

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 769 523**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

C07D 487/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.06.2013 PCT/US2013/047123**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2013 WO13192556**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2013 E 13806448 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 2863918**

54 Título: **Cristales de sal de un inhibidor de PDE1**

30 Prioridad:

21.06.2012 US 201261662355 P

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

26.06.2020

73 Titular/es:

**INTRA-CELLULAR THERAPIES, INC. (100.0%)
430 East 29th Street, Suite 900
New York, NY 10016, US**

72 Inventor/es:

**LI, PENG;
WENNOGLE, LAWRENCE P.;
DAVIS, ROBERT;
BUCKTON, GRAHAM y
HOOPER, MARK**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

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

ES 2 769 523 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

Cristales de sal de un inhibidor de PDE1

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a cristales de sal de adición de fosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona, en donde dichos cristales de sal son cristales de sal monofosfato, o solvatos o hidratos de los mismos.

10

Antecedentes de la invención

El compuesto (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona se desvela en el documento WO 2009/075784 (U.S. Pub. n.º 2010/0273754). Se ha encontrado que este compuesto es un inhibidor potente y selectivo de la fosfodiesterasa 1 (PDE 1) útil para el tratamiento o la profilaxis de trastornos caracterizados por bajos niveles de cAMP y/o cGMP en células que expresan PDE1, y/o actividad reducida de señalización del receptor de dopamina D1 (por ejemplo, enfermedad de Parkinson, síndrome de Tourette, Autismo, síndrome X frágil, TDAH, síndrome de las piernas inquietas, depresión, deterioro cognitivo de la esquizofrenia, narcolepsia); y/o cualquier enfermedad o afección que pueda mejorarse mediante la mejora de la señalización de progesterona. Esta lista de trastornos es a modo de ejemplo y no pretende ser exhaustiva.

15

20

La publicación WO 2009/075784 desvela (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en forma de base libre y generalmente en forma de sal farmacéuticamente aceptable, pero no se demostró que ninguna sal específica tuviera una estabilidad particular o propiedades deseadas. Debido a que muchos compuestos farmacéuticos pueden existir en diferentes formas físicas (por ejemplo, líquido o sólido en diferentes formas cristalinas, amorfas, polimorfos, hidratadas o solvatadas) que pueden variar la estabilidad, solubilidad, biodisponibilidad o farmacocinética (absorción, distribución, metabolismo, excreción o la como) y/o bioequivalencia de un fármaco, es de vital importancia en el desarrollo farmacéutico identificar un compuesto farmacéutico de forma física óptima (por ejemplo, base libre o sal en forma sólida, líquida, cristalina, hidrato, solvato, amorfo o polimorfo).

25

30

Sumario de la invención

Usando doce ácidos y ocho sistemas disolventes diferentes, los científicos han descubierto sorprendentemente que la (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona forma sales de adición de ácido estables y en ciertos casos, forma sales de adición de ácido cristalínico con ácidos particulares. Estas sales y cristales de sal son especialmente ventajosos en la preparación de formulaciones galénicas de diversos y diversos tipos. En el primer aspecto, la invención proporciona lo siguiente:

35

40

1.1 El compuesto (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en una forma cristalina de sal de adición de fosfato, en donde los cristales de la sal son cristales salinos monofosfato.

La sal de acuerdo con la fórmula 1.1 se denomina en el presente documento como la sal o sales de la Presente Invención.

45

También se ha encontrado sorprendentemente que las sales de la presente invención están en forma cristalina (en lo sucesivo en el presente documento "cristales de sal") y por lo tanto se prefieren para uso galénico y/o terapéutico. Por tanto, en la segunda realización, la invención proporciona lo siguiente:

50

1.2 Los cristales de sal de acuerdo con la fórmula 1.1, en donde los cristales de sal están en una forma no solvatada;

1.3 Los cristales de sal de acuerdo con las fórmulas 1.1 o 1.2 en donde los cristales de sal están en forma no hidratada;

1.4 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1, 1.2 o 1.3, en donde los cristales están en forma seca (sin solvato y sin hidrato);

55

1.5 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.4, en donde los cristales de sal están en forma de sal monofosfato, no solvato, no hidrato;

1.6 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.5, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende uno o más picos que tienen valores de ángulo de 2 theta seleccionados del grupo que consiste en 13,8, 16,3, 19,2, 23,2, 23,8 y 25,9 grados, en donde el patrón XRPD se mide en un difractómetro usando un ánodo de cobre, por ejemplo, a una longitud de onda alfa de 1,5406 Å y una longitud de onda alfa2 de 1,5444 Å. En otra realización, los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de ángulo 2-theta seleccionados del grupo que consiste en 9,5, 13,8, 14,0, 16,3, 17,7, 18,5, 18,9, 19,2, 22,2, 22,8, 23,2, 23,8, 24,4, 25,9, 29,7, 31,4 y 32,9 grados, en donde el patrón XRPD se mide en un difractómetro usando un ánodo de cobre, por ejemplo, a una longitud de onda alfa de 1,5406 Å y una longitud de onda alfa2 de 1,5444 Å;

60

65

1.7 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.5, en donde los cristales de sal exhiben un

patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de ángulo de 2 theta seleccionados de los establecidos en la Tabla 3 a continuación:

Tabla 3

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
1	5,7553	15,35618	1887,34	73,85
2	6,8867	12,8358	176,68	10,75
3	7,5188	11,75808	53,19	2,78
4	9,4821	9,32747	328,23	22,83
5	10,9511	8,07934	133,75	4,65
6	11,7509	7,53118	226,95	7,89
7	11,8625	7,46054	201,05	5,24
8	12,7859	6,92377	149,08	6,48
9	13,7504	6,44022	456,19	15,87
10	13,9906	6,33014	633	44,04
11	15,3855	5,75923	245,11	12,79
12	16,2789	5,44515	1277,75	100
13	17,2688	5,13515	241,96	10,52
14	17,6964	5,01205	312,05	18,99
15	18,5004	4,796	690,64	36,03
16	18,8841	4,6994	800,41	27,84
17	19,2158	4,61904	859,15	74,71
18	20,6821	4,29474	559,5	14,6
19	22,2013	4,00417	641,59	50,21
20	22,8385	3,89388	682,56	41,55
21	23,2185	3,83102	555,61	24,16
22	23,8425	3,73215	697,52	54,59
23	24,4086	3,64685	357,59	18,66
24	25,8905	3,44137	842,43	29,3
25	27,9329	3,19423	221,79	11,57
26	29,6611	3,01192	250,43	26,13
27	31,3753	2,85118	306,23	15,98
28	32,863	2,72542	167,88	20,44
29	34,6203	2,591	111,05	7,73
30	36,2262	2,47975	92,41	4,82
31	37,5261	2,39678	105,94	6,45
32	41,1361	2,19441	25,77	4,03
33	45,786	1,98015	21,45	4,92

5 en donde el patrón XRPD se mide en un difractómetro usando un ánodo de cobre, a una longitud de onda alfa de 1,5406 Å y una longitud de onda alfa2 de 1,5444 Å;

10 1.8 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.7, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende uno o más picos que tienen valores de espaciado d seleccionados del grupo que consiste en 6,44, 5,45, 4,62, 3,83, 3,73 y 3,44 Å. En otra realización, la invención proporciona los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.7, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de espaciado d seleccionados del grupo que consiste en 15,36, 9,33, 6,44, 6,33, 5,45, 5,01, 4,80, 4,70, 4,62, 4,00, 3,89, 3,83, 3,73, 3,65, 3,44, 3,01, 2,85 y 2,73 Å;

15 1.9 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.7, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de espaciado d seleccionados de los establecidos en la Tabla 3 de la fórmula 1.7;

20 1.10 Los cristales de sal de la invención o cualquiera de las fórmulas 1.1-1.7, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo correspondiente o sustancialmente como se expone en la presente documento en la Tabla 3 de fórmula 1.7;

1.11 Los cristales de sal de la invención o cualquiera de las fórmulas 1.1-1.8, en donde dichos cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo correspondiente o sustancialmente como se describe en el presente documento en la Figura 3-A;

25 1.12 Los cristales de sal de la invención o cualquiera de las fórmulas 1.1-1.11, en donde dichos cristales de sal exhiben un patrón de datos de análisis termogravimétrico (TGA) que comprende un pico a aproximadamente 206 °C;

1.13 Los cristales de sal de la invención o cualquiera de las fórmulas 1.1-1.12, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de análisis termogravimétrico correspondiente o sustancialmente como se representa en la Figura 3-B;

- 1.14 Los cristales de sal de la invención o cualquiera de las fórmulas 1.1-1.13, en donde los cristales de sal se preparan haciendo reaccionar el compuesto (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en acetonitrilo con ácido fosfórico (por ejemplo, 1 equivalente molar), por ejemplo, hidrato de ácido fosfórico o cristal de ácido fosfórico en acetonitrilo, opcionalmente en presencia de calor;
- 1.15 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.14, en donde los cristales de sal están en forma de placa;
- 1.16 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.15, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de análisis térmico diferencial (DTA) que comprende un pico con una temperatura de fusión de aproximadamente 202 ° -212 °C, por ejemplo, aproximadamente 207 °C-208 °C;
- 1.17 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.16, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de análisis térmico diferencial (DTA) correspondiente o sustancialmente como se describe en el presente documento en la Figura 3-B;
- 1.18 Los cristales de sal según cualquiera de las fórmulas 1.1-1.17, en donde los cristales de sal exhiben una calorimetría de barrido diferencial (DSC) que comprende un pico con una endoterma a aproximadamente 213 °C;
- 1.19 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.18, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de calorimetría de barrido diferencial (DSC) correspondiente o sustancialmente como se describe en el presente documento en la Figura 3-C;
- 1.20 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores, en donde dichos cristales de sal están en una forma de cristal único y están libres o sustancialmente libres de cualquier otra forma, por ejemplo, menos del 10 % en peso, preferentemente menos de aproximadamente el 5 % en peso, más preferentemente menos de aproximadamente el 2 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 1 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 0,1 %, lo más preferentemente menos de aproximadamente el 0,01 % en peso de forma amorfa;
- 1.21 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores, en donde dichos cristales de sal están en una forma de cristal único y están libres o sustancialmente libres de cualquier otra forma, por ejemplo, menos del 10 % en peso, preferentemente menos de aproximadamente el 5 % en peso, más preferentemente menos de aproximadamente el 2 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 1 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 0,1 %, lo más preferentemente menos de aproximadamente el 0,01 % de otras formas cristalinas;
- 1.22 Los cristales de sal de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores, en donde dichos cristales de sal están en una forma de cristal único y están libres o sustancialmente libres de cualquier otra forma, por ejemplo, menos del 10 % en peso, preferentemente menos de aproximadamente el 5 % en peso, más preferentemente menos de aproximadamente el 2 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 1 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 0,1 %, lo más preferentemente menos de aproximadamente el 0,01 % de amorfas y otras formas cristalinas;
- 1.23 Los cristales de sal de la invención cuando se realizan mediante cualquiera de los procesos descritos o descritos de manera similar en cualquiera de las fórmulas 2.1-2.20 o el Ejemplo 3.
- Las sales de la invención pueden producirse haciendo reaccionar (6aR,9S)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona con un ácido fosfórico y aislando la sal obtenida. El ácido puede ser ácido fosfórico acuoso, hidrato de ácido fosfórico o cristal de ácido fosfórico en un disolvente. También se describe en el presente documento lo siguiente:
- 2.1 Un proceso para la producción de cristales de sal de la invención que comprende las etapas de hacer reaccionar (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona con ácido fosfórico, por ejemplo, ácido fosfórico acuoso, hidrato de ácido fosfórico o cristal de ácido fosfórico en un disolvente;
- 2.2 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.1, en donde el ácido fosfórico está en la cantidad de aproximadamente 1 equivalente molar de ácido fosfórico a un equivalente molar de la base libre;
- 2.3 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.1, en donde el ácido fosfórico está en la cantidad de aproximadamente 0,5 equivalente molar de ácido fosfórico a un equivalente molar de la base libre;
- 2.4 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.1, 2.2 o 2.3, en donde el disolvente se selecciona de acetonitrilo y metanol;
- 2.5 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.4, en donde el disolvente es acetonitrilo;
- 2.6 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.5, en donde la base libre se disuelve en el disolvente acetonitrilo;
- 2.7 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.6, en donde la mezcla/solución de base libre en acetonitrilo se calienta adicionalmente a una temperatura elevada (por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 40 °C, por ejemplo, hasta que se disuelvan todos los sólidos);
- 2.8 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.6 o 2.7, en donde la proporción de acetonitrilo a base libre es de aproximadamente 11 ml de acetonitrilo a 1 mg de base libre;
- 2.9 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.8, en donde el ácido fosfórico es un ácido fosfórico acuoso, hidrato de ácido fosfórico o cristal de ácido fosfórico;
- 2.10 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.9, en donde el ácido fosfórico, por ejemplo, hidrato de ácido fosfórico al 85 % en peso hidrato o cristal de ácido fosfórico, se disuelve en acetonitrilo;

- 2.11 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.10, en donde la proporción de acetonitrilo usada para disolver el ácido fosfórico es de aproximadamente 2 ml de acetonitrilo a 1 g de base libre, por ejemplo, 1,8 ml de acetonitrilo a 1 g de base libre;
- 5 2.12 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.11, en donde la mezcla de reacción/solución está sometida a ciclos de temperatura (por ejemplo, 40 °C/TA);
- 2.13 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.12, en donde el proceso opcionalmente implica la adición de un antidisolvente;
- 2.14 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.13, en donde el antidisolvente es éter dietílico;
- 10 2.15 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 2.1-2.12, que comprende hacer reaccionar (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en 11 ml de acetonitrilo a 1 mg de base libre, con ácido fosfórico en la cantidad de un equivalente molar;
- 15 2.16 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.15, que comprende hacer reaccionar (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en 11 ml de acetonitrilo por 1 mg de base libre, con 1 equivalente molar de 85 % en peso de hidrato de ácido fosfórico o cristal de ácido fosfórico en acetonitrilo;
- 2.17 El proceso de acuerdo con la fórmula 2.16, en donde la mezcla/solución de base libre en acetonitrilo se calienta además, a una temperatura elevada (por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 40 °C, por ejemplo, hasta que todos los sólidos se disuelven);
- 20 2.18 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores, en donde la mezcla de reacción/solución está opcionalmente sonicada;
- 2.19 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores, comprende además la etapa de aislamiento de los cristales obtenidos de esta manera;
- 25 2.20 El proceso de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores comprende además la etapa de secar los cristales obtenidos de esa manera (por ejemplo, en un horno a aproximadamente 50 °C).

También se describe en el presente documento lo siguiente:

- 30 2.21 Una composición farmacéutica que comprende el compuesto (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en forma de cristales de sal de adición de fosfato, en donde los cristales de sal son cristales de sal monofosfato de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.23, como principio activo, junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable;
- 35 2.22 La composición farmacéutica que comprende los cristales de sal de la presente invención, por ejemplo, cualquiera de las fórmulas 1.1-1.23, como principio activo, junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable en donde dicha composición está predominantemente, en forma cristalina seca;
- 2.23 Los cristales de sal de la presente invención, por ejemplo, cualquiera de las fórmulas 1.1-1.23, para uso como producto farmacéutico, por ejemplo, para uso en el método de 2.24-2.25, o para la fabricación de un medicamento para tratar una indicación como se establece en cualquiera de las fórmulas 2.24-2.25;
- 40 2.24 Un método para la profilaxis o el tratamiento de un paciente, por ejemplo, un ser humano que padece un trastorno seleccionado entre los siguientes trastornos:
- (i) Enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la enfermedad de Parkinson, pierna inquieta, temblores, discinesias, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer y trastornos de movimiento inducidos por fármaco;
- 45 (ii) Trastornos mentales, incluyendo depresión, trastorno por déficit de atención, trastorno de hiperactividad por déficit de atención, trastorno bipolar, ansiedad, trastornos del sueño, por ejemplo, narcolepsia, deterioro cognitivo, por ejemplo, deterioro cognitivo de la esquizofrenia, demencia, síndrome de Tourette, autismo, síndrome X frágil, abstinencia psicoestimulante y drogadicción;
- 50 (iii) Trastornos circulatorios y cardiovasculares, incluyendo enfermedad cerebrovascular, apoplejía, enfermedad cardíaca congestiva, hipertensión, hipertensión pulmonar (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar) y disfunción sexual;
- (iv) Trastornos respiratorios e inflamatorios, incluyendo asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y rinitis alérgica, así como enfermedades autoinmunes e inflamatorias;
- 55 (v) enfermedades que pueden aliviarse mediante el aumento de la señalización de progesterona, como la disfunción sexual femenina;
- (vi) una enfermedad o trastorno tal como psicosis o glaucoma o presión intraocular elevada;
- (vii) Lesión cerebral traumática;
- (viii) Cualquier enfermedad o afección caracterizada por bajos niveles de cAMP y/o cGMP (o inhibición de las vías de señalización de cAMP y/o cGMP) en células que expresan PDE1; y/o
- 60 (ix) Cualquier enfermedad o afección caracterizada por una actividad reducida de señalización del receptor D1 de dopamina,
- 65 que comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma, una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en forma de cristal de sal de adición de fosfato,

en donde los cristales de sal son cristales de sal monofosfato de acuerdo con cualquiera de las fórmulas 1.1-1.23;

2.25 El método de la fórmula 2.24, en donde dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en la enfermedad de Parkinson, narcolepsia, trastorno del sueño y deterioro cognitivo, por ejemplo, trastorno del sueño y deterioro cognitivo;

2.26 El método de la fórmula 2.24, en donde dicho trastorno es narcolepsia;

2.27 El método de la fórmula 2.24, en donde dicho trastorno es trastornos del sueño;

2.28 El método de la fórmula 2.24, en donde dicho trastorno es deterioro cognitivo;

2.29 El método de la fórmula 2.24, en donde dicho trastorno es deterioro cognitivo de la esquizofrenia;

2.30 Una composición farmacéutica de acuerdo con la fórmula 2.21 para uso como medicamento, por ejemplo, para usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad como se describe en cualquiera de las fórmulas 2.24-2.29.

15 Breve descripción de los dibujos

Las Figuras 1-A, 1-B, 2-A, 2-B y 4-A no son de la invención.

La Figura 1-A representa un patrón de difracción de rayos X en polvo de los cristales de la sal mesilato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 1-B representa un análisis térmico diferencial (DTA) de los cristales de sal mesilato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 2-A representa un patrón de difracción de rayos X en polvo de los cristales de la sal fumarato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 2-B muestra un termógrafo de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de los cristales de sal fumarato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 3-A representa un patrón de difracción de rayos X en polvo de los cristales de sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 3-B representa un análisis TGA de los cristales de sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 3-C muestra un termógrafo de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de los cristales de sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 4-A representa un patrón de difracción de rayos X en polvo de los cristales de sal L-tartrato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona.

La Figura 5-A representa los perfiles de disolución de los cristales de sal monofosfato y la base libre amorfa de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona a pH 1.

La Figura 5-B representa los perfiles de disolución de los cristales de sal monofosfato y la base libre amorfa de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona a pH 4,5.

50 Descripción detallada

Como se usa en el presente documento, el término "cristal" o "cristales" o "cristalino" o "cristalino" se refiere a cualquier sólido que tenga un orden de rango corto o largo de las moléculas, átomos o iones en una disposición de red fija. Los cristales de sal de la presente invención pueden estar en una forma de cristal único. Por tanto, los cristales de sal de la presente invención pueden estar en forma de cristal triclinico, monoclinico, ortorrómbico, tetragonal, roboédrico, hexagonal o cúbico o mezclas de los mismos. En particular, los cristales de sal de la presente invención pueden estar en forma cristalina seca. Los cristales de sal de la presente invención pueden estar en forma de aguja o en forma de placa. En una realización particular, los cristales de sal de la presente invención están sustancialmente libres de otras formas, por ejemplo, libres de formas amorfas u otras formas cristalinas.

La expresión "sustancialmente libre" de otras formas cristalinas se refiere a menos de aproximadamente el 10 % en peso, preferentemente menos de aproximadamente el 5 % en peso, más preferentemente menos de aproximadamente el 2 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 1 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 0,1 %, lo más preferentemente menos de aproximadamente el 0,01 % en peso de otras formas u otras formas cristalinas, por ejemplo, amorfas u otras formas cristalinas.

El término "predominantemente" o "sustancialmente completamente en una sola forma" se refiere a menos de aproximadamente el 10 % en peso, preferentemente menos de aproximadamente el 5 % en peso, más preferentemente menos de aproximadamente el 2 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 1 % en peso, aún preferentemente menos de aproximadamente el 0,1 %, lo más preferentemente menos de aproximadamente el 0,01 % en peso de otras formas cristalinas, por ejemplo, amorfas u otras formas cristalinas.

En una realización particular, los cristales de sal de la invención pueden contener trazas de disolvente, por ejemplo, en forma de solvato o pequeñas cantidades de agua, por ejemplo, en forma de hidrato. Preferentemente, los cristales de sal de la invención están en forma no solvatada. Aún preferentemente, los cristales de sal de la invención están en forma no solvatada y no hidratada.

Los cristales de sal de la invención pueden tener una relación de base libre a ácido de 1 a 1, 1 a 0,5 o $1 > 1$, por ejemplo, 1 a 1,3 o 1 a 2, etc. Por ejemplo, el cristal de sal fosfato de la invención puede comprender 1 equivalente molar de la base libre a 1 equivalente molar del ácido fosfórico. Preferentemente, el cristal de sal fosfato de la invención comprende 1 equivalente molar de la base libre a 1 equivalente molar del ácido fosfórico.

El término "solvato" se refiere a aductos sólidos cristalinos que contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente incorporado dentro de la estructura cristalina. Por tanto, la expresión forma "no solvatada" en el presente documento se refiere a cristales de sal que están libres o sustancialmente libres de moléculas de disolvente dentro de las estructuras cristalinas de la invención. De forma análoga, la expresión forma "no hidratada" en el presente documento se refiere a cristales de sal que están libres o sustancialmente libres de moléculas de agua dentro de las estructuras cristalinas de la invención.

El término forma "amorfa" se refiere a sólidos de disposiciones desordenadas de moléculas y no posee una red cristalina distinguible.

La cristalinidad o la morfología de los cristales de sal de la presente invención pueden determinarse por varios métodos, incluyendo, pero no limitado a difracción de rayos X de cristal único, difracción de rayos X en polvo, microscopía óptica polarizadora, microscopía térmica, calorimetría de barrido diferencial (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), espectroscopía de adsorción infrarroja y espectroscopía Raman. La caracterización de solvatos o hidratos o la falta de los mismos también puede determinarse por DSC y/o TGA.

Debe entenderse que el patrón de difracción de rayos X en polvo o el patrón de calorimetría de barrido diferencial de una muestra dada puede variar un poco (desviación estándar) dependiendo del instrumento usado, el tiempo y la temperatura de la muestra cuando se mide y los errores experimentales convencionales. Por tanto, la temperatura o los valores 2-theta, valores de espaciado d, alturas e intensidad relativa de los picos como se establece en el presente documento en las Tablas 1-3 o en las Figuras 1-A, 1-B, 2-A, 2-B, 3-A, 3-B, 3-C o 4-A tendrán un nivel de desviación aceptable. Por ejemplo, los valores pueden tener una desviación aceptable de, por ejemplo, aproximadamente el 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 %. En una realización particular, los valores 2-theta o los valores de espaciado d del patrón XRPD de los cristales de la presente invención pueden tener una desviación aceptable de $\pm 0,2$ grados y/o $\pm 0,2$ Å. Además, el patrón XRPD de los cristales de sal de la invención puede identificarse por los picos característicos reconocidos por un experto en la materia. Por ejemplo, los cristales de sal de la invención pueden identificarse por ejemplo, al menos cinco picos característicos, por ejemplo, al menos tres o al menos cinco picos, por ejemplo, al menos tres o al menos cinco valores 2-theta y/o al menos tres o al menos cinco valores de espaciado d como se establece en los patrones XRPD establecidos en el presente documento. Por tanto, la expresión "correspondiente o sustancialmente como" establecido en cualquiera de las Tablas 1-3 o representado en cualquiera de las Figuras 1-A, 2-A, 3-A o 4-A se refiere a cualquier cristal que tenga un XRPD que tenga los picos principales o característicos como se establece en las tablas/figuras.

El término "aproximadamente" delante de un valor numérico se refiere al valor numérico en sí mismo ± 20 %, ± 15 %, ± 10 %, preferentemente ± 5 %, preferentemente ± 3 %, preferentemente ± 2 %, preferentemente ± 1 % de ese valor. Cuando se hace referencia a la temperatura, el término se refiere al valor de la temperatura en sí mismo ± 10 °C, preferentemente ± 5 °C, preferentemente ± 3 °C de la temperatura de referencia. En otro ejemplo, cuando se hace referencia a valores de ángulo 2-theta, el término "aproximadamente" se refiere al valor numérico del ángulo 2-theta en sí mismo $\pm 0,2$ grados del valor de ángulo de referencia 2-theta. En otro ejemplo más, cuando se hace referencia a valores de espaciado d, el término "aproximadamente" se refiere al valor numérico del ángulo 2-theta en sí mismo $\pm 0,2$ Å del valor de espaciado d de referencia.

Los cristales de sal de la invención son inhibidores selectivos de PDE1. Por tanto, los cristales de sal de la invención son útiles para el tratamiento de trastornos relacionados con PDE1 como se establece en, por ejemplo, los documentos WO 2009/075784, WO 2010/132127, WO 2006/133261 y WO 2011/153129.

El término "paciente" incluye seres humanos y no humanos.

Los ejemplos 1, 2, 4 y 9 no son de la invención.

Ejemplo 1 - preparación de los cristales de sal mesilato

Se prepara una solución madre de (6a*R*,9a*S*)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirazolo[4,3-*e*]pirimidin-4(2*H*)-ona en metanol (80 mg/ml en MeOH). La mezcla de 3,301 ml de la solución madre, 0,36 ml de agua y 22,5 µl (~50 mg) de ácido metanosulfónico se agita a temperatura ambiente, dando como resultado una solución transparente. La mezcla/solución se somete a ciclos de temperatura (40 °C/TA, cada 4 h) durante una noche (sin material sólido precipitado). Se añaden 14 ml de éter dietílico (antidisolvente), mientras que se producen gradualmente materiales sólidos y se aíslan.

10 Difracción de rayos X en polvo: La XRPD de los cristales de sal mesilato se obtiene como se describe o de manera similar a la descrita en el presente documento. Aproximadamente 2 mg de la muestra se comprimen suavemente en el soporte de muestra de sílice de fondo oblicuo de XRD con corte simple. Después, la muestra se carga en un difractómetro Philips X-Pert MPD y se analiza usando las siguientes condiciones experimentales.

15 **Método 1**

Tubo de ánodo: Cu

Tensión del generador: 40 kV

Corriente del tubo: 40 mA

20 Longitud de onda alfa1: 1,5406 Å

Longitud de onda alfa2: 1,5444 Å

Ángulo de partida [2 theta]: 5,000

Ángulo final [2 theta]: 50,003

Tamaño de etapa: 0,0167113

25 Tiempo por etapa: 30,480 segundos

n.º de etapas: 2693

Tiempo total (h:m:s): 00:11:19

30 Para un análisis de XRD, se verifica parte del material usando el Método 2 (véase a continuación). Si S/N (relación señal a ruido) no es lo suficientemente bueno, entonces XRPD se repitió usando el Método 1.

Método 2

Ángulo de partida [2 theta]: 5,000

35 Ángulo final [2 theta]: 49,992

Tamaño de etapa: 0,016

Tiempo por etapa 2,00 segundos

n.º de etapas: 2812

Tiempo total (h:m:s): 00:1:33

40 El patrón XRD de los cristales de sal mesilato se representa en la Figura 1-A y tiene picos como se establece en la Tabla 1 a continuación:

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
1	6,2157	14,21989	62,67	10,42
2	8,508	10,39309	23,98	7,97
3	11,5155	7,68457	166,19	27,62
4	12,1461	7,28702	101,68	16,9
5	13,6878	6,4695	50,11	11,1
6	16,5424	5,35898	127,34	24,69
7	16,9484	5,23151	173,1	47,95
8	18,2217	4,86872	39,94	15,49
9	18,8543	4,70677	601,72	100
10	19,2322	4,61511	190,68	36,97
11	19,6408	4,52002	99,09	19,21
12	20,0438	4,43004	89,5	14,87
13	20,622	4,30713	163,42	31,69
14	21,0544	4,21963	64,38	10,7
15	21,2987	4,17178	233,06	45,19
16	21,5693	4,12006	97,93	16,27
17	22,3027	3,98621	64,13	10,66
18	22,9384	3,87715	203,35	33,79
19	23,6005	3,76986	200,49	38,87

(continuación)

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
20	24,3943	3,64896	166,22	36,83
21	25,1343	3,54318	63,44	10,54
22	25,7457	3,4604	86,69	33,62
23	27,7409	3,21589	161,76	44,8
24	28,1961	3,165	124,98	20,77
25	28,4217	3,14039	72,04	11,97
26	29,3803	3,04007	61,55	13,64
27	29,63	3,01502	51,92	8,63
28	31,2576	2,86164	57,53	15,94
29	31,8561	2,80923	37,43	8,29
30	33,5437	2,67166	53,93	8,96
31	38,3245	2,34867	14,95	9,94
32	39,8831	2,2604	21,08	5,84
33	41,2865	2,18675	24,75	5,48
34	43,5089	2,07835	27,04	14,81

- 5 El análisis termogravimétrico (TGA) y el análisis térmico diferencial (DTA) del cristal de sal mesilato del Ejemplo 1 se obtienen como se describe o se describe de manera similar en el presente documento y el DTA se representa en la Figura 1-B. Se pesan aproximadamente 2 mg de muestra en un recipiente de platino TGA y se carga en un PerkinElmer STA 6000 mantenido a temperatura ambiente. Después, la muestra se calienta a una velocidad de 10 °C/min a 300 °C, tiempo durante el cual se controla el cambio de peso. Además, el DTA se controla al mismo tiempo. El gas de purga usado es nitrógeno a un caudal de 20 cm³/min. Antes del análisis, el instrumento se calibra en peso usando un peso de referencia de 100 mg y la temperatura se evalúa usando un estándar de referencia de indio.

Ejemplo 2 - preparación de los cristales de sal fumarato

- 15 Se disuelven 180 mg de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona [0,354 mmol] en MeOH (2 ml) con calentamiento. Se añade ácido fumárico (41 mg) [0,354 mmol] a la solución caliente. La solución se deja a temperatura ambiente durante 45 minutos para la cristalización. Los sólidos se aíslan por filtración al vacío. Los sólidos se secan en un horno a 50 °C durante 24 horas.

- 20 La XRPD de los cristales de sal fumarato se obtiene como se describe o de manera similar a la descrita en el presente documento. Aproximadamente 20 mg de la muestra se comprimen suavemente en el soporte de muestra de sílice de fondo oblicuo de XRD con corte simple. Después, la muestra se cargó en un difractómetro Philips X-Pert PRO y se analizó usando las siguientes condiciones experimentales.

- 25 Tubo de ánodo: Cu
Tensión del generador: 40 kV
Corriente del tubo: 40 mA
Longitud de onda alfa: 1,5406 Å
Longitud de onda alfa2: 1,5444 Å
- 30 Ángulo de partida [2 theta]: 4
Ángulo final [2 theta]: 40
Tiempo por etapa: 2,5 segundos
Tamaño de la etapa de barrido: 0,016

- 35 El patrón XRD de los cristales de sal fumarato se representa en la Figura 2-A y tiene picos como se establece en la Tabla 2 a continuación:

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
1	5,5976	15,78845	15,13	1,4
2	7,2032	12,27251	697,12	70,13
3	8,0142	11,03222	583,28	36,11
4	10,1187	8,742	138,56	17,16
5	11,1976	7,90199	218,18	30,39
6	11,7461	7,53423	525,96	81,4
7	12,5036	7,07943	168,07	15,61
8	13,2367	6,68895	407,76	34,71

(continuación)

n.º	Pos. [°2 θ .]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
9	14,1892	6,24199	232,02	10,77
10	14,4233	6,1412	329,19	20,38
11	14,7399	6,01002	188,07	11,64
12	15,5157	5,71122	639,38	29,69
13	16,0172	5,53349	316,16	34,25
14	16,6971	5,30968	158,43	19,62
15	17,322	5,11951	442,23	20,53
16	19,7866	4,48704	203,55	18,9
17	20,3297	4,36838	555,19	51,56
18	21,1031	4,21	689,14	95,99
19	21,9181	4,05526	1199,87	83,57
20	22,9016	3,8833	375,79	34,9
21	23,6407	3,76354	577,36	62,55
22	24,4164	3,64569	872,48	54,01
23	24,9125	3,57422	422,71	52,34
24	26,1016	3,41403	212,31	23
25	26,6168	3,3491	527,74	89,85
26	27,3903	3,25625	278,33	21,54
27	27,8762	3,20059	646,12	100
28	29,0497	3,07391	179,56	16,67
29	29,8276	2,9955	349,25	27,03
30	30,6371	2,91817	187,24	14,49
31	31,7612	2,81741	173,36	16,1
32	32,5634	2,74981	155,03	19,2
33	33,5077	2,67444	161,64	15,01
34	35,0864	2,55764	222,69	24,13
35	36,3098	2,47422	149,42	23,13
36	38,2838	2,34912	154,74	47,37
37	38,9662	2,31528	116,83	23,84

- 5 El termógrafo de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de los cristales de sal fumarato se obtiene como se describe o se describe de manera similar en el presente documento y el DSC se representa en la Figura 2-B. Se pesan aproximadamente 4 mg de muestra en una bandeja DSC de aluminio y se sella con una tapa hermética (ondulada). Después, la muestra se carga en un Perkin-Elmer DSC7 a 0 °C. La muestra se calienta de 25 °C a aproximadamente 250 °C a una velocidad de exploración de uno de 10 °C/min y se controla la respuesta de flujo de calor resultante. Se usa una purga de nitrógeno de 20 cm³/min para evitar la oxidación de la muestra inducida
- 10 térmicamente durante el calentamiento y para reducir el retraso térmico a través de la muestra para aumentar la sensibilidad del instrumento. Antes del análisis, el instrumento se calibra con temperatura y flujo de calor usando un estándar de referencia de indio.

15 Ejemplo 3 - preparación de los cristales de sal monofosfato.

- 15 Los cristales de sal monofosfato de la invención pueden prepararse como se describe o se describe de manera similar en el presente documento. Se prepara un matraz de fondo redondo de tres bocas de 3 l en una manta calefactora con un agitador mecánico, termopar, entrada de nitrógeno, embudo de adición, condensador de reflujo y un tubo de secado. La base libre (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (147 g, SM) y acetonitrilo (1470 ml, 10 ml/g SM) se carga al matraz y se agita. La solución resultante se calienta a 40-45 °C. Una solución de ácido fosfórico al 85 % en peso (33,4 g, 0,227 g/g SM) en acetonitrilo (265 ml, 1,8 l/g SM) se añade lentamente durante un
- 20 mínimo de 1 hora, manteniendo la mezcla de reacción a 40-45 °C. El embudo de adición se enjuaga con acetonitrilo (29 ml, 0,2 ml/g SM). El calentamiento se retira y la mezcla de reacción se agita en nitrógeno a temperatura ambiente durante 12-24 horas. Los sólidos se filtran y se enjuagan con acetonitrilo (2x294 ml; 2x2 ml/g SM). El producto se seca en un horno de vacío a 70-75 °C con purga de nitrógeno durante un mínimo de 12 horas para producir un peso constante.

- 30 La XRPD de los cristales de sal monofosfato se obtiene como se describe o se describe de manera similar en el presente documento. El resultado se representa en la Figura 3-A. Aproximadamente 20 mg de muestra se comprimen suavemente en el soporte de muestra de sílice XRPD con fondo cero único cortado oblicuamente.

ES 2 769 523 T3

Después, la muestra se carga en un difractómetro Philips X-Pert PRO y se analiza usando las siguientes condiciones experimentales.

Tubo de ánodo: Cu

Tensión del generador: 40 kV

5 Corriente del tubo: 40 mA

Longitud de onda alfa: 1,5406 Å

Longitud de onda alfa2: 1,5444 Å

Ángulo de partida [2 theta]: 4

Ángulo final [2 theta]: 40

10 Tiempo por etapa: 2,5 segundos

Tamaño de la etapa de barrido: 0,016

El patrón XRD de los cristales de sal monofosfato se representa en la Figura 3-A y tiene picos como se establece en la Tabla 3 a continuación:

15

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
1	5,7553	15,35618	1887,34	73,85
2	6,8867	12,8358	176,68	10,75
3	7,5188	11,75808	53,19	2,78
4	9,4821	9,32747	328,23	22,83
5	10,9511	8,07934	133,75	4,65
6	11,7509	7,53118	226,95	7,89
7	11,8625	7,46054	201,05	5,24
8	12,7859	6,92377	149,08	6,48
9	13,7504	6,44022	456,19	15,87
10	13,9906	6,33014	633	44,04
11	15,3855	5,75923	245,11	12,79
12	16,2789	5,44515	1277,75	100
13	17,2688	5,13515	241,96	10,52
14	17,6964	5,01205	312,05	18,99
15	18,5004	4,796	690,64	36,03
16	18,8841	4,6994	800,41	27,84
17	19,2158	4,61904	859,15	74,71
18	20,6821	4,29474	559,5	14,6
19	22,2013	4,00417	641,59	50,21
20	22,8385	3,89388	682,56	41,55
21	23,2185	3,83102	555,61	24,16
22	23,8425	3,73215	697,52	54,59
23	24,4086	3,64685	357,59	18,66
24	25,8905	3,44137	842,43	29,3
25	27,9329	3,19423	221,79	11,57
26	29,6611	3,01192	250,43	26,13
27	31,3753	2,85118	306,23	15,98
28	32,863	2,72542	167,88	20,44
29	34,6203	2,591	111,05	7,73
30	36,2262	2,47975	92,41	4,82
31	37,5261	2,39678	105,94	6,45
32	41,1361	2,19441	25,77	4,03
33	45,786	1,98015	21,45	4,92

El análisis termogravimétrico (TGA) y el análisis térmico diferencial (DTA) de los cristales de sal monofosfato se obtienen como se describe o se describe de manera similar en el presente documento y el DTA se representa en la Figura 3-B. Se pesan aproximadamente 5 mg de muestra con precisión en un crisol de cerámica y se coloca en la cámara del analizador Perkin-Elmer STA 600 TGA/DTA a temperatura ambiente. La muestra se calienta a una velocidad de 10 °C/min de 25 °C a 300 °C, tiempo durante el cual se controla el cambio de peso y la señal de DTA. El gas de purga usado es nitrógeno a un caudal de 20 cm³/min. Antes del análisis el instrumento se calibra en peso usando un peso de referencia de 100 mg y la temperatura de calibrado usando un estándar de referencia de indio.

20

El termógrafo de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de los cristales de sal monofosfato se obtiene como se describe o se describe de manera similar en el presente documento y el DSC se representa en la Figura 3-C. Se pesan aproximadamente 4 mg de muestra en una bandeja DSC de aluminio y se cierra herméticamente con una

25

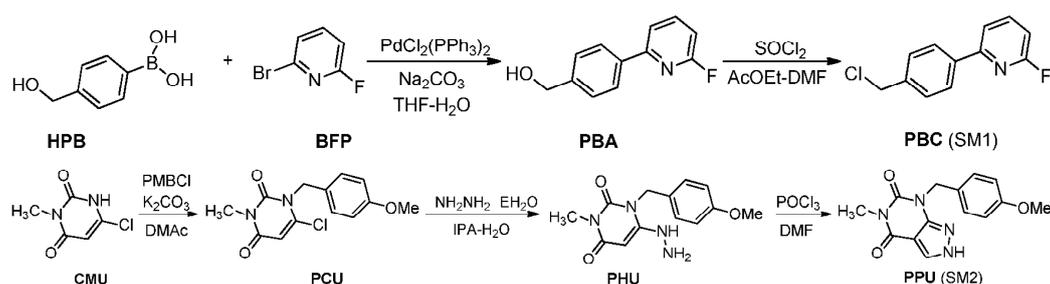
tapa hermética (ondulada). Después, la muestra se carga en un Perkin-Elmer DSC7 a 0 °C. La muestra se calienta de 25 °C a aproximadamente 250 °C a una velocidad de exploración de uno de 10 °C/min y se controla la respuesta de flujo de calor resultante. Se usa una purga de nitrógeno de 20 cm³/min para evitar la oxidación de la muestra inducida térmicamente durante el calentamiento y para reducir el retraso térmico a través de la muestra para aumentar la sensibilidad del instrumento. Antes del análisis, el instrumento se calibra con temperatura y flujo de calor usando un estándar de referencia de indio.

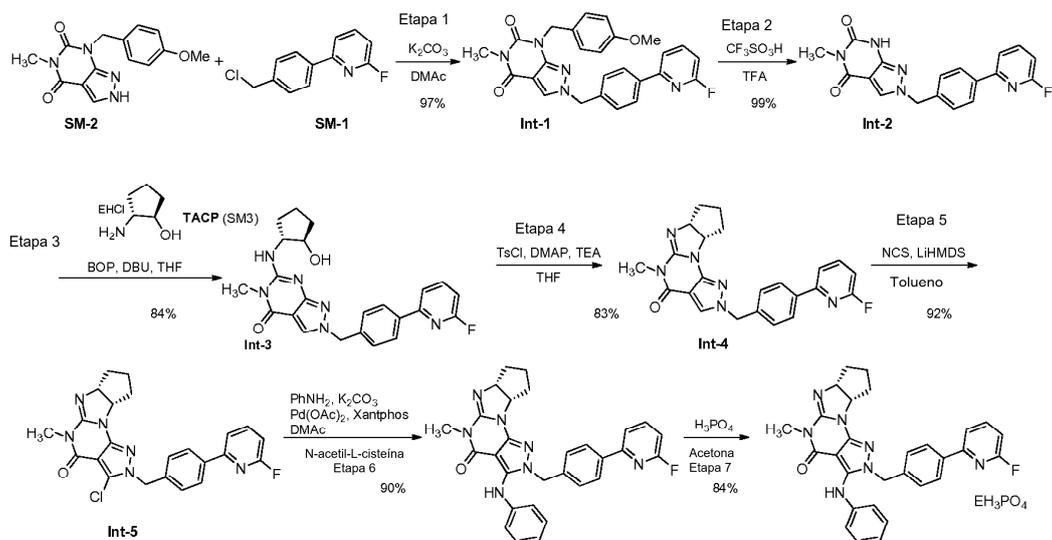
Los cristales de sal monofosfato son particularmente estables, tienen buena solubilidad, baja higroscopicidad, alto punto de fusión, tienen una morfología similar a una placa y no son solvatos ni hidratos, todos los cuales son propiedades deseables para la formulación galénica.

Alternativa al proceso descrito anteriormente, los cristales de sal monofosfato también pueden prepararse disolviendo la base libre (6*aR*,9*aS*)-5,6*a*,7,8,9,9*a*-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirazolo[4,3-*e*]pirimidin-4(2*H*)-ona en una forma de cristal no solvatada o solvatada (por ejemplo, monoetanol, metanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol solvatado o no solvatado) en un disolvente adecuado (por ejemplo, en acetonitrilo a 50 °C o en acetona a 38 °C). Se añade carbón vegetal activo y la mezcla se agita a la misma temperatura durante 0,5 h. Después de retirar el carbón activo por filtración, el filtrado se calienta a 50 °C (si se usa acetonitrilo) o 32-39 °C (si se usa acetona). Se añade una cantidad equimolar de ácido fosfórico al 85 % en peso en un disolvente adecuado (por ejemplo, acetonitrilo o acetona). Después de la adición de agua, la mezcla se agita a 20-70 °C, por ejemplo, 50 °C o 40 °C. Después, se aíslan los cristales de monofosfato por filtración.

Los cristales de base libre pueden prepararse por (1) agitando (6*aR*,9*aS*)-3-cloro-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)benzil)-5-metil-5,6*a*,7,8,9,9*a*-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirazolo[4,3-*e*]pirimidin-4(2*H*)-ona en un disolvente adecuado (por ejemplo, combinación de DMAc y xileno) en presencia de base (por ejemplo, carbonato potásico), anilina, catalizador de paladio (por ejemplo, Pd(OAc)₂) y ligando (por ejemplo, xantphos), después separando la capa orgánica; (2) añadiendo el disolvente correspondiente a la forma solvatada objetivo (por ejemplo, añadiendo etanol para formar un solvato de etanol) a la capa orgánica obtenida en la etapa 1). Puede añadirse n-heptano a 70 °C y después enfriar a 5 °C y agitar. Los cristales pueden separarse por filtración. Preferentemente, la etapa (1) se realiza en una atmósfera de nitrógeno y la capa orgánica separada se lava con una solución adecuada (DMAc o xileno) y después se trata con carbón vegetal para retirar el catalizador de paladio residual. El cristal de base libre también puede prepararse usando cristales de siembra de (6*aR*,9*aS*)-5,6*a*,7,8,9,9*a*-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirazolo[4,3-*e*]pirimidin-4(2*H*)-ona en una forma no solvatada.

El método de fabricar el compuesto (6*aR*,9*aS*)-5,6*a*,7,8,9,9*a*-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirazolo[4,3-*e*]pirimidin-4(2*H*)-ona se describe generalmente en el documento WO 2009/075784. Este compuesto también puede prepararse como se resume o se resume de manera similar en el siguiente esquema de reacción.

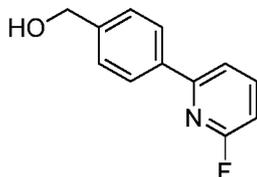




En particular, puede prepararse (6aR,9aS)-3-cloro-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)encil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona como se describe o de manera similar a

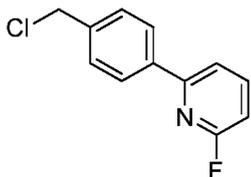
Preparación de (6aR,9aS)-3-cloro-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)encil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona

10 (4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metanol



La mezcla de Na_2CO_3 (121 g), agua (500 ml), THF (650 ml), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (997 mg), 2-bromo-6-fluoropiridina (100 g) y ácido 4-(hidroximetil)fenilborónico (90,7 g) se agita a 65 °C durante 4 h en la atmósfera de nitrógeno. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añade THF (200 ml). La capa orgánica se separa y se lava con una solución al 5 % de NaCl dos veces. La capa orgánica se concentra hasta 400 ml. Después de la adición de tolueno (100 ml), se añade heptano (500 ml) a 55 °C. La mezcla se enfría a temperatura ambiente. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de tolueno (100 ml) y heptano (100 ml) y se secan para dar (4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metanol (103 g). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 1,71-1,78 (m, 1H), 4,74-4,79 (m, 2H), 6,84-6,88 (m, 1H), 7,44-7,50 (m, 2H), 7,61-7,65 (m, 1H), 7,80-7,88 (m, 1H), 7,98-8,04 (m, 2H).

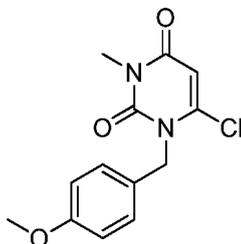
2-(4-(clorometil)fenil)-6-fluoropiridina



La solución de cloruro de tionilo (43,1 ml) en AcOEt (200 ml) se añade a la mezcla de (4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metanol (100 g), DMF (10 ml) y AcOEt (600 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Después de enfriar a 10 °C, se añade una solución al 15 % de Na_2CO_3 . La capa orgánica se separa y se lava con agua (500 ml) y una solución al 5 % de NaCl (500 ml) dos veces. La capa orgánica se concentra hasta 500 ml. Después de la adición de EtOH (500 ml), la mezcla se concentra hasta 500 ml. Después de la adición de EtOH (500 ml), la mezcla se concentra hasta 500 ml. Después de la adición de EtOH (500 ml), la mezcla se concentra hasta 500 ml. Después de la adición de EtOH (200 ml), se añade agua (700 ml) a 40 °C. La

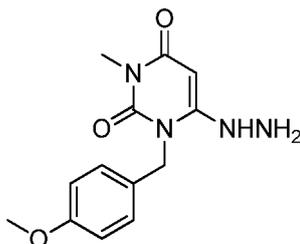
mezcla se agita a temperatura ambiente. Los cristales se aíslan por filtración y se secan y se secan para dar 2-(4-(clorometil)fenil)-6-fluoropiridina (89,5 g). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 4,64 (s, 2H), 6,86-6,90 (m, 1H), 7,47-7,52 (m, 2H), 7,60-7,65 (m, 1H), 7,82-7,88 (m, 1H), 7,98-8,03 (m, 2H).

5 **6-cloro-1-(4-metoxibencil)-3-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona**



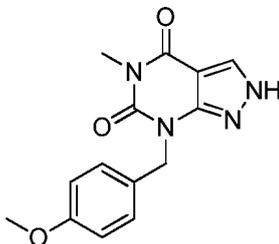
10 La mezcla de 6-cloro-3-metiluracilo (100 g), p-metoxibencilcloruro (107 g), K₂CO₃ (86,1 g) y DMAc (600 ml) se agita a 75 °C durante 4 h. Se añade agua (400 ml) a 45 °C y la mezcla se enfría a temperatura ambiente. Se añade agua (800 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de DMAc y agua (1:2, 200 ml) y se secan para dar 6-cloro-1-(4-metoxibencil)-3-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (167 g). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 3,35 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 5,21 (s, 2H), 5,93 (s, 1H), 6,85-6,89 (m, 2H), 7,26-7,32 (m, 2H).

15 **6-hidrazinil-1-(4-metoxibencil)-3-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona**



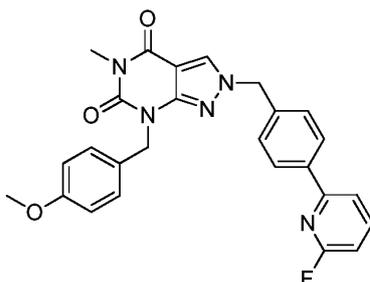
20 La mezcla de 6-cloro-1-(4-metoxibencil)-3-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (165 g), IPA (990 ml), agua (124 ml) e hidrato de hidrazina (62,9 ml) se agita a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se calienta a 60 °C y se agita a la misma temperatura durante 4 h. Se añade acetato de isopropilo (1485 ml) a 45 °C y la mezcla se agita a la misma temperatura durante 0,5 h. La mezcla se enfría a 10 °C y se agita durante 1 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de IPA y acetato de isopropilo (1:2, 330 ml) y se secan para dar 6-hidrazinil-1-(4-metoxibencil)-3-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (153 g). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 3,12 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 4,36 (s, 2H), 5,01 (s, 2H), 5,14 (s, 1H), 6,87-6,89 (m, 2H), 7,12-7,17 (m, 2H), 8,04 (s, 1H).

25 **7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona**



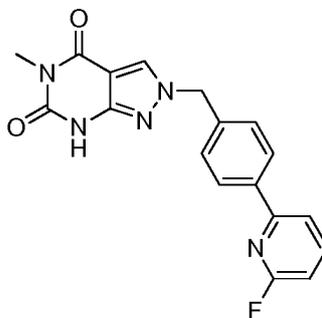
30 A la mezcla de DMF (725 ml) y 6-hidrazinil-1-(4-metoxibencil)-3-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (145 g) se le añade POCl₃ (58,5 ml) a 5 °C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Se añade agua (725 ml) a 50 °C y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de DMF y agua (1:1, 290 ml) y se secan para dar 7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona (145 g). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 3,23 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 5,05 (s, 2H), 6,82-6,90 (m, 2H), 7,28-7,36 (m, 2H), 8,48 (s, 1H), 13,51 (a, 1H).

40 **2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona**



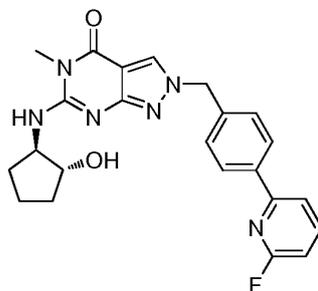
La mezcla de 2-(4-(clorometil)fenil)-6-fluoropiridina (100 g), 7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona (129 g), K_2CO_3 (62,3 g) y DMAc (1500 ml) se agita a 45 °C durante 5 h. Se añade agua (1500 ml) a 40 °C y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de DMAc y agua (1:1, 500 ml) y se secan para dar 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona (207 g). RMN 1H (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 3,21 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 4,98 (s, 2H), 5,45 (s, 2H), 6,77-6,82 (m, 2H), 7,13-7,16 (m, 1H), 7,25-7,30 (m, 2H), 7,41-7,44 (m, 2H), 7,92-7,96 (m, 1H), 8,04-8,11 (m, 3H), 8,68 (s, 1H).

2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona



La mezcla de 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona (105 g), CF_3COOH (300 ml) y CF_3SO_3H (100 g) se agita a temperatura ambiente durante 10 h. Se añade acetonitrilo (1000 ml). La mezcla se añade a la mezcla de NH_3 al 25 % (1000 ml) y acetonitrilo (500 ml) a 10 °C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de acetonitrilo y agua (1:1, 500 ml) y se secan para dar el producto en bruto. La mezcla del producto en bruto y AcOEt (1200 ml) se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con AcOEt (250 ml) y se seca para dar 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona (75,3 g). RMN 1H (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 3,16 (s, 3H), 3,50-4,00 (a, 1H), 5,40 (s, 2H), 7,13-7,16 (m, 1H), 7,41-7,44 (m, 2H), 7,91-7,94 (m, 1H), 8,04-8,10 (m, 3H), 8,60 (s, 1H).

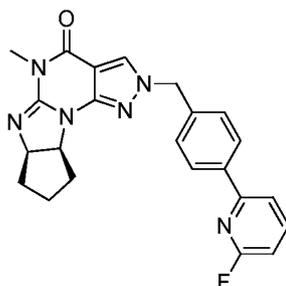
2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-6-(((1R,2R)-2-hidrox ciclopentil)amino)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-4(5H)-ona



La mezcla de reactivo BOP (126 g), 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6(5H,7H)-diona (80 g), DBU (136 ml) y THF (1120 ml) se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Se añaden clorhidrato de (1R,2R)-2-aminociclopentanol (37,6 g) y THF (80 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 5 h. Después de la adición de NaCl al 5 % (400 ml) y AcOEt (800 ml), la capa orgánica se separa. La capa orgánica se lava con NaCl al 10 % (400 ml), HCl 1 M NaCl al 15 % (400 ml), NaCl al 5 % (400 ml), $NaHCO_3$ al 5 % (400 ml) y NaCl al 5 % (400 ml) sucesivamente. Después de tratamiento con carbón vegetal activo, la capa orgánica se concentra hasta 400 ml. Después de la adición de acetonitrilo (800 ml), la mezcla se concentra hasta 400 ml. Después de la adición de acetonitrilo (800 ml), se añaden cristales de siembra a 40 °C. La mezcla se concentra

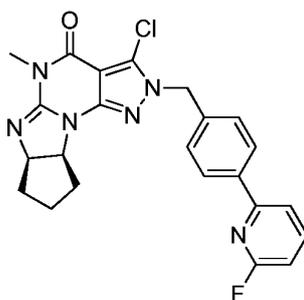
hasta 400 ml. Se añade agua (800 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agita durante 2 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de acetonitrilo y agua (1:2, 400 ml) y se secan para dar 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-6-(((1R,2R)-2-hidrox ciclopentil)amino)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona (81,7 g). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,47-1,59 (m, 1H), 1,68-1,93 (m, 3H), 2,02-2,12 (m, 1H), 2,24-2,34 (m, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,98-4,12 (m, 2H), 4,68-4,70 (m, 1H), 5,37 (s, 2H), 6,86-6,90 (m, 1H), 7,36-7,42 (m, 2H), 7,58-7,63 (m, 1H), 7,81-7,88 (m, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,97-8,01 (m, 2H).

(6aR,9aS)-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona



La mezcla de 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-6-(((1R,2R)-2-hidrox ciclopentil)amino)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona (80 g), p-toluenosulfonilcloruro (38,6 g), Et₃N (28,2 ml), *N,N*-dimetilaminopiridina (24,7 g) y THF (800 ml) se agita a 50 °C durante 10 h. A la mezcla se le añade NaOH 8 M (11,5 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agita durante 2 h. Después de la adición de NaCl al 5 % (400 ml) y AcOEt (800 ml), la capa orgánica se separa. La capa orgánica se lava con NaCl al 5 % (400 ml) dos veces. La capa orgánica se concentra hasta 240 ml. Después de la adición de MeOH (800 ml), la mezcla se concentra hasta 240 ml. Después de la adición de MeOH (800 ml), la mezcla se concentra hasta 240 ml. Después de la adición de MeOH (160 ml), la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h y a 0 °C durante 1 h. Los cristales se aíslan por filtración, se lavan con MeOH frío (160 ml) y se secan para dar (6aR,9aS)-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (55,7 g). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,39-1,54 (m, 1H), 1,58-1,81 (m, 3H), 1,81-1,92 (m, 1H), 2,12-2,22 (m, 1H), 3,28 (s, 3H), 4,61-4,70 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 6,79-6,85 (m, 1H), 7,25-7,32 (m, 2H), 7,53-7,58 (m, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,75-7,83 (m, 1H), 7,92-7,98 (m, 2H).

