SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-236625- -00012-0000
Fecha: 2015-09-18 16:57:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 8 -7

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO3
No. 15-222381- -00000-0000
Fecha: 2015-09-18 16:57:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 8 - 7

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Jc

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DIVISIONAL
DE PATENTE DE
INVENCIÓN

TITULO: SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA

SOLICITANTE: BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH

EXPEDIENTE No. 13-236.625

DIRECCIÓN: Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim, Alemania.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ: 18 de septiembre de 2015

P2013/000181A

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-236625- -00012-0000

Fecha: 2015-09-18 16:57:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 8 -7

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO3

No. 15-222381- -00000-0000

Fecha: 2015-09-18 16:57:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 8 7

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Tramite

[ ] Conversión [X] División [ ] Fusión

[X] Patente de Invención
[ ] Patente de Modelo de Utilidad

2. Datos del solicitante

[ ] Persona Natural [X] Persona Juridica

BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH.
Nombre o denominación / Nombre o razón social

Nombre del representante legal

Tipo de empresa [ ] Micro [ ] Pequeña [ ] Mediana [ ] Otra

Documento de Identificación [ ] C.C. [ ] C.E. [X] NIT [ ] Otro Número

Nacionalidad/Pais de constitución	Dirección del titular	Ciudad
Alemania	Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim,Alemania	Monheim
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico

[ ] **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. Datos del apoderado:

CARLOS R. OLARTE	79.782.747 Bta	74.295
Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional

Dirección y domicilio	Dirección del titular	Ciudad
Carrera 5 No 34-03 Bogotá D.C.		
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
office@moure.com	601-7799	601-7700

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general

4. Datos del trámite:

CONVERSION	DIVISION	FUSION
Expediente No.	Expediente No. 13-236.625	Expediente No.
De:	No. de divisionales	Expediente No.
A:		

5. Comprobante de Pago No		Fecha			

6. Anexos

X	Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación
X	Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
X	Número de documento que ordena la comisión o fusión o división
	Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
X	Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma

CARLOS R. OLARTE	
Nombre y apellidos	Firma
79.782.747	74.295
C.C.	Tarjeta Profesional

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DIVISIONAL DE PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2013/000181A**

SOLICITUD DE:

(1) [X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

(2) SOLICITANTE (71)

Nombre: BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH
Dirección: Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim, Alemania.
Nacionalidad o Domicilio: Alemana
Lugar de Constitución: Alemania
Teléfono: _____ **Fax:** _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN
C.C. [ ] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual _____
Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE
Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá
Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN
C.C. [x] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual _____
Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA
DIRECCIÓN VER PAGINA ADJUNTA
NACIONALIDAD O DOMICILIO: VER PÁGINA ADJUNTA

(5) PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2012/055600 Fecha Marzo 29, 2012

Publicación Internacional No. WO 2012/136553 A1 Fecha Octubre 11,2012

(6) Título (54) SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA

Clasificación Internacional (51) C07D 487/04, A61K 31/519, A61 35/00

Prioridad

SI [X] NO [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
EP	Abril 05, 2011	11161111.7

(9) Comprobante de pago No. 14- **Fecha** _____

(10) **ANEXOS**

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [ ] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [x] Declaraciones. Bajo la regla 4.17. (ii) del PCT.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [x] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional. Formulario IB 306.
- [x] Otros. Búsqueda Internacional.

(11) FIGURA CARACTERÍSTICA:

(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA: _____

C.C. 79. 782.747Bta T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2012/055600

Jan Georg PETERS
Belliniweg 6,
42719 Solingen
Alemania
Nacionalidad: Alemana

Hans-Christian MILITZER
Waldweg 2,
51519 Odenthal
Alemania
Nacionalidad: Alemana

Hartwig MÜLLER
Wiesenweg 10,
42553 Velbert
Alemania
Nacionalidad: Alemana

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 15 - 0097608

Bogotá D.C., Septiembre 04 de 2015 - 16:31:17

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	705549423	04/09/2015	7.281.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	2205 DIVISIONAL SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION CONT. DERE	478.000.00	478.000.00
				$478.000.00

SON: **CUATROCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO3
No. 15-222381- -00000-0000
Fecha: 2015-09-18 16:57:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 8 - 7

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-236625- -00012-0000
Fecha: 2015-09-18 16:57:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 8 - 7

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	**TESTIGO DOCUMENTAL**	Folio: 7

Dependencia Jerárquica: DELG. PROPIEDAD INDUSTRIAL	**Código**	2020
Dependencia Productora: GRUPO DE NUEVAS CREACIONES	**Código**	2020
Tipo de Radicación: Entrada: **X** Salida: □ Traslado: □ Convenio: □		
Radicador:		

DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA

Nombre de la Serie / Subserie:	Código:
Expediente: 13-236625-12- 15-222381-0-	Solicitante / ***Quejoso / Demandante / otros.***
Prueba excluida: CD	
N°. de Pruebas excluidas: 1	
Fecha de emisión de la Prueba:	

UBICACIÓN DE LA PRUEBA EN LA SECCIÓN DE MATERIAL GRÁFICO

N°. de bloque:		Otras especificaciones:
Nº. de rodante:		
Nº. de estante:		
N°. de archivador:		
Nº. de entrepaño:		
Nº. de gaveta:		
N°. de caja:		

IMPORTANTE:

- El material gráfico ***o especial*** que se encuentra ***dentro o anexo a*** las unidades documentales o expedientes, debe extraerse y llevarse a aquella sección del archivo que se haya dispuesto para conservar documentos en distintos formatos.
- Entiéndase por material gráfico todos aquellos dibujos, croquis, mapas, planos, fotografías, ilustraciones, pictografías, códices, prensa, objetos tridimensionales, entre otros.

Observaciones:

el CD contiene
14 archivos en formato PDF
procesados y cargados al sistema.

Andres

Unidad de Conservación

- ○ Bolsa
- ○ Caja
- ○ Libro
- ○ Sobre
- ○ Tomo
- ○ Otro

Soporte Documental

- ✓ CD
- ○ Disquete
- ○ DVD
- ○ Folleto
- ○ Periódico
- ○ Plano
- ○ Publicación Periódica
- ○ USB
- ○ Otro

JP

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Tramite

[ ] Conversión [X] División [ ] Fusión

[X] Patente de Invención
[ ] Patente de Modelo de Utilidad

2. Datos del solicitante

[ ] Persona Natural [X] Persona Juridica

BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH.
Nombre o denominación / Nombre o razón social

Nombre del representante legal

Tipo de empresa [ ] Micro [ ] Pequeña [ ] Mediana [ ] Otra

Documento de Identificación [ ] C.C. [ ] C.E. [X] NIT [ ] Otro Número

Nacionalidad/País de constitución	Dirección del titular	Ciudad
Alemania	Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim,Alemania	Monheim
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico

[ ] **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. Datos del apoderado:

CARLOS R. OLARTE	79.782.747 Bta	74.295
Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional

Dirección y domicilio	Dirección del titular	Ciudad
Carrera 5 No 34-03 Bogotá D.C.		
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
office@moure.com	601-7799	601-7700

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general

4. Datos del trámite:

CONVERSION	DIVISION	FUSION
Expediente No.	Expediente No. 13-236.625	Expediente No.
De:	No. de divisionales	Expediente No.
A:		

5. Comprobante de Pago No _____ **Fecha** | | | |

6. Anexos

X	Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación
X	Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
X	Número de documento que ordena la comisión o fusión o división
	Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
X	Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma

CARLOS R. OLARTE
Nombre y apellidos

Firma

79.782.747
C.C.

74.295
Tarjeta Profesional

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DIVISIONAL DE PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL **P2013/000181A**

SOLICITUD DE:

1

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

2

SOLICITANTE (71)

Nombre: BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH
Dirección: Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim, Alemania.
Nacionalidad o Domicilio: Alemana
Lugar de Constitución: Alemania
Teléfono: _____ **Fax:** _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN
C.C. [ ] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual _____
Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE
Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá
Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN
C.C. [x] **NIT** [ ]
C.E. [ ] **Otro** [ ]
Cual _____
Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA
DIRECCIÓN VER PAGINA ADJUNTA
NACIONALIDAD O DOMICILIO: VER PÁGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2012/055600 Fecha Marzo 29, 2012

Publicación Internacional No. WO 2012/136553 A1 Fecha Octubre 11,2012

6

Título (54) **SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA**

Clasificación Internacional (51) C07D 487/04, A61K 31/519, A61 35/00

Prioridad

SI [X] **NO** [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
EP	Abril 05, 2011	11161111.7

9

Comprobante de pago No. 14- **Fecha** _____

(10) **ANEXOS**

X	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
X	Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
X	Poderes, si fuere el caso.
	Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
	Declaraciones. Bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.
X	Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
X	Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
	Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
	Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
	De ser el caso, copia del contrato de acceso.
	De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
	De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
	Arte final 12 x 12.
	De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
X	De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional. PCT/IB306.
X	Otros. Búsqueda Internacional.

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**



(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA: _____

C.C. 79. 782.747Bta T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2012/055600

Jan Georg PETERS
Belliniweg 6,
42719 Solingen
Alemania
Nacionalidad: Alemana

Hans-Christian MILITZER
Waldweg 2,
51519 Odenthal
Alemania
Nacionalidad: Alemana

Hartwig MÜLLER
Wiesenweg 10,
42553 Velbert
Alemania
Nacionalidad: Alemana

PCT REQUEST

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-2-1	**Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent** Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	**In relation to this international application** **Bayer Pharma Aktiengesellschaft is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:**
VIII-2-1(ii)		**Bayer Pharma Aktiengesellschaft is entitled as employer of the inventor, PETERS, Jan, Georg**
VIII-2-1(ii)		**Bayer Pharma Aktiengesellschaft is entitled as employer of the inventor, MILITZER, Hans-Christian**
VIII-2-1(ii)		**Bayer Pharma Aktiengesellschaft is entitled as employer of the inventor, MÜLLER, Hartwig**

COLEGIO DE ESCRIBANOS · CIUDAD DE BUENOS AIRES · CAPITAL FEDERAL · REPUBLICA ARGENTINA

ACTUACION NOTARIAL
LEY 404

PO 84 157

N 015080567

FOLIO 283.- PRIMERA COPIA.- ESCRITURA NÚMERO: SETENTA Y CINCO.- SUSTITUCIÓN PARCIAL DE PODER: MESSERER, Dagmar a favor de OLARTE, Carlos Reinaldo y otro del Poder otorgado por BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH.- -

En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Capital de la República Argentina, el día **VEINTICUATRO** de **MAYO** del año **DOS MIL DOCE**, ante mí, María Silvina Lasarte, Escribana Autorizante, titular del Registro Notarial Número 1.788, **COMPARECE**: **Dagmar MESSERER,** argentina, nacida el 28 de mayo de 1.968, hija de Walter Messerer y Elsa Onelia Romanelli, soltera, titular del Documento Nacional de Identidad Número 20.383.892, con domicilio en la Avenida Del Libertador 5.954, Piso 7°, de esta Ciudad de Buenos Aires.- La compareciente es mayor de edad.- **INTERVIENE**: por su propio derecho.- Y la compareciente **EXPRESA**: **PRIMERO**: Que la Sociedad **"BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH"**, con domicilio en Alfred-Nobel-Strasse 10, 40789 Monheim, Alemania, le confirió, con fecha 25 de Abril de 2.012, en dicho país, un Poder, el cual mediante escritura número 72, del día de la fecha, otorgada ante mi, al folio 274, protocolo corriente, de este Registro Notarial Número 1788, a mi cargo, fue incorporado y transcripto al mismo, cuya primera copia tengo para este acto a la vista y en lo pertinente transcribiré en la presente.- **SEGUNDO**: Manifiesta bajo juramento que el referido poder invocado se encuentra plenamente vigente en virtud de no haberle sido revocado, suspendido ni limitado en ninguna de sus partes.- **TERCERO**: En consecuencia, **DICE**: Que en uso de la facultad conferida **SUSTITUYE PARCIALMENTE** el poder mencionado a favor de **Carlos Reinaldo Olarte** y/o **Juan Guillermo Moure Pérez**, al solo y único objeto de que en nombre y representación de la Sociedad **"BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH"**,

N 015080567

y actuando en forma individual, indistinta y/o alternadamente, se presenten **exclusivamente** ante las autoridades de **COLOMBIA**, que correspondan y realicen los actos enumerados en el citado poder y con las facultades que surgen del mismo, el que transcripto en lo pertinente dice: "FOLIO 274.- PRIMERA COPIA.- ESCRITURA NÚMERO: SETENTA Y DOS.- ...- En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, ..., el día VEINTICUATRO de MAYO del año DOS MIL DOCE, ante mí ..., COMPARECE: Dagmar MESSERER, argentina, nacida el 28 de mayo de 1.968, hija de Walter Messerer y Elsa Onelia Romanelli, soltera, titular del Documento Nacional de Identidad Número 20.383.892, con domicilio en la Avenida Del Libertador 5.954, Piso 7°, de esta Ciudad de Buenos Aires.- La compareciente es mayor de edad.- INTERVIENE: por su propio derecho.- Y la compareciente EXPRESA: Que a los efectos que hubiere lugar, solicita de mí, la Autorizante, LA INCORPORACIÓN y TRANSCRIPCIÓN en este protocolo del PODER que fuera conferido en Leverkusen, Alemania, el día 25 de Abril de 2.012, por la Sociedad "BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GmbH", con domicilio Alfred-Nobel-Strasse 10, 40789 Monheim, Alemania, a favor de Gerardo Messerer y/o Dagmar Messerer y/o Karen Messerer y/o Moeller & CO. S.A., indistintamente, sobre cuya plena vigencia responde la requirente bajo juramento.- Yo, la Autorizante, hago constar: a) Que el instrumento de poder cuya incorporación y transcripción a este protocolo solicita la compareciente, se encuentra extendido en idioma castellano, certificadas las firmas por notario en idiomas inglés y alemán, debidamente legalizado en idioma alemán (Sello de Apostilla de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961) y traducido en lo pertinente al idioma nacional por la Traductora Pública Laura Thieberger.- b) Que la compareciente en virtud de lo manifestado tiene interés legítimo en su requerimiento.- En consecuencia, me hace entrega en este acto del

original del instrumento de poder relacionado con su respectiva traducción al idioma nacional, el que agrego a la presente y transcripto dice: "PODER Los abajo firmante/s Bayer Intellectual Property GmbH domiciliados en Alfred-Nobel-Strasse 10 40789 Monheim, Alemania declaran por el presente otorgar a Gerardo MESSERER y/o Dagmar MESSERER y/o Karen MESSERER y/o MOELLER & CO. S.A. indistintamente poder general amplio y suficiente para recabar de las autoridades ..., sud y centroamericanas ... que correspondan, la obtención de patentes de invención, el registro y la renovación de marcas y modelos y/o derechos de propiedad intelectual y/o nombres de dominio, a cuyo efecto los faculta/n para llevar a cabo ante dichas autoridades todas las gestiones necesarias al objeto indicado, presentar solicitudes, formular descripciones, oposiciones, protestos, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, justificar explotaciones, solicitar testimonios, aceptar transferencias, recibir documentos y valores, percibir y hacer cuanto fuere necesario ante las autoridades administrativas de cualquier orden. Por otra parte, les confieren mandato para que en su nombre y representación puedan iniciar y proseguir cualquier juicio que actualmente los que suscriben tengan o en el futuro tuvieran ..., en Sudamérica, Centroamérica ..., con motivo de su nombre, marcas de fábrica o de comercio, patentes de invención y modelos y/o de sus derechos de propiedad intelectual que actualmente posean o adquieran en lo sucesivo, promover juicios de cualquier jurisdicción, criminales, correccionales, civiles o comerciales, contra los falsificadores, usurpadores o imitadores y contra los tenedores de artículos que infrinjan su nombre, marcas o patentes de invención, seguir los juicios por oposición u otros en que fueran parte como actores o demandados, defender el nombre, las marcas, patentes y modelos y/o de derechos de propiedad intelectual y/o nombres de dominio, haciendo las protestas del caso o diciendo de nulidad. Al efecto, podrán

N 015080568

presentarse con escritos, querellas, pedidos, y lo que fuere necesario ante cualquier autoridad judicial, presentar testigos, documentos y demás justificativos, rendir pruebas de cualquier especie, pedir nombramientos de peritos, pedir y absolver posiciones, asistir a juicios verbales, declinar y prorrogar de jurisdicción, tachar, recusar, apelar, transar, someter a arbitraje o mediación, hacer renuncias, exigir y dar cauciones, pedir embargos preventivos, definitivos o inhibiciones y su levantamiento, pedir la venta de los bienes de los deudores, solicitar y obtener el cumplimiento de sentencias, prestar juramentos, decir de nulidad, desistir, percibir, otorgar recibos y en general practicar todos los actos y diligencias que sean precisos al desempeño de este mandato. Podrán asimismo sustituir el presente poder en todo o en parte. ... Dado y firmado en - Sigue una firma ilegible (Aclarado:) Dr. J. Thomaier, ppa. - Sigue una firma ilegible (Aclarado:) C. Linder".- ES COPIA FIEL, doy fe.- En hoja adjunta consta: a) La certificación notarial de las firmas obrantes en el poder en idioma inglés y alemán, efectuada por el Escribano Público de Leverkusen, Alemania, Klaus Striewski; y b) La respectiva legalización de la firma y sello del nombrado Notario (Sello de Apostilla de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961), en idioma alemán, efectuada por el Vicepresidente del Tribunal Regional de Colonia, Alemania, Doctor Dumke.- En hoja adjunta sigue la referida traducción al idioma nacional la que transcripta textualmente, dice: "TRADUCCIÓN PUBLICA (A continuación de un PODER otorgado en idioma nacional por la Sociedad "Bayer Intellectual Property GmbH", con sede en Alfred-Nobel-Strasse 10 - 40789 Monheim, Alemania, figuran los siguientes textos, que traducidos dicen:) ... Acta N° 656/2012 – 1. Certifico que las personas llamadas: - Dr. Jörg Thomaier, domicilio comercial: D-40789 Monheim, Alfred-Nobel-Strasse 10, Alemania, - Sra. Claudia Linder, domicilio comercial: 51368 Leverkusen, Chempark, Alemania, comparecieron ante mí y otorgaron el siguiente

documento firmándolo personalmente – todas personas de mi conocimiento – Confirmo que el Dr. Jörg Thomaier y la Sra. Claudia Linder están autorizados como representantes de "Bayer Intellectual Property GmbH", de Monheim, habiendo tenido a la vista electrónicamente en el día de la fecha el Registro de Comercio del Tribunal Regional de Düsseldorf constatando que los mismos, según el capítulo B 67604 son representantes autorizados.- 2. (Siguen los textos en alemán de su original en inglés) – Leverkusen, 25 de abril de 2012 - (Hay un sello en oblea adherido sobre precinto: Klaus Striewski - Escribano de Leverkusen - Firma (Firmado y aclarado:) Klaus Striewski – Escribano de Leverkusen.- APOSTILLA – (Convención de La Haya del 5 octubre de 1961) – País: República Federal de Alemania - Este instrumento público fue firmado por Klaus Striewski en su carácter de Escribano, estando provisto del sello del Escribano Klaus Striewski de Leverkusen.- Certificado en Colonia, el 03.05.2012 por el Vicepresidente del Tribunal Regional con el N° 1880/2012 – Sello (Hay un sello:) Presidente del Tribunal Regional de Colonia – 2 - Firma (Firmado y aclarado:) Doctor Dumke.- … - ES TRADUCCIÓN FIEL de las partes pertinentes del documento de referencia que en los idiomas alemán e inglés he tenido a la vista y he vertido al idioma nacional, en Buenos Aires, el 21 de mayo de 2012. Hay una firma ilegible. Hay un sello que dice: "Laura Thieberger-Matrícula de Traductores Alemán-Francés-Tomo II Folio 254 (Cap.) Tomo III 98- (La Plata)- Inglés-Tomo III: Folio 14 (Cap.)- Tomo III Folio 329 (La Plata)- Colegio de Traductores Públicos N° 173".- ES COPIA FIEL, doy fe.- A continuación hay un sello que dice: "Colegio de Traductores Públicos de la Ciudad de Buenos Aires Corresponde a la Legalización N° 29177/12. Sigue una firma ilegible. Mayra Fiorella Pugliese".- ...- A continuación sigue la legalización de la firma de la nombrada traductora ...- Constancias Notariales: Identidad de la compareciente (Artículo 1.002 del Código Civil): Se justifica la misma

CECBA - LEY404 GCBA
APOSTILLA
120528 129072
28/05/2012 10 45 21

CECBA - LEY404 GCBA
LEGALIZACION
120528 252762
28/05/2012 10.45 21

COLEGIO DE ESCRIBANOS · CIUDAD DE BUENOS AIRES CAPITAL FEDERAL · REPUBLICA ARGENTINA

N 015080569

por conocimiento de la Autorizante.- ...- LEO esta escritura a la compareciente, quien así la otorga y en prueba de conformidad, la firma ante mí, doy fe.- Dagmar MESSERER. Ante mí: MARÍA SILVINA LASARTE. Escribana. Está mi sello.-".- **ES COPIA FIEL**, de las partes pertinentes de la escritura de referencia, doy fe.- **CUARTO**: Finalmente la compareciente expresa: **a)** Que el presente otorgamiento no significa renunciar al ejercicio de las facultades sustituidas; **b)** Que los nombrados apoderados sustitutos no podrán sustituir el presente poder en ninguna de sus partes; y **c)** Que el presente instrumento no se encuentra alcanzado por el Impuesto de Sellos, en virtud de no revestir el carácter de oneroso.- **Constancias Notariales: Identidad de la Compareciente (Artículo 1.002 del Código Civil):** Se justifica la misma por conocimiento de la Autorizante.- Informo a la compareciente respecto de los alcances de las cláusulas contenidas en la presente escritura y del derecho de leer por sí este instrumento.- **LEO** esta escritura a la compareciente, quien así la otorga y en prueba de conformidad la firma ante mí, doy fe.- Dagmar MESSERER. Ante mí: MARÍA SILVINA LASARTE. Escribana. Está mi sello. **CONCUERDA** con su escritura matriz que pasó ante mí, al folio 283 del Registro Notarial número 1788, a mi cargo. PARA LA PODERDANTE expido la presente **PRIMERA COPIA** en tres (3) sellos de actuación notarial numerados correlativamente desde el número N 015080567 al presente inclusive, que sello y firmo en la fecha y lugar de su otorgamiento, doy fe.-

ESCRIBANA MARIA SILVINA LASARTE

COLEGIO DE ESCRIBANOS • CIUDAD DE BUENOS AIRES • CAPITAL FEDERAL - REPUBLICA ARGENTINA • NIHIL PEQUE PIDE

LEGALIZACION
LEY 404

L 010811293

EL COLEGIO DE ESCRIBANOS de la Ciudad de Buenos Aires, Capital Federal de la República Argentina, en virtud de las facultades que le confiere la ley orgánica vigente, LEGALIZA la firma y sello del escribano MARIA SILVINA LASARTE **obrantes en el documento anexo, presentado en el día de la fecha bajo el Nº** 120528252762/0 **. La presente legalización no juzga sobre el contenido y forma del documento.**

Buenos Aires, Lunes 28 de Mayo de 2012

COLEGIO DE ESCRIBANOS • LEGALIZACION • CIUDAD DE BUENOS AIRES • CAPITAL FEDERAL - REPUBLICA ARGENTINA

ESC. JUAN MANUEL SANCLEMENTE
COLEGIO DE ESCRIBANOS
CONSEJERO

SERIE A 0074636

CFNA

REPÚBLICA ARGENTINA

MINISTERIO *de*
RELACIONES EXTERIORES
COMERCIO INTERNACIONAL Y CULTO

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: REPÚBLICA ARGENTINA
   El presente documento público DE LEGALIZACIÓN
2. Ha sido firmado por JUAN MANUEL SANGUINETTI
3. Quien actúa en calidad de CONSEJERO
4. Lleva el sello/timbre del COLEGIO DE ESCRIBANOS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES.
5. En LA CIUDAD DE BUENOS AIRES
6. El día 28/05/2012
7. Por EL COLEGIO DE ESCRIBANOS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES, COMERCIO INTERNACIONAL Y CULTO (Convenio 02/09/2003)
8. Bajo el Número: 120528129072
9. Sello/Timbre:
10. Firma

COLEGIO DE ESCRIBANOS APOSTILLA CAPITAL FEDERAL - REPÚBLICA ARGENTINA

CANCILLERIA ARGENTINA

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
11 October 2012 (11.10.2012)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2012/136553 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2012/055600

(22) International Filing Date:
29 March 2012 (29.03.2012)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
11161111.7 5 April 2011 (05.04.2011) EP

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **Bayer Pharma Aktiengesellschaft** [DE/DE]; Müller Strasse 178, 13353 Berlin (DE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **PETERS, Jan, Georg** [DE/DE]; Belliniweg 6, 42719 Solingen (DE). **MILITZER, Hans-Christian** [DE/DE]; Waldweg 2, 51519 Odenthal (DE). **MÜLLER, Hartwig** [DE/DE]; Wiesenweg 10, 42553 Velbert (DE).

(74) Common Representative: **Bayer Pharma Aktiengesellschaft**; Law and Patents, Patents and Licensing, Müller Strasse 178, 13353 Berlin (DE).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

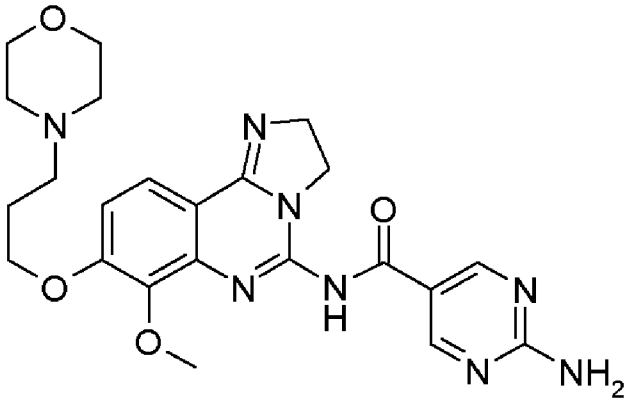
— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

[Continued on next page]

(54) **Title**: SUBSTITUTED 2,3-DIHYDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINE SALTS



. 2 HCl

(II)

(57) **Abstract**: The present invention relates : - to 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo- [1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide dihydrochloride salt of formula (II) : or a tautomer, solvate or hydrate thereof; - to methods of preparing said dihydrochloride salt; - to said dihydrochloride salt for the treatment and/or prophylaxis of a disease; - to the use of said dihydrochloride salt for the preparation of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a disease, in particu - lar of a hyper- proliferative and/or angiogenesis disorder, more particularly for the treatment or prophylaxis of a cancer, particularly lung cancer, in particular non-small cell lung carcinoma, colorectal cancer, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma, pan - creatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer; - to a pharmaceutical composition comprising said dihydrochloride salt; and - to a pharmaceutical combination comprising said dihydrochloride salt in combination with one or more further pharmaceutical agents.

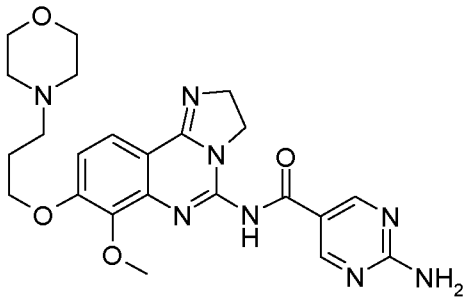
WO 2012/136553 A1

— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*

SUBSTITUTED 2,3-DIHYDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINE SALTS

The present invention relates :

- to 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide dihydrochloride salt of formula (II) :



. 2 HCl

(II),

or a tautomer, solvate or hydrate thereof,

(which is hereinafter referred to as “the salt of the present invention” or the “dihydrochloride salt”) ;

- to methods of preparing said salt of the present invention ;

- to said salt of the present invention for the treatment and/or prophylaxis of a disease;

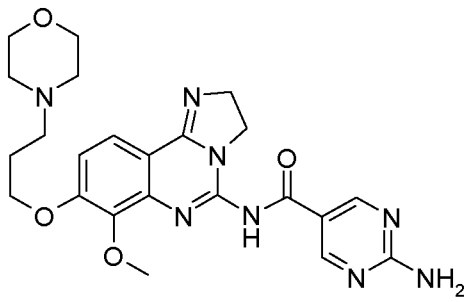
- to the use of said salt of the present invention for the preparation of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a disease, in particular of a hyper-proliferative and/or angiogenesis disorder, more particularly for the treatment or prophylaxis of a cancer, particularly lung cancer, in particular non-small cell lung carcinoma, colorectal cancer, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma, or breast cancer ;

- to a pharmaceutical composition comprising said salt of the present invention ; and

- to a pharmaceutical combination comprising said salt of the present invention in combination with one or more further pharmaceutical agents.

Background to the Invention

The compound of formula (I) :



(I),

(which is hereinafter referred to as the "compound of formula (I)" or the "free base"), is a proprietary cancer agent with a novel mechanism of action, inhibiting Class I phosphatidylinositol-3-kinases (PI3Ks). This class of kinases is an attractive target since PI3Ks play a central role in the transduction of cellular signals from surface receptors for survival and proliferation. The compound of formula (I) exhibits a broad spectrum of activity against tumours of multiple histologic types, both *in vitro* and *in vivo*.

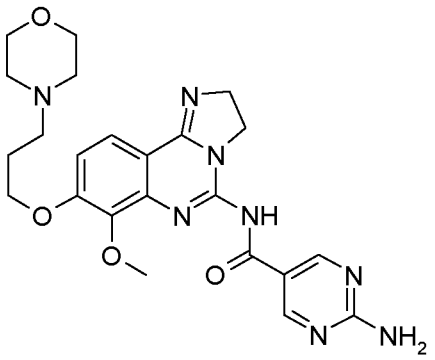
Said compound of formula (I) may be synthesised according to the methods given in international patent application PCT/EP2003/010377, published as WO 04/029055 A1 on April 08, 2004, (which is incorporated herein by reference in its entirety), on pp. 26 *et seq*.

Moreover, said compound of formula (I) is published in international patent application PCT/US2007/024985, published as WO 2008/070150 A1 on June 12, 2008, (which is incorporated herein by reference in its entirety), as the compound of Example 13 : 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide. Further, said compound of formula (I) is, in WO 2008/070150, described on pp. 9 *et*

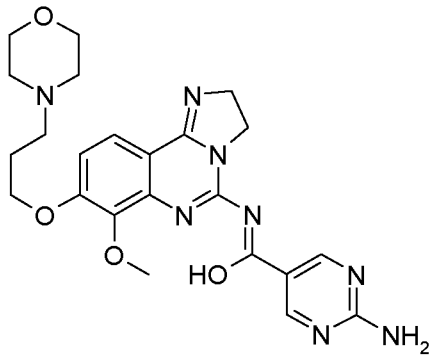
seq., and may be synthesized according to the methods given therein on pp. 42 *et seq*. Biological test data for said compound of formula (I) is given therein on pp. 101 to 107.

Said compound of formula (I) may exist in one or more tautomeric forms : tautomers, sometimes referred to as proton-shift tautomers, are two or more compounds that are related by the migration of a hydrogen atom accompanied by the migration of one or more single bonds and one or more adjacent double bonds.

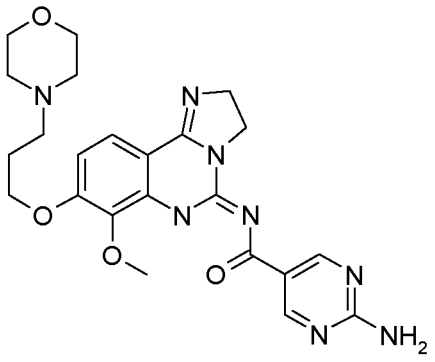
The compound of formula (I) may for example exist in tautomeric form (Ia), tautomeric form (Ib), or tautomeric form (Ic), or may exist as a mixture of any of these forms, as depicted below. It is intended that all such tautomeric forms are included within the scope of the present invention.



(Ia)



(Ib)



(Ic)

Said compound of formula (I) may exist as a solvate : a solvate for the purpose of this invention is a complex of a solvent and a compound of formula (I) in the solid state. Exemplary solvates include, but are not limited to, complexes of a compound of the invention with ethanol or methanol.

Said compound of formula (I) may exist as a hydrate : Hydrates are a specific form of solvate wherein the solvent is water.

Technical problem to be solved :

In general, for a given pharmaceutically active compound, pharmaceutically acceptable forms of said given pharmaceutically active compound are desired, with the view to increasing the pharmaceutical effectiveness of said pharmaceutically active compound, e.g. improving physical chemical characteristics, such as chemical stability, physical stability, solubility *in vivo*, improving absorption of the pharmaceutically active compound *in vivo, etc.* In addition, a drug substance would ideally come in a stable crystal form that can be produced in a reliable way. Amorphous or crystal forms of low order (e.g. mesomorphic forms) are less attractive as they carry the risk of a later form change and changes of physical properties.

However, said compound of formula (I) (which is a free base) could only be prepared in a mesomorphic form that is stable in solid form, but unstable at 70°C in acidic aqueous solution and carries the above mentioned risk of a later form change.

The formation of a crystalline salt form of the free base (I) might solve the above mention problem once the properties of this form are advantageous with respect to the properties of the free base (I). In our efforts to prepare crystalline salt forms of (I) we experienced that preparing crystalline salt forms of (I) is not as easy as one might expect for a compound carrying basic centers.

Furthermore, the compound of formula (I) exhibits very low solubility in water and most organic solvents. With two very basic centres (Table I, *vide infra*),

solubility is strongly improved in acidic media. Consequently, purification of and final processing of the compound of formula (I) is a challenging task.

The following structure shows the compound of formula (I), on which calculated pKa values have been given in parentheses.

COMPOUND of FORMULA (I)

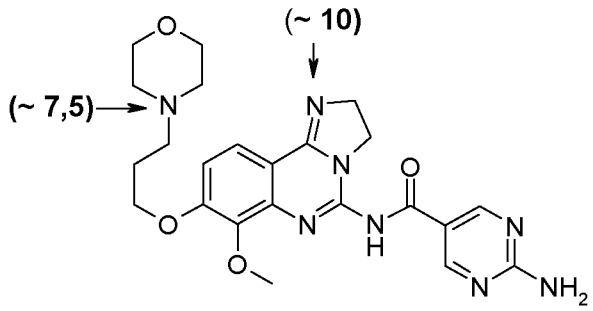


Table I : pKa values of the compound of formula (I) :

funct. group / pKa values	*experimental*	*calculated*
pKa (Imidazolinoamindine)	-	10,1
pKa (Morpholine)	-	7,43 - 7,5
pKa (Aminopyrimidine)	-	1,99 - 2,11

More particularly, with regard to the unique chemical structure of the compound of formula (I), *vide supra*, the physical properties of the compound of formula (I) are not only challenging with regard to the chemical process, the handling of the drug substance and the production of drug product, but additionally offer significant challenges for the development of a stable and reliable HPLC method as well.

It would be desirable to have a pharmaceutically acceptable and crystalline form of the compound of formula (I) which allows its reliable purification, e.g., by crystallization, in view of the difficult, specific technical problems and very low aqueous solubility, and which is easy to handle (*e.g.*, which is a free-flowing solid).

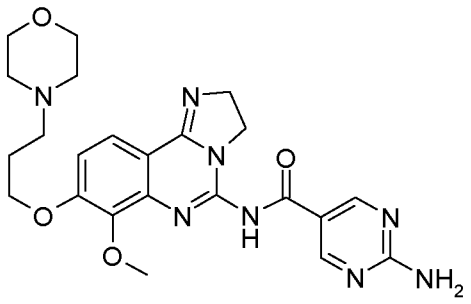
Solution to the technical problem :

Various attempts were made to prepare crystalline salts of the compound of formula (I). The formation of crystalline salt forms proved to be difficult, as in general no solution was achieved and in several cases gum-like, sticky materials were formed.

Unexpectedly, and this represents a basis of the present invention, it has been discovered that the dihydrochloride salt of the compound of formula (I), of the present invention (no specific disclosure of which is known to the Applicant's knowledge in the prior art), possesses technically advantageous properties, as seen *inter alia* in the Experimental Section and Conclusion Section of this text.

The present invention thus relates :

- to 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide dihydrochloride salt of formula (II) :



. 2 HCl

(II),

or a tautomer, solvate or hydrate thereof,

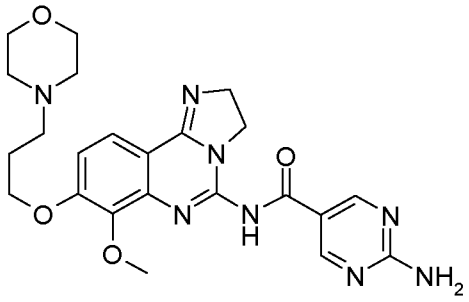
(which is hereinafter referred to as "the salt of the present invention" or the "dihydrochloride salt") ;

- to methods of preparing said salt of the present invention ;
- to said salt of the present invention for the treatment and/or prophylaxis of a disease;
- to the use of said salt of the present invention for the preparation of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a disease, in particular of a hyper-proliferative and/or angiogenesis disorder, more particularly for the treatment or prophylaxis of a cancer, in particular non-small cell lung carcinoma, colorectal cancer, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer ;
- to a pharmaceutical composition comprising said salt of the present invention ; and
- to a pharmaceutical combination comprising said salt of the present invention in combination with one or more further pharmaceutical agents.

Methods of preparing the salt of the present invention

The present invention also relates to a method of preparing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention, which involves the addition of hydrochloric acid to the compound of formula (I), or, inversely, the addition of the compound of formula (I) to hydrochloric acid.

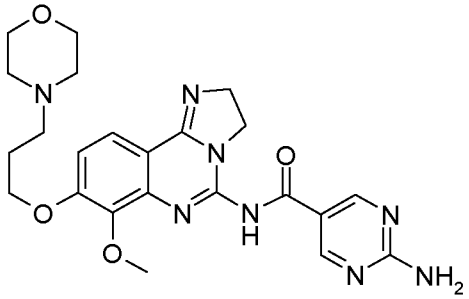
In accordance with an embodiment of the present invention, said method of preparing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention comprises adding hydrochloric acid to a compound of formula (I) :



(I),

preferably in suspension,

thereby forming said dihydrochloride salt of formula (II) :



. 2 HCl

(II).

In accordance with an embodiment of the present invention, said method of preparing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention comprises :

a) adding hydrochloric acid, such as aqueous hydrochloric acid solution (32%) for example, to a suspension of said compound of formula (I) in a medium, such as water for example, at a temperature of between the freezing point of the mixture and the boiling point of the mixture, such as at a temperature of 20 °C (+-2°), until a pH of 3 to 4 is reached ;

b) stirring the resulting mixture at a temperature of between the freezing point of the mixture and the boiling point of the mixture, such as at room temperature for example, for a period of time, such as for more than 10 minutes for example ; and, optionally

c) filtering off the resulting solid and washing the filtercake, such as with water for example, then adjusting the pH of the filtrate to pH 1.8 to 2.0 using hydrochloric acid, such as aqueous hydrochloric acid solution (32%) for example ; and, optionally,

d) stirring the mixture for a period of time, such as 10 minutes for example, at a temperature between the freezing point and the boiling point of the mixture, such as at room temperature for example, adding ethanol, followed by further stirring for a period of time, such as for 10 minutes for example ; and, optionally,

e) adding seed crystals, optionally followed by adding ethanol over a period of time such as within 5 hours for example ; and, optionally,

f) filtering off the resulting dihydrochloride of formula (II), optionally washing with a water-ethanol mixture and optionally drying, such as *in vacuo* for example,

thus providing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention.

In accordance with an embodiment of the present invention, said method of preparing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention comprises :

a) adding said hydrochloric acid to said compound of formula (I) in acetone/water or ethanol/water for example ; and, then, optionally,

b) heating at a temperature between the boiling point and the freezing point of the mixture, such as at 40 to 60 °C for example, such as at 50 °C for example, for a period of time preferably of 0,2 to 2 hours for example, such as for 0,5 hours for example ; then, optionally,

c) heating further at a temperature between the boiling point and the freezing point of the mixture, such as at 30 to 40 °C for example, such as at 35°C for example, for a period of time such as 1 to 4 hours for example, with optional stirring of said suspension at a temperature of between the boiling point and the freezing point of the mixture, such as 10 to 45 °C for example, such as at 35°C for example, for a period of time preferably 12 to 72 hours for example, such as for 72 hours for example, optionally followed by stirring said suspension at a temperature of between the freezing point of the mixture and the boiling point of the mixture, such as at room temperature for example, for a period of time of 0 to 4 hours, such as 2 hours for example ; and, optionally,

d) filtering, optional washing and drying,

thus providing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention.

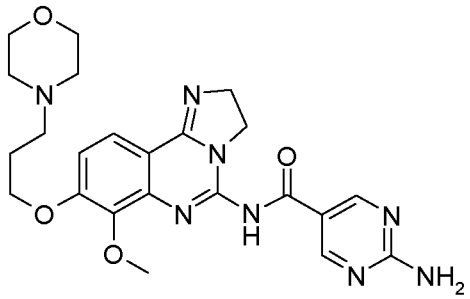
In accordance with an embodiment of the present invention, said method of preparing the dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention is as follows :

said hydrochloric acid is concentrated aqueous hydrochloric acid solution (1,33 g, 36% HCl) and is added to said compound of formula (I) in an acetone / water mixture (50 mL, 8:2 v/v), followed by heating at a temperature of 50 °C, for a period of time of 0,5 hours, then followed by further heating, at a temperature of 35 °C, for a period of time of 72 hours, then with stirring of said suspension at a temperature of room temperature, for a period of time of 2 hours, followed by filtration, washing with an acetone/water mixture, and drying in a vacuum oven (40 °C, 100 mbar, 16 h), thus providing said dihydrochloride salt of formula (II) of the present invention.

EXPERIMENTAL SECTION

The following terms and abbreviations are used in the following text :

"compound of formula (I)" or "free base" means 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide of formula (I) :

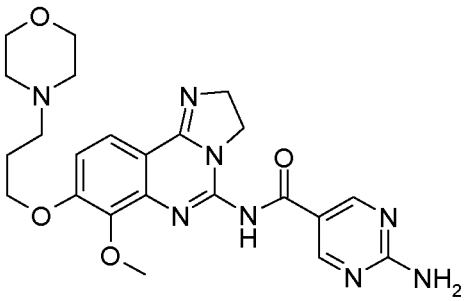


(I),

which is the compound of Example 13 of WO 2008/070150 A1 as indicated *vide supra*.

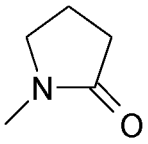
"DS" means "drug substance", i.e., the "compound of formula (I)" or "free base"

"dihydrochloride salt of formula (II)" or "salt of formula (II)" means 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide dihydrochloride, which is the dihydrochloride salt of formula (II) :



. 2 HCl

(II) ;

"NMP" means N-Methylpyrrolidinone (solvent) : 

"XRPD" means "X-ray powder diffraction" : the apparatus used for measurements mentioned is the following :

STOE Powder Diffraction System:

Diffractometer :	Transmission
Monochromator :	Curved Germanium (111)
Generator :	45 kV, 35 mA
Wavelength :	1.540598 Cu
Detector :	Linear PSD
Scan Mode :	Transmission / Moving PSD / Fixed omega
Scan Type :	2Theta:Omega
Room conditions :	25 °C, 40 – 60 %rF

"IC" means "Ion Chromatography" :

Machine:	Merck Ion Chromatograph with Suppressor System
Detection :	Conductivity detector, Fa. Metrohm

"TGA" means "Thermogravimetric Analysis" :

Machine : Thermogravimetric Analyzer TGA 7 or TGA 850e

Producer : Perkin Elmer or Mettler-Toledo

Heating rate : 10 $Kmin^{-1}$ or 5 K/min

Flushing gas (Spülgas) : nitrogen , 20-30 ml/min

Crucible (Tiegel) : open platinum crucible (offener Platin-Tiegel)

Sample preparation : none

"DSC" means "Differential Scanning Calorimetry" :

Machine : Differential Scanning Calorimeter DSC 7 or Pyris-1 or DSC 821e

Producer : Perkin-Elmer or Mettler-Toledo

Heating rate : 2 and 20 K/min or 5 K/min

Flushing gas (Spülgas) : nitrogen

Crucible (Tiegel) : non-gas tight aluminium crucible

Sample preparation : none

„DVS" means „Dynamic Vapour Sorption" :

Machine : Dynamic Vapour Sorption Analyzer IGA Sorp from the firm Hiden Analytical.

The operating temperature was 25°C. Sample preparation : none.

"Pred." or "predom." means "predominantly".

Overall CD : (subjective) judgement with regard to overall chemical developability.

Example 1 : dihydrochloride salt of formula (II)

To a suspension of the compound of formula I (3 g) in an acetone / water mixture (50 mL, 8:2 v/v) was added a concentrated aqueous hydrochloric acid solution (1,33 g, 36% HCl) resulting in no visible changes. The resulting mixture was stirred at 50 °C for 0,5 h, followed by 35 °C for 3 days, then room temperature for 2 h. The resulting solid material was isolated by filtration, washed with an acetone/ water mixture (8:2 v/v) and dried in a vacuum oven (40 °C, 100 mbar, 16 h) to give the desired material (3,2 g, 93% yield). Note: the solids had actable filtration characteristics.

characterization:

analytical method	*Results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	72,8 wt%, ~97,8% area%, sum of impurities ~2,2%	Quality significantly improved with regard to Batch A
IC, wt% salt former	10,3 wt%	~1:2-salt
TGA	13,8% up to 70°C	
DSC	broad peaks (60°, 120°C)	
XRPD	crystalline	differences prob. due to solvent integration
Microscopy	Microcrystalline, agglomerates	

XRPD results are consistent with the solids formed being crystalline.

IC results are consistent with formation of the dihydrochloride.

TGA results are consistent with the solids containing 13-14% solvent and/or water.

Analytical HPLC wt% DS is consistent with dihydrochloride solids containing 13-14% solvent and/or water. The HPLC area integration shows 2,2% impurity.

stability as solid:

The dihydrochloride of formula (II) (100 mg from Example 4) was stored at 90°C for 1 week, then analyzed by HPLC.

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	~ 65,6 wt%	
HPLC, area% DS	~ 98,2%; sum of impurities ~1,8%	Stable

aqueous solubility:

The dihydrochloride of formula (II) (500 mg from Example 4) was stirred at 25 °C for 20 h in water (5 mL). The resulting suspension was filtered over a membrane filter, the pH of the resulting solution was measured and the solubility was determined by HPLC. Solid material retained on the filter was analyzed by XRPD and TGA.

analytical method	*results*	*Comments*
solubility	> 8,8 mg/100 ml	
pH	~ 2,4	Saturated solution in water
XRPD (solid residue)	crystalline	Almost identical; slight widening of the crystal lattice (?)
TGA (solid residue)	13,9% up to 200°C; 2,4% above 200°C	

Additional solubility data:

The dihydrochloride of formula (II) was stirred in 20 mL of different solvents for 20h at 25°C. In all hydrous solvents approx. 2g of the dihydrochloride of formula (II) have been solved completely.

Solvent	Solubility
Acetone	0.3 mg/100ml practically insoluble
Acetonitrile	1.1 mg/100ml practically insoluble
Ethanol	24.8 mg/100ml very slightly soluble
PEG400	301 mg/100ml slightly soluble
0,1M HCl	≥ 8800 mg/100ml soluble
Buffer pH 4.5	≥ 8900 mg/100ml soluble
Buffer pH 7.0	≥ 8700 mg/100ml soluble
Water	≥ 9400 mg/100ml soluble

stability in solution:

Hydrolytic stability

The different aqueous solutions (0.05 % of free base of formula (I) ; after addition of 50 % 2-Propanol, [buffer solution filtered with 0.5µm membrane filter]) were stored at 25°C and 70°C for 24 h and one week.

Conditions	Appearance	Organic impurities, sum of all [Area %]	Organic impurities, single [Area %]
Water:			
Initial	slightly colored solution	2.79	0.25
24 h, 25°C	slightly colored solution	3.43	0.23
24h, 70°C	slightly colored solution	58.00	25.89
1 week, 25°C	slightly colored solution	5.33	0.54
1 week, 70°C	slightly colored solution	98.59	45.44
Buffer pH 7:			
Initial	slightly colored turbid solution	3.15	0.23
24 h, 25°C	slightly colored turbid solution	3.22	0.20
24 h, 70°C	slightly colored solution	56.06	23.25
1 week, 25°C	slightly colored turbid solution	4.85	0.82
1 week, 70°C	slightly colored solution	97.65	39.01
0,1M HCl :			
Initial	slightly colored solution	5.87	1.13
24 h, 25°C	slightly colored solution	8.75	1.90
24h, 70°C	slightly colored solution	92.49	22.82
1 week, 25°C	slightly colored solution	24.27	7.15
1 week, 70°C	slightly colored solution	100.00	25.48
0,1 M NaOH:			
Initial	slightly colored solution	30.72	6.51

24 h, 25°C	slightly colored solution	45.40	10.02
24h, 70°C	slightly colored solution	99.88	23.94
1week, 25°C	slightly colored solution	86.64	22.03
1week, 70°C	slightly colored solution	99.90	32.63

IR and Raman spectroscopy

Apparatus and measuring conditions

FT-IR / FT-Raman-Spectrometer	Bruker IFS 66v	/	Bruker RFS 100
Spectral resolution	2 cm^{-1}	/	2 cm^{-1}
Number of interferograms	32	/	64
Wave number range	4000 - 500 cm^{-1}	/	3500 - 100 cm^{-1}
Laser power	-	/	350mW
Sample preparation	KBr pellet	/	solid in test tube

Assignment of the characteristic bands

Table: Assignment of the characteristic active vibrations to the spectrum with ν ≡ stretching vibrations; δ ≡ bending vibrations; o.o.p. ≡ out of plane.“ ;

Assigned Structure	IR Band position [cm^{-1}]	Raman Band position [cm^{-1}]
ν N-H	3336	-
ν =C-H	3176	3090
ν C-H	2942	2990 - 2963
ν NH^+	2687 - 2474	-
ν Amide I	1669	1664
ν C=C, ν C=N, δ N-H, Amide II	1618 - 1477	1619 - 1476
ν C-O	1285	1291
δ =C-H o.o.p.	812	-

ν ≡ stretching vibrations; δ ≡ bending vibrations; o.o.p. ≡ out of plane

The IR spectrum is given in Figure 1.

