

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 752**

51 Int. Cl.:

C07C 309/04 (2006.01)

C07C 309/30 (2006.01)

C07D 295/15 (2006.01)

A61K 31/535 (2006.01)

C07D 295/145 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2010 PCT/US2010/056537**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.05.2011 WO11060262**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2010 E 10830787 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 2498782**

54 Título: **Formas cristalinas de compuestos miméticos de neurotrofina y sus sales**

30 Prioridad:

12.11.2009 US 260671 P

12.01.2010 US 294279 P

02.06.2010 US 350797 P

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

14.05.2019

73 Titular/es:

PHARMATROPHIX, INC. (100.0%)

2198 Sterling Avenue

Menlo Park, CA 94025, US

72 Inventor/es:

MUNIGETI, RAJGOPAL y

LONGO, FRANK M.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 712 752 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

Formas cristalinas de compuestos miméticos de neurotrofina y sus sales

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a formas cristalinas de las sales de compuestos miméticos de neurotrofina, a composiciones que comprenden las formas cristalinas, y a las formas cristalinas para su uso en el tratamiento de ciertos trastornos.

10

Antecedentes de la invención

Las neurotrofinas son polipéptidos que desempeñan un papel en el desarrollo, función, y/o supervivencia de ciertas células, incluyendo neuronas, oligodendrocitos, células de Schwann, células del foliculo piloso, y otras células. La muerte o disfunción de neuronas y otros tipos de células se ha visto implicada directamente en una diversidad de trastornos neurodegenerativos. Se ha sugerido que las alteraciones en la localización de la neurotrofina, los niveles de expresión de neurotrofinas, y/o los niveles de expresión de los receptores que se unen a las neurotrofinas están asociadas de ese modo a degeneración neuronal. La degeneración se produce en los trastornos neurodegenerativos de Alzheimer, Parkinson y ELA, entre otros. La degeneración de los oligodendrocitos se puede producir en una lesión del sistema nervioso central, esclerosis múltiple, y otras patologías.

20

Se ha identificado una diversidad de neurotrofinas, incluyendo Factor de crecimiento nervioso (NGF), Neurotrofina-3 (NT-3), Neurotrofina-4/5 (NT-4/5), Neurotrofina 6 (NT-6) y Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Se han descubierto neurotrofinas tanto en forma de precursor, conocidas como pro-neurotrofinas, como en forma madura. Las formas maduras son proteínas de aproximadamente 120 aminoácidos de longitud que existen en patologías en forma de homodímeros estables, no covalentes de aproximadamente 25 kDa. Cada monómero de neurotrofina incluye tres bucles en horquilla β expuestos a disolvente, denominados bucles 1, 2, y 4 que exhiben grados relativamente altos de conservación de aminoácidos a través de la familia de neurotrofinas.

25

Las neurotrofinas maduras se unen preferentemente a los receptores Trk y $p75^{NTR}$ (receptor de neurotrofina $p75$, también denominado receptor del factor de crecimiento nervioso de baja afinidad o LNGFR) mientras que las pro-neurotrofinas, que contienen un dominio N-terminal retirado proteolíticamente en las formas maduras, interactúan principalmente con $p75^{NTR}$ y a través de sus dominios N-terminales, con el receptor de clasificación sortilina (Fahnestock, M., *et al.* (2001) *Mol Cell Neurosci* 18, 210-220; Harrington, A. W. *et al.* (2004) *Proc Natl Acad Sci USA* 101, 6226-6230; Nykiaer, A. *et al.*, (2004) *Nature* 427, 843-848). $p75^{NTR}$ interactúa con Trks y modula la señalización de Trk, pero también se acopla independientemente a varios sistemas de señalización, incluyendo señales de pro-supervivencia, IRAK/TRAF6/NF.kappa.B, PI3/AKT, y señales pro-apoptóticas, NRAGE/JNK (Mamidipudi, V., *et al.* (2002) *J Biol Chem* 277, 28010-28018; Roux, P. P., *et al.* (2001) *J Biol Chem* 276, 23097-23104; Salehi, A. H., *et al.* (2000) *Neuron* 27, 279-288).

35

40

Cuando se administran para uso terapéutico, las neurotrofinas exhiben propiedades farmacológicas subóptimas, incluyendo una mala estabilidad con bajas semividas en suero, probablemente mala biodisponibilidad oral, y penetración restringida en el sistema nervioso central (Podulso, J. F., Curran, G. L. (1996) *Brain Res Mol Brain Res* 36,280-286; Saltzman, W. M., *et al.* (1999) *Pharm Res* 16,232-240; Partridge, W. M. (2002) *Adv Exp Med Bio* 513, 397-430). Además, los efectos altamente pleiotrópicos de las neurotrofinas conseguidos a través de la acción de una red de señalización de receptor doble aumentan las posibilidades de efectos adversos.

45

Se ha sugerido que la forma no ligada de $p75^{NTR}$ es proapoptótica, y que la homodimerización inducida por la unión de neurotrofina elimina el efecto (Wang, J. J., *et al.* (2000) *J Neurosci Res* 60, 587-593), consistente con estudios que no muestran ningún efecto en la supervivencia de ligandos $p75^{NTR}$ monoméricos, incluyendo Fabs monovalentes (Maliartchouk, S., *et al.* (2000) *J Biol Chem* 275, 9946-9956) y péptidos cíclicos monoméricos (Longo, F. M., (1997) *J Neurosci Res* 48, 1-17), mientras que las formas divalentes relacionadas en cada estudio estimulan la supervivencia celular. Sin embargo, estos ligandos monoméricos pueden no acoplarse al receptor de la misma forma que los ligandos naturales. Aunque el NGF activo es un homodímero que contiene 2 sitios de unión potenciales a $p75^{NTR}$, evidencias estructurales recientes sugieren que acopla solo una molécula de $p75^{NTR}$, anulando la unión de la otra (He, X. L., (2004) *Science* 304, 870-875).

50

55

Desafortunadamente, las consideraciones técnicas y éticas han obstaculizado de ese modo el desarrollo de agentes terapéuticos basados en neurotrofinas. Por ejemplo, técnicamente es difícil producir cantidades suficientes de neurotrofinas puras usando técnicas de ADN recombinante. Además, aunque es posible utilizar células fetales humanas para producir neurotrofinas, las ramificaciones éticas surgidas por el uso de tales células (por lo general obtenidas de un feto abortado) no han hecho sino prevenir la utilización de este enfoque. Por lo tanto, existe la necesidad insatisfecha en la técnica del desarrollo de agentes de molécula pequeña con características de tipo farmacológico favorables basadas en neurotrofinas, es decir, miméticos de neurotrofina, que sean capaces de fijar como diana receptores específicos de neurotrofina para su uso en el tratamiento de trastornos o enfermedades. Los documentos de Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos con números 2006/024072 y 2007/0060526

60

65

describen ciertos miméticos de neurotrofina.

Los expertos en la materia farmacéutica entienden que la cristalización de un ingrediente farmacéuticamente activo ofrece el mejor método de controlar importantes cualidades fisicoquímicas, tales como estabilidad, solubilidad, biodisponibilidad, tamaño de partícula, densidad aparente, propiedades de flujo, contenido polimórfico, y otras propiedades. De ese modo, existe la necesidad de formas cristalinas de miméticos de neurotrofina y de procesos para producir tales formas. Estas formas cristalinas serían adecuadas para uso farmacéutico.

El documento de Patente EP-A-0.386.611 describe una serie de derivados de aminoácido que se pueden usar para tratar infecciones virales, en particular infecciones causadas por VIH y otros retrovirus.

El documento de Patente WO 2006/113097 desvela métodos para facilitar la supervivencia celular usando miméticos de neurotrofina.

El documento de Patente EP-A-0.400.290 desvela derivados 5-amino-4-hidroxicloruro sustituidos como inhibidores de renina.

Gould *et al.* (International Journal Of Pharmaceutics, vol. 33, n.º 1-3, 1986, páginas 201-217) discuten una selección de sales para fármacos básicos.

El documento de Patente WO 96/16980 describe derivados de morfolinoetilamida que tienen actividad antirretroviral.

El documento de Patente WO 2008/107365 describe compuestos de amida de ácido hexanoico sustituidos que tienen actividad como inhibidores de renina y de ese modo son útiles para tratar trastornos mediados por el sistema renina-angiotensina (RAS).

Sumario de la invención

En una realización, la presente invención proporciona una forma cristalina de una sal de adición de ácido sulfúrico de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida, en la que la sal de adición de ácido sulfúrico exhibe un patrón de difracción de rayos X de polvo con radiación Cu-K- α que comprende picos a $21,784 \pm 0,5$; $22,468 \pm 0,5$; y $19,277 \pm 0,5$ grados dos-theta, comprendiendo además opcionalmente picos a $24,618 \pm 0,5$ y $15,499 \pm 0,5$ grados dos-theta.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina de la presente invención.

En otra realización, la presente invención proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en el tratamiento de un trastorno que implica degeneración o disfunción de células que expresan p75 que comprende administrar a un paciente con necesidad de tal tratamiento una composición que comprende la forma cristalina de la presente invención, en la que el trastorno es preferentemente un trastorno neurodegenerativo, o un trastorno seleccionado entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Pick, esclerosis lateral amiotrófica, epilepsia, enfermedad de Parkinson, lesión de la médula espinal, apoplejía, hipoxia, isquemia, lesión cerebral, neuropatía diabética, neuropatía periférica, trasplante de nervios, esclerosis múltiple, lesión de nervios periféricos, y pérdida capilar.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de la sal de di-HCl amorfa de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 2 es una superposición de los termogramas de de DSC y TGA de la sal de di-HCl amorfa de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Las Figuras 3A y 3B son gráficos de DVS de la sal de di-HCl amorfa de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 4 es un espectro de RMN H, es decir, RMN de protón, de la sal de di-HCl amorfa de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 5 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre).

La Figura 6 es una superposición de los termogramas de de DSC y TGA de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre).

La Figura 7 es un espectro de RMN H de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre).

Las Figuras 8A y 8B son espectros Raman de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre).

Las Figuras 9A y 9B son gráficos de DVS de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre).

La Figura 10 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de monosulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 11 es un termograma de DSC de monosulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Las Figuras 12A y 12B son espectros Raman de monosulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

5 La Figura 13 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 14 es un termograma de DSC de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 15 es un termograma de TGA de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

10 Las Figuras 16A y 16B son gráficos de DVS de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 17 es un espectro de RMN H de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Las Figuras 18A y 18B son espectros Raman de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

15 La Figura 19 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 20A es un termograma de DSC de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 20B es un termograma de TGA de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

20 La Figura 21A y 21B son gráficos de DVS de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 22 es un espectro de RMN H de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 23 es un espectro Raman de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

25 La Figura 24 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 25A es un termograma de DSC de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 25B es un termograma de TGA de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

30 La Figura 25B es un termograma de TGA de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 26A y 26B son gráficos de DVS de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

35 La Figura 27 es un espectro de RMN H de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 28 es un espectro Raman de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 29 es un gráfico de un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRD) de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

40 La Figura 30A es un termograma de DSC de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 30B es un termograma de TGA de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Las Figuras 31A y 31B son gráficos de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

45 La Figura 32 es un espectro de RMN H de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 33 es un espectro Raman de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

50 La Figura 34 es un gráfico de un espectro de RMN H de un estudio de estabilidad de base libre de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 35 es un gráfico de un espectro de RMN H de un estudio de estabilidad de disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 36 es un gráfico de un espectro de RMN H de un estudio de estabilidad de ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

55 La Figura 37 es un gráfico de un espectro de RMN H de un estudio de estabilidad de dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La Figura 38 es un gráfico de un espectro de RMN H de un estudio de estabilidad de monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

60 Descripción detallada de la invención

En los pacientes con trastornos relacionados con degeneración o disfunción de células que expresan p75, tales como trastornos neurodegenerativos, se pueden producir alteraciones en la localización de la neurotrofina, los niveles de expresión de neurotrofinas, los niveles de expresión de los receptores que se unen a las neurotrofinas, y/o consecuencias de señalización de receptores y funcionales. Por lo tanto, proporcionando a los pacientes que padecen tales trastornos un factor neurotrófico correspondiente o un mimético del mismo que module la función de

p75^{NTR} o la unión proNGF/NGF para prevenir la degeneración o disfunción celular, tal degeneración celular se puede aliviar o prevenir.

La presente invención se refiere a formas cristalinas de sales del compuesto mimético de neurotrofina 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Estos materiales cristalinos se pueden formular en composiciones farmacéuticas y pueden ser para su uso en el tratamiento de trastornos que implican degeneración o disfunción de células que expresan p75.

Definiciones

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se usan en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente el experto habitual en la materia a la que pertenece la presente solicitud. Aunque se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los que se describen en el presente documento en la práctica o el ensayo de la presente solicitud, en el presente documento se describen métodos y materiales representativos.

Siguiendo la antigua convención de la ley de patentes, los términos "un", "uno", "una", "el" y "la" se refieren a "uno o más" cuando se usan en la presente solicitud, incluyendo las reivindicaciones. De ese modo, por ejemplo, la referencia a "un vehículo" incluye mezclas de uno o más vehículos, dos o más vehículos, y similares.

A menos que se indique de otro modo, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc., que se usan en la memoria descriptiva y las reivindicaciones se ha de entender que están modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos que se exponen en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones anexas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se buscan obtener por parte de la presente solicitud. En general, el término "aproximadamente", como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a un valor medible tal como una cantidad de peso, tiempo, dosis, etc., pretende incluir en un ejemplo variaciones de $\pm 20\%$ o $\pm 10\%$, en otro ejemplo de $\pm 5\%$, en otro ejemplo de $\pm 1\%$, y en aún otro ejemplo de $\pm 0,1\%$ de la cantidad especificada, dado que tales variaciones son apropiadas para llevar a cabo el método desvelado.

La expresión "compuesto o compuestos de la presente invención" o "presente compuesto o compuestos" se refiere a una forma cristalina de una sal de adición de ácido sulfúrico de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida definida en el Sumario de la invención indicado anteriormente. La expresión "2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida" se refiere a las formas cristalinas de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida que se describen en la solicitud incluyendo una forma cristalina de cualquier enantiómero individual de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida, una mezcla de dos enantiómeros cualesquiera de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida, una mezcla de tres enantiómeros cualesquiera de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida, y una mezcla de cuatro enantiómeros cualesquiera de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

El polimorfismo se puede caracterizar como la capacidad de un compuesto para cristalizar en diferentes formas cristalinas, mientras que mantiene la misma fórmula química. Un polimorfo cristalino de una sustancia farmacológica dada es un compuesto químico idéntico a cualquier otro polimorfo cristalino de esa sustancia farmacológica en que contiene los mismos átomos unidos entre sí de la misma forma, pero difiere en sus formas cristalinas, lo que puede afectar a una o más propiedades físicas, tales como estabilidad, solubilidad, punto de fusión, densidad aparente, propiedades de flujo, biodisponibilidad, etc.

El término "composición" indica una o más sustancias en forma física, tales como sólido, líquido, gas, o una mezcla de los mismos. Un ejemplo de composición es una composición farmacéutica, es decir, una composición relacionada con, preparada para, o usada en un tratamiento médico.

La expresión "ácido carboxílico" se refiere a un ácido orgánico caracterizado por uno o más grupos carboxilo, tales como ácido acético y ácido oxálico. "Ácido sulfónico" se refiere a un ácido orgánico con la fórmula general de $R-(S(O)_2-OH)_n$, en la que R es un resto orgánico y n es un número entero superior a cero, tal como 1, 2, y 3. El término "polihidroxiácido" se refiere a un ácido carboxílico que contiene dos o más grupos hidroxilo. Algunos ejemplos de polihidroxiácidos incluyen, pero no se limitan a, ácido lactobiónico, ácido glucónico, y galactosa.

"Compuesto mimético de neurotrofina" indica un compuesto orgánico que recuerda la función o actividad biológica de la neurotrofina.

Como se usa en el presente documento, "farmacéuticamente aceptable" significa adecuado para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin indebida toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similar, de acuerdo con una proporción beneficio/riesgo razonable, y eficaz para su uso pretendido dentro del ámbito del juicio médico razonable.

"Sales" incluye derivados de un agente activo, en los que el agente activo está modificado por preparación de sales de adición de ácido o de base del mismo. Preferentemente, las sales son sales farmacéuticamente aceptables. Tales sales incluyen, pero no se limitan a, sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, sales de adición de base farmacéuticamente aceptables, sales de metal farmacéuticamente aceptables, y sales de amonio y amonio alquilado. Las sales de adición de ácido incluyen sales de ácidos inorgánicos así como de ácidos orgánicos. Algunos ejemplos representativos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, sulfúrico, nítrico y similares. Algunos ejemplos representativos de ácidos orgánicos adecuados incluyen los ácidos fórmico, acético, tricloroacético, trifluoroacético, propiónico, benzoico, cinámico, cítrico, fumárico, glucólico, láctico, maleico, málico, malónico, mandélico, oxálico, cítrico, pirúvico, salicílico, succínico, metanosulfónico, etanosulfónico, tartárico, ascórbico, pamoico, bismetilensalicílico, etanodisulfónico, glucónico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, AEDT, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, sulfatos, nitratos, fosfatos, percloratos, boratos, acetatos, benzoatos, hidroxinaftoatos, glicerofosfatos, cetoglutaratos y similares. Las sales de adición de base incluyen, pero no se limitan a, etilendiamina, N-metilglucamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N-bencilfenetilamina, dietilamina, piperazina, tris-(hidroximetil)-aminometano, hidróxido de tetrametilamonio, trietilamina, dibencilamina, efenamina, dehidroabietilamina, N-etilpiperidina, bencilamina, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, aminoácidos básicos, por ejemplo, lisina y arginina, diciclohexilamina y similares. Algunos ejemplos de sales de metal incluyen las sales de litio, sodio, potasio, magnesio y similares. Algunos ejemplos de sales de amonio y amonio alquilado incluyen las sales de amonio, metilamonio, dimetilamonio, trimetilamonio, etilamonio, hidroxietilamonio, dietilamonio, butilamonio, tetrametilamonio y similares. Algunos ejemplos de bases orgánicas incluyen lisina, arginina, guanidina, dietanolamina, colina y similares. Los métodos convencionales para la preparación de sales farmacéuticamente aceptables y sus formulaciones se conocen bien en la técnica, y se desvelan en diversas referencias, incluyendo, por ejemplo, "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", A. Gennaro, ed., 20ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

Como se usa en el presente documento, "solvato" significa un complejo formado por solvatación (la combinación de moléculas de disolvente con moléculas o iones del agente activo de la presente invención), o un agregado que consiste en un ion o molécula del soluto (el agente activo de la presente invención) con una o más moléculas de disolvente. En la presente invención, el solvato preferente es el hidrato. Algunos ejemplos de hidrato incluyen, pero no se limitan a, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, hexahidrato, etc. El experto habitual en la materia ha de entender que la sal farmacéuticamente aceptable del presente compuesto también puede existir en forma de solvato. El solvato se forma por lo general a través de hidratación que es parte de la preparación del presente compuesto o a través de absorción natural de humedad por parte del compuesto anhidro de la presente invención. Los solvatos incluyendo los hidratos pueden consistir en proporciones estequiométricas, por ejemplo, con dos, tres, cuatro moléculas de sal por solvato o por molécula de hidrato. Otra posibilidad, por ejemplo, es que dos moléculas de sal estén relacionadas estequiométricamente con tres, cinco, siete moléculas de disolvente o hidrato. Los disolventes que se usan para la cristalización, tales como alcoholes, en especial metanol y etanol; aldehídos; cetonas, en especial acetona; ésteres, por ejemplo acetato de etilo; se pueden incorporar a la estructura cristalina. Son preferentes los disolventes farmacéuticamente aceptables.

La expresión "básicamente similar" como se usa en el presente documento significa un espectro analítico, tal como un patrón de XRD, espectroscopia Raman, etc., que recuerda el espectro de referencia en gran medida tanto en las ubicaciones de los picos como en su intensidad.

Los términos "excipiente", "portador", y "vehículo" se usan de forma intercambiable en la presente solicitud e indican una sustancia con la que se puede administrar un compuesto de la presente invención.

"Cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de una forma cristalina que, cuando se administra a un paciente para tratar una enfermedad u otra afección médica indeseable, es suficiente para tener un efecto beneficioso con respecto a esa enfermedad o afección. La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo de la forma cristalina, la enfermedad o afección y su gravedad, y la edad, peso, etc. del paciente que se va a tratar. La determinación de la cantidad terapéuticamente eficaz de una forma cristalina dada está dentro de la habilidad habitual en la técnica y no requiere más que experimentación de rutina.

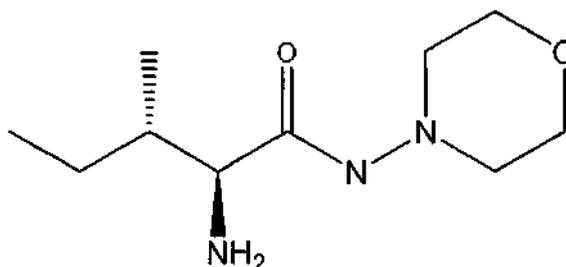
Como se usa en el presente documento, la expresión "un trastorno que implica degeneración o disfunción de células que expresan p75" incluye, pero no se limita a, trastornos relacionados con la regulación positiva de p75. Tales trastornos incluyen trastornos neurodegenerativos así como afecciones que implican degeneración de células que expresan p75^{NTR}, tales como pérdida de cabello. Dentro del sistema nervioso, el receptor de p75 se expresa en diversos tipos celulares que incluyen neuronas, oligodendrocitos, astrocitos. Los compuestos que fijan como diana los receptores de p75 expresados por las neuronas se pueden usar para prevenir la pérdida de función, degeneración y/o muerte de las neuronas en una diversidad de trastornos del sistema nervioso que incluyen (pero no se limitan a) enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, apoplejía, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, epilepsia, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, neuropatías y diversas formas de degeneración retiniana. En cada uno de estos trastornos, se ven afectadas neuronas que expresan p75.

Materiales cristalinos

En una realización, la presente invención proporciona una forma cristalina de una sal de adición de ácido sulfúrico de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida. Algunos ejemplos de la sal cristalina incluyen, pero no se limitan a, monosulfato y disulfato.

El Esquema A muestra la estructura química de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)pentanamida:

Esquema A



10

En una realización, la forma cristalina se caracteriza por intervalos de plano reticular determinados por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRDP). El espectro de XRDP está representado por lo general por un diagrama que representa la intensidad de los picos frente a la ubicación de los picos, es decir el ángulo de difracción 2θ (dos-theta) en grados. Las intensidades se dan a menudo entre paréntesis con las siguientes abreviaturas: muy fuerte = vst; fuerte = v; media = m; débil = w; y muy débil = vw. Los picos característicos de un XRDP dado se pueden seleccionar de acuerdo con la ubicación de los picos y su intensidad relativa para distinguir convenientemente esta estructura cristalina de otras.

15

Los expertos en la materia reconocerán que las mediciones de la ubicación y/o la intensidad de los picos de XRDP para una forma cristalina dada del mismo compuesto variarán dentro de un margen de error. Los valores en grados 2θ permiten márgenes de errores apropiados. Por lo general, los márgenes de error están representados por " \pm ". Por ejemplo, los grados 2θ de aproximadamente " $8,716 \pm 0,3$ " indican un intervalo de aproximadamente $8,716 + 0,3$, es decir, aproximadamente 9,016, a aproximadamente $8,716 - 0,3$, es decir, aproximadamente 8,416.

Dependiendo de las técnicas de preparación de muestras, las técnicas de calibración aplicadas a los instrumentos, la variación de la operación humana, etc., los expertos en la materia reconocen que los márgenes de error apropiados para un XRDP pueden ser $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$; o menos.

Detalles adicionales de los métodos y los equipos usados para el análisis por XRDP se describen en la sección de Ejemplos.

30

La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un XRDP que comprende picos a 8,716; 15,438; y 19,198 grados dos-theta con un margen de error de $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$ o menos. El XRDP de la forma cristalina puede comprender además picos a 20,912 y 20,599 grados dos-theta con un margen de error de $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$; o menos. La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un XRDP que comprende los picos que se muestran en la tabla siguiente:

35

Tabla 1. Tabla de XRDP de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida

Angulo 2-Theta°	Valor d Angstrom	Intensidad %
8,716	10,13693	53,2 (vst)
15,438	5,73486	100,0 (vst)
16,554	5,35074	7,0 (w)
17,514	5,05977	15,3 (m)
18,358	4,82894	8,6 (w)
19,198	4,61948	30,4 (vst)
19,773	4,48646	17,8 (m)
20,126	4,40854	9,0 (w)
20,599	4,30831	20,8 (st)

Angulo 2-Theta°	Valor d Angstrom	Intensidad %
20,912	4,24452	27,7 (st)
22,391	3,96741	5,6 (w)
23,200	3,83088	11,5 (m)
23,867	3,72529	7,4 (w)
24,390	3,64661	11,4 Cm)
25,709	3,46243	14,3 (m)
26,387	3,37497	13,0 (m)
29,629	3,01264	4,9 (vw)
30,822	2,89872	4,8 (vw)
31,270	2,85819	4,9 (vw)

La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un XRDP que es básicamente similar a la Figura 5. El compuesto 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede ser ((2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2- morfolinoetil)-pentanamida.

5 En una realización, la forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2 morfolinoetil)-pentanamida exhibe un XRDP que comprende picos a 25,306 y 27,027 grados dos-theta con un margen de error de $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$; o menos. En otra realización, el XRDP de la forma cristalina, comprende además un pico a aproximadamente 17,449 grados dos-theta con un margen de error de $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$; o menos.

En otra realización más, la forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un XRDP que comprende los picos que se muestran en la tabla siguiente:

15 **Tabla 2.** Tabla de XRDP de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Angulo 2-Theta°	Valor d Angstrom	Intensidad %
17,449	5,07811	43,3 (vst)
25,306	3,51657	100,0 (vst)
27,027	3,29634	72,7 (vst)

En una realización específica, la forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un XRDP que es básicamente similar a la Figura 10. En otra realización específica, el compuesto monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito en las realizaciones anteriores es monosulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En una realización, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un XRDP que comprende picos a 21,784; 22,468; y 19,277 grados dos-theta con un margen de error de $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$; o menos. En otra realización, el XRDP de la forma cristalina comprende además picos a 24,618 y 15,499 grados dos-theta con un margen de error de $\pm 0,5$; $\pm 0,4$; $\pm 0,3$; $\pm 0,2$; $\pm 0,1$; $\pm 0,05$; o menos. En otra realización más, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un XRDP que comprende los picos que se muestran en la tabla siguiente:

25 **Tabla 3.** Tabla de XRDP de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Angulo 2-Theta°	Valor d Angstrom	Intensidad %
8,572	10,30642	7,9(w)
10,390	8,50740	5,5(w)
15,499	5,71227	16,6(w)
18,550	4,77929	9,7(w)
19,277	4,60050	32,6(w)
20,208	4,39062	19,9 (w)
21,784	4,07644	100,0 (vst)

Angulo 2-Theta°	Valor d Angstrom	Intensidad %
22,468	3,95387	44,7 (vst)
24,618	3,61237	23,5 (st)
26,472	3,36417	12,1 (m)
27,178	3,27837	12,3 (m)
28,107	3,17216	9,6 (w)

En una realización específica, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un XRDP que es básicamente similar a la Figura 13. En otra realización específica, el compuesto disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito en las realizaciones anteriores es disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En una realización, las formas cristalinas se caracterizan por espectroscopia Raman. El espectro Raman se representa por lo general mediante un diagrama que representa la intensidad Raman de los picos frente al desplazamiento Raman de los picos. Los "picos" de la espectroscopia Raman también se conocen como "bandas de absorción". Las intensidades a menudo se dan entre paréntesis con las siguientes abreviaturas: fuerte = st; media = m; y débil = w. Los picos característicos de un espectro Raman dado se pueden seleccionar de acuerdo con las ubicaciones de los picos y su intensidad relativa para distinguir convenientemente esta estructura cristalina de otras.

Los expertos en la materia reconocerán que las mediciones de los desplazamientos y/o la intensidad de picos Raman para una forma cristalina dada del mismo compuesto variarán dentro de un margen de error. Los valores del desplazamiento del pico, expresados en números de onda recíprocos (cm^{-1}), permiten márgenes de error apropiados. Por lo general, los márgenes de error se representan mediante " \pm ". Por ejemplo, un desplazamiento Raman de aproximadamente " 1310 ± 10 " indica un intervalo de aproximadamente $1310 + 10$, es decir, aproximadamente 1320, a aproximadamente $1310 - 10$, es decir, aproximadamente 1300. Dependiendo de las técnicas de preparación de muestras, las técnicas de calibración aplicadas a los instrumentos, las variaciones operacionales humanas, etc., los expertos en la materia reconocen que los márgenes de error apropiados para un desplazamiento Raman pueden ser ± 12 ; ± 10 ; ± 8 ; ± 5 ; ± 3 ; ± 1 ; o menos.

Se describen detalles adicionales de los métodos y equipos usados para los análisis por espectroscopia Raman en la sección de Ejemplos.

La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un espectro Raman que comprende picos a $2964(\text{s})$; $2873(\text{s})$; y $1451(\text{s}) \text{ cm}^{-1}$ con un margen de error de ± 12 ; ± 10 ; ± 8 ; ± 5 ; ± 3 ; ± 1 o menos. El espectro Raman puede comprender además picos a $1310(\text{m})$ y $805(\text{m}) \text{ cm}^{-1}$ con un margen de error de ± 12 ; ± 10 ; ± 8 ; ± 5 ; ± 3 ; ± 1 ; o menos. La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un espectro Raman que es básicamente similar a las Figuras 8A y 8B. El compuesto 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito anteriormente puede ser (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida. La forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un espectro Raman que comprende picos a $2964(\text{s})$; $2880(\text{s})$; y $972(\text{s}) \text{ cm}^{-1}$ con un margen de error de ± 12 ; ± 10 ; ± 8 ; ± 5 ; ± 3 ; ± 1 ; o menos. La forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un espectro Raman que es básicamente similar a las Figuras 12A y 12B. El compuesto monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito anteriormente puede ser monosulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En una realización, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un espectro Raman que comprende picos a $2980(\text{s})$; $2943(\text{s})$; y $1033(\text{s}) \text{ cm}^{-1}$ con un margen de error de ± 12 ; ± 10 ; ± 8 ; ± 5 ; ± 3 ; ± 1 ; o menos. En una realización específica, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un espectro Raman que es básicamente similar a las Figuras 18A y 18B. En otra realización específica, el compuesto disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito en las realizaciones anteriores es disulfato de (2S, 3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En una realización, las formas cristalinas se caracterizan mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). El termograma de DSC se expresa por lo general mediante un diagrama que representa el flujo térmico normalizado en unidades de Watios/gramo (" W/g ") frente a la temperatura de la muestra medida en grados C. El termograma de DSC se evalúa habitualmente para temperaturas de inicio y final (origen) extrapoladas, temperatura de pico, y calor de fusión. El valor del máximo individual de un termograma de DSC se usa a menudo como el pico característico para distinguir esta estructura cristalina de otras.

Los expertos en la materia reconocerán que las mediciones del termograma de DSC para una forma cristalina dada del mismo compuesto variarán dentro de un margen de error. Los valores de un valor máximo individual, expresados en grados C, permiten márgenes de error apropiados.

Por lo general, los márgenes de error se representan mediante "±". Por ejemplo, el valor máximo individual de aproximadamente "53,09 ± 2,0" indica un intervalo de aproximadamente 53,09 + 2, es decir aproximadamente 55,09, a aproximadamente 53,09 - 2, es decir, aproximadamente 51,09. Dependiendo de las técnicas de preparación de muestras, las técnicas de calibración aplicadas a los instrumentos, las variaciones operacionales humanas, etc., los expertos en la materia reconocen que los márgenes de error apropiados para un valor máximo individual pueden ser ± 2,5; ± 2; ± 1,5; ± 1; ± 0,5; o menos.

Se describen detalles adicionales de los métodos y equipos usados para los análisis por termograma de DSC en la sección de Ejemplos.

La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un termograma de DSC que comprende un valor máximo individual a aproximadamente 53,09 ± 2,0 °C con un margen de error de ± 2,5; ± 2; ± 1,5; ± 1; ± 0,5; o menos. La forma cristalina de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un termograma de DSC que es básicamente similar a la Figura 6. El compuesto 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito anteriormente puede ser (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En una realización, la forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un termograma de DSC que comprende un valor máximo individual a 176,49 ± 2,0 °C con un margen de error de ± 2,5; ± 2; ± 1,5; ± 1; ± 0,5; o menos. En una realización específica, la forma cristalina de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un termograma de DSC que es básicamente similar a la Figura 11. En otra realización específica, el compuesto monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito en las realizaciones anteriores es monosulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En una realización, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un termograma de DSC que comprende un valor máximo individual a 228,03 ± 2,0 °C con un margen de error de ± 2,5; ± 2; ± 1,5; ± 1; ± 0,5; o menos. En una realización específica, la forma cristalina de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un termograma de DSC que es básicamente similar a la Figura 14. En una realización específica, el compuesto disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito en las realizaciones anteriores es disulfato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La forma cristalina de ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un termograma de DSC que comprende un valor máximo individual a aproximadamente 191,85 ± 2,0 °C con un margen de error de aproximadamente ± 2,5; aproximadamente ± 2; aproximadamente ± 1,5; aproximadamente ± 1; aproximadamente ± 0,5; o menos. En una realización específica, la forma cristalina de ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un termograma de DSC que es básicamente similar a la Figura 20. El compuesto ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito anteriormente puede ser ditosilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La forma cristalina dinapsilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un termograma de DSC que comprende un valor máximo individual a aproximadamente 185,56 ± 2 °C con un margen de error de aproximadamente ± 2,5; aproximadamente ± 2; aproximadamente ± 1,5; aproximadamente ± 1; aproximadamente ± 0,5; o menos. La forma cristalina de dinapsilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito anteriormente puede ser dinapsilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

La forma cristalina de monoedisilato de amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida puede exhibir un termograma de DSC que comprende un valor máximo individual a aproximadamente 317,25 ± 2 °C con un margen de error de aproximadamente ± 2,5; aproximadamente ± 2; aproximadamente ± 1,5; aproximadamente ± 1; aproximadamente ± 0,5; o menos. En una realización específica, la forma cristalina de monoedisilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un termograma de DSC que es básicamente similar a la Figura 30. El compuesto monoedisilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida como se ha descrito anteriormente puede ser monoedisilato de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

Se describen métodos adicionales de caracterización de las presentes formas cristalinas en la sección de Ejemplos de la presente solicitud.

Formulaciones farmacéuticas

En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma cristalina de la presente invención como ingrediente activo, combinada con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los excipientes se añaden a la formulación para una diversidad de fines.

