

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 603**

51 Int. Cl.:

**C07D 413/14** (2006.01)

**A61K 31/5377** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2014 PCT/CA2014/051001**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2015 WO15054793**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2014 E 14854037 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 3057965**

54 Título: **Sal y formas cristalinas de inhibidor de PLK-4**

30 Prioridad:

**18.10.2013 US 201361892564 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.07.2019**

73 Titular/es:

**UNIVERSITY HEALTH NETWORK (100.0%)  
190 Elizabeth Street R. Fraser Elliott Building -  
Room 1S-417  
Toronto, Ontario M5G 2C4, CA**

72 Inventor/es:

**SAMPSON, PETER BRENT;  
FEHER, MIKLOS y  
PAULS, HEINZ W.**

74 Agente/Representante:

**FORTEA LAGUNA, Juan José**

ES 2 718 603 T3

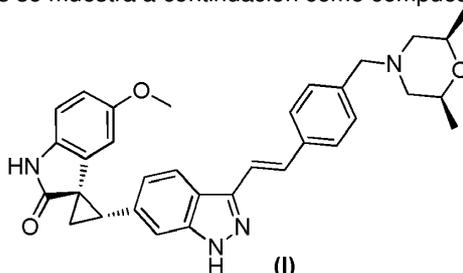
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Sal y formas cristalinas de inhibidor de PLK-4

## 5 ANTECEDENTES

La familia cinasa de tipo polo (PLK) de serina/treonina cinasas comprende al menos cuatro miembros conocidos: PLK1, PLK2 (también conocida como Snk), PLK3 (también conocida como Fnk o Prk) y PLK4 (también conocida como Sak). Los agentes que inhiben PLK4 tienen el potencial de tratar el cáncer. Se divulgan varios inhibidores de PLK4 potentes en las patentes de Estados Unidos números 8.263.596, 8.481.525 y 8.481.533. La estructura de un inhibidor divulgado en estas patentes se muestra a continuación como compuesto (I):



Existe la necesidad de formas de sal de este compuesto que sean cristalinas y que de otro modo tengan propiedades físicas que sean susceptibles de fabricación a gran escala. También existe la necesidad de formulaciones farmacéuticas en las que este fármaco candidato sea estable y se administre de manera eficaz al paciente.

## RESUMEN DE LA INVENCION

20

Se ha descubierto que la sal de ácido fumárico 1:1 y la sal de ácido maleico 1:1 del compuesto (I) se pueden cristalizar en condiciones bien definidas para proporcionar formas cristalinas no higroscópicas. La designación "1:1" es la relación molar entre el ácido (fumárico o maleico) y el compuesto (I). Debido a los dos grupos de ácido carboxílico en ácido fumárico y ácido maleico, también es posible formar una sal de ácido fumárico 1:2 y una sal de ácido maleico 1:2 del compuesto (I), en las que la relación molar entre el ácido (ácido fumárico o maleico) y el compuesto (I) es 1:2. La sal de ácido fumárico 1:1 del compuesto (I) se denomina en el presente documento como "fumarato del compuesto (I) 1:1"; y la sal de ácido maleico 1:1 se denomina en el presente documento como "maleato del compuesto (I) 1:1".

El fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 tienen varias propiedades ventajosas cuando se comparan con otras sales del compuesto (I). Como se muestra en los Ejemplos 1 y 2, muchas sales del compuesto (I), incluida la sal de clorhidrato, fosfato, sulfato y citrato, no se pudieron obtener en forma cristalina. Particularmente, el fumarato del compuesto (I) 1:2 y el maleato del compuesto (I) 1:2 tampoco se pudieron obtener en forma cristalina. El fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 son así no higroscópicos siendo más fáciles de formular que la base libre y las otras sales. Por lo tanto, estas propiedades favorables hacen que el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 sean susceptibles de fabricación y formulación a gran escala como un candidato a fármaco.

En un aspecto, la presente invención proporciona una sal de fumarato del compuesto (I) en la que la relación molar entre el compuesto (I) y el ácido fumárico es 1:1. Como se ha señalado anteriormente, esta sal también se denomina en el presente documento como "fumarato del compuesto (I) 1:1".

En otro aspecto, la presente invención proporciona una sal de maleato del compuesto (I) en la que la relación molar entre el compuesto (I) y el ácido maleico es 1:1. Como se ha señalado anteriormente, esta sal también se denomina en el presente documento como "maleato del compuesto (I) 1:1".

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende fumarato del compuesto (I) 1:1 (o maleato del compuesto (I) 1:1) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aún en otro aspecto, se describe un método para tratar a un sujeto con cáncer, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1.

En otro aspecto, se describe un método para inhibir la actividad de PLK4 en un sujeto que necesita la inhibición de la actividad de PLK4, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1.

- 5 La presente invención también proporciona fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato de compuesto (I) 1:1 para su uso en tratamiento médico. En una forma de realización, el tratamiento médico es para tratar a un sujeto con cáncer. Como alternativa, el tratamiento es para inhibir la actividad de PLK4 en un sujeto que necesita la inhibición de la actividad de PLK4.
- 10 Otro aspecto de la presente invención es el uso de fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un sujeto con cáncer.
- Otro aspecto de la presente invención es fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 para su uso en el tratamiento de un sujeto con cáncer.
- 15 Otro aspecto de la presente invención es el uso de un fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 para la fabricación de un medicamento para inhibir la actividad de PLK4 en un sujeto que necesita la inhibición de la actividad de PLK4.
- 20 Otro aspecto de la presente invención es el fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 para inhibir la actividad de PLK4 en un sujeto que necesita la inhibición de la actividad de PLK4.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 25 La Figura 1 muestra el termograma de análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la forma A de fumarato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 2 muestra el termograma DSC para la forma B de fumarato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 3 muestra el termograma DSC para la forma C de fumarato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 4 muestra el termograma DSC para la forma D de fumarato del compuesto (I) 1:1.
- 30 La Figura 5 muestra el termograma DSC para la forma A de maleato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 6 muestra el termograma de DSC para el fosfato del compuesto (I).  
La Figura 7 muestra el patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) para la forma A de fumarato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 8 muestra el patrón de XRPD para la forma B de fumarato del compuesto (I) 1:1.
- 35 La Figura 9 muestra el patrón XRPD para la forma C de fumarato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 10 muestra el patrón XRPD para la forma D de fumarato del compuesto (I) 1:1.  
La Figura 11 muestra el patrón de XRPD para la forma A de maleato del compuesto (I) 1:1.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 40 La presente invención proporciona fumarato del compuesto (I) 1:1, maleato del compuesto (I) 1:1, formas cristalinas únicas de los mismos y sus correspondientes composiciones farmacéuticas. Además, se describen los métodos para tratar a un sujeto con cáncer. Además, la presente invención proporciona métodos para preparar formas cristalinas específicas de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1.

#### 45 **Formas cristalinas de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1**

- En una forma de realización particular, al menos un porcentaje en peso particular de fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 es cristalino. Los porcentajes en peso particulares incluyen el 70%, 72%, 75%, 77%,  
50 80%, 82%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9%, o un porcentaje en peso del 70%-75%, 75%-80%, 80%-85%, 85%-90%, 90%-95%, 95%-100%, 70-80%, 80-90%, 90-100%. Por ejemplo, en una forma de realización, al menos el 80% (por ejemplo, al menos el 90% o el 99%) en peso del fumarato del compuesto (I) 1:1 o el maleato del compuesto (I) 1:1 es cristalino. Debe entenderse que todos los valores e intervalos entre estos valores e intervalos deben incluirse en la presente invención.

- 55 En otra forma de realización particular, al menos un porcentaje en peso particular de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1 es una única forma cristalina. Los porcentajes en peso particulares incluyen el 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9%, o un porcentaje en peso del 70%-75%, 75%-80%, 80%-85%, 85%-90%, 90%-95%, 95%-100%, 70-  
60 80%, 80-90%, 90-100%. Por ejemplo, en una forma de realización, al menos el 80% (por ejemplo, al menos el 90% o el 99%) en peso del fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 es una única forma cristalina.

Debe entenderse que todos los valores e intervalos entre estos valores e intervalos deben incluirse en la presente invención.

Como se utiliza en el presente documento, "cristalino" se refiere a un sólido que tiene una estructura cristalina en la que las moléculas individuales tienen una configuración química encerrada regular altamente homogénea. El fumarato del compuesto (I) cristalino 1:1 y maleato del compuesto (I) cristalino 1:1 pueden ser cristales de una forma cristalina única de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1, o una mezcla de cristales de diferentes formas cristalinas únicas. Una forma cristalina única significa fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 como un cristal único o una pluralidad de cristales en los que cada cristal tiene la misma forma de cristal.

Cuando un porcentaje en peso particular de fumarato del compuesto (I) 1:1 (o maleato del compuesto (I) 1:1) es una forma cristalina única, el resto del fumarato (o maleato del compuesto (I) 1:1) es alguna combinación de fumarato amorfo (o maleato compuesto (I) 1:1), y/o una o más formas cristalinas de fumarato del compuesto (I) 1:1 (o maleato del compuesto (I) 1:1) excluyendo la forma cristalina única. Cuando el fumarato de compuesto (I) cristalino 1:1 (o maleato de compuesto (I) cristalino 1:1) se define como un porcentaje específico de una forma cristalina particular de fumarato del compuesto (I) 1:1 (o maleato del compuesto (I)), el resto se compone de formas amorfas y/o formas cristalinas distintas de la una o más formas particulares que se especifican. Los ejemplos de una forma cristalina única incluyen la forma A del fumarato del compuesto (I) 1:1 (o maleato del compuesto (I) 1:1) caracterizada por una o más propiedades como se analiza en el presente documento.

El fumarato del compuesto (I) 1:1 (o maleato del compuesto (I) 1:1) es al menos un 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o un 99,9% en peso puro con respecto a los otros estereoisómeros, es decir, la relación del peso del estereoisómero sobre el peso de todos los estereoisómeros.

#### **Preparación de formas cristalinas de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1**

Las formas sólidas particulares de fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 se pueden preparar, por ejemplo, mediante evaporación lenta, enfriamiento lento y precipitación con antidisolvente.

Como se utiliza en el presente documento, "antidisolvente" se refiere a un disolvente, en el que el fumarato del compuesto (I) 1:1 o el maleato del compuesto (I) 1:1 tiene baja solubilidad y hace que el fumarato o el maleato se eliminen por precipitación de la solución en forma de polvo fino o cristales.

Como alternativa, el fumarato del compuesto (I) 1:1 o el maleato del compuesto (I) 1:1 se puede recrystalizar en un disolvente adecuado con o sin la adición de un cristal de siembra.

La preparación de cada forma sólida específica de fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 se describe en la sección experimental a continuación.

#### **Caracterización de las formas cristalinas de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1**

Las muestras se irradian con rayos X de cobre K-alfa con el tubo de rayos X operado a 40 kV/30 mA. En una forma de realización, el fumarato del compuesto (I) 1:1 es una forma cristalina única, forma A. En una forma de realización específica, la forma A del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por el patrón de difracción de polvo de rayos X que se muestra en la Figura 7. En una forma de realización más particular, la forma A del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos (ángulos  $2\theta$ ) en:

- a)  $9,7^\circ$ ,  $16,7^\circ$ , y  $20,1^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$  (picos principales); o
- b)  $8,2^\circ$ ,  $9,7^\circ$ ,  $16,7^\circ$ , y  $20,1^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o
- c)  $8,2^\circ$ ,  $9,7^\circ$ ,  $10,7^\circ$ ,  $11,5^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $16,7^\circ$ ,  $20,1^\circ$ , y  $23,5^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o
- d)  $8,2^\circ$ ,  $9,7^\circ$ ,  $10,7^\circ$ ,  $11,5^\circ$ ,  $13,6^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $16,7^\circ$ ,  $18,1^\circ$ ,  $18,8^\circ$ ,  $20,1^\circ$ ,  $23,5^\circ$ , y  $24,5^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ .

Los picos principales descritos en el presente documento tienen una intensidad relativa de más del 50% en la forma A. Debe entenderse que un ángulo especificado  $2\theta$  significa el valor especificado  $\pm 0,2^\circ$ .

En otra forma de realización específica, la forma A del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por temperaturas de transición de fase pico de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de  $112^\circ\text{C}$  y  $158^\circ\text{C}$ .

En otra forma de realización, el fumarato del compuesto (I) 1:1 es una forma cristalina única, forma B. En una forma de realización específica, la forma B del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por el patrón de difracción de

polvo de rayos X que se muestra en la Figura 8. En una forma de realización más particular, la forma B del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:

- 5 a)  $11,9^\circ$  y  $14,9^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$  (picos principales); o  
 b)  $11,9^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $18,7^\circ$ , y  $21,5^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o  
 c)  $5,5^\circ$ ,  $5,9^\circ$ ,  $11,9^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $16,7^\circ$ ,  $17,4^\circ$ ,  $18,7^\circ$ ,  $21,5^\circ$ , y  $23,4^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ .

Los picos principales descritos en el presente documento tienen una intensidad relativa superior al 75% en la forma B.

- 10 En otra forma de realización específica, la forma B del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por temperaturas de transición de fase pico de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de  $58^\circ\text{C}$  y  $162^\circ\text{C}$ .

- 15 En otra forma de realización, el fumarato del compuesto (I) 1:1 es una forma cristalina única, forma C. En una forma de realización específica, el fumarato del compuesto (I) 1:1 de la forma C se caracteriza por el patrón de difracción de polvo de rayos X de la forma cristalina única que se muestra en la Figura 9. En una forma de realización más particular, la forma C del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:

- 20 a)  $16,8^\circ$ ,  $16,9^\circ$ , y  $19,9^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$  (picos principales); o  
 b)  $9,8^\circ$ ,  $16,8^\circ$ ,  $16,9^\circ$ ,  $19,9^\circ$ , y  $23,5^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o  
 c)  $9,7^\circ$ ,  $9,8^\circ$ ,  $11,7^\circ$ ,  $15,1^\circ$ ,  $16,8^\circ$ ,  $16,9^\circ$ ,  $19,9^\circ$ ,  $23,5^\circ$ , y  $23,7^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ .

- 25 Los picos principales descritos en el presente documento tienen una intensidad relativa superior al 75% en la forma C.

En otra forma de realización específica, la forma C del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por temperaturas de transición de fase pico de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de  $62^\circ\text{C}$  y  $156^\circ\text{C}$ .

- 30 En otra forma de realización, el fumarato del compuesto (I) 1:1 es una forma cristalina única, forma D. En una forma de realización específica, la Forma D del fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por el patrón de difracción de polvo de rayos X en la Figura 10. En una forma de realización más específica, el patrón de difracción de rayos X de la Forma D comprende picos en:

- 35 a)  $9,6^\circ$ ,  $12,8^\circ$ ,  $16,0^\circ$ , y  $22,0^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$  (picos principales); o  
 b)  $9,6^\circ$ ,  $12,8^\circ$ ,  $16,0^\circ$ ,  $16,9^\circ$ ,  $21,2^\circ$ , y  $22,0^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o  
 c)  $9,6^\circ$ ,  $12,8^\circ$ ,  $16,0^\circ$ ,  $16,9^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $21,2^\circ$ ,  $21,5^\circ$ , y  $22,0^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ .  
 d)  $9,6^\circ$ ,  $11,7^\circ$ ,  $12,0^\circ$ ,  $12,8^\circ$ ,  $16,0^\circ$ ,  $16,6^\circ$ ,  $16,9^\circ$ ,  $18,1^\circ$ ,  $19,2^\circ$ ,  $19,8^\circ$ ,  $20,7^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $21,2^\circ$ ,  $21,5^\circ$ ,  $22,0^\circ$ ,  $22,5^\circ$ ,  $24,0^\circ$ ,  $26,0^\circ$ , y  $29,8^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ .

- 40 Los picos principales descritos en el presente documento tienen una intensidad relativa superior al 85% en la forma D.

- 45 En otra forma de realización específica, al menos el 90% en peso de la Forma D de fumarato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por una temperatura de transición de fase pico de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de  $219^\circ\text{C}$ .

En otra forma de realización, el maleato del compuesto (I) 1:1 es una forma cristalina única, Forma A. En una forma de realización específica, la forma A del maleato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por el patrón de difracción de polvo de rayos X de la Figura 11. En una forma de realización más específica, la forma A del maleato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por el patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:

- 50 a)  $11,5^\circ$ ,  $12,6^\circ$ ,  $14,9^\circ$ , y  $15,1^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o  
 b)  $10,8^\circ$ ,  $11,5^\circ$ ,  $12,4^\circ$ ,  $12,6^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $15,1^\circ$ , y  $17,1^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o  
 c)  $5,8^\circ$ ,  $10,8^\circ$ ,  $11,5^\circ$ ,  $12,4^\circ$ ,  $12,6^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $15,1^\circ$ ,  $17,1^\circ$ ,  $18,6^\circ$ ,  $23,5^\circ$ , y  $26,1^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ ; o  
 55 d)  $5,5^\circ$ ,  $5,8^\circ$ ,  $10,8^\circ$ ,  $11,5^\circ$ ,  $12,4^\circ$ ,  $12,6^\circ$ ,  $14,1^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $15,1^\circ$ ,  $16,7^\circ$ ,  $17,1^\circ$ ,  $17,8^\circ$ ,  $18,6^\circ$ ,  $19,5^\circ$ ,  $19,9^\circ$ ,  $21,9^\circ$ ,  $22,2^\circ$ ,  $23,0^\circ$ ,  $23,3^\circ$ ,  $23,5^\circ$ ,  $23,9^\circ$ , y  $26,1^\circ \pm 0,2$  en  $2\theta$ .

Los picos principales descritos en el presente documento tienen una intensidad relativa superior al 90% en la forma A.

- 60 En otra forma de realización específica, la forma A del maleato del compuesto (I) 1:1 se caracteriza por una

temperatura de transición de fase pico de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de 219°C.

La sal de fumarato del compuesto (I) o la sal de maleato del compuesto (I) descrita en el presente documento está en forma amorfa o en forma cristalina. La sal de fumarato del compuesto (I) o la sal de maleato del compuesto (I) descrita en la presente invención incluye tanto una forma no solvatada como una forma de solvato.

"Forma de solvato" se refiere a una forma sólida o cristalina de la sal de fumarato del compuesto (I) o la sal de maleato del compuesto (I), donde el disolvente se combina con la sal de fumarato del compuesto (I) o la sal de maleato del compuesto (I) en una relación definida (por ejemplo, una relación molar de 1:1 o 1:2) como parte integral del sólido o de un cristal.

"Forma no solvatada" se refiere a una relación no definida entre una molécula de disolvente y la sal de fumarato del compuesto (I) o la sal de maleato del compuesto (I), y la molécula de disolvente no existe sustancialmente (por ejemplo, menos del 10% en peso) en la sal de fumarato del compuesto (I) o la sal de maleato del compuesto (I). Las moléculas de disolvente ya conocidas incluyen agua, metanol, etanol, n-propanol e isopropanol.

En la presente invención, la forma A del fumarato del compuesto (I) 1:1 es un solvato de isopropanol, que tiene una relación molar de 2:1 entre el fumarato del compuesto (I) y el isopropanol. La forma B-D del fumarato del compuesto (I) 1:1 y la forma A del maleato del compuesto (I) 1:1 que se describen en el presente documento no son solvatos, es decir, cada una es una forma no solvatada.

#### ***Métodos de tratamiento con fumarato del compuesto (I) y maleato del compuesto (I)***

El fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 pueden inhibir diversas cinasas, incluyendo PLK4. Por lo tanto, el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 de la invención son útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones asociadas con dicha cinasa. Por ejemplo, se cree que PLK4 está implicada en la progresión mitótica celular. Por lo tanto, los inhibidores de moléculas pequeñas de esta enzima pueden ser agentes antitumorales potenciales.

En una forma de realización específica, el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato (I) compuesto (I) 1:1 son inhibidores de PLK4, y son útiles para tratar enfermedades, tales como el cáncer, asociadas con tal cinasa.

Se divulga también un método para tratar a un sujeto con cáncer, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1. En una forma de realización, el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 inhiben el crecimiento de un tumor. Específicamente, el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 inhiben el crecimiento de un tumor que sobreexpresa PLK4. En otra forma de realización, el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 inhiben el crecimiento del tumor induciendo la apoptosis de las células tumorales o inhibiendo la proliferación de las células tumorales.

Los cánceres que pueden tratarse o prevenirse incluyen cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de cerebro, neuroblastoma, cáncer de próstata, melanoma, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, linfoma, leucemia, melanoma, sarcoma, paraneoplasia, osteosarcoma, germinoma, glioma y mesotelioma. En una forma de realización específica, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon, neuroblastoma, cáncer de próstata, melanoma, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, linfoma, leucemia, osteosarcoma, germinoma, glioma, fibrosarcoma, sarcoma gastrointestinal, histiocitoma fibroso, sarcoma de células redondas, sarcoma sinovial, cáncer del cuello uterino, cáncer anogenital, cáncer de cabeza y cuello, y cáncer de bucofaríngeo. En una forma de realización específica, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de cerebro, neuroblastoma, cáncer de próstata, melanoma, glioblastoma multiforme o cáncer de ovario. En otra forma de realización específica, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de cerebro, neuroblastoma, cáncer de próstata, melanoma, glioblastoma multiforme o cáncer de ovario. En otra forma de realización específica, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de mama, y cáncer de colon. En otra forma de realización específica más, el cáncer es un cáncer de mama. En otra forma de realización específica más, el cáncer es un cáncer de mama de subtipo basal o un cáncer de mama de subtipo luminal B. En una forma de realización, el cáncer de mama de subtipo basal es cáncer de mama negativo a ER (receptor de estrógeno), HER2 y PR (receptor de progesterona). En otra forma de realización específica más, el cáncer es un cáncer de tejidos blandos. Un "cáncer de tejidos blandos" es un término reconocido en la materia que incluye tumores derivados de cualquier tejido blando del cuerpo. Dicho tejido blando conecta, soporta o rodea diversas estructuras y órganos del cuerpo, incluyendo, pero sin limitación, músculo liso, músculo esquelético, tendones, tejidos fibrosos, tejido adiposo, vasos sanguíneos y linfáticos, tejido perivascular, nervios, células mesenquimales y tejidos sinoviales. Por lo tanto, los cánceres de tejidos blandos pueden ser de tejido adiposo, tejido muscular, tejido nervioso, tejido articular, vasos

sanguíneos, vasos linfáticos y tejidos fibrosos. Los cánceres de tejidos blandos pueden ser benignos o malignos. En general, los cánceres de tejidos blandos malignos se denominan sarcomas, o sarcomas de tejidos blandos. Existen muchos tipos de tumores de tejidos blandos, incluyendo lipoma, lipoblastoma, hibernoma, liposarcoma, leiomioma, leiomiosarcoma, rabdomioma, rabdomiosarcoma, neurofibroma, schwannoma (neurilemoma), neuroma, schwannoma maligno, neurofibrosarcoma, sarcoma neurogénico, tenosinovitis nodular, sarcoma sinovial, hemangioma, tumor glómico, hemangiopericitoma, hemangioendotelioma, angiosarcoma, sarcoma de Kaposi, linfangioma, fibroma, elastofibroma, fibromatosis superficial, histiocitoma fibroso, fibrosarcoma, fibromatosis, dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP), histiocitoma fibroso maligno (MFH), mixoma, tumor de células granulares, mesenquimomas malignos, sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma epiteloide, sarcoma de células claras, y tumor desmoplásico de células pequeñas. En una forma de realización particular, el cáncer de tejidos blandos es un sarcoma seleccionado del grupo que consiste en un fibrosarcoma, un sarcoma gastrointestinal, un leiomiosarcoma, un liposarcoma desdiferenciado, un liposarcoma pleomorfo, un histiocitoma fibroso maligno, un sarcoma de células redondas, y un sarcoma sinovial.

