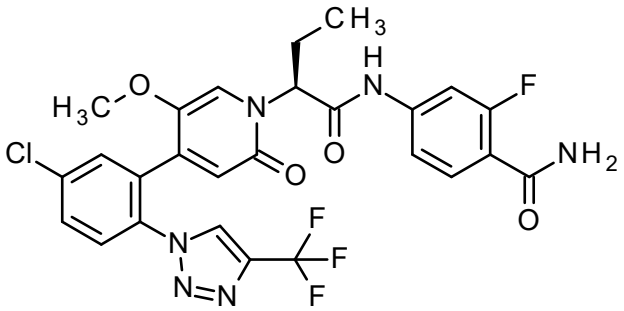
Formas cristalinas de (4*S*)–2^4–cloro–4–etil–7^3–fluoro–3^5–metoxi–3^2,5–dioxo–1^4–(trifluoro–metil)–3^2*H*–6–aza–3(4,1)–piridina–1(1)–[1,2,3]triazola–2(1,2),7(1)–dibencenaheptafano–7^4–carboxamida

La presente invención se refiere a formas cristalinas de (4*S*)–2^4–cloro–4–etil–7^3–fluoro–3^5–metoxi–3^2,5–dioxo–1^4–(trifluorometil)–3^2*H*–6–aza–3(4,1)–piridina–1(1)–[1,2,3]triazola–2(1,2),7(1)–dibencenaheptafano–7^4–carboxamida que son la modificación cristalina I y la modificación cristalina II, a procesos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que las comprenden y a su uso en el control de trastornos.

Compuesto de la fórmula (I), (4*S*)–2^4–cloro–4–etil–7^3–fluoro–3^5–metoxi–3^2,5–dioxo–1^4–(trifluorometil)–3^2*H*–6–aza–3(4,1)–piridina–1(1)–[1,2,3]triazola–2(1,2),7(1)–dibencenaheptafano–7^4–carboxamida, también denominado 4–({(2S)–2–[4–{5–cloro–2–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]butanoil}amino)–2–fluorobenzamida, es conocido del documento WO2017/005725, y tiene la siguiente fórmula:



compuesto de la fórmula (I).

El compuesto de la fórmula (I) actúa como un inhibidor del factor XIa y, debido a este mecanismo de acción específico, es útil, después de la administración oral, en el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos, preferentemente, trastornos trombóticos o tromboembólicos y/o complicaciones trombóticas o tromboembólicas, en particular, trastornos cardiovasculares que incluyen enfermedad de las arterias coronarias, angina de pecho, infarto de miocardio o trombosis de endoprótesis, así como trastornos en las arterias cerebrovasculares y otros trastornos, que conducen a ataques isquémicos transitorios (TIA, por sus siglas en inglés), accidentes cerebrovasculares isquémicos, incluidos los accidentes cerebrovasculares cardioembólicos así como no cardioembólicos, y/o trastornos de las arterias periféricas, que conducen a enfermedad arterial periférica, incluida la oclusión arterial periférica, isquemia aguda de las extremidades, amputación, reoclusiones y restenosis después de intervenciones tales como angioplastía, implantación o cirugía de endoprótesis y derivación, y/o trombosis de endoprótesis.

El compuesto de la fórmula (I) se puede preparar como se describe en el documento WO2017/005725, en el Ejemplo 234 y el Ejemplo 235. Usando el proceso descripto, el compuesto de la fórmula (I) se obtiene en forma amorfa. El compuesto de la fórmula (I) obtenido en forma amorfa no pudo transformarse en una forma cristalina sin solvente, incluso, realizando numerosos

experimentos, tales como, p. ej., 1) la disolución del compuesto de la fórmula (I) en un solvente y realizando experimentos de cristalización típicos que incluyen, p. ej., evaporación del solvente y enfriamiento de las soluciones, o 2) suspensión de soluciones saturadas del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa. Se han probado diferentes tipos de solventes, así como mezclas de solventes.

En el documento WO2019/175043 se describe que el compuesto de la fórmula (I) no se puede aislar en forma cristalina libre de solvente, pero el compuesto de fórmula (I) contenido en una mezcla racémica sí se cristaliza. Este comportamiento de cristalización del compuesto de la fórmula (I) contenido en una mezcla racémica se utiliza para producir de manera fácil y escalable el compuesto de la fórmula (I) (enantioméricamente puro) en una forma de estado sólido amorfo. El material racémico que contiene el compuesto de la fórmula (I) es cristalino, con una solubilidad mucho menor en solventes orgánicos. Sobre la base de este principio de diferentes solubilidades cinéticas del compuesto deseado de la fórmula (I) (enantioméricamente puro) en forma amorfa y el material racémico que contiene el compuesto de la fórmula (I) en forma cristalina, el compuesto de la fórmula (I) (enantioméricamente puro) se obtiene con altos valores de *ee*.

El objetivo del desarrollo fue, por lo tanto, proporcionar el compuesto de la fórmula (I) en una forma cristalina libre de solvente.

Sorprendentemente, se encontró que el compuesto de la fórmula (I) en la forma amorfa se puede disolver en un solvente, y después de sembrar con un compuesto de la fórmula (II) en la modificación cristalina A, el compuesto de la fórmula (I) sí se cristaliza en la modificación cristalina I.

La forma amorfa se puede caracterizar mediante un difractograma de rayos X en polvo que no muestra reflexiones características, así como mediante un termograma de DSC (calorimetría diferencial de barrido, por sus siglas en inglés) que no muestra eventos de fusión (Figuras 17 y 16). Ahora se ha encontrado que la forma amorfa muestra higroscopicidad y menos estabilidad, en comparación con la modificación cristalina I.

Se han identificado las siguientes formas cristalinas del compuesto de la fórmula (I), que son la modificación cristalina I y la modificación cristalina II. En el contexto de la presente invención, las modificaciones, las formas polimórficas y los polimorfos tienen el mismo significado. Estas formas cristalinas existen además de la forma amorfa. En conjunto, las formas cristalinas y la forma amorfa, son diferentes formas sólidas del compuesto de la fórmula (I).

La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) muestra propiedades beneficiosas sobre la forma amorfa del compuesto de la fórmula (I), con respecto a la higroscopicidad y estabilidad térmica. Las isotermas de adsorción dinámica de vapor de la forma amorfa, la modificación cristalina I y la modificación cristalina II muestran que al 80 % de humedad relativa las muestras ganaron 3,2 %, 0,04 % y 2,13 % de masa de agua, respectivamente. La estabilidad térmica se investigó almacenando las muestras en recipientes cerrados durante 1 semana a 90°C, y luego, midiendo la

suma de todas las impurezas orgánicas con HPLC (Método 3). Se midió el 4,4 % de impurezas orgánicas para la forma amorfa, mientras que no se detectaron impurezas orgánicas para la modificación cristalina I después del almacenamiento.

La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) es la forma termodinámicamente estable por debajo del punto de fusión.

La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) es, por lo tanto, adecuada para el uso en el campo farmacéutico, en particular, es adecuada para composiciones farmacéuticas.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención comprende la modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I), y opcionalmente, otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las diferentes formas del compuesto de la fórmula (I) se pueden distinguir por difracción de rayos X en polvo, calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectroscopia IR (infrarrojo) y Raman.

La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) se puede caracterizar por espectroscopia en infrarrojo que exhibe por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1705, 1641, 1429, preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1705, 1641, 1503, 1429, 791, más preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1705, 1641, 1503, 1429, 1383, 1039, 791, con mayor preferencia por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 3401, 1705, 1613, 1641, 1503, 1429, 1383, 1205, 1039, y 791. El compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I además se puede caracterizar por espectro de IR como se muestra en la Figura 7.

La modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) se puede caracterizar por espectroscopia en infrarrojo que exhibe por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1664, 1571, 1134, preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1664, 1571, 1525, 1373, 1134, más preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1664, 1571, 1525, 1417, 1373, 1134, 1032, con mayor preferencia por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1664, 1571, 1525, 1417, 1373, 1134, 1032, 870, 825 y 775. El compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina II además se puede caracterizar por espectro de IR como se muestra en la Figura 8.

La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) se puede caracterizar por espectroscopia de Raman que exhibe por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1625, 1239, 991, preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1625, 1572, 1528, 1239, 991, más preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1625, 1572, 1528, 1359, 1329, 1239, 991, con mayor preferencia por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 3059, 1694, 1625, 1572, 1528, 1431, 1359, 1329,

1239 y 991. El compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I además se puede caracterizar por espectro de Raman como se muestra en la Figura 9.

La modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) se puede caracterizar por espectroscopia de Raman que exhibe por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1623, 1604, 1336, preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1623, 1604, 1527, 1336, 981, más preferentemente por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1663, 1623, 1604, 1527, 1247, 1336, 981, con mayor preferencia por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1710, 1663, 1623, 1604, 1527, 1374, 1247, 1336, 981 y 709. El compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina II además se puede caracterizar por espectro de Raman como se muestra en la Figura 10.

La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) se puede caracterizar por un difractograma de rayos X en polvo (a 20 ± 5°C y con Cu–K alfa 1 como radiación) que exhibe por lo menos las siguientes reflexiones: 17,8, 19,1, 25,5, preferentemente por lo menos las siguientes reflexiones: 10,6, 17,8, 19,1, 19,4, 25,5, más preferentemente por lo menos las siguientes reflexiones: 10,6, 13,9, 17,8, 19,1, 19,4, 23,4, 25,5, con mayor preferencia por lo menos las siguientes reflexiones: 10,6, 13,9, 17,8, 19,1, 19,4, 20,8, 22,0, 22,6, 23,4 y 25,5, cada una, citada como valor 2Θ ± 0,2°. El compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I además se puede caracterizar por el difractograma de rayos X en polvo (a 20 ± 5°C y con Cu–K alfa 1 como radiación) como se muestra en la Figura 11.

La modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) se puede caracterizar por un difractograma de rayos X en polvo (a 20 ± 5°C y con Cu–K alfa 1 como radiación) que exhibe por lo menos las siguientes reflexiones: 11,0, 16,8, 23,6, preferentemente por lo menos las siguientes reflexiones: 8,9, 11,0, 16,8, 20,2, 23,6, más preferentemente por lo menos las siguientes reflexiones: 7,9, 8,9, 11,0, 16,8, 18,3, 20,2, 23,6, con mayor preferencia por lo menos las siguientes reflexiones: 7,9, 8,9, 11,0, 16,8, 17,3, 18,3, 20,2, 21,9, 23,6 y 26,5, cada una, citada como valor 2Θ ± 0,2°. El compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I además se puede caracterizar por el difractograma de rayos X en polvo (a 20 ± 5°C y con Cu–K alfa 1 como radiación) como se muestra en la Figura 12.

Proceso para la preparación.

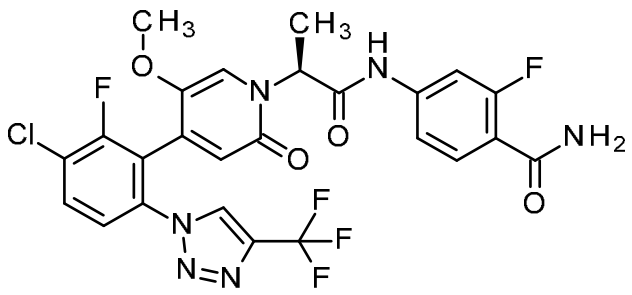
La invención se refiere además a un proceso para la preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I, mediante la disolución del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa en un solvente inerte y la cristalización del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I con una semilla del compuesto de la fórmula (II) en la modificación cristalina A.

Los solventes inertes de acuerdo con la presente invención son acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetato de butilo, butan–2–ona, 1,4–dioxano, 2–metilpiridina,

4–metilpentan–2–ona, n–heptano, ciclohexano, metilciclohexano, 2–(propan–2–iloxi)propano o 2–metoxi–2–metilpropano, o alcoholes tales como butan–1–ol, butan–2–ol, propan–2–ol, propan–1–ol, 2–metilpropan–1–ol, etanol o metanol, y/o mezclas de los mismos, así como mezclas de los solventes con agua. Se prefiere como solvente una mezcla de etanol y agua.

La invención se refiere además a un proceso para la preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I, mediante la disolución del compuesto de la fórmula (I) en la forma amorfa en etanol y la adición de agua y la cristalización del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I con una semilla del compuesto de la fórmula (II) en la modificación cristalina A.

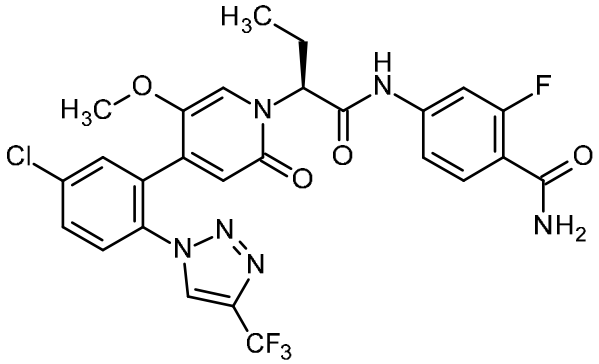
El Compuesto de la fórmula (II), 4–({(2S)–2–[4–{3–cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]propanoil}amino)–2–fluorobenzamida, tiene la siguiente fórmula:



compuesto de la fórmula (II).

La invención además se relaciona con un proceso para la preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina II, mediante el secado del compuesto de la fórmula (III) en un horno a presión reducida, preferentemente durante un día, a 50°C y 1 kPa (10 mbar). Otras combinaciones de temperatura y presión también pueden conducir a la desolvatación de la acetona, por lo que el progreso y/o la conclusión del proceso de desolvatación pueden verificarse mediante mediciones de TGA (análisis termogravimétrico, por sus siglas en inglés) y XRPD (difracción de rayos X en polvo, por sus siglas en inglés).

El Compuesto de la fórmula (III), 4–({(2S)–2–[4–{5–cloro–2–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]butanoil}–amino)–2–fluorobenzamida acetona, tiene la siguiente fórmula:



X acetona

compuesto de la fórmula (III).

Método de tratamiento.

La presente invención se refiere además al uso del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I y/o en la modificación cristalina II para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, preferentemente de trastornos trombóticos o tromboembólicos y/o complicaciones trombóticas o tromboembólicas.

La presente invención se refiere además al uso del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I y/o en la modificación cristalina II para el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos cardiovasculares que incluyen enfermedad arterial coronaria, angina de pecho, infarto de miocardio o trombosis de endoprótesis, así como trastornos de las arterias cerebrovasculares y otros trastornos, que conducen a ataques isquémicos transitorios (TIA), accidentes cerebrovasculares isquémicos, incluidos los accidentes cerebrovasculares cardioembólicos y no cardioembólicos, y/o trastornos de las arterias periféricas, que conducen a enfermedad arterial periférica, incluida la oclusión de la arteria periférica, isquemia aguda de las extremidades, amputación, reoclusiones y restenosis después de intervenciones tales como angioplastía, implantación o cirugía de endoprótesis y derivación, y/o trombosis de endoprótesis.

Composiciones farmacéuticas.

Es posible que la modificación cristalina I y la modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la presente invención tengan actividad sistémica y/o local. Para este propósito, puede administrarse de manera adecuada, tal como, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, vaginal, dérmica, transdérmica, conjuntival, ótica o como implante o endoprótesis.

Para estas vías de administración, es posible administrar la modificación cristalina I y la modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la presente invención, en formas de administración adecuadas.

Para la administración oral, es posible formular la modificación cristalina I y la modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la presente invención en formas de dosificación conocidas en la técnica que liberan los compuestos de la invención rápidamente y/o de

forma modificada, tales como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos sin recubrir o recubiertos, por ejemplo, con recubrimientos entéricos o de liberación controlada que se disuelven con retraso o son insolubles), comprimidos que se desintegran por vía oral, películas/obleas, películas/liofilizados, cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina dura o blanda), comprimidos recubiertos de azúcar, gránulos, pellets, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o soluciones. Es posible incorporar el compuesto de acuerdo con la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta, en dichas formas de dosificación.

La administración parenteral puede efectuarse evitando un paso de absorción (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intraespinal o intralumbal) o incluyendo la absorción (por ejemplo, intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Las formas de administración que son adecuadas para la administración parenteral son, entre otras, preparaciones para inyección e infusión en la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

Ejemplos que son adecuados para otras vías de administración son formas farmacéuticas para inhalación [entre otros, inhaladores de polvo, nebulizadores], gotas nasales, soluciones nasales, pulverizaciones nasales; comprimidos/películas/obleas/cápsulas para la administración lingual, sublingual o bucal; supositorios; gotas para los ojos, ungüentos para los ojos, baños oculares, inserciones oculares, gotas para los oídos, pulverizaciones para los oídos, polvos para los oídos, enjuagues para los oídos, tampones para los oídos; cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, *mixturae agitandae*), suspensiones lipófilas, emulsiones, ungüentos, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (tales como, por ejemplo, parches), leche, pastas, espumas, polvos para espolvoreo, implantes o endoprótesis.