Se pueden añadir diluyentes a las formulaciones de la presente invención. Los diluyentes aumentan el volumen de la composición farmacéutica sólida, y se puede preparar una forma de dosificación farmacéutica que contiene la composición más fácil de manipular para el paciente y el proveedor de cuidados. Los diluyentes para las composiciones sólidas incluyen, por ejemplo, celulosa microcristalina (por ejemplo, AVICEL), celulosa microfina,

lactosa, almidón, almidón pregelatinizado, carbonato de calcio, sulfato de calcio, azúcar, dextratos, dextrina, dextrosa, dihidrato de fosfato dibásico de calcio, fosfato tribásico de calcio, caolín, carbonato de magnesio, óxido de magnesio, maltodextrina, manitol, polimetacrilatos (por ejemplo, EUDRAGIT), cloruro de potasio, celulosa en polvo, cloruro de sodio, sorbitol, y talco.

5 Las composiciones farmacéuticas sólidas que se compactan en una forma de dosificación, tal como un comprimido, pueden incluir excipientes cuyas funciones incluyen ayudar a aglutinar el ingrediente activo y otros excipientes conjuntamente después de la compresión. Los aglutinantes para las composiciones farmacéuticas sólidas incluyen goma arábica, ácido algínico, carbómero (por ejemplo, carbopol), carboximetilcelulosa de sodio, dextrina, etil
10 celulosa, gelatina, goma de guar, aceite vegetal hidrogenado, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa (por ejemplo, KLUCEL), hidroxipropil metil celulosa (por ejemplo, METHOCEL), glucosa líquida, silicato de aluminio y magnesio, maltodextrina, metilcelulosa, polimetacrilatos, povidona (por ejemplo, KOLLIDON, PLASDONE), almidón pregelatinizado, alginato de sodio, y almidón.

15 La tasa de disolución de una composición farmacéutica sólida compactada en el estómago de un paciente se puede aumentar mediante la adición de un disgregante a la composición. Los disgregantes incluyen ácido algínico, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio (por ejemplo, AC-DI-SOL y PRIMELLOSE), dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa de sodio, crospovidona (por ejemplo, KOLLIDON y POLYPLASDONE), goma de guar, silicato de aluminio y magnesio, metil celulosa, celulosa microcristalina, polacrilina de potasio, celulosa en polvo,
20 almidón pregelatinizado, alginato de sodio, almidón glicolato de sodio (por ejemplo, EXPLOTAB), y almidón.

Se pueden añadir sustancias de deslizamiento para mejorar la fluidez de una composición sólida no compactada y mejorar la precisión de la dosificación. Los excipientes que pueden funcionar como sustancias de deslizamiento incluyen dióxido de silicio coloidal, trisilicato de magnesio, celulosa en polvo, almidón, talco, y fosfato tribásico de
25 calcio.

Cuando se prepara una forma de dosificación tal como un comprimido mediante la compactación de una composición en polvo, la composición se somete a presión desde un troquel. Algunos excipientes e ingredientes activos tienen la tendencia de adherirse a las superficies del troquel, lo que puede hacer que el producto tenga
30 picaduras y otras irregularidades superficiales. Se puede añadir un lubricante a la composición para reducir la adhesión y facilitar la liberación del producto del troquel. Los lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, aceite de ricino hidrogenado, aceite vegetal hidrogenado, aceite mineral, polietilenglicol, benzoato de sodio, lauril sulfato de sodio, estearilo de sodio, ácido esteárico, talco, y estearato de cinc.

35 Los agentes de sabor y los potenciadores del sabor pueden hacer la forma de dosificación más sabrosa para el paciente. Los agentes de sabor y potenciadores del sabor habituales para productos farmacéuticos que se pueden incluir en la composición de la presente invención incluyen maltol, vainilla, etil vainilla, mentol, ácido cítrico, ácido fumárico, etil maltol, y ácido tartárico.

40 Las composiciones sólidas líquidas también se pueden teñir usando cualquier colorante farmacéuticamente aceptable para mejorar su aspecto y/o facilitar la identificación del paciente del producto y el nivel de dosificación unitaria.

45 No se pretende que la presente invención incluya soluciones verdaderas de clorhidrato de atomoxetina con lo cual la estructura cristalina de las nuevas formas cristalinas y las propiedades que caracterizan las nuevas formas cristalinas de clorhidrato de atomoxetina de la presente invención se pierden. Sin embargo, el uso de las nuevas formas para preparar tales soluciones (por ejemplo, para suministrar clorhidrato de atomoxetina en una formulación farmacéutica líquida) se considera que está dentro de la contemplación de la invención.

50 En las composiciones farmacéuticas líquidas que se preparan usando las formas cristalinas de la presente invención, se disuelven o suspenden clorhidrato de atomoxetina y cualquier otro excipiente sólido en un vehículo líquido tal como agua, aceite vegetal, alcohol, polietilenglicol, propilenglicol, o glicerina.

55 Las composiciones farmacéuticas líquidas pueden contener agentes emulgentes para dispersar uniformemente en la composición un ingrediente activo u otro excipiente que no sea soluble en el vehículo líquido. Los agentes emulgentes que pueden ser útiles en las composiciones líquidas de la presente invención incluyen, por ejemplo, gelatina, yema de huevo, caseína, colesterol, goma arábica, tragacanto, carragenano, pectina, metilcelulosa, carbómero, alcohol cetosteárico, y alcohol cetílico.

60 Las composiciones farmacéuticas líquidas también pueden contener un agente potenciador de la viscosidad para mejorar la sensación en la boca del producto y/o revestir la capa del tracto gastrointestinal. Tales agentes incluyen goma arábica, ácido algínico, bentonita, carbómero, carboximetilcelulosa de calcio o sodio, alcohol cetosteárico, metil celulosa, etil celulosa, gelatina, goma de guar, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil
65 celulosa, maltodextrina, alcohol polivinílico, povidona, carbonato de propileno, propilenglicol alginato, alginato de sodio, almidón glicolato de sodio, almidón tragacanto, y goma de xantano.

Se pueden añadir agentes edulcorantes tales como sorbitol, sacarina, sacarina de sodio, sacarosa, aspartamo, fructosa, manitol y azúcar invertido para mejorar el sabor.

5 Se pueden añadir conservantes y agentes quelantes tales como alcohol, benzoato de sodio, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, y ácido etilendiaminotetraacético a niveles seguros para la ingestión para mejorar la estabilidad de almacenamiento.

10 Una composición líquida también puede contener un tampón tal como ácido gucónico, ácido láctico, ácido cítrico o ácido acético, guconato de sodio, lactato de sodio, citrato de sodio, o acetato de sodio. La selección de excipientes y las cantidades usadas se pueden determinar con facilidad por el científico de formulación basándose en la experiencia y la consideración de procedimientos estándar y trabajos de referencia en el campo.

15 Las composiciones sólidas de la presente invención incluyen polvos, granulados, agregados y composiciones compactadas. Las dosificaciones incluyen dosificaciones adecuadas para administración oral, bucal, rectal, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, e intravenosa), por inhalación y oftálmica. Aunque la administración más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y la gravedad de la afección que se está tratando, la ruta más preferente de la presente invención es oral. Las dosificaciones se pueden presentar de forma conveniente en una forma de dosificación unitaria y prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en las técnicas farmacéuticas.

20 Las formas de dosificación incluyen formas de dosificación sólidas tales como comprimidos, polvos, cápsulas, supositorios, sobrecitos, trociscos y obleas, así como jarabes, suspensiones y elixires líquidos.

25 La dosificación de STRATTERA se puede usar como directriz. La forma de dosificación oral de la presente invención está preferentemente en forma de una cápsula o comprimido oral que tiene una dosificación de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 160 mg de peso total incluyendo el ingrediente activo y otros excipientes, más preferentemente de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 80 mg, lo más preferentemente cápsulas o comprimidos de 10, 18, 20, 25, 40, 60 y 80 mg. Las dosificaciones diarias pueden incluir 1, 2, o más cápsulas por día.

30 La forma de dosificación de la presente invención puede ser una cápsula que contiene la composición, preferentemente una composición sólida en polvo o granulada de la invención, dentro de una corteza dura o blanda. La corteza puede estar hecha de gelatina y contener opcionalmente un plastificante tal como glicerina y sorbitol, y un agente opacificante o colorante.

35 Se puede preparar una composición para formación de comprimidos o relleno de cápsulas mediante granulación por vía húmeda. En la granulación por vía húmeda, se mezcla cierta cantidad o la totalidad de los ingredientes activos y los excipientes en forma de polvo y a continuación se mezclan adicionalmente en presencia de un líquido, por lo general agua, lo que hace que los polvos se aglomeren en gránulos. Los gránulos se tamizan y/o se muelen, se secan y a continuación se tamizan y/o se muelen hasta el tamaño de partícula deseado. A continuación, el granulado se puede conformar en comprimidos, o se pueden añadir otros excipientes antes de la formación de comprimidos, tales como una sustancia de deslizamiento o un lubricante.

45 La composición de formación de comprimidos se puede preparar convencionalmente mediante mezcla en seco. Por ejemplo, la composición mezclada de los principios activos y excipientes se puede compactar en un lingote o una lámina y a continuación fragmentarse en gránulos compactados. Los gránulos compactados se pueden comprimir posteriormente en un comprimido.

50 Como alternativa a la granulación en seco, una composición mezclada se puede comprimir directamente en una forma de dosificación compactada usando técnicas de compresión directa. La compresión directa produce un comprimido más uniforme sin gránulos. Los excipientes que son particularmente adecuados para la formación de comprimidos por compresión directa incluyen celulosa microcristalina, lactosa secada por pulverización, dihidrato de fosfato de dicalcio y sílice coloidal. El uso apropiado de estos y otros excipientes en la formación de comprimidos por compresión directa se conoce por los expertos en la materia con experiencia y habilidades en retos de formulación particulares de formación de comprimidos por compresión directa.

55 Un relleno de cápsula de la presente invención puede comprimir cualquiera de las mezclas y granulados mencionados anteriormente que se describen por referencia a la formación de comprimidos aunque, sin embargo, no se someten a una etapa final de formación de comprimidos.

60 El ingrediente activo y los excipientes se pueden formular en composiciones y formas de dosificación de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

65 No es necesario que las formulaciones de la presente invención contengan solo una forma cristalina de clorhidrato de atomoxetina. Las formas cristalinas de la presente invención se pueden usar en formulaciones o composiciones farmacéuticas en forma de componentes individuales o mezclas conjuntas con otras formas cristalinas de clorhidrato

de atomoxetina o con clorhidrato de atomoxetina amorfo. Sin embargo, es preferente que las formulaciones o composiciones farmacéuticas de la presente invención contengan un 25-100 % en peso, en especial un 50-100 % en peso, de al menos una de las nuevas formas, basado en la cantidad total de clorhidrato de atomoxetina en la formulación o composición. Preferentemente, tal cantidad de la nueva forma cristalina de clorhidrato de atomoxetina es un 75-100 % en peso, en especial un 90-100 % en peso. Es muy preferente una cantidad de un 95-100 % en peso.

Uso terapéutico

10 La presente invención también proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en el tratamiento de trastornos que implican degradación o disfunción de células que expresan p75.

En un aspecto, se proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en un método para activar receptores de p75 que comprende poner en contacto una célula que contiene un receptor de p75 con la presente forma cristalina. Además, se desvela una forma cristalina de la invención para su uso en métodos para tratar trastornos del sistema nervioso que incluyen (pero no se limitan a) enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, apoplejía, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, epilepsia, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, neuropatías, miopatías y diversas formas de degeneración retiniana, basándose en la capacidad de las formas cristalinas de la presente invención para fijar como diana los receptores de p75 expresados por las neuronas.

Además, se desvela una forma cristalina de la invención para su uso en métodos para tratar trastornos del sistema nervioso que incluyen (y no se limitan a) esclerosis múltiple, lesión de la espina dorsal y anoxia perinatal, basándose en la capacidad de las formas cristalinas de la presente invención para fijar como diana los receptores de p75 expresados por los oligodendrocitos.

Además, se desvela una forma cristalina de la invención para su uso en métodos para tratar enfermedades distintas de las del sistema nervioso central, en particular para prevenir la pérdida de las células del folículo piloso y de ese modo prevenir la pérdida capilar; para prevenir la cirrosis hepática y estimular la regeneración hepática; para regular la angiogénesis y estimular la neovascularización en el escenario de heridas diabéticas y otros escenarios isquémicos; para prevenir cardiomiopatía mediante la prevención de pérdida de células de miocardio o por estimulación del crecimiento de nuevos cardiomiocitos en el escenario de isquemia y después de infarto de miocardio; y para inhibir el crecimiento de células tumorales. Además, p75 se expresa por parte de las células madre y se conoce que regula el crecimiento de las células madre; por lo tanto, los ligandos de p75 se pueden usar para estimular el crecimiento de las células madre como parte de una estrategia para estimular la regeneración tisular y orgánica.

La presente invención también proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas y otras enfermedades o afecciones en un sujeto. Más particularmente, la presente invención incluye una forma cristalina de la invención para su uso en métodos que implican la administración de una forma cristalina a un sujeto para tratar un trastorno neurodegenerativo u otro trastorno o afección. La forma cristalina se puede administrar en una cantidad eficaz para inducir señalización de supervivencia y/o inhibir la muerte celular inducida por proNGF, que se ha determinado que está asociada a trastornos neurodegenerativos y otros trastornos. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan de forma intercambiable en la presente solicitud.

La afección que se trata puede ser cualquier afección que esté mediada, al menos en parte, por la unión de neurotrofinas a p75^{NTR}. Tales afecciones incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Pick, esclerosis lateral amiotrófica, epilepsia, enfermedad de Parkinson, lesión de la espina dorsal, apoplejía, hipoxia, isquemia, lesión cerebral, neuropatía diabética, neuropatía periférica, trasplante de nervios, esclerosis múltiple, lesión de nervios periféricos, y pérdida capilar.

La presente forma cristalina puede ser para su uso en el tratamiento de degeneración neuronal, incluyendo prevenir neurodegeneración tal como, por ejemplo, neurodegeneración causada por quimioterapia y/o trastornos neurodegenerativos, así como otras afecciones tales como la inducción de la supervivencia celular del folículo piloso causado por, por ejemplo, quimioterapia.

La presente invención proporciona además una forma cristalina de la invención para su uso en nuevos métodos de facilitar la supervivencia celular. Las células representativas incluyen, pero no se limitan a, neuronas septales, del hipocampo, corticales, sensoriales, simpáticas y motoras, células del folículo piloso, células progenitoras, y células madre. En general, tales células incluyen neuronas, oligodendrocitos y células del folículo piloso. En especial, los métodos comprenden tratar una célula con la presente forma cristalina, mediante lo cual el compuesto induce la señalización de supervivencia e inhibe la muerte celular inducida por proNGF.

65 La presente invención también desvela una forma cristalina de la invención para su uso en un método de administración de la presente forma cristalina con el fin de mejorar una afección mediada por la unión de p75^{NTR} en

un sujeto. El método puede comprender la etapa de administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una forma cristalina de la presente invención.

5 Como se usa en el presente documento, la administración se puede efectuar o llevar a cabo usando cualquiera de diversos métodos conocidos por los expertos en la materia. La forma cristalina se puede administrar, por ejemplo, por vía subcutánea, intravenosa, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, tópica, enteral (por ejemplo, oral), rectal, nasal, bucal, sublingual, vaginal, por pulverización de inhalación, mediante una bomba de fármaco o a través de un depósito implantado en formulaciones de dosificación que contienen vehículos o excipientes convencionales no tóxicos fisiológicamente aceptables.

10 Además, las formas cristalinas que se desvelan en el presente documento se puede administrar a un área localizada con necesidad de tratamiento. Esto se puede conseguir, por ejemplo, y no a modo de limitación, mediante infusión local durante cirugía, aplicación tópica, parches transdérmicos, mediante inyección, mediante catéter, mediante supositorio, o mediante implante (el implante puede ser opcionalmente de un material poroso, no poroso, o gelatinoso), incluyendo membranas, tales como membranas o fibras sialísticas.

20 La forma en la que se administra la forma cristalina (por ejemplo, jarabe, elixir, cápsula, comprimido, espumas, emulsión, gel y, etc.) dependerá en parte de la ruta mediante la que se administra. Por ejemplo, para administración mucosa (por ejemplo, mucosa oral, mucosa, rectal, intestinal, bronquial), se pueden usar gotas nasales, aerosoles, inhalaciones, nebulizadores, gotas oculares y supositorios. La forma cristalina también se puede usar para revestir materiales bioimplantables para mejorar el resultado del proceso neuronal, la supervivencia neuronal, o la interacción celular con la superficie del implante. Las formas cristalinas y los agentes que se desvelan en el presente documento se pueden administrar junto con otros agentes biológicamente activos, tales como analgésicos, agentes antiinflamatorios, anestésicos y otros agentes que pueden controlar uno o más síntomas o causas de una afección mediada por p75^{NTR}.

30 Además, la administración puede comprender administrar al sujeto una pluralidad de dosificaciones durante un periodo adecuado de tiempo. Tales regímenes de administración se pueden determinar de acuerdo con métodos de rutina, tras una revisión de la presente divulgación.

35 Las formas cristalinas de la presente solicitud se pueden emplear como único agente activo en un compuesto farmacéutico o se pueden usar en combinación (por ejemplo, administradas próximas en el tiempo entre sí o incluso en la misma formulación) con otros ingredientes activos, por ejemplo, neurotrofinas, u otros factores o fármacos que puedan facilitar la supervivencia neuronal y el crecimiento axonal en enfermedades neurodegenerativas, incluyendo, pero sin limitarse a, inhibidores de amiloide β , inhibidores de acetilcolinesterasa, inhibidores de butirilcolinesterasa, y antagonistas del subtipo N-metil-D-aspartato de los receptores de glutamato.

40 Las formas cristalinas de la invención se administran generalmente en una dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg/dosis a aproximadamente 100 mg/kg/dosis. Alternativamente, la dosis puede ser de aproximadamente 0,1 mg/kg/dosis a aproximadamente 10 mg/kg/dosis; o aproximadamente de 1 mg/kg/dosis a 10 mg/kg/dosis. En algunas dosificaciones, las formas cristalinas que se desvelan en el presente documento se administran a aproximadamente 5 mg/kg/dosis. Se pueden emplear preparaciones de liberación temporal o la dosis se puede administrar en tantas dosis divididas como sea conveniente. Cuando se usan otros métodos (por ejemplo, administración intravenosa), las formas cristalinas se administran al tejido afectado a una tasa de aproximadamente 45 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg/hora, alternativamente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1 mg/kg/hora. Tales tasas se mantienen con facilidad cuando estas formas cristalinas se administran por vía intravenosa como se discute en el presente documento. En general, las formulaciones administradas por vía tópica se administran en un intervalo de dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg/dosis a aproximadamente 10 mg/kg/dosis. Alternativamente, las formulaciones tópicas se administran a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg/dosis a 50 aproximadamente 7,5 mg/kg/dosis o incluso de aproximadamente 1 mg/kg/dosis a aproximadamente 5 mg/kg/dosis.

55 Un intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg es apropiado para una dosis individual. La administración continua es apropiada en el intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg. La administración tópica es apropiada para afecciones tales como pérdida capilar o revascularización de heridas.

60 Las dosis de fármaco también se pueden dar en miligramos por metro cuadrado de área superficial corporal en lugar del peso corporal, dado que este método consigue una correlación con ciertas funciones metabólicas y excretoras. Además, el área superficial corporal se puede usar como un denominador común para la dosificación de fármacos en adultos y niños así como en diferentes especies animales (Freireich *et al.*, (1966) Cancer Chemother Rep. 50,219-244). En resumen, para expresar una dosis en mg/kg en cualquier especie dada como el equivalente en dosis en mg/m², la dosificación se multiplica por el factor de km apropiado. En un adulto humano, 100 mg/kg es equivalente a $100 \text{ mg/kg} \times 37 \text{ kg/m}^2 = 3700 \text{ mg/m}^2$.

65 En la medida en la que las formas cristalinas que se desvelan en el presente documento pueden tomar la forma de un mimético o un fragmento del mismo, se ha de entender que la potencia, y por lo tanto la dosificación de una cantidad eficaz, puede variar. Sin embargo, el experto en la materia puede evaluar con facilidad la potencia de una

forma cristalina del tipo previsto en el presente documento mediante la presente solicitud.

En los escenarios de un trastorno del sistema nervioso gradualmente progresivo, las formas cristalinas de la presente solicitud se administran en general en base continua. En ciertos escenarios, la administración de una forma cristalina que se desvela en el presente documento puede comenzar antes del desarrollo de síntomas de la enfermedad como parte de una estrategia para retrasar o prevenir la enfermedad. En otros escenarios, una forma cristalina que se desvela en el presente documento se administra después de la aparición de síntomas de la enfermedad como parte de una estrategia para ralentizar o revertir el proceso de la enfermedad y/o parte de una estrategia para mejorar la función celular y reducir los síntomas. Se han desarrollado formas cristalinas que atraviesan la barrera hematoencefálica y por lo tanto se podrían suministrar mediante administración oral o mediante otras rutas periféricas. Las formas cristalinas que no atraviesan la barrera hematoencefálica se aplican para dianas exteriores al sistema nervioso central. Para dianas y tejidos en el exterior del sistema nervioso, las formas cristalinas se aplican en escenarios agudos o crónicos mediante administración oral u otra administración dirigida a la diana tal como mediante aplicación tópica.

El experto en la materia entenderá que el intervalo de dosificación dependerá de la forma cristalina particular, y su potencia. Se entiende que el intervalo de dosificación es lo suficientemente grande para producir el efecto deseado en el que el trastorno neurodegenerativo u otro trastorno y los síntomas asociados al mismo mejoran y/o se consigue la supervivencia de las células, pero no es tan grande como para causar efectos secundarios adversos inmanejables. Sin embargo, se ha de entender que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad de la forma cristalina específica empleada; la edad, peso corporal, estado general de salud, sexo y dieta del individuo que se está tratando; el tiempo y la ruta de administración; la tasa de excreción; otros fármacos que se hayan podido administrar previamente; y la gravedad de la enfermedad particular que experimenta terapia, como entenderá bien el experto en la materia. La dosificación también se puede ajustar por parte del médico individual en el caso de cualquier complicación. No se espera ningún efecto toxicológico inaceptable cuando se usan las formas cristalinas que se desvelan en el presente documento de acuerdo con la presente solicitud.

Una cantidad eficaz de las formas cristalinas que se desvelan en el presente documento comprende cantidades suficientes para producir una respuesta biológica medible. Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en una forma cristalina terapéutica de la presente invención pueden variar de un modo tal que se administre una cantidad de una forma cristalina activa que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un sujeto y/o aplicación particulares. Preferentemente, se administra una dosis mínima, y la dosis se escala en ausencia de toxicidad limitante de dosis hasta una cantidad mínimamente eficaz. La determinación y el ajuste de la dosis terapéuticamente eficaz, así como la evaluación de cuándo y cómo hacer tales ajustes, se conoce por parte del experto habitual en la materia.

Además, con respecto a una forma cristalina de la invención para su uso en los métodos que se desvelan en el presente documento, un sujeto preferente es un sujeto vertebrado. Un vertebrado preferente es un vertebrado de sangre caliente; un vertebrado de sangre caliente preferente es un mamífero. El sujeto tratado mediante los métodos que se desvelan en el presente documento es de forma deseable un ser humano, aunque se ha de entender que los principios de la presente solicitud indican eficacia con respecto a todas las especies de vertebrados que se han de incluir en el término "sujeto". En este contexto, se entiende que un vertebrado es cualquier especie de vertebrado en la que es deseable el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo. Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" incluye sujetos tanto humanos como animales. De ese modo, se proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en usos terapéuticos veterinarios de acuerdo con la presente solicitud.

Como tal, la presente solicitud proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en el tratamiento de mamíferos tales como seres humanos, así como aquellos animales de importancia debido a estar en peligro, tales como los tigres de Siberia; de importancia económica, tales como animales criados en granjas para el consumo de seres humanos; y/o animales de importancia social para los seres humanos, tales como animales mantenidos como mascotas o en zoológicos o granjas. Algunos ejemplos de tales animales incluyen, pero no se limitan a: carnívoros tales como gatos y perros; porcinos, incluyendo cerdos, puercos, y jabalíes; rumiantes y/o ungulados tales como ganado, bueyes, ovejas, jirafas, ciervos, cabras, bisontes, y camellos; y caballos. También se proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en el tratamiento de pájaros, incluyendo el tratamiento de aquellos tipos de pájaros que están en peligro y/o se mantienen en zoológicos, así como aves, y más particularmente aves domesticadas, es decir, aves de corral, tales como pavos, pollos, patos, gansos, pintadas, y similares, dado que también son de importancia económica para los seres humanos. De ese modo, también se proporciona una forma cristalina de la invención para su uso en el tratamiento de ganado, incluyendo, pero sin limitarse a, cerdo domesticado, rumiantes, ungulados, caballos (incluyendo caballos de carreras), aves de granja, y similares.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la presente invención. Todos los compuestos que caen fuera del ámbito de las reivindicaciones se incluyen como Ejemplos de Referencia.

Ejemplos

Métodos analíticos - se aplicaron diversos métodos analíticos, como se describe posteriormente, a las presentes formas cristalinas y sus precursores para caracterizar sus propiedades fisicoquímicas.

5

MICROSCOPÍA:

Se utilizó un microscopio Zeiss Universal configurado con una fuente de luz visible polarizada y analizador polarizable para evaluar las propiedades ópticas de las muestras. Las muestras se montaron por lo general sobre un portaobjetos de microscopio con una gota de aceite de inmersión y un vidrio de cubierta. La ampliación fue por lo general 100x. Se registraron observaciones de tamaño y forma de partícula/cristal. La presencia de birrefringencia también se indicó.

10

ESPECTROSCOPIA MOLECULAR RMN ¹H:

15

Se prepararon muestras por disolución de 1-10 mg en dimetilsulfóxido (DMSO)-d₆ con un 0,05 % (v/v) de tetrametilsilano (TMS). Los espectros se registraron a temperatura ambiente en un espectrómetro de FT-NMR de 400 MHz Bruker Avance III y software Bruker Topspin (versión 2.1). Antes de cada análisis de muestra, el campo magnético que rodeaba la muestra se optimizó mediante un programa de tolerancia automatizado.

20

CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC):

Se recogieron datos de DSC en un equipo de DSC de TA Instruments. En general, las muestras en el intervalo de masa de 1 a 10 mg se introdujeron en portamuestras de aluminio y se realizó un barrido de 25 a aproximadamente 250 °C o 300 °C a 10 °C/minuto usando una purga de nitrógeno de 50 ml/min.

25

ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA):

Se recogieron datos de TGA en un equipo de TGA 2950 de TA Instruments. En general, las muestras en un intervalo de masa de 2 a 10 mg se pusieron en un portamuestras de platino abierto tarado previamente y se realizó un barrido de 25 a aproximadamente 150 °C a 10 °C/minuto usando una purga de nitrógeno a 100 ml/min.

30

MICROSCOPIO DE ETAPA CALIENTE (HSM):

Se usó un microscopio Zeiss Universal configurado con una fuente de luz visible polarizada y un accesorio de etapa caliente Linkam. Las muestras se montaron sobre un portaobjetos de microscopio con una cubierta de vidrio. El aumento fue por lo general de 6,3x. Las muestras se calentaron de 25 °C a aproximadamente 250 °C a 10 o 2 °C/minuto. Se usaron un control de temperatura Linksys 32 y un sistema de software de captura de datos (Linkam Scientific Instruments Ltd, Waterfield, Tadworth, Surrey KT20 5LR, UK). Se registraron observaciones de cambio de fase, recristalización, desprendimiento de burbujas, etc.

35

40

ESPECTROSCOPIA RAMAN:

Se obtuvieron espectros Raman con un espectrómetro Raman dispersivo Thermo DXR usando excitación láser a 780 nm. Los espectros se adquirieron de 3300 a 300 cm⁻¹ (desplazamiento Raman) usando una red de dispersión de intervalo amplio de 400 líneas/mm y de 1850 a 300 cm⁻¹ (desplazamiento Raman) usando una red de dispersión de alta resolución de 830 líneas/mm. Cada barrido fue de 5 s, y se recogieron 64 barridos para cada análisis. Las muestras se analizaron como polvos a granel y a partir de experimentos en placa de 96 pocillos.

45

50

DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVO (XRD):

Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo usando un difractómetro D8 Discovery de Bruker equipado con una etapa XYZ, microscopio de video láser para posicionamiento, y un detector de área HiStar bidimensional. Los tiempos de recogida fueron nominalmente 60 segundos. Se usó una fuente de radiación Cu K α de 1,5406 angstrom que operó a 40 kV y 40 mA para irradiar las muestras. La óptica de rayos X consiste en un espejo Gobel acoplado a un colimador de orificios de 0,5 mm. Se emplearon barridos continuos theta-theta con una distancia muestra-detector de aproximadamente 15 cm, que da un intervalo de 2 θ eficaz de 4-40 °C. Las muestras se montaron en placas de cuarzo de bajo fondo.

55

60

SOLUBILIDAD:

Se pusieron cantidades del tamaño de miligramos de cada muestra en un vial. Se añadió agua y los viales se agitaron durante unos pocos minutos, seguido de observación visual de los sólidos remanentes. El disolvente se añadió gradualmente hasta que los sólidos se disolvieron, o hasta que se añadió un volumen máximo disolvente y se dio por terminado el experimento. Resultó que todas las sales sometidas a ensayo fueron altamente solubles en agua.

65

HIGROSCOPICIDAD-ADSORCIÓN DINÁMICA DE VAPOR (DVS):

Las muestras se analizaron usando un analizador de adsorción dinámica de vapor automatizado. La muestra (aproximadamente 1-10 mg) se secó en el instrumento a un 0 % de HR durante 6 horas. Las muestras se sometieron de 0 a un 95 % de HR y de vuelta a un 5 % de HR a 25 °C en etapas de un 5 % de HR.

ESTABILIDAD:

Las sales y la base libre a escala ampliada se desafiaron con calor (sólidos almacenados a 25 y 60 °C durante 1 semana), oxidación (sólidos almacenados en un cabezal de oxígeno a 25 °C durante 1 semana), luz (sólidos expuestos a $\geq 1 \times$ ICH UV condiciones confirmatorias), y soluciones (diluyente de HPLC) a 25 y 40 °C durante 1 semana. Estas muestras se analizaron, junto con controles sin someter a estrés, por HPLC para caracterizar su estabilidad.

15 *ANÁLISIS POR HPLC:*

Las formas cristalinas (es decir, sales y base libre) de la presente invención se analizaron por normalización del área total (TAN). Las muestras se disolvieron en acetonitrilo (ACN): agua (H₂O) 1:1 a una concentración de 0,5 mg/ml.

20 *Condiciones de HPLC:*

Columna de HPLC:	XBridge Shield RP18, 3,5 μ m, 4,6 x 100 mm
Temp. de la columna:	30 °C
Lavado del automuestreador:	Agua: CAN (1:1)
Caudal:	1 ml/min
Volumen de inyección:	15 ml
Detección UV:	205 nm sin adquisición espectral
Fase móvil:	A - H ₂ O a pH 10 con NH ₄ OH B - ACN

Programa de la bomba de gradiente:

Tiempo de la etapa (minutos)	% A (pH 10 ac)	% B (ACN)	Curva
0,5	90,0	10,0	0,0
5,0	90,0	10,0	0,0
10,0	10,0	90,0	1,0
3,0	10,0	90,0	0,0
6,0	90,0	10,0	0,0

25

Ejemplo 1. Caracterización de la sal de diclorhidrato amorfa de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

El compuesto de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida se puede preparar a partir de isoleucina mediante métodos sintéticos conocidos por el experto en la materia. Los procedimientos estándar y las transformaciones químicas y los métodos relacionados se conocen bien por parte del experto en la materia, y tales métodos y procedimientos se han descrito, por ejemplo, en referencias estándares tales como Fiesers' Reagents for Organic Synthesis, John Wiley y Sons, Nueva York, NY, 2002; Organic Reactions, vol. 1-83, John Wiley y Sons, Nueva York, NY, 2006; March J. y Smith M, Advanced Organic Chemistry, 6^a ed., John Wiley y Sons, Nueva York, NY; y Larock R.C., Comprehensive Organic Transformations, Wiley-VCH Publishers, Nueva York, 1999. Se pueden encontrar otros métodos sintéticos relacionados en los documentos de Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos con números 2006/024072 y 2007/0060526. La sal de diclorhidrato (di-HCl) amorfa de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida se puede preparar por mezcla de dos equivalentes molares de HCl con un equivalente molar de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en el disolvente o disolventes apropiados y a continuación separación de la sal de di-HCl de la mezcla de disolventes.

40

La sal de di-HCl amorfa de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida se analizó través de los métodos que se han descrito anteriormente. El análisis de X1RD indicó que fue amorfa/con baja ordenación como se muestra la Figura 1. El termograma de DSC exhibió una endoterma amplia con temperatura de inicio de 37 °C y temperatura de pico de 74 °C y un valor de entalpía de AH = 80 J/g. El termograma de TGA indicó que la sal de di-HCl es anhidra y

comienza a descomponerse después de aproximadamente 200 °C. Una superposición de los termogramas de DSC y TGA se muestra en la Figura 2. La isoterma de adsorción/desorción de humedad de la sal de di-HCl (Figuras 3A y 3B) se recogió usando análisis por adsorción dinámica de vapor (DVS). El material no adsorbió mucha humedad de un 0 % a un 20 % de HR, a continuación mostró adsorción constante hasta un 140 % de humedad a un 95 % de HR (probablemente deliquesencia). Esta muestra mostró una desorción rápida de un 95 % a un 70 % de HR y a continuación continuó la desorción a un ritmo relativamente más lento hasta una masa de aproximadamente un 5 % en peso mayor que el valor original a un 0 % de HR. Esta muestra presenta una pequeña histéresis entre las fases de adsorción y desorción. En general este material es bastante higroscópico. La solubilidad en bruto de la sal de di-HCl en agua fue de > 30 mg/ml. El espectro de RMN de protón de la sal de di-HCl amorfa se muestra en la Figura 4.

Ejemplo 2. Preparación de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre):

Se disolvieron cinco gramos de sal de di-HCl de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en 150 ml de etanol. Se añadió bicarbonato de sodio (5,3 g), disuelto en 100 ml de agua para HPLC, a esta solución. La solución mezclada se sometió a ultrasonidos durante ~10 minutos. Esta solución se concentró usando un rotavapor, y el residuo se disolvió en 300 ml de cloruro de metileno. Esta solución se hizo pasar a través de un lecho corto de gel de sílice unida a carbonato. Esta solución se concentró usando un rotavapor y el residuo se liofilizó hasta sequedad, para dar como resultado 3,6 g de la base libre en forma de un sólido de color blanco. RMN de protón, RMN C-13 y LC/MS confirmaron la estructura de este material como la base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida.