15 Se divulga también un método para tratar un sujeto con células tumorales, que comprende administrar al sujeto, una cantidad de un compuesto divulgado en el presente documento que es eficaz para reducir eficazmente en el sujeto la actividad de PLK4.

El término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad que cuando se administra al sujeto produce resultados beneficiosos o deseados, incluidos los resultados clínicos, por ejemplo, inhibe, suprime o reduce el cáncer (por ejemplo, según lo determinado por los síntomas clínicos o la cantidad de células cancerosas) en un sujeto en comparación con un control.

20 Como se usa en el presente documento, "tratar un sujeto con cáncer" incluye lograr, parcial o sustancialmente, uno o más de los siguientes: detener el crecimiento del cáncer, reducir la extensión del cáncer (por ejemplo, reducir el tamaño de un tumor), inhibir la tasa de crecimiento del cáncer, mejorar un síntoma o indicador clínico asociado con el cáncer (tal como componentes de tejido o suero), o aumentar la longevidad del sujeto; y reducir la probabilidad de recurrencia del cáncer.

25 Como se usa en el presente documento, el término "reducir la probabilidad de recurrencia del cáncer" significa inhibir o retrasar el retorno del cáncer en o cerca de un sitio primario y/o en un sitio secundario después de un periodo de remisión. También significa que es menos probable que el cáncer regrese con el tratamiento descrito en el presente documento que en su ausencia.

30 Como se usa en el presente documento, el término "remisión" se refiere a un estado del cáncer, en el que los síntomas o indicadores clínicos asociados con un cáncer han desaparecido o no se pueden detectar, típicamente después de que el sujeto haya sido tratado con éxito con un tratamiento anticanceroso.

En general, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención varía dependiendo de diversos factores, tales como el fármaco o compuesto dado, la formulación farmacéutica, la vía de administración, el tipo de enfermedad o trastorno, la identidad del sujeto o el huésped que se está tratando, y similares, pero, no obstante, puede determinarse rutinariamente por un experto en la materia. Una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención se puede determinar fácilmente por un experto en la materia por métodos rutinarios conocidos en la materia.

40 En una forma de realización, una cantidad eficaz de fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1 varía de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1000 mg/kg del peso corporal, como alternativa, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 500 mg/kg del peso corporal, como alternativa, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal, como alternativa de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 15 mg/kg del peso corporal, como alternativa de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mg/kg del peso corporal, y en otra alternativa, de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 mg/kg del peso corporal. El experto en la materia apreciará que ciertos factores pueden influir en la dosis requerida para tratar eficazmente a un sujeto que padece cáncer y estos factores incluyen, pero sin limitación, la gravedad de la enfermedad o el trastorno, los tratamientos anteriores, la salud general y/o la edad del sujeto y otras enfermedades presentes.

45 Además, un régimen de "tratamiento" de un sujeto con una cantidad eficaz del compuesto de la presente invención puede consistir en una administración única o, como alternativa, comprender una serie de aplicaciones. Por ejemplo, el fumarato del compuesto (I) 1:1 y el maleato del compuesto (I) 1:1 se pueden administrar al menos una vez a la semana. Sin embargo, en otra forma de realización, el compuesto puede administrarse al sujeto de aproximadamente una vez por semana hasta una vez al día para un tratamiento dado. La duración del periodo de tratamiento depende de una diversidad de factores, tales como la gravedad de la enfermedad, la edad del paciente,

la concentración y la actividad de los compuestos de la presente invención, o una combinación de los mismos. También se apreciará que la dosis eficaz del compuesto utilizado para el tratamiento o la profilaxis puede aumentar o disminuir en el transcurso de un tratamiento particular o un régimen de profilaxis. Los cambios en la dosificación pueden resultar y ser evidentes mediante ensayos de diagnóstico estándar conocidos en la materia. En algunos  
5 casos, puede ser necesaria la administración crónica.

Un "sujeto" es un mamífero, preferiblemente un ser humano, pero también puede ser un animal que necesite tratamiento veterinario, por ejemplo, animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas,  
10 ratones, cobayas y similares).

Los compuestos de la invención se pueden administrar a un paciente en una diversidad de formas dependiendo de la vía de administración seleccionada, como se entenderá por los expertos en la materia. Los compuestos de la invención se pueden administrar, por ejemplo, por administración oral, parenteral, bucal, sublingual, nasal, rectal,  
15 parche, bomba o transdérmica, y las composiciones farmacéuticas formuladas en consecuencia. La administración parenteral incluye los modos de administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, transepitelial, nasal, intrapulmonar, intratecal, rectal y tópica. La administración parenteral puede ser por infusión continua durante un periodo de tiempo seleccionado.

#### 20 **Composiciones farmacéuticas que incluyen fumarato del compuesto (I) 1:1 y maleato del compuesto (I) 1:1**

El fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 o una cualquiera o más de las formas de cristal divulgadas en el presente documento pueden formularse adecuadamente en composiciones farmacéuticas para la  
25 administración a un sujeto.

En una forma de realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende fumarato del compuesto (I) 1:1 o maleato del compuesto (I) 1:1 como se ha descrito anteriormente, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en donde al menos el 80% (preferiblemente el 90%, más preferiblemente el 99%) en peso de la sal es cristalina.  
30

Las composiciones farmacéuticas de las presentes enseñanzas incluyen opcionalmente uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables para las mismas, tales como lactosa, almidón, celulosa y dextrosa. También se pueden incluir otros excipientes, tales como agentes saporíferos; edulcorantes; y conservantes, tales como metil, etil, propil y butil parabenos. Se pueden encontrar listas más completas de excipientes adecuados en el  
35 Handbook of Pharmaceutical Excipients (5ª Ed., Pharmaceutical Press (2005)). Un experto en la materia sabrá cómo preparar formulaciones adecuadas para diversos tipos de rutas de administración. Los procedimientos e ingredientes convencionales para la selección y preparación de formulaciones adecuadas se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (2003 - 20ª edición) y en The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19) publicado en 1999. Los vehículos, diluyentes y/o excipientes son "aceptables" en el  
40 sentido de ser compatibles con los demás ingredientes de la composición farmacéutica y no perjudiciales para el receptor de los mismos.

Típicamente, para la administración terapéutica oral, un compuesto de las presentes enseñanzas puede incorporarse con un excipiente y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos,  
45 cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares.

Normalmente, para la administración parenteral, las soluciones de un compuesto de las presentes enseñanzas pueden prepararse generalmente en agua adecuadamente mezclada con un tensioactivo tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos, DMSO y  
50 mezclas de los mismos con o sin alcohol, y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

Típicamente, para uso inyectable, son apropiadas soluciones acuosas estériles o la dispersión de los polvos estériles de un compuesto descrito en el presente documento para la preparación extemporánea de soluciones o  
55 dispersiones inyectables estériles.

Para la administración nasal, los compuestos de las presentes enseñanzas se pueden formular como aerosoles, gotas, geles y polvos. Las formulaciones de aerosol comprenden típicamente una solución o suspensión fina de la sustancia activa en un disolvente acuoso o no acuoso fisiológicamente aceptable y normalmente se presentan en  
60 cantidades individuales o multidosis en forma estéril en un recipiente sellado, que puede adoptar la forma de un cartucho o recarga para su uso con un dispositivo de atomización. Como alternativa, el recipiente sellado puede ser

un dispositivo dispensador unitario tal como un inhalador nasal de dosis única o un dispensador de aerosol equipado con una válvula dosificadora que está diseñada para su eliminación después de su uso. Cuando la forma de dosificación comprende un dispensador de aerosol, contendrá un propulsor que puede ser un gas comprimido, tal como aire comprimido, o un propulsor orgánico, tal como fluoroclorhidrato de carbono. Las formas de dosificación en aerosol también pueden adoptar la forma de un atomizador de bomba.

Para la administración bucal o sublingual, los compuestos de las presentes enseñanzas se pueden formular con un vehículo tal como azúcar, goma arábiga, tragacanto o gelatina y glicerina, como comprimidos, pastillas para chupar o pastillas.

Para administración rectal, los compuestos descritos en el presente documento pueden formularse en forma de supositorios que contienen una base de supositorio convencional tal como manteca de cacao.

La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos, que no pretenden ser limitantes de ningún modo.

## 15 EJEMPLOS

### Abreviaturas:

BSA	ácido bencenosulfónico
d	días
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
h	horas
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
IPA	isopropanol
IBAc	acetato de isobutilo
MeOH	metanol
MIBK	metil isobutil cetona
min	minutos
MTBE	metil terc-butil éter
RMN	resonancia magnética nuclear
pTSA	ácido para toluenosulfónico
MFR	matraz de fondo redondo
HR	humedad relativa
Int. Rel.	Intensidad relativa
ta	Temperatura ambiente
temp.	temperatura
TGA	análisis termogravimétrico
THF	tetrahidrofurano
% en peso	porcentaje en peso
XRPD	difracción de polvo de rayos X

### 20 Condiciones de análisis

#### Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

25 Los análisis por DSC se realizaron en un calorímetro de barrido diferencial Mettler 822e o en un instrumento TA TA2000. Las muestras se pesaron en una bandeja de aluminio, se cubrieron con una tapa perforada y después se sellaron. Las condiciones de análisis fueron 30-120, 30-200, 30-300°C y 40-300°C elevadas a 10 °C/min.

#### Análisis gravimétrico térmico (TGA)

30 Los análisis de TGA se realizaron en un analizador termogravimétrico SDTA Mettler 851e. Las muestras se pesaron en un crisol de alúmina y se analizaron entre 30-230, 30-300 y 30-350°C y a una velocidad de elevación de 10°C/min.

#### 35 Difracción de polvo de rayos X (XRPD)

Las muestras se analizaron en un difractómetro de polvo de rayos X Panalytical CubiX-Pro o un difractómetro Bruker AXS/Siemens D5000.

Condiciones analíticas: Las muestras se colocaron en un soporte de muestra ultra-micro de silicona de retorno cero. Las muestras se irradiaron con rayos X de cobre K-alfa con el tubo de rayos X operado a 40 kV/30 mA. Las muestras se escanearon en modo continuo a lo largo del intervalo de 3 a 45°.

5

Condiciones de Bruker AXS/Siemens D5000: Se usó un objetivo de Cu de alta potencia que funcionaba a 50 kV/35 mA. El haz secundario fue monocromatizado por un detector KeveX de estado sólido. Las muestras se escanearon a lo largo del intervalo 2-35° ( $2\sigma$ ) donde se producen picos representativos para la mayoría de los compuestos cristalinos orgánicos.

10

### **Absorción gravimétrica de la humedad**

Los experimentos gravimétricos de absorción de humedad se realizaron en un analizador dinámico de absorción de vapor Hiden manteniendo primero la muestra al 40% de HR y 25°C hasta alcanzar un peso de equilibrio o durante un máximo de cuatro horas. La muestra se sometió entonces a una adsorción isotérmica (25°C) del 40 al 90% de HR en etapas del 10%. La muestra se dejó equilibrar hasta un peso asintótico en cada punto durante un máximo de cuatro horas. Después de la adsorción, se realizó una exploración de desorción del 85 al 5% de HR (a 25°C) en etapas de -10%, lo que permitió un máximo de cuatro horas para el equilibrio hasta un peso asintótico. Luego se realizó una exploración de adsorción del 0% de HR al 40% de HR en etapas de +10% de HR.

20

### **Espectroscopia Raman**

Las muestras para el análisis de Raman se analizaron en un macroscopio Kaiser RXN1 con PhAT Probe. Los sólidos obtenidos de las cristalizaciones de placa de 96 pocillos se analizaron utilizando las siguientes condiciones:

25

Fuente Raman: láser a 785 nm  
Objetivo de microscopio 1,2 mm  
Tiempo de exposición individual: 12 s  
Adiciones complementarias: 12

30

Opciones de exposición permitidas: Filtrado de rayos cósmicos, sustracción oscura, calibración de intensidad

### **Microscopia óptica**

35 Las muestras se examinaron con un microscopio de luz polarizada Leica DMRB combinado con una cámara digital (resolución 1600 x 1200). Se dispersaron pequeñas cantidades de muestras en aceite mineral en un portaobjetos de vidrio con cubreobjetos y se observaron con un aumento de 100x o más.