La modificación cristalina I y la modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) pueden incorporarse en las formas de administración indicadas. Esto puede efectuarse de una manera conocida *per se,* mezclando con excipientes farmacéuticamente adecuados. Los excipientes farmacéuticamente adecuados incluyen, entre otros,

- rellenos y portadores (por ejemplo, celulosa, celulosa microcristalina (tal como, por ejemplo, Avicel®), lactosa, manitol, almidón, fosfato de calcio (tal como, por ejemplo, Di–Cafos®)),
- bases para ungüentos (por ejemplo, vaselina, parafinas, triglicéridos, ceras, cera de lana, alcoholes de cera de lana, lanolina, ungüento hidrofílico, polietilenglicoles),
- bases para supositorios (por ejemplo polietilenglicoles, manteca de cacao, grasas duras),
- solventes (por ejemplo, agua, etanol, isopropanol, glicerol, propilenglicol, aceites grasos de triglicéridos de cadena media, polietilenglicoles líquidos, parafinas),

• tensioactivos, emulsionantes, dispersantes o humectantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio), lecitina, fosfolípidos, alcoholes grasos (tales como, por ejemplo, Lanette®), ésteres de ácidos grasos de sorbitán (tales como, por ejemplo, Span®), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán (tales como, por ejemplo, Tween®), glicéridos de ácidos grasos de polioxietileno (tales como, por ejemplo, Cremophor®), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno, éteres de alcoholes grasos de polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de glicerol, poloxámeros (tales como, por ejemplo, ejemplo, Pluronic®),

• tampones, ácidos y bases (por ejemplo, fosfatos, carbonatos, ácido cítrico, ácido acético, ácido clorhídrico, solución de hidróxido de sodio, carbonato de amonio, trometamol, trietanolamina),

• agentes para la isotonicidad (por ejemplo, glucosa, cloruro de sodio),

• adsorbentes (por ejemplo, sílices altamente dispersas),

• agentes que aumentan la viscosidad, formadores de gel, espesantes y/o aglutinantes (por ejemplo, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, almidón, carbómeros, ácidos poliacrílicos (tales como, por ejemplo, Carbopol®); alginatos, gelatina),

• desintegrantes (por ejemplo, almidón modificado, carboximetilcelulosa sódica, glicolato de almidón sódico (tal como, por ejemplo, Explotab®), polivinilpirrolidona reticulada, croscarmelosa sódica (tal como, por ejemplo, AcDiSol®)),

• reguladores del flujo, lubricantes, deslizantes y agentes de desmolde (por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, sílices altamente dispersas (tales como, por ejemplo, Aerosil®)),

• materiales de recubrimiento (por ejemplo, azúcar, goma laca) y formadores de película para películas o membranas de difusión que se disuelven rápidamente o de forma modificada (por ejemplo, polivinilpirrolidonas (tales como, por ejemplo, Kollidon®), alcohol polivinílico, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de celulosa, acetato ftalato de celulosa, poliacrilatos, polimetacrilatos tales como, por ejemplo, Eudragit®)),

• materiales para cápsulas (por ejemplo, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa),

• polímeros sintéticos (por ejemplo, poliláctidos, poliglicólidos, poliacrilatos, polimetacrilatos (tales como, por ejemplo, Eudragit®), polivinilpirrolidonas (tales como, por ejemplo, Kollidon®), alcoholes polivinílicos, acetatos de polivinilo, óxidos de polietileno, polietilenglicoles y sus copolímeros y copolímeros de bloque),

• plastificantes (por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicol, glicerol, triacetina, citrato de triacetilo, ftalato de dibutilo),

• mejoradores de la penetración,

• estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes tales como, por ejemplo, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, ascorbato de sodio, butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, propil galato),

• conservantes (por ejemplo, parabenos, ácido sórbico, tiomersal, cloruro de benzalconio, acetato de clorhexidina, benzoato de sodio),

• colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos tales como, por ejemplo, óxidos de hierro, dióxido de titanio),

• saborizantes, edulcorantes, agentes enmascaradores de sabores y/u olores.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende por lo menos la modificación cristalina I y/o la modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la presente invención, convencionalmente junto con uno o más excipientes farmacéuticamente adecuados, y a su uso de acuerdo con la presente invención.

Dosificación de las composiciones farmacéuticas de la presente invención:

Sobre la base de técnicas de laboratorio conocidas para evaluar compuestos útiles para el tratamiento de trastornos, mediante ensayos farmacológicos para la determinación del tratamiento de las afecciones identificadas anteriormente en mamíferos, y mediante la comparación de estos resultados con los resultados de medicamentos conocidos que se usan para tratar estas afecciones, la dosificación eficaz del compuesto de esta invención se puede determinar fácilmente para el tratamiento de cada indicación deseada. La cantidad del ingrediente activo por administrar en el tratamiento de una de estas afecciones puede variar ampliamente de acuerdo con consideraciones tales como el compuesto 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 extensión de la afección tratada.

La cantidad total del ingrediente activo por administrar variará generalmente de alrededor de 5 a 250 mg cada 24 horas para la administración parenteral, a fin de lograr resultados efectivos, y de alrededor de 5 a 500 mg cada 24 horas para la administración oral, a fin de lograr resultados efectivos.

A pesar de esto, puede ser necesario, en caso de ser apropiado, desviarse de las cantidades especificadas, específicamente, de acuerdo con el peso corporal, la vía de administración, el comportamiento individual hacia el ingrediente activo, el tipo de formulación y el tiempo o intervalo de administración.

Los datos de peso en las pruebas y en los ejemplos que siguen son, a menos que se indique lo contrario, porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las relaciones de solventes, las relaciones de dilución y los datos de concentración de las soluciones de líquido/líquido son, en cada caso, sobre la base del volumen, a menos que se indique lo contrario.

Ejemplos de trabajo.

Abreviaturas:

br s	singulete amplio (en RMN)
br d	doblete amplio (en RMN)
br t	amplio triplete (en RMN)
d	día(s), doblete (en RMN)
DCI	ionización química directa (en MS)
dd	doblete de dobletes (en RMN)
DMSO	dimetil sulfóxido
eq.	equivalente(s)
ESI	ionización por electropulverizacióin (en MS)
h	hora(s)
HPLC	cromatografía líquida de alta presión y alta resolución
LC/MS	cromatografía líquida–espectroscopia de masas acoplada
m	multiplete (en RMN)
min	minuto(s)
MS	espectroscopia de masas
RMN	espectroscopia de resonancia magnética nuclear
q	cuartete o cuadruplete (en RMN)
RP	fase inversa (en HPLC)
TA	temperatura ambiente
R_t	tiempo de retención (en HPLC)
s	singulete (en RMN)
t	triplete (en RMN)
T3P	2,4,6–tripropil–1,3,5,2,4,6–trioxatrifosfinano 2,4,6–trióxido

Métodos de HPLC, LC–MS y GC:

Método 1: Instrumento: sistema Waters ACQUITY SQD UPLC; columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 C18 1,8 µm, 50 mm × 1,0 mm; eluyente A: agua + 0,025 % ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo + 0,025 % ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 10 % B → 1,2 min 95 % B → 2,0 min 95 % B; horno: 50°C; caudal: 0,40 ml/min; detección UV: 210–400 nm.

Método 2: Instrumento: Thermo Scientific FT–MS; UHPLC: Thermo Scientific UltiMate 3000; columna: Waters HSS T3 C18 1,8 µm, 75 mm × 2,1 mm; eluyente A: agua + 0,01 % ácido fórmico; eluyente B: acetonitrilo + 0,01 % ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 10 % B → 2,5 min 95 % B → 3,5 min 95 % B; horno: 50°C; caudal: 0,90 ml/min; detección UV: 210–400 nm.

Método 3: sistema Agilent 1290; columna: YMC Triart C18 ExRS 1,9 µm, 50 mm × 2 mm; eluyente A: acetato de amonio acuoso (0,77 g/L)/tampón de amoníaco solución pH 9; eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0,0 min 5 % B → 10 min 65 % B → 10,01 min 5 % B → 11 min 5 % B; horno: 40°C; caudal: 1 ml/min; detección UV: 220 nm.