En el proceso de conversión de la sal de di-HCl en la base libre, la muestra se liofilizó para evitar la formación de un aceite. El análisis por XRD de la base libre liofilizada reveló sorprendentemente que era cristalina, como se muestra la Figura 5. El termograma de DSC exhibió una endoterma con temperatura de inicio extrapolada de 51 °C y temperatura de pico de 53 °C y un valor de entalpía de $\Delta H_f = 104$ J/g. El termograma de TGA muestra menos de un 0,6 % en peso de pérdida a 105 °C, lo que sugiere que está exenta de disolvente. Una superposición de los termogramas de DSC y TGA se puede observar en la Figura 6. La solubilidad en bruto de la base libre en agua fue > 30 mg/ml. El espectro de RMN de protón fue consistente con la base libre. Los espectros de RMN y Raman se muestran en las Figuras 7 y 8A y 8B, respectivamente. La isoterma de adsorción-desorción de humedad (Figuras 9A y 9B) se recogieron usando un análisis de adsorción dinámica de vapor (DVS). La muestra no adsorbió mucho contenido de humedad de un 0 % a un 45 % de HR en las condiciones experimentales. Por encima de un 45 % de HR la muestra parece adsorber una humedad de ~10 % en peso de un 45 % a un 50 % de HR seguido por una adsorción rápida hasta un 96 % en peso de humedad a un 95 % de HR. En la fase de desorción, la base libre muestra una desorción rápida de un 95 % a un 80 % de HR, a continuación la muestra presenta una desorción a un ritmo relativamente lento hasta el peso original a un 0 % de HR. La muestra puede formar un hidrato cerca de un 45 % de HR. El hidrato putativo parece ser deliquescente dando como resultado un vidrio amorfo al final del barrido.

Ejemplo 3. Preparación de monosulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

La base libre que se preparó en el Ejemplo 2 se disolvió en metanol, y se transfirió una parte de esta solución para proporcionar un equivalente de 2 mg de base libre. Se disolvió ácido sulfúrico en THF o metanol. Se mezclaron porciones molares iguales de la base libre y las soluciones de ácido, y las soluciones de mezcla resultantes se secaron con una purga de nitrógeno a temperatura ambiente para proporcionar las sales de monosulfato deseadas en forma de sólidos secos. El producto se suspendió en 2-propanol para aumentar la cristalinidad.

XRD indicó que los sólidos son cristalinos (Figura 10) y exhibieron un patrón diferente de la base libre. El DSC (Figura 11) muestra una pequeña endoterma amplia con una temperatura de pico de 76 °C, y a continuación la exoterma amplia con una temperatura de pico de 176 °C. Los datos de microscopía de etapa caliente sugieren que el material se descompone cerca de 165 °C. El espectro Raman de esta muestra se da en las Figuras 12A y 12B.

Ejemplo 4. Preparación de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

La base libre que se preparó en el Ejemplo 2 se disolvió en metanol, y una parte de esta solución se transfirió para proporcionar un equivalente de 25 mg de base libre. Se disolvió o se suspendió ácido sulfúrico en agua, metanol, o acetonitrilo. Se mezclaron la base libre y las soluciones/suspensiones de ácido sulfúrico (para proporcionar una proporción molar 1:2 de base libre y ácido sulfúrico). Las soluciones/suspensiones de mezcla resultantes se suspendieron en 2-propanol a temperatura ambiente para obtener soluciones transparentes. Las soluciones transparentes se evaporaron en atmósfera de nitrógeno a 10,34 kPa para proporcionar suspensiones que se filtraron posteriormente para proporcionar las sales de disulfato en forma de sólidos.

XRD indicó que el material de disulfato es cristalino como se muestra en la Figura 13 y es diferente de la base libre. El DSC (figura 14) muestra una endoterma amplia con una temperatura de inicio extrapolada de 210 °C, y una temperatura de pico de 228 °C, que parece ir acompañada por descomposición. El TGA (figura 15) muestra que el material de disulfato tiene menos de un 0,7 % en peso de pérdida a 105 °C, lo que indica que la muestra aislada estaba seca. Los datos de microscopía de etapa caliente revelaron que el material se fundió completamente cerca de 220 °C seguido de decoloración inmediata y la formación de burbujas, lo que confirma que el material se

descompone después de la fusión. Se recogió la isoterma de adsorción-desorción de humedad (Figuras 16A y 16B) usando análisis por adsorción dinámica de vapor (DVS). El sulfato no adsorbió mucha agua de un 0 % a un 60 % de HR en las condiciones experimentales, y a continuación muestra una rápida adsorción hasta un 140 % en peso de agua a un 95 % de HR. En la fase de desorción, el material de disulfato muestra una rápida desorción de un 95 % a 80 % de HR y a continuación la muestra presenta una desorción a ritmo relativamente lento hasta una masa aproximadamente un 4 % en peso mayor que el valor original a un 0 % de HR. El comportamiento de esta muestra fue similar al de todas las demás muestras. Delicuescencia aparente a alta humedad seguido de formación de vidrio tras evaporación. También puede formar un hidrato cerca de un 60 % de HR. Algunos barridos adicionales que se detienen en humedades anteriores a la delicuescencia pueden producir algunas revelaciones adicionales del comportamiento del hidrato putativo. Los espectros de RMN de protón y Raman de esta muestra se dan en las Figuras 17 y 18A y 18B, respectivamente. Se descubrió que el disulfato tenía una alta solubilidad en agua (> 3 M/ml) a temperatura ambiente.

Ejemplo 5: Preparación de ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

La sal de ditosilato se preparó usando el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 3 excepto en que el ácido sulfúrico se reemplazó por ácido p-toluenosulfónico y la proporción molar de la base libre con respecto al ácido p-toluenosulfónico es 1:2.

Alternativamente, la base libre que se preparó en el Ejemplo 2 se disolvió en metanol, y una parte de esta solución se transfirió para proporcionar un equivalente de 2 mg de base libre. Se disolvió o se suspendió ácido toluenosulfónico en EtOH/heptano o THF/heptano. Las soluciones/suspensiones de base libre y ácido p-toluenosulfónico (que proporcionan una proporción molar 1:2 de base libre y ácido p-toluenosulfónico) se mezclaron, y las soluciones de mezcla resultantes se secaron en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente para proporcionar la sal de ditosilato deseada en forma de sólidos en polvo secos.

XRD indicó que el material es bastante cristalino y exhibe un patrón diferente de la base libre, como se muestra en la Figura 19. El DSC (Figura 20) muestra una endoterma de fusión pronunciada con un inicio extrapolado de 191 °C con una línea base estable. El TGA (Figura 20B) muestra aproximadamente una pérdida de un 0,2 % en peso a aproximadamente 105 °C, lo que sugiere que la muestra de sal estaba relativamente seca. Los datos del microscopio de etapa caliente revelaron que el material se fundió a aproximadamente 189 °C. La isoterma de adsorción-desorción de vapor (Figuras 21A y 21B) recogida usando análisis por adsorción dinámica de vapor (DVS), no adsorbió mucha humedad de un 0 % a un 80 % de HR en las condiciones experimentales, seguido por un comportamiento de adsorción rápida hasta un 30 % de humedad a un 90 % de HR. En la fase de desorción, esta sal perdió agua rápidamente al principio y a continuación se ralentizó durante el intervalo de un 70 a un 20 % de HR. Esta muestra puede formar hidratos con alta humedad. Se deberían realizar estudios adicionales para examinar la naturaleza de esta forma de sal. Los espectros de RMN de protón y Raman de la muestra de sal de ditosilato se muestran en las Figuras 22 y 23 respectivamente. Se descubrió que la sal de ditosilato tenía una baja solubilidad en agua (0,5-0,7 mg/ml) con respecto a la base libre.

Ejemplo 6 Preparación de dinapsilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

Se preparó la sal de dinapsilato usando el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 3 excepto en que se reemplazó el ácido sulfúrico por ácido 2-naftalenosulfónico y la proporción molar de la base libre con respecto al ácido 2-naftalenosulfónico es 1:2.

Alternativamente, la base libre que se preparó en el Ejemplo 2 se disolvió en metanol, y una parte de esta solución se transfirió para proporcionar un equivalente de 2 mg de base libre. Se disolvió o se suspendió ácido 2-naftalenosulfónico en EtOH/heptano o THF/heptano. Las soluciones/suspensiones de base libre y ácido 2-naftalenosulfónico (que proporcionan una proporción molar 1:2 de base libre y ácido 2-naftalenosulfónico) se mezclaron, y las soluciones de mezcla resultantes se secaron en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente para proporcionar la sal de dinapsilato deseada en forma de sólidos en polvo secos.

XRD indicó que el material es bastante cristalino y exhibe un patrón diferente de la base libre, como se muestra en la Figura 24. El DSC (Figura 25A) muestra una pequeña endoterma con un inicio extrapolado de 180 °C que fue seguido por descomposición a aproximadamente 225 °C. El TGA (Figura 25B) muestra una pérdida de un 0,5 % en peso a aproximadamente 105 °C, lo que sugiere que la muestra de sal estaba relativamente seca. La isoterma de DVS se muestra en las Figuras 26A y 26B. Esta forma de sal solo captó aproximadamente de un 3 a un 4 % en peso de agua a alta humedad. La muestra adsorbió agua superficial hasta aproximadamente un 80 % de HR donde comenzó una captación rápida. La muestra no alcanzó el equilibrio en el mayor valor de humedad. Se observó histéresis entre los segmentos de adsorción y desorción del experimento. La muestra no pareció delicuescente, pero puede formar un hidrato estable a mayores niveles de actividad de agua. Se necesitan realizar trabajos adicionales para comprender el perfil de hidratación de esta forma de sal. El espectro de RMN de protón (Figura 27) confirmó que el material era una sal de dinapsilato. El espectro Raman de la muestra de sal de dinapsilato se muestra en la Figura 28. Se descubrió que la sal de dinapsilato tenía una baja solubilidad en agua (0,2-0,4 mg/ml) con respecto a la base libre.

Ejemplo 7 Preparación de monoedisilato 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

Se preparó la sal de dinapsilato usando el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 3 excepto en que se reemplazó el ácido sulfúrico por ácido 1,2-etanodisulfónico y la proporción molar de la base libre con respecto al ácido 1,2-etanodisulfónico es 1:1.

Alternativamente, la base libre que se preparó en el Ejemplo 2 se disolvió en metanol, y una parte de esta solución se transfirió para proporcionar un equivalente de 2 mg de base libre. Se disolvió o se suspendió ácido 1,2-etanodisulfónico en EtOH/heptano o THF/heptano. Las soluciones/suspensiones de base libre y ácido 1,2-etanodisulfónico (que proporcionan una proporción molar 1:1 de base libre y ácido 1,2-etanodisulfónico) se mezclaron, y las soluciones de mezcla resultantes se secaron en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente para proporcionar las sales de monoedisilato deseadas en forma de sólidos en polvo secos.

XRD indicó que el material es casi cristalino y exhibe un patrón diferente de la base libre, como se muestra en la Figura 29. El DSC (Figura 30A) muestra una endoterma de fusión con un inicio extrapolado de 317 °C que se descompone mientras se funde. El TGA (Figura 30B) muestra una pérdida de un 0,5 % en peso a aproximadamente 105 °C, lo que sugiere que la muestra de sal estaba relativamente seca. Los datos del microscopio de etapa caliente sugieren que el material se observó que se fundía y se descomponía a aproximadamente 315 °C. La isoterma de adsorción-desorción de humedad (Figuras 31A y 31B) se recogió usando análisis de adsorción dinámica de vapor. La sal de monoedisilato no mostró mucha agua.

Ejemplo 8: Preparación a gran escala de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre):

Un matraz de 5 l se cargó con sal de diHCl de LM11A31 (148 g, 0,468 mol) y DCM (3 l, 20 vol). Se añadió lentamente una solución acuosa de hidróxido de sodio (35,6 g, 0,889 mol, 1,9 eq) en agua desionizada (148 ml, 1 vol) a la mezcla heterogénea para formar finalmente una solución transparente. La mezcla se transfirió a un embudo de separación y se drenó la fase orgánica inferior. La fase acuosa superior se extrajo con DCM (3 x 100 ml) y las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio. La solución se concentró hasta un aceite que cristalizó en un sólido de color blanco céreo tras reposo. Los sólidos se secaron a alto vacío para proporcionar 105 g (95 % de rendimiento) de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida. RMN ¹H, y LC-MS confirmaron la identidad y el patrón de XRD coincidió con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 9 Preparación a gran escala de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

A una solución de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (25 g, 0,103 mol) disuelta en etanol absoluto anhidro (250 ml, 10 vol) enfriado en un baño de hielo-agua se añadió lentamente ácido sulfúrico concentrado (4 ml, 75 mmol) mediante adición gota a gota. Se produjo inmediatamente la precipitación causando que se detuviera la agitación. El baño de hielo-agua se retiró y fue necesaria la adición de etanol (200 ml) e isopropanol (225 ml) para reanudar la agitación. El ácido sulfúrico requerido remanente (7 ml, 131 mmol) se añadió lentamente en una solución de etanol:isopropanol (2:1, 75 ml). Se observó una reacción exotérmica (20,8 °C-24,0 °C). La suspensión de color blanco se mantuvo en agitación durante una noche en atmósfera de presión positiva de nitrógeno. La mezcla se filtró a continuación lavando con isopropanol (150 ml) y se secó a alto vacío (35 °C - 40 °C) para proporcionar 33,6 g (75 % de rendimiento) de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H, y LC-MS confirmaron la identidad y el patrón de XRD coincide con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 10: Preparación a gran escala de ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

A una solución de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (15 g, 0,062 mol) disuelta en tetrahidrofurano anhidro (300 ml, 20 vol) se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (23,4 g, 0,123 mol, 2 eq) en una porción. El inicialmente transparente

Ejemplo 8: Preparación a gran escala de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (base libre):

Un matraz de 5 l se cargó con sal de diHCl de LM11A31 (148 g, 0,468 mol) y DCM (3 l, 20 vol). Se añadió lentamente una solución acuosa de hidróxido de sodio (35,6 g, 0,889 mol, 1,9 eq) en agua desionizada (148 ml, 1 vol) a la mezcla heterogénea para formar finalmente una solución transparente. La mezcla se transfirió a un embudo de separación y se drenó la fase orgánica inferior. La fase acuosa superior se extrajo con DCM (3 x 100 ml) y las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio. La solución se concentró hasta un aceite que cristalizó en un sólido de color blanco céreo tras reposo. Los sólidos se secaron a alto vacío para proporcionar 105 g (95 % de rendimiento) de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida. RMN ¹H, y LC-MS confirmaron la identidad y el patrón de XRD coincidió con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 9 Preparación a gran escala de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

A una solución de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (25 g, 0,103 mol) disuelta en etanol

absoluto anhidro (250 ml, 10 vol) enfriado en un baño de hielo-agua se añadió lentamente ácido sulfúrico concentrado (4 ml, 75 mmol) mediante adición gota a gota. Se produjo inmediatamente la precipitación causando que se detuviera la agitación. El baño de hielo-agua se retiró y fue necesaria la adición de etanol (200 ml) e isopropanol (225 ml) para reanudar la agitación. El ácido sulfúrico requerido remanente (7 ml, 131 mmol) se añadió lentamente en una solución de etanol:isopropanol (2:1, 75 ml). Se observó una reacción exotérmica (20,8 °C-24,0 °C). La suspensión de color blanco se mantuvo en agitación durante una noche en atmósfera de presión positiva de nitrógeno. La mezcla se filtró a continuación lavando con isopropanol (150 ml) y se secó a alto vacío (35 °C - 40 °C) para proporcionar 33,6 g (75 % de rendimiento) de disulfato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H, y LC-MS confirmaron la identidad y el patrón de XRD coincide con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 10: Preparación a gran escala de ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

A una solución de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (15 g, 0,062 mol) disuelta en tetrahidrofurano anhidro (300 ml, 20 vol) se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (23,4 g, 0,123 mol, 2 eq) en una porción. La mezcla inicialmente transparente se vuelve turbia y produce una reacción exotérmica suave. Después de aproximadamente 15 min, comienzan a precipitar cristales de la solución y se continuó agitando la mezcla durante 1,5 h. Se recogieron los sólidos por filtración al vacío, y la torta húmeda se secó en un horno de vacío a 40 °C para proporcionar 32,5 g (90 % de rendimiento) de ditosilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H confirmó la identidad y el patrón de XRD coincide con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 11: Preparación a gran escala de dinapsilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida:

A una solución de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (15 g, 0,062 mol) disuelta en tetrahidrofurano anhidro (300 ml, 20 vol) se añadió hidrato de ácido 2-naftalenosulfónico (25,7 g, 0,123 mol, 2 eq) en una porción. Precipitaron sólidos rápidamente de la mezcla inicialmente turbia. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y, a continuación, se recogieron los sólidos por filtración al vacío. La torta húmeda se secó en un horno de vacío a 40 °C para proporcionar 33,9 g (83 % de rendimiento) de dinapsilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H confirmó la identidad y el patrón de XRD coincide con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 12: Preparación a gran escala de monoedisilato 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida;

A una solución de base libre de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida (20 g, 0,082 mol) disuelta metanol (400 ml, 20 vol) se añadió dihidrato de ácido 1,2-etanodisulfónico (18,6 g, 0,082 mol, 1 eq) en una porción. La mezcla homogénea se volvió rápidamente turbia y, después de aproximadamente 5 min, precipitaron sólidos. La agitación se volvió difícil y se añadió una cantidad adicional de 200 ml de metanol para facilitar la agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 min, y a continuación se recogieron los sólidos mediante filtración al vacío. La torta húmeda se secó en un horno de vacío a 40 °C para proporcionar 33,4 g (93 % de rendimiento) de edisilato de 2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H confirmó la identidad y el patrón de XRD coincide con el patrón de la muestra a pequeña escala.

Ejemplo 13: Estudio de estabilidad de sales representativas:

Cuatro sales representativas, es decir, monoedisilato, ditosilato, dinapsilato y disulfato, preparadas a escala de más de 30 gramos se desafiaron usando calor (sólidos almacenados a 25 y 60 °C durante 1 semana), oxidación (sólidos almacenados en un cabezal de oxígeno a 25 °C durante 1 semana), luz (fuente de luz en condiciones confirmatorias de ICH > 200 Whr/m²), y soluciones (en diluyente de HPLC) a 25 y 40 °C durante 1 semana. Las muestras sometidas a estrés se analizaron usando HPLC para determinar sus perfiles de impurezas.

Tabla 10. Resumen de los datos de estabilidad de HPLC en sales representativas

Condiciones de ensayo de las sales	Normalización de área total por HPLC - Área % Pureza				
	Base libre	Disulfato	Ditosilato	Dinapsilato	Monoedisilato
Estado sólido - ambiente	100	99,98	99,82	99,90	99,79
Estado sólido - 60C	N/a	99,98	99,94	99,87	99,95
Solución* - Ambiente	N/a	99,90	99,89	99,87	99,81
Solución* - 40C	99,89	99,75	99,91	99,96	99,90
Oxidación Ambiente	99,97	99,97	99,92	99,81	99,95
Fotoestabilidad - Control oscuro	99,97	99,97	99,94	99,85	99,97

Condiciones de ensayo de las sales	Normalización de área total por HPLC - Área % Pureza				
	Base libre	Disulfato	Ditosilato	Dinapsilato	Monoedisilato
Fotoestabilidad - Expuesto	99,98	99,94	99,93	99,82	99,86
* Solución de agua y acetonitrilo (1:1). ** N/a = Datos no disponibles.					

Los resultados de estabilidad que se muestran en la Tabla 10 representan los promedios de dos inyecciones de preparaciones de muestra por duplicado. Los datos de estabilidad por HPLC mostraron que las sales exhibieron poca o ninguna degradación con las condiciones usadas.

5 Para confirmar la poca o ninguna degradación observada en el estudio de estabilidad por HPLC, algunas muestras (sólidos almacenados a 60 °C y oxidación) de cuatro de las sales y la base libre se analizaron adicionalmente por RMN de protón (es decir, RMN H). El análisis fue cualitativo.

10 Las Figuras 34 a 38 mostraron los espectros superpuestos de RMN de protón para las muestras analizadas durante la parte de estabilidad del estudio. Los datos de estabilidad por RMN mostraron que las sales exhibieron una alta estabilidad con poca o ninguna degradación bajo estrés. Los datos de estabilidad de RMN también mostraron que las sales son ligeramente más estables que la base libre. Específicamente, se puede observar una ligera degradación de la base libre después de estrés térmico en los espectros de RMN.

15 **Ejemplo 14:** Estudio farmacocinético de sales representativas

El objetivo de este estudio fue proporcionar información farmacocinética preliminar en lo que respecta a la exposición de las diferentes formas de sal de LM11A-31 a plasma y cerebro de rata cuando se dosifican mediante una sonda oral. Grupos que consisten en nueve ratas macho recibieron dosis individuales de 25 mg/kg de base libre mediante sonda oral. Se obtuvieron muestras de plasma de tres ratas por punto temporal después de la administración (0,5, 1, 2, 3, 4, y 8 horas) y se recogieron muestras de cerebro a terminaciones de 1, 3 y 8 horas (tres ratas por punto temporal).

25 Las muestras se analizaron mediante LC-MS/MS para determinar las concentraciones en plasma y cerebro del artículo de ensayo. El análisis farmacocinético de los datos de concentración en plasma se llevó a cabo usando análisis no compartimental con Win-Nonlin Version 4.1. Los parámetros farmacocinéticos en plasma se resumen en la Tabla 11 y la Tabla 12 siguientes:

30

Tabla 11.

Sal (dosificada)	Rsq	T _{1/2} (h)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{tot} (h*ng/ml)	AUC _{INF} (h*ng/ml)	AUC% _{Extrap} (%)
Base libre	0,987	1,05	0,5	371	321	316	4,81
Ditosilato	0,944	0,63	0,5	296	295	290	1,45
Disulfato	1,000	1,10	0,5	413	416	410	5,26
Dinapsilato	0,890	1,90	0,5	335	270	280	3,44
Edisilato	0,973	0,708	0,5	284	247	243	1,52

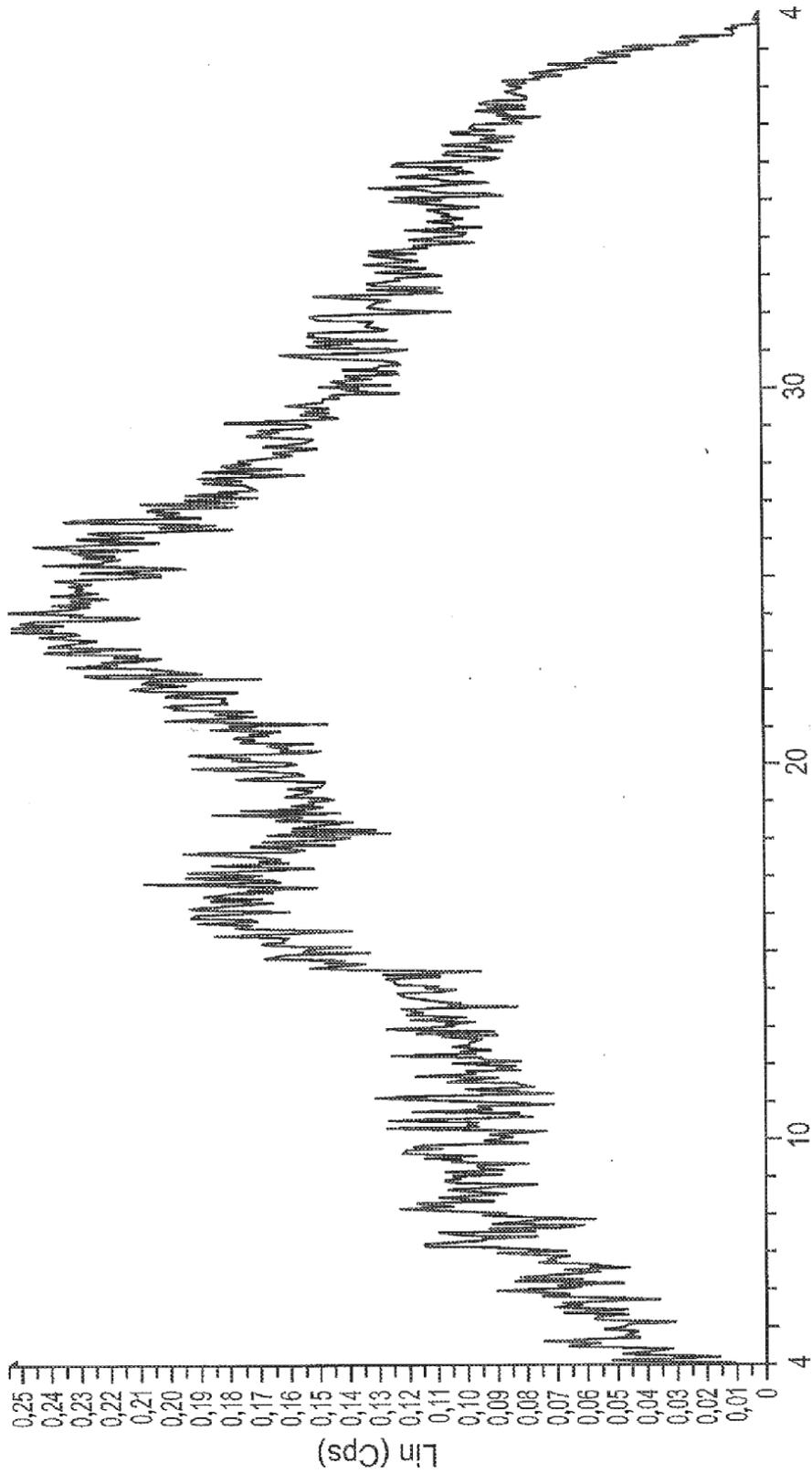
Tabla 12.

Sal (dosificada)	Proporción cerebro: plasma	Nivel máximo en cerebro (ng/g de tejido)
Base libre	2,0 - 3,5	105
Ditosilato	1,0 - 5,7	120
Disulfato	0,6 - 1,8	77
Dinapsilato	3,5 - 4,4	123
Edisilato	1,4 - 3,3	98

35 En general, la sal de disulfato dio como resultado una mayor exposición (AUC y C_{max}) que la base libre y la sal de dinapsilato tiene una mayor semivida en plasma terminal y mayor proporción de cerebro con respecto a plasma que la base libre. En general, las sales de disulfato y dinapsilato demostraron mejores propiedades PK que la base libre.

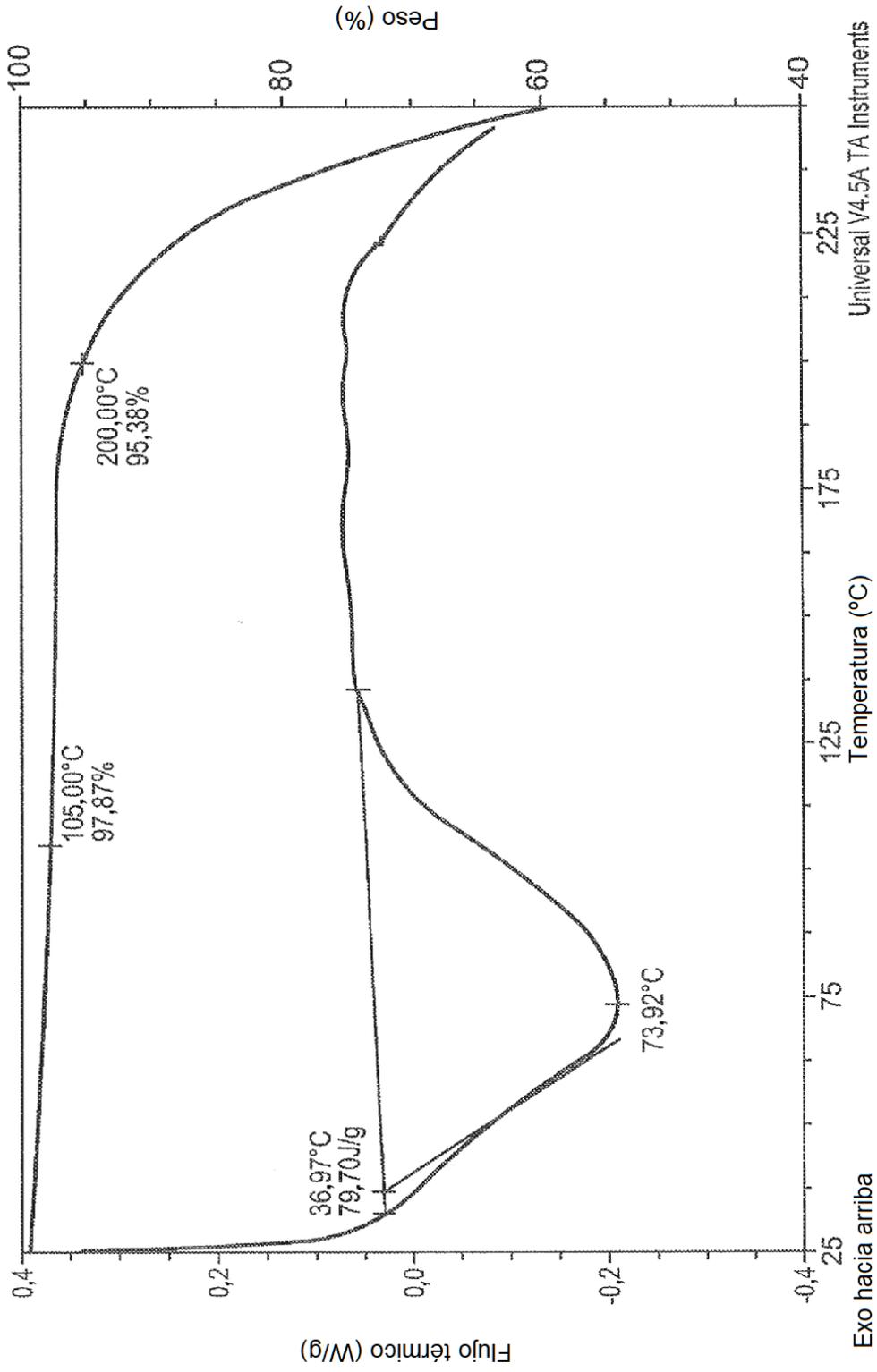
REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina de una sal de adición de ácido sulfúrico de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida, en la que dicha sal de adición de ácido sulfúrico exhibe un patrón de difracción de rayos X de polvo con radiación Cu-K- α que comprende picos a $21,784 \pm 0,5$; $22,468 \pm 0,5$; y $19,277 \pm 0,5$ grados dos-theta, comprendiendo además opcionalmente picos a $24,618 \pm 0,5$ y $15,499 \pm 0,5$ grados dos-theta.
2. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha sal de adición de ácido sulfúrico de (2S,3S)-2-amino-3-metil-N-(2-morfolinoetil)-pentanamida exhibe un espectro Raman que comprende picos a 2980610 ; 2943610 ; 2889610 ; y 1033610 cm^{-1} , comprendiendo además opcionalmente picos a 975610 y 851610 cm^{-1} .
3. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 para su uso en el tratamiento de un trastorno que implica degeneración o disfunción de células que expresan p75 por administración a un paciente con necesidad de tal tratamiento de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende dicha forma cristalina, en el que el trastorno es preferentemente un trastorno neurodegenerativo, o un trastorno seleccionado entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Pick, esclerosis lateral amiotrófica, epilepsia, enfermedad de Parkinson, lesión de la espina dorsal, apoplejía, hipoxia, isquemia, lesión cerebral, neuropatía diabética, neuropatía periférica, trasplante de nervios, esclerosis múltiple, lesión de nervios periféricos, y pérdida capilar.
4. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina como se define en la reivindicación 1.



