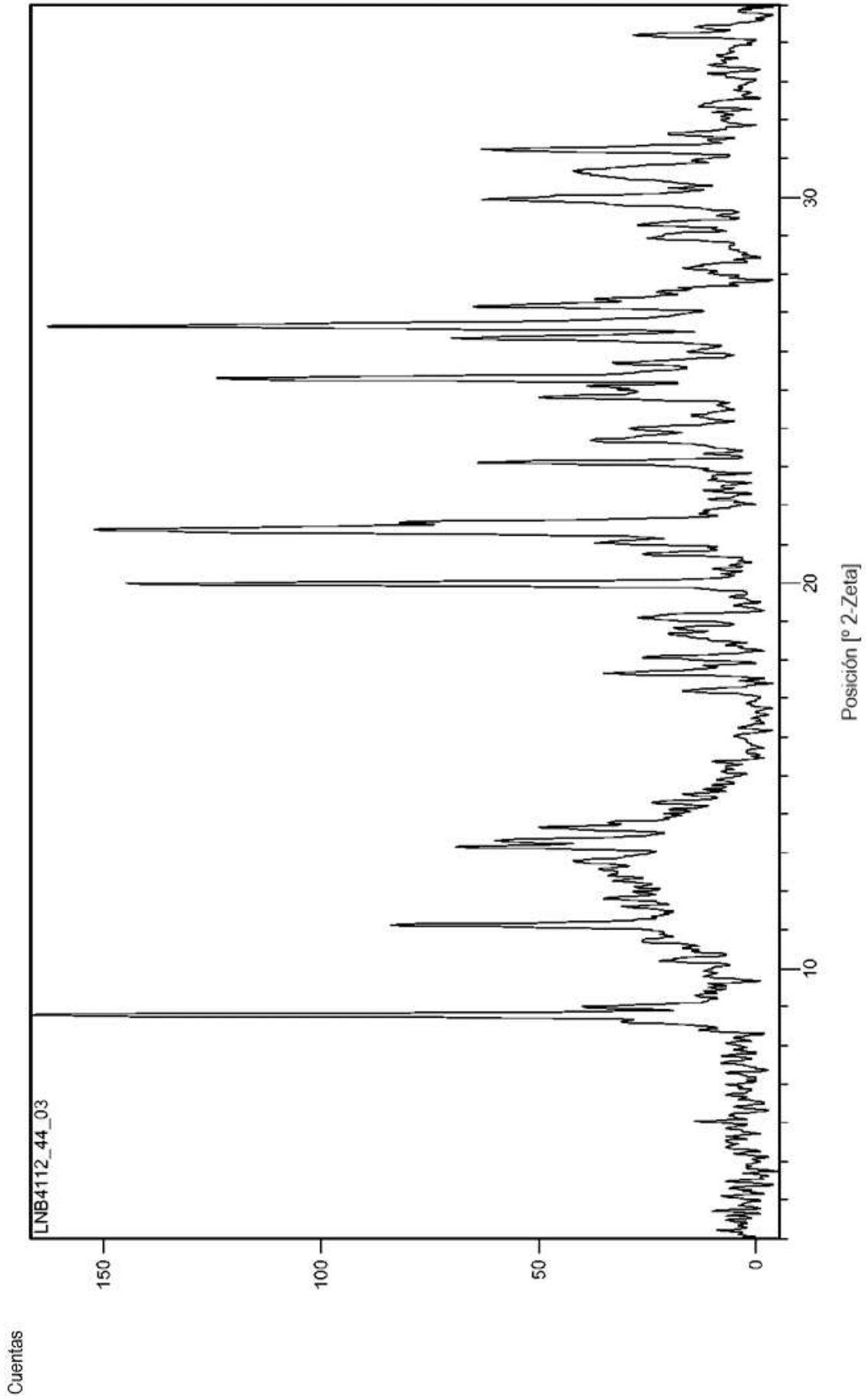


Figura 75





**Figura 76**