### **Birrefringencia**

40

Las muestras para el análisis de birrefringencia se analizaron en un generador de imágenes de birrefringencia de Coleman Technologies. Los sólidos obtenidos de las cristalizaciones de placa de 96 pocillos se analizaron utilizando las siguientes condiciones:

45

Iluminación: 37  
Exposición: 57,9  
Polarización: 0,0  
Diámetro de la máscara del pocillo: 6,2  
Intensidad objetivo: 80

50

Percentil objetivo: 90,0  
Intensidad media máxima: 100

### **Resonancia magnética nuclear**

55 Las muestras para la RMN de protón se analizaron utilizando un espectrómetro Bruker de 400 MHz.

### **Ejemplo 1: Pantalla de sal combinatoria**

60 Se realizó un análisis de sal utilizando seis disolventes (IPA, THF, acetona, acetonitrilo, EtOH y EtOAc) y veintiocho ácidos farmacéuticamente aceptables (HCl, HBr, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H, pTSA, BSA, ácido naftaleno sulfónico, ácido etano sulfónico, ácido metano sulfónico, ácido adípico, ácido etano disulfónico, ácido maleico, ácido benzoico,

ácido L-málico, ácido cítrico, ácido L-láctico, ácido hipúrico, ácido L-piroglutámico, ácido succínico, ácido L-tartárico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glutámico, ácido L-ascórbico, ácido sórbico, ácido benzoico y ácido malónico). Una placa de 96 pocillos se cargó con 200 µl de una solución de 20 mg/ml de compuesto (I) en MeOH en cada pocillo. El disolvente se evaporó entonces bajo un flujo de nitrógeno, dejando aproximadamente 4 mg del material de partida en cada pocillo. Después, se añadió el disolvente primario de interés a cada pocillo (500 µl). Las placas se calentaron a 50°C y se agitaron magnéticamente durante 10 minutos para asegurar la disolución completa de A. Cada pocillo se cargó entonces con la solución de contra-ión designada a un volumen correspondiente a 1,05 equivalentes de cada ácido y se dejó equilibrar a temperatura durante 10 minutos. Las placas se enfriaron después a 20°C/ha 25°C, momento en el que la placa maestra se procesó transfiriendo 200 µl de cada pocillo a una placa de evaporación. Las placas se enfriaron luego a temperatura ambiente, se almacenaron durante una noche a 5°C y se verificó la presencia de sólidos. El disolvente de las placas maestras se eliminó después absorbiendo con papel absorbente. Las placas maestras y de evaporación se secaron entonces en una atmósfera de nitrógeno durante una noche. Después, los pocillos que contenían material sólido se puntuaron y se clasificaron por birrefringencia, espectro Raman único y solubilidad de umbral. Las combinaciones adecuadas de disolvente y contra-ión se evaluaron de nuevo entonces para la formación de sal con A en una escala aumentada.

### Ejemplo 2: Formación de sal a escala intermedia

Aproximadamente 40 mg de compuesto (I) se pesaron en un vial de 8 ml que contenía una barra de agitación magnética. En el vial se añadió el disolvente primario para asegurar la disolución a temperatura elevada. Después de la disolución, se añadieron gota a gota 1,05 equivalentes de ácido como una solución 0,125, 0,25 o 0,5 M. Todas las mezclas se dejaron agitar a temperatura elevada durante 15 minutos, seguido de enfriamiento a temperatura ambiente a una velocidad de 10°C/h y con agitación durante una noche. Las muestras que no mostraron precipitación después del enfriamiento se rasparon con una espátula para inducir la nucleación y se almacenaron en un congelador a una temperatura de -10 a -20°C. Los viales se inspeccionaron para determinar el crecimiento de cristales después de 1 h. Las muestras de las condiciones que proporcionaron sólidos se centrifugaron, se filtraron o se evaporaron en una atmósfera de nitrógeno. Todas las otras muestras se dejaron equilibrar a -20°C durante 72 h. Los viales que no mostraron precipitación se secaron después en una atmósfera de nitrógeno. Los sólidos resultantes se suspendieron luego con IPA durante 5 días. A partir de estos experimentos, solo se identificaron sólidos amorfos para todos los contra-iones excepto para la sal de ácido fumárico. Las formas polimórficas únicas de la sal de fumarato del compuesto (I) se describen a continuación.

### Preparación de sales cristalinas del compuesto (I)

#### 35 Ejemplo 3: Preparación de la Forma A de fumarato del compuesto (I) 1:1

El compuesto (I) (42 mg, 0,078 mmol) se disolvió en acetonitrilo (0,5 ml) y se calentó a 50°C. Se añadió ácido fumárico (0,33 ml de una solución 0,25 M en IPA) y la mezcla se agitó durante 15 min. El precipitado se filtró y se determinó que era amorfo debido a la falta de birrefringencia observable. El sólido amorfo se suspendió después con IPA (0,5 ml) durante 5 días. El sólido obtenido de la suspensión mostró birrefringencia y se caracterizó además como un solvato de IPA por XRPD, DSC, <sup>1</sup>H RMN y TGA y la forma A de fumarato indicada.

Tabla 1. XRPD de la Forma A de fumarato

ángulo 2θ	Int. Rel. (%)
8,17	43%
9,69	100%
10,69	33%
11,51	30%
13,63	25%
14,89	36%
16,73	61%
18,09	27%
18,83	23%
20,05	50%
23,49	34%
24,45	26%

#### 45 Ejemplo 4: Preparación de la Forma B de fumarato del compuesto (I) 1:1

La desolvatación de la forma A de fumarato por secado al vacío a 60°C durante 2 días dio como resultado un

material cristalino con un termograma DSC y un XRPD designado como forma B. La forma B también se puede preparar directamente disolviendo la sal de mono fumarato amorfo en EtOAc y siembra con cristales de forma B. La absorción gravimétrica de la humedad indica que la forma de sal es higroscópica y forma un tetrahidrato al 90% de HR.

5

Tabla 2. XRPD de la Forma B de fumarato

ángulo 2θ	Int. Rel. (%)
5,51	39,5
5,91	38,7
11,91	100,0
14,93	83,5
16,71	40,2
17,35	40,4
18,73	42,8
21,53	41,0
23,41	43,3

**Ejemplo 5: Preparación de la Forma C del fumarato del compuesto (I) 1:1**

- 10 Se puede obtener un tercer polimorfo de fumarato por disolución de sal de fumarato amorfo en THF y siembra con cristales de la forma B de fumarato. El disolvente se evaporó lentamente hasta obtener un sólido de color blanco que mostró un patrón XRPD y un espectro Raman diferente de la forma B y se designó como forma C de fumarato.

Tabla 3. XRPD de la Forma C de fumarato

ángulo 2θ	Int. Rel. (%)
9,71	68,1
9,83	70,2
11,71	59,5
15,05	60,1
16,83	88,7
16,87	84,7
19,93	100,0
23,45	70,7
23,65	69,6

15

**Ejemplo 6: Preparación de la Forma D del fumarato del compuesto (I) 1:1**

- La suspensión de la forma C de fumarato con acetonitrilo durante 10 días a ta dio lugar a la transición a una nueva forma de cristal, denominada forma D, que mostró un espectro Raman y un patrón XRPD distintos. La transición de fase por DSC fue mucho mayor que las otras formas y muestra la mayor estabilidad de los cuatro polimorfos identificados. La forma D se puede preparar directamente de la siguiente manera: Un MFR de tres bocas de 250 ml equipado con una barra de agitación se cargó con el compuesto (I) (6,01 g, 11 mmol) y ácido fumárico (1,41 g, 12 mmol). Se añadió acetona (50 ml) y la suspensión se calentó a 50°C hasta que la solución se volvió transparente. La precipitación se observó después de 10 min., y la agitación continuó durante 30 min. más. Se añadió MTBE (25 ml) y la solución se enfrió a ta y se agitó durante una noche. Los sólidos se filtraron y se secaron al vacío a 60°C durante 2 días para dar el compuesto del título (I) en forma de un sólido de color blanco (6,65 g, 91%).

- 20 1H RMN (400 MHz,  $CD_3OD$ ) δ 8,00 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,50-7,45 (m, 5H), 7,03 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,73 (s, 2H), 6,60 (dd, J = 8,4, 2,5 Hz, 1H), 5,58 (s, 1H), 4,00 (s, 2H), 3,82-3,78 (m, 2H), 3,36 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 3,26 (s, 3H), 3,13-3,10 (m, 2H), 2,34 (t, J = 11,4 Hz, 2H), 2,25-2,16 (m, 2H), 1,01 (d, J = 6,0 Hz, 6H).

30

Tabla 4. XRPD de la Forma D

ángulo 2θ	Int. Rel. (%)
9,59	97,3
11,69	39,2
12,03	53,4
12,83	100,0
15,95	92,6
16,55	47,2
16,93	73,3

18,13	47,8
19,23	59,0
19,81	55,4
20,67	59,1
20,79	61,9
21,23	71,5
21,49	66,6
21,97	97,2
22,53	42,1
23,97	53,9
24,03	46,2
26,03	32,5
29,75	41,6

La sal de ácido fumárico se puede generar como forma D en diversas condiciones. La forma cristalina se puede generar a través de la siembra con cristales de la forma B o D como se muestra en la Tabla 5. La sal se puede cristalizar directamente disolviendo el compuesto original (I) en disolventes polares tales como acetato de etilo, acetona o etanol y administrando ácido fumárico en disolventes polares tales como metanol, etanol, THF e isopropanol, como se muestra en la Tabla 6. Los rendimientos generalmente mejoran cuando se añade un antidisolvente, tal como MTBE. Las condiciones que no dan la forma D incluyen cuando el compuesto (I) se disuelve en disolventes menos polares tales como acetonitrilo, 2-metil tetrahidrofurano y metilisobutil cetona. Además, la adición de hexano como antidisolvente no promueve la forma cristalina D.

10

La Forma D preferida también se puede generar disolviendo el compuesto (I) en un disolvente apropiado, tal como metanol, etanol, THF o acetona y administrando ácido fumárico directamente como un sólido, como se ve en la Tabla 7. Los rendimientos se mejoran cuando se añade un antidisolvente tal como MTBE o IBAC. La forma D no se forma por este método cuando el disolvente primario es menos polar, como es el caso con acetato de etilo y MTBE.

15

No se pudo generar una sal cristalina 2:1 de compuesto (I)/ácido fumárico. Dos equivalentes de compuesto (I) se disolvieron en un disolvente primario tal como EtOAc, EtOH, THF, IPA y se añadió un equivalente de ácido fumárico como un sólido, o en una solución con IPA o EtOH. Las soluciones resultantes se calentaron a 50°C durante 30 minutos y se enfriaron a ta. Se añadió MTBE y la mezcla se suspendió durante 24 h. La caracterización tanto del sólido como del filtrado por <sup>1</sup>H RMN reveló que solo se obtuvo 1:1 del compuesto (I)/sal de fumarato.