Escala 2-Theta

Figura 1



Universal V4.5A TA Instruments

Figura 2

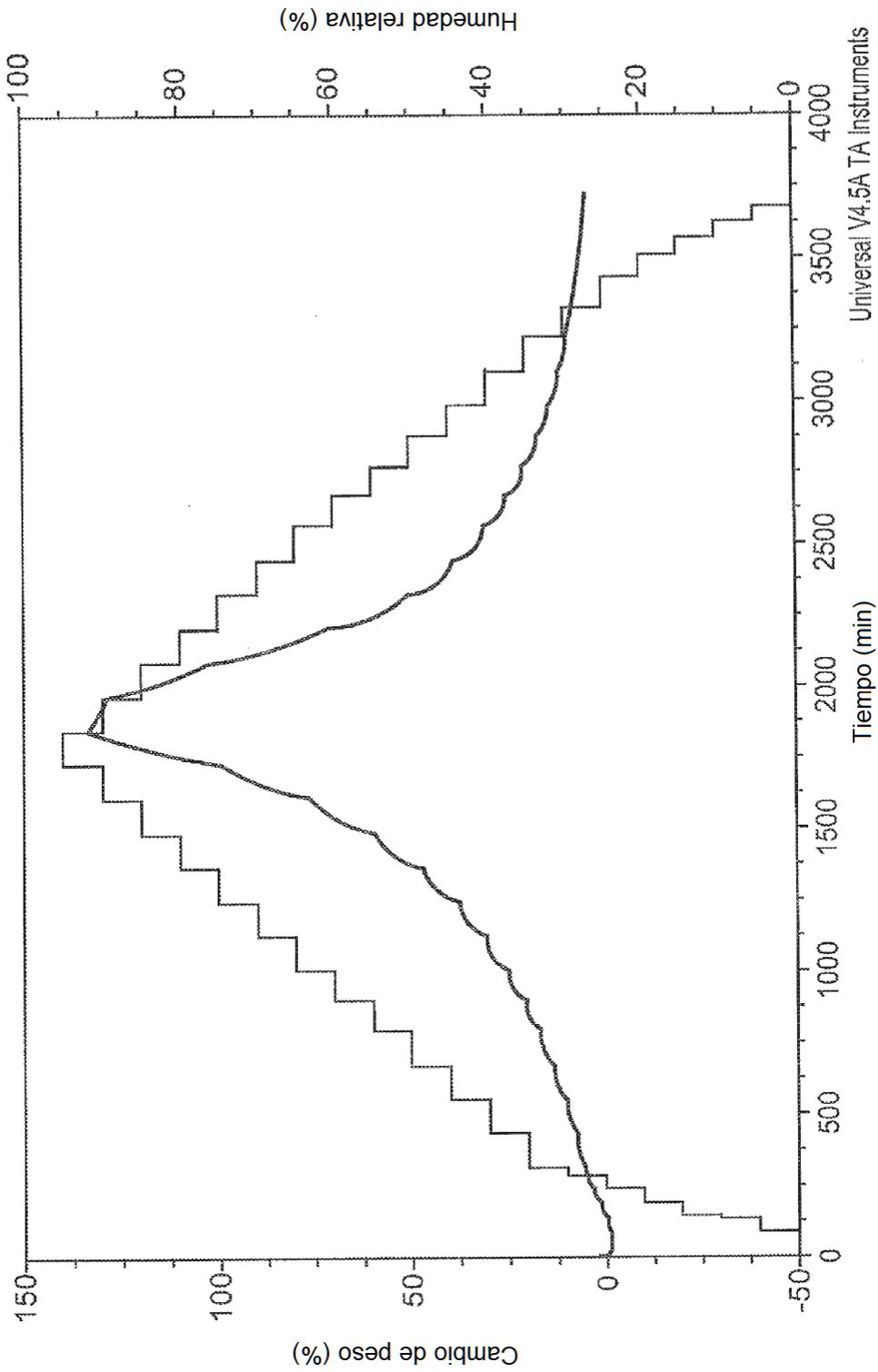
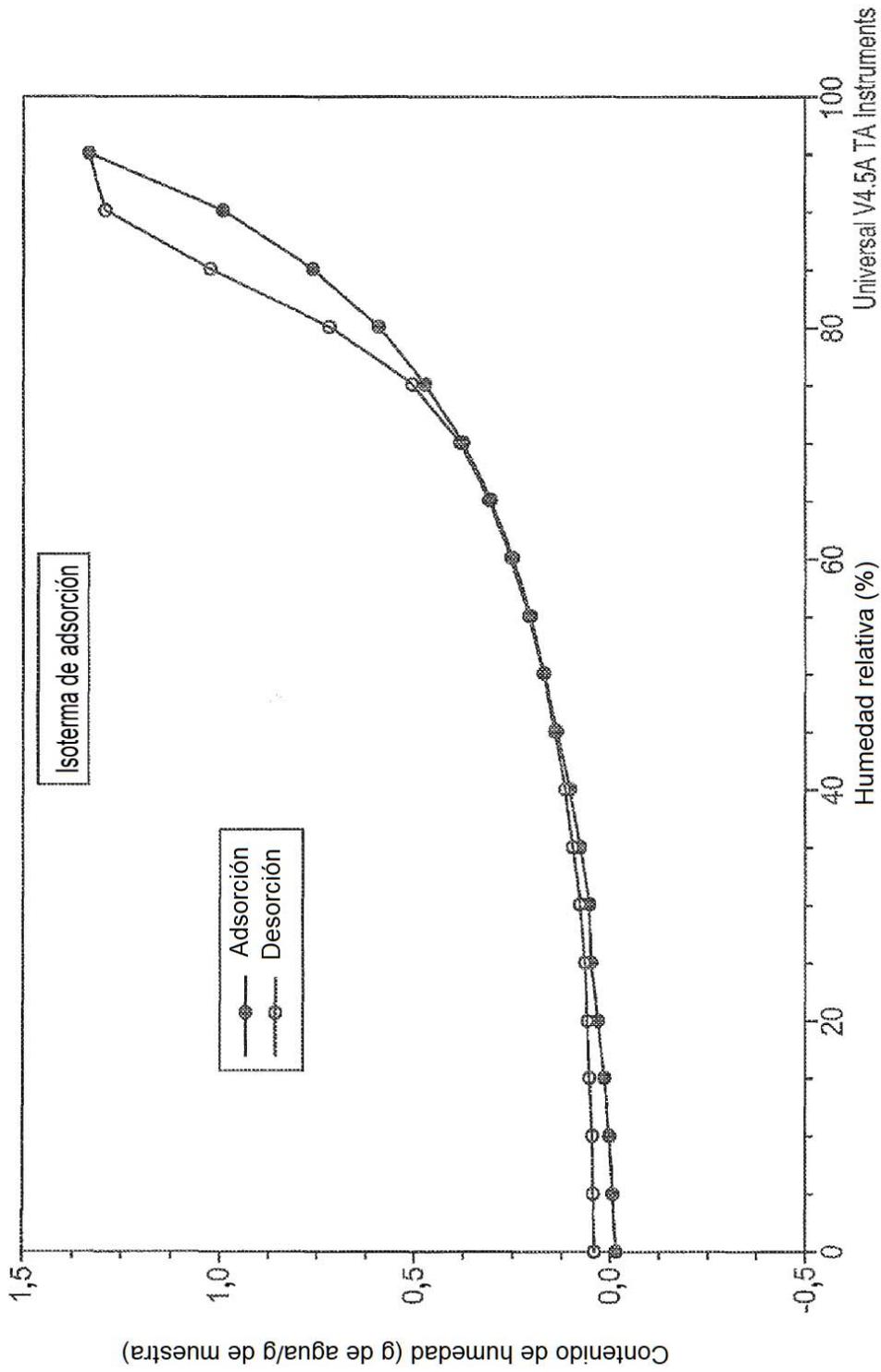


Figura 3



Universal V4.5A TA Instruments

Figura 3B

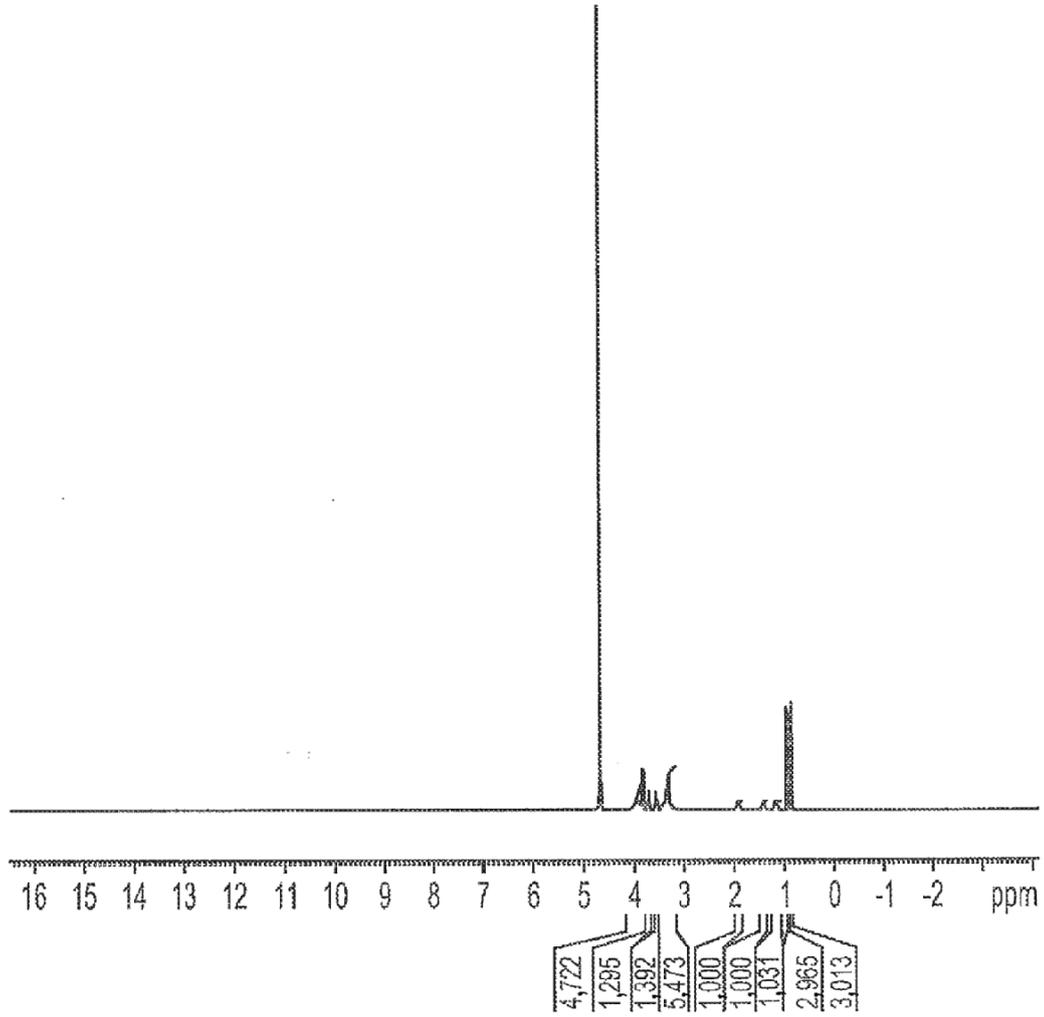


Figura 4

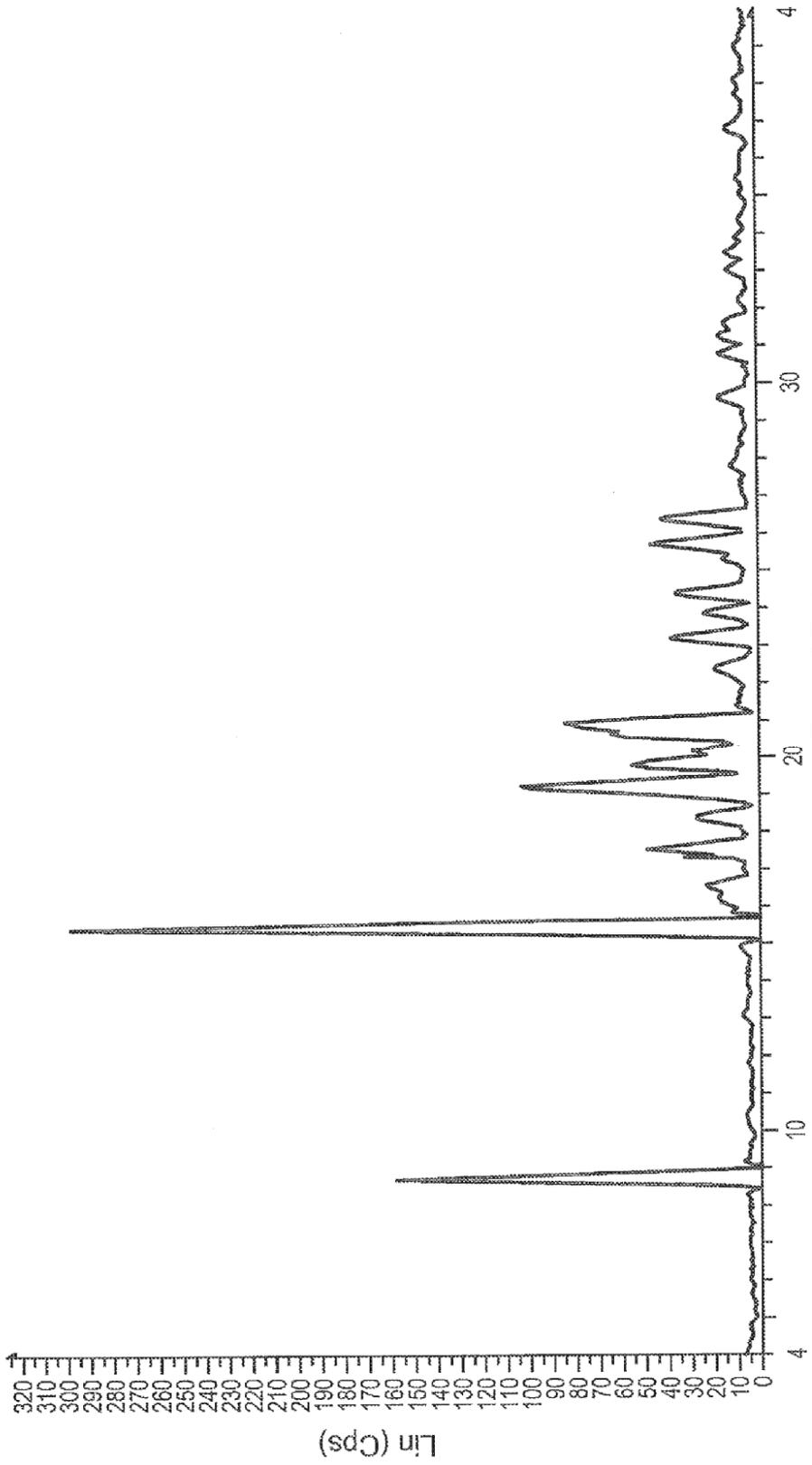
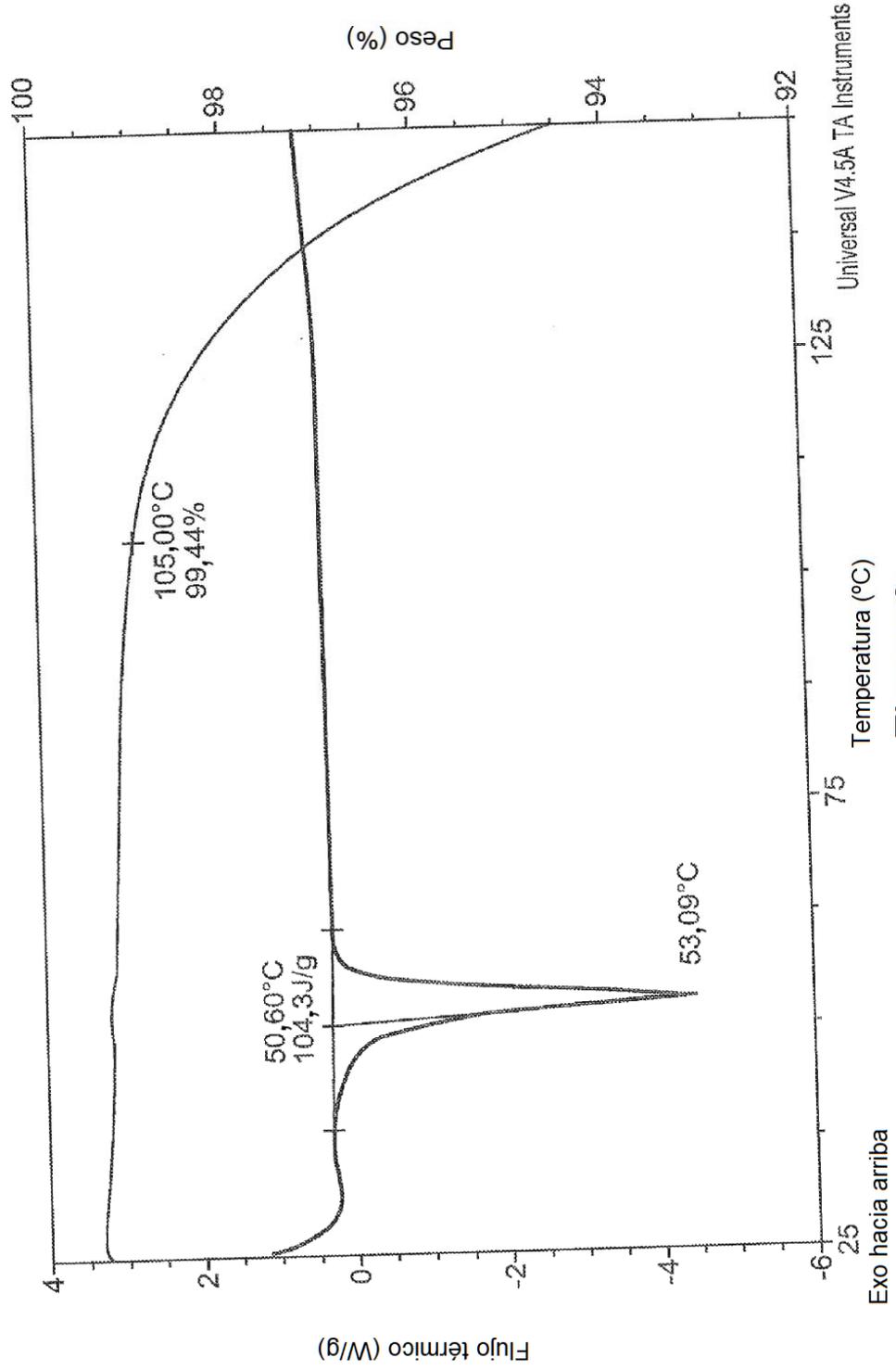


