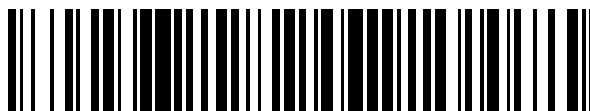


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 744 198**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2014 PCT/US2014/034301**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.10.2014 WO14172423**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2014 E 14726267 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019 EP 2986609**

54 Título: **Formulaciones farmacéuticas, procesos, formas sólidas y procedimientos de uso relacionados con 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3, 4 dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona**

30 Prioridad:

17.04.2013 US 201361813064 P
03.12.2013 US 201361911201 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.02.2020

73 Titular/es:

SIGNAL PHARMACEUTICALS, LLC (100.0%)
10300 Campus Point Drive, Suite 100
San Diego, CA 92121, US

72 Inventor/es:

MENON, ANIL;
PARIKH, DARSHAN, K.;
ISKY, DORA;
KREILEIN, MATTHEW, MICHAEL;
BOERSEN, NATHAN;
LEE, THOMAS;
LI, YING;
XU, JEAN;
LIANG, XIAOZHANG;
LEONG, WILLIAM, WEI-HWA y
COHEN, BENJAMIN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 744 198 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

Formulaciones farmacéuticas, procesos, formas sólidas y procedimientos de uso relacionados con 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona

1. Campo

- 5 En el presente documento se proporcionan procedimientos para preparar una forma sólida de 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.

2. Antecedentes

- La conexión entre la fosforilación anormal de proteínas y la causa o consecuencia de enfermedades se conoce desde hace más de 20 años. Por consiguiente, las proteínas quinasas se han convertido en un grupo muy importante de dianas de fármacos. Véase el documento de Cohen, Nat. Rev. Drug Discov. 1(4): 309-15, (2002). Se han utilizado diversos inhibidores de proteína quinasa a nivel clínico en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, tales como el cáncer y enfermedades inflamatorias crónicas, incluyendo la diabetes y el accidente cerebrovascular. Véase el documento de Cohen, Eur. J. Biochem. 268:5001-5010, (2001).

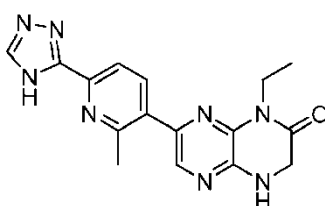
- La elucidación de la complejidad de las vías de proteína quinasa y la complejidad de la relación e interacción entre las diversas proteínas quinasas y las vías de la quinasa resalta la importancia de desarrollar agentes farmacéuticos que puedan actuar como moduladores, reguladores o inhibidores de la proteína quinasa que tengan actividad beneficiosa sobre múltiples quinasas o múltiples vías de la quinasa. Por consiguiente, sigue habiendo una necesidad de nuevos moduladores de quinasa.

- La proteína denominada mTOR (diana de la rapamicina en mamíferos), que también se denomina FRAP, RAFT1 o RAPT1), es una proteína quinasa Ser/Thr de 2549 aminoácidos, que se ha demostrado que es una de las proteínas más críticas en la vía de mTOR/PI3K/Akt que regula el crecimiento y la proliferación celular. Georgakis and Younes Expert Rev. Anticancer Ther. 6(1):131-140 (2006). La mTOR existe dentro de dos complejos, mTORC1 y mTORC2. mTORC1 es sensible a los análogos de la rapamicina (como temsirolimus o everolimus) y mTORC2 es en gran medida insensible a la rapamicina. Varios inhibidores de mTOR han sido o están siendo evaluados en ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer. Temsirolimus se aprobó para su uso en el carcinoma de células renales en 2007 y everolimus se aprobó en 2009 para pacientes con carcinoma de células renales que han progresado con inhibidores del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular. Además, sirolimus se aprobó en 1999 para la profilaxis del rechazo del trasplante renal. El interesante pero limitado éxito clínico de estos compuestos de mTORC1 demuestra la utilidad de los inhibidores de mTOR en el tratamiento del cáncer y el rechazo de trasplantes, y el mayor potencial para compuestos con actividad inhibitoria tanto de mTORC 1 como de mTORC2.

La mención o identificación de cualquier referencia en la Sección 2 de esta solicitud no debe interpretarse como una admisión de que la referencia sea la técnica anterior a la presente solicitud.

3. Resumen

- En el presente documento se proporcionan procedimientos, como se definen en las reivindicaciones, para preparar una forma sólida del Compuesto 1:



1

- que tienen el nombre de 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona o un tautómero del mismo, por ejemplo, 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona o 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-5-yl)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, o isotopólogos y estereoisómeros de los mismos. En el presente documento también se describen procedimientos para preparar sales y metabolitos farmacéuticamente aceptables del Compuesto 1.

- El documento WO 2011/053518 se refiere a procedimientos para preparar ciertos compuestos de heteroarilo que contienen fracción de dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona útiles para tratar o prevenir el cáncer, afecciones inflamatorias, afecciones inmunológicas, enfermedades neurodegenerativas, diabetes, obesidad, trastornos neurológicos, enfermedades relacionadas con la edad, o afecciones cardiovasculares.

El documento WO 2010/062571 se refiere a compuestos de heteroarilo que contienen fracción de dihidropirazino[2,3-

b]pirazin-2(1H)-ona, composiciones del mismo y sus usos para tratar o prevenir el cáncer, afecciones inflamatorias, afecciones inmunológicas, afecciones metabólicas y afecciones tratables o prevenibles por inhibición de una vía de la quinasa.

En el presente documento también se describen formas sólidas del Compuesto 1 o una sal farmacéutica del mismo.

- 5 En el presente documento también se describen formulaciones del Compuesto 1 y sales, tautómeros, isotopólogos, metabolitos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo.

Como también se describe en el presente documento, el Compuesto 1 y sales, tautómeros, isotopólogos, metabolitos, formas sólidas y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo son útiles para tratar o prevenir el cáncer y afecciones tratables o prevenibles mediante la inhibición de una vía de la quinasa, por ejemplo, la vía de
10 mTOR/PI3K/Akt.

Las presentes realizaciones pueden comprenderse de manera más completa por referencia a la descripción detallada y los ejemplos, que pretenden ejemplificar realizaciones no limitativas.

4. Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 representa un gráfico de líneas apiladas del difractograma de rayos X en polvo de las Formas del Compuesto 1.

- 15 La fig. 2 representa un difractograma de rayos X en polvo de la Forma A del Compuesto 1.

La fig. 3 representa un termograma temogravimétrico de la Forma A del Compuesto 1.

La fig. 4 ilustra un gráfico de termograma calorimétrico de barrido diferencial de la Forma A del Compuesto 1.

La fig. 5 representa un gráfico de sorción de vapor dinámica de la Forma A del Compuesto 1.

- 20 La fig. 6 representa un difractograma de rayos X en polvo de la Forma A del Compuesto 1 después de la compresión a 2000 psi durante 1 minuto.

La fig. 7 representa un difractograma de rayos X en polvo de la Forma B del Compuesto 1.

La fig. 8 representa un termograma temogravimétrico de la Forma B del Compuesto 1.

La fig. 9 representa un termograma calorimétrico de barrido diferencial de la Forma B del Compuesto 1.

La fig. 10 representa el espectro de ¹H NMR de la Forma B del Compuesto 1.

- 25 La fig. 11 representa un gráfico de sorción de vapor dinámica de la Forma B del Compuesto 1.

La fig. 12 representa un difractograma de rayos X en polvo de la Forma C del Compuesto 1.

La fig. 13 representa un termograma temogravimétrico de la Forma C del Compuesto 1.

La fig. 14 representa un termograma calorimétrico de barrido diferencial de la Forma C del Compuesto 1.

La fig. 15 representa el espectro de ¹H NMR de la Forma C del compuesto 1.

- 30 La fig. 16 representa un gráfico de sorción de vapor dinámica de la Forma C del Compuesto 1.

La fig. 17 ilustra un difractograma de rayos X en polvo de la Forma D del Compuesto 1.

La fig. 18 representa un termograma temogravimétrico de la Forma D del Compuesto 1.

La fig. 19 representa un termograma calorimétrico de barrido diferencial de la Forma D del Compuesto 1.

La fig. 20 representa el espectro de ¹H NMR de la Forma D del compuesto 1.

- 35 La fig. 21 representa un difractograma de rayos X en polvo de la Forma E del Compuesto 1.

La fig. 22 representa un termograma temogravimétrico de la Forma E del Compuesto 1.

La fig. 23 representa un termograma calorimétrico de barrido diferencial de la Forma E del Compuesto 1.

La fig. 24 representa el espectro de ¹H NMR de la Forma E del compuesto 1.

La fig. 25 representa un gráfico de sorción de vapor dinámica de la Forma E del Compuesto 1.

- 40 La fig. 26 representa los tautómeros del Compuesto 1.

La fig. 27 representa espectros de ^1H NMR del tautómero principal del Compuesto 1.

La fig. 28 representa espectros de ^1H NMR del tautómero menor del Compuesto 1.

La fig. 29 representa espectros de ^{13}C NMR del tautómero principal del Compuesto 1.

La fig. 30 representa espectros de ^{13}C NMR del tautómero menor del Compuesto 1.

5 La fig. 31 representa los promedios de disolución para formulaciones de baja resistencia.

La fig. 32 representa los promedios de disolución para formulaciones de alta resistencia.

La fig. 33 representa el diseño general del estudio de biodisponibilidad. *La secuencia de tratamiento cruzado se aleatoriza en bloques de 4 sujetos. Cada sujeto recibe los 3 tratamientos.

5. Descripción detallada

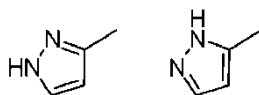
10 5.1 Definiciones

Como se utiliza en el presente documento, el término "sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)" se refiere a una sal preparada a partir de un ácido o base no tóxico farmacéuticamente aceptable que incluye un ácido y una base inorgánicos y un ácido y una base orgánicos. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, pero no se limitan a sales metálicas elaboradas de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc o sales orgánicas elaboradas de lisina, N,N'-dibenciltilendiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ácidos orgánicos e inorgánicos como ácido acético, algínico, antranílico, bencensulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etensulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glicólico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metansulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, tartárico y p-toluensulfónico. Los ácidos no tóxicos específicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y metansulfónico. Los ejemplos de sales específicas incluyen, por lo tanto, sales de clorhidrato y mesilato. En la técnica se conocen otras, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a eds., Mack Publishing, Easton PA (1990) o Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19^a eds., Mack Publishing, Easton PA (1995).

25 Como se utiliza en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, el término "estereoisómero" o "estereoméricamente puro" significa un estereoisómero de un compuesto que se encuentra sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, un compuesto estereoméricamente puro con un centro quiral se encontrará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro con dos centros quirales se encontrará sustancialmente libre de los otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro típico comprende más de aproximadamente el 80 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 20 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 90 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 10 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 95 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 5 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto o más de aproximadamente el 97 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 3 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto. Los compuestos pueden tener centros quirales y pueden producirse como racematos, enantiómeros individuales o diastereómeros y mezclas de los mismos. Todas tales formas isoméricas están incluidas en las realizaciones descritas en el presente documento, incluidas las mezclas de las mismas. El uso de formas estereoméricamente puras de dichos compuestos, así como el uso de mezclas de esas formas, se encuentra comprendido en las realizaciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, pueden utilizarse mezclas que comprendan cantidades iguales o dispares de los enantiómeros de un compuesto particular en los procedimientos y las composiciones descritos en el presente documento. Estos isómeros pueden resolverse o sintetizarse de manera asimétrica mediante el uso de técnicas estándar tales como columnas quirales o agentes de resolución quirales. Véase, *por ejemplo*, Jacques, J., y col., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley-Interscience, Nueva York, 1981); Wilen, S. H., y col., Tetrahedron 33: 2725 (1977); Eliel, E. L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions pág. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972).

10 [0016] También cabe señalar que los compuestos pueden incluir isómeros E y Z o una mezcla de los mismos, e isómeros cis y trans o una mezcla de los mismos. En ciertos ejemplos, los compuestos se aíslan como el isómero cis o trans. En otros ejemplos, los compuestos son una mezcla de isómeros cis y trans.

"Tautómeros" se refiere a las formas isoméricas de un compuesto que están en equilibrio entre sí. Las concentraciones de las formas isoméricas dependerán del entorno en el que se encuentre el compuesto y pueden diferir dependiendo, por ejemplo, de si el compuesto es un sólido o se encuentra en una solución orgánica o acuosa. Por ejemplo, en solución acuosa, los pirazoles pueden presentar las siguientes formas isoméricas, que se indican como tautómeros entre sí:



Como comprenderá fácilmente el experto en la materia, una amplia variedad de grupos funcionales y otras estructuras pueden presentar tautomerismo y todos los tautómeros del Compuesto 1 se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

- 5 También cabe señalar que el Compuesto 1 puede contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos. Por ejemplo, el Compuesto 1 puede estar marcado radiactivamente con isótopos radiactivos, como por ejemplo tritio (^3H), o carbono-14 (^{14}C), o puede estar enriquecido isotópicamente, como con deuterio (^2H), carbono-13 (^{13}C), o nitrógeno-15 (^{15}N). Como se utiliza en el presente documento, un "isotópologo" es un compuesto enriquecido isotópicamente. La expresión "enriquecido isotópicamente" se refiere a un átomo que tiene una composición isotópica distinta de la composición isotópica natural de ese átomo. "Enriquecido isotópicamente" también puede referirse a un compuesto con al menos un átomo que tiene una composición isotópica distinta de la composición isotópica natural de ese átomo. El término "composición isotópica" se refiere a la cantidad de cada isótopo presente para un átomo dado. Los compuestos radiomarcados y enriquecidos isotópicamente son útiles como agentes terapéuticos, por ejemplo, agentes terapéuticos contra el cáncer y la inflamación, reactivos de investigación, por ejemplo, reactivos de análisis de unión y agentes de diagnóstico, por ejemplo, agentes de formación de imágenes in vivo. Se pretende que todas las variaciones isotópicas del Compuesto 1, ya sean radioactivas o no, se encuentren comprendidas dentro del alcance de las realizaciones proporcionadas en el presente documento. En algunas realizaciones, los isotópologos del Compuesto 1, por ejemplo, son el Compuesto 1 enriquecido con deuterio, carbono-13 o nitrógeno-15.
- 20 El término "forma sólida" se refiere a una forma física que no está predominantemente en un estado líquido o gaseoso. Como se utiliza en el presente documento y, a menos que se especifique lo contrario, el término "forma sólida", cuando se utiliza en el presente documento para referirse al Compuesto 1, se refiere a una forma física que comprende el Compuesto 1 que no está predominantemente en un estado líquido o gaseoso. Una forma sólida puede ser una forma cristalina, una forma amorfa o una mezcla de las mismas. En ciertos ejemplos, una forma sólida puede ser un cristal
- 25 líquido. En ciertos ejemplos, el término "formas sólidas que comprenden el Compuesto 1" incluye formas de cristal que comprenden el Compuesto 1, formas amorfas que comprenden el Compuesto 1, y mezclas de las mismas. En la presente invención, la forma sólida del Compuesto 1 es la Forma A, la Forma B, la Forma C, la Forma D o la Forma E.

Como se utiliza en el presente documento y a menos que se especifique lo contrario, el término "cristalino" cuando se utiliza para describir un compuesto, sustancia, modificación, material, componente o producto, a menos que se especifique lo contrario, significa que el compuesto, sustancia, modificación, material, componente o producto es sustancialmente cristalino según lo determinado mediante difracción de rayos X. Véase, *por ejemplo*., el documento de Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición, Lippincott, Williams and Wilkins, Baltimore, MD (2005); The United States Pharmacopeia, 23ª ed., 1843-1844 (1995).

- 35 El término "forma de cristal" o "forma cristalina" se refiere a una forma sólida que es cristalina. En ciertas realizaciones, las formas cristalinas incluyen sales. En ciertas realizaciones, una forma cristalina de una sustancia puede encontrarse sustancialmente libre de formas amorfas y/u otras formas cristalinas. En ciertas realizaciones, una forma de cristal de una sustancia puede contener menos de aproximadamente el 1 %, menos de aproximadamente el 2 %, menos de aproximadamente el 3 %, menos de aproximadamente el 4 %, menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 6 %, menos de aproximadamente el 7 %, menos de aproximadamente el 8 %, menos de aproximadamente el 9 %, menos de aproximadamente el 10 %, menos de aproximadamente el 15 %, menos de aproximadamente el 20 %, menos de aproximadamente el 25 %, menos de aproximadamente el 30 %, menos de aproximadamente el 35 %, menos de aproximadamente el 40 %, menos de aproximadamente el 45 %, o menos de aproximadamente el 50 % en peso de una o más formas amorfas y/u otras formas cristalinas. En ciertas realizaciones,
- 40 una forma cristalina de una sustancia puede ser física y/o químicamente pura. En ciertas realizaciones, una forma cristalina de una sustancia puede ser aproximadamente el 99 %, aproximadamente el 98 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 91 %, o aproximadamente 90 % física y/o químicamente pura.

El término "amorfo" o "forma amorfa" significa que la sustancia, el componente o el producto en cuestión no es sustancialmente cristalino según lo determinado mediante difracción de rayos X. En particular, el término "forma amorfa" describe una forma sólida desordenada, es decir, una forma sólida que carece de orden cristalino de largo alcance. En ciertos ejemplos, una forma amorfa de una sustancia puede encontrarse sustancialmente libre de otras formas amorfas y/o formas cristalinas. En ciertos ejemplos, una forma amorfa de una sustancia puede contener menos de aproximadamente el 1 %, menos de aproximadamente el 2 %, menos de aproximadamente el 3 %, menos de aproximadamente el 4 %, menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 10 %, menos de aproximadamente el 15 %, menos de aproximadamente el 20 %, menos de aproximadamente el 25 %, menos de aproximadamente el 30 %, menos de aproximadamente el 35 %, menos de aproximadamente el 40 %, menos de aproximadamente el 45 %, o menos de aproximadamente el 50 % en peso de una o más formas amorfas y/u formas

cristalinas tomando como base el peso. En ciertos ejemplos, una forma amorfa de una sustancia puede ser física y/o químicamente pura. En ciertos ejemplos, una forma amorfa de una sustancia puede ser aproximadamente el 99 %, aproximadamente el 98 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 91 %, o 5 aproximadamente 90 % física y/o químicamente pura.

"Tratar", como se utiliza en el presente documento, significa un alivio, en todo o en parte, de la enfermedad o el trastorno, o los síntomas asociados con la enfermedad o el trastorno, o la ralentización, o la detención de la progresión adicional o empeoramiento de la enfermedad o el trastorno, o los síntomas asociados a la enfermedad o el trastorno.

"Prevenir", como se utiliza en el presente documento, significa la prevención de la aparición, recurrencia o propagación de la enfermedad o el trastorno, o los síntomas asociados con el trastorno o la enfermedad, en un paciente con riesgo de desarrollar la enfermedad o el trastorno.

El término "cantidad efectiva" en relación con el Compuesto 1 significa, en una realización, una cantidad capaz de aliviar, en su totalidad o en parte, los síntomas asociados con un trastorno o una enfermedad, o ralentizar o detener la progresión adicional o el empeoramiento de esos síntomas, o, en otra realización, una cantidad capaz de prevenir o proporcionar profilaxis para la enfermedad o el trastorno en un sujeto con riesgo de desarrollar la enfermedad o el trastorno como se describe en el presente documento, tal como cáncer. En una realización, una cantidad eficaz del Compuesto 1 es una cantidad que inhibe una quinasa en una célula, tal como, por ejemplo, in vitro o in vivo. En una realización, la quinasa es mTOR, DNA-PK, PI3K o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la cantidad efectiva del Compuesto 1 inhibe la quinasa en una célula en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 99 %, en comparación con la actividad de la quinasa en una célula no tratada. La cantidad efectiva del Compuesto 1, por ejemplo en una composición farmacéutica, puede estar a un nivel que ejercerá el efecto deseado; por ejemplo, aproximadamente 0,005 mg/kg del peso corporal de un sujeto a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal de un paciente en dosis unitarias tanto para administración oral como parenteral. Como resultará evidente para los expertos en la materia, es de esperar que la cantidad efectiva del Compuesto 1 descrita en el presente documento pueda variar dependiendo de la indicación que se esté tratando, por ejemplo, la cantidad efectiva del Compuesto 1 probablemente sería diferente para tratar a los pacientes que sufren de, o con riesgo de, afecciones inflamatorias en relación con la cantidad efectiva del Compuesto 1 para tratar a pacientes que sufren, o con riesgo de un trastorno diferente, por ejemplo, cáncer o un trastorno metabólico.

El término "paciente" incluye un animal, incluyendo, pero no limitado a un animal tal como una vaca, un mono, un caballo, una oveja, un cerdo, un pollo, un pavo, una codorniz, un gato, un perro, un ratón, una rata, un conejo o una cobaya, en una realización un mamífero, en otro ejemplo un humano.

El término "cáncer" se refiere a cualquiera de las diversas neoplasias malignas caracterizadas por la proliferación de células que pueden invadir el tejido circundante y metastatizar a nuevos sitios del cuerpo. Tanto los tumores benignos como los malignos se clasifican según el tipo de tejido en el que se encuentran. Por ejemplo, los fibromas son neoplasias de tejido conectivo fibroso, y los melanomas son crecimientos anormales de células pigmentarias (melanina). Los tumores malignos que se originan en el tejido epitelial, por ejemplo, en la piel, los bronquios y el estómago, se denominan carcinomas. Las neoplasias malignas del tejido glandular epitelial, como las que se encuentran en la mama, la próstata y el colon, se conocen como adenocarcinomas. Los crecimientos malignos de tejido conectivo, por ejemplo, músculo, cartílago, tejido linfático y hueso, se denominan sarcomas. Los linfomas y las leucemias son neoplasias malignas que surgen entre los glóbulos blancos. A través del proceso de metástasis, la migración de células tumorales a otras áreas del cuerpo establece neoplasias en áreas alejadas del sitio de aparición inicial. Los tejidos óseos son uno de los sitios predilectos de metástasis de tumores malignos, que se producen en aproximadamente el 30 % de todos los casos de cáncer. Entre los tumores malignos, se sabe particularmente que los cánceres de pulmón, mama, próstata o similares es probable que metastaticen al hueso.

En el contexto de la neoplasia, el cáncer, el crecimiento tumoral o el crecimiento de células tumorales, la inhibición puede evaluarse mediante la aparición tardía de tumores primarios o secundarios, el desarrollo ralentizado de tumores primarios o secundarios, la disminución de la aparición de tumores primarios o secundarios, la ralentización o disminución de la gravedad de los efectos secundarios de la enfermedad, la detención del crecimiento del tumor y la regresión de tumores, entre otros. En el extremo, la inhibición completa, se denomina en el presente documento como prevención o quimioprevención. En este contexto, el término "prevención" incluye prevenir totalmente la aparición de neoplasia clínicamente evidentes o prevenir la aparición de una etapa preclínicamente evidente de neoplasia en individuos en riesgo. También se pretende abarcar por esta definición la prevención de la transformación en células malignas o detener o revertir la progresión de células premalignas a células malignas. Esto incluye el tratamiento profiláctico de las personas con riesgo de desarrollar la neoplasia.

En ciertos ejemplos, el tratamiento del linfoma puede ser evaluado por el International Workshop Criteria (IWC) para el linfoma no de Hodgkin (NHL) (véase el documento de Cheson BD, Pfistner B, Juweid, ME, y col. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. J. Clin. Oncol. 2007: (25) 579-586), utilizando las definiciones de respuesta y criterio de valoración mostradas a continuación:

ES 2 744 198 T3

Respuesta	Definición	Masas ganglionares	Bazo, hígado	Médula ósea
CR	Desaparición de toda evidencia de enfermedad.	(a) Ávido por FDG o PET positivo antes de la terapia; masa de cualquier tamaño permitida si PET es negativo	No palpable, los nódulos han desaparecido.	Infiltrado eliminado en la repetición de la biopsia; si es indeterminado por la morfología, la inmunohistoquímica debería ser negativa
		(b) Variablemente ávido por FDG o PET negativo; regresión al tamaño normal en la CT		
PR	Regresión de enfermedad medible y no en nuevos sitios.	≥50 % de disminución en SPD de hasta las 6 masas dominantes más grandes; no hay aumento en el tamaño de otros ganglios	≥50 % de disminución en SPD de los nódulos (para nódulos simples en el mayor diámetro transversal); no hay aumento en el tamaño del hígado o el bazo	Irrelevante si es positivo antes de la terapia; debería especificarse el tipo de célula
		(a) Ávido por FDG o PET positivo antes de la terapia; uno o más PET positivos en el sitio previamente implicado		
		(b) Variablemente ávido por FDG o PET negativo; regresión en la CT		
SD	Fracaso para lograr CR/PR o PD	(a) Ávido por FDG o PET positivo antes de la terapia; PET positivo en sitios anteriores de la enfermedad y no hay nuevos sitios en CT o PET		
		(b) Variablemente ávido por FDG o PET negativo; no hay cambio de tamaño de las lesiones anteriores en la CT		
PD o enfermedad recidivante	Cualquier nueva lesión o aumento en ≥ 50 % de los sitios previamente involucrados desde el nadir	Aparición de una(s) nueva(s) lesión(es) ≥1,5 cm en cualquier eje, ≥50 % de aumento en SPD de más de un ganglio,	Incremento del 50 % desde el nadir en el SPD de cualquier lesión previa.	Participación nueva o recurrente.
		o ≥50 % de aumento en el diámetro más largo de un ganglio previamente identificado ≥1 cm en el eje corto Lesiones PET positivas si el linfoma ávido por FDG o PET positivo antes de la terapia		

Abreviaturas: CR, remisión completa (del inglés "complete remission"; FDG, [¹⁸F] fluorodeoxiglucosa; PET, tomografía por emisión de positrones (del inglés "positron emission tomography"; CT, tomografía computarizada (del inglés "computed tomography"; PR, remisión parcial (del inglés "partial remission"; SPD, suma del producto de los diámetros; SD, enfermedad estable (del inglés "stable disease"; PD, enfermedad progresiva (del inglés "progressive disease").

Criterio de valoración	Pacientes	Definición	Medido desde
Primario			
Supervivencia general	Todos	Muerte como resultado de cualquier causa.	Entrada al estudio
Supervivencia libre de progresión	Todos	Progresión de la enfermedad o muerte como resultado de cualquier causa.	Entrada al estudio
Secundario			
Supervivencia sin complicaciones	Todos	Fallo de tratamiento o muerte como resultado de cualquier causa.	Entrada al estudio
Tiempo hasta la progresión	Todos	Tiempo hasta la progresión o muerte como resultado del linfoma.	Entrada al estudio
Supervivencia libre de enfermedad	En CR	Tiempo hasta la recaída o muerte como resultado de un linfoma o toxicidad aguda del tratamiento	Documentación de respuesta.
Duración de la respuesta	En CR o PR	Tiempo hasta la recaída o progresión	Documentación de respuesta.
Supervivencia específica al linfoma	Todos	Tiempo hasta la muerte como resultado del linfoma.	Entrada al estudio
Tiempo hasta el siguiente tratamiento	Todos	Tiempo hasta el nuevo tratamiento	Fin del tratamiento primario
Abreviaturas: CR: remisión completa; PR: remisión parcial.			

5

En un ejemplo, el criterio de valoración para el linfoma es la evidencia de beneficio clínico. El beneficio clínico puede reflejar la mejora en la calidad de vida o la reducción en los síntomas del paciente, los requisitos de transfusión, las infecciones frecuentes u otros parámetros. El tiempo hasta la reaparición o progresión de los síntomas relacionados con el linfoma también puede utilizarse en este criterio de valoración.

- 10 En ciertos ejemplos, el tratamiento de la CLL puede evaluarse mediante las Directrices del Seminario Internacional para la CLL (Véase el documento de Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, y col. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. Blood 2008, (111) 12: 5446-5456) utilizando las definiciones de respuesta y criterio de valoración mostradas en el mismo y, en particular:

Parámetro	CR	PR	PD
Grupo A			
Linfadenopatía [±]	Ninguna > 1,5 cm	Disminución ≥ 50 %	Aumento ≥ 50 %
Hepatomegalia	Ninguna	Disminución ≥ 50 %	Aumento ≥ 50 %
Esplenomegalia	Ninguna	Disminución ≥ 50 %	Aumento ≥ 50 %
Linfocitos en sangre	< 4000/μL	Disminución ≥ 50 % desde la referencia	Aumento ≥ 50 % sobre la referencia
Médula [‡]	Normocelular, < 30 % de linfocitos, sin nódulos B-linfoideos. La médula hipocelular define CRi (5.1.6).	Reducción del 50 % en el infiltrado de la médula, o nódulos B-linfoideos	
Group B			
Recuento de plaquetas	> 100 000/μL	> 100 000/μL o aumento ≥ 50 % sobre la línea de base	Disminución de ≥ 50 % desde la línea de base secundaria a CLL

Hemoglobina	> 11.0 g/dL	> 11 g/dL o aumento \geq 50 % sobre la línea de base	Disminución de \geq 2 g/dL desde la línea de base secundaria a CLL
Neutrófilos \ddagger	> 1500/ μ L	> 1500 / μ L o > 50 % de mejora sobre la línea de base	

Los criterios del grupo A definen la carga tumoral; los criterios del grupo B definen la función del sistema hematopoyético (o médula ósea). CR (remisión completa): se deben cumplir todos los criterios y los pacientes deben carecer de síntomas constitutivos relacionados con la enfermedad; PR (remisión parcial): se deben cumplir al menos dos de los criterios del grupo A más uno de los criterios del grupo B; SD es la ausencia de enfermedad progresiva (PD) y el fracaso para lograr al menos una PR; PD: se debe cumplir al menos uno de los criterios anteriores del grupo A o del grupo B. Suma de los productos de múltiples ganglios linfáticos (según lo evaluado por tomografías computarizadas en ensayos clínicos o por examen físico en la práctica general). Estos parámetros son irrelevantes para algunas categorías de respuesta.

- 5 En ciertos ejemplos, el tratamiento del mieloma múltiple puede evaluarse según los Criterios internacionales de respuesta uniforme para el mieloma múltiple (IURC) (véase el documento de Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, y col. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006, (10) 10: 1-7), utilizando las definiciones de respuesta y criterio de valoración mostradas a continuación:

Subcategoría de respuesta	Criterios de Respuesta ^{una}
sCR	CR como se define a continuación más
	Relación de FLC normal y
	Ausencia de células clonales en la médula ósea ^b por
	inmunohistoquímica o inmunofluorescencia ^c
CR	Inmunofijación negativa en suero y orina y desaparición de cualquier plasmocitoma de tejidos blandos y <5 % de células plasmáticas en la médula ósea ^b
VGPR	Proteína M en suero y en orina detectable por inmunofijación pero no en electroforesis o reducción del 90 % o más en la proteína M en suero más el nivel de proteína M en orina <100 mg por 24 h
PR	\geq 50 % de reducción de la proteína M en suero y reducción de la proteína M urinaria en 24 h en un 90 % o hasta <200 mg por 24 h Si la proteína M de suero y de la orina no son medibles, ^d Se requiere una disminución de \geq 50 % en la diferencia entre los niveles de FLC involucrados y no involucrados en lugar de los criterios de proteína M
	Si la proteína M en suero y en orina no es medible, y el análisis de cadenas ligeras libres en suero tampoco es medible, se requiere una reducción de \geq 50 % en las células plasmáticas en lugar de la proteína M, siempre que el porcentaje de células plasmáticas de la médula ósea de línea de base sea \geq 30 %
	Además de los criterios enumerados anteriormente, si están presentes en la línea de base, también se requiere una reducción de \geq 50 % en el tamaño de los plasmocitomas de tejidos blandos
SD (no recomendado para uso como un indicador de respuesta; la estabilidad de la enfermedad se describe mejor proporcionando el tiempo hasta las estimaciones de progresión)	No cumple con los criterios de CR, VGPR, PR o enfermedad progresiva

- 15 Abreviaturas: CR, respuesta completa; FLC, cadena ligera libre; PR, respuesta parcial; SD, enfermedad estable; sCR, respuesta completa rigurosa; VGPR, muy buena respuesta parcial; ^aTodas las categorías de respuesta requieren dos evaluaciones consecutivas realizadas en cualquier momento antes de la institución de cualquier terapia nueva; ninguna de las categorías tampoco requiere evidencia conocida de lesiones óseas progresivas o nuevas si se realizaron estudios radiográficos. No se requieren estudios radiográficos para satisfacer estos requisitos de respuesta;

^bNo se necesita confirmación con repetición de la biopsia de médula ósea; ^cLa presencia/ausencia de células clonales se basa en la relación κ/λ. Una relación anormal de κ/λ por inmunohistoquímica y/o inmunofluorescencia requiere un mínimo de 100 células plasmáticas para el análisis. Una relación anormal que refleja la presencia de un clon anormal es κ/λ de >4:1 o <1:2. ^dEnfermedad medible definida por al menos una de las siguientes medidas: Células plasmáticas de la médula ósea ≥30 %; Proteína M en suero ≥ 1 g/dl (≥10 gm/l)[10 g/l]; Proteína M en orina ≥200 mg/24 h; Análisis de FLC en suero: Nivel de FLC involucrado ≥10 mg/dl (≥100 mg/l); siempre que la proporción de FLC en suero sea anormal.

En ciertos ejemplos, el tratamiento de un cáncer puede evaluarse según los criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST 1.1) (véanse los documentos de Therasse P., y col. New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. J. of the National Cancer Institute; 2000; (92) 205-216 y de Eisenhauer EA, Therasse P., Bogaerts J., y col. New response evaluation criteria in solid tumours: Directriz revisada de RECIST (versión 1.1). European J. Cancer; 2009; (45) 228-247). Las respuestas generales para todas las combinaciones posibles de respuestas tumorales en lesiones diana y no diana con o sin la aparición de nuevas lesiones son las siguientes:

Lesiones diana	Lesiones no diana	Nuevas lesiones	Respuesta general
CR	CR	No	CR
CR	Respuesta incompleta/SD	No	PR
PR	No-PD	No	PR
SD	No-PD	No	SD
PD	Cualquiera	Sí o no	PD
Cualquiera	PD	Sí o no	PD
Cualquiera	Cualquiera	Sí	PD

CR = respuesta completa; PR = respuesta parcial; SD = enfermedad estable; y PD = enfermedad progresiva.

15

Con respecto a la evaluación de las lesiones diana, la respuesta completa (CR) es la desaparición de todas las lesiones diana, la respuesta parcial (PR) es al menos una disminución del 30 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana, tomando como referencia la suma de diámetro más largo de referencia, la enfermedad progresiva (PD) es al menos un aumento del 20 % en la suma del diámetro más largo de las lesiones diana, tomando como referencia la suma más pequeña de diámetro más largo registrada desde que comenzó el tratamiento o la aparición de una o más lesiones nuevas y la enfermedad estable (SD) no es una contracción suficiente para calificar para respuesta parcial ni un aumento suficiente para calificar para enfermedad progresiva, tomando como referencia la suma más pequeña del diámetro más largo desde que comenzó el tratamiento.

Con respecto a la evaluación de lesiones no diana, la respuesta completa (CR) es la desaparición de todas las lesiones no diana y la normalización del nivel de marcador tumoral; la respuesta incompleta/enfermedad estable (SD) es la persistencia de una o más lesiones no diana y/o el mantenimiento del nivel de marcador tumoral por encima de los límites normales, y la enfermedad progresiva (PD) es la aparición de una o más nuevas lesiones y/o la progresión inequívoca de las lesiones no diana existentes.

Los procedimientos, las convenciones y las definiciones descritos a continuación proporcionan una guía para implementar las recomendaciones del Grupo de trabajo de evaluación de respuesta para neuro-oncología (RANO) con respecto a los criterios de respuesta para gliomas de alto grado (Wen P., Macdonald, DR., Reardon, DA., y col. Updated response assessment criteria for highgrade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. J Clin Oncol 2010; 28: 1963-1972). Las modificaciones primarias de los criterios de RANO para los Criterios para las respuestas de puntos temporales (TPR) pueden incluir la adición de convenciones operativas para definir cambios en la dosis de glucocorticoides y la eliminación del componente de deterioro clínico de los sujetos para centrarse en las evaluaciones radiológicas objetivas. La exploración MRI de referencia se define como la evaluación realizada al final del período de descanso posterior a la cirugía, antes de reiniciar el tratamiento compuesto. La MRI de referencia se utiliza como la referencia para evaluar la respuesta completa (CR) y la respuesta parcial (PR). Mientras que la SPD más pequeña (suma de los productos de diámetros perpendiculares) obtenida en la referencia o en evaluaciones posteriores se designará como la evaluación del nadir y se utilizará como referencia para determinar la progresión. Durante los 5 días anteriores a cualquier exploración MRI definida por protocolo, los sujetos no reciben glucocorticoides o se encuentran en una dosis estable de glucocorticoides. Una dosis estable se define como la misma dosis diaria durante los 5 días consecutivos anteriores a la exploración RMI. Si la dosis de glucocorticoides prescrita se cambia en los 5 días anteriores a la exploración de referencia, se requiere una nueva exploración de referencia con el uso de glucocorticoides que cumpla con los criterios descritos anteriormente. Se utilizarán las siguientes definiciones.

Lesiones medibles: Las lesiones medibles son lesiones que aumentan el contraste que pueden medirse bidimensionalmente. Se realiza una medición del diámetro del tumor de aumento máximo (también conocido como el diámetro más largo, LD). El mayor diámetro perpendicular se mide en la misma imagen. Los retículos de las

mediciones bidimensionales deberían cruzarse y se calculará el producto de estos diámetros.

Diámetro mínimo: Imagen ponderada en T1 en la cual las secciones son de 5 mm con una omisión de 1 mm. El LD mínimo de una lesión medible se establece en 5 mm por 5 mm. Pueden requerirse diámetros más grandes para la inclusión y/o designación como lesiones diana. Después de la referencia, las lesiones diana que se vuelven más pequeñas que el requisito mínimo para la medición o que ya no son susceptibles de medición bidimensional se registrarán en el valor por defecto de 5 mm para cada diámetro inferior a 5 mm. Las lesiones que desaparecen se registrarán como 0 mm por 0 mm.

Lesiones multicéntricas: Las lesiones que se consideran multicéntricas (en lugar de continuas) son lesiones en las que hay un tejido cerebral interpuesto normal entre las dos (o más) lesiones. Para las lesiones multicéntricas que son focos discretos de realce, el enfoque es medir por separado cada lesión con realce que cumpla con los criterios de inclusión. Si no hay tejido cerebral normal entre dos (o más) lesiones, se considerarán la misma lesión.

Lesiones no medibles: Todas las lesiones que no cumplan con los criterios para la enfermedad medible como se definió anteriormente se considerarán lesiones no medibles, así como todas las lesiones sin realce y otras realmente no medibles. Las lesiones no medibles incluyen focos de realce que son menores que el diámetro más pequeño especificado (es decir, menos de 5 mm por 5 mm), lesiones sin realce (por ejemplo, como se observa en post-contraste ponderado en T1, ponderado en T2 o imágenes de recuperación de inversión atenuada de fluido (FLAIR), lesiones hemorrágicas o predominantemente quísticas o necróticas, y tumor leptomeníngeo. Las lesiones hemorrágicas a menudo tienen hiperintensidad intrínseca ponderada en T1 que podría interpretarse erróneamente como un tumor con realce y, por este motivo, la imagen ponderada en T1 pre-contraste puede examinarse para excluir una hemorragia subaguda de referencia o intervalo.

