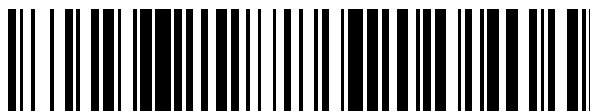


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 342**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (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: **17.10.2014 PCT/US2014/061102**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2015 WO15058067**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2014 E 14799578 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018 EP 3057953**

54 Título: **Co-cristales de (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida y derivados deuterados de la misma como inhibidores de DNA-PK**

30 Prioridad:

17.10.2013 US 201361892002 P

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

22.03.2019

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)
50 Northern Avenue, 15th Floor
Boston, MA 02210, US**

72 Inventor/es:

**NTI-ADDAE, KWAME, WIREDU;
O'NEIL, SIMON, ADAM;
ZHANG, YUEGANG;
MUDUNURI, PRAVEEN;
VAN ALSTEN, JOHN GREGG;
SONG, BIN;
STAVROPOULOS, KATHY;
STROHMEIER, MARK;
WALDO, MICHAEL;
NAVAMAL, METTACHIT y
KADIYALA, IRINA NIKOLAEVNA**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 705 342 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

Co-cristales de (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida y derivados deuterados de la misma como inhibidores de DNA-PK

5

Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a los cocristales de los inhibidores de la proteína cinasa dependiente de ADN (DNA-PK). La invención también proporciona las composiciones farmacéuticas de la misma y los co-cristales y composiciones para su uso en el tratamiento del cáncer.

10

Antecedentes de la invención

La radiación ionizante (IR) induce una diversidad de daños en el ADN, de los cuales las roturas bicatenarias (DSB) son las más citotóxicas. Estas DSB pueden derivar en muerte celular por apoptosis y/o catástrofe mitótica si no se reparan completa y rápidamente. Además de la IR, ciertos agentes quimioterapéuticos, incluidos los inhibidores de la topoisomerasa II, bleomicina y doxorubicina también causan DSB. Estas lesiones en el ADN desencadenan un conjunto complejo de señales mediante la red de respuesta al daño en el ADN que funcionan para reparar el ADN dañado y mantener la viabilidad celular y la estabilidad del genoma. En células de mamífero, la vía de reparación predominante para las DSB es la vía de unión de extremos no homólogos (NHEJ). Esta vía funciona independientemente de la fase del ciclo celular y no requiere de una plantilla para volver a unir los extremos dañados del ADN. La NHEJ requiere de la coordinación de muchas proteínas y vías de señalización. El mecanismo principal de NHEJ consiste en el heterodímero Ku70/80 y de la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de ADN (DNA-PKcs), que en conjunto incluye el complejo enzimático de DNA-PK activo. El DNA-PKcs es miembro de la familia de las serina/treonina proteínas cinasas de la cinasa relacionada con fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) que también incluye la ataxia telangiectasia mutada (ATM), ataxia telangiectasia y proteína relacionada con Rad3 (ATR), mTOR y cuatro isoformas de la PI3K. Sin embargo, si bien DNA-PKcs está en la misma familia de la proteína cinasa que ATM y ATR, estas últimas cinasas funcionan para reparar el daño en el ADN a través de la vía de recombinación homóloga (HR) y están limitadas a las fases S y G2 del ciclo celular. Si bien la ATM también se recluta en sitios de DSB, la ATR se recluta en sitios de roturas en el ADN monocatenario.

15

20

25

30

Se cree que la NHEJ procede por medio de tres etapas principales: reconocimiento de las DSB, el procesamiento del ADN para extraer los extremos no ligables u otras formas de daño en extremos y, finalmente, ligación de los extremos del ADN. El reconocimiento de las DSB se realiza mediante la unión del heterodímero Ku a los extremos de ADN irregulares seguido del reclutamiento de dos moléculas de DNA-PKcs a los lados adyacentes de la DSB; esto sirve para proteger los extremos rotos hasta que se recluten las enzimas adicionales de procesamiento. Los datos recientes respaldan la hipótesis de que DNA-PKcs fosforila la enzima de procesamiento, Artemis, así como a sí misma para preparar los extremos de ADN para procesamientos adicionales. En algunos casos, podría requerirse ADN polimerasa para sintetizar nuevos extremos antes de la etapa de ligación. Se cree que la auto fosforilación de DNA-PKcs induce un cambio conformacional que abre la cavidad vinculante del ADN central, libera DNA-PKcs del ADN, y facilita la ligación final de los extremos del ADN.

35

40

Durante cierto tiempo, se ha sabido que los ratones con DNA-PK^{-/-} son hipersensibles a los efectos de IR y que algunos inhibidores moleculares pequeños de la DNA-PKcs pueden radiosensibilizar una diversidad de tipos de células tumorales a lo largo de un amplio conjunto de antecedentes genéticos. Aunque se espera que la inhibición de la DNA-PK radiosensibilice hasta cierto punto las células normales, se ha observado que esto sucede en menor medida que con las células tumorales posiblemente a causa de que las células tumorales poseen niveles iniciales más altos de estrés de replicación endógena y el daño en el ADN (estrés de la replicación inducida por oncogenes) y los mecanismos de reparación del ADN son menos eficaces en las células tumorales. Lo que es más importante, se impartirá una ventana terapéutica mejorada con un mayor ahorro de tejido normal a partir de la combinación de un inhibidor de DNA-PK con avances recientes en la administración con precisión de IR focalizada, incluyendo RT guiada por imagen (IGRT) y RT de intensidad modulada (IMRT).

45

50

La inhibición de la actividad de DNA-PK induce efectos tanto en células cíclicas como en las no cíclicas. Esto es altamente significativo ya que la mayoría de las células en un tumor sólido no se están replicando activamente en ningún momento determinado lo que limita la eficacia de muchos agentes dirigidos al ciclo celular. Igual de interesante son los informes recientes que sugieren una fuerte conexión entre la inhibición de la vía de NHEJ y la capacidad de eliminar células madre cancerosas resistentes a la radiación (CSC). Se ha demostrado en algunas células tumorales que la DSB en las CSC inactivas activan predominantemente la reparación del ADN mediante la vía de NHEJ; se cree que las CSC se encuentran normalmente en la fase inactiva del ciclo celular. Esto podría explicar por qué la mitad de los pacientes con cáncer pueden presentar una recaída tumoral local o distante pese al tratamiento, dado que las estrategias actuales no pueden dirigirse con eficacia a las CSC. Un inhibidor de DNA-PK puede tener la capacidad de sensibilizar estas células progenitoras metastásicas potenciales a los efectos de la IR y seleccionar los agentes quimioterapéuticos que inducen DSB.

55

60

65

Dada la participación de la DNA-PK en los procesos de reparación del ADN, es posible que los fármacos inhibitorios

de la DNA-PK actúen como agentes que aumentan la eficacia tanto de la quimioterapia y radioterapia para el cáncer. La presente invención presenta las composiciones cristalinas de los inhibidores de la DNA-PK junto con el formador de co-cristales (CCF), es decir, co-cristales. En comparación con su forma o formas libres, los co-cristales de la invención son ventajosos, ya que estos compuestos poseen una disolución mejorada, mayor solubilidad acuosa, y una mayor estabilidad física en estado sólido que las dispersiones amorfas. Los co-cristales descritos en el presente documento también proporcionan un volumen reducido de la forma de dosificación y, por lo tanto, una menor carga a cápsulas, ya que estos co-cristales también presentan densidades a granel más altas en relación con las formas amorfas. Además, los co-cristales de la invención proporcionan ventajas de fabricación en relación con las formas amorfas que requieren de secado por pulverización, liofilización o precipitación.

Kashishian *et al* describen una nueva clase de inhibidores de proteína cinasa que se dirigen a una vía principal de ADN en *Molecular Cancer Therapeutics*, **2003**, 2, 1257-1264. Otra clase de compuestos que inhiben la actividad de una o más proteínas cinasas y, por lo tanto, se espera que sean útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas a cinasas puede encontrarse en el documento WO 2008/042639 A1. El documento WO 2013/163190 A1 describe además compuestos útiles como inhibidores de la proteína cinasa dependiente de ADN, composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y métodos para usar las composiciones en el tratamiento del cáncer.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 con ácido adípico.

La Figura 2 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 2 con ácido adípico.

La Figura de referencia 3 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 con ácido cítrico.

La Figura de referencia 4 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido fumárico.

La Figura de referencia 5 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido maleico.

La Figura de referencia 6 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido succínico.

La Figura de referencia 7 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido benzoico.

La Figura 8 muestra un termograma de análisis gravimétrico del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido adípico.

La Figura 9 muestra un termograma de análisis gravimétrico del co-cristal formado entre el Compuesto 2 y ácido adípico.

La Figura 10 muestra un termograma de calorimetría diferencial de barrido del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido adípico.

La Figura 11 muestra un termograma de calorimetría diferencial de barrido del co-cristal formado entre el Compuesto 2 con ácido adípico.

La Figura 12 muestra un espectro de RMN en estado sólido del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido adípico.

La Figura 13 muestra un espectro de RMN en estado sólido del co-cristal formado entre el Compuesto 2 y ácido adípico.

La Figura de referencia 14 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X la forma polimórfica A del co-cristal formado entre el Compuesto 1 con ácido adípico.

La Figura de referencia 15 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma polimórfica B del co-cristal formado entre el Compuesto 2 con ácido adípico.

La Figura de referencia 16 muestra un espectro de RMN en estado sólido de la Forma polimórfica A del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido adípico.

La Figura de referencia 17 muestra un espectro de RMN en estado sólido de la Forma polimórfica A del co-cristal formado entre el Compuesto **2** y ácido adípico.

5 La Figura de referencia 18 muestra un espectro de RMN en estado sólido de la Forma polimórfica B del co-cristal formado entre el Compuesto **2** y ácido adípico.

La Figura 19 muestra un diagrama de base binaria del Compuesto **2** y ácido adípico.

10 La Figura 20 muestra un diagrama de la solubilidad del pH calculada del co-cristal formado entre el Compuesto **2** con ácido adípico (por exceso del contenido del ácido adípico) y el Compuesto **2** en forma libre.

15 La Figura 21 muestra perfiles de disolución de dos fases para: i) Co-cristal de compuesto 1:ácido adípico preparado mediante extrusión por fusión en caliente y cristalización de suspensión; ii) HME 65:35: Co-cristal de Compuesto **1**:ácido adípico fabricado usando extrusión por fusión en caliente con el 65% p:p de Compuesto **1** y el 35% p:p de ácido adípico; iii) HME 75:25: Co-cristal de Compuesto **1**:ácido adípico fabricado usando extrusión por fusión en caliente con el 75 % p:p de Compuesto **1** y el 25 % p:p de ácido adípico; iv) HME 80:20: Co-cristal de Compuesto **1**:ácido adípico fabricado usando extrusión por fusión en caliente con el 80 % p:p del Compuesto **1** y el 20 % p:p de ácido adípico; v) SC 80:20: Co-cristal de Compuesto cristalizado **2**:ácido adípico con el contenido del Compuesto final **2** del 79% p:p del Compuesto **2** y el 21% p:p ácido adípico; y vi) Forma libre: Forma libre del Compuesto **2**.

20 La Figura 22 muestra una fracción predicha absorbida por el co-cristal formado entre el Compuesto **2** y el ácido adípico, y la forma libre del Compuesto **2**.

25 La Figura 23 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con un panel de agentes citotóxicos y no citotóxicos.

La Figura 24 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con BMN-673 por tipo de tumor.

30 La Figura 25 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con etopósido por tipo de tumor.

La Figura 26 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con bleomicina por tipo de tumor.

35 La Figura 27 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con erlotinib por tipo de tumor.

La Figura 28 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con bleomicina por tipo de tumor.

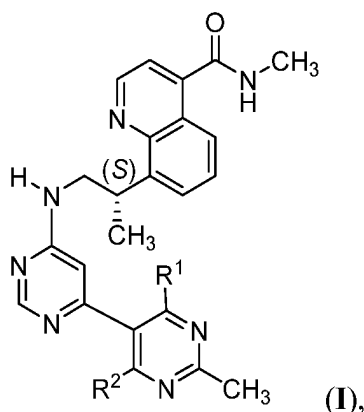
40 La Figura 29 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con bleomicina por tipo de tumor.

45 La Figura 30 muestra un diagrama que resume el análisis Bliss del Compuesto (**2**) junto con carboplatino por tipo de tumor.

La Figura 31 muestra un diagrama que resume el análisis de Bliss del Compuesto **1** o el Compuesto **2** y las combinaciones del estándar de cuidado en los ensayos de quimiosensibilidad de tumores humanos primarios.

50 **Sumario de la invención**

En un primer aspecto, la invención presenta un co-cristal que comprende un compuesto de fórmula I



y de un formador de co-cristales (CCF) seleccionado de ácido adípico, y para referencia, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico o ácido benzoico, en la que cada uno de R¹ y R² es hidrógeno o deuterio.

5 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que incluye un co-cristal de un compuesto de fórmula I descrito anteriormente. En una realización, la composición farmacéutica incluye además un diluyente, disolvente, excipiente, o vehículo.

10 En otro aspecto más, la invención proporciona una composición de sólido eutéctico que comprende: (a) un co-cristal que comprende un compuesto de fórmula (I) y un formador de co-cristales seleccionado de ácido adípico, en la que cada uno de R¹ y R² es hidrógeno o deuterio, y en la que la relación molar del compuesto de fórmula I con respecto a ácido adípico es de aproximadamente 2 a 1; y (b) ácido adípico. En otro aspecto más, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende tal composición sólida eutéctica. En una realización, la composición farmacéutica incluye además un diluyente, disolvente, excipiente, o vehículo.

Otro aspecto de esta invención proporciona un método para preparar un co-cristal de un compuesto de fórmula I y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico. En una realización, el método comprende: proporcionar el compuesto de fórmula I; proporcionar el formador de co-cristales; moler, calentar, cosublimar, derretir conjuntamente, o poner en contacto en la solución el compuesto de la fórmula I con el formador de co-cristales en condiciones de cristalización como para formar el co-cristal en la fase sólida; y luego, opcionalmente, aislar el co-cristal formado de ese modo. En otra realización, el método comprende mezclar un compuesto de la fórmula (I) con ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico o ácido benzoico a una temperatura elevada para formar el co-cristal. En algunas realizaciones, la fabricación de un co-cristal de un compuesto de fórmula I y el CCF incluye proporcionar el compuesto de fórmula I y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico en una relación molar entre aproximadamente 1 a 1,2 a aproximadamente 1 a 3,6, respectivamente.

30 En otro aspecto más, la invención proporciona un método para modular una propiedad química o física de interés (tal como el punto de fusión, solubilidad, disolución, higroscopicidad y biodisponibilidad) de un co-cristal que contiene un compuesto de fórmula I y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico. El método incluye las etapas de medir de la propiedad química o física de interés para el compuesto de la fórmula I y el CCF; determinar la fracción molar del compuesto de la fórmula I y el CCF que dará como resultado la modulación deseada de la propiedad física o química de interés; y la preparación del co-cristal con la fracción molar, como se determinó.

Las composiciones y co-cristales de esta invención pueden utilizarse para tratar enfermedades implicadas por o asociadas con la inhibición de la DNA-PK. En particular, la descripción describe el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en la sensibilización de una célula a un agente que induce una lesión de ADN.

La invención proporciona además el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en la potenciación de un régimen terapéutico para el tratamiento del cáncer. En una realización, el régimen terapéutico para el tratamiento del cáncer incluye radioterapia.

La presente invención también proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo, para su uso en el tratamiento del cáncer en un animal. La invención se refiere además al co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma del mismo para su uso en la inhibición del crecimiento del cáncer, incluyendo procesos de proliferación celular, invasividad y metástasis en sistemas biológicos.

50 La invención proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo, para su uso en la inhibición de la actividad de ADN-PK en una muestra biológica que incluye poner en contacto la muestra biológica con

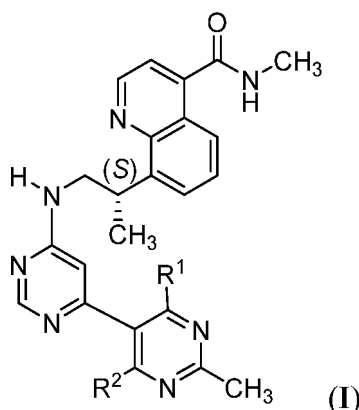
un co-cristal o composición farmacéutica de la invención.

También está dentro del alcance de esta invención el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo, para su uso en el tratamiento de enfermedades descritas en el presente documento, tal como cáncer.

5

Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la invención se refiere a co-cristales que comprenden un compuesto de fórmula I



10

y un formador de co-cristales (CCF) seleccionado de ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico o ácido benzoico, en la que cada uno de R¹ y R² es hidrógeno o deuterio.

15 En una realización, el compuesto de fórmula I es (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida (Compuesto 1).

En otra realización, el compuesto de fórmula I es (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida (Compuesto 2).

20

En una realización, la invención proporciona un co-cristal que incluye un compuesto de fórmula I y ácido adípico como el CCF. En una realización adicional, el patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) de este co-cristal presente picos en aproximadamente 6,46, 7,91, 11,92, 12,26, 12,99, 14,19, 18,68, y 19,07-Theta. En otra realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 1. En otra realización más, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 2. En aún otra realización más, su termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) muestra los puntos de fusión a aproximadamente 195 °C y aproximadamente 245 °C.

25

La descripción describe un co-cristal que incluye un compuesto de fórmula I y ácido cítrico como el CCF. En una realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos en aproximadamente 7,44, 8,29, 11,35, 13,26, 15,49, 21,55, y 23,57-Theta. En otra realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 3. En otra realización más, un compuesto de fórmula I y el CCF están ambos en el estado sólido (por ejemplo, cristalino) y están unidos no covalentemente (es decir, por unión de hidrógeno).

30

La descripción describe un co-cristal que incluye un compuesto de fórmula I y ácido fumárico como el CCF. En una realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos en aproximadamente 8,26, 10,11, 14,97, 16,61, 17,22, 25,20, y 26,01-Theta. En otra realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 4. En otra realización más, un compuesto de fórmula I y el CCF están ambos en el estado sólido (por ejemplo, cristalino) y están unidos no covalentemente (es decir, por unión de hidrógeno).

35

La descripción describe un co-cristal que incluye un compuesto de fórmula I y ácido maleico como el CCF. En una realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos en aproximadamente 6,21, 10,43, 11,28, 12,41, 13,26, 18,87, y 21,08-Theta. En otra realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 5. En otra realización más, un compuesto de fórmula I y el CCF están ambos en el estado sólido (por ejemplo, cristalino) y están unidos no covalentemente (es decir, por unión de hidrógeno).

40

La descripción describe un co-cristal que incluye un compuesto de fórmula I y ácido succínico como el CCF. En una realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos en aproximadamente 8,02, 12,34, 14,78, 17,32, 19,56, y 20,06-Theta. En otra realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 6. En otra realización, un compuesto de fórmula I y el CCF están ambos en el estado sólido (por ejemplo, cristalino) y están unidos no covalentemente (es decir, por unión de hidrógeno).

50

- La descripción describe un co-cristal que incluye un compuesto de fórmula I y ácido benzoico como el CCF. En una realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos en 8,70, 13,90, 15,62, 17,65, 18,15, 20,77, y 24,72-Theta. En otra realización, el patrón XRPD de este co-cristal presenta picos como se muestra en la Figura 7. En otra realización, un compuesto de fórmula I y el CCF están ambos en el estado sólidos (por ejemplo, cristalino) y están unidos no covalentemente).
- En una realización, la invención proporciona co-cristales de la fórmula (Compuesto 1)_n:(AA)_m, en la que n es 1 y m es entre 0,4 y 2,1. En una realización, n es 1 y m es entre 0,9 y 3,1. En una realización para co-cristales que comprenden ácido adípico, n es aproximadamente 2 y m es aproximadamente 1. En una realización para co-cristales que comprenden ácido adípico, n es aproximadamente 2 y m es aproximadamente 1.
- En otra realización, la invención proporciona co-cristales de la fórmula (Compuesto 2)_n:(AA)_m, en la que n es 1 y m es entre 0,4 y 2,1. En una realización para co-cristales que comprenden ácido adípico, n es aproximadamente 2 y m es aproximadamente 1.
- En otra realización, la invención proporciona un co-cristal de un compuesto de fórmula I y CCF y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico o ácido benzoico, en la que el co-cristal está sólido a la temperatura ambiente y el compuesto de fórmula I y CCF interactúan mediante enlaces no covalentes. En determinadas realizaciones, las interacciones de enlace no covalente entre el compuesto de fórmula I y CCF incluyen unión de hidrógeno e interacciones van der Waals. En una realización, el CCF es ácido adípico.
- En una realización, la invención proporciona un co-cristal del Compuesto (1) y CCF ácido adípico, en donde la relación molar del Compuesto (1) con respecto a ácido adípico es aproximadamente 2:1.
- En otra realización, la invención proporciona un co-cristal del Compuesto (2) y CCF ácido adípico, en donde la relación molar del Compuesto (2) con respecto a ácido adípico es aproximadamente 2:1.
- La descripción describe, el co-cristal del Compuesto (2) y CCF ácido adípico (co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2)) está en la Forma polimórfica A o B. Las formas polimórficas A y B son dos polimorfos conformacionales del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2). La descripción describe, el co-cristal del Compuesto (1) y CCF ácido adípico (co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1)) está en la Forma polimórfica A o B. Las formas polimórficas A y B son dos polimorfos conformacionales del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1), y sus espectroscopías de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ¹³C son básicamente las mismas que aquellas para las Formas polimórficas A y B del Compuesto (2).
- La descripción describe, la Forma polimórfica A está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C en aproximadamente 117,1, 96,8, 95,7, 27,6, 14,8 ppm. En otra realización específica, la Forma polimórfica A está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C en aproximadamente 161,6, 154,5, 117,1, 96,8, 95,7, 51,5, 50,2, 27,6, 25,6, 18,5, y 14,8 ppm. La descripción describe, la Forma polimórfica A está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C en aproximadamente 179,4, 168,4, 161,6, 158,3, 154,5, 147,8, 145,7, 143,2, 141,8, 124,6, 117,1, 96,8, 95,7, 51,5, 50,2, 31,2, 30,1, 27,6, 25,6, 18,5, y 14,8 ppm. En otra realización específica más, la Forma polimórfica A está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C como se muestra en la Figura 16 o 17.
- La descripción describe, la Forma polimórfica B está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C en aproximadamente 117,9, 97,3, 94,0, 26,7, y 15,7 ppm. La descripción describe, la Forma polimórfica B está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C en aproximadamente 161,7, 153,8, 117,9, 97,3, 94,0, 50,7, 25,3, 26,7, 18,8, y 15,7 ppm. La descripción describe además, la Forma polimórfica B está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C en aproximadamente 179,1, 168,3, 158,1, 147,2, 142,4, 125,8, 124,5, 117,9, 97,3, 94,0, 32,3, 30,1, 26,7, y 15,7 ppm. La descripción describe, la Forma polimórfica B está caracterizada por picos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido ¹³C como se muestra en la Figura 17.
- La descripción describe, el co-cristal del Compuesto (2) y CCF ácido adípico (co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2)) está en una mezcla de Formas polimórficas A y B. En otra realización más, el co-cristal del Compuesto (1) y CCF ácido adípico (co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1)) está en una mezcla de Formas polimórficas A y B.
- La presente invención incluye los co-cristales de un compuesto de fórmula I y el CCF descrito anteriormente en forma aislada y pura, o en una mezcla en forma de una composición sólida cuando se mezclan con otros materiales, por ejemplo, la forma libre del compuesto de fórmula I o CCF libre. En una realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden los co-cristales de un compuesto de fórmula I y el CCF descrito anteriormente y un CCF libre adicional. En una realización específica, las composiciones comprenden los co-cristales del Compuesto (1) o (2) y el CCF ácido adípico descrito anteriormente y ácido adípico adicional. En algunas realizaciones específicas, la relación molar global del compuesto de fórmula I con respecto a CCF (tanto parte de los co-cristales como del CCF libre, por ejemplo, ácido adípico en los co-cristales y ácido adípico libre) en dichas

composiciones está en un intervalo de aproximadamente 1:0,55 a aproximadamente 1:100. En otras realizaciones específicas, la relación molar global del compuesto de fórmula I con respecto a CCF en dichas composiciones está en un intervalo de aproximadamente 1:0,55 a aproximadamente 1:50. En otras realizaciones específicas, la relación molar global del compuesto de fórmula I con respecto a CCF en dichas composiciones está en un intervalo de aproximadamente 1:0,55 a aproximadamente 1:10. En algunas realizaciones específicas, la relación en peso global del compuesto de fórmula I con respecto a CCF en dichas composiciones está en un intervalo de aproximadamente el 85 % en peso: 15 % en peso a aproximadamente el 60 % en peso: 40 % en peso. En otras realizaciones específicas, la relación en peso global del compuesto de fórmula I con respecto a CCF está en un intervalo de aproximadamente el 70 % en peso:30 % en peso a aproximadamente 60 % en peso : 40 % en peso. En otras realizaciones más, la relación en peso global del compuesto de fórmula I con respecto a CCF es de aproximadamente el 65 % en peso:35 % en peso.

También se describen composiciones sólidas eutécticas que comprenden: (a) un co-cristal que comprende un compuesto de fórmula (I), y un CCF seleccionado de ácido adípico, en la que cada uno de R¹ y R² es hidrógeno o deuterio, y en la que la relación molar del compuesto de fórmula I con respecto a ácido adípico es de aproximadamente 2 a 1; y (b) ácido adípico. Como se usa en el presente documento, el término "sólido eutéctico" significa un material sólido resultante de una reacción eutéctica conocida en la técnica. Sin quedar ligado a una teoría particular, una reacción eutéctica se define de la siguiente manera:



En la reacción de eutección, una sola fase líquida y dos fases sólidas coexisten al mismo tiempo y están en equilibrio químico. Forma una superestructura o microestructura en el enfriamiento que libera de una vez todos sus componentes en una mezcla líquida (se funde) a una temperatura específica (la temperatura eutéctica).

En una realización, la relación en peso global del compuesto de fórmula I con respecto a ácido adípico en las composiciones de sólido eutéctico está en un intervalo de aproximadamente el 70 % en peso:30 % en peso a aproximadamente 60 % en peso : 40 % en peso. En otra realización más, la relación en peso global del compuesto de fórmula I con respecto a ácido adípico está en un intervalo de aproximadamente el 65 % en peso:35 % en peso. En otra realización más, la relación molar del co-cristal de un compuesto de fórmula I con respecto a ácido adípico es de aproximadamente 1 a 1,03.

La forma pura significa que el co-cristal o la forma polimórfica particular comprende más del 95 % (p/p), por ejemplo, más del 98 % (p/p), más del 99 % (p/p), más del 99,5 % (p/p) o más del 99,9 % (p/p).

Más específicamente, la presente invención también proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables donde cada uno de los co-cristales o formas polimórficas están en forma de una composición o una mezcla de la forma polimórfica con uno o más otras formas cristalinas, solvato, amorfas, u otras formas polimórficas o sus combinaciones de las mismas. Por ejemplo, en una realización, las composiciones comprenden la Forma A del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) junto con una o más formas polimórficas del Compuesto (2) diferentes, tales como forma amorfa, hidratos, solvatos y/u otras formas o sus combinaciones. En una realización específica, las composiciones comprenden la Forma A del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) junto con la Forma B del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2). Más específicamente, la composición puede comprender cantidades trazas hasta el 100 % de la forma polimórfica específica o cualquier cantidad, por ejemplo, en un intervalo del 0,1% - 0,5%, 0,1% - 1%, 0,1% - 2 %, 0,1% - 5 %, 0,1% - 10 %, 0,1% - 20 %, 0,1% - 30 %, 0,1% - 40 %, 0,1% - 50 %, 1% - 50%, o 10% - 50% en peso basándose en la cantidad total del compuesto de fórmula I en la composición. Como alternativa, la composición puede comprender al menos el 50%, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 %, el 99,5 % o el 99,9 % en peso de forma polimórfica específica en base a la cantidad total del compuesto de la fórmula I en la composición.

En una realización, los compuestos de acuerdo con la presente invención se proporcionan en forma de un enantiómero individual al menos un 95 %, al menos un 97 % y al menos un 99 % libre del correspondiente enantiómero.

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (+) al menos un 95 % libre del correspondiente enantiómero (-).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (+) al menos un 97 % libre del correspondiente enantiómero (-).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (+) al menos un 99 % libre del correspondiente enantiómero (-).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (-) al menos un 95 % libre del correspondiente enantiómero (+).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (-)

) al menos un 97 % libre del correspondiente enantiómero (+).

En una realización más los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (-) al menos un 99 % libre del correspondiente enantiómero (+).

5 La presente invención también proporciona métodos para producir los co-cristales descritos anteriormente. En una realización, los métodos comprenden moler, calentar, cosublimar, derretir conjuntamente, o poner en contacto (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida o (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida con el formador de co-cristales en
10 condiciones de cristalización para formar el co-cristal en fase sólida, en el que el formador de co-cristales se selecciona de ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico.

15 En otra realización, los métodos comprenden mezclar un compuesto de la fórmula (I) con un CCF seleccionado de ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico o ácido benzoico a una temperatura elevada para formar el co-cristal. El compuesto de fórmula (I) puede mezclarse con el CCF para generar una mezcla del compuesto y CCF, y después la mezcla del compuesto y CCF se calienta a una temperatura elevada para formar el co-cristal. Como alternativa, las etapas de mezcla y calentamiento se pueden realizar al mismo tiempo.

20 En una realización específica, el CCF es ácido adípico, y el compuesto de fórmula (I) se mezcla con ácido adípico a una temperatura elevada en un intervalo de aproximadamente 110 °C y aproximadamente 195 °C para formar el co-cristal. En otra realización específica, la temperatura elevada está en un intervalo de aproximadamente 130 °C y aproximadamente 180 °C, o en un intervalo de aproximadamente 140 °C y aproximadamente 160 °C.

25 En otra realización específica, el CCF es ácido adípico, y se mezcla del 10 % en peso a aproximadamente el 85 % en peso del compuesto (I) y de aproximadamente el 90 % en peso al 15 % en peso de ácido adípico. En otra realización específica más, de aproximadamente el 30 % en peso a aproximadamente 80 % en peso y el ácido adípico es de aproximadamente el 70 % en peso a aproximadamente 20 % en peso. En otra realización específica más, el compuesto (I) es de aproximadamente el 50 % en peso a aproximadamente el 80 % en peso y el ácido adípico es de aproximadamente el 50 % en peso a aproximadamente 20 % en peso. En otra realización específica más, el
30 compuesto (I) es de aproximadamente el 60 % en peso al 70 % en peso y el ácido adípico es de aproximadamente el 40 % en peso a aproximadamente 30 % en peso. En otra realización específica más, el compuesto (I) es aproximadamente el 65 % en peso y el ácido adípico es aproximadamente el 35 % en peso.

35 En otra realización más, los métodos incluyen: proporcionar el compuesto de fórmula I; proporcionar el formador de co-cristales; moler, calentar, cosublimar, derretir conjuntamente, o poner en contacto en la solución el compuesto de la fórmula I con el formador de co-cristales en condiciones de cristalización como para formar el co-cristal en la fase sólida; y luego, opcionalmente, aislar el co-cristal formado de ese modo. En algunas realizaciones específicas, la fabricación de un co-cristal de un compuesto de fórmula I y el CCF incluye proporcionar el compuesto de fórmula I y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico en una
40 relación molar entre aproximadamente 1 a 0,55 a aproximadamente 1 a 3,6, respectivamente. En algunas realizaciones específicas, la fabricación de un co-cristal de un compuesto de fórmula I y el CCF incluye proporcionar el compuesto de fórmula I y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico en una relación molar entre aproximadamente 1 a 1,2 a aproximadamente 1 a 3,6, respectivamente.

45 En otra realización más, la invención proporciona métodos para modular una propiedad química o física de interés (tal como el punto de fusión, solubilidad, disolución, higroscopicidad y biodisponibilidad) de un co-cristal que contiene un compuesto de fórmula I y ácido adípico, y por referencia ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, o ácido benzoico. Los métodos incluyen: medir la propiedad química o física de interés para el compuesto de la fórmula I y el CCF; determinar la fracción molar del compuesto de la fórmula I y el CCF que dará como resultado la modulación deseada de la propiedad física o química de interés; y la preparación del co-cristal con la fracción molar, como se
50 determinó.

Como se usa en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario. Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS y el *Handbook of Chemistry and Physics*, 75ª Ed. 1994. Adicionalmente, los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª Ed., Smith, M.B. y March, J., ed. John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

60 Para las asignaciones de picos de XRPD, el término "aproximadamente" significa un intervalo de +/- 0,2 con respecto al valor indicado. Para los espectros de RMN en estado sólido ¹³C, el término "aproximadamente" significa un intervalo de +/- 0,1 con respecto al valor indicado. De otro modo, el término "aproximadamente" significa un valor de +/- 10 % del valor indicado. Cuando este término va seguido de una serie de números, se aplica a cada uno de los números de la serie.

65 Para compuestos de la invención en los que R¹ o R² es deuterio, la relación de deuterio con respecto a hidrógeno es

de al menos 5 a 1 En algunas realizaciones, la relación de deuterio con respecto a hidrógeno es de al menos 9 a 1 En otras realizaciones, la relación de deuterio con respecto a hidrógeno es de al menos 19 a 1

5 Los métodos para preparar y caracterizar un co-cristal están bien documentados en la bibliografía. Véase, por ejemplo, Trask et al., *Chem. Commun.*, 2004, 890-891; y O. Almarsson y M. J. Zaworotko, *Chem. Commun.*, 2004, 1889-1896. Estos métodos en general también son adecuados para preparar y caracterizar co-cristales de esta invención.

10 Los ejemplos de preparación de co-cristales con un principio farmacéutico activo y un CCF incluyen extrusión por fusión en caliente, molienda de bolas, fusión en un bloque de reacción, disolvente de evaporación, conversión de suspensión, mezcla, sublimación o modelado. En el método de molienda de bolas, ciertas relaciones molares de los componentes del co-cristal (por ejemplo, un compuesto de interés, tal como un compuesto de fórmula I de esta invención, y un CCF) se mezclan y se muelen con bolas. Opcionalmente, se puede añadir un disolvente tal como metil etil cetona, cloroformo y/o agua a la mezcla que se está moliendo con bolas. Después de la molienda, la mezcla se puede secar al vacío a temperatura ambiente o en la condición calentada, lo que típicamente da un producto en polvo.