Figura 5



Universal V4.5A TA Instruments

Figura 6

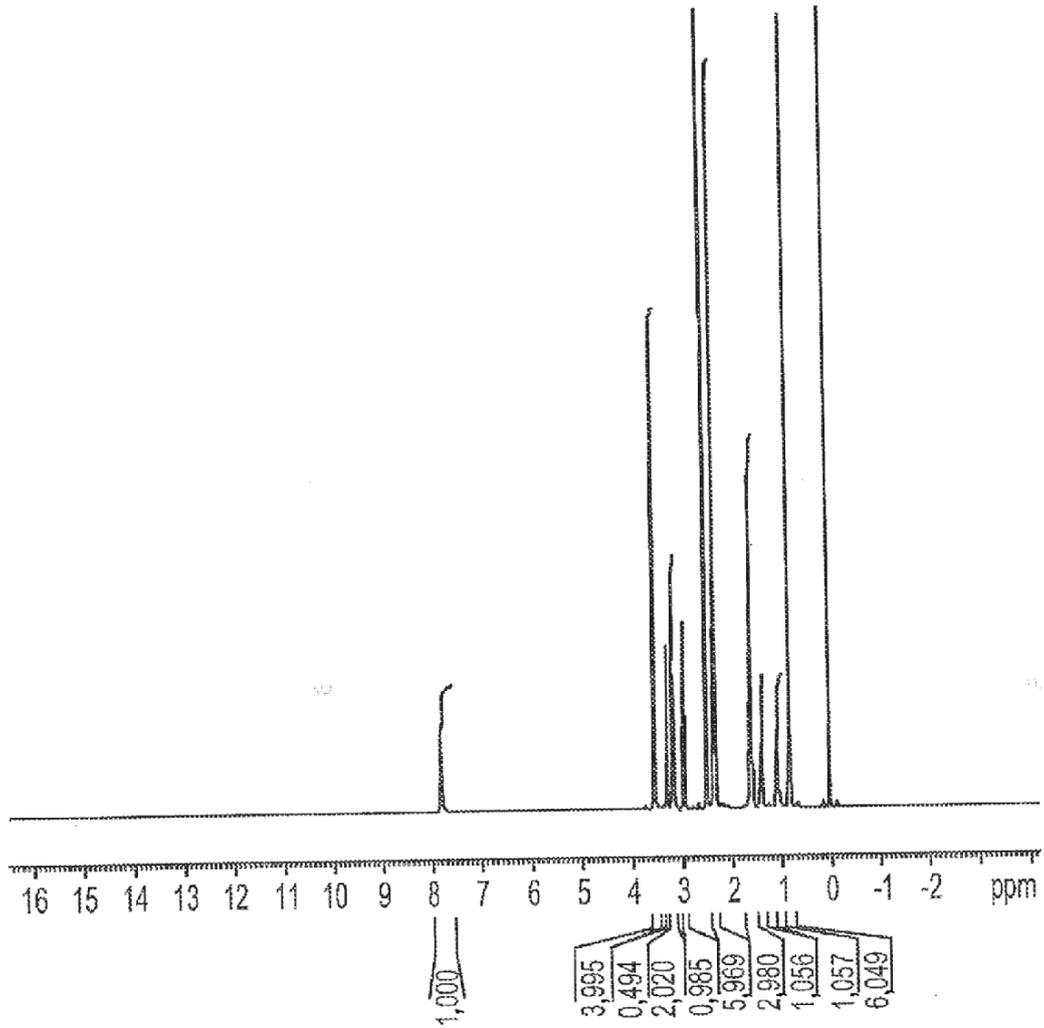


Figura 7

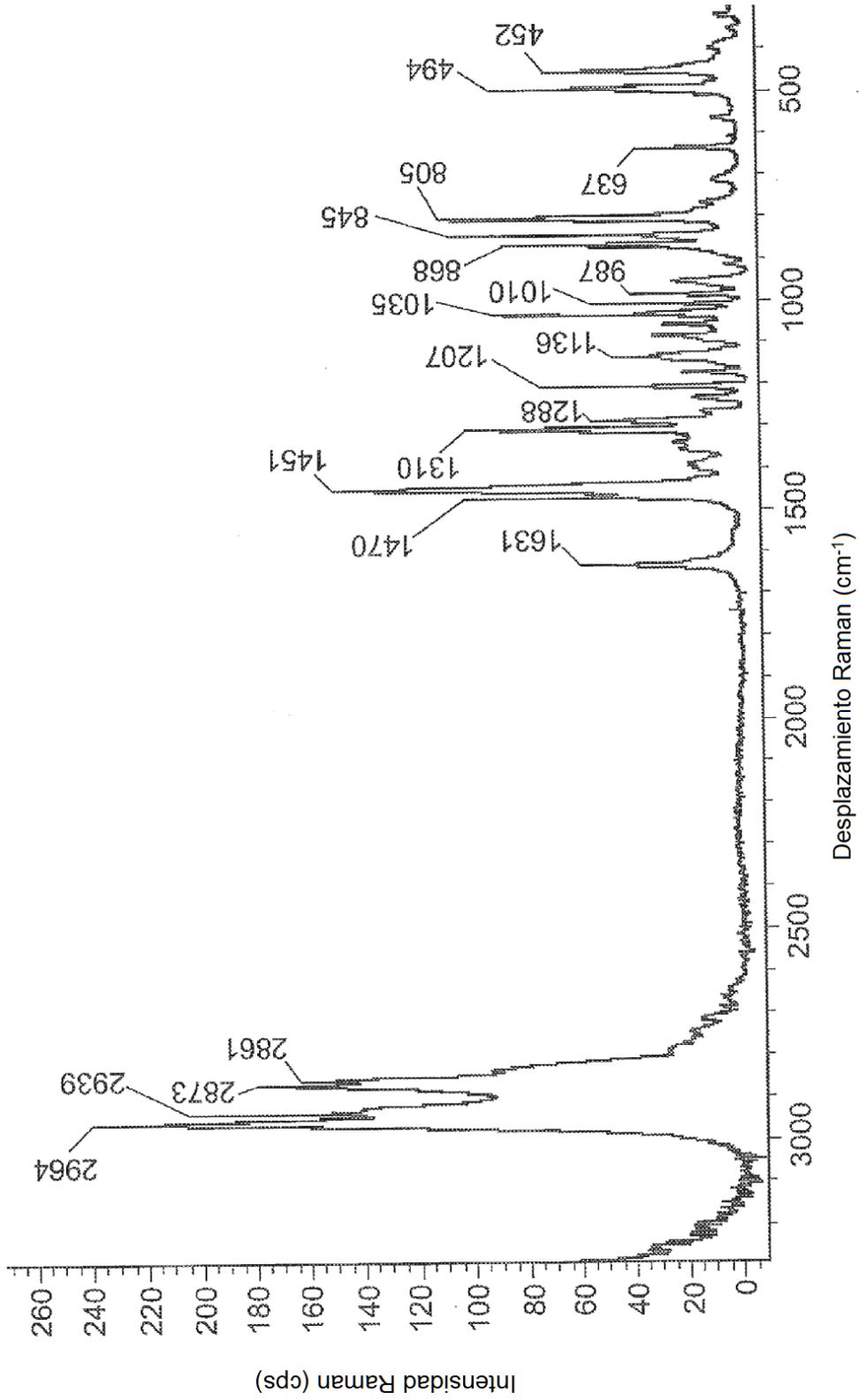


Figura 8A

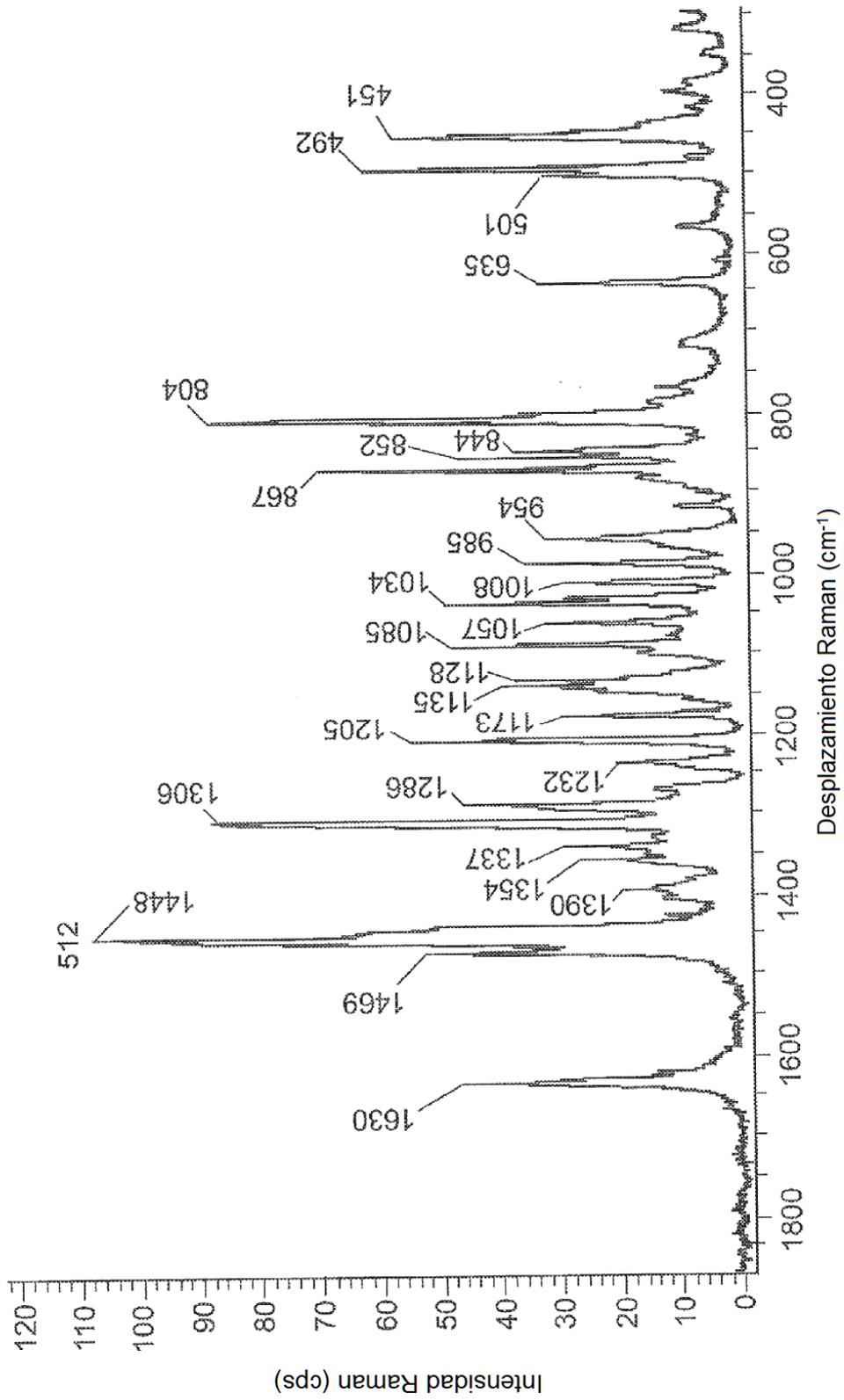


Figura 8B

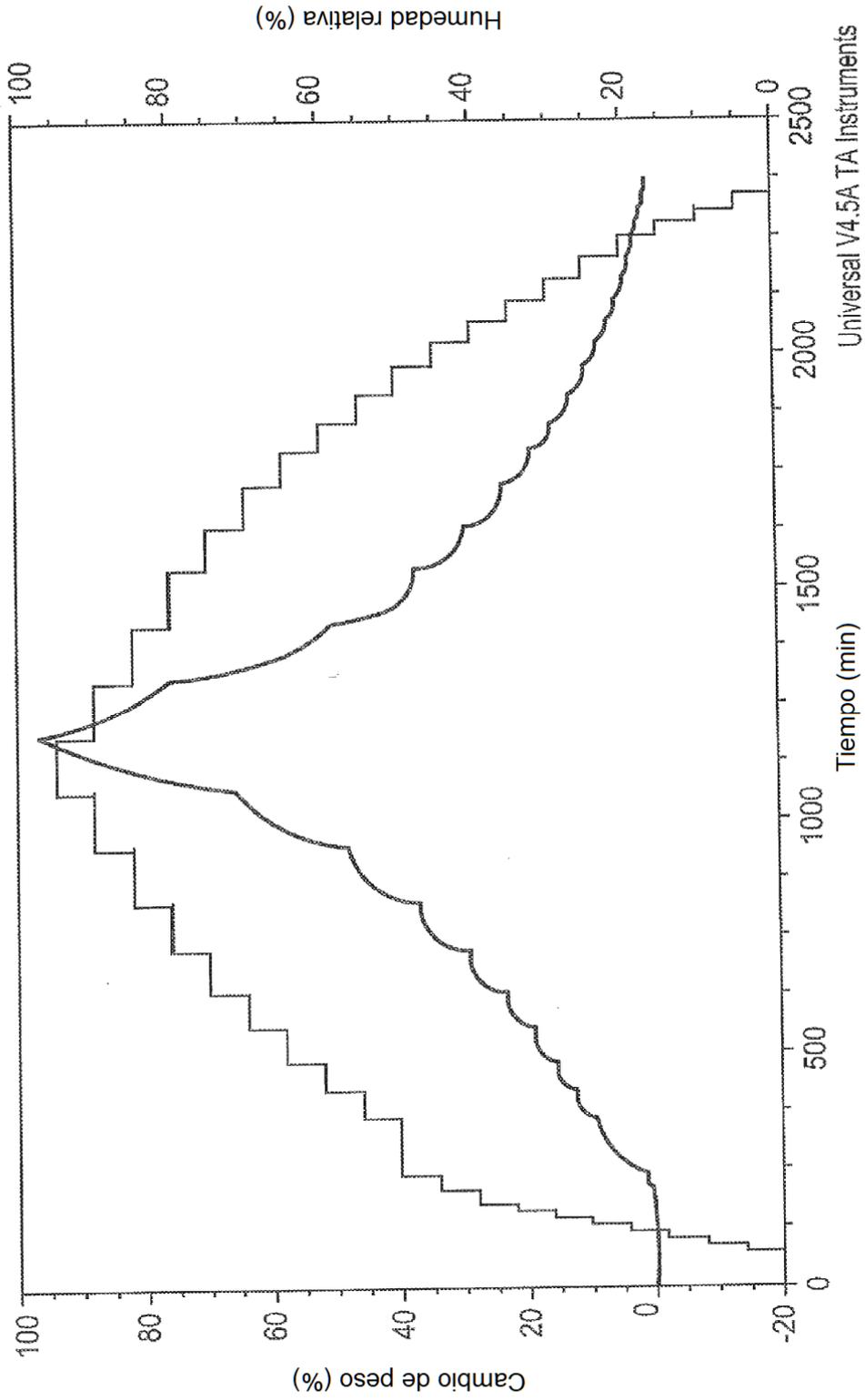


Figura 9A

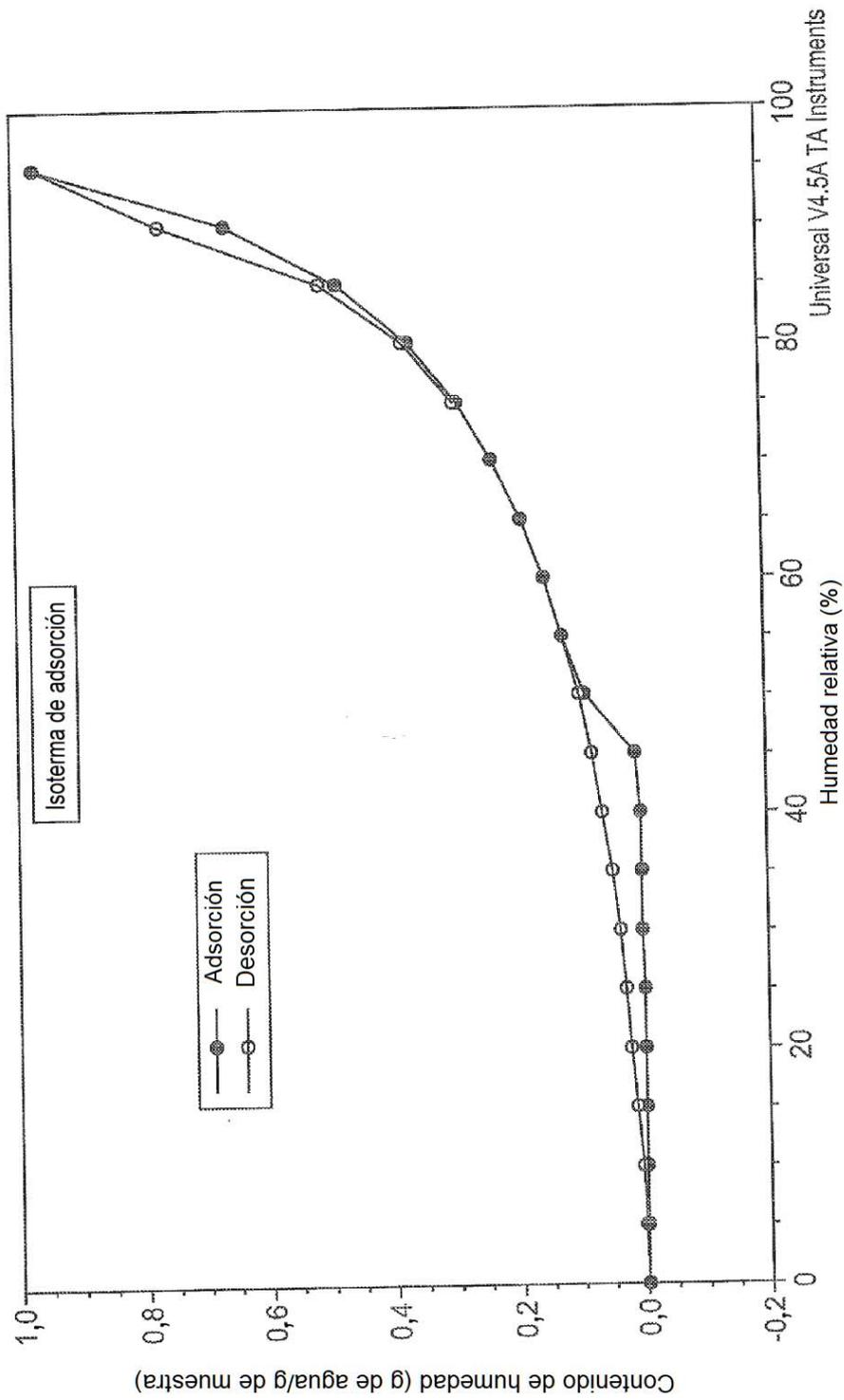


Figura 9B

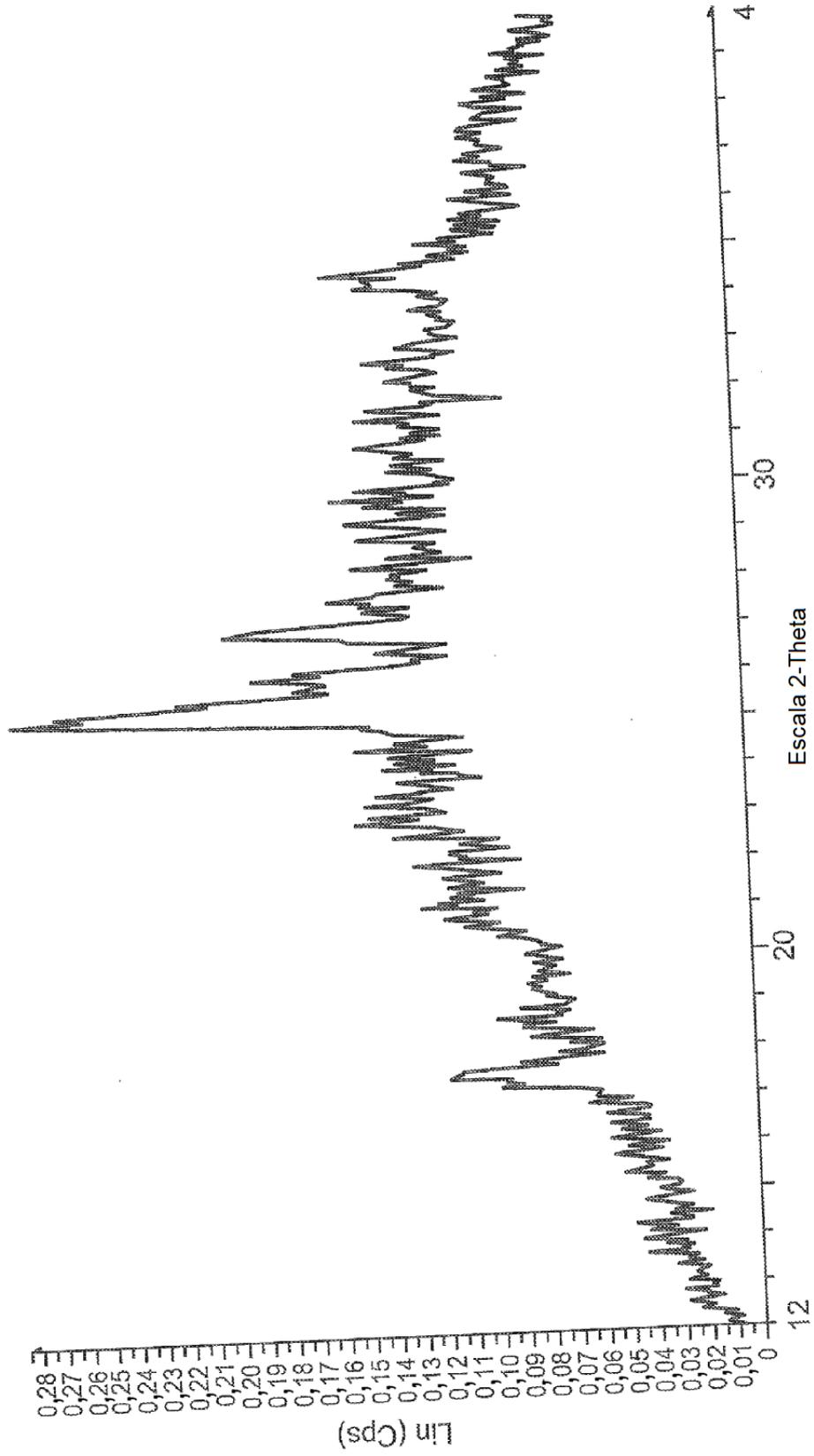


Figura 10

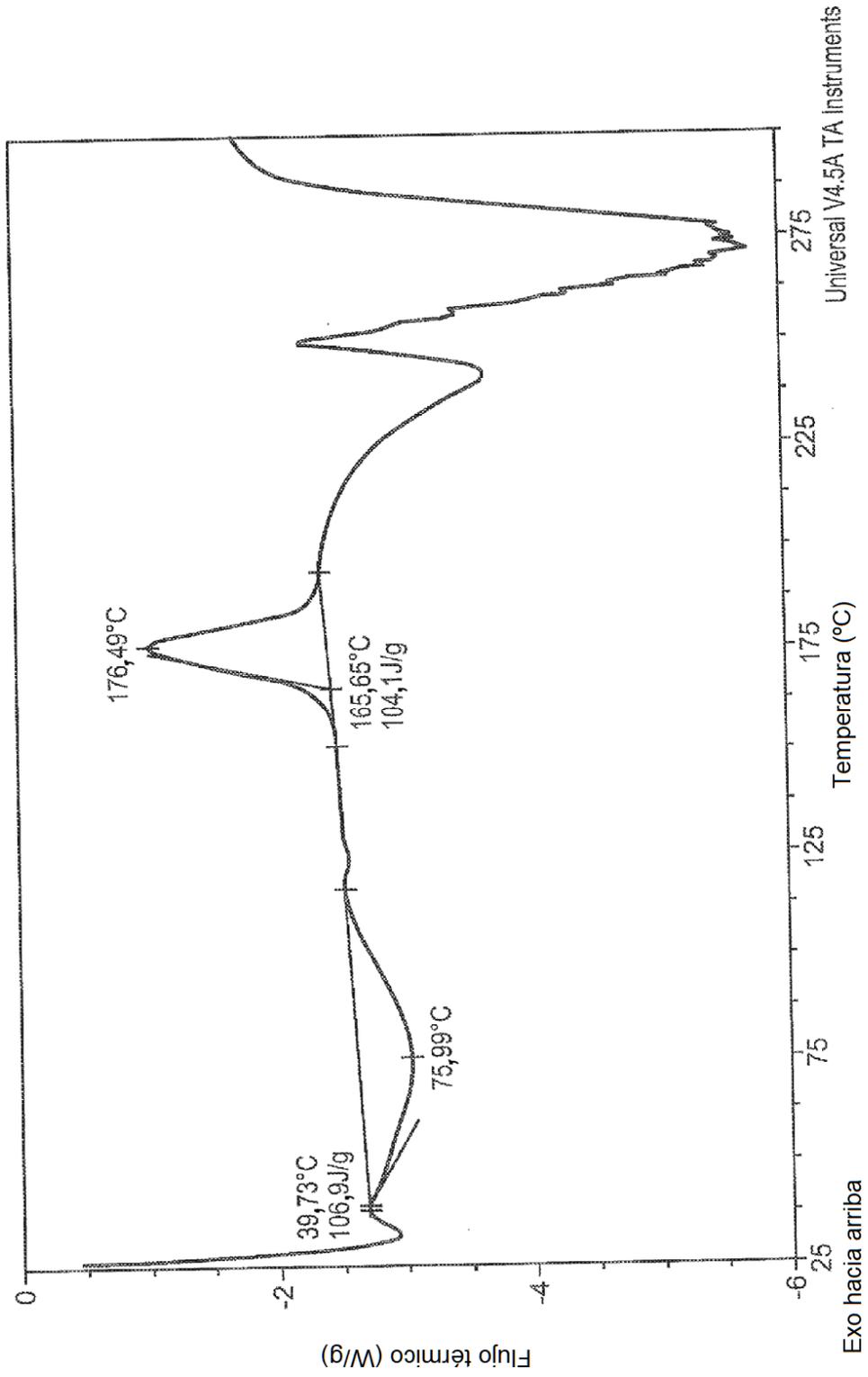


Figura 11

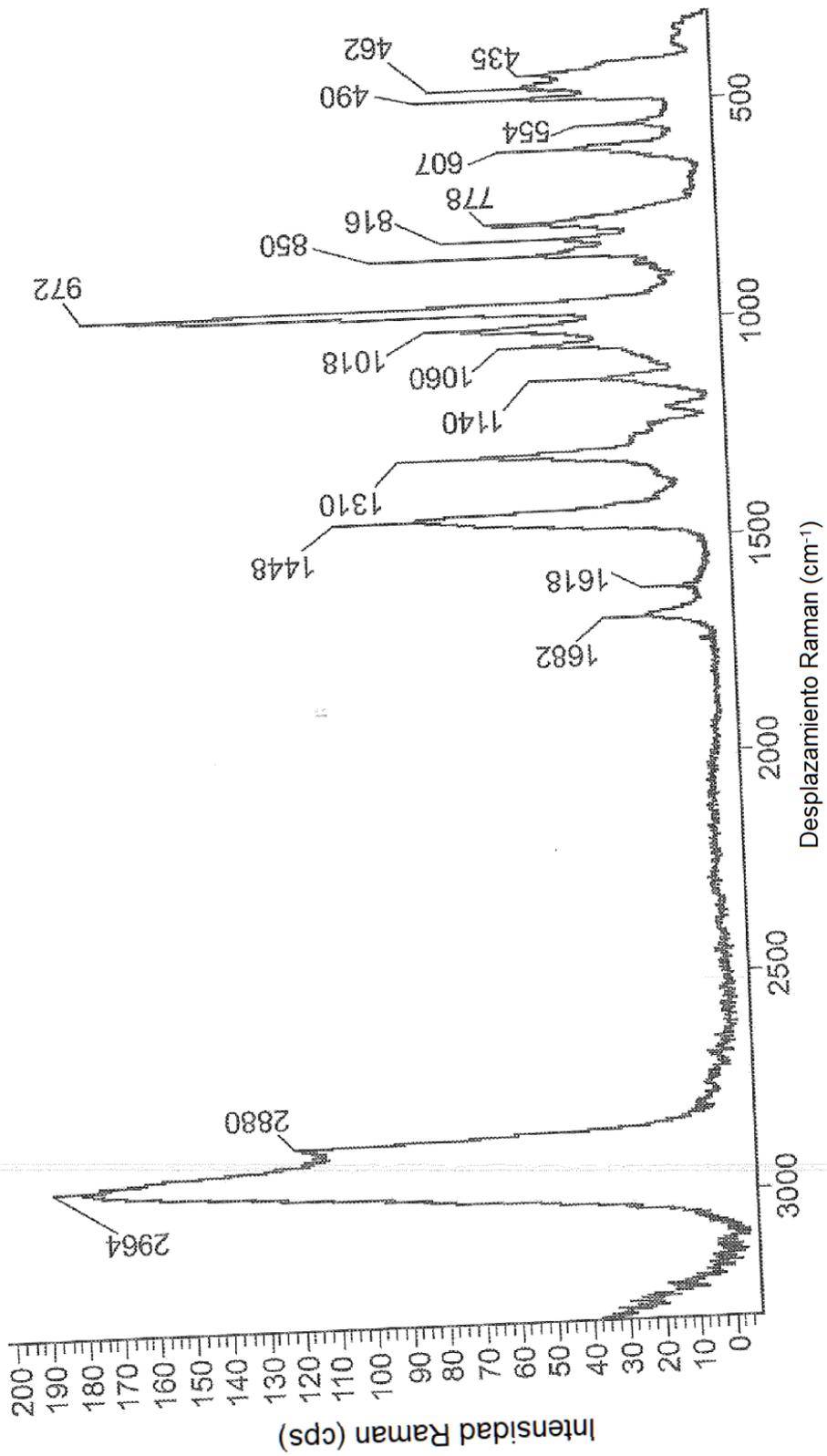


Figura 12A

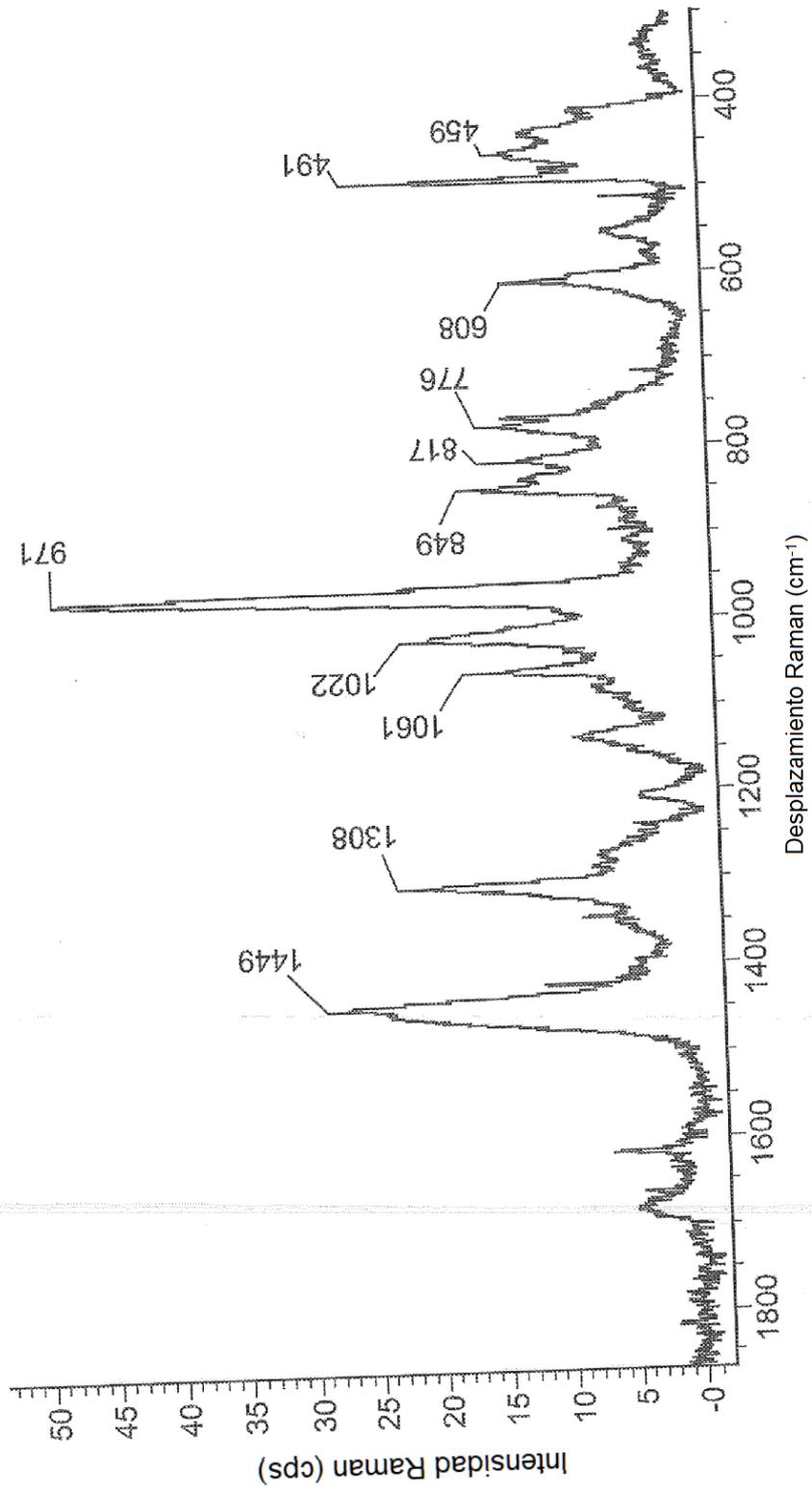
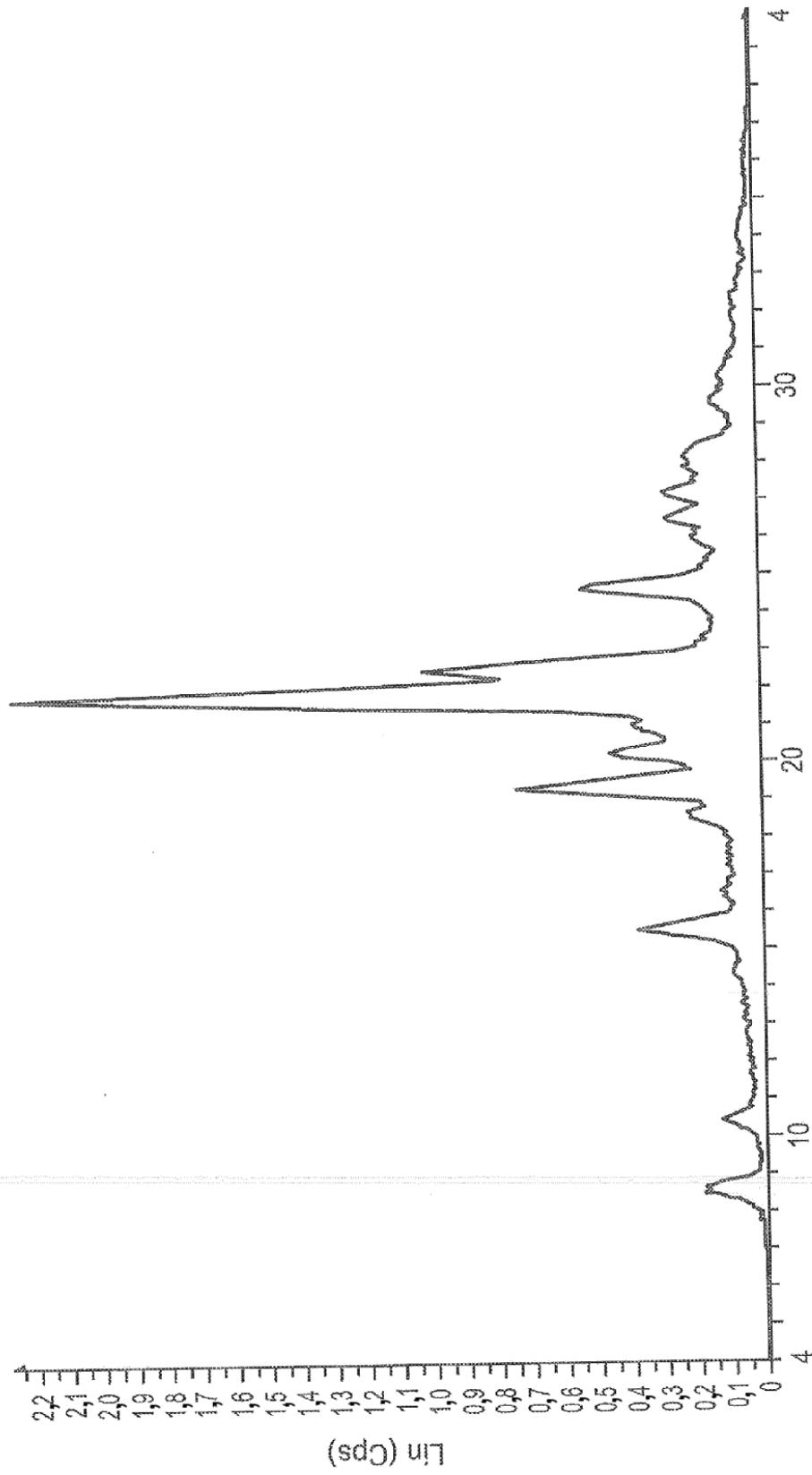


Figura 12B



Escala 2-Theta

Figura 13

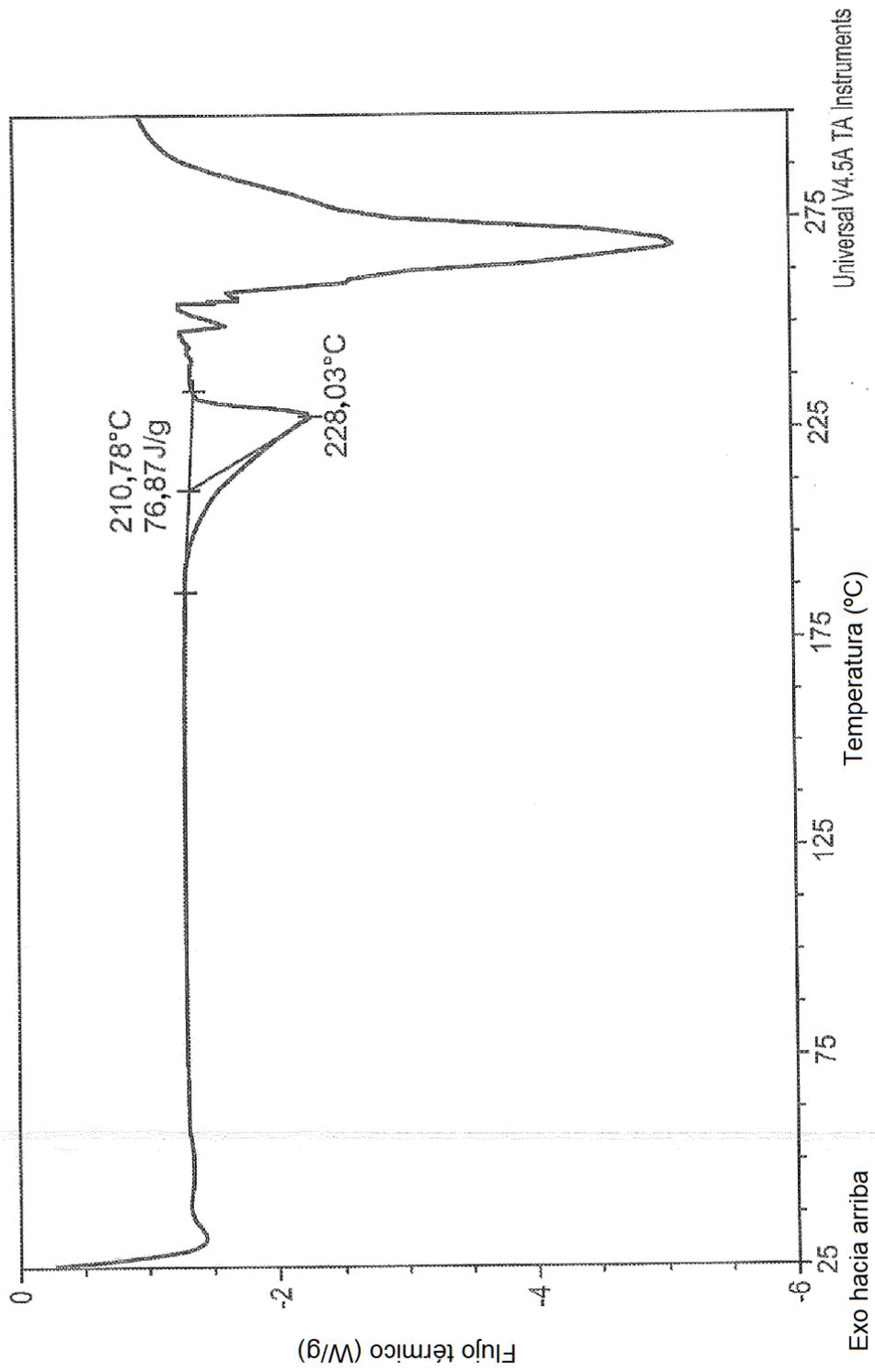


Figura 14

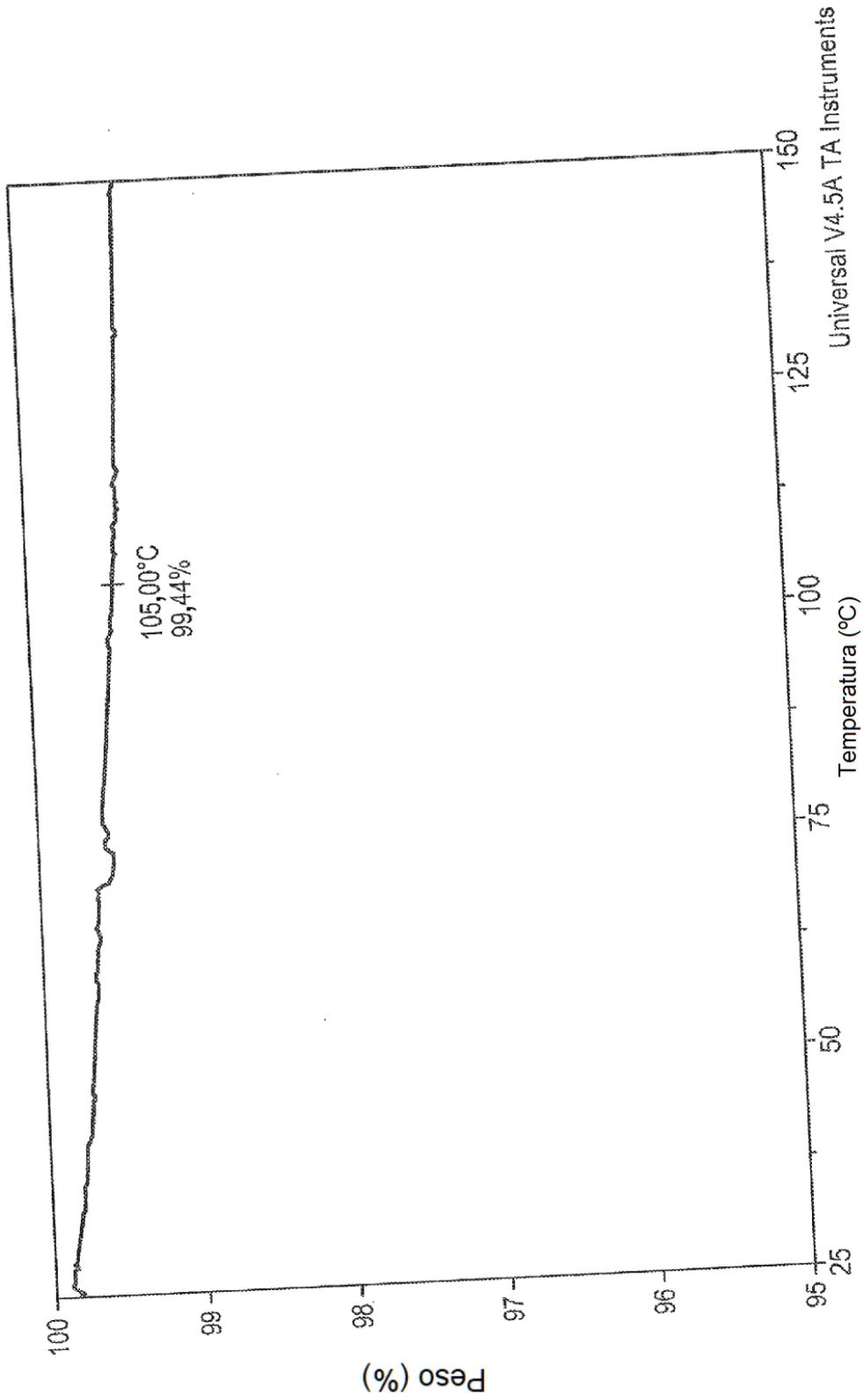


Figura 15

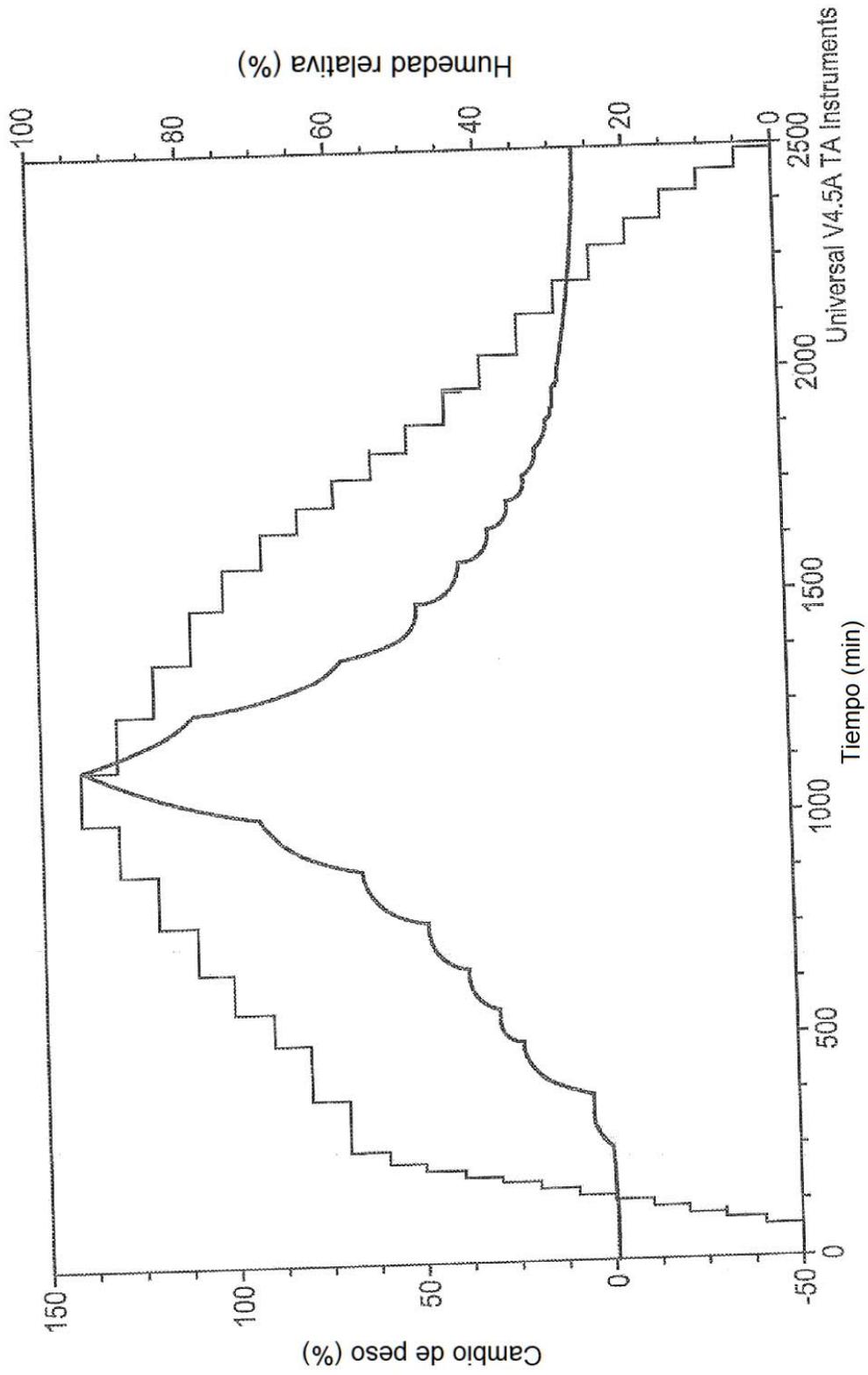
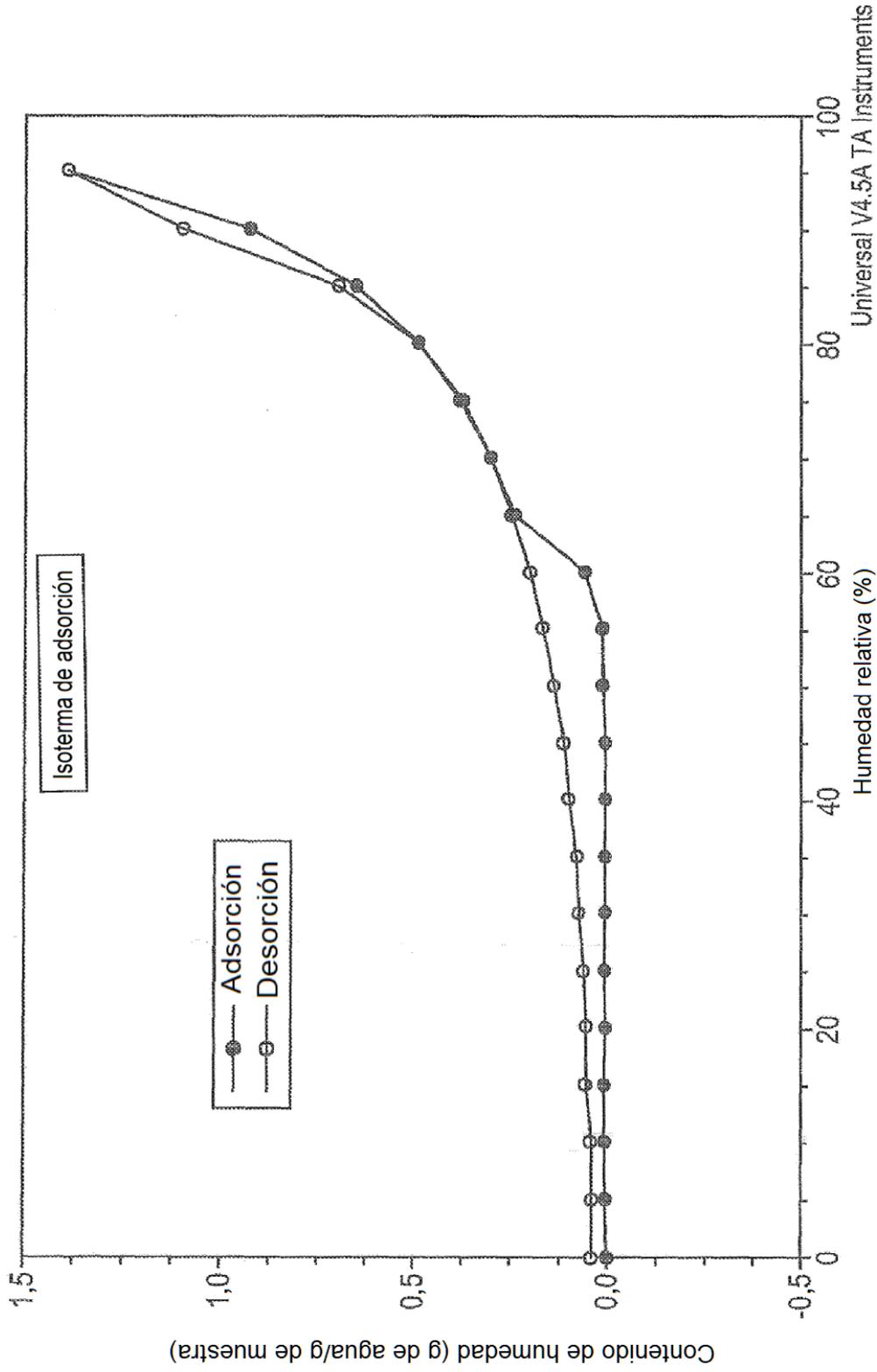