En la referencia, las lesiones se clasificarán de la siguiente manera: Lesiones diana: Pueden seleccionarse hasta 5 lesiones medibles como lesiones diana, cada una de las cuales mide al menos 10 mm por 5 mm, representativas de la enfermedad del sujeto; Lesiones no diana: Todas las demás lesiones, incluidas todas las lesiones no medibles (incluidos los efectos de masa y los hallazgos de T2/FLAIR) y cualquier lesión medible no seleccionada como una lesión diana. En la referencia, las lesiones diana deben medirse como se describe en la definición para lesiones medibles y debe determinarse el SPD de todas las lesiones diana. La presencia de todas las demás lesiones debe ser documentada. En todas las evaluaciones posteriores al tratamiento, la clasificación de referencia de las lesiones como lesiones diana y no diana se mantendrá y las lesiones se documentarán y describirán de manera consistente a lo largo del tiempo (por ejemplo, registradas en el mismo orden en los documentos de origen y los eCRF). Todas las lesiones medibles y no medibles deben evaluarse utilizando la misma técnica que en la referencia (por ejemplo, deben obtenerse imágenes de los sujetos en el mismo escáner de IRM o al menos con la misma intensidad magnética) durante la duración del estudio para reducir las dificultades en la interpretación de los cambios. En cada evaluación, se medirán las lesiones diana y se calculará el SPD. Las lesiones no diana se evaluarán cualitativamente y las nuevas lesiones, de haberlas, se documentarán por separado. En cada evaluación, se determinará una respuesta de punto temporal para las lesiones diana, las lesiones no diana y la nueva lesión. La progresión tumoral puede establecerse incluso si solo se evalúa un subconjunto de lesiones. Sin embargo, a menos que se observe una progresión, el estado objetivo (enfermedad estable, PR o CR) sólo puede determinarse cuando se evalúan todas las lesiones.

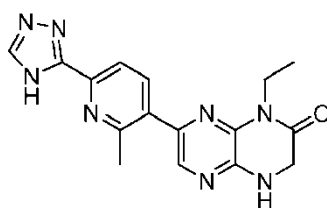
Las evaluaciones de confirmación para las respuestas de puntos temporales generales de CR y PR se realizarán en la próxima evaluación programada, pero la confirmación puede no producirse si las exploraciones tienen un intervalo de < 28 días. La mejor respuesta, que incorpora los requisitos de confirmación, se derivará de la serie de puntos temporales.

En ciertos ejemplos, el tratamiento de un cáncer puede evaluarse mediante la inhibición de la fosforilación de S6RP, 4E-BP1, AKT y/o DNA-PK en sangre circulante y/o células tumorales, y/o biopsias de la piel o biopsias/aspirados de tumores, antes, durante y/o después del tratamiento con un inhibidor de la quinasa TOR. Por ejemplo, la inhibición de la fosforilación de S6RP, 4E-BP1, AKT y/o DNA-PK se evalúa en células B, células T y/o monocitos. En otros ejemplos, el tratamiento de un cáncer puede evaluarse mediante la inhibición de la actividad de la proteína quinasa (ADN-PK) dependiente del ADN en muestras de piel y/o biopsias/aspirados de tumores, tal como mediante la evaluación de la cantidad de pDNA-PK S2056 como un biomarcador para las vías de daño del ADN, antes, durante y/o después del tratamiento con el inhibidor de la quinasa TOR. En un ejemplo, la muestra de piel se irradia con luz UV.

En el extremo, la inhibición completa, se denomina en el presente documento como prevención o quimioprevención. En este contexto, el término "prevención" incluye prevenir totalmente la aparición de cáncer clínicamente evidente o prevenir la aparición de una etapa preclínicamente evidente de un cáncer. También se pretende abarcar por esta definición la prevención de la transformación en células malignas o detener o revertir la progresión de células premalignas a células malignas. Esto incluye el tratamiento profiláctico de las personas con riesgo de desarrollar un cáncer.

5.2 Compuesto 1

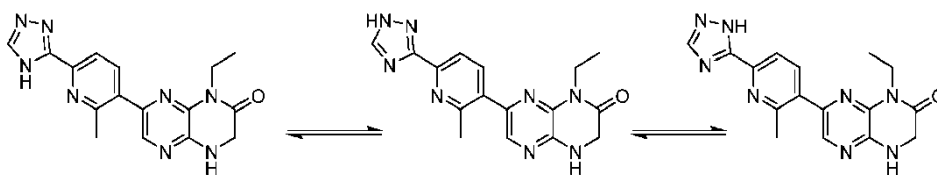
Los procedimientos de preparación proporcionados en el presente documento se refieren a la preparación de una forma sólida del Compuesto 1:



1

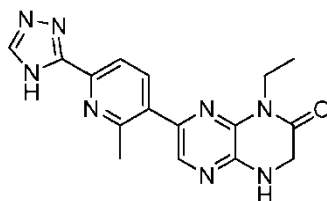
que tienen el nombre de 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona o un tautómero del mismo, por ejemplo, 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona o 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-5-yl)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, 5 o isotópologos y estereoisómeros de los mismos. En el presente documento se describen procedimientos de preparación relacionados con sales y metabolitos farmacéuticamente aceptables del Compuesto 1.

Los tautómeros del Compuesto 1 incluyen los siguientes:

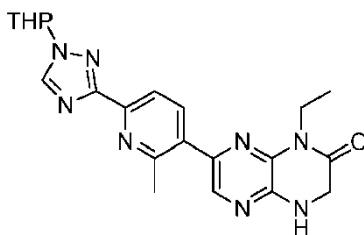


5.3 Procedimientos para preparar el compuesto 1

10 En el presente documento se proporcionan procedimientos de preparación de una forma sólida del Compuesto 1



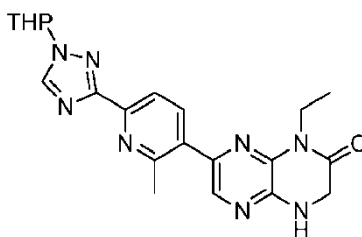
Compuesto 1, comprendiendo los procedimientos poner en contacto un compuesto de Fórmula G



G

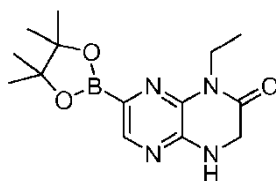
con un ácido, opcionalmente en un disolvente, seguido de neutralización con una base como se define en las 15 reivindicaciones. En ciertas realizaciones, el disolvente comprende uno o más de 1-propanol, metanol, etanol o isopropanol. En una realización particular, el ácido es HCl acuoso, ácido acético o ácido trifluoroacético. En ciertas realizaciones, la base es KHCO₃ acuoso o NH₄OH acuoso. En una realización, el disolvente comprende adicionalmente hidroxitolueno butilado. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden: (a) disolver el compuesto protegido G en una mezcla de etanol, agua y HCl; (b) neutralizar con NH₄OH; (c) filtrar la mezcla; (d) recoger el sólido; (e) 20 disolver el compuesto desprotegido en una mezcla de etanol, agua y HCl; (f) tratar la solución con carbón activado; (g) eliminar el carbón activado por filtración; (h) neutralizar con NH₄OH; y (i) filtrar la mezcla.

Los procedimientos proporcionados en el presente documento comprenden además la preparación de un compuesto de fórmula G



G,

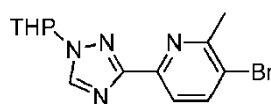
comprendiendo los procedimientos poner en contacto un compuesto de Fórmula E



E

5

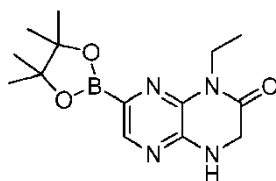
con un compuesto de Fórmula F,



F

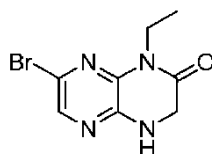
en presencia de un catalizador de paladio, un disolvente y una base. En ciertas realizaciones, el catalizador de paladio es PdAmphos₂Cl₂. En ciertas realizaciones, el disolvente es una mezcla de tetrahidrofurano y agua. En ciertas realizaciones, la base es K₂CO₃ or KHCO₃. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden adicionalmente el uso de carbón activado para eliminar las impurezas. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden: (a) poner en contacto KHCO₃, PdAmphos₂Cl₂, y los compuestos E y F, en tetrahidrofurano y agua; (b) tratar la solución con carbón activado; (c) eliminar el carbón activado por filtración; (d) concentrar el filtrado a aproximadamente el 70 % del volumen original; (e) enfriar el filtrado; (f) poner en contacto el filtrado con agua; (g) sembrar el filtrado con G
15 cristalino; y (h) filtrar la mezcla.

Los procedimientos proporcionados en el presente documento comprenden la preparación de un compuesto de fórmula E



E,

comprendiendo los procedimientos poner en contacto un compuesto de Fórmula D



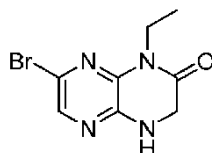
D

20

con una fuente de boro y un catalizador de paladio en presencia de una base en un disolvente como se define en las reivindicaciones. En una realización, la fuente de boro es bis(pinacolato)diboro. En ciertas realizaciones, el catalizador de paladio es PdAmphos₂Cl₂. En una realización, la base es KOAc. En una realización, el disolvente es

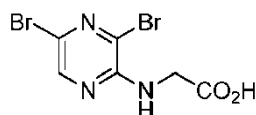
- tetrahidrofurano. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden adicionalmente el uso de carbón activado para eliminar las impurezas. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden: (a) poner en contacto el compuesto D con bis(pinacolato)diboro, PdAmphos₂Cl₂, y acetato de potasio en tetrahidrofurano; (b) filtrar la mezcla; (c) tratar una solución tibia de tetrahidrofurano del compuesto E con carbón activado; (d) eliminar el carbón activado por filtración; (e) concentrar el filtrado a aproximadamente el 20 % del volumen original; (f) enfriar el filtrado; (g) poner en contacto el filtrado con heptano; y (h) filtrar la mezcla.

En algunas de tales realizaciones, los procedimientos comprenden además la preparación de un compuesto de fórmula D



D,

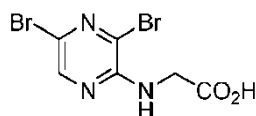
- 10 comprendiendo los procedimientos poner en contacto un compuesto de fórmula C



C

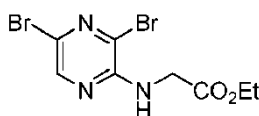
- con EtNH₂ opcionalmente en presencia de una base opcionalmente en un disolvente, seguido de acidificación. En ciertas realizaciones, la base es EtNH₂ o la base de Hunig. En ciertas realizaciones, el disolvente es agua. En ciertas realizaciones, la acidificación se lleva a cabo mediante la adición de H₃PO₄ acuoso. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden: (a) poner en contacto el compuesto C con un exceso de etilamina en agua; (b) tratar la solución con ácido fosfórico; y (c) filtrar la mezcla.

En algunas de tales realizaciones, los procedimientos comprenden además la preparación de un compuesto de fórmula C



C,

- 20 comprendiendo los procedimientos poner en contacto un compuesto de fórmula B



B

- con una base opcionalmente en un disolvente, seguido de neutralización con un ácido. En ciertas realizaciones, la base es NaOH. En ciertas realizaciones el disolvente es tetrahidrofurano. En ciertas realizaciones, la neutralización se lleva a cabo mediante la adición de H₃PO₄ acuoso. En ciertas realizaciones, los procedimientos comprenden: (a) poner en contacto el Compuesto B con NaOH en tetrahidrofurano y agua; (b) tratar la solución con ácido fosfórico y heptano; (c) concentrar la capa orgánica; (d) destilar con adición de heptano; (e) sembrar la solución con Compuesto C cristalino; (f) destilar con adición de heptano; (g) enfriar la suspensión; y (h) filtrar la mezcla.

Los procedimientos proporcionados en el presente documento comprenden además la recrystalización del Compuesto 1, que comprende las etapas de:

- 30 (a) disolver el Compuesto 1 en una mezcla de etanol, agua y HCl a temperatura elevada, concretamente, aproximadamente 45 °C;
- (b) neutralizar la mezcla con NH₄OH a temperatura elevada, concretamente, aproximadamente 45 °C; y
- (c) filtrar la mezcla, por ejemplo a temperatura ambiente.

En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden adicionalmente tratar la solución del Compuesto 1 con carbón activado a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente 45 °C, y eliminar el carbón activado antes de la neutralización. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden adicionalmente tratar la solución del Compuesto 1 con un captador de metales a temperatura elevada, concretamente a 60°C, y eliminar el captador de metales, antes de tratar con carbón activo.

Alternativamente, los procedimientos proporcionados en el presente documento comprenden además la recristalización del Compuesto 1, que comprende las etapas de:

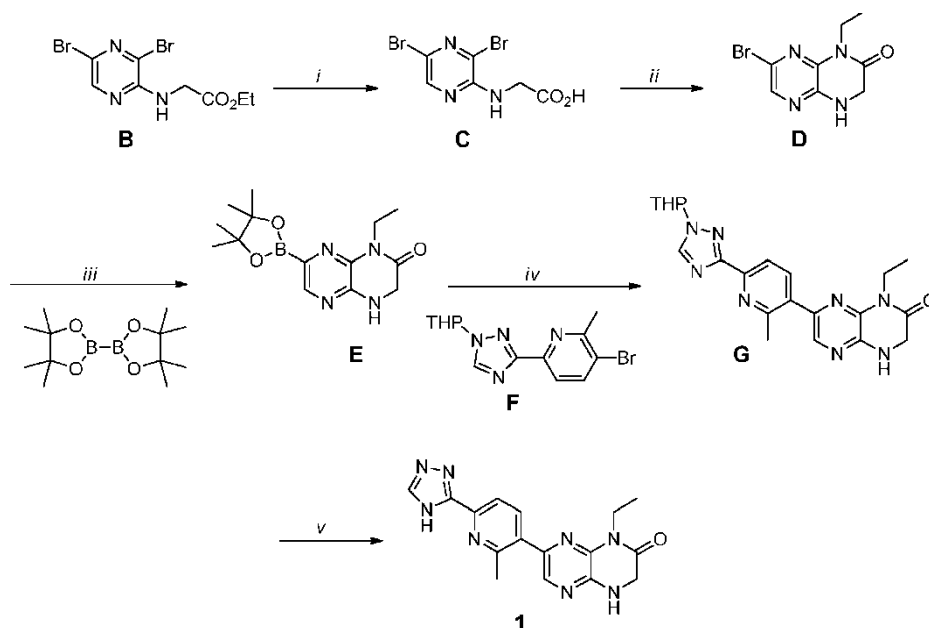
(a) disolver el Compuesto 1 en una mezcla de 1-propanol, agua y HCl;

(b) neutralizar la mezcla con una base acuosa, por ejemplo NH₄OH o KHCO₃, a temperatura elevada, concretamente, aproximadamente 45 °C a aproximadamente 60 °C; y

(c) filtrar la mezcla, por ejemplo, a temperatura ambiente.

En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden adicionalmente tratar la solución del Compuesto 1 con carbón activado a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente 45 °C, y eliminar el carbón activado antes de la neutralización. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden adicionalmente tratar la solución del Compuesto 1 con un eliminador de metales a temperatura elevada, concretamente 60 °C, y eliminar el eliminador de metales, antes de tratar con carbón activo.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan las etapas sintéticas i-v, incluyendo combinaciones de las mismas, que son útiles para la preparación de una forma sólida del Compuesto 1 como se define en las reivindicaciones:



20

donde la etapa i) comprende:

(a) poner en contacto el Compuesto B con NaOH acuoso en tetrahidrofurano;

(b) tratar la solución con ácido fosfórico y heptano;

(c) concentrar la capa orgánica;

25 (d) destilar con adición de heptano;

(e) sembrar la solución con Compuesto C cristalino;

(f) destilar con adición de heptano;

(g) enfriar la suspensión; y

(h) filtrar la mezcla;

30 la etapa ii) comprende:

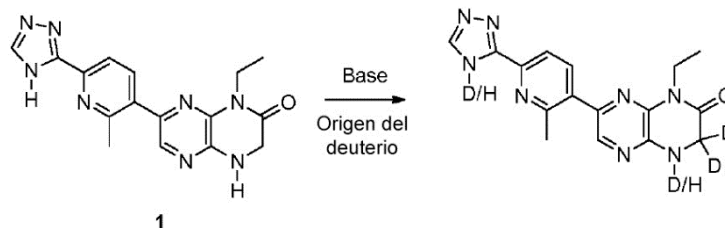
- (a) poner en contacto el Compuesto C con un exceso de etilamina en agua;
- (b) tratar la solución con ácido fosfórico y;
- (c) filtrar la mezcla;

la etapa iii) comprende:

- 5 (a) Poner en contacto el Compuesto D con bis(pinacolato)diboro, PdAmphos₂Cl₂ y acetato de potasio en tetrahidrofurano;
 - (b) filtrar la mezcla;
 - (c) tratar una solución tibia de tetrahidrofurano del Compuesto E con carbón activado;
 - (d) eliminar el carbón activado por filtración;
- 10 (e) concentrar el filtrado;
- (f) enfriar el filtrado;
 - (g) sembrar la solución con Compuesto E cristalino;
 - (h) poner en contacto el filtrado con heptano; y
 - (i) filtrar la mezcla;
- 15 la etapa iv) comprende:
- (a) poner en contacto KHCO₃ o K₂HCO₃, PdAmphos₂Cl₂ y los Compuestos E y F, en tetrahidrofurano y agua;
 - (b) tratar la solución con carbón activado;
 - (c) eliminar el carbón activado por filtración;
 - (d) concentrar el filtrado;
- 20 (e) enfriar el filtrado;
- (f) poner en contacto el filtrado con agua;
 - (g) sembrar el filtrado con Compuesto G cristalino; y
 - (h) filtrar la mezcla;
- la etapa v) comprende:
- 25 (a) disolver el compuesto G protegido en una mezcla de etanol, agua y HCl a temperatura elevada, concretamente, por ejemplo, aproximadamente 45 °C;
- (b) neutralizar con NH₄OH;
 - (c) filtrar la mezcla;
 - (d) recoger el sólido;
- 30 (e) disolver el compuesto desprotegido en una mezcla de etanol, agua y HCl a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente 45 °C;
- (f) tratar la solución con carbón activado;
 - (g) eliminar el carbón activado por filtración;
 - (h) neutralizar con NH₄OH a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente 45 °C;
- 35 (g) sembrar la solución con Compuesto 1 cristalino;
- (h) neutralizar con NH₄OH;
 - (i) enfriar el filtrado, y
 - (i) filtrar la mezcla;

Los procedimientos para preparar una forma sólida del Compuesto 1 como se define en las reivindicaciones se ejemplifican adicionalmente mediante los ejemplos de trabajo proporcionados en el presente documento.

En una realización, ciertos isotopólogos del Compuesto 1 se preparan de la siguiente manera:



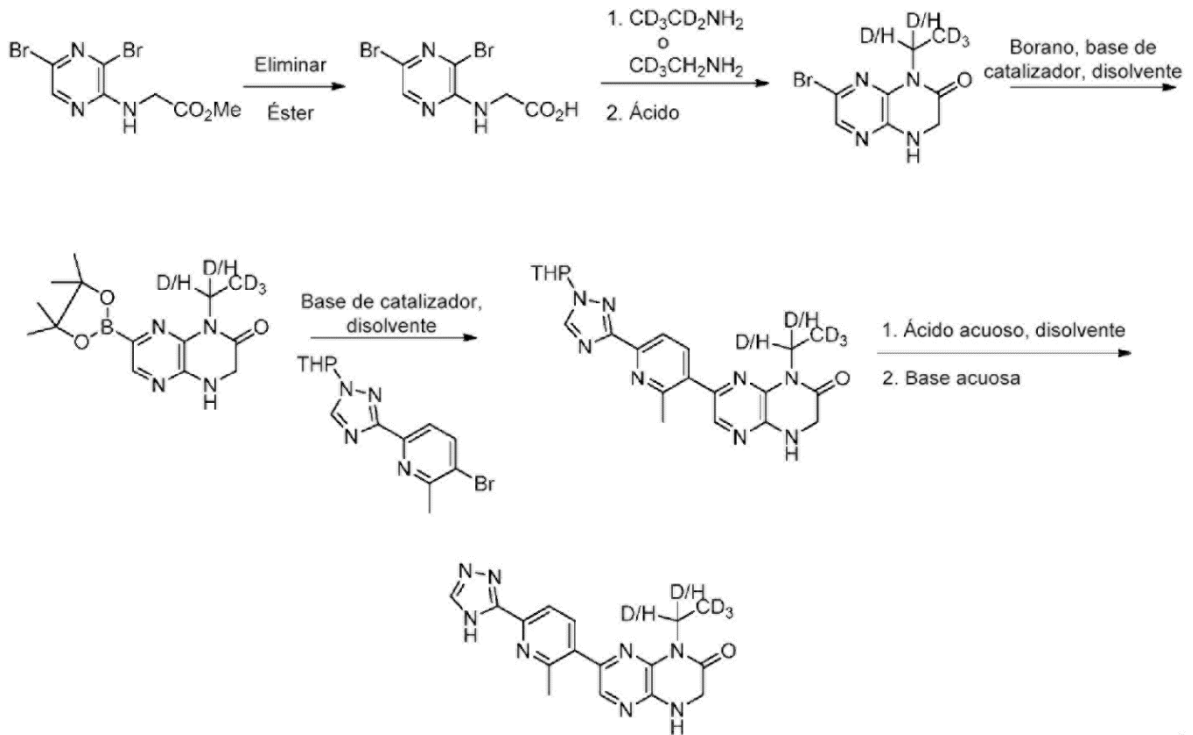
- 5 donde "D/H" indica que los nitrógenos de amina o triazol pueden intercambiarse cada uno independientemente con deuterio, y donde la base y la fuente de deuterio se seleccionan para realizar el enriquecimiento isotópico, como es sabido por un experto en la materia.

- En ciertas realizaciones, la base utilizada para promover la transformación del Compuesto 1 a un isotopólogo (*es decir*, poner en contacto el Compuesto 1 con una base y una fuente de deuterio intercambiable) es sodio C₁₋₁₄ alcóxido, potasio C₁₋₁₄ alcóxido, hidruro de sodio, hidruro de potasio, hidruro de calcio, carbonato de cesio, hexametildisilazida de litio (LiHMDS), diisopropilamida de litio (LDA), 2-*tert*-butil-1,1,3,3-tetrametil-guanidina (Base de Barton), 1,8-diazabicyclo[5.4.0] undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO), *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA o base de Hünig), piridina, 2,6-di-*tert*-butil-piridina, 2,6-lutidina, tetrametilpiperidina de litio (LiTMP o base de arpón), 7-metil-1,5,7 triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (MTBD), 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (PMP), 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TMP), tributilamina, 2,4,6-tri-*tert*-butilpiridina, tris(trimetilsilil)amina, *n*-butillitio, *sec*-butillitio, *tert*-butillitio, bis(trimetilsilil)amida de potasio, *tert*-butóxido de sodio, *tert*-butilimino-tris(dimetilamino)fosforano, o 2-*tert*-butilimino-2-dietilamino-1,3-dimetilperhidro-1,3,2-diazafosforina. En algunas realizaciones, la base es *tert*-butóxido de potasio.

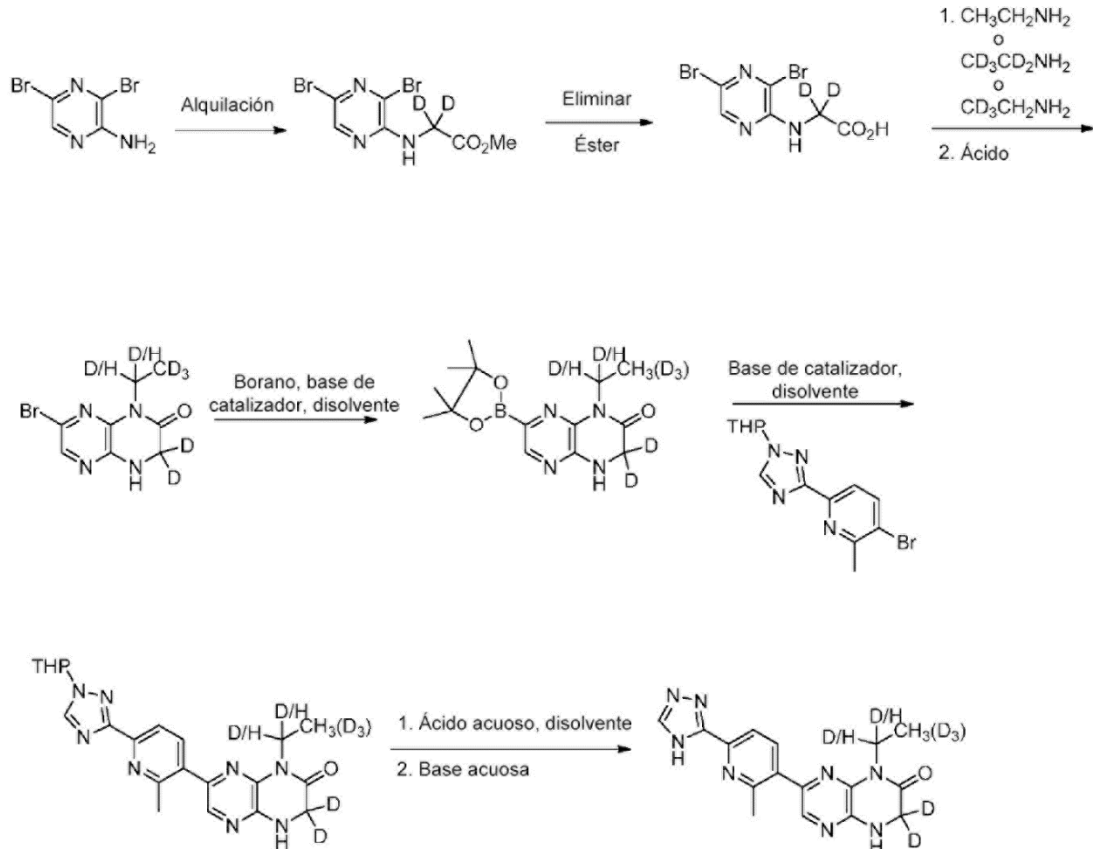
- En ciertas realizaciones, la fuente de deuterio utilizada para promover la transformación del Compuesto 1 a un isotopólogo (*es decir*, poner en contacto el Compuesto 1 con una base y una fuente de deuterio intercambiable) se selecciona de entre el grupo que consiste en D₂O, C₁₋₁₄ alquil-OD, C₁₋₁₄ alquil-COOD, aril-OD, heteroaril-OD, aril-SO₃D, cloruro de deuterio, bromuro de deuterio, yoduro de deuterio, ácido sulfúrico-D₂, y ácido nítrico-D₁. En algunas realizaciones, la fuente de deuterio es alcohol *tert*-butílico monodeuterado (*t*-BuOD).

- En algunas realizaciones, la base utilizada para promover la transformación del Compuesto 1 a un isotopólogo es *tert*-butóxido de potasio y la fuente de deuterio es alcohol *tert*-butílico monodeuterado (*t*-BuDO).

En una realización, ciertos isotopólogos del Compuesto 1 se preparan según la siguiente vía sintética, utilizando las condiciones expuestas anteriormente en relación con la preparación del Compuesto 1:



En una realización, ciertos isotopólogos del Compuesto 1 se preparan según la siguiente vía sintética, usando las condiciones expuestas anteriormente en relación con la preparación del Compuesto 1:



5 5.4 Formas sólidas del compuesto 1

En el presente documento se proporcionan procedimientos para preparar formas sólidas del Compuesto 1 como se

define en las reivindicaciones. En ciertas realizaciones, la forma sólida es cristalina. En ciertas realizaciones, la forma sólida es una forma sólida de un solo componente. En ciertas realizaciones, la forma sólida es anhidra.

Si bien no pretende limitarse a ninguna teoría particular, ciertas formas sólidas se caracterizan por propiedades físicas, *por ejemplo*, estabilidad, solubilidad y velocidad de disolución, adecuadas para formas de dosificación farmacéutica y terapéutica. Asimismo, sin intención de limitarse a ninguna teoría en particular, ciertas formas sólidas se caracterizan por propiedades físicas (*por ejemplo*, densidad, compresibilidad, dureza, morfología, escisión, adherencia, solubilidad, absorción de agua, propiedades eléctricas, comportamiento térmico, reactividad de estado sólido, estabilidad física y estabilidad química) que afectan a procesos particulares (*por ejemplo*, rendimiento, filtración, lavado, secado, molienda, mezcla, formación de comprimidos, fluidez, disolución, formulación y liofilización), lo que hace que ciertas formas sólidas sean adecuadas para la fabricación de una forma de dosificación sólida. Tales propiedades pueden determinarse utilizando técnicas de química analítica particulares, incluyendo técnicas analíticas de estado sólido (*por ejemplo*, difracción de rayos X, microscopía, espectroscopía y análisis térmico), tal como se describe en el presente documento y se conoce en la técnica.

Las formas sólidas proporcionadas en el presente documento (por ejemplo, la Forma A, la Forma B, la Forma C, la Forma D y la Forma E del Compuesto 1) pueden caracterizarse utilizando una serie de procedimientos conocidos por un experto en la materia, incluyendo, pero no limitados a difracción de rayos X de cristal único, difracción de rayos X en polvo (XRPD), microscopía (*por ejemplo*, microscopía electrónica de barrido (SEM)), análisis térmico (*por ejemplo*, calorimetría de barrido diferencial (DSC)), análisis gravimétrico térmico (TGA) y microscopía de etapa caliente) y espectroscopía (*por ejemplo*, infrarroja, Raman, y resonancia magnética nuclear de estado sólido). El tamaño de partícula y la distribución de tamaño de la forma sólida proporcionados en el presente documento pueden determinarse mediante procedimientos convencionales, tales como la técnica de dispersión de luz láser.

La pureza de la forma sólida proporcionada en el presente documento puede determinarse mediante procedimientos analíticos estándar, tales como cromatografía de capa fina (TLC), electroforesis en gel, cromatografía gaseosa, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y espectrometría de masas (MS).

Debería entenderse que los valores numéricos de los picos de un patrón de difracción de rayos X en polvo pueden variar ligeramente de una máquina a otra o de una muestra a otra, por lo que los valores citados no deben interpretarse como absolutos, sino con una variabilidad permitida, tal como $\pm 0,2$ grados 2 zeta (véase el documento United State Pharmacopoeia, página 2228 (2003)). En la fig. 1 se muestra una gráfica apilada del patrón de difracción de rayos X en polvo para diversas formas sólidas del Compuesto 1.

En una realización, en el presente documento se proporciona la Forma A del Compuesto 1. En una realización, la Forma A del Compuesto 1 es anhidra. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 es no higroscópica. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 es cristalina. En una realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la fig. 2. En una realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno o más picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 8,0, 9,8, 12,0, 15,9, 17,4, 17,9, 18,3, 19,5, 21,6, 21,9, 22,3, 24,0, 25,2, 26,4, 26,5, 27,1, 28,0, 29,4, 30,1, 31,3, 32,1, 36,4, 38,6 o 39,4 grados. En una realización específica, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 9,8, 12,0, 15,9, 17,4, 17,9, 21,9, 25,2 o 27,1 grados. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 9,8, 12,0, 17,9 o 25,2 grados. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo tal como se indica en la Tabla 2.

En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene un termograma termogravimétrico sustancialmente como se muestra en la fig. 3. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 10 %, menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 3 %, menos de aproximadamente el 2 %, menos de aproximadamente el 1 %, menos de aproximadamente el 0,5 %, menos de aproximadamente el 0,2 %, menos de aproximadamente 0,1 %, menos de aproximadamente 0,05 %, o menos de aproximadamente 0,01 %, por ejemplo, aproximadamente 0,009 %, de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 0,1 % de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 muestra aproximadamente el 0,01 % de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 no muestra pérdida de peso hasta la degradación a aproximadamente 260 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 es anhidra. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 es no solvatada.

En otra realización más, la Forma A del Compuesto 1 tiene un termograma calorimétrico de barrido diferencial (DSC) sustancialmente como se muestra en la fig. 4. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 270 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura de aparición de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 tiene una

endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 270 °C y una temperatura de aparición de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En una realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 268-270 °C. En cierta realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 270 °C.

- 5 En otra realización más, la Forma A del Compuesto 1 tiene un gráfico de sorción de vapor dinámica (DVS) sustancialmente como se muestra en la fig. 5. En otra realización más, la Forma A del Compuesto 1 es no higroscópica, *por ejemplo*, presenta una ganancia de masa de menos de aproximadamente el 0,35 % p/p de cuando se somete a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 80 % de humedad relativa (RH). En otra realización, la Forma A del Compuesto presenta una ganancia de masa de aproximadamente el 0,08 % p/p de cuando se somete a un aumento de humedad de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 90 % de humedad relativa. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 presenta una ganancia de peso no mayor de aproximadamente el 2 % p/p, no mayor de aproximadamente el 1 % p/p, no mayor de aproximadamente el 0,6 % p/p, no mayor de aproximadamente el 0,5 % p/p en respuesta a un aumento de la humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 95 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 presenta aproximadamente el 0,5 % p/p de ganancia de peso en respuesta a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 95 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 presenta una ganancia de peso no mayor de aproximadamente el 2 % p/p, no mayor de aproximadamente el 1 % p/p, no mayor de aproximadamente el 0,6 % p/p, no mayor de aproximadamente el 0,4 % p/p, no mayor que aproximadamente el 0,2 % p/p en respuesta a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 50 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C. En ciertas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 presenta aproximadamente el 0,2 % p/po de ganancia de peso en respuesta a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 50 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C.

- En una realización, la Forma A del Compuesto 1 es estable a alta presión. En una realización, la Forma A del Compuesto 1, tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto, tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la fig. 6. En una realización, la Forma A del Compuesto 1, tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto, tiene uno o más picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 8,0, 9,9, 12,1, 15,9, 17,3, 18,1, 18,3, 19,5, 21,8, 25,2 o 27,1 grados. En una realización específica, la Forma A del Compuesto 1, tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 8,0, 9,9, 12,1, 15,9, 17,3, 18,1, 21,8 o 25,2 grados. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1, tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto, tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 9,9, 12,1, 18,1 o 25,2 grados. En una realización específica, la Forma A del Compuesto 1, tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 8,0, 10,0, 12,0, 16,0, 17,5, 18,0, 22,0 o 25,0 grados. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1, tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto, tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 10,0, 12,0, 18,0 o 25,0 grados.

- En otra realización más, la Forma A del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En ciertas realizaciones, la Forma A sustancialmente pura del Compuesto 1 se encuentra sustancialmente libre de otras formas sólidas, *por ejemplo*, forma amorfa. En ciertas realizaciones, la pureza de la Forma A sustancialmente pura del Compuesto 1 no es inferior a aproximadamente el 95 %, no inferior a aproximadamente el 96 %, no inferior a aproximadamente el 97 %, no inferior a aproximadamente el 98 %, no inferior a aproximadamente el 98,5 %, no inferior a aproximadamente el 99 %, no inferior a aproximadamente el 99,5 % o no inferior a aproximadamente el 99,8 %.

- En una realización, en el presente documento se proporciona la Forma B del Compuesto 1. En una realización, la Forma B del Compuesto 1 es un hidrato. En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 es cristalina. En una realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la fig. 7. En una realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno o más picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 4,9, 7,5, 8,6, 10,4, 10,9, 11,7, 12,1, 12,7, 14,4, 15,0, 16,2, 17,5, 17,9, 18,5, 19,9, 20,4, 21,9, 22,4, 23,6, 24,5, 25,5, 26,4, 27,3, 29,0, 29,8 o 30,5 grados. En una realización específica, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 4,9, 7,5, 8,6, 10,4, 11,7, 12,7, 17,9 o 25,5 grados. En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 7,5, 8,6, 10,4 o 11,7 grados. En otra realización, la Forma B del Compuesto uno tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo como se indica en la Tabla 3.

- En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene un termograma termogravimétrico sustancialmente como se muestra en la fig. 8. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 20 %, menos de aproximadamente el 15 %, menos de aproximadamente el 10 % *por ejemplo*, aproximadamente el 9,5 %, de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma

termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 10 % de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 es un hidrato. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 no es solvatada.

- 5 En otra realización más, la Forma B del Compuesto 1 tiene un termograma calorimétrico de barrido diferencial (DSC) sustancialmente como se muestra en la fig. 9. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura de aparición de aproximadamente 265 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 268 °C y una temperatura de aparición de aproximadamente 265 °C en un termograma DSC. En una realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 265-268 °C. En cierta realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 268 °C.

En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene un espectro ¹HNMR sustancialmente como se muestra en la fig. 10.

En otra realización más, la Forma B del Compuesto 1 tiene un gráfico de sorción de vapor dinámica (DVS) sustancialmente como se muestra en la fig. 11.

- En otra realización más, la Forma B del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En ciertas realizaciones, la Forma B sustancialmente pura del Compuesto 1 se encuentra sustancialmente libre de otras formas sólidas, *por ejemplo*, forma amorfa. En ciertas realizaciones, la pureza de la Forma B sustancialmente pura del Compuesto 1 es no inferior a aproximadamente el 95 %, no inferior a aproximadamente el 96 %, no inferior a aproximadamente el 97 %, no inferior a aproximadamente el 98 %, no inferior a aproximadamente el 98,5 %, no inferior a aproximadamente el 99 %, no inferior a aproximadamente el 99,5 % o no inferior a aproximadamente el 99,8 %.

- En una realización, en el presente documento se proporciona la Forma C del Compuesto 1. En una realización, la Forma C del Compuesto 1 es un hidrato. En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 es cristalina. En una realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la fig. 12. En una realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene uno o más picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 5,9, 6,1, 7,4, 9,3, 11,7, 12,2, 12,3, 14,4, 14,7, 17,3, 17,9, 18,3, 18,7, 19,9, 23,7, 24,0, 24,3, 25,0, 25,7, 26,2, 26,5, 27,1, 28,3, 28,4, 28,9, 29,6, 29,9, 30,3, 31,1, 31,6, 34,8 o 35,1 grados. En una realización específica, la Forma C del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 5,9, 7,4, 9,3, 11,7, 12,2, 17,3, 19,9 o 23,7 grados. En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 7,4, 9,3, 11,7 o 19,9 grados. En otra realización, la Forma C del Compuesto uno tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo como se indica en la Tabla 4.

- En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene un termograma termogravimétrico sustancialmente como se muestra en la fig. 13. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 20 %, menos de aproximadamente el 15 %, menos de aproximadamente el 10 % *por ejemplo*, aproximadamente el 9,8 %, de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 10 % de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 es un dihidrato. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 es no solvatada.

- En otra realización más, la Forma C del Compuesto 1 tiene un termograma calorimétrico de barrido diferencial (DSC) sustancialmente como se muestra en la fig. 14. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura de aparición de aproximadamente 265 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 268 °C y una temperatura de aparición de aproximadamente 265 °C en un termograma DSC. En una realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 265-268 °C. En cierta realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 268 °C.

En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene un espectro ¹HNMR sustancialmente como se muestra en la fig. 15.

- 55 En otra realización más, la Forma C del Compuesto 1 tiene un gráfico de sorción de vapor dinámica (DVS) sustancialmente como se muestra en la fig. 16.

En otra realización más, la Forma C del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En ciertas realizaciones, la Forma C sustancialmente pura del Compuesto 1 se encuentra sustancialmente libre de otras formas sólidas, *por ejemplo*, forma

amorfa. En ciertas realizaciones, la pureza de la Forma C sustancialmente pura del Compuesto 1 es no inferior a aproximadamente el 95 %, no inferior a aproximadamente el 96 %, no inferior a aproximadamente el 97 %, no inferior a aproximadamente el 98 %, no inferior a aproximadamente el 98,5 %, no inferior a aproximadamente el 99 %, no inferior a aproximadamente el 99,5 % o no inferior a aproximadamente el 99,8 %.