The Raman spectrum is given in Figure 2.

UV/VIS spectroscopy

Apparatus and measuring conditions

UV/VIS spectrometer	Varian Cary 4
Cuvette	Quartz, 1 cm
Wave number range	200-800 nm
Sample preparation	4.67 mg / 500 mL water
Bands	309 nm

The UV/vis spectrum is given in Figure 3.

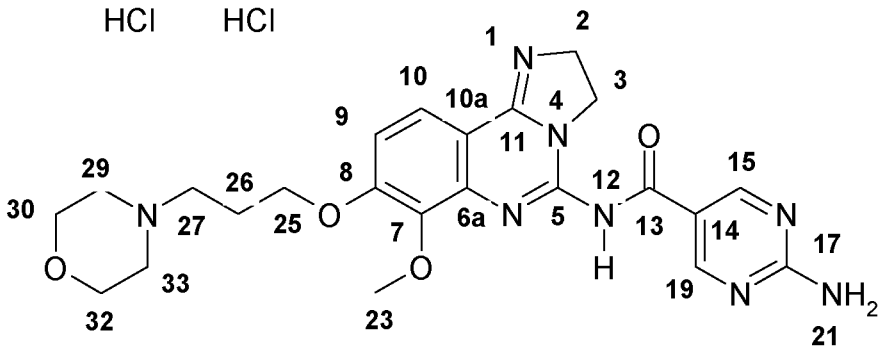
NMR spectroscopy

^{1}H-NMR-spectroscopy

Equipment and experimental parameters:

NMR spectrometer	Bruker, model Avance
Working frequency	500.13 MHz
Solvent	Dimethylsulfoxide (DMSO-d_6)
Internal reference compound	Tetramethylsilane (TMS)
Concentration	3.08 mg/mL solution
Diameter of sample tube	5 mm
Temperature	approx. 25°C
Technique	Fourier transform mode
Spectral width	20.65ppm
Digital resolution	0.079 Hz/Pt
Pulse length	4.5 µsec, 30° Pulse flip angle
Acquisition time	6.34sec
Relaxation time	0.5sec
No. of free induction decays	32

Structural Formula for the assignment of NMR signals



Chemical shift, signal multiplicity, relative number of nuclei :

H-atoms(a)	Chemical shift δ (ppm)	Multiplicity and coupling constants (b)	no. of nuclei H/molecule
H-26	2.32	M	2
H-29; H-33	3.11; 3.48	M; M	2; 2
H-30; H-32	3.83; 3.98	M; M	2; 2
H-27	3.29	M	2
$-OCH_3$	4.00	S	3
H-25	4.37	T	2
H-2; H-3	4.47; 4.19	T; T	2; 2
H-9	7.39	D	1
NH_2	7.54	S	2
H-10	8.21	D	1
H-16; H-20	8.97	S	1; 1
HCl	11.1; 12.6	bS; bS	1; 1
H-12	13.4	bS	1

a) Numbering refers to the structural formula for the assignment of NMR-signals.

b) S = Singlet bS = broad Singlet D = Doublet
T = Triplet M = Multiplet

The ^{1}H-NMR Spectrum of the dihydrochloride of formula (II) is given in Figure 4.

^{13}C-NMR-spectroscopy

Equipment and experimental parameters

NMR spectrometer	Bruker, model Avance
Working frequency	125.76 MHz
Solvent	Dimethylsulfoxide-d_6 (DMSO)
Internal reference compound	Tetramethylsilane (TMS)
Concentration	37.2 mg/mL solution
Diameter of sample tube	5 mm
Temperature	approx. 27°C
Technique	Fourier transform mode
Spectral width	240.95 ppm
Digital resolution	0.4624 Hz/Pt
Pulse length	11.0 µsec, 90° Pulse flip angle
Acquisition time	1.08 sec
Relaxation time	4 sec
No. of free induction decays	256

Chemical shift, signal multiplicity, rel. no. of nuclei :

C-atoms(a)	Chemical shift δ (ppm)	Multiplicity and coupling constants (b)	no. of nuclei C/molecule
C-26	22.73	T	1
C-2; C-3	44.96; 45.65	T; T	1; 1
C-29; C-33	50.84	T	1; 1
C-27	53.01	T	1
OCH_3	61.24	Q	1
C-30; C-32	63.03	T	1; 1
C-25	66.81	T	1
C-10a	100.79	S	1
C-9	112.17	D	1
C-15	118.16	S	1
C-10	123.86	D	1
C-6a	132.43	S	1
C-7	133.95	S	1
C-5	148.58	S	1
C-11	156.29	S	1
C-8	156.89	S	1
C-16; C-20	160.20	D	1; 1
C-18	164.61	S	1
C=O	175.65	S	1

a) Numbering refers to the structural formula for the assignment of NMR-signals.

b) S = Single (C) D = Doublet (CH) T = Triplet (CH_2) Q = Quadruplet (CH_3)

The ^{13}C-NMR Spectra of the dihydrochloride of formula (II) are given in Figures 5 and 6.

Mass Spectrometry

Instrumental Parameters

Mass spectrometer	Waters ZQ
Ionization mode	ESI (Electrospray-Ionization)
Solvent	CH_3CN/H_2O

Interpretation of the Spectrum

Mass value (*m/z*)	Rel. Intensity (%)	Ion Formation
481.2	46	$(M + H)^+$
354.1	5	$(C16\ H16\ N7\ O3)^+$
261.7	26	$(M + 2H + CH_3CN)^{+2}$
241.2	100	$(M + 2H)^{+2}$

The Mass Spectrum of the dihydrochloride of formula (II) is given in Figure 7. Refer to the spectrum for relative peak intensities.

Elemental Analysis

Elemental analysis was conducted by Bayer Industry Services, Leverkusen, Germany.

Results

Element	Measured [%]	Calculated [%]	Calculated including 7.0 % water [%]	Difference
C	47.5	49.9	46.4	1.1
H	5.7	5.5	5.9	0.2
N	19.1	20.3	18.8	0.3
O	18.1	11.6	17.0	1.1
Cl	11.9	12.8	11.9	0.0
Sum	102.3	100.1	100.0	-

The elemental analysis is consistent with a dihydrochloride salt of formula II with 7% water.

Example 2 : Further method of preparation of the dihydrochloride salt of formula (II)

To a suspension of 366 g of compound of formula (I) in 1015 g water, 183 g of an aqueous hydrochloric acid solution (32%) were added while maintaining the temperature at 20 °C (+-2°) until a pH of 3 to 4 was reached. The resulting mixture was stirred at room temperature for more than 10 min. filtered and the filtercake washed with additional 82 g of water. The filtrate was adjusted to pH 1.8 to 2.0 using aqueous hydrochloric acid solution (32%). The mixture was stirred for 10 min. at room temperature, 146g of ethanol (100%) were added and stirred for another 10 min.. 1 g of seed crystals were added, followed by 1592 g ethanol within 5 h. The resulting substance was removed by

filtration, washed with a water-ethanol mixture and dried in vacuo to give 410 g (97%) of the dihydrochloride of formula (II) of a purity >99% according to HPLC.

Comparative Example 1 : monohydrochloride of compound of formula (I)

To a suspension of the compound of formula (I) (0,5 g, 1.04 mmol) in an acetone / water mixture (9 mL, 8:2 v/v) was added a concentrated hydrochloric acid solution (89 μL, 1.07 mmol, 1.0 equiv, 36% HCl). A visible change in the mixture was observed, but a clear solution was not obtained. The mixture was heated with stirring at 50 °C for 0,5 h, followed by 35 °C for 3 days, then room temperature for 2 h.. The remaining suspended solids were removed by filtration, washed acetone/water, (8:2 v/v), and dried (40 °C, 100 mbar, 16 h) to give the desired product (0,5 g).

characterization:

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	~ 85,8 wt%, ~98,4% area%, sum of impurities ~1,6%	Quality significantly improved with regard to Batch A
IC, wt% salt former	6,0 wt%	~1:1-salt
TGA	6,3% till 200°C	
DSC	broad peak at 75°C	
XRPD	Predominantly amorphous	
Microscopy	n. t.	

Results indicate that a crystalline monohydrochloride was not formed. Though the purity of the base was improved by the experiment, no further studies were performed, as the material was predominantly amorphous.

Comparative Example 2 : Bis (hydrogen sulfate) salt of the compound of formula (I)

To a suspension of the compound of formula (I) (0,5 g, 0.103 mmol) in an acetone / water mixture (9 mL, 9:1 v/v) was added a concentrated sulfuric acid solution (213 mg, 96 % H_2SO_4, 2 equiv.). A visible change in the mixture was observed, but a clear solution was not obtained. The mixture was heated with stirring at 50 °C for 0,5 h, followed by 35 °C for 3 days, then room temperature for 2 h. The remaining suspended solids were isolated by filtration, washed (acetone/water, 9:1 v/v), and dried (40 °C, 100 mbar, 16 h) to give approximately 30 mg of the desired product.

Comparative Example 3 : citric acid salt of the compound of formula (I)

To a suspension of the compound of formula (I) (3,0 g, 6.24 mmol) in an ethanol / water mixture (50 mL, 1:2 v/v) was added citric acid (2,4 g, 10.2 mmol, 1.6 equiv). The mixture was heated with stirring to 35 °C, 25 ml water and 100 ml ethanol were added and stirring was continued at 35 °C for 2 h. The resulting clear solution was cooled to room temperature and stirring was continued for 3 days. The resulting solids were isolated by filtration, washed with 10 ml ethanol, and dried (40 °C, 100 mbar, 24 h) to give the desired product (3,8 g, 90% yield). Note: filtration of this material was very slow.

characterization:

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	64,1 wt%, 98,1 area%, sum of impurities 1,9%	
IC, wt% salt former	30,2 wt%	> 1:1-salt
TGA	3,8% wt% till 50 °C;	

	29,4% at 130 to 200°C	
DSC	Broad peaks	melts with decomposition
XRPD	Crystalline	significant amounts of free base detectable
Microscopy	Microcrystalline; agglomerates	

All results indicate that a uniform, real salt was not formed but rather a mixture of the a citric salt, free base and/or citric acid.

stability as solid:

The citric acid salt of compound of formula (I) (100 mg from Comparative Example 3) was stored at 90 °C for 1 week.

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	62,7 wt%	
HPLC, area% DS	96,3 %	Slightly unstable; Sum of impurities slightly higher (3,7% vs. 1,9%)

aqueous solubility:

The citric acid salt of the compound of formula (I) (500 mg from Comparative Example 3) was stirred at 25°C for 20 h in water (5 mL). The resulting suspension was filtered over a membrane filter, the pH of the solution was measured and solubility was determined by HPLC. The solid material retained on the filter was analyzed by XRPD and TGA.

analytical method	*results*	*Comments*
solubility	~ 8,5 mg/100ml	
pH	3,9	Saturated solution in water
XRPD (solid residue)	Broad signals	Significant change; less crystalline
TGA (solid residue)	4,4% at 30° to120°C; 27% at 120° to 250°C	

Comparative Example 4 : succinic acid salt of the compound of formula (I)

To a suspension of the compound of formula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) in an acetone / water mixture (50 mL, 8:2 v/v) was added succinic acid (1,48 g, 12,5 mmol, 2 equiv) to form a white suspension. The mixture was heated with stirring at 50 °C for 0,5 h, followed by 35 °C for 3 days, then room temperature for 2 h. The appearance of the mixture did not change significantly over this period. The resulting solids were removed by filtration, washed with few mls of an acetone / water mixture (8:2 v/v), and dried (40 °C, 100 mbar, 16 h) to give the desired product (3,4 g, 91%).

characterization:

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	75,6 wt%, ~97,6% area%, sum of impurities ~2,4%	
IC, wt% salt former	15,1 wt%	< 1:1-salt
TGA	3,2% up to 50°C; 17,6% @ 140 - 220°C	Similar to free base
DSC	Broad peaks	Similar to free base
XRPD	predom. crystalline	significant amounts of free base detectable
Microscopy	agglomerates	

The characterization suggests that a uniform, stochiometric salt was not formed but rather a mixture of a succinate and the free base.

stability as solid:

The succinic acid salt of the compound of formula (I) (100 mg from Comparative Example 4) was stored at 90°C for 1 week.

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	48,4 wt%	brownish solid after 1 w 90°C
HPLC, area% DS	~ 97,6% (sum of impurities ~2,4%)	not stable

aqueous solubility:

The succinic acid salt of the compound of formula (I) (500 mg from Comparative Example 4) was stirred in water (5 mL) at 25°C for 20 h. The resulting suspension was filtered over a membrane filter, the pH of the solution was measured, and the solubility was determined by HPLC. The solid material retained on the filter was analyzed by XRPD and TGA.

analytical method	*results*	*Comments*
solubility	~ 5,5 mg/100ml	
pH	4,7	Saturated solution in water
XRPD (solid residue)	Partly crystalline	Significant change; partly amorphous; free base detectable
TGA (solid residue)	5,5% at 30° to120°C; 15% at 120° to 240°C	

Comparative Example 5 : maleic acid salt of the compound of formula (I)

To a suspension of the compound of formula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) in an acetone / water mixture (50 mL, 8:2 v/v) was added maleic acid (1,45 g, 12,5 mmol, 2,0 equiv) to form an almost clear solution that became a suspension after 5 min. The mixture was heated with stirring at 50 °C for 0,5 h, followed by 35 °C for 3 days, then room temperature for 2 h.. The resulting solids were isolated by filtration, washed with an acetone / water mixture (8:2 v/v), and dried (40 °C, 100 mbar, 16 h) to give the desired product (4,0 g, 90%). Note: filtration of this material proceeded well.

characterization:

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	62,7 wt%, ~95,2% area%, sum of impurities ~4,8%	
IC, wt% salt former	30,7 wt%	~1:2-salt
TGA	5,8% till 50°C; 3,7% @ 80-150°C; 20,7% @ 160-210°C	
DSC	broad peaks	
XRPD	crystalline	differences prob. due to solvent integration; no free base detectable
Microscopy	crystals	

Results indicate that a crystalline dimaleate was formed. The purity of the base was not improved by the formation of the salt in this case.

stability as solid:

The maleic acid salt of the compound of formula (I) (100 mg from Comparative Example 5) was stored at 90°C for 1 week.

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	59,4 wt%	
HPLC, area% DS	~ 96,9% (sum of impurities ~3,1%)	Stable

aqueous solubility:

The maleic acid salt of the compound of formula (I) (500 mg from Comparative Example 5) was stirred in water (5 mL) at 25°C for 20 h. The resulting suspension was filtered over a membrane filter, the pH of the solution was measured, and the solubility was determined by HPLC. The solid material retained on the filter was analyzed by XRPD and TGA.

analytical method	*results*	*Comments*
solubility	> 8,1 mg/100ml	
pH	3,1	Saturated solution in water
XRPD (solid residue)	crystalline	Almost identical; slight widening of the crystal lattice (?)
TGA (solid residue)	8% at 30°-90°C; 2,5% at 100°-150°C; 14% above 150°C	

Comparative Example 6 : methanesulphonic acid salt of the compound of formula (I)

To a suspension of the compound of formula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) in an acetone / water mixture (50 mL, 9:1 v/v) was added methanesulphonic acid (1,2 g, 12,5 mmol, 2 equiv) to form a sticky material. The mixture was heated with stirring at 50 °C for 0,5 h, followed by 35 °C for 3 days. The appearance of the mixture did not change significantly over this period. Additional acetone (50 mL) was added to the mixture and stirring was continued at room

temperature for an additional 5 days, yielding a filterable suspension along with sticky material. The suspension was removed by filtration, washed with acetone and dried (40 °C, 100 mbar, 16 h) to give the desired product (3,5 g, 83,3 %).

characterization:

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	62,9 wt%, ~96,1% area%, sum of impurities ~3,9%	
IC, wt% salt former	26,4 wt%	~ 1:2-salt
TGA	6,3% @ 30-100°C; 22% @ 220°C (decomp.)	
DSC	Broad peaks	
XRPD	predom. crystalline	partly amorphous
Microscopy	Microcryst., agglomerates	

All results indicate that a crystalline dimesylate salt can be formed. Obviously, optimal crystallization conditions have not been found and/or the dimesylate is very sensitive to its formation conditions as the material was amorphous in part. The polymorphic form produced so far seems to be able to take up solvents/water.

stability as solid:

The methanesulphonic acid salt of the compound of formula (I) (100 mg from Comparative Example 6) was stored at 90°C for 1 week.

analytical method	*results*	*Comments*
HPLC, wt% DS	59,5 wt%	
HPLC, area% DS	~ 96,7% (sum of	Stable

	impurities ~3,3%)	

aqueous solubility:

The methanesulphonic acid salt of the compound of formula (I) (500 mg from Comparitive Example 6) was stirred at 25°C for 20 h in water (5 mL). The sample was almost completely dissolved, The resulting mixture was filtered over a membrane filter, the pH of the solution was measured, and the solubility was determined by HPLC. However, not enough solid material was left after filtration for further analysis.

analytical method	*results*	*Comments*
solubility	> 8,3 mg/100 ml	
pH	~ 2,3	Saturated solution in water
XRPD (solid residue)	n. t.	
TGA (solid residue)	n. t.	

CONCLUSIONS

From a physicochemical point of view, the dihydrochloride salt of formula (II) (Example 4) of the present invention provides surprising technical results as seen in the Examples and Comparative Examples, *supra*, as summarised in Table 5, *infra* :

Table 5

Property	*Citric acid (Comp. Ex. 3)*	*Succinic acid (Comp. Ex. 4)*	*Maleic acid (Comp. Ex. 5)*	*Mesulfonic acid (Comp. Ex. 6)*	*Hydrochloric acid (Ex. 1)*	*Compound of formula (I) (free base)*	*Criteria*
stoichiometry	~ 1 : 1	~ 1 : 1	~ 1 : 2	~ 1 : 2	1 : 2		Based on HPLC/IC
chem. process	o	—	o	—	o	—	yield, final processing
purity	+	+	o	o	+	o	area% HPLC
salt stability	o	—	+	n.d.	+ +	n.a.	disintegration with/in water
crystallinity	o	—	+	o	+ +	o	XRPD
hydrates					~ 4 H_2O		1 w @ 95% r.h.; aqu. solub.
aqu. solubility	~ 8,5.	~ 5,5	> 8,1	> 8,3	> 8,8	—	16h @ 25 °C (mg/100ml)
therm. stab. solution	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	o	24h @ 70°C; 1 w @ 25°C
therm. stab. solid	+	— —	+	+	+	+ +	1 w @ 90°C
Overall CD	o	— —	o	— —	+	o	

_ _ very disadvantageous

_ disadvantageous

O : indifferent

+ : advantageous

++ : very advantageous

n.a.: not applicable

n.f.: not found

n.d.: not determined; no clear solution after filtration, probably due to formation of micelles.

First, as seen from Comparative Example 1, unexpectedly, results indicate that a crystalline monohydrochloride of the compound of formula (I) was not formed : it was predominantly amorphous. In contrast, as seen from Example 1, the dihydrochloride salt of formula (II) can form a crystalline, stable dihydrochloride salt. The crystalline dihydrochloride salt is stable against reversion in water to the free base.

Further, the dihydrochloride salt of the present invention has a superior stability in water compared to the other salts mentioned. This means that the salt does not revert in water to the free base under the conditions tested, i.e. precipitation of the free base does not occur.

Crystallinity of the dihydrochloride salt of the present invention was superior vs. the monohydrochloride salt (which was found predominantly amorphous in XRPD).

Secondly, as seen from Comparative Example 5, (characterisation table), from the XRPD results, the comments are that there are differences in the maleate salt of the compound of formula (I) of Comparative Example 5 : as is mentioned, these differences are probably due to solvent integration. Further, it can be seen from Comparative Example 5 that the purity of the base was **not** improved by the formation of the maleate salt. In contrast, as seen in Example

1 (the dihydrochloride salt of the present invention), it can be seen that the purity of the free base was improved by the formation of the dihydrochloride salt.

Further, the quality of the drug substance is improved upon dihydrochloride salt formation.

Moreover, an additional technically advantageous property of the dihydrochloride salt (II) of the present invention is that the crystalline salt form ideally would furthermore help to improve the purification process and the final processing : it is stable as a solid and in solution, and fits into the galenic strategy (*e.g.* the salt of the present invention dissolves more rapidly than the compound of formula (I) (the free base), which represents a clear technical advantage.

Overall therefore, as seen from Table 5, *vide supra*, the dihydrochloride is surprisingly advantageous in terms of purity, salt stability, crystallinity, and aqueous solubility.

Moreover, very importantly, as seen in the PI3Kα and PI3Kβ biochemical assays : both the free base and the dihydrochloride salt showed similar activities in both PI3Kα and PI3Kβ biochemical assays. Slightly better potency with the dihydrochloride salt form might be due to improved solubility. This is clearly very advantageous.

Pharmaceutical formulations of the salt of the present invention

As mentioned above, the salt of the present invention may be in the form of a pharmaceutical formulation which is ready for use to be administered simultaneously, concurrently, separately or sequentially. The components may

be administered independnently of one another by the oral, intravenous, topical, local installations, intraperitoneal or nasal route.

Said compositions can be utilized to achieve the desired pharmacological effect by administration to a patient in need thereof. A patient, for the purpose of this invention, is a mammal, including a human, in need of treatment for the particular condition or disease. Therefore, the present invention includes the salt of the present invention which is in the form of a pharmaceutical formulation composition that is comprised of a pharmaceutically acceptable carrier and a pharmaceutically effective amount of a said salt. A pharmaceutically acceptable carrier is preferably a carrier that is relatively non-toxic and innocuous to a patient at concentrations consistent with effective activity of the active ingredient so that any side effects ascribable to the carrier do not vitiate the beneficial effects of component, and/or combination. A pharmaceutically effective amount of a combination is preferably that amount which produces a result or exerts an influence on the particular condition being treated. The salts of the present invention can be administered with pharmaceutically-acceptable carriers well known in the art using any effective conventional dosage unit forms, including immediate, slow and timed release preparations, orally, parenterally, topically, nasally, ophthalmically, optically, sublingually, rectally, vaginally, and the like.

For oral administration, the salts can be formulated into solid or liquid preparations such as capsules, pills, tablets, troches, lozenges, melts, powders, solutions, suspensions, or emulsions, and may be prepared according to methods known to the art for the manufacture of pharmaceutical compositions. The solid unit dosage forms can be a capsule that can be of the ordinary hard- or soft-shelled gelatin type containing, for example, surfactants, lubricants, and inert fillers such as lactose, sucrose, calcium phosphate, and corn starch.

In another embodiment, the salt of this invention may be tableted with conventional tablet bases such as lactose, sucrose and cornstarch in combination with binders such as acacia, corn starch or gelatin, disintegrating agents intended to assist the break-up and dissolution of the tablet following administration such as potato starch, alginic acid, corn starch, and guar gum, gum tragacanth, acacia, lubricants intended to improve the flow of tablet granulation and to prevent the adhesion of tablet material to the surfaces of the tablet dies and punches, for example talc, stearic acid, or magnesium, calcium or zinc stearate, dyes, coloring agents, and flavoring agents such as peppermint, oil of wintergreen, or cherry flavoring, intended to enhance the aesthetic qualities of the tablets and make them more acceptable to the patient. Suitable excipients for use in oral liquid dosage forms include dicalcium phosphate and diluents such as water and alcohols, for example, ethanol, benzyl alcohol, and polyethylene alcohols, either with or without the addition of a pharmaceutically acceptable surfactant, suspending agent or emulsifying agent. Various other materials may be present as coatings or to otherwise modify the physical form of the dosage unit. For instance tablets, pills or capsules may be coated with shellac, sugar or both.

Dispersible powders and granules are suitable for the preparation of an aqueous suspension. They provide the active ingredient in admixture with a dispersing or wetting agent, a suspending agent and one or more preservatives. Suitable dispersing or wetting agents and suspending agents are exemplified by those already mentioned above. Additional excipients, for example those sweetening, flavoring and coloring agents described above, may also be present.

The pharmaceutical compositions of this invention may also be in the form of oil-in-water emulsions. The oily phase may be a vegetable oil such as liquid paraffin or a mixture of vegetable oils. Suitable emulsifying agents may be (1)

naturally occurring gums such as gum acacia and gum tragacanth, (2) naturally occurring phosphatides such as soy bean and lecithin, (3) esters or partial esters derived form fatty acids and hexitol anhydrides, for example, sorbitan monooleate, (4) condensation products of said partial esters with ethylene oxide, for example, polyoxyethylene sorbitan monooleate. The emulsions may also contain sweetening and flavoring agents.

Oily suspensions may be formulated by suspending the active ingredient in a vegetable oil such as, for example, arachis oil, olive oil, sesame oil or coconut oil, or in a mineral oil such as liquid paraffin. The oily suspensions may contain a thickening agent such as, for example, beeswax, hard paraffin, or cetyl alcohol. The suspensions may also contain one or more preservatives, for example, ethyl or n-propyl p-hydroxybenzoate; one or more coloring agents; one or more flavoring agents; and one or more sweetening agents such as sucrose or saccharin.

Syrups and elixirs may be formulated with sweetening agents such as, for example, glycerol, propylene glycol, sorbitol or sucrose. Such formulations may also contain a demulcent, and preservative, such as methyl and propyl parabens and flavoring and coloring agents.

The salt of this invention may also be administered parenterally, that is, subcutaneously, intravenously, intraocularly, intrasynovially, intramuscularly, or interperitoneally, as injectable dosages of the compound in preferably a physiologically acceptable diluent with a pharmaceutical carrier which can be a sterile liquid or mixture of liquids such as water, saline, aqueous dextrose and related sugar solutions, an alcohol such as ethanol, isopropanol, or hexadecyl alcohol, glycols such as propylene glycol or polyethylene glycol, glycerol ketals such as 2,2-dimethyl-1,1-dioxolane-4-methanol, ethers such as poly(ethylene glycol) 400, an oil, a fatty acid, a fatty acid ester or, a fatty acid glyceride, or an acetylated fatty acid glyceride, with or without the addition of

a pharmaceutically acceptable surfactant such as a soap or a detergent, suspending agent such as pectin, carbomers, methycellulose, hydroxypropylmethylcellulose, or carboxymethylcellulose, or emulsifying agent and other pharmaceutical adjuvants.

Illustrative of oils which can be used in the parenteral formulations of this invention are those of petroleum, animal, vegetable, or synthetic origin, for example, peanut oil, soybean oil, sesame oil, cottonseed oil, corn oil, olive oil, petrolatum and mineral oil. Suitable fatty acids include oleic acid, stearic acid, isostearic acid and myristic acid. Suitable fatty acid esters are, for example, ethyl oleate and isopropyl myristate. Suitable soaps include fatty acid alkali metal, ammonium, and triethanolamine salts and suitable detergents include cationic detergents, for example dimethyl dialkyl ammonium halides, alkyl pyridinium halides, and alkylamine acetates; anionic detergents, for example, alkyl, aryl, and olefin sulfonates, alkyl, olefin, ether, and monoglyceride sulfates, and sulfosuccinates; non-ionic detergents, for example, fatty amine oxides, fatty acid alkanolamides, and poly(oxyethylene-oxypropylene)s or ethylene oxide or propylene oxide copolymers; and amphoteric detergents, for example, alkyl-beta-aminopropionates, and 2-alkylimidazoline quarternary ammonium salts, as well as mixtures.

The parenteral compositions of this invention will typically contain from about 0.5% to about 25% by weight of the active ingredient in solution. Preservatives and buffers may also be used advantageously. In order to minimize or eliminate irritation at the site of injection, such compositions may contain a non-ionic surfactant having a hydrophile-lipophile balance (HLB) preferably of from about 12 to about 17. The quantity of surfactant in such formulation preferably ranges from about 5% to about 15% by weight. The surfactant can be a single component having the above HLB or can be a mixture of two or more components having the desired HLB.

Illustrative of surfactants used in parenteral formulations are the class of polyethylene sorbitan fatty acid esters, for example, sorbitan monooleate and the high molecular weight adducts of ethylene oxide with a hydrophobic base, formed by the condensation of propylene oxide with propylene glycol.

The pharmaceutical compositions may be in the form of sterile injectable aqueous suspensions. Such suspensions may be formulated according to known methods using suitable dispersing or wetting agents and suspending agents such as, for example, sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydroxypropylmethyl-cellulose, sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, gum tragacanth and gum acacia; dispersing or wetting agents which may be a naturally occurring phosphatide such as lecithin, a condensation product of an alkylene oxide with a fatty acid, for example, polyoxyethylene stearate, a condensation product of ethylene oxide with a long chain aliphatic alcohol, for example, heptadeca-ethyleneoxycetanol, a condensation product of ethylene oxide with a partial ester derived form a fatty acid and a hexitol such as polyoxyethylene sorbitol monooleate, or a condensation product of an ethylene oxide with a partial ester derived from a fatty acid and a hexitol anhydride, for example polyoxyethylene sorbitan monooleate.

The sterile injectable preparation may also be a sterile injectable solution or suspension in a non-toxic parenterally acceptable diluent or solvent. Diluents and solvents that may be employed are, for example, water, Ringer's solution, isotonic sodium chloride solutions and isotonic glucose solutions. In addition, sterile fixed oils are conventionally employed as solvents or suspending media. For this purpose, any bland, fixed oil may be employed including synthetic mono- or diglycerides. In addition, fatty acids such as oleic acid can be used in the preparation of injectables.

A composition of the invention may also be administered in the form of suppositories for rectal administration of the drug. These compositions can be

prepared by mixing the drug with a suitable non-irritation excipient which is solid at ordinary temperatures but liquid at the rectal temperature and will therefore melt in the rectum to release the drug. Such materials are, for example, cocoa butter and polyethylene glycol.

Another formulation employed in the methods of the present invention employs transdermal delivery devices ("patches"). Such transdermal patches may be used to provide continuous or discontinuous infusion of the compounds of the present invention in controlled amounts. The construction and use of transdermal patches for the delivery of pharmaceutical agents is well known in the art (see, e.g., US Patent No. 5,023,252, issued June 11, 1991, incorporated herein by reference). Such patches may be constructed for continuous, pulsatile, or on demand delivery of pharmaceutical agents.

Controlled release formulations for parenteral administration include liposomal, polymeric microsphere and polymeric gel formulations that are known in the art.

It may be desirable or necessary to introduce the pharmaceutical composition to the patient via a mechanical delivery device. The construction and use of mechanical delivery devices for the delivery of pharmaceutical agents is well known in the art. Direct techniques for, for example, administering a drug directly to the brain usually involve placement of a drug delivery catheter into the patient's ventricular system to bypass the blood-brain barrier. One such implantable delivery system, used for the transport of agents to specific anatomical regions of the body, is described in US Patent No. 5,011,472, issued April 30, 1991.

The compositions of the invention can also contain other conventional pharmaceutically acceptable compounding ingredients, generally referred to as carriers or diluents, as necessary or desired. Conventional procedures for

preparing such compositions in appropriate dosage forms can be utilized. Such ingredients and procedures include those described in the following references, each of which is incorporated herein by reference: Powell, M.F. *et al*, "Compendium of Excipients for Parenteral Formulations" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1998, 52(5), 238-311; Strickley, R.G "Parenteral Formulations of Small Molecule Therapeutics Marketed in the United States (1999)-Part-1" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1999, 53(6), 324-349; and Nema, S. *et al*, "Excipients and Their Use in Injectable Products" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1997, 51(4), 166-171.

Commonly used pharmaceutical ingredients that can be used as appropriate to formulate the composition for its intended route of administration include:

acidifying agents (examples include but are not limited to acetic acid, citric acid, fumaric acid, hydrochloric acid, nitric acid);

alkalinizing agents (examples include but are not limited to ammonia solution, ammonium carbonate, diethanolamine, monoethanolamine, potassium hydroxide, sodium borate, sodium carbonate, sodium hydroxide, triethanolamine, trolamine);

adsorbents (examples include but are not limited to powdered cellulose and activated charcoal);

aerosol propellants (examples include but are not limited to carbon dioxide, CCl_2F_2, $F_2ClC\text{-}CClF_2$ and $CClF_3$)

air displacement agents (examples include but are not limited to nitrogen and argon);

antifungal preservatives (examples include but are not limited to benzoic acid, butylparaben, ethylparaben, methylparaben, propylparaben, sodium benzoate);

antimicrobial preservatives (examples include but are not limited to benzalkonium chloride, benzethonium chloride, benzyl alcohol, cetylpyridinium chloride, chlorobutanol, phenol, phenylethyl alcohol, phenylmercuric nitrate and thimerosal);

antioxidants (examples include but are not limited to ascorbic acid, ascorbyl palmitate, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, hypophosphorus acid, monothioglycerol, propyl gallate, sodium ascorbate, sodium bisulfite, sodium formaldehyde sulfoxylate, sodium metabisulfite);

binding materials (examples include but are not limited to block polymers, natural and synthetic rubber, polyacrylates, polyurethanes, silicones, polysiloxanes and styrene-butadiene copolymers);

buffering agents (examples include but are not limited to potassium metaphosphate, dipotassium phosphate, sodium acetate, sodium citrate anhydrous and sodium citrate dihydrate)

carrying agents (examples include but are not limited to acacia syrup, aromatic syrup, aromatic elixir, cherry syrup, cocoa syrup, orange syrup, syrup, corn oil, mineral oil, peanut oil, sesame oil, bacteriostatic sodium chloride injection and bacteriostatic water for injection)

chelating agents (examples include but are not limited to edetate disodium and edetic acid)

colorants (examples include but are not limited to FD&C Red No. 3, FD&C Red No. 20, FD&C Yellow No. 6, FD&C Blue No. 2, D&C Green No. 5, D&C Orange No. 5, D&C Red No. 8, caramel and ferric oxide red);

clarifying agents (examples include but are not limited to bentonite);

emulsifying agents (examples include but are not limited to acacia, cetomacrogol, cetyl alcohol, glyceryl monostearate, lecithin, sorbitan monooleate, polyoxyethylene 50 monostearate);

encapsulating agents (examples include but are not limited to gelatin and cellulose acetate phthalate)

flavorants (examples include but are not limited to anise oil, cinnamon oil, cocoa, menthol, orange oil, peppermint oil and vanillin);

humectants (examples include but are not limited to glycerol, propylene glycol and sorbitol);

levigating agents (examples include but are not limited to mineral oil and glycerin);

oils (examples include but are not limited to arachis oil, mineral oil, olive oil, peanut oil, sesame oil and vegetable oil);

ointment bases (examples include but are not limited to lanolin, hydrophilic ointment, polyethylene glycol ointment, petrolatum, hydrophilic petrolatum, white ointment, yellow ointment, and rose water ointment);

penetration enhancers (transdermal delivery) (examples include but are not limited to monohydroxy or polyhydroxy alcohols, mono-or polyvalent alcohols, saturated or unsaturated fatty alcohols, saturated or unsaturated fatty esters, saturated or unsaturated dicarboxylic acids, essential oils, phosphatidyl derivatives, cephalin, terpenes, amides, ethers, ketones and ureas)

plasticizers (examples include but are not limited to diethyl phthalate and glycerol);

solvents (examples include but are not limited to ethanol, corn oil, cottonseed oil, glycerol, isopropanol, mineral oil, oleic acid, peanut oil, purified water, water for injection, sterile water for injection and sterile water for irrigation);

stiffening agents (examples include but are not limited to cetyl alcohol, cetyl esters wax, microcrystalline wax, paraffin, stearyl alcohol, white wax and yellow wax);

suppository bases (examples include but are not limited to cocoa butter and polyethylene glycols (mixtures));

surfactants (examples include but are not limited to benzalkonium chloride, nonoxynol 10, oxtoxynol 9, polysorbate 80, sodium lauryl sulfate and sorbitan mono-palmitate);

suspending agents (examples include but are not limited to agar, bentonite, carbomers, carboxymethylcellulose sodium, hydroxyethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, kaolin, methylcellulose, tragacanth and veegum);

sweetening agents (examples include but are not limited to aspartame, dextrose, glycerol, mannitol, propylene glycol, saccharin sodium, sorbitol and sucrose);

tablet anti-adherents (examples include but are not limited to magnesium stearate and talc);

tablet binders (examples include but are not limited to acacia, alginic acid, carboxymethylcellulose sodium, compressible sugar, ethylcellulose, gelatin, liquid glucose, methylcellulose, non-crosslinked polyvinyl pyrrolidone, and pregelatinized starch);

tablet and capsule diluents (examples include but are not limited to dibasic calcium phosphate, kaolin, lactose, mannitol, microcrystalline cellulose, powdered cellulose, precipitated calcium carbonate, sodium carbonate, sodium phosphate, sorbitol and starch);

tablet coating agents (examples include but are not limited to liquid glucose, hydroxyethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, methylcellulose, ethylcellulose, cellulose acetate phthalate and shellac);

tablet direct compression excipients (examples include but are not limited to dibasic calcium phosphate);

tablet disintegrants (examples include but are not limited to alginic acid, carboxymethylcellulose calcium, microcrystalline cellulose, polacrillin potassium, cross-linked polyvinylpyrrolidone, sodium alginate, sodium starch glycollate and starch);

tablet glidants (examples include but are not limited to colloidal silica, corn starch and talc);

tablet lubricants (examples include but are not limited to calcium stearate, magnesium stearate, mineral oil, stearic acid and zinc stearate);

tablet/capsule opaquants (examples include but are not limited to titanium dioxide);

tablet polishing agents (examples include but are not limited to carnuba wax and white wax);

thickening agents (examples include but are not limited to beeswax, cetyl alcohol and paraffin);

tonicity agents (examples include but are not limited to dextrose and sodium chloride);

viscosity increasing agents (examples include but are not limited to alginic acid, bentonite, carbomers, carboxymethylcellulose sodium, methylcellulose, polyvinyl pyrrolidone, sodium alginate and tragacanth); and

wetting agents (examples include but are not limited to heptadecaethylene oxycetanol, lecithins, sorbitol monooleate, polyoxyethylene sorbitol monooleate, and polyoxyethylene stearate).

Pharmaceutical compositions according to the present invention can be illustrated as follows:

Sterile IV Solution: A 5 mg/mL solution of the desired compound of this invention can be made using sterile, injectable water, and the pH is adjusted if necessary. The solution is diluted for administration to 1 - 2 mg/mL with sterile 5% dextrose and is administered as an IV infusion over about 60 minutes.

Lyophilized powder for IV administration: A sterile preparation can be prepared with (i) 100 - 1000 mg of the desired compound of this invention as a lypholized powder, (ii) 32- 327 mg/mL sodium citrate, and (iii) 300 - 3000 mg Dextran 40. The formulation is reconstituted with sterile, injectable saline or dextrose 5% to a concentration of 10 to 20 mg/mL, which is further diluted with saline or dextrose 5% to 0.2 - 0.4 mg/mL, and is administered either IV bolus or by IV infusion over 15 - 60 minutes.

Intramuscular suspension: The following solution or suspension can be prepared, for intramuscular injection:

50 mg/mL of the desired, water-insoluble compound of this invention

5 mg/mL sodium carboxymethylcellulose

4 mg/mL TWEEN 80

9 mg/mL sodium chloride

9 mg/mL benzyl alcohol

Hard Shell Capsules: A large number of unit capsules are prepared by filling standard two-piece hard galantine capsules each with 100 mg of powdered active ingredient, 150 mg of lactose, 50 mg of cellulose and 6 mg of magnesium stearate.

Soft Gelatin Capsules: A mixture of active ingredient in a digestible oil such as soybean oil, cottonseed oil or olive oil is prepared and injected by means of a positive displacement pump into molten gelatin to form soft gelatin capsules containing 100 mg of the active ingredient. The capsules are washed and

dried. The active ingredient can be dissolved in a mixture of polyethylene glycol, glycerin and sorbitol to prepare a water miscible medicine mix.

Tablets: A large number of tablets are prepared by conventional procedures so that the dosage unit is 100 mg of active ingredient, 0.2 mg. of colloidal silicon dioxide, 5 mg of magnesium stearate, 275 mg of microcrystalline cellulose, 11 mg. of starch, and 98.8 mg of lactose. Appropriate aqueous and non-aqueous coatings may be applied to increase palatability, improve elegance and stability or delay absorption.

Immediate Release Tablets/Capsules: These are solid oral dosage forms made by conventional and novel processes. These units are taken orally without water for immediate dissolution and delivery of the medication. The active ingredient is mixed in a liquid containing ingredient such as sugar, gelatin, pectin and sweeteners. These liquids are solidified into solid tablets or caplets by freeze drying and solid state extraction techniques. The drug compounds may be compressed with viscoelastic and thermoelastic sugars and polymers or effervescent components to produce porous matrices intended for immediate release, without the need of water.

Method of treating cancer

Within the context of the present invention, the term "cancer" includes, but is not limited to, cancers of the breast, lung, brain, reproductive organs, digestive tract, urinary tract, liver, eye, skin, head and neck, thyroid, parathyroid and their distant metastases. Those disorders also include multiple myeloma, lymphomas, sarcomas, and leukemias.

Examples of breast cancer include, but are not limited to invasive ductal carcinoma, invasive lobular carcinoma, ductal carcinoma in situ, and lobular carcinoma in situ.

Examples of cancers of the respiratory tract include, but are not limited to small-cell and non-small-cell lung carcinoma, as well as bronchial adenoma and pleuropulmonary blastoma.

Examples of brain cancers include, but are not limited to brain stem and hypophtalmic glioma, cerebellar and cerebral astrocytoma, medulloblastoma, ependymoma, as well as neuroectodermal and pineal tumor.

Tumors of the male reproductive organs include, but are not limited to prostate and testicular cancer. Tumors of the female reproductive organs include, but are not limited to endometrial, cervical, ovarian, vaginal, and vulvar cancer, as well as sarcoma of the uterus.

Tumors of the digestive tract include, but are not limited to anal, colon, colorectal, esophageal, gallbladder, gastric, pancreatic, rectal, small-intestine, and salivary gland cancers.

Tumors of the urinary tract include, but are not limited to bladder, penile, kidney, renal pelvis, ureter, urethral and human papillary renal cancers.

Eye cancers include, but are not limited to intraocular melanoma and retinoblastoma.

Examples of liver cancers include, but are not limited to hepatocellular carcinoma (liver cell carcinomas with or without fibrolamellar variant), cholangiocarcinoma (intrahepatic bile duct carcinoma), and mixed hepatocellular cholangiocarcinoma.

Skin cancers include, but are not limited to squamous cell carcinoma, Kaposi's sarcoma, malignant melanoma, Merkel cell skin cancer, and non-melanoma skin cancer.

Head-and-neck cancers include, but are not limited to laryngeal, hypopharyngeal, nasopharyngeal, oropharyngeal cancer, lip and oral cavity cancer and squamous cell.

Lymphomas include, but are not limited to AIDS-related lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, cutaneous T-cell lymphoma, Burkitt lymphoma, Hodgkin's disease, and lymphoma of the central nervous system.

Sarcomas include, but are not limited to sarcoma of the soft tissue, osteosarcoma, malignant fibrous histiocytoma, lymphosarcoma, and rhabdomyosarcoma.

Leukemias include, but are not limited to acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, chronic myelogenous leukemia, and hairy cell leukemia.

The present invention relates to a method for using the salt of the present invention, to treat cancer, as described *infra*, particularly mammalian NSCLC, CRC, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte or breast cancer. The salt of the present invention can be utilized to inhibit, block, reduce, decrease, etc., cell proliferation and/or cell division, and/or produce apoptosis, in the treatment or prophylaxis of cancer, in particular NSCLC, CRC, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer. This method comprises administering to a mammal in need thereof, including a human, an amount of a combination of this invention, or a pharmaceutically acceptable salt, isomer, polymorph, metabolite, hydrate, solvate or ester thereof; etc.

which is effective for the treatment or prophylaxis of cancer, in particular NSCLC, CRC, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer.

The term “treating” or “treatment” as stated throughout this document is used conventionally, e.g., the management or care of a subject for the purpose of combating, alleviating, reducing, relieving, improving the condition of, etc., of a disease or disorder, such as a carcinoma.

Dose and administration

Based upon standard laboratory techniques known to evaluate compounds useful for the treatment or prophylaxis of cancer, in particular NSCLC, CRC, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer, by standard toxicity tests and by standard pharmacological assays for the determination of treatment of the conditions identified above in mammals, and by comparison of these results with the results of known medicaments that are used to treat these conditions, the effective dosage of the salt of this invention can readily be determined for treatment of the indication. The amount of the active ingredient to be administered in the treatment of the condition can vary widely according to many considerations, including, but not limited to the particular combination and dosage unit employed, the mode of administration, the period of treatment, the age and sex of the patient treated, and the nature and extent of the condition treated.

The total amount of the active ingredient to be administered will generally range from about 0.001 mg/kg to about 200 mg/kg body weight per day, and preferably from about 0.01 mg/kg to about 20 mg/kg body weight per day. Clinically useful dosing schedules will range from one to three times a day dosing to once every four weeks dosing. In addition, "drug holidays" in which a patient is not dosed with a drug for a certain period of time, may be beneficial

to the overall balance between pharmacological effect and tolerability. A unit dosage may contain from about 0.5 mg to about 1,500 mg of active ingredient, and can be administered one or more times per day or less than once a day. The average daily dosage for administration by injection, including intravenous, intramuscular, subcutaneous and parenteral injections, and use of infusion techniques will preferably be from 0.01 to 200 mg/kg of total body weight. The average daily rectal dosage regimen will preferably be from 0.01 to 200 mg/kg of total body weight. The average daily vaginal dosage regimen will preferably be from 0.01 to 200 mg/kg of total body weight. The average daily topical dosage regimen will preferably be from 0.1 to 200 mg administered between one to four times daily. The transdermal concentration will preferably be that required to maintain a daily dose of from 0.01 to 200 mg/kg. The average daily inhalation dosage regimen will preferably be from 0.01 to 100 mg/kg of total body weight.

Tthe specific initial and continuing dosage regimen for each patient will vary according to the nature and severity of the condition as determined by the attending diagnostician, the activity of the specific combination employed, the age and general condition of the patient, time of administration, route of administration, rate of excretion of the drug, drug salts, and the like. The desired mode of treatment and number of doses of a combination of the present invention or a pharmaceutically acceptable salt or ester or composition thereof can be ascertained by those skilled in the art using conventional treatment tests.

Therapies using the salt of the present invention : one or more further pharmaceutical agents.

The salt of the present invention can be administered as the sole pharmaceutical agent or in combination with one or more further pharmaceutical agents where the resulting combination of the salt of the present invention and the further pharmaceutical agent causes no

unacceptable adverse effects. For example, the salt of the present invention can be combined with a component C, *i.e.* one or more further pharmaceutical agents, such as known anti-angiogenesis, anti-hyper-proliferative, antiinflammatory, analgesic, immunoregulatory, diuretic, antiarrhytmic, anti-hypercholsterolemia, anti-dyslipidemia, anti-diabetic or antiviral agents, and the like, as well as with admixtures and salts thereof.