Figura 16A



Universal V4.5A TA Instruments

Figura 16B

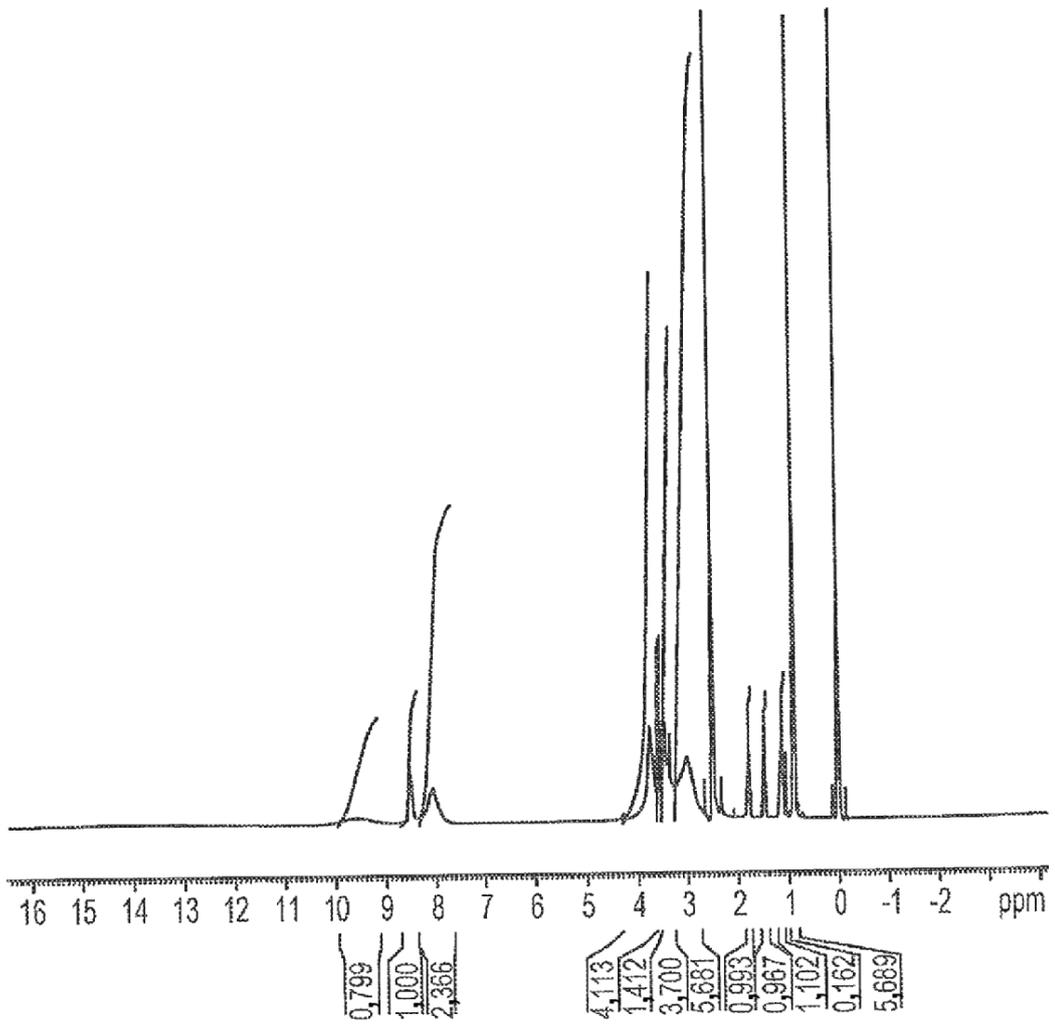


Figura 17

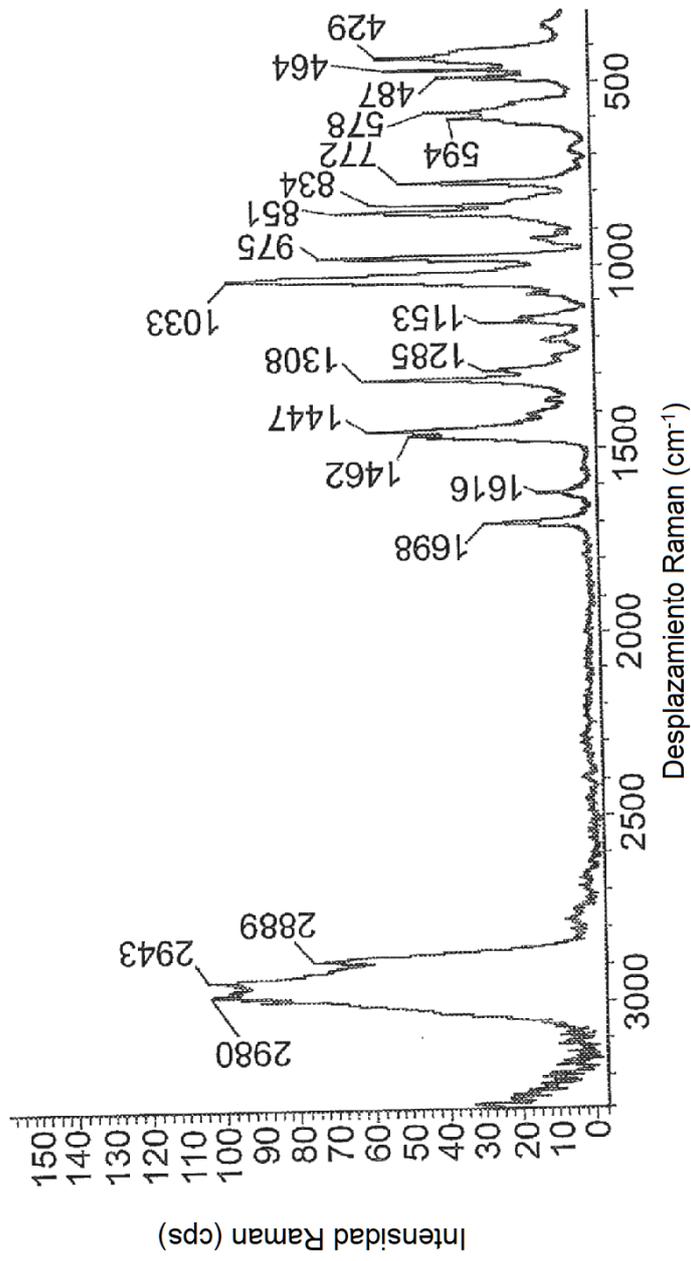


Figura 18A

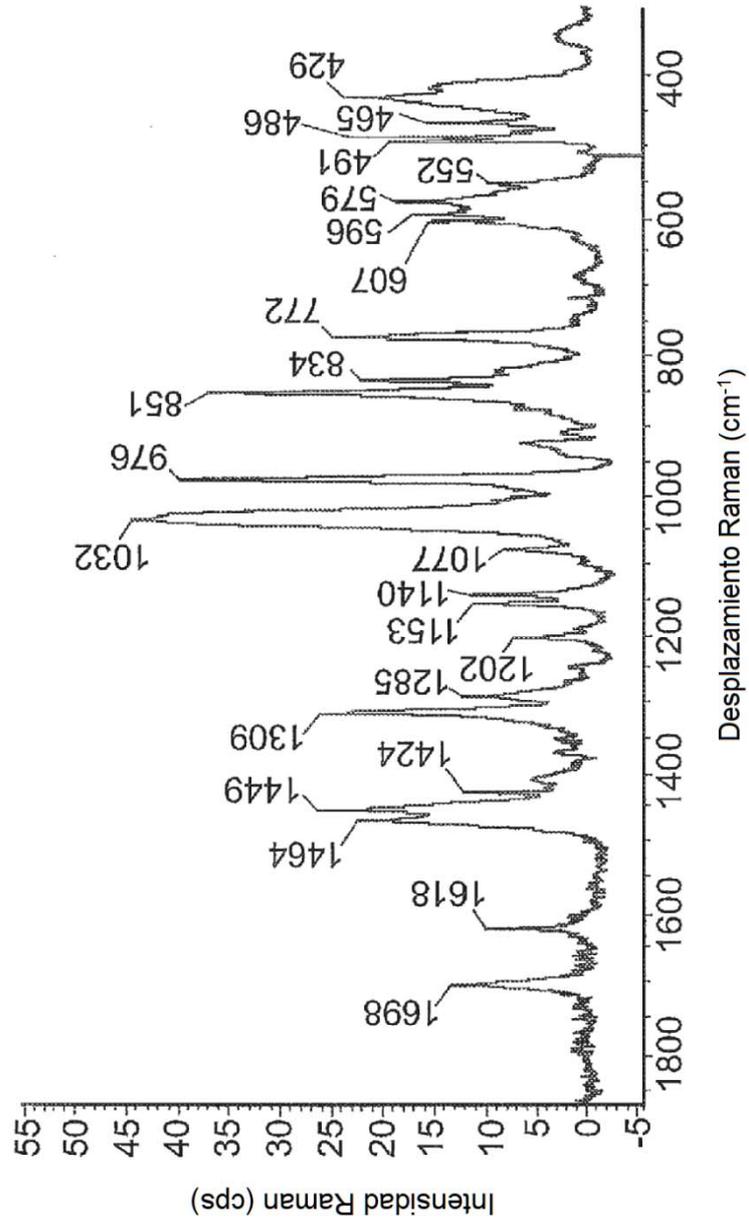


Figura 18B

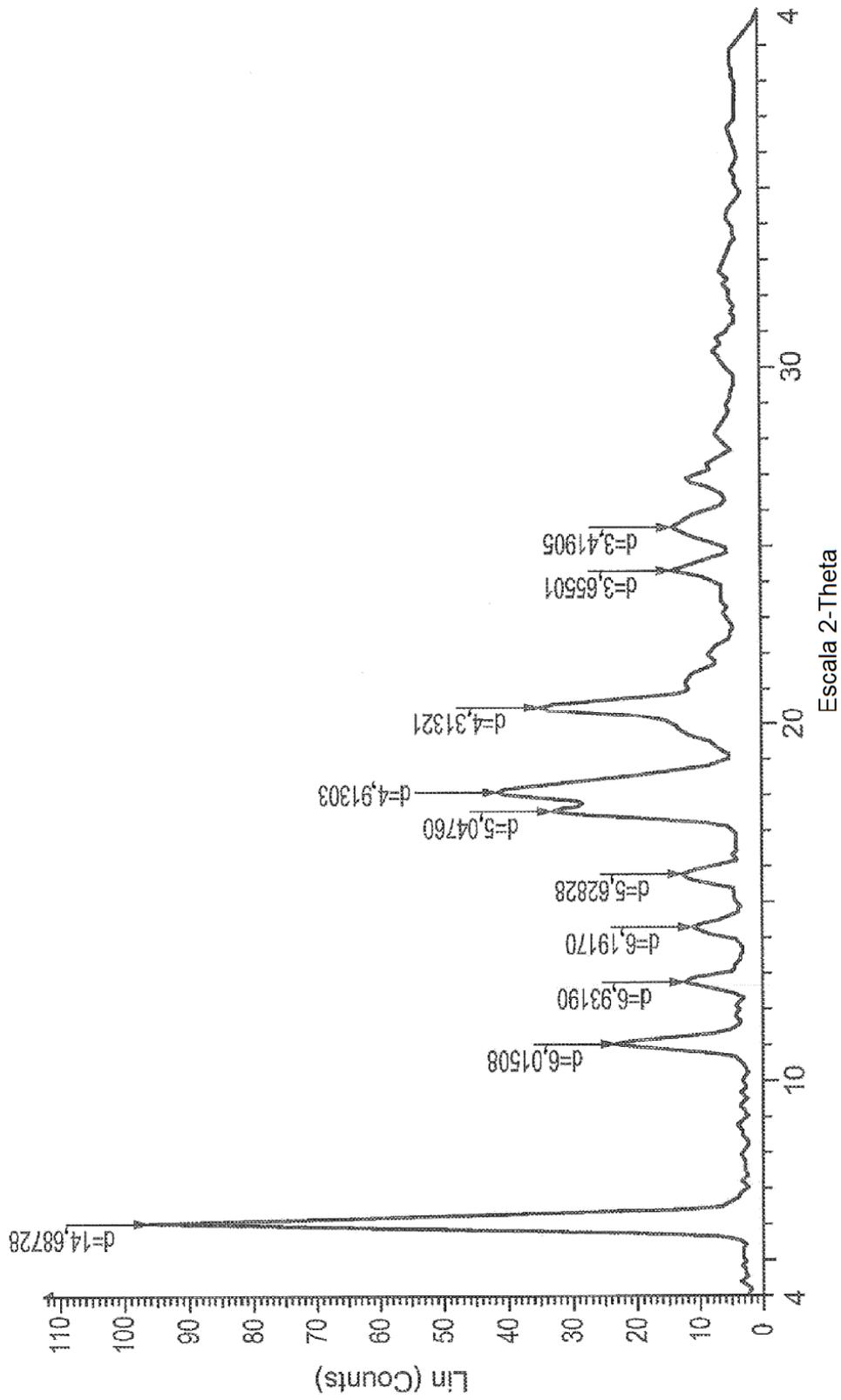


Figura 19

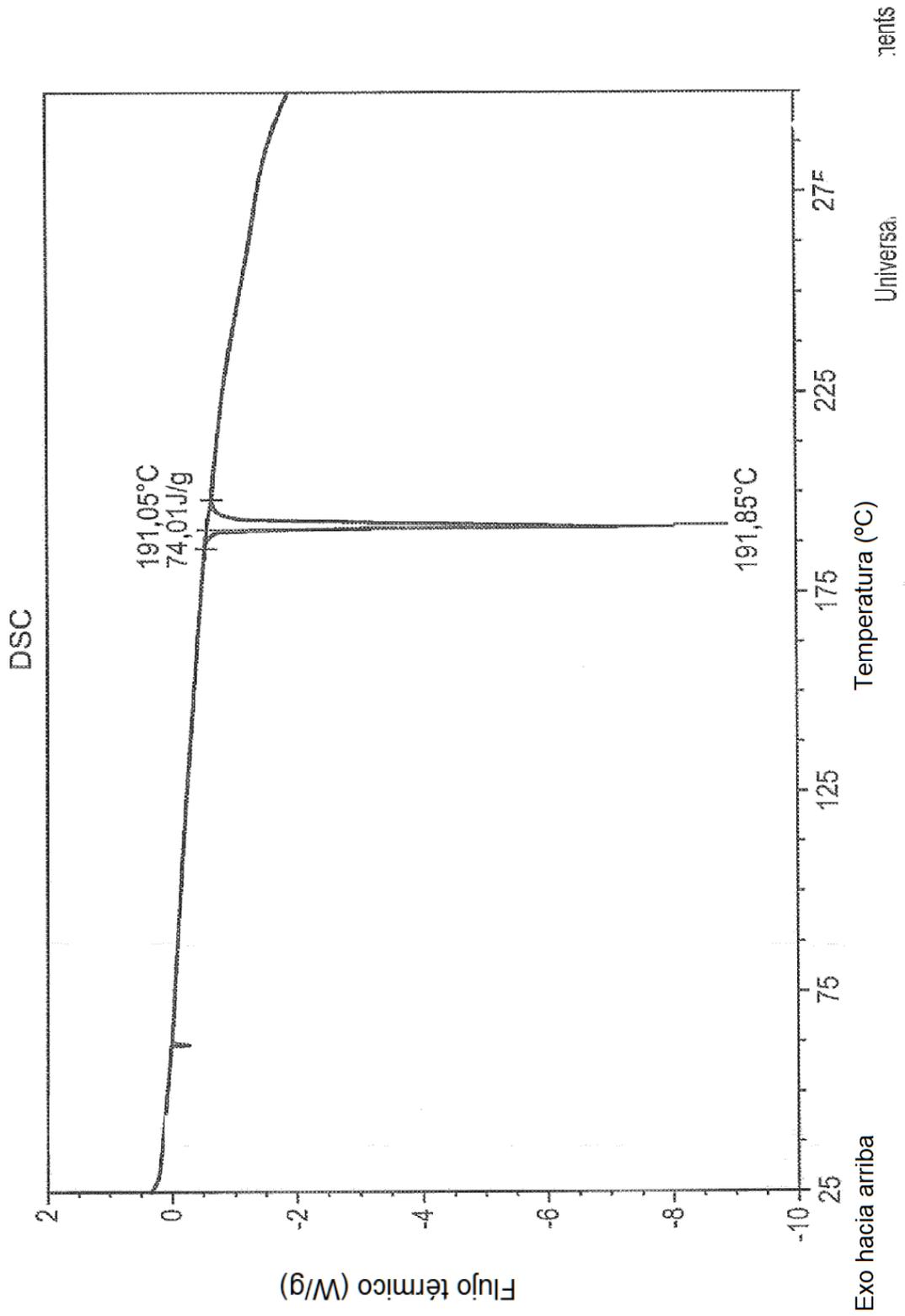


Figura 20A

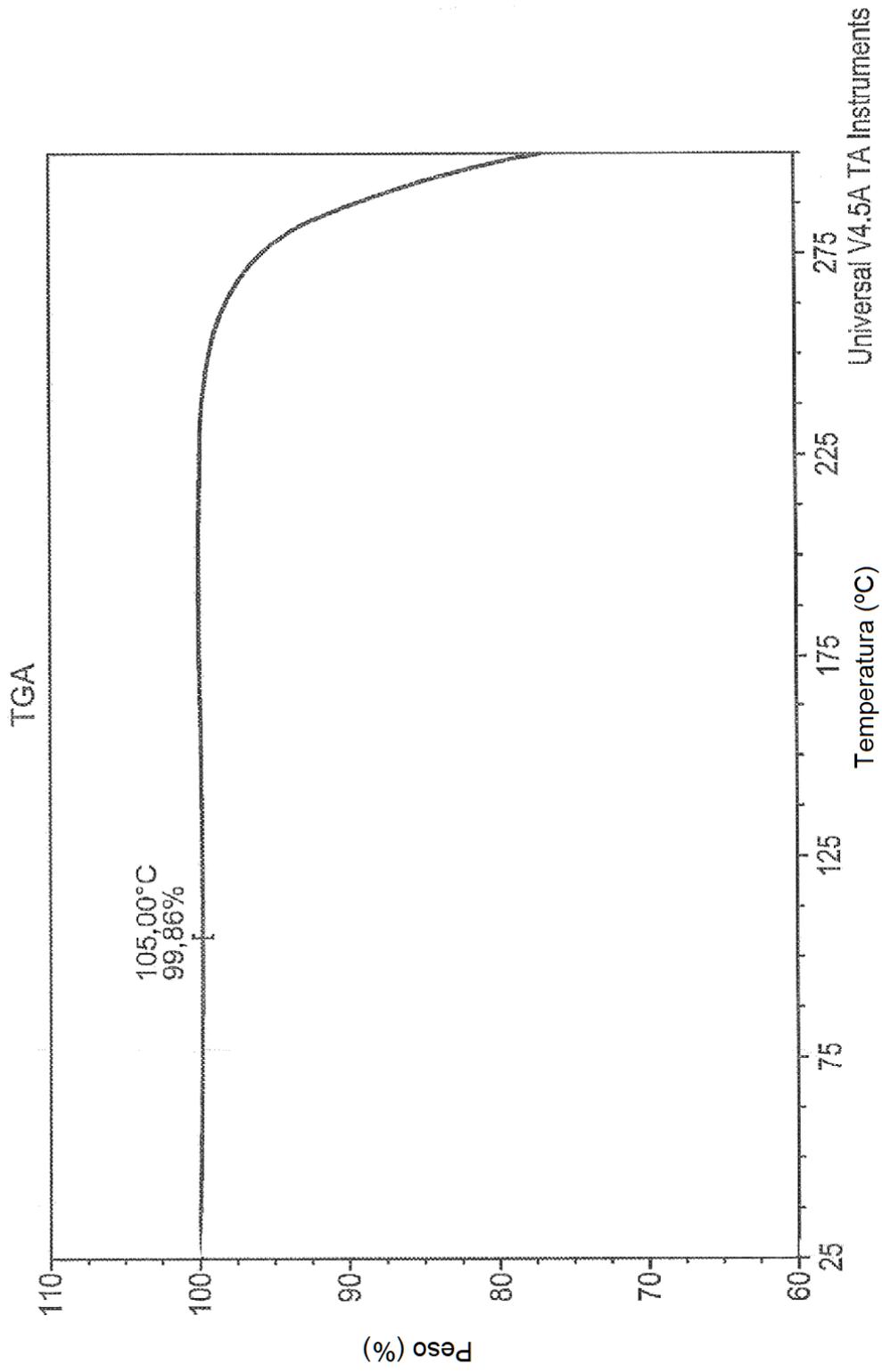


Figura 20B

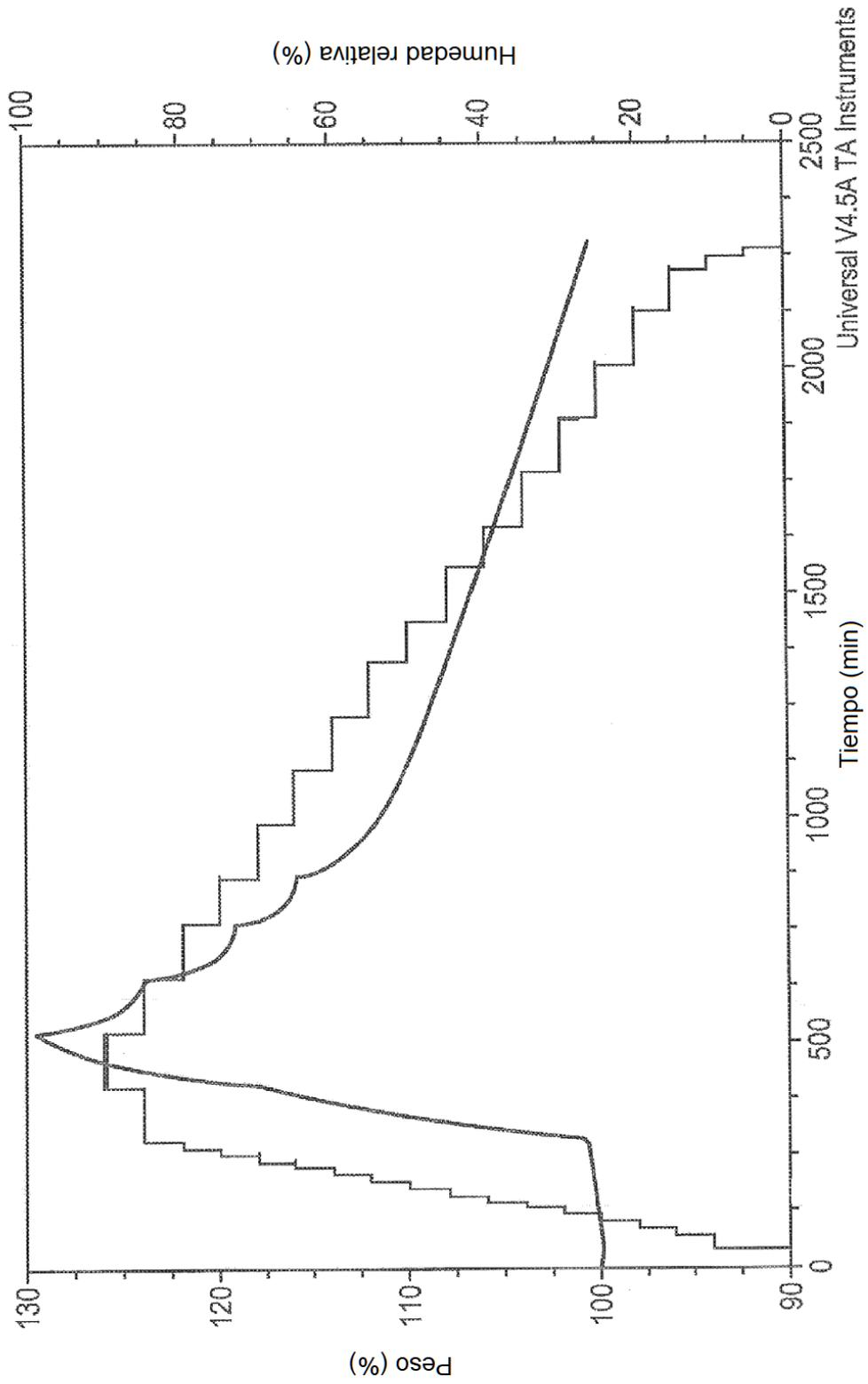


Figura 21A

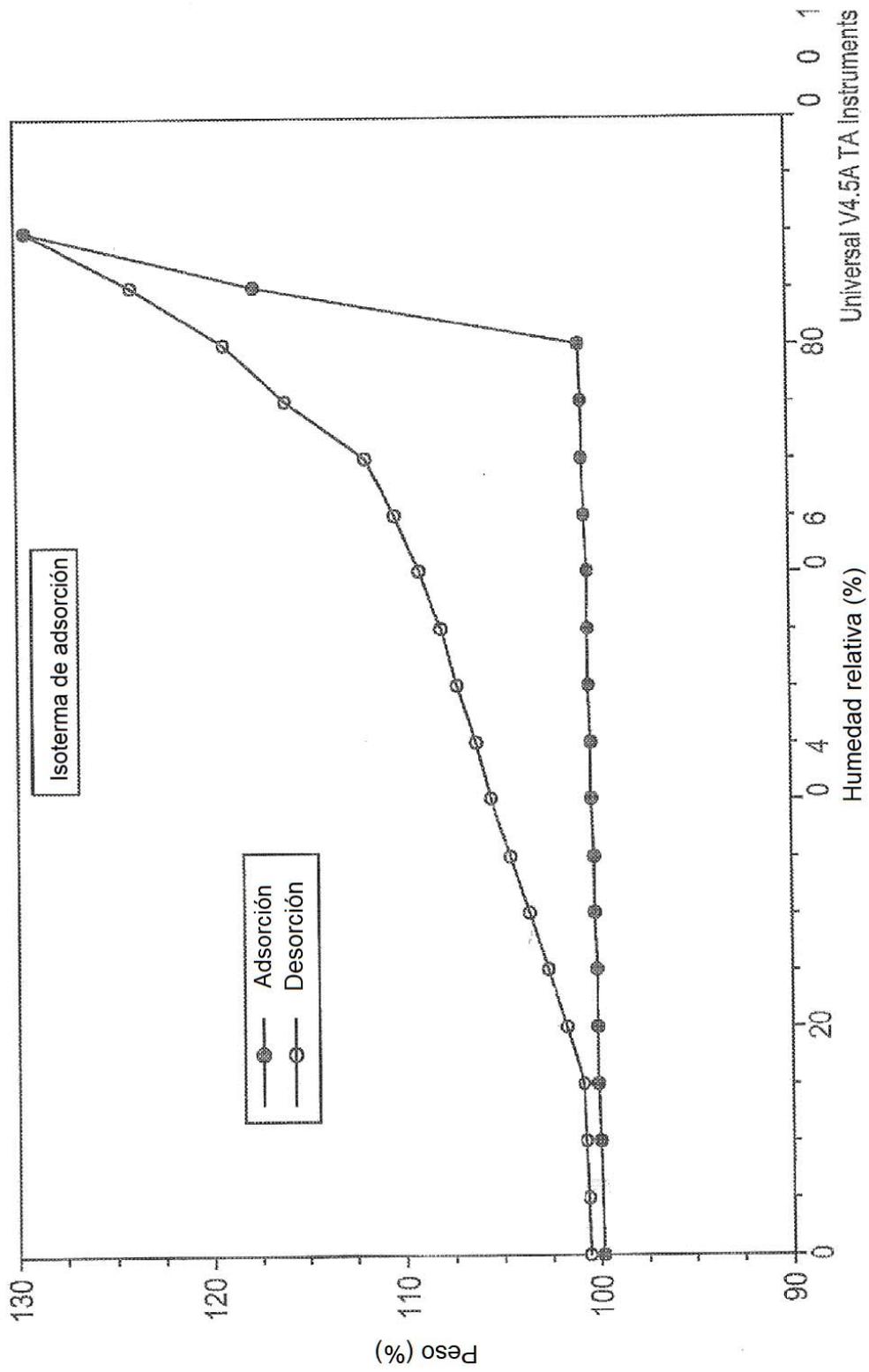


Figura 21B

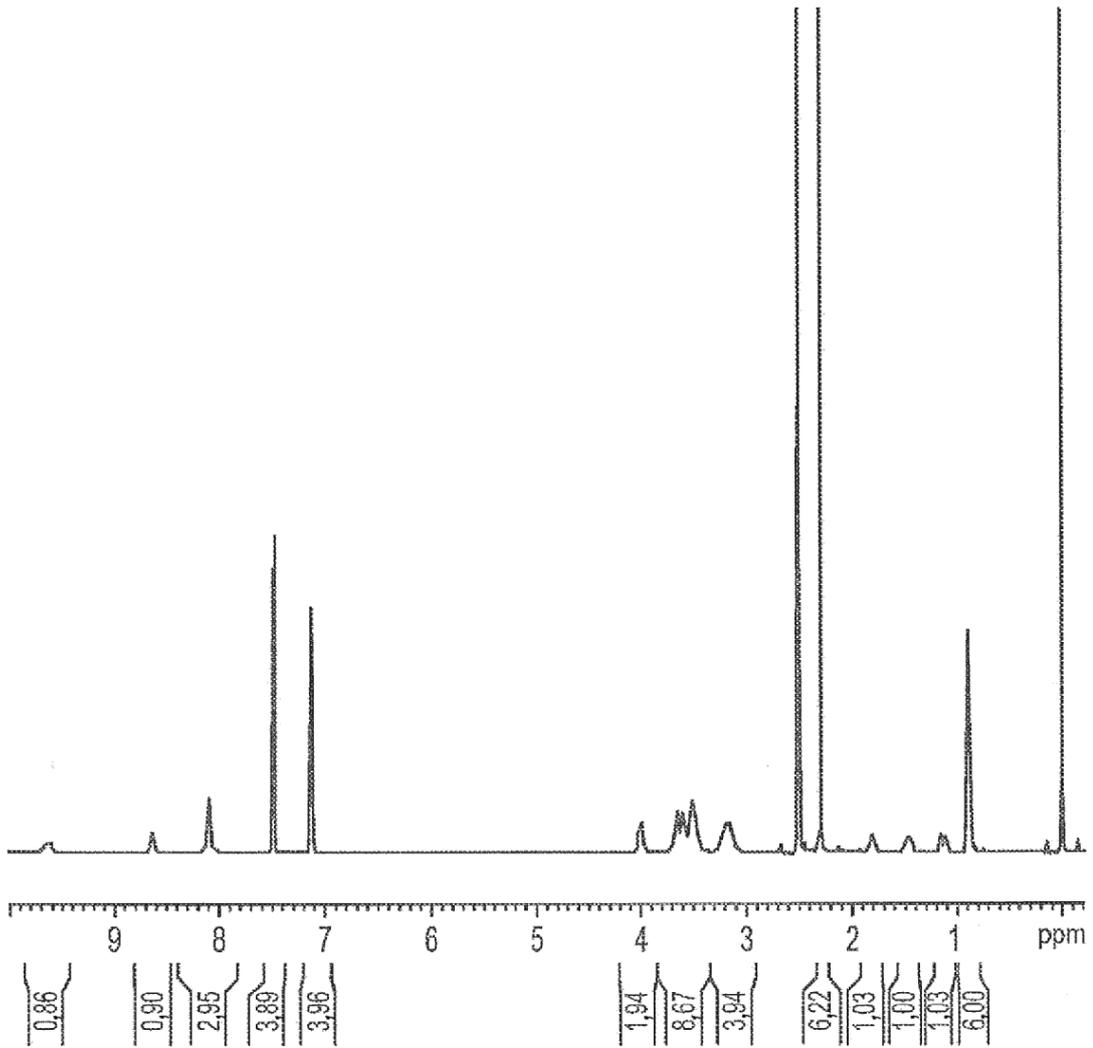


Figura 22