Método ^{1}H–RMN: Los espectros de ^{1}H–RMN se adquirieron en espectrómetros Bruker (a 400 MHz, 500 MHz o 600 MHz según se indica) a temperatura ambiente en solvente deuterado (d_6–DMSO). La información sobre el desplazamiento químico δ se proporciona en ppm, en relación con la frecuencia de irradiación. La señal del solvente deuterado se utiliza como patrón interno.

Ejemplo 1: Preparación de (4*S*)–2^4–cloro–4–etil–7^3–fluoro–3^5–metoxi–3^2,5–dioxo–1^4–(trifluorometil)–3^2*H*–6–aza–3(4,1)–piridina–1(1)–[1,2,3]triazola–2(1,2),7(1)–dibencenaheptafano–7^4–carboxamida, también denominado como 4–({(2S)–2–[4–{5–cloro–2–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]butanoil}amino)–2–fluorobenzamida, (compuesto de la fórmula (I))

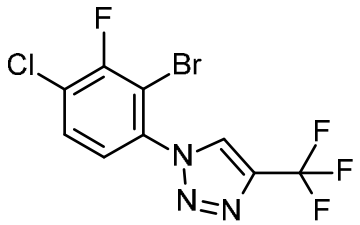
El compuesto de la fórmula (I) se puede preparar como se describe en el documento WO2017/005725 en el Ejemplo 234 y el Ejemplo 235. Usando el proceso descripto, se obtiene el compuesto de la fórmula (I) en la forma amorfa.

La ^{1}H–RMN del compuesto de la fórmula (I) como racemato se muestra en el documento WO2017/005725 en el Ejemplo 234:

^{1}H–RMN (400 MHz, DMSO–d_6): δ [ppm] = 10,76 (br s, 1H), 9,13 (s, 1H), 7,86–7,80 (m, 2H), 7,79–7,77 (m, 1H), 7,69 (t, 1H), 7,66–7,61 (m, 1H), 7,56–7,49 (m, 2H), 7,37 (dd, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,53 (s, 1H), 5,55–5,49 (m, 1H), 3,26 (s, 3H), 2,14–2,02 (m, 2H), 0,79 (t, 3H).

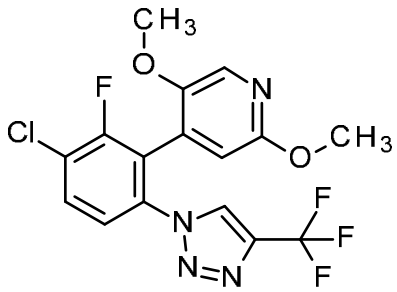
Ejemplo 2: Preparación de 4–({(2*S*)–2–[4–{3–Cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2*H*)–il]propanoil}amino)–2–fluoro–benzamida (compuesto de la fórmula (II))

Ejemplo 2.1: 1–(2–Bromo–4–cloro–3–fluorofenil)–4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol



1–(2–Bromo–4–cloro–3–fluorofenil)–4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol se sintetiza iniciando con 2–bromo–4–cloro–3–fluoroanilina (WO 2016/168098, pp. 59–60), primero mediante la generación del derivado azido (en presencia de *ter*–butil nitrito y trimetilsilil azida, en forma análoga a la síntesis del Ejemplo 2.18A, WO 2017/005725, pp. 92–93), y en segundo lugar, realizando una cicloadición del derivado azido con trifluoropropina (en presencia de óxido de cobre (I), en forma análoga a la síntesis del Ejemplo 2.26A, WO 2017/005725, p. 102).

Ejemplo 2.2: 4–{3–Cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–2,5–dimetoxipiridina

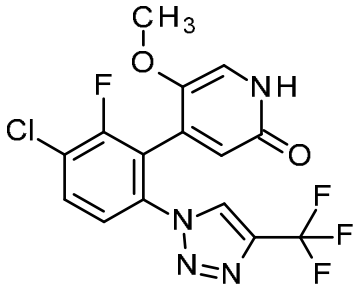


Una mezcla de 1–(2–bromo–4–cloro–3–fluorofenil)–4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol (982 mg, 2,85 mmol), ácido (2,5–dimetoxipiridin–4–il)borónico (WO 2019/175043, pp. 23–24) (626 mg, 3,42 mmol, 1,2 eq.) y carbonato de potasio (1,18 g, 8,55 mmol, 3,0 eq.) se disolvió en 1,4–dioxano (50 ml) y se inundó con argón durante 10 min, antes de agregar aducto de [1,1–bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) cloruro, monodiclorometano (233 mg, 0,29 mmol, 0,1 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 100°C (baño de aceite previamente calentado a 100°C) durante la noche. Se agregó cantidad adicional de ácido (2,5–dimetoxipiridin–4–il)borónico (209 mg, 1,14 mmol, 0,4 eq.) y aducto de [1,1–bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) cloruro, monodiclorometano (116 mg, 0,14 mmol, 0,05 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 5 h adicionales, se dejó a TA durante el fin de semana y se filtró a través de Celite®, que se lavó con 1,4–dioxano. Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice, eluyente: gradiente de ciclohexano / etil acetato). Rendimiento: 432 mg (38 % del teórico).

LC–MS (método 2): R_t = 2,13 min; MS (ESIpos): m/z = 403 $[M+H]^+$

^{1}H–RMN (400 MHz, DMSO–d_6): δ [ppm] = 9,17 / 9,16 (2x s, 1H), 8,03 / 8,01 (2x d, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,75 / 7,75 (2x d, 1H), 6,82 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,54 (s, 3H).

Ejemplo 2.3: 4–{3–Cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxipiridin–2(1*H*)–ona

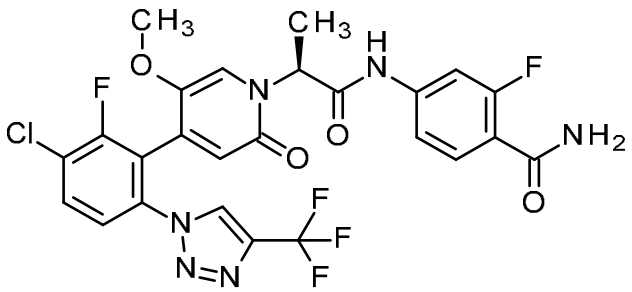


Se añadió bromhidrato de piridina (429 mg, 2,68 mmol, 2,5 eq.) a una solución de 4–{3–cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–2,5–dimetoxipiridina (432 mg, 1,07 mmol) en *N,N*–dimetilformamida (10 ml). La mezcla se agitó a 100°C durante la noche y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en agua. Después de la adición de acetato de etilo y la separación de fases, la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por medio de la cromatografía (gel de sílice, eluyente: gradiente de diclorometano / metanol). Rendimiento: 285 mg (68 % del teórico).

LC–MS (método 2): R_t = 1,46 min; MS (ESIpos): m/z = 389 $[M+H]^+$

^{1}H–RMN (600 MHz, DMSO–d_6): δ [ppm] = 11,3 (br s, 1H), 9,23 (s, 1H), 8,10–7,99 (m, 1H), 7,77 (m, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 3,45 (s, 3H).

Ejemplo 2.4: 4–({(2*S*)–2–[4–{3–Cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2*H*)–il]propanoil}amino)–2–fluorobenzamida (compuesto de la fórmula (II))



Se añadió 1,1,3,3–tetrametilguanidina (420 µl, 3,35 mmol, 3,0 eq.) en atmósfera de argón a temperatura ambiente, a una solución de 4–{3–cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1*H*–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxipiridin–2(1*H*)–ona (438 mg, 1,12 mmol) en 2–propanol / acetona (4:1, 7,5 ml). La mezcla se agitó a TA durante 15 min, seguido de la adición de 4–{[(2*R*)–2–

bromopropanoil]amino}–2–fluorobenzamida (documento WO 2020/127504, Ejemplo 1.19A, página 76) (355 mg, 1,23 mmol, 1,1 eq.) y más 2–propanol / acetona (4:1, 7,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por medio de la cromatografía (gel de sílice, eluyente: gradiente de diclorometano / metanol) y HPLC preparativa (fase inversa, eluyente: gradiente de acetonitrilo / agua). Rendimiento: 539 mg (81 % del teórico).