5 En una realización, en el presente documento se proporciona la Forma D del Compuesto 1. En una realización, la Forma D del Compuesto 1 es un solvato de DMSO. En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 es cristalina. En una realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la fig. 17. En una realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno o más picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 6,1, 6,5, 8,3, 10,2, 10,7, 11,0, 13,0, 14,0,
10 14,1, 16,6, 17,1, 18,2, 19,2, 19,6, 20,2, 20,7, 21,9, 22,7, 23,4, 23,8, 24,3, 24,8, 24,9, 25,4, 26,1, 26,3, 26,9, 27,2, 27,9, 28,6, 29,4, 29,7, 30,5, 31,3, 31,7, 32,4, 32,8, 33,4, 33,8, 34,2, 35,0, 35,7, 36,4, 37,3 o 39,0 grados. En una realización específica, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 6,5, 11,0, 14,0, 18,2, 19,6, 20,2, 21,9 o 23,4
15 grados. En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 11,0, 20,2, 21,9 o 23,4 grados. En otra realización, la Forma C del Compuesto uno tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo como se indica en la Tabla 5.

En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene un termograma termogravimétrico sustancialmente como se muestra en la fig. 18. En ciertas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el
20 30 %, menos de aproximadamente el 25 %, menos de aproximadamente el 20 % *por ejemplo*, aproximadamente el 19 %, de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 150 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 20 % de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 150 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 no muestra pérdida de peso hasta la degradación a
25 aproximadamente 120 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 es un solvato.

En otra realización más, la Forma D del Compuesto 1 tiene un termograma calorimétrico de barrido diferencial (DSC) sustancialmente como se muestra en la fig. 19. En ciertas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 269 °C en un termograma DSC. En ciertas
30 realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura de aparición de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 269 °C y una temperatura de aparición de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En una realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 268-269 °C. En cierta realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene una
35 temperatura de fusión de aproximadamente 269 °C.

En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene un espectro ¹HNMR sustancialmente como se muestra en la fig. 20.

En otra realización más, la Forma D del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En ciertas realizaciones, la Forma D sustancialmente pura del Compuesto 1 se encuentra sustancialmente libre de otras formas sólidas, *por ejemplo*, forma
40 amorfa. En ciertas realizaciones, la pureza de la Forma D sustancialmente pura del Compuesto 1 es no inferior a aproximadamente el 95 %, no inferior a aproximadamente el 96 %, no inferior a aproximadamente el 97 %, no inferior a aproximadamente el 98 %, no inferior a aproximadamente el 98,5 %, no inferior a aproximadamente el 99 %, no inferior a aproximadamente el 99,5 % o no inferior a aproximadamente el 99,8 %.

En una realización, en el presente documento se proporciona la Forma E del Compuesto 1. En una realización, la
45 Forma E del Compuesto 1 es un hidrato. En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 es cristalina. En una realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la fig. 21. En una realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene uno o más picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 3,5, 7,0, 9,3, 10,5, 12,1, 12,7, 15,3, 16,1, 18,6, 19,6, 21,5, 22,1, 23,2, 24,7, 25,5, 26,5 o 28,1 grados. En una realización específica, la Forma E del Compuesto
50 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 7,0, 9,3, 10,5, 12,7, 15,3, 18,6, 21,5 o 23,2 grados. En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos característicos de difracción de rayos X en polvo a un ángulo dos zeta de aproximadamente 9,3, 10,5, 15,3 o 18,6 grados. En otra realización, la Forma E del Compuesto uno tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos característicos de difracción de rayos X en polvo como se indica
55 en la Tabla 6.

En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene un termograma termogravimétrico sustancialmente como se muestra en la fig. 22. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el
60 10 %, menos de aproximadamente el 5 %, menos de aproximadamente el 4 % *por ejemplo*, aproximadamente el 3,1 %, de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 muestra menos de aproximadamente el 3,2 % de pérdida de

peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 muestra aproximadamente el 3,1 % de pérdida de peso entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 100 °C en un termograma termogravimétrico. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 es un hidrato. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 es no solvatada.

- 5 En otra realización más, la Forma E del Compuesto 1 tiene un termograma calorimétrico de barrido diferencial (DSC) sustancialmente como se muestra en la fig. 23. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 270 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura de aparición de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 tiene una endotermia con una temperatura máxima de aproximadamente 270 °C y una temperatura de aparición de aproximadamente 268 °C en un termograma DSC. En una realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 268-270 °C. En cierta realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 270 °C.

En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene un espectro ¹HNMR sustancialmente como se muestra en la fig. 24.

- En otra realización más, la Forma E del Compuesto 1 tiene un gráfico de sorción de vapor dinámica (DVS) sustancialmente como se muestra en la fig. 25. En otra realización más, la Forma E del Compuesto 1 es no higroscópica, *por ejemplo*, presenta una ganancia de masa de menos de aproximadamente el 4 % p/p de cuando se somete a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 80 % de humedad relativa (RH).
- 20 En otra realización, la Forma E del Compuesto presenta una ganancia de masa de aproximadamente el 1,1 % p/p de cuando se somete a un aumento de humedad de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 90 % de humedad relativa. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 presenta una ganancia de peso no mayor de aproximadamente el 10 % p/p, no mayor de aproximadamente el 7 % p/p, no mayor de aproximadamente el 6 % p/p, en peso en respuesta a un aumento de la humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 95 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 presenta aproximadamente el 5,8 % p/p de ganancia de peso en respuesta a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 95 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 presenta una ganancia de peso no mayor de aproximadamente el 10 % p/p, no mayor de aproximadamente el 5 % p/p, no mayor de aproximadamente el 46 % p/p, no mayor de aproximadamente el 3 % p/p en respuesta a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 50 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C. En ciertas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 presenta aproximadamente el 2,3 % p/p de ganancia de peso en respuesta a un aumento de humedad de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 50 % de humedad relativa a aproximadamente 25 °C.

En otra realización más, la Forma E del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En ciertas realizaciones, la Forma E sustancialmente pura del Compuesto 1 se encuentra sustancialmente libre de otras formas sólidas, *por ejemplo*, forma amorfa. En ciertas realizaciones, la pureza de la Forma E sustancialmente pura del Compuesto 1 es no inferior a aproximadamente el 95 %, no inferior a aproximadamente el 96 %, no inferior a aproximadamente el 97 %, no inferior a aproximadamente el 98 %, no inferior a aproximadamente el 98,5 %, no inferior a aproximadamente el 99 %, no inferior a aproximadamente el 99,5 % o no inferior a aproximadamente el 99,8 %.

40 En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma A del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en DMF, calentar y luego enfriar a temperatura ambiente, recoger los sólidos por filtración, lavar y secar. Procedimientos adicionales para realizar la Forma A se exponen en los ejemplos proporcionados en el presente documento.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma B del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en MeOH, calentar y luego enfriar a temperatura ambiente, recoger los sólidos por filtración, lavar y secar. En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma B del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en MeOH a aproximadamente 50 °C - 70 °C, enfriar rápidamente la solución (tal como colocándola en un refrigerador), recoger los sólidos por filtración después de aproximadamente 24 horas y secar al aire.

50 En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma C del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en una mezcla de MeOH y H₂O (1:1), calentar y luego enfriar a temperatura ambiente, recoger los sólidos por filtración, lavar y secar. En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma C del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en una mezcla de MeOH y H₂O (1:1) a aproximadamente 50 °C - 70 °C, enfriar rápidamente la solución (tal como colocándola en un refrigerador), recoger los sólidos por filtración después de aproximadamente 24 horas y secar al aire.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma C del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en una mezcla de EtOH y H₂O (1:1), calentar y luego enfriar a temperatura ambiente, recoger los sólidos por filtración, lavar y secar. En ciertas realizaciones, en el presente

documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma C del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en una mezcla de EtOH y H₂O (1:1) a aproximadamente 50 °C - 70 °C, enfriar rápidamente la solución (tal como colocándola en un refrigerador), recoger los sólidos por filtración después de aproximadamente 24 horas y secar al aire.

- 5 En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma D del Compuesto 1, que comprenden disolver el Compuesto 1 en DMSO, añadir MTBE, agitar la suspensión, recoger los sólidos por filtración, lavar y secar. En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para realizar la Forma D del Compuesto 1, que comprenden disolver completamente el Compuesto 1 en DMSO a temperatura ambiente, añadir MTBE a la mezcla con agitación durante la noche, recoger los sólidos por filtración y
- 10 secar al aire.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan procedimientos para fabricar la Forma E del Compuesto 1, que comprenden obtener una suspensión del Compuesto 1 en una mezcla 1:1 de MeOH y DCM, agitar la suspensión, recoger por filtración (tal como filtración centrífuga), opcionalmente lavar y secar.

- Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de heteroarilo pueden formarse mediante técnicas convencionales y conocidas, tales como mediante la reacción de un compuesto de heteroarilo con un ácido adecuado como se describe anteriormente. Tales sales se forman normalmente con altos rendimientos a temperaturas moderadas, y a menudo se preparan simplemente aislando el compuesto de un lavado ácido adecuado en la etapa final de la síntesis. El ácido formador de sal puede disolverse en un disolvente orgánico apropiado, o disolvente orgánico acuoso, tal como un alcohol, una cetona o un éster. Por otra parte, si el compuesto de heteroarilo se desea
- 15 en forma de base libre, puede aislarse de una etapa de lavado final básica, según técnicas conocidas. Por ejemplo, una técnica típica para preparar sal de clorhidrato es disolver la base libre en un disolvente adecuado y secar la solución a fondo, como en tamices moleculares, antes de burbujear gas de cloruro de hidrógeno a través de ella.
- 20

5.5 Procedimientos de uso (la Sección 5.5 se describe en el presente documento como referencia. El término "realización(es)" en esta sección significa "ejemplo(s)").

- 25 En el presente documento se describen procedimientos para tratar o prevenir un cáncer, que comprenden administrar una formulación del Compuesto 1 a un paciente que tiene un cáncer.

En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido avanzado no resecable, o una neoplasia maligna hematológica. Por ejemplo, la neoplasia maligna hematológica es CLL, NHL o MM. En algunas de tales realizaciones, el cáncer ha progresado con la terapia estándar contra el cáncer, o el paciente no puede tolerar la terapia estándar contra el cáncer.

- 30 En otras más, el cáncer es un cáncer para el cual no existe una terapia aprobada. En algunas realizaciones, el cáncer es resistente a la terapia estándar. En otras, el paciente ha recaído después de la terapia estándar. En una realización, el cáncer es una metástasis neoplásica.

En ciertas realizaciones, el cáncer es un tumor de transmisión sanguínea.

En ciertas realizaciones, el cáncer es un linfoma, una leucemia o un mieloma múltiple.

- 35 En ciertas realizaciones, el cáncer es un linfoma no Hodgkin. En ciertas realizaciones, el linfoma no Hodgkin es un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular (FL), leucemia mieloide aguda (AML), linfoma de células del manto (MCL), o linfoma anaplásico de células grandes ALK⁺. En una realización, el linfoma no Hodgkin es un linfoma no Hodgkin sólido avanzado. En una realización, el linfoma no Hodgkin es un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL).

- 40 En ciertas realizaciones, el cáncer es un linfoma de células B.

En ciertas realizaciones, el linfoma de células B es un linfoma no Hodgkin de células B seleccionado de entre el linfoma difuso de células B grandes, linfoma de Burkitt/leucemia, linfoma de células del manto, linfoma mediastínico (tímico) de células B grandes, linfoma folicular, linfoma de zona marginal (incluyendo linfoma de células B de zona marginal extranodal y linfoma de células B de zona marginal nodal), linfoma linfoplasmocítico/macroglobulinemia de

45 Waldenstrom. En algunas realizaciones, el linfoma de células B es leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico pequeño (CLL/SLL). En una realización, el linfoma de células B es macroglobulinemia de Waldenstrom.

En una realización, el cáncer es leucemia prolinfocítica de células T (T-PLL).

En una realización, el linfoma no Hodgkin de células B es un linfoma no Hodgkin de células B refractario. En una realización, el linfoma no Hodgkin de células B es un linfoma no Hodgkin de células B recidivante.

- 50 En ciertas realizaciones, el cáncer es un linfoma de células T.

Los trastornos de células B leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico pequeño (CLL/SLL) representan 2 extremos de un espectro del mismo proceso de enfermedad que difiere en el grado de implicación de la sangre/la médula ósea (CLL) frente a la implicación de los ganglios linfáticos (SLL).

En otra realización, el cáncer es CLL caracterizado por la eliminación del cromosoma 11q22, la pérdida de la expresión de ATM, la mutación de IgVH, la IgVH de tipo salvaje, la p53/ATM de tipo salvaje, la mutación de p53 o la p53 disfuncional.

5 En otra realización, el cáncer es T-PLL caracterizado por la eliminación del cromosoma 11q22, la pérdida de la expresión de ATM, la mutación de IgVH, la IgVH de tipo salvaje, la p53/ATM de tipo salvaje, la mutación de p53 o la p53 disfuncional.

En otras realizaciones, el cáncer es un mieloma múltiple.

10 En ciertas realizaciones, el cáncer es un cáncer de cabeza, cuello, ojo, boca, garganta, esófago, bronquio, laringe, faringe, tórax, hueso, pulmón, colon, recto, estómago, próstata, vejiga urinaria, útero, cuello uterino, mama, ovarios, testículos u otros órganos reproductores, piel, tiroides, sangre, ganglios linfáticos, riñón, hígado, páncreas y cerebro o sistema nervioso central.

En otras realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En ciertas realizaciones, el tumor sólido es un tumor sólido recidivante o refractario.

15 En una realización, el tumor sólido es un tumor neuroendocrino. En ciertas realizaciones, el tumor neuroendocrino es un tumor neuroendocrino de origen intestinal. En ciertas realizaciones, el tumor neuroendocrino es de origen no pancreático. En ciertas realizaciones, el tumor neuroendocrino es no pancreático de origen intestinal. En ciertas realizaciones, el tumor neuroendocrino es de origen primario desconocido. En ciertas realizaciones, el tumor neuroendocrino es un tumor productor endocrino sintomático o un tumor no funcional. En ciertas realizaciones, el tumor neuroendocrino es localmente no resecable, metastásico moderado, bien diferenciado, bajo (grado 1) o
20 intermedio (grado 2).

En una realización, el tumor sólido es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).

En otras realizaciones, el tumor sólido es glioblastoma multiforme (GBM).

En otra realización, el tumor sólido es carcinoma hepatocelular (HCC).

25 En otra realización, el tumor sólido es cáncer de mama. En una realización, el cáncer de mama es receptor de hormonas positivo. En una realización, el cáncer de mama es receptor de estrógeno positivo (ER+, ER+/Her2 o ER+/Her2+). En una realización, el cáncer de mama es receptor de estrógeno negativo (ER-/Her2+). En una realización, el cáncer de mama es triple negativo (TN) (cáncer de mama que no expresa los genes y/o proteínas correspondientes al receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR), y que no sobreexpresa la proteína Her2/neu).

30 En una realización, el tumor sólido es un tumor sólido avanzado.

En otra realización, el cáncer es carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

En otra realización, el cáncer es E-veintiséis (ETS) que sobreexpresa el cáncer de próstata resistente a la castración.

En otra realización, el cáncer es E-veintiséis (ETS) que sobreexpresa el sarcoma de Ewings.

35 En otra realización, el cáncer es carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) caracterizado por la eliminación del cromosoma 11q22 o la pérdida de la expresión del gen ataxia telangiectasia mutado (ATM).

En otra realización, el cáncer es glioblastoma multiforme (GBM) caracterizado por metilación de O6-metilguanina-ADN metiltransferasa (MGMT).

40 En otras realizaciones, el cáncer es un cáncer asociado con las vías que implican las quinasas mTOR, PI3K o Akt y mutantes o isoformas de las mismas. Otros cánceres dentro del alcance de los procedimientos descritos en el presente documento incluyen aquellos asociados con las vías de las siguientes quinasas: PI3K α , PI3K β , PI3K δ , KDR, GSK3 α , GSK3 β , ATM, ATX, ATR, cFMS y/o ADN-PK quinasas y mutantes o isoformas de las mismas. En algunas realizaciones, los cánceres asociados con las vías de mTOR/PI3K/Akt incluyen tumores sólidos y de transmisión sanguínea, por ejemplo, mieloma múltiple, linfoma de células del manto, linfoma difuso de células B grandes, linfoma mieloide agudo, linfoma folicular, leucemia linfocítica crónica; y tumores sólidos, por ejemplo, cáncer de mama, de pulmón, de
45 endometrio, de ovario, gástrico, cervical y de próstata; glioblastoma; carcinoma renal; carcinoma hepatocelular; carcinoma de colon; tumores neuroendocrinos; tumores de cabeza y cuello; y sarcomas, como el sarcoma de Ewing.

50 En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para lograr un Criterio de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (por ejemplo, RECIST 1.1) de respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en un paciente que tiene un tumor sólido, que comprende administrar una formulación del Compuesto 1 a dicho paciente. En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para lograr un Grupo de Trabajo Patrocinado por el Instituto Nacional del Cáncer sobre Leucemia Linfocítica Crónica (CLL NCI-WG) de respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en un paciente que tiene leucemia, que comprende

- administrar una formulación del Compuesto 1 a dicho paciente. En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para lograr los criterios del Grupo de trabajo 2 sobre el cáncer de próstata (PCWG2) de respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en un paciente que tiene cáncer de próstata, que comprende administrar una formulación del Compuesto 1 a dicho paciente. En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para lograr un Criterio de Seminario Internacional (IWC) para el linfoma no Hodgkin de respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en un paciente que tiene linfoma no Hodgkin, que comprende administrar una formulación del Compuesto 1 a dicho paciente. En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para lograr un Criterio Internacional de Respuesta Uniforme (IURC) para el mieloma múltiple de respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en un paciente que tiene mieloma múltiple, que comprende administrar una formulación del Compuesto 1 a dicho paciente. En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para lograr un Grupo de Trabajo de Evaluación de Respuestas para Neuro-oncología (RANO) para el glioblastoma multiforme de respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en un paciente que tiene glioblastoma multiforme, que comprende administrar una formulación de Compuesto 1 a dicho paciente.
- 15 En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para aumentar la supervivencia sin progresión de la enfermedad de un paciente que tiene un cáncer, que comprende administrar una formulación de Compuesto 1 a dicho paciente.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para tratar un cáncer, comprendiendo los procedimientos administrar una formulación del Compuesto 1 a un paciente que tiene un cáncer, donde el tratamiento da lugar a la prevención o el retraso de la progresión clínica, como la caquexia relacionada con el cáncer o el aumento del dolor.

En algunas realizaciones, en el presente documento se describen procedimientos para tratar un cáncer, comprendiendo los procedimientos administrar una formulación del Compuesto 1 a un paciente que tiene un cáncer, donde el tratamiento da lugar a uno o más de la inhibición de la progresión de la enfermedad, mayor tiempo hasta la progresión (TTP), aumento de la supervivencia libre de progresión (PFS) y/o aumento de la supervivencia general (OS), entre otros.

5.6 Composiciones farmacéuticas

Una forma sólida del Compuesto 1 elaborada mediante los procedimientos proporcionados en el presente documento es útil para la preparación de composiciones farmacéuticas, que comprenden una cantidad eficaz de una forma sólida del Compuesto 1 y un portador o vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, los procedimientos de la invención comprenden además la preparación de una composición, que comprende: (i) pesar la cantidad deseada de una forma sólida (Forma A, Forma B, Forma C, Forma D o Forma E) del Compuesto 1 o un isotópulo del mismo y la cantidad deseada de excipientes (como lactosa monohidrato, croscarmelosa sódica y/o celulosa microcristalina); (ii) mezclar o combinar la forma sólida del Compuesto 1 o el isotópulo del mismo y los excipientes; (iii) pasar la mezcla de la forma sólida del Compuesto 1 o el isotópulo del mismo y los excipientes a través de un tamiz (como un tamiz de malla 25); (iv) mezclar o combinar la forma sólida del Compuesto 1 o el isotópulo del mismo y los excipientes después del paso a través del tamiz; (v) pesar la cantidad deseada de agentes lubricantes (como ácido esteárico y estearato de magnesio); (vi) pasar los agentes lubricantes a través de un tamiz (como un tamiz de malla 35); (vii) mezclar o combinar la forma sólida del Compuesto 1 o el isotópulo del mismo, los excipientes y los agentes lubricantes; (viii) comprimir la mezcla de la forma sólida del Compuesto 1 o el isotópulo del mismo, los excipientes y los agentes lubricantes (como en forma de comprimido); y opcionalmente (ix) recubrir la mezcla comprimida de la forma sólida del Compuesto 1 o el isotópulo del mismo, los excipientes y los agentes lubricantes con un agente de recubrimiento (como Opadry rosa, amarillo o beis). En ciertas realizaciones, los procedimientos para preparar las composiciones se llevan a cabo en la oscuridad, bajo luz amarilla o en ausencia de luz UV. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en el presente documento es adecuada para administración oral, parenteral, mucosa, transdérmica o tópica.

En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma A del Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma B del Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma C del Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma D del Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma E del Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden tautómeros, isotópulos y estereoisómeros del Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

En una realización, los excipientes y vehículos farmacéuticamente aceptables se seleccionan de entre aglutinantes, diluyentes, desintegrantes y lubricantes. En otra realización, los excipientes y vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen además uno o más antioxidantes (por ejemplo, EDTA o BHT).

En ciertas realizaciones, los aglutinantes incluyen, pero no se limitan a, celulosa (*por ejemplo*, celulosa microcristalina, como AVICEL® PH 101 y AVICEL® PH 102) y almidón (*por ejemplo*, almidón pregelatinizado (STARCH 1500®)). En una realización, el aglutinante es celulosa. En otra realización, el aglutinante es celulosa microcristalina. En otra realización más, el aglutinante es AVICEL® PH 101. En otra realización más, el aglutinante es AVICEL® PH 102. En otra realización más, el aglutinante es almidón. En otra realización más, el aglutinante es almidón pregelatinizado. En otra realización más, el aglutinante es STARCH 1500®.

En ciertas realizaciones, los diluyentes incluyen, pero no se limitan a, lactosa (*por ejemplo*, lactosa monohidrato (FAST FLO® 316) y lactosa anhidra), celulosa (*por ejemplo*, celulosa microcristalina, como AVICEL® PH 101 y AVICEL® PH 102). En una realización, el diluyente es lactosa. En otra realización, el diluyente es lactosa monohidrato. En otra realización más, el diluyente es FAST FLO® 316. En otra realización más, el diluyente es lactosa anhidra. En otra realización más, el diluyente es celulosa. En otra realización más, el diluyente es celulosa microcristalina. En otra realización más, el diluyente es AVICEL® PH 101. En otra realización más, el diluyente es AVICEL® PH 102).

En ciertas realizaciones, los desintegrantes incluyen, pero no se limitan a, almidón (*por ejemplo*, almidón de maíz) y carboximetilcelulosa (*por ejemplo*, croscarmelosa sódica, como AC-DI-SOL®). En una realización, el desintegrante es almidón. En otra realización, el almidón es almidón de maíz. En otra realización más, el desintegrante es carboximetilcelulosa. En otra realización más, el desintegrante es croscarmelosa sódica. En otra realización más, el desintegrante es AC-DI-SOL®.

En ciertas realizaciones, los lubricantes incluyen, pero no se limitan a, almidón (*por ejemplo*, almidón de maíz), estearato de magnesio y ácido esteárico. En una realización, el lubricante es almidón. En otra realización, el lubricante es almidón de maíz. En otra realización más, el lubricante es estearato de magnesio. En otra realización más, el lubricante es ácido esteárico.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre carboximetilcelulosa, celulosa, lactosa, estearato de magnesio, almidón, ácido esteárico, manitol, glicolato de almidón sódico, EDTA disódico, hidroxitolueno butilado (BHT), y dióxido de silicio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina, lactosa monohidrato, croscarmelosa sódica, dióxido de silicio y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina, almidón de maíz (*por ejemplo*, almidón de maíz pregelatinizado), crospovidona, dióxido de silicio y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina, lactosa monohidrato, crospovidona, dióxido de silicio y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina, almidón de maíz (*por ejemplo*, almidón de maíz pregelatinizado), croscarmelosa sódica, dióxido de silicio y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (*por ejemplo*, PH112), glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, EDTA disódico y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (*por ejemplo*, PH112), glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado, EDTA disódico y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (*por ejemplo*, PH112), glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado, EDTA disódico y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre lactosa, glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado, EDTA disódico y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (*por ejemplo*, PH112), glicolato sódico de almidón, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado, EDTA disódico y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (por ejemplo, PH112), glicolato sódico de almidón, dióxido de silicio, ácido esteárico y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (por ejemplo, PH112), glicolato sódico de almidón, dióxido de silicio, ácido esteárico, hidroxitolueno butilado y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (por ejemplo, PH112), glicolato sódico de almidón, dióxido de silicio, ácido esteárico, EDTA disódico y estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre manitol, celulosa microcristalina (por ejemplo, PH112), glicolato sódico de almidón, dióxido de silicio, ácido esteárico, EDTA disódico, hidroxitolueno butilado y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), manitol, caboximetilcelulosa de sodio y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), almidón pregelatinizado, carboximetilcelulosa de sodio y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), lactosa monohidrato, caboximetilcelulosa de sodio y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), manitol, caboximetilcelulosa de sodio y estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), almidón pregelatinizado, carboximetilcelulosa de sodio, estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 1 y uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, cada uno seleccionado independientemente de entre celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), monohidrato de lactosa, caboximetilcelulosa de sodio y estearato de magnesio.

En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 10-20 % en peso de Compuesto 1, aproximadamente el 70-90 % en peso de diluyente(s)/aglutinante(s), aproximadamente el 1-5 % en peso de desintegrante(s) y aproximadamente el 0,1-2 % en peso de lubricante(s).

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 0,5 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 63,75 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente el 30 % en peso de lactosa monohidrato, aproximadamente el 4 % en peso de croscarmelosa sódica, aproximadamente el 1 % en peso de dióxido de silicio y aproximadamente el 0,75 % en peso de estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 0,5 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 83,75 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente el 10 % en peso de almidón de maíz (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado), aproximadamente el 4 % en peso de crospovidona, aproximadamente el 1 % en peso de dióxido de silicio y aproximadamente el 0,75 % en peso de estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 5 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 59,25 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente el 30 % en peso de lactosa monohidrato, aproximadamente el 4 % en peso de crospovidona, aproximadamente el 1 % en peso de dióxido de silicio y aproximadamente el 0,75 % en peso de estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 5 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 79,25 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente el 10 % en peso de almidón de maíz (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado), aproximadamente el 4 % en peso de croscarmelosa sódica, aproximadamente el 1 % en peso de dióxido de silicio y aproximadamente el 0,75 % en peso de estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 0,5 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 84 % en peso de manitol, aproximadamente el 10 % en peso de celulosa microcristalina (por ejemplo, PH112), aproximadamente el 3 % en peso de glicolato sódico de almidón, aproximadamente el 1 % en peso de ácido esteárico, aproximadamente el 0,5 % en peso de EDTA disódico y aproximadamente el 1% en peso de estearato de magnesio. En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 0,5 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 94,1 % en peso de manitol, aproximadamente el 3 % en peso de glicolato sódico de almidón, aproximadamente el 1 % en peso de ácido esteárico, aproximadamente el 0,4 % en peso de hidroxitolueno butilado y aproximadamente el 1 % en peso de estearato de magnesio. En otra realización, las

1 y aproximadamente el 75,3 % en peso de celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), aproximadamente el 20 % en peso de almidón pregelatinizado, aproximadamente el 3 % en peso de carboximetilcelulosa de sodio, aproximadamente el 1 % en peso de estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 0,7 % en peso de Compuesto 5 1 y aproximadamente el 38,1 % en peso de celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), aproximadamente el 57,2 % en peso de lactosa monohidrato, aproximadamente el 3 % en peso de carboximetilcelulosa de sodio y aproximadamente el 1 % en peso de estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 25 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 28,4 % en peso de celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), aproximadamente el 42,6 % 10 en peso de manitol, aproximadamente el 3 % en peso de carboximetilcelulosa de sodio y aproximadamente el 1% en peso de estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 25 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 51 % en peso de celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), aproximadamente el 20 % 15 en peso de almidón pregelatinizado, aproximadamente el 3 % en peso de carboximetilcelulosa de sodio, aproximadamente el 1 % en peso de estearato de magnesio.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente el 25 % en peso de Compuesto 1 y aproximadamente el 28,4 % en peso de celulosa microcristalina (por ejemplo, PH 102), aproximadamente el 42,6 % en peso de lactosa monohidrato, aproximadamente el 3 % en peso de carboximetilcelulosa de sodio y aproximadamente el 1 % en peso de estearato de magnesio.

20 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden un recubrimiento opaco. Sin estar limitado por la teoría, se encontró que un recubrimiento más opaco protegía el producto farmacológico de la degradación. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se formula como un comprimido. En algunas de tales realizaciones, el comprimido está recubierto con película. En algunas realizaciones, el comprimido está recubierto con película hasta una ganancia de peso del 1-8 %. En otras, el recubrimiento de película es aproximadamente el 4 % en peso del 25 comprimido.

En ciertas realizaciones, en las composiciones farmacéuticas, las cantidades de los componentes citados pueden variarse independientemente en el 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 %.

Las composiciones farmacéuticas pueden proporcionarse en una forma de dosificación unitaria o en una forma de dosificación múltiple. Una forma de dosificación unitaria, como se utiliza en el presente documento, se refiere a una 30 unidad físicamente discreta adecuada para la administración a un sujeto humano y un sujeto animal, y envasada individualmente como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de un ingrediente o ingredientes activos suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con los vehículos o excipientes farmacéuticos requeridos. Ejemplos de una forma de dosificación unitaria incluyen un comprimido o una cápsula envasada individualmente. Una forma de dosificación unitaria puede administrarse en 35 fracciones o múltiplos de la misma. Una forma de dosificación múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitaria idénticas envasadas en un único recipiente que han de ser administradas en forma de dosis unitaria segregada.

En otra realización, las formulaciones de dosificación unitaria comprenden entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 1 mg y 200 mg, aproximadamente 35 mg y aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 125 mg y aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 250 mg y aproximadamente 1000 mg, o 40 aproximadamente 500 mg y aproximadamente 1000 mg de una forma sólida del Compuesto 1, o un isotópologo del mismo.

En una realización particular, la formulación de dosificación unitaria comprende aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 0,25 mg, aproximadamente 0,5 mg, aproximadamente 1 mg, aproximadamente 2,5 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 7,5 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 10 mg, 45 aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 300 mg, 50 aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 1000 mg o aproximadamente 1400 mg de un DHPP. En una realización particular, las formulaciones de dosificación unitaria comprenden aproximadamente 2,5 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 7,5 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, 55 aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg o aproximadamente 100 mg del Compuesto 1, o un tautómero, isotópologo o estereoisómero del mismo. En un ejemplo particular, en el presente documento se proporcionan formulaciones de dosificación unitaria que comprenden aproximadamente 5 mg, aproximadamente 7,5 mg,

aproximadamente 8 mg y aproximadamente 10 mg.

En algunos ejemplos, una forma de dosificación unitaria que comprende el Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, isotópico o forma sólida del mismo puede administrarse una vez al día (QD), dos veces al día (BID), tres veces al día, cuatro veces al día o más a menudo.

- 5 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma A del Compuesto 1, que incluye la Forma A sustancialmente pura.

6. Ejemplos

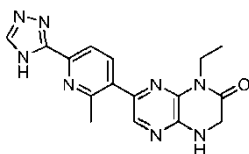
Los siguientes ejemplos se proporcionan a título de ilustración, no de limitación. En las descripciones y los ejemplos se utilizan las siguientes abreviaturas:

- 10 AmPhos: p-dimetilamino fenilditbutilfosfina
 Boc: tert-butoxicarbonilo
 dba: dibencilidenacetona
 DIPEA: N,N-diisopropiletilamina
 DMSO: Dimetilsulfóxido
- 15 EDTA: Etilendiaminotetraacetato o ácido etilendiaminotetraacético
 ESI: Ionización por electrodispersión
 HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento
 mp: Punto de fusión
 MS: Espectrometría de masas
- 20 Ms: mesilato o metanosulfonilo
 NBS: N-Bromosuccinimida
 NMR: Resonancia magnética nuclear
 NMP: N-metilpirrolidinona
 Tf: triflato o trifluorometanosulfonilo
- 25 TFA: Ácido trifluoroacético
 TLC: Cromatografía en capa fina
 MTBE: metil tert-butil-éter

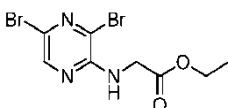
6.1 Ejemplos sintéticos

- Los siguientes ejemplos sintéticos no limitativos muestran procedimientos para la preparación de compuestos proporcionados en el presente documento. Se utilizó Chem-4D Draw (ChemInnovation Software, Inc., San Diego, CA) o ChemDraw Ultra (Cambridgesoft, Cambridge, MA) para generar nombres para estructuras químicas.

Ejemplo 1: 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona

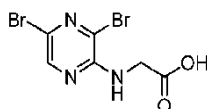


A. Etil 2-(3,5-dibromopirazin-2-ilamino)acetato.



La amino-3,5-dibromopirazina (1 equiv.) en dimetilformamida se enfrió a 0 °C y se trató con carbonato de cesio (1,3 equiv.) y cloroacetato de etilo (1,2 equiv.). La solución se calentó a 25 °C y se calentó aún más a 65 °C. La mezcla de reacción se enfrió a 25°C, filtrada y el sólido se lavó con dimetilformamida. El filtrado se añadió a agua con hielo y se agitó la suspensión. El sólido resultante se aisló, se lavó con agua y se secó. El producto bruto se disolvió en metil t-butil éter con calentamiento, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró hasta secarse. El sólido se disolvió en acetato de etilo y se concentró hasta una suspensión espesa. El producto se trituró con 2 % de acetato de etilo en heptano, se filtró, se lavó con heptano y se secó para producir el compuesto de título como un sólido. MS (ESI) m/z 337,8 [M-1]⁺, 339,8 [M+1]⁺, 341,8 [M+3]⁺..

B. Ácido 2-((3,5-dibromopirazin-2-il)amino)acético y etilamina

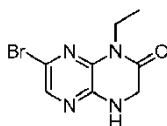


10

Se combinaron acetato de etilo 2-((3,5-dibromopirazin-2-il)amino) (1 equiv.), tetrahidrofurano e hidróxido de sodio en agua (1,1 equiv.) y se agitaron a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se trató con ácido fosfórico diluido (1,9 equiv.) y heptano. La capa orgánica se concentró hasta aproximadamente el 75 % de su volumen original y se destiló aún más con adición de heptano hasta que la mezcla de reacción estuvo a 80 °C. La solución se trató con semilla y la destilación con adición de heptano se continuó hasta alcanzar 85 °C. La suspensión se enfrió y se filtró, y los sólidos se lavaron con heptano y se secaron para obtener ácido 2-((3,5-dibromopirazin-2-il)amino)acético como un sólido. MS (ESI) m/z 309,9 [M+1].

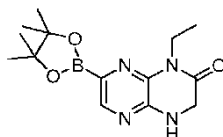
15

C. 7-bromo-1-etil-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.



20 El ácido 2-((3,5-dibromopirazin-2-il)amino)acético y etilamina (4 equiv, solución al 70 % en peso) se combinaron en agua y la mezcla se agitó a 90 °C. La mezcla de reacción se enfrió a 80 °C y se trató con ácido fosfórico (4 equiv.), y la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y los sólidos se recogieron por filtración. El producto se secó para obtener 7-bromo-1-etil-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona como un sólido. MS (ESI) m/z 256.9

D. 1-etil-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.



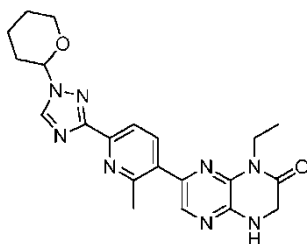
25

Una mezcla de 7-bromo-1-etil-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (1 equiv.), bis(pinacolato)diboro (1,5 equiv.) y acetato de potasio (3,0 equiv.) se combinaron en tetrahidrofurano. La reacción se calentó hasta el reflujo, se enfrió, se trató con PdCl₂Amphos₂ (0,001 equiv.) y se calentó hasta el reflujo. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos recogidos se lavaron con tetrahidrofurano. El filtrado se trató con carbón activado a 50 °C, se filtró, se trató con carbón activado a 50 °C por segunda vez y se filtró. El filtrado se concentró al 20 % del volumen original, se enfrió y se trató con heptano. Los sólidos resultantes se recogieron por filtración, se lavaron y se secaron para obtener 1-etil-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona como un sólido blanco.

30

E. 1-Etil-7-(2-metil-6-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.

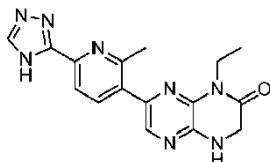
35



Una porción de 1-etil-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (1 equiv.), 3-bromo-2-metil-6-(1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina (0,95 equiv), hidrogenocarbonato

de potasio (2,3 equiv.) y PdCl₂Amphos₂(0,001 equiv.) se trataron con una mezcla de tetrahidrofurano y agua, y la mezcla de reacción se calentó a 55 °C. La mezcla de reacción se enfrió y la capa orgánica se trató con carbón activado a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se destiló al 70 % de su volumen original, se enfrió, se trató con agua, se sembró y se trató con agua adicional. Los sólidos se filtraron y se lavaron con tetrahidrofurano/agua y se secaron para obtener 1-etil-7-(2-metil-6-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona como un sólido.

F. 1-Etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.



Una porción de 1-etil-7-(2-metil-6-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (1 equiv.), hidroxitolueno butilado (0,002 equiv.), alcohol reactivo (90 % de etanol, 5 % de metanol, 5 % de isopropanol), y cloruro de hidrógeno acuoso diluido (1 equiv.) se combinaron y se calentaron a 60 °C. La mezcla de reacción se enfrió a 45 °C, se neutralizó con hidróxido de amonio acuoso diluido y se filtró. Los sólidos recogidos se lavaron con una mezcla de alcohol reactivo/agua y se secaron para obtener 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona crudo como un sólido. 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona crudo (1 equiv.), hidroxitolueno butilado (0,002 equiv.), alcohol reactivo (90 % de etanol, 5 % de metanol, 5 % de isopropanol) y agua (4:1) y cloruro de hidrógeno acuoso diluido (2 equiv.) se combinaron y se calentaron a 45 °C, se trataron con un captador de metales (SiliaBond®Tiol) (10 % en peso), se calentaron a 60 °C, se enfriaron a 45 °C y se filtraron. El filtrado se trató con carbón activado (10 % en peso), se calentó a 45 °C y se filtró. El filtrado se calentó a 45 °C, se trató con hidróxido de amonio acuoso diluido, se sembró con la Forma A cristalina, se trató con hidróxido de amonio acuoso diluido adicional, se enfrió y se filtró. Los sólidos recogidos se lavaron con una mezcla de alcohol reactivo/agua y se secaron para obtener 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona como la Forma A.

G. 1-Etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (Estrategia alternativa) 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona (1 equiv.) crudo e hidroxitolueno butilado (0,002 equiv.) en una mezcla de 1-propanol y agua (1,1) se trataron con cloruro de hidrógeno acuoso diluido (2,5 equiv.), se trataron con un captador de metales (SiliaBond®Tiol) (10 % en peso) y se filtraron. El filtrado se trató con carbón activado (10 % en peso) y se filtró. La solución se cargó en una solución de hidróxido de amonio acuoso diluido a 60 °C, y la mezcla de reacción se enfrió, se filtró y se lavó con 1-propanol/agua para obtener 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona como la Forma A.

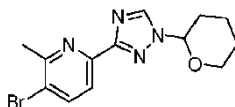
H. 1-Etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (Estrategia alternativa) 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazina-2(1H)-ona (1 equiv.) crudo e hidroxitolueno butilado (0,002 equiv.) en una mezcla de 1-propanol y agua (1:1) se trataron con cloruro de hidrógeno acuoso diluido (2 equiv.). La solución se trató con un captador de metales (SiliaBond®Tiol) (10 % en peso) y se filtró. El filtrado se trató con carbón activado (10 % en peso) y se filtró. El filtrado se trató con una solución de hidróxido de amonio acuoso diluido a 45 °C, se sembró, se trató con solución de NH₄OH acuoso diluido adicional, se enfrió, se filtró y se lavó con 1-propanol/agua para obtener 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona como la Forma A.