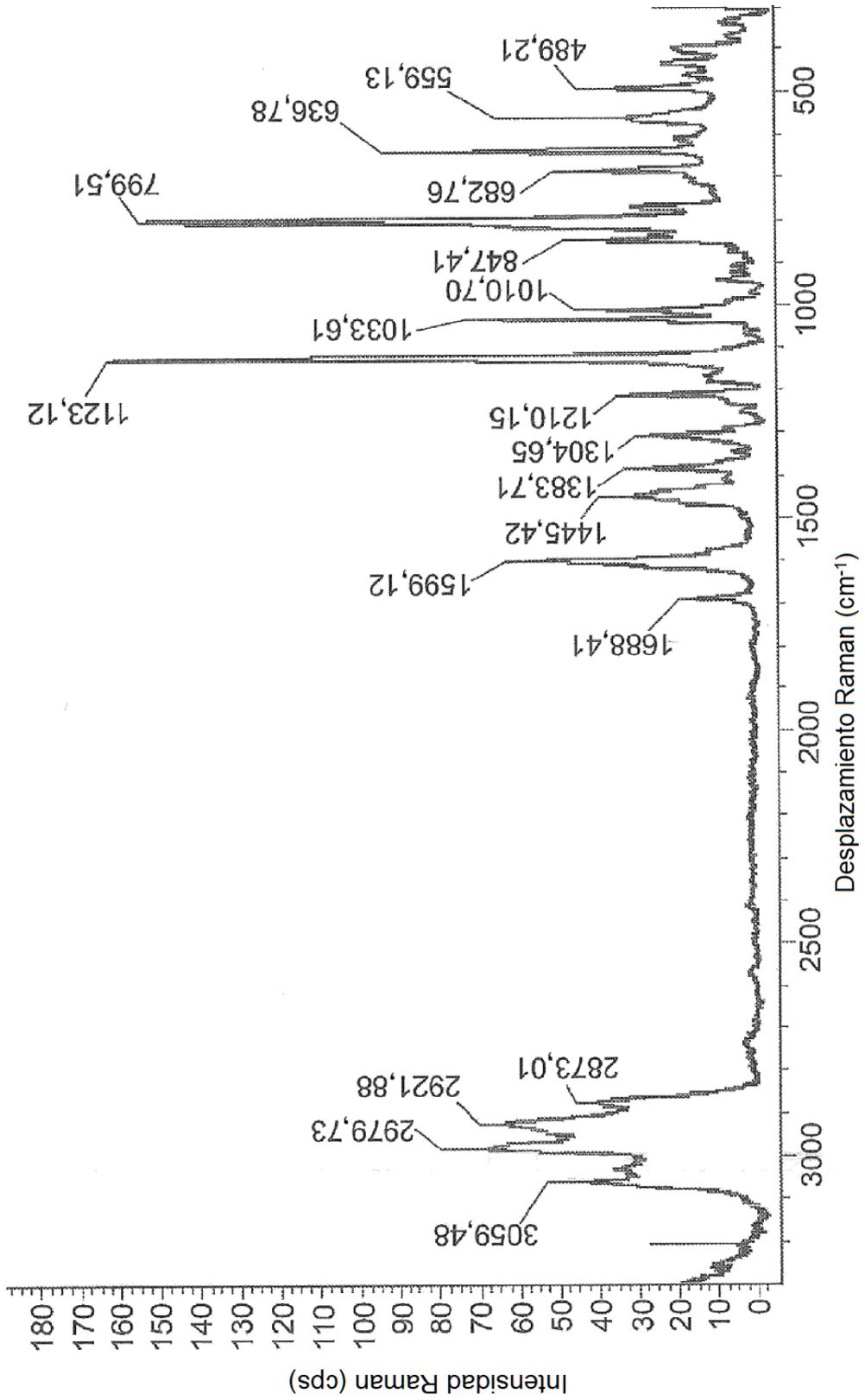


Figura 23

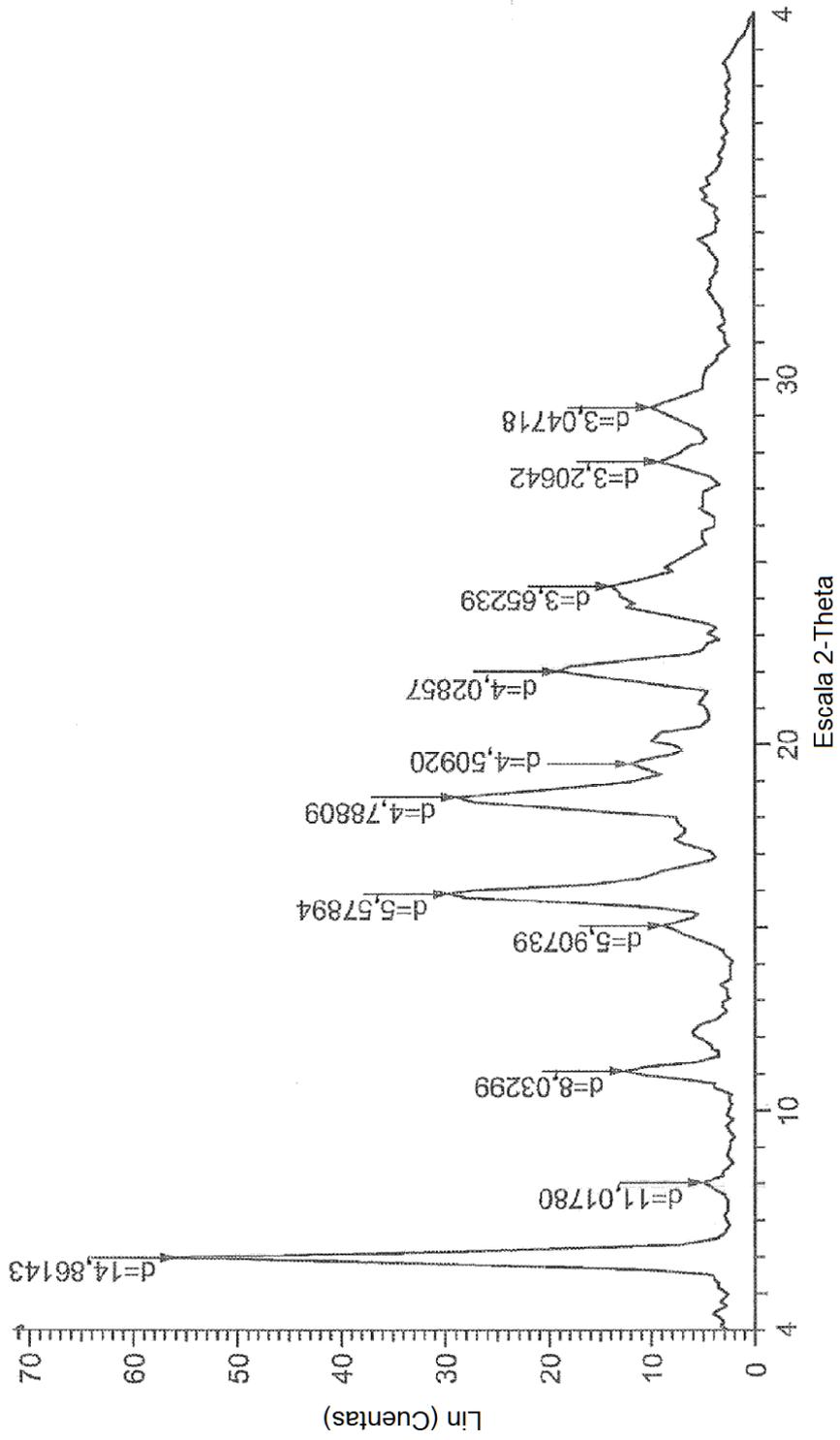


Figura 24

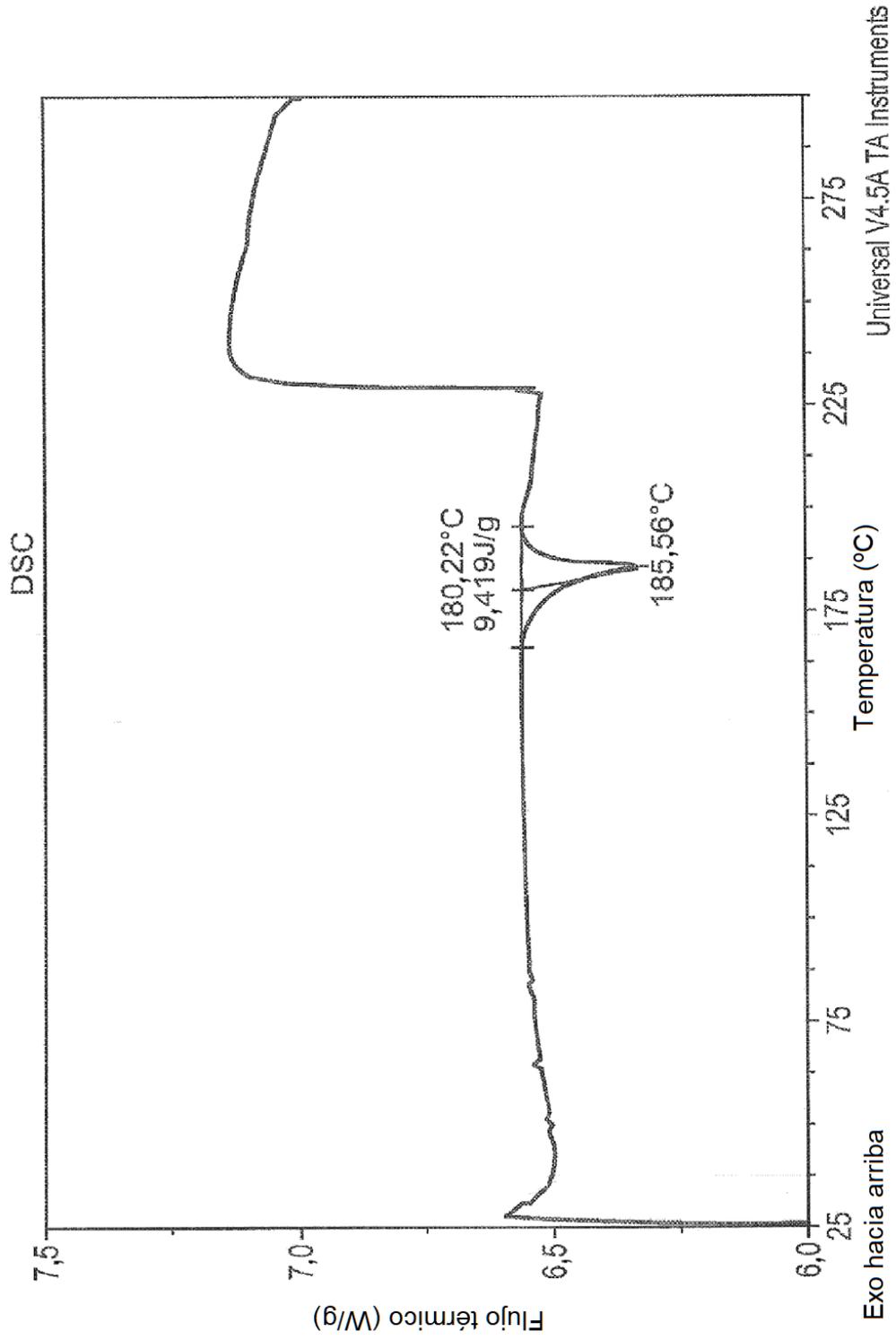


Figura 25A

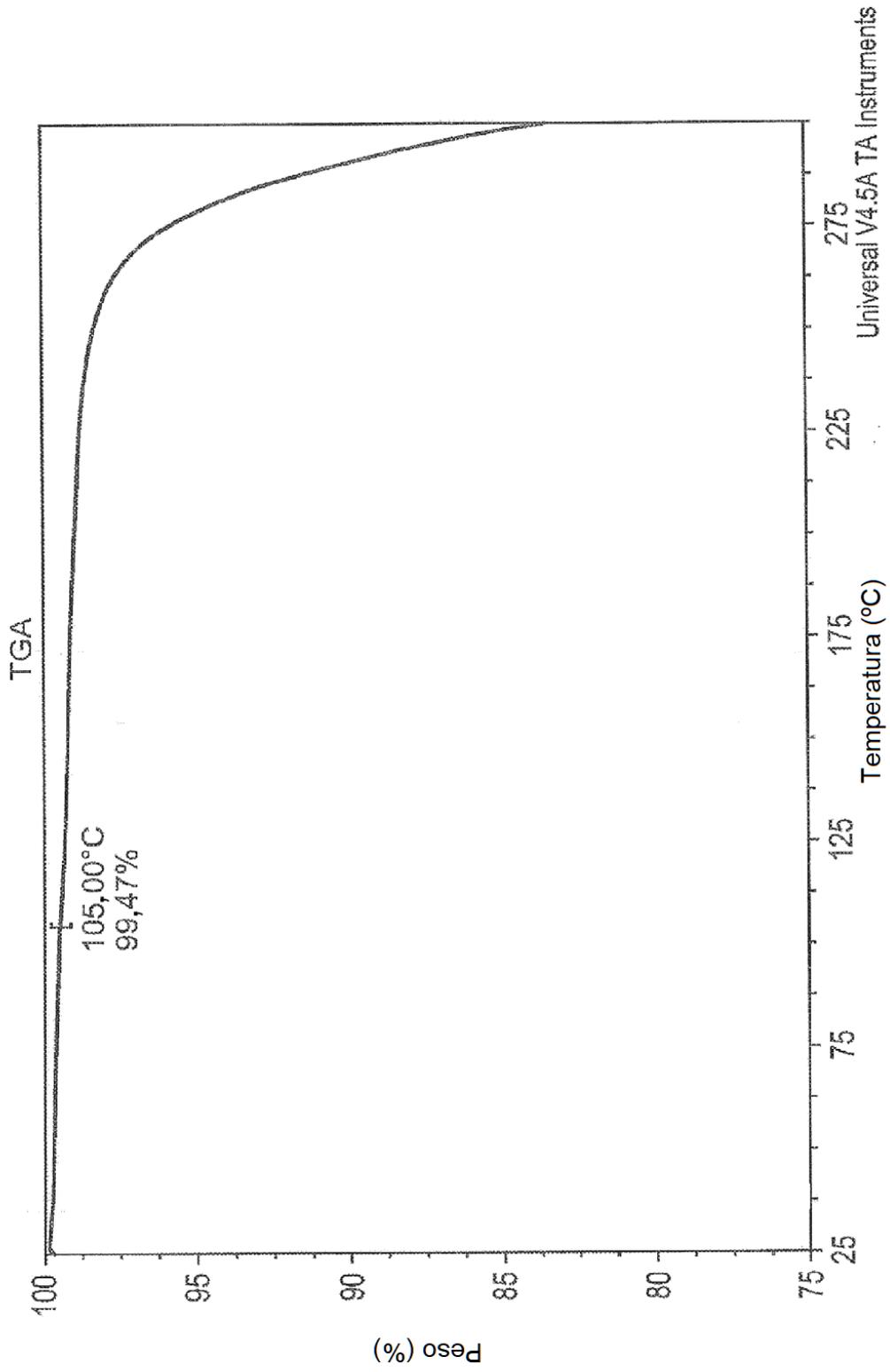


Figura 25B

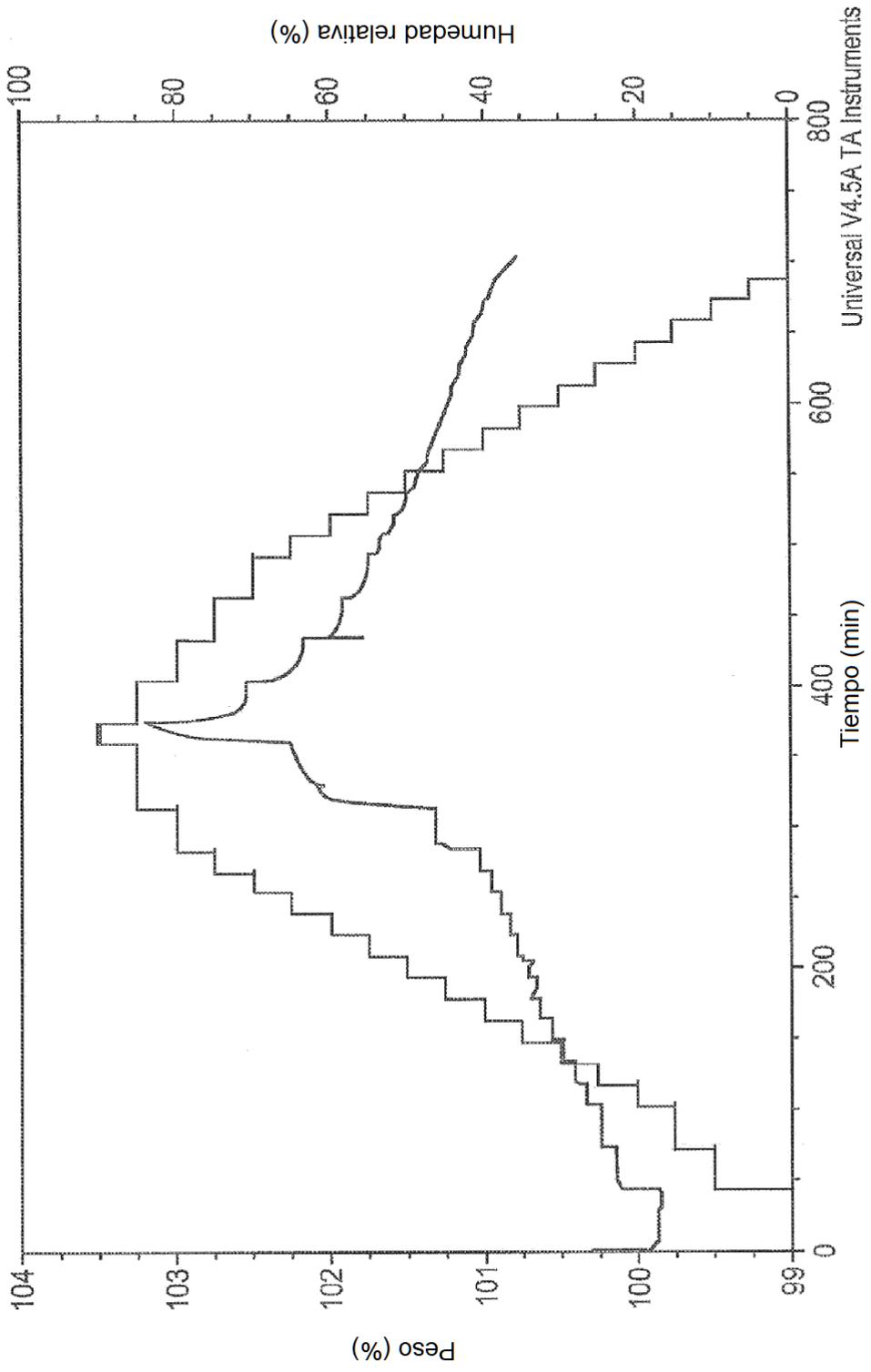


Figura 26A

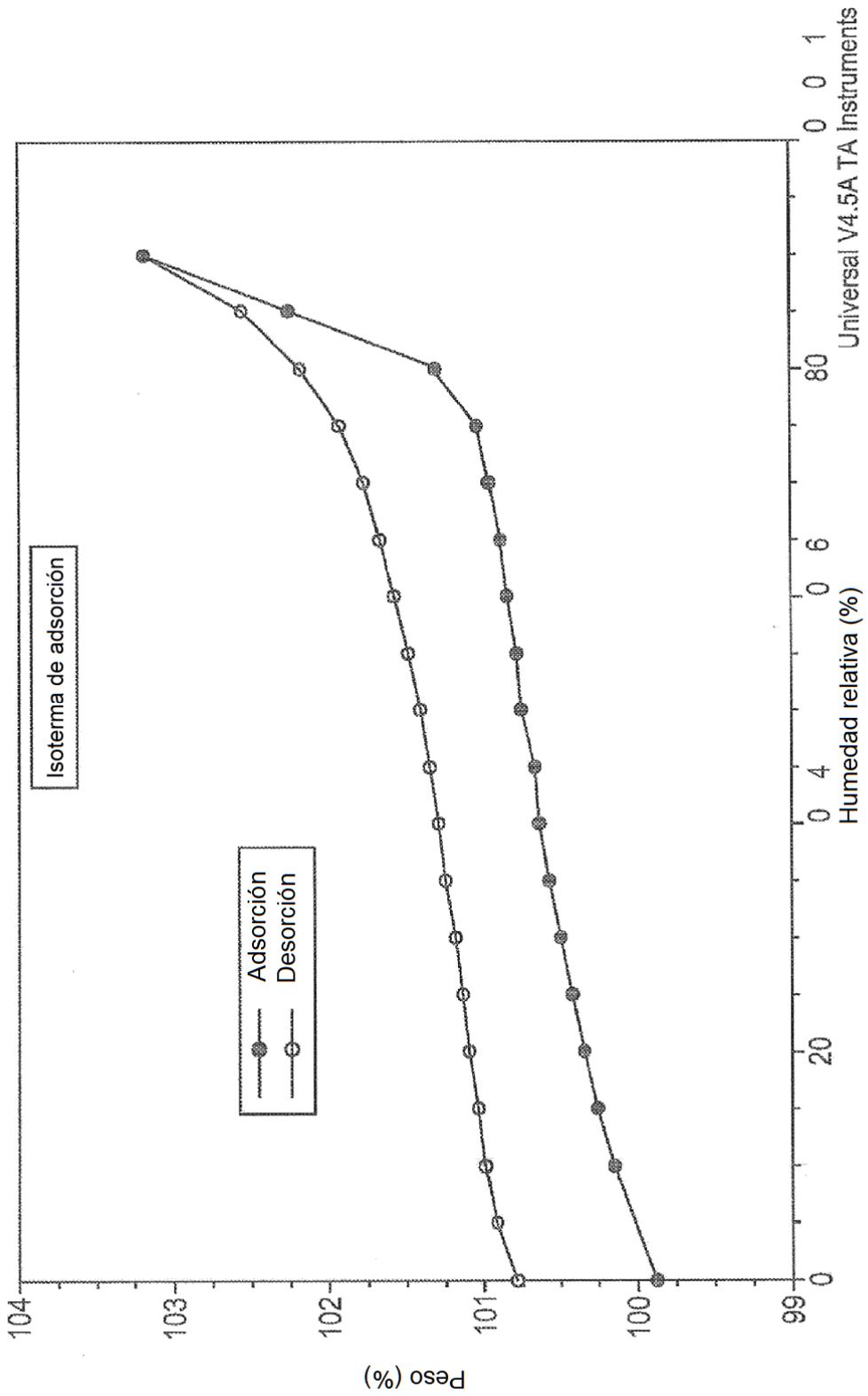


Figura 26B

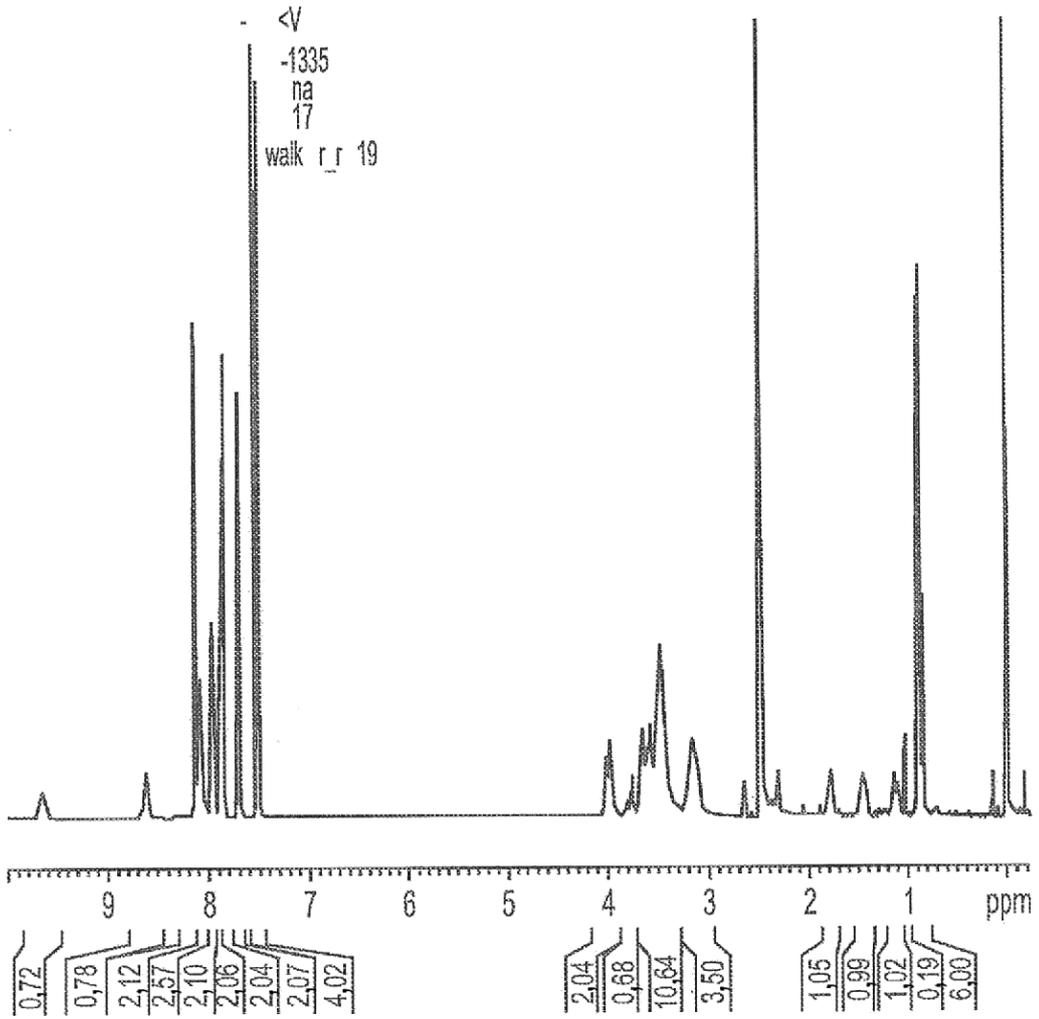


Figura 27

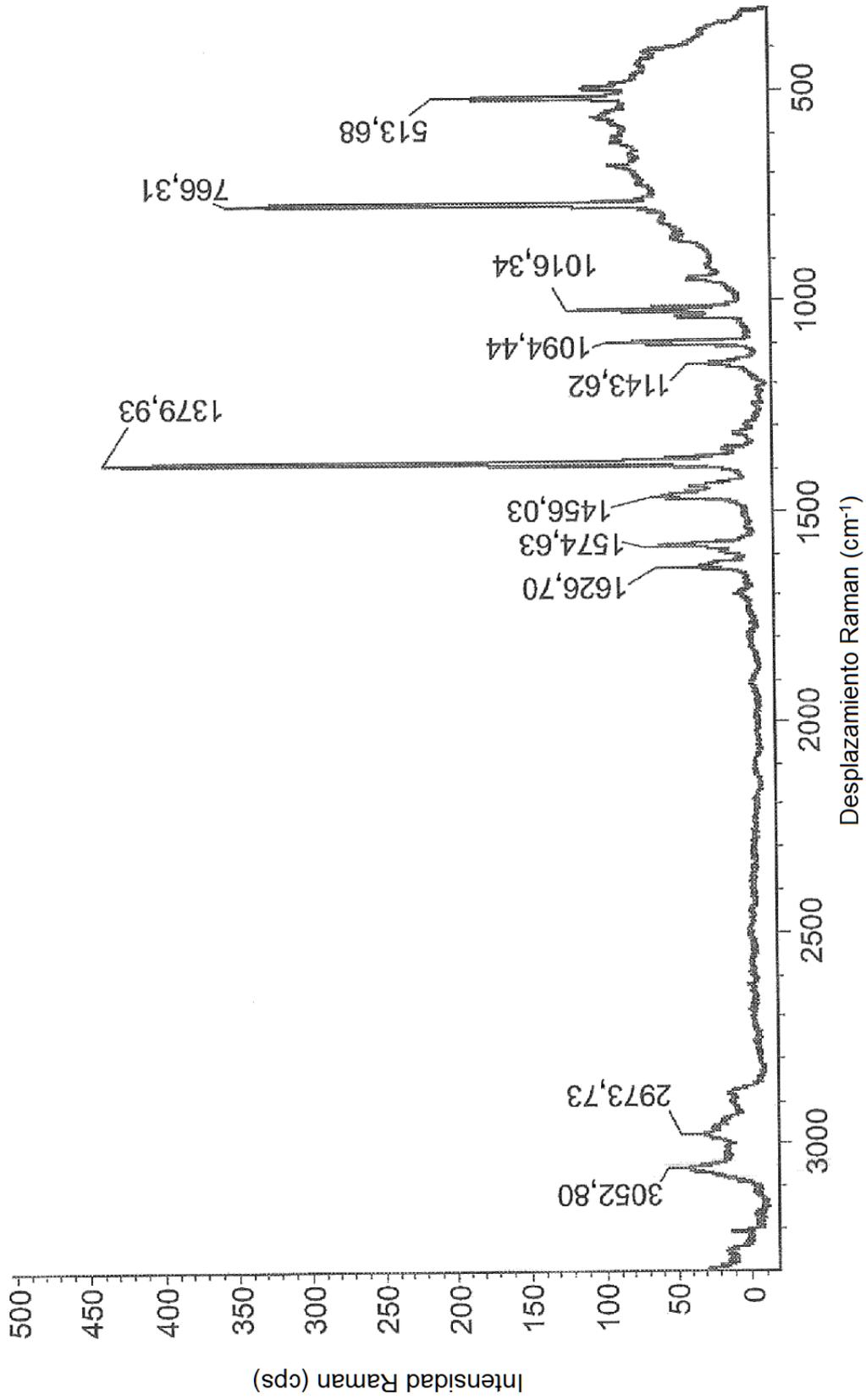


Figura 28

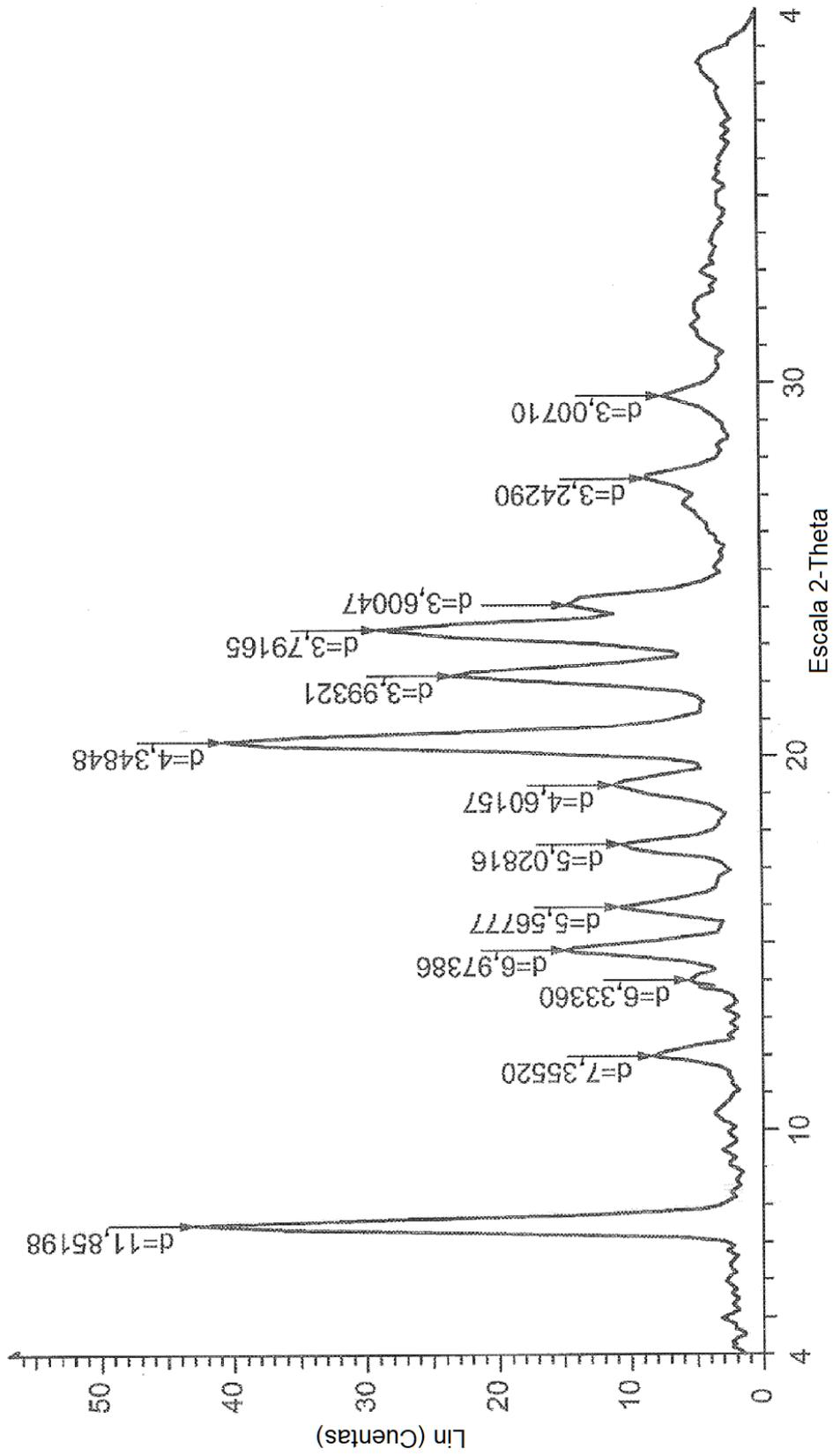


Figura 29

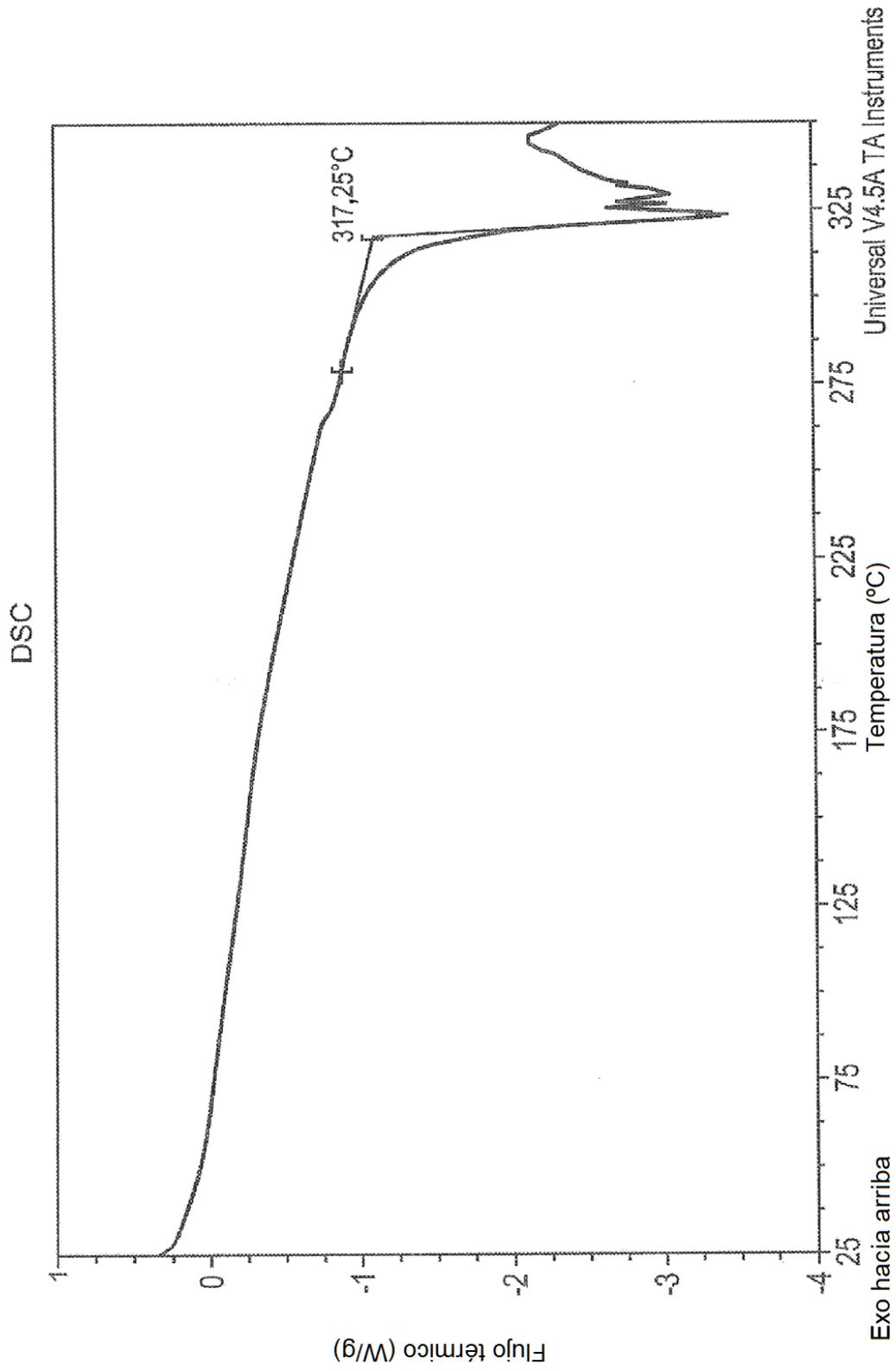


Figura 30A