LC–MS (método 2): R_t = 1,65 min; MS (ESIpos): m/z = 597 $[M+H]^+$

^{1}H–RMN (500 MHz, DMSO–d_6): δ [ppm] = 10,72 / 10,63 (2x s, 1H), 9,24 / 9,13 (2x s, 1H), 8,06–7,99 (m, 1H), 7,79–7,74 (m, 1H), 7,72–7,60 (m, 2H), 7,56–7,48 (m, 2H), 7,38–7,32 (m, 1H), 7,27 / 7,25 (2x s, 1H), 6,48 / 6,47 (2x s, 1H), 5,51–5,44 (m, 1H), 3,47 / 3,45 (2x s, 3H), 1,65 / 1,64 (2x s, 3H).

Ejemplo 3: Preparación de 4–({(2S)–2–[4–{5–cloro–2–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]butanoil}–amino)–2–fluorobenzamida acetona (compuesto de la fórmula (III)

El compuesto de la fórmula (III) se puede preparar como se describe en el documento WO2019/175043, compuesto de la fórmula (IIc). Usando el proceso descripto, se obtiene el compuesto de la fórmula (III) en forma cristalina.

Ejemplo 4: Preparación del compuesto de la fórmula (II) en modificación cristalina A.

Se disolvieron 306 mg del compuesto de fórmula (II) en forma amorfa en 20 ml de una mezcla de 50 % en volumen de etanol y 50 % en volumen de agua a temperatura ambiente. La solución se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente, para lograr la precipitación de un sólido blanco. El solvente se evaporó en un evaporador rotatorio. El sólido obtenido se secó en un horno al vacío a 40°C durante 16 horas. Se obtuvieron 273 mg del compuesto de la fórmula (II) en la modificación cristalina A. El espectro de ^{1}H–RMN (en DMSO–d_6) se muestra en la Figura 19.

Ejemplo 5: Intento de preparar el compuesto de la fórmula (I) en una modificación cristalina.

Se disolvieron aproximadamente 10 mg de compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa en 1 ml de etanol caliente. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la solución se agitó en un vial abierto hasta que el solvente se evaporó por completo. El sólido obtenido fue amorfo.

Ejemplo 6: Intento de preparar el compuesto de la fórmula (I) en una modificación cristalina.

Se suspendieron 100 mg del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa en 2,5 ml de una mezcla de 50 % en volumen de etanol y 50 % en volumen de agua a temperatura ambiente. La suspensión se agitó durante 4 semanas, luego se filtró y se secó. El sólido obtenido fue amorfo.

Ejemplo 7: Preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I.

Se disolvieron 30 mg del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa en 2 ml de etanol a temperatura ambiente. Se añadieron 660 µL de agua a la solución, gota a gota, hasta que se observó una solución turbia. A continuación, la solución se sembró con 1 mg de la modificación cristalina A del compuesto de la fórmula (II). Poco después de la siembra, se observó la precipitación de más partículas pequeñas, pero las partículas desaparecieron rápidamente al agitarlas, para dar como resultado una solución aparentemente transparente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 48 horas, se obtuvo una suspensión. El sólido se filtró al vacío y se secó durante la noche en condiciones ambientales. El patrón de XRPD del sólido obtenido corresponde a la modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I). El análisis de ^{1}H–RMN del sólido resultante indica que el sólido contenía aproximadamente 5 % en peso del compuesto de la fórmula (II). Los picos del compuesto de la fórmula (I) están en δ [ppm] = 6,53 (s, 1H), 3,26 (s, 3H) y 0,79 (t, 3H), y los picos del compuesto de la fórmula (II) están en δ [ppm] = 6,48 / 6,47 (2x s, 1H), 3,47 / 3,45 (2x s, 3H) y 1,65 / 1,64 (2x s, 3H). Estos picos se usaron para la integración con el fin de determinar el 5 % en peso del compuesto de la fórmula (II). El espectro de ^{1}H–RMN se muestra en la Figura 1.

Ejemplo 8: Preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I como compuesto de la fórmula (I) puro.

Se disolvieron 300 mg del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa en 3,8 ml de etanol a temperatura ambiente. Se agregaron 3,5 ml de agua a la solución, gota a gota, hasta que se observó una solución turbia. Se agregaron 2 gotas de etanol para obtener una solución transparente. La solución transparente se sembró con 1,5 mg del sólido obtenido en el Ejemplo 7, luego se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La suspensión resultante se filtró y se secó durante la noche en condiciones ambientales. Se obtuvieron 146 mg de la modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I). El análisis de ^{1}H–RMN del sólido resultante indica que la cantidad de compuesto de la fórmula (II) estaba por debajo del límite de detección. El espectro de ^{1}H–RMN se muestra en la Figura 2.

Ejemplo 9: Preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I como compuesto de la fórmula (I) puro.

Se disolvieron 20,0 g del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa en una mezcla de 40,0 g de propan–2–ol y 10,0 g de acetona, a temperatura ambiente. La mezcla se calentó hasta 60°C, y a la solución resultante, se le añadieron 126,0 g de agua durante 60 minutos. La mezcla resultante se sembró con 100,0 mg de la modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) y se agitó a 60°C durante 3 horas. A continuación, se añadieron 4,8 g adicionales del compuesto de la fórmula (I) en forma amorfa, y la mezcla se agitó a 60ºC durante la noche. La suspensión resultante se enfrió hasta 20°C en 60 minutos, y se agitó a 20°C durante 90 minutos. La suspensión así obtenida se filtró al vacío, se lavó dos veces con 42,5 g de una mezcla de propan–2–ol : acetona : agua, en la relación de masa de 4:1:12, y se secó al vacío a 40°C. Rendimiento: 22,4 g (90,3 % del rendimiento teórico)

de un sólido blanco pálido en la modificación cristalina I.

Ejemplo 10: Preparación del compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina II.

Se secaron 40 mg del compuesto de la fórmula (III) a 50°C bajo presión reducida para obtener un sólido en la modificación cristalina II.

Ejemplo 11: Caracterización física de la forma amorfa, modificación cristalina I y modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I).

Ejemplo 11.1: Análisis termogravimétrico (TGA).

El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó con un instrumento Perkin Elmer Pyris 6, o con un instrumento Mettler Toledo TGA/DSC1. El instrumento se purgó con gas nitrógeno a un caudal de 20 a 50 $ml.min^{-1}$. Se colocaron aproximadamente 5 a 15 mg de cada muestra en un crisol de aluminio o de óxido de aluminio. La tasa de calentamiento fue de 10°$C.min^{-1}$ para todas las mediciones, con un rango de temperatura de 25 a 300°C para las Modificaciones I y II, y un rango de temperatura de 25 a 280°C, para la forma amorfa. No se realizó preparación de muestras. Los termogramas de TGA se muestran en las Figuras 3, 4 y 15.

Ejemplo 11.2: Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Figura 16: Curva de DSC del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó con un instrumento Mettler Toledo DSC822e. El calorímetro se purgó con gas nitrógeno a un caudal de 50 $ml.min^{-1}$. Se colocaron aproximadamente de 3 a 10 mg de muestra en un crisol de aluminio sin preparación de la muestra. El rango de temperatura fue de –10 a 280°C a una tasa de calentamiento de 20°$C.min^{-1}$. El termograma DSC se muestra en la Figura 16.

Figura 5: Curva de DSC del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó con un instrumento Mettler Toledo DSC3. El calorímetro se purgó con gas nitrógeno a un caudal de 50 $ml.min^{-1}$. Se colocaron aproximadamente de 3 a 10 mg de muestra en un crisol de aluminio sin preparación de la muestra. El rango de temperatura fue de –10 a 300°C a una tasa de calentamiento de 20°$C.min^{-1}$. El termograma de DSC se muestra en la Figura 5.

Figura 6: Curva de DSC del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó con un instrumento Netzsch Phoenix DSC 204 F1. El calorímetro se purgó con gas nitrógeno a un caudal de 20 $ml.min^{-1}$. Se colocaron aproximadamente de 3 a 10 mg de muestra en un crisol de aluminio sin preparación de la muestra. El rango de temperatura fue de 25 a 300°C a una tasa de calentamiento de 10°$C.min^{-1}$. El termograma DSC se muestra en la Figura 6.

Tabla 1: Calorimetría diferencial de barrido.

	modificación cristalina I	modificación cristalina II
Punto de fusión [°C]	196°C	——

Ejemplo 11.3: Espectroscopia en infrarrojo.

Las mediciones de IR se realizaron con un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet iS10 y un espectrómetro Bruker alfa en la geometría de reflectancia total atenuada (ATR). No se realizó preparación de muestras, y cada medición individual consistió en 32 o 64 escaneos. Los espectros de IR se muestran en las Figuras 7 y 8.

Tabla 2: Espectroscopia en infrarrojo del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I y modificación cristalina II.