Component C, can be one or more pharmaceutical agents such as aldesleukin, alendronic acid, alfaferone, alitretinoin, allopurinol, aloprim, aloxi, altretamine, aminoglutethimide, amifostine, amrubicin, amsacrine, anastrozole, anzmet, aranesp, arglabin, arsenic trioxide, aromasin, 5-azacytidine, azathioprine, BCG or tice BCG, bestatin, betamethasone acetate, betamethasone sodium phosphate, bexarotene, bleomycin sulfate, broxuridine, bortezomib, busulfan, calcitonin, campath, capecitabine, carboplatin, casodex, cefesone, celmoleukin, cerubidine, chlorambucil, cisplatin, cladribine, cladribine, clodronic acid, cyclophosphamide, cytarabine, dacarbazine, dactinomycin, DaunoXome, decadron, decadron phosphate, delestrogen, denileukin diftitox, depo-medrol, deslorelin, dexomethasone, dexrazoxane, diethylstilbestrol, diflucan, docetaxel, doxifluridine, doxorubicin, dronabinol, DW-166HC, eligard, elitek, ellence, emend, epirubicin, epoetin alfa, epogen, eptaplatin, ergamisol, estrace, estradiol, estramustine phosphate sodium, ethinyl estradiol, ethyol, etidronic acid, etopophos, etoposide, fadrozole, farston, filgrastim, finasteride, fligrastim, floxuridine, fluconazole, fludarabine, 5-fluorodeoxyuridine monophosphate, 5-fluorouracil (5-FU), fluoxymesterone, flutamide, formestane, fosteabine, fotemustine, fulvestrant, gammagard, gemcitabine, gemtuzumab, gleevec, gliadel, goserelin, granisetron HCl, histrelin, hycamtin, hydrocortone, eyrthro-hydroxynonyladenine, hydroxyurea, ibritumomab tiuxetan, idarubicin, ifosfamide, interferon alpha, interferon-alpha 2, interferon alfa-2A, interferon alfa-2B, interferon alfa-n1, interferon alfa-n3, interferon beta, interferon gamma-1a, interleukin-2, intron A, iressa, irinotecan, kytril, lentinan sulphate, letrozole, leucovorin, leuprolide, leuprolide acetate, lenalidomide, levamisole,

levofolinic acid calcium salt, levothroid, levoxyl, lomustine, lonidamine, marinol, mechlorethamine, mecobalamin, medroxyprogesterone acetate, megestrol acetate, melphalan, menest, 6-mercaptopurine, Mesna, methotrexate, metvix, miltefosine, minocycline, mitomycin C, mitotane, mitoxantrone, Modrenal, Myocet, nedaplatin, neulasta, neumega, neupogen, nilutamide, nolvadex, NSC-631570, OCT-43, octreotide, ondansetron HCl, orapred, oxaliplatin, paclitaxel (when component B is not itself paclitaxel), pediapred, pegaspargase, Pegasys, pentostatin, picibanil, pilocarpine HCl, pirarubicin, plicamycin, porfimer sodium, prednimustine, prednisolone, prednisone, premarin, procarbazine, procrit, raltitrexed, RDEA 119, rebif, rhenium-186 etidronate, rituximab, roferon-A, romurtide, salagen, sandostatin, sargramostim, semustine, sizofiran, sobuzoxane, solu-medrol, sparfosic acid, stem-cell therapy, streptozocin, strontium-89 chloride, synthroid, tamoxifen, tamsulosin, tasonermin, tastolactone, taxotere, teceleukin, temozolomide, teniposide, testosterone propionate, testred, thioguanine, thiotepa, thyrotropin, tiludronic acid, topotecan, toremifene, tositumomab, trastuzumab, treosulfan, tretinoin, trexall, trimethylmelamine, trimetrexate, triptorelin acetate, triptorelin pamoate, UFT, uridine, valrubicin, vesnarinone, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine, virulizin, zinecard, zinostatin stimalamer, zofran, ABI-007, acolbifene, actimmune, affinitak, aminopterin, arzoxifene, asoprisnil, atamestane, atrasentan, BAY 43-9006 (sorafenib), avastin, CCI-779, CDC-501, celebrex, cetuximab, crisnatol, cyproterone acetate, decitabine, DN-101, doxorubicin-MTC, dSLIM, dutasteride, edotecarin, eflornithine, exatecan, fenretinide, histamine dihydrochloride, histrelin hydrogel implant, holmium-166 DOTMP, ibandronic acid, interferon gamma, intron-PEG, ixabepilone, keyhole limpet hemocyanin, L-651582, lanreotide, lasofoxifene, libra, lonafarnib, miproxifene, minodronate, MS-209, liposomal MTP-PE, MX-6, nafarelin, nemorubicin, neovastat, nolatrexed, oblimersen, onco-TCS, osidem, paclitaxel polyglutamate, pamidronate disodium, PN-401, QS-21, quazepam, R-1549, raloxifene, ranpirnase, 13-cis -retinoic acid, satraplatin, seocalcitol, T-138067, tarceva, taxoprexin, thalidomide, thymosin alpha 1, tiazofurine, tipifarnib,

tirapazamine, TLK-286, toremifene, TransMID-107R, valspodar, vapreotide, vatalanib, verteporfin, vinflunine, Z-100, zoledronic acid or salts thereof.

In an embodiment of the present invention, component C can be one or more of the following : 131I-chTNT, abarelix, abiraterone, aclarubicin, aldesleukin, alemtuzumab, alitretinoin, altretamine, aminoglutethimide, amrubicin, amsacrine, anastrozole, arglabin, arsenic trioxide, asparaginase, azacitidine, basiliximab, BAY 80-6946, BAY 1000394, BAY 86-9766 (RDEA 119), belotecan, bendamustine, bevacizumab, bexarotene, bicalutamide, bisantrene, bleomycin, bortezomib, buserelin, busulfan, cabazitaxel, calcium folinate, calcium levofolinate, capecitabine, carboplatin, carmofur, carmustine, catumaxomab, celecoxib, celmoleukin, cetuximab, chlorambucil, chlormadinone, chlormethine, cisplatin, cladribine, clodronic acid, clofarabine, crisantaspase, cyclophosphamide, cyproterone, cytarabine, dacarbazine, dactinomycin, darbepoetin alfa, dasatinib, daunorubicin, decitabine, degarelix, denileukin diftitox, denosumab, deslorelin, dibrospidium chloride, docetaxel, doxifluridine, doxorubicin, doxorubicin + estrone, eculizumab, edrecolomab, elliptinium acetate, eltrombopag, endostatin, enocitabine, epirubicin, epitiostanol, epoetin alfa, epoetin beta, eptaplatin, eribulin, erlotinib, estradiol, estramustine, etoposide, everolimus, exemestane, fadrozole, filgrastim, fludarabine, fluorouracil, flutamide, formestane, fotemustine, fulvestrant, gallium nitrate, ganirelix, gefitinib, gemcitabine, gemtuzumab, glutoxim, goserelin, histamine dihydrochloride, histrelin, hydroxycarbamide, I-125 seeds, ibandronic acid, ibritumomab tiuxetan, idarubicin, ifosfamide, imatinib, imiquimod, improsulfan, interferon alfa, interferon beta, interferon gamma, ipilimumab, irinotecan, ixabepilone, lanreotide, lapatinib, lenalidomide, lenograstim, lentinan, letrozole, leuprorelin, levamisole, lisuride, lobaplatin, lomustine, lonidamine, masoprocol, medroxyprogesterone, megestrol, melphalan, mepitiostane, mercaptopurine, methotrexate, methoxsalen, Methyl aminolevulinate, methyltestosterone, mifamurtide, miltefosine, miriplatin, mitobronitol, mitoguazone, mitolactol, mitomycin, mitotane, mitoxantrone, nedaplatin,

nelarabine, nilotinib, nilutamide, nimotuzumab, nimustine, nitracrine, ofatumumab, omeprazole, oprelvekin, oxaliplatin, p53 gene therapy, paclitaxel, palifermin, palladium-103 seed, pamidronic acid, panitumumab, pazopanib, pegaspargase, PEG-epoetin beta (methoxy PEG-epoetin beta), pegfilgrastim, peginterferon alfa-2b, pemetrexed, pentazocine, pentostatin, peplomycin, perfosfamide, picibanil, pirarubicin, plerixafor, plicamycin, poliglusam, polyestradiol phosphate, polysaccharide-K, porfimer sodium, pralatrexate, prednimustine, procarbazine, quinagolide, raloxifene, raltitrexed, ranimustine, razoxane, regorafenib, risedronic acid, rituximab, romidepsin, romiplostim, sargramostim, sipuleucel-T, sizofiran, sobuzoxane, sodium glycididazole, sorafenib, streptozocin, sunitinib, talaporfin, tamibarotene, tamoxifen, tasonermin, teceleukin, tegafur, tegafur + gimeracil + oteracil, temoporfin, temozolomide, temsirolimus, teniposide, testosterone, tetrofosmin, thalidomide, thiotepa, thymalfasin, tioguanine, tocilizumab, topotecan, toremifene, tositumomab, trabectedin, trastuzumab, treosulfan, tretinoin, trilostane, triptorelin, trofosfamide, tryptophan, ubenimex, valrubicin, vandetanib, vapreotide, vemurafenib, vinblastine, vincristine, vindesine, vinflunine, vinorelbine, vorinostat, vorozole, yttrium-90 glass microspheres, zinostatin, zinostatin stimalamer, zoledronic acid, zorubicin.

Alternatively, said component C can be one or more further pharmaceutical agents selected from gemcitabine, paclitaxel (when component B is not itself paclitaxel), cisplatin, carboplatin, sodium butyrate, 5-FU, doxirubicin, tamoxifen, etoposide, trastumazab, gefitinib, intron A, rapamycin, 17-AAG, U0126, insulin, an insulin derivative, a PPAR ligand, a sulfonylurea drug, an α-glucosidase inhibitor, a biguanide, a PTP-1B inhibitor, a DPP-IV inhibitor, a 11-beta-HSD inhibitor, GLP-1, a GLP-1 derivative, GIP, a GIP derivative, PACAP, a PACAP derivative, secretin or a secretin derivative.

Alternatively, said component C can be one or more pharmaceutical agents selected from : a taxane, such as Docetaxel, Paclitaxel, or Taxol; an epothilone, such as Ixabepilone, Patupilone, or Sagopilone; Mitoxantrone; Predinisolone; Dexamethasone; Estramustin; Vinblastin; Vincristin;

Doxorubicin; Adriamycin; Idarubicin; Daunorubicin; Bleomycin; Etoposide; Cyclophosphamide; Ifosfamide; Procarbazine; Melphalan; 5-Fluorouracil; Capecitabine; Fludarabine; Cytarabine; Ara-C; 2-Chloro-2´-deoxyadenosine; Thioguanine; an anti-androgen, such as Flutamide, Cyproterone acetate, or Bicalutamide; Bortezomib; a platinum derivative, such as Cisplatin, or Carboplatin; Chlorambucil; Methotrexate; and Rituximab.

Optional anti-hyper-proliferative agents which can be added as component C to the combination of the salt of the present invention include but are not limited to compounds listed on the cancer chemotherapy drug regimens in the 11th Edition of the *Merck Index*, (1996), which is hereby incorporated by reference, such as asparaginase, bleomycin, carboplatin, carmustine, chlorambucil, cisplatin, colaspase, cyclophosphamide, cytarabine, dacarbazine, dactinomycin, daunorubicin, doxorubicin (adriamycine), epirubicin, etoposide, 5-fluorouracil, hexamethylmelamine, hydroxyurea, ifosfamide, irinotecan, leucovorin, lomustine, mechlorethamine, 6-mercaptopurine, mesna, methotrexate, mitomycin C, mitoxantrone, prednisolone, prednisone, procarbazine, raloxifen, streptozocin, tamoxifen, thioguanine, topotecan, vinblastine, vincristine, and vindesine.

Other anti-hyper-proliferative agents suitable for use as component C with the combination of the salt of the present invention include but are not limited to those compounds acknowledged to be used in the treatment of neoplastic diseases in *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* (Ninth Edition), editor Molinoff et al., publ. by McGraw-Hill, pages 1225-1287, (1996), which is hereby incorporated by reference, such as aminoglutethimide, L-asparaginase, azathioprine, 5-azacytidine cladribine, busulfan, diethylstilbestrol, 2',2'-difluorodeoxycytidine, docetaxel, erythrohydroxynonyl adenine, ethinyl estradiol, 5-fluorodeoxyuridine, 5-fluorodeoxyuridine mono-phosphate, fludarabine phosphate, fluoxymesterone, flutamide, hydroxyprogesterone caproate, idarubicin, interferon, medroxyprogesterone

acetate, megestrol acetate, melphalan, mitotane, paclitaxel (when component B is not itself paclitaxel), pentostatin, N-phosphonoacetyl-L-aspartate (PALA), plicamycin, semustine, teniposide, testosterone propionate, thiotepa, trimethylmelamine, uridine, and vinorelbine.

Other anti-hyper-proliferative agents suitable for use as component C with the combination of the salt of the present invention include but are not limited to other anti-cancer agents such as epothilone and its derivatives, irinotecan, raloxifen and topotecan.

Generally, the use of cytotoxic and/or cytostatic agents as component C in combination with the salt of the present invention will serve to:

(1) yield better efficacy in reducing the growth of a tumor or even eliminate the tumor as compared to administration of either agent alone,

(2) provide for the administration of lesser amounts of the administered chemotherapeutic agents,

(3) provide for a chemotherapeutic treatment that is well tolerated in the patient with fewer deleterious pharmacological complications than observed with single agent chemotherapies and certain other combined therapies,

(4) provide for treating a broader spectrum of different cancer types in mammals, especially humans,

(5) provide for a higher response rate among treated patients,

(6) provide for a longer survival time among treated patients compared to standard chemotherapy treatments,

(7) provide a longer time for tumor progression, and/or

(8) yield efficacy and tolerability results at least as good as those of the agents used alone, compared to known instances where other cancer agent salts produce antagonistic effects.

BIOLOGICAL SECTION

PI3Kα and PI3Kβ Radioactive Lipid Kinase Assay

The p110α biochemical assay is a radioactive assay measuring the incorporation of ^{33}P into the p110α substrate, phosphatidylinsoitol (PI). This assay is a modification of an assay developed at RCK (Fuchikami *et al.*, 2002). A His-tagged N-terminal truncated (ΔN 1-108) p110α and the same truncated p110β (ΔN 1-108) proteins lacking the p85-binding domain was expressed in Sf9 cells and purified to >50% purity. For the generation of IC_{50} curves, the reaction was performed in a 384-well format using MaxiSorp plates under the following conditions. Plates were coated with 2 µg/well of a 1:1 molar ratio of phosphatidylinositol (PI: Avanti #840042C) and phosphatidylserine (PS: Avanti #840032C) diluted in chloroform. The organic solvent was allowed to evaporate by storing plates in the fume hood overnight. Plates were then sealed with mylar plate sealers and stored up to a month at 4 °C until needed. 7.5 ng of truncated purified p110α protein was added to each well, containing 9 µL of reaction buffer (50 mM MOPSO pH7.0, 100 mM NaCl, 4 mM $MgCl_2$, 0.1%*(w/v)* BSA) except for negative control wells which received reaction buffer only. One microliter of each test compound in DMSO was transferred from stock dilutions to generate an eight-point dose response (0.0, 0.003, 0.01 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 and 10 µM final BAY compound concentration). Reactions were started by the addition of 5 µL of a 40 µM ATP solution containing 20 µCi/ml [γ-^{33}P]-ATP and were allowed to proceed for two hours at room temperature with gentle mixing. Reactions were terminated by the addition of 5µL of a 25 mM EDTA stock solution. Plates were washed with a 384-well plate washer in buffer without detergent and 25 µL of UltimaGold scintillation cocktail was added to each well. The radioactivity incorporated into the immobilized PI substrate was determined with a BetaPlate Liquid Scintillation Counter. Inhibition was calculated using the following equation:

$$\% \text{ inhibition} = 1-(T_{cpm} - B_{cpm})/(P_{cpm} - B_{cpm}) \times 100.$$

T_{cpm} = ^{33}P-cpm in presence of test compound

B_{cpm} = ^{33}P-cpm in background control (no enzyme)

P_{cpm} = ^{33}P-cpm in p110 enzyme control (no inhibitor)

The IC_{50} values for the free base and the dihydrochloride salt in the p110α and p110β biochemical assays are summarized in Table A. The two compounds showed similar activities in both PI3Kα and PI3Kβ biochemical assays. Slightly better potency with the dihydrochloride salt form might be due to improved solubility.

Table A. Activity of the free base and the dihydrochloride salt in PI3Kα and PI3Kβ assays

Compound	PI3Kα IC_{50} (M)	PI3Kβ IC_{50} (M)
Free base	4.96E-10	3.72E-09
Dihydrochloride salt	1.23E-10	1.00E-09

Proliferation assays

Cell proliferation is determined using the Cell Titer-Glo luminescent cell viability kit from Promega (Cat. #G7573) after 72 hours exposure to the drugs. Briefly, cells were plated at 500-1000 cells/well of 384-well plates in 25 μL growth medium. For each cell line assayed, cells were plated into a separate plate for determination of luminescence at the t = 0 hours and t = 72 hour time points. Following overnight incubation at 37 °C, luminescence values for the t = 0 samples were determined by adding 25 μL of Cell Titer-Glo solution per well, transferring the plates to an orbital shaker for 10 minutes at room temperature, and then reading the plates on a Wallac Victor2 1420 Multilabel HTS Counter using the luminometry window (maximum light detection is measured at 428 nM). Dose plates for t = 72 hour time points were treated with compounds diluted into growth medium in a final volume of 30 μL. Cells were then incubated for 72 hours at 37 °C. Luminescence values for the t = 72 hour samples were determined by adding 30 μL of Promega CellTiter-Glo solution, placing the cells on a shaker for 10 minutes at room temperature, and then reading the luminescence using a Victor luminometer. For data processing, t = 0 values are subtracted from those determined

for the t = 72 hour time points, for both the treated and untreated samples. Percent differences in luminescence between drug treated and controls are used to determine percent inhibition of growth.

In a panel of 16 tumor cell lines covering 6 cancer indications, both the free base and the dihydrochloride salt showed potent anti-proliferative activities and the difference in the IC_{50} values was less than 3-fold in all the tumor cell lines tested. These data clearly indicated that the dihydrochloride salt retains the antitumor activity of the free base.

Table B. Anti-proliferative activity of the free base and the dihydrochloride in tumor cell line proliferation assays

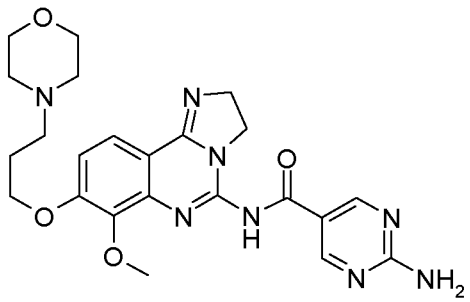
Cell Line	Tissue	free base IC50 (nM)	dihydrochloride salt IC_{50} (nM)	IC_{50} Ratio
KPL4	Breast	3	3	1,0
BT474		5	10	0,5
T47D		6	2	2,8
BT20		6	2	3,1
MCF7		27	9	3,0
MDA-MB-468		760	256	3,0
SK-Br-3		2	1	1,5
LNCaP	Prostate	69	67	1,0
PC3		100	90	1,1
Colo205	Colon	48	110	0,4
HT29		27	10	2,7
HCT116		56	72	0,8
A549	Lung	37	44	0,8
H460		46	67	0,7
U87MG	Brain	85	85	1,0
786O	Kidney	116	247	0,5

Reference:

Fuchikami K, Togame H, Sagara A, Satoh T, Gantner F, Bacon KB, Reinemer P. J Biomol Screen. 7(5):441-50 (2002). A versatile high-throughput screen for inhibitors of lipid kinase activity: development of an immobilized phospholipid plate assay for phosphoinositide 3-kinase gamma.

CLAIMS

1. 2-amino-N-[7-methoxy-8-(3-morpholin-4-ylpropoxy)-2,3-dihydroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-yl]pyrimidine-5-carboxamide dihydrochloride salt of formula (II) :



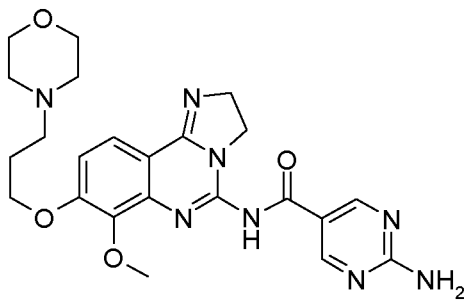
. 2 HCl

(II),

or a solvate, hydrate or tautomer thereof.

2. The dihydrochloride salt of formula (II) according to claim 1, which is in crystalline form.

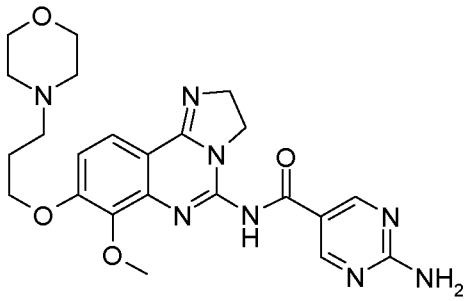
3. A method of preparing the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2, said method comprising adding hydrochloric acid to a compound of formula (I) :



(I),

preferably in suspension,

thereby forming said dihydrochloride salt of formula (II) :



. 2 HCl

(II).

4. The method according to claim 3, said method comprising :

a) adding hydrochloric acid, such as aqueous hydrochloric acid solution (32%) for example, to a suspension of said compound of formula (I) in a medium, such as water for example, at a temperature of between the freezing point of the mixture and the boiling point of the mixture, such as at a temperature of 20 °C (+-2°), until a pH of 3 to 4 is reached ;

b) stirring the resulting mixture at a temperature of between the freezing point of the mixture and the boiling point of the mixture, such as at room temperature for example, for a period of time, such as for more than 10 minutes for example ; and, optionally

c) filtering off the resulting solid and washing the filtercake, such as with water for example, then adjusting the pH of the filtrate to pH 1.8 to 2.0 using hydrochloric acid, such as aqueous hydrochloric acid solution (32%) for example ; and, optionally,

d) stirring the mixture for a period of time, such as 10 minutes for example, at a temperature between the freezing point and the boiling

point of the mixture, such as at room temperature for example, adding ethanol, followed by further stirring for a period of time, such as for 10 minutes for example ; and, optionally,

e) adding seed crystals, optionally followed by adding ethanol over a period of time such as within 5 hours for example ; and, optionally,

f) filtering off the resulting dihydrochloride of formula (II), optionally washing with a water-ethanol mixture and optionally drying, such as *in vacuo* for example,

thus providing the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2.

5. The method according to claim 3, said method comprising :

a) adding said hydrochloric acid to said compound of formula (I) in acetone/water or ethanol/water for example ; and, then, optionally,

b) heating at a temperature between the boiling point and the freezing point of the mixture, such as at 40 to 60 °C for example, such as at 50 °C for example, for a period of time preferably of 0,2 to 2 hours for example, such as for 0,5 hours for example ; then, optionally,

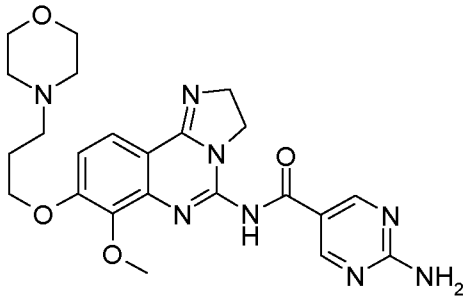
c) heating further at a temperature between the boiling point and the freezing point of the mixture, such as at 30 to 40 °C for example, such as at 35°C for example, for a period of time such as 1 to 4 hours for example, with optional stirring of said suspension at a temperature of between the boiling point and the freezing point of the mixture, such as 10 to 45 °C for example, such as at 35°C for example, for a period of time preferably 12 to 72 hours for example, such as for 72 hours for example, optionally followed by stirring said suspension at a temperature of between the freezing point of the mixture and the boiling point of the mxture, such as at room temperature for example, for a period of time of 0 to 4 hours, such as 2 hours for example ; and, optionally,

d) filtering, optional washing and drying,

thus providing the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2.

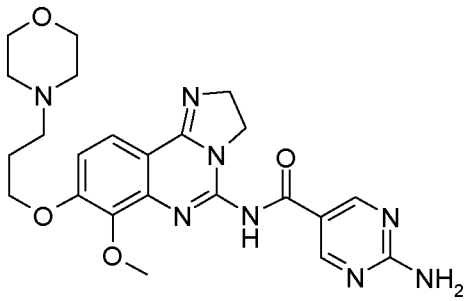
6. The method according to claim 3 or 5, wherein said hydrochloric acid is concentrated aqueous hydrochloric acid solution (36% HCl) and is added to said compound of formula (I) in an acetone / water mixture (8:2 v/v), followed by heating at a temperature of 50 °C, for a period of time of 0,5 hours, then followed by further heating, at a temperature of 35 °C, for a period of time of 72 hours, then with stirring of said suspension at a temperature of room temperature, for a period of time of 2 hours, followed by filtration, washing with an acetone/water mixture, and drying in a vacuum oven (for example 40 °C, 100 mbar, 16 h), thus providing said dihydrochloride salt according to claim 1 or 2.

7. Use of a compound of formula (I) :



(I),

for the preparation of the dihydrochloride salt of formula (II) :



. 2 HCl

(II).

8. The dihydrochloride salt according to claim 1 or 2, for the treatment and/or prophylaxis of a disease.

9. Use of the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2 for the preparation of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a disease, in particular of a hyper-proliferative and/or angiogenesis disorder, more particularly for the treatment or prophylaxis of a cancer, particularly lung cancer, in particular non-small cell lung carcinoma, colorectal cancer, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma, or breast cancer.

10. Use of the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2 for the treatment and/or prophylaxis of a disease selected from a hyper-proliferative and/or angiogenesis disorder, more particularly for the treatment or prophylaxis of a cancer, particularly lung cancer, in particular non-small cell lung carcinoma, colorectal cancer, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer.

11. A pharmaceutical composition comprising the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2.

12. A pharmaceutical composition comprising the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2, and a further pharmaceutical agent.

13. A pharmaceutical combination comprising the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2, and one or more further pharmaceutical agents.

14. The pharmaceutical combination according to claim 11, wherein said further pharmaceutical agent is selected from : 131I-chTNT, abarelix, abiraterone, aclarubicin, aldesleukin, alemtuzumab, alitretinoin, altretamine,

aminoglutethimide, amrubicin, amsacrine, anastrozole, arglabin, arsenic trioxide, asparaginase, azacitidine, basiliximab, BAY 80-6946, BAY 1000394, BAY 86-9766 (RDEA 119), belotecan, bendamustine, bevacizumab, bexarotene, bicalutamide, bisantrene, bleomycin, bortezomib, buserelin, busulfan, cabazitaxel, calcium folinate, calcium levofolinate, capecitabine, carboplatin, carmofur, carmustine, catumaxomab, celecoxib, celmoleukin, cetuximab, chlorambucil, chlormadinone, chlormethine, cisplatin, cladribine, clodronic acid, clofarabine, crisantaspase, cyclophosphamide, cyproterone, cytarabine, dacarbazine, dactinomycin, darbepoetin alfa, dasatinib, daunorubicin, decitabine, degarelix, denileukin diftitox, denosumab, deslorelin, dibrospidium chloride, docetaxel, doxifluridine, doxorubicin, doxorubicin + estrone, eculizumab, edrecolomab, elliptinium acetate, eltrombopag, endostatin, enocitabine, epirubicin, epitiostanol, epoetin alfa, epoetin beta, eptaplatin, eribulin, erlotinib, estradiol, estramustine, etoposide, everolimus, exemestane, fadrozole, filgrastim, fludarabine, fluorouracil, flutamide, formestane, fotemustine, fulvestrant, gallium nitrate, ganirelix, gefitinib, gemcitabine, gemtuzumab, glutoxim, goserelin, histamine dihydrochloride, histrelin, hydroxycarbamide, I-125 seeds, ibandronic acid, ibritumomab tiuxetan, idarubicin, ifosfamide, imatinib, imiquimod, improsulfan, interferon alfa, interferon beta, interferon gamma, ipilimumab, irinotecan, ixabepilone, lanreotide, lapatinib, lenalidomide, lenograstim, lentinan, letrozole, leuprorelin, levamisole, lisuride, lobaplatin, lomustine, lonidamine, masoprocol, medroxyprogesterone, megestrol, melphalan, mepitiostane, mercaptopurine, methotrexate, methoxsalen, Methyl aminolevulinate, methyltestosterone, mifamurtide, miltefosine, miriplatin, mitobronitol, mitoguazone, mitolactol, mitomycin, mitotane, mitoxantrone, nedaplatin, nelarabine, nilotinib, nilutamide, nimotuzumab, nimustine, nitracrine, ofatumumab, omeprazole, oprelvekin, oxaliplatin, p53 gene therapy, paclitaxel, palifermin, palladium-103 seed, pamidronic acid, panitumumab, pazopanib, pegaspargase, PEG-epoetin beta (methoxy PEG-epoetin beta), pegfilgrastim, peginterferon alfa-2b, pemetrexed, pentazocine, pentostatin, peplomycin, perfosfamide, picibanil, pirarubicin, plerixafor, plicamycin,

poliglusam, polyestradiol phosphate, polysaccharide-K, porfimer sodium, pralatrexate, prednimustine, procarbazine, quinagolide, raloxifene, raltitrexed, ranimustine, razoxane, regorafenib, risedronic acid, rituximab, romidepsin, romiplostim, sargramostim, sipuleucel-T, sizofiran, sobuzoxane, sodium glycididazole, sorafenib, streptozocin, sunitinib, talaporfin, tamibarotene, tamoxifen, tasonermin, teceleukin, tegafur, tegafur + gimeracil + oteracil, temoporfin, temozolomide, temsirolimus, teniposide, testosterone, tetrofosmin, thalidomide, thiotepa, thymalfasin, tioguanine, tocilizumab, topotecan, toremifene, tositumomab, trabectedin, trastuzumab, treosulfan, tretinoin, trilostane, triptorelin, trofosfamide, tryptophan, ubenimex, valrubicin, vandetanib, vapreotide, vemurafenib, vinblastine, vincristine, vindesine, vinflunine, vinorelbine, vorinostat, vorozole, yttrium-90 glass microspheres, zinostatin, zinostatin stimalamer, zoledronic acid, zorubicin.

15. A method of treatment or prophylaxis of a disease, in particular of a hyper-proliferative and/or angiogenesis disorder, more particularly for the treatment or prophylaxis of a cancer, particularly lung cancer, in particular non-small cell lung carcinoma, colorectal cancer, melanoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma, pancreatic cancer, hepatocyte carcinoma or breast cancer, in a subject, comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of the dihydrochloride salt according to claim 1 or 2.

FIGURE 1

IR spectrum of the dihydrochloride of formula (II)

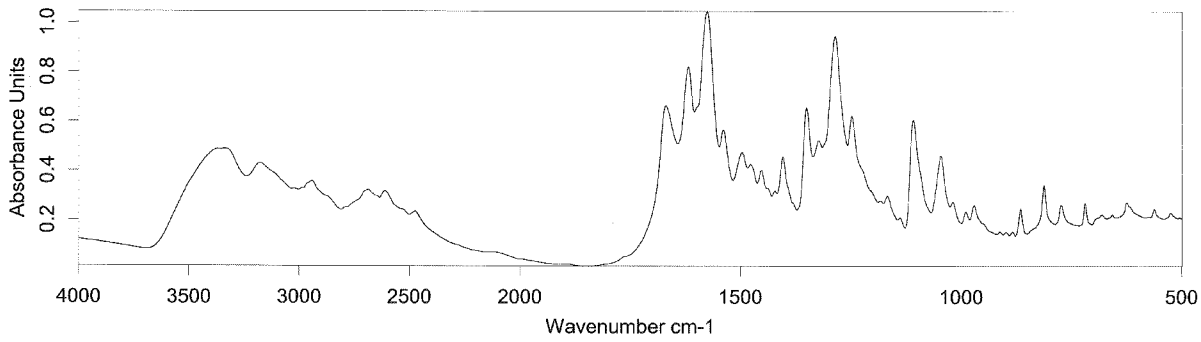
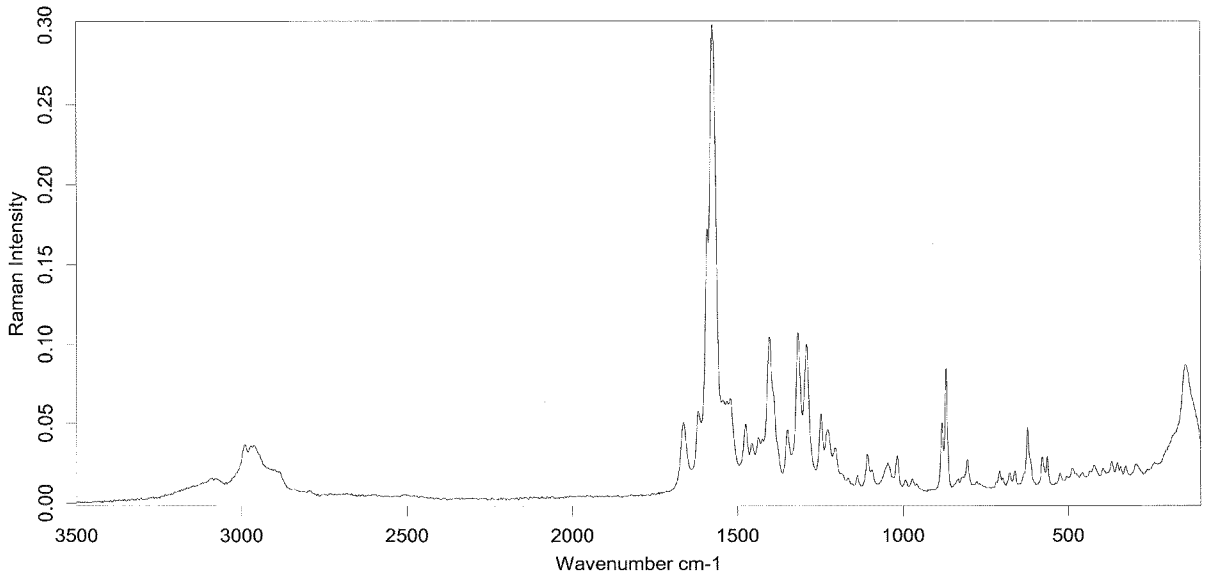


FIGURE 2

Raman spectrum of the dihydrochloride of formula (II)



5

FIGURE 3

UV/VIS spectra of the dihydrochloride of formula (II)

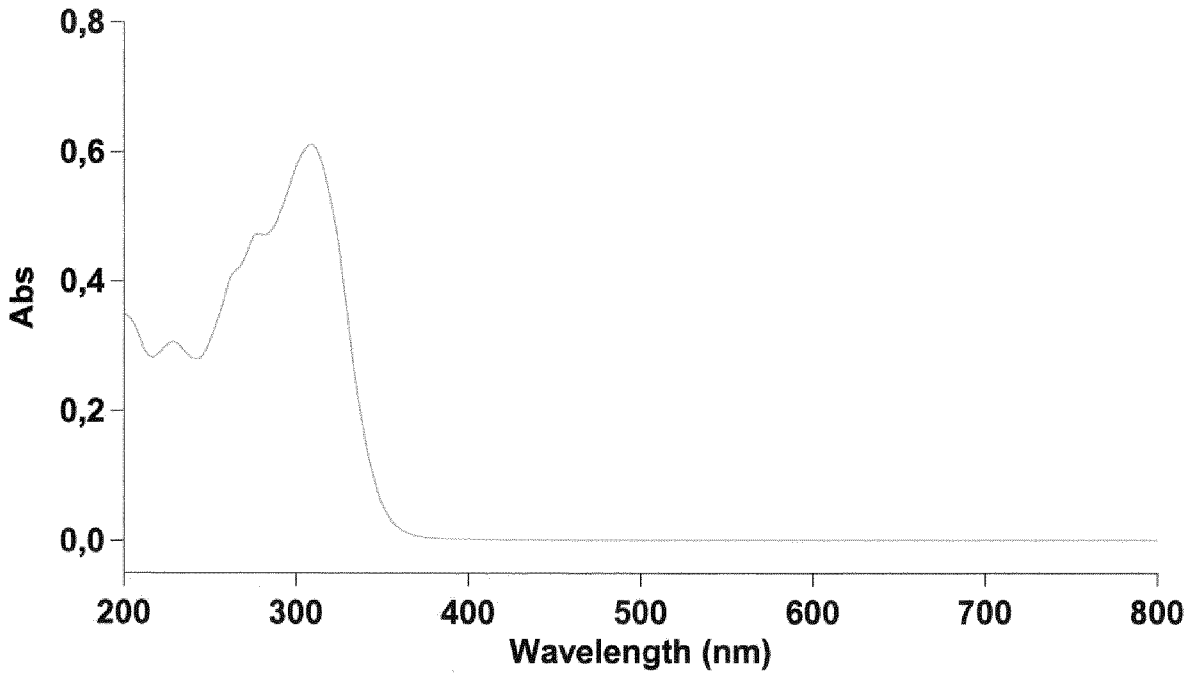
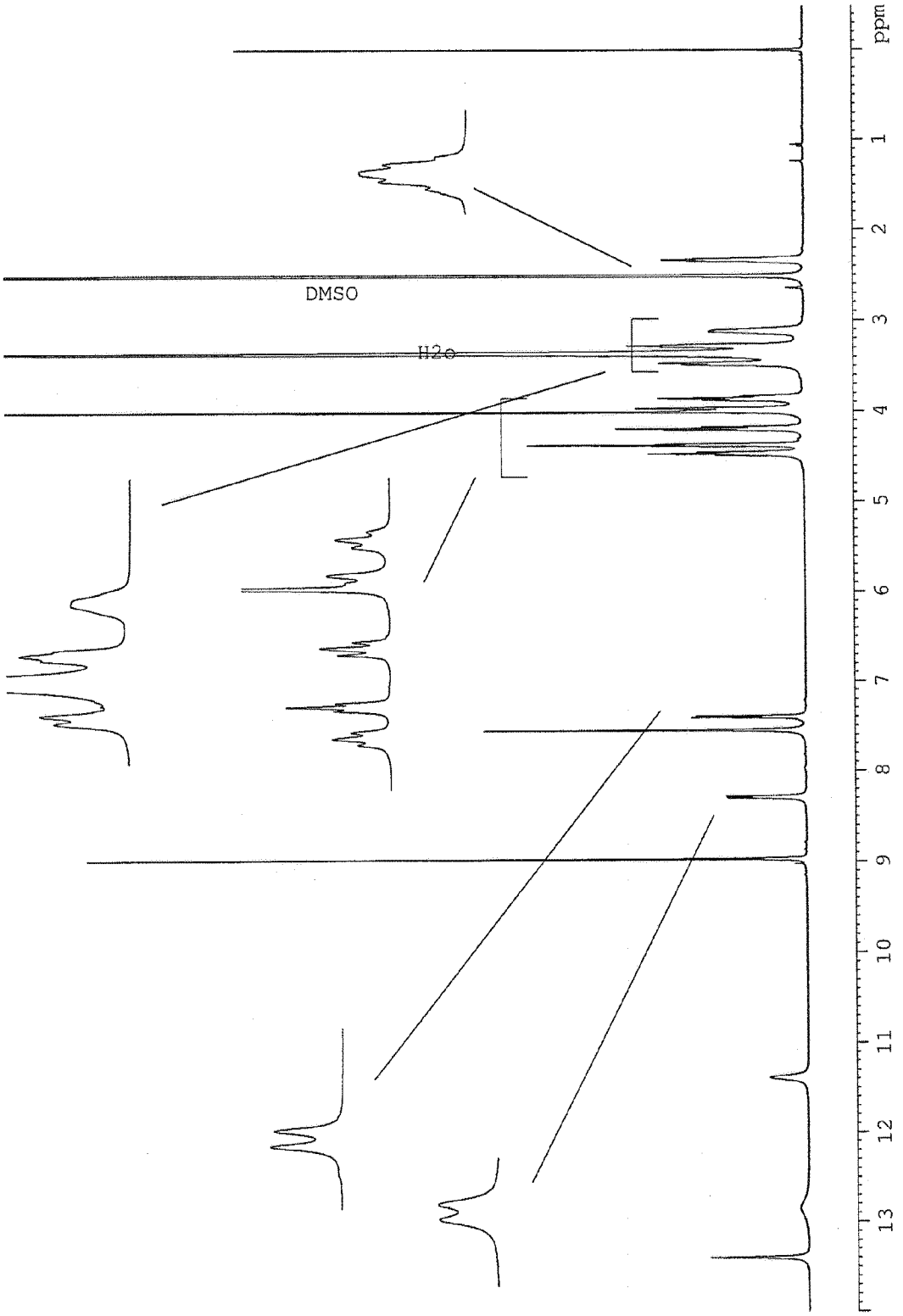


FIGURE 4



^{1}H-NMR Spectrum of the dihydrochloride of formula (II)

FIGURE 5

^{13}C-NMR Spectrum of the dihydrochloride of formula (II)

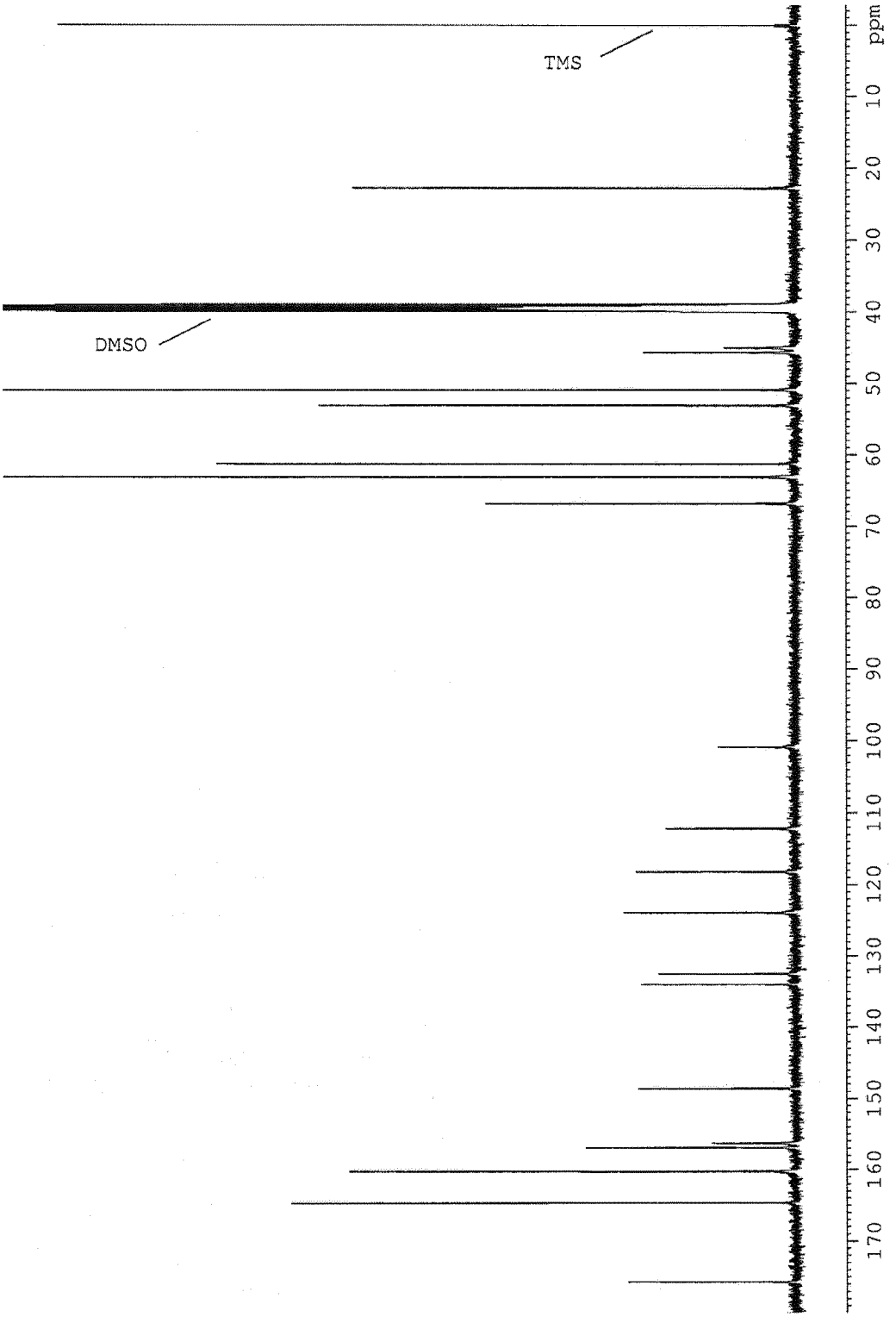


FIGURE 6

^{13}C-NMR Spectra of the dihydrochloride of formula (II)

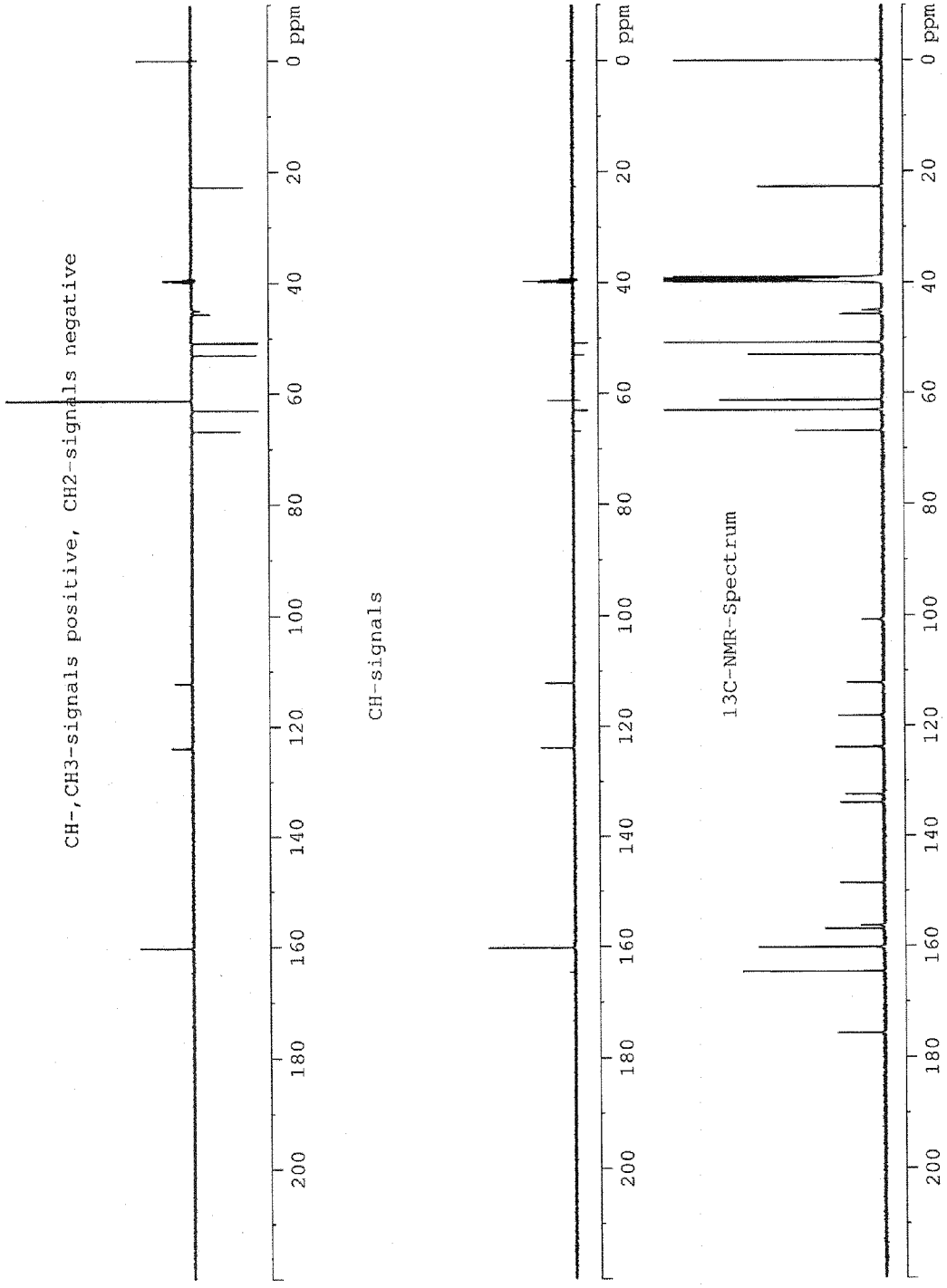
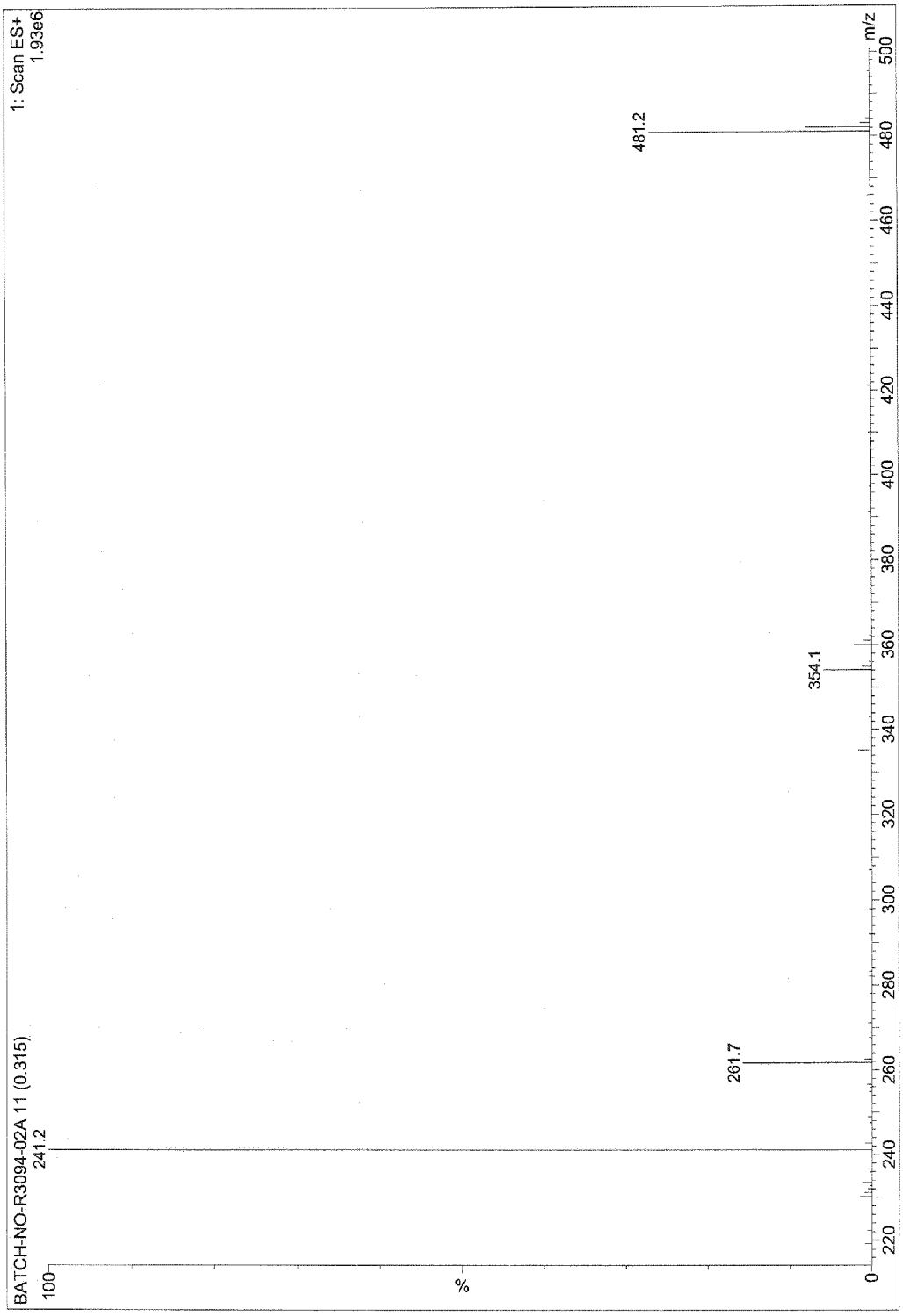


FIGURE 7

Mass Spectrum of the dihydrochloride of formula (II)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/055600

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D487/04 A61K31/519 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/070150 A1 (BAYER PHARMACEUTICALS CORP [US]; HENTEMANN MARTIN [US]; WOOD JILL [US]) 12 June 2008 (2008-06-12) cited in the application page 22, lines 22-24 example 13 claims 37,40-43	1-15
A	EP 2 168 582 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]) 31 March 2010 (2010-03-31) page 13, lines 24,25 page 16, lines 22,23,27 page 18, lines 1,2 claims 1,2,28	1-15

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 July 2012	30/07/2012

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Seitner, Irmgard

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/055600

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/034414 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]; LIU NINGSHU [DE]) 1 April 2010 (2010-04-01) page 36, lines 15-18 page 80, lines 18,19; claim 28 -----	1-15

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/055600

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008070150 A1	12-06-2008	AR 064106 A1	11-03-2009
		AU 2007328008 A1	12-06-2008
		CA 2671614 A1	12-06-2008
		CL 35082007 A1	04-07-2008
		CN 101631464 A	20-01-2010
		CO 6220908 A2	19-11-2010
		CR 10838 A	05-11-2009
		CU 20090103 A7	28-12-2011
		DO P2009000135 A	30-06-2009
		EA 200900733 A1	30-12-2009
		EC SP099387 A	30-11-2009
		EP 2096919 A1	09-09-2009
		JP 2010511718 A	15-04-2010
		KR 20090096440 A	10-09-2009
		MA 31283 B1	01-04-2010
		NZ 577342 A	12-01-2012
		PA 8759601 A1	09-02-2009
		PE 14442008 A1	29-11-2008
		SG 177170 A1	30-01-2012
		SV 2009003288 A	02-10-2009
		TW 200840582 A	16-10-2008
		US 2011083984 A1	14-04-2011
		UY 30761 A1	03-07-2008
		WO 2008070150 A1	12-06-2008
		ZA 200904691 A	29-09-2010
EP 2168582 A1	31-03-2010	NONE	
WO 2010034414 A1	01-04-2010	CA 2737999 A1	01-04-2010
		EP 2168583 A1	31-03-2010
		EP 2344164 A1	20-07-2011
		JP 2012503611 A	09-02-2012
		US 2011251191 A1	13-10-2011
		WO 2010034414 A1	01-04-2010

(12) PUBLICACIÓN DE LA SOLICITUD INTERNACIONAL BAJO PCT

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
11 de octubre de 2012 (11.10.2012)

(10) Número de publicación internacional
WO 2012/136553 A1

(51) Clasificación internacional de Patentes:
C07D487/04 (2006.01) ***A61P 35/00*** (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/EP2012/055600

(22) Fecha de la presentación internacional
29 de marzo de 2012 (29.03.2012)

(25) Idioma de la presentación: inglés

(26) Idioma de la publicación: inglés

(30) Datos de la prioridad
11161111.7 5 de abril de 2011 (05.04.2011) EP

(71) Solicitante (*para todos los estados designados con excepción de US)* **BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; Müller Strasse 178, 13353 Berlin (DE).