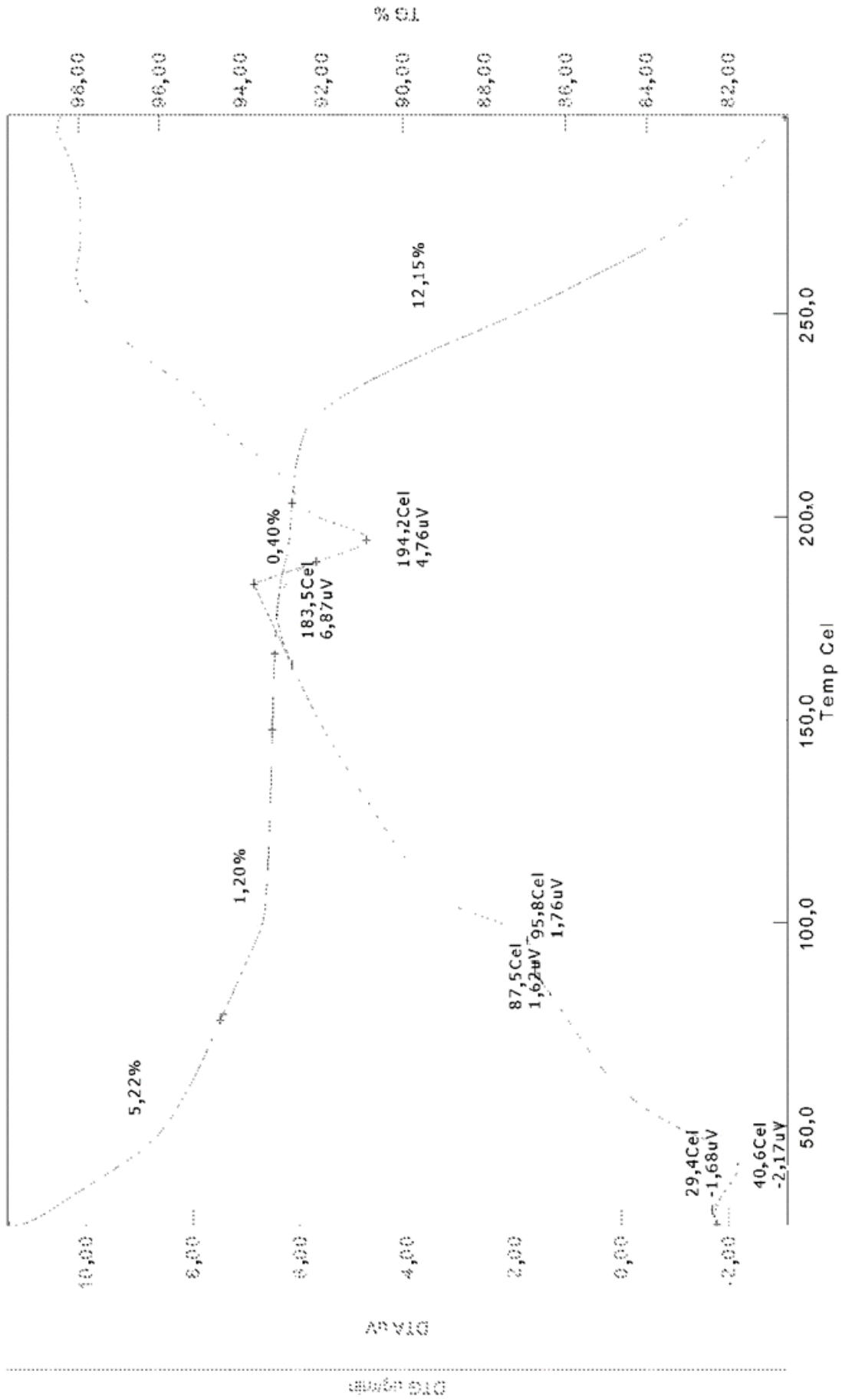


Figura 77