Máximos de banda (cm^{-1})		**Máximos de banda (cm^{-1})**	
Modificación cristalina I	**Modificación cristalina I**	**Modificación cristalina II**	**Modificación cristalina II**
402	996	619	2967
427	1039	675	3107
440	1069	710	3166
459	1096	727	3293
502	1129	746	3509
521	1141	775	
535	1158	792	
568	1205	825	
578	1234	870	
608	1259	911	
618	1328	979	
653	1383	991	
677	1429	1032	
685	1465	1076	
704	1503	1103	
726	1525	1134	
749	1568	1223	
791	1579	1237	
801	1595	1259	

Máximos de banda (cm^{-1})		Máximos de banda (cm^{-1})	
Modificación cristalina I	**Modificación cristalina I**	**Modificación cristalina II**	**Modificación cristalina II**
823	1613	1292	
835	1641	1335	
843	1692	1373	
852	1705	1417	
867	2933	1464	
878	2982	1525	
895	3060	1571	
915	3174	1664	
969	3332	2844	
977	3401	2938	

Ejemplo 11.4: Espectroscopia de Raman del compuesto de la fórmula (I).

Las mediciones Raman se realizaron con un espectrómetro Bruker MultiRAM. No se realizó preparación de las muestras, y cada medición individual consistió en 64 o 128 escaneos usando una potencia de láser de 300 o 600 mW. Los espectros de Raman se muestran en las Figuras 9 y 10.

Tabla 3: Espectroscopia de Raman del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I y modificación cristalina II.

Máximos de banda (cm^{-1})		Máximos de banda (cm^{-1})	
Modificación cristalina I	**Modificación cristalina I**	**Modificación cristalina II**	**Modificación cristalina II**
226	1125	229	1663
238	1138	337	1710
252	1210	391	2844
271	1239	425	2874
316	1259	448	2942
370	1273	493	3075
381	1293	622	
396	1329	653	
420	1340	682	
460	1379	709	
515	1395	745	
537	1431	817	

Máximos de banda (cm^{-1})		Máximos de banda (cm^{-1})	
Modificación cristalina I	**Modificación cristalina I**	**Modificación cristalina II**	**Modificación cristalina II**
558	1441	880	
566	1473	981	
608	1504	1037	
626	1528	1100	
640	1572	1139	
655	1601	1183	
687	1625	1216	
698	1667	1247	
718	1694	1274	
754	1706	1291	
792	2843	1336	
806	2886	1374	
853	2916	1417	
866	2925	1445	
880	2944	1486	
970	2960	1501	
991	2999	1528	
1034	3031	1571	
1070	3059	1586	
1079	3093	1604	
1100		1623	

Ejemplo 11.5: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) para el compuesto de la fórmula (I).

Los datos de difracción de rayos X en polvo (XRPD) se registraron en un difractómetro STOE STADI P o D8 Bruker Advance utilizando radiación monocromática Cu–K alfa 1, un detector sensible a la posición, en configuraciones de generador de 40 kV y 40 mA. Las muestras se recolectaron en modo de transición, y se prepararon o bien en un capilar de vidrio estándar o como una capa delgada entre dos láminas. El rango de barrido estuvo entre 2° y 40° 2 theta, con un paso de 0,5° a 15 segundos/paso para el STOE STADI P, y un paso de 0,009194171° a 1,28 segundos/paso, para el D8 Bruker Advance. Los difractogramas de rayos X en polvo se muestran en las Figuras 11, 12 y 17.

Tabla 4: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto de la fórmula (I), modificación

cristalina I y modificación cristalina II.

Ángulo de difracción (2θ, °)		**Ángulo de difracción (2θ, °)**	
Modificación cristalina I	**Modificación cristalina I**	**Modificación cristalina II**	**Modificación cristalina II**
5,8	27,5	6,0	22,6
8,8	28,4	7,9	22,8
10,6	28,8	8,1	23,7
11,6	29,5	8,9	25,2
13,3	29,7	9,8	25,5
13,9	30,4	10,4	25,9
16,0	30,7	11,0	26,5
17,0	31,4	11,5	27,2
17,4	31,6	11,8	28,1
17,8	32,5	12,2	29,0
18,3	33,4	13,1	29,1
19,1	33,7	13,3	29,9
19,4	34,3	13,8	30,3
20,0	34,4	14,4	30,5
20,2	35,0	15,5	30,8
20,8	35,5	15,8	31,7
21,2	35,7	16,2	32,3
21,5	36,0	16,7	32,6
22,0	36,6	17,3	34,4
22,6	37,2	17,8	35,1
23,4	37,4	18,3	35,4
24,0	38,1	19,0	35,9
24,3	38,5	19,4	36,1
24,9	39,1	20,2	36,8
25,5	39,6	20,6	37,3
26,0		21,4	38,1
26,5		21,9	

Ejemplo 11.6: Sorción dinámica de vapor del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa, modificación cristalina I y modificación cristalina II.

Las isotermas de sorción de agua de la modificación cristalina I y la modificación cristalina II se determinaron utilizando un analizador de sorción gravimétrica DVS Resolution (Londres, Reino Unido).

La isoterma de sorción de agua de la forma amorfa se determinó usando un instrumento DVS Intrinsic (Surface Measurement Systems SMS). La muestra se secó durante 1000 minutos (1340 minutos para la forma amorfa) al 0 % de humedad relativa (rH). Posteriormente se registró el peso seco. La humedad se incrementó en pasos de 10 % a 90 % de rH (95 % rH para la forma amorfa), y luego se disminuyó nuevamente a 0 % rH. El criterio de equilibrio para cada punto de ajuste de humedad relativa fue 0,002 % por minuto de cambio de masa relativa en función del tiempo. Las isotermas de sorción dinámica de vapor se muestran en las Figuras 13, 14 y 20.

Tabla 5: Sorción dinámica de vapor del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa, modificación cristalina I y modificación cristalina II.

	Modificación cristalina I		**Modificación cristalina II**		**Forma amorfa**	
% rH	**Sorción**	**Desorción**	**Sorción**	**Desorción**	**Sorción**	**Desorción**
0	0,0	0,0	0,02	0,01	0	0,04
10	0,03	0,01	0,38	0,53	0,52	1,11
20	0,03	0,02	0,62	0,87	0,99	1,79
30	0,03	0,02	0,84	1,15	1,40	2,24
40	0,03	0,02	1,06	1,42	1,76	2,60
50	0,03	0,02	1,30	1,68	2,10	2,94
60	0,03	0,03	1,56	1,93	2,44	3,18
70	0,03	0,03	1,83	2,15	2,81	3,42
80	0,04	0,03	2,13	2,34	3,21	3,63
90	0,04	0,04	2,47	2,47	3,67	3,84
95					3,94	3,94

Ejemplo 12: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) para el compuesto de la fórmula (II), modificación cristalina A.

Los datos de difracción de rayos X en polvo (XRPD) se registraron en un difractómetro PANalytical X'Pert PRO utilizando radiación Cu–K alfa, un detector sensible a la posición, en configuraciones de generador de 40 kV y 40 mA. Las muestras se recolectaron en modo de transición, y se prepararon como una capa delgada entre dos láminas. El rango de barrido estuvo entre 2° y 40° 2 theta, con un paso de 0,013° a 25 segundos/paso. El difractograma de rayos X en polvo se muestra en la Figura 18.

Tabla 6: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto de la fórmula (II), modificación cristalina A.

Ángulo de difracción (2θ, °)		
Modificación cristalina A		
2,75	17,94	24,33
8,71	19,05	24,74
12,30	19,29	26,20
12,95	19,84	27,06
13,88	20,18	27,80
15,53	21,00	29,70
16,01	21,43	31,38
16,87	22,48	33,13
17,49	23,12	33,62

Ejemplo 13: Evaluación de la eficacia fisiológica del compuesto de la fórmula (II) (Ejemplo 2.4).

La idoneidad de los compuestos de acuerdo con la invención para el tratamiento de trastornos tromboembólicos puede demostrarse en los siguientes sistemas de ensayo:

a) Descripciones de pruebas (*in vitro*).

a.1) Medición de la inhibición de FXIa.

La inhibición del factor XIa de las sustancias de acuerdo con la invención se determina utilizando un sistema de prueba bioquímica que utiliza la reacción de un sustrato peptídico del factor XIa para determinar la actividad enzimática del factor XIa humano. Aquí, el factor XIa escinde del sustrato peptídico del factor XIa la aminometilcumarina C–terminal (AMC), cuya fluorescencia se mide. Las determinaciones se llevan a cabo en placas de microtitulación.

Las sustancias de prueba se disuelven en sulfóxido de dimetilo y se diluyen en serie en sulfóxido de dimetilo (3000 µM a 0,0078 µM; concentraciones finales resultantes en la prueba: 50 µM a 0,00013 µM). En cada caso, se coloca 1 µl de las soluciones de sustancias diluidas en los pocillos de placas de microtitulación blancas de Greiner (384 pocillos). Luego se agregan 20 µl de tampón de ensayo (50 mM de Tris/HCl pH 7,4; 100 mM de cloruro de sodio; 5 mM de cloruro de calcio; 0,1 % de albúmina de suero bovino) y 20 µl de factor XIa de Kordia (0,45 nM en tampón de ensayo), sucesivamente. Después de 15 min de incubación, se inicia la reacción enzimática mediante la adición de 20 µl del sustrato del factor XIa, Boc–Glu(OBzl)–Ala–Arg–AMC, disuelto en tampón de ensayo (10 µM en tampón de ensayo) de Bachem, la mezcla se incuba a temperatura ambiente (22°C) durante 30 min, y luego se mide la fluorescencia (excitación: 360 nm, emisión: 460 nm). Las emisiones medidas de los lotes de prueba con sustancia de prueba se comparan con aquellas de los lotes de control sin sustancia de prueba (solo dimetil sulfóxido, en lugar de sustancia de prueba en dimetil sulfóxido), y los valores IC_{50} se calculan a partir de las relaciones de concentración y

actividad. Los datos de actividad de esta prueba se enumeran en la Tabla A a continuación (algunos, como valores de media de múltiples determinaciones individuales independientes):

Tabla A:

Ejemplo Nro.	IC_{50} [nM]
2.4	1,2

a.2) Determinación de la selectividad.

A fin de demostrar la selectividad de las sustancias con respecto a la inhibición de FXIa, se examinan las sustancias de prueba para determinar su potencial para inhibir otras serina proteasas humanas, tales como el factor Xa, la tripsina y la plasmina. A fin de determinar la actividad enzimática del factor Xa (1,3 nmol/l de Kordia), tripsina (83 mU/ml de Sigma) y plasmina (0,1 µg/ml de Kordia), estas enzimas se disuelven (50 mmol/l de tampón Tris [C,C,C–tris(hidroximetil)aminometano], 100 mmol/l de NaCl, 0,1 % de BSA [albúmina de suero bovino], 5 mmol/l de cloruro de calcio, pH 7,4) y se incuban durante 15 min con la sustancia de prueba en diversas concentraciones en sulfóxido de dimetilo y también con sulfóxido de dimetilo sin sustancia de prueba. A continuación se inicia la reacción enzimática mediante la adición de los sustratos apropiados (5 µmol/l de Boc–Ile–Glu–Gly–Arg–AMC de Bachem, para el factor Xa y tripsina, 50 µmol/l de MeOSuc–Ala–Phe–Lys–AMC de Bachem, para plasmina). Después de un tiempo de incubación de 30 min a 22°C, se mide la fluorescencia (excitación: 360 nm, emisión: 460 nm). Las emisiones medidas de las mezclas de prueba con la sustancia de prueba se comparan con las mezclas de control sin sustancia de prueba (solo dimetil sulfóxido, en lugar de la sustancia de prueba en dimetil sulfóxido), y los valores IC_{50} se calculan a partir de las relaciones de concentración y actividad.

a.3) Ensayo de generación de trombina (trombograma).

El efecto de las sustancias de prueba en el ensayo de generación de trombina de acuerdo con Hemker se determina *in vitro* en plasma humano (Octaplas®, de Octapharma).

En el ensayo de generación de trombina de acuerdo con Hemker, la actividad del plasma de trombina se determina midiendo los productos de escisión fluorescentes del sustrato I–1140 (Z–Gly–Gly–Arg–AMC, Bachem). Las reacciones se llevan a cabo en presencia de concentraciones diversas de sustancia de prueba o del solvente correspondiente. Para iniciar la reacción, se utilizan los reactivos de Thrombinoscope (factor tisular recombinante de 30 pM a 0,1 pM, fosfolípidos en HEPES, 24 µM). Además, se utiliza un calibrador de trombina de Thrombinoscope, cuya actividad amidolítica se requiere para calcular la actividad de trombina en una muestra que contiene una cantidad desconocida de trombina. La prueba se lleva a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Thrombinoscope BV): 4 µl de sustancia de prueba o del solvente, 76 µl de plasma y 20 µl de reactivo PPP o calibrador de trombina se incuban a 37°C durante 5 min. Después de la adición de 20 µl de sustrato de trombina 2,5 mM en Hepes 20 mM, 60 mg/ml de BSA, 102 mM de cloruro de calcio, se mide la generación de trombina cada 20 s durante un período de 120 min. La medición se lleva a

cabo utilizando un fluorímetro (Fluoroskan Ascent) de Thermo Electron equipado con un par de filtros de 390/460 nm y un dosificador.

Utilizando el soporte lógico de Thrombinoscope, el trombograma se calcula y se representa gráficamente. Se calculan los siguientes parámetros: tiempo de retraso, tiempo hasta el pico, pico, ETP (potencial de trombina endógena) y cola de inicio.

a.4) Determinación de la actividad anticoagulante.

La actividad anticoagulante de las sustancias de prueba se determina *in vitro* en plasma humano y plasma de rata. La sangre completa fresca se extrae directamente en una relación de mezcla de citrato de sodio/sangre de 1:9 utilizando una solución de citrato de sodio 0,11 molar como receptor. Inmediatamente después de extraer la sangre, se mezcla completamente y se centrifuga a alrededor de 4000 g durante 15 minutos. El sobrenadante se recoge como plasma (pobre en plaquetas).

El tiempo de protrombina (PT, sinónimos: tiempo de tromboplastina, prueba rápida) se determina en presencia de concentraciones diversas de sustancia de prueba o el solvente correspondiente utilizando un equipo de prueba comercial (Neoplastin® de Boehringer Mannheim, o Hemoliance® RecombiPlastin, de Instrumentation Laboratory). Los compuestos de prueba se incuban con plasma a 37°C durante 3 minutos. A continuación, se inicia la coagulación mediante la adición de tromboplastina, y se determina el punto de tiempo en el que se produce la coagulación de la muestra. Se determina la concentración de la sustancia de prueba que provoca una duplicación del tiempo de protrombina.

El tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) se determina en presencia de concentraciones diversas de la sustancia de prueba o el solvente correspondiente utilizando un equipo de prueba comercial (reactivo PTT, de Roche). Los compuestos de prueba se incuban con el plasma y el reactivo PTT (cefalina, caolín) a 37°C durante 3 minutos. A continuación, se inicia la coagulación mediante la adición de cloruro cálcico 25 mM, y se determina el momento en que se produce la coagulación. Se determina la concentración de sustancia de prueba que conduce a una extensión del 50 % o a una duplicación del APTT.

a.5) Determinación de la actividad de la calicreína plasmática.

Para determinar la inhibición de la calicreína plasmática de las sustancias de acuerdo con la invención, se usa un sistema de prueba bioquímica que utiliza la reacción de un sustrato peptídico de calicreína plasmática para determinar la actividad enzimática de la calicreína plasmática humana. Aquí, la calicreína plasmática escinde del sustrato peptídico de calicreína plasmática la aminometilcumarina C–terminal (AMC), cuya fluorescencia se mide. Las determinaciones se realizan en placas de microtitulación.

Las sustancias de prueba se disuelven en sulfóxido de dimetilo y se diluyen en serie en sulfóxido de dimetilo (3000 µM a 0,0078 µM; concentraciones finales resultantes en la prueba: 50 µM a 0,00013

µM). En cada caso, se coloca 1 µl de las soluciones de sustancias diluidas en los pocillos de placas de microtitulación blancas de Greiner (384 pocillos). Luego se agregan 20 µl de tampón de ensayo (Tris/HCl 50 mM pH 7,4; solución de cloruro de sodio 100 mM; solución de cloruro de calcio 5 mM; albúmina sérica bovina al 0,1 %) y 20 µl de calicreína plasmática de Kordia (0,6 nM en tampón de ensayo) sucesivamente. Después de 15 min de incubación, se inicia la reacción enzimática mediante la adición de 20 µl del sustrato H–Pro–Phe–Arg–AMC disuelto en tampón de ensayo (10 µM en tampón de ensayo) de Bachem, la mezcla se incuba a temperatura ambiente (22°C) durante 30 min, y luego se mide la fluorescencia (excitación: 360 nm, emisión: 460 nm). Las emisiones medidas de los lotes de prueba con sustancia de prueba se comparan con aquellas de los lotes de control sin sustancia de prueba (solo dimetil sulfóxido, en lugar de sustancia de prueba en dimetil sulfóxido), y los valores IC_{50} se calculan a partir de las relaciones de concentración/actividad. Los datos de actividad de esta prueba se enumeran en la Tabla B a continuación (algunos, como valores de media de múltiples determinaciones individuales independientes):

Tabla B:

Ejemplo Nro.	**IC_{50} [nM]**
2.4	3,4

Explicación de las figuras:

Figura 1: ^{1}H RMN del sólido obtenido en el Ejemplo 7.