(72) Inventores; e
(75) Inventores/Solicitantes: *(solamente para US)* **PETERS, Jan, Georg** [DE/DE]; Belliniweg 6, 42719 Solingen (DE). **MILITZER, Hans-Christian** [DE/DE]; Waldweg 2, 51519 Odenthal (DE). **MÜLLER, Hartwig** [DE/DE]; Wiesenweg 10, 42553 Velbert (DE).

(74) Representante: BAYER PHARMA AKTIENGESELL SCHAFT.; Law and Patents and Licensing, Müller Strasse 178, 13353 Berlin (DE).

(81) Estados designados *(en la medida en que no se indique lo contrario para cada tipo de protección nacional disponible):*AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

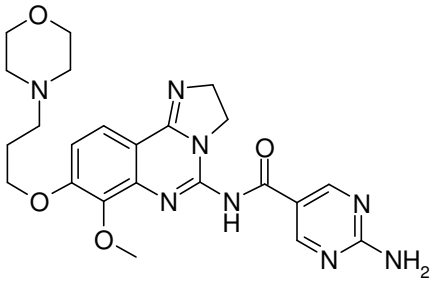
(84) Estados designados: *(en la medida en que no se indique lo contrario para cada tipo de protección regional disponible*): Patente ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW) Patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR) OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaración según regla 4.17:
- en referencia al derecho de la solicitante para solicitar una patente y obtenerla (regla 4.17 cifra ii)

Publicado:
- con el informe de búsqueda internacional (art. 21(3)).

(54) Título: SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINAS SUSTITUIDA

(57) Resumen: Sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma;

– métodos para preparar dicha sal de diclorhidrato;

– dicha sal de diclorhidrato para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

– uso de dicha sal de diclorhidrato para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocitos, carcinoma de hepatocitos o cáncer de mama;

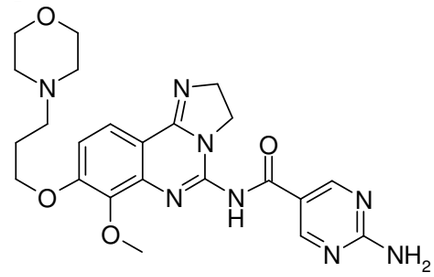
– composición farmacéutica que comprende dicha sal de diclorhidrato; y

– combinación farmacéutica que comprende dicha sal de diclorhidrato en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA

La presente invención se relaciona:

- con sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma,

(la cual se denomina a continuación como “la sal de la presente invención” o la “sal de diclorhidrato”);

- con métodos para preparar dicha sal de la presente invención;

- con dicha sal de la presente invención para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

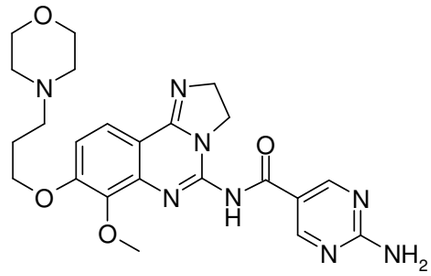
- con el uso de dicha sal de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito, o cáncer de mama;

- con una composición farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención; y

– con una combinación farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Compuesto de la fórmula (I)



(I),

(el cual se denomina a continuación como el “compuesto de Fórmula (I)” o la “base libre”), es un agente para cáncer patentado con un mecanismo de acción novedoso, que inhibe las fosfatidilinositol-3-quinasas de Clase I (PI3K). Esta clase de quinasas es un blanco atractivo debido a que PI3K tiene un rol central en la transducción de señales celulares de los receptores de superficie para supervivencia y proliferación. El compuesto de Fórmula (I) exhibe un amplio espectro de actividad frente a tumores de múltiples tipos histológicos, *in vitro* e *in vivo*.

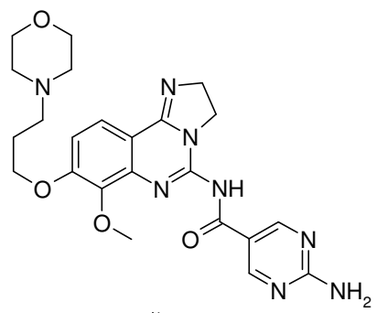
Dicho compuesto de Fórmula (I) puede ser sintetizado de acuerdo a los métodos dados en la solicitud de patente internacional PCT/EP2003/010377, publicada como WO 04/029055 A1 el 08 de Abril de 2004, (que se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia), en la página 26 y siguientes.

Adicionalmente, dicho compuesto de Fórmula (I) se publica en la solicitud de patente internacional

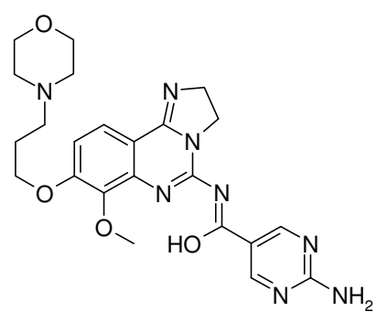
PCT/US2007/024985, publicada como WO 2008/070150 A1 el 12 de Junio de 2008, (que se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia), como el compuesto del Ejemplo 13: 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida. Además, dicho compuesto de Fórmula (I) se describe, en WO 2008/070150, en la página 9 y siguientes, y puede ser sintetizado de acuerdo a los métodos dados allí en la página 42 y siguientes. Los datos biológicos para dicho compuesto de Fórmula (I) se dan allí en la página 0 a 107

Dicho compuesto de Fórmula (I) puede existir en una o más formas tautoméricas: tautómeros, a veces referidos como tautómeros por transferencia de protón, son dos o más compuestos que están relacionados por la migración de un átomo de hidrógeno acompañado por la migración de uno o más enlaces únicos y uno o más enlaces dobles adyacentes.

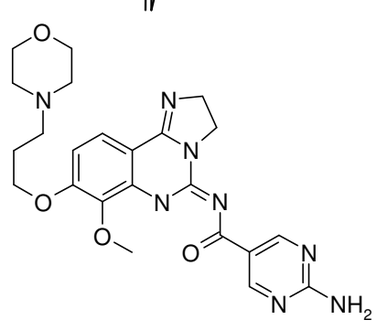
El compuesto de Fórmula (I) puede por ejemplo existir en forma tautomérica (Ia), forma tautomérica (Ib), o forma tautomérica (Ic), o puede existir como una mezcla de cualquiera de estas formas, como se describe más abajo. Se pretende que todas dichas formas tautoméricas estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.



(Ia)



(Ib)



(Ic)

Dicho compuesto de Fórmula (I) puede existir como un solvato: a los efectos de esta invención, un solvato es un complejo de un solvente y un compuesto de la fórmula (I) en el estado sólido. Los ejemplos de solvatos incluyen, pero en un sentido no limitativo, complejos de un compuesto de la invención con etanol o metanol.

Dicho compuesto de Fórmula (I) puede existir como un hidrato: Los hidratos son una forma específica de solvato en donde el solvente es agua.

Problema técnico a ser solucionado:

En general, para un dado compuesto farmacéutico dado,

se desean formas farmacéuticamente aceptables de dicho dado compuesto farmacéuticamente activo, con el objeto de aumentar la eficacia farmacéutica de dicho compuesto farmacéuticamente activo, por ejemplo mejorar las características físicas, tales como estabilidad química, estabilidad física, solubilidad *in vivo*, mejorar la absorción del compuesto farmacéuticamente activo *in vivo, etc*. Adicionalmente, una sustancia droga podría idealmente venir en una forma cristalina estable que se pueda producir de un modo confiable. Las formas amorfas o cristalinas de bajo orden (por ejemplo formas mesomórficas) son menos atractivas ya que tienen el riesgo de un cambio de forma posterior y cambios de las propiedades físicas.

Sin embargo, dicho compuesto de Fórmula (I) (el cual es una base libre) podría ser sólo preparado en una forma mesomórfica que es estable en forma sólida, pero inestable a 70°C en solución acuosa ácida y corre el riesgo mencionado anteriormente de un cambio de forma posterior.

La formación de una forma de sal cristalina de la base libre (I) podría resolver el problema mencionado anteriormente una vez que las propiedades de esta forma son ventajosas respecto a las propiedades de la base libre (I). En los esfuerzos de los inventores por preparar formas de sal cristalinas de (I) los mismos experimentaron que la preparación de formas de sal cristalinas de (I) no es tan fácil como uno esperaría de un compuesto que tiene centros básicos.

Adicionalmente, el compuesto de Fórmula (I) exhibe muy baja solubilidad en agua y mayor parte de solventes

orgánicos. Con dos centros muy básicos (Tabla I, véase más adelante), la solubilidad se mejora fuertemente en medio ácido. Consecuentemente, la purificación de y el procesamiento final del compuesto de Fórmula (I) es una tarea difícil.

La siguiente estructura muestra el compuesto de Fórmula (I), en la cual se dan entre paréntesis los valores de pKa calculados.

Compuesto de la fórmula (I)

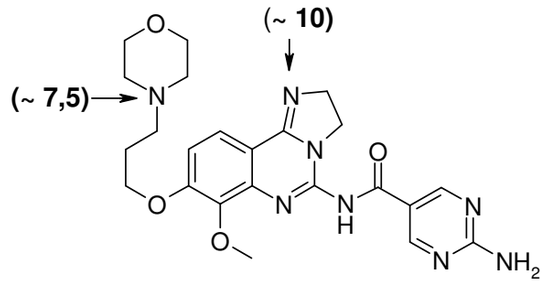


Tabla I: valores de pKa del compuesto de Fórmula (I):

Grupo funcional / valores de pKa	*experimental*	*calculado*
pKa (Imidazolinoamindina)	–	10,1
pKa (Morfolino)	–	7,43 – 7,5
pKa (Aminopirimidina)	–	1,99 – 2,11

Más particularmente, respecto a la estructura química única del compuesto de Fórmula (I), véase más arriba, las propiedades físicas del compuesto de Fórmula (I) no son sólo desafiantes respecto al proceso químico, el manejo de la sustancia droga y la producción del producto droga, sino adicionalmente ofrece desafíos significativos para el desarrollo de un método de HPLC estable y confiable

también.

Sería deseable tener una forma farmacéuticamente aceptable y cristalina del compuesto de Fórmula (I) la cual permite su purificación confiable, por ejemplo, por cristalización, en vista de la dificultad, problemas técnicos específicos y solubilidad acuosa muy baja, y que sea fácil de manejar (por ejemplo, que es un sólido de libre fluidez).

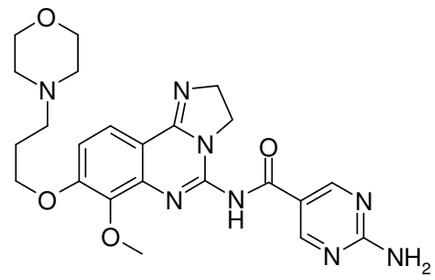
Solución al problema técnico:

Se han hecho diferentes intentos para preparar sales cristalinas del compuesto de Fórmula (I). La formación de formas de sal cristalina probó ser difícil, ya que en generar no se logró una solución y en varios casos se formaron materiales similares a goma, pegajosos.

Inesperadamente, y esto representa una base de la presente invención, se ha descubierto que la sal de diclorhidrato del compuesto de Fórmula (I), de la presente invención (de la cual no hay divulgación específica conocida en el arte previo por el conocimiento del solicitante), posee propiedades técnicamente ventajosas, como se ve entre otras en la Sección Experimental y Sección de Conclusiones de este texto.

La presente invención por lo tanto se relaciona:

- con sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma,

(la cual se denomina a continuación como “la sal de la presente invención” o la “sal de diclorhidrato”);

- con métodos para preparar dicha sal de la presente invención;

- con dicha sal de la presente invención para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

- con el uso de dicha sal de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, colorrectal cáncer, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama;

- con una composición farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención; y

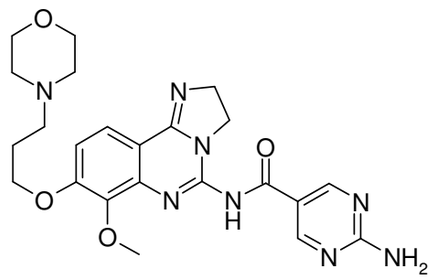
- con una combinación farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

Métodos para preparar la sal de la presente invención

La presente invención también se relaciona con un método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula

(II) de la presente invención, que involucra el agregado de ácido clorhídrico al compuesto de Fórmula (I), o, inversamente, el agregado del compuesto de Fórmula (I) a ácido clorhídrico.

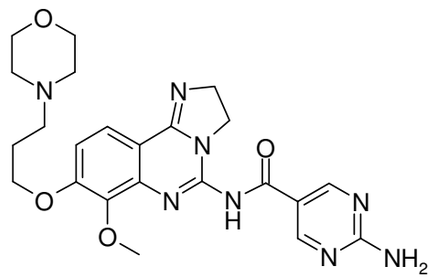
De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención comprende el agregado de ácido clorhídrico a un compuesto de Fórmula (I):



I),

preferentemente en suspensión,

formando de esa forma dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención comprende:

a) agregar ácido clorhídrico, tal como solución

acuosa de ácido clorhídrico (32%) por ejemplo, a una suspensión de dicho compuesto de Fórmula (I) en un medio, tal como agua por ejemplo, a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a una temperatura de 20°C (+-2°), hasta que se alcanza un pH de entre 3 y 4;

b) agitar la mezcla resultante a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, durante un período de tiempo, tal como durante más de 10 minutos por ejemplo; y, opcionalmente

c) extraer por filtración el sólido resultante y lavar la torta del filtro, tal como con agua por ejemplo, luego ajustar el pH del filtrado a un pH de entre 1,8 y 2,0 usando ácido clorhídrico, tal como solución acuosa de ácido clorhídrico (32%) por ejemplo; y, opcionalmente,

d) agitar la mezcla durante un período de tiempo, tal como 10 minutos por ejemplo, a una temperatura entre el punto de congelamiento y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, agregado de etanol, seguido de agitación adicional durante un período de tiempo, tal como durante 10 minutos por ejemplo; y, opcionalmente,

e) agregar cristales gérmenes de cristalización, opcionalmente seguido por el agregado de etanol durante un período de tiempo tal como en 5 horas por ejemplo; y, opcionalmente,

f) extraer por filtrado el diclorhidrato de fórmula (II) resultante, opcionalmente lavar con una mezcla agua-

etanol y opcionalmente secar, tal como por vacío por ejemplo, proveyendo de este modo la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención.

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención comprende:

a) agregar dicho ácido clorhídrico a dicho compuesto de Fórmula (I) en acetona/agua o etanol/agua por ejemplo; y, luego, opcionalmente,

b) calentar a una temperatura entre el punto de ebullición y el punto de congelamiento de la mezcla, tal como a entre 40 y 60°C por ejemplo, tal como a 50°C por ejemplo, durante un período de tiempo preferentemente de entre 0,2 y 2 horas por ejemplo, tal como durante 0,5 horas por ejemplo; luego, opcionalmente,

c) calentar adicionalmente a una temperatura entre el punto de ebullición y el punto de congelamiento de la mezcla, tal como a entre 30 y 40°C por ejemplo, tal como a 35°C por ejemplo, durante un período de tiempo tal como entre 1 y 4 horas por ejemplo, con agitación opcional de dicha suspensión a una temperatura de entre el punto de ebullición y el punto de congelamiento de la mezcla, tal como entre 10 y 45°C por ejemplo, tal como a 35°C por ejemplo, durante un período de tiempo preferentemente entre 12 y 72 horas por ejemplo, tal como durante 72 horas por ejemplo, opcionalmente seguido por agitación de dicha suspensión a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la

mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, durante un período de tiempo de entre 0 y 4 horas, tal como 2 horas por ejemplo; y, opcionalmente,

d) filtrar, lavar y secar opcional,

proveyendo de este modo la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención.

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención es como sigue:

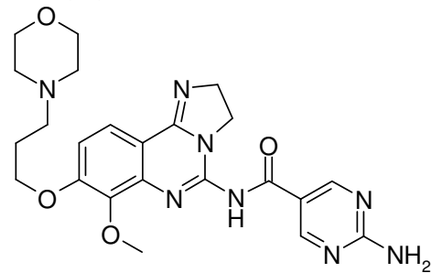
dicho ácido clorhídrico es una solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (1,33 g, HCl al 36%) y se agrega a dicho compuesto de Fórmula (I) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 volumen en volumen), seguido por calentamiento a una temperatura de 50°C, durante un período de tiempo de 0,5 horas, luego seguido por calentamiento adicional, a una temperatura de 35°C, durante un período de tiempo de 72 horas, luego con agitación de dicha suspensión a una temperatura de temperatura ambiente, durante un período de tiempo de 2 horas, seguido por filtración, lavado con una mezcla de acetona/agua, y secado en un horno de vacío (40°C, 100 mbar, 16 horas), proveyendo de este modo dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención.

Sección experimental

Los siguientes términos y abreviaturas se usan en el siguiente texto:

“compuesto de Fórmula (I)” o “base libre” significa 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-

dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de formula (I):

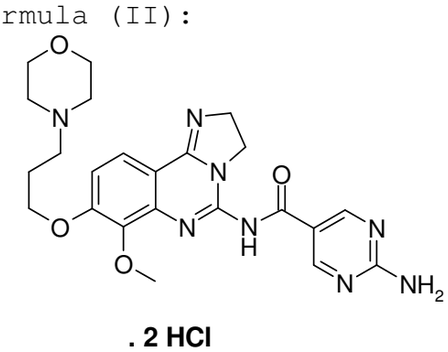


I),

que es el compuesto del Ejemplo 13 de WO 2008/070150 A1 como se indica, véase más arriba.

"DS" significa "sustancia droga", es decir, el "compuesto de Fórmula (I)" o "base libre"

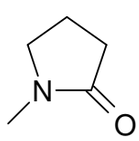
"sal de diclorhidrato de Fórmula (II)" o "sal de Fórmula (II)" significa diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida, que es la sal de diclorhidrato de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

"NMP" significa N-metilpirrolidinona (solvente):



"XRPD" significa "difracción de rayos X en polvo": el aparato usado para medidas mencionado es el siguiente:

STOE Sistema de Difracción en Polvo:

Difractómetro: Transmisión

Monocromador: Curvado de germanio (111)

Generador: 45 kV, 35 mA

Longitud de onda 1,540598 Cu

Detector: PSD Lineal

Modo de barrido: Transmisión / PSD con movimiento / omega fijo

Tipo de barrido: 2Theta:Omega

Condiciones de ambiente: 25°C, 40 – 60 %rF

"IC" significa "Cromatografía iónica":

Máquina: Cromatógrafo iónico Merck con Sistema Supresor

Detección Detector de conductividad, Fa. Metrohm

"TGA" significa "Análisis termogravimétrico":

Máquina: Analizador termogravimétrico TGA 7 o TGA 850e

Productor: Perkin Elmer o Mettler-Toledo

Tasa de calentamiento: 10 $Kmin^{-1}$ o 5 K/min

Gas de lavado (Spülgas): nitrógeno , 20–30 ml/min

Crisol (Tiegel): crisol de platino abierto (offener Platin-Tiegel)

Preparación de la muestra: ninguno

"DSC" significa "Calorimetría de Barrido Diferencial":

Máquina: Calorímetro de barrido Diferencial *DSC 7 o Pyris-1 o DSC 821e*

Producto: Perkin-Elmer o Mettler-Toledo

Tasa de calentamiento: 2 y 20 K/min o 5 K/min

Gas de lavado (Spülgas): nitrógeno

Crisol (Tiegel): crisol estrecho de aluminio sin gas

Preparación de la muestra: ninguno

“DVS” significa “Absorción de Vapor Dinámico”:

Máquina: Analizador de Absorción de Vapor Dinámico IGA Sorp de la firma Hiden Analytical.

La temperatura de operación fue 25°C.

Preparación de la muestra: ninguno

“Pred.” o “predom.” significa “predominantemente”.

CD total: juicio (subjectivo) respecto a la desarrollabilidad química total.

Ejemplo 1. sal de diclorhidrato de Fórmula (II)

A una suspensión del compuesto de Fórmula I (3 g) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 volumen en volumen) se agregó una solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (1,33 g, HCl al 36%) no resultando en cambios visibles. La mezcla resultante se agitó a 50°C durante 0,5 horas, seguido por 35°C durante 3 días, luego temperatura ambiente durante 2 horas. El material sólido resultante se separó por filtración, se lavó con una mezcla de acetona/agua (8:2 volumen en volumen) y se secó en un horno de vacío (40°C, 100 mbar, 16 horas) para dar el material deseado (3,2 g, 93% de rendimiento). Nota: los sólidos tuvieron características de filtración factibles.

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso de DS	72,8 % en peso, ~97,8 área %, suma de impurezas ~2,2%	Calidad significativamente mejorada respecto a Lote A

IC, % en peso de sal formada	10,3 % en peso	sal ~1:2
TGA	13,8% hasta 70°C	
DSC	Picos anchos (60°, 120°C)	
XRPD	cristalino	Diferencias prob. debido a integración de solvente
Microscopía	Microcristalino, aglomerados	

Los resultados de XRPD son consistentes con los sólidos formados siendo cristalino.

Los resultados de IC son consistentes con la formación del diclorhidrato.

Los resultados de TGA son consistentes con los sólidos que contienen entre 13 y 14% de solvente y/o agua.

HPLC analítica % en peso de DS es consistente con sólidos de diclorhidrato que contienen entre 13 y 14% de solvente y/o agua. El área de integración de HPLC muestra 2,2% de impureza.

Estabilidad como sólido:

El diclorhidrato de fórmula (II) (100 mg del Ejemplo 4) se almacenó a 90°C durante 1 semana, luego se analizó por HPLC.

método analítico	*resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso de DS	~ 65,6 % en peso	
HPLC, área % de	~ 98,2%;	Estable

DS	suma de impurezas ~1,8%	

Solubilidad acuosa:

El diclorhidrato de fórmula (II) (500 mg del Ejemplo 4) sea agitó a 25°C durante 20 horas en agua (5 mL). La suspensión resultante se filtró en un filtro de membrana, se midió el pH de la solución resultante y se determinó la solubilidad por HPLC. El material sólido retenido en el filtro se analizó por XRPD y TGA.

método analítico	*resultados*	*Comentarios*
solubilidad	> 8,8 mg/100 ml	
pH	~ 2,4	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	cristalino	Casi idéntico; ligera ampliación de la red cristalina (?)
TGA (residuo sólido)	13,9% hasta 200°C; 2,4% por encima 200°C	

Datos de solubilidad adicionales:

El diclorhidrato de fórmula (II) se agitó en 20 mL de solventes diferentes durante 20 horas a 25°C. En todos los solventes acuosos han sido disueltos aproximadamente 2g del diclorhidrato de fórmula (II) por completo.

Solvente Solubilidad

Acetona 0,3 mg/100ml prácticamente insoluble

acetonitrilo 1,1 mg/100ml prácticamente insoluble

Etanol 24,8 mg/100ml muy levemente soluble

PEG400 301 mg/100ml levemente soluble

HCl 0,1M ≥ 8800 mg/100ml soluble

Solución amortiguadora pH 4,5 ≥ 8900 mg/100ml soluble

Solución amortiguadora pH 7,0 ≥ 8700 mg/100ml soluble

Agua ≥ 9400 mg/100ml soluble

estabilidad en solución:

Estabilidad hidrolítica

Las diferentes soluciones acuosas (0,05 % de base libre de Fórmula (I); luego del agregado de 2-Propanol 50 %, [solución amortiguada filtrada con filtro de membrana de 0,5µm]) se almacenaron a 25°C y 70°C durante 24 horas y una semana.

Condiciones	Apariencia	Impurezas orgánicas, suma de todas [Área %]	Impurezas orgánicas, única [Área %]
Agua:			
Inicial	solución levemente coloreada	2,79	0,25
24 horas, 25°C	solución levemente coloreada	3,43	0,23
24h, 70°C	solución	58,00	25,89

	levemente coloreada		
1 semana, 25°C	solución levemente coloreada	5,33	0,54
1 semana, 70°C	solución levemente coloreada	98,59	45,44
Solución amortiguadora de pH 7:			
Inicial	solución turbia levemente coloreada	3,15	0,23
24 horas, 25°C	solución turbia levemente coloreada	3,22	0,20
24 horas, 70°C	solución levemente coloreada	56,06	23,25
1 semana, 25°C	solución turbia levemente coloreada	4,85	0,82
1 semana, 70°C	solución levemente	97,65	39,01

	coloreada		
HCl 0,1M:			
Inicial	solución levemente coloreada	5,87	1,13
24 horas, 25°C	solución levemente coloreada	8,75	1,90
24h, 70°C	solución levemente coloreada	92,49	22,82
1 semana, 25°C	solución levemente coloreada	24,27	7,15
1 semana, 70°C	solución levemente coloreada	100,00	25,48
NaOH 0,1 M:			
Inicial	solución levemente coloreada	30,72	6,51
24 horas, 25°C	solución levemente coloreada	45,40	10,02
24h, 70°C	solución levemente coloreada	99,88	23,94
1 semana, 25°C	solución levemente	86,64	22,03

	coloreada		
1 semana, 70°C	solución levemente coloreada	99,90	32,63

Espectrometría IR y Raman

Aparato y condiciones de medida

FT-IR / FT-Raman-Espectrómetro	Bruker IFS 66v / Bruker RFS 100
Resolución espectral	2 cm^{-1} / 2 cm^{-1}
Número de interferogramas	32 / 64
Rango de número de onda	4000 – 500 cm^{-1} / 3500 – 100 cm^{-1}
Potencia del Láser	– / 350mW
Preparación de la muestra	Pélet de KBr / sólida en tubo de ensayo

Asignación de las bandas características

Tabla. Asignación de vibraciones activas características al espectro con ν ≡ vibraciones de estiramiento; δ ≡ vibraciones de doblado; o.o.p. ≡ fuera de plano

Estructura asignada	Posición de banda IR [cm^{-1}]	Posición de banda Raman [cm^{-1}]
ν N-H	3336	–
ν =C-H	3176	3090
ν C-H	2942	2990 – 2963
ν NH^+	2687 – 2474	–
ν Amida I	1669	1664

ν C=C, ν C=N, δ N-H, Amida II	1618 – 1477	1619 – 1476
ν C-O	1285	1291
δ =C-H o.o.p.	812	–

ν ≡ vibraciones de estiramiento; δ ≡ vibraciones de doblado; o.o.p. ≡ fuera de plano

El espectro IR se da en la Figura 1.

El espectro Raman se da en la Figura 2.

Espectroscopia UV/VIS

Espectrómetro UV/VIS	Varian Cary 4
Cubeta	Cuarzo, 1 cm
Rango de número de onda	200-800 nm.
Preparación de la muestra	4,67 mg / 500 mL de agua
Bandas	309 nm

Aparato y condiciones de medida

El espectro UV/VIS se da en la Figura 3.

Espectroscopía RMN

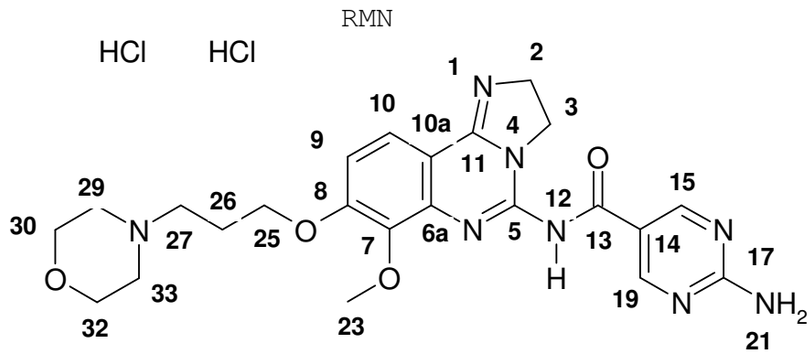
Espectroscopia ^{1}H-RMN

Equipamiento y parámetros experimentales:

Espectrómetro RMN	Bruker, modelo Avance
Frecuencia de trabajo	500,13 MHz
Solvente	Dimetilsulfóxido (DMSO-d_6)
Compuesto de referencia interno	Tetrametilsilano (TMS)

Concentración	Solución 3,08 mg/mL
Diámetro de tubo de ensayo	5 mm
Temperatura (°C)	Aproximadamente 25°C
Técnica	Modo transformada de Fourier
Ancho espectral	20,65 ppm
Resolución digital	0,079 Hz/Pt
Longitud de pulso	4,5 µsegundos, 30° ángulo de giro del pulso
Tiempo de adquisición	6,34 segundos
Tiempo de relajación	0,5 segundos
No. de decaimientos de inducción libre	32

Fórmula estructural para la asignación de señales de RMN



Desplazamiento químico, multiplicidad de señal, número relativo de núcleos:

Átomos-H (a)	Desplazamiento químico δ (ppm)	Multiplicidad y constantes de acoplamiento (b)	no. de núcleos H/molécula

H–26	2,32	M	2
H–29; H–33	3,11; 3,48	M; M	2; 2
H–30; H–32	3,83; 3,98	M; M	2; 2
H–27	3,29	M	2
$-OCH_3$	4,00	S	3
H–25	4,37	T	2
H–2; H–3	4,47; 4,19	T; T	2; 2
H–9	7,39	D	1
NH_2	7,54	S	2
H–10	8,21	D	1
H–16; H–20	8,97	S	1; 1
HCl	11,1; 12,6	bS; bS	1; 1
H–12	13,4	bS	1

a) Numeración se refiere a la fórmula estructural para la asignación de señales RMN.

b) s = singulete bS = singulete ancho d = doblete

t = triplete m = multiplete

El espectro de ^{1}H–RMN del diclorhidrato de fórmula (II) se da en la Figura 4.

Espectroscopia ^{13}C–RMN

Equipamiento y parámetros experimentales

Espectrómetro RMN	Bruker, modelo Avance
Frecuencia de trabajo	125,76 MHz
Solvente	Dimetilsulfóxido-d_6 (DMSO)
Compuesto de referencia interno	Tetrametilsilano (TMS)
Concentración	Solución 37,2 mg/mL

Diámetro de tubo de ensayo	5 mm
Temperatura (°C)	Aproximadamente 27°C
Técnica	Modo transformada de Fourier
Ancho espectral	(240,95 ppm)
Resolución digital	0,4624 Hz/Pt
Longitud de pulso	11,0 µsegundos, 90° ángulo de giro del pulso
Tiempo de adquisición	1,08 segundos
Tiempo de relajación	4 segundos
No. de decaimientos de inducción libre	256

Desplazamiento químico, multiplicidad de señal, rel. no. de núcleos:

Átomos-C (a)	Desplazamiento químico δ (ppm)	Multiplicidad y constantes de acoplamiento (b)	no. de núcleos de C/molécula
C-26	22,73	T	1
C-2; C-3	44,96; 45,65	T; T	1; 1
C-29; C-33	50,84	T	1; 1
C-27	53,01	T	1
OCH_3	61,24	Q	1
C-30; C-32	63,03	T	1; 1
C-25	66,81	T	1
C-10a	100,79	S	1

C-9	112,17	D	1
C-15	118,16	S	1
C-10	123,86	D	1
C-6a	132,43	S	1
C-7	133,95	S	1
C-5	148,58	S	1
C-11	156,29	S	1
C-8	156,89	S	1
C-16; C-20	160,20	D	1; 1
C-18	164,61	S	1
C=O	175,65	S	1

a) Numeración se refiere a la fórmula estructural para la asignación de señales RMN.

b) S = Singulete (C) D = Doblete (CH) T = Triplete (CH_2) Q = Cuadruplete (CH_3)

Los espectros de ^{13}C-RMN del diclorhidrato de fórmula (II) se dan en las Figuras 5 y 6.

Espectrometría de masa

Parámetros instrumentales

Espectrómetro de masa:	Waters ZQ
Modo de ionización:	ESI (Electroaspersión-Ionización)
Solvente	CH_3CN/H_2O

Interpretación del espectro

Valor de masa (*m/z*)	Intensidad relativa (%)	Formación de iones

481,2	46	$(M + H)^+$
354,1	5	$(C16\ H16\ N7\ O3)^+$
261,7	26	$(M + 2H + CH_3CN)^{+2}$
241,2	100	$(M + 2H)^{+2}$

El espectro de masas del diclorhidrato de fórmula (II) se da en la Figura 7. Referirse al espectro para las intensidades de pico relativas.

Análisis elemental

El análisis elemental fue realizado por Bayer Industry Services, Leverkusen, Alemania.

Resultados

Elemento	Medido [%]	Calculado [%]	Calculado incluyendo 7,0 % de agua [%]	Diferencia
C	47,5	49,9	46,4	1,1
H	5,7	5,5	5,9	0,2
N	19,1	20,3	18,8	0,3
O	18,1	11,6	17,0	1,1
Cl	11,9	12,8	11,9	0,0
Sum	1	100,	100,0	–

a	02,3	1		

El análisis elemental es consistente con una sal de diclorhidrato de Fórmula II con 7% de agua.

Ejemplo 2. Otro método de preparación de la sal de diclorhidrato de Fórmula (II)

A una suspensión de 366 g de compuesto de Fórmula (I) en 1015 g de agua, se agregaron 183 g de una solución acuosa de ácido clorhídrico (32%) mientras se mantenía la temperatura a 20°C (+-2°) hasta un que se alcanzó un pH de entre 3 y 4. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante más de 10 minutos, se filtró y se lavó la torta del filtro con 82 g adicionales de agua. El filtrado se ajustó a un pH de entre 1,8 y 2,0 usando solución acuosa de ácido clorhídrico (32%). La mezcla se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente, se agregaron 146 g de etanol (100%) y se agitó durante otros 10 minutos. Se agregó 1 g de cristales germen de cristalización, seguido de 1592 g de etanol en 5 horas. La sustancia resultante se eliminó por filtración, se lavó con una mezcla de agua-etanol y se secó en vacío para dar 410 g (97%) del diclorhidrato de fórmula (II) de una pureza >99% de acuerdo a HPLC.

Ejemplo Comparativo 1: monoclorhidrato del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (0,5 g, 1,04 mmol) en una mezcla de acetona/agua (9 mL, 8:2 volumen en volumen) se agregó una solución concentrada de ácido clorhídrico (89 µL, 1,07 mmol, 1,0 equiv, HCl al 36%). Se observó un cambio visible en la mezcla, pero no se obtuvo

una solución transparente. La mezcla se calentó con agitación a 50°C durante 0,5 horas, seguido de 35°C durante 3 días, luego a temperatura ambiente durante 2 horas. Los sólidos suspendidos resultantes se eliminaron por filtración, se lavaron con acetona/agua, (8:2 volumen en volumen), y se secaron (40°C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (0,5 g).

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso de DS	~ 85,8 % en peso, ~98,4% de área, suma de impurezas~1,6%	Calidad significativamente mejorada respecto a Lote A
IC, % en peso de sal formada	6,0 % en peso	~1:1-sal
TGA	6,3% hasta 200°C	
DSC	Pico ancho a 75°C	
XRPD	Predominantemente amorfo	
Microscopía	n. t.	

Los resultados indican que no se formó un monoclorhidrato cristalino. A pesar de que la pureza de la base no mejoró por el experimento, no se realizaron estudios adicionales, ya que el material fue predominantemente amorfo.

Ejemplo Comparativo 2: sal bis (sulfato ácido) del

compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (0,5 g, 0,103 mmol) en una mezcla de acetona/agua (9 mL, 9:1 volumen en volumen) se agregó una solución concentrada de ácido sulfúrico (213 mg, 96 % H_2SO_4, 2 equiv.). Se observó un cambio visible en la mezcla, pero no se obtuvo una solución transparente. La mezcla se calentó con agitación a 50°C durante 0,5 horas, seguido por 35°C durante 3 días, luego temperatura ambiente durante 2 horas. Los sólidos remanentes se separaron por filtración, se lavaron (acetona/agua, 9:1 volumen en volumen), y se secaron (40°C, 100 mbar, 16 horas) para dar aproximadamente 30 mg del producto deseado.

Ejemplo Comparativo 3: sal de ácido cítrico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de etanol/agua (50 mL, 1:2 v/v) se agregó ácido cítrico (2,4 g, 10,2 mmol, 1,6 equivalentes). Se calentó la mezcla con agitación a 35 °C, se agregaron 25 ml de agua y 100 ml de etanol y se continuó con la agitación a 35 °C durante 2 horas. La solución transparente resultante se enfrió a temperatura ambiente y se continuó agitando durante 3 días. Se separaron los sólidos resultantes mediante filtración, se lavaron con 10 ml de etanol, y se secaron (40 °C, 100 mbar, 24 horas) para dar el producto deseado (3,8 g, 90% de rendimiento). Nota: la filtración de este material fue muy lenta.

Caracterización:

Método	*Resultados*	*Comentarios*

analítico		
HPLC, % en peso DS	64,1 % en peso, 98,1 área %, suma de impurezas 1,9%	
IC, % en peso formador de sal	30,2 % en peso	sal > 1:1
TGA	3,8% % en peso hasta 50 °C; 29,4% a entre 130 y 200°C	
DSC	Picos anchos	se funde con descomposición
XRPD	Cristalina	cantidades significativas de base libre detectable
Microscopía	Microcristalina; se aglomera	

Todos los resultados indican que no se formó una sal real uniforme, sino que una mezcla de la sal de ácido cítrico, base libre y/o ácido cítrico.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido cítrico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 3) se almacenó a 90 °C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	62,7 % en peso	
HPLC, área % DS	96,3 %	Levemente inestable; suma

		de impurezas levemente mayor (3,7% vs. 1,9%)

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido cítrico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 3) se agitó a 25°C durante 20 horas en agua (5 mL). La suspensión resultante se filtró sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución y se determinó la solubilidad mediante HPLC. El material sólido retenido sobre el filtro se analizó mediante XRPD y TGA.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
solubilidad	~ 8,5 mg/100ml	
PH	3,9	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	Señales anchas	Cambio significativo; menos cristalino
TGA (residuo sólido)	4,4% a entre 30° y120°C; 27% a entre 120° y 250°C	

Ejemplo Comparativo 4: sal de ácido succínico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 v/v) se agregó ácido succínico (1,48 g, 12,5 mmol, 2 equivalentes) para formar una suspensión blanca. Se calentó la mezcla con agitación a 50 °C durante 0,5 horas, seguido por 35 °C durante 3 días, luego temperatura ambiente

durante 2 horas. La apariencia de la mezcla no cambió en forma significativa durante este periodo. Luego se eliminaron los sólidos resultantes mediante filtración, se lavaron con unos pocos mls de una mezcla acetona/agua (8:2 v/v), y se secaron (40 °C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (3,4 g, 91%).

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	75,6 % en peso, ~97,6% área %, suma de impurezas ~2,4%	
IC, % en peso formador de sal	15,1 % en peso	< sal 1:1
TGA	3,2% hasta 50°C; 17,6% a 140 – 220°C	Similar a base libre
DSC	Picos anchos	Similar a base libre
XRPD	predominantemente cristalina	Cantidades significativas de base libre detectable
Microscopía	se aglomera	

La caracterización sugiere que no se formó una sal estequiométrica uniforme sino que una mezcla de un succinato y la base libre.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido succínico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 4) se almacenó a 90°C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	48,4 % en peso	sólido amarronado después de 1 semana a 90°C
HPLC, área % DS	~ 97,6% (suma de impurezas ~2,4%)	no estable

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido succínico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 4) se agitó en agua (5 mL) a 25°C durante 20 horas. La suspensión resultante se filtró sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución, y se determinó la solubilidad mediante HPLC. El material sólido retenido sobre el filtro se analizó mediante XRPD y TGA.

método analítico	*resultados*	*Comentarios*
solubilidad	~ 5,5 mg/100ml	
PH	4,7	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	Parcialmente cristalino	Cambio significativo; parcialmente amorfo; base libre detectable

TGA (residuo sólido)	5,5% a entre 30° y120°C; 15% a entre 120° y 240°C	

Ejemplo Comparativo 5: sal de ácido maleico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 v/v) se agregó ácido maleico (1,45 g, 12,5 mmol, 2,0 equivalentes) para formar una solución casi transparente que se volvió una suspensión después de 5 minutos. Se calentó la mezcla con agitación a 50 °C durante 0,5 horas, seguido por 35 °C durante 3 días, luego a temperatura ambiente durante 2 horas. Se separaron los sólidos resultantes mediante filtración, se lavaron con una mezcla de acetona / agua (8:2 v/v), y se secaron (40 °C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (4,0 g, 90%). Nota: La filtración de este material procedió bien.

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	62,7 % en peso, ~95,2% área %, suma de impurezas ~4,8%	
IC, % en peso formador de sal	30,7 % en peso	sal ~1:2
TGA	5,8% hasta	

	50°C; 3,7% a entre 80 y 150°C; 20,7% a entre 160 y 210°C	
DSC	picos anchos	
XRPD	cristalina	diferencias probablemente debidas a integración del solvente; sin base libre detectable
Microscopía	cristales	

Los resultados indican que se formó un dimaleato cristalino. La pureza de esta base no mejoró por la formación de la sal en este caso.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido maleico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 5) se almacenó a 90°C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	59,4 % en peso	
HPLC, área % DS	~ 96,9% (suma de impurezas ~3,1%)	Estable

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido maleico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 5) se agitó en agua (5 mL) a 25°C durante 20 horas. La suspensión resultante se filtró

sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución, y se determinó la solubilidad mediante HPLC. El material sólido retenido sobre el filtro se analizó mediante XRPD y TGA.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
solubilidad	> 8,1 mg/100ml	
PH	3,1	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	cristalina	Casi idéntica; ensanchamiento leve de la estructura del cristal (?)
TGA (residuo sólido)	8% a entre 30° y 90°C; 2,5% a entre 100° y 150°C; 14% por arriba de150°C	

Ejemplo Comparativo 6: sal de ácido metanosulfónico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 9:1 v/v) se agregó ácido metanosulfónico (1,2 g, 12,5 mmol, 2 equivalentes) para formar un material pegajoso. Se calentó la mezcla con agitación a 50 °C durante 0,5 horas, seguido por 35 °C durante 3 días. La apariencia de la mezcla no cambió en forma significativa durante este periodo. Se agregó acetona adicional (50 mL) a la mezcla y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante otros 5

días, rindiendo una suspensión filtrable junto con material pegajoso. Se sacó la suspensión mediante filtración, se lavó con acetona y se secó (40 °C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (3,5 g, 83,3 %).

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	62,9 % en peso, ~96,1% área %, suma de impurezas ~3,9%	
IC, % en peso formador de sal	26,4 % en peso	sal ~ 1:2
TGA	6,3% a entre 30 y 100°C; 22% a 220°C (descomposición)	
DSC	Picos anchos	
XRPD	predominantemente cristalino	parcialmente amorfo
Microscopía	Microcristales, se aglomera	

Todos los resultados indican que se puede formar una sal de dimesilato cristalino. Obviamente, no se han hallado las condiciones óptimas de cristalización y/o el dimesilato es muy sensible a las condiciones de formación ya que el material era en parte amorfo. La forma polimórfica que se

produjo hasta ahora parece ser capaz de tomar solventes/agua.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido metanosulfónico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 6) se almacenó a 90°C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	59,5 % en peso	
HPLC, área % DS	~ 96,7% (suma de impurezas ~3,3%)	Estable

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido metanosulfónico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 6) se agitó a 25°C durante 20 horas en agua (5 mL). La muestra se disolvió casi completamente, la mezcla resultante se filtró sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución, y se determinó la solubilidad mediante HPLC. Sin embargo, no quedó suficiente material sólido después de la filtración para un análisis adicional.

Método analítico	*R*	*Comentarios*
solubilidad	> 8,3 mg/100 ml	
PH	~ 2,3	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	n. t.	

TGA (residuo sólido)	n. t.	

Conclusiones

Desde un punto de vista fisicoquímico, la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) (Ejemplo 4) de la presente invención provee sorprendentes resultados técnicos somo se ve en los Ejemplos y Ejemplos Comparativos previos, *supra*, como se resume en la Tabla 5, *infra*:

Tabla 5

Propiedad	*Ácido cítrico (Ej. Comp. 3)*	*Ácido succínico (Ej. Comp. 4)*	*Ácido maleico (Ej. Comp. 5)*	*Ácido metansulfónico (Ej. Comp. 6)*	*Ácido clorhídrico N° Ej. 1)*	*Compuestos de fórmula (I). base libre*	*Criterios*
estequiometría	~ 1: 1	~ 1: 1	~ 1: 2	~ 1: 2	1: 2		En base a HPLC/IC
proceso químico	O	—	O	—	O	—	rendimiento, procesamiento final
pureza	+	+	O	O	+	O	área % en HPLC
estabilidad	O	—	+	n.d.	+ +	n.a.	desintegració

de sal							n con/en agua
cristalinidad	O	—	+	O	+ +	O	XRPD
hidratos					~ 4 H_2O		1 semana a 95% r.horas.; solub. acuosa
solubilidad acuosa	~ 8,5.	~ 5,5	> 8,1	> 8,3	> 8,8	—	16h a 25 °C (mg/100ml)
estabilidad térmica en solución	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	O	24h a 70°C; 1 semana a 25°C
estabilidad térmica de sólido	+	— —	+	+	+	+ +	1 semana a 90°C
CD global	O	— —	O	— —	+	O	

_ _ muy desventajoso

_ desventajoso

O indiferente

+: ventajoso

++: muy ventajoso

n.a. No aplicable.

n.f.:no hallado

n.d. no determinado; sin solución transparente después de filtración, probablemente debido a formación de micelas.

Primero, como se vio en el Ejemplo Comparativo 1, inesperadamente, los resultados indican que no se formó un monoclorhidrato cristalino del compuesto de Fórmula (I): el mismo fue predominantemente amorfo. Por el contrario, como se vio a partir del Ejemplo 1, la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) puede formar una sal de diclorhidrato estable cristalina. La sal de diclorhidrato cristalina es estable contra la reversión en agua a la base libre.

Además, la sal de diclorhidrato de la presente invención tiene una estabilidad superior en agua en comparación con otras sales mencionadas. Esto significa que la sal no revierte en agua a la base libre bajo las condiciones probadas, es decir no ocurre precipitación de la base libre.