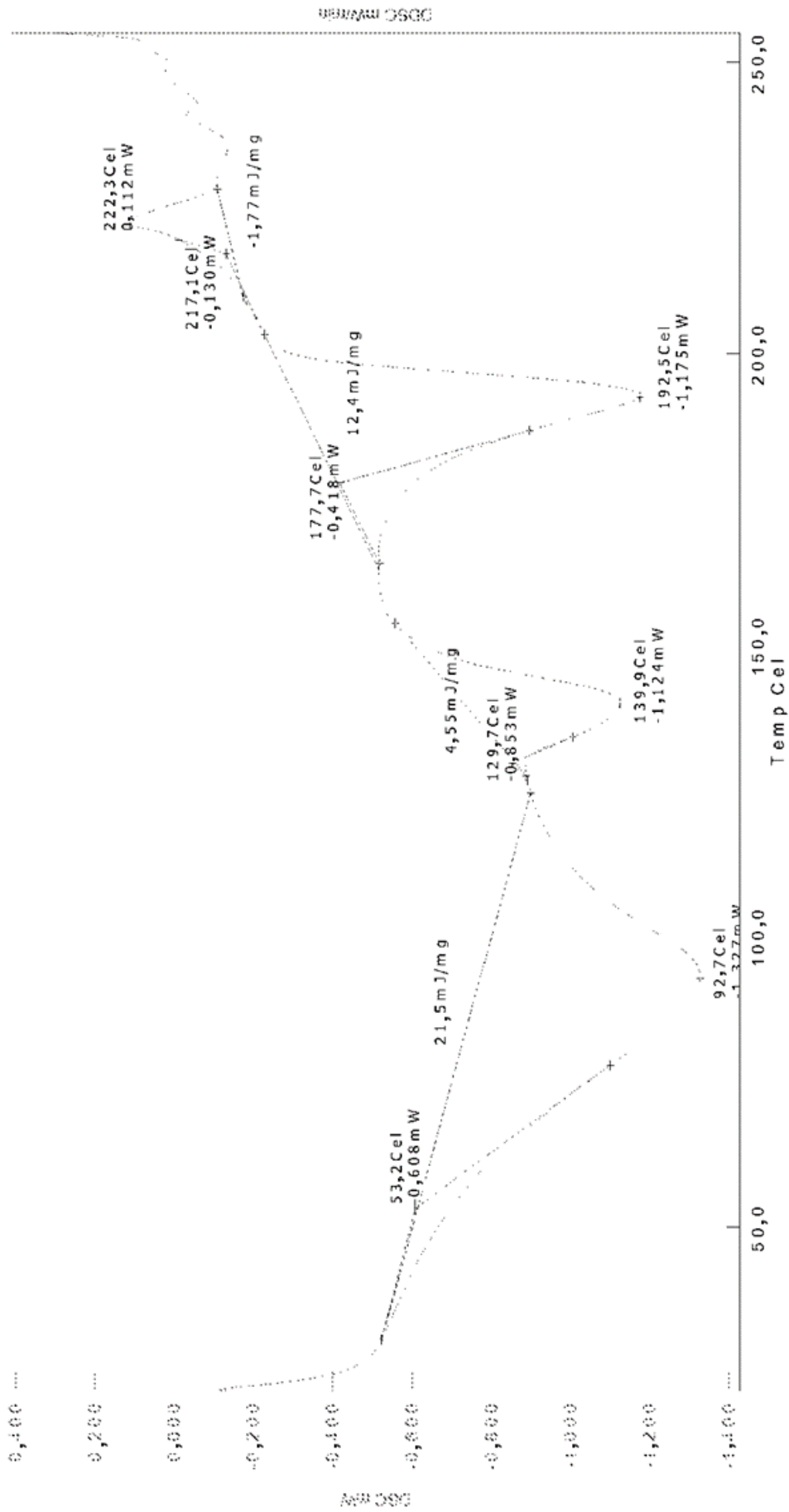
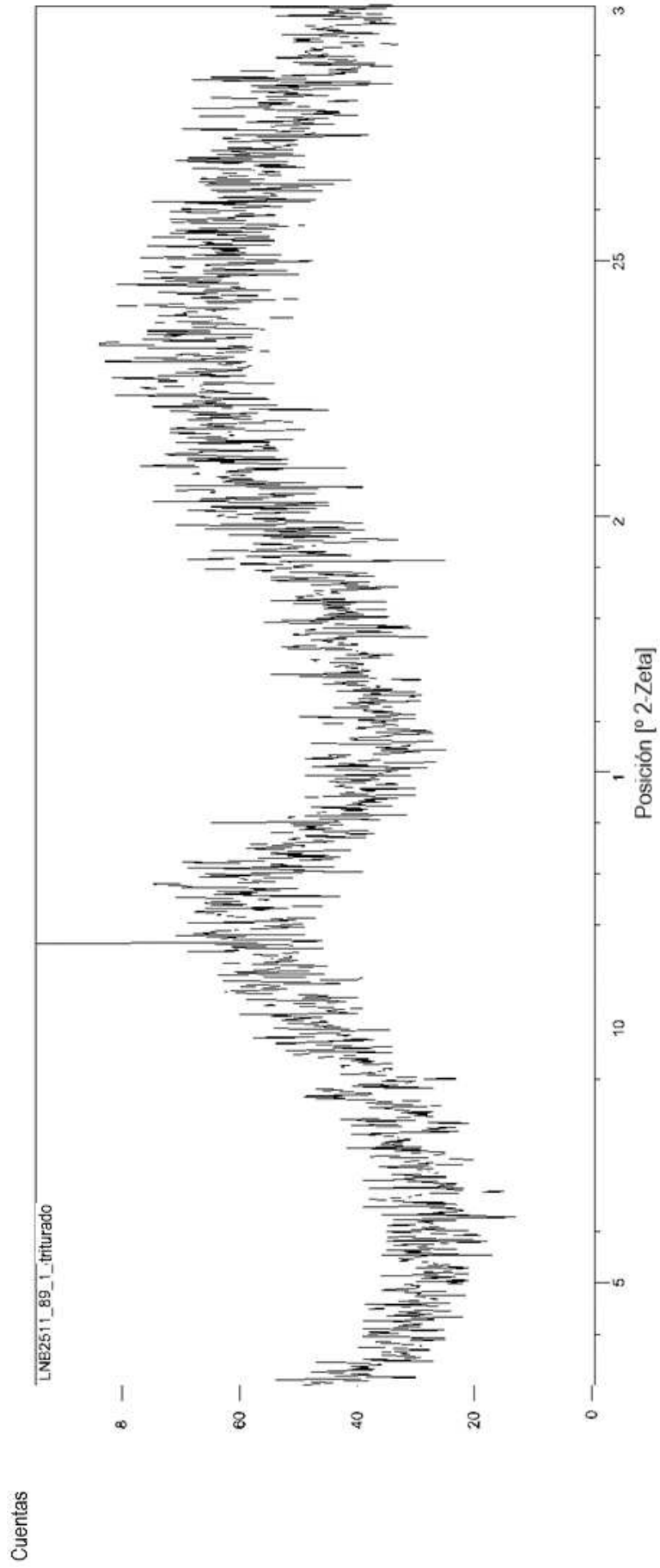


Figura 78



**Figura 79**

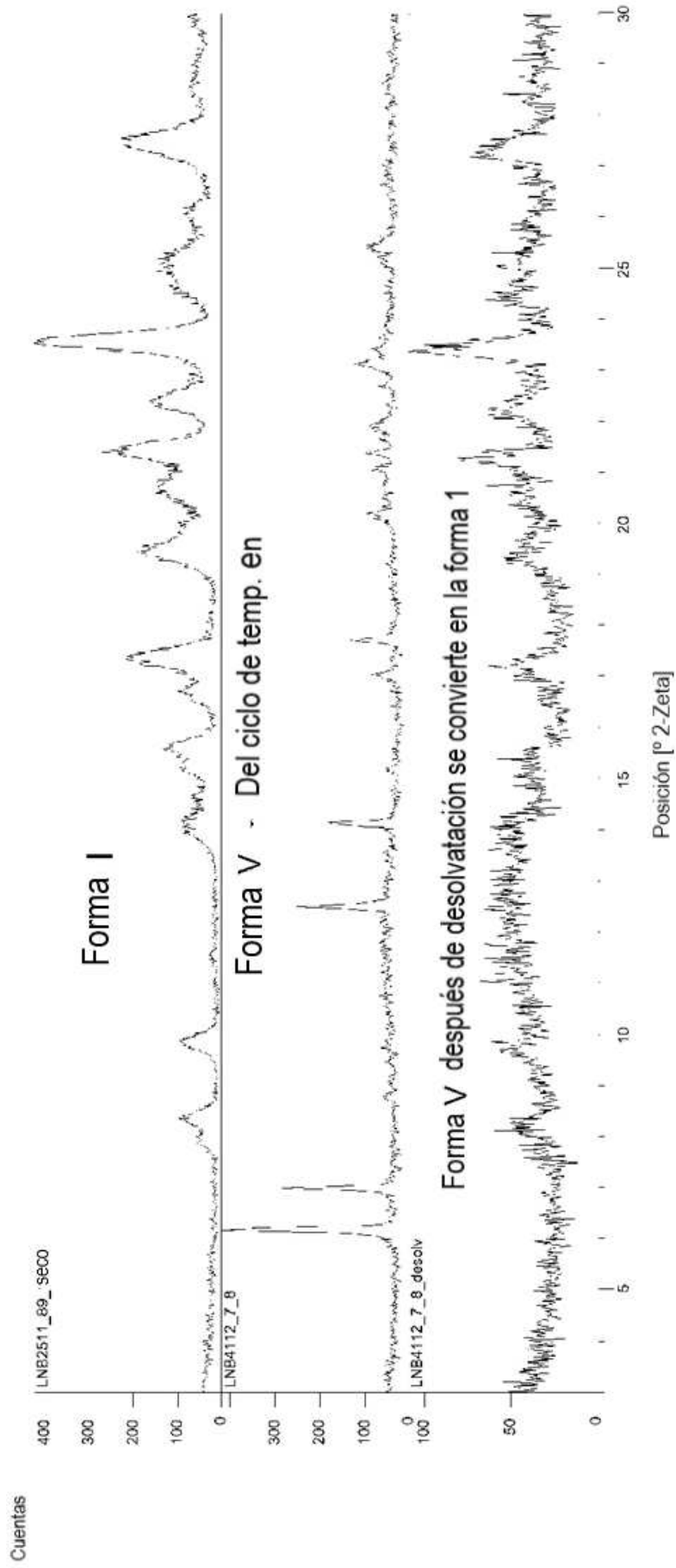


Figura 80

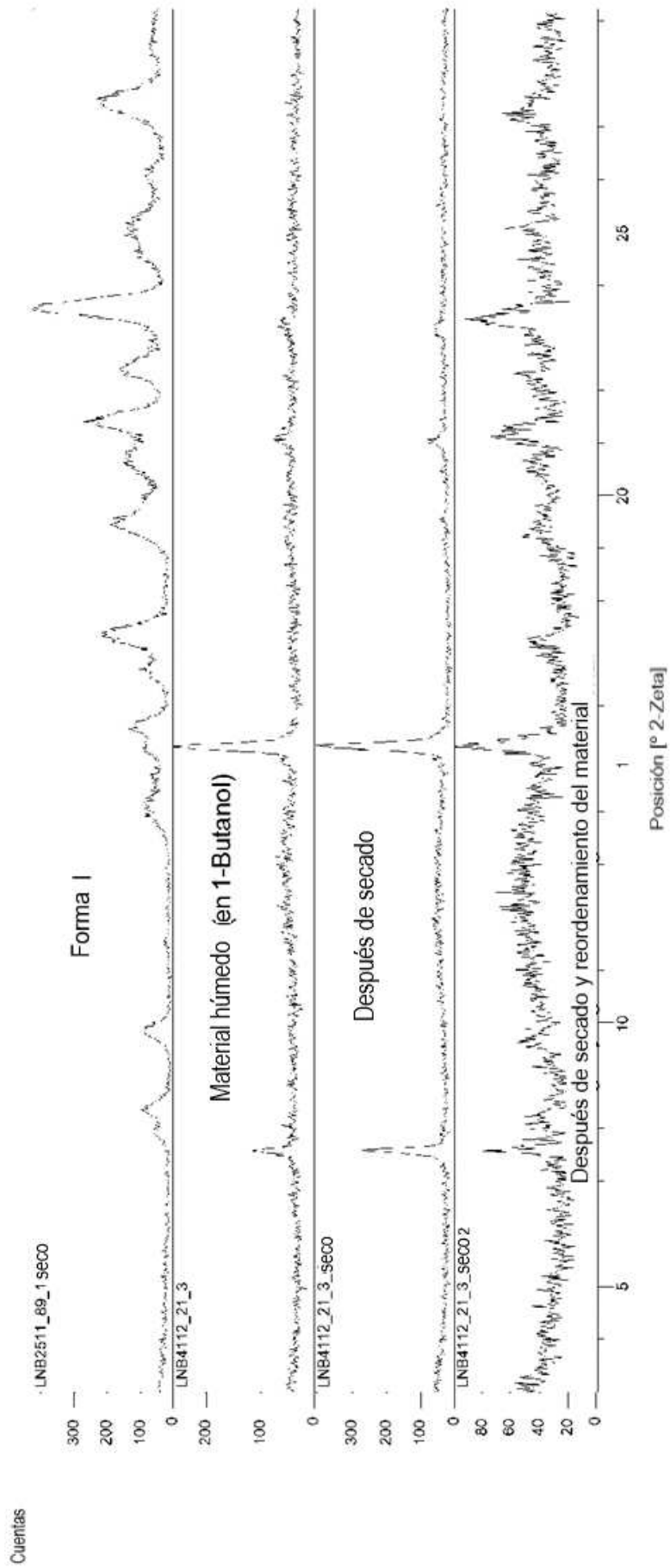
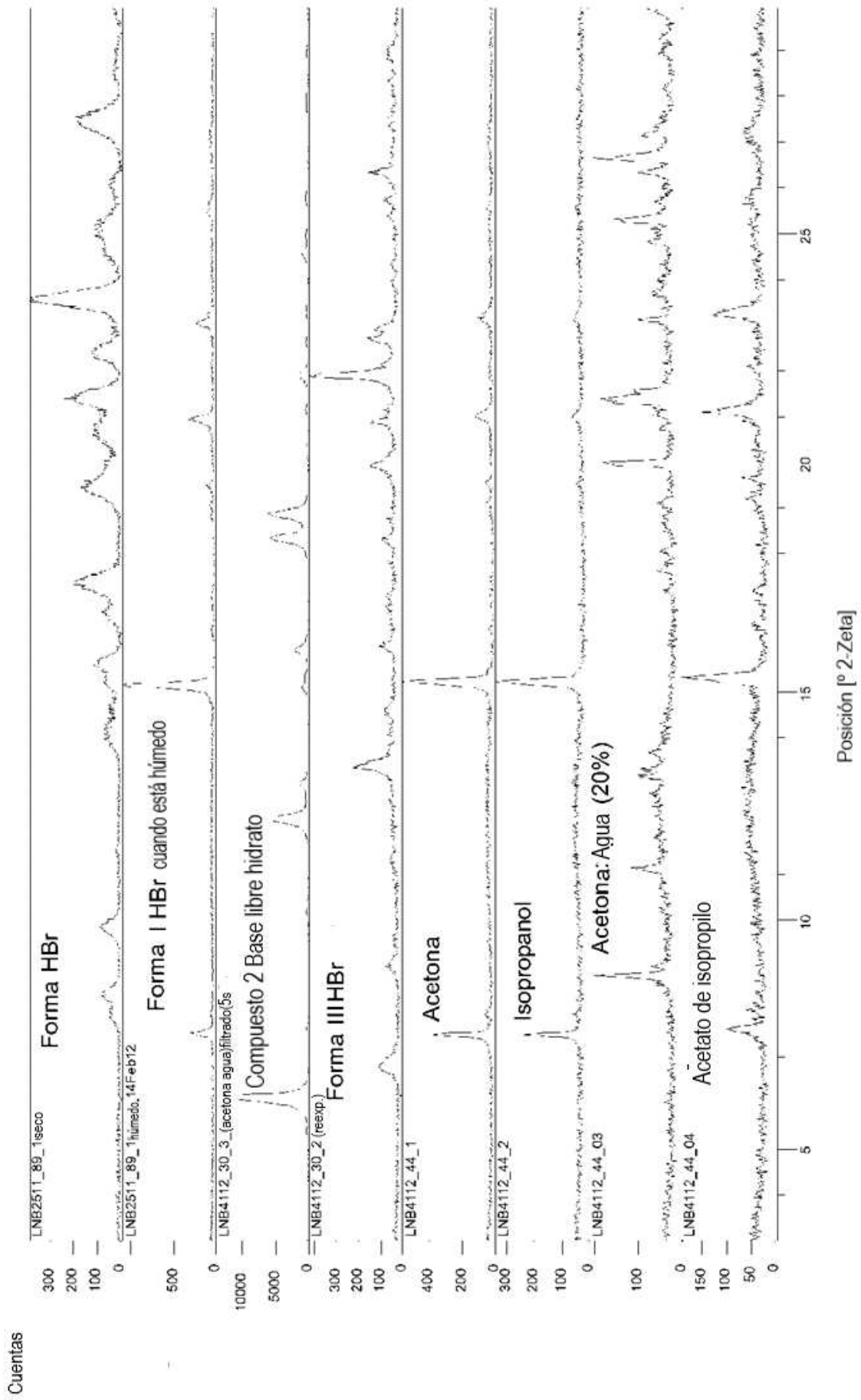


Figura 81

Cuentas



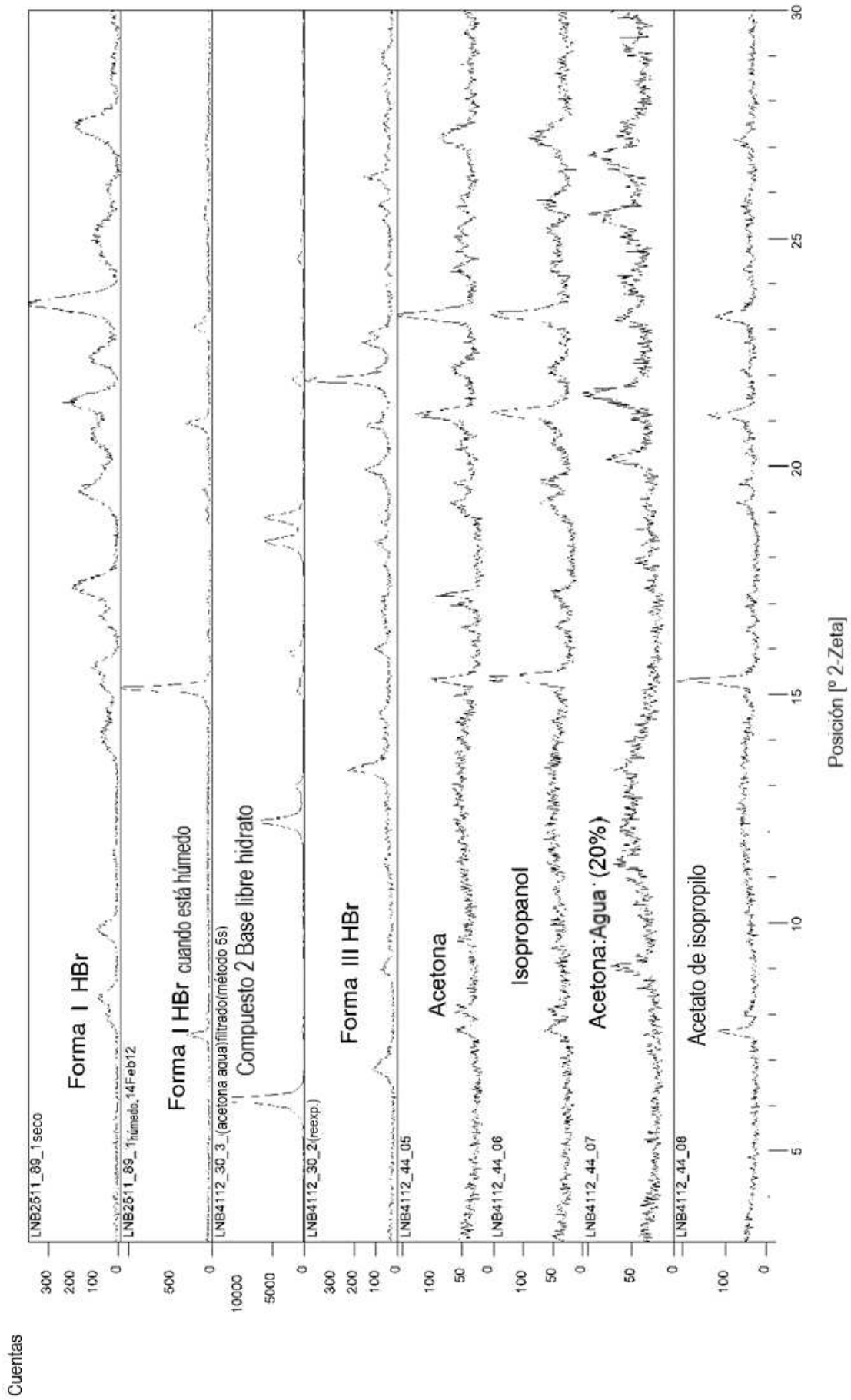


Figura 83



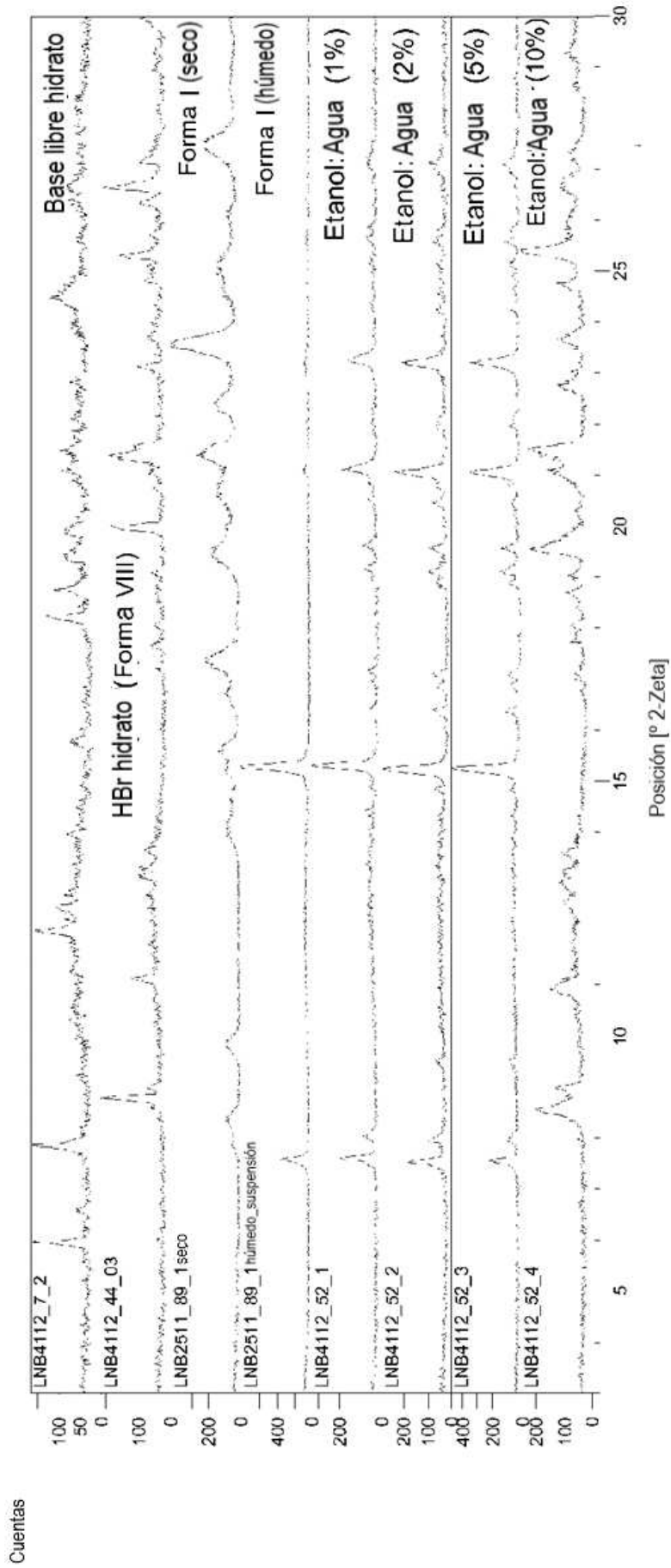


Figura 84

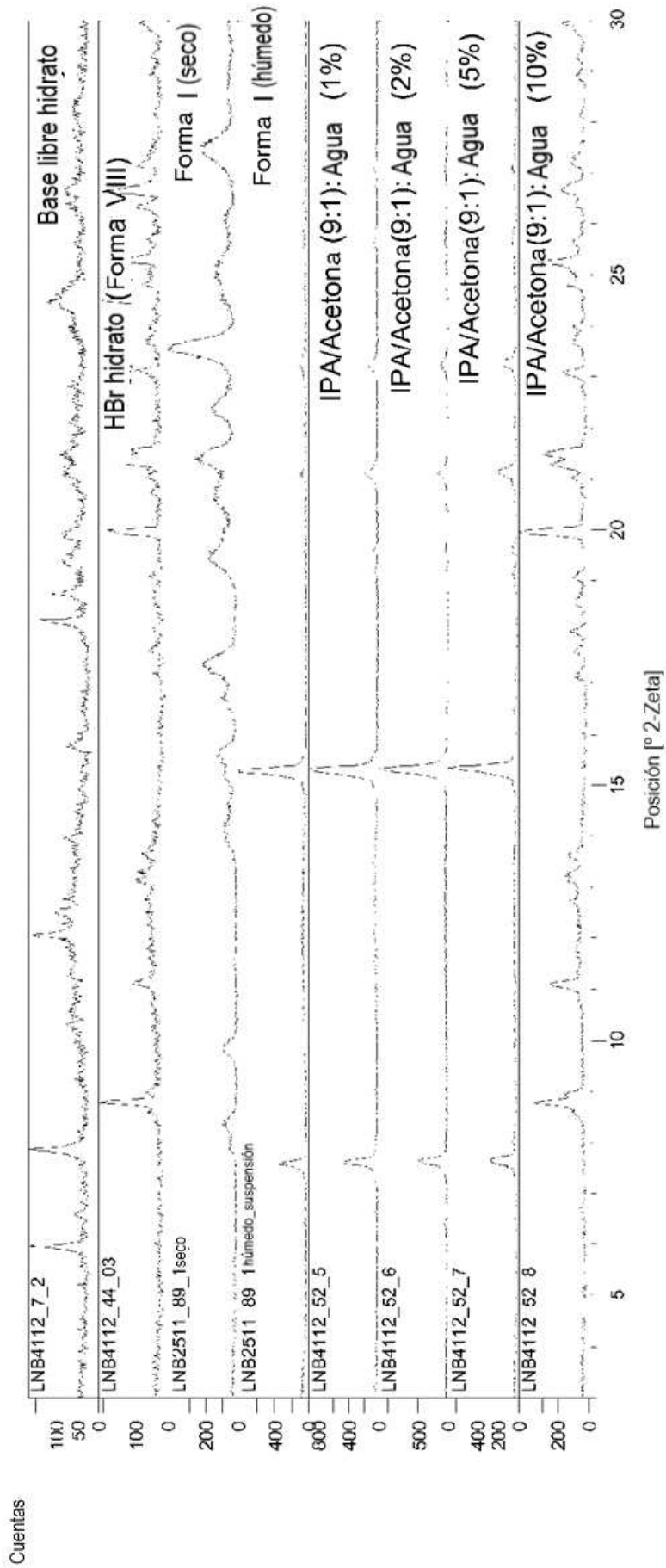


Figura 85

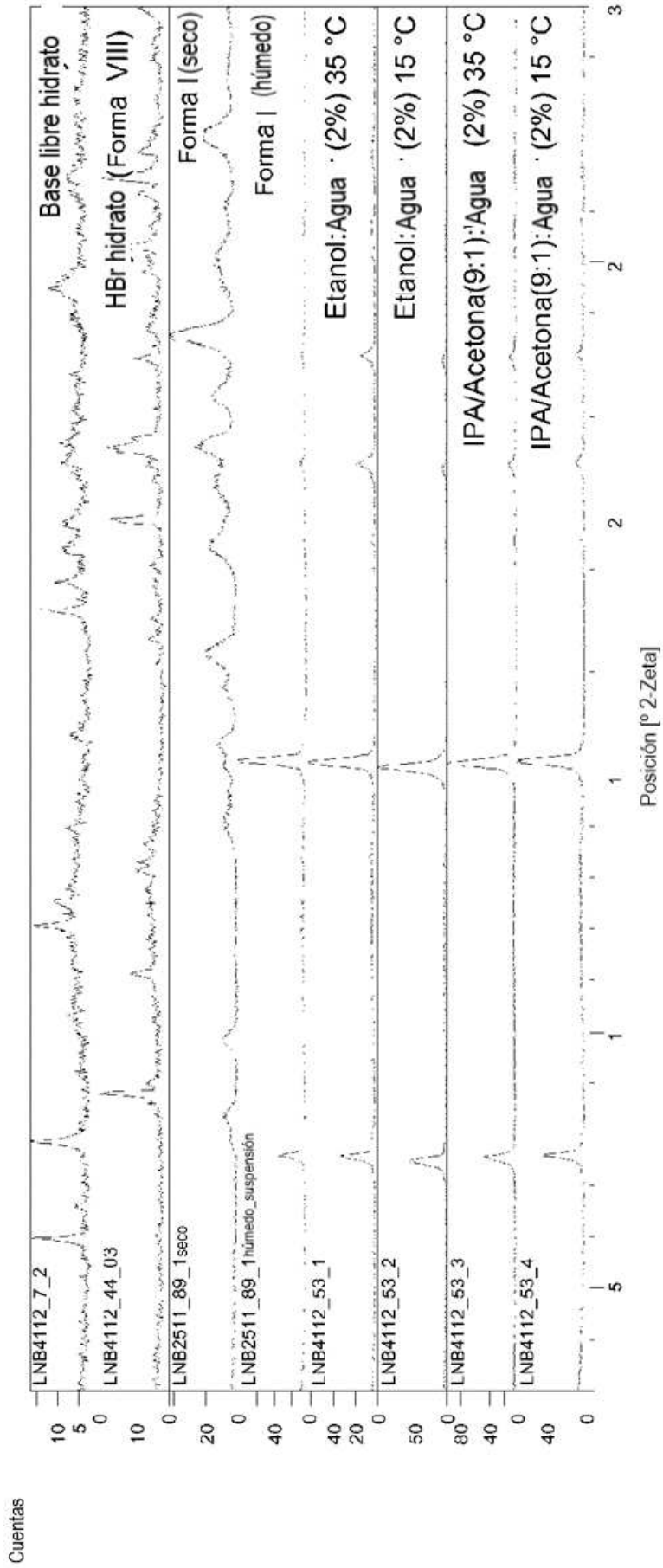


Figura 86

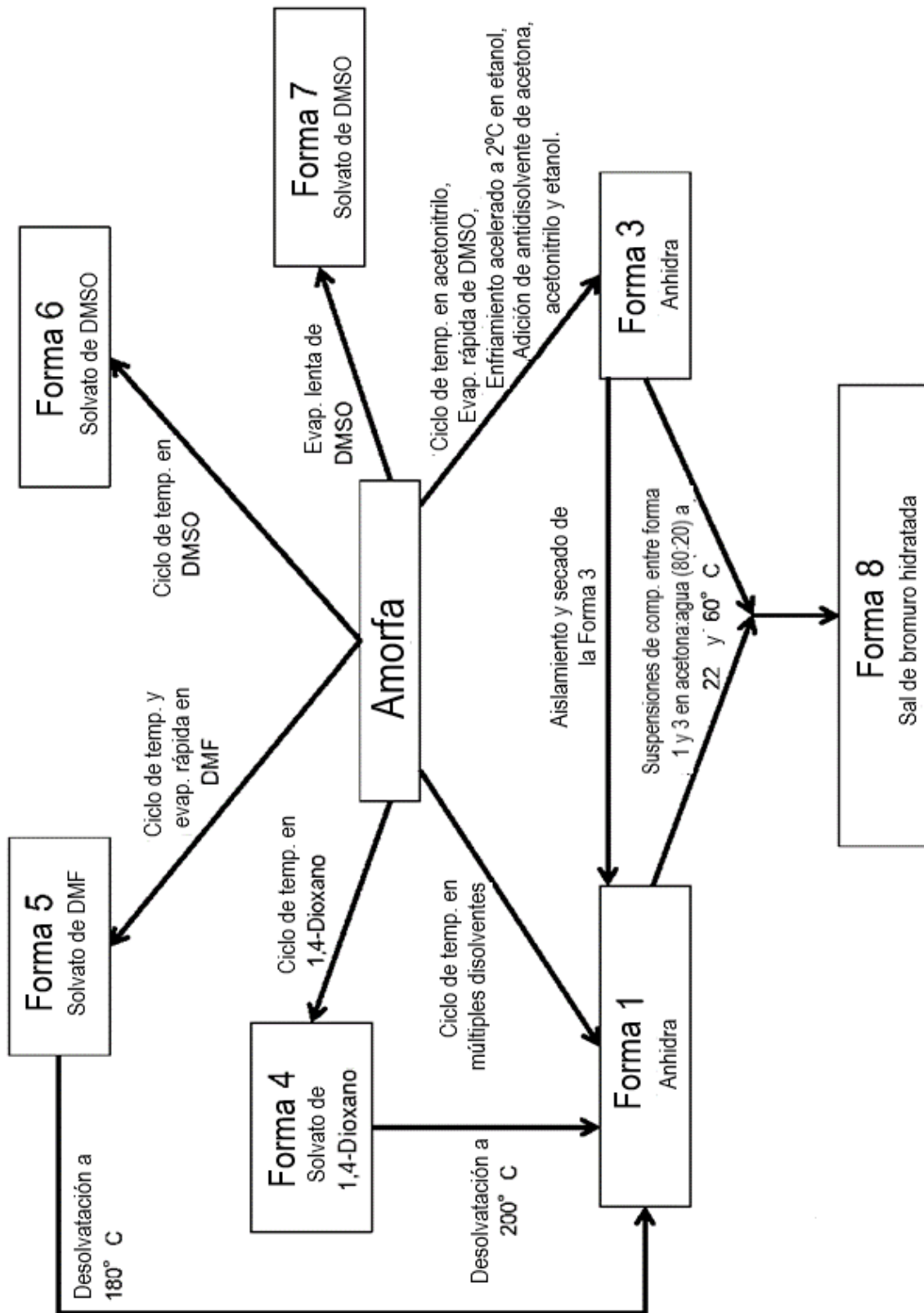


Figura 87