Figura 2: ^{1}H RMN del sólido obtenido en el Ejemplo 8.

Figura 3: Curva de TGA del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

Figura 4: Curva de TGA del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

Figura 5: Curva de DSC del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

Figura 6: Curva de DSC del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

Figura 7: Espectro de IR del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

Figura 8: Espectro de IR del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

Figura 9: Espectro de Raman del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

Figura 10: Espectro de Raman del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

Figura 11: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

Figura 12: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

Figura 13: Sorción dinámica de vapor del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina I.

Figura 14: Sorción dinámica de vapor del compuesto de la fórmula (I), modificación cristalina II.

Figura 15: Curva de TGA del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa.

Figura 16: Curva de DSC del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa.

Figura 17: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa.

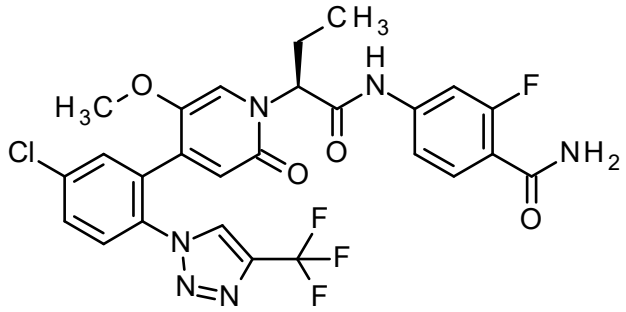
Figura 18: Difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto de la fórmula (II), modificación cristalina A.

Figura 19: ^{1}H RMN del compuesto de la fórmula (II), modificación cristalina A.

Figura 20: Sorción dinámica de vapor del compuesto de la fórmula (I), forma amorfa.

Reivindicaciones:

1. Una forma cristalina de (4*S*)–2^4–cloro–4–etil–7^3–fluoro–3^5–metoxi–3^2,5–dioxo–1^4–(trifluorometil)–3^2*H*–6–aza–3(4,1)–piridina–1(1)–[1,2,3]triazola–2(1,2),7(1)–dibencenaheptafano–7^4–carboxamida que tiene la siguiente fórmula (I)



(I),

que es la modificación cristalina I o la modificación cristalina II.

2. La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1 caracterizada por un difractograma de rayos X en polvo medido a 20 ± 5°C y con Cu–K alfa 1 como radiación que exhibe por lo menos las siguientes reflexiones, citadas como valor 2Θ ± 0,2°: 17,8, 19,1, 25,5.

3. La modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1 caracterizada por un difractograma de rayos X en polvo medido a 20 ± 5°C y con Cu–K alfa 1 como radiación que exhibe por lo menos las siguientes reflexiones, citadas como valor 2Θ ± 0,2°: 11,0, 16,8, 23,6.

4. La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1 caracterizada por una espectroscopia de Raman que exhibe por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1625, 1239, 991.

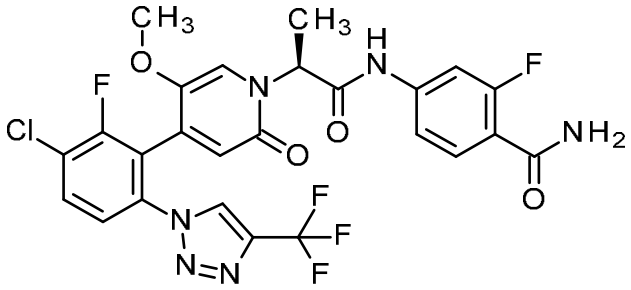
5. La modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1 caracterizada por una espectroscopia de Raman que exhibe por lo menos los siguientes valores de los máximos de banda (cm^{-1}): 1623, 1604, 1336.

6. La modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1 para el uso en el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos trombóticos o tromboembólicos y/o complicaciones trombóticas o tromboembólicas

7. La modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1 para el uso en el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos trombóticos o tromboembólicos y/o complicaciones trombóticas o tromboembólicas.

8. Proceso para la preparación de la modificación cristalina I del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de la fórmula (I) en la forma amorfa se

disuelve en un solvente inerte, y el compuesto de la fórmula (I) en la modificación cristalina I se cristaliza con una semilla de 4–({(2S)–2–[4–{3–cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]–propanoil}amino)–2–fluorobenzamida en la modificación cristalina A que tiene la siguiente fórmula (II)

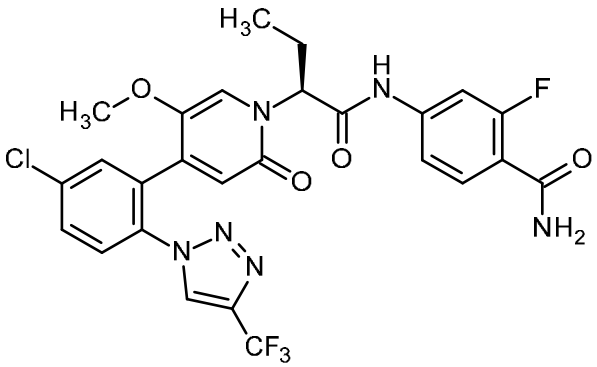


(II).

9. Proceso de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado porque el solvente inerte se selecciona del grupo que consiste en acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetona, etil acetato, isopropil acetato, butil acetato, butan–2–ona, 1,4–dioxano, 2–metilpiridina, 4–metilpentan–2–ona, n–heptano, ciclohexano, metilciclohexano, 2–(propan–2–iloxi)propano y 2–metoxi–2–metilpropano, y alcoholes tales butan–1–ol, butan–2–ol, propan–2–ol, propan–1–ol, 2–metilpropan–1–ol, etanol y metanol, y sus mezclas, así como mezclas de los solventes con agua.

10. Proceso de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado porque el solvente inerte es una mezcla de etanol y agua.

11. Proceso para la preparación de la modificación cristalina II del compuesto de la fórmula (I) de la reivindicación 1, caracterizado porque 4–({(2S)–2–[4–{5–cloro–2–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]butanoil}–amino)–2–fluorobenzamida acetona que tiene la siguiente fórmula (III)

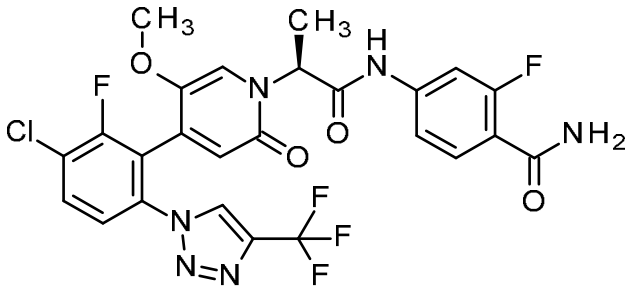


X acetona

(III)

se seca en un horno a presión reducida, preferentemente, durante un día a 50°C y 1 kPa (10 mbar).

12. 4–({(2S)–2–[4–{3–cloro–2–fluoro–6–[4–(trifluorometil)–1H–1,2,3–triazol–1–il]fenil}–5–metoxi–2–oxopiridin–1(2H)–il]propanoil}amino)–2–fluorobenzamida que tiene la fórmula (II)



(II).

RESUMEN

La presente invención se refiere a formas cristalinas de (4*S*)–2^4–cloro–4–etil–7^3–fluoro–3^5–metoxi–3^2,5–dioxo–1^4–(trifluorometil)–3^2*H*–6–aza–3(4,1)–piridina–1(1)–[1,2,3]triazola–2(1,2),7(1)–dibencenaheptafano–7^4–carboxamida que son la modificación cristalina I y la modificación cristalina II, a procesos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que las comprenden y a su uso en el control de trastornos.