La cristalinidad de la sal de diclorhidrato de la presente invención fue superior versus la sal de monoclorhidrato (que se halló predominantemente amorfa por XRPD).

Segundo, como se ve a partir del Ejemplo Comparativo 5, (tabla de caracterización), a partir de los resultados de XRPD, los compentarios son que hay diferencias en la sal de maleato del compuesto de Fórmula (I) del Ejemplo Comparativo 5: como se menciona, estas diferencias son probablemente debidas a integración del solvente. Además, se puede ver a partir del Ejemplo Comparativo 5 que la pureza de la base no mejoró con la formación de la sal de maleato. Por el contrario, como se ve en el Ejemplo 1 (la

sal de diclorhidrato de la presente invención), se puede ver que la pureza de la base libre mejoró con la formación de la sal de diclorhidrato.

Además, mejoró la calidad de la sustancia droga con la formación de la sal de diclorhidrato.

Más aun, una propiedad técnicamente ventajosa adicional de la sal de diclorhidrato (II) de la presente invención es que la forma de sal cristalina idealmente ayudaría además a mejorar el proceso de purificación y el procesamiento final: es estable como sólido y en solución, y se ajusta a la estrategia galénica (*por ejemplo* la sal de la presente invención se disuelve más rápidamente que el compuesto de Fórmula (I) (la base libre), lo que representa una clara ventaja técnica.

Por lo tanto, globalmente, como se ve a partir de la Tabla 5, *vide supra*, el diclorhidrato es sorprendentemente ventajoso en términos de pureza, estabilidad de sal, cristalinidad, y solubilidad acuosa.

Más aun, muy importantemente, como se ve en los ensayos bioquímicos de PI3Kα y PI3Kβ: tanto la base libre como la sal de diclorhidrato mostraron actividades similares tanto en el ensayo bioquímico de PI3Kα como de PI3Kβ. La potencia levemente mejor con la forma de sal de diclorhidrato podría deberse a una mejor solubilidad. Esto es claramente muy ventajoso.

Formulaciones farmacéuticas de la sal de la presente invención

Como se mencionó previamente, la sal de la presente invención puede estar en la forma de una formulación farmacéutica que esté lista para usar para administrarse en forma simultánea, concurrente, separada o secuencial. Los componentes se pueden administrar en forma independiente uno de otro mediante ruta oral, intravenosa, tópica, instilaciones locales, intraperitoneal o nasal.

Dichas composiciones pueden utilizarse para obtener un efecto farmacológico deseado al administrarse a un paciente que las necesita. Un paciente, para el propósito de esta invención, es un mamífero, incluyendo un humano, que necesita el tratamiento para una condición o enfermedad particular. Por lo tanto, la presente invención incluye la sal de la presente invención que está en la forma de una composición de formulación farmacéutica que está compuesta por un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz de dicha sal. Un vehículo farmacéuticamente aceptable es preferiblemente un vehículo que es relativamente no tóxico e inocuo para un paciente, a concentraciones consistentes con la actividad efectiva del ingrediente activo, de modo que los efectos colaterales que pueden adjudicarse al vehículo no perjudican los efectos beneficiosos del componente y/o combinación. Una cantidad efectiva para el uso farmacéutico de una combinación es preferiblemente una cantidad que produce un resultado o ejerce una influencia sobre la condición particular a tratar. Las sales de la presente invención pueden

administrarse con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica, usando cualquier forma de dosificación convencional efectiva, incluyendo preparaciones de liberación inmediata, lenta y demorada, de administración oral, parenteral, tópica, nasal, oftálmica, óptica, sublingual, rectal, vaginal y semejantes.

Para administración oral, pueden formularse las sales en preparaciones sólidas o líquidas, tales como cápsulas, píldoras, tabletas, pastillas, grageas, líquidos fundidos, polvos, soluciones, suspensiones o emulsiones, y puede preparárselos de acuerdo con métodos conocidos en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Las formas de dosificación sólidas pueden comprender una cápsula, que puede ser del tipo de las cápsulas de gelatina convencionales, duras o blandas, que contienen, por ejemplo, agentes tensioactivos, lubricantes y rellenos inertes, tales como lactosa, sacarosa, fosfato de calcio y almidón de maíz.

En otra realización, pueden colocarse las sales de esta invención en tabletas con bases para tabletas convencionales, tales como lactosa, sacarosa y almidón de maíz, en combinación con aglutinantes, tales como acacia, almidón de maíz o gelatina, agentes desintegradores dirigidos a contribuir a la degradación y la disolución de la tableta una vez administrada, tal como almidón de papa, ácido algínico, almidón de maíz y goma guar, goma tragacanto, acacia, lubricantes dirigidos a mejorar el

flujo de granulación de la tableta y a evitar la adhesión del material de la tableta a las superficies de los colorantes de la tableta y los envases, por ejemplo, talco, ácido esteárico o estearato de magnesio, calcio o cinc, tinturas, agentes colorantes y agentes saborizantes, tales como menta salvaje, aceite de té del Canadá o sabor a cereza, dirigidos a mejorar las cualidades estéticas de las tabletas y tornarlas más aceptables para el paciente. Los excipientes apropiados para usar en formas líquidas de dosificación oral incluyen fosfato de dicalcio y diluyentes, tales como agua y alcoholes, por ejemplo, etanol, alcohol bencílico y polietilen alcoholes, con o sin la adición de un agente tensioactivo, un agente de suspensión o un agente emulsificante farmacéuticamente aceptable. Puede contener diversos materiales adicionales, tales como recubrimientos o para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, pueden recubrirse tabletas, píldoras o cápsulas con shellac, azúcar o ambos.

Los polvos dispersables y los gránulos son apropiados para la preparación de una suspensión acuosa. Proveen el ingrediente activo en combinación con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más preservadores. Los ejemplos de agentes dispersantes o humectantes y de suspensión apropiados son aquellos que se mencionaron con anterioridad. También puede haber excipientes adicionales presentes, por ejemplo, aquellos

agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes descriptos previamente.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden tomar la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como parafina líquida o una mezcla de aceites vegetales. Los agentes emulsionantes apropiados pueden ser (1) gomas de ocurrencia natural, tales como goma acacia y goma tragacanto, (2) fosfátidos de ocurrencia natural, tales como soja y lecitina, (3) ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitano, (4) productos de la condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietilen sorbitano. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y saborizantes.

Pueden formularse suspensiones oleosas suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de araquís, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, tal como, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Las suspensiones pueden contener uno o más preservadores, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o *n*-propilo; uno o más agentes colorantes; uno o más agentes saborizantes; y uno o más agentes saborizantes, tales como sacarosa o sacarina.

Pueden formularse jarabes y elíxires con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones pueden contener un demulcente y un preservador, tal como metil y propil paraben, y agentes saborizantes y colorantes.

Las sales de esta invención también pueden administrarse por vía parenteral, es decir, por vía subcutánea, intravenosa, intraocular, intrasinovial, intramuscular o interperitoneal, como dosificaciones inyectables del compuesto, preferiblemente en un diluyente aceptable para el uso fisiológico, con un vehículo farmacéutico que puede ser un líquido estéril o una mezcla de líquidos, tales como agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcares relacionados, un alcohol, tal como etanol, isopropanol o alcohol hexadecílico, glicoles, tal como propilenglicol o polietilenglicol, cetales de glicerol, tales como 2,2-dimetil-1,1-dioxolan-4-metanol, éteres, tales como poli(etilenglicol) 400, un aceite, un ácido graso, un éster de ácido graso, un glicérido de ácido graso o un glicérido acetilado de ácido graso, con o sin la adición de un agente tensioactivo farmacéuticamente aceptable, tal como un jabón o un detergente, un agente de suspensión, tal como pectina, carbómeros, meticelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa, o un agente emulsionantes, y otros coadyuvantes farmacéuticos.

Los ejemplos de aceites que pueden usarse en las

formulaciones parenterales de esta invención son los aceites de petróleo de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de maní, aceite de soja, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de vaselina y aceite mineral. Los ácidos grasos apropiados incluyen ácido oleico, ácido esteárico, ácido isoesteárico y ácido mirístico. Los ésteres de ácidos grasos apropiados son, por ejemplo, oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los jabones apropiados incluyen sales de ácidos grasos con metales alcalinos, amonio y trietanolamina, los detergentes apropiados incluyen detergentes catiónicos, por ejemplo, haluros de dimetil dialquil amonio, haluros de alquil piridinio y acetatos de alquilamina; detergentes aniónicos, por ejemplo, sulfonatos y sulfosuccinatos de alquilo, arilo y olefina, sulfatos de alquilo, olefina, éter y monoglicéridos; detergentes no iónicos, por ejemplo, óxidos de aminas grasas, alcanolamidas de ácidos grasos, y poli(oxietilen-oxipropileno), o copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno; y detergentes anfotéricos, por ejemplo, alquil-beta-aminopropionatos, y sales de amonio cuaternario de 2-alquilimidazolina, así como mezclas.

Las composiciones parenterales de esta invención típicamente contendrán entre aproximadamente 0,5% y aproximadamente 25% en peso de ingrediente activo en solución. También pueden usarse ventajosamente

preservadores y amortiguadores. Con el fin de minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, dichas composiciones pueden contener un agente tensioactivo no iónico que tenga un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) preferentemente de entre aproximadamente 12 y aproximadamente 17. La cantidad de agente tensioactivo en dicha formulación preferentemente varía entre aproximadamente 5% y aproximadamente 15% en peso. El agente tensioactivo puede ser un único componente con el HLB indicado previamente, o puede ser una mezcla de dos o más componentes con el HLB deseado.

Los agentes tensioactivos ilustrativos usados en las formulaciones parenterales son aquellos de la clase de los ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitano, por ejemplo, monooleato de sorbitano, y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con a una base hidrofóbica, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol.

Las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de suspensiones acuosas estériles inyectables. Dichas suspensiones pueden formularse de acuerdo con métodos conocidos, usando agentes dispersantes o humectantes, y agentes de suspensión apropiados, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes, que pueden ser un

fosfátido de ocurrencia natural, tal como la lecitina, un producto de condensación de un óxido de alquileno con un ácido graso, por ejemplo, estearato de polioxietileno, un producto de condensación de un óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga, por ejemplo, heptadeca-etilenoxietanol, un producto de condensación de un óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol, tal como monooleato de polioxietilen sorbitol, o un producto de condensación de un óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol, por ejemplo, monooleato de polioxietilen sorbitano.

La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o una suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico aceptable para el uso parenteral. Los diluyentes y los solventes que pueden emplearse son, por ejemplo, agua, solución de Ringer, soluciones isotónicas de cloruro de sodio y soluciones isotónicas de glucosa. Además, pueden emplearse comúnmente aceites fijos estériles como solventes o medios de suspensión. Con este propósito, puede emplearse cualquier aceite blando fijo, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, pueden usarse ácidos grasos, tales como ácido oleico, en la preparación de soluciones inyectables.

También puede administrarse una composición de la invención, bajo la forma de supositorios, para la administración rectal de la droga. Pueden prepararse estas

composiciones mezclando la droga con un excipiente no irritante apropiado, que sea sólido a temperaturas ordinarias, pero líquido a la temperatura del recto, y, de este modo, se funda en el recto para liberar la droga. Dichos materiales son, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicol.

Otra formulación empleada en los métodos de la presente invención utiliza dispositivos de administración transdérmica (“parches”). Pueden usarse dichos parches transdérmicos para obtener una infusión continua o discontinua de los compuestos de la presente invención en cantidades controladas. La construcción y el uso de parches transdérmicos para la administración de agentes farmacéuticos es bien conocida en la técnica (véase, por ejemplo, la Patente de los EEUU Nº 5023252, publicada el 11 de Junio de 1991, incorporada en la presente documentación a modo de referencia). Pueden construirse dichos parches para lograr una administración continua, pulsátil o basada en la demanda de los agentes farmacéuticos.

Las formulaciones de liberación controlada para administración parenteral incluyen formulaciones liposomales, formulaciones de microesferas poliméricas y formulaciones de geles poliméricos, que son conocidas en la técnica.

Puede ser deseable o necesario introducir la composición farmacéutica en el paciente mediante un dispositivo de administración mecánica. La construcción y

el uso de dispositivos de administración mecánica para la administración de agentes farmacéuticos son bien conocidos en la técnica. Las técnicas directas, por ejemplo, para administrar una droga directamente al cerebro, comprenden comúnmente la colocación de un catéter de administración de la droga en el sistema ventricular del paciente para superar la barrera hematoencefálica. Se describe uno de estos sistemas de administración por implantación, usado para transportar los agentes a regiones anatómicas específicas en el cuerpo, en la Patente de los EEUU N° 5011472, publicada el 30 de Abril de 1991.

Las composiciones de la invención también pueden contener otros ingredientes de composición convencionales farmacéuticamente aceptables, generalmente conocidos como vehículos o diluyentes, según sea necesario o se lo desee. Pueden usarse procedimientos convencionales para preparar dichas composiciones en formas de dosificación apropiadas. Dichos ingredientes y procedimientos incluyen a los que se describen en las siguientes referencias, cada una de las cuales se incorpora a la presente como referencia: Dichos ingredientes y procedimientos incluyen aquellos que se describen en las siguientes referencias, cada una de las cuales se incorpora en la presente documentación a modo de referencia: Powell, M.F. *et al,* “Compendium of Excipients for Parenteral Formulations” *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1998, 52(5), 238-311; Strickley, R.G “Parenteral Formulations of Small Molecule Therapeutics

Marketed in the United States (1999)-Part-1" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1999, 53(6), 324-349; y Nema, S. *et al*, "Excipients y Their Use in Injectable Products" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1997, 51(4), 166-171.

Los ingredientes farmacéuticos de uso común que pueden emplearse, según sea apropiado, para formular la composición destinada a una ruta de administración determinada, incluyen:

agentes acidificantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido acético, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido clorhídrico, ácido nítrico);

agentes alcalinizantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, soluciones de amonio, carbonato de amonio, dietanolamina, monoetanolamina, hidróxido de potasio, borato de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, trietanolamina, trolamina);

adsorbentes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, celulosa en polvo y carbón activado);

propelentes de aerosol (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, dióxido de carbono, CCl_2F_2, $F_2ClC-CClF_2$ y $CClF_3$);

agentes de desplazamiento aéreo (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, nitrógeno y argón);

preservadores antifúngicos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido benzoico, butilparaben, etilparaben, metilparaben, propilparaben, benzoato de sodio);

preservadores antimicrobianos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, fenol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico y timerosal);

antioxidantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido ascórbico, palmitato de asrcobilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, galato de propilo, ascorbato de sodio, bisulfito de sodio, sulfoxilato de formaldehído de sodio, metabisulfito de sodio);

materiales aglutinantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, polímeros de bloque, goma natural y sintética, poliacrilatos, poliuretanos, siliconas, polisiloxanos y copolímeros de estireno-butadieno);

agentes amortiguadores (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, metafosfato de potasio, fosfato de dipotasio, acetato de sodio, citrato de sodio anhidro y citrato de dihidrato de sodio);

agentes de transporte (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, jarabe de acacia, jarabe aromático, elixir aromático, jarabe de cereza, jarabe de cacao, jarabe de naranja, jarabe, aceite de maíz, aceite mineral, aceite de maní, aceite de sésamo, inyecciones bacteriostáticas de cloruro de sodio y agua bacteriostática para inyección);

agentes quelantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, edetato disódico y ácido edético);

colorantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, FD&C Rojo N° 3, FD&C Rojo N° 20, FD&C Yellow N° 6, FD&C Azul N° 2, D&C Verde N° 5, D&C Orange N° 5, D&C Rojo N° 8, caramelo y óxido férrico rojo);

agentes de transparentado (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, bentonita);

agentes emulsionantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, acacia, cetomacrogol, alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo, lecitina, monooleato de sorbitano, monostearato de polioxietileno 50);

agentes de encapsulamiento (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, gelatina y acetato de ftalato de celulosa);

saborizantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aceite de anís, aceite de canela, cacao, mentol, aceite de naranja, aceite de menta salvaje y vainillina);

humectantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, glicerol, propilenglicol y sorbitol);

agentes levigantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aceite mineral y glicerina);

aceites (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aceite de araquís, aceite mineral, aceite de oliva, aceite de maní, aceite de sésamo y aceite vegetal);

bases de ungüentos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, lanolina, ungüentos hidrofílicos, ungüentos de polietilenglicol, vaselina, vaselina hidrofílica, ungüento blanco, ungüento amarillo y ungüento de agua de rosa);

potenciadores de la penetración (administración transdérmica) (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, alcoholes monohidroxilados o polihidroxilados, alcoholes mono o polivalentes, alcoholes grasos saturados o no saturados, ésteres grasos saturados o no saturados, ácidos dicarboxílicos saturados o no saturados, aceites esenciales, derivados de fosfatidilo, cefalina, terpenos, amidas, éteres, cetonas y ureas);

plastificadores (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ftalato de dietilo y glicerol);

solventes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, glicerol, isopropanol, aceite mineral, ácido oleico, aceite de maní, agua purificada, agua para inyección, agua estéril para inyección y agua estéril para irrigación);

agentes endurecedores (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, alcohol cetílico, ceras de ésteres cetílicos, cera microcristalina, parafina, alcohol estearílico, cera blanca y cera amarilla);

bases para supositorios (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, manteca de cacao y polietilenglicoles (mezclas));

agentes tensioactivos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cloruro de benzalconio, nonoxinol 10, oxtoxinol 9, polisorbato 80, lauril sulfato de sodio y mono-palmitato de sorbitano);

agentes de suspensión (los ejemplos incluyen, sin

limitaciones, agar, bentonita, carbómeros, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, kaolina, metilcelulosa, tragacanto y goma vee);

agentes edulcorantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aspartame, dextrosa, glicerol, manitol, propilenglicol, sacarina de sodio, sorbitol y sacarosa);

antiadherentes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, estearato de magnesio y talco);

aglutinantes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, acacia, ácido algínico, carboximetilcelulosa de sodio, azúcar compresible, etilcelulosa, gelatina, glucosa líquida, metilcelulosa, polivinil pirrolidona no reticulada y almidón pregelificado);

diluyentes para tabletas y cápsulas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, fosfato de calcio dibásico, kaolina, lactosa, manitol, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, carbonato de calcio precipitado, carbonato de sodio, fosfato de sodio, sorbitol y almidón);

agentes de recubrimiento para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, glucosa líquida, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, acetato de ftalato de celulosa y shellac);

excipientes para la compresión directa de tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, fosfato de calcio dibásico);

desintegradores para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido algínico, carboximetilcelulosa de calcio, celulosa microcristalina, poloacrilina de potasio, polivinilpirrolidona reticulada, alginato de sodio, glicolato de almidón de sodio y almidón);

deslizantes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, sílice coloidal, almidón de maíz y talco);

lubricantes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, ácido esteárico y estearato de cinc);

opacantes para tabletas/cápsulas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, dióxido de titanio);

agentes de acabado de tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cera de carnuba y cera blanca);

agentes espesantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cera de abeja, alcohol cetílico y parafina);

agentes para proporcionar tonicidad (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, dextrosa y cloruro de sodio);

agentes para incrementar la viscosidad (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido algínico, bentonita, carbómeros, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, polivinil pirrolidona, alginato de sodio y tragacanto); y

agentes humectantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, heptadecaetilen oxicetanol, lecitinas, monooleato de sorbitol, monooleato de polioxietilen sorbitol, y estearato de polioxietileno).

Pueden ilustrarse las composiciones farmacéuticas de

acuerdo con la presente invención como se indica a continuación:

Puede prepararse una solución de 5 mg/ml del compuesto deseado de esta invención usando agua estéril para inyección, y puede ajustarse el pH según sea necesario. La solución se diluye para la administración a 1 – 2 mg/ml con dextrosa estéril 5% y se administra como una infusión IV sobre un período de 60 minutos aproximadamente.

A sterile preparation can be prepared with (i) 100 – 1000 mg of the desired compound of this invention as a lypholized powder, (ii) 32– 327 mg/mL sodium citrate, and (iii) 300 – 3000 mg Dextran 40. The formulation is reconstituted with sterile, injectable saline or dextrose 5% to a concentration of 10 to 20 mg/mL, which is further diluted with saline or dextrose 5% to 0.2 – 0.4 mg/mL, and is administered either IV bolus or by IV infusion over 15 – 60 minutes.

Puede prepararse la siguiente solución o suspensión para inyección intramuscular:

50 mg/ml del compuesto insoluble en agua deseado de esta invención

5 mg/ml de carboximetilcelulosa de sodio

4 mg/ml de TWEEN 80

9 mg/ml de cloruro de sodio

9 mg/ml de alcohol bencílico

Se prepara una gran cantidad de cápsulas rellenando cápsulas de gelatina convencionales de dos piezas con 100

mg de ingrediente activo en polvo, 150 mg de lactosa, 50 mg de celulosa y 6 mg de estearato de magnesio cada una.

Se prepara una mezcla de ingrediente activo en un aceite digerible, tal como aceite de soja, aceite de semilla de algodón o aceite de oliva, y se la inyecta por medio de una bomba de desplazamiento positivo en gelatina fundida, de modo de formar cápsulas de gelatina blandas que contienen 100 mg de ingrediente activo. Las cápsulas se lavan y secan. Puede disolverse el ingrediente activo en una mezcla de polietilenglicol, glicerina y sorbitol para preparar una mezcla medicinal miscible con agua.

Tabletas: Se prepara una gran cantidad de tabletas empleando procedimientos convencionales, de modo que la unidad de dosificación comprende 100 mg de ingrediente activo, 0,2 mg de dióxido de silicio coloidal, 5 mg de estearato de magnesio, 275 mg de celulosa microcristalina, 11 mg de almidón y 98,8 mg de lactosa. Pueden aplicarse recubrimientos acuosos y no acuosos apropiados para incrementar la palatabilidad, mejorar la elegancia y la estabilidad o demorar la absorción.

Tabletas/Cápsulas de liberación inmediata: Estas son formas de dosificación oral sólidas hechas mediante procesos convencionales y nuevos. Estas unidades se toman por vía oral sin agua para una disolución y una administración inmediata de la medicación. Se mezcla el ingrediente activo en un líquido que contiene un ingrediente, tal como azúcar, gelatina, pectina y

edulcorantes. Estos líquidos se solidifican en tabletas o cápsulas sólidas mediante técnicas de secado por congelamiento y extracción en estado sólido. Los compuestos de droga pueden comprimirse con azúcares y polímeros viscoelásticos y termoelásticos para producir matrices porosas de liberación inmediata que no requieren de agua.

Método para tratar cáncer

Dentro del contexto de la presente invención, el término “cáncer” incluye a, pero no como limitación, cáncer de mama, pulmón, cerebro, órganos reproductivos, tracto digestivo, tracto urinario, hígado, ojo, piel, cabeza y cuello, tiroides, paratiroides y sus metástasis distales. Estos trastornos también incluyen mieloma múltiple, linfomas, sarcomas y leucemias.

Los ejemplos de cáncer de mama incluyen, sin limitaciones, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal in situ y carcinoma lobular in situ.

Los ejemplos de cánceres del tracto respiratorio incluyen, sin limitaciones, carcinomas de las células pulmonares pequeñas y no pequeñas, así como adenomas bronquiales y blastomas pleuropulmonares.

Los ejemplos de cánceres de cerebro incluyen, sin limitaciones gliomas del tallo cerebral y el hipotálamo, astrocitoma cerebelar y cerebral, meduloblastoma, ependimoma, así como tumores neuroectodermales y pineales.

Los tumores de los órganos reproductivos masculinos

incluyen, sin limitaciones, cáncer de próstata y testicular. Los tumores de los órganos reproductivos femeninos incluyen, sin limitaciones, cáncer del endometrio, cervical, ovárico, vaginal y vulvar, así como sarcoma de útero.

Los tumores del tracto digestivo incluyen, sin limitaciones, cánceres anales, de colon, colorrectales, esofágico, de vejiga, gástricos, pancreáticos, rectales, del intestino delgado y de las glándulas salivales.

Los tumores del tracto urinario incluyen, pero en un sentido no limitativo, cáncer de vejiga, pene, riñón, pelvis renal, uréter, uretral y papilar renal humano.

Los cánceres oculares incluyen, sin limitaciones, melanoma intraocular y retinoblastoma.

Los ejemplos de cánceres hepáticos incluyen, sin limitaciones, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células hepáticas con o sin variantes fibrolamelares), colangiocarcinoma (carcinoma del conducto biliar intrahepático) y colangiocarcinoma hepatocelular mixto.

Los cánceres de piel incluyen, sin limitaciones, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer de células cutáneas de Merkel y cáncer cutáneo distinto del melanoma.

Los distintos tipos de cáncer de cabeza y cuello incluyen, pero en un sentido no limitativo, de laringe, de hipofaringe, nasofaringeo, orofaringeo, labio y de la cavidad oral y de células escamosas.

Los linfomas incluyen, pero en un sentido no limitativo, linfoma relacionado con SIDA, linfoma no Hodgkin, linfoma de linfocitos T cutáneo, linfoma de Burkitt, enfermedad de Hodgkin y linfoma del sistema nervioso central.

Los sarcomas incluyen, sin limitaciones, sarcoma de los tejidos blandos, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rabdomiosarcoma.

Las leucemias incluyen, sin limitaciones, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica y leucemia de las células pilosas.

La presente invención se relaciona con un método para usar la sal de la presente invención, para tratar cáncer, como se describe *infra*, particularmente NSCLC de mamífero, CRC, melanoma, cáncer pancreático, cáncer de mama o de hepatocito. La sal de la presente invención se puede utilizar para inhibir, bloquear, reducir, disminuir, etc., la proliferación celular y/o la división celular, y/o producir apoptosis, en el tratamiento o profilaxis de cáncer, en particular NSCLC, CRC, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama. Este método comprende administrar a un mamífero en necesidad del mismo, incluyendo un humano, una cantidad de una combinación de esta invención, o una sal, isómero, polimorfo, metabolito, hidrato, solvato o éster del mismo aceptable farmacéuticamente; etc. que es eficaz para el

tratamiento o profilaxis de cáncer, en particular NSCLC, CRC, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama.

El término “tratando” o “tratamiento”, según se estableció en todo este documento de usa de la manera convencional, por ejemplo, el manejo o cuidado de un sujeto con el propósito de combatir, aminorar, reducir, aliviar, mejorar la condición, etc., de una enfermedad o trastorno, tal como un carcinoma.

Dosis y administración

La dosificación eficaz de los compuestos de esta invención para el tratamiento de cada indicación deseada puede determinarse fácilmente en base a las técnicas de laboratorio estándar conocidas para evaluar los compuestos de utilidad en el tratamiento o profilaxis del cáncer, en particular cáncer de **pulmón** de células no pequeñas (NSCLC), cáncer colorrectal (CRC), melanoma, cáncer de páncreas, carcinoma hepatocítico o cáncer de mama, mediante pruebas de toxicidad estándar y mediante ensayos farmacológicos estándar para determinar el tratamiento de las condiciones identificadas previamente en mamíferos, y por comparación de estos resultados con los resultados de los medicamentos conocidos que se usan para tratar estas condiciones. La cantidad de ingrediente activo a administrar en el tratamiento de la condición puede variar ampliamente de acuerdo con dichas consideraciones, entre ellas, pero sin carácter limitativo, la combinación particular y la unidad

de dosificación empleada, el modo de administración, el período de tratamiento, la edad y el sexo del paciente tratado, y la naturaleza y la extensión de la condición a tratar.

La cantidad total de ingrediente activo que será administrada varía en general en el rango entre aproximadamente 0,001 mg/kg y aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal por día y preferentemente entre aproximadamente 0,01 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por día. Los programas de dosificación clínicamente útiles varían en un rango entre una dosificación de una a tres veces por día y una dosificación una vez cada cuatro semanas. Además, el "descanso de la droga" durante el cual un paciente no recibe dosis de la droga por un período de tiempo determinado, puede ser beneficioso para el balance global entre efecto farmacológico y la capacidad de tolerancia. Una dosificación unitaria puede contener entre aproximadamente 0,5 mg y aproximadamente 1,500 mg de ingrediente activo, y puede ser administrada una o más veces por día o menos que una vez por día. La dosificación diaria promedio para una administración por inyección, incluyendo inyecciones intravenosas, intramusculares, subcutáneas y parenterales, y el uso de técnicas de infusión, será preferiblemente de entre 0,01 y 200 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación diaria rectal promedio será preferiblemente de entre 0,01 y 200 mg/kg de peso corporal total. El

régimen de dosificación diaria vaginal promedio será preferiblemente de entre 0,01 y 200 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación diaria tópica promedio será preferiblemente de entre 0,1 y 200 mg, donde las dosis se administran entre una y cuatro veces por día. La concentración transdérmica será preferentemente la que se requiere para mantener una dosis diaria entre 0,01 y 200 mg/kg. El régimen de dosificación diaria promedio por inhalación comprenderá preferentemente entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal total.

El régimen de dosificación inicial y continuo específico para cada paciente varía de acuerdo con la naturaleza y severidad de la afección como lo podrá determinar el médico a cargo del paciente, con la actividad de la combinación específica empleada, la edad y condición general del paciente, el tiempo de administración, la ruta de administración, la velocidad de excreción de la droga, las sales de la droga y semejantes. El modo de tratamiento deseado y la cantidad de dosis de una combinación de la presente invención, o una sal, un éster o una composición farmacéuticamente aceptable de éste, pueden ser evaluados por aquellos versados en la técnica, usando pruebas de tratamiento convencionales.

Terapias que usan la sal de la presente invención: uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

La sal de la presente invención se puede administrar como agente farmacéutico único o en combinación con uno o

más de otros agentes farmacéuticos, en donde la combinación resultante de la sal de la presente invención y del agente farmacéutico adicional no causa no efectos adversos inaceptables. Por ejemplo, la sal de la presente invención se puede combinar con un componente C, *es decir* uno o más de otros agentes farmacéuticos, tal como agentes conocidos antiangiogénesis, antihiperproliferativos, antiinflamatorios, analgésicos, inmunoregulatorios, diuréticos, antiarrítmicos, antihipercolesterolemia, antidislipidemia, antidiabéticos o antivirales, y similares, así como también con mezclas y sales de los mismos.

El componente C puede ser uno o más agentes farmacéuticos tales como aldesleuquina, ácido alendrónico, alfaferona, alitretinoína, alopurinol, aloprim, aloxi, altretamina, aminoglutetimida, amifostina, amrubicina, amsacrina, anastrozol, anzmet, aranesp, arglabina, trióxido de arsénico, aromasina, 5-azacitidina, azatioprina, BCG o *tice* BCG, bestatina, acetato de betametasona, fosfato de betametasona sódica, bexaroteno, sulfato de bleomicina, broxuridina, bortezomib, busulfán, calcitonina, campat, capecitabina, carboplatino, casodex, cefesona, celmoleuquina, cerubidina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, cladribina, ácido clodrónico, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, DaunoXome, decadrón, fosfato de decadrón, delestrógeno, denileuquina diftitox, depo-medrol, deslorelina, dexametasona, dexrazoxano, dietilestilbestrol, diflucan, docetaxel,

doxifluridina, doxorubicina, dronabinol, DW-166HC, eligard, elitek, ellence, emend, epirubicina, epoetina alfa, epógeno, eptaplatino, ergamisol, estrace, estradiol, fosfato de estramustina sódica, etinilestradiol, etiol, ácido etidrónico, etopofos, etopósido, fadrozol, farstón, filgrastim, finasteride, fligrastim, floxuridina, fluconazol, fludarabina, monofosfato de 5-fluorodeoxiuridina, 5-fluorouracilo (5-FU), fluoximesterona, flutamida, formestane, fosteabine, fotemustina, fulvestrant, gammagard, gemcitabine, gemtuzumab, gleevec, gliadel, goserelina, granisetrón HCl, histrelina, hicamtina, hidrocortona, eritro-hidroxinoniladenina, hidroxiurea, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, interferón alfa, interferón-alfa 2, interferón alfa-2A, interferón alfa-2B, interferón alfa-n1, interferón alfa-n3, interferón beta, interferón gamma-1a, interleuquina-2, intrón A, iressa, irinotecan, kitrilo, sulfato de lentinan, letrozol, leucovorina, leuprolida, acetato de leuprolida, lenalidomida, levamisol, sal de calcio del ácido levofolínico, levotroide, levoxilo, lomustine, lonidamina, marinol, mecloretamina, mecobalamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, menest, 6-mercaptopurina, Mesna, metotrexato, metvix, miltefosina, minociclina, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, Modrenal, Miocet, nedaplatino, neulasta, neumega, neupogen, nilutamida, nolvadex, NSC-631570, OCT-43, octreotida, ondansetrón HCl, orapred,

oxaliplatino, paclitaxel (cuando el componente B no es precisamente paclitaxel), pediapred, pegaspargase, Pegasis, pentostatina, picibanilo, pilocarpina HCl, pirarubicina, plicamicina, porfímero sódico, prednimustina, prednisolona, prednisona, premarina, procarbazina, procrit, raltitrexed, rebif, etidronato de renio-186, rituximab, roferón-A, romurtida, salagen, sandostatina, sargramostim, semustina, sizofiran, sobuzoxano, solu-medrol, ácido esparfósico, terapia con células madre, estreptozocina, cloruro de estroncio-89, sintroide, tamoxifeno, tamsulosina, tasonermin, tastolactona, taxotere, teceleuquina, temozolomida, tenipósido, propionato de testosterona, testred, tioguanina, tiotepa, tirotropina, ácido tiludrónico, topotecan, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, treosulfán, tretinoína, trexal, trimetilmelamina, trimetrexato, acetato de triptorelina, pamoato de triptorelina, UFT, uridina, valrubicina, vesnarinona, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, virulizina, zinecard, estimalamer zinostatina, zofrán, ABI-007, acolbifeno, actinmune, afinitak, aminopterina, arzoxifeno, asoprisnilo, atamestano, atrasentán, BAY 43-9006 (sorafenib), avastina, CCI-779, CDC-501, celebrex, cetuximab, crisnatol, acetato de ciproterona, decitabina, DN-101, doxorubicina-MTC, dSLIM, dutasterida, edotecarina, eflornitina, exatecan, fenretinide, diclorhidrato de histamina, implantae de hidrogel de histrelina, holmio-166 DOTMP, ácido

ibandrónico, interferón gamma, intrón-PEG, ixabepilona, hemocianina de lapa, L-651582, lanreotide, lasofoxifeno, libra, lonafarnib, miproxifeno, minodronato, MS-209, MTP-PE liposómico, MX-6, nafarelina, nemorubicina, neovastat, nolatrexed, oblimersen, onco-TCS, osidem, paclitaxel poliglutamato, pamidronato disódico, PN-401, QS-21, quazepam, R-1549, raloxifeno, ranpirnase, ácido 13-cis-retinoico, satraplatino, seocalcitol, T-138067, tarceva, taxoprexina, talidomida, timosina alfa 1, tiazofurina, tipifarnib, tirapazamina, TLK-286, toremifeno, TransMID-107R, valspodar, vapreotide, vatalanib, verteporfina, vinflunina, Z-100, ácido zoledrónico o sales de éstos.

En una forma de realización de la presente invención, el componente C puede ser uno o más de los siguientes: 131I-chTNT, abarelix, abiraterona, aclarubicina, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoina, altretamina, aminoglutetimida, amrubicina, amsacrina, anastrozol, arglabina, trióxido arsénico, asparaginasa, azacitidina, basiliximab, BAY 80-6946, BAY 1000394, BAY 86-9766 (RDEA 119), belotecan, bendamustina, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bisantreno, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfan, cabazitaxel, folinato de calcio, levofolinato de calcio, capecitabina, carboplatino, carmofur, carmustina, catumaxomab, celecoxib, celmoleuquina, cetuximab, clorambucil, clormadinona, clormetina, cisplatino, cladribina, ácido clodrónico, clofarabina, crisantaspasa, ciclophosfamida, ciproterona,

citarabina, dacarbazina, dactinomicina, darbepoetina alfa, dasatinib, daunorubicina, decitabina, degarelix, denileuquina diftitox, denosumab, deslorelina, dibrospidio cloruro, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, doxorubicina + estrona, eculizumab, edrecolomab, acetato de eliptinio, eltrombopag, endostatina, enocitabina, epirubicina, epitiostanol, epoetina alfa, epoetina beta, eptaplatino, eribulina, erlotinib, estradiol, estramustina, etopósido, everolimus, exemestano, fadrozol, filgrastim, fludarabina, fluorouracilo, flutamida, formestano, fotemustina, fulvestrant, nitrato de galio, ganirelix, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, glutoxim, goserelina, diclorhidrato de histamina, histrelina, hidroxicarbamida, semillas de I-125, ácido ibandrónico, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, imatinib, imiquimod, improsulfan, interferón alfa, interferón beta, interferón gama, ipilimumab, irinotecan, ixabepilona, lanreotida, lapatinib, lenalidomida, lenograstima, lentinan, letrozol, leuprorelina, levamisol, lisurida, lobaplatino, lomustina, lonidamina, masoprocol, medroxiprogesterona, megestrol, melpalan, mepitiostano, mercaptopurina, metotrexato, metoxsalen, Metil aminolevulinato, metiltestosterona, mifamurtida, miltefosina, miriplatino, mitobronitol, mitoguazona, mitolactol, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nedaplatino, nelarabina, nilotinib, nilutamida, nimotuzumab, nimustina, nitracrina, ofatumumab, omeprazol, oprelvequina, oxaliplatino, terapia génica para

p53, paclitaxel, palifermina, semilla de paladio-103, ácido pamidrónico, panitumumab, pazopanib, pegaspargasa, PEG-epoetina beta (metoxi PEG-epoetina beta), pegfilgrastima, peginterferón alfa-2b, pemetrexed, pentazocina, pentostatina, peplomicina, perfosfamida, picibanilo, pirarubicina, plerixafor, plicamicina, poliglusam, fosfato de poliestradiol, polisacárido-K, porfimero sódico, pralatrexato, prednimustina, procarbazina, quinagolida, raloxifeno, raltitrexed, ranimustina, razoxano, regorafenib, ácido risedrónico, rituximab, romidepsina, romiplostim, sargramostim, sipuleucel-T, sizofirano, sobuzoxano, glicididazol sódico, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, talaporfina, tamibaroteno, tamoxifeno, tasonermina, teceleuquina, tegafur, tegafur + gimeracilo + oteracilo, temoporfin, temozolomida, temsirolimus, tenipósido, testosterona, tetrofosmina, talidomida, tiotepa, timalfasina, tioguanina, tocilizumab, topotecan, toremifeno, tositumomab, trabectedina, trastuzumab, treosulfan, tretinoina, trilostano, triptorelina, trofosfamida, triptofano, ubenimex, valrubicina, vandetanib, vapreotido, vemurafenib, vinblastina, vincristina, vindesina, vinflunina, vinorelbina, vorinostat, vorozol, microesfereas de vidrio con ytrii-90, zinostatina, zinostatina estimalamero, ácido zoledrónico, zorubicina.

Como alternativa, dicho componente C puede ser uno o más de otros agentes farmacéuticos que se eligen de

gemcitabina, paclitaxel (cuando el componente B no es el mismo paclitaxel), cisplatino, carboplatino, butirato de sodio, 5-FU, doxirubicina, tamoxifeno, etopósido, trastumazab, gefitinib, intrón A, rapamicina, 17-AAG, U0126, insulina, un derivado de insulina, un ligando de PPAR, una droga sulfonilurea, un inhibidor de α-glucosidasa, una biguanida, un inhibidor de PTP-1B, un inhibidor de DPP-IV, un inhibidor de 11-beta-HSD, GLP-1, un derivado de GLP-1, GIP, un derivado de GIP, PACAP, un derivado de PACAP, secretina o un derivado de secretina.

Como alternativa, dicho componente C puede ser uno o más agentes farmacéuticos que se eligen de: un taxano, tal como Docetaxel, Paclitaxel, o Taxol; una epotilona, tal como Ixabepilona, Patupilona, o Sagopilona; Mitoxantrona; Predinisolona; Dexametasona; Estramustina; Vinblastino; Vincristina; Doxorubicina; Adriamicina; Idarubicina; Daunorubicina; Bleomicina; Etopósido; Ciclofosfamida; Ifosfamida; Procarbazina; Melfalan; 5-Fluorouracilo; Capecitabina; Fludarabina; Citarabina; Ara-C; 2-Cloro-2´-deoxiadenosina; Tioguanina; un antiandrógeno, tal como Flutamida, acetato de Ciproterona, o Bicalutamida; Bortezomib; un derivado de platino, tal como Cisplatino, o Carboplatino; Clorambucil; Methotrexato; y Rituximab.

Los agentes anti-hiperproliferativos opcionales que pueden agregarse como componente C a la combinación de la sal de la presente invención incluyen, sin limitaciones, los compuestos indicados para los regímenes de

quimioterapia del cáncer en la 11ª edición de *Merck Index*, (1996), que se incorpora en la presente documentación a modo de referencia, tales como asparraginasa, bleomicina, carboplatina, carmustina, clorambucilo, cisplatina, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, doxorrubicina (adriamicina), epirrubicina, etopósido, 5-fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxiurea, ifosfamida, irinotecan, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazina, raloxifen, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, topotecan, vinblastina, vincristina y vindesina.

Otros agentes antihiperproliferativos apropiados para usarse como componente C con la combinación de la sal de la presente invención incluyen, sin limitaciones, aquellos compuestos que pueden usarse en el tratamiento de enfermedades neoplásticas, según se indica en *Goodman y Gilman's: The Pharmacological Basis de Therapeutics* (novena edición), editado por Molinoff et al., publicado por McGraw-Hill, páginas 1225-1287, (1996), que se incorpora en la presente documentación a modo de referencia, tales como aminoglutetimida, L-asparraginasa, azatioprina, 5-azacitidina, cladribina, busulfan, dietilstilbestrol, 2'0,2'-difluorodeoxicitidina, docetaxel, eritroidroxi-noniladenina, etinil estradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluorodeoxiuridina, fosfato de

fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, interferón, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalan, mitotano, paclitaxel (cuando el componente B no es precisamente paclitaxel), pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetilmelamina, uridina y vinorelbina.

Otros agentes antihiperproliferativos apropiados para usarse como componente C con la combinación de la sal de la presente invención incluyen, sin limitaciones, otros agentes anticáncer, tales como epotilona y sus derivados, irinotecan, raloxifeno y topotecan.

En general, el uso de agentes citotóxicos y/o citostáticos como componente C en combinación con la sal de la presente invención contribuirá a:

(1) obtener una mayor eficacia en la reducción del crecimiento de un tumor, o aún permitirá eliminar el tumor, en comparación con la administración de cada agente por separado,

(2) poder administrar menores cantidades de los agentes quimioterapéuticos empleados,

(3) proporcionar un tratamiento quimioterapéutico que sea bien tolerado en el paciente, con menos complicaciones farmacológicas perjudiciales que las observadas con quimioterapias con agentes individuales y otras terapias de combinación,

(4) poder tratar un espectro más amplio de distintos tipos de cáncer en mamíferos, especialmente humanos,

(5) obtener una tasa de respuesta más elevada entre los pacientes tratados,

(6) obtener un tiempo de supervivencia más largo entre los pacientes tratados, en comparación con los tratamientos quimioterapéuticos convencionales,

(7) lograr un tiempo de progresión tumoral más prolongado, y/u

(8) obtener resultados de eficacia y tolerabilidad al menos tan buenos como los obtenidos con el uso de los agentes por separado, en comparación con las instancias conocidas donde otras sales de agentes anti-cáncer produzcan efectos de antagonismo.

SECCIÓN BIOLÓGICA

Ensayo Radiactivo de Quinasas Lipídicas PI3Kα y PI3Kβ

El ensayo bioquímico de p110α es un ensayo radiactivo que mide la incorporación de ^{33}P en el sustrato p110α, fosfatidilinositol (PI). Este ensayo es una modificación de un ensayo desarrollado en el RCK (Fuchikami *et al*., 2002). Se expresaron las proteínas p110α marcada con His truncada en el N-terminal (ΔN 1-108) y p110β con la misma modificación (ΔN 1-108) careciendo del dominio de unión a p85 en células Sf9 y se purificaron a un pureza >50%. Para la generación de las curvas de IC_{50}, se llevó a cabo la reacción en un formato de 384 pocillos usando placas

MaxiSorp bajo las siguientes condiciones. Se recubrieron las placas con 2 µg/pocillo de una proporción molar 1:1 de fosfatidilinositol (PI: Avanti #840042C) y fosfatidilserina (PS: Avanti #840032C) diluidos en cloroformo. Se dejó evaporar el solvente orgánico almacenando las placas en la campana de extracción durante una noche. Luego se sellaron las placas con sellos para placa de mylar y se almacenaron hasta un mes a 4°C hasta que fue necesario. Se agregaron 7,5 ng de proteína p110α truncada purificada a cada pocillo, con 9 µL de solución amortiguadora de reacción (MOPSO 50 mM a pH7,0, NaCl 100 mM, $MgCl_2$ 4 mM, 0,1% (p/v) de BSA) excepto en los pocillos de control negativo que recibieron solución amortiguadora de reacción solamente. Se transfirió un microlitro de cada compuesto de prueba en DMSO desde las diluciones madres para generar una respuesta a dosis de ocho puntos (0,0, 0,003, 0,01 0,03, 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 y 10 µM final de concentración de compuesto BAY). Las reacciones se comenzaron mediante el agregado de 5 µL de una solución de ATP 40 µM con 20 µCi/ml de [γ-^{33}P]-ATP y se dejaron proceder durante dos horas a temperatura ambiente con mezclado suave. Las reacciones se terminaron mediante el agregado de 5 µL de una solución madre de EDTA 25 mM. Se lavaron las placas con un lavador para placas de 384 pocillos en solución amortiguadora sin detergente y se agregaron 25 µL de mezcla de centelleo UltimaGold a cada pocillo. Se determinó la radioactividad incorporada en el sustrato PI inmovilizado con un BetaPlate Liquid

Scintillation Counter. Se calculó la inhibición usando la siguiente ecuación:

% de inhibición = $1-(T_{cpm} - B_{cpm})/(P_{cpm}- B_{cpm})$ X 100.

T_{cpm} = ^{33}P-cpm en presencia de compuesto de prueba

B_{cpm} = ^{33}P-cpm en control de fondo (sin enzima)

P_{cpm} = ^{33}P-cpm en control de enzima p110 (sin inhibidor)

Los valores de IC_{50} para la base libre y la sal de diclorhidrato en los ensayos bioquímicos de p110α y p110β se resumen en la Tabla A. Los dos compuestos mostraron actividades similares en ambos ensayos bioquímicos para PI3Kα y PI3Kβ. La potencia levemente superior con la forma de sal de diclorhidrato podría ser debida a una mejor solubilidad.

Tabla A. Actividad de la base libre y la sal de diclorhidrato en los ensayos de PI3Kα y PI3Kβ

Compuesto	PI3Kα IC_{50} (M)	PI3Kβ IC_{50} (M)
base libre	4,96E-10	3,72E-09
Sal de diclorhidrato	1,23E-10	1,00E-09

Ensayos de proliferación

La proliferación celular se determina usando el conjunto de elementos para viabilidad de células luminescentes Cell Titer-Glo de Promega (cat. #G7573) después de 72 horas de exposición a las drogas. Brevemente, se plaquearon las células a entre 500 y 1000 células/pocillo de placas de 384 pocillos en medio de crecimiento de 25 µL. Para cada línea celular evaluada, las

células se plaquean sobre una placa separada para determinar la luminescencia en los tiempos t = 0 horas y t = 72 horas. Después de incubar durante la noche a 37 °C, se determinaron los valores de luminescencia para las muestras de t = 0 por adición de 25 µl de solución Cell Titer-Glo por cavidad, transferencia de las placas a un agitador orbital durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego lectura de las placas con un contador HTS para múltiples marcas Wallac Victor2 1420 usando la ventanade luminometría (la máxima detección de luz se mide a 428 nM). Las placas de dosis para los tiempos de t = 72 horas se trataron con compuestos diluidos en medio de crecimiento en un volumen final de 30 µl. Las células se incubaron luego durante 72 horas a 37 oC. Los valores de luminescencia para las muestras de t = 72 horas se determinaron por adición de 30 µl de solución Promega CellTiter-Glo, introducción de las células en un agitador por 10 minutos a temperatura ambiente y luego lectura de la luminescencia usando un luminómetro Victor. Para el procesamiento de los datos, brevemente, los valores de t = 0 se restan de los valores determinados para los tiempos de t = 72 horas, para muestras tratadas y no tratadas. Las diferencias porcentuales en la luminescencia entre tratados con droga y controles se usan para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento.

En un panel de 16 líneas celulares de tumor que cubren 6 indicaciones de cáncer, tanto la base libre como la sal

de diclorhidrato mostraron potentes actividades antiproliferativas y la diferencia en los valores de IC_{50} fue menos de 3 veces en todas las líneas celulares de tumor ensayadas. Estos datos indican claramente que la sal de diclorhidrato retiene la actividad antitumoral de la base libre.