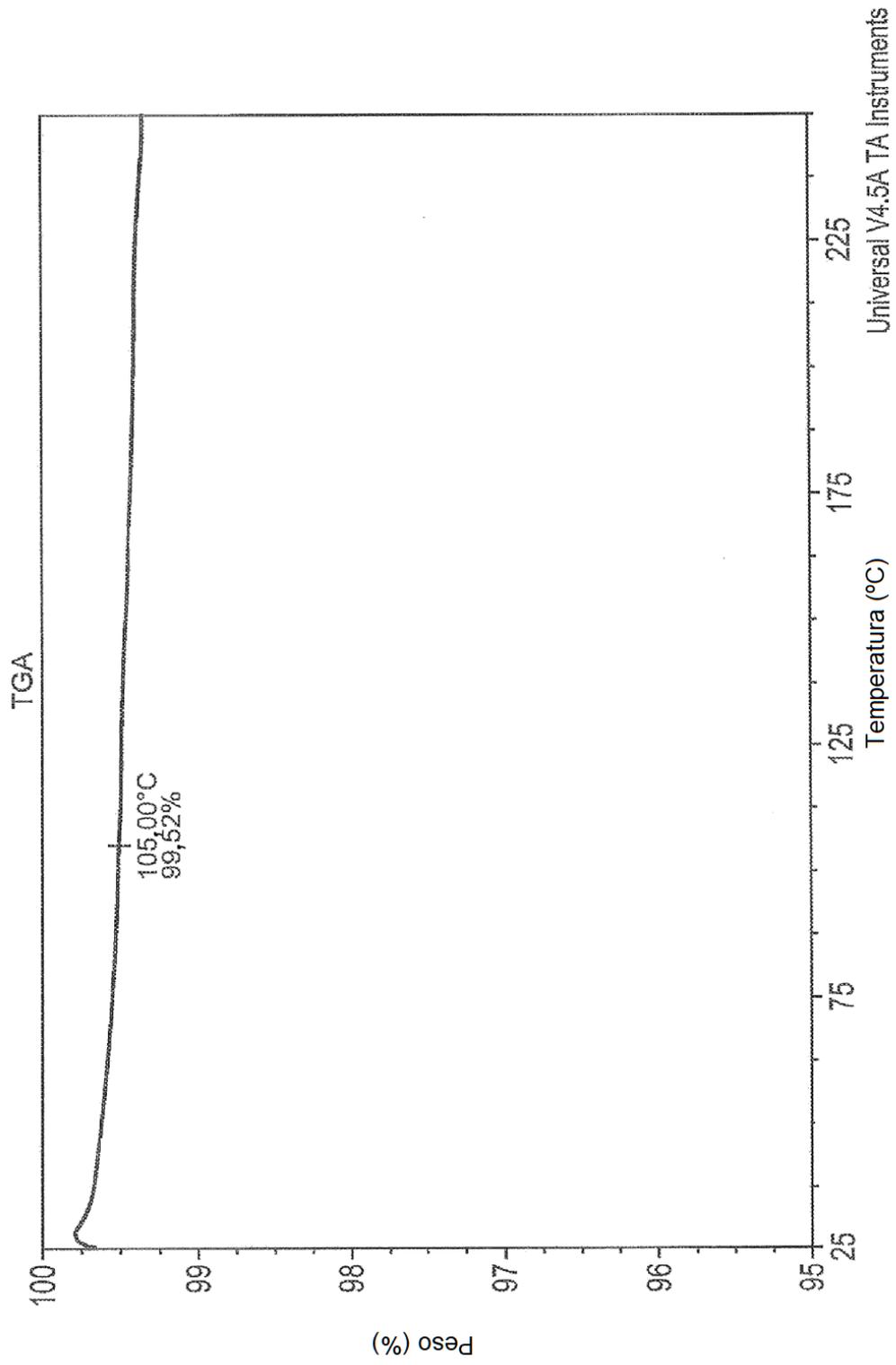


Figura 30B

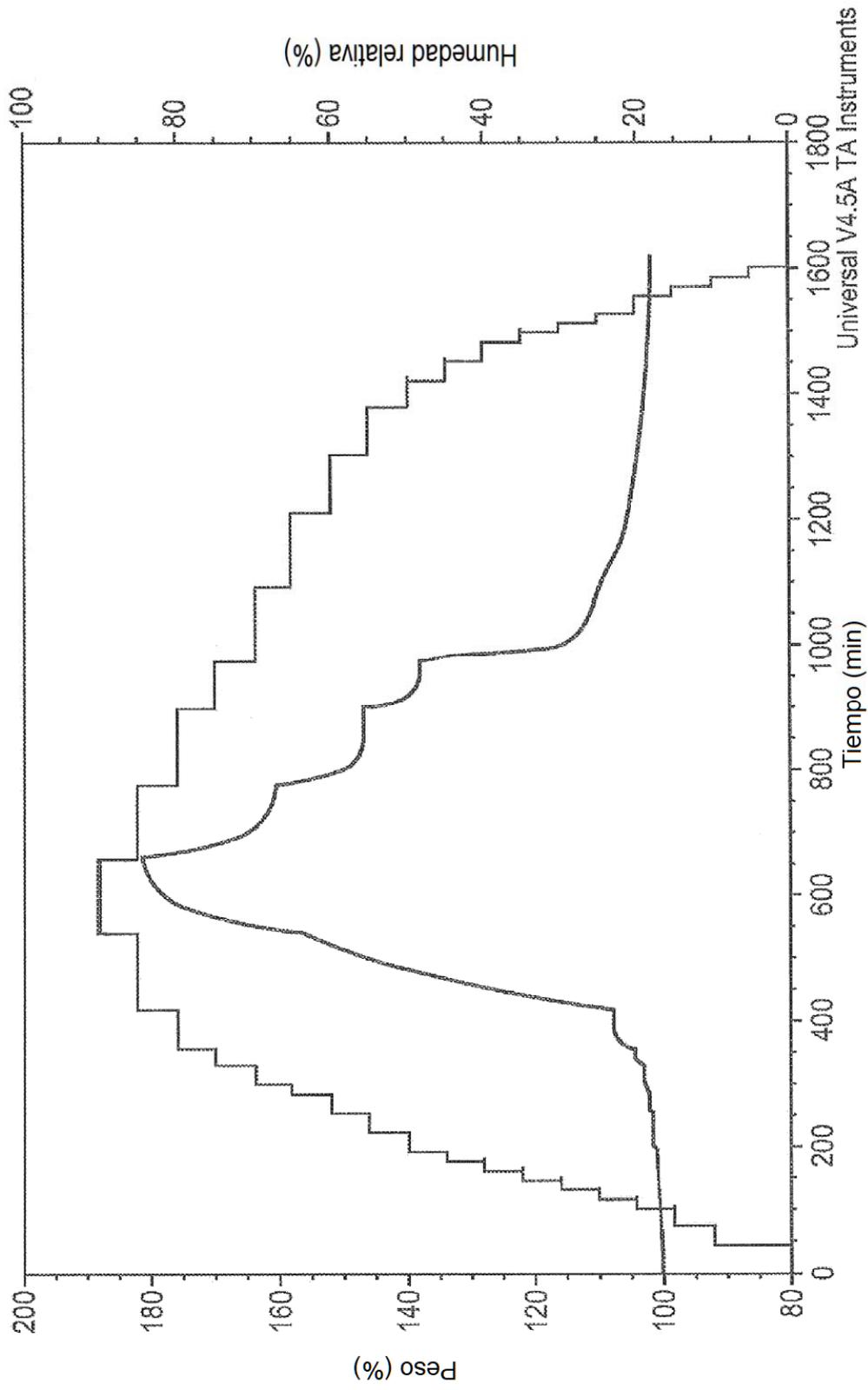


Figura 31A

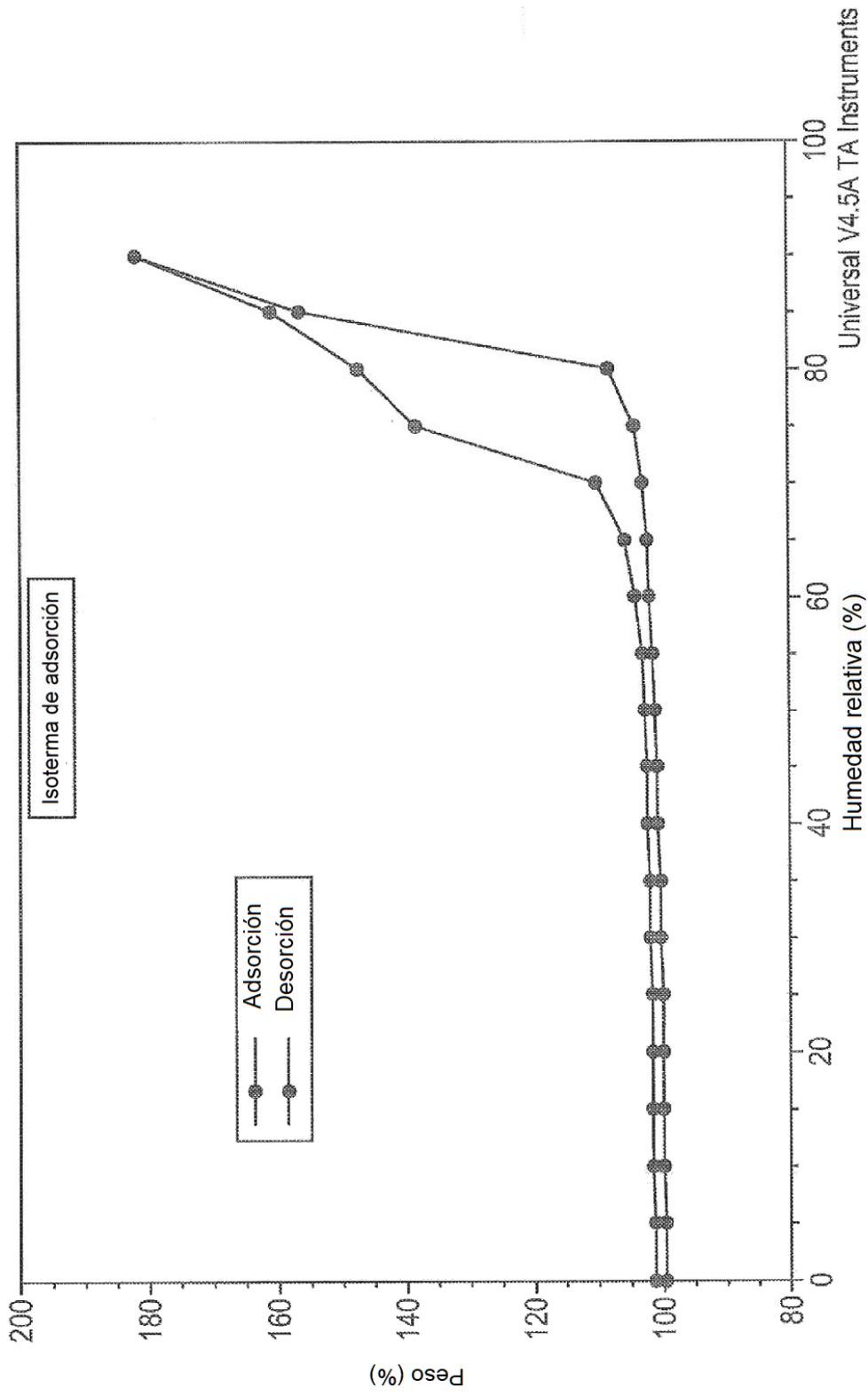


Figura 31B

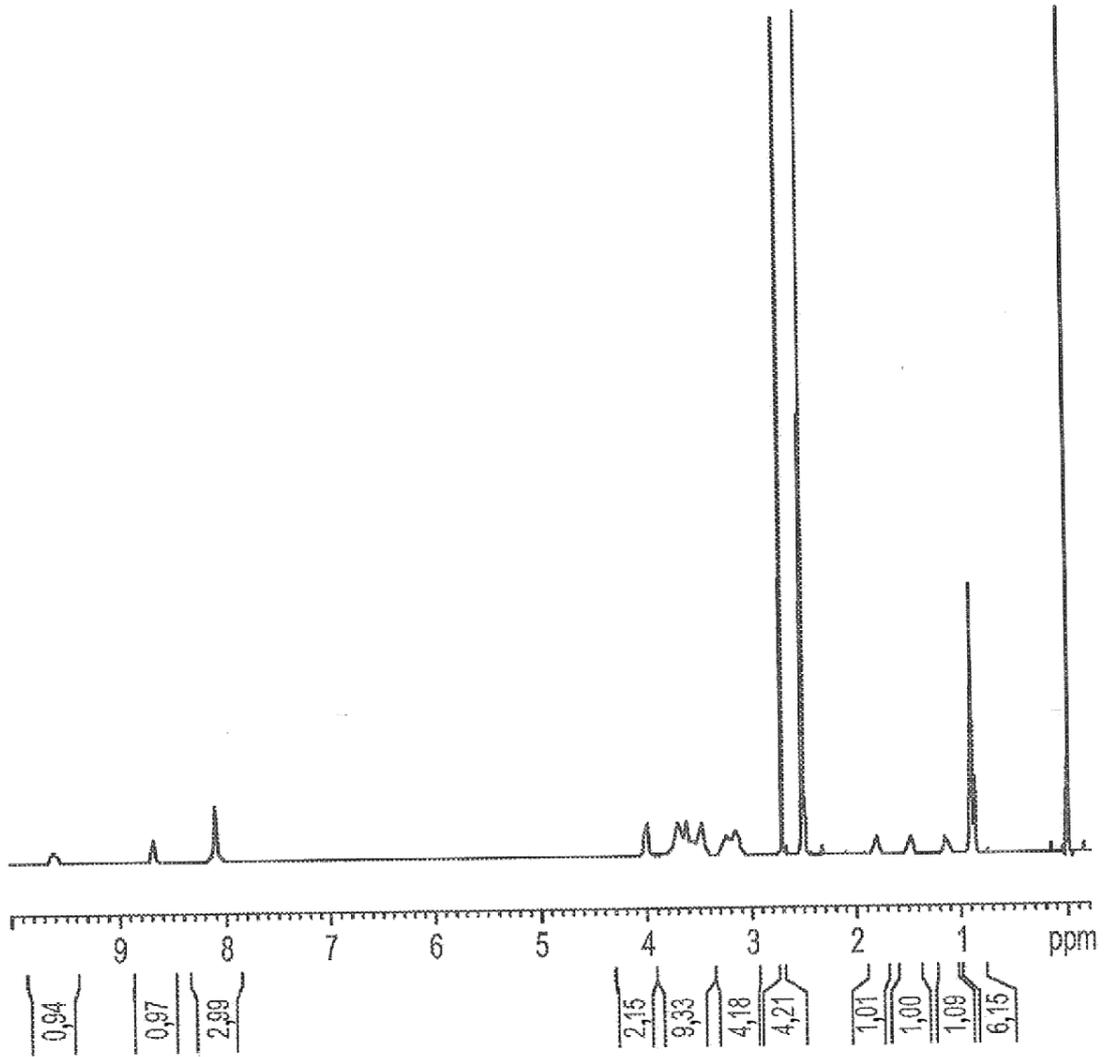


Figura 32

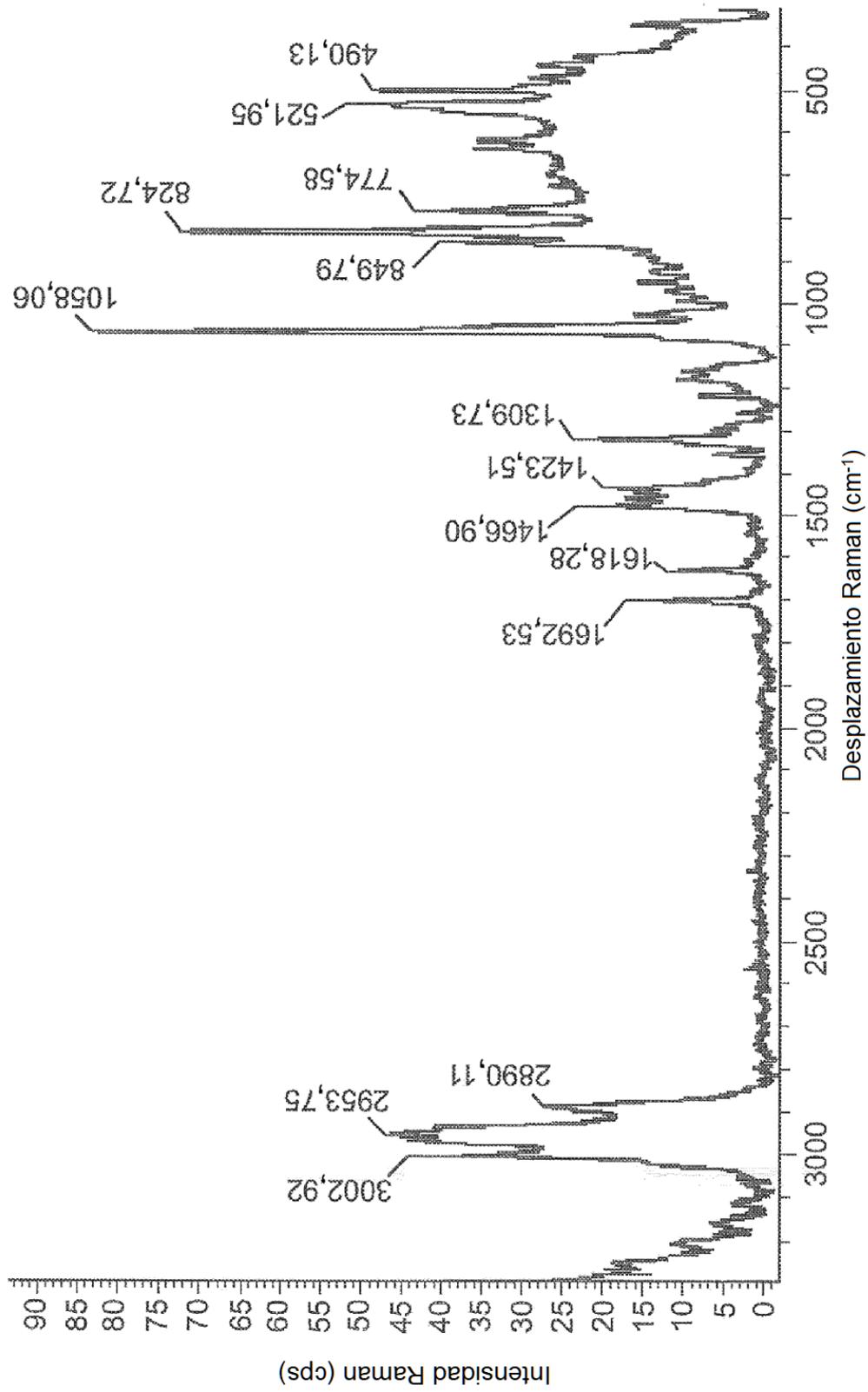


Figura 33

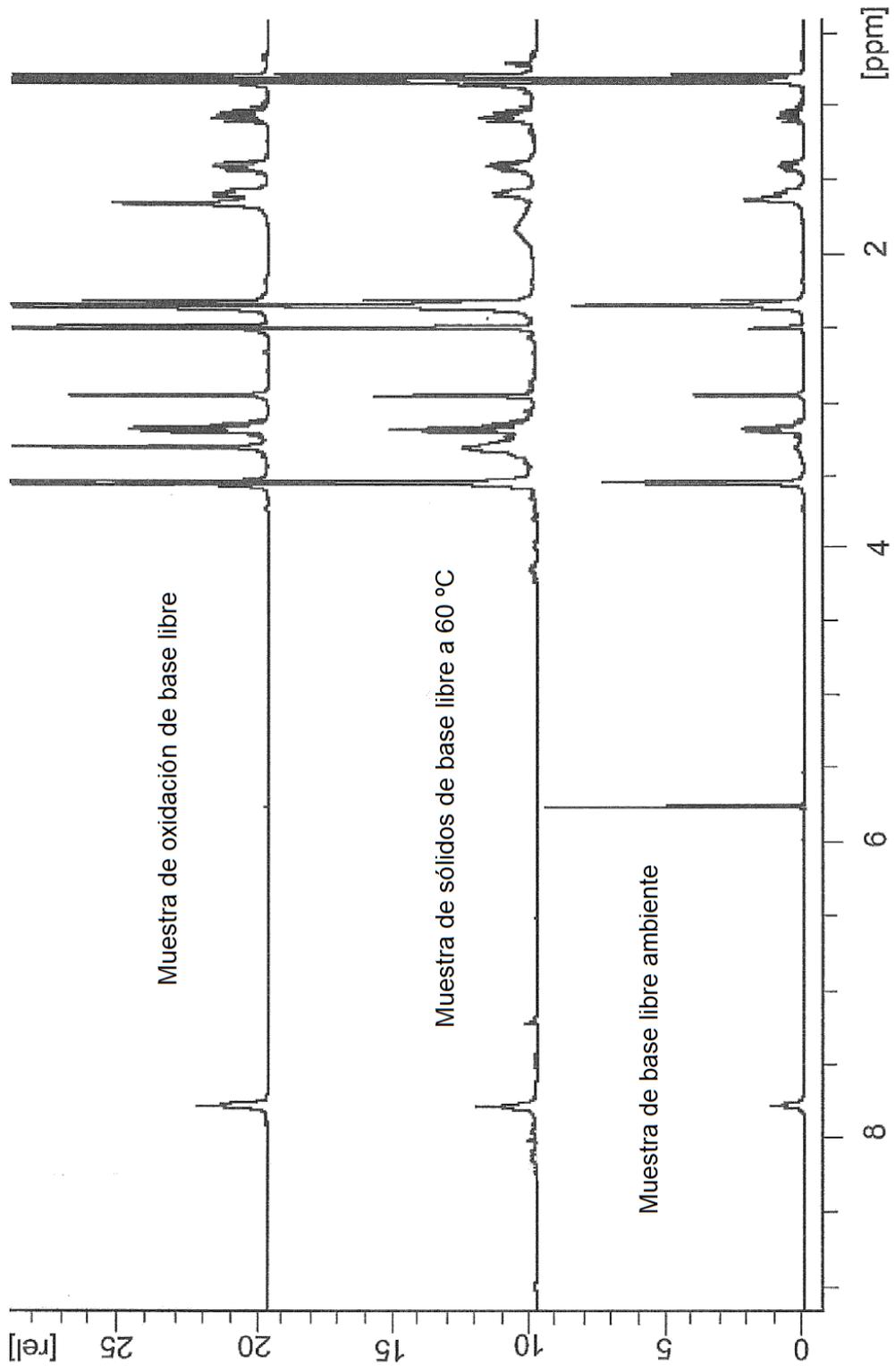


Figura 34

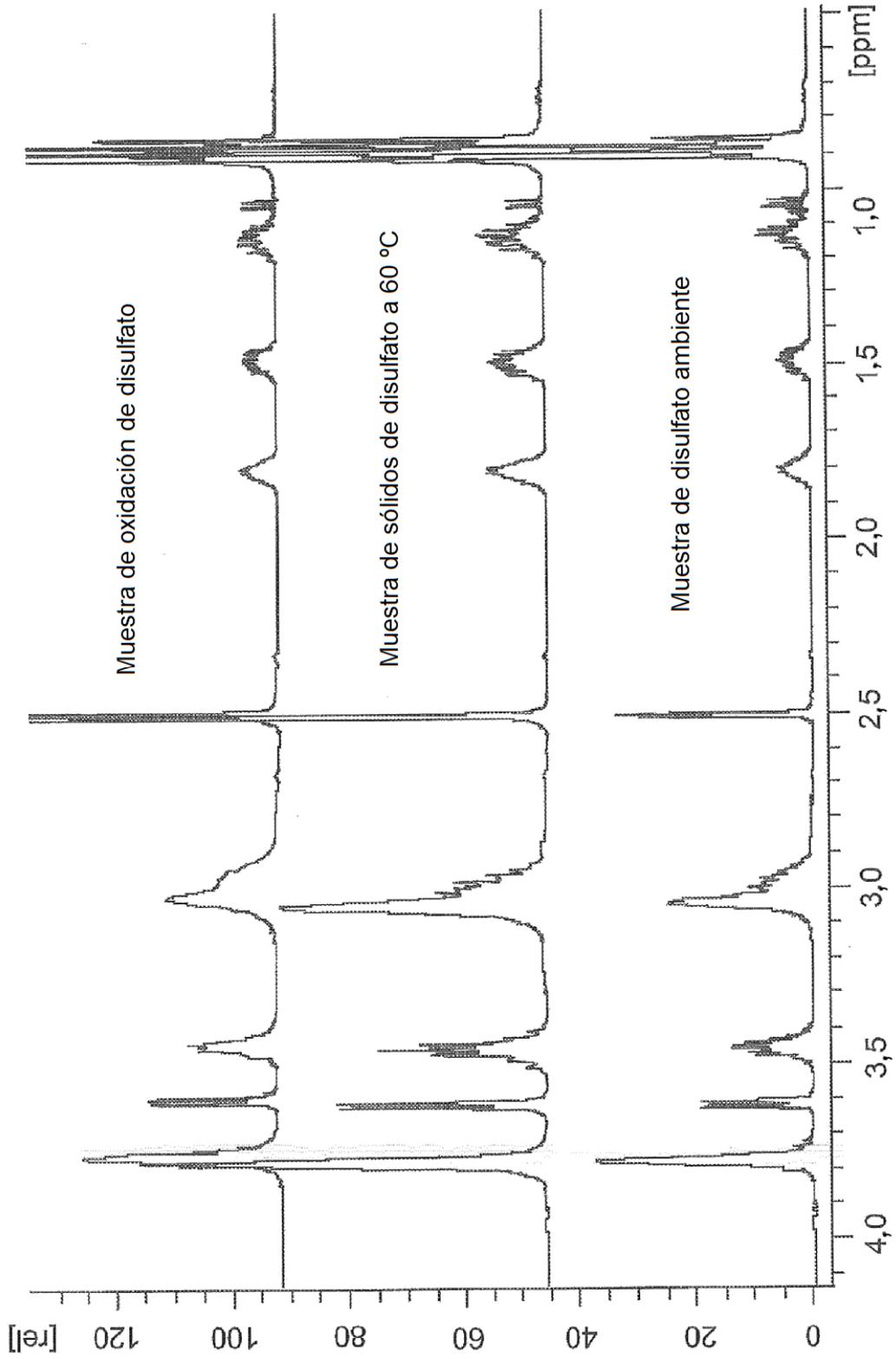


Figura 35

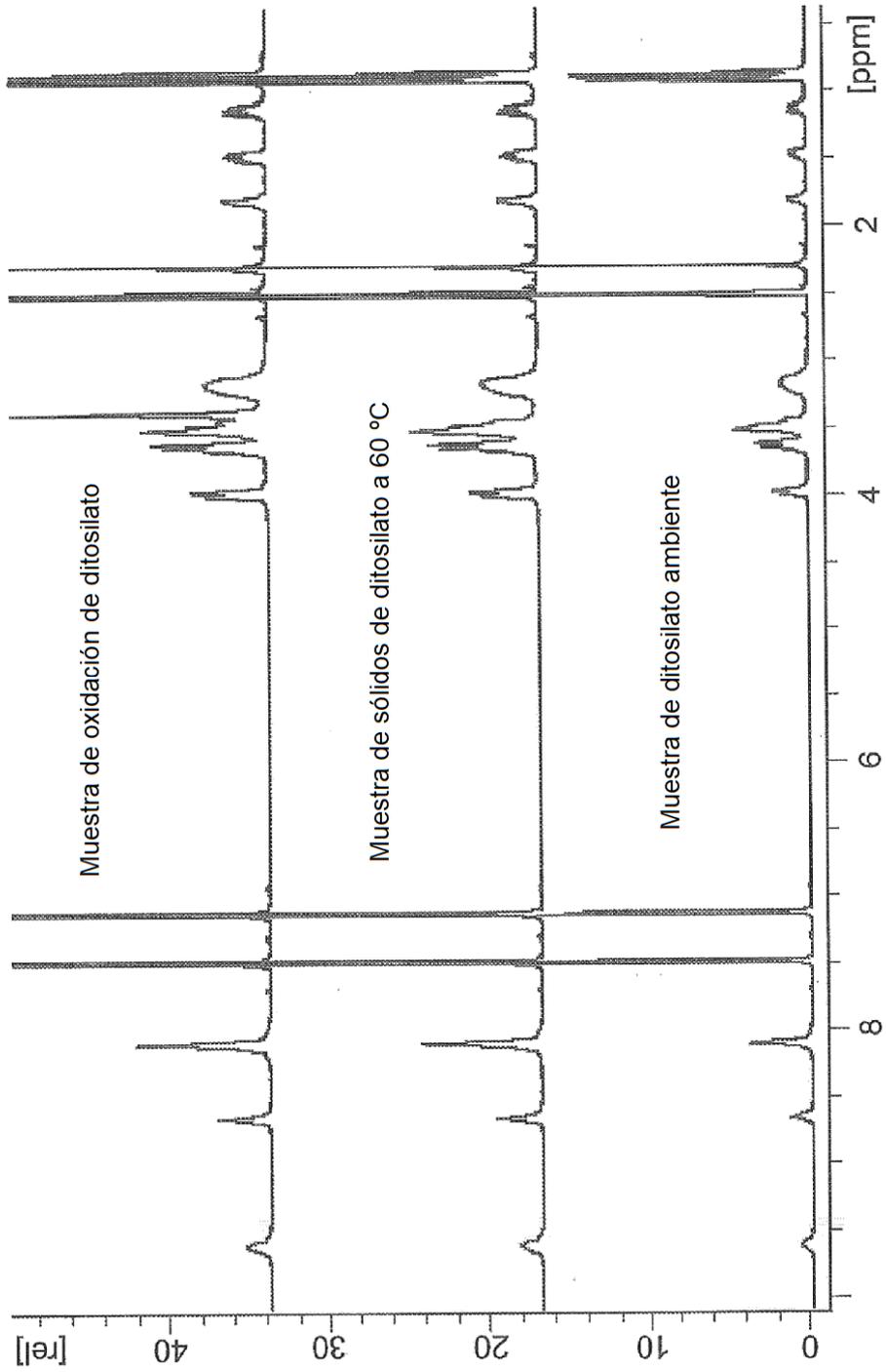


Figura 36

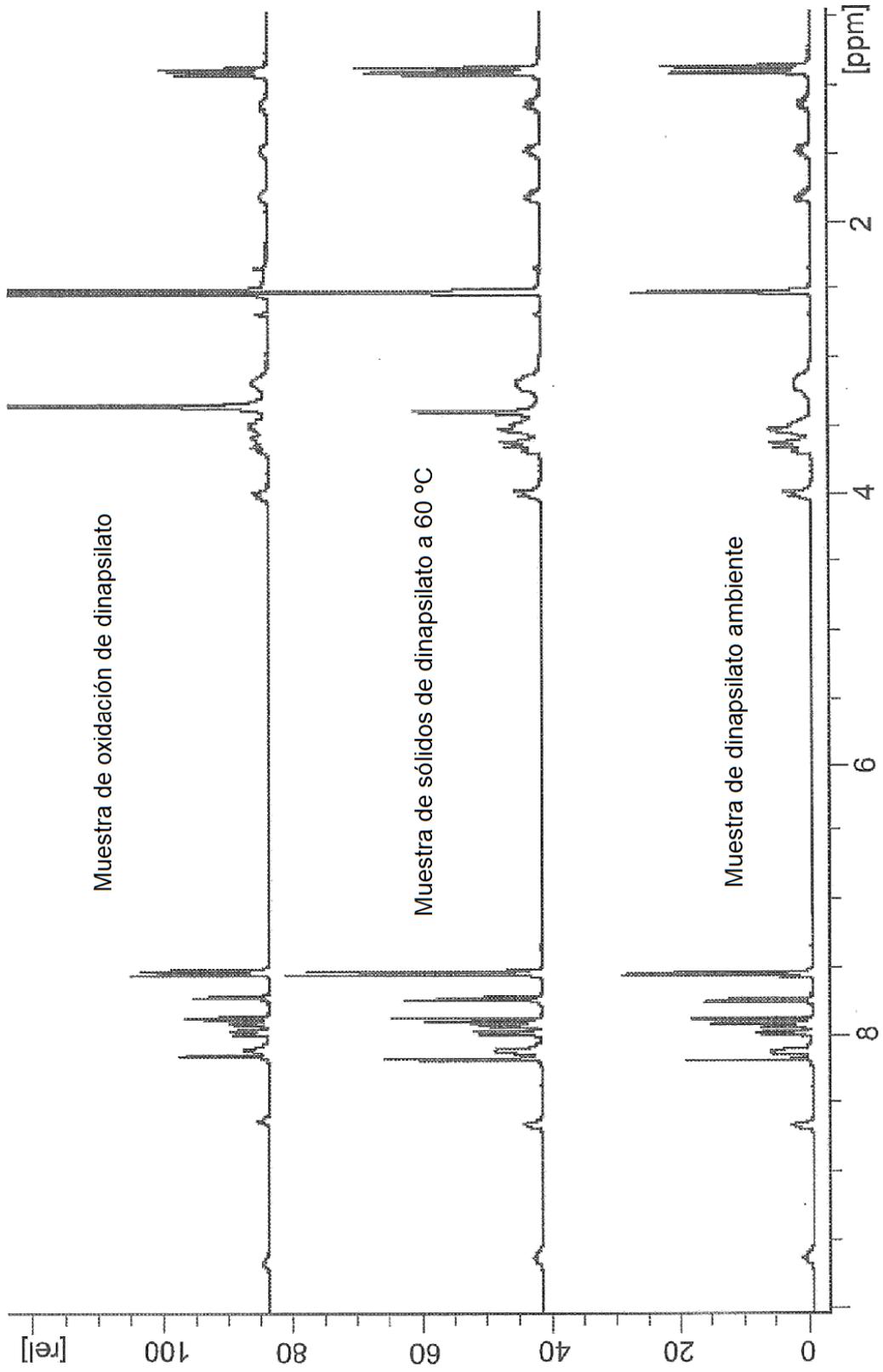


Figura 37

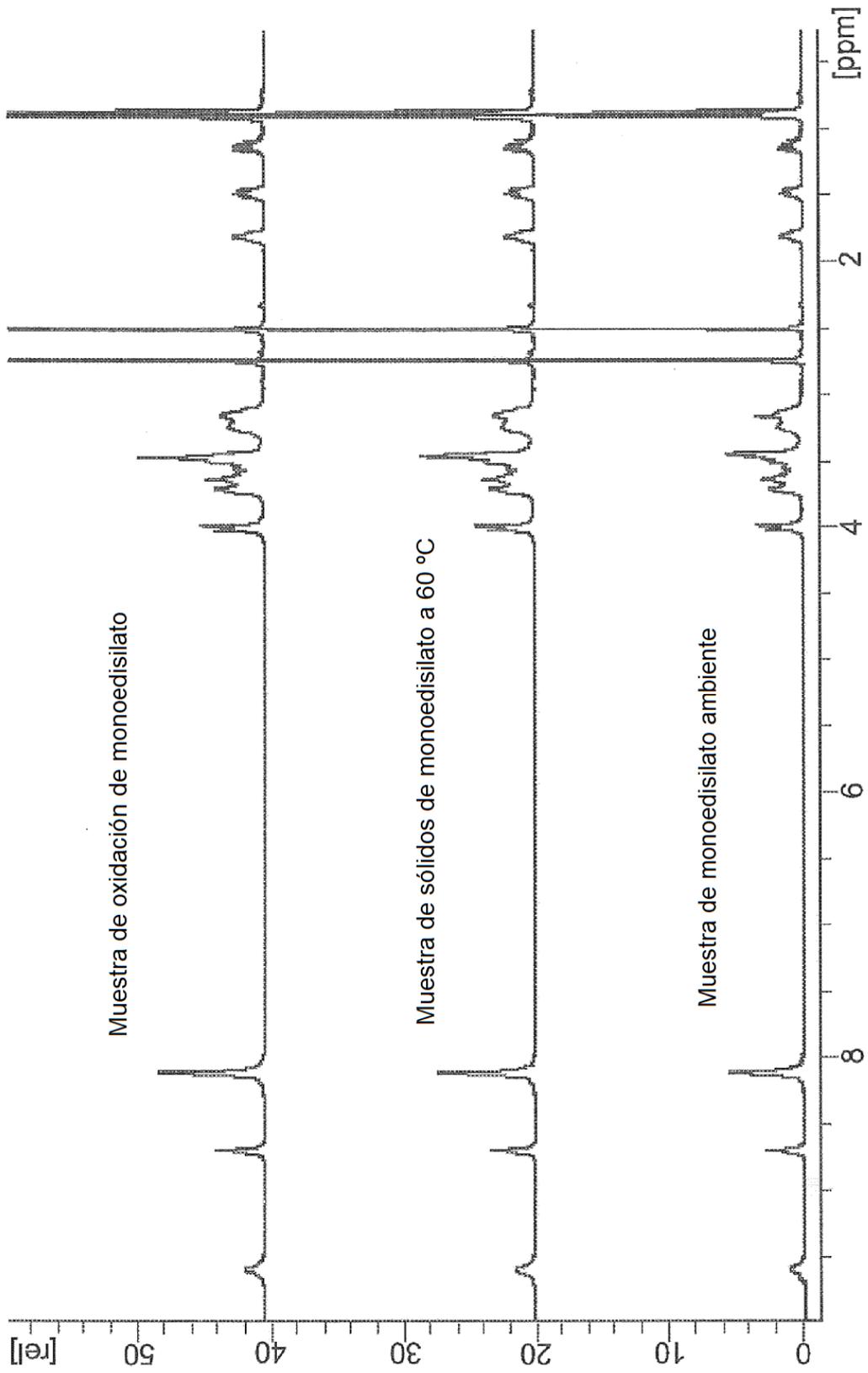


Figura 38