MS (ESI) m/z 337,6 [M+1]⁺¹³C NMR (75MHz, DMSO-d₆) d = 164,1, 160,9, 155,8, 155,4, 153,4, 152,0, 144,3, 142,9, 137,6, 137,1, 136,5, 135,2, 134,7, 133,2, 132,0, 119,1, 118,8, 45,7, 34,4, 23,9, 12. ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) d = 14,62 (br. s., 4 H), 14,26 (br. s., 2 H), 8,68 (br. s., 2 H), 8,09 (br. s., 4 H), 8,04 - 7,82 (m, 18 H), 7,72 (br. s., 6 H), 4,28 - 4,17 (m, 12 H), 4,05 (d, J = 7,2 Hz, 9 H), 4,13 - 3,93 (m, 3 H), 3,35 (br. s., 2 H), 2,73 (br. s., 18 H), 1,18 (t, J = 7,0 Hz, 19 H), 1,06 (s, 1 H)

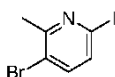
Ejemplo 2: Síntesis de bloques de construcción

Los siguientes bloques de construcción se prepararon y utilizaron en las preparaciones como se describe en el presente documento, o variaciones conocidas en la técnica de los mismos.

3-Bromo-2-metil-6-(1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina

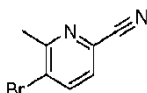


A. 3-Bromo-6-yodo-2-metilpiridine.



Se combinaron yoduro de sodio (2 equiv.) y 3,6-dibromo-2-metilpiridina (1 equiv.) en propionitrilo y la suspensión resultante se trató con yodotrimetilsilano (0,2 equiv.) y se calentó a 95 °C, con agitación, bajo nitrógeno durante 24 h. La suspensión se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con una mezcla 1:1 de acetato de etilo y agua y se separaron las fases acuosa y orgánica. La capa orgánica se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, tiosulfato de sodio (5 % de solución acuosa) y solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se secó, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto deseado, como un aceite, que cristalizó en un sólido. MS (ESI) m/z 297,8 $[M]^+$, 299,8 $[M+2]^+$.

B. 5-Bromo-6-metilpicolinonitrilo.

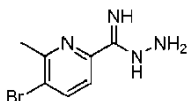


10

Se combinaron 3-bromo-6-yodo-2-metilpiridina (1 equiv.) y acetonitrilo y se añadieron cianuro de cobre (0,5 equiv.), cianuro de sodio (0,8 equiv.). La suspensión de reacción se calentó a 80 °C durante 24 h. La solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con hidróxido de amonio (solución acuosa 0,5 M). La mezcla se agitó durante 15-30 minutos, se filtró a través de tierra de diatomeas y la torta del filtro se lavó con acetato de etilo. El filtrado y el lavado se combinaron y diluyeron con acetato de etilo. Las fases acuosa y orgánica se separaron y la capa orgánica se lavó con hidróxido de amonio (solución acuosa 0,5 M) y cloruro de sodio acuoso saturado, se secó, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 5-bromo-6-metilpicolinonitrilo como a. MS (ESI) m/z 196,9 $[M]^+$, 198,9 $[M+2]^+$.

15

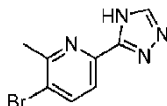
C. 5-Bromo-6-metilpicolinimidohidrazida.



20

Se añadió monohidrato de hidrazina (2 equiv.) a una suspensión en agitación 1,2 M de 5-bromo-6-metilpicolinonitrilo (1 equiv.) en etanol. La mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 24 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido recogido se lavó con etanol y *t*-butil metil éter. El sólido se secó al vacío para proporcionar el compuesto de título, como un sólido. MS (ESI) m/z 228,9 $[M]^+$, 230,9 $[M+2]^+$.

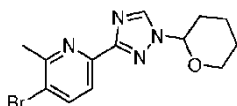
25 D. 3-bromo-2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina.



Se combinaron 5-bromo-6-metilpicolin-imido-hidrazida (1 equiv.) y ácido fórmico (15 equiv.) y se calentaron a 100 °C durante 6 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con metanol. La suspensión resultante se concentró parcialmente a presión reducida y la mezcla resultante se diluyó con metanol y se concentró parcialmente a presión reducida. Los sólidos resultantes se recogieron por filtración, se lavaron con agua y se secaron para proporcionar el producto deseado, como un sólido. MS (ESI) m/z 238,9 $[M]^+$, 240,9 $[M+2]^+$.

30

E. 3-bromo-2-metil-6-(1-(tetrahydro-2H-pirano-2-il)-1H-1,2,4-triazol-3-il)piridina



3-bromo-2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridina (1 equiv.), 3,4-dihidro-2H-pirano (2 equiv.) y ácido metanosulfónico (0,1 equiv.) se combinaron en tetrahidrofurano. La reacción se calentó a 68 °C durante 3,5 h, se coló a temperatura ambiente y se trató con trietilamina (0,4 equiv.). La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se trató con acetonitrilo y se concentró a presión reducida a 35 °C. El residuo se disolvió en acetonitrilo (1 volumen) y agua (2,25 volúmenes), y los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con una solución de acetonitrilo al 20 % en agua y se secaron. El producto bruto se trituró con hexanos, se filtró, se lavó con hexanos y se secó para proporcionar el producto deseado, como un sólido. MS (ESI) m/z 324,9 $[M+2]^+$.

40

6.2 Formas solidas

6.2.1 Selección de polimorfos

Se realizó una selección de polimorfos del Compuesto 1 para investigar si podrían generarse diferentes formas sólidas en diversas condiciones, tales como diferentes disolventes, cambios de temperatura y de humedad. Se encontraron un total de cinco formas cristalinas. Se encontró que la Forma A era una forma cristalina anhidra y no higroscópica estable que se funde a aproximadamente 270 °C. Se encontró que las formas B, C y E eran hidratos. Se encontró que la Forma D era un solvato de DMSO.

Tabla 1. Caracterización física de formas sólidas del Compuesto 1

Forma	Disolvente de cristalización representativo	XRPD/ morfología	Picos de DSC (°C)	Pérdida de TGA (% en peso)	Agua por KF (% p/p)	Sorción de humedad (% en peso a 90 % de RH)	Comentario
A	Material de partida, diversas condiciones.	cristalina irregular	269,6	0,01	n/a	0,4	anhidrato
B	Metanol	agujas cristalinas	98,4, 133,8, 143,5 [^] , 158,8 [^] , 267,8	9,48	11,2	20,7	hidrato
C	MeOH/agua EtOH/agua	agujas cristalinas	95,6, 122,7, 135,9 [^] , 270,3	9,82	12,8	12,2	dihidrato
D	DMSO/MTBE DMSO/EtOAc	escama cristalina	141,4, 269,0	18,6	n/a	n/a	solvato
E	suspensión de MeOH/DCM	cristalina	65,4, 180,4 [^] , 268,0	3,14, 2,07	4,8	5,9	hidrato
^ Pico exotérmico en traza de DSC; n/a: no analizado							

10 Forma A

El patrón de XRPD, el hábito del cristal, los termogramas de TGA y de DSC de la Forma A del Compuesto 1 se muestran en las figuras 2-4. Se encontró que la Forma A perdía hasta el 0,01 % de compuestos volátiles durante el análisis de TGA a 100 °C y presentó un solo pico de fusión a 269,6 °C. El comportamiento de sorción/desorción de humedad de la Forma A se determinó mediante DVS y los resultados se resumen en la figura 5. La Forma A presentó un cambio de masa del 0,46 % en relación con la masa seca cuando la humedad relativa se incrementó de 0 a 95 %. Esto indicó que el material no es higroscópico. Después de someterse al ciclo completo de adsorción/desorción, el difractograma de XRPD de la muestra mostró que el material no había cambiado desde la Forma A inicial. Basándose en estos estudios de caracterización y los descritos a continuación, se encontró que la Forma A era un material cristalino anhidro y no higroscópico estable.

20 Tabla 2. Picos de difracción de rayos X para la Forma A del Compuesto 1

Ángulo dos zeta (°) (los números entre paréntesis no están redondeados)	d Espacio (Å)	Intensidad relativa (%)
8,0 (7,96)	11,1039	7,4
9,8 (9,81)	9,0136	100,0
12,0 (11,99)	7,3830	33,8
15,9 (15,93)	5,5636	15,4
17,4 (17,37)	5,1060	8,7
17,9 (17,95)	4,9415	27,7
18,3 (18,35)	4,8356	3,8

(continuación)

19,5 (19,51)	4,5506	3,9
21,6 (21,61)	4,1131	3,9
21,9 (21,91)	4,0565	8,3
22,3 (22,29)	3,9877	6,0
24,0 (23,97)	3,7132	1,5
25,2 (25,19)	3,5357	21,4
26,4 (26,39)	3,3748	4,5
26,5 (26,48)	3,3657	5,6
27,1 (27,08)	3,2932	11,5
28,0 (27,96)	3,1917	5,0
29,4 (29,45)	3,0335	2,9
30,1 (30,09)	2,9701	2,7
31,3 (31,29)	2,8583	1,5
32,1 (32,14)	2,7852	1,6
36,4 (36,44)	2,4657	3,7
38,6 (38,65)	2,3297	2,0
39,4 (39,38)	2,2881	1,5

Forma B

La Forma B tenía un patrón de XRPD cristalino como se muestra en la figura 7. Los termogramas de TGA y de DSC de la Forma B se muestran en las figuras 8 y 9, respectivamente. Se encontró que la Forma B perdía hasta el 9,48 % de compuestos volátiles durante el análisis de TGA a 150 °C y presentaba múltiples eventos endo y exotérmicos antes de la fusión final a 267,8 °C, lo que indica un solvato o hidrato. El espectro ¹H NMR de la muestra de la Forma B no mostró señales de solvente orgánico, lo que sugiere que la Forma B lo más probablemente era un hidrato (figura 10). La muestra de la Forma B se analizó adicionalmente mediante KF y mostró el 11,2 % en peso de agua, confirmando un hidrato.

Tabla 3. Picos de difracción de rayos X para la Forma B del Compuesto 1

Ángulo dos zeta (°) (los números entre paréntesis no están redondeados)	d Espacio (Å)	Intensidad relativa (%)
4,9 (4,92)	17,9597	36,3
7,5 (7,52)	11,7609	80,1
8,6 (8,57)	10,3161	39,4
10,4 (10,42)	8,4877	100,0
10,9 (10,92)	8,0986	17,0
11,7 (11,71)	7,5559	64,5
12,1 (12,11)	7,3062	23,1
12,7 (12,74)	6,9469	27,4
14,4 (14,43)	6,1398	9,1
15,0 (15,02)	5,8970	6,6
16,2 (16,25)	5,4557	13,2
17,5 (17,55)	5,0541	9,7
17,9 (17,94)	4,9456	33,5
18,5 (18,54)	4,7852	8,0
19,9 (19,92)	4,4563	6,1
20,4 (20,39)	4,3547	6,8

21,9 (21,93)	4,0527	12,0
22,4 (22,42)	3,9653	15,0
23,6 (23,59)	3,7709	12,4
24,5 (24,53)	3,6291	18,6
25,5 (25,53)	3,4898	24,5
26,4 (26,41)	3,3752	9,9
27,3 (27,28)	3,2694	16,0
29,0 (29,03)	3,0762	5,1
29,8 (29,79)	2,9994	6,8
30,5 (30,47)	2,9337	6,3

Forma C

La forma C se obtuvo de la recristalización en MeOH/agua o EtOH/agua. La Forma C tenía un patrón de XRPD cristalino como se muestra en la figura 12. Los termogramas TGA y DSC de la Forma C se muestran en las figuras 13 y 14, respectivamente. Se encontró que la Forma C perdía hasta el 9,82 % de compuestos volátiles durante el análisis de TGA a 150 °C y presentaba múltiples eventos endo y exotérmicos antes de la fusión a aproximadamente 270,3 °C, lo que indica un solvato o hidrato. El espectro ¹H NMR de la muestra de la Forma C cristalizada a partir de EtOH/agua no mostró señales de solvente orgánico, lo que sugiere que la Forma C lo más probablemente era un hidrato. Véase la figura 15.

10 Tabla 4. Picos de difracción de rayos X para la Forma C del Compuesto 1

Ángulo dos zeta (°) (los números entre paréntesis no están redondeados)	d Espacio (Å)	Intensidad relativa (%)
5,9 (5,86)	15,0746	5,2
6,1 (6,07)	14,5697	3,9
7,4 (7,42)	11,9142	8,8
9,3 (9,35)	9,4565	56,0
11,7 (11,75)	7,5317	100,0
12,2 (12,16)	7,2798	5,6
12,3 (12,30)	7,1935	3,6
14,4 (14,39)	6,1570	3,1
14,7 (14,67)	6,0405	1,7
17,3 (17,34)	5,1129	6,0
17,9 (17,92)	4,9504	3,2
18,3 (18,27)	4,8550	1,0
18,7 (18,75)	4,7329	2,4
19,9 (19,94)	4,4535	10,4
23,7 (23,67)	3,7597	8,5
24,0 (24,00)	3,7080	5,5
24,3 (24,35)	3,6552	1,9
25,0 (25,03)	3,5576	1,7
25,7 (25,73)	3,4627	1,4
26,2 (26,22)	3,3986	3,1
26,5 (26,52)	3,3611	2,5
27,1 (27,15)	3,2851	1,0
28,3 (28,28)	3,1537	4,3
28,4 (28,36)	3,1518	3,5
28,9 (28,87)	3,0905	2,6

29,6 (29,64)	3,0111	1,4
29,9 (29,95)	2,9814	2,6
30,3 (30,34)	2,9436	1,6
31,1 (31,15)	2,8691	2,3
31,6 (31,56)	2,8322	2,0
34,8 (34,85)	2,5723	3,6
35,1 (35,08)	2,5560	3,3

Forma D

La Forma D se obtuvo a partir de la cristalización con disolvente/antisolvente a partir de DMSO/MTBE o DMSO/EtOAc. La Forma D tenía un patrón de XRPD cristalino como se muestra en la figura 17. Los termogramas TGA y DSC de la Forma D se muestran en las figuras 18 y 19, respectivamente. Se encontró que la Forma D perdía hasta el 18,6 % de compuestos volátiles durante el análisis de TGA a 150 °C y presentaba un proceso de desolvatación a aproximadamente 140 °C, lo que indica un solvato o hidrato. El espectro de ¹H NMR de la muestra de la Forma D mostró aproximadamente un equivalente molar (es decir, 18,9 % en peso) de DMSO (figura 20), consistente con la pérdida de peso de TGA observada. Estos resultados sugirieron que la Forma D era un solvato de DMSO.

10 Tabla 5. Picos de difracción de rayos X para la Forma D del Compuesto 1

Ángulo dos zeta (°) (los números entre paréntesis no están redondeados)	d Espacio (Å)	Intensidad relativa (%)
6,1 (6,07)	14,5687	7,6
6,5 (6,55)	13,5026	37,3
8,3 (8,29)	10,6607	22,3
10,2 (10,21)	8,6616	19,9
10,7 (10,72)	8,2534	31,7
11,0 (11,04)	8,0126	78,9
13,0 (13,05)	6,7853	25,0
14,0 (14,02)	6,3152	37,3
14,1 (14,14)	6,2654	35,7
16,6 (16,57)	5,3500	28,7
17,1 (17,10)	5,1855	10,2
18,2 (18,18)	4,8794	41,1
19,2 (19,24)	4,6121	7,1
19,6 (19,58)	4,5347	43,3
20,2 (20,24)	4,3881	100,0
20,7 (20,71)	4,2894	25,8
21,9 (21,94)	4,0513	78,1
22,7 (22,66)	3,9243	31,7
23,4 (23,44)	3,7948	45,8
23,8 (23,81)	3,7369	25,6
24,3 (24,34)	3,6570	30,9
24,8 (24,85)	3,5796	22,8
24,9 (24,91)	3,5742	22,9
25,4 (25,44)	3,5007	27,6
26,1 (26,09)	3,4159	30,1
26,3 (26,30)	3,3885	22,5
26,9 (26,91)	3,3133	18,5
27,2 (27,22)	3,2764	11,1

27,9 (27,94)	3,1934	4,0
28,6 (28,65)	3,1161	9,6
29,4 (29,39)	3,0386	3,7
29,7 (29,69)	3,0090	3,0
30,5 (30,48)	2,9331	13,5
31,3 (31,31)	2,8567	8,8
31,7 (31,66)	2,8258	5,9
32,4 (32,43)	2,7612	3,3
32,8 (32,84)	2,7271	10,2
33,4 (33,40)	2,6826	31,0
33,8 (33,85)	2,6483	2,5
34,2 (34,19)	2,6227	2,1
35,0 (34,98)	2,5653	9,3
35,7 (35,66)	2,5181	3,5
36,4 (36,43)	2,4666	8,6
37,3 (37,31)	2,4104	3,6
39,0 (39,03)	2,3080	7,6

Forma E

La forma E se obtuvo a partir de una suspensión de la forma A en MeOH/DCM (1:1). La Forma E tenía un patrón de XRPD cristalino como se muestra en la figura 21. Los termogramas TGA y DSC de la Forma D se muestran en las 5 figuras 22 y 23, respectivamente. La Forma E mostró pérdidas de peso en dos etapas por TGA: 3,14% en peso entre 30-90 °C y 2,10 % en peso entre 90 y 210 °C. La primera pérdida de peso correspondió a una amplia endoterma DSC a aproximadamente 60 °C. La segunda pérdida de peso parece coincidir con la exoterma DSC a aproximadamente 180 °C. El espectro ¹H NMR de la Forma E fue consistente con la estructura del COMPUESTO 1 y no mostró una cantidad significativa de disolvente orgánico. El análisis KF de la muestra de la Forma E mostró el 4,8 % en peso de 10 agua. Estos resultados sugerían que la forma E es lo más probable es que sea un hidrato y no un solvato. El contenido de agua y la pérdida de peso total de TGA coincidieron con un monohidrato del Compuesto 1 que tiene un contenido de agua teórico del 5,1 % en peso.

Tabla 6. Picos de difracción de rayos X para la Forma E del Compuesto 1

Ángulo dos zeta (°) (los números entre paréntesis no están redondeados)	d Espacio (Å)	Intensidad relativa (%)
3,5 (3,46)	25,5444	7,1
7,0 (7,01)	12,6185	17,7
9,3 (9,28)	9,5264	100,0
10,5 (10,53)	8,3986	20,0
12,1 (12,15)	7,2824	6,6
12,7 (12,66)	6,9922	11,1
15,3 (15,34)	5,7775	23,8
16,1 (16,14)	5,4911	5,0
18,6 (18,65)	4,7582	29,5
19,6 (19,63)	4,5229	7,7
21,5 (21,47)	4,1383	11,0
22,1 (22,06)	4,0301	6,0
23,2 (23,16)	3,8403	13,1
24,7 (24,74)	3,5991	2,8
25,5 (25,49)	3,4941	3,4
26,5 (26,46)	3,3683	1,6
28,1 (28,15)	3,1703	3,8

Los disolventes utilizados en la selección de polimorfos fueron HPLC o grado de reactivo, incluyendo acetona, acetonitrilo (ACN), n-butanol (n-BuOH), etanol absoluto (EtOH), etanol/agua (1:1), metanol (MeOH), 2-propanol (IPA), acetato de etilo (EtOAc), cloruro de metileno (DCM), metil etil cetona (MEK), metil t-butil éter (MTBE), heptano, tolueno, 5 tetrahidrofurano (THF), dimetil sulfóxido (DMSO), N-metilpirrolidona (NMP), N,N-dimetilformamida (DMF) y agua.

Todas las muestras sólidas generadas en la selección de polimorfos se analizaron mediante XRPD. El análisis por XRPD se realizó en un difractor de rayos X en polvo Thermo ARL X'TRA utilizando radiación de Cu K α a 1,54 Å. El instrumento estaba equipado con un tubo de rayos X de foco fino. El voltaje y el amperaje del generador de rayos X se fijó a 45 kV y 40 mA, respectivamente. Las rendijas de divergencia se ajustaron a 4 mm y 2 mm y las rendijas de 10 medición se ajustaron a 0,5 mm y 0,2 mm. La radiación difractada se midió utilizando un detector de estado sólido de Si (Li) enfriado por efecto Peltier. Se utilizó un barrido continuo zeta-dos zeta a 2,40 °/min (paso de 0,5 s/0,02°) de 1,5 ° a 40 ° 2 θ . Se utilizó alúmina sinterizada estándar para comprobar las posiciones de los picos.

Los análisis de DSC se realizaron en un Calorímetro de Barrido Diferencial TA instrument Q2000. Se utilizó indio como estándar de calibración. Se colocaron aproximadamente 2-5 mg de muestra en una bandeja de DSC. La muestra se 15 calentó bajo nitrógeno a una velocidad de 10 °C/min, hasta una temperatura final de 300 °C. Los puntos de fusión se notificaron como las temperaturas de aparición extrapoladas.

Los análisis de TGA se realizaron en un analizador termogravimétrico TA instrument Q5000. Se utilizó oxalato de calcio para una comprobación del rendimiento. Se colocaron aproximadamente 5-20 mg de muestra pesada con precisión en una bandeja y se cargaron en el horno de TGA. La muestra se calentó bajo nitrógeno a una velocidad de 20 10 °C/min, hasta una temperatura final de 300 °C.

El análisis morfológico de las muestras se llevó a cabo en un microscopio Olympus. Se dispersaron pequeñas cantidades de muestras en aceite mineral en un portaobjetos de vidrio con cubreobjetos y se observaron con un aumento de 20x o 50x.

Se determinó la higroscopicidad en un DVS de Surface Measurement Systems. Típicamente, se cargó un tamaño de 25 muestra de 2-10 mg en la bandeja de muestras del instrumento DVS y la muestra se analizó en un analizador de sorción automatizado de DVS a temperatura ambiente. La humedad relativa se aumentó del 0 % al 90 % de RH en pasos del 10 % de RH y luego el 95 % de RH. Después, la humedad relativa se redujo de manera similar para lograr un ciclo completo de adsorción/desorción. Para las formas hidratadas seleccionadas, el análisis comenzó con el 50 % de RH y aumentó hasta el 90 % de RH en etapas del 10 % de RH. Después, la humedad relativa se redujo de manera 30 similar al 0 % de RH seguido de un aumento hasta el 50 % de RH.

Los espectros ¹H NMR se obtuvieron en un espectrómetro de NMR de 300 MHz Bruker. Las muestras de la Forma B, la Forma C y la Forma E se disolvieron en DMSO-d₆. La muestra de la Forma D se disolvió en DMF-d₆.

6.2.2 Experimentos de solubilidad y estabilidad.

La solubilidad de la Forma A en disolventes acuosos y orgánicos seleccionados se determinó mezclando el sólido con 35 disolventes a temperatura ambiente. Las muestras de solubilidad se filtraron después de 24 horas de agitación y se cuantificaron mediante un procedimiento de HPLC, excepto el DMSO para el cual se estimó la solubilidad a partir de la observación visual de la disolución completa tras la adición de disolvente. La solubilidad de la Forma B y la Forma C en agua también se determinó por el mismo procedimiento de HPLC. Los resultados se muestran en la Tabla 7 a continuación.

40 Tabla 7. Solubilidad de la Forma A del Compuesto 1 en disolventes seleccionados

Disolvente	Solubilidad (mg/mL) (temperatura ambiente)
Agua	0,08
0.9 % de NaCl	0,03
0.1N HCl	7,10
Tampón acetato pH 4,0	0,06
Tampón fosfato pH 6,8	0,05
Acetonitrilo	0,14
Acetona	0,46
Metanol	1,13
Etanol	0,50
Isopropanol	0,28
Acetato de etilo	0,32

Tetrahidrofurano	5,50
Heptano	< 0,005
Dimetilsulfóxido	> 50
Referencia: NB# 5536-29	

Para evaluar la estabilidad termodinámica de la Forma A, se realizaron suspensiones de la Forma A a temperatura ambiente durante 2 semanas en diversos disolventes, incluyendo ACN, MeOH, MTBE, agua y EtOH/agua (1:1). Véanse la Tabla 8 y la Tabla 9. Los experimentos se llevaron a cabo añadiendo un exceso de la Forma A a 2 ml de un disolvente de prueba. La mezcla resultante se agitó durante al menos 24 horas a temperatura ambiente y 50 °C por separado. Tras alcanzar el equilibrio, la solución sobrenadante saturada se eliminó y se dejó evaporar lentamente en un vial abierto bajo nitrógeno a temperatura ambiente y 50 °C, respectivamente. El sólido resultante del equilibrio se filtró y se secó al aire antes del análisis.

Tabla 8. Experimentos de equilibrio de la Forma A a temperatura ambiente

Disolvente	Resultado de XRPD 24 horas
Acetona	Forma A
Acetonitrilo	Forma A
n-Butanol	Forma A
Etanol	Forma A
Acetato de etilo	Forma A
Heptano	Forma A
Metanol	Forma A
Cloruro de metileno	Forma A
Metil etil cetona	Forma A
Metil t-butil éter	Forma A
2-Propanol	Forma A
Tolueno	Forma A
Tetrahidrofurano	Forma A
Agua	Forma A
Etanol/Agua (1:1)	Forma A

10

Tabla 9. Experimentos de suspensión de la Forma A a 50 °C

Disolvente	Resultado de XRPD 24 horas
Acetona	Forma A
Acetonitrilo	Forma A
n-Butanol	Forma A
Etanol	Forma A
Acetato de etilo	Forma A
Heptano	Forma A
Metanol	Forma A
Metil etil cetona	Forma A
2-Propanol	Forma A
Tolueno	Forma A
Tetrahidrofurano	Forma A
Agua	Forma A
Etanol/Agua (1:1)	Forma A

Se realizaron experimentos de evaporación añadiendo un exceso de Compuesto 1 a 2 ml de un disolvente de prueba. La mezcla resultante se agitó durante al menos 24 horas a temperatura ambiente y 50 °C por separado. Tras alcanzar el equilibrio, la solución sobrenadante saturada se eliminó y se dejó evaporar lentamente en un vial abierto bajo nitrógeno a temperatura ambiente y 50 °C, respectivamente. El sólido resultante del equilibrio se filtró y se secó al aire antes del análisis. Los resultados se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10. Experimentos evaporación de la Forma A a 50 °C

Disolvente	Resultado de XRPD
Metanol	Forma A + B (semicristalino)
Tetrahidrofurano	Amorfo, degradado

El sólido obtenido a partir de MeOH proporcionó un patrón de XRPD semicristalino con picos de Forma A y picos únicos adicionales que después se descubrió que se atribuyen a la Forma B. El sólido amorfo obtenido de THF había cambiado el color a marrón oscuro y el resultado de LC-MS mostró que la oxidación se produjo durante el experimento de evaporación.

Se realizaron experimentos de recristalización de enfriamiento rápido utilizando disolventes individuales o mixtos según el siguiente procedimiento. Los disolventes seleccionados (MeOH, MeOH/H₂O, EtOH/H₂O, THF/H₂O y DMF) se saturaron con el Compuesto 1 a aproximadamente 50 - 70 °C. Una vez que el sólido se disolvió completamente, la solución se enfrió rápidamente colocándola en un refrigerador. Los sólidos se aislaron después de 24 horas.

Los resultados se resumen en la Tabla 11. A partir de estos experimentos se encontraron tres formas sólidas. La Forma A se obtuvo de DMF; la Forma B se obtuvo de MeOH; y una forma única designada como Forma C se obtuvo de MeOH/H₂O (1:1) y EtOH/H₂O (1:1).

Tabla 11. Recristalización de enfriamiento rápido

Disolvente	Procedimiento	Resultado de XRPD
MeOH	Disuelto en reflujo Enfriado a 4 °C	Forma B
MeOH/H ₂ O (1:1)	Disuelto en reflujo Enfriado a 4 °C	Forma C
Etanol/ H ₂ O (1:1)	Disuelto a ~50 °C Enfriado a 4 °C	Forma C
THF/ H ₂ O (1:1)	Disuelto a 50 °C Enfriado a 4 °C	Forma A+C
DMF	Disuelto a ~50 °C Enfriado a 4 °C	Forma A

20

Se realizaron experimentos de recristalización con disolventes como se describe a continuación, utilizando DMSO o DMF como disolvente primario y MTBE, agua o EtOAc como anti disolventes. Los disolventes seleccionados (DMSO y NMP) se saturaron con el Compuesto 1 a temperatura ambiente. Una vez que el sólido se disolvió completamente, se añadió un antidisolvente (acetato de etilo, MTBE o agua) a la solución. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Si no se produjo precipitación, el vial se enfrió aún más colocándolo en un refrigerador. El sólido resultante de la recristalización se filtró y se secó al aire antes del análisis.

Los resultados se resumen en la Tabla 12. Se generó una forma única designada como Forma D a partir de la cristalización utilizando DMSO/MTBE o DMSO/EtOAc. Otras combinaciones de solventes generaron cada una la Forma A.

30 Tabla 12. Recristalización con Antidisolventes.

Disolvente	Antidisolvente	Relación (disolvente(antidisolvente))	Resultado de XRPD
DMSO	MTBE	1:15	Forma D
DMSO	Agua	1:7,5	Forma A
DMSO	Acetato de etilo	1:15	Forma D
NMP	MTBE	1:15	Forma A
NMP	Agua	1:7,5	Forma A
NMP	Acetato de etilo	1:15	Forma A

La estabilidad de la Forma A se demostró exponiendo la muestra a un ambiente a 40 °C/75 % de RH durante 1 mes. La forma sólida del material expuesto no se cambió en comparación con la muestra no expuesta inicial. Véase la Tabla

13. También se encontró que la Forma A era estable tras la aplicación de 2000 psi de presión durante aproximadamente 1 minuto (figura 6), con ligero aumento en el contenido amorfo.

Tabla 13. Estabilidad de la Forma A

Forma de partida	Condiciones de la prueba	Resultados de XRPD
Forma A	40 °C/75 % de RH, 4 semanas, vial abierto	Forma A
Forma A	40 °C/75 % de RH, 4 semanas, vial cerrado	Forma A

5 También se realizaron suspensiones competitivas entre la Forma A y la Forma B o la Forma A y la Forma C en MeOH y EtOH/agua (1:1). Todos los sólidos aislados de estas suspensiones fueron consistentes con la Forma A. Véase la Tabla 14. Estos resultados sugirieron que la Forma A era la forma más estable.

Tabla 14. Experimentos de transferencia de forma

Forma de partida	Disolvente	Forma de semilla	Time	Resultado de XRPD
Forma A	H ₂ O	Ninguna	2 semanas	Forma A
Forma A	MeOH	Ninguna	2 semanas	Forma A
Forma A	MTBE	Ninguna	2 semanas	Forma A
Forma A	Etanol/Agua (1:1)	Ninguna	2 semanas	Forma A
Forma A	Acetonitrilo	Ninguna	2 semanas	Forma A
Forma B	Acetonitrilo	Ninguna	3 días	Forma A
Forma C	Acetonitrilo	Ninguna	3 días	Forma A
Forma C	MeOH/agua (1:1)	Ninguna	1 semana	Forma C
Forma C	H ₂ O	Ninguna	1 semana	Forma C
Forma E	Acetonitrilo	Ninguna	1 semana	Forma A
Forma E	MeOH/agua (1:1)	Ninguna	1 semana	Forma C
Forma A	MeOH	Forma B	1 semana	Forma A
Forma A	MeOH	Forma C	1 semana	Forma A
Forma A	EtOH/H ₂ O (1:1)	Forma B	1 semana	Forma A
Forma A	EtOH/H ₂ O (1:1)	Forma C	1 semana	Forma A
Forma A	H ₂ O	Forma B	1 semana	Forma A
Forma A	H ₂ O	Forma C	7 semanas	Forma A+C

10 6.3 Ejemplos biológicos

6.3.1 Análisis bioquímicos

15 Análisis de HTR-FRET para TOR. Lo siguiente es un ejemplo de un análisis que puede utilizarse para determinar la actividad inhibitoria de la TOR quinasa del Compuesto 1. El compuesto 1 se disolvió en DMSO y se preparó como 10 mM de soluciones madre y se diluyó apropiadamente para los experimentos. Los reactivos se prepararon de la siguiente manera:

"Tampón TOR simple" (utilizado para diluir la fracción superior TOR glicerol): Tris 10 mM pH 7,4, NaCl 100 mM, 0,1 % de Tween-20, DTT 1 mM. La enzima TOR recombinante de Invitrogen (cat# PV4753) se diluyó en este tampón hasta una concentración de análisis de 0,200 µg/ml.

20 Solución de ATP/Sustrato: ATP 0,075 mM, MnCl₂ 12,5 mM, Hepes 50 mM, pH 7,4, β-GOP 50 mM, Microcistina LR 250 nM, EDTA 0,25 mM, DTT 5 mM, y 3,5 µg/mL de GST-p70S6.

Solución de reactivo de detección: HEPES 50 mM, pH 7,4, 0,01 % Triton X-100, 0,01 % BSA, EDTA 0,1 mM, 12,7 µg/mL Cy5-αGST Amersham (Cat#PA92002V), 9 ng/mL α-fosfo p70S6 (Thr389) (Señalización celular monoclonal de ratón #9206L), 627 ng/mL α-ratón Lance Eu (Perkin Elmer Cat#AD0077).

25 A 20 µL de tampón TOR simple se añaden 0,5 µL de compuesto de prueba en DMSO. Para iniciar la reacción, se añadieron 5 µL de solución de ATP/Sustrato a 20 µL de la solución tampón TOR simple (control) y a la solución compuesta preparada anteriormente. El análisis se detuvo después de 60 minutos añadiendo 5 µL de una solución de

EDTA 60 mM; después se añadieron 10 µL de solución de reactivo de detección y la mezcla se dejó reposar durante al menos 2 horas antes de la lectura en un lector de microplacas Perkin-Elmer Envision ajustado para detectar TR-FRET en LANCE Eu (excitación a 320 nm y emisión a 495/520 nm).

Análisis de DNA-PK. El análisis de DNA-PK se realiza utilizando los procedimientos suministrados en el kit de análisis de DNA-PK de Promega (catálogo # V7870). La enzima DNA-PK puede adquirirse de Promega (Promega cat # V5811).

6.4 Ejemplos de formulación

Se prepararon y probaron ciertas formulaciones que comprenden el Compuesto 1 para una serie de propiedades físicas y químicas. Luego se realizaron modificaciones y también se analizaron las formulaciones posteriores, hasta encontrar formulaciones con propiedades físicas y químicas deseables. El siguiente ejemplo describe estas 10 formulaciones y sus pruebas.

Estudio 1: A 2³⁻¹ El estudio se diseñó para evaluar el efecto de los diluyentes, el desintegrante y la carga del fármaco sobre las propiedades físicas y la estabilidad química de un comprimido. Las composiciones de la formulación se muestran en la Tabla 15. El desarrollo inicial del comprimido se llevó a cabo en luz UV en una habitación normal. El perfil de impurezas se muestra en la Tabla 16..

15 Tabla 15: Composición de la formulación de diversas formulaciones de comprimidos

# de lote de comprimidos recubiertos	HPD020-A-001	HPD020-A-002	HPD020-B-001	HPD020-B-002
# de lote de comprimidos no recubiertos	PD01-001	PD01-002	PD01-003	PD01-004
Compuesto 1 (mg)	0,5	0,5	5	5
Celulosa microcristalina (mg)	63,75	83,75	59,25	79,25
Almidón de maíz parcialmente pregelatinizado (mg)		10		10
Lactosa monohidrato, secada por pulverización (mg)	30		30	
Crospovidona (mg)		4	4	
Croscarmelosa Na (mg)	4			4
Dióxido de silicio (mg)	1	1	1	1
Estearato de magnesio (mg)	0,75	0,75	0,75	0,75
comprimido sin recubrimiento total (mg)	100	100	100	100
Recubrimiento Opadry II (mg)	4	4	4	4
comprimido con recubrimiento total (mg)	104	104	104	104
Color	Rosa	Rosa	Amarillo	Amarillo

Tabla 16: Perfil de impurezas

Impurezas relacionadas @ tiempo cero	HPD020-A-001	HPD020-A-002	HPD020-B-001	HPD020-B-002
RRT 0,87 (óxido 1)	0,27	0,31	0,26	0,24
RRT 0,94 (óxido 2)	0,32	0,33	0,22	0,25
RRT 0.96 (óxido 3)	0,56	0,56	0,47	0,48
Impurezas oxidativas totales@t ₀	1,15	1,2	0,95	0,97

20 Conclusiones: El compuesto 1 es propenso a la oxidación, especialmente en presencia de luz y plantea un desafío de estabilidad química.

Estudio 2: Se realizó un estudio para evaluar el efecto del antioxidante (*por ejemplo* hidroxitolueno butilado, BHT) y agente quelante (*por ejemplo*, edentado disódico, Na₂-EDTA) sobre la estabilidad del Compuesto 1 en el producto formulado. También se evaluó el impacto de la forma de dosificación (comprimido frente a cápsula) sobre la estabilidad del Compuesto 1.

25 Las composiciones de formulación se muestran en la Tabla 17, mientras que los datos de estabilidad se presentan en la Tabla 18. Todos los procesos se llevaron a cabo en la oscuridad.

Tabla 17: Composición de la formulación

Ingredientes	% p/p					
	122711-1	122711-2	122711-3	122711-4	122711-5	122711-6
	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Comprimido	Cápsula
Compuesto 1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Manitol (Mannogem EZ)	84	94,1		93,6	83,6	
MCC PH112	10		94,1		10	
Lactosa						93,6
Glicolato sódico de almidón	3	3	3	3	3	3
ácido esteárico	1	1	1	1	1	1
Hidroxitolueno butilado		0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Na ₂ -EDTA	0,5			0,5	0,5	0,5
Estearato de Mg	1	1	1	1	1	1
Total	100	100	100	100	100	100

Tabla 18: Datos de estabilidad

Lote #	122711-1		122711-2		122711-3	
Forma de dosificación	Cápsula		Cápsula		Cápsula	
Tiempo	T ₀	4 semanas	T ₀	4 semanas	T ₀	4 semanas
RRT 0,87	0,11	0,14	0,11	0,13	0,11	0,14
RRT 0,94	0,08	0,10	0,09	0,11	0,08	0,11
RRT 0,96	0,15	0,15	0,16	0,18	0,16	0,19
Total de todas las impurezas oxidativas	0,34	0,39	0,36	0,42	0,35	0,44
Lote #	122711-4		122711-5		122711-6	
Forma de dosificación	Cápsula		Comprimido		Cápsula	
Tiempo	T ₀	4 semanas	T ₀	4 semanas	T ₀	4 semanas
RRT 0,87	0,12	0,13	0,11	0,13	0,12	0,14
RRT 0,94	0,08	0,10	0,08	0,10	0,08	0,10
RRT 0,96	0,14	0,16	0,14	0,16	0,15	0,17
Total de todas las impurezas oxidativas	0,34	0,39	0,33	0,39	0,35	0,41

- 5 Conclusión: Añadir BHT y Na₂-EDTA junto con evitar la luz en la habitación pareció mejorar el perfil de estabilidad del Compuesto 1 en el producto formulado. No se observó diferencia entre el perfil de estabilidad de las formas de dosificación de comprimidos y cápsulas.

- 10 Estudio 3: Se realizó un estudio adicional para estudiar la influencia del recubrimiento y el desecante sobre la estabilidad de los comprimidos del Compuesto 1. Todos los procesos se llevaron a cabo bajo luz amarilla para evitar cualquier exposición a la luz UV en las formulaciones del Compuesto 1.

Las composiciones de formulación se proporcionan en la Tabla 19 y los datos de estabilidad se presentan en la Tabla 20.

Tabla 19: Composición de formulación de la tableta

Ingredientes	% p/p
Compuesto 1	0,5
Manitol (Mannogem EZ)	83,6
MCC PH112	10

Glicolato sódico de almidón	3
ácido esteárico	1
Hidroxitolueno butilado	0,4
Na ₂ -EDTA	0,5
Estearato de Mg	1
Total	100

Tabla 20: Datos de estabilidad

	Total 40/75					RRT0,87 40/75				
Tiempo, semanas	0	2	4	8	12	0	2	4	8	12
No recubierto	0,84	1,04	0,95	1,83	2,12	0,18	0,31	0,31	0,60	0,76
Recubierto	0,62	0,67	0,60	0,96	1,10	0,14	0,17	0,19	0,25	0,30
Recubierto/Desecante	0,60	0,60	0,54	0,79	0,90	0,13	0,15	0,16	0,21	0,26
	RRT0,94 40/75					RRT0,96 40/75				
Tiempo, semanas	0	2	4	8	12	0	2	4	8	12
No recubierto	0,16	0,23	0,23	0,45	0,50	0,29	0,37	0,34	0,64	0,67
Recubierto	0,10	0,13	0,14	0,20	0,25	0,18	0,23	0,23	0,34	0,36
Recubierto/Desecante	0,09	0,09	0,10	0,13	0,16	0,18	0,20	0,21	0,27	0,30

Conclusión: Los comprimidos recubiertos mostraron menores cantidades de impurezas oxidativas en comparación con los comprimidos no recubiertos. La presencia de un desecante mostró una ligera mejora en la estabilidad.

Estudio 4: Se evaluó el efecto de BHT y EDTA en la formulación del comprimido sobre la estabilidad del Compuesto 1. Todos los procesos se llevaron a cabo bajo luz amarilla para evitar cualquier exposición a la luz UV en las formulaciones del Compuesto 1.

Las composiciones de formulación se muestran en la Tabla 21 y los datos de estabilidad se presentan en qs = quantum sufficit o cantidad suficiente (suficiente para alcanzar el 100 %).

Tabla 22: Los comprimidos recubiertos con película se fabricaron utilizando un proceso de combinación/tamizado/combinación seguido de compresión y recubrimiento. Todo el proceso se llevó a cabo bajo luz amarilla para minimizar la oxidación. Se encontró que el hidroxitolueno butilado (BHT) y el EDTA disódico mejoraron la estabilidad química del ingrediente activo de la formulación.

15 Tabla 21: Formulaciones ejemplares de comprimidos

Lote #	% p/p (mg)						
	1 (PD01-070)	2 (PD01-071)	3 (PD01-069)	4 (PD01-068)	5 (PD01-074)	6 (PD01-075)	7
Ingredientes							
Compuesto 1 (ingrediente activo)	10	10	10	10	5	5	5
Manitol (Mannogem EZ)	qs	qs	qs	qs	64,85	64,85	64,35
Celulosa Microcristalina (PH 112)	25	25	25	25	25	25	25
Glicolato sódico de almidón	3	3	3	3	3	3	3
Dióxido de silicio	1	1	1	1	1	1	1
Ácido esteárico	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
EDTA disódico			0,5	0,5			0,5

(continuación)

BHT		0,4		0,4			
Estearato de magnesio	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Total	100	100	100	100	100	100	100
Color	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Rosa	
qs = quantum sufficit o cantidad suficiente (suficiente para alcanzar el 100%).							

Tabla 22: Datos de estabilidad

Lote#	Impurezas totales a 40 °C/75 % RH			
	1 (PD01-070)	2 (PD01-071)	3 (PD01-069)	4 (PD01-068)
tiempo 0	0,77	0,66	0,58	0,62
1 mes	0,69	0,6	0,62	0,65
2 meses	0,79	0,69	0,72	0,75
3 meses	1,07	0,91	0,87	0,85

- 5 Conclusión: Las formulaciones con EDTA y/o BHT mostraron menos impurezas oxidativas en comparación con las formulaciones sin EDTA y BHT.

Experimentos de compatibilidad de combinación. Basándose en los resultados de compatibilidad de excipientes binarios, se completó la compatibilidad de combinación para determinar qué combinación de excipientes era compatible con el Compuesto 1. Después de someterse a tensión durante 4 semanas a 40 °C/75 % de RH, el

- 10 Compuesto se mantuvo estable con todas las combinaciones de excipientes. Después de la compatibilidad de combinación, los comprimidos se comprimieron utilizando 3 formulaciones en dos concentraciones: baja (1 mg) y alta (25 mg) para estudiar los extremos de la formulación. (Tablas 23-28 a continuación). Debido a la interacción máxima entre el API y los excipientes, se desarrollaron comprimidos de baja resistencia para determinar la estabilidad química del activo en un comprimido. Se desarrollaron comprimidos de alta resistencia para determinar cómo el API dicta las
- 15 propiedades mecánicas del comprimido y para diagnosticar cualquier barrera de formulación potencial.

- Preparación de comprimidos: Las combinaciones según la Tabla 23 a la Tabla 28 se prepararon de la siguiente manera. Se pesó y añadió celulosa microcristalina a un frasco de vidrio de lados rectos de color ámbar. Se cerró la tapa y se agitó el frasco para recubrir el interior del frasco. Después se añadió el ingrediente activo (Compuesto 1) y se combinó durante 10 minutos a 46 rpm utilizando un mezclador Turbula. La combinación se pasó a través de un tamiz de malla
- 20 25 y se combinó nuevamente durante 10 minutos a 46 rpm utilizando un mezclador Turbula. La combinación resultante se pasó a través de un tamiz de malla 35. Después se añadió el resto de excipientes, excepto el lubricante (estearato de magnesio). La mezcla resultante se combinó durante 10 minutos a 46 rpm utilizando un mezclador Turbula. Se añadieron 6 gramos de la combinación resultante a un frasco de vidrio ámbar, se añadió lubricante y se combinó durante 1 minuto y 35 segundos a 46 rpm utilizando un mezclador Turbula. Para formulaciones de comprimidos de
- 25 baja resistencia, se prepararon comprimidos de 140 mg utilizando un troquel de 7,14 mm y una matriz. Para formulaciones de comprimidos de alta resistencia, se prepararon comprimidos de 400 mg utilizando un troquel de 10,3 mm y una matriz.

Tabla 23: Formulación # 1 de comprimidos de baja resistencia

Marca	Ingrediente	Fuente	Cantidad (% en peso)
	Compuesto 1		0,7
Avicel PH 102	Celulosa microcristalina	Biopolimero de FMC	38,1
Pearlitol 160C	Manitol	Roquette	57,2
Ac-di-Sol	Carboximetilcelulosa de sodio	Biopolimero de FMC	3,0
Tablube	Estearato de magnesio	Nitika Chemicals	1,0

Tabla 24: Formulación # 2 de comprimidos de baja resistencia

Marca	Ingrediente	Fuente	Cantidad (% en peso)
	Compuesto 1		0,7
Avicel PH 102	microcristalino	FMC	75,3
	celulosa	Biopolimero	
Starch 1500	Almidón pregelatinizado	Colorcon	20,0
Ac-di-Sol	Carboximetilcelulosa de sodio	Biopolimero de FMC	3,0
Tablube	Estearato de magnesio	Nitika Chemicals	1,0

Tabla 25: Formulación # 3 de comprimidos de baja resistencia

Marca	Ingrediente	Fuente	Cantidad (% en peso)
	Compuesto 1		0,7
Avicel PH 102	Celulosa microcristalina	Biopolimero de FMC	38,1
Tabletose 80	Lactosa monohidrato	Meggle Pharma	57,2
Ac-di-Sol	Carboximetilcelulosa de sodio	Biopolimero de FMC	3,0
Tablube	Estearato de magnesio	Nitika Chemicals	1,0

5 Tabla 26: Formulación # 1 de comprimidos de alta resistencia

Marca	Ingrediente	Fuente	Cantidad (% en peso)
	Compuesto 1		25,0
Avicel PH 102	Celulosa microcristalina	Biopolimero de FMC	28,4
Pearlitol 160C	Manitol	Roquette	42,6
Ac-di-Sol	Carboximetilcelulosa de sodio	Biopolimero de FMC	3,0
Tablube	Estearato de magnesio	Nitika Chemicals	1,0

Tabla 27: Formulación # 2 de comprimidos de alta resistencia

Marca	Ingrediente	Fuente	Cantidad (% en peso)
	Compuesto 1		25,0
Avicel PH 102	Celulosa microcristalina	Biopolimero de FMC	51,0
Starch 1500	Almidón pregelatinizado	Colorcon	20,0
Ac-di-Sol	Carboximetilcelulosa de sodio	Biopolimero de FMC	3,0
Tablube	Estearato de magnesio	Nitika Chemicals	1,0

Tabla 28: Formulación # 3 de comprimidos de alta resistencia

Marca	Ingrediente	Fuente	Cantidad (% en peso)
	Compuesto 1		25,0
Avicel PH 102	Celulosa microcristalina	Biopolimero de FMC	28,4
Tabletose 80	Lactosa monohidrato	Meggle Pharma	42,6
Ac-di-Sol	Carboximetilcelulosa de sodio	Biopolimero de FMC	3,0
Tablube	Estearato de magnesio	Nitika Chemicals	1,0

10

Las formulaciones anteriores se sometieron a un estudio de estabilidad de 6 semanas.

El análisis de HPLC se realizó utilizando una columna Kinetex C18, de 4.6x100 mm, 2.6 µm. Fase móvil A: Acetato de

ES 2 744 198 T3

amonio 20 mM: acetonitrilo (95:5 v/v); Fase móvil B: Acetato de amonio 20 mM: acetonitrilo (10:90 v/v) utilizando el siguiente gradiente:

Tiempo (min)	A%	B%	Curva
0	100	0	Lineal
1	100	0	Lineal
10	0	100	Lineal
10,1	100	0	Lineal
16	100	0	Lineal

Caudal: 1 mL/min, temperatura de columna: 40 °C; Detección UV 250nm; Volumen de inyección: 12 µL; tiempo de ejecución: 16 min.

Los comprimidos de baja resistencia se sometieron a tensión durante 6 semanas a 50 °C/80 % de RH; donde se probaron el análisis y la disolución. Después de 6 semanas a 50 °C/80 % de RH, el análisis de los comprimidos de baja resistencia (1 mg) fue comparable con el punto de tiempo inicial para las 3 formulaciones puestas en estabilidad. La disolución inicial y de 6 semanas para los comprimidos de baja resistencia fueron comparables dentro de +/- 5 % para la Formulación 1 y con +/- 10 % para las Formulaciones 5 y 9.

Semana	análisis	pureza
	Formulación 1	
0	96,0 %	98,2 %
6	98,6 %	98,6 %
	Formulación 5	
0	96,1 %	98,3 %
6	94,1 %	98,6 %
	Formulación 9	
0	105,7 %	98,4 %
6	106,2 %	98,7 %

Los comprimidos de alta resistencia se sometieron a tensión durante 4 semanas a 40 °C/75 % de RH. Inicialmente, la formulación contenía el 25 % de carga de fármaco. Sin embargo, las propiedades físico-mecánicas del compuesto no permitirían el desarrollo de comprimidos con propiedades físico-mecánicas aceptables. Por lo tanto, la carga de fármaco se redujo al 10 %. En la carga de fármaco más baja, la formulación tenía propiedades mucho más aceptables para la formación de comprimidos en una prensa de alta velocidad. Después de 4 semanas a 40 °C/75 % de RH, no se observaron cambios significativos en la disolución de los comprimidos de alta resistencia (25 mg) para las 3 formulaciones.

Basándose en los resultados de los experimentos, sería difícil formular un comprimido cuando la carga de fármaco es superior al 10 %. A mayores cargas de fármacos, las propiedades físico-mecánicas de la formulación están dictadas por la API en lugar de los excipientes. A altas cargas de fármacos, las propiedades físicas deficientes de la API conducen a cohesión y una fluidez deficiente. Una formulación que fluye de manera deficiente dificultaría la fabricación reproducible de comprimidos en una prensa de alta velocidad para comprimidos. Para comprimidos tanto de baja como de alta resistencia, la Formulación 1 proporcionó perfiles de disolución con la variación más pequeña después de haber sido puestos en estabilidad.

6.5 Tautomerismo del compuesto 1

Se realizaron estudios de NMR para analizar los tautómeros del Compuesto 1. Se observaron dos tautómeros a una abundancia relativa de 70/30 mediante NMR. Véase la fig. 26. Se observó un diagnóstico de desplazamiento químico de ¹³C de aproximadamente 161 ppm para la posición 5 del tautómero menor, en comparación con un desplazamiento químico de aproximadamente 150 ppm para la posición 5 del tautómero principal. La correlación HMBC entre ¹H y ³C/⁵C confirmó el resultado. Los datos de NMR se muestran en las figuras 27-30 y la Tabla 29 y la Tabla 30 a continuación. Todos los datos se recogieron en un espectrómetro de NMR Varian Inova 500 en DMSO-d₆ a 25 °C con una pentasonda Varian utilizando secuencias de impulsos suministradas por el proveedor. Se adquirieron datos cuantitativos de ¹H y ¹³C con un retraso de relajación de 10 segundos en presencia de acetil-acetónido de Cr (III).

ES 2 744 198 T3

Tabla 29: Señales de NMR de ¹H y ¹³C para los tautómeros del Compuesto 1

Posición	¹³ C	¹ H
3	152,0	8,07
4	NA	14,60
5	153,4	NA
6	144,3	NA
7	118,8	7,97
9	137,7	8,01
10	133,2	NA
11	155,8	NA
12	136,4	NA
13	135,2	7,92
15	134,7	NA
17	142,9	NA
18	N.A	7,70
20	164,1	NA
21	45,7	4,21
22	34,6	4,04
23	12,4	1,17
25	23,9	2,72

Tabla 30: Señales de NMR de ¹H y ¹³C para los tautómeros del Compuesto 1

Posición	¹³ C	¹ H
1	NA	14,24
3	144,5	8,67
5	160,9	NA
6	148,1	NA
7	119,1	7,97
9	137,1	7,92
10	132,0	NA
11	155,4	NA
12	137,0	NA
13	135,0	7,92
15	134,7	NA
17	142,8	NA
18	NA	7,64
20	164,1	NA
21	45,7	4,21
22	34,6	4,04
23	12,4	1,17
25	23,9	2,66

6.6 Estudio de biodisponibilidad/efecto alimentario

- 5 Se ha desarrollado una formulación de comprimido del Compuesto 1 como alternativa al ingrediente farmacéutico activo (API) en cápsula (AIC) para futuros estudios clínicos siempre que los perfiles farmacocinéticos (PK) de las dos formulaciones sean comparables. El PK del Compuesto 1 se ha caracterizado bien en sujetos a los que se administraron diversas dosis y regímenes de dosificación del Compuesto 1 AIC. Este estudio de

biodisponibilidad/efecto alimentario está diseñado para proporcionar comparaciones de PK intrasujetos para el AIC actual y el comprimido recién formulado, y para evaluar el efecto de los alimentos sobre la biodisponibilidad del Compuesto 1 para determinar si se pueden eliminar las restricciones de ayuno en torno a la dosificación del Compuesto 1. El estudio de biodisponibilidad incluirá hasta 12 sujetos adultos evaluables con cualquier tumor sólido.

- 5 En un estudio clínico anterior, se consideró que el Compuesto 1 era bien tolerado en todo el intervalo de dosis evaluado, y mostraba un perfil de seguridad consistente con los hallazgos publicados para otros agentes dirigidos a mTOR y vías celulares relacionadas. De acuerdo con el protocolo, se identificaron 25 mg QD y 10 mg BID como los planes de máxima dosis tolerada (MTD), seleccionándose el segundo para una evaluación adicional.

- Basándose en la buena tolerabilidad del Compuesto 1, la intensidad de los procedimientos de supervisión rutinarios se reduce en este subestudio para limitar la carga de investigación sobre los sujetos sin comprometer la seguridad.

- Los objetivos principales de este subestudio, que está restringido a adultos de 18 años o más con cualquier tumor sólido avanzado, son: (1) caracterizar y evaluar la farmacocinética del Compuesto 1 administrado como una dosis oral única de formulaciones de comprimido y API en cápsula y (2) caracterizar el efecto de los alimentos sobre la farmacocinética del Compuesto 1 administrado como una dosis oral única de Compuesto 1 con una comida de alto contenido en grasa.

Los criterios de valoración primarios caracterizarán la PK plasmática y urinaria del Compuesto 1 en los mismos sujetos en condiciones de ayuno después de la administración del AIC y el comprimido del Compuesto 1, y en condiciones de alimentación y ayuno después de la administración del comprimido formulado, para las siguientes variables: C_{max} , AUC_{0-inf} , AUC_{0-t} , T_{max} , $t_{1/2}$, CL/F y Vz/F . Los parámetros de PK se estimarán utilizando análisis no compartimentales.

- 20 El estudio tiene un diseño abierto, aleatorizado, de dosis única, de 3 tratamientos, de 3 periodos y de 3 secuencias para 12 sujetos. Los sujetos completarán este subestudio de PK durante un período de aproximadamente 10 a 19 días antes de comenzar la fase principal del estudio (fig. 33). Se administrarán tres tratamientos en 3 periodos separados a los mismos sujetos después de ayunos durante la noche de al menos 6 horas, de la siguiente manera:

Tratamiento 1: Un AIC de Compuesto 1 de referencia de 10 mg administrado en condiciones de ayuno.

- 25 Tratamiento 2: Un comprimido de Compuesto 1 de prueba de 10 mg administrado en condiciones de ayuno.

Tratamiento 3: Un comprimido de Compuesto 1 de prueba de 10 mg administrado en condiciones de alimentación.

En el día 1 del período 1, los sujetos se asignarán al azar a una de las siguientes 3 secuencias de tratamiento:

Secuencia 1 (n = 4): Tratamiento 1 → Tratamiento 2 → Tratamiento 3.

Secuencia 2 (n = 4): Tratamiento 2 → Tratamiento 3 → Tratamiento 1.

- 30 Secuencia 3 (n = 4): Tratamiento 3 → Tratamiento 1 → Tratamiento 2.

En el día 1 de los Tratamientos 1 y 2, a los sujetos se les administrará una dosis única de AIC o comprimido de Compuesto 1, respectivamente, con aproximadamente 240 ml de agua no carbonatada a temperatura ambiente. El muestreo de extracción de sangre para PK será antes de la dosis, y a las 0,5 h ± 5 min, 1 h ± 5 min, 1,5 h ± 10 min, 3 h ± 10 min, 5 h ± 15 min, 8 h ± 15 min, 24 h ± 30 min, y 48 h ± 60 min después de la dosis.

- 35 En el día 1 del Tratamiento 3, 30 minutos ± 5 minutos después de la alimentación supervisada de un desayuno estandarizado, a los sujetos se les administrará una dosis única del comprimido del Compuesto 1. Los puntos temporales para el muestreo de extracción de sangre para PK serán antes de la dosis, y a las 0,5 h ± 5 min, 1 h ± 5 min, 1,5 h ± 10 min, 3 h ± 10 min, 5 h ± 15 min, 8 h ± 15 min, 24 h ± 30 min, y 48 h ± 60 min después de la dosis.

- Las extracciones de sangre a las 48 horas pueden eliminarse si los resultados de los sujetos iniciales muestran que son innecesarias.

- Una comida estándar con alto contenido en grasa proporcionada en el sitio de investigación se consumirá aproximadamente 30 minutos antes del Tratamiento 3. Se registrarán la hora de inicio y finalización del consumo de comida y el porcentaje aproximado de comida consumida. Esta comida comprende una nutrición de alto contenido en grasa (aproximadamente el 50 % del contenido calórico total de la comida), alta en calorías (aproximadamente 800 a 1000 calorías) con aproximadamente 150, 250 y 500 a 600 calorías derivadas de proteínas, carbohidratos y grasa, respectivamente. Una comida típica de alto contenido en grasa consiste en 2 huevos fritos en mantequilla, 2 lonchas de tocino, 2 rebanadas de pan tostado con mantequilla, 4 onzas de patatas doradas y 8 onzas de leche entera. Se pueden hacer sustituciones siempre que la comida proporcione una cantidad similar de calorías provenientes de proteínas, carbohidratos y grasa, y tenga un volumen y una viscosidad de comida comparables.

- 50 El comprimido se administrará con aproximadamente 240 ml de agua sin gas a temperatura ambiente. Después de la dosificación, los sujetos continuarán ayunando hasta al menos 3 horas después de la dosificación.

El intervalo de reposo farmacológico entre dosis entre el Período 1, Día 1 y el Período 2, Día 1 y el Período 2, Día 1 y el Período 3, Día 1 puede variar entre 48 y 168 horas (2 a 7 días) dependiendo de las necesidades/horarios del sujeto.

Un sujeto evaluable es aquel que completa al menos los Tratamientos 1 y 2 o los Tratamientos 2 y 3; excepto en circunstancias especiales aprobadas por el Patrocinador, por cada sujeto se completarán las 3 evaluaciones de tratamiento. Los sujetos no evaluables serán reemplazados a discreción del Patrocinador.

Después de recogerse la muestra final de PK el día 3 del período 3, los sujetos comienzan la fase de estudio de Tratamiento y Evaluación de la dosificación continua de los ciclos diarios de 28 días de las cápsulas de Compuesto 1 AIC sin necesidad de reevaluación.

Los criterios de inclusión son: (1) Comprender y firmar voluntariamente un documento de consentimiento informado antes de realizar cualquier evaluación/procedimiento relacionado con el estudio; (2) Hombres y mujeres, mayores de 18 años, con confirmación histológica o citológica de tumores sólidos no resecables avanzados, CLL, NHL o MM, incluidos aquellos que han progresado en (o no han podido tolerar) la terapia anticancerosa estándar o para quienes no existe otra terapia convencional; los sujetos con Sarcoma de Ewing pueden ser mayores de 12 años (3) Consentimiento para examinar una biopsia de tumor; (4) ECOG PS de 0 o 1; (5) Los siguientes valores de laboratorio: (i) recuento absoluto de neutrófilos (ANC) $\geq 1,5 \times 10^9/L$; (ii) hemoglobina (Hgb) ≥ 9 g/dl; (iii) plaquetas (plt) $\geq 100 \times 10^9/L$; (iv) potasio dentro del intervalo normal, o corregible con suplementos; (v) AST/SGOT y ALT/SGPT $\leq 2,5 \times$ Límite superior de lo normal (ULN) o $\leq 5,0 \times$ ULN si hay tumor hepático presente; (vi) bilirrubina total en suero $\leq 1,5 \times$ ULN o $\leq 2 \times$ ULN si hay tumor hepático presente; (vii) creatinina en suero $\leq 1,5 \times$ ULN, o eliminación a las 24 horas ≥ 50 ml/min; y (viii) prueba de embarazo en suero u orina negativa dentro de las 72 horas antes de comenzar el tratamiento del estudio en mujeres en edad fértil; y (6) capaz de cumplir con el programa de visitas del estudio y otros requisitos del protocolo.

Los criterios de exclusión son: (1) Metástasis sintomáticas del sistema nervioso central; (2) Pancreatitis aguda o crónica conocida; (3) Cualquier neuropatía periférica \geq NCI CTCAE grado 2; (4) Diarrea persistente o mala absorción \geq NCI CTCAE grado 2, a pesar del tratamiento médico. Deterioro de la capacidad para tragar; (5) Deterioro de la función cardíaca o enfermedades cardíacas clínicamente significativas, incluyendo cualquiera de los siguientes: (i) FEVI $< 45 \%$ según lo determinado por escaneo MUGA o ECHO; (ii) Bloqueo completo de rama izquierda o bifascicular; (iii) Síndrome de QT largo congénito; (iv) Historia de arritmias ventriculares clínicamente significativas o fibrilación auricular persistente; (v) QTcF > 460 mseg en el ECG de detección (media de registros por triplicado); (vi) Angina de pecho inestable o infarto de miocardio ≤ 3 meses antes de comenzar el Compuesto 1; (vii) Otras enfermedades cardíacas clínicamente significativas, como la insuficiencia cardíaca congestiva que requiere tratamiento o hipertensión no controlada (presión arterial $\geq 160/95$ mmHg); (6) Diabetes mellitus en tratamiento activo, o sujetos con cualquiera de los siguientes: (i) glucemia en ayunas (FBG) ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol / L), o (ii) HbA1c $\geq 6,5 \%$; (7) Otras afecciones médicas concurrentes graves y/o incontroladas concomitantes (por ejemplo, infección activa o incontrolada que pudieran causar riesgos de seguridad inaceptables o comprometer el cumplimiento del protocolo; (8) Tratamientos o modalidades de investigación sistémicos previos dirigidos contra el cáncer ≤ 5 vidas medias o 4 semanas, lo que sea más breve, antes de comenzar con el fármaco del estudio o quien no se haya recuperado de los efectos secundarios de tal terapia; (9) Cirugía mayor ≤ 2 semanas antes de comenzar con el fármaco del estudio o quien no se haya recuperado de los efectos secundarios de tal terapia. Los sujetos deben haberse recuperado de cualquier efecto de radioterapia reciente que pudiera confundir la evaluación de seguridad del fármaco del estudio. Trasplante autólogo de células madre ≤ 3 meses antes de comenzar el fármaco del estudio; (10) Embarazo o lactancia; (11) Adultos con potencial reproductivo que no empleen dos formas de control de la natalidad: (i) Las mujeres en edad fértil deben aceptar el uso simultáneo de dos formas adecuadas de procedimientos anticonceptivos simultáneamente (uno debe ser no hormonal) desde el momento de dar el consentimiento informado hasta 28 días después de la última dosis del Compuesto 1. Mujeres en edad fértil, definidas como mujeres sexualmente maduras que no se hayan sometido a una histerectomía o una ooforectomía bilateral, o que no hayan sido naturalmente postmenopáusicas (es decir, que no hayan menstruado nada) durante > 24 meses consecutivos y (ii) Hombres que tengan parejas que sean mujeres en edad fértil deben estar de acuerdo en que ellos y/o sus parejas utilizarán al menos dos procedimientos anticonceptivos eficaces (incluido un procedimiento de barrera) cuando participen en la actividad sexual reproductiva a lo largo del estudio desde el momento del consentimiento informado, y evitarán concebir durante 28 días después de la última dosis del Compuesto 1; (12) Infección conocida por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH); (13) Infección crónica conocida por el virus de la hepatitis B o C (HBV/HCV), a menos que esto sea comorbilidad en sujetos con HCC; (14) Cualquier afección médica significativa, anomalía de laboratorio o enfermedad psiquiátrica que impida que los sujetos participen en el estudio, incluida la incapacidad para tragar cápsulas en ausencia de una sonda de alimentación gástrica/yeunal; (15) Cualquier condición, incluida la presencia de anomalías de laboratorio, que ponga a los sujetos en un riesgo inaceptable si fueran a participar en el estudio; (16) Cualquier condición que confunda la capacidad de interpretar los datos del estudio; y (17) Segunda neoplasia maligna activa concurrente para la cual el sujeto está recibiendo terapia, excluyendo el cáncer de piel no melanomatoso o el carcinoma in situ del cuello uterino.

Los sujetos con neoplasias malignas hematológicas o GBM están específicamente excluidos de la participación, al igual que cualquier sujeto menor de 18 años.

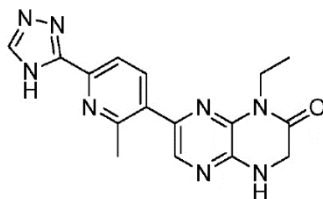
Los sujetos serán evaluados por teléfono o en la clínica 28 ± 2 días después de la última dosis del Compuesto 1 para determinar el estado de cualquier EA no resuelta y si se produjeron nuevos eventos.

Las concentraciones plasmáticas del Compuesto 1 y los parámetros de PK después de la administración de los Tratamientos 1, 2 y 3 se resumirán utilizando estadísticas descriptivas. Los parámetros de PK en plasma se calcularán utilizando procedimientos no compartimentales y tiempos de muestreo de sangre reales. Las estadísticas de resumen de PK descriptivas (por ejemplo, N, media, desviación estándar, CV %, media geométrica, CV geométrica, mediana, 5 mínimo y máximo) se presentarán según corresponda. Se generarán perfiles de concentración individual y media en función del tiempo. Se realizarán análisis de varianza (ANOVA) en AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, y C_{max} con el logaritmo natural transformado para el Compuesto 1. El modelo ANOVA incluirá el tratamiento (1, 2 o 3), la secuencia y el período como efectos fijos, y el sujeto anidado dentro de la secuencia como un efecto aleatorio. Se proporcionarán las relaciones medias geométricas (tratamiento 2/1 y 3/2) y sus intervalos de confianza del 90 %. Para T_{max} , se utilizará el análisis 10 no paramétrico para producir diferencias de mediana.

El alcance de las realizaciones descritas en el presente documento no está limitado por las realizaciones específicas descritas en los ejemplos, las cuales pretenden ser ilustraciones de unos pocos aspectos de las realizaciones descritas, y cualquier realización que sea funcionalmente equivalente se encuentra englobada por la presente descripción. De hecho, diversas modificaciones de las realizaciones descritas en el presente documento son adicionales a las 15 mostradas y descritas en el presente documento resultarán evidentes para los expertos en la materia y se pretende que entren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

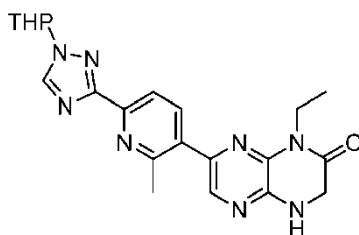
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar una forma sólida de Compuesto 1



Compuesto 1,

donde el procedimiento comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula G

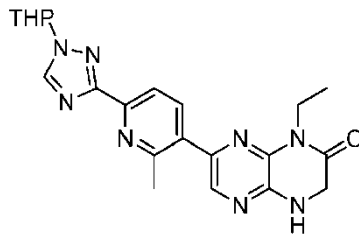


G

5

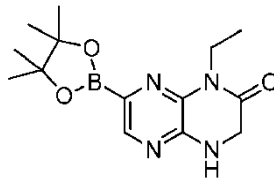
con un ácido, opcionalmente en un disolvente, seguido de neutralización con una base; y donde el procedimiento comprende además:

- (a) disolver el Compuesto 1 en una mezcla de etanol, agua y HCl a 45 °C;
- (b) neutralizar la mezcla con NH₄OH a 45 °C; y
- 10 (c) filtrar la mezcla; o donde el procedimiento comprende además:
- (d) disolver el Compuesto 1 en una mezcla de 1-propanol, agua y HCl;
- (e) neutralizar la mezcla con una base acuosa a entre 45 °C y 60 °C; y
- (f) filtrar la mezcla; y
- que comprende además recristalizar el Compuesto 1 de:
- 15 i) N, N-dimetilformamida, donde la forma sólida tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a aproximadamente 9,8, 12,0 y 17,9 ($^{\circ}2\theta \pm 0,2$) medidos utilizando radiación Cu K α a 1,54 Å;
- ii) metanol, donde la forma sólida tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a aproximadamente 7,5, 10,4 y 11,7 ($^{\circ}2\theta \pm 0,2$) medidos utilizando radiación Cu K α a 1,54 Å;
- iii) una mezcla de metanol y agua o una mezcla de etanol y agua, donde la forma sólida tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a aproximadamente 9,3, 11,7 y 19,9 ($^{\circ}2\theta \pm 0,2$) medidos utilizando radiación Cu K α a 1,54 Å;
- 20 iv) una mezcla de dimetilsulfóxido y metil terciario butil éter o una mezcla de dimetilsulfóxido acetato de etilo, donde la forma sólida tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a aproximadamente 11,0, 20,2 y 21,9 ($^{\circ}2\theta \pm 0,2$) medidos utilizando radiación Cu K α a 1,54 Å; o
- 25 v) una mezcla de metanol y diclorometano, donde la forma sólida tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos a aproximadamente 9,3, 15,3 y 18,6 ($^{\circ}2\theta \pm 0,2$) medidos utilizando radiación Cu K α a 1,54 Å;
- y donde dicho compuesto de fórmula G



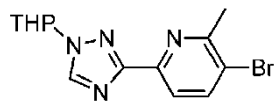
G

se prepara mediante un procedimiento que comprende poner en contacto un compuesto de fórmula E



E

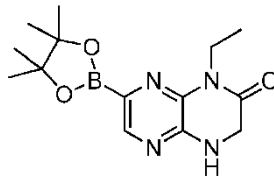
con un compuesto de Fórmula F,



F

5

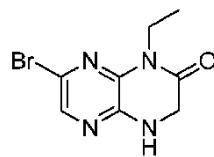
en presencia de catalizador de paladio, un disolvente y una base; y donde dicho compuesto de Fórmula E



E

se prepara mediante un procedimiento que comprende:

1) poner en contacto un compuesto de fórmula D



D

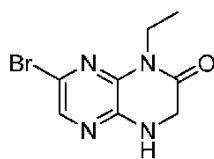
10

con una fuente de boro y un catalizador de paladio en presencia de una base en un disolvente;

2) tratar una solución de dicho compuesto de fórmula E con carbón activado; y

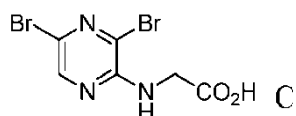
3) eliminar el carbón activado por filtración.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además preparar dicho compuesto de fórmula D



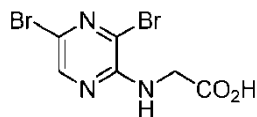
D,

donde el procedimiento comprende poner en contacto un compuesto de fórmula C



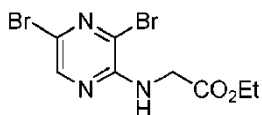
con EtNH₂ opcionalmente en presencia de una base opcionalmente en un disolvente, seguido de acidificación.

5 3. El procedimiento según la reivindicación 2, que comprende además preparar dicho compuesto de fórmula C



C,

donde el procedimiento comprende poner en contacto un compuesto de fórmula B



B

con una base opcionalmente en un disolvente, seguido de neutralización con un ácido.

10 4. El procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además:

- (a) tratar la solución del Compuesto 1 con carbón activado; y
- (b) eliminar el carbón activado por filtración; antes de la neutralización.

5. El procedimiento según la reivindicación 1 que comprende además

- (a) tratar la solución del Compuesto 1 con un captador de metales a 60 °C; y

15 (b) eliminar el captador de metales, antes de tratar con carbón activado.

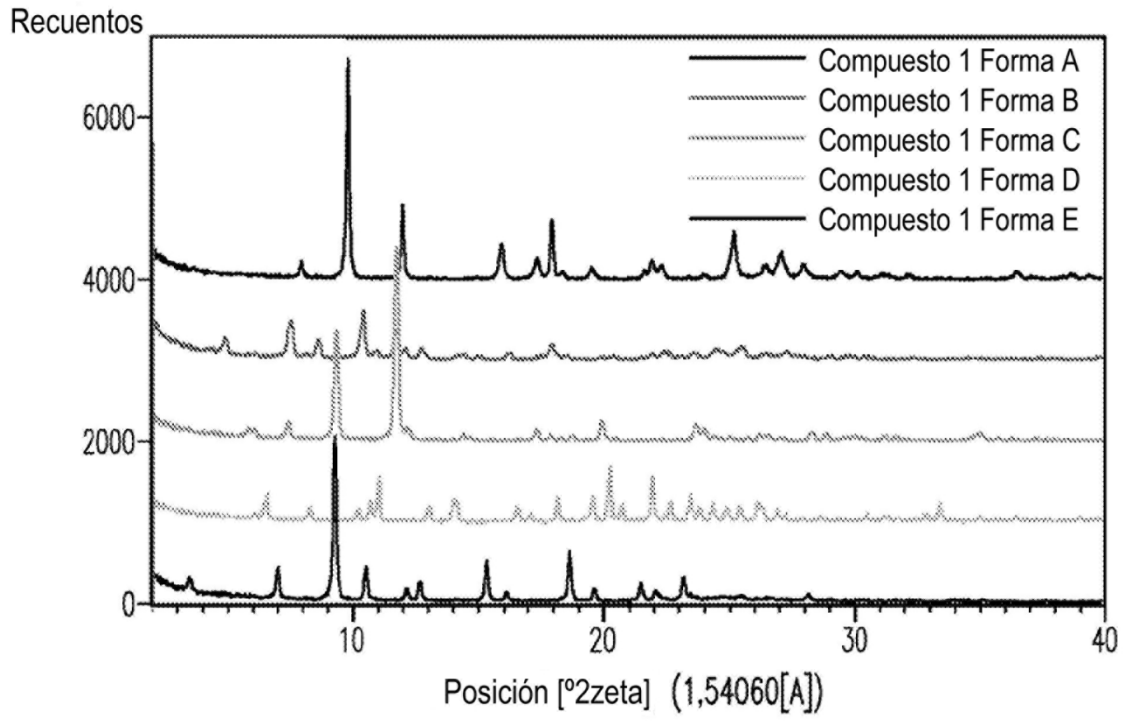


FIG. 1

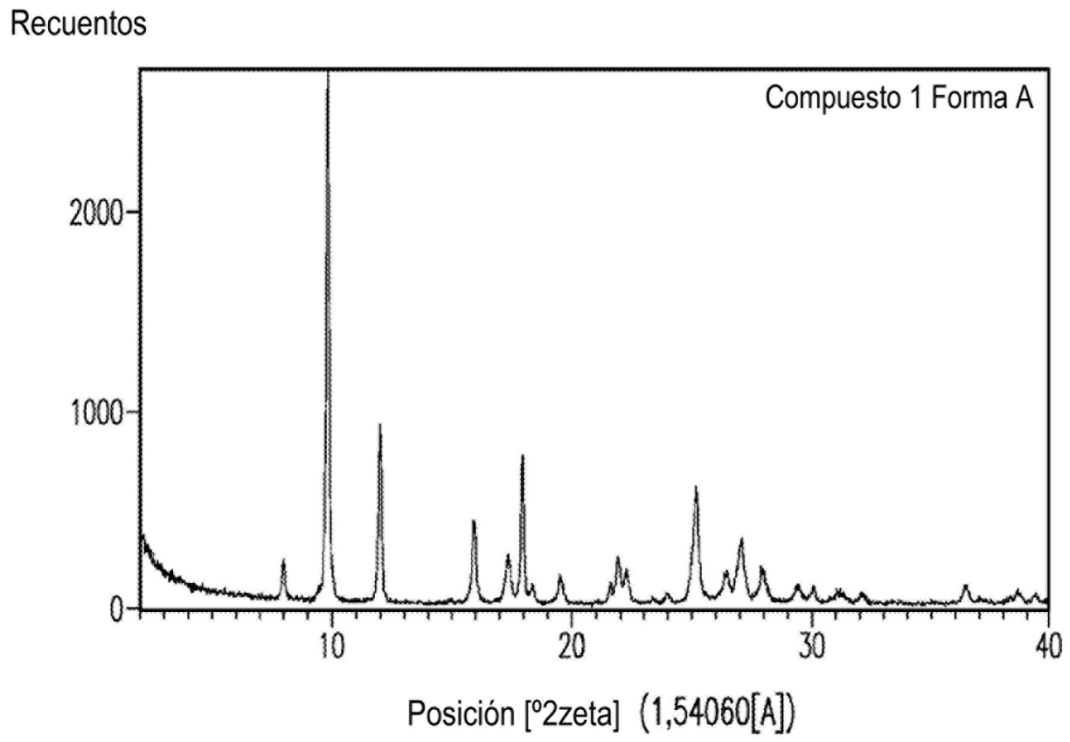


FIG. 2

Tamaño: 4,1090 mg TGA Fecha de ejecución: 12-Mar-2010 11:00
Instrumento: TGA Q5000 V3.10 Construcción 258

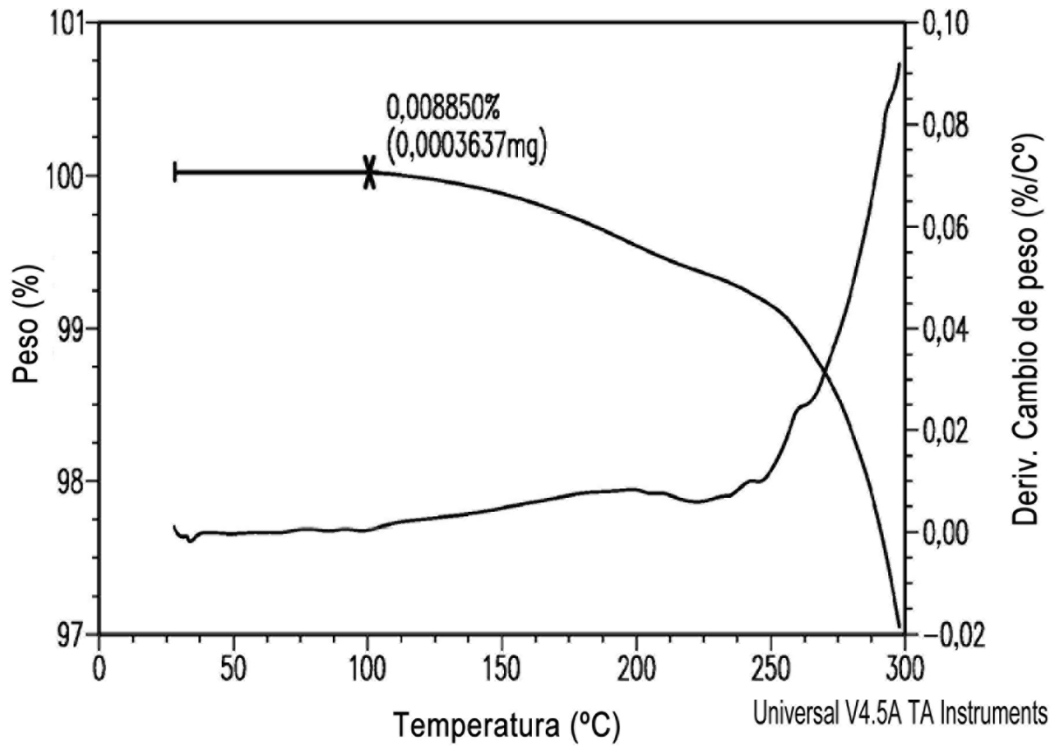


FIG. 3

Tamaño: 2,3730 x 0,0000 mg
Procedimiento: Rampa

DSC Fecha de ejecución: 12-Mar-2010 10:58
Instrumento: DSC Q2000 V24.4 Construcción 116

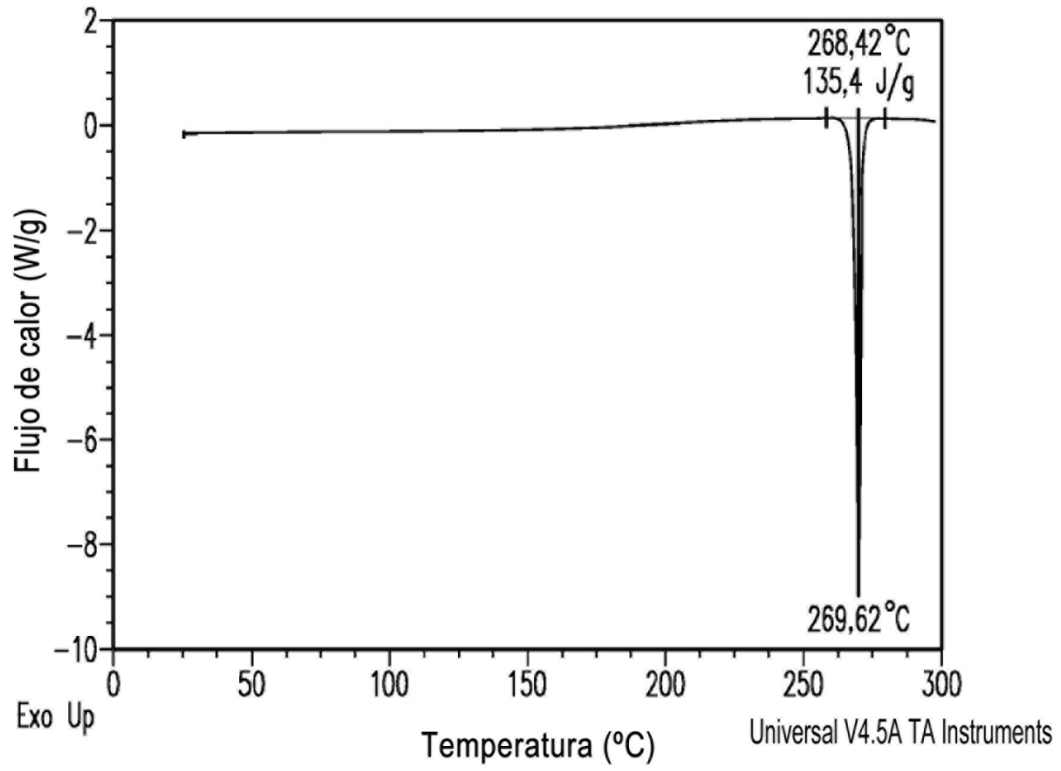


FIG. 4

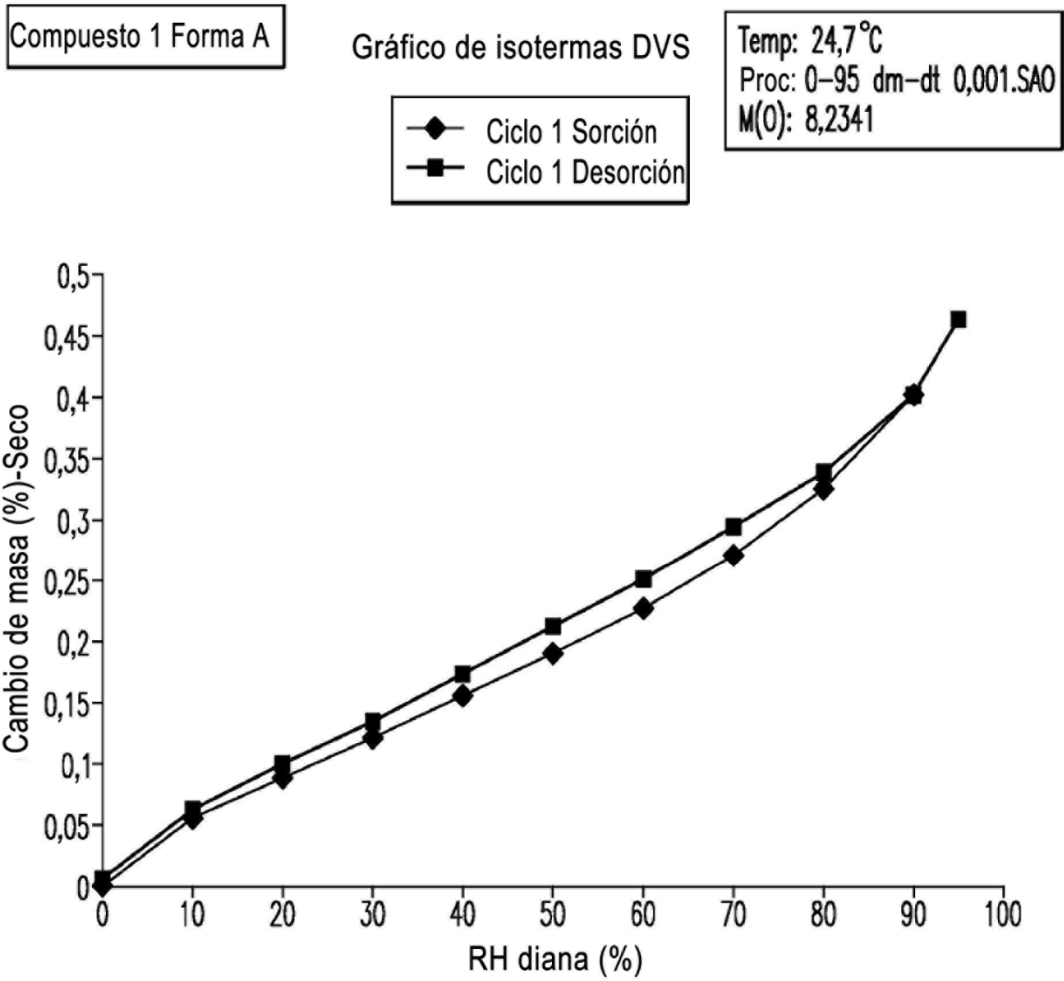


FIG. 5

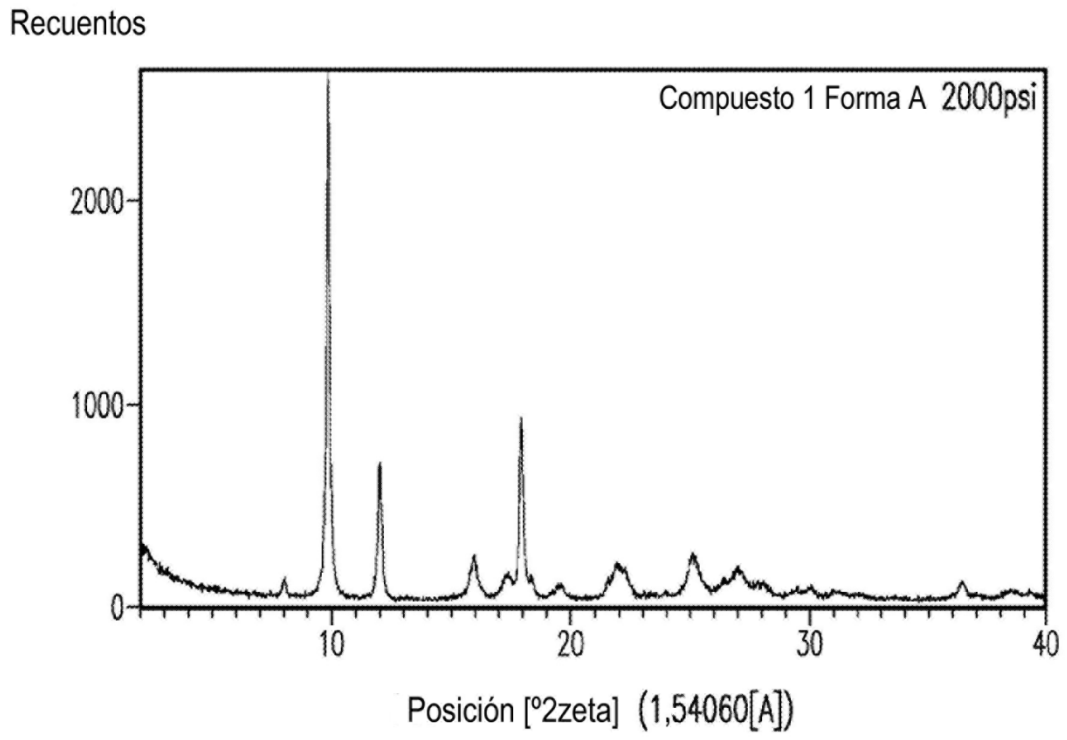


FIG. 6

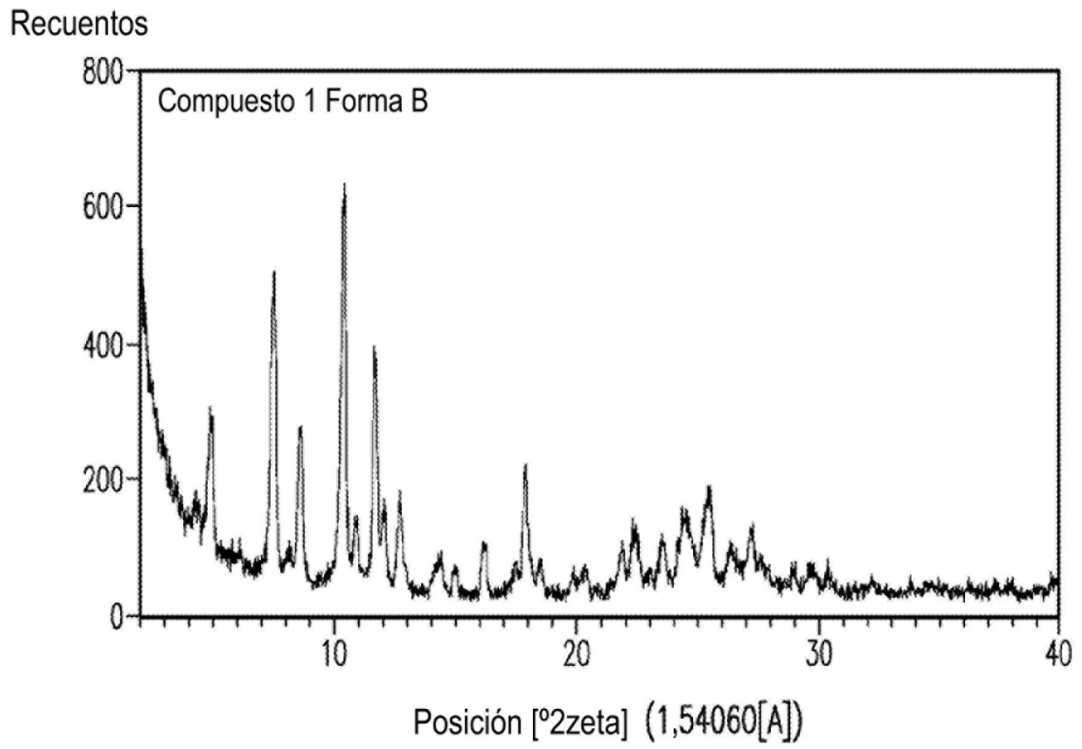


FIG. 7

Tamaño: 6,1060
Comentario Lote#7541-096-G

TGA Fecha de ejecución: 29-Mar-2010 10:26
Instrumento: TGA Q5000 V3.10 Construcción 258

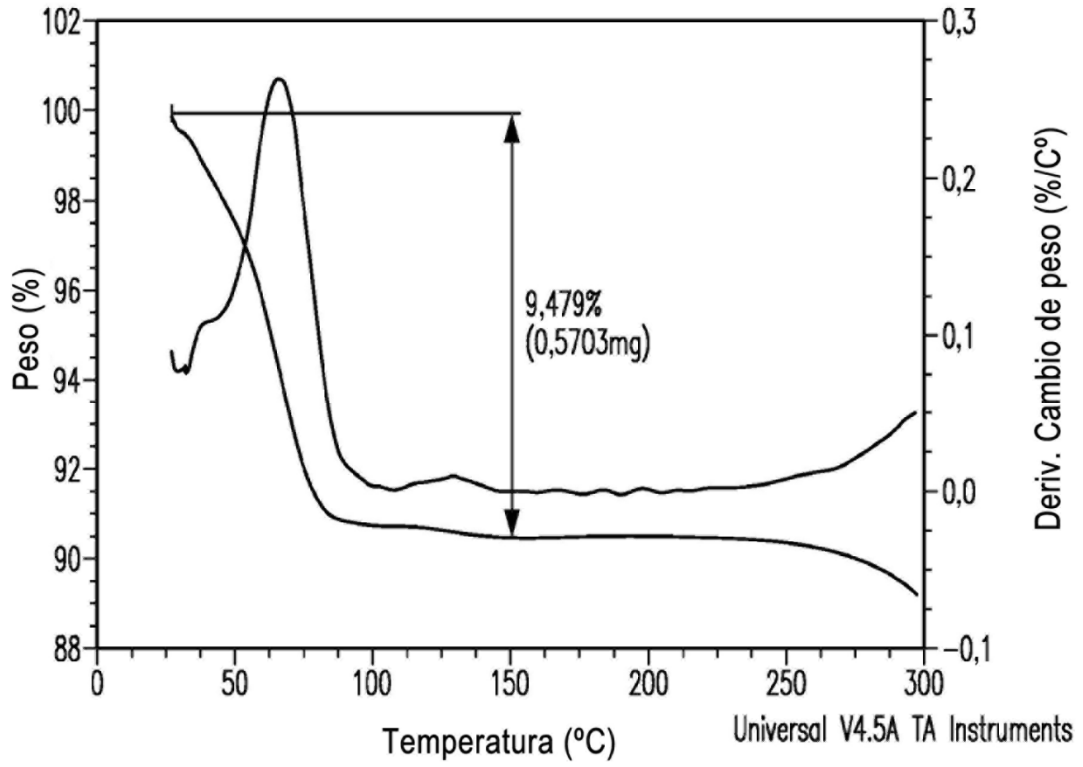


FIG. 8

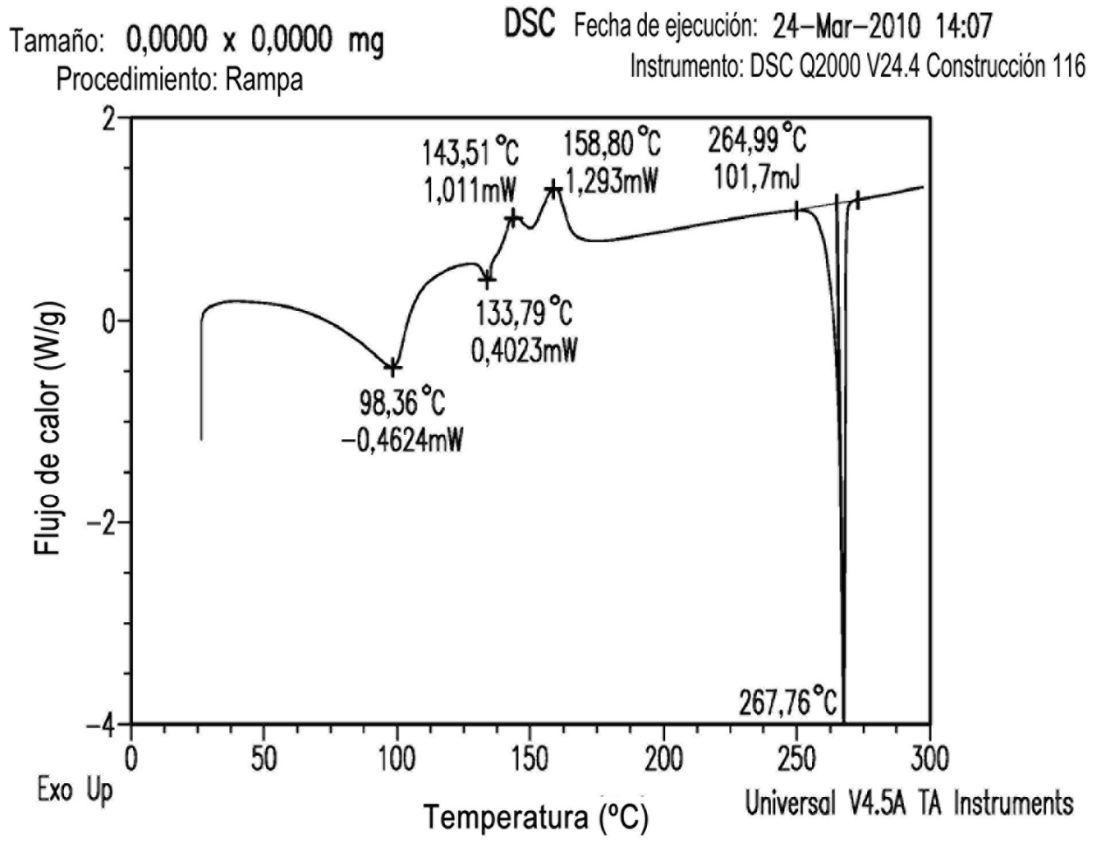


FIG. 9

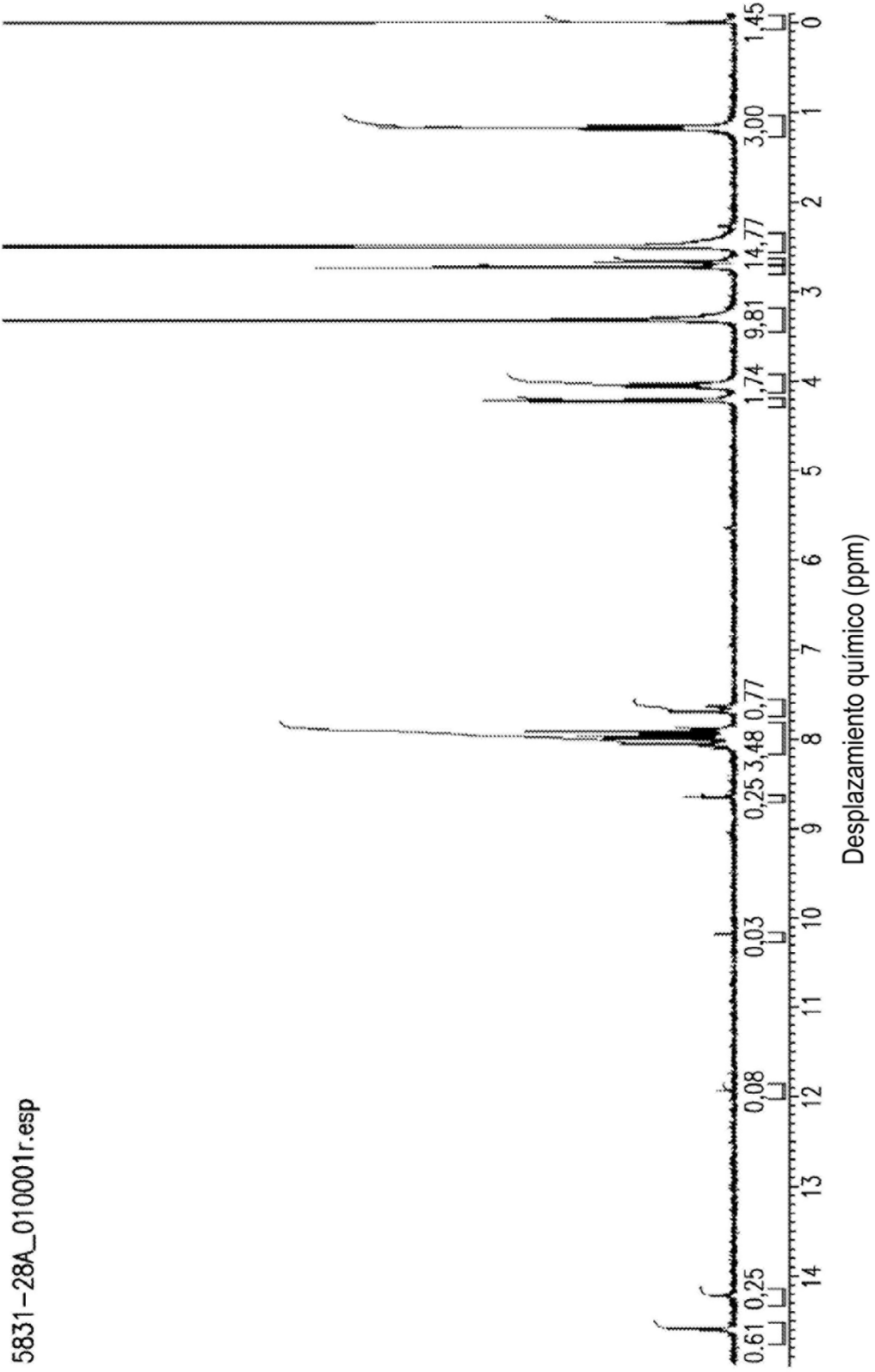


FIG. 10

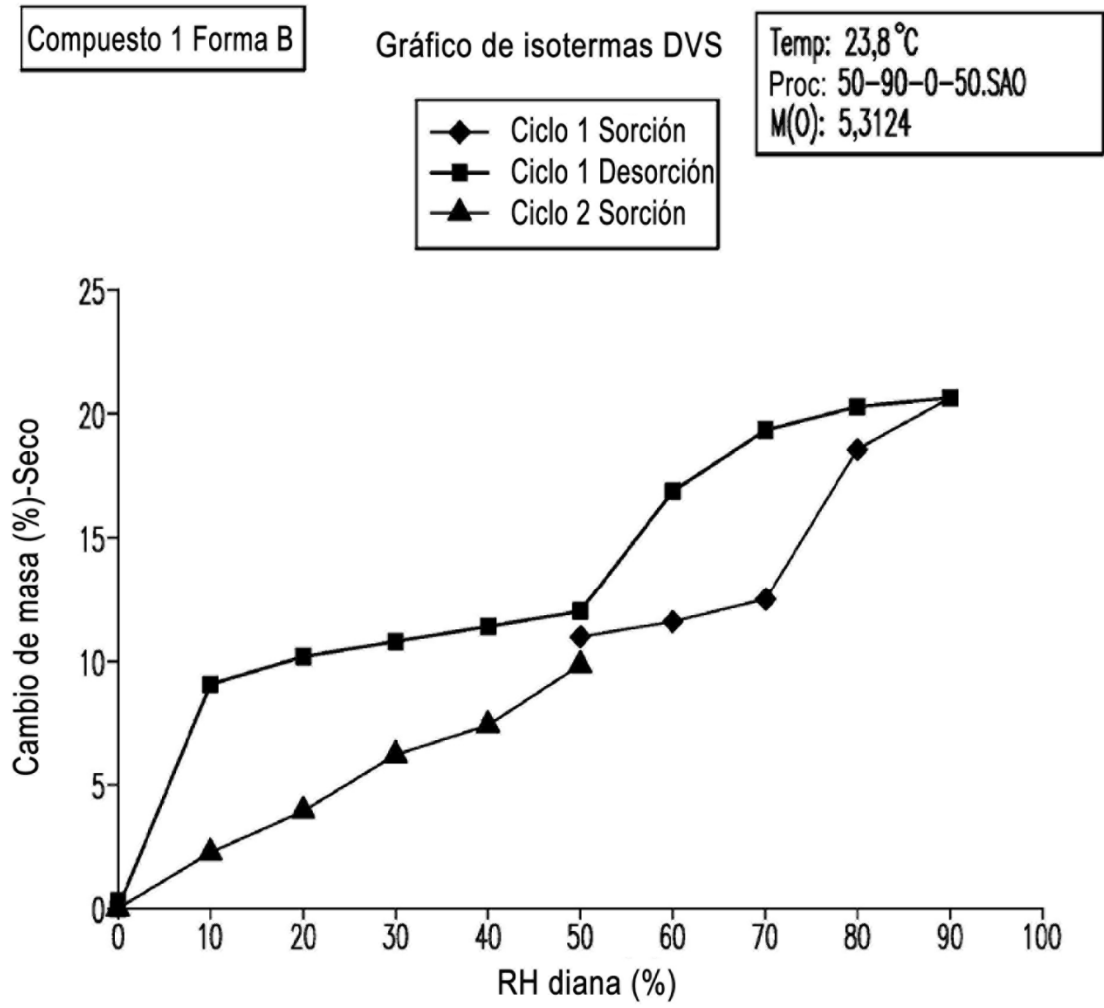


FIG. 11

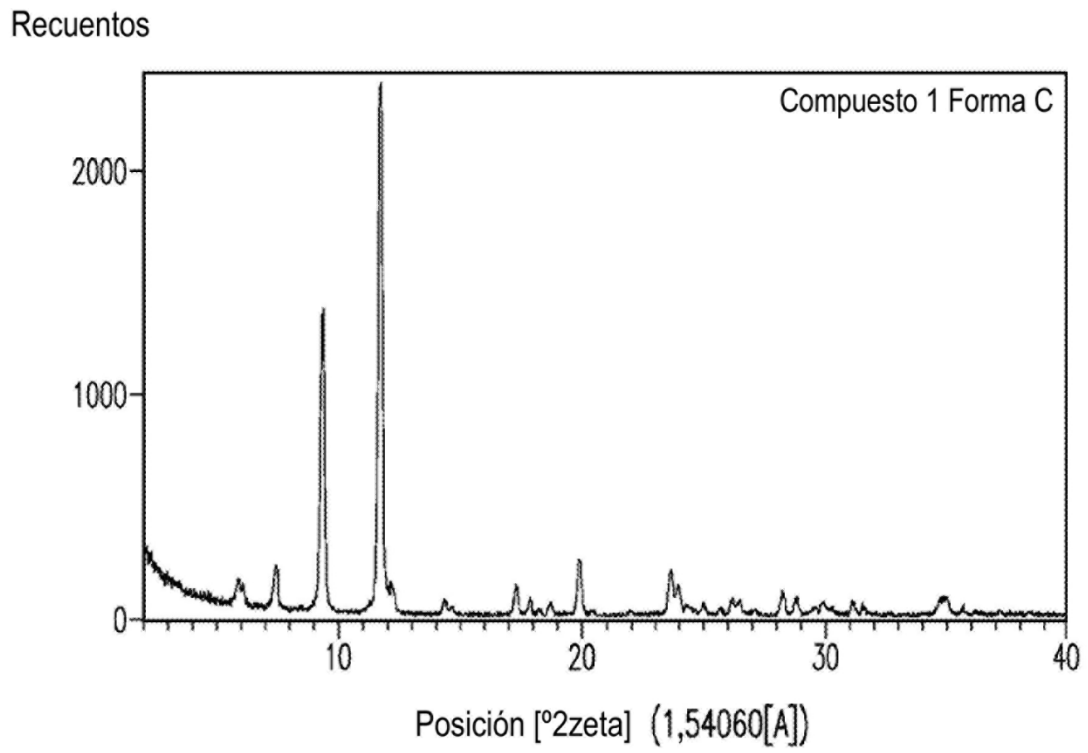


FIG. 12

Tamaño: 4,3060

TGA Fecha de ejecución: 29-Mar-2010 11:48

Comentario Lote#7541-096-G

Instrumento: TGA Q5000 V3.10 Construcción 258

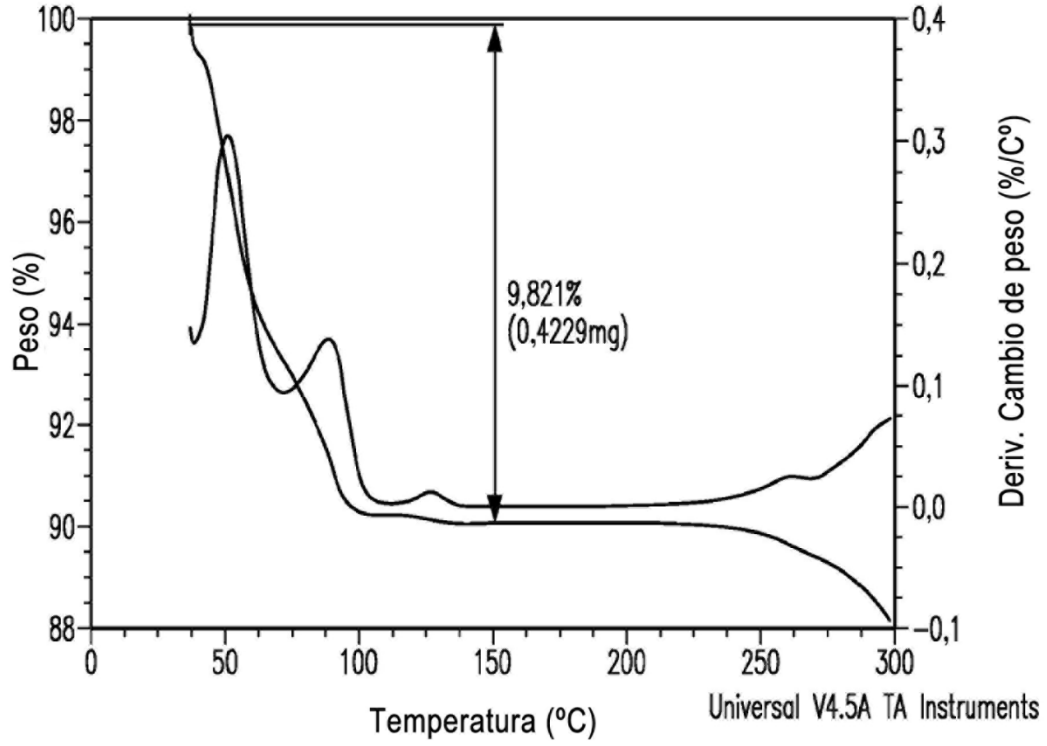


FIG. 13

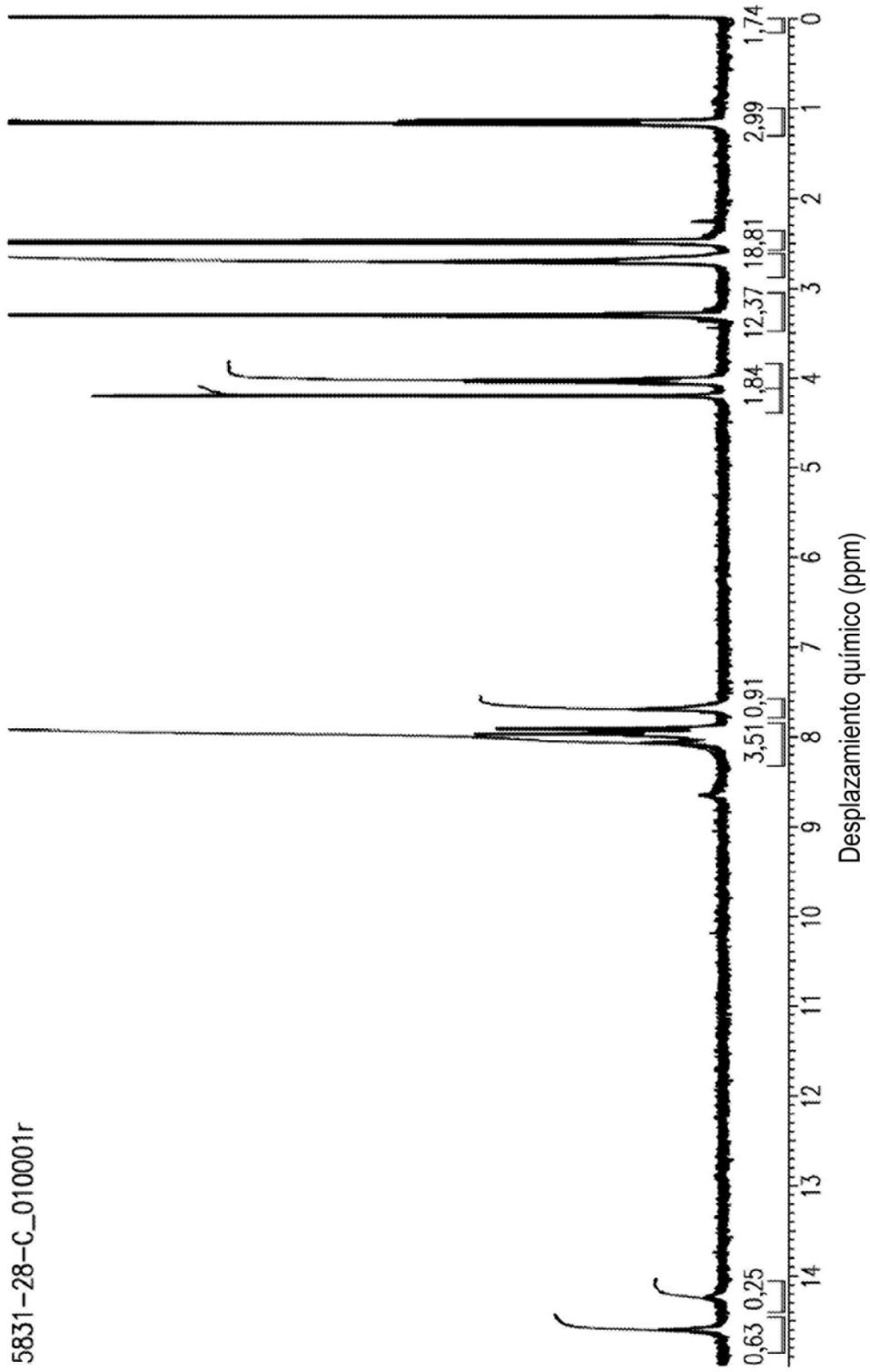


FIG. 15

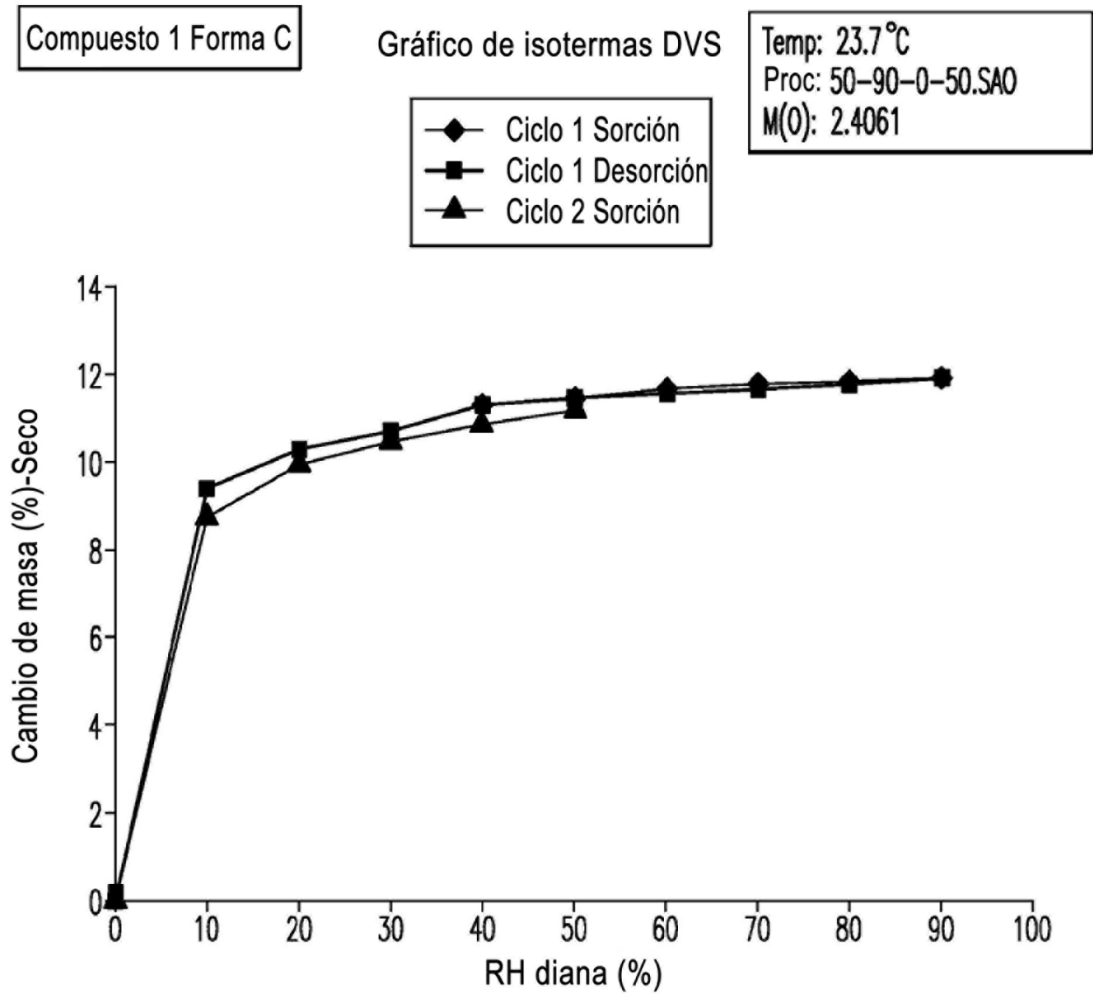


FIG. 16

Recuentos

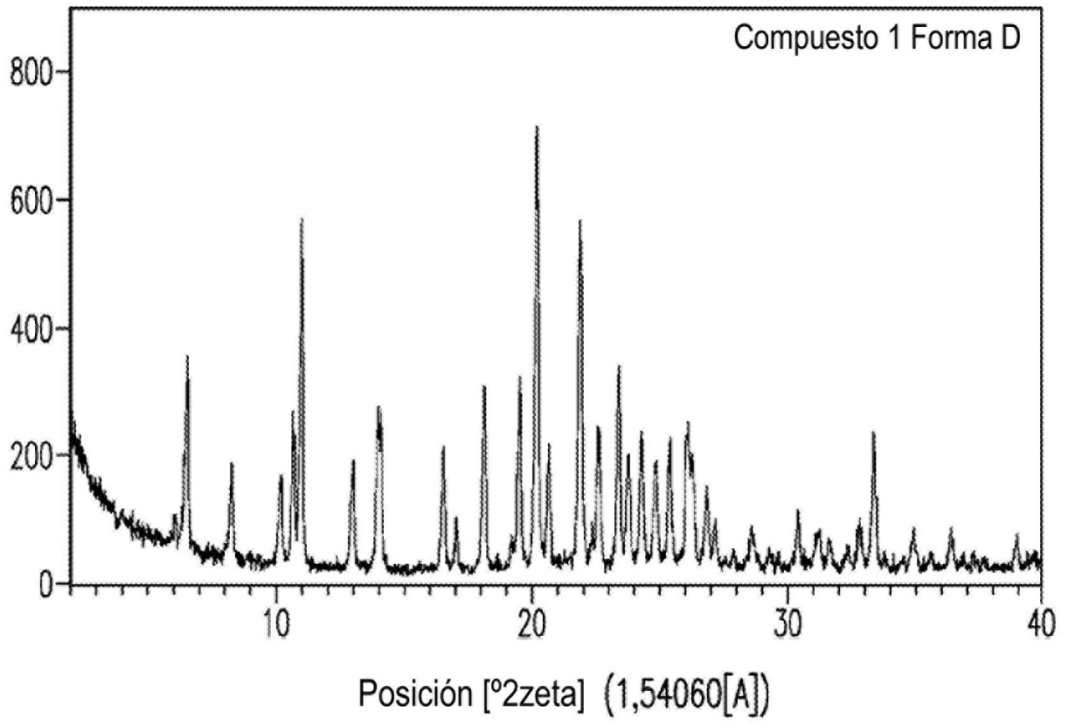


FIG. 17

Tamaño: 7,3820
Comentario Lote#7541-096-G

TGA Fecha de ejecución: 29-Mar-2010 13:10
Instrumento: TGA Q5000 V3.10 Construcción 258

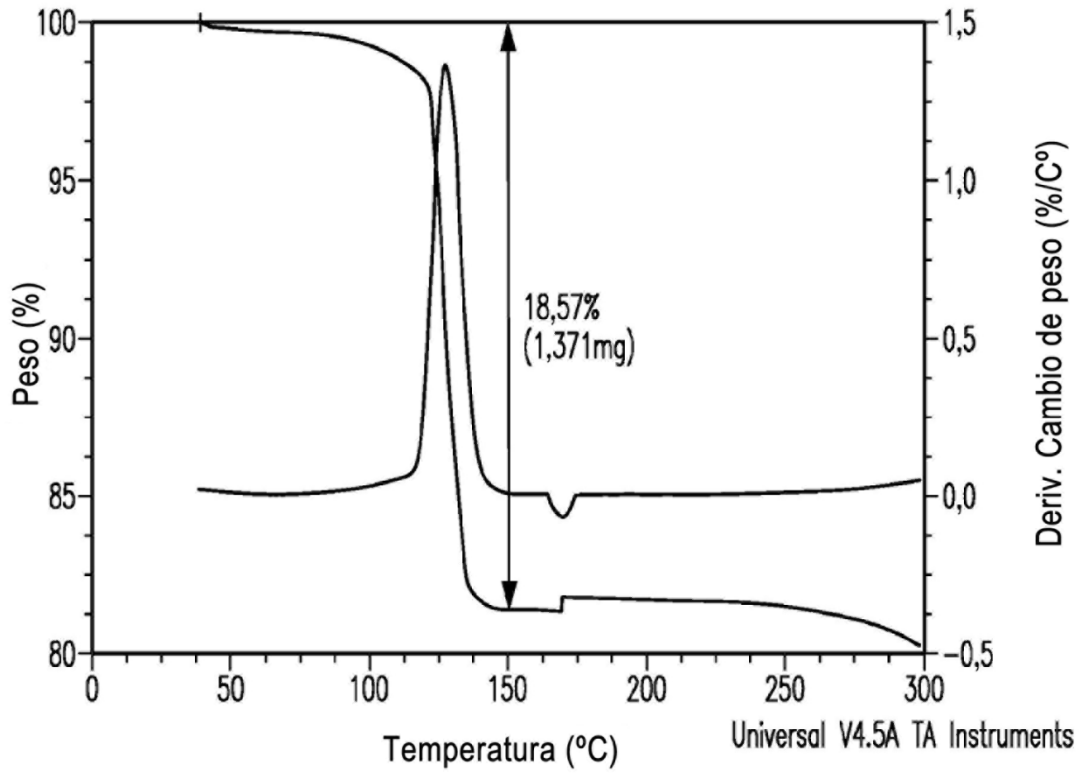


FIG. 18

Tamaño: 0,0000 x 0,0000 mg
Procedimiento: Rampa
Comentario: Lote 7541-096-G

DSC Fecha de ejecución: 24-Mar-2010 10:42
Instrumento: DSC Q2000 V24.4 Construcción 116

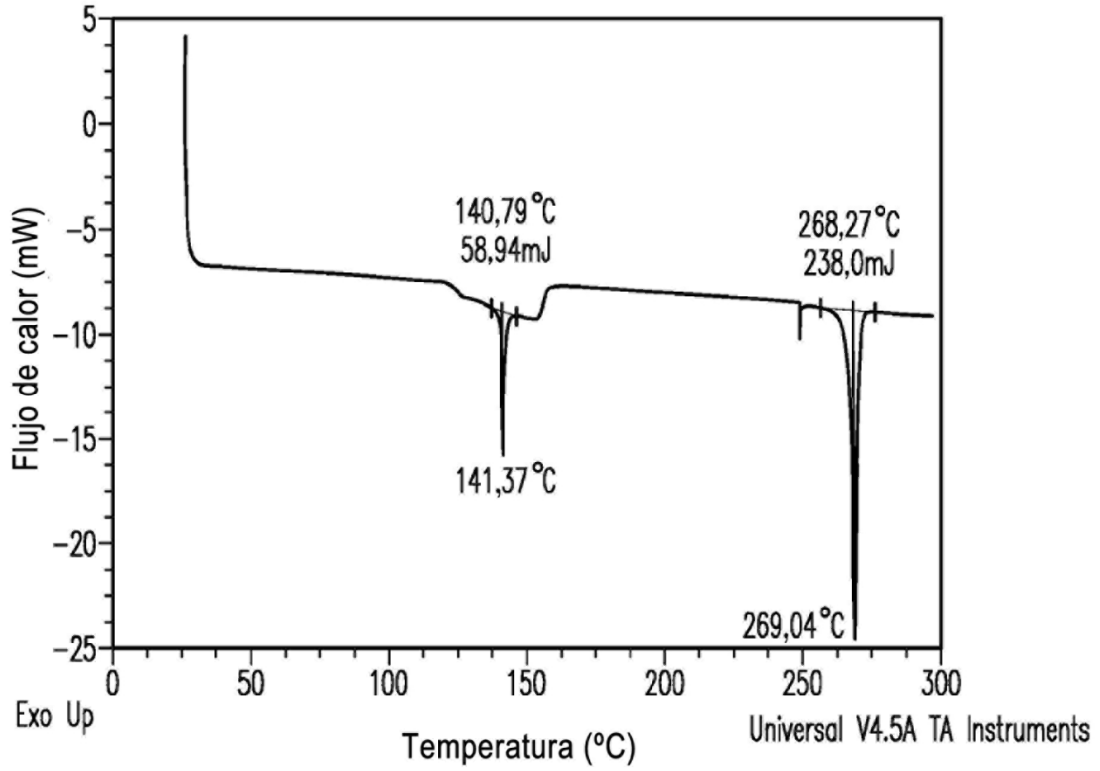


FIG. 19

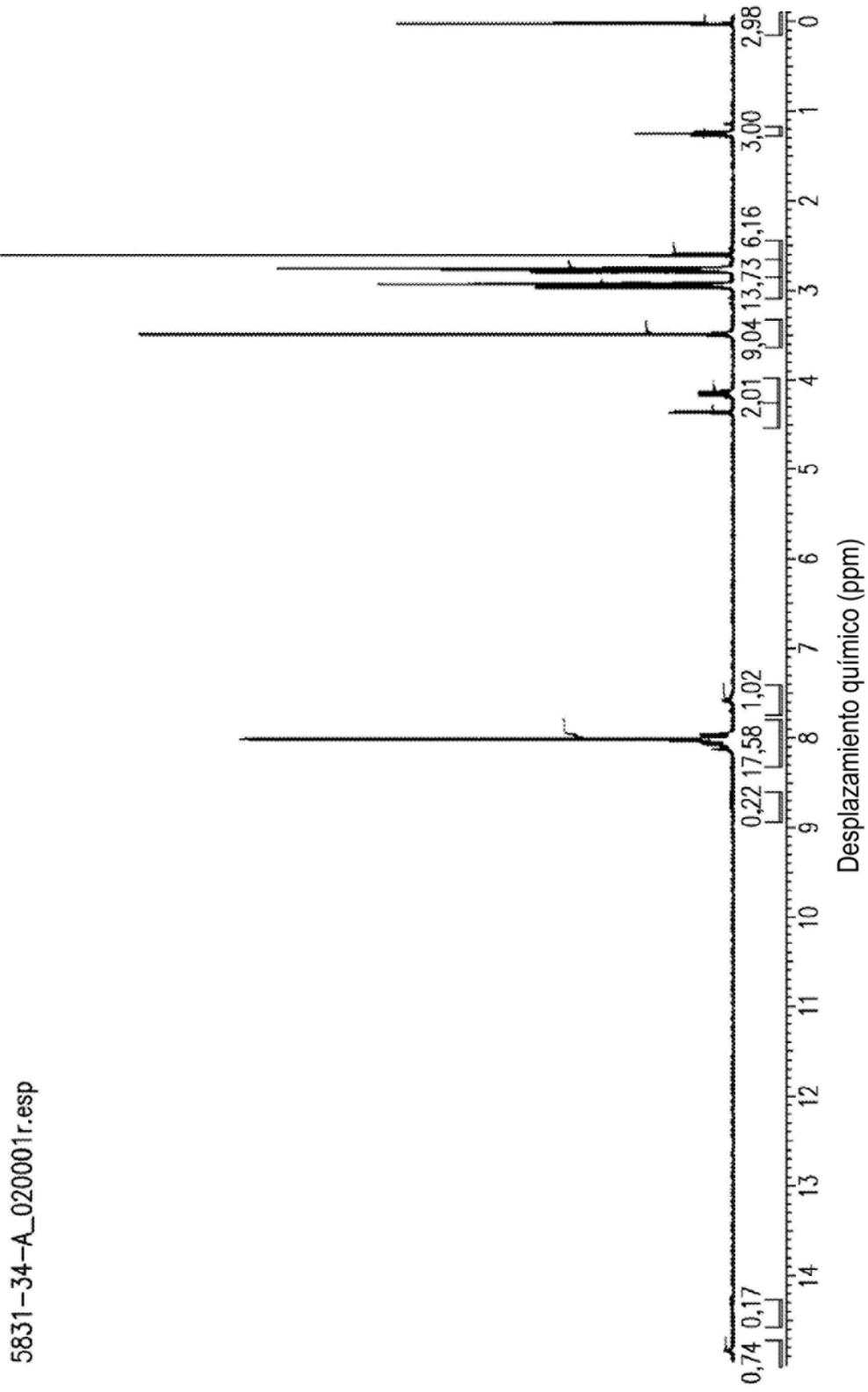


FIG. 20

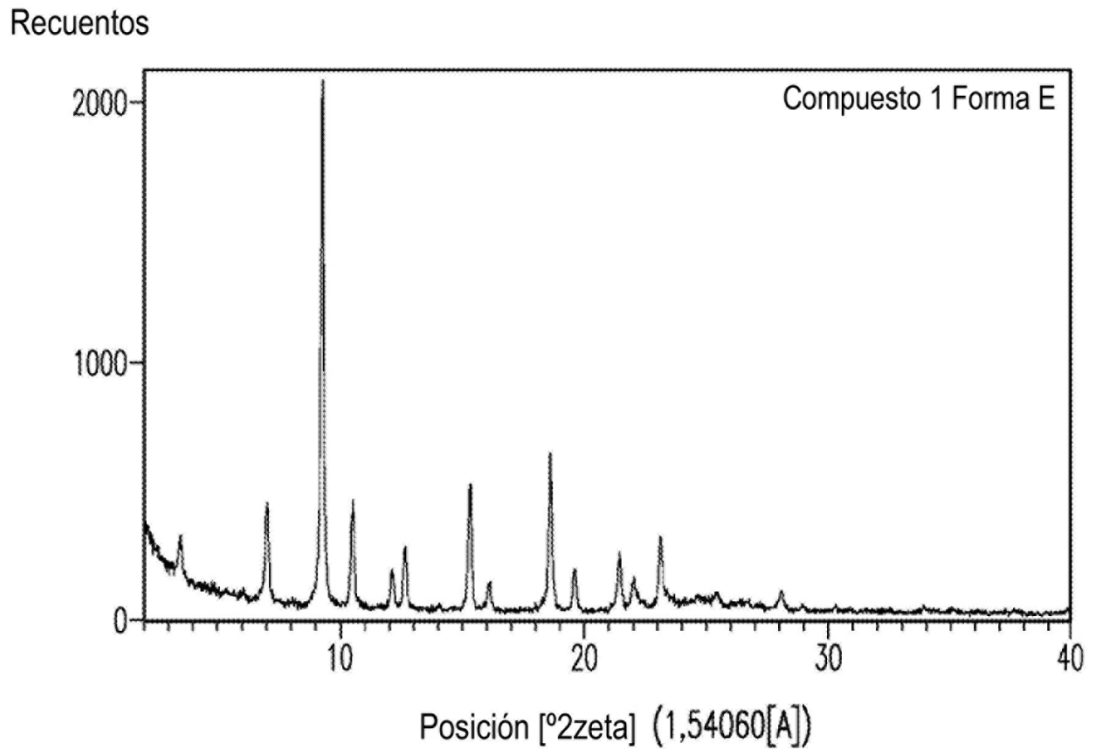


FIG. 21

Tamaño: 3,0990 mg

TGA Fecha de ejecución: 21-Jul-2010 15:03

Instrumento: TGA Q5000 V3.10 Construcción 258

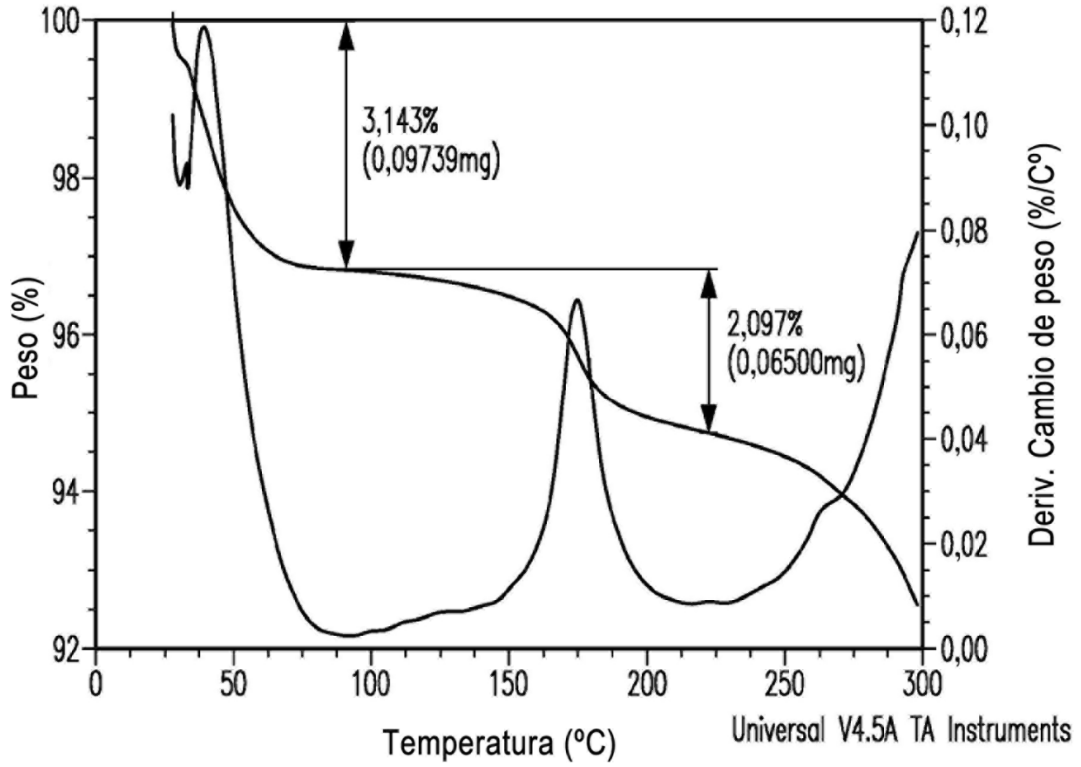


FIG. 22

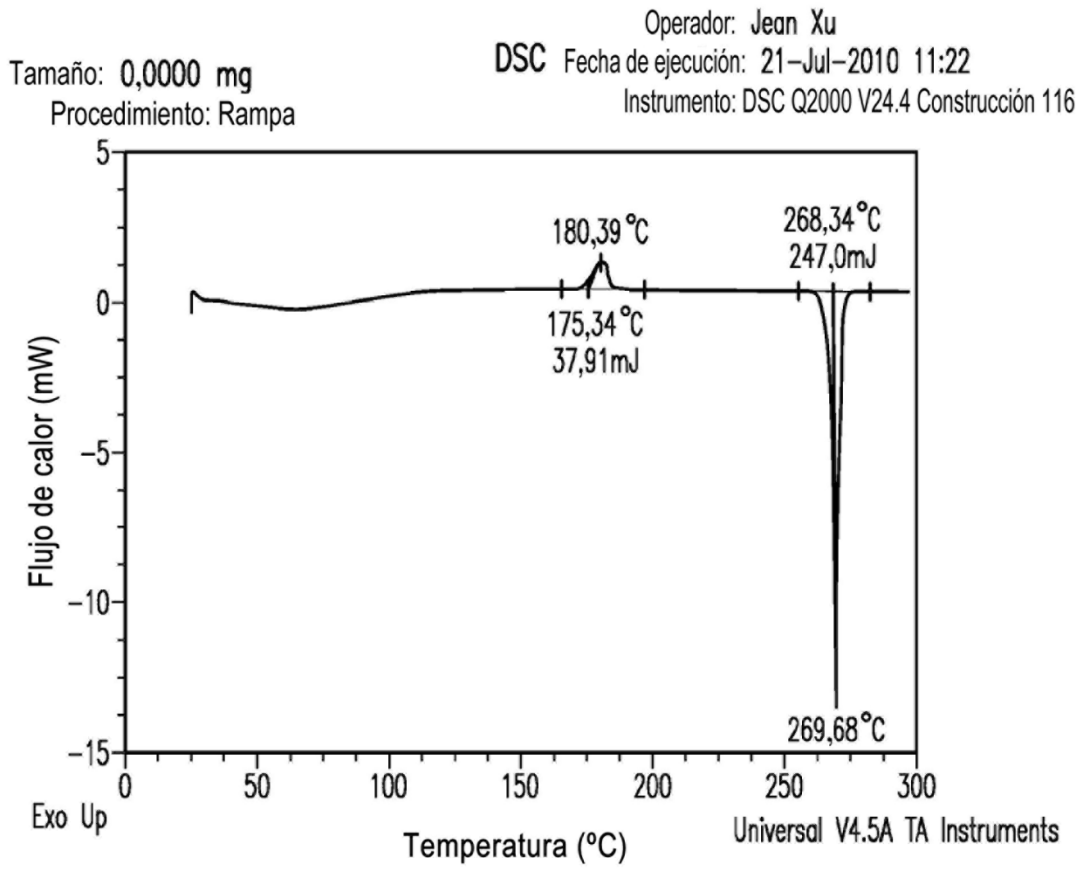
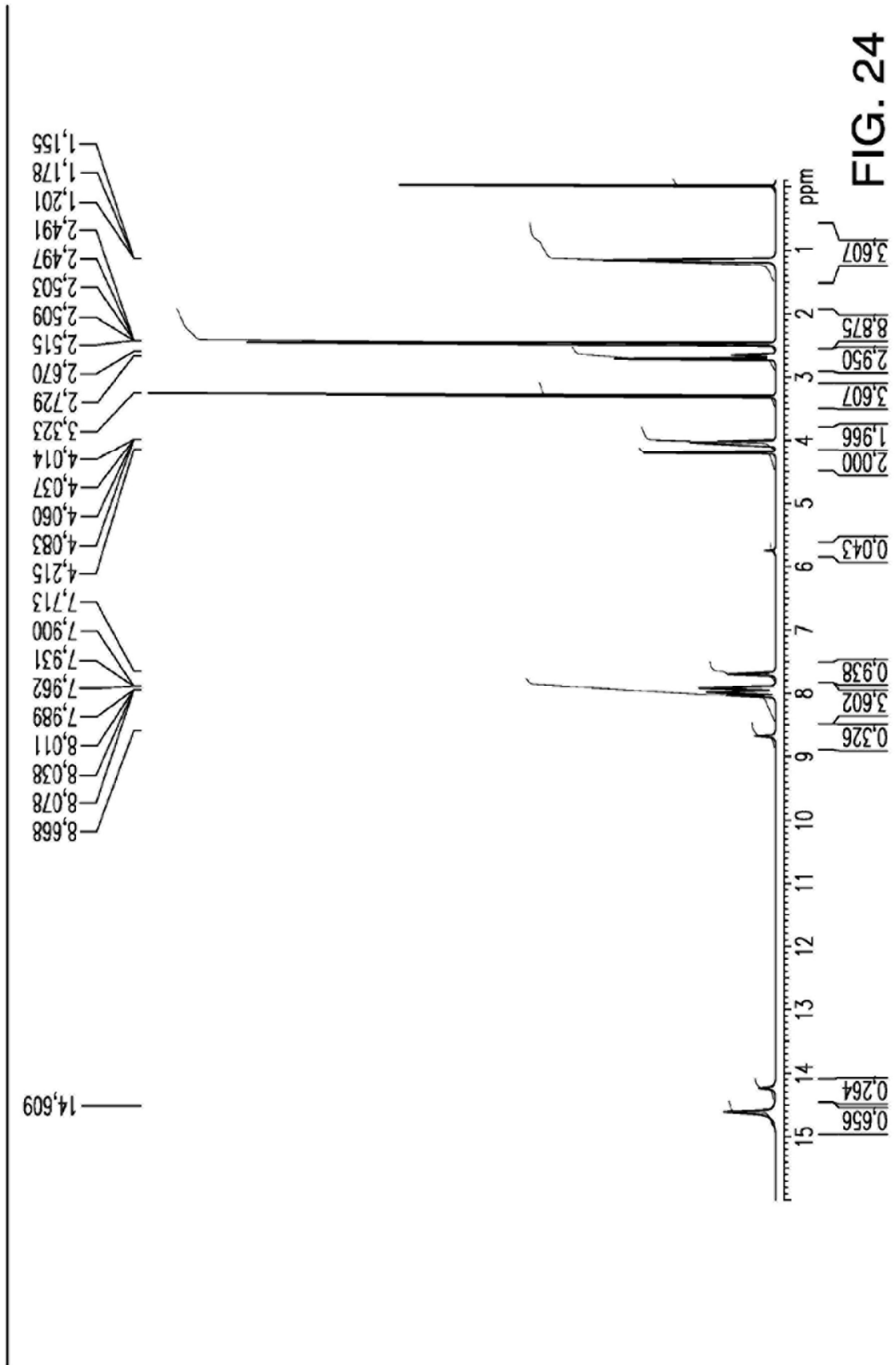


FIG. 23



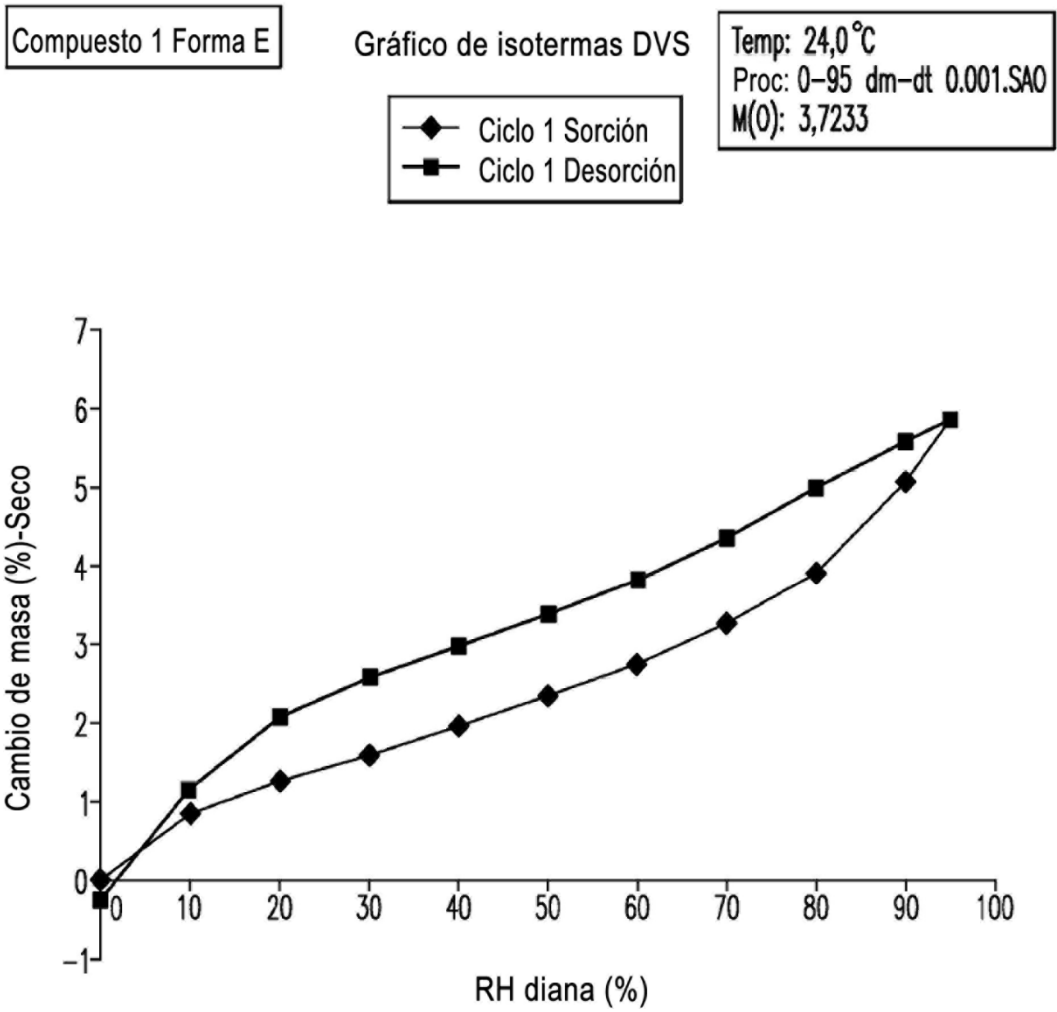
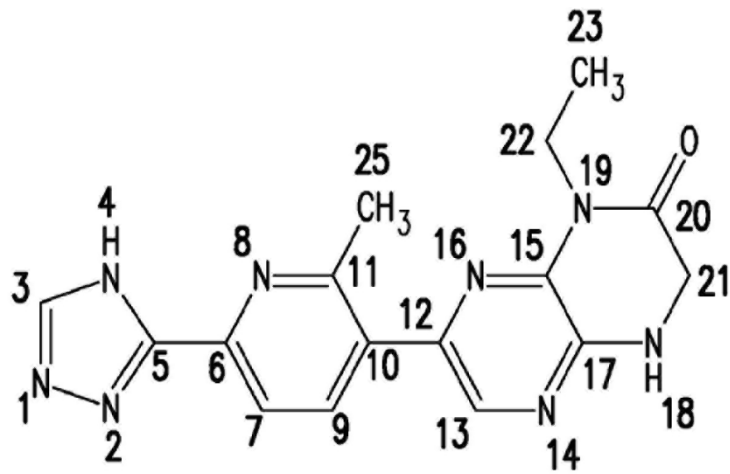
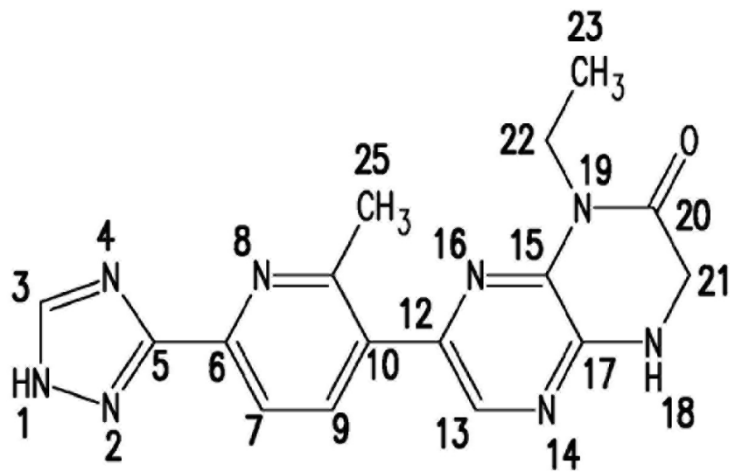


FIG. 25



(70 % tautómero principal)



(30 % tautómero menor)

FIG. 26

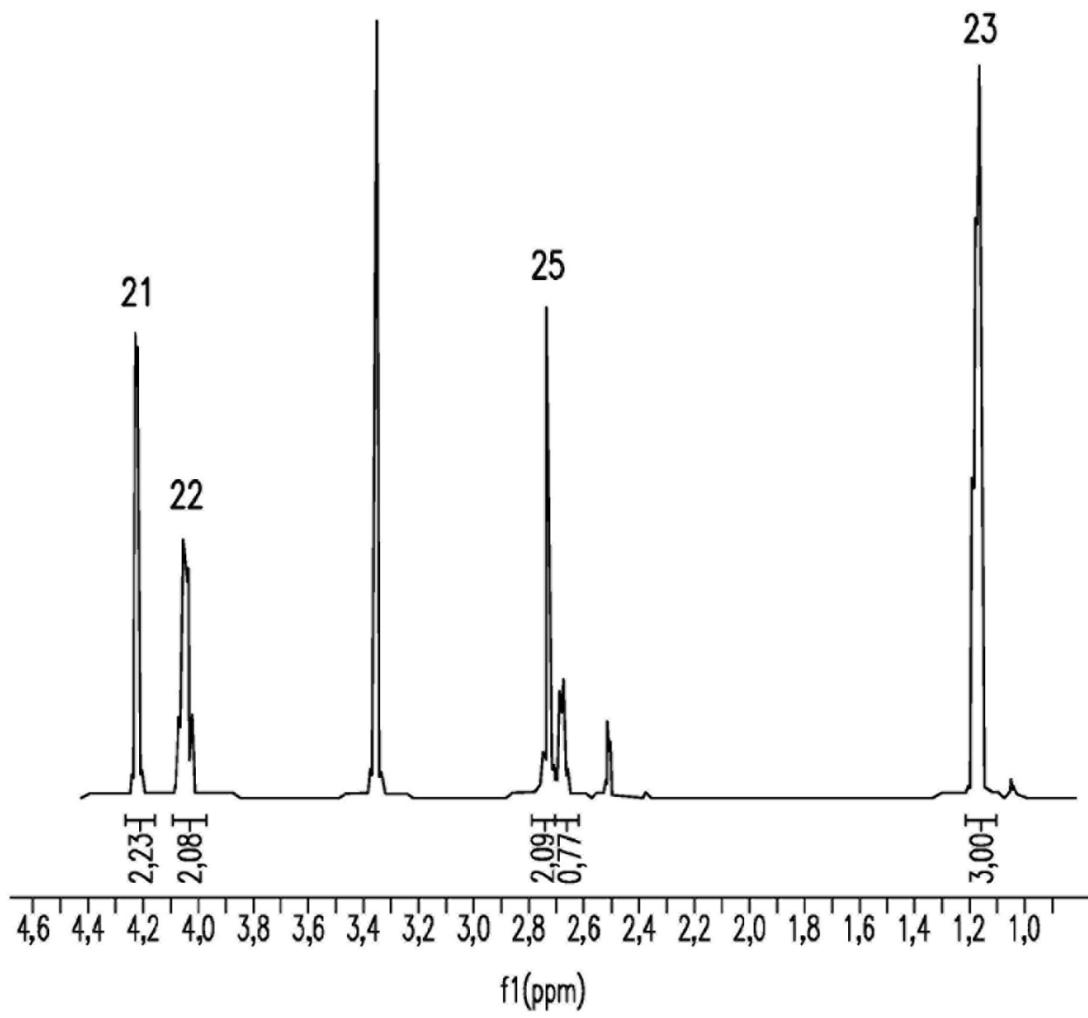


FIG. 27

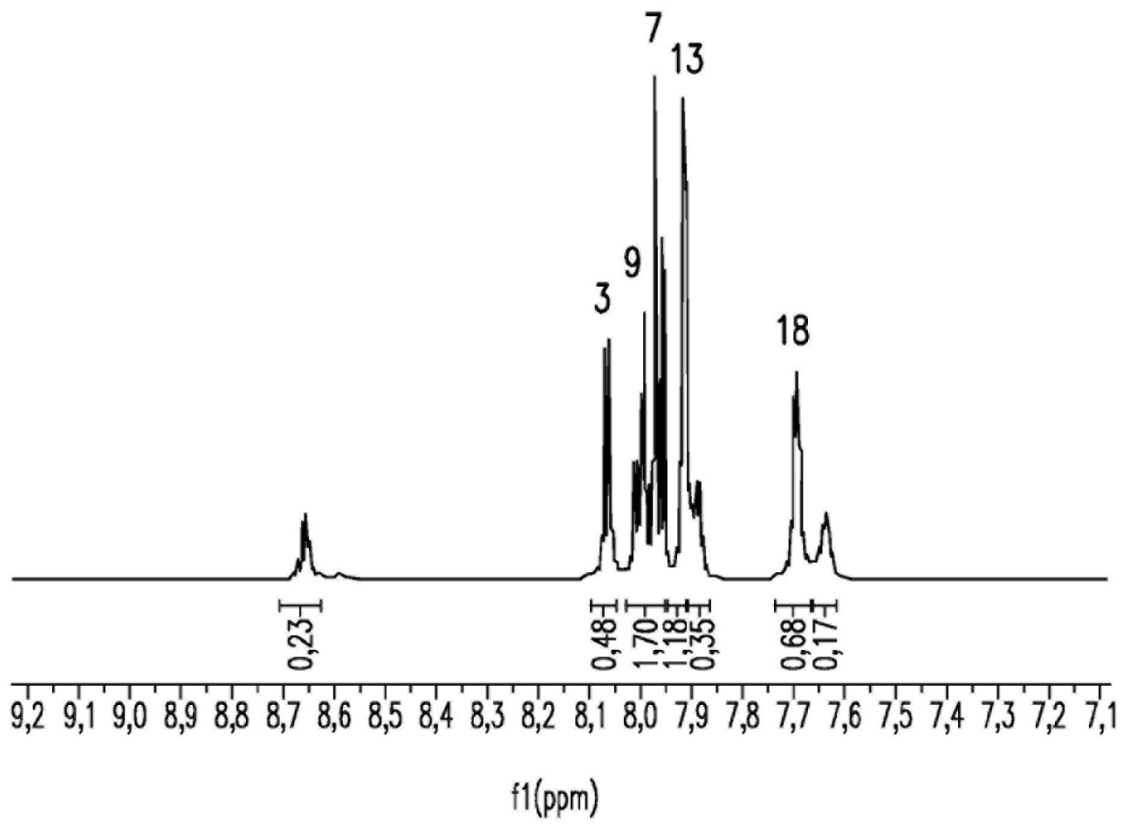


FIG. 27 (continuación)

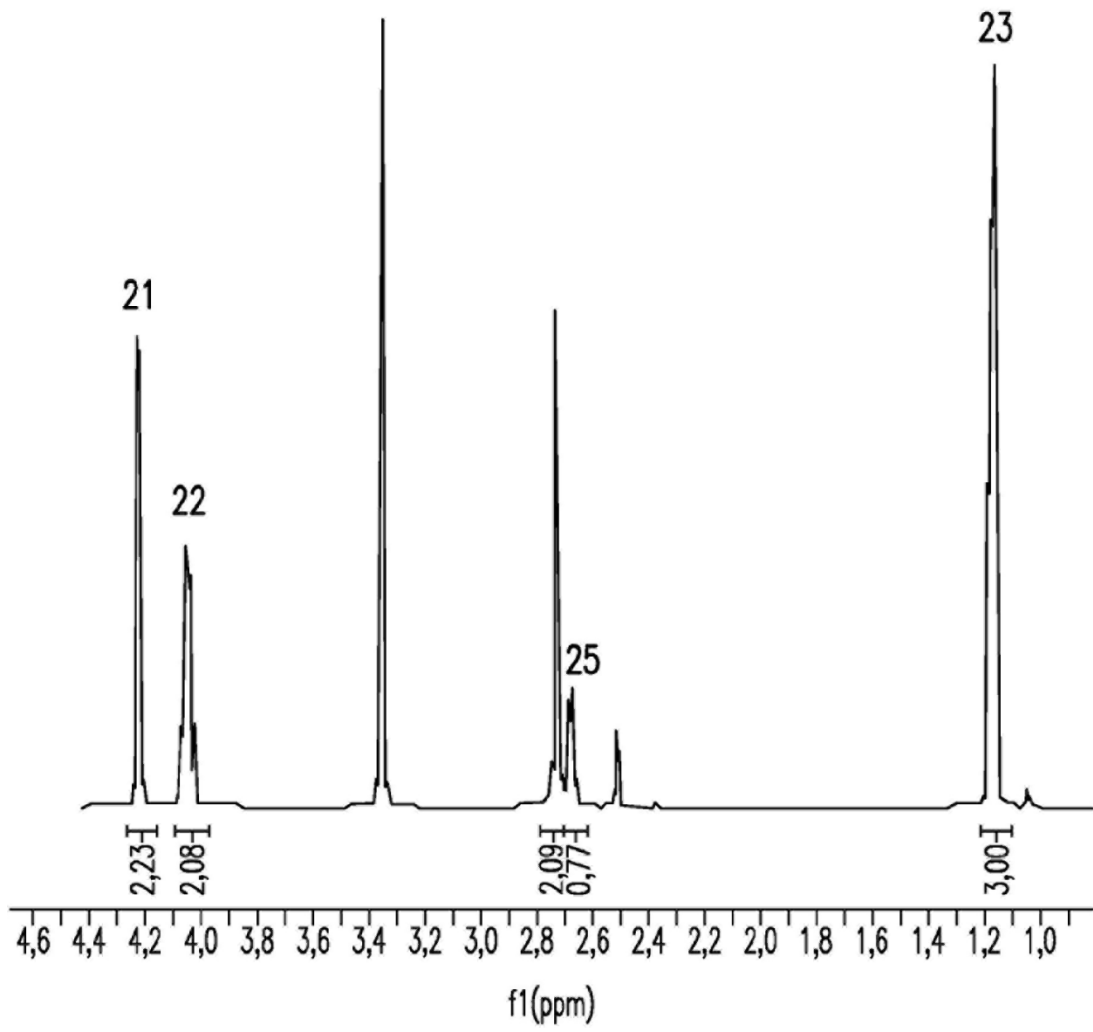


FIG. 28

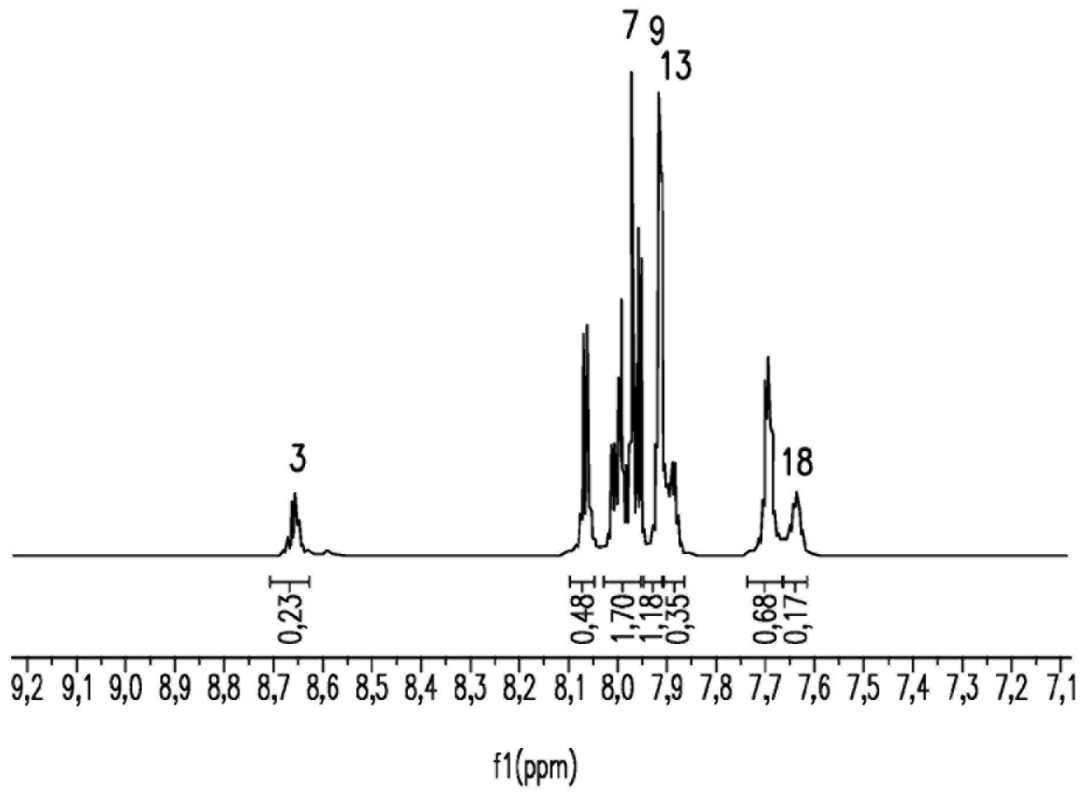


FIG. 28 (continuación)

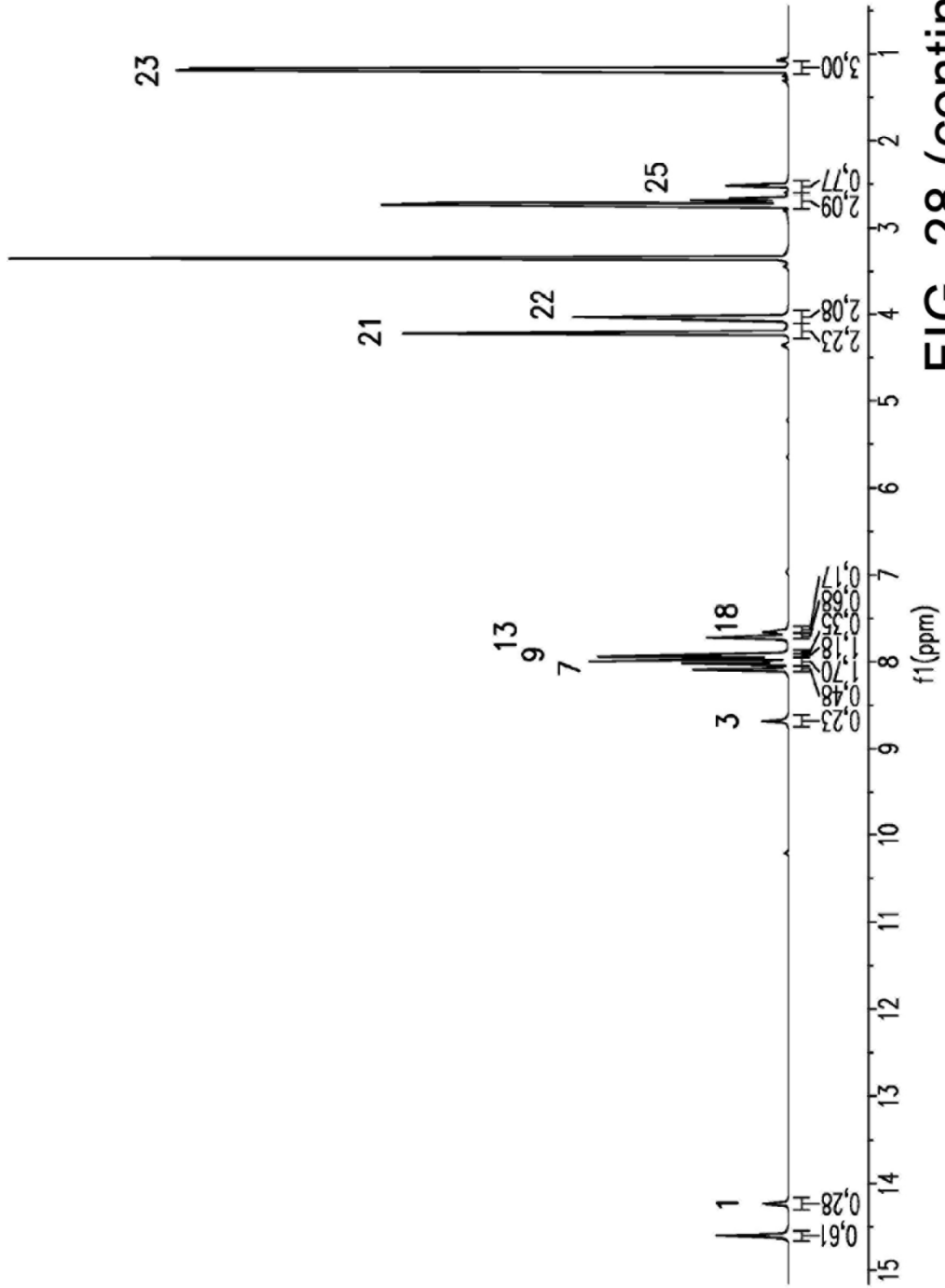


FIG. 28 (continuación)

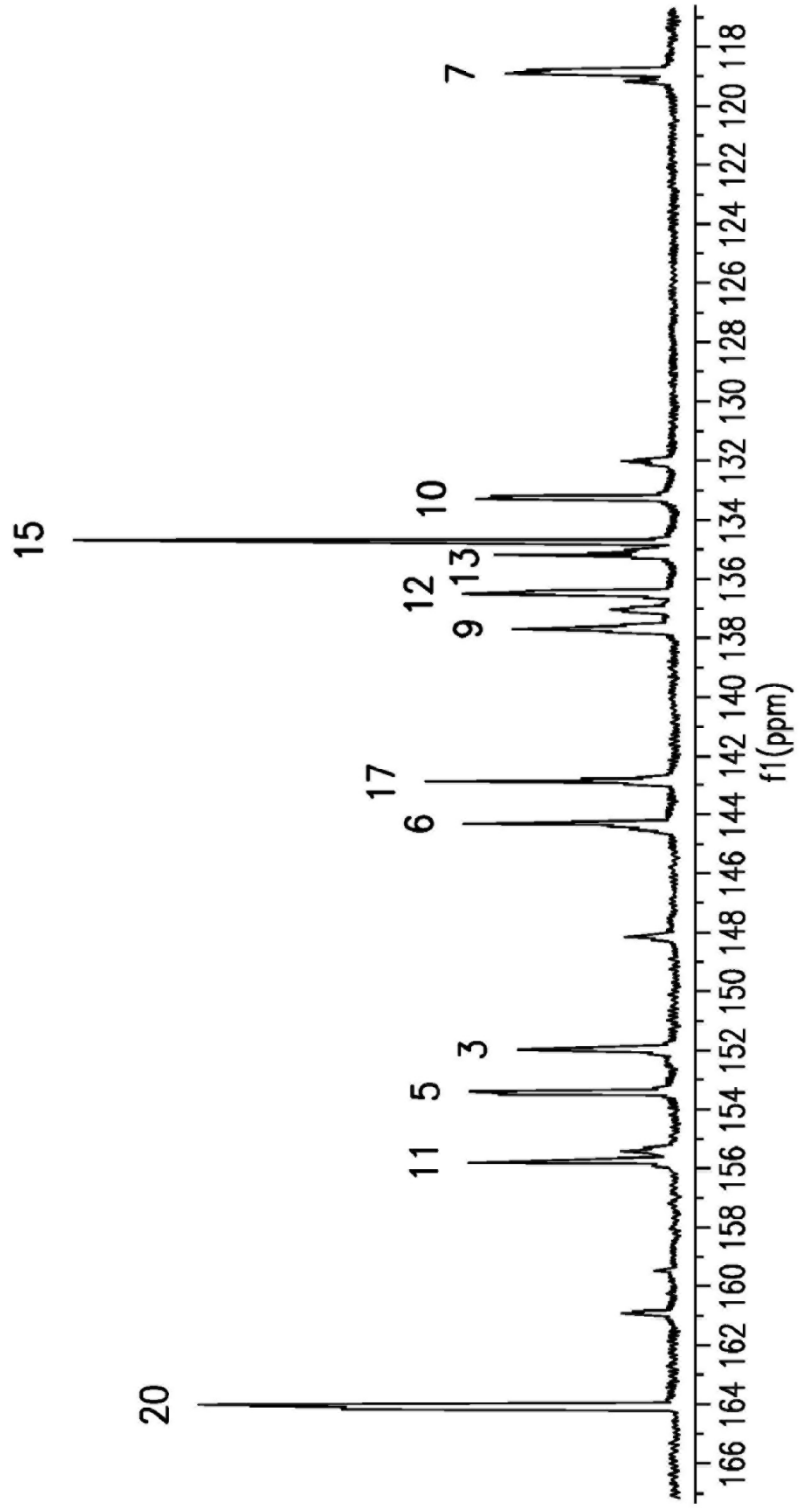


FIG. 29

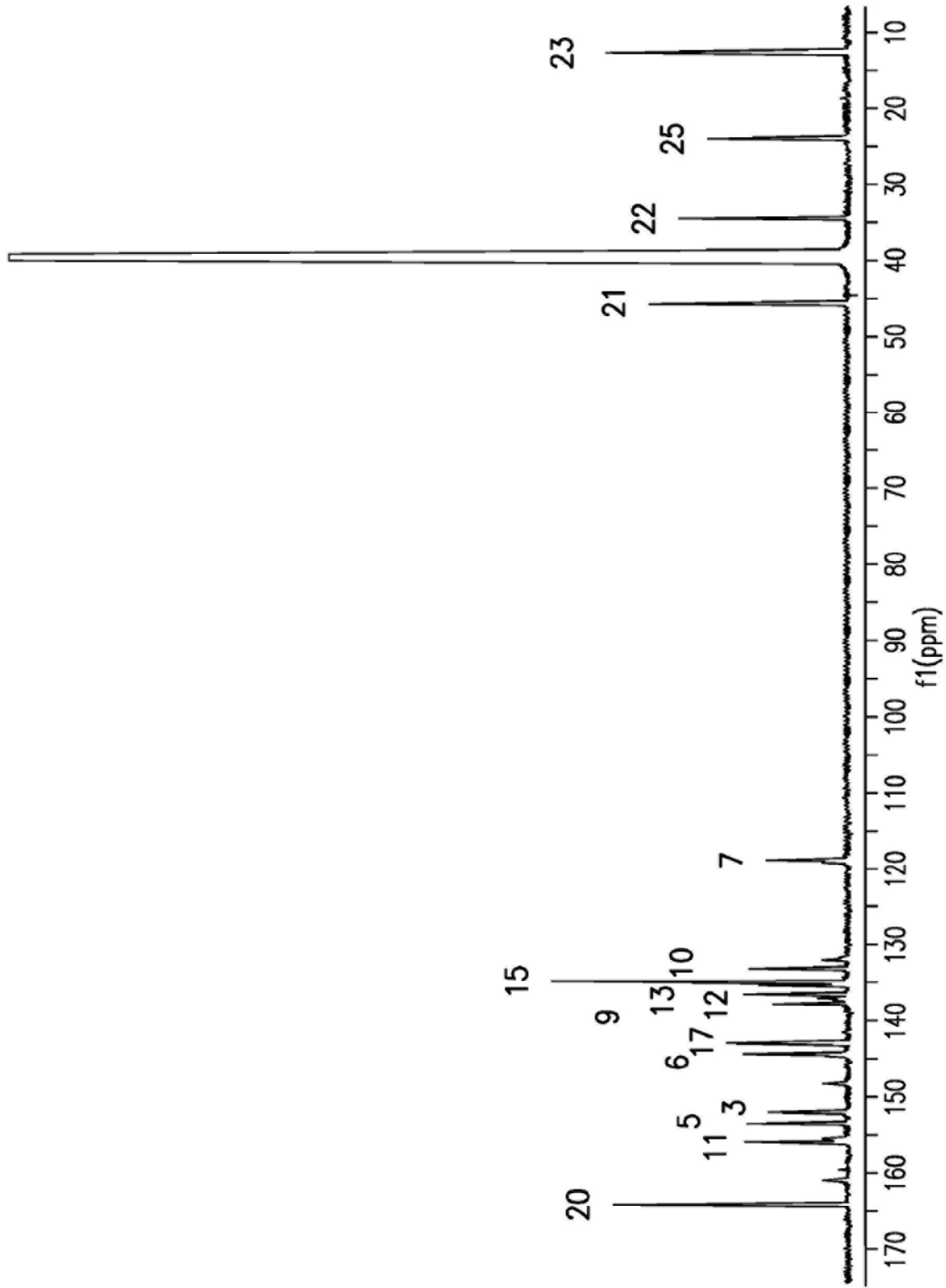


FIG. 29 (continuación)

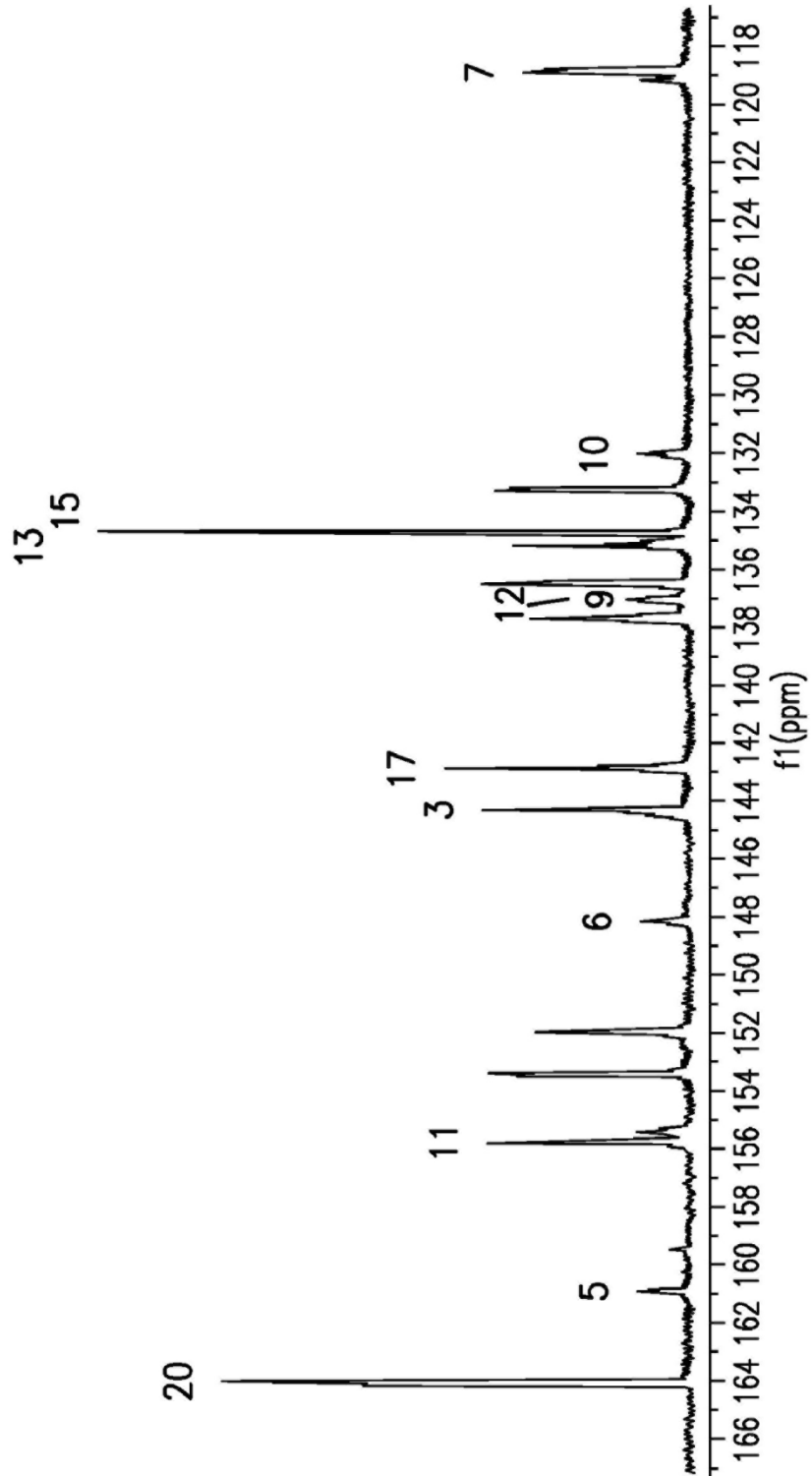


FIG. 30

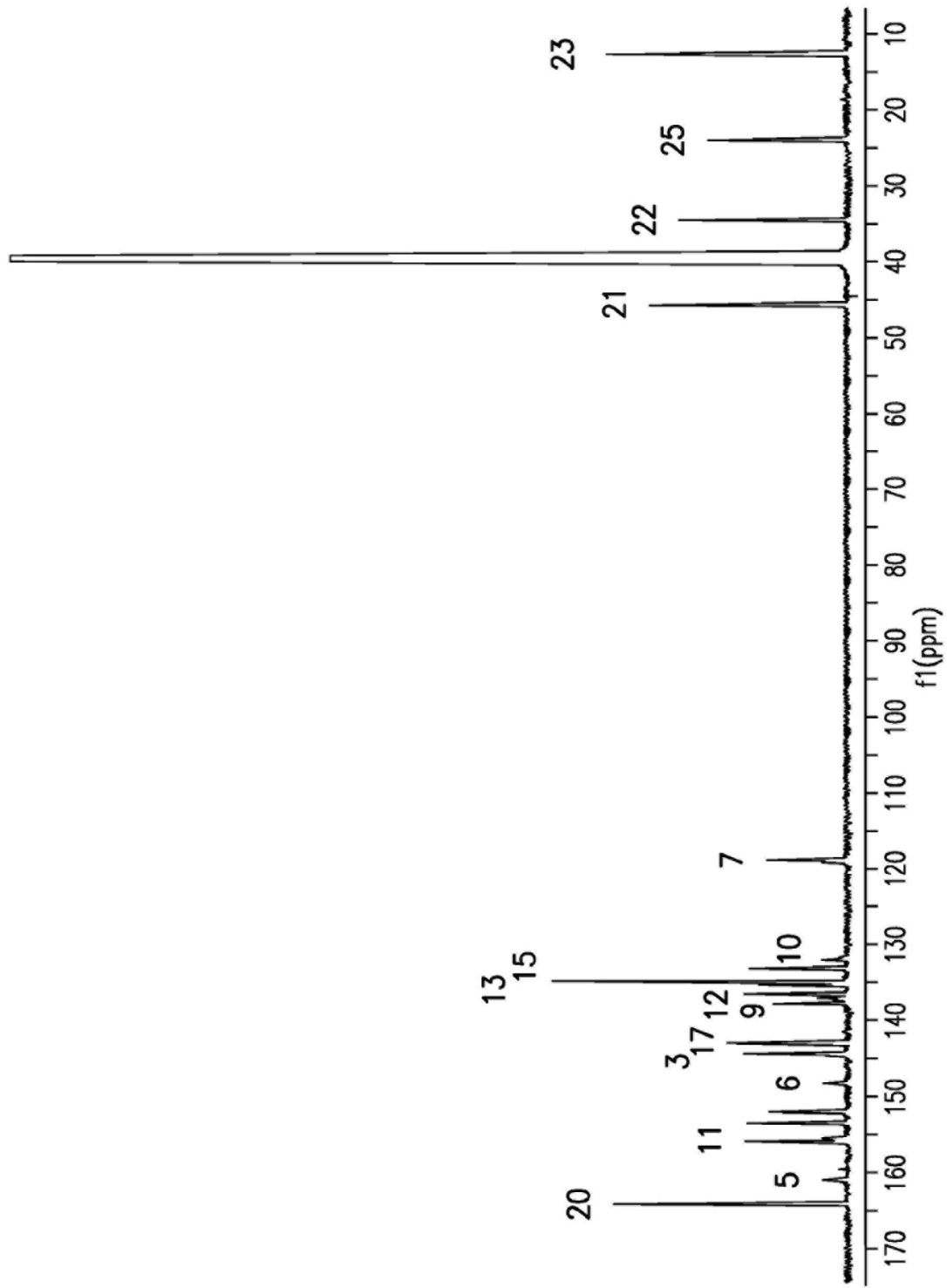


FIG. 30 (continuación)

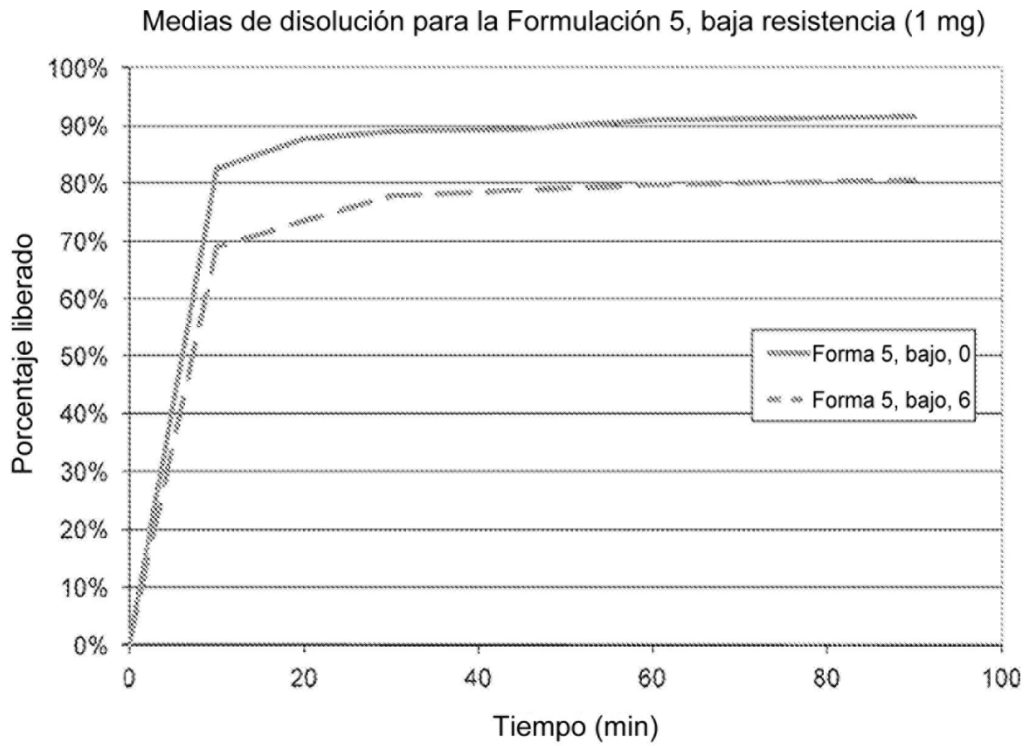
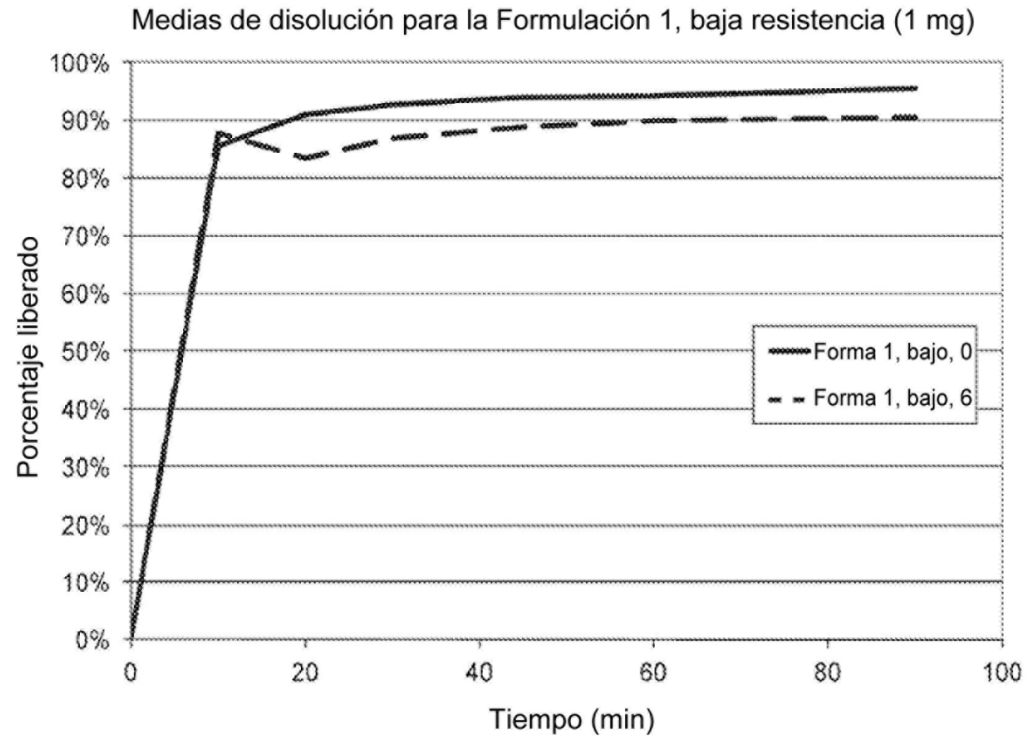


FIG. 31

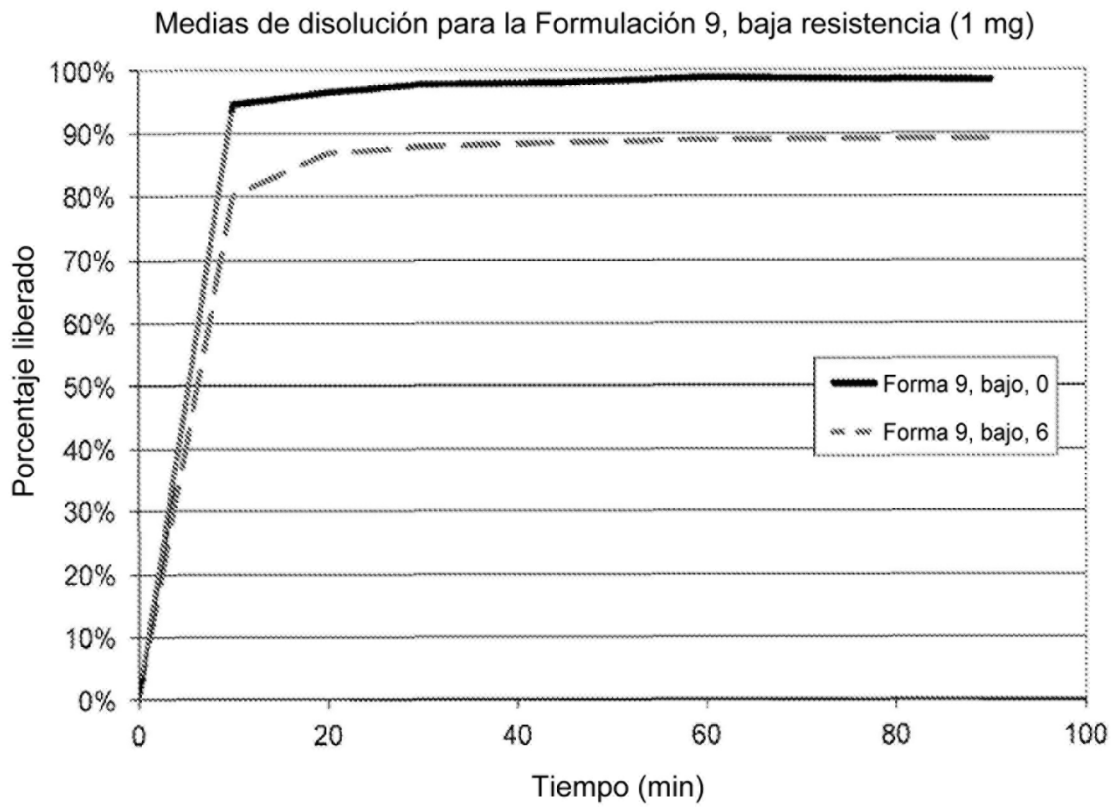


FIG. 31 (continuación)

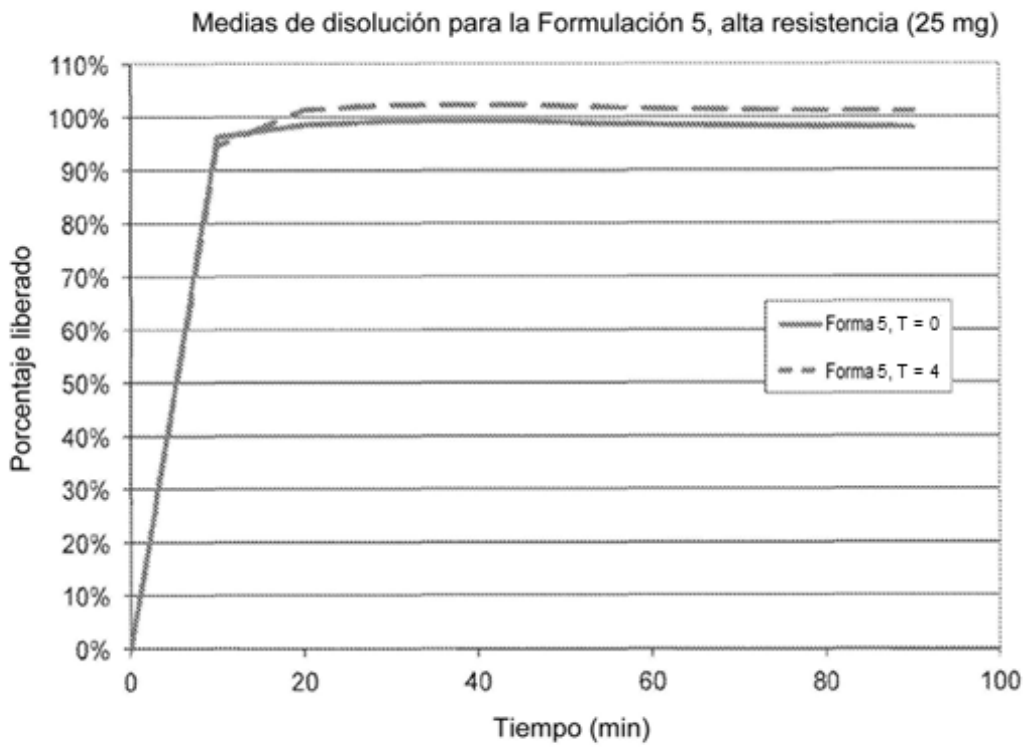
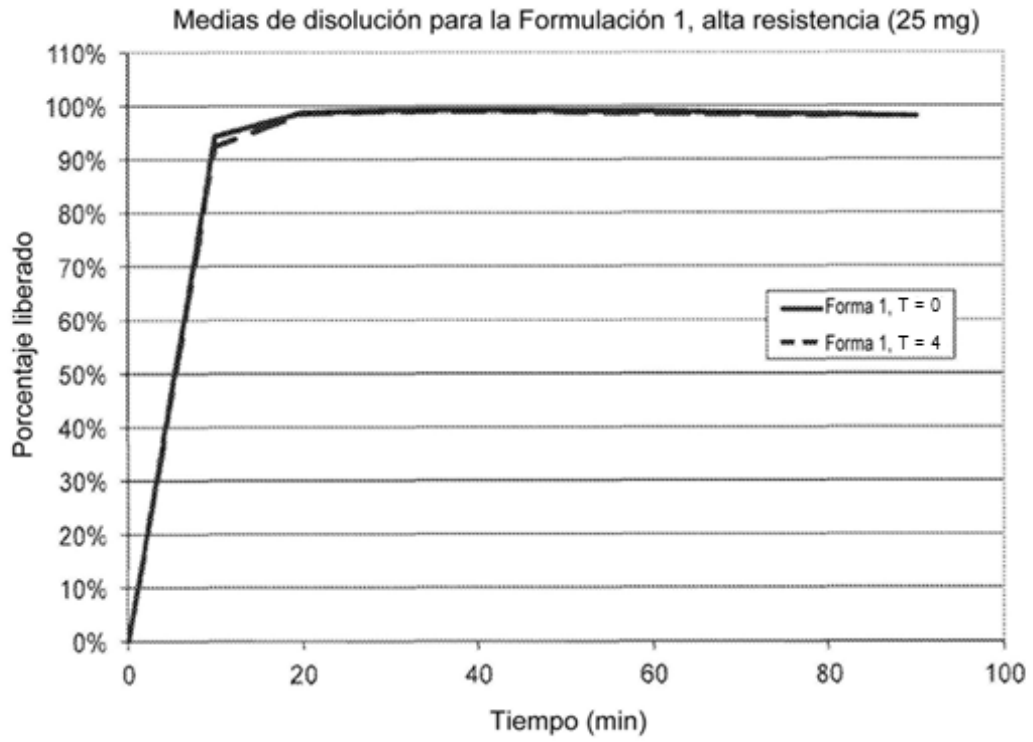


FIG. 32

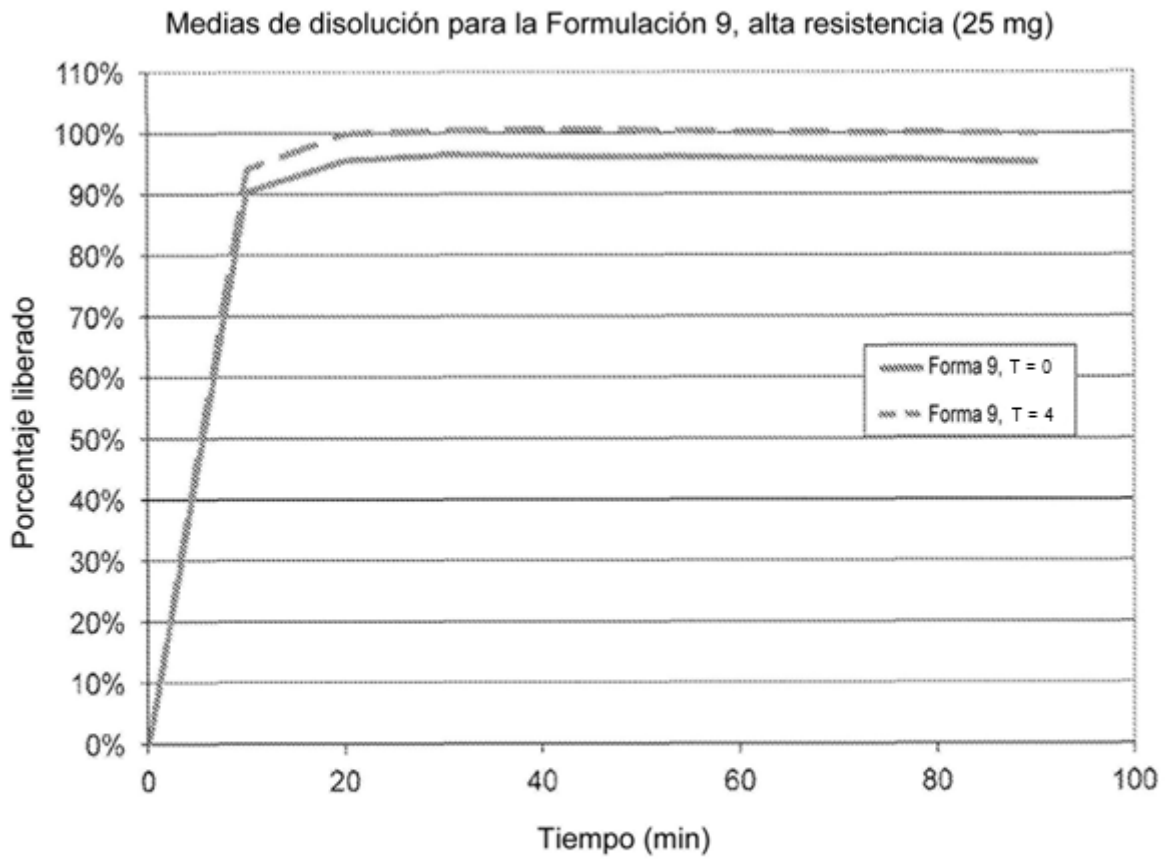


FIG. 32 (continuación)

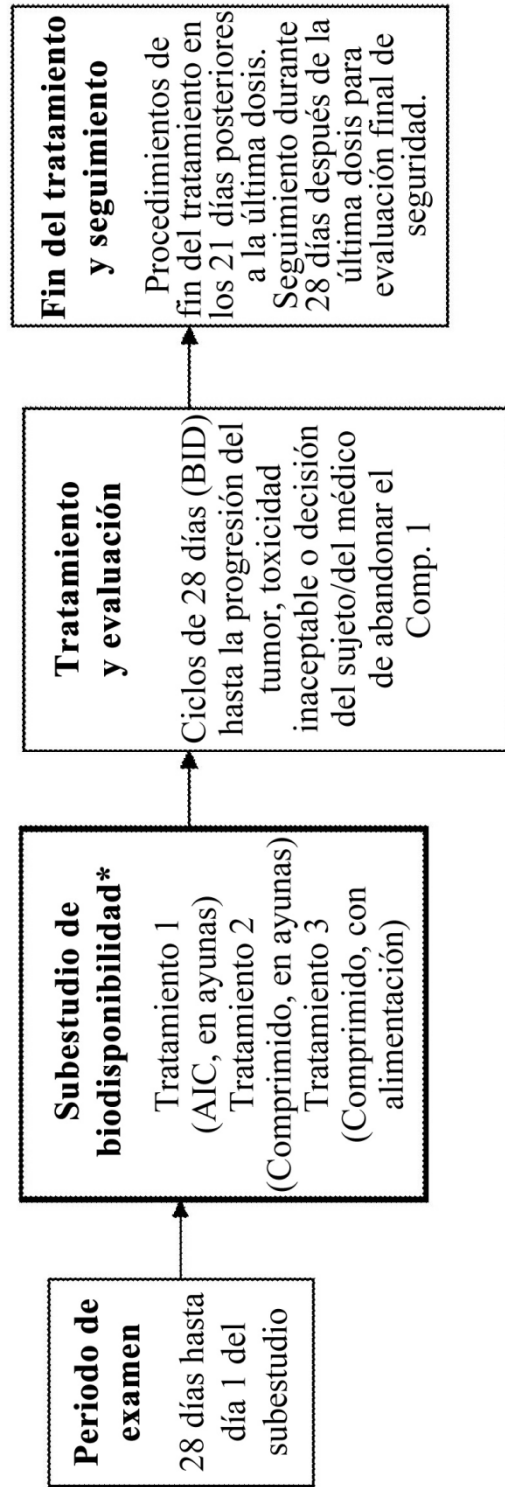


FIG. 33