Tabla B. Actividad antiproliferativa de la base libre y el diclorhidrato en ensayos de proliferación de líneas celulares tumorales

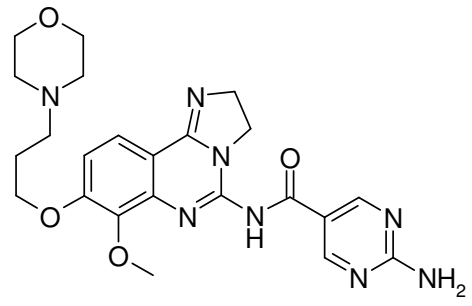
Línea celular	Tejido	IC50 de base Libre (nM)	IC50 de sal de clorhidrato(nM)	Proporción de IC50
KPL4	Mama	3	3	1,0
BT474		5	10	0,5
T47D		6	2	2,8
BT20		6	2	3,1
MCF7		27	9	3,0
MDA-MB-468		760	256	3,0
SK-Br-3		2	1	1,5
LNCaP	Próstata	69	67	1,0
PC3		100	90	1,1
Colo205	Colon	48	110	0,4
HT29		27	10	2,7
HCT116		56	72	0,8
A549	Pulmón	37	44	0,8
H460		46	67	0,7
U87MG	Cerebro	85	85	1,0
786O	Riñón	116	247	0,5

Referencia:

Fuchikami K, Togame H, Sagara A, Satoh T, Gantner F, Bacon KB, Reinemer P. J Biomol Screen. 7(5):441-50 (2002). A versatile high-throughput screen for inhibitors of lipid kinase activity: development of an immobilized phospholipid plate assay for phosphoinositide 3-kinase gamma.

REIVINDICACIONES

1. Sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



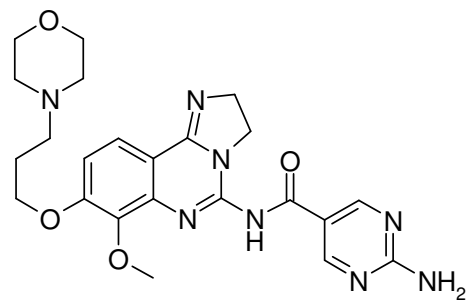
. 2 HCl

(II),

o un solvato, hidrato o tautómero de la misma.

2. La sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de acuerdo a la reivindicación 1, que está en forma cristalina.

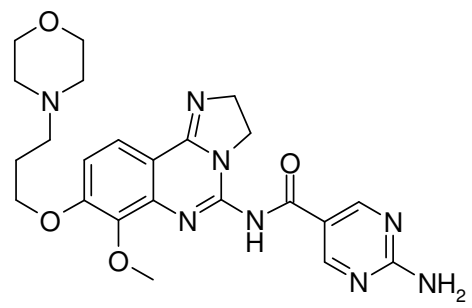
3. Un método para preparar la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho método comprende agregar ácido clorhídrico a un compuesto de Fórmula (I):



I),

preferentemente en suspensión,

formando de esa manera dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde dicho método comprende

a) agregar ácido clorhídrico, tal como solución acuosa de ácido clorhídrico (32%) por ejemplo, a una suspensión de dicho compuesto de Fórmula (I) en un medio, tal como agua por ejemplo, a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a una temperatura de 20 °C (+-2°), hasta que se alcance un pH de entre 3 y 4;

b) agitar la mezcla resultante a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, durante un período de tiempo, tal como durante más de 10 minutos por ejemplo; y, opcionalmente

c) separar por filtración el sólido resultante y lavar el filtro de la torta, tal como con agua por ejemplo, ajustar luego el pH del filtrado a entre pH 1,8 y 2,0 usando ácido clorhídrico, tal como solución acuosa de ácido clorhídrico (32%) por ejemplo; y, opcionalmente,

d) agitar la mezcla durante un período de tiempo, tal como 10 minutos por ejemplo, a una temperatura entre el

punto de congelamiento y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, agregar etanol, seguido por agitación adicional durante un período de tiempo, tal como durante 10 minutos por ejemplo; y, opcionalmente,

e) agregar cristales de siembra, opcionalmente seguido por agregado de etanol a lo largo de un período de tiempo tal como de 5 horas por ejemplo; y, opcionalmente,

f) separar por filtración el diclorhidrato de fórmula (II) resultante, opcionalmente lavar con una mezcla de agua etanol y opcionalmente secar, tal como *in vacuo* por ejemplo, proveyendo de esa forma la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 3, CARACTERIZADO PORQUE dicho método comprende

a) agregar dicho ácido clorhídrico a dicho compuesto de Fórmula (I) en acetona/agua o etanol/agua por ejemplo; y, luego, opcionalmente,

b) calentar a una temperatura entre el punto de ebullición y el punto de congelación de la mezcla, tal como a entre 40 y 60 °C por ejemplo, tal como a 50 °C por ejemplo, durante un período de tiempo preferentemente de entre 0,2 y 2 horas por ejemplo, tal como durante 0,5 horas por ejemplo; luego, opcionalmente,

c) calentar adicionalmente a una temperatura entre el punto de ebullición y el punto de congelación de la mezcla, tal como a entre 30 y 40 °C por ejemplo, tal como a

35°C por ejemplo, durante un período de tiempo tal como entre 1 y 4 horas por ejemplo, con agitación opcional de dicha suspensión a una temperatura de entre el punto de ebullición y el punto de congelación de la mezcla, tal como entre 10 y 45 °C por ejemplo, tal como a 35°C por ejemplo, durante un período de tiempo preferentemente de entre 12 y 72 horas por ejemplo, tal como durante 72 horas por ejemplo, opcionalmente seguido por agitación de dicha suspensión a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, durante un período de tiempo de entre 0 y 4 horas, tal como 2 horas por ejemplo; y, opcionalmente,

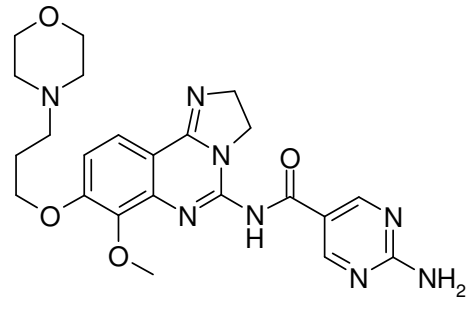
d) filtrar, opcionalmente lavar y secar,

proveyendo de ese modo la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2.

6. El método de acuerdo a la reivindicación 3 ó 5, en donde dicho ácido clorhídrico es solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (HCl al 36%) y se agrega a dicho compuesto de Fórmula (I) en una mezcla de acetona/agua (8:2 v/v), seguido por calentamiento a una temperatura de 50 °C, durante un período de tiempo de 0,5 horas, luego seguido por calentamiento adicional, a una temperatura de 35 °C, durante un período de tiempo de 72 horas, luego con agitación de dicha suspensión a una temperatura como temperatura ambiente, durante un período de tiempo de 2 horas, seguido por filtración, lavado con

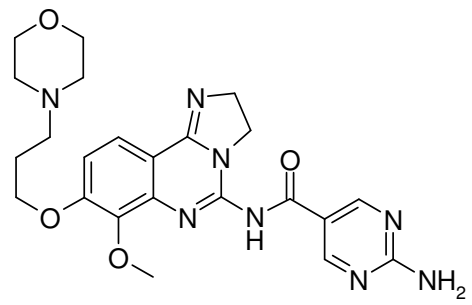
una mezcla de acetona/agua, y secado en un horno de vacío (por ejemplo a 40 °C, 100 mbar, 16 horas), proveyendo de ese modo dicha sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2.

7. Uso de un compuesto de Fórmula (I):



I),

para la preparación de la sal de diclorhidrato de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

8. La sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2, para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad.

9. Uso de la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2 para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular, de un trastorno hiperproliferativo o de la angiogénesis, más particularmente, para el tratamiento o

profilaxis de un cáncer, en particular cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanona, cáncer de páncreas, carcinoma hepatocítico o cáncer de mama.

10. Uso de la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2 para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad que se elige de un trastorno hiperproliferativo y/o angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocitos, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama.

11. Una composición farmacéutica que comprende la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2.

12. Una composición farmacéutica que comprende la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2, y un agente farmacéutico adicional.

13. Una combinación farmacéutica que comprende la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2, y uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

14. La combinación farmacéutica de acuerdo a la reivindicación 11, en donde dicho agente farmacéutico adicional se elige de: 131I-chTNT, abarelix, abiraterona, aclarubicina, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoina, altretamina, aminoglutetimida, amrubicina, amsacrina, anastrozol, arglabina, trióxido arsénico, asparaginasa,

azacitidina, basiliximab, BAY 80-6946, BAY 1000394, BAY 86-9766 (RDEA 119), belotecan, bendamustina, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bisantrene, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfan, cabazitaxel, folinato de calcio, levofolinato de calcio, capecitabina, carboplatino, carmofur, carmustina, catumaxomab, celecoxib, celmoleukina, cetuximab, clorambucil, clormadinona, clormetina, cisplatino, cladribina, ácido clodrónico, clofarabina, crisantaspasa, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, darbepoetina alfa, dasatinib, daunorubicina, decitabina, degarelix, denileukin diftitox, denosumab, deslorelina, dibrospidio cloruro, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, doxorubicina + estrona, eculizumab, edrecolomab, eliptinio acetato, eltrombopag, endostatina, enocitabina, epirubicina, epitiostanol, epoetina alfa, epoetina beta, eptaplatino, eribulina, erlotinib, estradiol, estramustina, etopósido, everolimus, exemestano, fadrozol, filgrastim, fludarabina, fluorouracil, flutamida, formestano, fotemustina, fulvestrant, nitrato de galio, ganirelix, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, glutoxim, goserelina, histamina diclorhidrato, histrelina, hidroxicarbamida, semillas de I-125, ácido ibandrónico, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, imatinib, imiquimod, improsulfan, interferón alfa, interferón beta, interferón gama, ipilimumab, irinotecano, ixabepilona, lanreotida, lapatinib, lenalidomida, lenograstim, lentinan, letrozol,

leuprorelina, levamisol, lisuride, lobaplatino, lomustina, lonidamina, masoprocol, medroxiprogesterona, megestrol, melfalan, mepitiostano, mercaptopurina, metotrexato, metoxsaleno, metil aminolevulinato, metiltestosterona, mifamurtida, miltefosina, miriplatino, mitobronitol, mitoguazona, mitolactol, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nedaplatino, nelarabina, nilotinib, nilutamida, nimotuzumab, nimustina, nitracrina, ofatumumab, omeprazol, oprelvekina, oxaliplatino, terapia génica para p53, paclitaxel, palifermina, semilla de paladio-103, ácido pamidrónico, panitumumab, pazopanib, pegaspargasa, PEG-epoetina beta (metoxi PEG-epoetina beta), pegfilgrastim, peginterferón alfa-2b, pemetrexed, pentazocina, pentostatina, peplomicina, perfosfamida, picibanil, pirarubicina, plerixafor, plicamicina, poliglusam, poliestradiol fosfato, polisacárido-K, porfímero de sodio, pralatrexato, prednimustina, procarbazina, quinagolide, raloxifeno, raltitrexed, ranimustina, razoxano, regorafenib, ácido risedrónico, rituximab, romidapsina, romiplostim, sargramostim, sipuleucel-T, sizofiran, sobuzoxano, glicididazol de sodio, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, talaporfin, tamibaroteno, tamoxifeno, tasonermina, teceleukina, tegafur, tegafur + gimeracil + oteracil, temoporfina, temozolomida, temsirolimus, tenipósido, testosterona, tetrofosmin, talidomida, tiotepa, timalfasin, tioguanina, tocilizumab, topotecan, toremifeno, tositumomab, trabectedina,

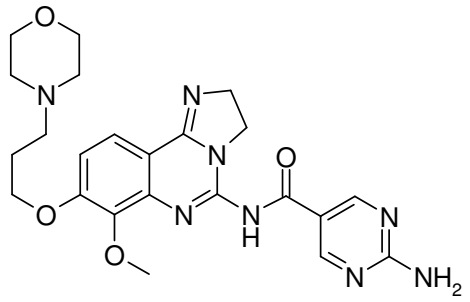
trastuzumab, treosulfan, tretinoina, trilostano, triptorelina, trofosfamida, trptofano, ubenimex, valrubicina, vandetanib, vapreotido, vemurafenib, vinblastina, vincristina, vindesina, vinflunina, vinorelbina, vorinostat, vorozol, microesferas de vidrio de ytrio-90, zinostatina, zinostatina estimalamero, ácido zoldrónico, zorubicina.

15. Un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocitos, carcinoma de hepatocitos o cáncer de mama, en un sujeto, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la sal de diclorhidrato de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2.

SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA

RESUMEN

Sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma;

- métodos para preparar dicha sal de diclorhidrato;

- dicha sal de diclorhidrato para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

- uso de dicha sal de diclorhidrato para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocitos, carcinoma de hepatocitos o cáncer de mama;

- composición farmacéutica que comprende dicha sal de diclorhidrato; y

- combinación farmacéutica que comprende dicha sal de

diclorhidrato en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

FIGURA 1

Espectro IR del diclorhidrato de fórmula (II)

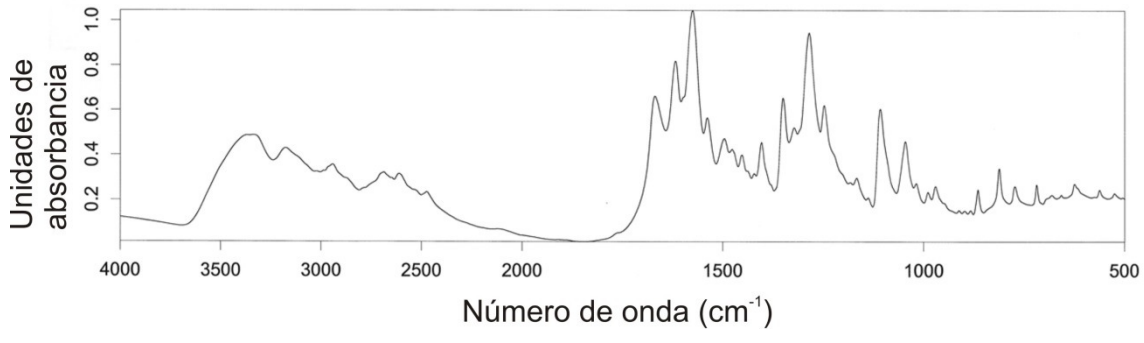


FIGURA 2

Espectro Raman del diclorhidrato de fórmula (II)

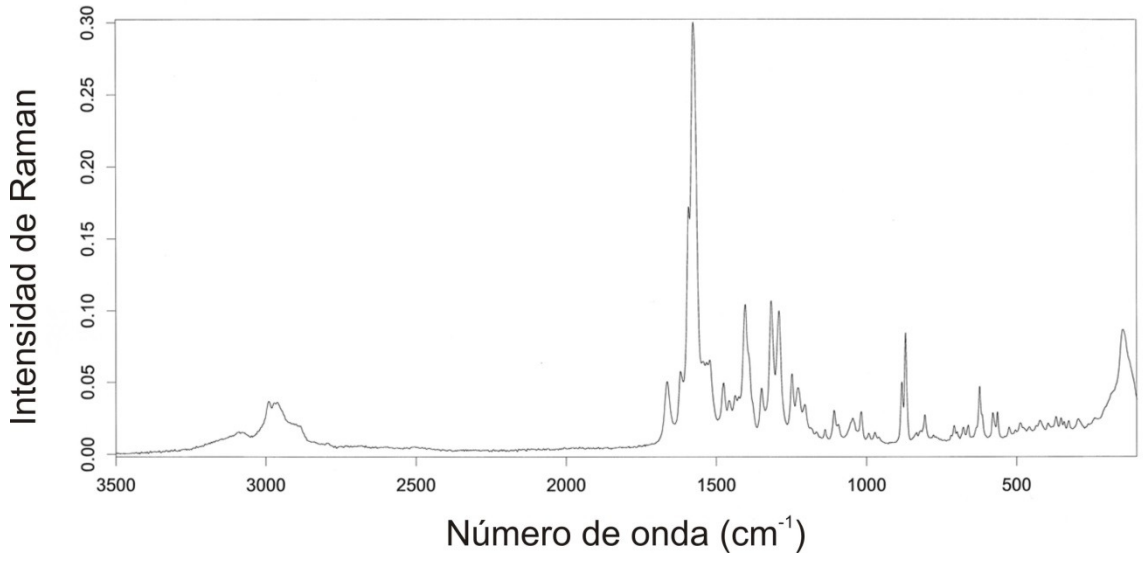


FIGURA 3

Espectro UV/VIS del diclorhidrato de fórmula (II)

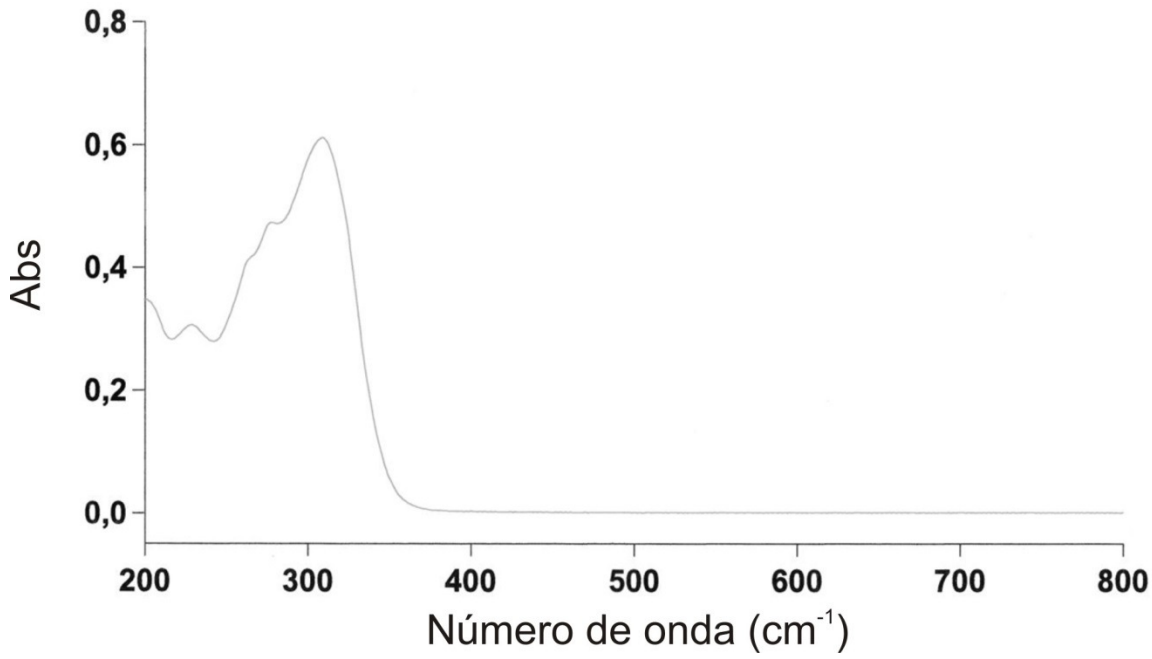
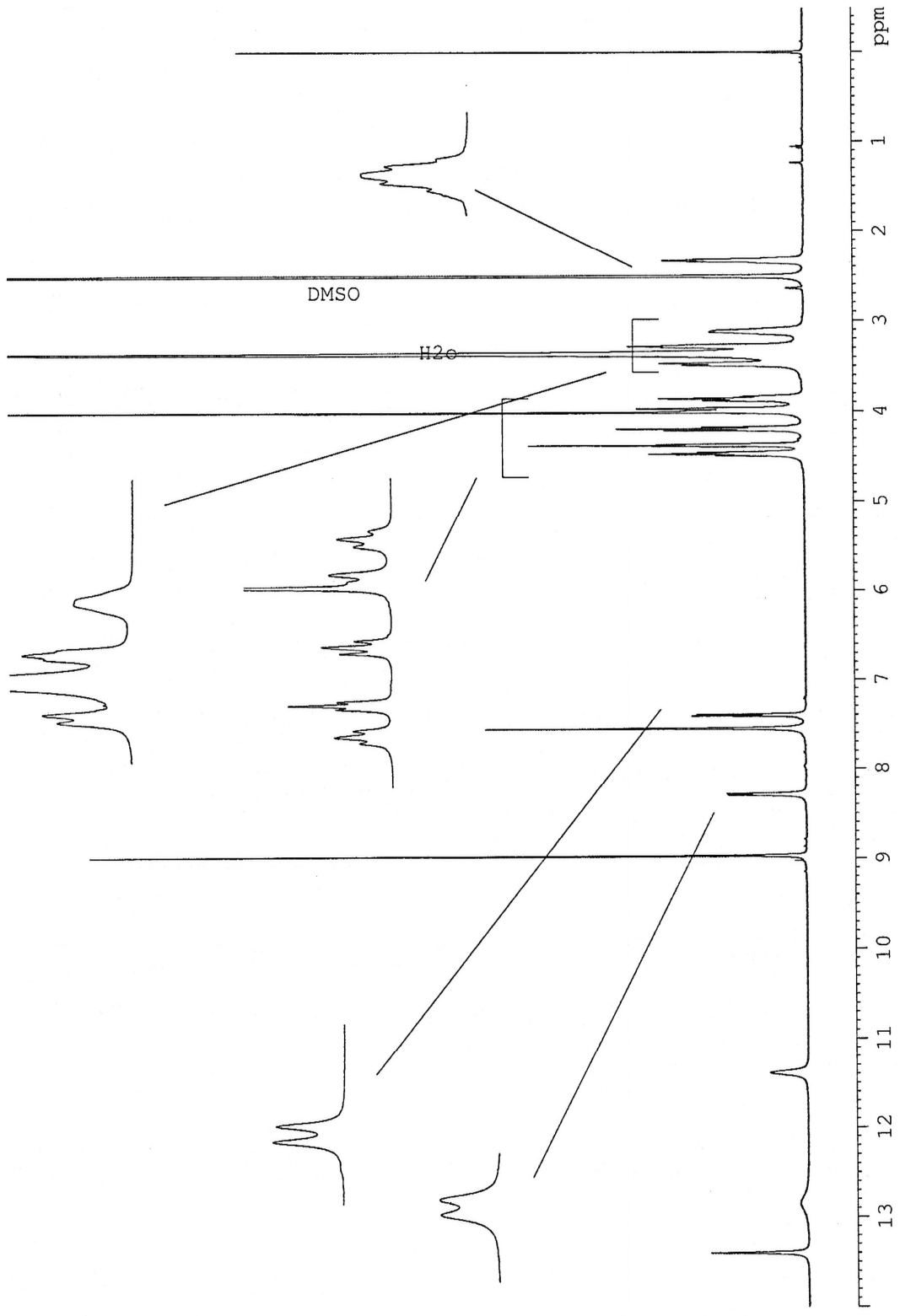


FIGURA 4



Espectro ^{1}H-RMN del diclorhidrato de fórmula (II)

FIGURA 5

Espectro ^{13}C-RMN del diclorhidrato de fórmula (II)

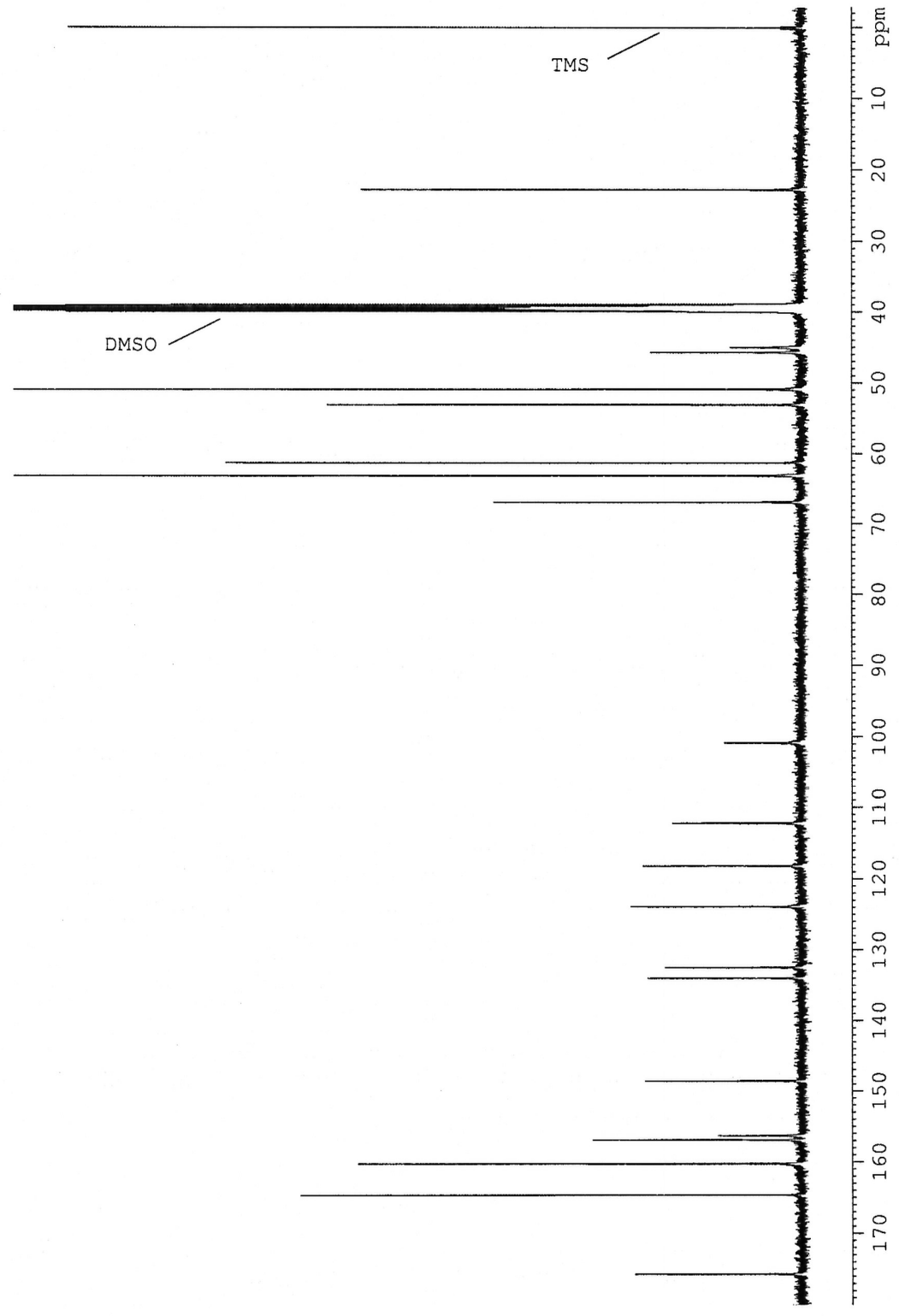


FIGURA 6

Espectro ^{13}C-RMN del diclorhidrato de fórmula (II)

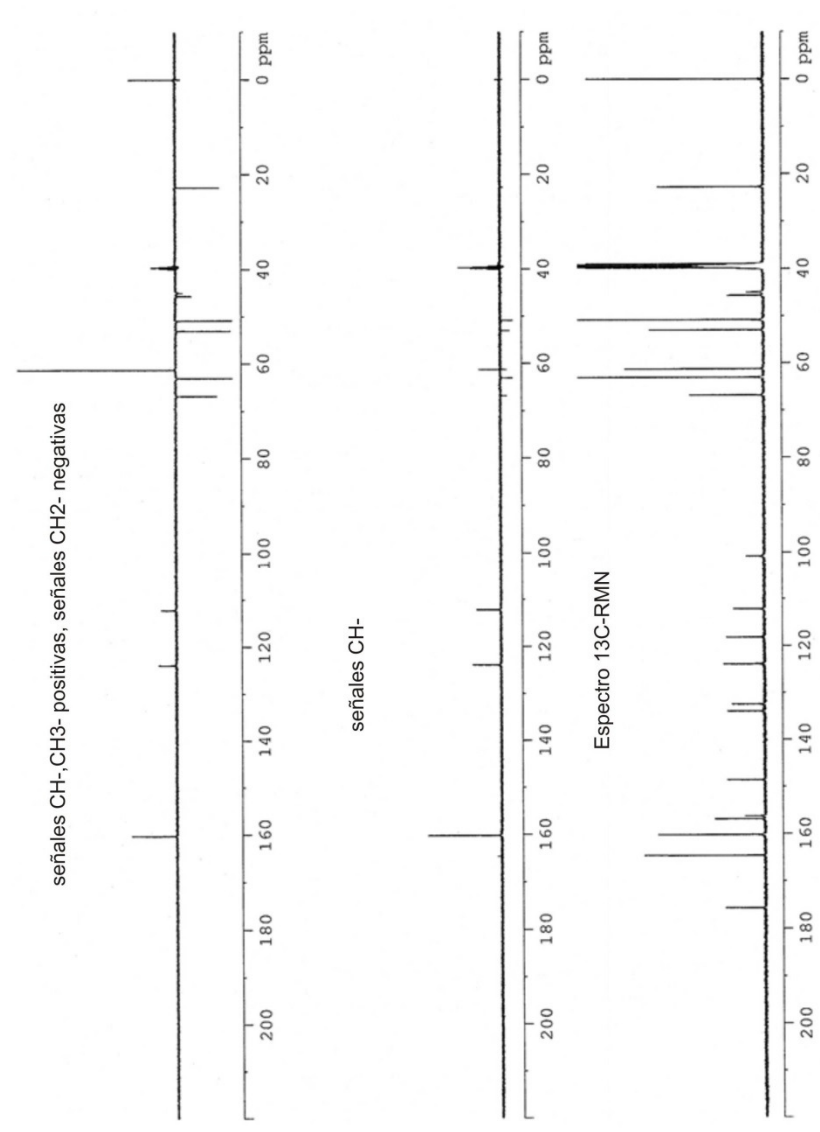
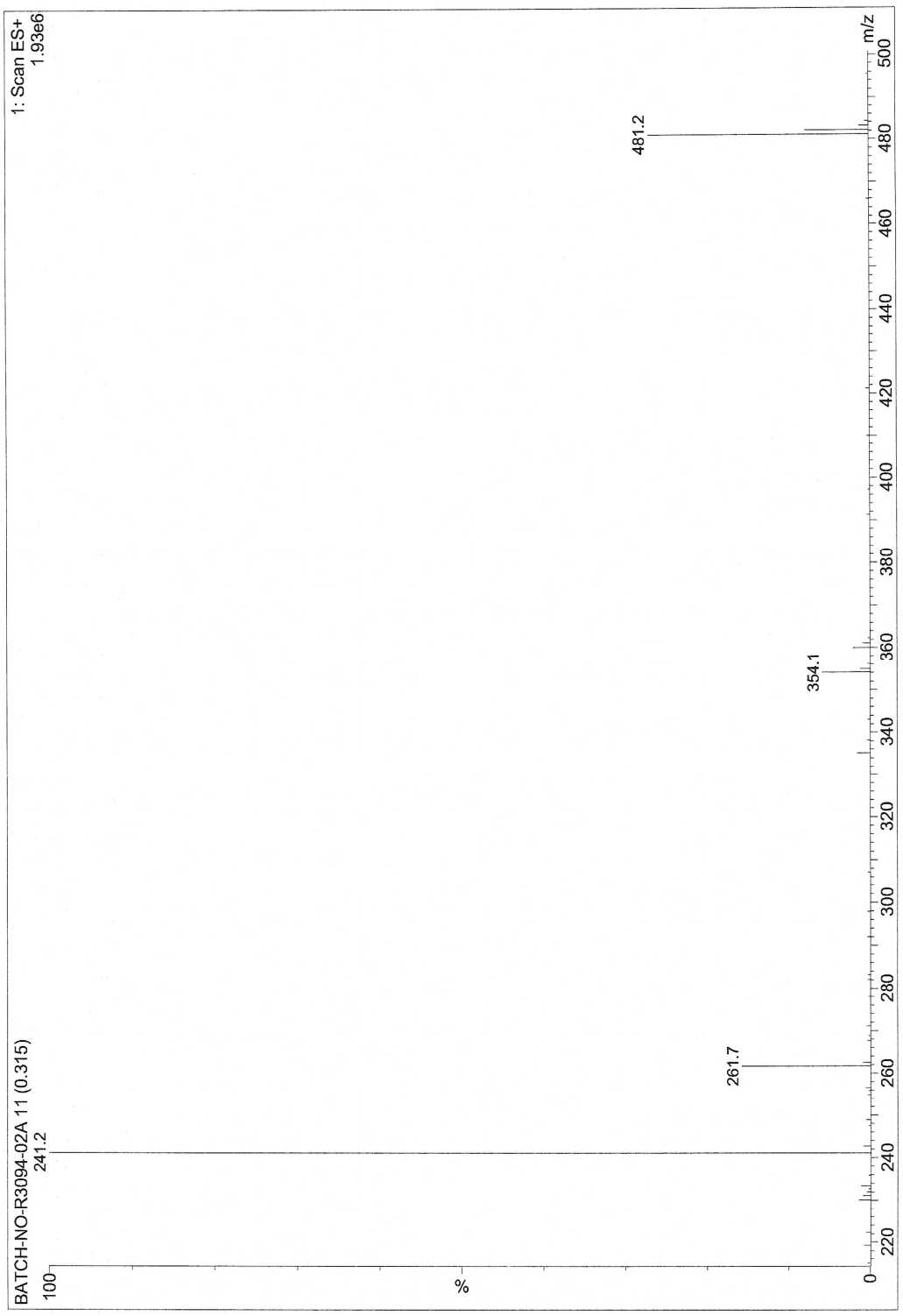


FIGURA 7

Espectro de masas del diclorhidrato de fórmula (II)



TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT

Notificación de registro de una modificación

(regla PCT 92bis.1 e Instrucciones Administrativas , sección 422)

A:

BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
Creative Campus Monheim
Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim
ALEMANIA

Fecha de envío (*día/mes/año*):
01 de octubre de 2012 (01.10.2012)

Referencia del solicitante o del agente:
BHC103074-WO

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Solicitud Internacional Nº:
PCT/EP 2012/055600

Fecha de presentación internacional (*día/mes/año*):
29 de marzo de 2012 (29.03.2012)

1. Las siguientes indicaciones aparecen en los registros concernientes a:

☒ el solicitante ☐ el inventor ☐ el agente ☐ el representante común

Nombre y dirección:

BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT
Müllerstrasse 178
13353 Berlín
ALEMANIA

País de Nacionalidad: *DE*
País de Residencia: *DE*
Teléfono Nº:
Facsímil Nº:
Dirección de E-mail

2. La Oficina Internacional notifica por este medio al solicitante que se registró la siguiente modificación, concerniente a:

☒ la persona ☐ el nombre ☐ el domicilio ☐ la nacionalidad ☐ la residencia

Nombre y dirección:

BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim
ALEMANIA

País de Nacionalidad: *DE*
País de Residencia: *DE*
Teléfono Nº:
Facsímil Nº:
Dirección de E-mail

☐ Se autoriza notificar por E-mail

3. Otras observaciones, si son necesarias:

El representante común también ha sido cambiado, como está indicado en el campo de la dirección en la cabecera de este formulario.

4. Se envía una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina receptora
☐ el Organismo de Búsqueda Internacional
☐ el Organismo especificado para búsquedas suplementarias
☐ el Organismo de Examen Preliminar Internacional
☐ las Oficinas designadas concernientes
☐ las Oficinas seleccionadas concernientes
☐ otros:

La Oficina Internacional de WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Suiza

Facsímil Nº: +41 22 338 82 70

Funcionario autorizado:
Nissen Diana
e-mail: diana.nissen@wipo.int
Teléfono Nº: *+41 22 338 8054*

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	**FOR FURTHER ACTION**	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
BHC103074-WO		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/EP2012/055600	29/03/2012	05/04/2011
Applicant		
BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

[X] It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**
   a. With regard to the **language,** the international search was carried out on the basis of:
      [X] the international application in the language in which it was filed
      [ ] a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))
   b. [ ] This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).
   c. [ ] With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. [ ] **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. [ ] **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title,**
   [X] the text is approved as submitted by the applicant
   [ ] the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract,**
   [X] the text is approved as submitted by the applicant
   [ ] the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings,**
   a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
      [ ] as suggested by the applicant
      [ ] as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
      [ ] as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
   b. [X] none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/055600

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D487/04 A61K31/519 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/070150 A1 (BAYER PHARMACEUTICALS CORP [US]; HENTEMANN MARTIN [US]; WOOD JILL [US]) 12 June 2008 (2008-06-12) cited in the application page 22, lines 22-24 example 13 claims 37,40-43	1-15
A	EP 2 168 582 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]) 31 March 2010 (2010-03-31) page 13, lines 24,25 page 16, lines 22,23,27 page 18, lines 1,2 claims 1,2,28	1-15

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 July 2012	30/07/2012

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Seitner, Irmgard

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/055600

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/034414 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]; LIU NINGSHU [DE]) 1 April 2010 (2010-04-01) page 36, lines 15-18 page 80, lines 18,19; claim 28 -----	1-15

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/055600

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008070150 A1	12-06-2008	AR 064106 A1	11-03-2009
		AU 2007328008 A1	12-06-2008
		CA 2671614 A1	12-06-2008
		CL 35082007 A1	04-07-2008
		CN 101631464 A	20-01-2010
		CO 6220908 A2	19-11-2010
		CR 10838 A	05-11-2009
		CU 20090103 A7	28-12-2011
		DO P2009000135 A	30-06-2009
		EA 200900733 A1	30-12-2009
		EC SP099387 A	30-11-2009
		EP 2096919 A1	09-09-2009
		JP 2010511718 A	15-04-2010
		KR 20090096440 A	10-09-2009
		MA 31283 B1	01-04-2010
		NZ 577342 A	12-01-2012
		PA 8759601 A1	09-02-2009
		PE 14442008 A1	29-11-2008
		SG 177170 A1	30-01-2012
		SV 2009003288 A	02-10-2009
		TW 200840582 A	16-10-2008
		US 2011083984 A1	14-04-2011
		UY 30761 A1	03-07-2008
		WO 2008070150 A1	12-06-2008
		ZA 200904691 A	29-09-2010
EP 2168582 A1	31-03-2010	NONE	
WO 2010034414 A1	01-04-2010	CA 2737999 A1	01-04-2010
		EP 2168583 A1	31-03-2010
		EP 2344164 A1	20-07-2011
		JP 2012503611 A	09-02-2012
		US 2011251191 A1	13-10-2011
		WO 2010034414 A1	01-04-2010

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

PCT

Informe de Búsqueda Internacional

(Artículo PCT 18, así como reglas PCT 43 y 44)

Referencia del solicitante o del agente	**PROCEDER**	Ver notificación formulario PCT/ISA/220, así como, en tanto corresponda, el punto 5.abajo
BHC103074-WO		
Solicitud Internacional Nº:	Fecha de presentación Internacional (*día/mes/año*)	Fecha de prioridad (la más antigua) (*día/mes/año*)
PCT/EP 2012/055600	*29/03/2012*	*05/04/2011*
Solicitante		
BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT		

Este Informe de Búsqueda Internacional fue elaborado por el Organismo de Búsqueda Internacional y, de acuerdo con el artículo 18, es enviado al solicitante. Se envía una copia a la Oficina Internacional.

Este informe de búsqueda Internacional comprende, en total, *4* hojas.

☒ Además se adjunta una copia de cada uno de los documentos del estado de la técnica mencionados en este informe

1. **Fundamentos del Informe**

   a. Con respecto al idioma, la búsqueda internacional fue llevada a cabo sobre la base de:

      ☒ la solicitud internacional en el idioma en que fue presentada

      ☐ una traducción de la solicitud internacional al , que es el idioma de una traducción suministrada a los fines de la búsqueda internacional (reglas 12.3(a) y 23.1 (b)).

   b. ☐ Este informe de búsqueda internacional ha sido confeccionado teniendo en consideración la **rectificación** d**e un error obvio**, autorizada por o notificada a este organismo según la regla 91 (regla 43.6*bis*(b))

   c. ☐ Con respecto a los **nucleótidos y/o aminoácidos** revelados en la solicitud internacional, ver campo Nº 1

2. ☐ **Determinadas reivindicaciones no eran investigables** (ver campo II)**.**

3. ☐ **La invención carece de unidad** (ver campo III)**.**

4. Con respecto **al título**,

   ☒ se aprueba el texto suministrado por el solicitante.

   ☐ el texto fue establecido por el organismo como sigue:

5. Con respecto al **resumen**,

   ☒ se aprueba el texto presentado por el solicitante.

   ☐ el texto fue establecido por el organismo, de acuerdo con la regla 38.2 b), en la versión indicada en el campo IV. El solicitante puede presentar una posición ante el organismo durante el transcurso de un mes a partir de la fecha de envío de este Informe de Búsqueda Internacional.

6. Con respecto a las **ilustraciones**

   a. Con el resumen se debe publicar la siguiente figura de Las **ilustraciones**: figura Nº --.

      ☐ sugerida por el solicitante.

      ☐ seleccionada por el organismo, dado que el mismo solicitante no sugiere ninguna figura.

      ☐ seleccionada por el organismo, dado que esta figura caracteriza mejor la invención.

   b. ☒ con el resumen no se publica ninguna de las ilustraciones

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional Nº:
PCT/EP 2012/055600

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD
INV. C07D 487/04 A61K 31/519 A61P 35/00
ADD.

Según la clasificación internacional de patentes (IPC) o las clasificaciones nacional e IPC

B. ÁMBITOS INVESTIGADOS

Documentación mínima investigada (Sistema de clasificación y símbolos de clasificación)

C07D A61K A61P

Publicaciones investigadas pero no pertenecientes al material mínimo investigado, en tanto pertenezcan al ámbito investigado

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y expresiones de búsqueda eventualmente empleadas)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría°	Denominación de la publicación, así como, de ser apropiado, indicación de los pasajes relevantes	Relevante para reivindicación Nº:
A	*WO 2008/070150 A1 (BAYER PHARMACEUTICALS CORP [US]; HENTEMANN MARTIN [US]; WOOD JILL [US])* *12 de junio de 2008 (2008-06-12)* *mencionado en la solicitud* *página 22, renglones 22-24* *ejempo 13* *reivindicaciones 37, 40-43* ––––– *EP 2 168 582 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE])* *31 de marzo de 2010 (2010-03-31)* *página 13, renglones 24-25* *página 16, renglones 22, 23, 27* *página 18, renglones 1, 2* *reivindicaciones 1,2,28* ––––– –––––/////–––––	*1–15* *1-15*

☒ Otras publicaciones están listadas en la continuación del campo C

☒ Ver familia de patentes en el anexo

° Categorías particulares indicadas en publicaciones
"A" publicación que define el estado general de la técnica pero no considerada como particularmente importante
"B" documento anterior pero publicado recién o después de la de la fecha de presentación internacional
"L" publicación adecuada para hacer aparecer como dudosa una reivindicación de prioridad, o mediante la cual debe ser considerada la fecha de divulgación de otra publicación mencionada en el informe de búsqueda o que es indicada por otra razón particular (como realizada)
"O" publicación que se refiere a una revelación oral, a una utilización, a una exposición o a otras disposiciones
"P" publicación realizada antes de la fecha de presentación internacional pero luego de la fecha de prioridad reivindicada
"T" publicaciones posteriores a las difundidas en la fecha de presentación internacional o de la fecha de prioridad y que no colisionan con la solicitud, sino que solo están indicadas para mayor entendimiento del principio fundamental de la invención o de la teoría sobre la cual se basa
"X" publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada, solo como consecuencia de esta publicación, como novedosa o apoyarse en una actividad inventiva
"Y" publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada como apoyada en una actividad inventiva cuando puede ser relacionada con una o varias otras publicaciones de esta categoría y tal relación es notoria para un especialista
"&" publicación que es miembro de la misma familia

Fecha de finalización de la búsqueda internacional	Fecha de envío del Informe de Búsqueda Internacional
5 de julio de 2012	*30/07/2012*

lNombre y Dirección Postal del ISA
Oficina de Patentes Europea–P.B. 5818 Patentlaan2
NL-2280 HV Rijswijk – Países Bajos
Tel.: +31 70 340 - 2040; Tx: 31651 epo nl
Fax: +31 70 340 – 3016

Funcionario autorizado
Seitner, Irmgard

C. (continuación) ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría°	Denominación de la publicación, así como, de ser requerido, indicación de los pasajes relevantes	Referente a la reivindicación Nº
A	*WO 2010/034414 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]; LIU NINGSHU [DE])* *1 de abril de 2010 (2010-04-01)* *página 36, renglones 15-18* *página 80, renglones 18, 19; reivindicación 28* – – – – –	*1-15*

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
Información de miembros de la familia de patentes

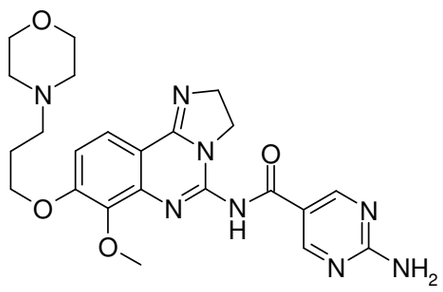
Solicitud Internacional Nº:
PCT/EP 2012/055600

Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda	Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de la publicación
WO 2008070150 A1	12-06-2008	AR 064106 A1	11-03-2009
		AU 2007328008 A1	12-06-2008
		CA 2671614 A1	12-06-2005
		CL 35082007 A1	04-07-2008
		CN 101631464 A	20-01-2010
		CO 6220908 A2	19-11-2010
		CR 10838 A	05-11-2009
		CU 20090103 A7	28-12-2011
		DO P2009000135 A	30-06-2009
		EA 200900733 1	30-12-2009
		EC SP0993887 A	30-11-2009
		EP 2096919 A1	09-09-2009
		JP 2010511718 A	15-04-2010
		KR 20090096440 A	10-09-2009
		MA 31283 B1	01-04-2010
		NZ 577342 A	12-01-2012
		PA 8759601 A1	09-02-2009
		PE 14442008 A1	29-11-2008
		SG 177170 A1	30-01-2012
		SV 2009003288 A	02-10-2009
		TW 200840582 A	16-10-2008
		US 2011083984 A	14-04-2011
		UY 30761 A1	03-07-2008
		WO 2008070150 A1	12-06-2008
		ZA 200904691 A	29-09-2010
EP 2168582 A1	31-03-2010	NINGUNO	
WO 2010034414 A1	01-04-2010	CA 2737999 A1	01-04-2010
		EP 2168583 A1	31-03-2010
		EP 2344164 A1	20-07-2011
		JP 2012503611 A	09-02-2012
		US 2011251191 A1	13-10-2011
		WO 2010034414 A1	01-04-2010

CAPÍTULO REIVINDICATORIO

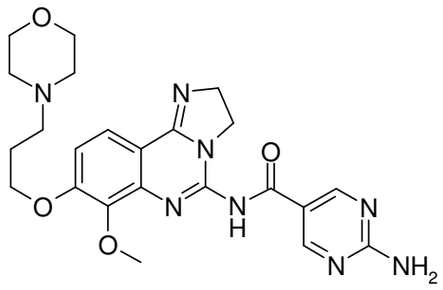
(Solicitud Divisional)

1. Un método para preparar la sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



(II)

o un tautómero de la misma, caracterizado porque comprende agregar ácido clorhídrico a un compuesto de Fórmula (I):



(I),

en suspensión,
formando de esa manera dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II).

2. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado porque comprende

a) agregar ácido clorhídrico, a una suspensión de dicho compuesto de Fórmula (I) en agua a una temperatura de 20 °C (+-2°), hasta que se alcance un pH de entre 3 y 4;
b) agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente y,
c) separar por filtración el sólido resultante y lavar el filtro de la torta con agua, ajustar luego el pH del filtrado a un pH entre 1,8 y 2,0 usando ácido clorhídrico, y,
d) agitar la mezcla a temperatura ambiente, agregar etanol, seguido por agitación adicional y,

e) agregar cristales de siembra, seguido por agregado de etanol a lo largo de un período de tiempo de 5 horas y,

f) separar por filtración el diclorhidrato de fórmula (II) resultante, lavar con una mezcla de agua etanol y secar, proveyendo de esa forma la sal de diclorhidrato.

3. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado porque comprende

a) agregar dicho ácido clorhídrico a dicho compuesto de Fórmula (I) en acetona/agua o etanol/agua y, luego,

b) calentar a una temperatura entre 40 y 60 °C; luego,

c) calentar adicionalmente a una temperatura entre 30 y 40 °C, durante un período de tiempo entre 1 y 4 horas, con agitación de dicha suspensión a una temperatura de entre 10 y 45 °C durante un período de tiempo de entre 12 y 72 horas seguido por agitación de dicha suspensión a temperatura ambiente durante un período de tiempo de entre 0 y 4 horas,

d) filtrar, lavar y secar, proveyendo de ese modo la sal de diclorhidrato.

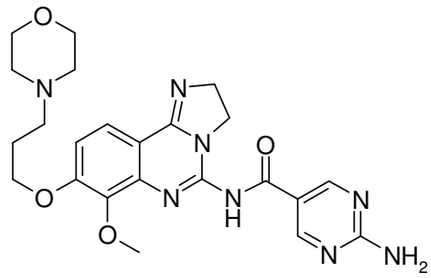
4. El método de acuerdo a la Reivindicación 1 o 3, caracterizado porque dicho ácido clorhídrico es solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (HCl al 36%) y se agrega a dicho compuesto de Fórmula (I) en una mezcla de acetona/agua (8:2 v/v), seguido por calentamiento a una temperatura de 50 °C, durante un período de tiempo de 0,5 horas, luego seguido por calentamiento adicional, a una temperatura de 35 °C, durante un período de tiempo de 72 horas, luego con agitación de dicha suspensión a la temperatura ambiente, durante un período de tiempo de 2 horas, seguido por filtración, lavado con una mezcla de acetona/agua, y secado en un horno de vacío (a 40 °C, 100 mbar, 16 horas), proveyendo de ese modo dicha sal de diclorhidrato.