20

Tabla 5. Cristalización de sal de fumarato con siembra

Disolvente primario	Disolvente de administración	Equivalentes	Temp. (°C)	Adición de semillas	Rendimiento (%)	Forma
EtOAc	EtOH	1,05	50	B	77	D
EtOAc	EtOH	1,05	50	D	67	D

25

Tabla 6. Cristalización de la sal de fumarato

Disolvente primario	Disolvente de administración	Equivalentes	Temp. (°C)	Antidisolvente	Rendimiento (%)	Forma
EtOAc	MeOH	1,05	50	MTBE	54	D
EtOAc	EtOH	1,05	50	MTBE	51	D
EtOAc	THF	1,05	50	MTBE	53	D
EtOAc	IPA	1,05	50	MTBE	50	D
EtOAc	THF	1,05	50	Hexano	-	-
2-MeTHF	MeOH	1,05	50	MTBE	-	-
2-MeTHF	EtOH	1,05	50	MTBE	-	-
2-MeTHF	THF	1,05	50	MTBE	-	-
Acetona	MeOH	1,05	50	MTBE	75	D
Acetona	EtOH	1,05	50	No	40	D
Acetona	THF	1,05	50	MTBE	72	D
Acetona	THF	1,05	50	Hexano	-	-
MIBK	THF	1,05	50	MTBE	-	-
EtOH	THF	1,05	50	MTBE	69	D

EtOH	THF	1,05	50	Hexano	-	-
THF	THF	1,05	50	Hexano	-	-

Tabla 7. Cristalización con ácido fumárico añadido como un sólido

Disolvente primario	Equivalentes	Temp. (°C)	Antidisolvente	Rendimiento (%)	Forma
MeOH	1,01	50	No	43	D
EtOH	1,14	50	No	61	D
EtOH	1,05	50	MTBE	74	D
EtOH	1,05	50	IBAc	74	D
THF	1,01	50	MTBE	64	D
Acetona	0,99	50	No	53	D
Acetona	1,05	50	MTBE	82	D
Acetona	1,05	50	IBAc	81	D
EtOAc	1,01	50	No	-	-
MTBE	1,01	50	No	-	-

### Reevaluación de los resultados del tamiz de sal combinatoria

5

A partir del proceso combinatorio inicial, solo la sal de fumarato se identificó como cristalina. Los resultados del tamiz de alto rendimiento se reevaluaron y se generaron nuevas puntuaciones que eran independientes del disolvente para cada contra-ión. Esta reevaluación procedió para las diferentes sales combinando las puntuaciones anteriores (inspección visual de la formación de sólidos, birrefringencia, unicidad por espectro Raman y solubilidad de umbral) sobre todos los disolventes y sumándolos para tanto la maestra como de evaporación. Los dos ácidos reevaluados más altos, el ácido maleico y el ácido metano sulfónico, se evaluaron adicionalmente en condiciones adicionales de disolvente y antidisolvente. Las sales obtenidas del ácido metanosulfónico mostraron higroscopicidad. Sin embargo, se identificó una sal cristalina con ácido maleico. La preparación y caracterización de una sal de maleato del compuesto A se describe a continuación.

15

### Ejemplo 7: Preparación de la Forma A de maleato del compuesto (I) 1:1

Un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml equipado con una barra de agitación se cargó con el compuesto (I) (4,96 g, 9,3 mmol). Se añadió acetona (55 ml) y se calentó a 50°C. Se añadió ácido maleico (20 ml de una solución 0,5 M en acetona) dando como resultado una solución transparente que se volvió turbia después de 1 minuto. La solución se enfrió a ta y se agitó durante 24 h como una suspensión espesa. Los sólidos se filtraron, se lavaron con MTBE y se secaron durante 30 h a 60°C al vacío para dar un sólido de color blanco (5,52 g, 91%). La sal se caracterizó como cristalina por XRPD y la forma A indicada.

<sup>1</sup>H RMN (*CD<sub>3</sub>OD*) δ: 8,04 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,45 - 7,61 (m, 5H), 7,07 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,62 (dd, J = 8,5, 2,5 Hz, 1H), 6,27 (s, 2H), 5,59 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,86-3,82 (m, 2H), 3,34-3,43 (m, 2H), 3,27 (s, 3H), 2,74-2,68 (m, 2H), 2,32-2,10 (m, 2H), 1,23 (d, J = 6,3 Hz, 6H).

Tabla 8. XRPD de la Forma A de maleato

ángulo 2θ	Intensidad rel.
5,45	28,2
5,75	54,4
10,83	70,9
11,49	111,9
12,37	79,3
12,59	103,2
14,05	38,1
14,91	96,1
15,07	100,0
16,73	29,6
17,05	75,9
17,83	20,6
18,55	51,7
19,51	34,8
19,91	30,7
21,89	25,9
22,15	34,6

23,03	39,4
23,31	45,3
23,51	56,1
23,89	33,3
26,09	60,3

La forma A de maleato se puede generar a partir de un disolvente polar, tal como EtOH, acetona, acetato de isopropilo, acetato de etilo, isopropanol o THF, con o sin adición de un antidisolvente no polar, tal como MTBE. No se pudo generar una sal cristalina 2:1 del compuesto (I)/ácido maleico.

5

#### Preparación de sales amorfas del compuesto (I)

##### Ejemplo 8: Preparación de sal HCl del compuesto (I)

10 El compuesto (I) (6,7 g, 12,5 mmol) se disolvió en THF (25 ml) y se añadió HCl 1 M en éter (13,8 ml, 13,8 mmol) a ta y la solución se diluyó con éter (200 ml). La mezcla se almacenó a ta durante 1 h, y el sólido resultante se filtró. El sólido forma un gel tras el reposo y se disolvió en agua (100 ml) y se liofilizó para dar un polvo de color amarillo (5,8 g, 81%).

15 <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,75 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,46 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,42 (s, 1H), 7,35 (d, J = 16,8 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 16,4 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,19 (s, 1H), 4,28 (s, 2H), 3,92-3,80 (m, 2H), 3,40-3,30 (m, 2H), 3,27 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 3,15 (s, 3H), 2,70 (t, J = 11,4 Hz, 2H), 2,15-2,05 (m, 2H), 1,18 (d, J = 6,0 Hz, 6H).

##### Ejemplo 9: Preparación de sal de fosfato del compuesto (I)

20

El compuesto (I) (148 mg, 0,27 mmol) se disolvió en EtOAc (0,5 ml) y se añadió ácido fosfórico 0,5 M en EtOAc (0,58 ml, 0,28 mmol) a 50°C y la solución se agitó durante 15 min y se enfrió a ta. Los sólidos se filtraron y se secaron durante 4 días a 60°C para dar el compuesto del título (I) en forma de un sólido de color blanco (149 mg, 85%).

25 <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD) δ 8,00 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,49-7,58 (m, 5H), 7,04 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,61 (dd, J = 8,5, 2,5 Hz, 1H), 5,58 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 4,21 (s, 2H), 3,97-3,89 (m, 2H), 3,34 - 3,39 (m, 1H), 3,26 (s, 3H), 2,55 (t, J = 11,8 Hz, 2H), 2,16-2,26 (m, 2H), 1,19 (d, J = 6,0 Hz, 6H).

#### Prueba de solubilidad y análisis farmacocinéticos

##### 30 Métodos:

Se administró una dosis oral única en solución y en forma de polvo en cápsula de la sal HCl de (I), la forma D de fumarato y la forma A de maleato a ratas Sprague-Dawley hembra a 5 mg/kg. Se recogieron muestras de sangre en presencia de heparina de litio y se centrifugaron para generar plasma. Después, el plasma se analizó después para 35 determinar los niveles plasmáticos del compuesto (I) por LC/MS.

##### Preparación del artículo de ensayo para la dosificación de cápsulas en ratas:

40 Todos los animales involucrados en el programa de dosificación se pesaron y se les asignaron números. Todas las cápsulas (cápsulas de gelatina dura porcina de tamaño 9, Torpac) correspondientes a cada animal a dosificar se numeraron cuidadosamente con un Sharpie de punta fina. Se colocó una pequeña placa de pesaje de plástico en la báscula, con una tapa de cápsula colocada en la placa y la base del cargador de cápsulas con la otra parte de la cápsula se cargó en el depósito. La báscula estaba tarada. Se colocó un embudo sobre el aparato de carga de cápsulas y se anotó cuidadosamente la masa total. Un pedazo de papel de cera de "4 x 4" se dobló por la mitad, 45 creando un pliegue en la mediana. Se depositó una pequeña cantidad de compuesto finamente molido (se molió el compuesto si era necesario usando un mortero) en el pliegue del papel encerado y se volvió a plegar. El papel encerado plegado se inclinó suavemente sobre el aparato de embudo del cargador de cápsulas. Se usó una escápula fina para extraer una cantidad de polvo de compuesto del pliegue sobre el embudo, lo que permitió que goteara en el compartimento de carga y finalmente en la cápsula. Se anotó la diferencia en masa de la masa total. 50 Se retiró el embudo de carga de la cápsula y se cerró la puerta de la báscula para determinar el peso absoluto del compuesto en el interior de la cápsula. El embudo se devolvió al aparato de carga de cápsulas y la carga continuó hasta que la cantidad deseada de fármaco estaba dentro de la cápsula. Nota: Cuando se añadieron pequeñas cantidades a la cápsula, se cepilló simplemente el fármaco en polvo que se depositó en el embudo en la columna de carga. Se retiró el embudo y se registró el peso. Se calculó la cantidad de fármaco real multiplicando el material 55 pesado por el índice de bioequivalencia. La cantidad de fármaco real se registró. La tapa de la cápsula en la placa de pesaje se utilizó para cerrar la cápsula herméticamente hasta que encajó en su lugar.

Todos los animales ( $n = 3/\text{grupo}$ ) se dosificaron por vía oral en un volumen de 5 ml/kg. Después de la dosificación, cada rata se desangró en cada uno de los puntos de tiempo designados. Para los animales de control, la sangre se recogió por el mismo procedimiento. Se extrajo sangre de la vena safena lateral. Se recogieron alícuotas de sangre (~50  $\mu\text{l}$ ) en tubos recubiertos con heparina de litio, se mezclaron suavemente, luego se mantuvieron en hielo y se centrifugaron a 2.500 xg durante 15 minutos a TA, en 1 hora de la recogida. La capa de plasma se recogió, se mantuvo en hielo y finalmente se mantuvo congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior procesamiento.

### Métodos bioanalíticos

Se realizó la cuantificación bioanalítica utilizando HPLC/espectrometría de masas cuádruple en tándem (HPLC-MS). Las concentraciones plasmáticas y  $T_{1/2}$  se calcularon y se informaron.

#### Ensayo plasmático:

Una solución estándar de 5 mg/ml en DMSO se diluyó 100 veces y se diluyó posteriormente en serie en DMSO al 50%. Las alícuotas (2  $\mu\text{l}$ ) de las diluciones en serie se mezclaron con 18  $\mu\text{l}$  de plasma de control (20  $\mu\text{l}$  en total) para su uso como una curva estándar. Las muestras de plasma (20  $\mu\text{l}$ ) y las muestras estándar se diluyeron después 5 veces con acetonitrilo enfriado con hielo que contenía 100 ng/ml de verapamilo como patrón interno (80% (v/v) de acetonitrilo). Las muestras y los estándares precipitados con acetonitrilo se filtraron a través de membranas de 0,22  $\mu\text{m}$  en un formato de 96 pocillos. Después, los filtrados se diluyeron con agua hasta acetonitrilo al 30%.

#### Ensayo de la dosis:

La solución de dosificación (100  $\mu\text{l}$ ) se diluyó con DMSO (900  $\mu\text{l}$ ) para asegurar la homogeneidad de la muestra. La dilución de la solución resultante en acetonitrilo al 30% (que contiene el patrón interno) se realizó por triplicado para llevar la concentración nominal a menos de 500 ng/ml, apropiada para el análisis de LC-MS. La dilución en serie de una solución madre de DMSO de 5 mg/ml en acetonitrilo al 30% (que contenía el patrón interno) proporcionó una curva estándar adecuada. Las muestras y los estándares (10  $\mu\text{l}$ ) se inyectaron en el sistema LC-MS, como se describe a continuación. Las concentraciones de las soluciones de dosis se informaron en mg/ml.

#### Análisis por LC-MS:

LC: Se inyectaron 10  $\mu\text{l}$  de cada muestra y estándar en una columna Waters Acquity CSH de 1,7  $\mu\text{m}$  2,1 x 100 mm a 0,6 ml/min mediante una UPLC Acquity. La columna C18 se equilibró a acetonitrilo al 10%. Los compuestos se eluyeron con un gradiente de acetonitrilo al 99%. Todas las fases móviles contenían ácido fórmico al 0,1% (v/v).

Elución cromatográfica:

t (min)	% de B
0	5
0,75	5
1	20
4,5	99,9
5	99,9
5,4	5
6	5

MS: Se analizó el eluyente de la columna mediante ionización por electronebulización en un sistema de espectrometría de masas de cuádruple en tándem (Waters Xevo TQ). La composición del eluyente se analizó para tres pares de iones específicos para el patrón interno y tres pares de iones específicos para el analito.

#### Análisis farmacocinéticos

Las muestras experimentales se compararon con muestras de curva estándar para determinar las concentraciones de compuestos. Las concentraciones promedio de compuestos (en  $\mu\text{g/ml}$  +/- desviación estándar) se indicaron para cada punto de tiempo. El límite de detección (LLOQ) se indicó como la muestra de curva estándar más baja que demuestra una desviación de menos del 20% de la concentración nominal. El análisis PK se realizó mediante el complemento de Excel PKfit; la  $C_{\text{máx}}$  se determinó como la concentración promedio máxima observada en un punto de tiempo dado; el área bajo la curva (AUC) se informó hasta  $t_{\text{últimas}}$  horas. Las semividas en plasma se informaron cuando un mínimo de 3 puntos de tiempo terminales demostraron la eliminación de primer orden con un  $r^2 > 0,8$ .

Como se muestra en la Tabla 9, se demostró que las sales cristalinas del compuesto (I) son menos solubles en agua desionizada en comparación con las sales amorfas de fosfato y HCl. En muchos casos informados, el aumento de la solubilidad de las sales amorfas da como resultado un aumento en las concentraciones plasmáticas en relación con una forma cristalina más estable (Hancock and Parks (2000) Pharm. Res. 17: 397-404; Pudipeddi y Serajuddin (2005) J. Pharm. Sci. 94: 929-39). Sin embargo, cuando se compararon los perfiles de concentración plasmática-tiempo y los parámetros farmacocinéticos de las sales amorfas y cristalinas después de la dosificación oral como polvo en cápsula (PIC) a ratas Sprague-Dawley hembra, la diferencia en los parámetros farmacocinéticos fue mínima (Tabla 10).

10

Tabla 9: Resumen de caracterización de sales del compuesto (I)

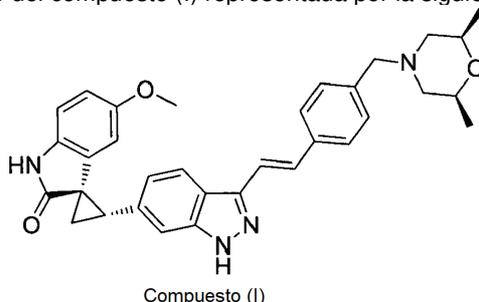
Contra- ción	XRPD	Relación compuesto (I):ácido	DSC (°C)	Pérdida de TGA (% en peso)	Absorción gravimétrica de la humedad	Solubilidad en agua DI (µg/ml)
Fumarato	A	1,0:0,9	112, 158	7,2(45-160°C)		
Fumarato	B	1,0:1,0	58, 162	2,6(40-120 °C)	3,7% en peso al 60% de HR	
					10,5% en peso al 90% de HR	
Fumarato	C	1,0:1,1	62, 156	2,6(30-100 °C)		625
Fumarato	D	1,0:1,0	219	0,9(30-100°C)	2,1% en peso al 60% de HR	170
					4,0% en peso al 90% de HR	
Maleato	A	1,0:0,95	219	No se observa pérdida hasta que se funde	1,3% en peso, 60% de HR	
					2,2% en peso, 90% de HR	
Fosfato	Amorfo	1,0:1,1	83, 179	1,9	6,1% en peso al 60% de HR	≥1 x 10 <sup>5</sup>
					10,9% en peso al 90% de HR	
HCl	Amorfo			2,3(30-150 °C)		≥1 x 10 <sup>5</sup>

Tabla 10: Parámetros farmacocinéticos después de la administración PO de sales del compuesto (I), polvo en cápsula, a ratas Sprague-Dawley

Forma de sal	HCl	Fumarato (forma D)	Maleato (forma A)
Dosis oral (mg/kg)	5,0	5,0	5,0
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	250	270	200
AUC <sub>0-túltimo</sub> (ng.h/ml)	2400	2780	1500

## REIVINDICACIONES

1. Una sal de fumarato del compuesto (I) representada por la siguiente fórmula estructural:



- 5 en la que la relación molar entre el compuesto (I) y ácido fumárico es 1:1.
2. La sal de fumarato de la reivindicación 1, en la que al menos el 80% en peso de la sal está en una única forma cristalina.
- 10 3. La sal de fumarato de la reivindicación 1 o 2, en la que al menos el 99% en peso de la sal está en una única forma cristalina.
4. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina A, **caracterizada por** un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:
- 15 a) 9,7°, 16,7°, y 20,1° ± 0,2 en 2θ; o  
 b) 8,2°, 9,7°, 16,7°, y 20,1° ± 0,2 en 2θ; o  
 c) 8,2°, 9,7°, 10,7°, 11,5°, 14,9°, 16,7°, 20,1°, y 23,5° ± 0,2 en 2θ; o  
 20 d) 8,2°, 9,7°, 10,7°, 11,5°, 13,6°, 14,9°, 16,7°, 18,1°, 18,8°, 20,1°, 23,5°, y 24,5° ± 0,2 en 2θ.
5. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina B, **caracterizada por** un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:
- 25 a) 11,9° y 14,9° ± 0,2 en 2θ; o  
 b) 11,9°, 14,9°, 18,7°, y 21,5° ± 0,2 en 2θ; o  
 c) 5,5°, 5,9°, 11,9°, 14,9°, 16,7°, 17,4°, 18,7°, 21,5°, y 23,4° ± 0,2 en 2θ.
- 30 6. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que al menos el 80% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina C, **caracterizada por** un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:
- 35 a) 16,8°, 16,9°, y 19,9° ± 0,2 en 2θ; o  
 b) 9,8°, 16,8°, 16,9°, 19,9°, y 23,5° ± 0,2 en 2θ; o  
 c) 9,7°, 9,8°, 11,7°, 15,1°, 16,8°, 16,9°, 19,9°, 23,5°, y 23,7° ± 0,2 en 2θ.
7. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina D, **caracterizada por** un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:
- 40 a) 9,6°, 12,8°, 16,0°, y 22,0° ± 0,2 en 2θ; o  
 b) 9,6°, 12,8°, 16,0°, 16,9°, 21,2°, y 22,0° ± 0,2 en 2θ; o  
 c) 9,6°, 12,8°, 16,0°, 16,9°, 20,8°, 21,2°, 21,5°, y 22,0° ± 0,2 en 2θ.  
 45 d) 9,6°, 11,7°, 12,0°, 12,8°, 16,0°, 16,6°, 16,9°, 18,1°, 19,2°, 19,8°, 20,7°, 20,8°, 21,2°, 21,5°, 22,0°, 22,5°, 24,0°, 26,0°, y 29,8° ± 0,2 en 2θ.
8. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina A, **caracterizada por** temperaturas de transición de fase pico de calorímetro de barrido diferencial (DSC) de 112°C y 158°C.

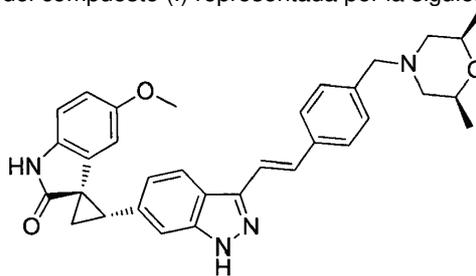
9. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina B, **caracterizada por** temperaturas de transición de fase pico de calorímetro de barrido diferencial (DSC) de 58°C y 162°C.

5

10. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 6, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina C, **caracterizada por** temperaturas de transición de fase pico de calorímetro de barrido diferencial (DSC) de 62°C y 156°C.

10 11. La sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 7, en la que al menos el 90% en peso de la sal de fumarato es una única forma cristalina D, **caracterizada por** una temperatura de transición de fase pico de calorímetro de barrido diferencial (DSC) de 219°C.

12. Una sal de maleato del compuesto (I) representada por la siguiente fórmula estructural:



Compuesto (I)

15

en la que la relación molar entre el compuesto (I) y ácido maleico es 1:1.

13. La sal de maleato de la reivindicación 12, en la que al menos el 90% en peso de la sal está en una única forma cristalina.

20

14. La sal de maleato de la reivindicación 12 o 13, en la que al menos el 99% en peso de la sal está en una única forma cristalina.

15. La sal de maleato de una cualquiera de las reivindicaciones 12-14, en la que al menos el 90% en peso de la sal de maleato es una única forma cristalina A, **caracterizada por** un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos en:

25

a) 11,5°, 12,6°, 14,9°, y 15,1° ± 0,2 en 2θ; o

b) 10,8°, 11,5°, 12,4°, 12,6°, 14,9°, 15,1°, y 17,1° ± 0,2 en 2θ; o

30

c) 5,8°, 10,8°, 11,5°, 12,4°, 12,6°, 14,9°, 15,1°, 17,1°, 18,6°, 23,5°, y 26,1° ± 0,2 en 2θ; o

d) 5,5°, 5,8°, 10,8°, 11,5°, 12,4°, 12,6°, 14,1°, 14,9°, 15,1°, 16,7°, 17,1°, 17,8°, 18,6°, 19,5°, 19,9°, 21,9°, 22,2°, 23,0°, 23,3°, 23,5°, 23,9°, y 26,1° ± 0,2 en 2θ.

16. La sal de maleato de una cualquiera de las reivindicaciones 12-15, en la que al menos el 90% en peso de la sal de maleato es una única forma cristalina A, **caracterizada por** una temperatura de transición de fase pico de calorímetro de barrido diferencial (DSC) de 219°C.

35

17. Una composición farmacéutica que comprende la sal de fumarato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, o la sal de maleato de una cualquiera de las reivindicaciones 12-16, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en la que al menos el 80% en peso de la sal es cristalina.

40

18. Una sal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16 o una composición farmacéutica de la misma, para su uso en el tratamiento del cáncer, preferiblemente, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon, neuroblastoma, cáncer de próstata, melanoma, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, linfoma, leucemia, osteosarcoma, germinoma, glioma, fibrosarcoma, sarcoma gastrointestinal, histiocitoma fibroso, sarcoma de células redondas, sarcoma sinovial, cáncer del cuello uterino, cáncer anogenital, cáncer de cabeza y cuello, y cáncer de bucofaringeo.

45

19. La sal para su uso de la reivindicación 18, en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en

50

cáncer de pulmón, cáncer de mama y cáncer de colon, preferiblemente, el cáncer es cáncer de mama.

Figura 1. Termograma DSC de la forma A de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

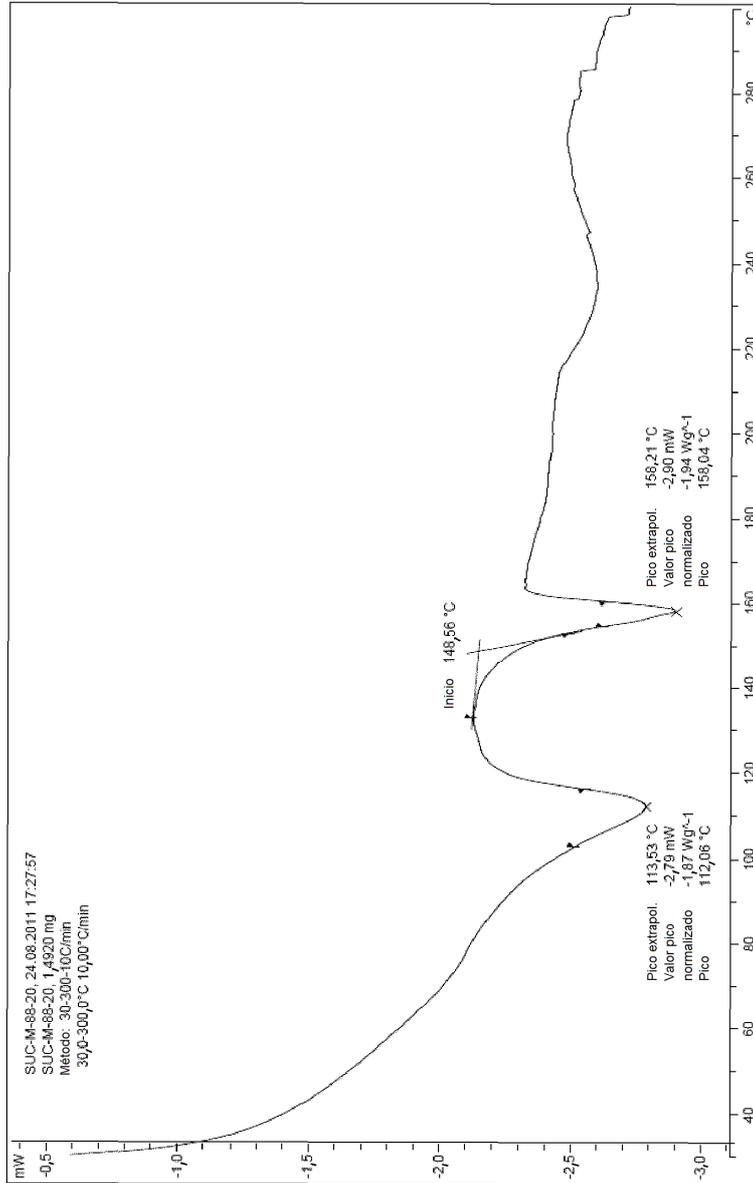


Figura 2. Termograma DSC de la forma B de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

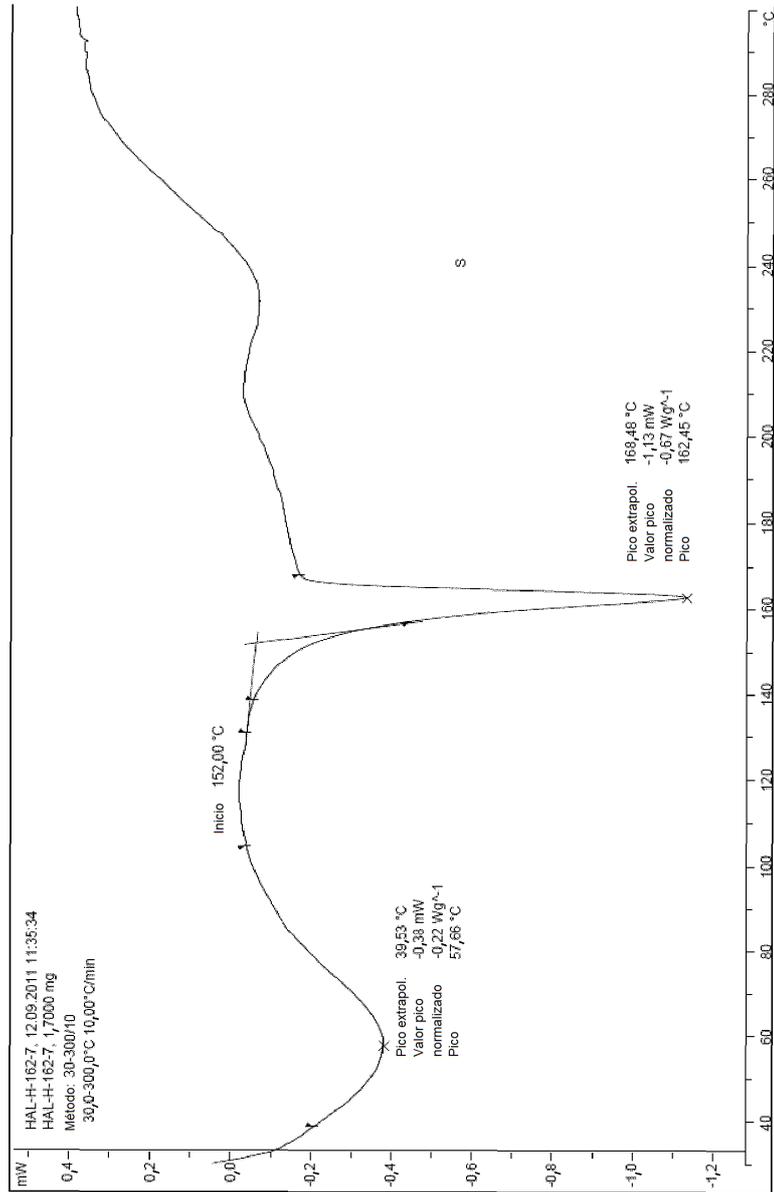


Figura 3. Termograma DSC de la forma C de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

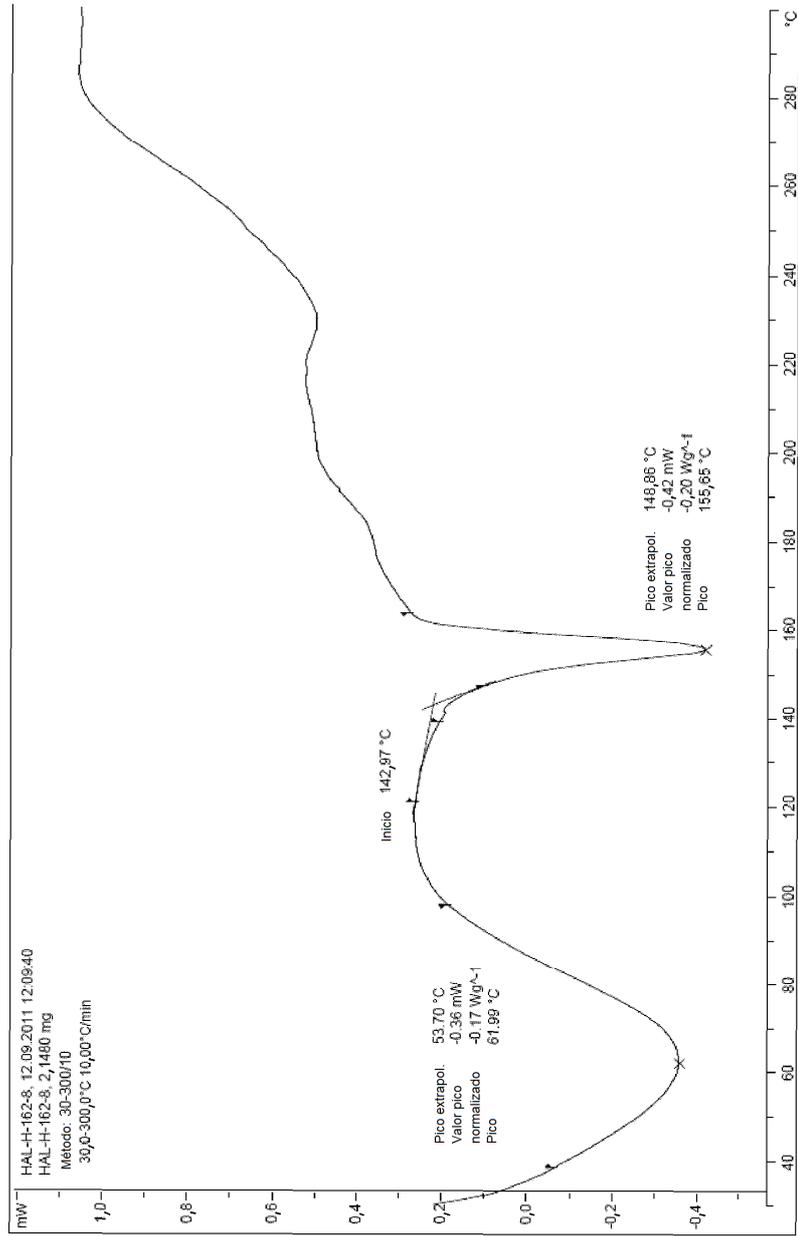


Figura 4. Termograma DSC de la forma D de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

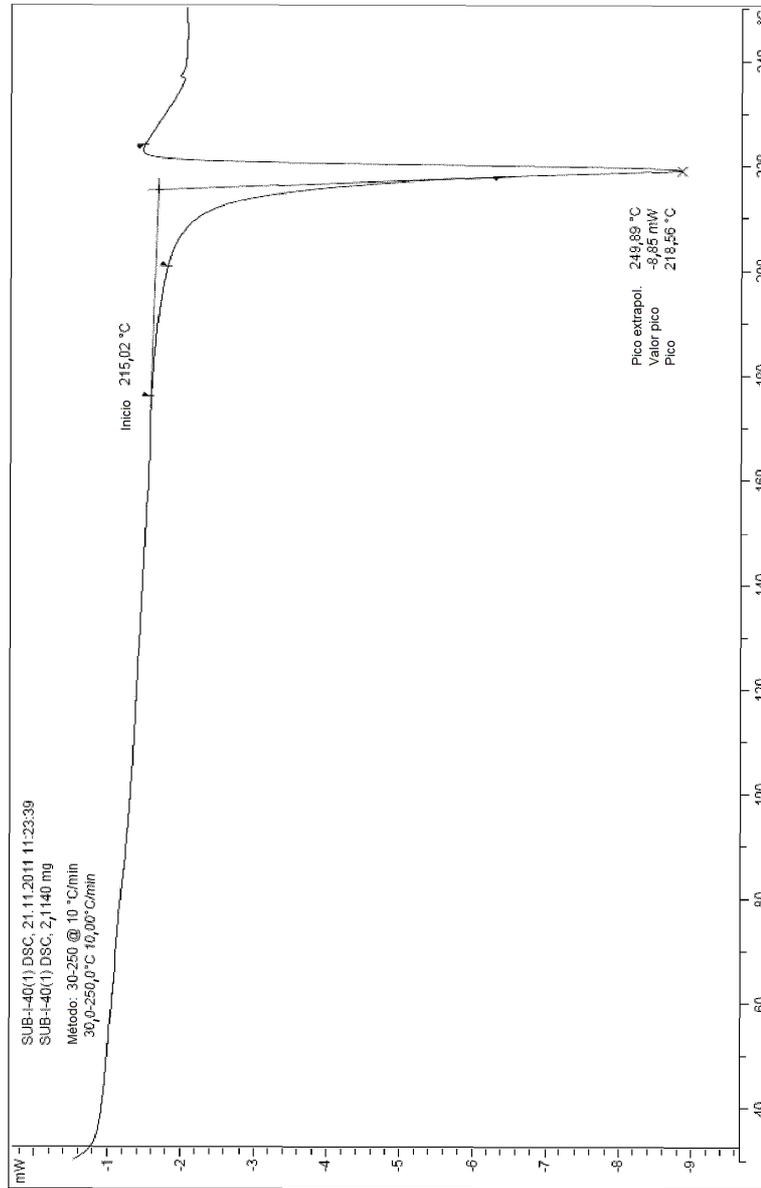


Figura 5. Termograma DSC de la forma A de maleato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

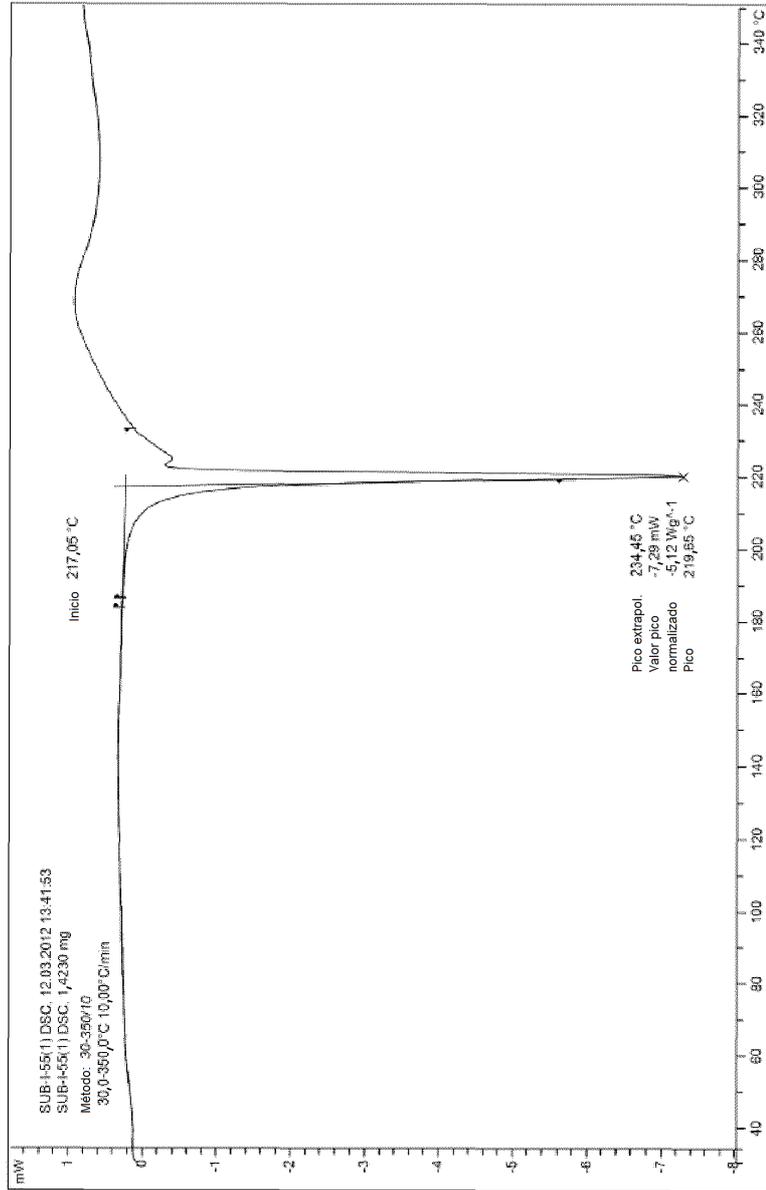


Figura 6. Termograma DSC de fosfato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

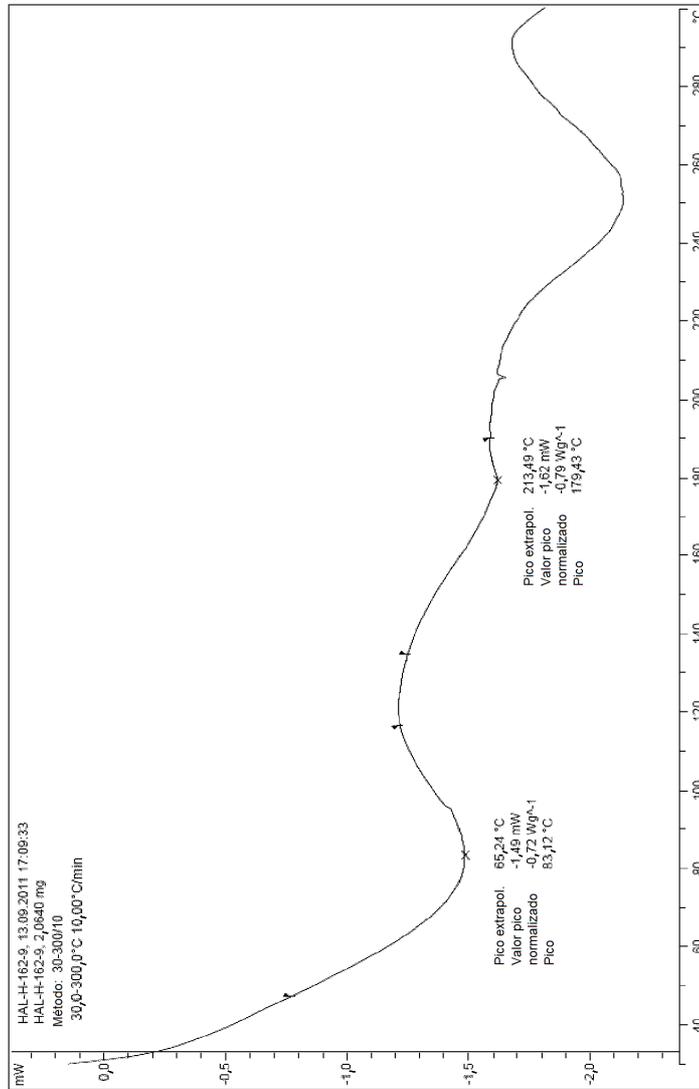


Figura 7. XRPD de la forma A de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

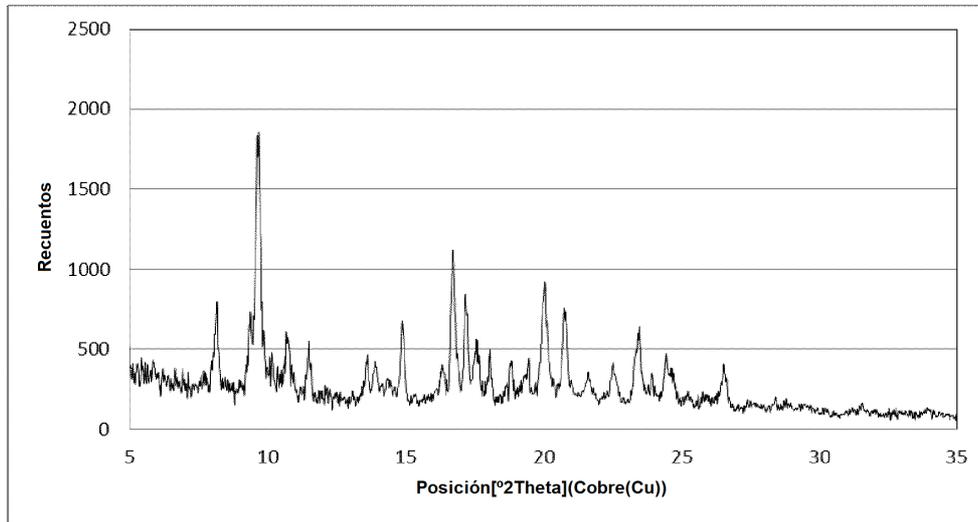


Figura 8. XRPD de la forma B de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

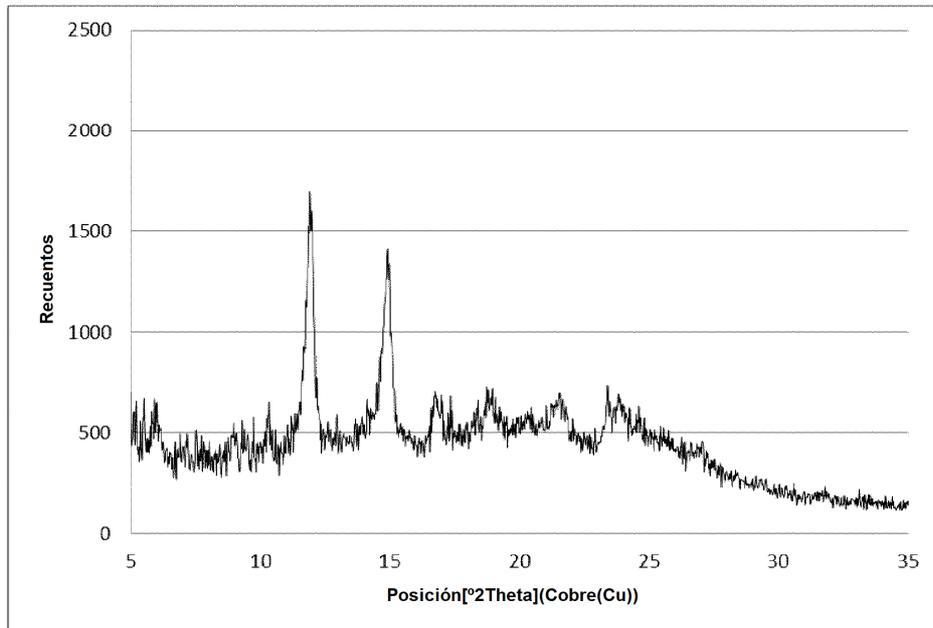


Figura 9. XRPD de la forma C de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

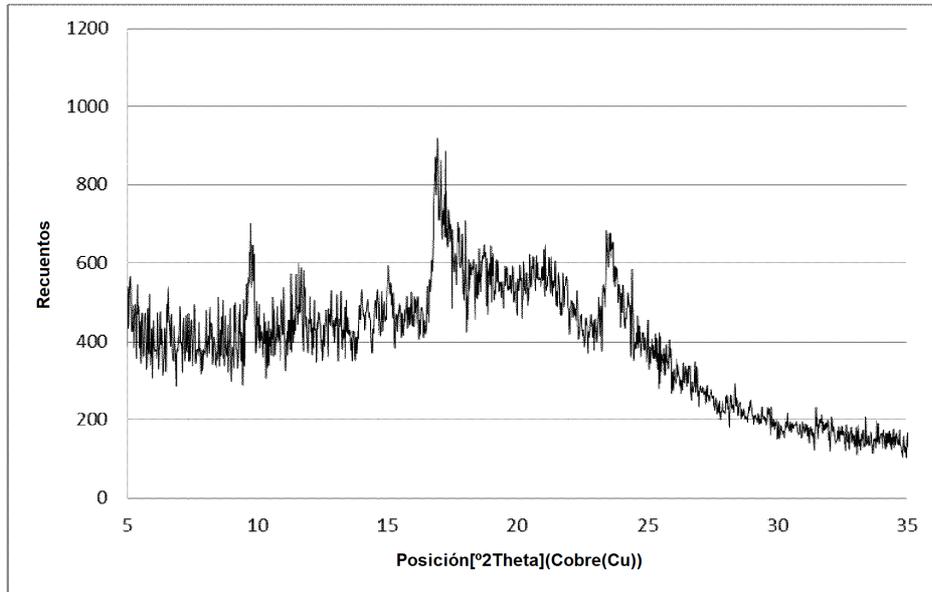


Figura 10. XRPD de la forma D de fumarato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

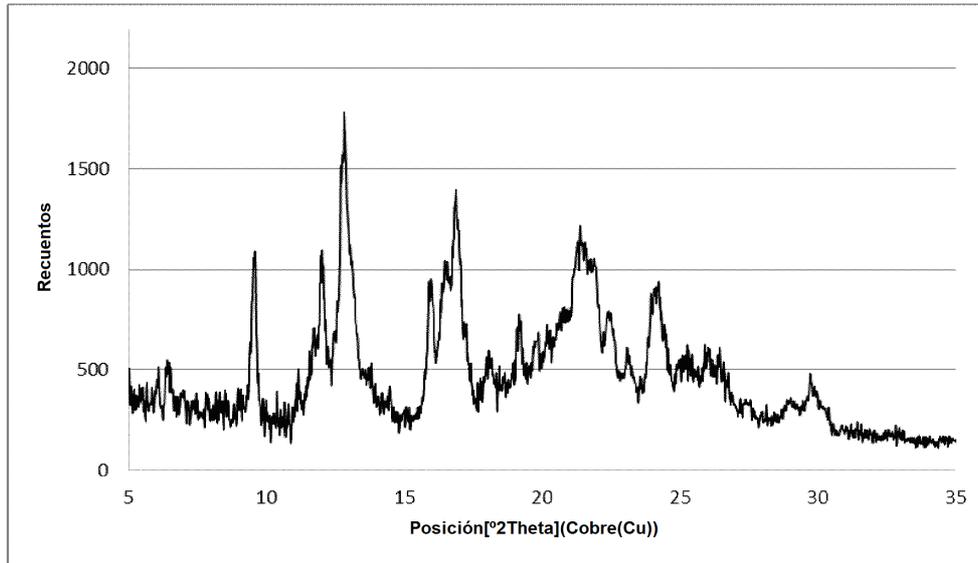


Figura 11. XRPD de la forma A de maleato de (1R,2S)-(E)-2-(3-(4-((cis-2,6-dimetilmorfolino)metil)estiril)-1H-indazol-6-il)-5'-metoxiespiro[ciclopropano-1,3'-indolin]-2'-ona