(6aR,9aS)-3-cloro-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona



La mezcla de (6aR,9aS)-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (50 g) y tolueno (1000 ml) se concentra hasta 750 ml en la atmósfera de nitrógeno. Se añaden tolueno (250 ml) y NCS (24 g). A la mezcla se le añade LiHMDS (solución 1 M de THF, 204 ml) a 0 °C y la mezcla se agita durante 0,5 h. A la mezcla se le añade NH₄Cl al 20 % (50 ml) a 5 °C. La mezcla se concentra hasta 250 ml. Después de la adición de EtOH (250 ml), la mezcla se concentra hasta 150 ml. Después de la adición de EtOH (250 ml), la mezcla se concentra hasta 200 ml. Después de la adición de EtOH (200 ml), la mezcla se calienta a 50 °C. Se añade agua (300 ml) y la mezcla se agita a 50 °C durante 0,5 h. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, los cristales se aíslan por filtración, se lavan con la mezcla de EtOH y agua (1:1, 150 ml) y se secan para dar (6aR,9aS)-3-cloro-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (51,1 g). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,46-1,61 (m, 1H), 1,67-1,90 (m, 3H), 1,92-2,00 (m, 1H), 2,19-2,27 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 4,66-4,77 (m, 2H), 5,34 (s, 2H), 6,87-6,93 (m, 1H), 7,35-7,41 (m, 2H), 7,59-7,65 (m, 1H), 7,82-7,91 (m, 1H), 7,97-8,05 (m, 2H).

Ejemplo 4 - preparación de los cristales de la sal l-tartrato.

Se disuelven 60 mg de la base libre (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona [0,118 mmol] en acetona (3 ml). Se añade

ácido L-tartárico (17,7 mg) [0,118 mmol] a la solución. La solución se deja a temperatura ambiente durante 30 minutos para la cristalización. Los sólidos se aíslan por filtración al vacío, después, los sólidos se secan al aire durante 20 minutos. La XRPD de los cristales de sal L-tartrato se obtiene como se describe o se describe de manera similar en el Ejemplo 2. El resultado se representa en la Figura 4-A.

5

Ejemplo 5 - estudio de solubilidad de cristales de sal de fosfato

Los cristales de la sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona se evalúan por su solubilidad acuosa a pH más bajo. La base libre (amorfa) también se prueba por referencia en un intervalo limitado de pH.

10

Las soluciones de fosfato (tampón) se preparan a una concentración de 50 mM y el pH se ajusta a pH 2, 3, 4, 5 o 6,8 usando ácido fosfórico 3 M (pH más bajo) o NaOH 3 M (pH más alto). También se usa HCl 0,1 N, el pH se mide como 1,2.

15

Se pesan 20 mg de los cristales de la sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona o base libre en un vial de vidrio y se añaden 2 ml de los medios acuosos relevantes. Los viales se agitan. Después de 1 h, se retira una muestra (~1 ml) con una jeringa y se filtra a través de un filtro de jeringa (0,2 micrómetros) en un vial de HPLC. Después de agitar las suspensiones durante 16 horas, se toma una segunda muestra. Después, todas las muestras se diluyen con el diluyente de HPLC en un factor de 1000 (excepto las muestras de pH 6,8 que se diluyen x10) y se vuelven a analizar mediante HPLC. En los casos en donde todo el sólido se disuelve, la solución de 2 ml se añade a otros 20 mg de sal o base libre.

20

El estudio de solubilidad muestra que los cristales de sal monofosfato tienen una solubilidad similar a la base libre amorfa a pH bajo (pH 1,2 y 2) en el intervalo de 16-> 20 mg/ml. Los cristales de sal monofosfato muestran una mejor solubilidad que la base libre amorfa a pH 3 y proporciona una solubilidad de hasta 7,7 mg/ml a pH 4. Los resultados se resumen a continuación:

25

Sal de fosfato		
pH	Solubilidad después de 1 h (mg/ml)	Solubilidad después de 16 h (mg/ml)
1,2	>20	>20
2	13,6	17,0
3	8,4	9,4
4	2,5	7,7
5	Por debajo del límite de detección*	Por debajo del límite de detección*
6,8	Por debajo del límite de detección*	Por debajo del límite de detección*
API de base libre (amorfo)		
1,2	>20	>20
2	>20	>20
3	2,5	2,2

* después de la dilución. Las muestras a pH 5 se diluyen 1000 veces antes del análisis por HPLC; y las muestras a pH 6,8 se diluyen 10 veces.

30

Ejemplo 6 - estudio de disolución de usp2 a pH 1 y 4,5

La velocidad de disolución es un factor importante en la biodisponibilidad de un ingrediente farmacéutico activo (API). Esto se prueba comúnmente usando condiciones estándar, por ejemplo, prueba de disolución USP 2. El pH de los medios acuosos utilizados puede correlacionarse con el pH del estómago (pH bajo -1-2) y los intestinos (pH ácido intermedio -4-6). Por tanto, se usan pH 1 (HCl 0,1 M) y un tampón de citrato a pH 4,5 (0,2 M) para las pruebas de disolución.

35

Se pesan los cristales de la sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (x4) en cápsulas de gelatina de color blanco de tamaño 0 a 119 mg por cápsula (equivalente a 100 mg de API). También se pesa la (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (x2) en cápsulas de gelatina de color blanco a 100 mg por cápsula. Estas cápsulas se disuelven luego usando la configuración estándar del equipo de disolución USP 2, es decir, en 1000 ml de los medios acuosos relevantes, agitadores establecidos a 50 rpm, cápsulas colocadas en bobinas de metal para pesarlas, medios equilibrados con el conjunto de baño de agua a 37 °C. Las muestras analíticas se retiran mediante una cánula, con un filtro inicial en la cánula y un filtro secundario a través de filtros de jeringa de 0,2 micrómetros. Después, las muestras se analizan sin dilución por HPLC para el contenido de API. La calibración para HPLC se ejecuta usando tanto la API de base libre como la sal fosfato.

40

45

50

Este estudio muestra que los cristales de sal monofosfato y la base libre amorfa a pH bajo (pH 1) tienen buena solubilidad. A aproximadamente 0,1 mg/ml (equivalente API), se observa una disolución completa después de aproximadamente 15 minutos. Tanto el estudio de disolución de cristales de sal monofosfato muestra mejores tasas de disolución que la base libre. Los perfiles de disolución de los cristales de sal monofosfato y la base libre a pH 1 se representan en la Figura 5-A. Los perfiles de disolución de los cristales de sal monofosfato y la base libre a pH 4,5 se representan en la Figura 5-B.

Ejemplo 7 - estudio de puente de sal monofosfato y base libre en perro

La sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona se administra a perros a una dosis de 40 mg/kg en cápsulas de gelatina o por sonda oral en una formulación de vehículo de HCl-Citrato, pH 3,5, metilcelulosa al 0,5 % en agua. Estos datos se comparan con otro estudio del estudio de base libre en el cual la base libre (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona se administra a través de sonda oral para perros a 40 mg/kg en un vehículo que contiene HCl-citrato pH 3,5, metilcelulosa al 0,5 % en agua. Se analiza el análisis de la concentración del fármaco en muestras de plasma recolectadas.

Los parámetros farmacocinéticos (PK) se determinan a partir de los datos de concentración plasmática versus tiempo mediante métodos no compartimentales con ponderación uniforme (PK solutions 2.0TM, Summit Research Services, Montrose, CO). La concentración máxima observada (Cmax) y el tiempo de la concentración máxima observada (tmax) se obtienen de los datos bioanalíticos en bruto. La curva trapezoidal calcula la curva de tiempo de concentración de área bajo el plasma desde el tiempo cero hasta el momento de la última muestra medible (AUC_∞). El perfil farmacocinético (PK) en plasma de la base libre y el cristal de sal fosfato en dosis de 40 mg/kg se proporciona en las Tablas 5 y 6 a continuación.

Tabla 5

Ruta	Sonda oral					Cápsula oral			
	Sal de fosfato					Sal de fosfato			
Número de perro	M-1001	M-1002	F-1101	F-1102	Medio	M-2001	M-2002	F-2102	Medio
Semivida E (h)	7,8	12,0	6,6	5,5	8,7	4,6	7,8	6,2	7,3
Cmax (obs) (ng/ml)	918	1519	1083	1356	1158	2431	1529	1470	1331
Tmax (obs) (h)	8	4	4	8	4	2	2	8	2
AUC _∞ (área) (ng-h/ml)	16864	31593	16208	21323	21300	13161	21861	20547	18742

Tabla 6

Ruta	Sonda oral				
	Base libre				
Número de perro	M-5001	M-5002	F-5101	F-5102	Medio
Semivida E (h)	14,8	16,7	6,7	5,5	10,8
Cmax (obs) (ng/ml)	902	1315	674	2005	1021
Tmax (obs) (h)	4	4	8	2	4
AUC _∞ (área) (ng-h/ml)	20070	36454	11548	14256	19199

Ejemplo 8 - estudio clínico de dosis única creciente

En un único estudio clínico de dosis creciente que involucró a 55 sujetos activos (15 placebo) con 11 activos:3 placebo por cada nivel de dosis de 10, 25, 75, 150, 300 mg, los cristales de la sal monofosfato de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona se disuelven en agua y esta solución acuosa se administra oralmente. El perfil farmacocinético se muestra a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7

Dosis (mg)	Peso Medio [kg]	Sal de monofosfato Medio (DE)	Tmax (h)	Cmax (ng/ml)	AUC(0-tlqc) (ng-h/ml)	AUC(0-inf) (ng-h/ml)
			(0,50 - 1,50)	(15,486)	(230,433)	(231,298)
10	75,8	Medio (DE)	1,00	89,66	767,50	771,80
			0,50	155,19	1338,10	1343,30
25	72,0	Medio (DE)	0,50	155,19	1338,10	1343,30
			1,00	334,00	3038,41	3050,34
75	62,9	Medio (DE)	1,00	334,00	3038,41	3050,34
			0,50 - 1,50	(108,578)	(905,923)	(926,792)

(continuación)

Dosis (mg)	Peso Medio [kg]	Sal de monofosfato	Tmax (h)	Cmax (ng/ml)	AUC(0-tlqc) (ng·h/ml)	AUC(0-inf) (ng·h/ml)
150	66,3	Medio (DE)	1,00	585,00	5037,31	5045,39
			(0,50 - 6,00)	(230,427)	(1425,590)	(1433,037)
300	71,4	Medio (DE)	1,00	828,00	8178,17	8192,56
			(0,50 - 3,00)	(190,273)	(2390,301)	(2400,495)

Comparando la Tabla 5 y la Tabla 6 con la Tabla 7, los resultados indican un nivel plasmático sustancialmente más alto en humanos a las dosis de 25 y 75 mg en Cmax y en AUC en comparación con los perros.

5 Ejemplo 9 - preparación del clorhidrato, sal (1-hidroxi-2-)naftoato y benzolsulfonato de la invención.

El clorhidrato, sal (1-hidroxi-2-)naftoato y benzolsulfonato de la invención puede prepararse como se describe o de manera similar a como se describe a continuación: Se hacen reaccionar 8 mg de (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en acetona:agua 20:1, metanol:agua 90:10 o alcohol isopropílico con 1 equivalente del ácido. La adición de antidisolvente (éter dietílico como antidisolvente) se usa para ayudar a la precipitación de materiales sólidos. Las sales pueden aislarse a partir del siguiente sistema:

15 clorhidrato - (en acetona/H₂O 20/1; alcohol isopropílico y MeOH/H₂O 90/10 después de la adición del antidisolvente);

(1-hidroxi-2)naftoato - (en alcohol isopropílico y MeOH/H₂O 90/10 después de la adición del antidisolvente);

benzolsulfonato - (en acetona/H₂O 20/1 después de la adición del antidisolvente).

REIVINDICACIONES

1. El compuesto (6aR,9aS)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-3-(fenilamino)-2-((4-(6-fluoropiridin-2-il)fenil)metil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona en una forma de cristal de sal de adición de fosfato, en donde los cristales de sal son cristales de sal monofosfato o solvatos o hidratos del mismo.
2. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los cristales de sal están en forma de sal monofosfato, no solvatada, no hidratada.
3. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 2, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende uno o más picos que tienen valores de ángulo 2-theta seleccionados del grupo que consiste en 13,8, 16,3, 19,2, 23,2, 23,8 y 25,9 grados, en donde el patrón XRPD se mide en un difractorómetro usando un ánodo de cobre, por ejemplo, a una longitud de onda alfa1 de 1,5406 Å y una longitud de onda alfa2 de 1,5444 Å; o uno o más picos que tienen valores de espaciado d seleccionados del grupo que consiste en 6,44, 5,45, 4,62, 3,83, 3,73 y 3,44 Å y en donde los valores tienen una desviación de $\pm 10\%$.
4. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 2, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de ángulo 2-theta seleccionados del grupo que consiste en 9,5, 13,8, 14,0, 16,3, 17,7, 18,5, 18,9, 19,2, 22,2, 22,8, 23,2, 23,8, 24,4, 25,9, 29,7, 31,4 y 32,9 grados, en donde el patrón XRPD se mide en un difractorómetro usando un ánodo de cobre, por ejemplo, a una longitud de onda alfa1 de 1,5406 Å y una longitud de onda alfa2 de 1,5444 Å; o al menos cinco picos que tienen valores de espaciado d seleccionados del grupo que consiste en 15,36, 9,33, 6,44, 6,33, 5,45, 5,01, 4,80, 4,70, 4,62, 4,00, 3,89, 3,83, 3,73, 3,65, 3,44, 3,01, 2,85 y 2,73 Å; y en donde los valores tienen una desviación de $\pm 10\%$.
5. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 2, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de ángulo 2-theta seleccionados de los establecidos en la Tabla 3 a continuación:

Tabla 3

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
1	5,7553	15,35618	1887,34	73,85
2	6,8867	12,8358	176,68	10,75
3	7,5188	11,75808	53,19	2,78
4	9,4821	9,32747	328,23	22,83
5	10,9511	8,07934	133,75	4,65
6	11,7509	7,53118	226,95	7,89
7	11,8625	7,46054	201,05	5,24
8	12,7859	6,92377	149,08	6,48
9	13,7504	6,44022	456,19	15,87
10	13,9906	6,33014	633	44,04
11	15,3855	5,75923	245,11	12,79
12	16,2789	5,44515	1277,75	100
13	17,2688	5,13515	241,96	10,52
14	17,6964	5,01205	312,05	18,99
15	18,5004	4,796	690,64	36,03
16	18,8841	4,6994	800,41	27,84
17	19,2158	4,61904	859,15	74,71
18	20,6821	4,29474	559,5	14,6
19	22,2013	4,00417	641,59	50,21
20	22,8385	3,89388	682,56	41,55
21	23,2185	3,83102	555,61	24,16
22	23,8425	3,73215	697,52	54,59
23	24,4086	3,64685	357,59	18,66
24	25,8905	3,44137	842,43	29,3
25	27,9329	3,19423	221,79	11,57
26	29,6611	3,01192	250,43	26,13
27	31,3753	2,85118	306,23	15,98
28	32,863	2,72542	167,88	20,44
29	34,6203	2,591	111,05	7,73

(continuación)

n.º	Pos. [°2Th.]	espaciado d [Å]	Altura [cm]	Int. Rel. [%]
30	36,2262	2,47975	92,41	4,82
31	37,5261	2,39678	105,94	6,45
32	41,1361	2,19441	25,77	4,03
33	45,786	1,98015	21,45	4,92

en donde el patrón XRPD se mide en un difractómetro usando un ánodo de cobre, a una longitud de onda alfa1 de 1,5406 Å y una longitud de onda alfa2 de 1,5444 Å; y en donde los valores 2-theta tienen una desviación de ± 10 %.

- 5 6. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dichos cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos cinco picos que tienen valores de espaciado d seleccionados entre los establecidos en la Tabla 3, en donde los valores de espaciado D tienen una desviación de ± 10 %.
- 10 7. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en donde dichos cristales de sal exhiben un patrón de difracción de rayos X en polvo como se representa en la Figura 3-A.
- 15 8. Los cristales de sal de acuerdo con la reivindicación 2, en donde los cristales de sal exhiben un patrón de análisis gravimétrico térmico (TGA) que comprende un pico con una temperatura de fusión de 202 °C-212 °C, o exhiben un análisis gravimétrico térmico (TGA) tan sustancialmente como se describe en el presente documento en la Figura 3-B, o en donde los cristales de sal exhiben un patrón de calorimetría de barrido diferencial (DSC) que comprende un pico con una endoterma a 213 °C; o exhiben un patrón de calorimetría de barrido diferencial (DSC) como se muestra en la Figura 3-C.

Figura 1-A

XRPD del Cristal de sal mesilato

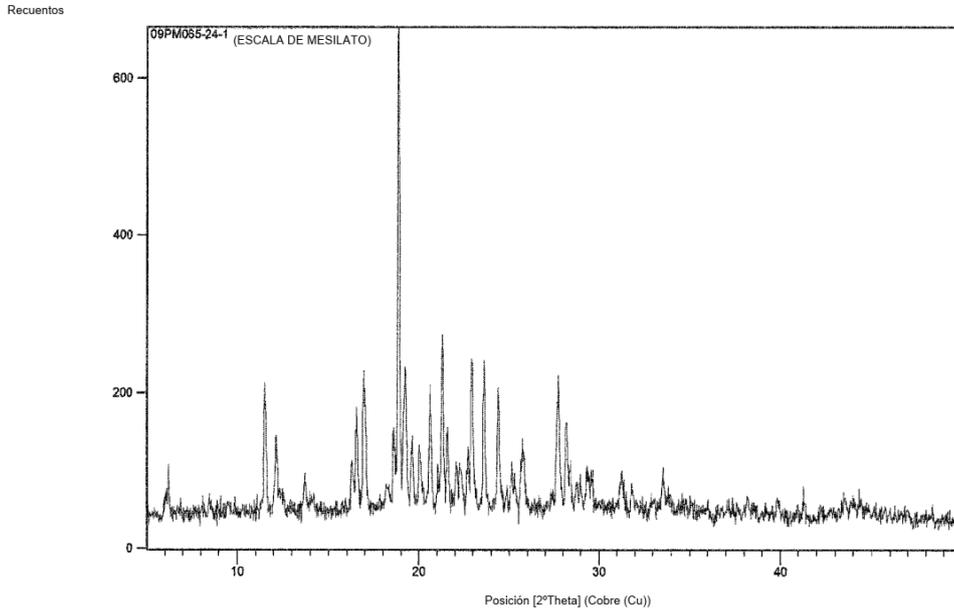


Figura 1-B

Análisis térmico diferencial (DTA) de los cristales de sal mesilato

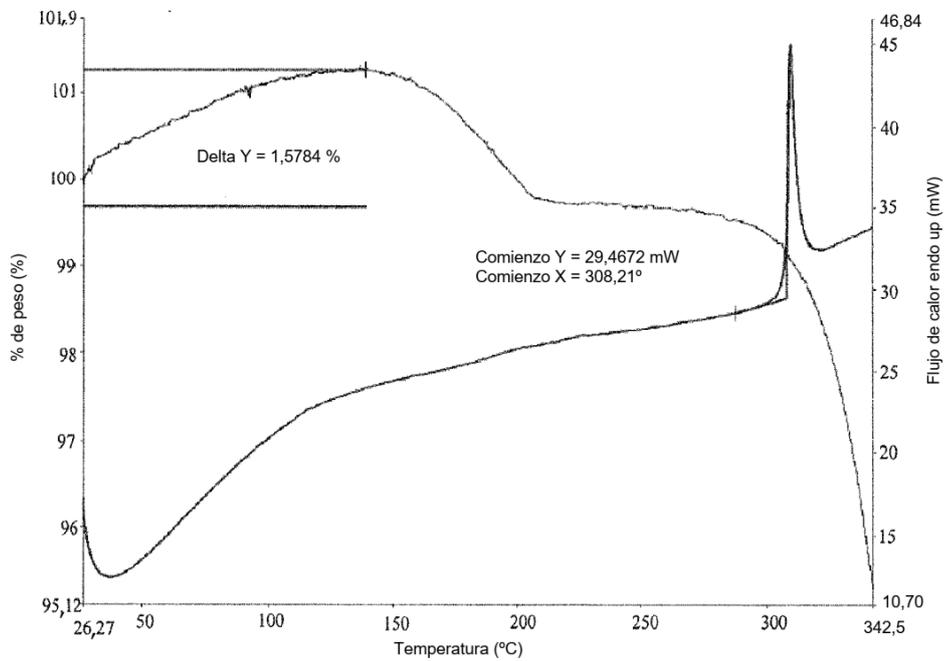


Figura 2-A

XRPD de los cristales de sal fumarato

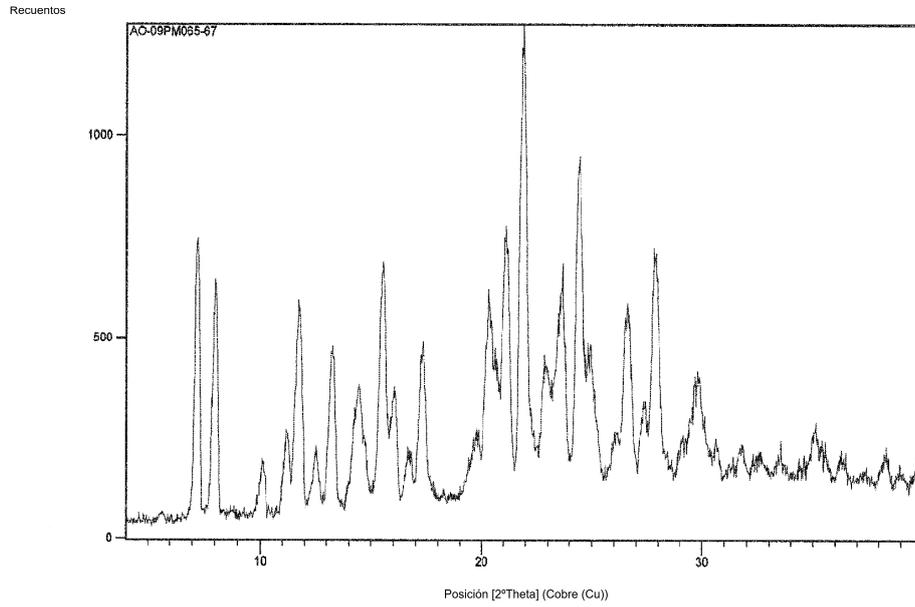


Figura 2-B

Termografía de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los cristales de sal de fumarato

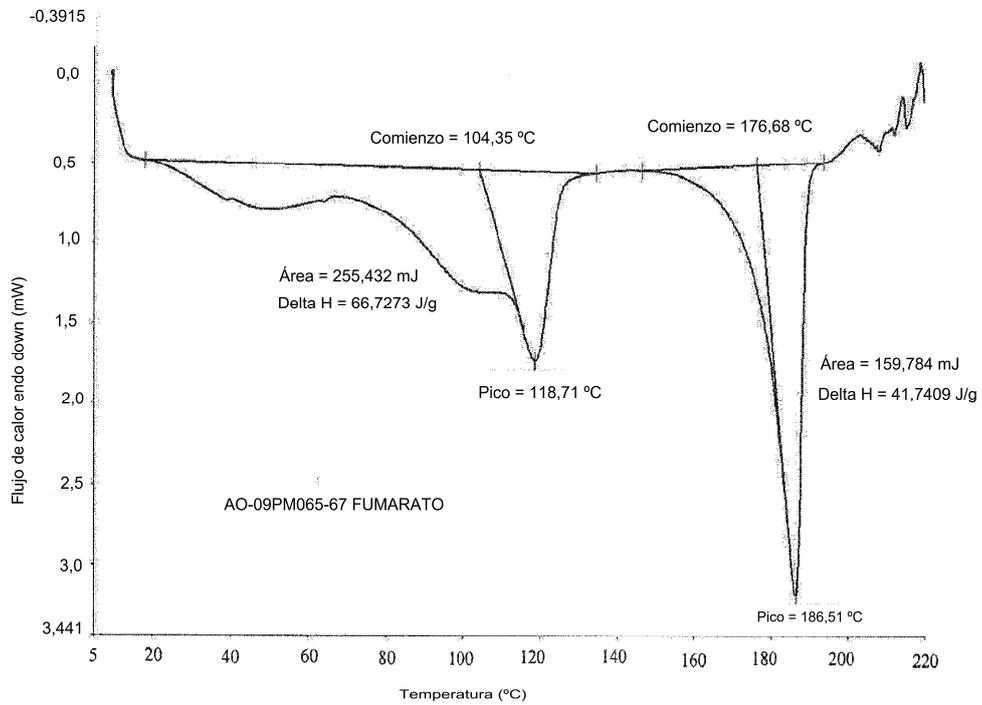


Figura 3-A

XRPD de los cristales de sal monofosfato

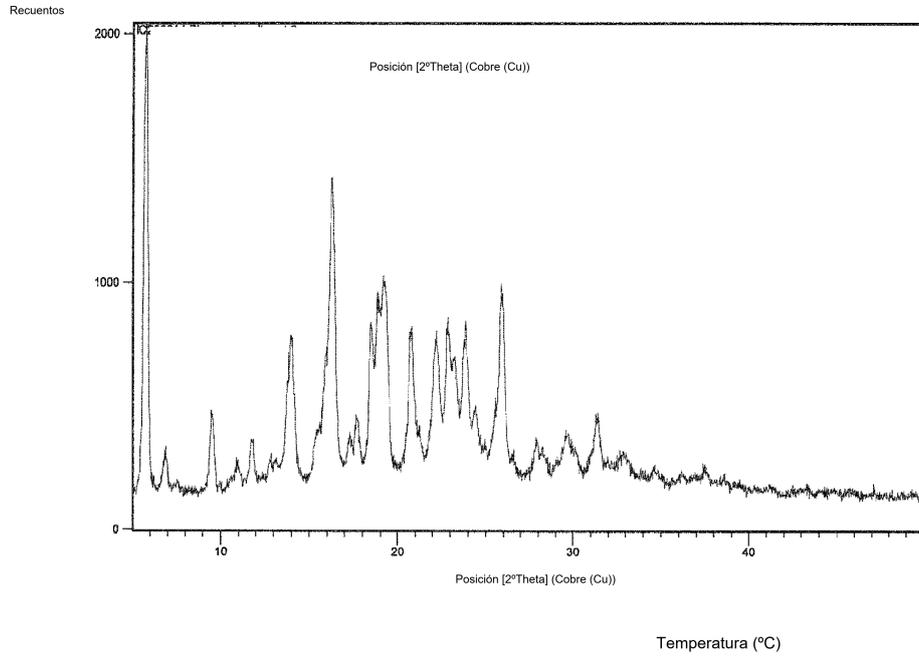


Figura 3-B

Análisis TGA de los cristales de sal monofosfato

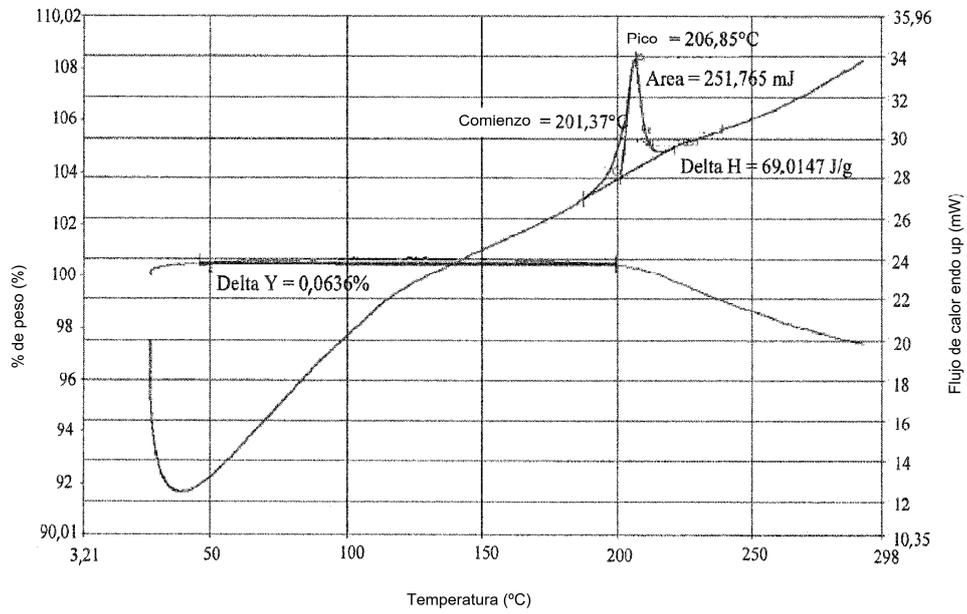


Figura 3-C

Termografía de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los cristales de sal monofosfato

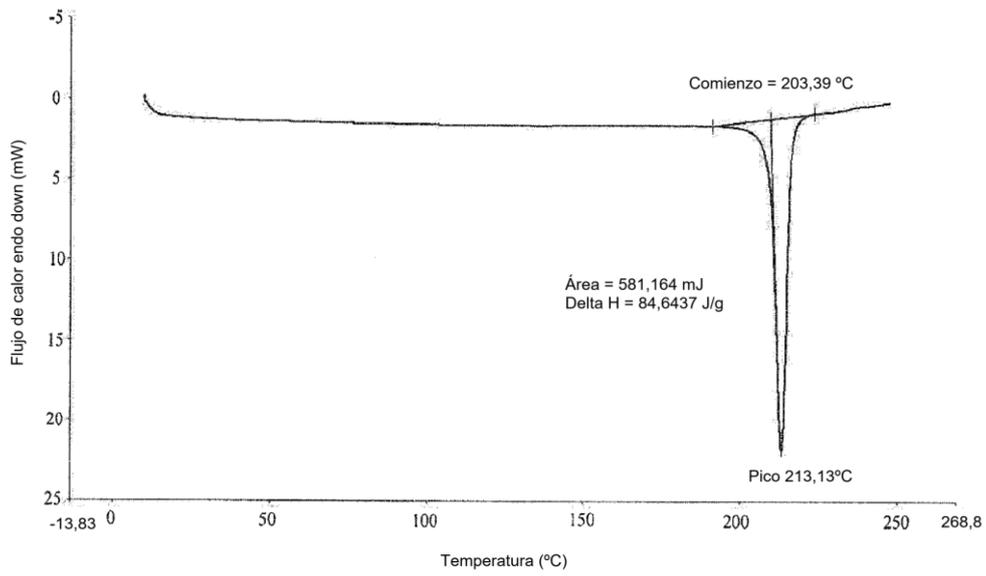


Figura 4-A

XRPD de los cristales de sal L-tartrato

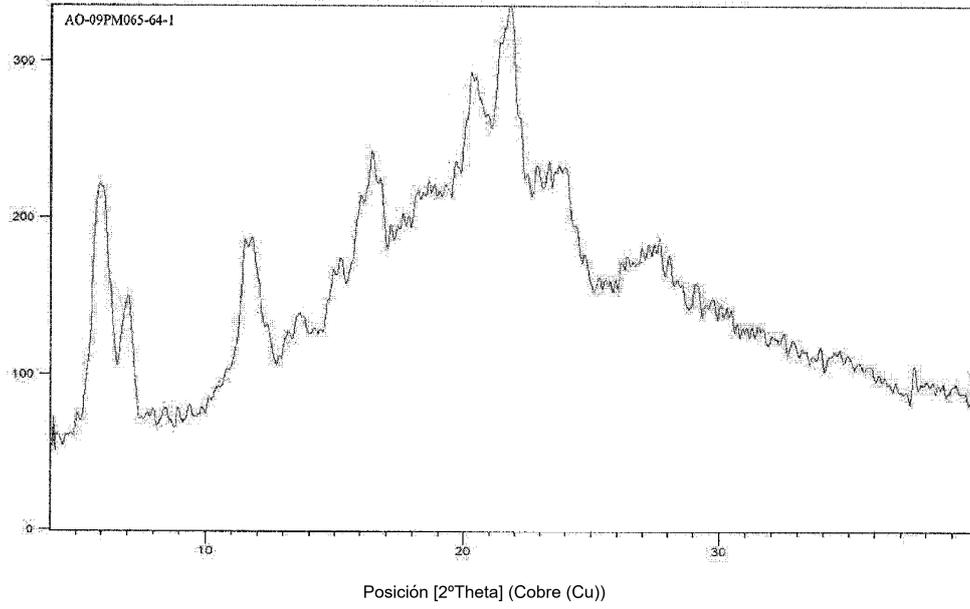


Figura 5-A

Perfiles de disolución a pH 1.

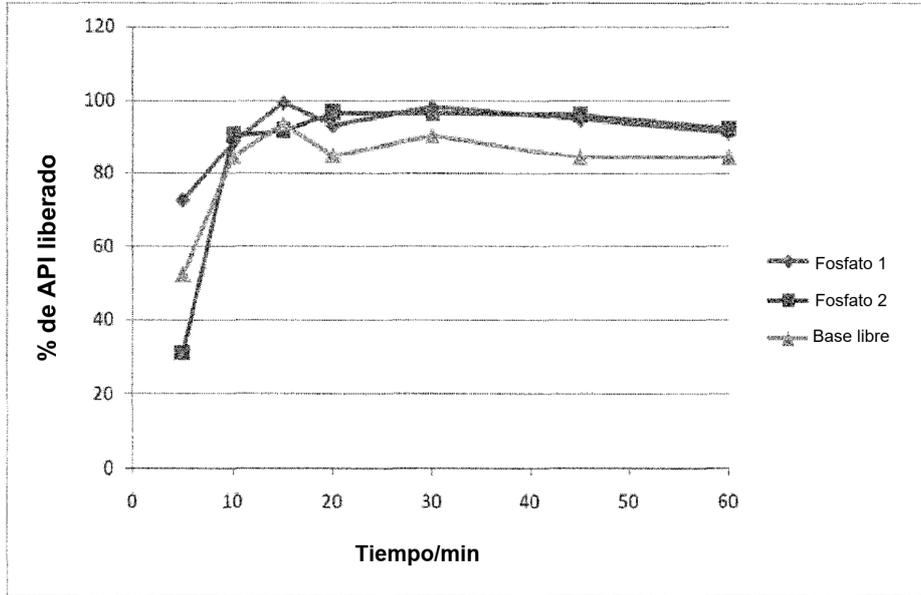


Figura 5-B

Perfiles de disolución a pH 4,5.