****

SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA

La presente invención se relaciona:

- con sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma,

(la cual se denomina a continuación como “la sal de la presente invención” o la “sal de diclorhidrato”);

- con métodos para preparar dicha sal de la presente invención;

- con dicha sal de la presente invención para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

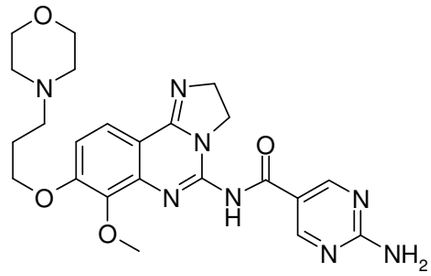
- con el uso de dicha sal de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito, o cáncer de mama;

- con una composición farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención; y

– con una combinación farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Compuesto de la fórmula (I)



(I),

(el cual se denomina a continuación como el “compuesto de Fórmula (I)” o la “base libre”), es un agente para cáncer patentado con un mecanismo de acción novedoso, que inhibe las fosfatidilinositol-3-quinasas de Clase I (PI3K). Esta clase de quinasas es un blanco atractivo debido a que PI3K tiene un rol central en la transducción de señales celulares de los receptores de superficie para supervivencia y proliferación. El compuesto de Fórmula (I) exhibe un amplio espectro de actividad frente a tumores de múltiples tipos histológicos, *in vitro* e *in vivo*.

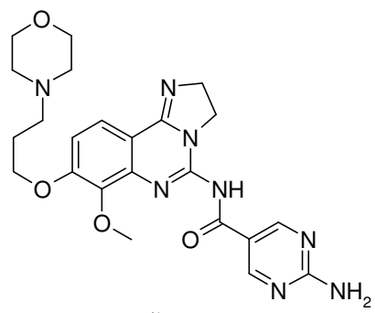
Dicho compuesto de Fórmula (I) puede ser sintetizado de acuerdo a los métodos dados en la solicitud de patente internacional PCT/EP2003/010377, publicada como WO 04/029055 A1 el 08 de Abril de 2004, (que se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia), en la página 26 y siguientes.

Adicionalmente, dicho compuesto de Fórmula (I) se publica en la solicitud de patente internacional

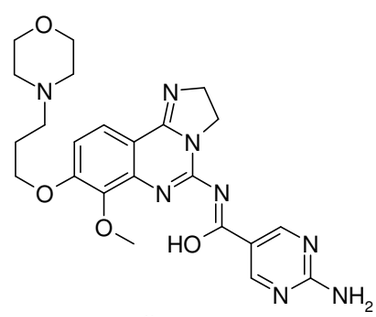
PCT/US2007/024985, publicada como WO 2008/070150 A1 el 12 de Junio de 2008, (que se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia), como el compuesto del Ejemplo 13: 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida. Además, dicho compuesto de Fórmula (I) se describe, en WO 2008/070150, en la página 9 y siguientes, y puede ser sintetizado de acuerdo a los métodos dados allí en la página 42 y siguientes. Los datos biológicos para dicho compuesto de Fórmula (I) se dan allí en la página 0 a 107

Dicho compuesto de Fórmula (I) puede existir en una o más formas tautoméricas: tautómeros, a veces referidos como tautómeros por transferencia de protón, son dos o más compuestos que están relacionados por la migración de un átomo de hidrógeno acompañado por la migración de uno o más enlaces únicos y uno o más enlaces dobles adyacentes.

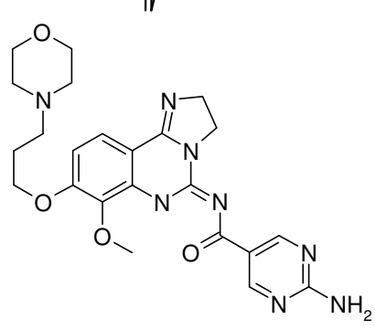
El compuesto de Fórmula (I) puede por ejemplo existir en forma tautomérica (Ia), forma tautomérica (Ib), o forma tautomérica (Ic), o puede existir como una mezcla de cualquiera de estas formas, como se describe más abajo. Se pretende que todas dichas formas tautoméricas estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.



(Ia)



(Ib)



(Ic)

Dicho compuesto de Fórmula (I) puede existir como un solvato: a los efectos de esta invención, un solvato es un complejo de un solvente y un compuesto de la fórmula (I) en el estado sólido. Los ejemplos de solvatos incluyen, pero en un sentido no limitativo, complejos de un compuesto de la invención con etanol o metanol.

Dicho compuesto de Fórmula (I) puede existir como un hidrato: Los hidratos son una forma específica de solvato en donde el solvente es agua.

Problema técnico a ser solucionado:

En general, para un dado compuesto farmacéutico dado,

se desean formas farmacéuticamente aceptables de dicho dado compuesto farmacéuticamente activo, con el objeto de aumentar la eficacia farmacéutica de dicho compuesto farmacéuticamente activo, por ejemplo mejorar las características físicas, tales como estabilidad química, estabilidad física, solubilidad *in vivo*, mejorar la absorción del compuesto farmacéuticamente activo *in vivo, etc*. Adicionalmente, una sustancia droga podría idealmente venir en una forma cristalina estable que se pueda producir de un modo confiable. Las formas amorfas o cristalinas de bajo orden (por ejemplo formas mesomórficas) son menos atractivas ya que tienen el riesgo de un cambio de forma posterior y cambios de las propiedades físicas.

Sin embargo, dicho compuesto de Fórmula (I) (el cual es una base libre) podría ser sólo preparado en una forma mesomórfica que es estable en forma sólida, pero inestable a 70°C en solución acuosa ácida y corre el riesgo mencionado anteriormente de un cambio de forma posterior.

La formación de una forma de sal cristalina de la base libre (I) podría resolver el problema mencionado anteriormente una vez que las propiedades de esta forma son ventajosas respecto a las propiedades de la base libre (I). En los esfuerzos de los inventores por preparar formas de sal cristalinas de (I) los mismos experimentaron que la preparación de formas de sal cristalinas de (I) no es tan fácil como uno esperaría de un compuesto que tiene centros básicos.

Adicionalmente, el compuesto de Fórmula (I) exhibe muy baja solubilidad en agua y mayor parte de solventes

orgánicos. Con dos centros muy básicos (Tabla I, véase más adelante), la solubilidad se mejora fuertemente en medio ácido. Consecuentemente, la purificación de y el procesamiento final del compuesto de Fórmula (I) es una tarea difícil.

La siguiente estructura muestra el compuesto de Fórmula (I), en la cual se dan entre paréntesis los valores de pKa calculados.

Compuesto de la fórmula (I)

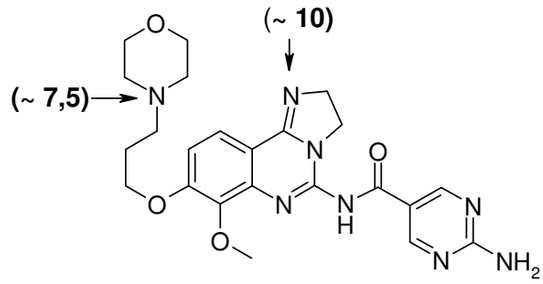


Tabla I: valores de pKa del compuesto de Fórmula (I):

Grupo funcional / valores de pKa	*experimental*	*calculado*
pKa (Imidazolinoamindina)	–	10,1
pKa (Morfolino)	–	7,43 – 7,5
pKa (Aminopirimidina)	–	1,99 – 2,11

Más particularmente, respecto a la estructura química única del compuesto de Fórmula (I), véase más arriba, las propiedades físicas del compuesto de Fórmula (I) no son sólo desafiantes respecto al proceso químico, el manejo de la sustancia droga y la producción del producto droga, sino adicionalmente ofrece desafíos significativos para el desarrollo de un método de HPLC estable y confiable

también.

Sería deseable tener una forma farmacéuticamente aceptable y cristalina del compuesto de Fórmula (I) la cual permite su purificación confiable, por ejemplo, por cristalización, en vista de la dificultad, problemas técnicos específicos y solubilidad acuosa muy baja, y que sea fácil de manejar (por ejemplo, que es un sólido de libre fluidez).

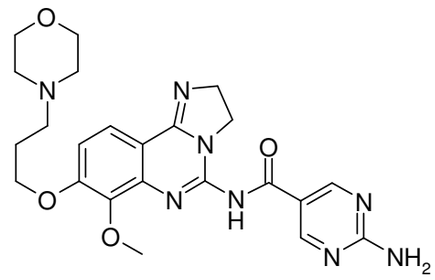
Solución al problema técnico:

Se han hecho diferentes intentos para preparar sales cristalinas del compuesto de Fórmula (I). La formación de formas de sal cristalina probó ser difícil, ya que en generar no se logró una solución y en varios casos se formaron materiales similares a goma, pegajosos.

Inesperadamente, y esto representa una base de la presente invención, se ha descubierto que la sal de diclorhidrato del compuesto de Fórmula (I), de la presente invención (de la cual no hay divulgación específica conocida en el arte previo por el conocimiento del solicitante), posee propiedades técnicamente ventajosas, como se ve entre otras en la Sección Experimental y Sección de Conclusiones de este texto.

La presente invención por lo tanto se relaciona:

- con sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma,

(la cual se denomina a continuación como “la sal de la presente invención” o la “sal de diclorhidrato”);

- con métodos para preparar dicha sal de la presente invención;

- con dicha sal de la presente invención para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

- con el uso de dicha sal de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, colorrectal cáncer, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama;

- con una composición farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención; y

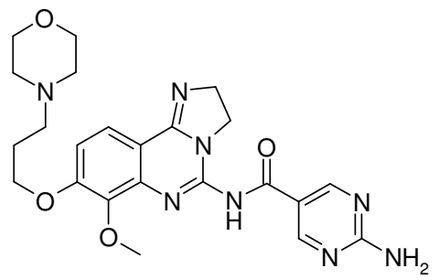
- con una combinación farmacéutica que comprende dicha sal de la presente invención en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

Métodos para preparar la sal de la presente invención

La presente invención también se relaciona con un método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula

(II) de la presente invención, que involucra el agregado de ácido clorhídrico al compuesto de Fórmula (I), o, inversamente, el agregado del compuesto de Fórmula (I) a ácido clorhídrico.

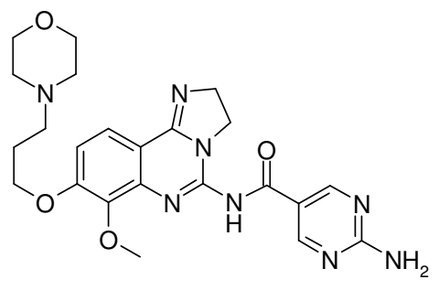
De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención comprende el agregado de ácido clorhídrico a un compuesto de Fórmula (I):



I),

preferentemente en suspensión,

formando de esa forma dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención comprende:

a) agregar ácido clorhídrico, tal como solución

acuosa de ácido clorhídrico (32%) por ejemplo, a una suspensión de dicho compuesto de Fórmula (I) en un medio, tal como agua por ejemplo, a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a una temperatura de 20°C (+-2°), hasta que se alcanza un pH de entre 3 y 4;

b) agitar la mezcla resultante a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, durante un período de tiempo, tal como durante más de 10 minutos por ejemplo; y, opcionalmente

c) extraer por filtración el sólido resultante y lavar la torta del filtro, tal como con agua por ejemplo, luego ajustar el pH del filtrado a un pH de entre 1,8 y 2,0 usando ácido clorhídrico, tal como solución acuosa de ácido clorhídrico (32%) por ejemplo; y, opcionalmente,

d) agitar la mezcla durante un período de tiempo, tal como 10 minutos por ejemplo, a una temperatura entre el punto de congelamiento y el punto de ebullición de la mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, agregado de etanol, seguido de agitación adicional durante un período de tiempo, tal como durante 10 minutos por ejemplo; y, opcionalmente,

e) agregar cristales gérmenes de cristalización, opcionalmente seguido por el agregado de etanol durante un período de tiempo tal como en 5 horas por ejemplo; y, opcionalmente,

f) extraer por filtrado el diclorhidrato de fórmula (II) resultante, opcionalmente lavar con una mezcla agua-

etanol y opcionalmente secar, tal como por vacío por ejemplo, proveyendo de este modo la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención.

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención comprende:

a) agregar dicho ácido clorhídrico a dicho compuesto de Fórmula (I) en acetona/agua o etanol/agua por ejemplo; y, luego, opcionalmente,

b) calentar a una temperatura entre el punto de ebullición y el punto de congelamiento de la mezcla, tal como a entre 40 y 60°C por ejemplo, tal como a 50°C por ejemplo, durante un período de tiempo preferentemente de entre 0,2 y 2 horas por ejemplo, tal como durante 0,5 horas por ejemplo; luego, opcionalmente,

c) calentar adicionalmente a una temperatura entre el punto de ebullición y el punto de congelamiento de la mezcla, tal como a entre 30 y 40°C por ejemplo, tal como a 35°C por ejemplo, durante un período de tiempo tal como entre 1 y 4 horas por ejemplo, con agitación opcional de dicha suspensión a una temperatura de entre el punto de ebullición y el punto de congelamiento de la mezcla, tal como entre 10 y 45°C por ejemplo, tal como a 35°C por ejemplo, durante un período de tiempo preferentemente entre 12 y 72 horas por ejemplo, tal como durante 72 horas por ejemplo, opcionalmente seguido por agitación de dicha suspensión a una temperatura de entre el punto de congelamiento de la mezcla y el punto de ebullición de la

mezcla, tal como a temperatura ambiente por ejemplo, durante un período de tiempo de entre 0 y 4 horas, tal como 2 horas por ejemplo; y, opcionalmente,

d) filtrar, lavar y secar opcional,

proveyendo de este modo la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención.

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, dicho método para preparar la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención es como sigue:

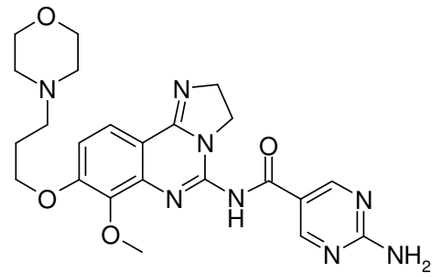
dicho ácido clorhídrico es una solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (1,33 g, HCl al 36%) y se agrega a dicho compuesto de Fórmula (I) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 volumen en volumen), seguido por calentamiento a una temperatura de 50°C, durante un período de tiempo de 0,5 horas, luego seguido por calentamiento adicional, a una temperatura de 35°C, durante un período de tiempo de 72 horas, luego con agitación de dicha suspensión a una temperatura de temperatura ambiente, durante un período de tiempo de 2 horas, seguido por filtración, lavado con una mezcla de acetona/agua, y secado en un horno de vacío (40°C, 100 mbar, 16 horas), proveyendo de este modo dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II) de la presente invención.

Sección experimental

Los siguientes términos y abreviaturas se usan en el siguiente texto:

“compuesto de Fórmula (I)” o “base libre” significa 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-

dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de formula (I):

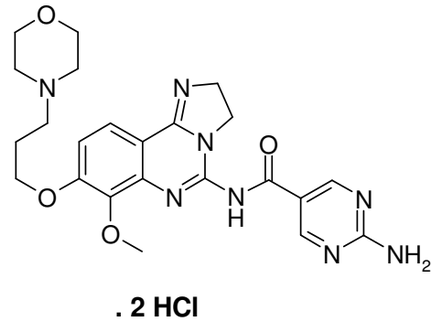


I),

que es el compuesto del Ejemplo 13 de WO 2008/070150 A1 como se indica, véase más arriba.

"DS" significa "sustancia droga", es decir, el "compuesto de Fórmula (I)" o "base libre"

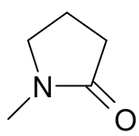
"sal de diclorhidrato de Fórmula (II)" o "sal de Fórmula (II)" significa diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida, que es la sal de diclorhidrato de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

"NMP" significa N-metilpirrolidinona (solvente):



"XRPD" significa "difracción de rayos X en polvo": el aparato usado para medidas mencionado es el siguiente:

STOE Sistema de Difracción en Polvo:

Difractómetro: Transmisión

Monocromador: Curvado de germanio (111)

Generador: 45 kV, 35 mA

Longitud de onda 1,540598 Cu

Detector: PSD Lineal

Modo de barrido: Transmisión / PSD con movimiento / omega fijo

Tipo de barrido: 2Theta:Omega

Condiciones de ambiente: 25°C, 40 – 60 %rF

“IC” significa “Cromatografía iónica”:

Máquina: Cromatógrafo iónico Merck con Sistema Supresor

Detección Detector de conductividad, Fa. Metrohm

“TGA” significa “Análisis termogravimétrico”:

Máquina: Analizador termogravimétrico TGA 7 o TGA 850e

Productor: Perkin Elmer o Mettler-Toledo

Tasa de calentamiento: 10 $Kmin^{-1}$ o 5 K/min

Gas de lavado (Spülgas): nitrógeno , 20–30 ml/min

Crisol (Tiegel): crisol de platino abierto (offener Platin-Tiegel)

Preparación de la muestra: ninguno

“DSC” significa “Calorimetría de Barrido Diferencial”:

Máquina: Calorímetro de barrido Diferencial *DSC 7 o Pyris-1 o DSC 821e*

Producto: Perkin-Elmer o Mettler-Toledo

Tasa de calentamiento: 2 y 20 K/min o 5 K/min

Gas de lavado (Spülgas): nitrógeno

Crisol (Tiegel): crisol estrecho de aluminio sin gas

Preparación de la muestra: ninguno

“DVS” significa “Absorción de Vapor Dinámico”:

Máquina: Analizador de Absorción de Vapor Dinámico IGA Sorp de la firma Hiden Analytical.

La temperatura de operación fue 25°C.

Preparación de la muestra: ninguno

“Pred.” o “predom.” significa “predominantemente”.

CD total: juicio (subjectivo) respecto a la desarrollabilidad química total.

Ejemplo 1. sal de diclorhidrato de Fórmula (II)

A una suspensión del compuesto de Fórmula I (3 g) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 volumen en volumen) se agregó una solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (1,33 g, HCl al 36%) no resultando en cambios visibles. La mezcla resultante se agitó a 50°C durante 0,5 horas, seguido por 35°C durante 3 días, luego temperatura ambiente durante 2 horas. El material sólido resultante se separó por filtración, se lavó con una mezcla de acetona/agua (8:2 volumen en volumen) y se secó en un horno de vacío (40°C, 100 mbar, 16 horas) para dar el material deseado (3,2 g, 93% de rendimiento). Nota: los sólidos tuvieron características de filtración factibles.

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso de DS	72,8 % en peso, ~97,8 área %, suma de impurezas ~2,2%	Calidad significativamente mejorada respecto a Lote A

IC, % en peso de sal formada	10,3 % en peso	sal ~1:2
TGA	13,8% hasta 70°C	
DSC	Picos anchos (60°, 120°C)	
XRPD	cristalino	Diferencias prob. debido a integración de solvente
Microscopía	Microcristalino, aglomerados	

Los resultados de XRPD son consistentes con los sólidos formados siendo cristalino.

Los resultados de IC son consistentes con la formación del diclorhidrato.

Los resultados de TGA son consistentes con los sólidos que contienen entre 13 y 14% de solvente y/o agua.

HPLC analítica % en peso de DS es consistente con sólidos de diclorhidrato que contienen entre 13 y 14% de solvente y/o agua. El área de integración de HPLC muestra 2,2% de impureza.

Estabilidad como sólido:

El diclorhidrato de fórmula (II) (100 mg del Ejemplo 4) se almacenó a 90°C durante 1 semana, luego se analizó por HPLC.

método analítico	*resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso de DS	~ 65,6 % en peso	
HPLC, área % de	~ 98,2%;	Estable

DS	suma de impurezas ~1,8%	

Solubilidad acuosa:

El diclorhidrato de fórmula (II) (500 mg del Ejemplo 4) sea agitó a 25°C durante 20 horas en agua (5 mL). La suspensión resultante se filtró en un filtro de membrana, se midió el pH de la solución resultante y se determinó la solubilidad por HPLC. El material sólido retenido en el filtro se analizó por XRPD y TGA.

método analítico	*resultados*	*Comentarios*
solubilidad	> 8,8 mg/100 ml	
pH	~ 2,4	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	cristalino	Casi idéntico; ligera ampliación de la red cristalina (?)
TGA (residuo sólido)	13,9% hasta 200°C; 2,4% por encima 200°C	

Datos de solubilidad adicionales:

El diclorhidrato de fórmula (II) se agitó en 20 mL de solventes diferentes durante 20 horas a 25°C. En todos los solventes acuosos han sido disueltos aproximadamente 2g del diclorhidrato de fórmula (II) por completo.

Solvente Solubilidad

Acetona 0,3 mg/100ml prácticamente insoluble

acetonitrilo 1,1 mg/100ml prácticamente insoluble

Etanol 24,8 mg/100ml muy levemente soluble

PEG400 301 mg/100ml levemente soluble

HCl 0,1M ≥ 8800 mg/100ml soluble

Solución amortiguadora pH 4,5 ≥ 8900 mg/100ml soluble

Solución amortiguadora pH 7,0 ≥ 8700 mg/100ml soluble

Agua ≥ 9400 mg/100ml soluble

estabilidad en solución:

Estabilidad hidrolítica

Las diferentes soluciones acuosas (0,05 % de base libre de Fórmula (I); luego del agregado de 2-Propanol 50 %, [solución amortiguada filtrada con filtro de membrana de 0,5µm]) se almacenaron a 25°C y 70°C durante 24 horas y una semana.

Condiciones	Apariencia	Impurezas orgánicas, suma de todas [Área %]	Impurezas orgánicas, única [Área %]
Agua:			
Inicial	solución levemente coloreada	2,79	0,25
24 horas, 25°C	solución levemente coloreada	3,43	0,23
24h, 70°C	solución	58,00	25,89

	levemente coloreada		
1 semana, 25°C	solución levemente coloreada	5,33	0,54
1 semana, 70°C	solución levemente coloreada	98,59	45,44
Solución amortiguadora de pH 7:			
Inicial	solución turbia levemente coloreada	3,15	0,23
24 horas, 25°C	solución turbia levemente coloreada	3,22	0,20
24 horas, 70°C	solución levemente coloreada	56,06	23,25
1 semana, 25°C	solución turbia levemente coloreada	4,85	0,82
1 semana, 70°C	solución levemente	97,65	39,01

	coloreada		
HCl 0,1M:			
Inicial	solución levemente coloreada	5,87	1,13
24 horas, 25°C	solución levemente coloreada	8,75	1,90
24h, 70°C	solución levemente coloreada	92,49	22,82
1 semana, 25°C	solución levemente coloreada	24,27	7,15
1 semana, 70°C	solución levemente coloreada	100,00	25,48
NaOH 0,1 M:			
Inicial	solución levemente coloreada	30,72	6,51
24 horas, 25°C	solución levemente coloreada	45,40	10,02
24h, 70°C	solución levemente coloreada	99,88	23,94
1 semana, 25°C	solución levemente	86,64	22,03

	coloreada		
1 semana, 70°C	solución levemente coloreada	99,90	32,63

Espectrometría IR y Raman

Aparato y condiciones de medida

FT-IR / FT-Raman-Espectrómetro	Bruker IFS 66v / Bruker RFS 100
Resolución espectral	2 cm^{-1} / 2 cm^{-1}
Número de interferogramas	32 / 64
Rango de número de onda	4000 – 500 cm^{-1} / 3500 – 100 cm^{-1}
Potencia del Láser	– / 350mW
Preparación de la muestra	Pélet de KBr / sólida en tubo de ensayo

Asignación de las bandas características

Tabla. Asignación de vibraciones activas características al espectro con ν ≡ vibraciones de estiramiento; δ ≡ vibraciones de doblado; o.o.p. ≡ fuera de plano

Estructura asignada	Posición de banda IR [cm^{-1}]	Posición de banda Raman [cm^{-1}]
ν N-H	3336	–
ν =C-H	3176	3090
ν C-H	2942	2990 – 2963
ν NH^{+}	2687 – 2474	–
ν Amida I	1669	1664

ν C=C, ν C=N, δ N-H, Amida II	1618 – 1477	1619 – 1476
ν C-O	1285	1291
δ =C-H o.o.p.	812	–

ν ≡ vibraciones de estiramiento; δ ≡ vibraciones de doblado; o.o.p. ≡ fuera de plano

El espectro IR se da en la Figura 1.

El espectro Raman se da en la Figura 2.

Espectroscopia UV/VIS

Espectrómetro UV/VIS	Varian Cary 4
Cubeta	Cuarzo, 1 cm
Rango de número de onda	200-800 nm.
Preparación de la muestra	4,67 mg / 500 mL de agua
Bandas	309 nm

Aparato y condiciones de medida

El espectro UV/VIS se da en la Figura 3.

Espectroscopía RMN

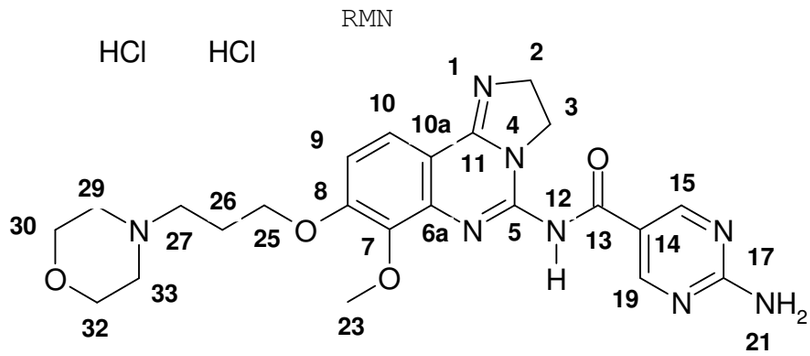
Espectroscopia ^{1}H-RMN

Equipamiento y parámetros experimentales:

Espectrómetro RMN	Bruker, modelo Avance
Frecuencia de trabajo	500,13 MHz
Solvente	Dimetilsulfóxido (DMSO-d_6)
Compuesto de referencia interno	Tetrametilsilano (TMS)

Concentración	Solución 3,08 mg/mL
Diámetro de tubo de ensayo	5 mm
Temperatura (°C)	Aproximadamente 25°C
Técnica	Modo transformada de Fourier
Ancho espectral	20,65 ppm
Resolución digital	0,079 Hz/Pt
Longitud de pulso	4,5 µsegundos, 30° ángulo de giro del pulso
Tiempo de adquisición	6,34 segundos
Tiempo de relajación	0,5 segundos
No. de decaimientos de inducción libre	32

Fórmula estructural para la asignación de señales de RMN



Desplazamiento químico, multiplicidad de señal, número relativo de núcleos:

Átomos-H (a)	Desplazamiento químico δ (ppm)	Multiplicidad y constantes de acoplamiento (b)	no. de núcleos H/molécula

H-26	2,32	M	2
H-29; H-33	3,11; 3,48	M; M	2; 2
H-30; H-32	3,83; 3,98	M; M	2; 2
H-27	3,29	M	2
$-OCH_3$	4,00	S	3
H-25	4,37	T	2
H-2; H-3	4,47; 4,19	T; T	2; 2
H-9	7,39	D	1
NH_2	7,54	S	2
H-10	8,21	D	1
H-16; H-20	8,97	S	1; 1
HCl	11,1; 12,6	bS; bS	1; 1
H-12	13,4	bS	1

a) Numeración se refiere a la fórmula estructural para la asignación de señales RMN.

b) s = singulete bS = singulete ancho d = doblete

t = triplete m = multiplete

El espectro de ^{1}H-RMN del diclorhidrato de fórmula (II) se da en la Figura 4.

Espectroscopia ^{13}C-RMN

Equipamiento y parámetros experimentales

Espectrómetro RMN	Bruker, modelo Avance
Frecuencia de trabajo	125,76 MHz
Solvente	Dimetilsulfóxido-d_6 (DMSO)
Compuesto de referencia interno	Tetrametilsilano (TMS)
Concentración	Solución 37,2 mg/mL

Diámetro de tubo de ensayo	5 mm
Temperatura (°C)	Aproximadamente 27°C
Técnica	Modo transformada de Fourier
Ancho espectral	(240,95 ppm)
Resolución digital	0,4624 Hz/Pt
Longitud de pulso	11,0 µsegundos, 90° ángulo de giro del pulso
Tiempo de adquisición	1,08 segundos
Tiempo de relajación	4 segundos
No. de decaimientos de inducción libre	256

Desplazamiento químico, multiplicidad de señal, rel. no. de núcleos:

Átomos-C (a)	Desplazamiento químico δ (ppm)	Multiplicidad y constantes de acoplamiento (b)	no. de núcleos de C/molécula
C-26	22,73	T	1
C-2; C-3	44,96; 45,65	T; T	1; 1
C-29; C-33	50,84	T	1; 1
C-27	53,01	T	1
OCH_3	61,24	Q	1
C-30; C-32	63,03	T	1; 1
C-25	66,81	T	1
C-10a	100,79	S	1

C-9	112,17	D	1
C-15	118,16	S	1
C-10	123,86	D	1
C-6a	132,43	S	1
C-7	133,95	S	1
C-5	148,58	S	1
C-11	156,29	S	1
C-8	156,89	S	1
C-16; C-20	160,20	D	1; 1
C-18	164,61	S	1
C=O	175,65	S	1

a) Numeración se refiere a la fórmula estructural para la asignación de señales RMN.

b) S = Singulete (C) D = Doblete (CH) T = Triplete (CH_2) Q = Cuadruplete (CH_3)

Los espectros de ^{13}C-RMN del diclorhidrato de fórmula (II) se dan en las Figuras 5 y 6.

Espectrometría de masa

Parámetros instrumentales

Espectrómetro de masa:	Waters ZQ
Modo de ionización:	ESI (Electroaspersión-Ionización)
Solvente	CH_3CN/H_2O

Interpretación del espectro

Valor de masa (*m/z*)	Intensidad relativa (%)	Formación de iones

481,2	46	$(M + H)^+$
354,1	5	$(C16\ H16\ N7\ O3)^+$
261,7	26	$(M + 2H + CH_3CN)^{+2}$
241,2	100	$(M + 2H)^{+2}$

El espectro de masas del diclorhidrato de fórmula (II) se da en la Figura 7. Referirse al espectro para las intensidades de pico relativas.

Análisis elemental

El análisis elemental fue realizado por Bayer Industry Services, Leverkusen, Alemania.

Resultados

Elemento	Medido [%]	Calculado [%]	Calculado incluyendo 7,0 % de agua [%]	Diferencia
C	47,5	49,9	46,4	1,1
H	5,7	5,5	5,9	0,2
N	19,1	20,3	18,8	0,3
O	18,1	11,6	17,0	1,1
Cl	11,9	12,8	11,9	0,0
Sum	1	100,	100,0	–

a	02,3	1		

El análisis elemental es consistente con una sal de diclorhidrato de Fórmula II con 7% de agua.

Ejemplo 2. Otro método de preparación de la sal de diclorhidrato de Fórmula (II)

A una suspensión de 366 g de compuesto de Fórmula (I) en 1015 g de agua, se agregaron 183 g de una solución acuosa de ácido clorhídrico (32%) mientras se mantenía la temperatura a 20°C (+-2°) hasta un que se alcanzó un pH de entre 3 y 4. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante más de 10 minutos, se filtró y se lavó la torta del filtro con 82 g adicionales de agua. El filtrado se ajustó a un pH de entre 1,8 y 2,0 usando solución acuosa de ácido clorhídrico (32%). La mezcla se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente, se agregaron 146 g de etanol (100%) y se agitó durante otros 10 minutos. Se agregó 1 g de cristales germen de cristalización, seguido de 1592 g de etanol en 5 horas. La sustancia resultante se eliminó por filtración, se lavó con una mezcla de agua-etanol y se secó en vacío para dar 410 g (97%) del diclorhidrato de fórmula (II) de una pureza >99% de acuerdo a HPLC.

Ejemplo Comparativo 1: monoclorhidrato del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (0,5 g, 1,04 mmol) en una mezcla de acetona/agua (9 mL, 8:2 volumen en volumen) se agregó una solución concentrada de ácido clorhídrico (89 µL, 1,07 mmol, 1,0 equiv, HCl al 36%). Se observó un cambio visible en la mezcla, pero no se obtuvo

una solución transparente. La mezcla se calentó con agitación a 50°C durante 0,5 horas, seguido de 35°C durante 3 días, luego a temperatura ambiente durante 2 horas. Los sólidos suspendidos resultantes se eliminaron por filtración, se lavaron con acetona/agua, (8:2 volumen en volumen), y se secaron (40°C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (0,5 g).

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso de DS	~ 85,8 % en peso, ~98,4% de área, suma de impurezas~1,6%	Calidad significativamente mejorada respecto a Lote A
IC, % en peso de sal formada	6,0 % en peso	~1:1-sal
TGA	6,3% hasta 200°C	
DSC	Pico ancho a 75°C	
XRPD	Predominantemente amorfo	
Microscopía	n. t.	

Los resultados indican que no se formó un monoclorhidrato cristalino. A pesar de que la pureza de la base no mejoró por el experimento, no se realizaron estudios adicionales, ya que el material fue predominantemente amorfo.

Ejemplo Comparativo 2: sal bis (sulfato ácido) del

compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (0,5 g, 0,103 mmol) en una mezcla de acetona/agua (9 mL, 9:1 volumen en volumen) se agregó una solución concentrada de ácido sulfúrico (213 mg, 96 % H_2SO_4, 2 equiv.). Se observó un cambio visible en la mezcla, pero no se obtuvo una solución transparente. La mezcla se calentó con agitación a 50°C durante 0,5 horas, seguido por 35°C durante 3 días, luego temperatura ambiente durante 2 horas. Los sólidos remanentes se separaron por filtración, se lavaron (acetona/agua, 9:1 volumen en volumen), y se secaron (40°C, 100 mbar, 16 horas) para dar aproximadamente 30 mg del producto deseado.

Ejemplo Comparativo 3: sal de ácido cítrico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de etanol/agua (50 mL, 1:2 v/v) se agregó ácido cítrico (2,4 g, 10,2 mmol, 1,6 equivalentes). Se calentó la mezcla con agitación a 35 °C, se agregaron 25 ml de agua y 100 ml de etanol y se continuó con la agitación a 35 °C durante 2 horas. La solución transparente resultante se enfrió a temperatura ambiente y se continuó agitando durante 3 días. Se separaron los sólidos resultantes mediante filtración, se lavaron con 10 ml de etanol, y se secaron (40 °C, 100 mbar, 24 horas) para dar el producto deseado (3,8 g, 90% de rendimiento). Nota: la filtración de este material fue muy lenta.

Caracterización:

Método	*Resultados*	*Comentarios*

analítico		
HPLC, % en peso DS	64,1 % en peso, 98,1 área %, suma de impurezas 1,9%	
IC, % en peso formador de sal	30,2 % en peso	sal > 1:1
TGA	3,8% % en peso hasta 50 °C; 29,4% a entre 130 y 200°C	
DSC	Picos anchos	se funde con descomposición
XRPD	Cristalina	cantidades significativas de base libre detectable
Microscopía	Microcristalina; se aglomera	

Todos los resultados indican que no se formó una sal real uniforme, sino que una mezcla de la sal de ácido cítrico, base libre y/o ácido cítrico.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido cítrico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 3) se almacenó a 90 °C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	62,7 % en peso	
HPLC, área % DS	96,3 %	Levemente inestable; suma

		de impurezas levemente mayor (3,7% vs. 1,9%)

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido cítrico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 3) se agitó a 25°C durante 20 horas en agua (5 mL). La suspensión resultante se filtró sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución y se determinó la solubilidad mediante HPLC. El material sólido retenido sobre el filtro se analizó mediante XRPD y TGA.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
solubilidad	~ 8,5 mg/100ml	
PH	3,9	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	Señales anchas	Cambio significativo; menos cristalino
TGA (residuo sólido)	4,4% a entre 30° y120°C; 27% a entre 120° y 250°C	

Ejemplo Comparativo 4: sal de ácido succínico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 v/v) se agregó ácido succínico (1,48 g, 12,5 mmol, 2 equivalentes) para formar una suspensión blanca. Se calentó la mezcla con agitación a 50 °C durante 0,5 horas, seguido por 35 °C durante 3 días, luego temperatura ambiente

durante 2 horas. La apariencia de la mezcla no cambió en forma significativa durante este periodo. Luego se eliminaron los sólidos resultantes mediante filtración, se lavaron con unos pocos mls de una mezcla acetona/agua (8:2 v/v), y se secaron (40 °C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (3,4 g, 91%).

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	75,6 % en peso, ~97,6% área %, suma de impurezas ~2,4%	
IC, % en peso formador de sal	15,1 % en peso	< sal 1:1
TGA	3,2% hasta 50°C; 17,6% a 140 – 220°C	Similar a base libre
DSC	Picos anchos	Similar a base libre
XRPD	predominantemente cristalina	Cantidades significativas de base libre detectable
Microscopía	se aglomera	

La caracterización sugiere que no se formó una sal estequiométrica uniforme sino que una mezcla de un succinato y la base libre.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido succínico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 4) se almacenó a 90°C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	48,4 % en peso	sólido amarronado después de 1 semana a 90°C
HPLC, área % DS	~ 97,6% (suma de impurezas ~2,4%)	no estable

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido succínico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 4) se agitó en agua (5 mL) a 25°C durante 20 horas. La suspensión resultante se filtró sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución, y se determinó la solubilidad mediante HPLC. El material sólido retenido sobre el filtro se analizó mediante XRPD y TGA.

método analítico	*resultados*	*Comentarios*
solubilidad	~ 5,5 mg/100ml	
PH	4,7	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	Parcialmente cristalino	Cambio significativo; parcialmente amorfo; base libre detectable

TGA (residuo sólido)	5,5% a entre 30° y120°C; 15% a entre 120° y 240°C	

Ejemplo Comparativo 5: sal de ácido maleico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 8:2 v/v) se agregó ácido maleico (1,45 g, 12,5 mmol, 2,0 equivalentes) para formar una solución casi transparente que se volvió una suspensión después de 5 minutos. Se calentó la mezcla con agitación a 50 °C durante 0,5 horas, seguido por 35 °C durante 3 días, luego a temperatura ambiente durante 2 horas. Se separaron los sólidos resultantes mediante filtración, se lavaron con una mezcla de acetona / agua (8:2 v/v), y se secaron (40 °C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (4,0 g, 90%). Nota: La filtración de este material procedió bien.

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	62,7 % en peso, ~95,2% área %, suma de impurezas ~4,8%	
IC, % en peso formador de sal	30,7 % en peso	sal ~1:2
TGA	5,8% hasta	

	50°C; 3,7% a entre 80 y 150°C; 20,7% a entre 160 y 210°C	
DSC	picos anchos	
XRPD	cristalina	diferencias probablemente debidas a integración del solvente; sin base libre detectable
Microscopía	cristales	

Los resultados indican que se formó un dimaleato cristalino. La pureza de esta base no mejoró por la formación de la sal en este caso.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido maleico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 5) se almacenó a 90°C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	59,4 % en peso	
HPLC, área % DS	~ 96,9% (suma de impurezas ~3,1%)	Estable

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido maleico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 5) se agitó en agua (5 mL) a 25°C durante 20 horas. La suspensión resultante se filtró

sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución, y se determinó la solubilidad mediante HPLC. El material sólido retenido sobre el filtro se analizó mediante XRPD y TGA.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
solubilidad	> 8,1 mg/100ml	
PH	3,1	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	cristalina	Casi idéntica; ensanchamiento leve de la estructura del cristal (?)
TGA (residuo sólido)	8% a entre 30° y 90°C; 2,5% a entre 100° y 150°C; 14% por arriba de150°C	

Ejemplo Comparativo 6: sal de ácido metanosulfónico del compuesto de Fórmula (I)

A una suspensión del compuesto de Fórmula (I) (3,0 g, 6,24 mmol) en una mezcla de acetona/agua (50 mL, 9:1 v/v) se agregó ácido metanosulfónico (1,2 g, 12,5 mmol, 2 equivalentes) para formar un material pegajoso. Se calentó la mezcla con agitación a 50 °C durante 0,5 horas, seguido por 35 °C durante 3 días. La apariencia de la mezcla no cambió en forma significativa durante este periodo. Se agregó acetona adicional (50 mL) a la mezcla y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante otros 5

días, rindiendo una suspensión filtrable junto con material pegajoso. Se sacó la suspensión mediante filtración, se lavó con acetona y se secó (40 °C, 100 mbar, 16 horas) para dar el producto deseado (3,5 g, 83,3 %).

Caracterización:

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	62,9 % en peso, ~96,1% área %, suma de impurezas ~3,9%	
IC, % en peso formador de sal	26,4 % en peso	sal ~ 1:2
TGA	6,3% a entre 30 y 100°C; 22% a 220°C (descomposición)	
DSC	Picos anchos	
XRPD	predominantemente cristalino	parcialmente amorfo
Microscopía	Microcristales, se aglomera	

Todos los resultados indican que se puede formar una sal de dimesilato cristalino. Obviamente, no se han hallado las condiciones óptimas de cristalización y/o el dimesilato es muy sensible a las condiciones de formación ya que el material era en parte amorfo. La forma polimórfica que se

produjo hasta ahora parece ser capaz de tomar solventes/agua.

Estabilidad como sólido:

La sal de ácido metanosulfónico del compuesto de Fórmula (I) (100 mg del Ejemplo Comparativo 6) se almacenó a 90°C durante 1 semana.

Método analítico	*Resultados*	*Comentarios*
HPLC, % en peso DS	59,5 % en peso	
HPLC, área % DS	~ 96,7% (suma de impurezas ~3,3%)	Estable

Solubilidad acuosa:

La sal de ácido metanosulfónico del compuesto de Fórmula (I) (500 mg del Ejemplo Comparativo 6) se agitó a 25°C durante 20 horas en agua (5 mL). La muestra se disolvió casi completamente, la mezcla resultante se filtró sobre un filtro de membrana, se midió el pH de la solución, y se determinó la solubilidad mediante HPLC. Sin embargo, no quedó suficiente material sólido después de la filtración para un análisis adicional.

Método analítico	*R*	*Comentarios*
solubilidad	> 8,3 mg/100 ml	
PH	~ 2,3	Solución saturada en agua
XRPD (residuo sólido)	n. t.	

TGA (residuo sólido)	n. t.	

Conclusiones

Desde un punto de vista fisicoquímico, la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) (Ejemplo 4) de la presente invención provee sorprendentes resultados técnicos somo se ve en los Ejemplos y Ejemplos Comparativos previos, *supra*, como se resume en la Tabla 5, *infra*:

Tabla 5

Propiedad	*Ácido cítrico (Ej. Comp. 3)*	*Ácido succínico (Ej. Comp. 4)*	*Ácido maleico (Ej. Comp. 5)*	*Ácido metansulfónico (Ej. Comp. 6)*	*Ácido clorhídrico N° Ej. 1)*	*Compuestos de fórmula (I). base libre*	*Criterios*
estequiometría	~ 1: 1	~ 1: 1	~ 1: 2	~ 1: 2	1: 2		En base a HPLC/IC
proceso químico	O	—	O	—	O	—	rendimiento, procesamiento final
pureza	+	+	O	O	+	O	área % en HPLC
estabilidad	O	—	+	n.d.	+ +	n.a.	desintegració

de sal							n con/en agua
cristalinidad	O	—	+	O	+ +	O	XRPD
hidratos					~ 4 H_2O		1 semana a 95% r.horas.; solub. acuosa
solubilidad acuosa	~ 8,5.	~ 5,5	> 8,1	> 8,3	> 8,8	—	16h a 25 °C (mg/100ml)
estabilidad térmica en solución	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	O	24h a 70°C; 1 semana a 25°C
estabilidad térmica de sólido	+	— —	+	+	+	+ +	1 semana a 90°C
CD global	O	— —	O	— —	+	O	

_ _ muy desventajoso

_ desventajoso

O indiferente

+: ventajoso

++: muy ventajoso

n.a. No aplicable.

n.f.:no hallado

n.d. no determinado; sin solución transparente después de filtración, probablemente debido a formación de micelas.

Primero, como se vio en el Ejemplo Comparativo 1, inesperadamente, los resultados indican que no se formó un monoclorhidrato cristalino del compuesto de Fórmula (I): el mismo fue predominantemente amorfo. Por el contrario, como se vio a partir del Ejemplo 1, la sal de diclorhidrato de Fórmula (II) puede formar una sal de diclorhidrato estable cristalina. La sal de diclorhidrato cristalina es estable contra la reversión en agua a la base libre.

Además, la sal de diclorhidrato de la presente invención tiene una estabilidad superior en agua en comparación con otras sales mencionadas. Esto significa que la sal no revierte en agua a la base libre bajo las condiciones probadas, es decir no ocurre precipitación de la base libre.

La cristalinidad de la sal de diclorhidrato de la presente invención fue superior versus la sal de monoclorhidrato (que se halló predominantemente amorfa por XRPD).

Segundo, como se ve a partir del Ejemplo Comparativo 5, (tabla de caracterización), a partir de los resultados de XRPD, los compentarios son que hay diferencias en la sal de maleato del compuesto de Fórmula (I) del Ejemplo Comparativo 5: como se menciona, estas diferencias son probablemente debidas a integración del solvente. Además, se puede ver a partir del Ejemplo Comparativo 5 que la pureza de la base no mejoró con la formación de la sal de maleato. Por el contrario, como se ve en el Ejemplo 1 (la

sal de diclorhidrato de la presente invención), se puede ver que la pureza de la base libre mejoró con la formación de la sal de diclorhidrato.

Además, mejoró la calidad de la sustancia droga con la formación de la sal de diclorhidrato.

Más aun, una propiedad técnicamente ventajosa adicional de la sal de diclorhidrato (II) de la presente invención es que la forma de sal cristalina idealmente ayudaría además a mejorar el proceso de purificación y el procesamiento final: es estable como sólido y en solución, y se ajusta a la estrategia galénica (*por ejemplo* la sal de la presente invención se disuelve más rápidamente que el compuesto de Fórmula (I) (la base libre), lo que representa una clara ventaja técnica.

Por lo tanto, globalmente, como se ve a partir de la Tabla 5, *vide supra*, el diclorhidrato es sorprendentemente ventajoso en términos de pureza, estabilidad de sal, cristalinidad, y solubilidad acuosa.

Más aun, muy importantemente, como se ve en los ensayos bioquímicos de PI3Kα y PI3Kβ: tanto la base libre como la sal de diclorhidrato mostraron actividades similares tanto en el ensayo bioquímico de PI3Kα como de PI3Kβ. La potencia levemente mejor con la forma de sal de diclorhidrato podría deberse a una mejor solubilidad. Esto es claramente muy ventajoso.

Formulaciones farmacéuticas de la sal de la presente invención

Como se mencionó previamente, la sal de la presente invención puede estar en la forma de una formulación farmacéutica que esté lista para usar para administrarse en forma simultánea, concurrente, separada o secuencial. Los componentes se pueden administrar en forma independiente uno de otro mediante ruta oral, intravenosa, tópica, instilaciones locales, intraperitoneal o nasal.

Dichas composiciones pueden utilizarse para obtener un efecto farmacológico deseado al administrarse a un paciente que las necesita. Un paciente, para el propósito de esta invención, es un mamífero, incluyendo un humano, que necesita el tratamiento para una condición o enfermedad particular. Por lo tanto, la presente invención incluye la sal de la presente invención que está en la forma de una composición de formulación farmacéutica que está compuesta por un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz de dicha sal. Un vehículo farmacéuticamente aceptable es preferiblemente un vehículo que es relativamente no tóxico e inocuo para un paciente, a concentraciones consistentes con la actividad efectiva del ingrediente activo, de modo que los efectos colaterales que pueden adjudicarse al vehículo no perjudican los efectos beneficiosos del componente y/o combinación. Una cantidad efectiva para el uso farmacéutico de una combinación es preferiblemente una cantidad que produce un resultado o ejerce una influencia sobre la condición particular a tratar. Las sales de la presente invención pueden

administrarse con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica, usando cualquier forma de dosificación convencional efectiva, incluyendo preparaciones de liberación inmediata, lenta y demorada, de administración oral, parenteral, tópica, nasal, oftálmica, óptica, sublingual, rectal, vaginal y semejantes.

Para administración oral, pueden formularse las sales en preparaciones sólidas o líquidas, tales como cápsulas, píldoras, tabletas, pastillas, grageas, líquidos fundidos, polvos, soluciones, suspensiones o emulsiones, y puede preparárselos de acuerdo con métodos conocidos en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Las formas de dosificación sólidas pueden comprender una cápsula, que puede ser del tipo de las cápsulas de gelatina convencionales, duras o blandas, que contienen, por ejemplo, agentes tensioactivos, lubricantes y rellenos inertes, tales como lactosa, sacarosa, fosfato de calcio y almidón de maíz.

En otra realización, pueden colocarse las sales de esta invención en tabletas con bases para tabletas convencionales, tales como lactosa, sacarosa y almidón de maíz, en combinación con aglutinantes, tales como acacia, almidón de maíz o gelatina, agentes desintegradores dirigidos a contribuir a la degradación y la disolución de la tableta una vez administrada, tal como almidón de papa, ácido algínico, almidón de maíz y goma guar, goma tragacanto, acacia, lubricantes dirigidos a mejorar el

flujo de granulación de la tableta y a evitar la adhesión del material de la tableta a las superficies de los colorantes de la tableta y los envases, por ejemplo, talco, ácido esteárico o estearato de magnesio, calcio o cinc, tinturas, agentes colorantes y agentes saborizantes, tales como menta salvaje, aceite de té del Canadá o sabor a cereza, dirigidos a mejorar las cualidades estéticas de las tabletas y tornarlas más aceptables para el paciente. Los excipientes apropiados para usar en formas líquidas de dosificación oral incluyen fosfato de dicalcio y diluyentes, tales como agua y alcoholes, por ejemplo, etanol, alcohol bencílico y polietilen alcoholes, con o sin la adición de un agente tensioactivo, un agente de suspensión o un agente emulsificante farmacéuticamente aceptable. Puede contener diversos materiales adicionales, tales como recubrimientos o para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, pueden recubrirse tabletas, píldoras o cápsulas con shellac, azúcar o ambos.