15 En el método de fusión, los componentes de un co-cristal (por ejemplo, un CCF y un compuesto de fórmula I) se mezclan opcionalmente con un disolvente tal como acetonitrilo. La mezcla se coloca luego en un bloque de reacción con la tapa cerrada y luego se calienta hasta la endoterma. La mezcla resultante se enfría y el disolvente, si se utiliza, se elimina. En el método de evaporación del disolvente, cada componente de un co-cristal se disuelve primero en un disolvente (por ejemplo, una mezcla de disolvente, tal como azeótropo de metanol/diclorometano, o tolueno/acetonitrilo (por ejemplo, 50/50 en volumen)), y después las soluciones se mezclan entre sí. Después, la mezcla se deja en reposo y el disolvente se evapora a sequedad para producir el co-cristal. En el método de extrusión por fusión en caliente (HME), se forma un nuevo material (el extrusado) forzándolo a través de un orificio o troquel (extrusora) en condiciones controladas, tal como la temperatura, mezcla, velocidad de alimentación y presión. Una extrusora comprende típicamente una plataforma que soporta un sistema de accionamiento, un cilindro de extrusión, un tornillo giratorio dispuesto en un eje de tornillo y un troquel de extrusión para definir la forma del producto. Como alternativa, el troquel de extrusión puede retirarse y el producto puede moldearse por otros medios. Típicamente, los parámetros del proceso se controlan a través de la conexión a una unidad de control electrónico central. El sistema de accionamiento por extrusión generalmente comprende un motor, caja de cambios, varillaje y cojinetes de empuje, mientras que el cilindro y el tornillo se utilizan comúnmente en una configuración modular. Cualquier tecnología HME adecuada conocida en la técnica, por ejemplo, Gavin P. Andrews et al., "Hot-melt extrusion: an emerging drug delivery technology", *Pharmaceutical Technology Europe*, volumen 21, Edición 1 (2009), se puede utilizar en la invención. En una realización, los co-cristales de la invención se preparan mediante extrusión por fusión en caliente.

35 Los ejemplos de métodos de caracterización incluyen análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría de barrido diferencial (DSC), difracción de polvo de rayos X (XRPD), espectroscopía de resonancia magnética nuclear de estado sólido (ss-RMN), análisis de solubilidad, absorción dinámica de vapor, análisis infrarrojo de gases de escape, y estabilidad de la suspensión. La TGA se puede utilizar para investigar la presencia de disolventes residuales en una muestra de co-cristal y para identificar la temperatura a la que se produce la descomposición de cada muestra de co-cristal. La DSC se puede utilizar para buscar termotransiciones que se producen en una muestra de co-cristal en función de la temperatura y determinar el punto de fusión de cada muestra de co-cristal. XRPD se puede utilizar para la caracterización estructural del co-cristal. El análisis de solubilidad se puede realizar para reflejar los cambios en el estado físico de cada muestra de co-cristal. El análisis de estabilidad de la suspensión se puede usar para determinar la estabilidad química de una muestra de co-cristal en un disolvente.

45 *Sales farmacéuticamente aceptables*

La presente invención también incluye co-cristales formados con sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I. Además, la terapia de combinación de la invención analizada a continuación incluye administrar los compuestos de fórmula I y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y sus co-cristales descritos en el presente documento. Los compuestos de fórmula I pueden existir en forma libre para el tratamiento, o cuando sea apropiado, como una sal farmacéuticamente aceptable.

55 Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal no tóxica de un compuesto de esta invención que, tras su administración a un receptor, puede proporcionar, tanto directa como indirectamente, un compuesto de la presente invención o un metabolito con capacidad de inhibición o un resto del mismo. Como se usa en el presente documento, la expresión "metabolito con capacidad de inhibición o resto del mismo" significa que un metabolito o resto del mismo es también un inhibidor de DNA-PK.

60 Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge *et al.*, describe sales farmacéuticamente aceptables en detalle en *J. Pharmaceutical Sciences*, **1977**, *66*, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las obtenidas a partir de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos adecuados. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos. Las sales de adición de ácido pueden prepararse 1) haciendo reaccionar el compuesto purificado en su forma libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y 2) aislando la sal así formada.

65 Los ejemplos de sales de adición de ácidos no tóxicas farmacéuticamente aceptables, de un grupo amino formadas

con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o usando otros procedimientos usados en la técnica tales como intercambio iónico.

5 Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, glicolato, gluconato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, sales valerato y similares.

15 Las sales de adición de base pueden prepararse 1) haciendo reaccionar el compuesto purificado en su forma ácida con una base orgánica o inorgánica adecuada y 2) aislando la sal así formada. Las sales derivadas de bases adecuadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, litio, y potasio), de metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio y calcio), amonio y N^+ (alquilo C_{1-4})₄. Esta invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo que contenga nitrógeno básico de los compuestos divulgados en el presente documento. Los productos solubles en agua o aceite o dispersables pueden obtenerse mediante dicha cuaternización.

20 Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea adecuado, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina formados usando contraiones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquil sulfonato y aril sulfonato inferiores. Otros ácidos y bases, aunque en sí mismos no son farmacéuticamente aceptables, pueden emplearse en la preparación de sales útiles como intermedios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables.

25 *Usos de los co-cristales y composiciones farmacéuticas de la invención*

Se puede usar una cantidad eficaz de un co-cristal o composición farmacéutica de la invención para tratar enfermedades implicadas o asociadas con el cáncer. Una cantidad eficaz es la cantidad que se requiere para conferir un efecto terapéutico al sujeto tratado, por ejemplo, un paciente. Como se usa en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente. Los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un animal (por ejemplo, un ave tal como un pollo, codorniz o pavo o un mamífero), específicamente un "mamífero" que incluye un no primate (por ejemplo, una vaca, cerdo, caballo, ovejas, conejo, cobaya, rata, gato, perro, y ratón) y un primate (por ejemplo, un mono, chimpancé y un ser humano), y más específicamente un humano. En una realización, el sujeto es un animal no humano tal como un animal de granja (por ejemplo, un caballo, vaca, cerdo u oveja), o una mascota (por ejemplo, un perro, gato, cobayo o conejo). En una realización preferida, el sujeto es un "ser humano".

40 La cantidad precisa de compuesto administrado a un sujeto dependerá del modo de administración, el tipo y la gravedad del cáncer y de las características del sujeto, tal como la salud general, edad, sexo, peso corporal y la tolerancia a los fármacos. El experto en la técnica podrá determinar las dosis apropiadas dependiendo de estos y otros factores. Cuando se administra conjuntamente con otros agentes, por ejemplo, cuando se administra conjuntamente con un medicamento contra el cáncer, una "cantidad eficaz" del segundo agente dependerá del tipo de medicamento utilizado. Las dosis adecuadas son conocidas para los agentes aprobados y pueden ser ajustadas por el experto en la técnica según la afección del sujeto, el tipo de afección o afecciones que se tratan y la cantidad de un compuesto descrito en el presente documento que se usa. En los casos en que no se indique expresamente una cantidad, se debe asumir una cantidad eficaz. En general, los regímenes de dosificación pueden seleccionarse de acuerdo con una diversidad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, estado de salud general, sexo y dieta del paciente; del tiempo de administración, la ruta de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la función renal y hepática del sujeto; y el compuesto particular o sal del mismo empleado, la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o casuales con el compuesto específico empleado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El experto en la materia puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de los compuestos descritos en el presente documento requeridos para tratar, prevenir, inhibir (total o parcialmente) o detener el avance de la enfermedad.

55 La cantidad eficaz de un co-cristal o composición farmacéutica de la invención está entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal/día. En una realización, la cantidad eficaz de un co-cristal o composición farmacéutica de la invención está entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal/día. En otra realización, la cantidad eficaz de un co-cristal o composición farmacéutica de la invención está entre aproximadamente 2 y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal/día. Las dosis eficaces también variarán, tal como reconocen los expertos en la materia, dependiendo de la vía de administración, el uso de excipientes y la posibilidad de uso conjunto con otros tratamientos terapéuticos, incluido el uso de otros agentes terapéuticos y/o terapias.

65 Los co-cristales o composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar al sujeto que lo necesite (por ejemplo, células, un tejido o un paciente (incluido un animal o un ser humano) por cualquier método que permita el suministro de un compuesto de fórmula I, por ejemplo, por vía oral, intravenosa o parenteral. Por ejemplo, pueden

administrarse a través de píldoras, comprimidos, cápsulas, aerosoles, supositorios, formulaciones líquidas para ingestión o inyección.

5 Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención comprenden adicionalmente un vehículo, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, que, como se usa en el presente documento, incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma de dosificación particular deseada. En Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª edición, 2005, ed. D. B. Troy, Lippincott
10 Williams & Wilkins, Philadelphia, y *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, ed. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York, se describen diversos vehículos usados para formular composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de las mismas. Excepto en la medida en que cualquier medio transportador convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como mediante la producción de cualquier efecto biológico no deseado o la interacción de otro modo perjudicial con cualquier otro
15 componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso se contempla dentro del alcance de la presente invención.

Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede contener ingredientes inertes que no inhiban indebidamente la actividad biológica de los compuestos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables deben ser biocompatibles, por
20 ejemplo, no tóxicos, no inflamatorios, no inmunogénicos o desprovistos de otras reacciones no deseadas o efectos secundarios sobre la administración a un sujeto. Se pueden emplear técnicas de formulación farmacéutica estándar.

Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas (tal como seroalbúmina humana), sustancias tampón (tal como twin 80, fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio),
25 mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos (tal como sulfato de protamina, fosfato de hidrógeno disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, o sales de cinc), sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinil pirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polioxipropileno, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lanolina, azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semillas de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido
30 de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saporíferos y perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden estar también presentes en la composición, según el criterio del experto en formulación.

40 En un ejemplo específico, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la invención comprenden metilcelulosa, tal como aproximadamente el 0,5% en peso de metilcelulosa. En otro ejemplo específico, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la invención comprenden metilcelulosa y ácido benzoico, tal como aproximadamente el 0,5% en peso de metilcelulosa y aproximadamente el 0,2% en peso de ácido benzoico. En otro
45 ejemplo específico, las composiciones farmacéuticamente aceptables comprenden metilcelulosa y ácido benzoico, tal como aproximadamente el 0,5% en peso de metilcelulosa, aproximadamente el 0,1% en peso de ácido benzoico y aproximadamente el 0,1% en peso de benzoato sódico. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden además ácido adípico libre (CCF libre que no es un CCF de los co-cristales de la invención). Dicho ácido adípico está en una concentración de, por ejemplo, por ejemplo, aproximadamente 5 mg/[vehículo g] a
50 aproximadamente 10 mg/[vehículo g], tal como aproximadamente 8,8 mg/[vehículo g].

Para la administración oral se puede usar cualquier forma de dosificación aceptable por vía oral que incluye, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de los comprimidos para uso oral, los transportadores comúnmente usados incluyen, pero sin limitación, lactosa y almidón de maíz. Agentes lubricantes,
55 tales como estearato de magnesio, también se añaden normalmente. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz deshidratado. Cuando se necesitan suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes, saporíferos o colorantes.

60 Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los principios activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente 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,
65 benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de

ácidos grasos de 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, agentes saporíferos y perfumantes.

- 5 Las formas farmacéuticas sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas sólidas de dosificación, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, a) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polvinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la solución 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 bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación puede comprender agentes tamponantes.

También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas sólidas de dosificación de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos única, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusoras que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las formas microencapsuladas con uno o más excipientes como se indicó anteriormente también se pueden usar en la invención. Las formas sólidas de dosificación de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para formación de comprimidos y otros adyuvantes para la compresión, tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos única, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusoras que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

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

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Las formas inyectables estériles pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas en la materia usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados de glicéridos son útiles en la preparación de inyectables, así como los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante alcohólico 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. Otros tensioactivos usados habitualmente, tales como los Tween, Span 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 también pueden usarse con fines de formulación.

Con el fin de prolongar el efecto de los compuestos activos administrados, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto mediante inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de compuesto administrado por vía parenteral se lleva a cabo disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas del compuesto activo en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de compuesto activo con respecto a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectable también se preparan atrapando al compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Cuando se desee, se pueden emplear las formulaciones descritas anteriormente adaptadas para dar una liberación sostenida del principio activo.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son supositorios específicos que pueden prepararse mezclando el compuesto activo con excipientes o vehículos adecuados no irritantes, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se derretirán en el recto o en la cavidad vaginal y liberarán el compuesto activo.

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizados, inhalantes o parches. El componente activo se premezcla en condiciones estériles con un transportador farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario, según se requiera. Las formulaciones oftálmicas, gotas óticas y colirios también se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Adicionalmente, se pueden utilizar parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un compuesto al organismo, o similares. Dichas formas farmacéuticas pueden prepararse disolviendo o dispensando 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 puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Como alternativa, los compuestos activos y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos también se pueden administrar mediante aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la materia de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

Los co-cristales o composiciones farmacéuticas de la invención también pueden administrarse por implantación (por ejemplo, quirúrgicamente) con un dispositivo implantable. Los ejemplos de dispositivos implantables incluyen, pero sin limitación, endoprótesis vasculares, bombas de administración, filtros vasculares y composiciones de liberación de control implantables. Se puede usar cualquier dispositivo implantable para administrar un compuesto de fórmula I como el principio activo en los co-cristales o composiciones farmacéuticas de esta invención, siempre que 1) el dispositivo, el compuesto de fórmula I y cualquier composición farmacéutica que incluya el compuesto sean biocompatibles y 2) que el dispositivo puede administrar o liberar una cantidad eficaz del compuesto para conferir un efecto terapéutico al paciente tratado.

La administración de agentes terapéuticos mediante endoprótesis, bombas de administración (por ejemplo, bombas mini-osmóticas) y otros dispositivos implantables se conoce en la técnica. Véase, por ejemplo, "Recent Developments in Coated Stents" de Hofma et al., publicado en *Current Interventional Cardiology Reports*, 2001, 3: 28-36. Otras descripciones de dispositivos implantables, tales como endoprótesis, pueden encontrarse en la Pat. de Estados Unidos N.º 6.569.195 y 6.322.847, y las Publicaciones Internacionales PCT número WO 04/0044405, WO 04/0018228, WO 03/0229390, WO 03/0228346, WO 03/0225450, WO 03/0216699 y WO 03/0204168.

Los compuestos activos y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse en una forma de dosificación unitaria. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos sometidos a tratamiento, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, opcionalmente en asociación con un vehículo farmacéutico adecuado. La forma de dosificación unitaria puede ser para una sola dosis diaria o una de múltiples dosis diarias (por ejemplo, aproximadamente 1 a 4 o más veces al día). Cuando se usan dosis diarias múltiples, la forma de dosis unitaria puede ser igual o diferente para cada dosis. La cantidad de compuesto activo en

una forma de dosificación unitaria variará dependiendo, por ejemplo, del huésped tratado y del modo particular de administración, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal/día.

5 En una realización, la invención está dirigida a un co-cristal de la invención para su uso en la potenciación de un régimen terapéutico para el tratamiento del cáncer. Los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos, sin comprometerse a una teoría particular, pueden inhibir DNA-PK. DNA-PK desempeña una función importante en la supervivencia, por ejemplo, de las células cancerosas, después del daño en el ADN a través de su actividad reparando roturas bicatenarias (DSB) por unión final no homóloga (NHEJ). Por lo tanto, el direccionamiento de DNA-PK puede mejorar los resultados de pacientes con cáncer, especialmente en pacientes con cáncer que reciben terapias para inducir DSB en células tumorales, ya que los DSB en las células tumorales no pueden repararse y conducen rápidamente a la muerte celular. En algunas realizaciones, los métodos potencian el régimen terapéutico para inducir DSB. Los ejemplos de dichas terapias incluyen radioterapia (RT) y ciertas quimioterapias como los inhibidores de la topoisomerasa I (por ejemplo, topotecán, irinotecán/SN38, rubitecán y otros derivados), inhibidores de topoisomerasa II (por ejemplo, etopósido y doxil), intercaladores de ADN (por ejemplo, doxorubicina o epirrubicina), radiomiméticos (por ejemplo, bleomicina), inhibidores de PARP (por ejemplo, BMN-673), inhibidores de la reparación del ADN (por ejemplo, carboplatino), reticuladores del ADN (por ejemplo, cisplatino), inhibidores de la timidilato sintasa (por ejemplo, fluorouracilo (5-FU)), inhibidores mitóticos (por ejemplo, paclitaxel), inhibidores de EGFR (por ejemplo, erlotinib) y anticuerpos monoclonales de EGFR (por ejemplo, cetuximab).

20 En una realización específica, dicho régimen terapéutico potenciado para su uso en el tratamiento del cáncer incluye al menos una quimioterapia seleccionada de un inhibidor de la topoisomerasa I, inhibidor de la topoisomerasa II, intercalador de ADN, radiomimético, inhibidor de PARP, inhibidor de la reparación del ADN, reticuladores del ADN inhibidor de la timidilato sintasa, inhibidor mitótico, inhibidor de EGFR, anticuerpo monoclonal EGFR o radiación. En otra realización específica, el régimen terapéutico para su uso en el tratamiento del cáncer incluye radioterapia. Los co-cristales o composiciones farmacéuticas de la invención son útiles en casos en los que la terapia de radiación está indicada para mejorar el beneficio terapéutico de tal tratamiento. Además, la radioterapia con frecuencia está indicada como un adyuvante a la cirugía en el tratamiento del cáncer. En general, un objetivo de la radioterapia en el entorno adyuvante es reducir el riesgo de recidiva y aumentar la supervivencia libre de enfermedad cuando se ha controlado el tumor primario. Por ejemplo, la radioterapia adyuvante está indicada en los cánceres, incluyendo, pero sin limitación, 25 cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer gástrico-esofágico, fibrosarcoma, glioblastoma, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, y cáncer de próstata como se describe a continuación. En otra realización específica más, el régimen terapéutico para el tratamiento del cáncer incluye tanto radioterapia como quimioterapia de al menos un agente de quimioterapia seleccionado de inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, intercaladores de ADN radiomiméticos, inhibidores de PARP, inhibidores de la reparación del ADN, agentes de reticulación de ADN, inhibidores de la timidilato sintasa, inhibidores mitóticos, inhibidores de EGFR o anticuerpos monoclonales de EGFR.

40 En otra realización, la invención proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma para su uso en la inhibición o prevención de la reparación del daño del ADN por recombinación homóloga en células cancerosas. Otra realización proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma para su uso en la promoción de la muerte celular en células cancerosas. Otra realización más proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma para su uso en la prevención de la reparación celular del daño del ADN en células cancerosas.

45 La invención se refiere además al co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma para su uso en la sensibilización (por ejemplo, radiosensibilización) de células tumorales. Por consiguiente, tal co-cristal o composición farmacéutica puede "radiosensibilizar" una célula cuando se administra a animales en una cantidad terapéuticamente eficaz para aumentar la sensibilidad de las células a la radiación electromagnética y/o para promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación electromagnética (por ejemplo, rayos X). Las enfermedades que se pueden tratar con radiación electromagnética incluyen enfermedades neoplásicas, tumores benignos y malignos y células cancerosas. La descripción describe la sensibilización de células tumorales a agentes que dañan el ADN.

55 La presente invención también proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer en un animal. La invención se refiere además al co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma del mismo para su uso en la inhibición del crecimiento del cáncer, incluyendo procesos de proliferación celular, invasividad y metástasis en sistemas biológicos. Los métodos incluyen el uso de dicho co-cristal o composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de células cancerosas. Preferiblemente, los métodos se emplean para inhibir o reducir el crecimiento de células cancerosas, la invasividad, la metástasis o la incidencia de tumores en animales vivos, tales como los mamíferos. Los métodos de la invención también son fácilmente adaptables para su uso en sistemas de ensayo, por ejemplo, ensayando el crecimiento de células cancerosas y propiedades de las mismas, así como identificando compuestos que afectan el crecimiento de células cancerosas.

65 Los tumores o neoplasias incluyen crecimientos de células tisulares en las que la multiplicación de las células es incontrolada y progresiva. Algunos de estos crecimientos son benignos, pero otros se denominan "malignos" y pueden

llevar a la muerte del organismo. Las neoplasias malignas o "cánceres" se distinguen de los crecimientos benignos porque, además de exhibir una proliferación celular agresiva, pueden invadir los tejidos circundantes y hacer metástasis. Además, las neoplasias malignas se caracterizan porque muestran una mayor pérdida de diferenciación (mayor "desdiferenciación") y su organización entre sí y sus tejidos circundantes. Esta propiedad también se llama "anaplasia".

Las neoplasias tratables por la presente invención también incluyen tumores sólidos, es decir, carcinomas y sarcomas. Los carcinomas incluyen aquellas neoplasias malignas derivadas de células epiteliales que infiltran (invaden) los tejidos circundantes y dan lugar a metástasis. Los adenocarcinomas son carcinomas derivados de tejido glandular o de tejidos que forman estructuras glandulares reconocibles. Otra amplia categoría de cánceres incluye los sarcomas, que son tumores cuyas células están incrustadas en una sustancia fibrilar u homogénea como el tejido conectivo embrionario. La invención también permite el tratamiento de los cánceres de los sistemas mieloides o linfoides, incluyendo leucemias, linfomas y otros tipos de cáncer que normalmente no se presentan como una masa tumoral, pero se distribuyen en los sistemas vascular o linforeticular.

La actividad de DNA-PK puede asociarse con diversas formas de cáncer en, por ejemplo, oncología pediátrica y en adultos, crecimiento de tumores sólidos/neoplasias, carcinoma mixtoide y de células redondas, tumores localmente avanzados, cáncer metastásico, sarcomas de tejidos blandos humanos, incluyendo el sarcoma de Ewing, metástasis de cáncer, incluyendo metástasis linfáticas, carcinoma de células escamosas, particularmente de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas del esófago, carcinoma oral, neoplasias de células sanguíneas, incluyendo mieloma múltiple, leucemias, incluyendo leucemia linfocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica y leucemia de células pilosas, linfomas de derrame (linfomas basados en cavidades corporales), linfoma tímico, cáncer de pulmón, incluyendo carcinoma de células pequeñas, linfoma cutáneo de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, cáncer de la corteza suprarrenal, tumores productores de ACTH, cánceres de células no pequeñas, cáncer de mama, incluyendo el carcinoma de células pequeñas y el carcinoma ductal, cánceres gastrointestinales, incluyendo cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer colorrectal, pólipos asociados con neoplasia colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cánceres urológicos, incluyendo cáncer de vejiga, incluyendo tumores vesicales superficiales primarios, carcinoma invasivo de células de transición de la vejiga y cáncer de vejiga músculo invasivo, cáncer de próstata, neoplasias del tracto genital femenino, incluyendo carcinoma de ovario, neoplasias epiteliales peritoneales primarias, carcinoma de cuello de útero, cánceres de endometrio uterino, cáncer de vagina, cáncer de vulva, cáncer de útero y tumores sólidos en el folículo ovárico, neoplasias del tracto genital masculino, incluyendo cáncer de testículos y cáncer de pene, cáncer de riñón, incluyendo el carcinoma renal, cáncer de cerebro, incluyendo tumores cerebrales intrínsecos, neuroblastoma, tumores cerebrales astrocíticos, gliomas, invasión de células tumorales metastásicas en el sistema nervioso central, cánceres de huesos, incluyendo osteomas y osteosarcomas, cánceres de piel, incluyendo melanoma maligno, progresión tumoral de queratinocitos en la piel humana, cáncer de células escamosas, cáncer de tiroides, retinoblastoma, neuroblastoma, derrame peritoneal, derrame pleural maligno, mesotelioma, tumores de Wilm, cáncer de vesícula biliar, neoplasias trofoblásticas, hemangiopericitoma y sarcoma de Kaposi. Por lo tanto, también está dentro del alcance de esta invención el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo, para su uso en el tratamiento de dichas enfermedades, en las que se usa una cantidad terapéuticamente eficaz de un co-cristal de esta invención o una composición farmacéutica de esta invención.

En algunas realizaciones, el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma es para su uso en el tratamiento del cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), o cáncer de pulmón de células pequeñas en etapa extensiva (ED-SCLC), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, neoplasias hemo (por ejemplo, leucemia mieloide aguda (AML)), mieloma (por ejemplo, mieloma de células plasmáticas (PCM)), cáncer de la unión gastroesofágica (GEJ), cáncer de ovarios, cáncer de colon, cáncer de faringe, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de esófago, linfoma (por ejemplo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBL)), o fibroblasto pulmonar. En algunas realizaciones específicas, el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma es para su uso en el tratamiento del cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), o cáncer de pulmón de células pequeñas en etapa extensiva (ED-SCLC), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, leucemia mieloide aguda, mieloma, cáncer de la unión gastroesofágica (GEJ) o cáncer de ovario. En algunas realizaciones específicas, el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma se usa para tratar el cáncer de pulmón, tal como el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) o el cáncer de pulmón de células pequeñas, como el cáncer de pulmón de células pequeñas en etapa extensiva (ED-SCLC). En algunas realizaciones específicas, el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo, se usa para tratar el cáncer de mama, tal como el cáncer de mama triple negativo. En algunas realizaciones específicas, el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica de la misma se usa para tratar el cáncer de la unión gastroesofágica (GEJ). En algunas realizaciones específicas, la invención se emplea para tratar la leucemia mieloide aguda (AML).

La invención también proporciona el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo, para su uso en la inhibición de la actividad de ADN-PK en una muestra biológica que incluye poner en contacto la muestra biológica con un co-cristal o composición farmacéutica de la invención. El término "muestra biológica", como se usa en el presente documento, significa una muestra fuera de un organismo vivo e incluye, sin limitación, cultivos celulares o

extractos de los mismos; 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 quinasa, particularmente la actividad de DNA-PK, en una muestra biológica es útil para una diversidad de fines conocidos por los expertos en la materia. Un ejemplo incluye, pero sin limitación, la inhibición de DNA-PK en un ensayo biológico.

5 En una realización, el método para inhibir la actividad de DNA-PK en una muestra biológica se limita a métodos no terapéuticos.

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

10

Terapias de combinación

La presente invención también proporciona una combinación de quimioterapia con un compuesto o composición de la invención, o con una combinación de otra terapia anticancerosa, tal como un agente anticanceroso o radioterapia (o radioterapia). En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula I y los co-cristales de los mismos se usan en combinación con otra terapia anticancerosa, tal como un fármaco anticanceroso o radioterapia. Como se usa en el presente documento, los términos "en combinación" o "coadministración" se pueden usar indistintamente para referirse al uso de más de una terapia (por ejemplo, uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). El uso de los términos

15 no restringe el orden en que se administran las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos y/o terapéuticos) a un sujeto.

20

En algunas realizaciones, dicha terapia contra el cáncer es un agente anticáncer. En otras realizaciones, dicha otra terapia contra el cáncer es un agente dañino para el ADN. En otras realizaciones más, dicha terapia contra el cáncer se selecciona de la terapia de radiación. En una realización específica, la radioterapia es radiación ionizante.

25

Los ejemplos de agentes que dañan el ADN que pueden usarse junto con los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos incluyen, pero sin limitación, agentes platinantes, tales como carboplatino, nedaplatino, satraplatino y otros derivados; inhibidores de la topoisomerasa I, tales como topotecán, irinotecán/SN38, rubitecán y otros derivados; antimetabolitos, tal como la familia fólica (metotrexato, pemetrexed y relacionados); antagonistas de purina y antagonistas de pirimidina (tioguanina, fludarabina, cladribina, citarabina, gemcitabina, 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo (5FU) u asociados); agentes alquilantes, tales como mostazas nitrogenadas (ciclofosfamida, melfalán, clorambucilo, mecloretamina, ifosfamida y relacionados); nitrosoureas (por ejemplo, carmustina); triazenos (dacarbazina, temozolomida); alquil sulfonatos (por ejemplo, busulfán); procarbazona y aziridinas; antibióticos, tales como hidroxurea, antraciclinas (doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina y otros derivados); antracenedionas (mitoxantrona y relacionados); familia de los streptomyces (bleomicina, mitomicina C, actinomicina); y luz ultravioleta.

30

35

Otros tratamientos o agentes anticancerosos que se pueden usar en combinación con los agentes inventivos de la presente invención e incluyen cirugía, radioterapia (en algunos ejemplos, radiación ionizante (IR), radiación gamma, radioterapia con haces de neutrones, radioterapia con haces de electrones, terapia con protones, braquiterapia e isótopos radiactivos sistémicos, por nombrar unos pocos), terapia endocrina, modificadores de la respuesta biológica (interferones, interleucinas, y factor de necrosis tumoral (TNF) por nombrar unos pocos), piroterapia y crioterapia, agentes para atenuar cualquier efecto adverso (por ejemplo, antieméticos) y otros fármacos quimioterapéuticos autorizados, incluyendo, pero sin limitación, los agentes que dañan el ADN relacionados en el presente documento, venenos del huso (vinblastina, vincristina, vinorelbina, paclitaxel), podofilotoxinas (etopósido, irinotecán, topotecán), nitrosoureas (carmustina, lomustina), iones inorgánicos (cisplatino, carboplatino), enzimas (asparaginasa) y hormonas (tamoxifeno, leuprolida, flutamida, y megestrol), Gleevec™, adriamicina, dexametasona y ciclofosfamida.

40

45

Los ejemplos adicionales de los agentes terapéuticos para la co-terapia de la invención incluyen: abarelix (Plenaxis depot®); aldesleukina (Prokine®); Aldesleukina (Proleukin®); Alemtuzumab (Campath®); alitretinoína (Panretin®); alopurinol (Zyloprim®); altretamina (Hexalen®); amifostina (Ethyol®); anastrozol (Arimidex®); trióxido de arsénico (Trisenox®); asparaginasa (Elspar®); azacitidina (Vidaza®); bevacuzimab (Avastin®); cápsulas de bexaroteno (Targretin®); gel de bexaroteno (Targretin®); bleomicina (Blenoxane®); bortezomib (Velcade®); busulfán intravenoso (Busulfex®); busulfán oral (Myleran®); calusterona (Methosarb®); capecitabina (Xeloda®); carboplatino (Paraplatin®); carmustina (BCNU®, BiCNU®); carmustina (Gliadel®); carmustina con Polifeprosan 20 Implant (Gliadel Wafer®); celecoxib (Celebrex®); cetuximab (Erbix®); clorambucilo (Leukeran®); cisplatino (Platinol®); cladribina (Leustatin®); 2-CdA®; clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytosan®); ciclofosfamida (Cytosan Injection®); ciclofosfamida (Cytosan Tablat®); citarabina (Cytosar-U®); citarabina liposómica (DepoCyt®); dacarbazina (DTIC-Dome®); dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); Darbepoetin alfa (Aranesp®); daunorrubicina liposómica (DanuoXome®); daunorrubicina, daunomicina (Daunorubicin®); daunorrubicina, daunomicina (Cerubidine®); Denileukin diftotox (Ontak®); dexrazoxano (Zinecard®); docetaxel (Taxotere®); doxorubicina (Adriamycin PFS®); doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®); doxorubicina (Adriamycin PFS Injection®); doxorubicina liposómica (Doxil®); propionato de dromostanolona (dromostanolone®); propionato de dromostanolona (masterone injection®); solución B de Elliott's B Solution®; epimicina (Ellence®); Epoetina alfa (epogen®); erlotinib (Tarceva®); estramustina (Emcyt®); fosfato de etopósido (Etopophos®); etopósido, VP-16 (Vepesid®); exemestano (Aromasin®); Filgrastim (Neupogen®); floxuridina (intraarterial) (FUDR®); fludarabina (Fludara®); fluorouracilo, 5-FU (Admcil®); fulvestrant

50

55

60

65

(Faslodex®); gefitinib (Iressa®); gemcitabina (Gemzar®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); acetato de goserelina (Zoladex Implant®); acetato de goserelina (Zoladex®); acetato de histrelina (Histrelin implant®); hidroxurea (Hydrea®); Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®); idarrubicina (Idamycin®); ifosfamida (IFEX®); mesilato de imatinib (Gleevec®); interferón alfa 2a (Roferon A®); Interferón alfa-2b (Intron A®); irinotecán (Camptosar®); lenalidomida (Revlimid®); letrozol (Femara®); leucovorina (Wellcovorin®, Leucovorin®); acetato de leuprolida (Eligard®); levamisol (Ergamisol®); lomustina, CCNU (CccBU®); mecloretamina, mostaza de nitrógeno (Mustargen®); acetato de megestrol (Megace®); melfalán, L-PAM (Alkeran®); mercaptopurina, 6-MP (Purinethol®); mesna (Mesnex®); mesna (Mesnex tabs®); metotrexato (Methotrexate®); metoxsalen (Uvadex®); mitomicina C (Mutamycin®); mitotano (Lysodren®); mitoxantrona (Novantrone®); fenpropionato de nandrolona (Durabolin-50®); nelarabina (Arranon®); Nofetumomab (Verluma®); Oprelvekin (Neumega®); oxaliplatino (Eloxatin®); paclitaxel (Paxene®); paclitaxel (Taxol®); partículas unidas a la proteína paclitaxel (Abraxane®); palifermina (Kepivance®); pamidronato (Aredia®); pegademasa (Adagen (Pegademase Bovine®)); pegaspargasa (Oncaspar®); Pegfilgrastim (Neulasta®); pemetrexed disodio (Alimta®); pentostatina (Nipent®); pipobroman (Vercyte®); plicamicina, mitramicina (Mithracin®); porfímero de sodio (Photofrin®); procarbazona (Matulane®); quinacrina (Atabrine®); Rasburicasa (Elitek®); Rituximab (Rituxan®); sargramostim (Leukine®); Sargramostim (Prokine®); sorafenib (Nexavar®); estreptozocina (Zanosar®); maleato de sunitinib (Sutent®); talco (Sclerosol®); tamoxifeno (Nolvadex®); temozolomida (Temodar®); tenipósido, VM-26 (Vumon®); testolactona (Teslac®); tioguanina, 6-TG (Tioguanine®); tiotepa (Tioplex®); topotecán (Hycamtin®); toremifeno (Fareston®); Tositumomab (Bexxar®); Tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar®); Trastuzumab (Herceptin®); tretinoína, ATRA (Vesanoid®); Mostaza de Uracilo (Uracil Mustard Capsules®); valrubicina (Valstar®); vinblastina (Velban®); vincristina (Oncovin®); vinorelbina (Navelbine®); zoledronato (Zometa®) y vorinostat (Zolinza®).

Para un análisis completo de los tratamientos actualizados contra el cáncer, véase, nci.nih.gov, una lista de los fármacos aprobados por la FDA para oncología en fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm, y The Merck Manual, Decimoséptima Ed. 1999.

Algunas realizaciones que comprenden el co-cristal de la invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso con un agente terapéutico adicional seleccionado de un agente que daña el ADN, en donde dicho agente terapéutico adicional es apropiado para la enfermedad que se está tratando, y dicho agente terapéutico adicional se administra junto con dicho compuesto como una forma de dosificación única o por separado de dicho compuesto como parte de una forma de dosificación múltiple.

En algunas realizaciones, dicho agente de daño al ADN se selecciona de al menos uno de radiación, (por ejemplo, radiación ionizante), neocarzinostatin radiomimético, un agente platinante, un inhibidor de topoisomerasa I, un inhibidor de la topoisomerasa II, un antimetabolito, un agente alquilante, unos alquilsulfonatos, un antimetabolito, un inhibidor de PARP, o un antibiótico. En otras realizaciones, dicho agente de daño al ADN se selecciona de al menos uno de radiación ionizante, un agente platinante, un inhibidor de topoisomerasa I, un inhibidor de la topoisomerasa II, un inhibidor de PARP, o un antibiótico.

Los ejemplos de agentes platinantes incluyen cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, nedaplatino, satraplatino y otros derivados. Otros agentes platinantes incluyen lobaplatino, y triplatino. Otros agentes platinantes incluyen tetranitrato, picoplatino, satraplatino, proLindac y aroplatino.

Los ejemplos de inhibidores de topoisomerasa I incluyen camptotecina, topotecán, irinotecán/SN38, rubitecán y otros derivados. Otros inhibidores Topo I incluyen belotecán.

Los ejemplos de inhibidores de topoisomerasa II incluyen etopósido, daunorrubicina, doxorubicina, mitoxantrona, aclarubicina, epirubicina, idarrubicina, amrubicina, amsacrina, pirarrubicina, valrubicina, zorrubicina y tenipósido.

Los ejemplos de antimetabolitos incluyen miembros de la familia fólica, la familia purina (antagonistas de purina), o familia pirimidina (antagonistas de pirimidina). Los ejemplos de la familia fólica incluyen metotrexato, pemetrexed y relacionados; los ejemplos de la familia purina incluyen tioguanina, fludarabina, cladribina, 6-mercaptopurina, y los relacionados; los ejemplos de la familia pirimidina incluyen citarabina, gemcitabina, 5-fluorouracilo (5FU) y relacionados.

Algunos otros ejemplos específicos de antimetabolitos incluyen aminopterina, metotrexato, pemetrexed, raltitrexed, pentostatina, cladribina, clofarabina, fludarabina, tioguanina, mercaptopurina, fluorouracilo, capecitabina, tegafur, carmofur, floxuridina, citarabina, gemcitabina, azacitidina e hidroxurea.

Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen mostazas de nitrógeno, triazenos, alquil sulfonatos, procarbazona y aziridinas. Los ejemplos de mostazas de nitrógeno incluyen ciclofosfamida, melfalán, clorambucilo y relacionados; los ejemplos de nitrosoureas incluyen carmustina; los ejemplos de triazenos incluyen dacarbazina y temozolomida; los ejemplos de alquil sulfonatos incluyen busulfán.

Otros ejemplos específicos de agentes alquilantes incluyen mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, trofosfamida, clorambucilo, melfalán, prednimustina, bendamustina, uramustina, estramustina, carmustina, lomustina, semustina,

fotemustina, nimustina, ranimustina, estreptozocina, busulfán, manosulfán, treosulfano, carbocuona, tiotepa, triazicuona, trietilenmelamina, procarbazona, dacarbazina, temozolomida, altretamina, mitobronitol, actinomicina, bleomicina, mitomicina y plicamicina.

5 Los ejemplos de antibióticos incluyen mitomicina, hidroxiurea; antraciclina, antracenedionas, familia Streptomyces. Los ejemplos de antraciclina incluyen doxorubicina, daunorubicina, epirubicina y otros derivados; los ejemplos de antracenedionas incluyen mitoxantrona y relacionados; los ejemplos de la familia Streptomyces incluyen bleomicina, mitomicina C, y actinomicina.

10 Los ejemplos de inhibidores de PARP incluyen inhibidores de PARP1 y PARP2. Los ejemplos específicos incluyen olaparib (también conocido como AZD2281 o KU-0059436), iniparib (también conocido como BSI-201 o SAR240550), veliparib (también conocido como ABT-888), rucaparib (también conocido como PF-01367338), CEP-9722, INO-1001, MK-4827, E7016, BMN-673 o AZD2461. En otras realizaciones, el agente que inhibe o modula PARP1 o PARP2 es Veliparib (también conocido como ABT-888) o Rucaparib. En otras realizaciones, el agente que inhibe o modula PARP1 o PARP2 es BMN-673.

La descripción describe dicho agente platinante que es cisplatino u oxaliplatino; dicho inhibidor de topoisomerasa I es camptotecina; dicho inhibidor de topoisomerasa II es etopósido; y dicho antibiótico es mitomicina. La descripción describe además, dicho agente platinante se selecciona de cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, nedaplatino, o satraplatino; dicho inhibidor de topoisomerasa I se selecciona de camptotecina, topotecán, irinotecán/SN38, rubitecán; dicho inhibidor de topoisomerasa II se selecciona de etopósido; dicho antimetabolito se selecciona entre un miembro de la familia fólica, la familia purina, o la familia pirimidina; dicho agente alquilante se selecciona de mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, triazenos, alquil sulfonatos, procarbazona, o aziridinas; y dicho antibiótico se selecciona de hidroxiurea, antraciclina, antracenedionas, o la familia Streptomyces. En ciertas realizaciones, dicho inhibidor de topoisomerasa II es etopósido.

La descripción describe que el agente terapéutico adicional es la radiación (por ejemplo, radiación ionizante). En otras realizaciones, el agente terapéutico adicional es cisplatino o carboplatino. En otras realizaciones, el agente terapéutico adicional es etopósido. La descripción describe que el agente terapéutico adicional es temozolomida.

La descripción describe, los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan de aquellos que inhiben o modulan una proteína de reparación por escisión de bases. En una realización específica, la proteína de reparación por escisión de bases se selecciona de UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, MYH, NTH1, MPG, NEIL1, NEIL2, NEIL3 (ADN glucosilasas); APE1, APEX2 (AP endonucleasas); LIG1, LIG3 (ADN ligasas I y III); XRCC1 (accesorio LIG3); PNK, PNKP (polinucleótido cinasa y fosfatasa); PARP1, PARP2 (Poli(ADP-Ribosa) Polimerasas); PolB, PolG (polimerasas); FEN1 (endonucleasa) o Aprataxina. En otra realización específica, la proteína de reparación por escisión de bases se selecciona de PARP1, PARP2, o PolB. En otra realización más, la proteína de reparación por escisión de bases se selecciona de PARP1 o PARP2.

En algunas realizaciones, el uso es en una célula cancerosa que tiene defectos en la cascada de señalización de ATM. En algunas realizaciones, dicho defecto es la expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: ATM, p53, CHK2, MRE11, RAD50, NBS1, 53BP1, MDC1, H2AX, MCPH1/BRIT1, CTIP, o SMC1. En otras realizaciones, dicho defecto es la expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: ATM, p53, CHK2, MRE11, RAD50, NBS1, 53BP1, MDC1 o H2AX. En otra realización, la célula es una célula cancerosa que expresa los oncogenes que dañan el ADN. En algunas realizaciones, dicha célula cancerosa tiene una expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: K-Ras, N-Ras, H-Ras, Raf, Myc, Mos, E2F, Cdc25A, CDC4, CDK2, Ciclina E, Ciclina A y Rb.

De acuerdo con otra realización, el uso es en un cáncer, célula cancerosa, o célula tiene un defecto en una proteína involucrada en la reparación por escisión de bases ("proteína de reparación por escisión de bases"). Existen muchos métodos conocidos en la técnica para determinar si un tumor tiene un defecto de reparación por escisión de bases. Por ejemplo, la secuenciación de los productos de ARNm o ADN genómico de cada gen de reparación por escisión de bases (por ejemplo UNG, PARP1, o LIG1) se puede realizar en una muestra del tumor para establecer si hay presentes mutaciones que se espera que modulen la función o expresión del producto génico (Wang et al., Cancer Research 52:4824 (1992)). Además de la inactivación mutacional, las células tumorales pueden modular el gen de reparación de ADN hipermetilando su región promotora, lo que conduce a una expresión génica reducida. Esto se evalúa comúnmente usando reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica de la metilación para cuantificar los niveles de metilación en los promotores de reparación por escisión de bases de genes de interés. El análisis de la metilación del promotor de la reparación por escisión de bases de gen se encuentra disponible comercialmente (por ejemplo, sabiosciences.com/dna_methylation_product/HTML/MEAH-421A).

Los niveles de expresión de los genes de reparación por escisión de bases pueden evaluarse cuantificando directamente los niveles de ARNm y los productos de proteínas de cada gen usando técnicas estándar tales como reacción en cadena de la polimerasa acoplada con transcriptasa inversa (RT-PCR) cuantitativa e inmunohistoquímica (IHC), respectivamente (Shinmura et al., Carcinogenesis 25: 2311 (2004); Shinmura et al., Journal of Pathology 225:414 (2011)).

En algunas realizaciones, la proteína de reparación de escisión de bases es UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, MYH, NTH1, MPG, NEIL1, NEIL2, NEIL3 (ADN glucosilasas); APE1, APEX2 (AP endonucleasas); LIG1, LIG3 (ADN ligasas I y III); XRCC1 (accesorio LIG3); PNK, PNKP (polinucleótido cinasa y fosfatasa); PARP1, PARP2 (Poli(ADP-Ribosa) Polimerasas); PolB, PolG (polimerasas); FEN1 (endonucleasa) o Aprataxina.

5 En algunas realizaciones, la proteína de reparación de escisión de bases es PARP1, PARP2, o PolB. En otras realizaciones, la proteína de reparación de escisión de bases es PARP1 o PARP2.

10 La descripción describe, el agente terapéutico adicional se selecciona de uno o más de los siguientes: cisplatino, carboplatino, gemcitabina, etopósido, temozolomida, o radiación ionizante. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es etopósido.

15 La descripción describe, los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan de uno o más de los siguientes: gemcitabina, cisplatino o carboplatino, y etopósido. La descripción describe además, los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan de uno o más de los siguientes: cisplatino o carboplatino, etopósido, y radiación ionizante. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de pulmón de células pequeñas.

20 En algunas realizaciones, las terapias anticáncer para la terapia de combinación de la invención incluyen agentes que dañan el ADN, tal como inhibidores de topoisomerasa II (por ejemplo, etopósido y doxil), intercaladores de ADN (por ejemplo, doxorubicina, daunorrubicina, y epirubicina), radiomiméticos (por ejemplo, bleomicina), y por referencia, inhibidores de PARP (por ejemplo, BMN-673), inhibidores de la reparación del ADN (por ejemplo, carboplatino), reticuladores del ADN (por ejemplo, cisplatino), inhibidores de la timidilato sintasa (por ejemplo, fluorouracilo (5-FU)), inhibidores mitóticos (por ejemplo, paclitaxel), inhibidores EGFR (por ejemplo, erlotinib), anticuerpos monoclonales EGFR (por ejemplo, cetuximab), y radiación (por ejemplo, radiación ionizante). Los ejemplos específicos incluyen etopósido, doxil, gemcitabina, paclitaxel, cisplatino, carboplatino, 5-FU, etopósido, doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, bleomicina, BMN-673, carboplatino, erlotinib, cisplatino, carboplatino, fluorouracil cetuximab, y radiación (por ejemplo, radiación ionizante). En algunas realizaciones, se usan compuestos de fórmula I y los co-cristales de los mismos en combinación con al menos un fármaco anticanceroso seleccionado de etopósido, doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, bleomicina, y por referencia, doxil, gemcitabina, paclitaxel, cisplatino, carboplatino, 5-FU, BMN-673, carboplatino, erlotinib, cisplatino, carboplatino, fluorouracilo, o cetuximab, y con o sin radiación. La descripción describe, compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos que se usan junto con etopósido y cisplatino, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante). La descripción describe, compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos que se usan junto con paclitaxel y cisplatino, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante). La descripción describe, compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos que se usan junto con paclitaxel y carboplatino, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante). La descripción describe, compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos que se usan junto con cisplatino y 5-Fu, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante).

40 Los ejemplos específicos de cánceres para la terapia de combinación son los descritos anteriormente. En algunas realizaciones, la invención se usa para tratar el cáncer de pulmón (por ejemplo, el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de pulmón de células pequeñas en etapa extensiva (ED-SCLC)), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, leucemia mieloide aguda, mieloma, cáncer de esófago (por ejemplo, cáncer de unión gastroesofágica (GEJ) cáncer de ovarios, cáncer de colon, cáncer de faringe, cáncer de páncreas, fibroblasto pulmonar y cáncer gástrico. En algunas realizaciones específicas, la invención se usa para tratar el cáncer de pulmón (por ejemplo, el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de pulmón de células pequeñas en etapa extensiva (ED-SCLC)), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, leucemia mieloide aguda, mieloma, cáncer de la unión gastroesofágica (GEJ), cáncer de páncreas y cáncer de ovario.

50 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona co-terapia de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con terapia estándar (por ejemplo, doxorubicina, etopósido, paclitaxel, y/o carboplatino), con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), para tratar el cáncer de pulmón, tal como cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) o el cáncer de pulmón de célula pequeñas en etapa extensiva (ED-SCLC).

55 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona co-terapia de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con terapia estándar (por ejemplo, cisplatino, 5-FU, carboplatino, paclitaxel, y/o etopósido), con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), se emplea para el tratamiento del cáncer de unión gastroesofágica (GEJ).

60 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona co-terapia de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con terapia estándar (por ejemplo, doxorubicina y/o vincristina), con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), en leucemia mieloide aguda o en leucemia linfocítica crónica.

65 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona co-terapia de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con terapia estándar (por ejemplo, doxorubicina y/o epirubicina), con o sin radiación (por ejemplo,

radiación ionizante), en cáncer de mama, tal como el cáncer de mama triple negativo.

5 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona terapia de combinación de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con radiación (o radiación ionizante); cisplatino, etopósido, paclitaxel, doxorubicina o cetuximab, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); cisplatino y etopósido, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); o cisplatino y paclitaxel, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), para

10 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona terapia de combinación de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con radiación (por ejemplo, radiación ionizante); cisplatino con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); etopósido con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); carboplatino con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); 5-FU con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); cisplatino y paclitaxel, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); cisplatino y 5-FU, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); o carboplatino y paclitaxel, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), para cáncer de la unión gastroesofágica (GEJ).

15 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona terapia de combinación de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con doxorubicina o epirubicina, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), para el cáncer de mama, tal como el cáncer de mama triple negativo.

20 Otra realización proporciona los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos para su uso en el tratamiento de cáncer de mama junto con un agente platinante, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante). En algunas realizaciones, el cáncer de mama es cáncer de mama triple negativo. En otras realizaciones, el agente platinante es cisplatino.

25 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona terapia de combinación de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos junto con cetuximab, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); o cisplatino con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), para uso en el tratamiento de cáncer de faringe.

30 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona terapia de combinación de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos en combinación con: cisplatino con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); etopósido con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); cisplatino y 5-FU, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante); o paclitaxel con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante), para su uso en el tratamiento de fibroblasto pulmonar.

35 En algunas realizaciones específicas, la invención proporciona terapia de combinación de los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos en combinación con: radiación (por ejemplo, radiación ionizante); bleomicina, doxorubicina, o etopósido, y por referencia, cisplatino, carboplatino, paclitaxel o 5-FU, con o sin radiación (por ejemplo, radiación ionizante) para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón, tal como NSCLC, cáncer de páncreas, cáncer de esófago, y cáncer gástrico.

40 Otra realización proporciona un compuesto descrito en el presente documento en combinación con otro tratamiento conocido para el cáncer de páncreas para su uso en el tratamiento de cáncer de páncreas. Un aspecto de la invención incluye el uso de un compuesto descrito en el presente documento junto con gemcitabina.

45 La administración combinada en las terapias de combinación incluye la administración de la primera y la segunda cantidades de los compuestos/terapias y la co-administración y de manera esencialmente simultánea (tal como, en una sola composición farmacéutica, por ejemplo, una cápsula o un comprimido con una relación fija de la primera y la segunda cantidades, o en múltiples cápsulas o comprimidos separados para cada uno), o en forma secuencial, en cualquier orden.

50 Cuando la co-administración implica la administración separada de la primera cantidad de un compuesto de la invención y una segunda cantidad de un agente terapéutico/terapia adicional, se administran lo suficientemente cercanas para obtener el efecto terapéutico deseado. La invención también puede ponerse en práctica incluyendo otro agente quimioterapéutico anticanceroso en un régimen terapéutico para el tratamiento del cáncer, con o sin terapia de radiación. La combinación de un co-cristal o composición farmacéutica de la invención con otros agentes puede potenciar el protocolo quimioterapéutico. Por ejemplo, el compuesto inhibidor de la invención puede administrarse con etopósido, bleomicina, doxorubicina, epirubicina, daunorubicina o análogos de los mismos, agentes conocidos por romper las cadenas de ADN.

55 En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos usados junto con un agente que daña el ADN (por ejemplo, etopósido, radiación), y los compuestos de fórmula I y co-cristales de los mismos se administran después de la administración de la terapia que daña el ADN. Los ejemplos específicos de agentes que dañan el ADN se han descrito anteriormente.

65

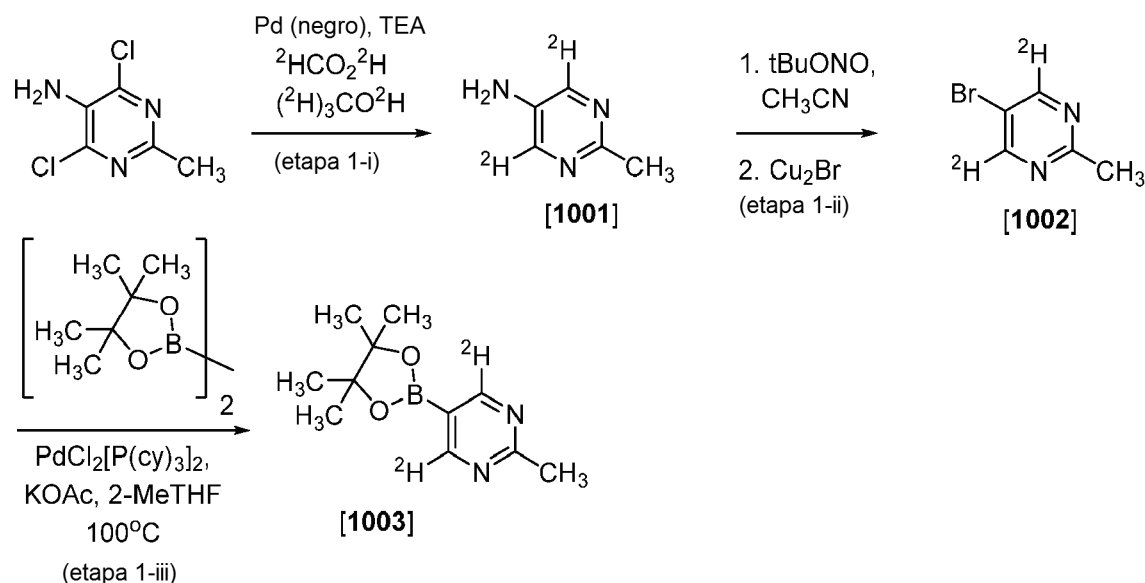
- En algunas realizaciones, el uno o más agentes o terapias contra el cáncer adicionales que se han mencionado anteriormente se emplean con el Compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el uno o más agentes o terapias contra el cáncer adicionales que se han mencionado anteriormente se emplean con el Compuesto (2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el uno o más agentes o terapias contra el cáncer que se han mencionado anteriormente se emplean con el co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1) (por ejemplo, 2:1 del Compuesto (1) con respecto al ácido adípico). En algunas realizaciones, el uno o más agentes o terapias contra el cáncer que se han mencionado anteriormente se emplean con el co-cristal adípico del Compuesto (2) (por ejemplo, 2:1 del Compuesto (2) con respecto al ácido adípico).
- En algunas realizaciones, el uno o más agentes o terapias contra el cáncer que se han mencionado anteriormente se emplean con las composiciones farmacéuticas de la invención descritas anteriormente.

A continuación se describen ejemplos de preparación y caracterización de co-cristales de esta invención, que pretenden ser solo ilustrativos y no limitativos de ninguna manera.

Ejemplo 1: Preparación de compuestos de la invención

Como se usan en el presente documento, todas las abreviaturas, los símbolos y las convenciones son consistentes con los usados en la bibliografía científica contemporánea. Véase, por ejemplo, Janet S. Dodd, ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2ª Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997. Las siguientes definiciones describen los términos y abreviaturas que se usan en el presente documento:

	BPin	pinacol boronato éster
	Salmuera	una solución saturada de NaCl en agua
25	DCM	diclorometano
	DIEA	diisopropiletilamina
	DMA	dimetilacetamida
	DME	dimetoxietano
	DMF	dimetilformamida
30	DMSO	metilsulfóxido
	EtDuPhos	(2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-1-[2-[(2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,5-dietilfosfolan-1-il]fenil]-2,5-dietilfosfolano
	ESMS	espectrometría de masas por electronebulización
	Et ₂ O	éter etílico
	EtOAc	acetato de etilo
35	EtOH	alcohol etílico
	HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
	IPA	isopropanol
	LC-MS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
	Me	metilo
40	MeOH	metanol
	MTBE	metil t-butil éter
	NMP	N-metilpirrolidina
	PdCl ₂ [P(cy) ₃] ₂	dicloro-bis(triciclohexilfosforanil)-paladio
	Ph	fenilo
45	TA o ta	temperatura ambiente
	TBME	terc-butilmetil éter
	tBu	butilo terciario
	THE	tetrahidrofurano
	TEA	triethylamina
50	TMEDA	tetrametiletildiamina

Ejemplo A. Preparación de 2-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidin-4,6-d2 (Compuesto 1003)

5

Como se muestra en la etapa 1-i del Esquema 1, a una solución de 4,6-dicloro-2-metil-pirimidin-5-amina (14,04 g, 78,88 mmol) agitada en metanol- d_4 (140,4 ml) se le añadieron ácido fórmico- d_2 (7,77 g, 161,7 mmol) y negro de Pd (765 mg, 7,19 mmol, humedecido en metanol- d_4), seguido de trietilamina (16,36 g, 22,53 ml, 161,7 mmol). La mezcla de reacción se cerró herméticamente en un tubo y se agitó a TA durante una noche. Después, la mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. Se añadió Et_2O (250 ml) y la mezcla se agitó durante 1 hora a TA. Los sólidos resultantes se filtraron y se lavaron con Et_2O (x 2). El filtrado se concentró a presión reducida para producir 4,6-dideutero-2-metil-pirimidin-5-amina (Compuesto **1001**, 5,65 g, rendimiento del 65%) en forma de un sólido de color amarillo claro: 1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 5,25 (s, 2H), 2,40 (s, 3H). Este compuesto se usó en etapas posteriores sin purificación adicional.

15

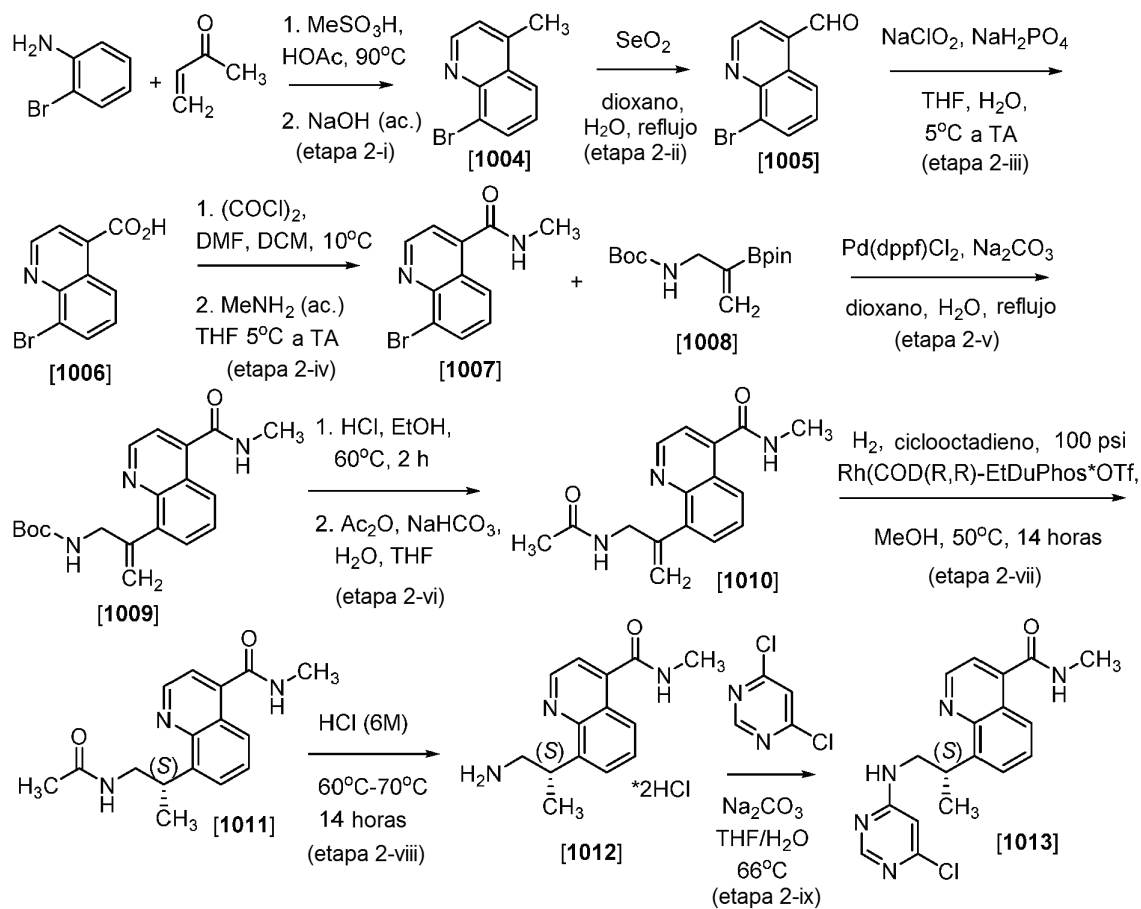
Como se muestra en la etapa 1-ii del Esquema 1, a 4,6-dideutero-2-metil-pirimidin-5-amina (5,35 g, 48,14 mmol) en CH_3CN (192,5 ml) se le añadió dibromocobre (16,13 g, 3,38 ml, 72,21 mmol) seguido de nitrito de t-butilo (8,274 g, 9,54 ml, 72,21 mmol). Después de 1 hora, la reacción se filtró a través de tierra de diatomeas con diclorometano. El filtrado se lavó con agua/salmuera (1:1), la capa orgánica se separó, la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x), y las capas orgánicas combinadas se filtraron a través de tierra de diatomeas y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice a media presión (EtOAc al 0-10%/hexanos) para producir 5-bromo-4,6-dideutero-2-metil-pirimidina (Compuesto **1002**, 4,1 g, rendimiento del 49%): 1H RMN (300 MHz, metanol- d_4) δ 2,64 (s, 3H).

25

Como se muestra en la etapa 1-iii del Esquema 1, a la mezcla de 5-bromo-4,6-dideutero-2-metil-pirimidina (8,5 g, 48,57 mmol), bis(pinacolato)diboro (13,57 g, 53,43 mmol) y KOAc (14,30 g, 145,7 mmol) en 2-metiltetrahidrofurano (102,0 ml) se desgasificó por lavado abundante con nitrógeno. A esto se le añadió dicloro-bis(triciclohexilfosforanil)-paladio ($PdCl_2[P(cy)_3]_2$, 1,01 g, 1,364 mmol) y la mezcla de reacción se agitó en un tubo cerrado herméticamente durante una noche a 100 °C. La mezcla se filtró y el filtrado se agitó con sílice Silabond® DMT (SiliCicle, Inc., 0,58 mmol/g, 3,53 g) durante 1 hora. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida para producir 2-metil-4,6-dideutero-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidina (Compuesto **1003**, 13,6 g, 72% de pureza, siendo el contaminante principal pinacol) en forma de un aceite de color amarillo claro: 1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 2,75 (s, 3H), 1,30 (s, 12H). Este compuesto se usó en etapas posteriores sin purificación adicional.

35

Ejemplo B. Preparación de (S)-8-(1-((6-cloropirimidin-4-il)amino)propan-2-il)-N-metilquinolin-4-carboxamida (Compuesto 1013)



Esquema 2

5

Como se muestra en la etapa 2-i del Esquema 2, la 2-bromoanilina (520 g, 3,02 mol) se fundió a 50°C en una estufa, y después se añadió a un recipiente de reacción que contenía ácido acético en agitación (3,12 l). Después, se añadió ácido metanosulfónico (871,6 g, 588,5 ml, 9,07 mol) durante 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó a 60°C y se añadió metil vinil cetona (377 ml, 1,5 equiv.) durante 5 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 90°C . Después de este tiempo, se añadieron 50 ml más (0,2 equiv.) de metil vinil cetona y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas más. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió con un baño de hielo-agua y se vertió en porciones en una solución en agitación de NaOH ac. al 50% p/p (3,894 l, 73,76 mol) y hielo (1 kg) también enfriada con un baño de hielo-agua. Se añadió más cantidad de hielo según se requirió durante la adición para mantener la temperatura de reacción por debajo de 25°C . Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción (pH >10) se agitó durante 30 minutos mientras se enfriaba en un baño de hielo/agua. Un precipitado formado que se recogió por filtración, se lavó con agua (2 l x 3), y se disolvió en DCM (4 l). Los extractos orgánicos se lavaron con agua (2 l) y la fase acuosa se extrajo de nuevo con DCM (1 l). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron a través de una capa de gel de sílice (aproximadamente 2 l), eluyendo con DCM y después EtOAc al 3%/DCM hasta que todo el producto llegó a través del tapón. Los volátiles del filtrado se retiraron a presión reducida y el residuo se trituró con hexanos (aproximadamente 500 ml). El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con hexanos (4 x 500 ml), y se secó al vacío para producir 8-bromo-4-metilquinolina (Compuesto **1004**, 363 g, rendimiento del 54%) en forma de un sólido de color castaño claro: LC-MS = 222,17 (M+H); RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8,91 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 8,06 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,99 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,42 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,30 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 2,73 (s, 3H).

25

Como se muestra en la etapa 2-ii del Esquema 2, se recogió dióxido de selenio (764,7 g, 6,754 mol) en 3,25 l de dioxano y 500 ml de agua. La solución agitada se calentó a 77°C y se añadió en una porción 8-bromo-4-metilquinolina (compuesto **1004**, 500 g, 2,251 mol). La mezcla de reacción se agitó a la temperatura de reflujo durante 30 minutos y después se enfrió con un baño de agua a aproximadamente 45°C , temperatura a la que se observó un precipitado. La suspensión se filtró a través de tierra de diatomeas que posteriormente se lavó con el THF caliente para disolver cualquier sólido residual. El filtrado se concentró hasta un volumen mínimo a presión reducida y se añadió NaOH 2 M (2,81 l, 5,63 mol) para conseguir un pH de 8 a 9. La mezcla de reacción se agitó a este pH durante 30 minutos. Se produjo un precipitado que se recogió por filtración y se secó al aire durante una noche para producir 8-bromoquinolin-

30

4-carbaldehído (compuesto **1005**) en forma de un sólido de color amarillento: MS = 236,16 (M+H); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 10,52 (s, 1H), 9,34 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 9,05 (dd, J = 8,5; 1,2 Hz, 1H), 8,18 (dd, J = 7,5, 1,3 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,60 (dd, J = 8,5, 7,5 Hz, 1H). Este material se usó tal cual en reacciones posteriores.

5 Como se muestra en la etapa 2-iii del Esquema 2, a una suspensión agitada de 8-bromoquinolin-4-carbaldehído (531,4 g, 2,25 mol) en THF (4,8 l) se le añadieron agua (4,8 l) y fosfato monosódico (491,1 g, 4,05 mol). La mezcla se enfrió a 5 °C y, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de 15 °C, se añadió lentamente en porciones clorito sódico (534,4 g, 4,727 mol) en forma de un sólido durante aproximadamente 1 hora. Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 1 hora seguido de la adición en porciones de Na₂S₂O₃ 1 N (1,18 l) mientras se mantuvo la temperatura por debajo de 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA seguido de la eliminación del THF a presión reducida. La solución acuosa resultante que contenía un precipitado se trató con NaHCO₃ sat. (aproximadamente 1 l) hasta que se consiguió un pH de 3 a 4. Esta mezcla se agitó durante 15 minutos más y el sólido se recogió por filtración, se lavó con agua (2 x 1 l), se lavó con *terc*-butil metil éter (2 x 500 ml), y se secó en un horno de convección a 60 °C durante 48 horas. Un secado adicional a alto vacío proporcionó ácido 8-bromoquinolin-4-carboxílico (compuesto **1006**, 530,7 g, rendimiento del 94% del compuesto **1004**) en forma de un sólido de color amarillento castaño: LC-MS = 252,34 (M+H); ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 14,09 (s, 1H), 9,16 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,71 (dd, J = 8,6; 1,2 Hz, 1H), 8,25 (dd, J = 7,5; 1,2 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,64 (dd, J = 8,6, 7,5 Hz, 1H).

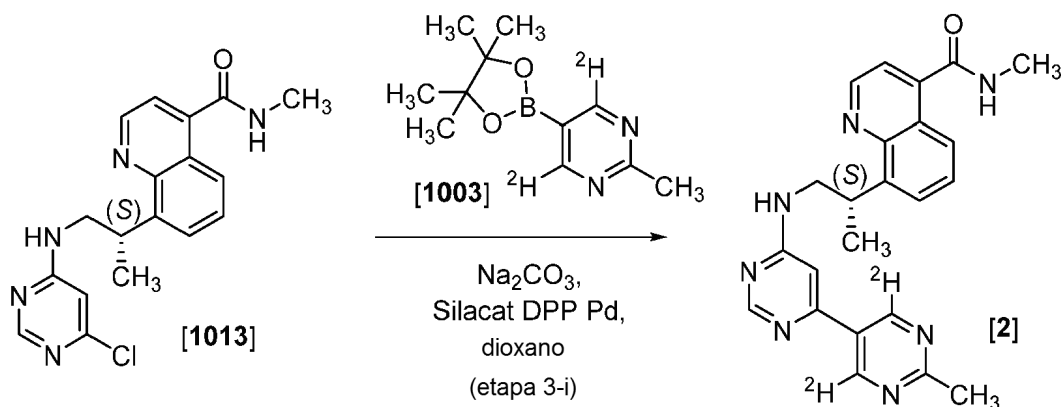
20 Como se muestra en la etapa 2-iv del Esquema 2, a una suspensión de ácido 8-bromoquinolin-4-carboxílico (compuesto **1006**, 779,4 g, 3,092 mol) en DCM (11,7 l) se le añadió DMF anhidra (7,182 ml, 92,76 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 10 °C y se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (413 ml, 4,638 mol) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos más después de la finalización de la adición, se transfirió a un matraz de evaporación, y los volátiles se eliminaron a presión reducida. Se añadió THF anhidro (2 l) y los volátiles se eliminaron una vez más a presión reducida para eliminar cualquier cloruro de oxalilo residual. Se añadió THF anhidro al residuo en una atmósfera de nitrógeno y la suspensión resultante del cloruro del ácido 8-bromoquinolin-4-carboxílico intermedio se almacenó para su uso posterior. Por separado, el matraz de reacción original se lavó abundantemente vigorosamente con gas nitrógeno para eliminar cualquier cloruro de oxalilo residual y el matraz se cargó con THF seco (1,16 l). Después de enfriar a 5 °C, se añadió metil amina acuosa (2,14 l del 40% p/p de MeNH₂/agua, 24,74 mol) seguido de la adición de THF adicional (1,16 l). A esta solución se le añadió en porciones durante 1 hora la suspensión de cloruro de ácido intermedia, manteniendo la temperatura de la mezcla de reacción por debajo de 20 °C durante la adición. El recipiente de evaporación usado para almacenar el cloruro de ácido se aclaró con THF anhidro y MeNH₂ acuoso (500 ml) y éste se añadió a la mezcla de reacción, que se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante 16 horas. Los volátiles orgánicos se eliminaron a presión reducida y la suspensión restante en su mayor parte acuosa se diluyó con agua (1,5 l). Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua hasta que el filtrado tuvo un pH de menos de 11, se lavó con MTBE (2 x 800 ml), y se secó en un horno de convección a 60 °C para proporcionar 8-bromo-*N*-metil-quinolin-4-carboxamida (Compuesto **1007**, 740,4 g, rendimiento del 90%) en forma de un sólido de color pardo claro: LC-MS = 265,04 (M+H); ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9,08 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 8,78 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 8,21 (dd, J = 7,5, 1,2 Hz, 1H), 8,16 (dd, J = 8,5, 1,3 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,58 (dd, J = 8,5, 7,5 Hz, 1H), 2,88 (d, J = 4,6 Hz, 3H).

Como se muestra en la etapa 2-v del Esquema 2, se combinaron 8-bromo-*N*-metil-quinolin-4-carboxamida (Compuesto **1007**, 722 g, 2,723 mol) y *N*-[2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)alil]carbamato de *terc*-butilo (Compuesto **1008**, 925,4 g, 3,268 mol) en un matraz de reacción. Se añadió Na₂CO₃ (577,2 g, 5,446 mol) seguido de la adición de agua (2,17 l). Se agitó la mezcla durante 5 minutos, se añadió 1,4-dioxano (5,78 l), y la mezcla se desoxigenó por burbujeo en una corriente de gas nitrógeno durante 30 minutos. Se añadió Pd(dppf) Cl₂/DCM (44,47 g, 54,46 mmol) y la desoxigenación continuó como anteriormente durante 30 minutos más. La mezcla de reacción se agitó a la temperatura de reflujo durante 16 horas, se dejó enfriar a 70 °C, y se añadió agua (5,42 l). La mezcla se enfrió adicionalmente con un baño de hielo-agua y la agitación continuó a <10 °C durante 2 horas. Se produjo un precipitado que se recogió por filtración, se lavó con agua (3 x 1 l), y se lavó con TBME (2 x 1 l). La torta de precipitado resultante se dividió en dos porciones iguales. Cada porción se disolvió en THF/DCM (4 l) y se vertió sobre un lecho de Florisil® (embudo de filtración de 3 l con aproximadamente 1,5 l de Florisil, usando DCM para humedecer el tapón). El tapón se lavó posteriormente con MeTHF hasta que se determinó por análisis de cromatografía de capa fina que no dejó ningún producto en el filtrado. Los filtrados de ambas porciones de torta se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar un sólido de color naranja. Se añadió TBME (1 l) y la suspensión resultante se filtró. El sólido recogido se lavó con 800 ml de TBME y se secó a alto vacío durante una noche para proporcionar (2-(4-(metilcarbamoil)quinolin-8-il)alil)carbamato de *terc*-butilo (Compuesto **1009**, 653 g, rendimiento del 70%) en forma de un sólido de color blanquecino: LC-MS = 342,31 (M+H); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,93 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 8,17 (dd, J = 8,4, 1,6 Hz, 1H), 7,68 - 7,53 (m, 2H), 7,41 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 5,28 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 4,33 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,11 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 1,38 (s, 9H). Se obtuvo un producto adicional (34,9 g, rendimiento total del 74%) concentrando el filtrado a presión reducida, disolviendo el residuo en THF, filtrando la solución a través de un lecho de Florisil® como anteriormente, lavando el tapón con MeTHF, concentrando el filtrado a presión reducida, añadiendo 250 ml de TBME, agitando durante 0,5 horas, recogiendo el precipitado resultante por filtración, lavando el sólido con EtOAc (40 ml), acetonitrilo (50 ml), y secando el sólido a alto vacío durante una noche.

65 Como se muestra en la etapa 2-vi del Esquema 2, a una suspensión en agitación de (2-(4-(metilcarbamoil)quinolin-8-

- il)alil]carbamato de *tert*-butilo (Compuesto **1009**, 425 g, 1,245 mol) en EtOH (4,25 l) se le añadió HCl 5,5 M en *i*PrOH (1,132 l, 6,225 mol). La mezcla de reacción se agitó a la temperatura de reflujo (76° C de temp. interna) durante 30 minutos y después durante 90 minutos, mientras se dejó enfriar a 40 °C. Se añadió EtOAc (2,1 l) y la mezcla se agitó durante 2 horas más. El sólido se recogió por filtración, se lavó con EtOAc, y se secó a alto vacío para proporcionar
- 5 8-(3-acetamidoprop-1-en-2-il)-*N*-metilquinolin-4-carboxamida (Compuesto **1010**, 357,9 g, rendimiento del 91%) en forma de un sólido de color castaño: LC-MS = 242,12 (M+H); ¹H RMN (300 MHz, metanol-*d*₄) δ 9,07 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 8,27 (dd, *J* = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,89 (dd, *J* = 7,2, 1,5 Hz, 1H), 7,81 - 7,72 (m, 2H), 5,85 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 4,05 (s, 2H), 3,04 (s, 3H).
- 10 Como se muestra en la etapa 2-vii del Esquema 2, en una atmósfera de nitrógeno, 8-(3-acetamidoprop-1-en-2-il)-*N*-metilquinolin-4-carboxamida (12,4 g, 43,77 mmol) y cicloocta-1,5-dieno/(2*R*,5*R*)-1-[2-[(2*R*,5*R*)-2,5-dietilfosfolan-1-il]fenil]-2,5-dietil-fosfolano: catión de rodio (+1) - trifluorometanosulfonato (Rh(COD)(*R,R*)-Et-DuPhos-OTf, 316,3 mg, 0,4377 mmol) en metanol (372,0 ml) se combinaron y se calentaron a 35-40 °C hasta que los sólidos se solubilizaron. La mezcla de reacción se puso en un aparato de hidrogenación, la atmósfera se reemplazó con hidrógeno, y la mezcla
- 15 se agitó en 100 p.s.i. de hidrógeno a 50 °C durante 14 horas. Después de enfriar a TA, la mezcla se filtró a través de un lecho de Florisil®, que posteriormente se lavó con MeOH (2 x 50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y cualquier agua traza se eliminó a través de un azeótropo de DCM a presión reducida. El residuo se trituró con DCM al 20% en MTBE (2 x 100 ml) para proporcionar (S)-8-(1-acetamidopropan-2-il)-*N*-metilquinolin-4-carboxamida (Compuesto **1011**, 11,0 g, rendimiento del 88%, 96% de e.e.) en forma de un sólido de color blanquecino: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,97 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 8,67 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 7,97 (dd, *J* = 8,1; 1,5 Hz, 1H), 7,88 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 7,73-7,54 (m, 2H), 7,52 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 4,31 (dd, *J* = 14,3; 7,1 Hz, 1H), 3,55 - 3,32 (m, 3H), 2,86 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 1,76 (s, 3H), 1,28 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H). El exceso enantiomérico (e.e.) se determinó por HPLC quirál (ChiralPac IC, 0,46 cm x 25 cm), caudal 1,0 ml/min durante 20 min a 30 °C (20:30:50 de metanol/etanol/hexanos y dietilamina al 0,1%) con un tiempo de retención para el enantiómero (*R*) de 5,0 min, y para el enantiómero (*S*) de
- 20 6,7 min.
- 25 Como se muestra en la etapa 2-viii del Esquema 2, se calentó (S)-8-(1-acetamidopropan-2-il)-*N*-metilquinolin-4-carboxamida (11,0 g, 38,55 mmol) en HCl acuoso 6 M (192,7 ml, 1,156 mol) a 60° C. Después de agitar durante 2 días a esta temperatura, la mezcla de reacción se enfrió y se añadieron 20 ml más de HCl 6 M. La agitación se continuó durante 2 días más a 70° C. La mezcla de reacción se enfrió con un baño de hielo y el pH se ajustó a aproximadamente
- 30 11 con NaOH 6 M (ac.). La mezcla acuosa se extrajo con MeOH al 5%/DCM y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (60 ml) y salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto en bruto en forma de un sólido de color castaño. Este sólido se suspendió en EtOAc (200 ml), se enfrió a 3 °C con un baño de hielo, y se añadió en porciones HCl 6 M/*i*-PrOH (30 ml) para producir un precipitado de color blanco que se recogió por filtración. El sólido se lavó con EtOAc (100 ml) y se secó a alto vacío para proporcionar (S)-8-(1-aminopropan-2-il)-*N*-metilquinolin-4-carboxamida, diclorhidrato [Compuesto **1012**, 7,8 g, rendimiento del 61 %, 95% de pureza (5% del compuesto **1011**)] en forma de un sólido de color blanco. Este material se usó tal cual en reacciones posteriores.
- 35
- 40 Como se muestra en la etapa 2-ix del Esquema 2, se recogió 8-[(1*S*)-2-amino-1-metil-etil]-*N*-metil-quinolin-4-carboxamida, clorhidrato (compuesto **1012**, 24,0 g, 72,86 mmol) en THF (230 ml) y agua (40 ml) y se agitó durante 5 minutos. Se añadió carbonato sódico (15,44 g, 145,7 mmol) en 100 ml de agua y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos. Se añadió 4,6-dicloropirimidina (12,18 g, 80,15 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo a 66° C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a TA, se diluyó con 200 ml de EtOAc, la capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con 100 ml de EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua
- 45 (60 ml) y salmuera (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron a través de un lecho de gel de sílice (100 g), y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se trituró con DCM al 20% en MBTE (200 ml) y después MBTE (200 ml) para producir (S)-8-(1-((6-cloropirimidin-4-il)amino)propan-2-il)-*N*-metilquinolin-4-carboxamida (Compuesto **1013**, 23,15 g, rendimiento del 88%) en forma de un sólido de color blanco: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, 70 °C) δ 8,97 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,66-7,55 (m, 1H), 7,52 (d, *J* = 4,2 Hz, 2H), 6,63 (s, 1H), 4,46 (dd, *J* = 14,1; 7,1 Hz, 1H), 3,67 (s, 2H), 2,90 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 1,40 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H); [α]_D²⁴ = 44,77 (c = 1,14, MeOH).
- 50

Ejemplo C. Preparación de (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il-4',6'-d₂)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida (Compuesto 2)



Esquema 3

5

Como se muestra en la etapa 3-i del Esquema 3, (S)-8-(1-((6-cloropirimidin-4-il)amino)propan-2-il)-N-metilquinolin-4-carboxamida (Compuesto **1013**, 2,542 g, 7,146 mmol), 2-metil-4,6-dideutero-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidina (Compuesto **1003**, 2,204 g, 7,146 mmol, 72% en peso), Na₂CO₃ (10,72 ml de 2 M (ac.), 21,44 mmol), y Silacat® DPP Pd (SiliCicle, Inc., 1,429 g, 0,3573 mmol) se recogieron en dioxano (30,00 ml), la solución se lavó abundantemente con gas nitrógeno durante 5 min, y la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 16 horas. La mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas, se concentró a presión reducida, se disolvió en DMSO, y se purificó por cromatografía de fase inversa (CH₃CN al 10-40%/H₂O, TFA al 0,1%). Las fracciones de producto se combinaron y se añadieron DCM y MeOH, seguido de la adición de NaOH 1 N hasta que se obtuvo un pH de más de 7. La solución de producto se extrajo DCM (2 x) y los extractos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para producir (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida (Compuesto **2**, 181 mg, rendimiento del 28 %) en forma de un sólido de color blanquecino: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆, 70 °C) δ 8,95 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,01 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,59 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 4,51 (h, J = 7,2 Hz, 1H), 3,78 (m, 2H), 2,88 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 2,68 (s, 3H), 1,41 (d, J = 7,0 Hz, 3H). Cuando se usó 2-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidina en esta reacción en lugar del Compuesto deuterado **1003**, se produjo el Compuesto **1**: LCMS = 414,40 (M+H); ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆, 70 °C) δ 9,14 (s, 2H), 8,95 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,34 (s a, 1H), 8,02 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,59 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,28 (s a, 1H), 7,04 (s, 1H), 4,52 (h, J = 7,0 Hz, 1H), 3,83 - 3,66 (m, 2H), 2,88 (d, J = 4,4 Hz, 3H), 2,68 (s, 3H), 1,42 (d, J = 6,9 Hz, 3H).

25

Ejemplo 2: Procedimiento general para la formación de co-cristales de un compuesto de fórmula I y un CCF seleccionado de ácido adípico, y por referencia, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico o ácido benzoico

En general, los co-cristales de la invención se pueden preparar mediante cristalización en suspensión o cristalización por HME.

En un ejemplo específico, el Compuesto **1** o el Compuesto **2** se pesaron en viales y se mezclaron con un CCF en una relación de aproximada 1:1,2, respectivamente, y se agitaron en un disolvente adecuado durante 2 semanas. Al final de este tiempo, el análisis XRPD mostró nuevos patrones cristalinos. En la Tabla 1 se resumen las relaciones y concentraciones del compuesto para la formación de co-cristales del Compuesto **1**.

35

Tabla 1

Confórmero	Peso de CCF (mg)	Peso del Compuesto 1 (mg)	Disolvente	Volumen (μl)
ácido adípico	6,12	14,0	CH ₃ CN	500
ácido succínico	5,45	14,9	CH ₃ CN	500
ácido maleico	5,14	15,0	EtOAc	500
ácido fumárico	5,33	15,0	CH ₃ CN	500
ácido cítrico	7,45	12,8	EtOAc	500
ácido benzoico	5,25	14,8	agua	500

40

Ejemplo 3: Preparación de los Compuestos 1 y 2/co-cristal de ácido adípico

En un recipiente revestido de 1 litro (con agitador vertical) se cargó con el Compuesto 1 (36,04 g, 0,087 mol, 1,000 equiv.), ácido adípico (16,65 g, 0,114 mol, 2,614 equiv.), 1-propanol (321,00 g, 5,342 mol, 122,564 equiv.) y la suspensión se agitó a 750 rpm. Se añadió una semilla del co-cristal (semilla de co-cristal al 0,5%) y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C. La formación de co-cristal se controló eliminando las alícuotas y por análisis por espectroscopía de Raman. Después de 114 horas, se determinó que la formación del co-cristal se había completado. La suspensión se filtró usando un embudo sinterizado de porosidad media de 600 ml hasta que el nivel de disolvente estuvo igualado con la torta húmeda. Las aguas madre se aislaron, se marcaron y se analizó para determinar el contenido. Después, la torta húmeda se lavó con 1-propanol (270,0 ml, 7,49 vol.). Los sólidos de torta húmeda se pesaron y se secaron en un horno de vacío a 50 °C. El rendimiento final del Compuesto 1/co-cristal de ácido adípico fue de 21,7 g. Un procedimiento similar también produjo un co-cristal del Compuesto 1 y ácido adípico. Los análisis por HPLC indicaron una estequiometría de aproximadamente 2:1 para el Compuesto 1 o el Compuesto 2 con respecto a ácido adípico.

Como alternativa, los co-cristales de ácido adípico del Compuesto (1) también se prepararon con cristalización por HME. Se realizó la prueba de concepto de la cristalización por HME en una escala de 20 g en una extrusora de 16 mm. La forma libre del Compuesto (1) y el ácido adípico puro se extruyeron con mezcla de alta cizalladura y temperaturas elevadas (por ejemplo, 144 °C o 155°) para general el co-cristal.

Algunas propiedades físicas del Compuesto (2) de base libre y su co-cristal adípico se resumen en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Propiedades del material de la base libre y el co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2)

Evaluación del material	Forma libre	Co-cristal de ácido adípico Proceso de cristalización del disolvente (80% del Comp. 2:20% del AA) (p/p)	Co-cristal de ácido adípico (80% del Comp. 2:20% del AA) (p/p) Proceso de extrusión de fusión en caliente	Co-cristal de ácido adípico (75 % del Comp. 2:25% del AA) (p/p) Proceso de extrusión de fusión en caliente
Densidad Aparente	0,33 g/cc	0,14 g/cc	0,43 g/cc	0,62 g/cc
Densidad compactada	0,47 g/cc	0,25 g/cc	0,60 g/cc	0,70 g/cc

Ejemplo 4: Caracterización de difracción de polvo de rayos X

Los espectros XRPD para los co-cristales de la invención (véanse las Figuras 1-7) se registraron a temperatura ambiente en modo por reflexión utilizando un difractómetro Bruker D8 Advance equipado con una fuente de Cu de tubo sellado y un detector PSD Vantec (Bruker AXS, Madison, WI). El generador de rayos X funcionaba a una tensión de 40 kV y una corriente de 40 mA. La muestra de polvo se colocó en un soporte de silicona o PMM. Los datos se registraron en el intervalo de 4°-45° 2 theta con un tamaño de etapa de 0,0140° y un tiempo de toma de muestras de 1 s por etapa. Se utilizaron aperturas de divergencia de 0,2 mm.

El patrón XRPD para co-cristales de Forma A y Forma B de la invención (véanse las Figuras 14 y 15) se registraron a temperatura ambiente en modo por reflexión utilizando un difractómetro PANanalytical Empyrean equipado con una fuente de Cu de tubo sellado y un detector PIXCel ID. El generador de rayos X funcionaba a una tensión de 45 kV y una corriente de 40 mA. La muestra de polvo se colocó en un soporte de transmisión y se mantuvo en su lugar con películas finas Mylar. Los datos se registraron en el intervalo de 4°-40° 2-theta con un tamaño de etapa de 0,007° y un tiempo de toma de muestras de 1549 s por etapa. El difractómetro se configuró con aperturas Solar de 0,02°, aperturas antidifusoras fijas de 1/2° en el haz incidente y aperturas antidifusoras de 1/4° en el lado difractado. Se acumularon dos exploraciones.

La Figura 1 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) del co-cristal formado entre el Compuesto 1 con ácido adípico. El patrón XRPD indica que el co-cristal se encuentra en una mezcla de las Formas A y B. Algunos picos específicos de XRPD del espectro se resumen a continuación.

Tabla 3.

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	6,540282	61,33
2	7,858682	60,04
3	11,92977	52,67
4	12,2278	23,87
5	13,03317	29,49

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
6	14,22935	100
7	18,75679	59,81
8	19,0885	36,36

La Figura 2 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 2 con ácido adípico. Algunos picos específicos de XRPD del patrón se resumen a continuación.

5 **Tabla 4.**

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	6,459033	55,29
2	7,911365	51,42
3	11,91567	45,41
4	12,25639	24,61
5	12,98715	34,47
6	14,19256	100
7	18,67692	38,85
8	19,06727	28,68

La Figura de referencia 3 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 con ácido cítrico. Algunos picos específicos de XRPD del patrón se resumen a continuación.

10 **Tabla 5.**

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	7,435926	50,1
2	8,291282	19,41
3	11,35154	21,73
4	13,26446	100
5	15,49248	47,42
6	21,55281	20,72
7	23,57031	30,18

La Figura de referencia 4 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido fumárico. Algunos picos específicos de XRPD del patrón se resumen a continuación.

15 **Tabla 6.**

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	8,264997	97,26
2	10,1077	23,4
3	14,97012	35,06
4	16,60917	41,79
5	17,21781	100
6	25,1975	67,75
7	26,01104	24,39

La Figura de referencia 5 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido maleico. Algunos picos específicos de XRPD del patrón se resumen a continuación.

20 **Tabla 7.**

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	6,205335	15,27
2	10,43158	20,84
3	11,28478	40,95
4	12,41363	34,13
5	13,26101	19
6	18,86924	43,52
7	21,08017	31,35

La Figura de referencia 6 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido succínico. Algunos picos específicos de XRPD del patrón se resumen a continuación.

Tabla 8.

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	8,01725	26,29
2	12,33839	42,72
3	14,77709	37,21
4	17,31539	12,09
5	19,56132	13,66
6	20,05503	100

5 La Figura de referencia 7 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X del co-cristal formado entre el Compuesto 1 y ácido benzoico. Algunos picos específicos de XRPD del patrón se resumen a continuación.

Tabla 9.

N.º	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
1	8,699594	88,63
2	13,90495	68,65
3	15,6186	80,96
4	17,6481	100
5	18,15049	41,75
6	20,76838	39
7	24,72293	67,36

10 **Ejemplo 5: Análisis termogravimétrico**

Los análisis termogravimétricos (TGA) se realizaron con un analizador termogravimétrico TA Instruments modelo Q5000. Se pusieron aproximadamente 1-4 mg de muestra sólida en una bandeja de muestras de platino y se calentó en una corriente de nitrógeno de 90 ml/min a 10 °C/min hasta 300 °C. Todos los termogramas se analizaron utilizando el software TA Instruments Universal Analysis 2000 V4.4A.

Las curvas del análisis termogravimétrico para los co-cristales del Compuesto (1) y ácido adípico y para los co-cristales del Compuesto (2) y ácido adípico se muestran en las Figuras 8 y 9, respectivamente. Las figuras muestran una pérdida de ácido adípico a partir de aproximadamente 150 °C en ambos co-cristales.

Ejemplo 6: Calorimetría de exploración diferencial

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó en un analizador calorimétrico TA Instruments modelo Q2000. Se pusieron aproximadamente 1-4 mg de muestra sólida en una bandeja de muestreo de aluminio con orificios y se calentó en una corriente de nitrógeno de 50 ml/min a 10°C/min hasta 300 °C. Todos los datos se analizaron utilizando el software TA Instruments Universal Analysis 2000 V4.4A.

Los termogramas representativos de la calorimetría diferencial de barrido se muestran en la Figura 10 y en la Figura 11 para los co-cristales del Compuesto (1) y ácido adípico y para los co-cristales del Compuesto (2) y ácido adípico, respectivamente.

Ejemplo 7: Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de estado sólido

Los espectros de RMN de estado sólido (ss-NMR) se obtuvieron a partir del espectrómetro de calibre ancho Bruker-Biospin 400 MHz Advance III equipado con una sonda Bruker-Biospin 4 mm HFX. Aproximadamente 70 mg de cada muestra se envasaron en rotores Bruker-Biospin 4 mm ZrO₂ a volumen completo. En general se aplicó una velocidad de rotación de ángulo mágico (MAS) de 12,5 kHz. La temperatura establecida para la cabeza de la sonda se ajustó a 275°K para minimizar el efecto del calentamiento por fricción durante la rotación. En todos los experimentos se usó un retraso de relajación de 30 s. El tiempo de contacto CP del experimento ¹³C CPMAS se ajustó a 2 ms. Se empleó un pulso de protón CP con rampa lineal (del 50% al 100%). El acoplamiento Hartmann-Hahn se optimizó en la muestra de referencia externa (glicina). El desacoplamiento SPINAL 64 se utilizó con una intensidad de campo de aproximadamente 100 kHz. El desplazamiento químico se contrastó con el patrón externo de adamantano con su resonancia de campo superior ajustada a 29,5 ppm.

Después del lavado con disolvente, se usó ss-RMN para investigar los complejos de co-cristales del Compuesto 1 o

el Compuesto **2** con ácido adípico. Véanse las Figuras 12 y 13, respectivamente. La ausencia de picos característicos del Compuesto libre **1**, el Compuesto **2**, o el ácido adípico libre indicó un co-cristal puro.

Ejemplo de referencia 8: Preparación de las Formas A y B polimórficas de co-cristales de ácido adípico de los Compuestos (1) y (2)

A. Preparación de la forma A polimórfica del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1)

La Forma A polimórfica del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1) se puede obtener mediante la cristalización por fusión en caliente del Compuesto (1) y ácido adípico. A continuación se describe un ejemplo específico de la preparación de la Forma A mediante extrusión por fusión en caliente.

El ácido adípico se pasa por un molino de chorro utilizando un Jet-O-Mizer de energía fluida modelo 00 usando la siguiente configuración:

Parámetro	Presión [PSI]
Suministro de aire	100
Boquilla de molienda	60
Boquilla de empuje	80

El Compuesto (1) se cribó a través de un tamiz de malla #18. El Compuesto (1) y el ácido adípico procesado en el molino a chorro se pesaron para preparar mezclas binarias a aproximadamente el 80, 75 y 65 % peso:peso de Compuesto (1). Las mezclas iniciales se prepararon pasando a través de un tamiz #30 y posteriormente por mezcla en un mezclador tubular durante 5 minutos.

Las mezclas se extruyeron utilizando una extrusora Leistritz Nano 16 de husillo doble con tres zonas de temperatura y equipada con un émbolo alimentador. El diseño del husillo contenía elementos de transporte, bombeo y amasado a 30° y 60° grados. Todos los experimentos se realizaron sin un troquel instalado en la extrusora. La temperatura, la velocidad del husillo y la temperatura se establecieron como se indica en la Tabla a continuación. La temperatura se ajustó y se controló al mismo valor para los tres elementos de calentamiento. Durante la extrusión, el par se controló y se aumentó la velocidad de husillo cuando el husillo estuvo en riesgo de trabarse.

Parámetro	Ajuste
Velocidad de alimentación [ml/min]	1,5 3,75 5
Velocidad del husillo [rpm]	20 a 150
Temperatura [°C]	110 130 144 155

El patrón de XRPD de transmisión y el espectro de ¹³C RMN de la Forma A del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1) se muestran en las Figuras 14 y 16, respectivamente. Algunos picos observados en el espectro de ¹³C RMN se resumen a continuación.

Tabla 10.

Pico	Desplazamiento ± 0,1 [ppm]	Intensidad [% de máx]
1	117,1	47,6
2	96,8	28,2
3	95,7	26,2
4	27,6	48,1
5	14,8	32,7
6	161,6	36,5
7	154,5	33,4
8	51,5	24,7
9	50,2	24,3

Pico	Desplazamiento ± 0,1 [ppm]	Intensidad [% de máx]
10	25,6	99,2
11	18,5	33,7
12	179,4	54,4
13	168,4	55,9
14	158,3	83,5
15	147,8	46,5
16	145,7	27,9
17	143,2	44,1
18	141,8	43,2
19	124,6	100,0
20	31,2	31,7
21	30,1	35,2

B. Preparación de la forma A polimórfica del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2)

- 5 La Forma A del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) se preparó por suspensión de acetona. Se agitaron 322 mg de una mezcla del compuesto 2 de la Forma A y la Forma B:co-cristal de ácido adípico preparada como se ha descrito en el Ejemplo 3 y 221 mg de ácido adípico en 9,8 g de acetona de 20 a 30 °C durante 30 días. Aproximadamente 50 mg de sólidos se aislaron mediante centrifugado por filtro a través de un filtro de membrana de 0,45 µm usando un dispositivo de filtro centrífugo y se secaron al vacío de 20 a 30 °C durante aproximadamente 2 horas. Los espectros de RMN en estado sólido se recogieron como se ha descrito en el Ejemplo 7 excepto que la
- 10 cantidad de muestra fue de aproximadamente 50 mg y el retraso de relajación se ajustó a 5 s. El espectro de ¹³C de la Forma A del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) (véase la Figura 17) es esencialmente el mismo que el de la Forma A del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (1). Algunos picos observados en el espectro de ¹³C RMN se resumen a continuación.

15 **Tabla 11.**

Pico	Desplazamiento ± 0,1 [ppm]	Intensidad [% de máx]
1	116,9	48,3
2	96,6	27,4
3	95,6	23,9
4	27,5	45,6
5	14,7	36,7
6	161,4	32,9
7	153,9	15,9
8	51,3	22,5
9	49,9	22,2
10	25,4	100,0
11	18,3	35,8
12	179,2	55,6
13	168,2	49,5
14	158,2	48,2
15	147,6	46,0
16	145,5	27,1
17	143,1	45,7
18	141,6	44,6
19	124,4	91,9
20	31,0	30,9
21	29,9	33,4

C. Preparación de la forma B polimórfica del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2)

La Forma B polimórfica del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) puede obtenerse empleando secado por pulverización. A continuación se describe un ejemplo específico.

5 Una mezcla de disolvente para el secado por pulverización se preparó pesando 50 g de metanol y 117,5 g de diclorometano en una botella de vidrio y con agitación. 500 mg del Compuesto (2), 176,2 mg de ácido adípico y 19,3 g de la mezcla metanol-diclorometano se pesaron en un vial de vidrio transparente y se agitaron hasta que todos los sólidos se disolvieron. Esta solución se secó por pulverización usando un secador de pulverización Buchi mini B-290
10 usando la siguiente configuración:

Parámetro	Ajuste
Temp. de entrada	99 °C
Aspirador	100 %
Bomba	40 %
Condensador	-5 °C
Boquilla	1 mm
Atomizador	35 mm
Presión de filtro	-60 mbar

El material aislado recrystalizó completamente a temperatura ambiente para dar el Compuesto (2): Forma B del co-cristal de ácido adípico durante 2 meses.

15 El patrón de XRPD y el espectro de ^{13}C RMN de la Forma B del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) se muestran en las Figuras 15 y 18, respectivamente. Algunos picos observados en el espectro de ^{13}C RMN se resumen a continuación.

20 **Tabla 12.**

Pico	Desplazamiento $\pm 0,1$ [ppm]	Intensidad [% de máx]
1	117,9	42,2
2	97,3	25,6
3	94,0	19,6
4	26,7	64,6
5	15,7	32,7
6	161,7	45,0
7	153,8	14,5
8	50,7	37,0
9	25,3	84,7
10	18,8	31,8
11	179,1	61,6
12	168,3	54,1
13	158,1	67,2
14	147,2	31,5
15	142,4	44,9
16	124,5	100,0
17	32,3	30,7
18	30,1	31,2
19	125,8	70,3

Ejemplo 9: Diagrama de fase binaria del Compuesto (2)/co-cristal de ácido adípico

25 La Figura 18 es una representación de un diagrama de fase aproximada que coincide con los datos térmicos medidos
 T_{AA} : Temperatura de fusión de ácido adípico, temperatura de fusión T_{CoX} del Compuesto (2): co-cristal de ácido adípico,
 T_P : temperatura peritética, T_{CMPD2} : Temperatura de fusión del Compuesto (2), T_{E1} : Temperatura de fusión eutéctica,
punto peritético P, punto eutéctico E1, S_{AA} : Ácido adípico sólido, líquido L, S_{CoX} : Compuesto sólido (2):co-cristal de

ácido adípico, S_{CMPD2} : Compuesto sólido (2), $T_{\text{m-E}}$: temperatura de fusión eutéctica metaestable, m-E: punto eutéctico metaestable.

5 El diagrama de la fase binaria se exploró mediante calorimetría diferencial de barrido en las mezclas de Compuesto (2) y ácido adípico y mezclas de Compuesto (2): ácido adípico y co-cristal. La composición estequiométrica del co-cristal en % en p:p del Compuesto (2) se calculó a partir de la estequiometría molar. En la Figura 11 se indica un termograma de calorimetría diferencial de barrido representativo. El termograma del Compuesto (2):co-cristal de ácido adípico muestra una endotermia de fusión a $196\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, seguida de una exotermia de recristalización, seguida de una endotermia de disolución amplia. La fusión del Compuesto (2) se observa a $256\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ cuando el ácido adípico se deja descomponerse totalmente y evaporarse. El termograma de calorimetría diferencial de barrido depende de la composición, es decir, las fases sólidas que están presentes en el material, y se explica mediante el diagrama de fase binaria. Además, depende de otros detalles experimentales. Se observó una endotermia de fusión eutéctica cuando estaba presente un exceso de ácido adípico además del co-cristal a $138\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. El diagrama de fase binaria del Compuesto (2) y el ácido adípico coinciden con las curvas de la calorimetría diferencial de barrido en el compuesto 1: co-cristal de ácido adípico y el compuesto 1: ácido adípico, mezclas de ácido adípico; se da un ejemplo en la Figura 10.

Algunos puntos medidos del diagrama de fase en la Figura 19 se resumen a continuación:

20 **Tabla 13.**

Punto	Temperatura [$^{\circ}\text{C}$] ± 2	Composición [% p:p] compuesto 2
E1	$-T_{\text{E1}} = 138$	65 ± 5
P o E2	$T_{\text{P}} \text{ o } T_{\text{E2}} = 196$	No conocido
T_{AA}	153	0
T_{CMPD1}	256	100

Ejemplo 9. Análisis biofarmacéutico

25 La curva de solubilidad de pH para el Compuesto (2), Compuesto (2): co-cristal de ácido adípico, y Compuesto (2): co-cristal de ácido adípico en presencia de ácido adípico en exceso se calcularon a partir de los valores pK_a del Compuesto (2) y ácido adípico, Compuesto (2): co-cristal de ácido adípico valor K_{sp} , la constante de unión del Compuesto (2) y ácido adípico en tampón acuoso y la constante de auto-asociación del Compuesto (1) en tampón acuoso y la solubilidad de la forma libre del Compuesto (2). La solubilidad del co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) dependió del pH y de la concentración de exceso de ácido adípico. En general, a medida que aumentó la concentración de ácido adípico, la solubilidad aparente del co-cristal disminuyó. A pH bajo, la solubilidad del co-cristal fue inferior al Compuesto (2) de base libre, pero dentro del intervalo de pH del intestino delgado humano en ayunas, el co-cristal fue mucho más soluble que el Compuesto (2) en forma libre (o base libre), como se indica en la Figura 20. Las simulaciones de dosificaciones orales mostraron que los co-cristales de ácido adípico alcanzaron una absorción casi completa en dosis de hasta 1,5 g, y en dosis superiores a 800 mg el impacto negativo de ácido adípico en la solubilidad de los co-cristales disminuyó ligeramente la exposición (no se muestran los datos).

Ejemplo 10. Análisis de disolución

40 Se utilizaron experimentos de disolución de dos fases in vitro usando fluidos intestinales y gástricos simulados para evaluar y predecir los Compuestos (1) y (2) y sus co-cristales con ácido adípico con un rendimiento in vivo de ácido adípico. Más comúnmente, la absorción de fármacos puede tener lugar en el intestino superior y una alta solubilidad generalmente indica una alta biodisponibilidad in vivo después de añadir fluido intestinal simulado en experimentos de disolución de dos fases para fármacos con biodisponibilidad con solubilidad limitada. La Figura 21 muestra perfiles de disolución de dos fases para: i) Co-cristal de compuesto 1: ácido adípico preparado mediante extrusión por fusión en caliente y cristalización de suspensión; ii) HME 65:35: Compuesto 1: co-cristal de ácido adípico fabricado usando extrusión por fusión en caliente con el 65% p:p del Compuesto 1 y el 35% p:p de ácido adípico; iii) HME 75:25: Compuesto 1: co-cristal de ácido adípico fabricado usando extrusión por fusión en caliente con el 75 % p:p del Compuesto 1 y el 25 % p:p de ácido adípico; iv) HME 80:20: Compuesto 1: co-cristal de ácido adípico fabricado usando extrusión por fusión en caliente con el 80 % p:p del Compuesto 1 y el 20 % p:p de ácido adípico; v) SC 80:20: Co-cristal de Compuesto cristalizado 2: ácido adípico con el contenido del Compuesto final 2 del 79% p:p del Compuesto 2 y el 21% p:p ácido adípico; y vi) Forma libre: Forma libre del Compuesto 2. Como se muestra en la Figura 21, los datos de disolución de dos fases en el Compuesto 1:co-cristal de ácido adípico y el Compuesto 2: co-cristal de ácido adípico mostraron mayores concentraciones del Compuesto 1 y el Compuesto 2 que la forma libre del Compuesto 1 o el Compuesto 2, respectivamente. Además, la concentración del Compuesto 1 para el Compuesto 1: co-cristal de ácido adípico preparada por extrusión de fusión en caliente del Compuesto 1 y ácido adípico al 65% p:p y 35% p:p tuvo mejor rendimiento que el Compuesto cristalizado en suspensión 2: co-cristal de ácido adípico o el Compuesto 1: co-cristal de ácido adípico preparado por extrusión por fusión en caliente del Compuesto 1 y ácido adípico al 75% p:p

y 25% p:p y el Compuesto 1: co-cristal de ácido adípico preparado por extrusión por fusión en caliente del Compuesto c y ácido adípico al 80% p:p y 20% p:p, respectivamente. Sin quedar ligado a una teoría particular, esto probablemente se deba a la microestructura que se obtuvo a partir del sólido eutéctico.

- 5 Se realizaron experimentos de disolución de dos fases al menos por duplicado. El fluido gástrico simulado en estado de ayunas (FaSSGF) se equilibró durante 30 minutos en agitación a 37 °C en un vial de vidrio transparente de 100 ml usando un baño de agua con un recipiente revestido con temperatura controlada. Se añadieron el compuesto 1:co-cristal de ácido adípico y el compuesto 2:co-cristal de ácido adípico y la suspensión se agitó a aproximadamente 130 rpm y 37 °C, respectivamente. Se tomaron alícuotas (0,5 ml) cada 5, 15, 30 y 60 minutos. Los sólidos se separaron mediante centrifugación por filtrado utilizando unidades de filtro de centrifugación con una membrana de 0,45 µm y rotación a 5000 rpm durante 5 minutos en una centrifugadora Eppendorff Modelo 5418. El pH de las muestras de disolución se midió después del muestreo cada 15 y 60 minutos. Los sobrenadantes de las muestras filtradas se diluyeron 10 veces con diluyente para el análisis por HPLC. A los 65 minutos se añadió a la suspensión el fluido intestinal simulado en estado de ayunas FaSSIF equilibrado a 37 °C y la suspensión se siguió agitando a 130 rpm. Se tomaron las alícuotas (0,5 ml) en los puntos de tiempo de 75, 90, 120 y 180 minutos. Los sólidos se separaron mediante centrifugación por filtrado utilizando unidades de filtro de centrifugación con una membrana de 0,45 µm y rotación a 5000 rpm durante 5 minutos en una centrifugadora Eppendorff Modelo 5418. El pH de las muestras de disolución se midió después del muestreo cada 75, 90 y 180 minutos. Los sobrenadantes de las muestras filtradas se diluyeron 10 veces con diluyente para el análisis por HPLC. Las cantidades de material y los fluidos simulados que se utilizaron se resumen a continuación:

Material	Peso [mg]	Volumen FaSSGF	Volumen FaSSIF
HME 65:35	43,5, 44,5	10	16
HME 75:25	40,8, 40,3	10	16
HME 80:20	38,3, 38,1	10	16
SC 80:20	31,7, 32,0, 31,6	8	12
Forma libre	24,7, 25,1, 26,6	8	12

Las concentraciones de los Compuestos 1 y 2 se midieron usando el siguiente método de HPLC, respectivamente:

Columna	"Xterra Phenyl 4,6 x 50 mm, 5,0 µm"
Temperatura de la Columna	30 °C
Caudal	1,5 ml/min
Volumen del inyector	10 µl
Temperatura del auto-muestreador	25C
Tiempo de realización total	3,0 min
Longitud de onda del detector	240 nm
Solución de lavado de aguja	Metanol
Velocidad de muestreo	1 por muestra
Tiempo de adquisición de datos	3
Fase móvil A	TFA al 0,1% en Agua
Fase móvil B	TFA al 0,1% en Acetonitrilo
Gradiente	85% de Fase móvil A 15% de Fase móvil B

- 25 Se usaron preparaciones típicas de fluido simulado para los experimentos de disolución de dos fases: El FaSSIF se preparó añadiendo aproximadamente 1,80 g de gránulos de hidróxido de sodio, 2,45 g de anhídrido maleico, 6,37 g de cloruro de sodio, 1,61 g de taurocolato de sodio y 618,8 mg de lecitina con respecto a 800 ml de agua. La solución se agitó hasta que todos los materiales se disolvieron completamente. Después, se ajustó el pH a 6,5 utilizando HCl 1,0 N y una solución al 50% de NaOH mientras se agitaba la solución. Se añadió agua a un volumen final de 1 l. Se preparó FaSSGF añadiendo 50,0 ml de HCl 1,0 N, aproximadamente 1,0 g de pepsina "800-2500 U/mg", 43 mg de taurocolato sódico, 2,0 g de cloruro sódico (NaCl) con respecto 800 ml de agua. Se añadió agua a un volumen final de 1 l. El pH final fue típicamente 1-2.

35 **Ejemplo 12. Biodisponibilidad de los co-cristales de la invención**

- La biodisponibilidad oral del Compuesto 2:co-cristal de ácido adípico y la forma libre del Compuesto 2 en seres humanos se predijo basándose en las curvas de solubilidad de pH calculadas en la Figura 20 usando GastroPlus, versión 8.5.0002 Simulations Plus, Inc. Se usó una permeabilidad yeyunal de 1,67e-4 cm/s y un radio de partículas de 10 micrómetros. Todos los demás parámetros fueron los ajustes por defecto del software. Las simulaciones predicen el 100% de fracciones absorbidas para las dosis orales de hasta 1500 mg de Compuesto 2: co-cristal de ácido adípico y el Compuesto 2; co-cristal de ácido adípico con ácido adípico adicional presente mientras que la fracción oral del

Compuesto 2 absorbida disminuye abruptamente con dosis crecientes. Como se muestra en la Figura 22, las simulaciones indican que el compuesto 2: co-cristal de ácido adípico tiene una mayor biodisponibilidad oral cuando se lo compara con la forma libre del Compuesto 2 para dar suficiente exposición para los estudios de seguridad humana en dosis de hasta, pero sin limitación, 1500 mg, y puede dar como resultado mayores márgenes de seguridad para el Compuesto 2. Además, una mayor biodisponibilidad oral reducirá la dosis oral que se necesita para alcanzar niveles de sangre eficaces. Se esperan resultados similares para el Compuesto 1 basándose en la similitud en las propiedades físicas observadas en el Compuesto 1 y el Compuesto 2.

Ejemplo 13. Eficacia biológica del Compuesto 2/co-cristal de ácido adípico

Ejemplo A. Ensayo de inhibición de DNA-PK cinasa

El co-cristal de ácido adípico del Compuesto 2 se cribó para determinar su capacidad de inhibir DNA-PK cinasa usando un ensayo radiométrico estándar. Brevemente, en este ensayo de cinasa se interroga la transferencia del ³³P-fosfato terminal en ³³P-ATP a un sustrato peptídico. El ensayo se realizó en placas de 384 pocillos a un volumen final de 50 µl por pocillo con aproximadamente DNA-PK 6 nM, HEPES 50 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, NaCl 25 mM, BSA al 0,01%, DTT 1 mM, 10 µg/ml de ADN bicatenario cizallado (obtenido en Sigma), 0,8 mg/ml del péptido de DNA-PK (Glu-Pro-Pro-Leu-Ser-Gln-Glu-Ala-Phe-Ala-Asp-Leu-Trp-Lys-Lys-Lys, obtenido en American Peptide), y ATP 100 µM. Por consiguiente, los compuestos de la invención se disolvieron en DMSO para preparar soluciones madre iniciales de 10 mM. Después se hicieron las diluciones en serie en DMSO para obtener las soluciones finales del ensayo. Se añadió una alícuota de 0,75 µl de DMSO o inhibidor en DMSO a cada pocillo, seguido de la adición de una solución de sustrato ATP que contenía ³³P-ATP (obtenido en Perkin Elmer). La reacción se inició mediante la adición de DNA-PK, péptido y ADNds. Después de 45 min, la reacción se interrumpió con 25 µl de ácido fosfórico al 5 %. La mezcla de reacción se transfirió a placas de pH de 384 pocillos MultiScreen HTS (obtenidas en Millipore), se dejó unirse durante una hora, y se lavó tres veces con ácido fosfórico al 1%. Después de la adición de 50 µl de centellador Ultima Gold™ de alta eficacia (obtenido en Perkin Elmer), las mezclas se contaron en un contador de centelleo y luminiscencia Packard TopCount NXT Microplate (Packard BioScience). Los valores Ki usando macros de Microsoft Excel Solver para ajustar los datos al modelo cinético para la inhibición de unión estrecha competitiva. El co-cristal de ácido adípico del Compuesto (2) tenía una Ki de aproximadamente 2 nM.

Ejemplo B: Eficacia de los Compuestos (1) y (2) en combinación con IR de todo el cuerpo

Las eficacias *in vivo* de los compuestos (1) y (2) en combinación con el IR de todo el cuerpo se examinaron en los modelos de xenoinjerto de NSCLC primario OD26749 (cáncer de pulmón de células no pequeñas) y de la línea celular OE-19 GEJ. Los resultados se resumen en las Tablas 14 y 15. En estos estudios, los Compuestos (1) y (2) se formularon con captisol al 16%/PVP al 1%/HPMC E5 pH2 al 1%.

B. 1. Eficacia del Compuesto (1) en combinación con IR en el modelo de xenoinjerto de NSCLC OD26749

La eficacia *in vivo* del Compuesto (1) se evaluó en el modelo de xenoinjerto subcutáneo de NSCLC OD26749 primario. El Compuesto (1) administrado a 100 mg/kg tid en un solo día mejoró significativamente el efecto de la radiación en una única dosis 2 Gy de IR en todo el cuerpo (% de T/C 26 para la combinación en comparación con el % de T/C de 80 para solo radiación, P<0,001). La eficacia se evaluó utilizando un régimen en el que se administró dos veces IR de todo el cuerpo en 2-Gy, con una semana de diferencia. El Compuesto (1) se administró PO (tid en 0, 3, y 7 h) a 100 mg/kg solo o con una dosis única de 2 Gy de IR de todo el cuerpo en 3,2 5 h. Siete días más tarde, se repitieron los mismos regímenes. El Compuesto (1) en combinación con IR de todo el cuerpo a 2 Gy indujo una regresión tumoral significativa (% de T/Ti de -75; P<0,01) en comparación con el IR solo.

El Compuesto (1) solo y el IR solo no indujeron una inhibición del crecimiento tumoral significativa (P>0,05) en comparación con los vehículos de control (% de T/C de 74 y 64, respectivamente). En este modelo de tumor primario, ambos grupos mostraron un cierto grado de pérdida de peso corporal (6,7% y 8,7% de pérdida máxima el Día 2 o el Día 9 para el IR solo y el grupo de combinación, respectivamente) que se recuperó a lo largo del estudio. La adición de una segunda dosis de 2 Gy IR en combinación con el Compuesto (1) dio como resultado un aumento temporal significativo en la duplicación del tumor (TTD) con una TTD de 33,4 días en el grupo de combinación en comparación con solamente de 2 a 3 días para los grupos de vehículo, IR y el agente individual del Compuesto (1).

B.2. Estudio comparativo: Compuestos (1) y (2) en combinación con dos ciclos de IR de todo el cuerpo en un modelo de xenoinjerto de NSCLC primario (OD26749) en ratones desnudos

Las eficacias de los Compuestos (1) y (2) en combinación con el IR de todo el cuerpo (2 Gy) se evaluaron en el modelo de xenoinjerto de NSCLC primario OD26749 a un nivel de dosis de Compuesto (1) de 100 mg/kg PO bid (0 y 4 h) y niveles de dosis de Compuesto (2) de 50 mg/kg y 100 mg/kg PO bid (0 y 4 h). Se dieron dos ciclos de IR de todo el cuerpo (2 Gy) durante 15 minutos después de la primera dosis del Compuesto (0,25 horas). A los animales de control se les administró vehículo PO bid (0 y 4 h). El Día 0 y el Día 7 se realizaron dos ciclos de tratamiento.

Dos ciclos de radiación de todo el cuerpo (2 Gy) solos no inhibieron el crecimiento tumoral en comparación con los

tumores tratados mediante vehículo (% de T/C = 106). Sin embargo, la eficacia se mejoró significativamente cuando los Compuestos (1) y (2) se combinaron con IR, ya que los volúmenes tumorales promedio en todos los grupos de combinación fueron significativamente más pequeños que los del grupo de IR solo ($P < 0,001$). Además, los grupos de combinación de los Compuestos (1) y (2) (100 mg/kg bid) demostraron una actividad anti-tumoral (% de T/C = 4,80 y 7,80 respectivamente), una exposición sanguínea (AUC 65,8 y 58,2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$), y una tolerabilidad (cambio de peso corporal máximo -2,40% y 2,70%) muy similares. Además, el volumen tumoral promedio en el grupo de combinación de 50 mg/kg fue estadísticamente diferente al de los grupos de combinación de 100 mg/kg de los Compuestos (1) y (2) ($P < 0,001$).

10 B.3. Eficacia de los Compuestos (1) y (2) en combinación con IR en el modelo de xenoinjerto de cáncer de unión gastroesofágica (GEJ) OE-19.

15 El modelo de xenoinjerto de línea celular OE-19 se usó para evaluar la eficacia de los Compuestos (1) y (2) solos y junto con IR. Se administraron dos ciclos de tratamiento (Día 0 y Día 7) como se realizó en el modelo OD26749 anterior. Dos ciclos de IR de todo el cuerpo (2 Gy) solos mostraron un efecto mínimo en el crecimiento tumoral en comparación con el vehículo de control (% de T/C = 60,0), lo indica que este modelo de tumor es relativamente resistente a IR. Por el contrario, la combinación del Compuesto (2) y el IR de todo el cuerpo a 2 Gy tuvo como resultado una inhibición significativa del crecimiento del tumor en comparación con el vehículo de control con un % de T/C de 8,00 ($P < 0,001$). El grupo de combinación también mostró una inhibición significativa del crecimiento tumoral en comparación con el grupo de IR solo ($P < 0,001$). El Compuesto (1) en combinación con el IR de todo el cuerpo a 2 Gy también inhibió significativamente el crecimiento tumoral en este modelo.

B.4. Eficacia de los Compuestos (1) y (2) en un modelo de xenoinjerto de NSCLC primario

25 Las eficacias *in vivo* de los Compuestos (1) y (2) se evaluaron en solitario y junto con tres días consecutivos de IR focalizada en el modelo de xenoinjerto subcutáneo NSCLC LU-01-0030 primario. La actividad anti-tumoral dependiente de la dosis del Compuesto (2) solo y en combinación con IR de haz focalizado se evaluó en el modelo LU-01-0030. En este modelo, el tratamiento IR individualmente dio como resultado una regresión significativa del tumor; sin embargo, se observó un nuevo crecimiento del tumor al cabo de aproximadamente 20 días después del último día de tratamiento. El día 34, los grupos de combinación del Compuesto (2) demostraron una actividad anti-tumoral estadísticamente significativa ($P < 0,001$) en comparación con los grupos de vehículo e IR solo, con valores de % de T/Ti de -96,3, -67,1, -96,9, y 1,6% para los grupos de 50 y 25 mg/kg bid y 50 y 25 mg/kg qd, respectivamente. Los ratones en los grupos de tratamiento por combinación se controlaron (sin tratamiento) durante hasta 90 días ya que algunos no mostraron carga tumoral. En todos los grupos experimentales, los tratamientos se toleraron sin problemas tal como lo indican las pérdidas de masa corporal máximas que variaban del -1,11% al -6,93% de 1 a 9 días después del inicio del tratamiento.

B.5. Eficacia de los Compuestos (1) y (2) en combinación con IR en un modelo de xenoinjerto de cáncer GEJ primario

40 Las actividades *in vivo* de los Compuestos (1) y (2) se compararon en combinación con el IR de haz focalizado en un modelo de xenoinjerto subcutáneo de cáncer gástrico primario. En el modelo ST 02 0004, el IR focalizado se administró durante tres días consecutivos en solitario y en combinación con el Compuesto (1) o el Compuesto (2). El tratamiento IR solo dio como resultado un leve retraso en el crecimiento tumoral de aproximadamente 7 días después del último día de tratamiento. Los grupos de combinación de los Compuestos (1) y (2) demostraron una actividad antitumoral estadísticamente significativa ($P < 0,001$) en comparación con los grupos de vehículo e IR en solitario con un valor de % de T/Ti del -2,8% para el grupo de combinación de 100 mg/kg de Compuesto (1) y valores de % de T/C de 9,2 y 17,4 para los grupos de combinación 100 y 25 mg/kg del Compuesto (2), respectivamente. Para todos los grupos experimentales, el tratamiento se toleró sin problemas tal como lo indican las pérdidas de masa corporal máximas que variaban del -8,06 % al -10,0 % de 10 a 48 días después del inicio del tratamiento.

50 La actividad antitumoral del Compuesto (2) en combinación con el IR de haz focalizado y el estándar de agentes de cuidado, paclitaxel y carboplatino, también se evaluó en el modelo ST 02 0004. El tratamiento con paclitaxel, carboplatino, e IR se administró una vez por semana durante tres semanas, solo o en combinación con el Compuesto (2). El tratamiento con paclitaxel/carboplatino no tuvo impacto en el crecimiento tumoral ni tampoco lo tuvo la combinación de paclitaxel/carboplatino y 50 mg/kg de Compuesto (2). Sin embargo, el Día 45, 25 y 50 mg/kg del Compuesto (2) en combinación con paclitaxel/carboplatino e IR demostraron una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,001$) en la actividad antitumoral cuando se compararon con el grupo de vehículo con valores de % de T/C de 2,5 y 11,1 para los grupos de combinación del Compuesto (2) de 50 y 25 mg/kg, paclitaxel/carboplatino, IR, respectivamente. Además, los grupos de combinación del Compuesto de 50 y 25 mg/kg (2), paclitaxel/carboplatino, IR fueron estadísticamente distintos ($P < 0,05$) de los grupos paclitaxel/carboplatino, paclitaxel/carboplatino/50 mg/kg del Compuesto (2), y paclitaxel/carboplatino/IR. Las exposiciones sanguíneas del Compuesto (2) fueron de 9,3 y 27 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ para los grupos bid de 25 y 50 mg/kg de Compuesto (2), respectivamente.

65 En las Tablas 14 y 15, por ejemplo, PO bid (0, 4 h) indica que el Compuesto (2) se administra dos veces (bid) en el punto de tiempo 0 y después 4 horas más tarde; IR (0,25 h) qdx3 indica que la radiación se administra 15 minutos (0,25 h) después de la administración del Compuesto (2) (Oh), y una vez al día durante 3 días (qdx3); q7dx2 indica

una vez a la semana durante dos semanas; qod indica cada dos días dos veces (por ejemplo, Día 1 y Día 3); y paclitaxel q7d x3 (-0,25 h), carboplatino q7dx3 (-0,25 h) indica la administración de paclitaxel y carboplatino 15 minutos antes de la administración del Compuesto (2), seguido de la administración adicional del Compuesto (2) después de 4 horas tras la primera administración del Compuesto (2). En un ejemplo específico, "5 mg/kg de paclitaxel q7dx3 (-0,25 h), 25 mg/kg de carboplatino q7dx3 (-0,25 h), 2 Gy IR qdx3 (0,25 h), PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3" indica que 5 mg/kg de paclitaxel y 25 mg/kg de carboplatino se administran 15 minutos antes de la primera administración del Compuesto (2); se da la primera administración del Compuesto (2); la radiación se administra 15 minutos después de la primera administración del Compuesto (2); y después se proporciona la segunda administración del Compuesto (2) 4 horas después de la primera administración del Compuesto (2).

Tabla 14: Resumen de estudios de eficacia *in vivo* con el Compuesto (1)

Modelo de tumor, Agente de daño al ADN	Grupos de estudio	Resultados		
OD26749 (NSCLC primario) IR de todo el cuerpo	Radiación 2 Gy qdx1 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) qdx1 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) qdx1, 2 Gy qdx1 (3,25 h)	% de T/C (Día 20)	% de T/Ti (Día 20)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
		80	-	-6,90 (Día 2)
		101	-	-2,40 (Día 2)
		26,0	-	-9,70 (Día 2)
OD26749 (NSCLC primario) IR de todo el cuerpo	Radiación 2 Gy q7dx2 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) q7dx2 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) q7dx2, 2 Gy q7dx2 (3,25 h)	% de T/C (Día 16)	% de T/Ti (Día 16)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
		64	-	-6,7 (Día 2)
		74	-	aumento de peso
		-	-75	-8,7 (Día 9)
OD26749 (estudio comparativo de NSCLC primario)* IR de todo el cuerpo	Radiación 2 Gy qdx3 PO 100 mg/kg bid (0, 4 h), 2 Gy (0,25 h) qdx3	% de T/C (Día 22)	% de T/Ti (Día 22)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
		106	-	-0,90 (Día 1)
		4,8	-	-2,40 (Día 1)
OD26749 (NSCLC primario) IR de todo el cuerpo	Radiación 2 Gy q7dx2 PO 200 mg/kg qd, 2 Gy IR (0,25 h) q7dx2 PO 100 mg/kg bid (0, 4 h), 2 Gy IR (0,25 h) q7dx2 PO 50 mg/kg bid (0, 4 h), 2 Gy IR (0,25 h) q7dx2 PO 25 mg/kg bid (0, 4 h), 2 Gy IR (0,25 h) q7dx2	% de T/C (Día 29)	% de T/Ti (Día 29)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
		42	-	-3,50 (Día 1)
		6,5	"	-6,10 (Día 1)
		-	-3,1	-3,70 (Día 8)
		11,7	-	-5,50 (Día 8)
		25,6	-	-7,70 (Día 8)
LU-01-0030 (NSCLC primario) IR focalizada	Radiación 2 Gy qdx3 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) qdx5 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3 PO 100 mg/kg tid (0, 3, 7 h) qdx5, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3 PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3	% de T/C (Día 30)	% de T/Ti (Día 30)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
		14,8	-	-4,0 (Día 4)
		79,1	-	-0,63 (Día 6)
		-	-90,6	-1,58 (Día 4)
		-	-91,6	-1,68 (Día 4)
		-	-85,6	-1,42 (Día 4)

Modelo de tumor, Agente de daño al ADN	Grupos de estudio	Resultados		
LU-01-0030 (NSCLC primario) IR focalizada		% de T/C (Día 27)	% de T/Ti (Día 27)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
	Radiación 2 Gy qdx3	16,1	-	-7,44 (Día 3)
	PO 100 mg/kg qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-76,5	-3,68 (Día 2)
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-90,1	-2,87 (Día 3)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-87,8	-5,70 (Día 3)
PO 25 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-80,3	-5,81 (Día 2)	
LU-01-0030 (NSCLC primario) IR focalizada		% de T/C (Día 27)	% de T/Ti (Día 27)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
	Radiación 2 Gy qdx3	16,1	-	-7,44 (Día 3)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-76,5	-3,68 (Día 2)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx2, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-90,1	-2,87 (Día 3)
	PO 25 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-87,8	-5,70 (Día 3)
PO 10 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy (0,25 h) IR qdx3	-	-80,3	-5,81 (Día 2)	
LU-01-0030 (NSCLC primario) IR focalizada		% de T/C (Día 31)	% de T/Ti (Día 31)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
	Radiación 2 Gy qdx3	49,3	-	-4,46 (Día 2)
	PO 10 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h)	-	-5,3	-3,33 (Día 3)
	PO 50 mg/kg qdx3, 2 Gy IR (0,25 h)	4,5	-	-2,07 (Día 1)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx1, 2 Gy IR (0,25 h)	7,2	-	-0,59 (Día 1)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx2, 2 Gy IR (0,25 h)	-	-1,7	-2,11 (Día 1)
PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h)	-	-14,1	-0,94 (Día 3)	
LU-01-0030 (NSCLC primario) IR focalizada		% de T/C (Día 24) (%)	% de T/Ti (Día 24)	Pérdida de peso corporal máxima
	Radiación 2 Gy qdx3	26,7	-	-0,40 (Día 2)
	PO 10 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR qdx3 (0,25 h)	-	-29,8	-1,46 (Día 4)
	PO 25 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR qdx3 (0,25 h)	-	-75,2	-2,03 (Día 4)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR qdx3 (0,25 h)	-	-87,6	-1,19 (Día 4)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx2, 2 Gy IR qdx3 (0,25 h)	-	-79,9	-1,59 (Día 4)
OE-19 (línea celular de GEJ) IR de todo el cuerpo		% de T/C (Día 18) (%)	% de T/Ti (Día 18)	Pérdida de peso corporal máxima
	Radiación 2 Gy qd7 x 2	86,0	-	-1,90 (Día 1)
PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qd7x 2	79,0	-	-1,70 (Día 8)	

Modelo de tumor, Agente de daño al ADN	Grupos de estudio	Resultados		
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qd7x2, 2 Gy IR qd7x2 (0,25 h)	24,0	-	-3,50 (Día 1)
ST-02-0004 (tumor GEJ primario - estudio comparativo)* IR focalizada	Radiación 2 Gy qdx3	% de T/C (Día 34) (%)	% de T/Ti (Día 34)	Pérdida de peso corporal máxima
		59,6	-	-8,06 (Día 48)
	PO 100 mg/kg qdx3	95,6	-	-6,31 (Día 14)
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h)	-	-2,8	-10,0 (Día 10)

Tabla 15: Resumen de estudios de eficacia *in vivo* con el Compuesto (2)

Modelo de tumor, Agente de daño al ADN	Grupos de estudio	Resultados		
OD26749 (NSCLC primario - estudio comparativo)		% de T/C (Día 22) (%)	% de T/Ti (Día 22)	Pérdida de peso corporal máxima
	Radiación 2 Gy qdx3	106	-	-0,90 (Día 1)
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h), 2 Gy (0,25 h) qdx3	7,8	-	-2,70 (Día 1)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h), 2 Gy (0,25 h) qdx3	27,2	-	-2,10 (Día 1)
LU-01-0030 (NSCLC primario)		% de T/C (Día 34) (%)	% de T/Ti (Día 34)	Pérdida de peso corporal máxima
	Radiación 2 Gy qdx3	16,9	-	-4,93 (Día 3)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3	98,3	-	-1,11 (Día 9)
	PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3	-	-96,3	-6,93 (Día 3)
	PO 25 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3	-	-67,1	-6,59 (Día 3)
	PO 50 mg/kg qdx3, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3	-	-96,9	-4,66 (Día 3)
	PO 25 mg/kg qdx3, 2 Gy IR (0,25 h) qdx3	-	-1,6	-4,62 (Día 1)
OE-19 (línea celular de GEJ - estudio comparativo)		% de T/C (Día 21) (%)	% de T/Ti (Día 21)	Pérdida de peso corporal máxima
	Radiación 2 Gy q7dx2	60,0	-	-0,80 (Día 1)
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) q7dx2, 2 Gy IR q7dx2 (0,25 h)	8,0	-	-6,50 (Día 7)
ST-02-0004 (tumor de GEJ primario)		% de T/C (Día 34) (%)	% de T/Ti (Día 34)	Pérdida de peso corporal máxima
	Radiación 2 Gy qdx3	56,9	-	-8,06 (Día 48)
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3	67,6	-	-7,61 (Día 34)
	PO 100 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR qdx3 (0,25 h)	9,2	-	-9,15 (Día 14)
	PO 25 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3, 2 Gy IR qdx3 (0,25 h)	17,4	-	-6,73 (Día 48)
ST-02-0004 (Tumor de GEJ primario - con SOC)		% de T/C (Día 45) (%)	% de T/Ti (Día 45)	Pérdida de peso corporal máxima (%)
	5 mg/kg de paclitaxel q7dx3 (Oh), 25 mg/kg de carboplatino q7dx3 (Oh)	98,0	-	-8,93 (Día 45)

Modelo de tumor, Agente de daño al ADN	Grupos de estudio	Resultados
	5 mg/kg de paclitaxel q7dx3 (-0,25 h), 25 mg/kg de carboplatino q7dx3 (-0,25 h), PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3	95,4 - -10,1 (Día 45)
	5 mg/kg de paclitaxel q7dx3, 25 mg/kg (-0,25 h), carboplatino q7dx3 (-0,25 h), 2 Gy IR qdx3 (0 h)	34,9 - -10,0 (Día 3)
	5 mg/kg de paclitaxel q7dx3 (-0,25 h), 25 mg/kg de carboplatino q7dx3 (-0,25 h), 2 Gy IR qdx3 (0,25 h), PO 50 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3	2,5 - -9,20 (Día 10)
	5 mg/kg de paclitaxel q7dx3 (-0,25 h), 25 mg/kg de carboplatino q7dx3 (-0,25 h), 2 Gy IR qdx3 (0,25 h), PO 25 mg/kg bid (0, 4 h) qdx3	11,1 - -8,21 (Día 3)

Ejemplo 11. La combinación del Compuesto (1) o el Compuesto (2) con fármacos de estándar de cuidado o radiación en líneas celulares de cáncer

5 Los experimentos y ensayos basados en células se realizaron con cada molécula individual, pero no siempre con ambas. En general, los Compuestos (1) y (2) eran muy similares en los ensayos y experimentos. El análisis de los experimentos de combinación se realizó mediante dos métodos: el modelo de Aditivo Bliss y el método Combinación de mezclas para determinar el grado de sinergia, aditivos o antagonismo. En el método Bliss, se generó una matriz de puntuaciones de Bliss para cada línea celular y tratamiento, y se calculó una suma de los valores de Bliss en el intervalo de concentraciones de combinación. La puntuación Bliss promedio (la suma de Bliss dividida por la cantidad de puntos de datos totales) se utilizó entonces para categorizar la línea celular y el tratamiento de la siguiente manera: más de 10 indica una gran sinergia, más de 5 indica sinergia, entre 5 y -5 indica aditividad, menos de -5 indica antagonismo, y menos de -10 indica fuerte antagonismo. Los valores mayores de Bliss promedio indican mayor confianza en la generación de informes de sinergia, y las puntuaciones más bajas indican una mayor confianza en la generación de informes de antagonismo. En el método de Combinación de mezclas, se añadieron combinantes en un intervalo de relaciones óptimas mediante el diseño de software para experimentos (DOE) (DX-8 de STAT-EASE); las células se irradiaron con 2 Gy según fue necesario. La sinergia se determinó mediante análisis estadísticos de los datos (ANOVA) para indicar mezclas lineales (aditividad) o estadísticamente significativas ($p < 0,1$) no-lineales (antagonismo o sinergia) de los combinantes.

20

Se enumeran ciertas líneas celulares de cáncer y sus tipos de tumor en la Tabla 16.

Tabla 16: Lista de líneas celulares de cáncer

LÍNEA CELULAR	TIPO DE TUMOR
DOHH-2	Linfoma-Linfocitos B
DU-4475	Mama
EOL-1	Leucemia
Farage	Linfoma no hodgkin-Linfocitos B
GRANTA-519	Linfoma-Células del manto
HBL-1	Linfoma-Linfocitos B
HCC2935	Pulmón-NSCLC
HCC95	Pulmón-NSCLC
HH	Linfoma-Linfocitos T
HT-115	Colorrectal
JHH-2	Hígado
KARPAS-299	Linfoma no hodgkin-Linfocitos B
KARPAS-422	Linfoma no hodgkin-Linfocitos B
KARPAS-620	Mieloma múltiple
KASUMI-1	Leucemia, AML

LÍNEA CELULAR	TIPO DE TUMOR
KE-97	Gástrico
KELLY	Neuroblastoma
KG-1	Leucemia, AML
KG-1a	Leucemia, AML
KMS-20	Mieloma múltiple
KMS-21-BM	Mieloma múltiple
KMS-34	Mieloma múltiple
LC-1F	Pulmón-NSCLC
LCLC-103H	Pulmón-NSCLC
LU-134-A	Pulmón-SCLC
LU-139	Pulmón-SCLC
MDST8	Colorrectal
ML-1	Tiroides
MOLM-13	Leucemia-CML
MV-4-11	Leucemia
NCI-H1048	Pulmón-SCLC
NCI-H1650	Pulmón-NSCLC
NCI-H1694	Pulmón-SCLC
NCI-H1944	Pulmón-NSCLC
NCI-H1993	Pulmón-NSCLC
NCI-H2126	Pulmón-NSCLC
NCI-H2141	Pulmón-SCLC
NCI-H2171	Pulmón-SCLC
NCI-H2228	Pulmón-NSCLC
NCI-H446	Pulmón-SCLC
NCI-H820	Pulmón-NSCLC
NCI-H841	Pulmón-SCLC
NCI-H929	Mieloma múltiple
NOMO-1	Leucemia, AML
OCI-Ly3	Linfoma-Linfocitos B
OCI-Ly7	Linfoma-Linfocitos B
OPM-2	Linfoma-Linfocitos B
OVK18	Linfoma-Linfocitos B
PC-3	Próstata
PC-9	Pulmón-NSCLC
RL	Linfoma-Linfocitos B
RPMI-8226	Linfoma-Linfocitos B
SU-DHL-10-epst	Linfoma-Linfocitos B
TE-1	Esófago
TE-14	Esófago
THP-1	Leucemia, AML
U-2932	Linfoma-Linfocitos B
WM-266-4	Piel
WSU-NHL	Linfoma-Linfocitos B
ZR-75-1	Mama

A. Combinaciones dobles

5 El Compuesto (2) se sometió a ensayo frente a un panel de 60 líneas celulares de cáncer (véase la Tabla 16) en solitario y en combinación con un panel de agentes SOC citotóxicos y no citotóxicos. Las 60 líneas celulares de cáncer representan líneas derivadas de cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, leucemia mieloide aguda (AML), mieloma y otros cánceres. Las células se retiraron del almacenamiento en nitrógeno líquido, se descongelaron y se expandieron en medios de crecimiento adecuados. Una vez expandidas, las células se cultivaron en placas tratadas con cultivo tisular de 384 pocillos a 500 células por pocillo. Después de 24 horas, las células se trataron

durante 0 horas o se trataron durante 144 horas con el Compuesto (2) en combinación con genotoxina: bleomicina (radiomimética), doxorubicina (inhibidor de topoisomerasa II), etopósido (inhibidor de topoisomerasa II), carboplatino (reticulador del ADN), BMN-673 (inhibidor de PARP), y tarceva (inhibidor de EGFR). Al final de 0 horas o 144 horas, se analizó el estado celular mediante ATPLite (Perkin Elmer) para evaluar la respuesta biológica de las células a las combinaciones de fármacos.

El Compuesto (2) demostró una fuerte sinergia con varios agentes ensayados: etopósido (inhibidor de topoisomerasa), doxorubicina (intercalador de ADN), y bleomicina (radiomimética) (Figura 23). Se observó sinergia en combinación con BMN-673 (inhibidor de PARP) y carboplatino (inhibidor de reparación de ADN). Se observó aditividad con erlotinib (inhibidor de EGFR) (Figura 23). Al realizar el análisis por tipo de línea celular de cáncer, el Compuesto (2) y BMN-673 demostraron una mayor actividad contra AML. El Compuesto (2) y etopósido, si bien eran altamente activos contra la mayor parte de las líneas, eran particularmente activos contra líneas de cáncer de pulmón de células no pequeñas como el Compuesto (2) y doxorubicina (véase a continuación). Los datos de sinergia de Bliss del Compuesto (2) en diversos tipos de tumores (leucemia mieloide aguda (AML), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), mieloma de células plasmáticas (PCM), cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC)) se muestran en las Figuras 24-30: combinación del Compuesto (2) con BMN-673 en la Figura 24; combinación del Compuesto (2) con etopósido en la Figura 25; combinación del Compuesto (2) con bleomicina en la Figura 26; combinación del Compuesto (2) con erlotinib en la Figura 27; combinación del Compuesto (2) con doxorubicina en la Figura 28; combinación del Compuesto (2) con bleomicina en la Figura 29; combinación del Compuesto (2) con carboplatino en la Figura 30.

Las combinaciones del Compuesto (2) y doxorubicina o epirubicina (intercalador de ADN) se ensayaron contra las líneas celulares de cáncer de mama (Tablas 17 y 18), siendo una comparación entre las líneas de tipo silvestre y mutante un objetivo del estudio. Independiente de la densidad de las placas, la sensibilidad a la doxorubicina en solitario, o el estado de BRCA, la combinación de doxorubicina y el Compuesto (2) tuvo una gran sinergia en las cinco líneas celulares y en ambas concentraciones ensayadas del Compuesto (2) (análisis Bliss). El cambio de >3 veces en CI50 y la combinación de doxorubicina y el Compuesto (2) en comparación con la doxorubicina sola también indica un elevado grado de sinergia. Un experimento similar usando doxorubicina o epirubicina en combinación con el Compuesto (2) en la línea del cáncer de mama DU4475 demostró una fuerte sinergia (análisis de Bliss) (Tabla 18).

La combinación del Compuesto (2) y doxorubicina o epirubicina fue fuertemente sinérgica en todas las líneas celulares del cáncer de mama triple-negativo evaluadas, independientes del estado BRCA o la densidad de las placas.

Tabla 17: Resumen de las combinaciones con el Compuesto (2) y doxorubicina en líneas celulares de cáncer de mama de triple negativo

Línea celular	Densidad de placas	Estado BRCA	Puntuación Bliss promedio	CI50 de doxorubicina (µM)	Desplazamiento máximo de CI50 (veces)
HCC-1395	5000	Mutante	11,1	0,5	4,6
HCC-1599	Desconocido	Mutante	14,3	0,2	4,3
HCC-1937	5000	Mutante	16,6	0,2	3,7
HCC-1937	20000	Mutante	15,6	0,6	3,9
MDA-MB-436	5000	Mutante	14,5	0,7	9,1
MDA-MB-436	20000	Mutante	14,4	0,3	4,7
MDA-MB-468	5000	Tipo silvestre	23,1	0,02	19
MDA-MB-468	20000	Tipo silvestre	24,7	0,04	13

Tabla 18: Resumen de combinaciones con el Compuesto (2) y Doxorubicina o Epirubicina en células DU4475

Fármaco	Puntuación Bliss promedio
Doxorubicina	31,9
Epirubicina	33,3

B. Combinaciones dobles y triples con y sin radiación (2 Gy)

Se sometieron a prueba los siguientes agentes SOC en combinaciones dobles con el Compuesto (1): etopósido (un inhibidor de topoisomerasa que induce los DSB), cisplatino (reticulador de ADN), carboplatino (reticulador de ADN), fluorouracilo (5-FU, antimetabolito que inhibe timidilato sintasa), paclitaxel (inhibidor micótico que se une a tubulina), cetuximab (anticuerpo monoclonal de EGFR) y radiación. Además de la combinación de la radiación y el Compuesto (1), la interacción más fuerte de los estudios de doble combinación fue etopósido y el Compuesto (1) en las células A549 (Tabla 19) y el Compuesto (1) y etopósido en ES026 (Tabla 20). Estos resultados se confirmaron mediante el

modelo de aditividad de Bliss (Tabla 21). Otras combinaciones demostraron aditividad con ejemplos extraños de antagonismo. Si bien no hay consenso total en las diversas líneas ensayadas, (como se detalla en las demás secciones), la mayoría concuerda y las conclusiones son comunes entre todos. El mismo experimento realizado mediante células OE19 mostró un patrón de interacción más complejo en ausencia de radiación. Se observó un efecto significativamente mejorado cuando se añadió radiación a las combinaciones, y se reforzó la fuerte relación entre el daño ocasionado por el ADN (DSB y SSB) y la inhibición de DNA-PK. Las líneas celulares de cáncer en la Tabla 19 indican: ES026 - cáncer de unión gastroesofágica, OE19 - cáncer de unión gastroesofágica, DMS-53 - SCLC, A549 - cáncer de pulmón, Colo205 - cáncer de colon, H460 - cáncer de pulmón, H2009 - cáncer de pulmón, FaDu - cáncer de faringe, Miapaca2 - cáncer de páncreas, HFL1 - fibroblasto de pulmón fetal humano.

La combinación del Compuesto (2) y doxorubicina o epirubicina fue fuertemente sinérgica en todas las líneas celulares del cáncer de mama triple-negativo evaluadas, independientes del estado BRCA o la densidad de las placas.

En los experimentos de SOC triple, se demostró sinergia con la combinación de etopósido, cisplatino, y el Compuesto (1) en las líneas celulares DMS-53 y A549. El principal impulsor de esta sinergia fue la combinación de etopósido con el Compuesto (1). Paclitaxel, cisplatino y el Compuesto (1) fueron aditivos de la línea celular A549, mientras que el cisplatino, 5-FU y el Compuesto (1) fueron sinérgicos en la línea celular Colo205. Se observó una reducción altamente significativa en la viabilidad celular tras la adición de radiación a estas combinaciones, principalmente impulsada por la contribución del Compuesto (1). El Compuesto (2) demostró los mismos resultados de la combinación sobre la viabilidad celular con los combinantes SOC (mediante un conjunto más pequeño de líneas celulares de cáncer) en comparación con el Compuesto (1).

Tabla 19: Efecto del Compuesto (1) en combinación con agentes genotóxicos sobre la viabilidad de líneas celulares de cáncer

Línea celular	Combinación con el Compuesto (1)						Sinergia o antagonismo	
	Cisplatino	Etopósido	Carboplatino	Paclitaxel	5-FU	Cetuximab	Sin radiación	Radiación plus (2 Gy)
A549	✓						Aditividad	ND
		✓					Fuerte sinergia	ND
				✓			Antagonismo	ND
							Sinergia	Plus
						✓	Aditividad	Aditividad, Plus
		✓	✓				Fuerte sinergia	Fuerte sinergia, Plus
H460	✓			✓			Aditividad	Sinergia, Plus
							Sinergia	Plus
H2009							Aditividad	Plus
Colo205	✓				✓		Sinergia	Sinergia, Plus
DMS-53	✓	✓					Fuerte sinergia	NP
OE19	✓			✓			Mezcla	Sinergia, Plus
			✓				Antagonismo	Sinergia*, Plus
					✓		Aditividad	Sinergia*, Plus
FaDu						✓	Aditividad	Aditividad, Plus
							Sinergia	Plus
HFL1	✓						Aditivo	ND
		✓					Sinergia	ND
	✓				✓		Aditividad	Aditividad, Plus
				✓			Aditividad	ND
							Aditividad	Sin efecto

ND = No determinado, N/A = No aplicable: el etopósido es un radiomimético. , Plus = efecto potenciado de la radiación. * Reducción de la viabilidad impulsada predominantemente por el Compuesto (1) más radiación.

Tabla 20: Efecto del Compuesto (2) en combinación con agente genotóxicos sobre la viabilidad de la línea celular de cáncer ES026 (GEJ) (Análisis de mezclas)

1. Combinaciones con el Comp. 2	2. Sin radiación	3. Radiación Plus
Cisplatino, 5-FU	Sinergia; Comp. 2 con 5-FU	Reducción significativa en la supervivencia celular impulsada por el Comp. 2 y la radiación
Carboplatino, Paclitaxel	Aditivo general	Reducción significativa en la supervivencia celular impulsada por el Comp. 2 y la radiación
Etopósido	Sinergia significativa	No aplicable

Basándose en CI_{50} de 20 μ M para el Comp. 2, 50 μ M para carboplatino, 1,5 μ M para cisplatino, 3 nM para paclitaxel, 0,6 μ M para etopósido y 20 μ M para 5-FU. No aplicable: el etopósido es un radiomimético.

Tabla 21: Efecto del Compuesto (2) en la combinación con etopósido sobre la viabilidad de las líneas celulares de cáncer (Análisis Bliss)

Línea celular	Puntuación Bliss promedio
A549	27,3 (n = 1)
ES026	43,2 \pm 6,5 (n = 3)
HFL1	8,7 \pm 5,6 (n = 3)

C. Efecto de la combinación del Compuesto (1) o (2) y SOC en ensayos de quimiosensibilidad de tumor primario (TCA)

Los tumores humanos primarios ensayados *in vitro* pueden proporcionar un mejor indicador de eficacia de la inhibición de DNA PK que inmortalizó las líneas celulares de cáncer debido a su mayor heterogeneidad y una proximidad más cercana al tumor del paciente del que derivaban. Un panel de tumores humanos primarios (NSCLC, páncreas, esófago, gástrico, etc.) se trató con el Compuesto (1) para determinar la eficacia de la inhibición de DNA-PK en combinación con la radiación, la bleomicina (un agente radiomimético que induce DSB), doxorubicina (intercalador de ADN), cisplatino, carboplatino, etopósido, paclitaxel, o 5-FU.

El Compuesto (1) (10x y 30x CI_{50}) se administró en combinación con un intervalo de dosis de bleomicina o radiación. Las células disociadas de tumores de pase de ratón se pusieron en cultivo durante 6 días después de la exposición de combinación y luego se evaluaron para determinar la viabilidad usando el ensayo Cell Titer-Glo. El modelo estadístico de aditividad de Bliss se utilizó para determinar el grado de sinergia, aditividad o antagonismo de cada tratamiento de combinación.

La combinación del Compuesto (1) y bleomicina o radiación fue aditiva o sinérgica en todos los tumores ensayados (29/29) (véase la Figura 31). Además, se observó una fuerte sinergia en casi un tercio de tumores tratados con bleomicina (9/29) y radiación (3/8) en combinación con el Compuesto (1). De manera similar, el Compuesto (2) se ensayó en combinación con un intervalo de dosis de bleomicina en un subconjunto más pequeño de tumores (gástrico, pancreático). La combinación del Compuesto (2) y bleomicina fue aditiva o sinérgica en todos los tumores ensayados (20/20) y fuertemente sinérgica en un subconjunto de estos (3/20) (véase la Figura 31). Estos datos sugieren que un inhibidor de DNA-PK en combinación con terapia de radiación podría ser más ampliamente eficaz que solo el estándar de cuidado.

Se trató además un panel de tumores primarios con el Compuesto (1) en combinación con una diversidad de agentes quimioterapéuticos (gemcitabina, paclitaxel, cisplatino, carboplatino, 5-FU, etopósido) comúnmente utilizado en el tratamiento de los tipos de tumores ensayados. Se observó aditividad en la mayoría de los tumores tratados con el Compuesto (1) y gemcitabina (2/4) paclitaxel (1/5), 5-FU (5/5), o doxorubicina (1/1). Sin embargo, se observó antagonismo en algunos tumores con gemcitabina (2/4) y paclitaxel (1/5). Se observó sinergia o aditividad en casi todos los tumores con carboplatino (5/5) y cisplatino (9/10), pero solo un tumor mostró antagonismo con cisplatino. La combinación del Compuesto (1) y etopósido mostró una fuerte sinergia en todos los tumores ensayados (4/4). Estos resultados de TCA eran coherentes con los datos de combinación generados usando líneas celulares de cáncer. En su conjunto, estos datos sugieren que un inhibidor selectivo de DNA-PK podría proporcionar un mayor beneficio a los pacientes con cáncer que reciben tratamiento de estándar de cuidado en diversas aplicaciones clínicas.

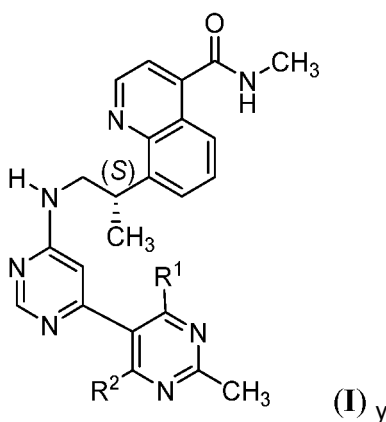
Ejemplo 14. Efecto del Compuesto (1) sobre la supervivencia clonogénica de las líneas celulares de cáncer

El ensayo de supervivencia celular clonogénica mide la capacidad de una célula de proliferar de manera indefinida, conservando de este modo su capacidad de auto renovación para formar una colonia (es decir, clon). Este ensayo ha sido un pilar de la oncología de radiación durante décadas y se utilizó para determinar el efecto del Compuesto (1) sobre la clonogenicidad de un panel de líneas celulares en varios tipos de tumores después de la radiación. Se demostró que el Compuesto (1) en combinación con la radiación fue muy eficaz para reducir la clonogenicidad de líneas celulares de cáncer ensayadas con los factores de mejora de dosis (DEF, la diferencia de la cantidad de colonias

- en una fracción superviviente de 0,1), comprendidos entre 2,5 y >5. Las células Miapaca2 mostraron el nivel más bajo de DEF (2,5), mientras que en las células FaDu, la combinación del Compuesto (1) y la radiación eliminaron por completo la formación de colonias con apenas 0,5 G y mostraron un DEF de >8. Un DEF mayor a 1,5 en general se considera clínicamente significativo; por lo tanto, por estos estándares, el Compuesto (1) se caracterizará como un fuerte agente de mejora de radiación. Estos datos coinciden con los datos anteriores de viabilidad celular al sugerir que se puede esperar una mayor población de respondedores en pacientes con cáncer tratados con el Compuesto (1) en combinación con la radiación.
- 5
- 10 Como se usa en el presente documento, todas las abreviaturas, los símbolos y las convenciones son consistentes con los usados en la bibliografía científica contemporánea. Véase, por ejemplo, Janet S. Dodd, ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2ª Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997.

REIVINDICACIONES

1. Un co-cristal que comprende un compuesto de la fórmula:



5

un formador de co-cristal, en la que el formador de co-cristal es ácido adípico, en la que cada uno de R¹ y R² es independientemente hidrógeno o deuterio.

10 2. El co-cristal de la reivindicación 1, en el que una relación molar de ácido adípico con respecto al compuesto de fórmula I es aproximadamente de 1 a 2.

3. El co-cristal de la reivindicación 2, en el que el compuesto de fórmula I es (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida.

15

4. El co-cristal de la reivindicación 2, en el que el compuesto de fórmula I es (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida.

5. El co-cristal de la reivindicación 3 o 4

20 a) que tiene picos de difracción de polvo de rayos X a aproximadamente 6,46, 7,91, 11,92, 12,26, 12,99, 14,19, 18,68, y 19,07 °2-Theta +/- 0,2, obtenidos a temperatura ambiente usando una fuente de Cu; y/o
b) que tiene un pico DSC en su termograma DSC a aproximadamente 195 °C y aproximadamente 245 °C.

6. Una composición farmacéutica que comprende el co-cristal de acuerdo con la reivindicación 1.

25

7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6, en la que el compuesto de fórmula I es (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida, el formador de co-cristal es ácido adípico; o en la que el compuesto de fórmula I es (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida, el formador de co-cristal es ácido adípico.

30

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en la que la relación molar del compuesto de fórmula I con respecto a ácido adípico es de aproximadamente 2 a 1.

9. Un método para fabricar un co-cristal que comprende:

35 a) moler, calentar, cosublimar, derretir conjuntamente, o poner en contacto (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida o (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida con un formador de co-cristal en condiciones de cristalización para formar el co-cristal en fase sólida, en el que el formador de co-cristal es ácido adípico; o

40 b) proporcionar un co-cristal existente previamente como una semilla para preparar el co-cristal, en el que el co-cristal existente previamente comprende: (i) (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida o (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida; y (ii) ácido adípico; y el co-cristal a formar comprende: (i) (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida o (S)-N-metil-8-(1-((2'-metil-4',6'-dideutero-[4,5'-bipirimidin]-6-il)amino)propan-2-il)quinolin-4-carboxamida; y (ii) ácido adípico.

45

10. Un co-cristal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, para su uso en

a) la potenciación de un régimen terapéutico para el tratamiento de cáncer en un paciente; o
b) el tratamiento del cáncer en un paciente.

50

11. El co-cristal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, para su uso en el tratamiento de cáncer en un paciente de acuerdo con la reivindicación 10,

que comprende además administrar una terapia anticancerosa adicional; opcionalmente en el que la terapia anticancerosa adicional es un agente anticanceroso o terapia de radiación, o ambos; opcionalmente, en el que el agente anticanceroso es un agente quimioterapéutico, opcionalmente, en el que el agente quimioterapéutico es etopósido, doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina o bleomicina.

- 5
12. El co-cristal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, para su uso en la potenciación de un régimen terapéutico para el tratamiento de cáncer en un paciente de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el régimen terapéutico es un agente anticanceroso o terapia de radiación, o ambos; opcionalmente, en el que el agente anticanceroso es un agente quimioterapéutico;
- 10
- opcionalmente, en el que el agente quimioterapéutico es etopósido, doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina o bleomicina.

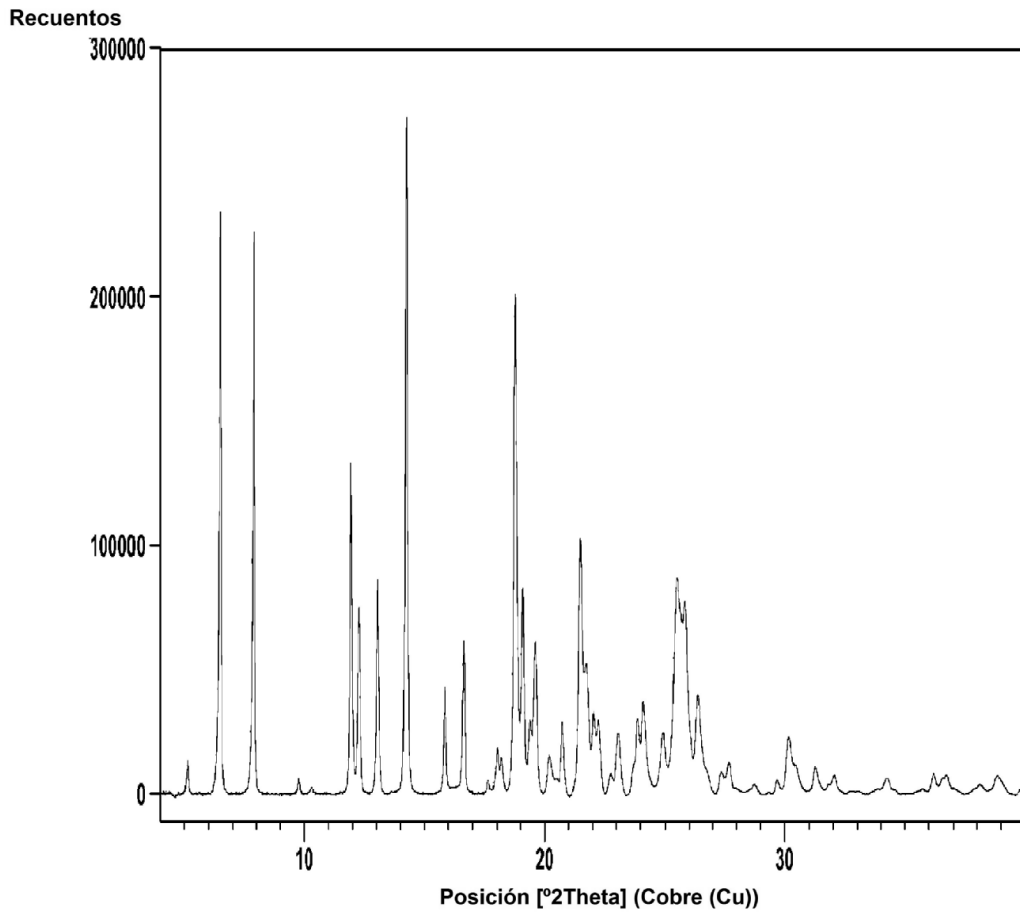


Figura 1

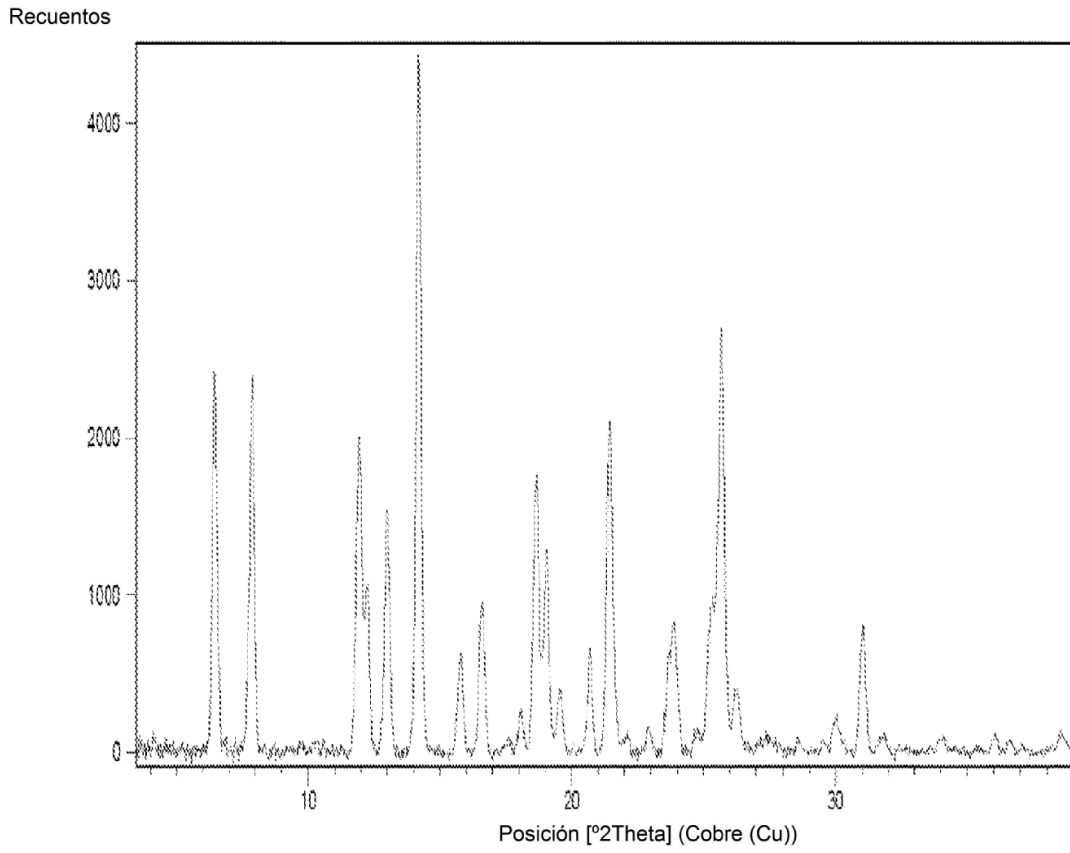


Figura 2

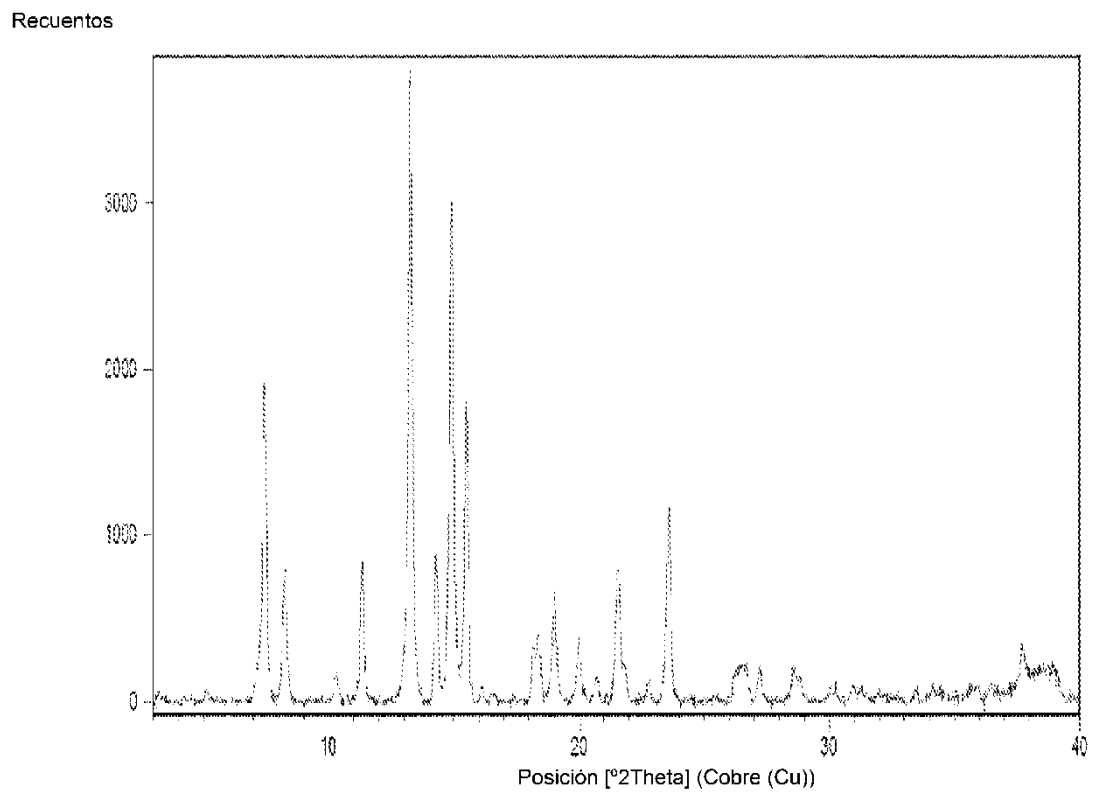


Figura 3

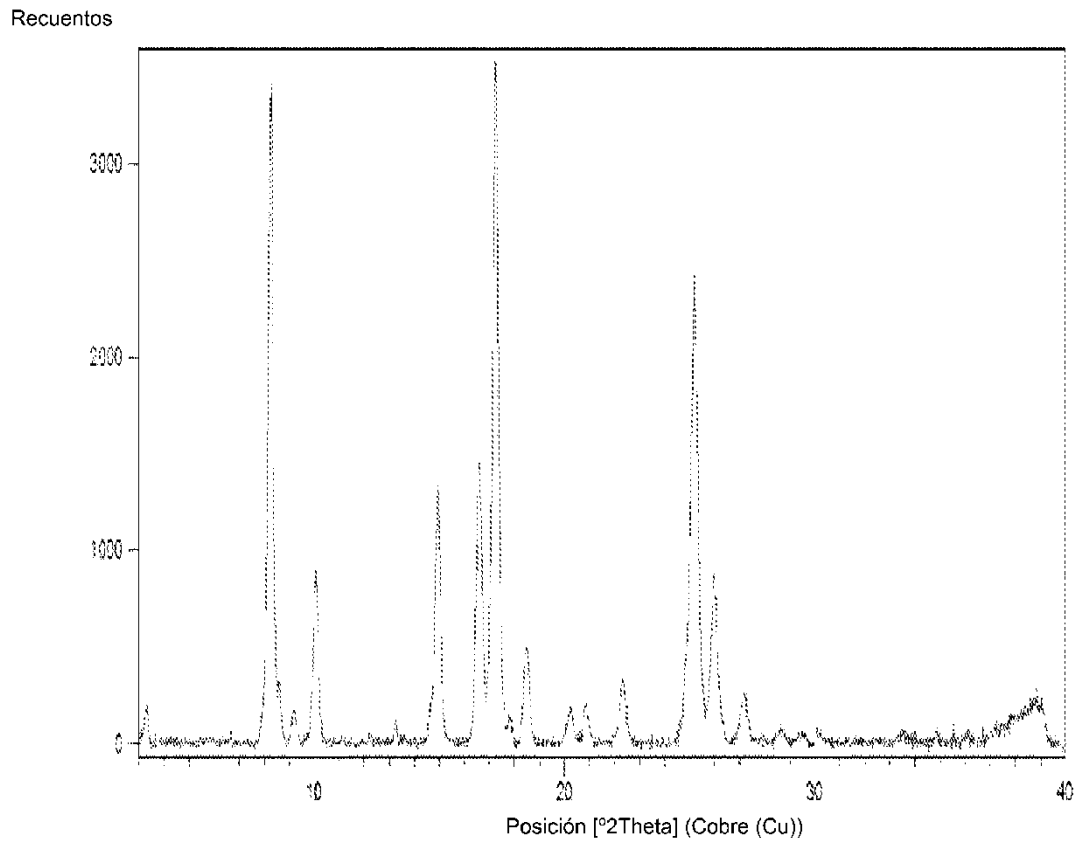


Figura 4

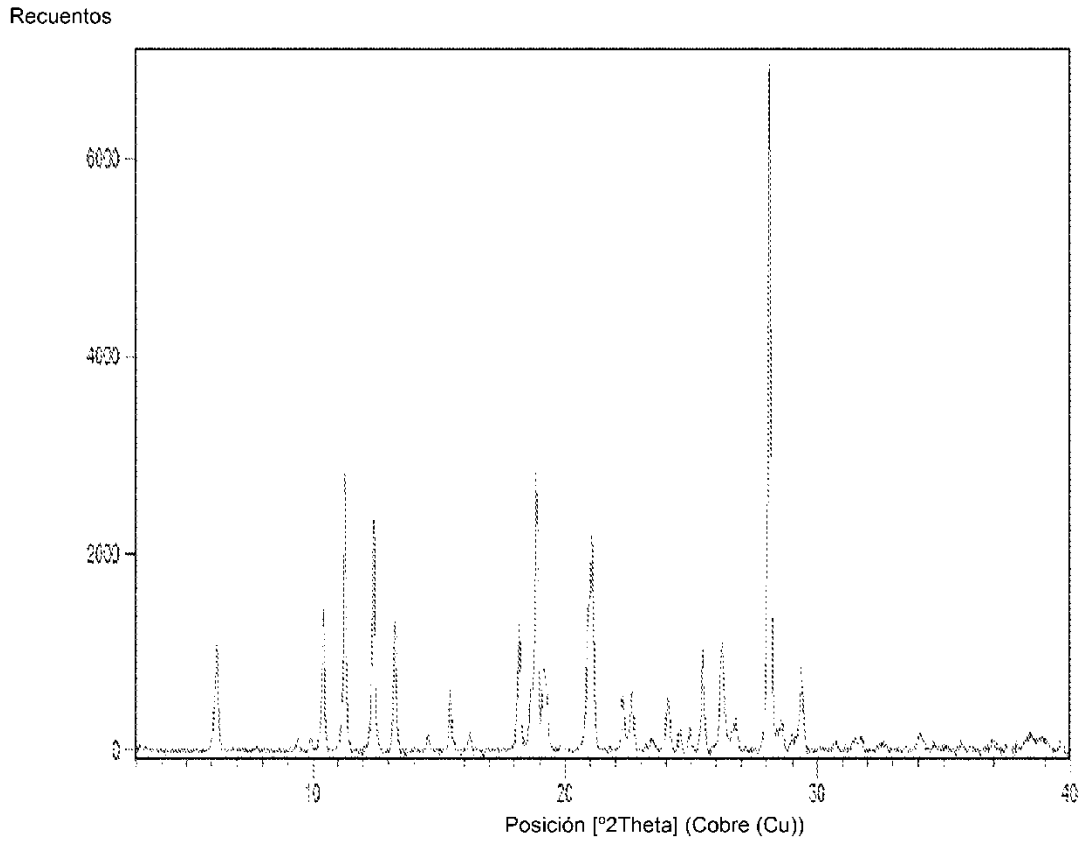


Figura 5

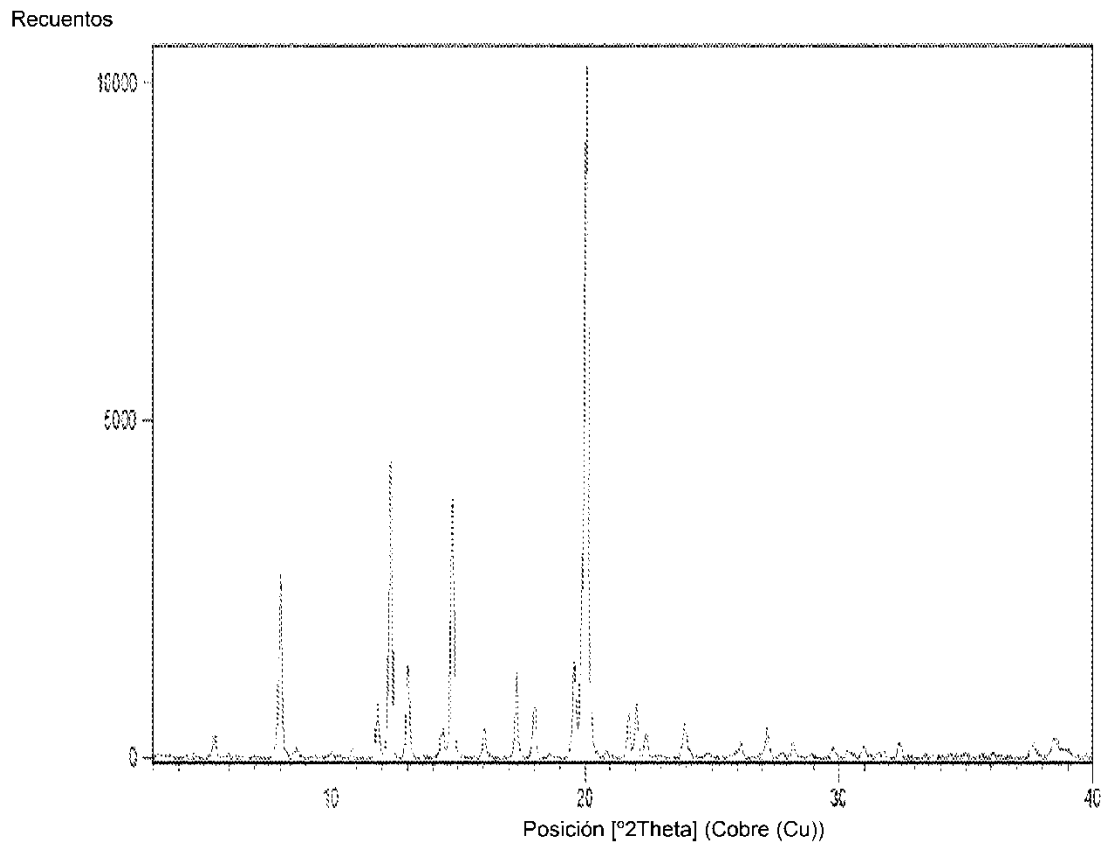


Figura 6

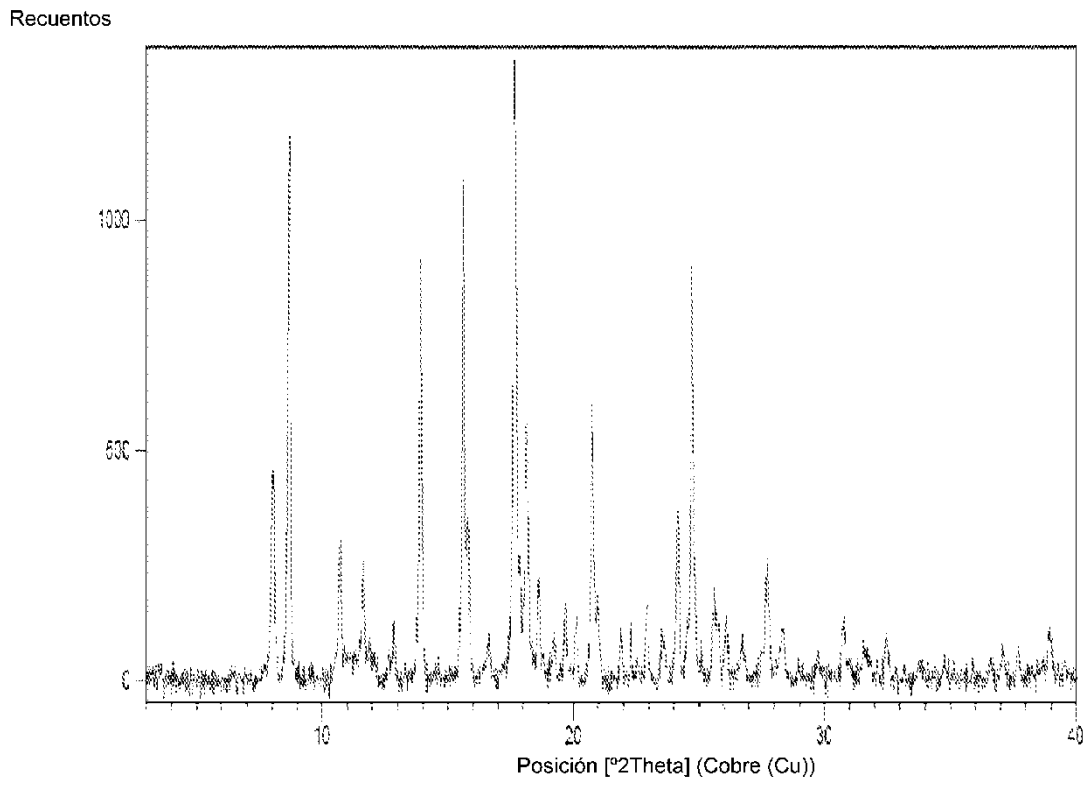


Figura 7

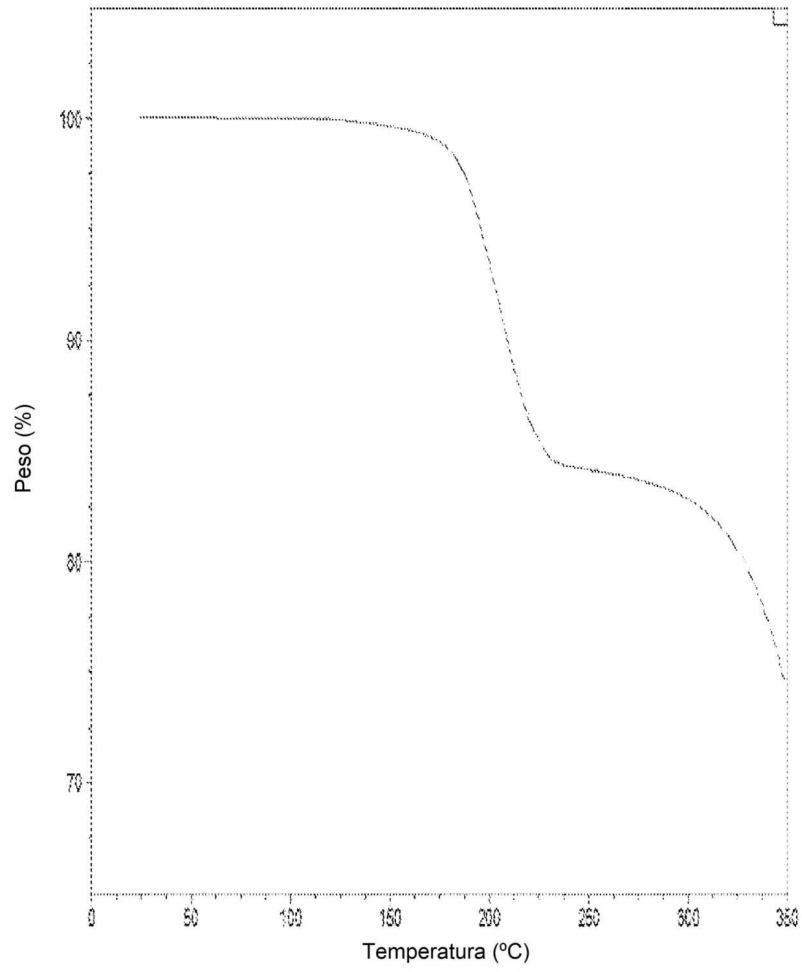


Figura 8

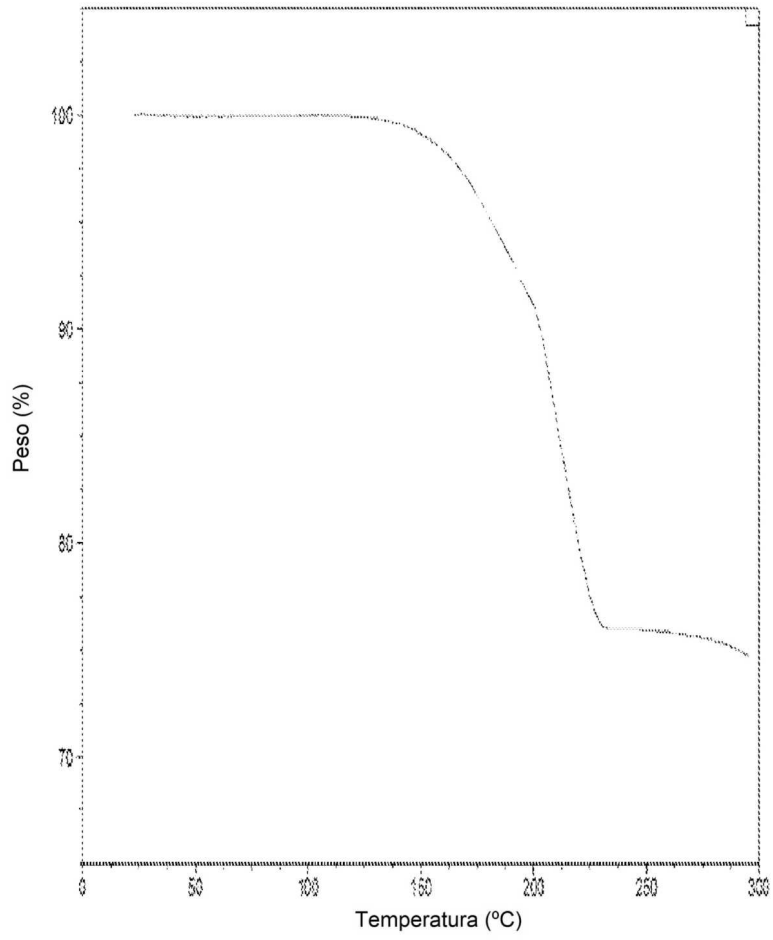


Figura 9

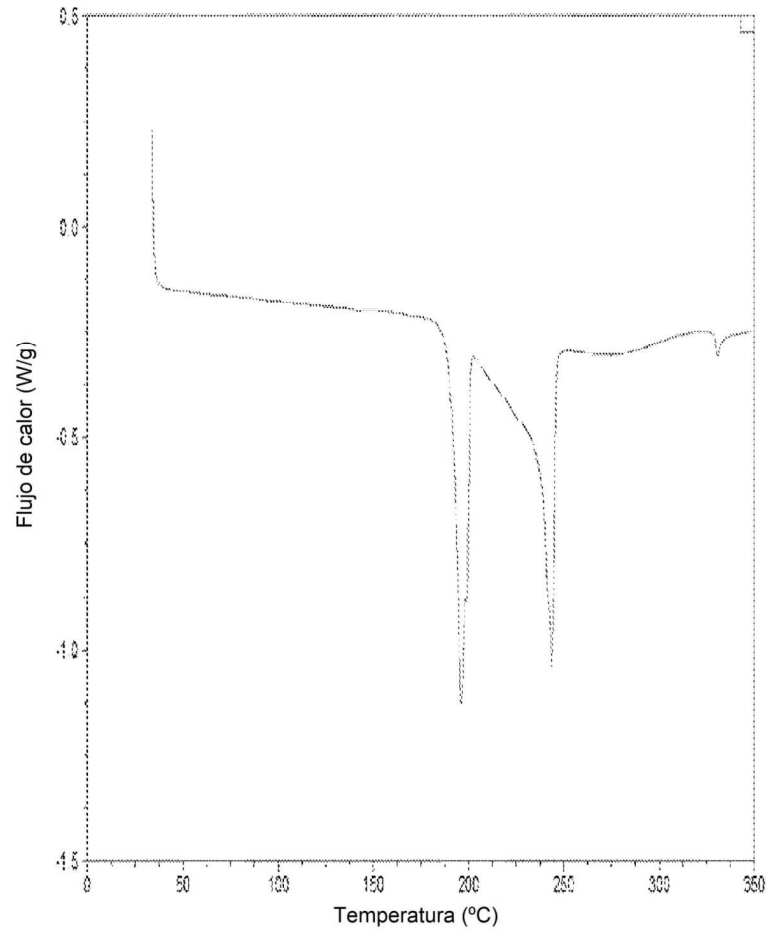


Figura 10

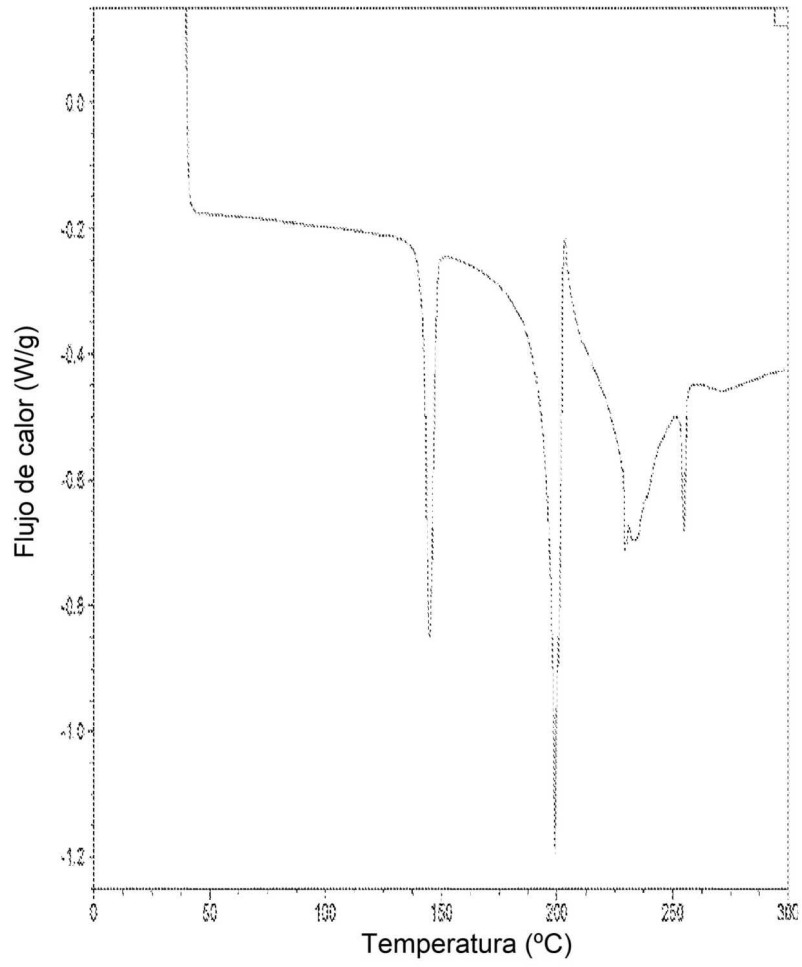


Figura 11

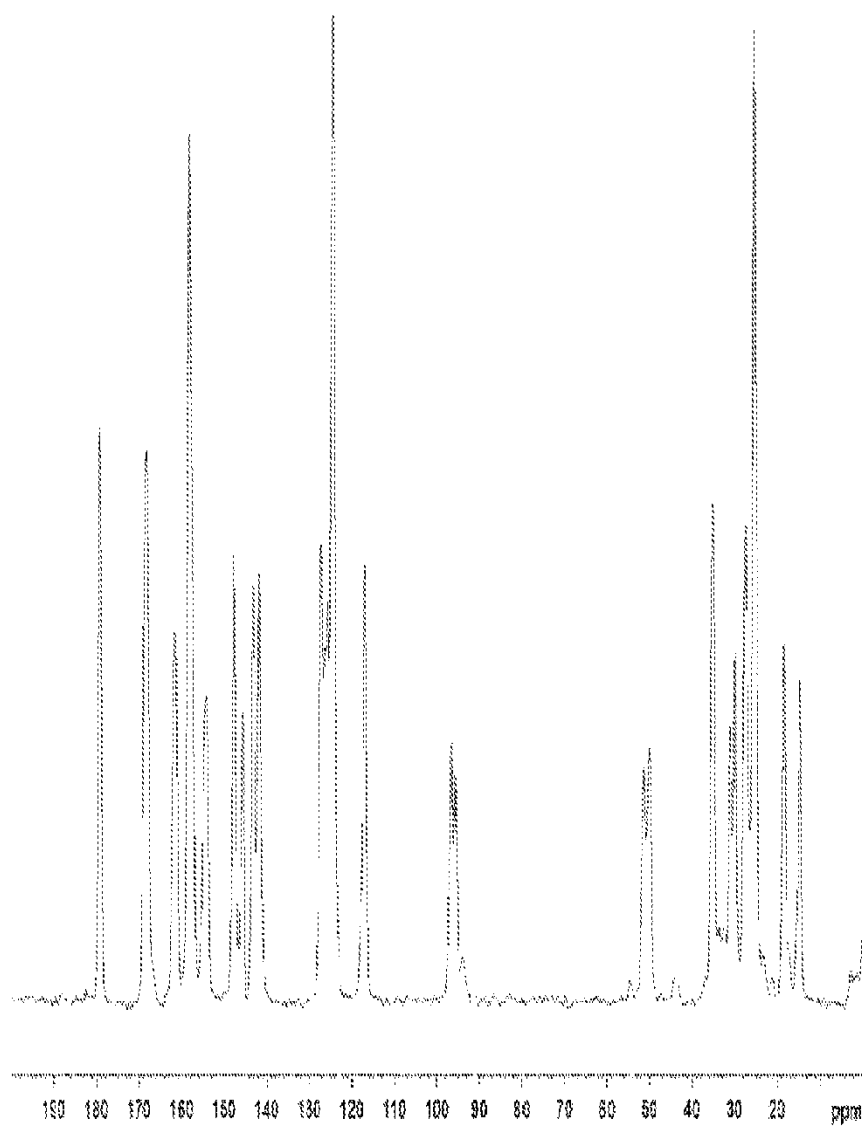


Figura 12

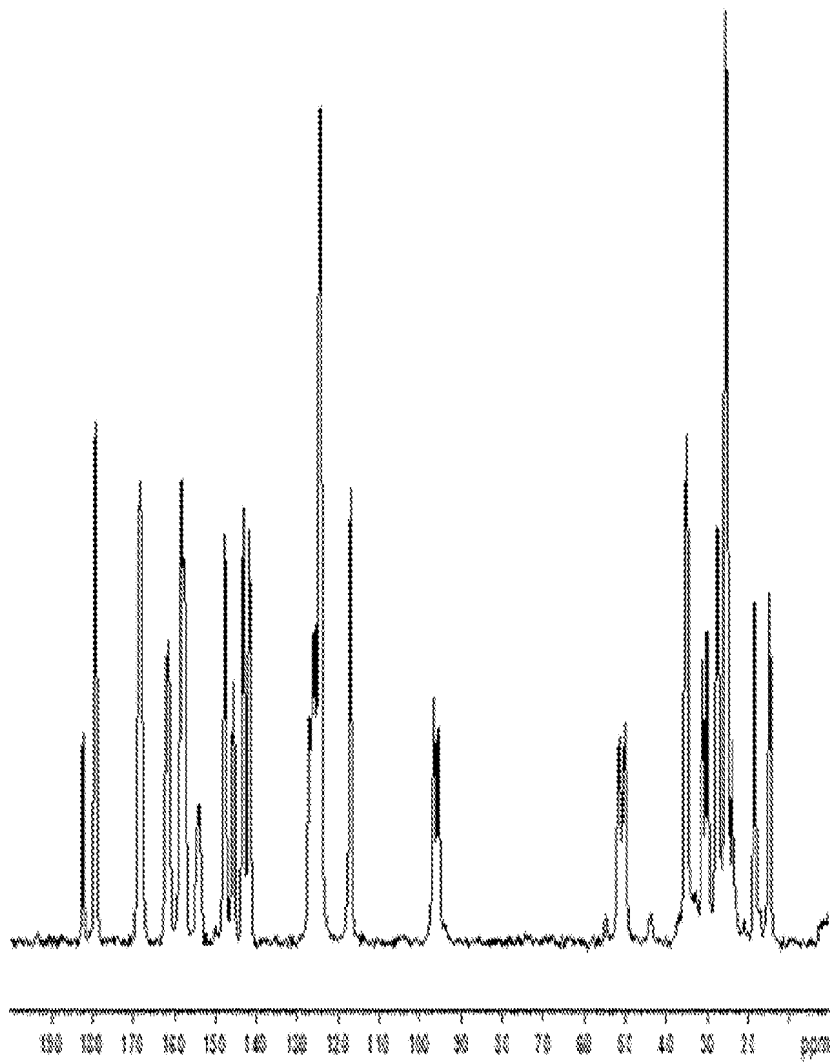


Figura 13

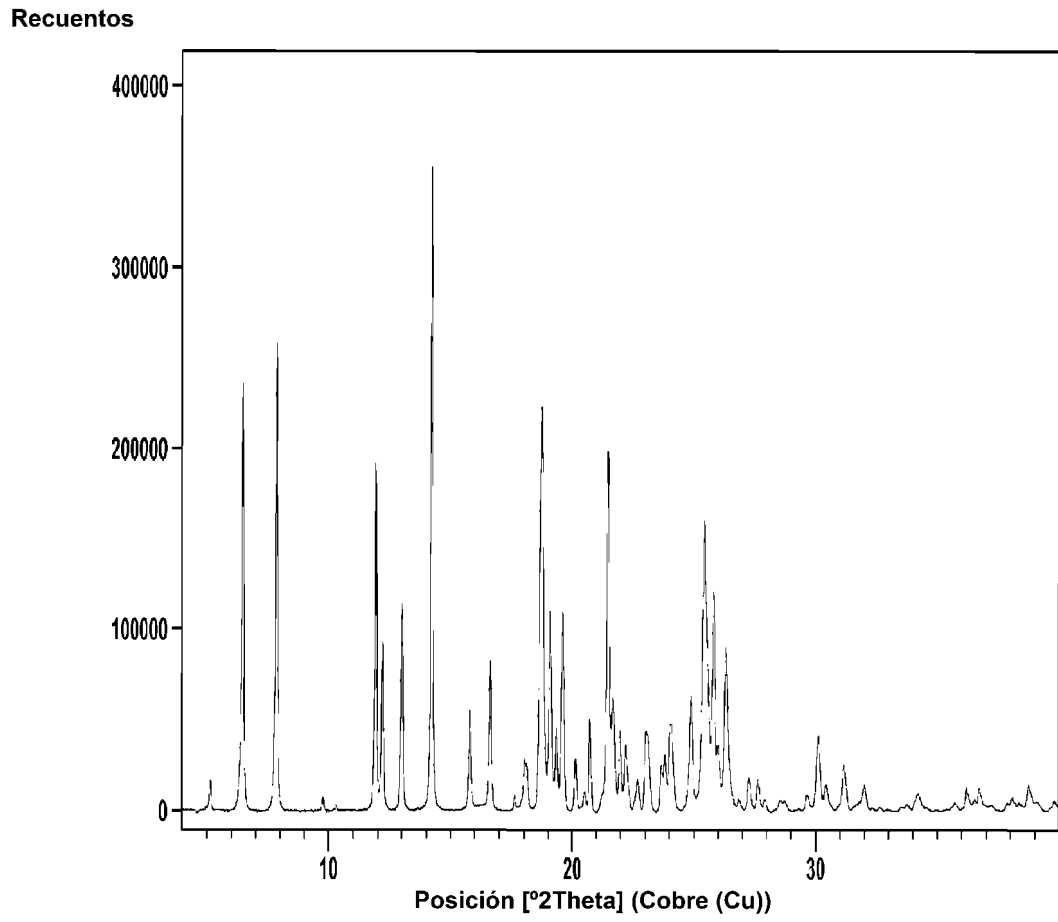


Figura 14

Recuentos

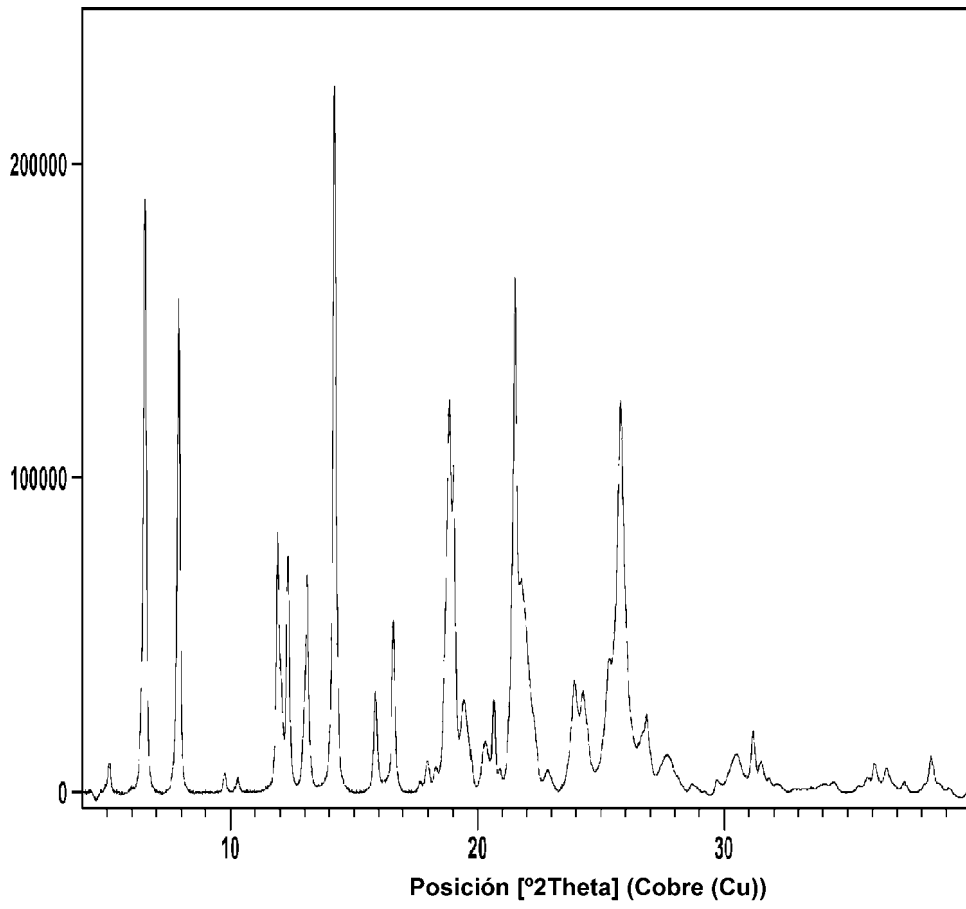


Figura 15

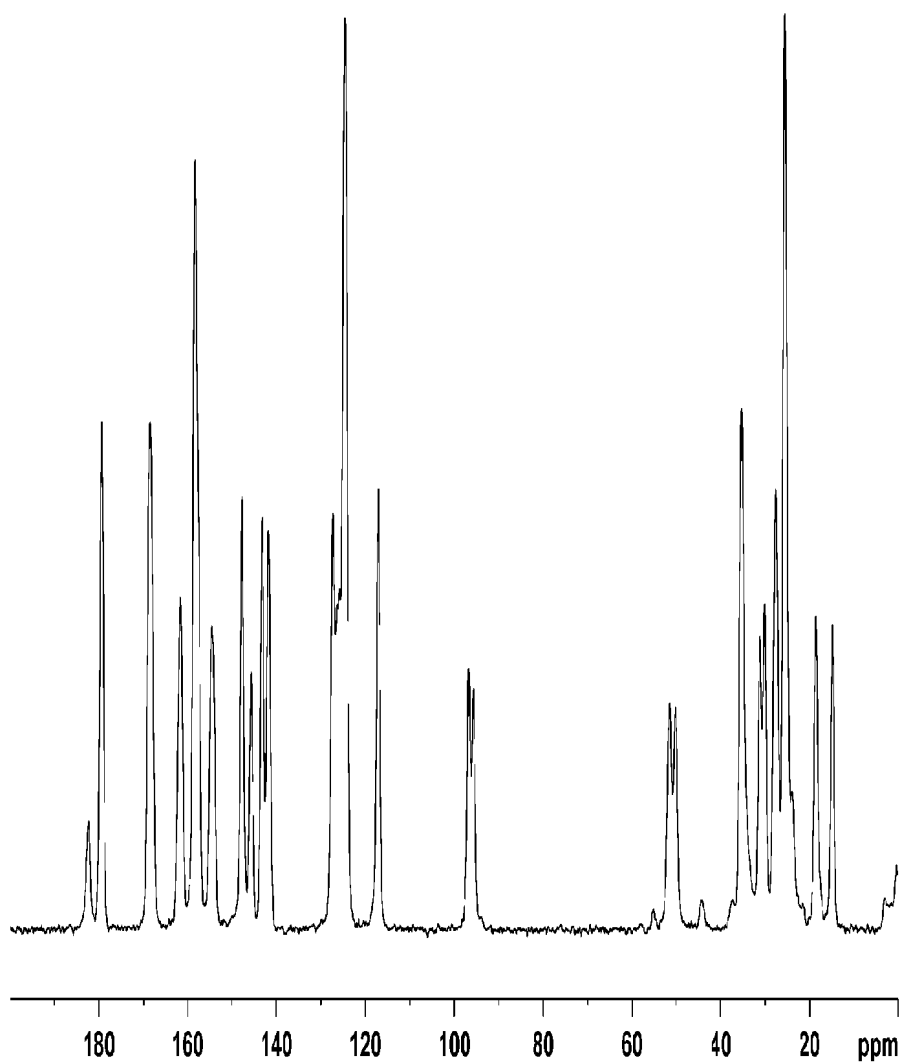


Figura 16

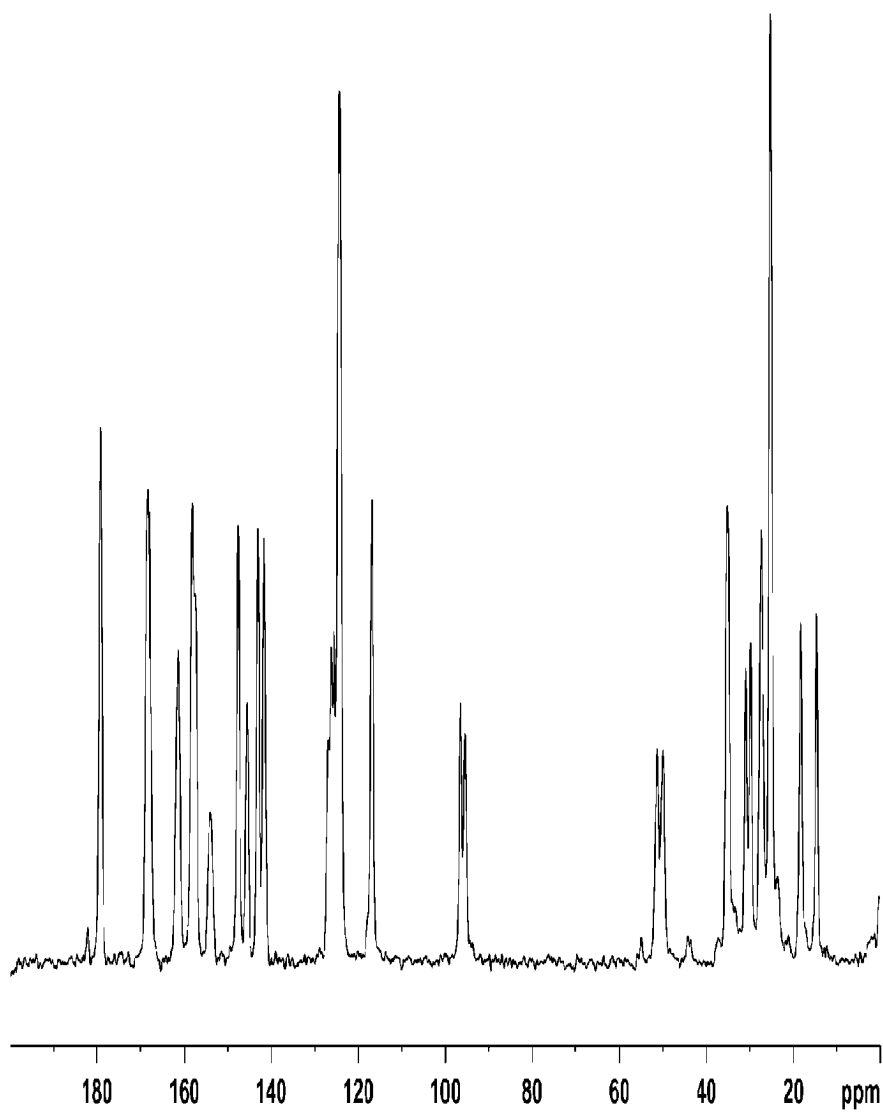


Figura 17

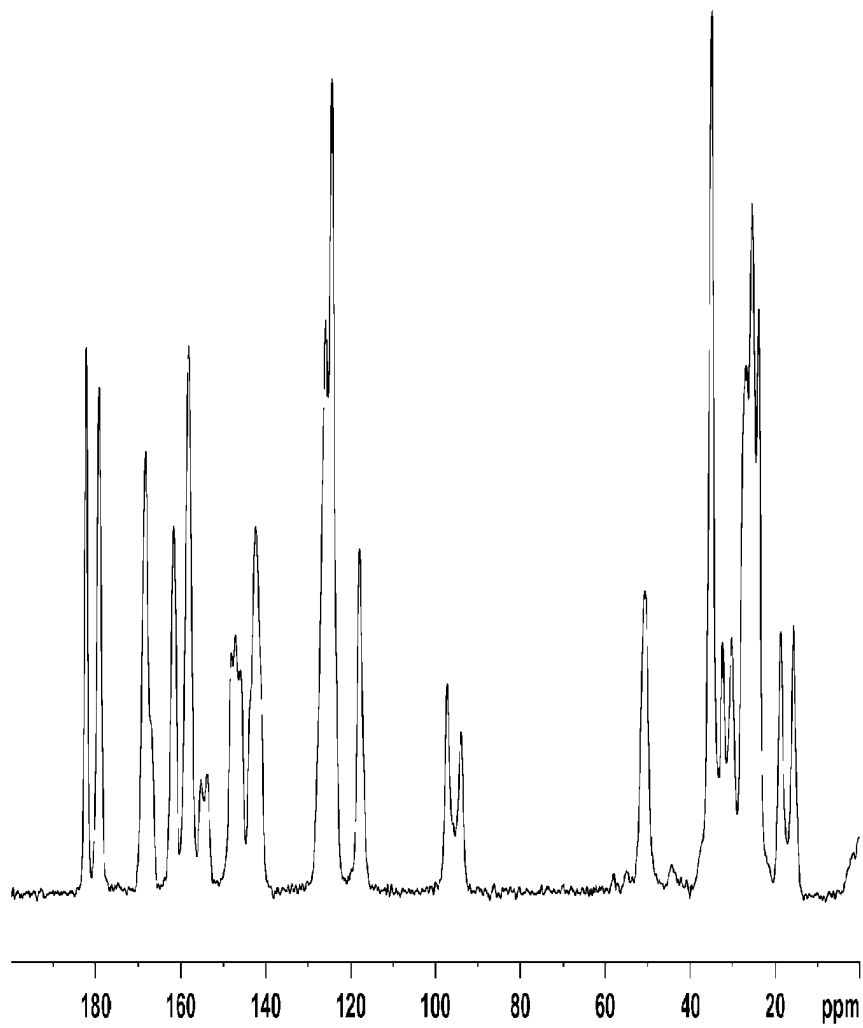


Figura 18

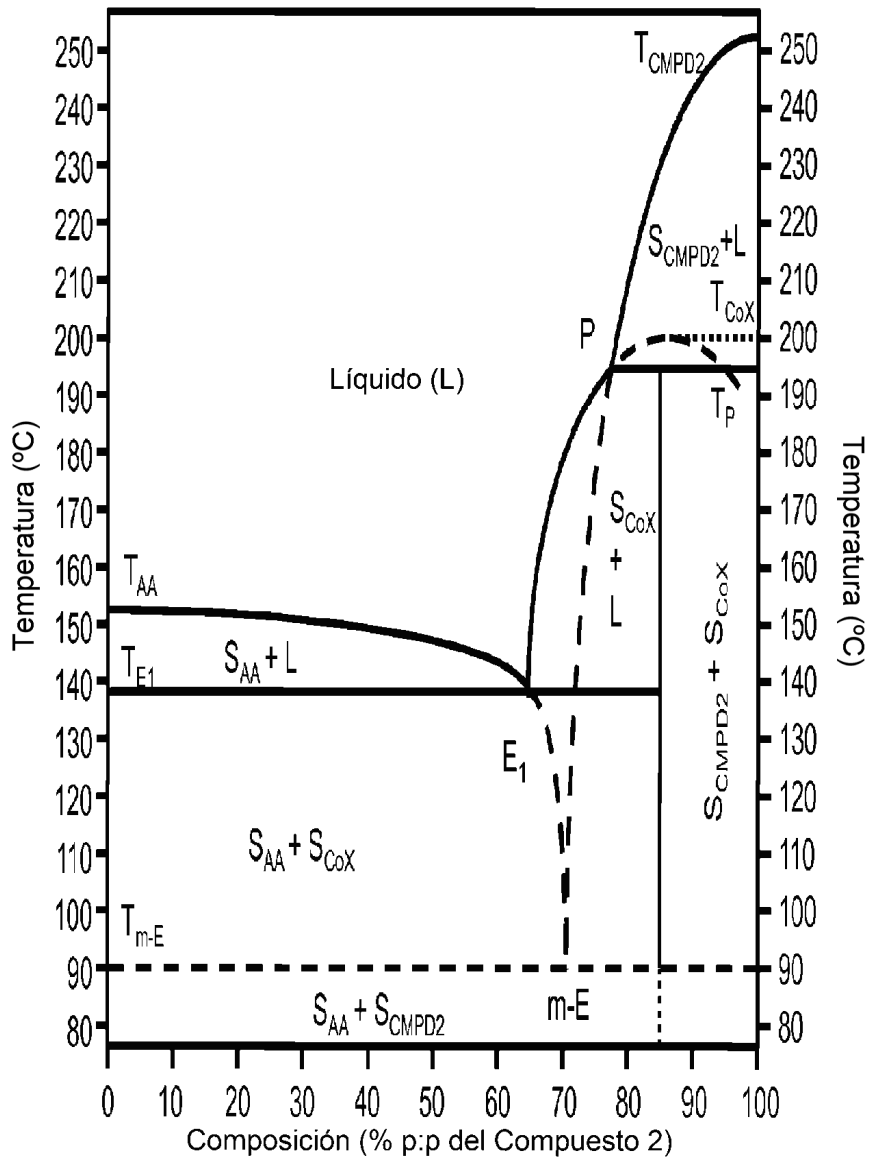


Figura 19

Solubilidad del Compuesto 2-Co-cristal de ácido adípico, base libre

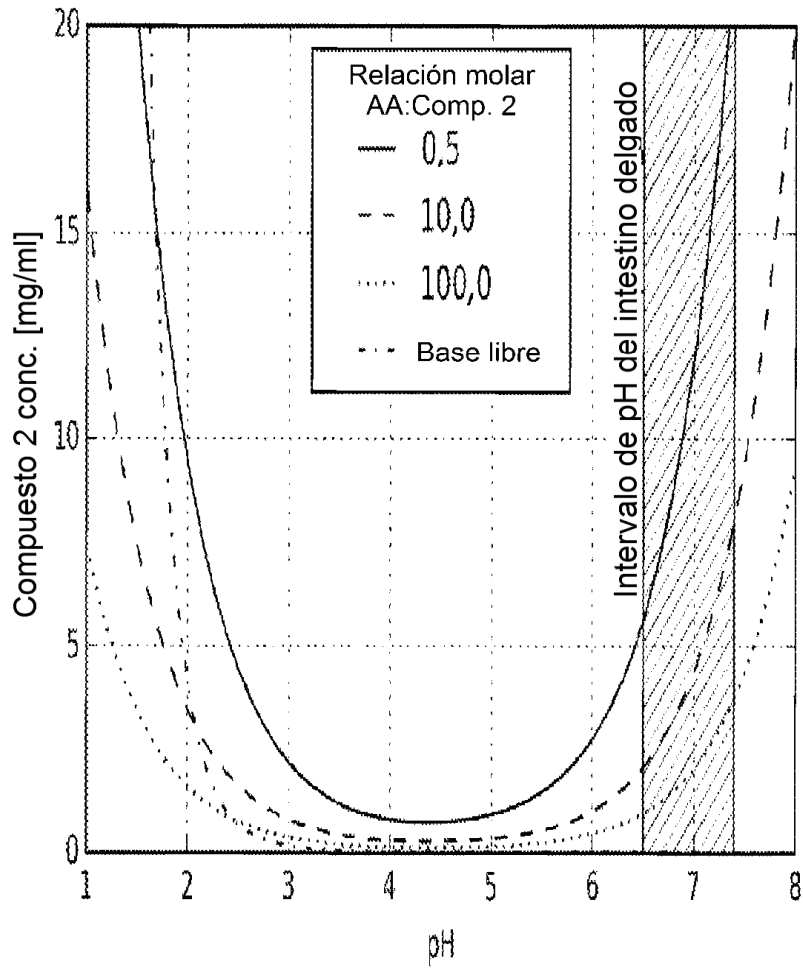


Figura 20

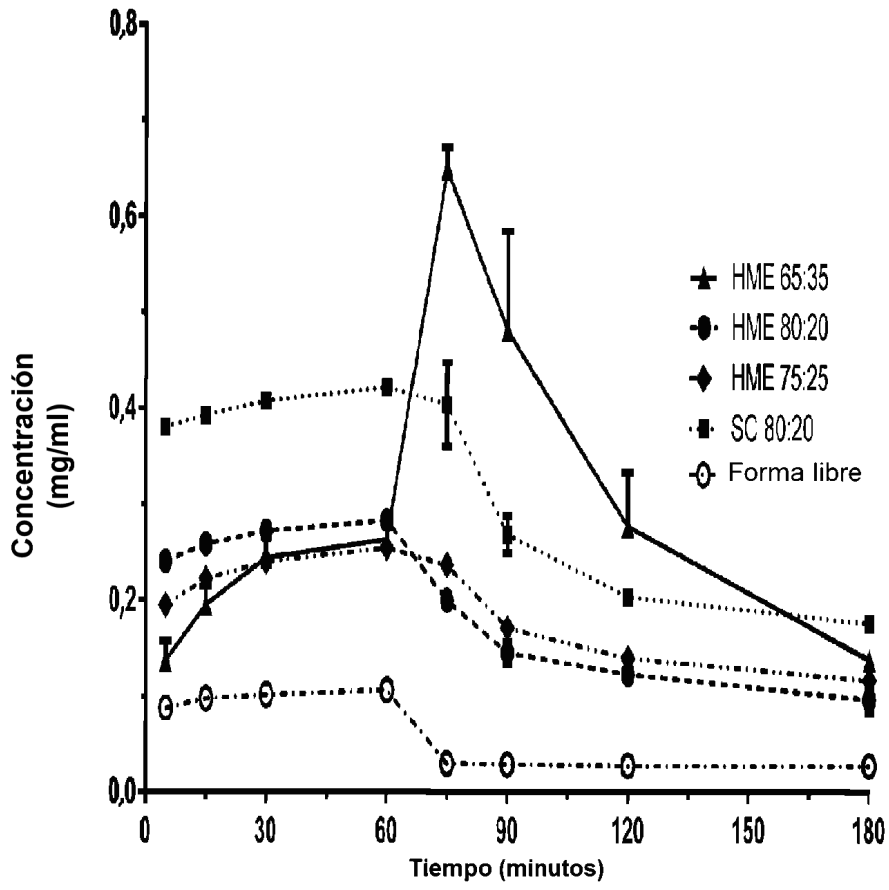


Figura 21

Biodisponibilidad del Comp. 2 predicha por la Forma API, dosis

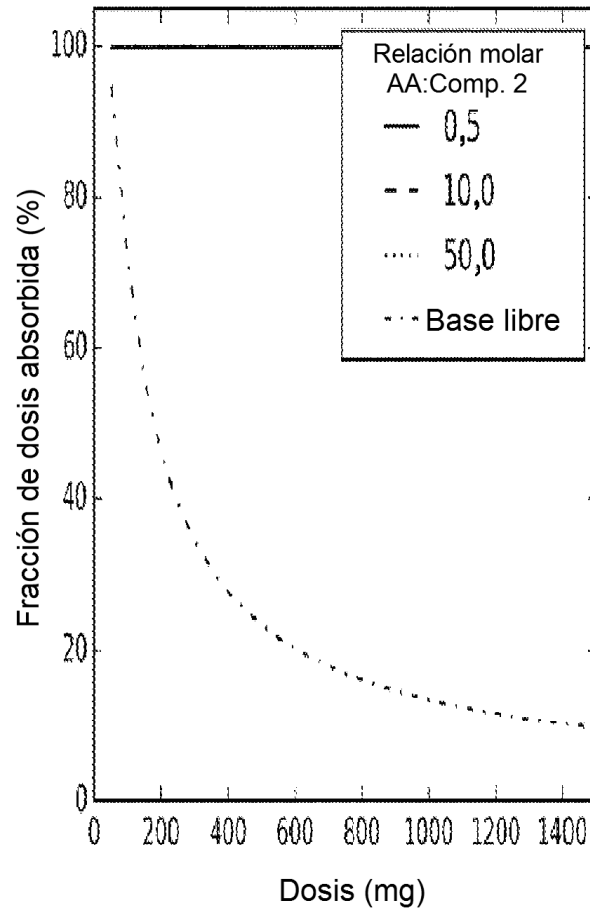


Figura 22

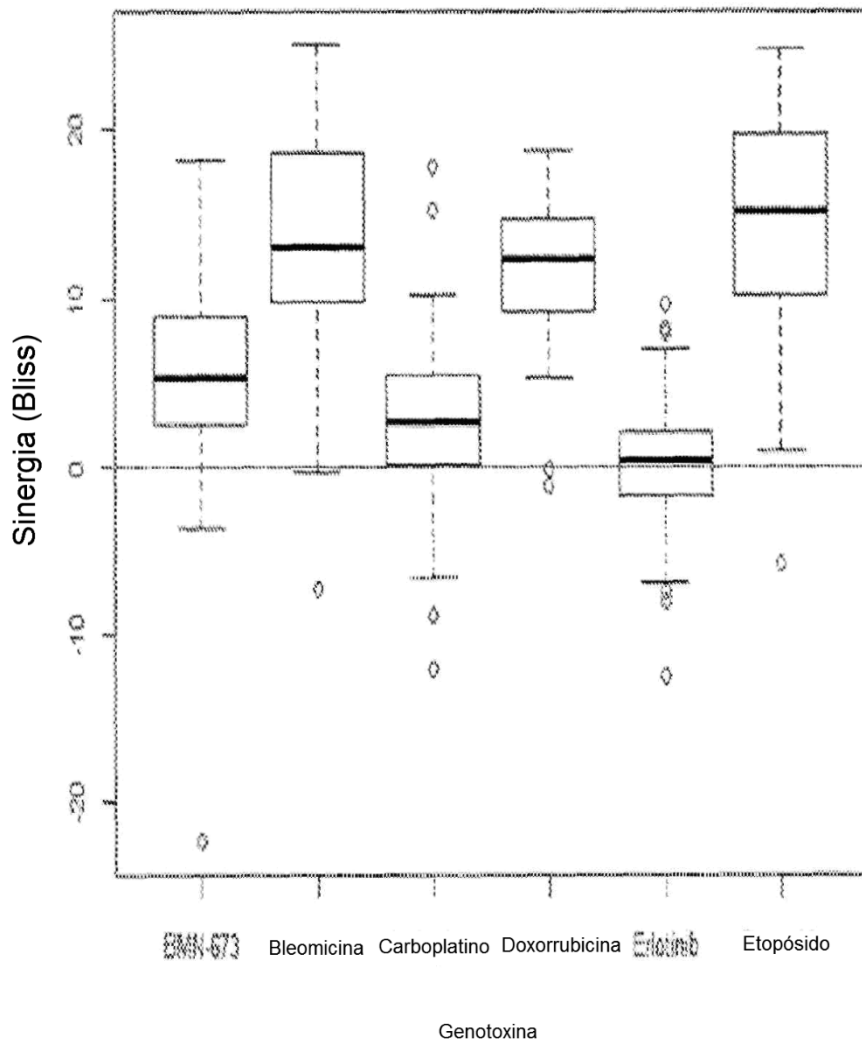


Figura 23

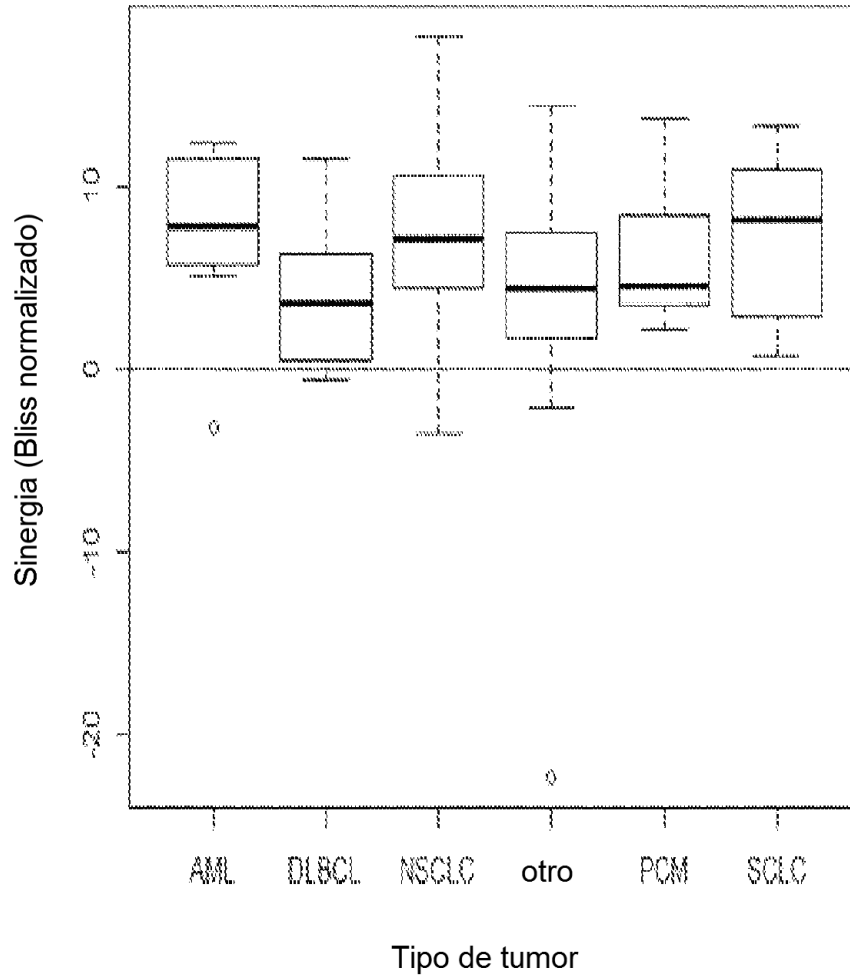


Figura 24

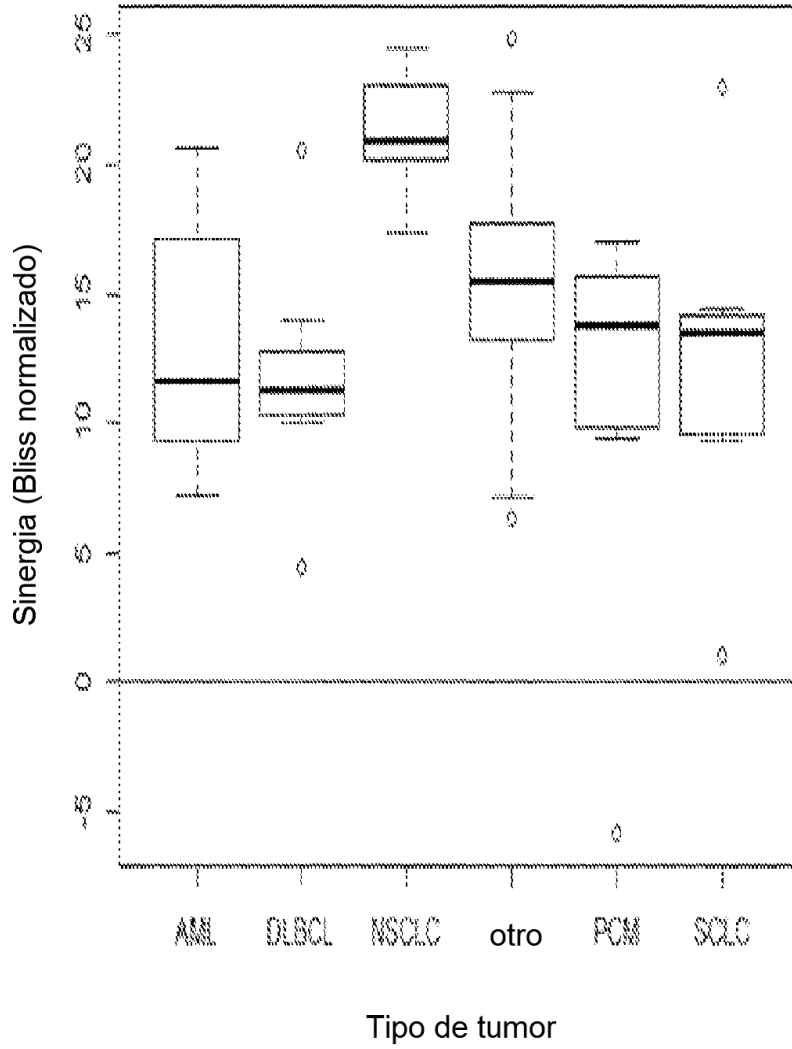


Figura 25

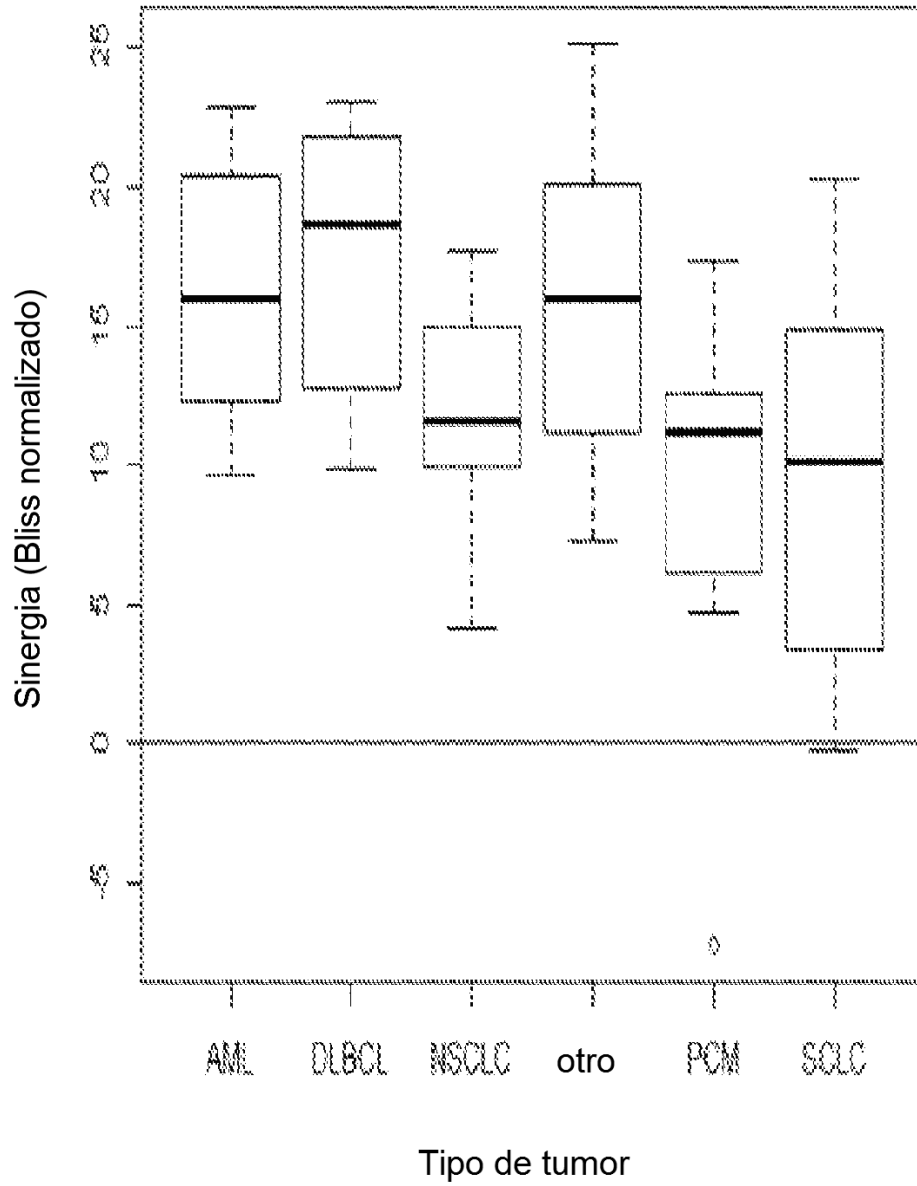


Figura 26

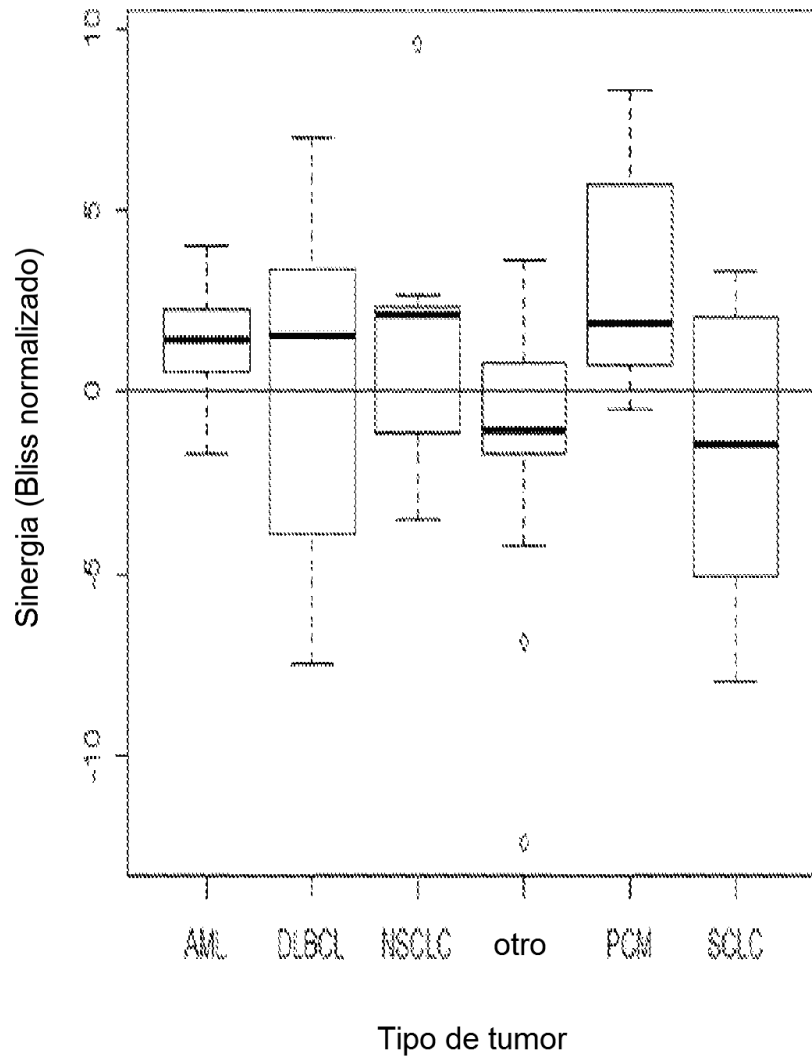


Figura 27

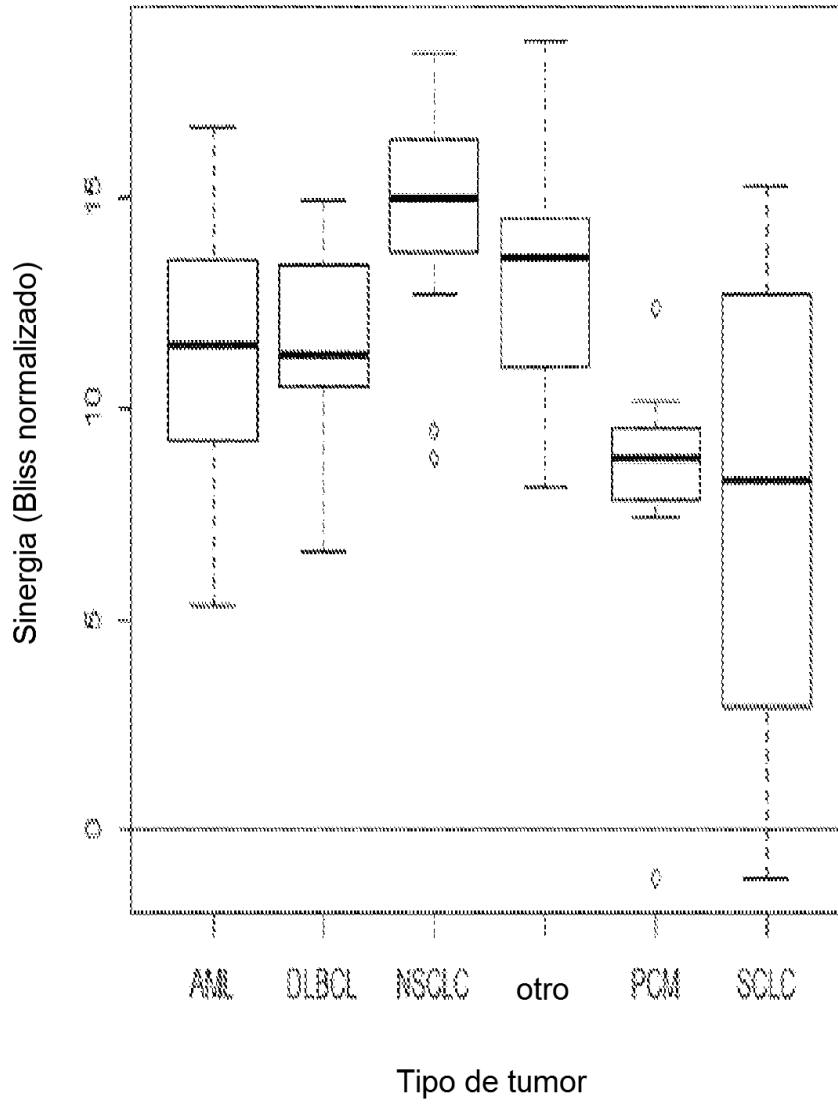


Figura 28

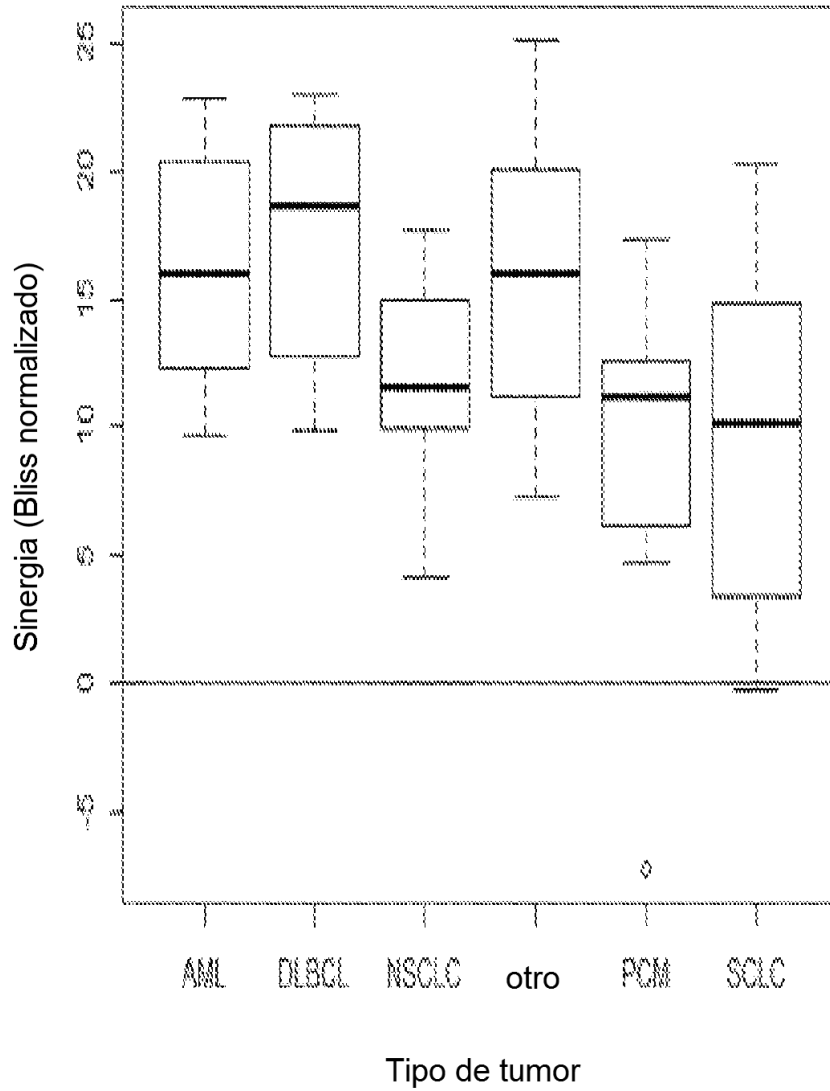


Figura 29

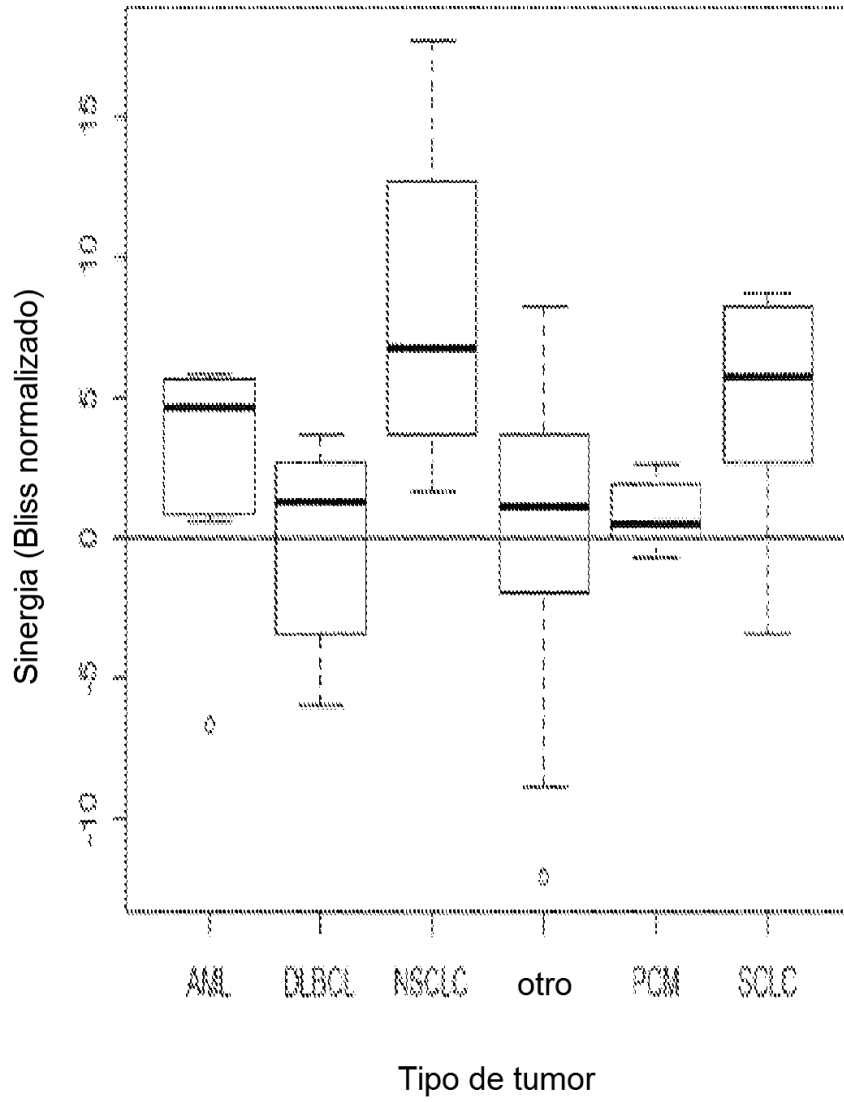


Figura 30

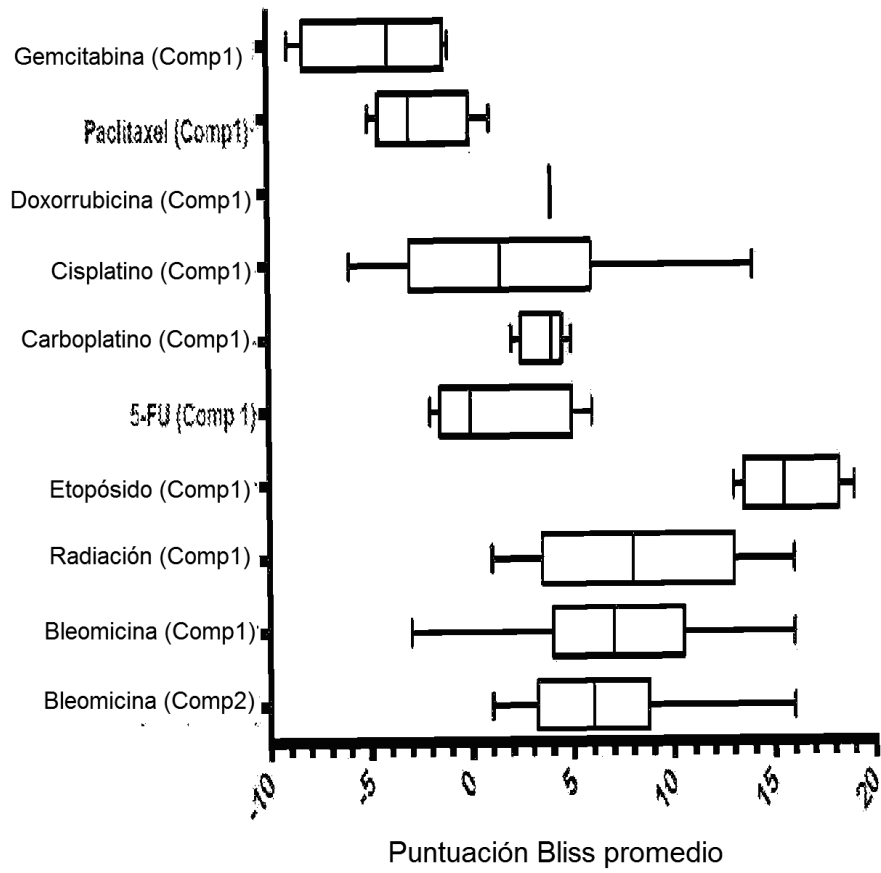


Figura 31