Los polvos dispersables y los gránulos son apropiados para la preparación de una suspensión acuosa. Proveen el ingrediente activo en combinación con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más preservadores. Los ejemplos de agentes dispersantes o humectantes y de suspensión apropiados son aquellos que se mencionaron con anterioridad. También puede haber excipientes adicionales presentes, por ejemplo, aquellos

agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes descriptos previamente.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden tomar la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como parafina líquida o una mezcla de aceites vegetales. Los agentes emulsionantes apropiados pueden ser (1) gomas de ocurrencia natural, tales como goma acacia y goma tragacanto, (2) fosfátidos de ocurrencia natural, tales como soja y lecitina, (3) ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitano, (4) productos de la condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietilen sorbitano. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y saborizantes.

Pueden formularse suspensiones oleosas suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de araquís, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, tal como, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Las suspensiones pueden contener uno o más preservadores, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o *n*-propilo; uno o más agentes colorantes; uno o más agentes saborizantes; y uno o más agentes saborizantes, tales como sacarosa o sacarina.

Pueden formularse jarabes y elíxires con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones pueden contener un demulcente y un preservador, tal como metil y propil paraben, y agentes saborizantes y colorantes.

Las sales de esta invención también pueden administrarse por vía parenteral, es decir, por vía subcutánea, intravenosa, intraocular, intrasinovial, intramuscular o interperitoneal, como dosificaciones inyectables del compuesto, preferiblemente en un diluyente aceptable para el uso fisiológico, con un vehículo farmacéutico que puede ser un líquido estéril o una mezcla de líquidos, tales como agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcares relacionados, un alcohol, tal como etanol, isopropanol o alcohol hexadecílico, glicoles, tal como propilenglicol o polietilenglicol, cetales de glicerol, tales como 2,2-dimetil-1,1-dioxolan-4-metanol, éteres, tales como poli(etilenglicol) 400, un aceite, un ácido graso, un éster de ácido graso, un glicérido de ácido graso o un glicérido acetilado de ácido graso, con o sin la adición de un agente tensioactivo farmacéuticamente aceptable, tal como un jabón o un detergente, un agente de suspensión, tal como pectina, carbómeros, meticelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa, o un agente emulsionantes, y otros coadyuvantes farmacéuticos.

Los ejemplos de aceites que pueden usarse en las

formulaciones parenterales de esta invención son los aceites de petróleo de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de maní, aceite de soja, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de vaselina y aceite mineral. Los ácidos grasos apropiados incluyen ácido oleico, ácido esteárico, ácido isoesteárico y ácido mirístico. Los ésteres de ácidos grasos apropiados son, por ejemplo, oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los jabones apropiados incluyen sales de ácidos grasos con metales alcalinos, amonio y trietanolamina, los detergentes apropiados incluyen detergentes catiónicos, por ejemplo, haluros de dimetil dialquil amonio, haluros de alquil piridinio y acetatos de alquilamina; detergentes aniónicos, por ejemplo, sulfonatos y sulfosuccinatos de alquilo, arilo y olefina, sulfatos de alquilo, olefina, éter y monoglicéridos; detergentes no iónicos, por ejemplo, óxidos de aminas grasas, alcanolamidas de ácidos grasos, y poli(oxietilen-oxipropileno), o copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno; y detergentes anfotéricos, por ejemplo, alquil-beta-aminopropionatos, y sales de amonio cuaternario de 2-alquilimidazolina, así como mezclas.

Las composiciones parenterales de esta invención típicamente contendrán entre aproximadamente 0,5% y aproximadamente 25% en peso de ingrediente activo en solución. También pueden usarse ventajosamente

preservadores y amortiguadores. Con el fin de minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, dichas composiciones pueden contener un agente tensioactivo no iónico que tenga un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) preferentemente de entre aproximadamente 12 y aproximadamente 17. La cantidad de agente tensioactivo en dicha formulación preferentemente varía entre aproximadamente 5% y aproximadamente 15% en peso. El agente tensioactivo puede ser un único componente con el HLB indicado previamente, o puede ser una mezcla de dos o más componentes con el HLB deseado.

Los agentes tensioactivos ilustrativos usados en las formulaciones parenterales son aquellos de la clase de los ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitano, por ejemplo, monooleato de sorbitano, y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con a una base hidrofóbica, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol.

Las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de suspensiones acuosas estériles inyectables. Dichas suspensiones pueden formularse de acuerdo con métodos conocidos, usando agentes dispersantes o humectantes, y agentes de suspensión apropiados, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes, que pueden ser un

fosfátido de ocurrencia natural, tal como la lecitina, un producto de condensación de un óxido de alquileno con un ácido graso, por ejemplo, estearato de polioxietileno, un producto de condensación de un óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga, por ejemplo, heptadeca-etilenoxietanol, un producto de condensación de un óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol, tal como monooleato de polioxietilen sorbitol, o un producto de condensación de un óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol, por ejemplo, monooleato de polioxietilen sorbitano.

La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o una suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico aceptable para el uso parenteral. Los diluyentes y los solventes que pueden emplearse son, por ejemplo, agua, solución de Ringer, soluciones isotónicas de cloruro de sodio y soluciones isotónicas de glucosa. Además, pueden emplearse comúnmente aceites fijos estériles como solventes o medios de suspensión. Con este propósito, puede emplearse cualquier aceite blando fijo, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, pueden usarse ácidos grasos, tales como ácido oleico, en la preparación de soluciones inyectables.

También puede administrarse una composición de la invención, bajo la forma de supositorios, para la administración rectal de la droga. Pueden prepararse estas

composiciones mezclando la droga con un excipiente no irritante apropiado, que sea sólido a temperaturas ordinarias, pero líquido a la temperatura del recto, y, de este modo, se funda en el recto para liberar la droga. Dichos materiales son, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicol.

Otra formulación empleada en los métodos de la presente invención utiliza dispositivos de administración transdérmica (“parches”). Pueden usarse dichos parches transdérmicos para obtener una infusión continua o discontinua de los compuestos de la presente invención en cantidades controladas. La construcción y el uso de parches transdérmicos para la administración de agentes farmacéuticos es bien conocida en la técnica (véase, por ejemplo, la Patente de los EEUU Nº 5023252, publicada el 11 de Junio de 1991, incorporada en la presente documentación a modo de referencia). Pueden construirse dichos parches para lograr una administración continua, pulsátil o basada en la demanda de los agentes farmacéuticos.

Las formulaciones de liberación controlada para administración parenteral incluyen formulaciones liposomales, formulaciones de microesferas poliméricas y formulaciones de geles poliméricos, que son conocidas en la técnica.

Puede ser deseable o necesario introducir la composición farmacéutica en el paciente mediante un dispositivo de administración mecánica. La construcción y

el uso de dispositivos de administración mecánica para la administración de agentes farmacéuticos son bien conocidos en la técnica. Las técnicas directas, por ejemplo, para administrar una droga directamente al cerebro, comprenden comúnmente la colocación de un catéter de administración de la droga en el sistema ventricular del paciente para superar la barrera hematoencefálica. Se describe uno de estos sistemas de administración por implantación, usado para transportar los agentes a regiones anatómicas específicas en el cuerpo, en la Patente de los EEUU N° 5011472, publicada el 30 de Abril de 1991.

Las composiciones de la invención también pueden contener otros ingredientes de composición convencionales farmacéuticamente aceptables, generalmente conocidos como vehículos o diluyentes, según sea necesario o se lo desee. Pueden usarse procedimientos convencionales para preparar dichas composiciones en formas de dosificación apropiadas. Dichos ingredientes y procedimientos incluyen a los que se describen en las siguientes referencias, cada una de las cuales se incorpora a la presente como referencia: Dichos ingredientes y procedimientos incluyen aquellos que se describen en las siguientes referencias, cada una de las cuales se incorpora en la presente documentación a modo de referencia: Powell, M.F. *et al,* “Compendium of Excipients for Parenteral Formulations” *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1998, 52(5), 238-311; Strickley, R.G “Parenteral Formulations of Small Molecule Therapeutics

Marketed in the United States (1999)-Part-1" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1999, 53(6), 324-349; y Nema, S. *et al*, "Excipients y Their Use in Injectable Products" *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 1997, 51(4), 166-171.

Los ingredientes farmacéuticos de uso común que pueden emplearse, según sea apropiado, para formular la composición destinada a una ruta de administración determinada, incluyen:

agentes acidificantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido acético, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido clorhídrico, ácido nítrico);

agentes alcalinizantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, soluciones de amonio, carbonato de amonio, dietanolamina, monoetanolamina, hidróxido de potasio, borato de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, trietanolamina, trolamina);

adsorbentes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, celulosa en polvo y carbón activado);

propelentes de aerosol (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, dióxido de carbono, CCl_2F_2, $F_2ClC-CClF_2$ y $CClF_3$);

agentes de desplazamiento aéreo (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, nitrógeno y argón);

preservadores antifúngicos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido benzoico, butilparaben, etilparaben, metilparaben, propilparaben, benzoato de sodio);

preservadores antimicrobianos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, fenol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico y timerosal);

antioxidantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido ascórbico, palmitato de asrcobilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, galato de propilo, ascorbato de sodio, bisulfito de sodio, sulfoxilato de formaldehído de sodio, metabisulfito de sodio);

materiales aglutinantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, polímeros de bloque, goma natural y sintética, poliacrilatos, poliuretanos, siliconas, polisiloxanos y copolímeros de estireno-butadieno);

agentes amortiguadores (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, metafosfato de potasio, fosfato de dipotasio, acetato de sodio, citrato de sodio anhidro y citrato de dihidrato de sodio);

agentes de transporte (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, jarabe de acacia, jarabe aromático, elixir aromático, jarabe de cereza, jarabe de cacao, jarabe de naranja, jarabe, aceite de maíz, aceite mineral, aceite de maní, aceite de sésamo, inyecciones bacteriostáticas de cloruro de sodio y agua bacteriostática para inyección);

agentes quelantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, edetato disódico y ácido edético);

colorantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, FD&C Rojo N° 3, FD&C Rojo N° 20, FD&C Yellow N° 6, FD&C Azul N° 2, D&C Verde N° 5, D&C Orange N° 5, D&C Rojo N° 8, caramelo y óxido férrico rojo);

agentes de transparentado (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, bentonita);

agentes emulsionantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, acacia, cetomacrogol, alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo, lecitina, monooleato de sorbitano, monostearato de polioxietileno 50);

agentes de encapsulamiento (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, gelatina y acetato de ftalato de celulosa);

saborizantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aceite de anís, aceite de canela, cacao, mentol, aceite de naranja, aceite de menta salvaje y vainillina);

humectantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, glicerol, propilenglicol y sorbitol);

agentes levigantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aceite mineral y glicerina);

aceites (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aceite de araquís, aceite mineral, aceite de oliva, aceite de maní, aceite de sésamo y aceite vegetal);

bases de ungüentos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, lanolina, ungüentos hidrofílicos, ungüentos de polietilenglicol, vaselina, vaselina hidrofílica, ungüento blanco, ungüento amarillo y ungüento de agua de rosa);

potenciadores de la penetración (administración transdérmica) (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, alcoholes monohidroxilados o polihidroxilados, alcoholes mono o polivalentes, alcoholes grasos saturados o no saturados, ésteres grasos saturados o no saturados, ácidos dicarboxílicos saturados o no saturados, aceites esenciales, derivados de fosfatidilo, cefalina, terpenos, amidas, éteres, cetonas y ureas);

plastificadores (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ftalato de dietilo y glicerol);

solventes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, glicerol, isopropanol, aceite mineral, ácido oleico, aceite de maní, agua purificada, agua para inyección, agua estéril para inyección y agua estéril para irrigación);

agentes endurecedores (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, alcohol cetílico, ceras de ésteres cetílicos, cera microcristalina, parafina, alcohol estearílico, cera blanca y cera amarilla);

bases para supositorios (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, manteca de cacao y polietilenglicoles (mezclas));

agentes tensioactivos (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cloruro de benzalconio, nonoxinol 10, oxtoxinol 9, polisorbato 80, lauril sulfato de sodio y mono-palmitato de sorbitano);

agentes de suspensión (los ejemplos incluyen, sin

limitaciones, agar, bentonita, carbómeros, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, kaolina, metilcelulosa, tragacanto y goma vee);

agentes edulcorantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, aspartame, dextrosa, glicerol, manitol, propilenglicol, sacarina de sodio, sorbitol y sacarosa);

antiadherentes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, estearato de magnesio y talco);

aglutinantes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, acacia, ácido algínico, carboximetilcelulosa de sodio, azúcar compresible, etilcelulosa, gelatina, glucosa líquida, metilcelulosa, polivinil pirrolidona no reticulada y almidón pregelificado);

diluyentes para tabletas y cápsulas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, fosfato de calcio dibásico, kaolina, lactosa, manitol, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, carbonato de calcio precipitado, carbonato de sodio, fosfato de sodio, sorbitol y almidón);

agentes de recubrimiento para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, glucosa líquida, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, acetato de ftalato de celulosa y shellac);

excipientes para la compresión directa de tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, fosfato de calcio dibásico);

desintegradores para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido algínico, carboximetilcelulosa de calcio, celulosa microcristalina, poloacrilina de potasio, polivinilpirrolidona reticulada, alginato de sodio, glicolato de almidón de sodio y almidón);

deslizantes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, sílice coloidal, almidón de maíz y talco);

lubricantes para tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, ácido esteárico y estearato de cinc);

opacantes para tabletas/cápsulas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, dióxido de titanio);

agentes de acabado de tabletas (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cera de carnuba y cera blanca);

agentes espesantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, cera de abeja, alcohol cetílico y parafina);

agentes para proporcionar tonicidad (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, dextrosa y cloruro de sodio);

agentes para incrementar la viscosidad (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, ácido algínico, bentonita, carbómeros, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, polivinil pirrolidona, alginato de sodio y tragacanto); y

agentes humectantes (los ejemplos incluyen, sin limitaciones, heptadecaetilen oxicetanol, lecitinas, monooleato de sorbitol, monooleato de polioxietilen sorbitol, y estearato de polioxietileno).

Pueden ilustrarse las composiciones farmacéuticas de

acuerdo con la presente invención como se indica a continuación:

Puede prepararse una solución de 5 mg/ml del compuesto deseado de esta invención usando agua estéril para inyección, y puede ajustarse el pH según sea necesario. La solución se diluye para la administración a 1 – 2 mg/ml con dextrosa estéril 5% y se administra como una infusión IV sobre un período de 60 minutos aproximadamente.

A sterile preparation can be prepared with (i) 100 – 1000 mg of the desired compound of this invention as a lypholized powder, (ii) 32– 327 mg/mL sodium citrate, and (iii) 300 – 3000 mg Dextran 40. The formulation is reconstituted with sterile, injectable saline or dextrose 5% to a concentration of 10 to 20 mg/mL, which is further diluted with saline or dextrose 5% to 0.2 – 0.4 mg/mL, and is administered either IV bolus or by IV infusion over 15 – 60 minutes.

Puede prepararse la siguiente solución o suspensión para inyección intramuscular:

50 mg/ml del compuesto insoluble en agua deseado de esta invención

5 mg/ml de carboximetilcelulosa de sodio

4 mg/ml de TWEEN 80

9 mg/ml de cloruro de sodio

9 mg/ml de alcohol bencílico

Se prepara una gran cantidad de cápsulas rellenando cápsulas de gelatina convencionales de dos piezas con 100

mg de ingrediente activo en polvo, 150 mg de lactosa, 50 mg de celulosa y 6 mg de estearato de magnesio cada una.

Se prepara una mezcla de ingrediente activo en un aceite digerible, tal como aceite de soja, aceite de semilla de algodón o aceite de oliva, y se la inyecta por medio de una bomba de desplazamiento positivo en gelatina fundida, de modo de formar cápsulas de gelatina blandas que contienen 100 mg de ingrediente activo. Las cápsulas se lavan y secan. Puede disolverse el ingrediente activo en una mezcla de polietilenglicol, glicerina y sorbitol para preparar una mezcla medicinal miscible con agua.

Tabletas: Se prepara una gran cantidad de tabletas empleando procedimientos convencionales, de modo que la unidad de dosificación comprende 100 mg de ingrediente activo, 0,2 mg de dióxido de silicio coloidal, 5 mg de estearato de magnesio, 275 mg de celulosa microcristalina, 11 mg de almidón y 98,8 mg de lactosa. Pueden aplicarse recubrimientos acuosos y no acuosos apropiados para incrementar la palatabilidad, mejorar la elegancia y la estabilidad o demorar la absorción.

Tabletas/Cápsulas de liberación inmediata: Estas son formas de dosificación oral sólidas hechas mediante procesos convencionales y nuevos. Estas unidades se toman por vía oral sin agua para una disolución y una administración inmediata de la medicación. Se mezcla el ingrediente activo en un líquido que contiene un ingrediente, tal como azúcar, gelatina, pectina y

edulcorantes. Estos líquidos se solidifican en tabletas o cápsulas sólidas mediante técnicas de secado por congelamiento y extracción en estado sólido. Los compuestos de droga pueden comprimirse con azúcares y polímeros viscoelásticos y termoelásticos para producir matrices porosas de liberación inmediata que no requieren de agua.

Método para tratar cáncer

Dentro del contexto de la presente invención, el término “cáncer” incluye a, pero no como limitación, cáncer de mama, pulmón, cerebro, órganos reproductivos, tracto digestivo, tracto urinario, hígado, ojo, piel, cabeza y cuello, tiroides, paratiroides y sus metástasis distales. Estos trastornos también incluyen mieloma múltiple, linfomas, sarcomas y leucemias.

Los ejemplos de cáncer de mama incluyen, sin limitaciones, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal in situ y carcinoma lobular in situ.

Los ejemplos de cánceres del tracto respiratorio incluyen, sin limitaciones, carcinomas de las células pulmonares pequeñas y no pequeñas, así como adenomas bronquiales y blastomas pleuropulmonares.

Los ejemplos de cánceres de cerebro incluyen, sin limitaciones gliomas del tallo cerebral y el hipotálamo, astrocitoma cerebelar y cerebral, meduloblastoma, ependimoma, así como tumores neuroectodermales y pineales.

Los tumores de los órganos reproductivos masculinos

incluyen, sin limitaciones, cáncer de próstata y testicular. Los tumores de los órganos reproductivos femeninos incluyen, sin limitaciones, cáncer del endometrio, cervical, ovárico, vaginal y vulvar, así como sarcoma de útero.

Los tumores del tracto digestivo incluyen, sin limitaciones, cánceres anales, de colon, colorrectales, esofágico, de vejiga, gástricos, pancreáticos, rectales, del intestino delgado y de las glándulas salivales.

Los tumores del tracto urinario incluyen, pero en un sentido no limitativo, cáncer de vejiga, pene, riñón, pelvis renal, uréter, uretral y papilar renal humano.

Los cánceres oculares incluyen, sin limitaciones, melanoma intraocular y retinoblastoma.

Los ejemplos de cánceres hepáticos incluyen, sin limitaciones, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células hepáticas con o sin variantes fibrolamelares), colangiocarcinoma (carcinoma del conducto biliar intrahepático) y colangiocarcinoma hepatocelular mixto.

Los cánceres de piel incluyen, sin limitaciones, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer de células cutáneas de Merkel y cáncer cutáneo distinto del melanoma.

Los distintos tipos de cáncer de cabeza y cuello incluyen, pero en un sentido no limitativo, de laringe, de hipofaringe, nasofaringeo, orofaringeo, labio y de la cavidad oral y de células escamosas.

Los linfomas incluyen, pero en un sentido no limitativo, linfoma relacionado con SIDA, linfoma no Hodgkin, linfoma de linfocitos T cutáneo, linfoma de Burkitt, enfermedad de Hodgkin y linfoma del sistema nervioso central.

Los sarcomas incluyen, sin limitaciones, sarcoma de los tejidos blandos, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rabdomiosarcoma.

Las leucemias incluyen, sin limitaciones, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica y leucemia de las células pilosas.

La presente invención se relaciona con un método para usar la sal de la presente invención, para tratar cáncer, como se describe *infra*, particularmente NSCLC de mamífero, CRC, melanoma, cáncer pancreático, cáncer de mama o de hepatocito. La sal de la presente invención se puede utilizar para inhibir, bloquear, reducir, disminuir, etc., la proliferación celular y/o la división celular, y/o producir apoptosis, en el tratamiento o profilaxis de cáncer, en particular NSCLC, CRC, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama. Este método comprende administrar a un mamífero en necesidad del mismo, incluyendo un humano, una cantidad de una combinación de esta invención, o una sal, isómero, polimorfo, metabolito, hidrato, solvato o éster del mismo aceptable farmacéuticamente; etc. que es eficaz para el

tratamiento o profilaxis de cáncer, en particular NSCLC, CRC, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocito o cáncer de mama.

El término “tratando” o “tratamiento”, según se estableció en todo este documento de usa de la manera convencional, por ejemplo, el manejo o cuidado de un sujeto con el propósito de combatir, aminorar, reducir, aliviar, mejorar la condición, etc., de una enfermedad o trastorno, tal como un carcinoma.

Dosis y administración

La dosificación eficaz de los compuestos de esta invención para el tratamiento de cada indicación deseada puede determinarse fácilmente en base a las técnicas de laboratorio estándar conocidas para evaluar los compuestos de utilidad en el tratamiento o profilaxis del cáncer, en particular cáncer de **pulmón** de células no pequeñas (NSCLC), cáncer colorrectal (CRC), melanoma, cáncer de páncreas, carcinoma hepatocítico o cáncer de mama, mediante pruebas de toxicidad estándar y mediante ensayos farmacológicos estándar para determinar el tratamiento de las condiciones identificadas previamente en mamíferos, y por comparación de estos resultados con los resultados de los medicamentos conocidos que se usan para tratar estas condiciones. La cantidad de ingrediente activo a administrar en el tratamiento de la condición puede variar ampliamente de acuerdo con dichas consideraciones, entre ellas, pero sin carácter limitativo, la combinación particular y la unidad

de dosificación empleada, el modo de administración, el período de tratamiento, la edad y el sexo del paciente tratado, y la naturaleza y la extensión de la condición a tratar.

La cantidad total de ingrediente activo que será administrada varía en general en el rango entre aproximadamente 0,001 mg/kg y aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal por día y preferentemente entre aproximadamente 0,01 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por día. Los programas de dosificación clínicamente útiles varían en un rango entre una dosificación de una a tres veces por día y una dosificación una vez cada cuatro semanas. Además, el "descanso de la droga" durante el cual un paciente no recibe dosis de la droga por un período de tiempo determinado, puede ser beneficioso para el balance global entre efecto farmacológico y la capacidad de tolerancia. Una dosificación unitaria puede contener entre aproximadamente 0,5 mg y aproximadamente 1,500 mg de ingrediente activo, y puede ser administrada una o más veces por día o menos que una vez por día. La dosificación diaria promedio para una administración por inyección, incluyendo inyecciones intravenosas, intramusculares, subcutáneas y parenterales, y el uso de técnicas de infusión, será preferiblemente de entre 0,01 y 200 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación diaria rectal promedio será preferiblemente de entre 0,01 y 200 mg/kg de peso corporal total. El

régimen de dosificación diaria vaginal promedio será preferiblemente de entre 0,01 y 200 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación diaria tópica promedio será preferiblemente de entre 0,1 y 200 mg, donde las dosis se administran entre una y cuatro veces por día. La concentración transdérmica será preferentemente la que se requiere para mantener una dosis diaria entre 0,01 y 200 mg/kg. El régimen de dosificación diaria promedio por inhalación comprenderá preferentemente entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal total.

El régimen de dosificación inicial y continuo específico para cada paciente varía de acuerdo con la naturaleza y severidad de la afección como lo podrá determinar el médico a cargo del paciente, con la actividad de la combinación específica empleada, la edad y condición general del paciente, el tiempo de administración, la ruta de administración, la velocidad de excreción de la droga, las sales de la droga y semejantes. El modo de tratamiento deseado y la cantidad de dosis de una combinación de la presente invención, o una sal, un éster o una composición farmacéuticamente aceptable de éste, pueden ser evaluados por aquellos versados en la técnica, usando pruebas de tratamiento convencionales.

Terapias que usan la sal de la presente invención: uno o más agentes farmacéuticos adicionales.

La sal de la presente invención se puede administrar como agente farmacéutico único o en combinación con uno o

más de otros agentes farmacéuticos, en donde la combinación resultante de la sal de la presente invención y del agente farmacéutico adicional no causa no efectos adversos inaceptables. Por ejemplo, la sal de la presente invención se puede combinar con un componente C, *es decir* uno o más de otros agentes farmacéuticos, tal como agentes conocidos antiangiogénesis, antihiperproliferativos, antiinflamatorios, analgésicos, inmunoregulatorios, diuréticos, antiarrítmicos, antihipercolesterolemia, antidislipidemia, antidiabéticos o antivirales, y similares, así como también con mezclas y sales de los mismos.

El componente C puede ser uno o más agentes farmacéuticos tales como aldesleuquina, ácido alendrónico, alfaferona, alitretinoína, alopurinol, aloprim, aloxi, altretamina, aminoglutetimida, amifostina, amrubicina, amsacrina, anastrozol, anzmet, aranesp, arglabina, trióxido de arsénico, aromasina, 5-azacitidina, azatioprina, BCG o *tice* BCG, bestatina, acetato de betametasona, fosfato de betametasona sódica, bexaroteno, sulfato de bleomicina, broxuridina, bortezomib, busulfán, calcitonina, campat, capecitabina, carboplatino, casodex, cefesona, celmoleuquina, cerubidina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, cladribina, ácido clodrónico, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, DaunoXome, decadrón, fosfato de decadrón, delestrógeno, denileuquina diftitox, depo-medrol, deslorelina, dexametasona, dexrazoxano, dietilestilbestrol, diflucan, docetaxel,

doxifluridina, doxorubicina, dronabinol, DW-166HC, eligard, elitek, ellence, emend, epirubicina, epoetina alfa, epógeno, eptaplatino, ergamisol, estrace, estradiol, fosfato de estramustina sódica, etinilestradiol, etiol, ácido etidrónico, etopofos, etopósido, fadrozol, farstón, filgrastim, finasteride, fligrastim, floxuridina, fluconazol, fludarabina, monofosfato de 5-fluorodeoxiuridina, 5-fluorouracilo (5-FU), fluoximesterona, flutamida, formestane, fosteabine, fotemustina, fulvestrant, gammagard, gemcitabine, gemtuzumab, gleevec, gliadel, goserelina, granisetrón HCl, histrelina, hicamtina, hidrocortona, eritro-hidroxinoniladenina, hidroxiurea, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, interferón alfa, interferón-alfa 2, interferón alfa-2A, interferón alfa-2B, interferón alfa-n1, interferón alfa-n3, interferón beta, interferón gamma-1a, interleuquina-2, intrón A, iressa, irinotecan, kitrilo, sulfato de lentinan, letrozol, leucovorina, leuprolida, acetato de leuprolida, lenalidomida, levamisol, sal de calcio del ácido levofolínico, levotroide, levoxilo, lomustine, lonidamina, marinol, mecloretamina, mecobalamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, menest, 6-mercaptopurina, Mesna, metotrexato, metvix, miltefosina, minociclina, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, Modrenal, Miocet, nedaplatino, neulasta, neumega, neupogen, nilutamida, nolvadex, NSC-631570, OCT-43, octreotida, ondansetrón HCl, orapred,

oxaliplatino, paclitaxel (cuando el componente B no es precisamente paclitaxel), pediapred, pegaspargase, Pegasis, pentostatina, picibanilo, pilocarpina HCl, pirarubicina, plicamicina, porfímero sódico, prednimustina, prednisolona, prednisona, premarina, procarbazina, procrit, raltitrexed, rebif, etidronato de renio-186, rituximab, roferón-A, romurtida, salagen, sandostatina, sargramostim, semustina, sizofiran, sobuzoxano, solu-medrol, ácido esparfósico, terapia con células madre, estreptozocina, cloruro de estroncio-89, sintroide, tamoxifeno, tamsulosina, tasonermin, tastolactona, taxotere, teceleuquina, temozolomida, tenipósido, propionato de testosterona, testred, tioguanina, tiotepa, tirotropina, ácido tiludrónico, topotecan, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, treosulfán, tretinoína, trexal, trimetilmelamina, trimetrexato, acetato de triptorelina, pamoato de triptorelina, UFT, uridina, valrubicina, vesnarinona, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, virulizina, zinecard, estimalamer zinostatina, zofrán, ABI-007, acolbifeno, actinmune, afinitak, aminopterina, arzoxifeno, asoprisnilo, atamestano, atrasentán, BAY 43-9006 (sorafenib), avastina, CCI-779, CDC-501, celebrex, cetuximab, crisnatol, acetato de ciproterona, decitabina, DN-101, doxorubicina-MTC, dSLIM, dutasterida, edotecarina, eflornitina, exatecan, fenretinide, diclorhidrato de histamina, implantae de hidrogel de histrelina, holmio-166 DOTMP, ácido

ibandrónico, interferón gamma, intrón-PEG, ixabepilona, hemocianina de lapa, L-651582, lanreotide, lasofoxifeno, libra, lonafarnib, miproxifeno, minodronato, MS-209, MTP-PE liposómico, MX-6, nafarelina, nemorubicina, neovastat, nolatrexed, oblimersen, onco-TCS, osidem, paclitaxel poliglutamato, pamidronato disódico, PN-401, QS-21, quazepam, R-1549, raloxifeno, ranpirnase, ácido 13-cis-retinoico, satraplatino, seocalcitol, T-138067, tarceva, taxoprexina, talidomida, timosina alfa 1, tiazofurina, tipifarnib, tirapazamina, TLK-286, toremifeno, TransMID-107R, valspodar, vapreotide, vatalanib, verteporfina, vinflunina, Z-100, ácido zoledrónico o sales de éstos.

En una forma de realización de la presente invención, el componente C puede ser uno o más de los siguientes: 131I-chTNT, abarelix, abiraterona, aclarubicina, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoina, altretamina, aminoglutetimida, amrubicina, amsacrina, anastrozol, arglabina, trióxido arsénico, asparaginasa, azacitidina, basiliximab, BAY 80-6946, BAY 1000394, BAY 86-9766 (RDEA 119), belotecan, bendamustina, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bisantreno, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfan, cabazitaxel, folinato de calcio, levofolinato de calcio, capecitabina, carboplatino, carmofur, carmustina, catumaxomab, celecoxib, celmoleuquina, cetuximab, clorambucil, clormadinona, clormetina, cisplatino, cladribina, ácido clodrónico, clofarabina, crisantaspasa, ciclophosfamida, ciproterona,

citarabina, dacarbazina, dactinomicina, darbepoetina alfa, dasatinib, daunorubicina, decitabina, degarelix, denileuquina diftitox, denosumab, deslorelina, dibrospidio cloruro, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, doxorubicina + estrona, eculizumab, edrecolomab, acetato de eliptinio, eltrombopag, endostatina, enocitabina, epirubicina, epitiostanol, epoetina alfa, epoetina beta, eptaplatino, eribulina, erlotinib, estradiol, estramustina, etopósido, everolimus, exemestano, fadrozol, filgrastim, fludarabina, fluorouracilo, flutamida, formestano, fotemustina, fulvestrant, nitrato de galio, ganirelix, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, glutoxim, goserelina, diclorhidrato de histamina, histrelina, hidroxicarbamida, semillas de I-125, ácido ibandrónico, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, imatinib, imiquimod, improsulfan, interferón alfa, interferón beta, interferón gama, ipilimumab, irinotecan, ixabepilona, lanreotida, lapatinib, lenalidomida, lenograstima, lentinan, letrozol, leuprorelina, levamisol, lisurida, lobaplatino, lomustina, lonidamina, masoprocol, medroxiprogesterona, megestrol, melpalan, mepitiostano, mercaptopurina, metotrexato, metoxsalen, Metil aminolevulinato, metiltestosterona, mifamurtida, miltefosina, miriplatino, mitobronitol, mitoguazona, mitolactol, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nedaplatino, nelarabina, nilotinib, nilutamida, nimotuzumab, nimustina, nitracrina, ofatumumab, omeprazol, oprelvequina, oxaliplatino, terapia génica para

p53, paclitaxel, palifermina, semilla de paladio-103, ácido pamidrónico, panitumumab, pazopanib, pegaspargasa, PEG-epoetina beta (metoxi PEG-epoetina beta), pegfilgrastima, peginterferón alfa-2b, pemetrexed, pentazocina, pentostatina, peplomicina, perfosfamida, picibanilo, pirarubicina, plerixafor, plicamicina, poliglusam, fosfato de poliestradiol, polisacárido-K, porfimero sódico, pralatrexato, prednimustina, procarbazina, quinagolida, raloxifeno, raltitrexed, ranimustina, razoxano, regorafenib, ácido risedrónico, rituximab, romidepsina, romiplostim, sargramostim, sipuleucel-T, sizofirano, sobuzoxano, glicididazol sódico, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, talaporfina, tamibaroteno, tamoxifeno, tasonermina, teceleuquina, tegafur, tegafur + gimeracilo + oteracilo, temoporfin, temozolomida, temsirolimus, tenipósido, testosterona, tetrofosmina, talidomida, tiotepa, timalfasina, tioguanina, tocilizumab, topotecan, toremifeno, tositumomab, trabectedina, trastuzumab, treosulfan, tretinoina, trilostano, triptorelina, trofosfamida, triptofano, ubenimex, valrubicina, vandetanib, vapreotido, vemurafenib, vinblastina, vincristina, vindesina, vinflunina, vinorelbina, vorinostat, vorozol, microesfereas de vidrio con ytrii-90, zinostatina, zinostatina estimalamero, ácido zoledrónico, zorubicina.

Como alternativa, dicho componente C puede ser uno o más de otros agentes farmacéuticos que se eligen de

gemcitabina, paclitaxel (cuando el componente B no es el mismo paclitaxel), cisplatino, carboplatino, butirato de sodio, 5-FU, doxirubicina, tamoxifeno, etopósido, trastumazab, gefitinib, intrón A, rapamicina, 17-AAG, U0126, insulina, un derivado de insulina, un ligando de PPAR, una droga sulfonilurea, un inhibidor de α-glucosidasa, una biguanida, un inhibidor de PTP-1B, un inhibidor de DPP-IV, un inhibidor de 11-beta-HSD, GLP-1, un derivado de GLP-1, GIP, un derivado de GIP, PACAP, un derivado de PACAP, secretina o un derivado de secretina.

Como alternativa, dicho componente C puede ser uno o más agentes farmacéuticos que se eligen de: un taxano, tal como Docetaxel, Paclitaxel, o Taxol; una epotilona, tal como Ixabepilona, Patupilona, o Sagopilona; Mitoxantrona; Predinisolona; Dexametasona; Estramustina; Vinblastino; Vincristina; Doxorubicina; Adriamicina; Idarubicina; Daunorubicina; Bleomicina; Etopósido; Ciclofosfamida; Ifosfamida; Procarbazina; Melfalan; 5-Fluorouracilo; Capecitabina; Fludarabina; Citarabina; Ara-C; 2-Cloro-2´-deoxiadenosina; Tioguanina; un antiandrógeno, tal como Flutamida, acetato de Ciproterona, o Bicalutamida; Bortezomib; un derivado de platino, tal como Cisplatino, o Carboplatino; Clorambucil; Methotrexato; y Rituximab.

Los agentes anti-hiperproliferativos opcionales que pueden agregarse como componente C a la combinación de la sal de la presente invención incluyen, sin limitaciones, los compuestos indicados para los regímenes de

quimioterapia del cáncer en la 11ª edición de *Merck Index*, (1996), que se incorpora en la presente documentación a modo de referencia, tales como asparraginasa, bleomicina, carboplatina, carmustina, clorambucilo, cisplatina, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, doxorrubicina (adriamicina), epirrubicina, etopósido, 5-fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxiurea, ifosfamida, irinotecan, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazina, raloxifen, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, topotecan, vinblastina, vincristina y vindesina.

Otros agentes antihiperproliferativos apropiados para usarse como componente C con la combinación de la sal de la presente invención incluyen, sin limitaciones, aquellos compuestos que pueden usarse en el tratamiento de enfermedades neoplásticas, según se indica en *Goodman y Gilman's: The Pharmacological Basis de Therapeutics* (novena edición), editado por Molinoff et al., publicado por McGraw-Hill, páginas 1225-1287, (1996), que se incorpora en la presente documentación a modo de referencia, tales como aminoglutetimida, L-asparraginasa, azatioprina, 5-azacitidina, cladribina, busulfan, dietilstilbestrol, 2'0,2'-difluorodeoxicitidina, docetaxel, eritroidroxi-noniladenina, etinil estradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluorodeoxiuridina, fosfato de

fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, interferón, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalan, mitotano, paclitaxel (cuando el componente B no es precisamente paclitaxel), pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetilmelamina, uridina y vinorelbina.

Otros agentes antihiperproliferativos apropiados para usarse como componente C con la combinación de la sal de la presente invención incluyen, sin limitaciones, otros agentes anticáncer, tales como epotilona y sus derivados, irinotecan, raloxifeno y topotecan.

En general, el uso de agentes citotóxicos y/o citostáticos como componente C en combinación con la sal de la presente invención contribuirá a:

(1) obtener una mayor eficacia en la reducción del crecimiento de un tumor, o aún permitirá eliminar el tumor, en comparación con la administración de cada agente por separado,

(2) poder administrar menores cantidades de los agentes quimioterapéuticos empleados,

(3) proporcionar un tratamiento quimioterapéutico que sea bien tolerado en el paciente, con menos complicaciones farmacológicas perjudiciales que las observadas con quimioterapias con agentes individuales y otras terapias de combinación,

(4) poder tratar un espectro más amplio de distintos tipos de cáncer en mamíferos, especialmente humanos,

(5) obtener una tasa de respuesta más elevada entre los pacientes tratados,

(6) obtener un tiempo de supervivencia más largo entre los pacientes tratados, en comparación con los tratamientos quimioterapéuticos convencionales,

(7) lograr un tiempo de progresión tumoral más prolongado, y/u

(8) obtener resultados de eficacia y tolerabilidad al menos tan buenos como los obtenidos con el uso de los agentes por separado, en comparación con las instancias conocidas donde otras sales de agentes anti-cáncer produzcan efectos de antagonismo.

SECCIÓN BIOLÓGICA

Ensayo Radiactivo de Quinasas Lipídicas PI3Kα y PI3Kβ

El ensayo bioquímico de p110α es un ensayo radiactivo que mide la incorporación de ^{33}P en el sustrato p110α, fosfatidilinositol (PI). Este ensayo es una modificación de un ensayo desarrollado en el RCK (Fuchikami *et al*., 2002). Se expresaron las proteínas p110α marcada con His truncada en el N-terminal (ΔN 1-108) y p110β con la misma modificación (ΔN 1-108) careciendo del dominio de unión a p85 en células Sf9 y se purificaron a un pureza >50%. Para la generación de las curvas de IC_{50}, se llevó a cabo la reacción en un formato de 384 pocillos usando placas

MaxiSorp bajo las siguientes condiciones. Se recubrieron las placas con 2 µg/pocillo de una proporción molar 1:1 de fosfatidilinositol (PI: Avanti #840042C) y fosfatidilserina (PS: Avanti #840032C) diluidos en cloroformo. Se dejó evaporar el solvente orgánico almacenando las placas en la campana de extracción durante una noche. Luego se sellaron las placas con sellos para placa de mylar y se almacenaron hasta un mes a 4°C hasta que fue necesario. Se agregaron 7,5 ng de proteína p110α truncada purificada a cada pocillo, con 9 µL de solución amortiguadora de reacción (MOPSO 50 mM a pH7,0, NaCl 100 mM, $MgCl_2$ 4 mM, 0,1% (p/v) de BSA) excepto en los pocillos de control negativo que recibieron solución amortiguadora de reacción solamente. Se transfirió un microlitro de cada compuesto de prueba en DMSO desde las diluciones madres para generar una respuesta a dosis de ocho puntos (0,0, 0,003, 0,01 0,03, 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 y 10 µM final de concentración de compuesto BAY). Las reacciones se comenzaron mediante el agregado de 5 µL de una solución de ATP 40 µM con 20 µCi/ml de [γ-^{33}P]-ATP y se dejaron proceder durante dos horas a temperatura ambiente con mezclado suave. Las reacciones se terminaron mediante el agregado de 5 µL de una solución madre de EDTA 25 mM. Se lavaron las placas con un lavador para placas de 384 pocillos en solución amortiguadora sin detergente y se agregaron 25 µL de mezcla de centelleo UltimaGold a cada pocillo. Se determinó la radioactividad incorporada en el sustrato PI inmovilizado con un BetaPlate Liquid

Scintillation Counter. Se calculó la inhibición usando la siguiente ecuación:

% de inhibición = $1-(T_{cpm} - B_{cpm})/(P_{cpm}- B_{cpm})$ X 100.

T_{cpm} = ^{33}P-cpm en presencia de compuesto de prueba

B_{cpm} = ^{33}P-cpm en control de fondo (sin enzima)

P_{cpm} = ^{33}P-cpm en control de enzima p110 (sin inhibidor)

Los valores de IC_{50} para la base libre y la sal de diclorhidrato en los ensayos bioquímicos de p110α y p110β se resumen en la Tabla A. Los dos compuestos mostraron actividades similares en ambos ensayos bioquímicos para PI3Kα y PI3Kβ. La potencia levemente superior con la forma de sal de diclorhidrato podría ser debida a una mejor solubilidad.

Tabla A. Actividad de la base libre y la sal de diclorhidrato en los ensayos de PI3Kα y PI3Kβ

Compuesto	PI3Kα IC_{50} (M)	PI3Kβ IC_{50} (M)
base libre	4,96E-10	3,72E-09
Sal de diclorhidrato	1,23E-10	1,00E-09

Ensayos de proliferación

La proliferación celular se determina usando el conjunto de elementos para viabilidad de células luminescentes Cell Titer-Glo de Promega (cat. #G7573) después de 72 horas de exposición a las drogas. Brevemente, se plaquearon las células a entre 500 y 1000 células/pocillo de placas de 384 pocillos en medio de crecimiento de 25 µL. Para cada línea celular evaluada, las

células se plaquean sobre una placa separada para determinar la luminescencia en los tiempos t = 0 horas y t = 72 horas. Después de incubar durante la noche a 37 °C, se determinaron los valores de luminescencia para las muestras de t = 0 por adición de 25 µl de solución Cell Titer-Glo por cavidad, transferencia de las placas a un agitador orbital durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego lectura de las placas con un contador HTS para múltiples marcas Wallac Victor2 1420 usando la ventanade luminometría (la máxima detección de luz se mide a 428 nM). Las placas de dosis para los tiempos de t = 72 horas se trataron con compuestos diluidos en medio de crecimiento en un volumen final de 30 µl. Las células se incubaron luego durante 72 horas a 37 oC. Los valores de luminescencia para las muestras de t = 72 horas se determinaron por adición de 30 µl de solución Promega CellTiter-Glo, introducción de las células en un agitador por 10 minutos a temperatura ambiente y luego lectura de la luminescencia usando un luminómetro Victor. Para el procesamiento de los datos, brevemente, los valores de t = 0 se restan de los valores determinados para los tiempos de t = 72 horas, para muestras tratadas y no tratadas. Las diferencias porcentuales en la luminescencia entre tratados con droga y controles se usan para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento.

En un panel de 16 líneas celulares de tumor que cubren 6 indicaciones de cáncer, tanto la base libre como la sal

de diclorhidrato mostraron potentes actividades antiproliferativas y la diferencia en los valores de IC_{50} fue menos de 3 veces en todas las líneas celulares de tumor ensayadas. Estos datos indican claramente que la sal de diclorhidrato retiene la actividad antitumoral de la base libre.

Tabla B. Actividad antiproliferativa de la base libre y el diclorhidrato en ensayos de proliferación de líneas celulares tumorales

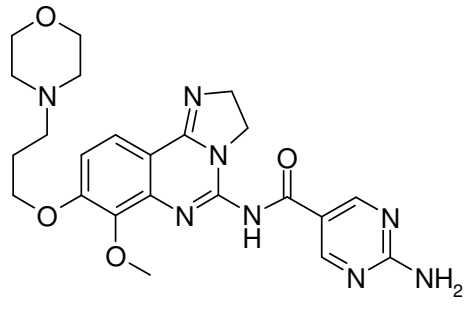
Línea celular	Tejido	IC50 de base Libre (nM)	IC50 de sal de clorhidrato(nM)	Proporción de IC50
KPL4	Mama	3	3	1,0
BT474		5	10	0,5
T47D		6	2	2,8
BT20		6	2	3,1
MCF7		27	9	3,0
MDA-MB-468		760	256	3,0
SK-Br-3		2	1	1,5
LNCaP	Próstata	69	67	1,0
PC3		100	90	1,1
Colo205	Colon	48	110	0,4
HT29		27	10	2,7
HCT116		56	72	0,8
A549	Pulmón	37	44	0,8
H460		46	67	0,7
U87MG	Cerebro	85	85	1,0
786O	Riñón	116	247	0,5

Referencia:

Fuchikami K, Togame H, Sagara A, Satoh T, Gantner F, Bacon KB, Reinemer P. J Biomol Screen. 7(5):441-50 (2002). A versatile high-throughput screen for inhibitors of lipid kinase activity: development of an immobilized phospholipid plate assay for phosphoinositide 3-kinase gamma.

REIVINDICACIONES

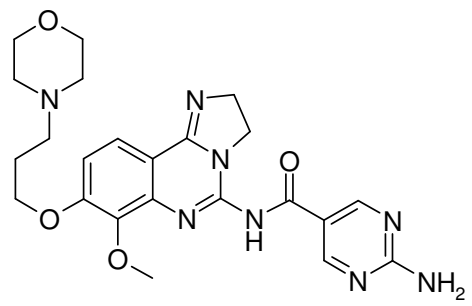
1. Un método para preparar la sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II)

o un tautómero de la misma, caracterizado porque comprende agregar ácido clorhídrico a un compuesto de Fórmula (I):



(I),

en suspensión,

formando de esa manera dicha sal de diclorhidrato de Fórmula (II).

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende

a) agregar ácido clorhídrico, a una suspensión

de dicho compuesto de Fórmula (I) en agua a una temperatura de 20 °C (+-2°), hasta que se alcance un pH de entre 3 y 4;

b) agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente y,

c) separar por filtración el sólido resultante y lavar el filtro de la torta con agua, ajustar luego el pH del filtrado a un pH entre 1,8 y 2,0 usando ácido clorhídrico, y,

d) agitar la mezcla a temperatura ambiente, agregar etanol, seguido por agitación adicional y,

e) agregar cristales de siembra, seguido por agregado de etanol a lo largo de un período de tiempo de 5 horas y,

f) separar por filtración el diclorhidrato de fórmula (II) resultante, lavar con una mezcla de agua etanol y secar, proveyendo de esa forma la sal de diclorhidrato.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende

a) agregar dicho ácido clorhídrico a dicho compuesto de Fórmula (I) en acetona/agua o etanol/agua y, luego,

b) calentar a una temperatura entre 40 y 60 °C;

luego,

c) calentar adicionalmente a una temperatura entre 30 y 40 °C, durante un período de tiempo entre 1 y 4 horas, con agitación de dicha suspensión a una temperatura de entre 10 y 45 °C durante un período de tiempo de entre 12 y 72 horas seguido por agitación de dicha suspensión a temperatura ambiente durante un período de tiempo de entre 0 y 4 horas,

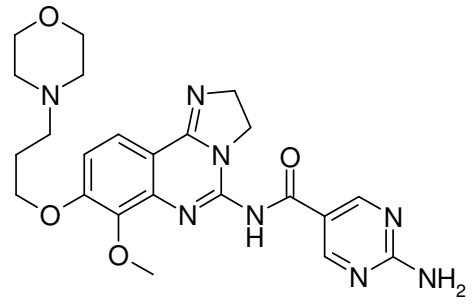
d) filtrar, lavar y secar, proveyendo de ese modo la sal de diclorhidrato.

4. El método de acuerdo a la reivindicación 1 ó 3, caracterizado porque dicho ácido clorhídrico es solución acuosa concentrada de ácido clorhídrico (HCl al 36%) y se agrega a dicho compuesto de Fórmula (I) en una mezcla de acetona/agua (8:2 v/v), seguido por calentamiento a una temperatura de 50 °C, durante un período de tiempo de 0,5 horas, luego seguido por calentamiento adicional, a una temperatura de 35 °C, durante un período de tiempo de 72 horas, luego con agitación de dicha suspensión a la temperatura ambiente, durante un período de tiempo de 2 horas, seguido por filtración, lavado con una mezcla de acetona/agua, y secado en un horno de vacío (a 40 °C, 100 mbar, 16 horas), proveyendo de ese modo dicha sal de diclorhidrato.

SALES DE 2,3-DIHIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINA SUBSTITUIDA

RESUMEN

Sal de diclorhidrato de 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo-[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de Fórmula (II):



. 2 HCl

(II),

o un tautómero, solvato o hidrato de la misma;

- métodos para preparar dicha sal de diclorhidrato;

- dicha sal de diclorhidrato para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad;

- uso de dicha sal de diclorhidrato para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad, en particular de un trastorno hiperproliferativo y/o de angiogénesis, más particularmente para el tratamiento o profilaxis de un cáncer, particularmente cáncer de pulmón, en particular carcinoma de pulmón a células no pequeñas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, carcinoma de hepatocitos, carcinoma de hepatocitos o cáncer de mama;

- composición farmacéutica que comprende dicha sal de diclorhidrato; y

- combinación farmacéutica que comprende dicha sal de

diclorhidrato en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales.