

POLIMORFO COMO INHIBIDOR DE LA PROTEÍNA QUINASA MEK, MÉTODO DE PREPARACIÓN Y USO DEL MISMO

CAMPO DE LA INVENCION

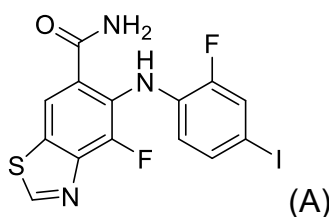
La invención se refiere a formas cristalinas del compuesto de benzotiazol como inhibidor
5 de la quinasa Mek, a sus métodos de preparación y a sus usos farmacéuticos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La sobreactivación del mecanismo de transducción de señales Ras/Raf/Mek/Erk juega un papel importante en la proliferación y diferenciación de las células cancerosas; se ha descubierto que el mecanismo de transducción de señales Ras/Raf/Mek/Erk se ha
10 activado o sobreactivado continuamente en muchos tipos de cáncer, como el cáncer de páncreas, el cáncer colorrectal, el cáncer de pulmón, el cáncer de vejiga, el cáncer de riñón, el cáncer de piel, el cáncer de mama, etc. La inhibición de la vía de transducción de señales Ras/Raf/Mek/Erk es útil para el tratamiento de estas enfermedades hiperproliferativas, en las que Mek, que se encuentra en el objetivo descendente de Ras
15 y Raf, juega un papel clave. El sustrato de la fosforilación de Mek es la MAP quinasa Erk. Si se suprime Mek, se desactivará la vía de transducción de señales Ras/Raf/Mek/Erk y se inhibirá la proliferación de células cancerosas. Por lo tanto, los inhibidores de Mek pueden inhibir el crecimiento de células cancerosas, especialmente aquellos cánceres causados por la activación excesiva de Ras o Raf. Además, Mek
20 también implica enfermedades y síntomas inflamatorios, incluida inflamación aguda y crónica.

La solicitud de patente china n.º 201210190520.4 divulga una variedad de compuestos de benzotiazol que muestran actividad inhibidora de la proteína quinasa Mek, incluido 4-fluoro-5-(2-fluoro-4-yodoanilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,3-benzotiazol-6-carboxamida
25 (en adelante denominado compuesto 1). Sin embargo, según el método de preparación de la solicitud de patente china N.º 201210190520.4, la forma sólida del compuesto 1 es amorfa. Sin embargo, la pureza del amorfo suele ser difícil de controlar, las propiedades físicas y químicas del amorfo suelen ser inestables y la higroscopicidad del

amorfo es pobre. Además, el compuesto 1 se fotodegrada y es fácil de degradar para formar impurezas (A), lo que afecta la eficacia y la estabilidad de almacenamiento del compuesto 1.



- 5 Por lo tanto, es necesario desarrollar una nueva forma polimorfa del compuesto, que sea beneficiosa para mejorar el control de la pureza en el proceso de producción y mejorar la estabilidad y la estabilidad de almacenamiento del compuesto.

COMPENDIO DE LA INVENCION

- 10 La invención proporciona el polimorfismo del compuesto 1, que tiene las ventajas de alta pureza, buena estabilidad, buenas propiedades de polvo, estabilidad mecánica y similares. Más específicamente, la invención proporciona siete polimorfos del compuesto 1, a saber, forma polimorfa I, forma polimorfa II, forma polimorfa IIIA, forma polimorfa IIIB, forma polimorfa IV, forma polimorfa V y VI, en donde las formas polimorfas I y IIIA muestran mejor estabilidad en estado sólido, estabilidad mecánica, 15 absorción de humedad y estabilidad a la luz que otras formas polimorfas o formas amorfas, lo que es beneficioso para el proceso farmacéutico.

Específicamente, las formas polimorfas I y IIIA del compuesto 1 exhiben una o más de las siguientes ventajas sobre las formas amorfas:

1. Los resultados de la competencia de suspensión muestran que la forma polimorfa I 20 es más estable termodinámicamente que la cristalina IIIA en el rango de temperatura ambiente a 50 °C.
2. Los resultados de DVS muestran que la forma polimorfa I y la forma polimorfa IIIA casi no tienen higroscopicidad y no hay transición de forma polimorfa después de la

prueba de DVS, mientras que la forma amorfa cambia a la forma polimorfa I después de la prueba de DVS.

3. Los resultados de la estabilidad del estado sólido mostraron que la forma polimorfa homogénea no cambió o la pureza no disminuyó después de que la forma polimorfa I se colocó cerrada durante 1 día a 60 °C y abierta a 25 °C/60 % HR y 40 °C/75 % HR durante 1 semana, lo que indica que la forma polimorfa I tiene buena estabilidad física y química en las condiciones de evaluación. La pureza de la forma polimorfa IIIA no cambió después de 1 día a 60 °C, pero se observó el pico de difracción de la forma polimorfa I. Después de 1 semana a 25°C/60 % HR y 40 °C/75 % HR, la forma polimorfa no cambió o la pureza disminuyó. La pureza de la forma amorfa no cambió significativamente en las tres condiciones de evaluación, pero la forma polimorfa cambió a la forma polimorfa I.

4. Los resultados de la estabilidad a la luz mostraron que la pureza de la forma polimorfa I fue significativamente mayor que la de la forma polimorfa IIIA, la forma polimorfa V y la amorfa bajo la condición de luz blanca (5890 Lux + UV 8,7 W/m²) durante 24 horas.

5. Los resultados de la prueba de solubilidad dinámica de la forma polimorfa I y amorfa en HCl 1 M y tampones de pH 1,0/2,0/4,5/7,4 a temperatura ambiente mostraron que la solubilidad de la amorfa en todos los medios fue mayor que la de la forma polimorfa I en 10 minutos, y mostró un proceso de ascenso y luego descenso, y la solubilidad más alta medida en HCl 1 M fue mayor que la de otros tampones de pH. En comparación con la forma amorfa, la forma polimorfa I se disuelve lentamente en todos los medios (diferentes pH), y su solubilidad en HCl 1 m es ligeramente mayor que en otros tampones de pH, lo que garantiza que la disolución de la forma polimorfa I in vivo sea más estable y sea más fácil obtener una farmacocinética in vivo con una concentración sanguínea estable, lo que es útil para evitar el riesgo de seguridad del medicamento causado por una fluctuación excesiva de la concentración sanguínea.

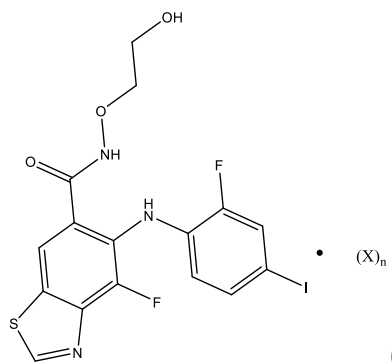
6. Los resultados de la prueba de propiedades físicas del polvo mostraron que la forma polimorfa I y la forma amorfa presentaron una fluidez similar y los resultados de

estabilidad mecánica mostraron que, tras el tableteado (350 MPa) y la trituración manual (aproximadamente 3 minutos), la forma cristalina I no experimentó transformación cristalina y su cristalinidad no disminuyó significativamente. La transformación amorfa a la forma cristalina I, y la forma polimorfa IIIA no experimentó transformación polimorfa, pero su cristalinidad disminuyó. y/o

7. En experimentos farmacocinéticos, la mayor exposición y concentración plasmática de la forma polimorfa I que de la forma polimorfa IIIA mostró el potencial de reducir la dosis administrada.

De acuerdo con los datos de caracterización y los resultados de la evaluación, la forma polimorfa I mostró una mejor estabilidad a la luz y ninguna transición de forma polimorfa en todas las condiciones de evaluación, mientras que la forma amorfa se transformó en la forma polimorfa I después de los estudios de DVS, estabilidad sólida, solubilidad y estabilidad mecánica.

En un aspecto, la presente invención proporciona una forma policristalina de fórmula (I)



en donde n es 0 o 1, y X es acetonitrilo, agua, 1,4-dioxano, etanol, metanol, dimetilformamida, acetona o una mezcla de los mismos.

En algunas modalidades, n es 0. En algunas modalidades, n es 1; X es acetonitrilo, agua, 1,4-dioxano, etanol o dimetilformamida.

En algunas modalidades, n es 0 y la sustancia policristalina es la forma polimorfa I, los picos de difracción XRPD característicos de la forma polimorfa I están en las siguientes

- posiciones 2θ : $16,71^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,82^\circ \pm 0,2^\circ$ y $23,75^\circ \pm 0,2^\circ$, utilizando radiación Cu-K α . En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa I también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $7,48^\circ \pm 0,2^\circ$ y $22,36^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa I también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $5,3^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,57^\circ \pm 0,2^\circ$ y $27,08^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa I también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $11,81^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,83^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,92^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,95^\circ \pm 0,2^\circ$ y $19,17^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa I incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $5,30^\circ \pm 0,2^\circ$, $7,48^\circ \pm 0,2^\circ$, $11,81^\circ \pm 0,2^\circ$, $14,85^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,83^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,71^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,92^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,95^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,17^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,43^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,14^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,82^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,36^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,75^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,57^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,08^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,83^\circ \pm 0,2^\circ$, $28,88^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,20^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,92^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,40^\circ \pm 0,2^\circ$, $33,91^\circ \pm 0,2^\circ$, $35,83^\circ \pm 0,2^\circ$, $37,51^\circ \pm 0,2^\circ$ y $39,04^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa I se muestra en la Fig. 3. En algunas modalidades, la forma polimorfa I tiene diagramas TGA y/o diagramas DSC como se muestra en la Fig. 4. En algunas modalidades, la forma polimorfa I está libre de hidratos.
- En algunas modalidades, n es 1, X es acetonitrilo y la sustancia policristalina es la forma polimorfa II, los picos de difracción XRPD característicos de la forma polimorfa II están en las siguientes posiciones 2θ : $24,99^\circ \pm 0,2^\circ$, $26,05^\circ \pm 0,2^\circ$ y $22,6^\circ \pm 0,2^\circ$, utilizando radiación Cu-K α . En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa II también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $6,35^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,34^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,41^\circ \pm 0,2^\circ$ y $28,71^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa II también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $9,18^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,03^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,25^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $29,08^\circ \pm 0,2^\circ$ y $33,93^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa II también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ :

14,44°±0,2°, 24,64°±0,2°, 26,41°±0,2°, 32,27°±0,2°, 32,68°±0,2°, 37,07°±0,2° y 39,51°±0,2°. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa II incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ: 6,35°±0,2°, 9,18°±0,2°, 9,91°±0,2°, 14,44°±0,2°, 16,03°±0,2°, 18,25°±0,2°, 19,77°±0,2°, 20,34°±0,2°, 21,81°±0,2°, 22,41°±0,2°, 22,60°±0,2°, 23,84°±0,2°, 24,64°±0,2°, 24,99°±0,2°, 25,43°±0,2°, 26,05°±0,2°, 26,41°±0,2°, 26,41°±0,2°, 26,41°±0,2°, 27,07°±0,2°, 28,71°±0,2°, 29,08°±0,2°, 29,81°±0,2°, 31,16°±0,2°, 31,57°±0,2°, 32,27°±0,2°, 32,68°±0,2°, 33,93°±0,2°, 34,19°±0,2°, 35,42°±0,2°, 37,07°±0,2°, 37,56°±0,2°, 38,69°±0,2° y 39,51°±0,2°. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa II se muestra en la Fig. 6. En algunas modalidades, la forma polimorfa II tiene diagramas TGA y/o diagramas DSC como se muestra en la Fig. 7.

En algunas modalidades, n es 0, la sustancia policristalina es la forma polimorfa IIIA, los picos de difracción XRPD característicos de la forma polimorfa IIIA están en las siguientes posiciones 2θ: 6,59°±0,2°, 22,69°±0,2°, 20,32°±0,2°, 23,62°±0,2°, 23,91°±0,2° y 24,15°±0,2°, utilizando radiación Cu-K α. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIA también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ: 10,8°±0,2°, 17,14°±0,2°, 13,75°±0,2°, 21,59°±0,2° y 26,01°±0,2°. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIA también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ: 18,71°±0,2°, 21,97°±0,2°, 25,54°±0,2°, 27,13°±0,2°, 27,59°±0,2° y 30,51°±0,2°. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIA incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ: 6,59°±0,2°, 9,9°±0,2°, 10,8°±0,2°, 13,09°±0,2°, 13,75°±0,2°, 17,14°±0,2°, 17,87°±0,2°, 18,71°±0,2°, 19,19°±0,2°, 20,32°±0,2°, 21,59°±0,2°, 21,97°±0,2°, 22,69°±0,2°, 23,62°±0,2°, 23,91°±0,2°, 24,15°±0,2°, 25,54°±0,2°, 26,01°±0,2°, 27,13°±0,2°, 27,59°±0,2°, 28,83°±0,2°, 29,24°±0,2°, 30,51°±0,2°, 31,13°±0,2°, 31,79°±0,2°, 33,6°±0,2°, 34,14°±0,2°, 36,08°±0,2°, 36,67°±0,2° y 37,26°±0,2°. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIA se muestra en la Fig. 9. En algunas modalidades, la

forma polimorfa IIIA tiene diagramas TGA y/o diagramas DSC como se muestra en la Fig. 10. En algunas modalidades, la forma polimorfa IIIA no contiene hidratos.

En algunas modalidades, n es 0, la sustancia policristalina es la forma polimorfa IIIB, los picos de difracción XRPD característicos de la forma polimorfa IIIB están en las siguientes posiciones 2θ : $6,53^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,69^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,6^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,19^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,52^\circ \pm 0,2^\circ$ y $22,64^\circ \pm 0,2^\circ$, utilizando radiación Cu-K α . En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIB también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $10,75^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,93^\circ \pm 0,2^\circ$, $26,13^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,57^\circ \pm 0,2^\circ$ y $30,46^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIB también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $13,05^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,63^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,82^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,01^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,55^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,79^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIB incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $6,53^\circ \pm 0,2^\circ$, $10,75^\circ \pm 0,2^\circ$, $12,62^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,05^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,69^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,63^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,60^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,59^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,19^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,82^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,52^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,93^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,64^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,57^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,01^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,46^\circ \pm 0,2^\circ$, $26,13^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,55^\circ \pm 0,2^\circ$, $30,46^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,04^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,79^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,81^\circ \pm 0,2^\circ$, $33,54^\circ \pm 0,2^\circ$, $34,06^\circ \pm 0,2^\circ$ y $34,46^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IIIB se muestra en la Fig. 13. En algunas modalidades, la forma polimorfa IIIB tiene diagramas TGA y/o diagramas DSC como se muestra en la Fig. 14.

En algunas modalidades, n es 1, X es 14-dioxano y la forma policristalina es la forma polimorfa IV, que se caracteriza porque el patrón de difracción de polvo de rayos X de la forma polimorfa IV incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $8,56^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,69^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,75^\circ \pm 0,2^\circ$ y $22,45^\circ \pm 0,2^\circ$, utilizando radiación Cu-K α . En algunas modalidades, los picos de difracción XRPD característicos de la forma polimorfa IV están en las siguientes posiciones 2θ : $5,26^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,83^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,68^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,86^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,81^\circ \pm 0,2^\circ$ y $23,44^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la

forma polimorfa IV también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $126,57^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,52^\circ \pm 0,2^\circ$, $35,69^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,09^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,35^\circ \pm 0,2^\circ$ y $31,43^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de

rayos X de la forma polimorfa IV incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $5,26^\circ \pm 0,2^\circ$, $8,56^\circ \pm 0,2^\circ$, $9,85^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,69^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,75^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,35^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,09^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,45^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,86^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,44^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,44^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,68^\circ \pm 0,2^\circ$, $26,57^\circ \pm 0,2^\circ$, $27,52^\circ \pm 0,2^\circ$, $28,40^\circ \pm 0,2^\circ$, $29,78^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,43^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,83^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,81^\circ \pm 0,2^\circ$, $34,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $35,69^\circ \pm 0,2^\circ$ y $37,72^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa IV se muestra en la Fig. 17. En algunas modalidades, la forma polimorfa IV tiene diagramas TGA y/o diagramas DSC como se muestra en la Fig. 18.

En algunas modalidades, n es 1, X es etanol y la sustancia policristalina es la forma polimorfa V, los picos de difracción XPRD característicos de la forma polimorfa V están en las siguientes posiciones 2θ : $6,21^\circ \pm 0,2^\circ$, $8,47^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,62^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,73^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,53^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,94^\circ \pm 0,2^\circ$ y $28,05^\circ \pm 0,2^\circ$, utilizando radiación Cu-K α . En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa V también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $9,61^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,55^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,25^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,22^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,12^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,92^\circ \pm 0,2^\circ$ y $34,22^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la

forma polimorfa V también incluye los picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $9,06^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $28,49^\circ \pm 0,2^\circ$, $30,21^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,25^\circ \pm 0,2^\circ$, $35,47^\circ \pm 0,2^\circ$ y $38,94^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa V incluye picos de difracción característicos en las siguientes posiciones 2θ : $6,21^\circ \pm 0,2^\circ$, $8,47^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,94^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,62^\circ \pm 0,2^\circ$, $25,53^\circ \pm 0,2^\circ$, $28,05^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,73^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,55^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,92^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,12^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,22^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,25^\circ \pm 0,2^\circ$, $34,22^\circ \pm 0,2^\circ$, $9,61^\circ \pm 0,2^\circ$, $9,06^\circ \pm 0,2^\circ$, $38,94^\circ \pm 0,2^\circ$, $31,25^\circ \pm 0,2^\circ$, $35,47^\circ \pm 0,2^\circ$, $28,49^\circ \pm 0,2^\circ$, $30,21^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $39,78^\circ \pm 0,2^\circ$, $14,26^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,32^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,95^\circ \pm 0,2^\circ$, $32,33^\circ \pm 0,2^\circ$, $36,43^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,94^\circ \pm 0,2^\circ$, $12,42^\circ \pm 0,2^\circ$ y $37,86^\circ \pm 0,2^\circ$. En algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa V se muestra en la Fig. 20. En

algunas modalidades, la forma polimorfa V tiene diagramas TGA y/o diagramas DSC como se muestra en la Fig. 21.

En algunas modalidades, n es 1, X es dimetilformamida, la forma policristalina es la forma polimorfa VI y, en algunas modalidades, el patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma polimorfa VI se muestra en la Fig. 23. En algunas modalidades, los diagramas TGA y/o diagramas DSC para la forma polimorfa VI se muestran en la Fig. 24.

En algunas modalidades, la forma polimorfa I, la forma polimorfa II, la forma polimorfa IIIA, la forma polimorfa IIIB, la forma polimorfa IV, la forma polimorfa V y VI tienen cada una aproximadamente 85 % o más basado en el peso del compuesto 1, por ejemplo, aproximadamente 90 % o más, por ejemplo, aproximadamente 95 % o más, por ejemplo, aproximadamente 97 % o más, por ejemplo, aproximadamente 99 % o más e incluyen aproximadamente 99,9 % o mayor pureza, según lo determinado por HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento). El resto del material puede contener la forma polimorfa del compuesto 1 y/o impurezas reactivas y/o impurezas de procesamiento resultantes de su preparación, tales como compuestos de impurezas fotodegradables (A). La mezcla de la forma polimorfa I del compuesto 1 y otras formas sólidas (tales como otras formas polimorfas y formas amorfas) también está dentro del alcance de la presente solicitud.

En algunas modalidades, la forma policristalina del compuesto 1 está esencialmente libre de impurezas (A). En algunas modalidades, la forma policristalina del compuesto 1 contiene menos del 0,15 % en peso de impureza (A) en relación con la forma policristalina, por ejemplo, 0,10 %, 0,09 %, 0,08 %, 0,07 %, 0,06 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,03 %, 0,02 % o 0,01 % en peso de impureza (A).

En algunas modalidades, la forma polimorfa I del compuesto 1 está esencialmente libre de impurezas (A). En algunas modalidades, la forma polimorfa I del compuesto 1 contiene menos del 0,15 % en peso de impurezas (A) en relación con la forma polimorfa I, por ejemplo, 0,10 %, 0,09 %, 0,08 %, 0,07 %, 0,06 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,03 %, 0,02 %

o 0,01 % en peso de impureza (A).

En algunas modalidades, la forma polimorfa I, la forma polimorfa II, la forma polimorfa IIIA, la forma polimorfa IIIB, la forma polimorfa IV, la forma polimorfa V y VI tienen cada una aproximadamente 85 % o más, por ejemplo, aproximadamente 90 % o más, por ejemplo, aproximadamente 95 % o más, por ejemplo, aproximadamente 97 % o más, por ejemplo, aproximadamente 99 % o más e incluyen aproximadamente 99,9 % o más de cristalinidad.

En un segundo aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende cualquiera de las formas policristalinas de la forma polimorfa I a la forma polimorfa VI de la invención, así como un portador y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende una forma polimorfa I o IIIA de la presente invención, así como un portador y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende una forma polimorfa I de la presente invención, así como un portador y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto, la invención proporciona un método para tratar tumores en mamíferos, enfermedades inflamatorias crónicas, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades de la piel, diabetes mellitus, enfermedades oculares, enfermedades relacionadas con la angiogénesis o angiogénesis en mamíferos, enfermedades relacionadas con el dolor crónico y otras enfermedades moduladas por la cascada Mek, y el método comprende administrar cualquier polimorfo en la forma polimorfa I a la forma polimorfa VI de la presente invención al mamífero; la presente invención proporciona cualquier polimorfo en la forma polimorfa I a la forma polimorfa VI de la presente invención, que se usa para el tratamiento de tumores en mamíferos, enfermedades inflamatorias crónicas, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades de la piel, diabetes mellitus, enfermedades oculares, enfermedades relacionadas con la angiogénesis o angiogénesis en mamíferos, enfermedades asociadas con el dolor crónico y otras enfermedades moduladas por las cascadas Mek; cualquier polimorfo en la forma polimorfa I a la forma polimorfa VI de la presente

invención se utiliza en la preparación de enfermedades para el tratamiento de tumores de mamíferos, enfermedades inflamatorias crónicas, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades de la piel, diabetes mellitus, enfermedades oculares, enfermedades relacionadas con la angiogénesis o angiogénesis en mamíferos, enfermedades relacionadas con el dolor crónico y otras enfermedades moduladas por la cascada Mek. En algunas modalidades, los mamíferos son seres humanos.

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento del cáncer con mutación en RAS o RAF en mamíferos, que incluye la administración de 4-fluoro-5-(2-fluoro-4-yodoanilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,3-benzotiazol-6-carboxamida (compuesto 1) o su sal medicinal al mamífero. En algunas modalidades, el compuesto 1 es cualquiera de los polimorfos, desde la forma polimórfica I hasta la forma polimórfica VI. En algunas modalidades, el cáncer con mutación en RAS o RAF es, por ejemplo, cáncer con mutación en KRAS, cáncer con mutación en NRAS, cáncer con mutación en HRAS o cáncer con mutación en BRAF. En algunas modalidades, el cáncer con mutación en RAS es cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, melanoma, leucemia mieloide aguda, cáncer de vejiga o cáncer de cabeza y cuello, etc. En una modalidad preferida, el cáncer es un cáncer con mutación en NRAS. En algunas modalidades, el cáncer con mutación en NRAS es un melanoma con mutación en RNAS.

En una modalidad, KRAS incluye mutaciones en una o más ubicaciones seleccionadas entre los codones 12, 13, 59 y 61. En una modalidad, la forma con mutación en KRAS tiene mutaciones en una o más ubicaciones de aminoácidos seleccionadas entre G12, G13, S17, P34, A59 y Q61. En una modalidad, la forma con mutación en KRAS presenta una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre: G12C, G12S, G12R, G12F, G12L, G12N, G12A, G12D, G12V, G13C, G13S, G13D, G13V, G13P, S17G, P34S, A59E, A59G, A59T, Q61K, Q61L, Q61R y Q61H. En una modalidad, la forma con mutación en KRAS presenta mutaciones en una o más posiciones de aminoácidos seleccionadas entre G12, G13, A59, Q61, K117 y A146. En una modalidad, la forma con mutación en KRAS tiene una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre: G12C, G12R, G12S, G12A, G12D, G12V, G13C, G13R, G13S, G13A, G13D, G13V,

A59E, A59G, A59T, Q61K, Q61L, Q61R, Q61H, K117N, K117R, K117E, A146P, A146T y A146V. En una modalidad, la mutación en BRAF es una mutación BRAF V600E.

En una modalidad, NRAS incluye mutaciones en una o más ubicaciones seleccionadas entre los codones 12, 13, 59, 61 y 146. En algunas modalidades, la forma con mutación

5 en NRAS tiene mutaciones en una o más ubicaciones de aminoácidos seleccionadas entre G12, G13, A59, Q61, K117, y A146. En algunas modalidades, la forma con mutación en NRAS tiene una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre: G12C, G12R, G12S, G12A, G12D, G12V, G13C, G13R, G13S, G13A, G13D, G13V, A59D, A59T, Q61K, Q61L, Q61R, Q61H, K117N, K117R, K117E, A146P, A146T, y A146V.

10 En algunas modalidades, el cáncer en cuestión es un cáncer en etapa temprana, intermedia o avanzada. El cáncer puede ser localmente avanzado o metastásico. En algunas modalidades, el mamífero ha recibido previamente inmunoterapia. En algunas modalidades, el mamífero ha recibido previamente inmunoterapia y tiene un melanoma avanzado con mutación en NRAS. En algunas modalidades, el melanoma se selecciona

15 entre: melanoma avanzado, melanoma irresecable, melanoma metastásico, melanoma con mutación en BRAF, melanoma con mutación en NRAS, melanoma cutáneo o melanoma intraocular.

En algunas modalidades, el Compuesto 1 está en forma de comprimidos, polvos, gránulos, parches, inhaladores y cápsulas. En algunas modalidades, el Compuesto 1

20 está en forma de cápsula. En algunas modalidades, el Compuesto 1 se administra en una dosis de 5-50 mg una o dos veces al día. En algunas modalidades, el Compuesto 1 se administra en una dosis de 12 mg dos veces al día.

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar la Forma cristalina I de la presente invención, cuyo método incluye cualquiera de los

25 siguientes:

a) agregar una muestra amorfa del Compuesto 1 al disolvente y luego calentarla a una temperatura superior a aproximadamente 70 °C para obtener una solución transparente. Enfriar el líquido a temperatura ambiente, mantenerlo a temperatura ambiente y

continuar revolviendo hasta que el sólido precipite, filtrar y secar; o

b) disolver la muestra amorfa del compuesto 1 en un buen disolvente, filtrar para obtener una solución transparente y agregar un antidisolvente mientras se agita la solución transparente hasta que precipite el sólido; o

- 5 c) disolver la muestra amorfa del Compuesto 1 en el disolvente, agitar a aproximadamente 50 °C, luego filtrar el filtrado, enfriar el filtrado a aproximadamente 5 °C y recoger el sólido precipitado.

En algunas modalidades, la temperatura de calentamiento en el Método 1) es de aproximadamente 75 °C a aproximadamente 100 °C; de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 90 °C; o de aproximadamente 75 °C o aproximadamente 85 °C. En algunas modalidades, la temperatura ambiente en el Método 1) es de aproximadamente 20 a aproximadamente 25 °C. En algunas modalidades, el tiempo para continuar agitando en el Método 1) es de aproximadamente 0,5-12 horas, aproximadamente 1-12 horas, aproximadamente 1-8 horas, aproximadamente 1-5 horas o más, o el tiempo para continuar agitando es de aproximadamente 24-76 horas. En algunas modalidades, el líquido transparente del Método 1) se enfría a temperatura ambiente en un plazo de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 horas o de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 3 horas. En algunas modalidades, la temperatura ambiente en el método 1) continúa agitando, y la temperatura se puede reducir aún más a aproximadamente 0 a aproximadamente 10 °C, y se agita la conservación del calor. En algunas modalidades, la conservación del calor de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 °C es de aproximadamente 1-7 horas, de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 horas, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 horas o de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 °C. En algunas modalidades, los disolventes del Método 1) son agua, metanol, etanol, isopropanol, acetona, metil isobutil cetona, 2-butanona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, éter de anisol, 2-metiltetrahidrofurano, ciclopentilmetil éter, 1,4-dioxano, acetonitrilo, diclorometano, tolueno, m-xileno, n-heptano, n-hexano, n-pentano, dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona o una mezcla de los mismos. En

algunas modalidades, el disolvente descrito en el Método 1) es etanol.

En algunas modalidades, el disolvente bueno en el Método 2) es un disolvente en el que el Compuesto 1 es soluble, y el antidisolvente en el Método 2) es un disolvente en el que el Compuesto 1 es insoluble. En algunas modalidades, el buen disolvente en el
5 Método 2) es MEK, 1,4-dioxano o DMSO. En algunas modalidades, los antidisolventes del Método 2) son MTBE, EtOAc, CHCl_3 , n-heptano, anisol, EtOAc, H_2O , IPAc, CPME, DCM o tolueno.

En algunas modalidades, la velocidad de enfriamiento descrita en el Método 3) es de aproximadamente $0,1\text{ }^\circ\text{C/min}$. En algunas modalidades, el disolvente del Método 3) es
10 MIBK, acetato de metilo, 2-MeTHF o acetona/EtOH (1:1).

La presente invención proporciona un método para preparar la forma cristalina V de la invención. El método incluye: agregar una muestra amorfa del Compuesto 1 a un disolvente, y luego calentar a una temperatura inferior a aproximadamente $70\text{ }^\circ\text{C}$, y el líquido transparente resultante se enfría a aproximadamente 0 a aproximadamente
15 $10\text{ }^\circ\text{C}$. Dejar reposar a unos $5\text{ }^\circ\text{C}$ hasta que el sólido precipite y se seque. En algunas modalidades, el método calienta a aproximadamente $70\text{ }^\circ\text{C}$, aproximadamente $60\text{ }^\circ\text{C}$ o aproximadamente $50\text{ }^\circ\text{C}$. En algunas modalidades, la velocidad de enfriamiento es de aproximadamente $0,1$ a aproximadamente $0,5\text{ }^\circ\text{C/min}$. En algunas modalidades, la velocidad de enfriamiento es de aproximadamente $0,1\text{ }^\circ\text{C/min}$. En algunas modalidades,
20 el líquido transparente resultante se enfría a aproximadamente $5\text{ }^\circ\text{C}$.

La presente invención proporciona un método para preparar la forma cristalina IIIA de la invención. El método incluye: calentar la Forma cristalina II a una primera temperatura y mantenerla a una temperatura constante durante aproximadamente 3 a aproximadamente 10 minutos, y luego enfriar para obtener la Forma cristalina IIIA. En
25 algunas modalidades, la primera temperatura es de aproximadamente 100 a aproximadamente $140\text{ }^\circ\text{C}$; tal como de aproximadamente 110 a aproximadamente $130\text{ }^\circ\text{C}$, tal como aproximadamente $120\text{ }^\circ\text{C}$. En algunas modalidades, la Forma II se produce con termostato a la primera temperatura durante aproximadamente 5 minutos.

En algunas modalidades, la Forma II se isothermaliza y luego se enfría a temperatura ambiente, a aproximadamente 50 °C, por ejemplo, a temperatura ambiente.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es bien conocida en este campo. La altura del pico de fusión de la curva DSC depende de muchos factores relacionados con la preparación de la muestra y la geometría del instrumento, mientras que la posición del pico es relativamente insensible a los detalles experimentales. Por lo tanto, en algunas modalidades, el compuesto cristalino de la presente invención tiene un diagrama DSC con una posición de pico característica, tiene sustancialmente las mismas propiedades que el diagrama DSC proporcionado en los dibujos de la invención, y la tolerancia de error del valor medido está dentro de ± 5 °C, lo que generalmente se requiere dentro de ± 3 °C.

Los valores numéricos descritos y reivindicados en este documento son aproximaciones. Las variaciones dentro de los valores pueden deberse a la calibración del equipo, errores del equipo, pureza del cristal, tamaño del cristal, tamaño de la muestra y otros factores.

La forma cristalina de la presente invención no se limita a los mapas característicos exactamente iguales a los descritos en los dibujos divulgados por la invención, tales como XRPD, DSC, TGA, DVS, curvas de adsorción isotérmica, y cualquiera tiene sustancialmente las mismas características que las representadas en los dibujos. Cualquier forma cristalina con el mismo o esencialmente el mismo patrón característico cae dentro del alcance de la invención.

TÉRMINO

A menos que se especifique lo contrario en este documento, todos los demás términos técnicos y científicos utilizados en esta solicitud tienen significados generalmente entendidos por aquellos expertos en el campo al que pertenece la invención.

Esta solicitud incluye palabras singulares como "uno", "una" y "establecido" utilizadas en la reivindicación, incluidas sus referencias plurales correspondientes, a menos que

se indique claramente lo contrario en el contexto. Así, por ejemplo, la referencia a "forma polimorfa" incluye una o más de dichas formas polimorfas diferentes y la referencia a "dicho método" incluye una referencia a pasos y métodos equivalentes conocidos por aquellos expertos en la técnica, que pueden mejorarse o reemplazarse por los métodos descritos en esta solicitud.

En la siguiente memoria descriptiva y reivindicaciones completas, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos "contiene" y variaciones tales como "contiene" e "incluye" se interpretarán como que incluyen implícitamente dicho entero o paso o conjunto de enteros o pasos, pero no como exclusión de cualquier otro entero o paso o conjunto de enteros o pasos. Cuando se utiliza en esta solicitud, el término "contiene" puede ser reemplazado por el término "contiene" o, en algunos casos, por el término "tiene".

El término "aproximadamente" se refiere al 10%, 5% o 2% del valor agregado o restado del artículo especificado.

"Dosis terapéutica eficaz" significa la cantidad de compuestos que provocan la respuesta fisiológica o médica del tejido, sistema o sujeto que se busca, incluye la cantidad de compuestos administrados a la persona que está siendo tratada que son suficientes para prevenir la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad o enfermedad en tratamiento o para aliviarla hasta cierto punto. La "dosis terapéutica eficaz" puede variar con los síntomas del compuesto, enfermedad, enfermedad, y/o enfermedad o enfermedad, la gravedad de la enfermedad o enfermedad, y/o los síntomas de la enfermedad o enfermedad, la edad del sujeto a ser tratado, y/o el peso del sujeto a ser tratado. El equivalente apropiado en cada caso dado es obvio para aquellos expertos en la técnica o puede determinarse mediante experimentos de rutina.

En el caso de la terapia combinada, la "dosis terapéutica eficaz" se refiere al número total de objetos combinados que tratan eficazmente una enfermedad, enfermedad o afección.

"Excipiente" significa un excipiente que no es un agente terapéutico pero que se utiliza

como diluyente, excipiente, aglutinante y/o vehículo para agregarlo a una composición farmacéutica para mejorar sus propiedades de eliminación o almacenamiento o para permitir o facilitar la formación de un compuesto o composición farmacéutica en una forma de dosificación unitaria para su administración.

- 5 "Forma polimorfa" o "cristal" o "forma policristalina" se refiere a cualquier sustancia sólida en orden tridimensional, que produce un patrón XRPD característico con picos bien definidos, a diferencia de la materia sólida amorfa.

"Amorfo" se refiere a formas sólidas moleculares y/o iónicas amorfas. Los sólidos amorfos no muestran patrones de difracción de rayos X con máximos nítidos.

- 10 "Hidrato" se refiere a la forma cristalina de una molécula, que además contiene agua incorporada en la estructura cristalina. Las moléculas de agua en el hidrato pueden existir en una disposición regular y/o disposición desordenada. Los hidratos pueden contener moléculas de agua estequiométricas o no estequiométricas.

- 15 "Anhidrato" se refiere a un cristal que esencialmente no contiene moléculas de agua de ningún tipo, como una forma cristalina en la que la red cristalina o celda unitaria no contiene moléculas de agua en absoluto.

- El término "complejo de disolvente" se refiere a la forma cristalina de una molécula, que además contiene una o más moléculas de disolvente incorporadas en la estructura cristalina. Las moléculas de disolvente en los solvatos pueden existir en disposiciones regulares y/o desordenadas. Los solvatos pueden contener moléculas de disolvente estequiométricas o no estequiométricas. Los solvatos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, hidratos, sales de etanol, sales de metanol, sales de isopropanol y ácido acético. Los métodos de solvatación son generalmente conocidos en la técnica. Es importante destacar que, en las sustancias solvatadas, la sustancia unida a la molécula principal (por ejemplo, el principio activo farmacéutico) es líquida a temperatura ambiente, mientras que, en las eutécticas, la sustancia es sólida a temperatura ambiente.
- 20
- 25

La forma polimorfa descrita en esta solicitud es básicamente cristal puro. El término "sustancialmente puro", tal como se utiliza en esta solicitud, se refiere a una forma polimorfa descrita en la presente solicitud que está presente en al menos un 85 % en peso, preferiblemente al menos un 95 % en peso y preferiblemente al menos un 99 % en peso, e incluye también un polimorfo de aproximadamente un 100 % en peso. Los materiales restantes incluyen una o más formas adicionales del compuesto y/o impurezas reactivas y/o de procesamiento resultantes de su preparación. Por ejemplo, la forma cristalina del compuesto 1 puede considerarse esencialmente pura porque tiene una pureza mayor a 90 % en peso, medida mediante medios conocidos y generalmente aceptados en la técnica en ese momento, donde el material restante menor a 10 % en peso contiene formas amorfas y/o una o más de otras formas y/o impurezas reactivas y/o de procesamiento del compuesto 1.

"Patrón de difracción en polvo de rayos X (patrón XRPD)" se refiere al patrón de difracción de observaciones experimentales o los parámetros, datos o valores derivados de ellas. Los espectros XRPD generalmente se caracterizan por la posición del pico (abscisas) y/o la intensidad del pico (ordenadas). Para las formas polimorfas divulgadas en esta solicitud, solo se resumen los picos principales (es decir, los picos más característicos, significativos, distintivos y/o reproducibles); otros picos pueden obtenerse a partir de patrones de difracción utilizando métodos convencionales. Los picos principales anteriores se pueden repetir dentro de los límites de error (± 2 en los decimales dados al final, o $0,2 \pm$ el valor dado).

" 2θ " se refiere a la posición del pico en grados ($^{\circ}$) establecida en función de experimentos de difracción de rayos X y normalmente es la unidad de abscisas en el espectro de difracción. Si la reflexión se difracta cuando el haz incidente forma un ángulo de angulación con un plano reticular, la configuración experimental requiere registrar el haz reflejado en un ángulo de 2θ . El valor 2θ específico de la forma polimorfa mencionada en la presente solicitud pretende indicar el valor 2θ (expresado en grados) medido utilizando las condiciones experimentales de difracción de rayos X descritas en la presente solicitud.

Para los picos de difracción de rayos X, el término "esencialmente el mismo" o "esencialmente como se muestra en la Figura XX" se refiere a la consideración de posiciones de picos representativas y variaciones de intensidad. Por ejemplo, los expertos en la técnica comprenderán que la posición del pico (2θ) mostrará alguna variación, normalmente de hasta $0,1-0,2^\circ$, y que el instrumento utilizado para medir la difracción también provocará alguna variación. Además, los expertos en la técnica comprenderán que la intensidad del pico relativo variará dependiendo de las diferencias entre los instrumentos, así como del grado de cristalinidad, la orientación preferida, la superficie de la muestra preparada y otros factores conocidos por los expertos en la técnica y deben considerarse únicamente como mediciones cualitativas.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos descritos en esta solicitud pueden administrarse por vía oral, inhalada, rectal, parenteral o tópica a sujetos que lo necesiten. Para la administración oral, la composición del fármaco puede ser una preparación sólida convencional, como comprimidos, polvos, gránulos, cápsulas, etc., una preparación líquida, como una suspensión acuosa o aceitosa, u otras preparaciones líquidas, como un jarabe, una solución, una suspensión, etc. Para la administración parenteral, la composición del fármaco puede ser una solución, una solución acuosa, un concentrado de suspensión aceitosa, un polvo liofilizado, etc. Preferiblemente, la formulación del fármaco se selecciona entre comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, supositorios, aerosoles nasales o inyecciones, preferiblemente comprimidos o cápsulas. La composición del fármaco se puede administrar como una sola unidad con una dosis precisa. Además, la composición del fármaco puede contener además ingredientes activos adicionales.

Todas las preparaciones de las composiciones farmacéuticas divulgadas en esta solicitud pueden prepararse mediante métodos convencionales en el campo farmacéutico. Por ejemplo, el ingrediente activo puede mezclarse con uno o más excipientes para preparar la preparación deseada. "Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa portadores de fármacos convencionales adecuados para las preparaciones farmacéuticas deseadas, tales como diluyentes, medios como agua,

diversos disolventes orgánicos, rellenos como almidón, sacarosa, adhesivos como derivados de celulosa, alginato, gelatina y polivinilpirrolidona (PVP); agentes humectantes como glicerol; disgregantes como agar, carbonato de calcio y bicarbonato de sodio; potenciadores de la absorción como compuestos de amonio cuaternario.

- 5 Tensioactivos como el alcohol hexadecílico; transportadores de absorción como el caolín y la arcilla jabonosa; lubricantes como el talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicol, etc. Además, la composición farmacéutica incluye otros excipientes farmacéuticamente aceptables como dispersantes (agente descentralizador), estabilizantes, espesantes, agentes complejantes, tampones, 10 potenciadores de la penetración, polímeros, compuestos aromáticos, edulcorantes y colorantes.

- "Composición farmacéutica" significa una composición que consiste en una combinación de una forma polimorfa de un compuesto de la presente invención y al menos otro portador farmacéuticamente aceptable. "Portadores farmacéuticamente 15 aceptables" significa medios comúnmente aceptados en la técnica para la administración de agentes bioactivos a animales, en particular mamíferos, incluidos, por ejemplo, adyuvantes, excipientes o vehículos tales como diluyentes, conservantes, rellenos, reguladores de flujo, desintegrantes, agentes humectantes, emulsionantes, suspensiones, edulcorantes, saborizantes, fragancias, agentes antibacterianos, 20 agentes antifúngicos, lubricantes y agentes dispensadores, dependiendo del modo de aplicación y la naturaleza de la forma de dosificación.

- Los portadores farmacéuticamente aceptables se formulan de acuerdo con muchos factores dentro del rango cognitivo de los técnicos expertos en el campo. Estos incluyen, pero no se limitan a: el tipo y naturaleza del agente activo que se está preparando; el 25 sujeto al que se le va a administrar la composición que contiene el fármaco; la vía de aplicación esperada de la composición; y las indicaciones terapéuticas a las que se dirige. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen medios líquidos acuosos y no acuosos, así como una variedad de formas de dosificación sólidas y semisólidas. Dichos portadores también pueden incluir muchos ingredientes y aditivos diferentes

además de los tensioactivos, que se incluyen en la formulación por una variedad de razones familiares para los técnicos expertos en la técnica (por ejemplo, estabilización de agentes activos, adhesivos, etc.). Las descripciones de portadores farmacéuticamente aceptables adecuados y los factores involucrados en su selección
5 están disponibles en una variedad de fuentes fácilmente disponibles, como Allen, Jr., L.V. et ál., Remington: The Science and Practice of Pharmacy (volumen 2), 22.^a edición, Pharmaceutical Press (2012).

Por supuesto, el régimen de dosificación en forma sólida de esta aplicación variará de acuerdo a factores conocidos tales como: el perfil farmacodinámico de un agente particular y la forma y vía de su administración; especie del receptor, edad, sexo, salud,
10 afección médica y peso; la naturaleza y extensión de los síntomas; tipos de tratamientos concurrentes; frecuencia del tratamiento; vía de administración, función renal y hepática del paciente y efecto deseado. Normalmente, el rango de dosis oral diaria para cada ingrediente activo será entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 5000 mg/día,
15 preferiblemente entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1000 mg/día, y preferiblemente entre 0,1 y aproximadamente 250 mg/día. Por vía intravenosa, durante una infusión a velocidad constante, la dosis óptima oscilará entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 10 mg/kg/minuto. El compuesto de la presente invención puede administrarse en una única dosis diaria, o la dosis diaria total puede
20 administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

La forma de dosificación (composición farmacéutica) para aplicación puede contener ingredientes activos que varían desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 2000 mg por unidad de dosis. En estas composiciones farmacéuticas, el ingrediente activo normalmente estará presente en una cantidad de aproximadamente 0,1% en
25 peso basado en el peso total de la composición.

Ilustración con dibujos

La Fig. 1 muestra un diagrama XRPD para el polimorfo amorfo del compuesto 1.

La Fig. 2 muestra el perfil de adsorción dinámica de agua (DVS) para el polimorfo

amorfo del compuesto 1.

La Fig. 3 muestra el diagrama XRPD de la forma polimorfa I del ejemplo 2a.

La Fig. 4 muestra el diagrama TGA/DSC de la forma polimorfa I en la modalidad 2a.

La Fig. 5 muestra el diagrama ^1H NMR de la forma polimorfa I del ejemplo 2a.

5 La Fig. 6 muestra el diagrama XRPD de la forma polimorfa II del ejemplo 3a y 3b.

La Fig. 7 muestra el diagrama TGA/DSC de la forma polimorfa II del ejemplo 3a.

La Fig. 8 muestra el diagrama ^1H NMR de la forma polimorfa II del ejemplo 3a.

La Fig. 9 muestra el diagrama XRPD de la forma polimorfa IIIA del ejemplo 4a.

La Fig. 10 muestra un diagrama TGA/DSC de una modalidad del cristal 4a IIIA.

10 La Fig. 11 muestra un diagrama ^1H NMR del cristal 4a IIIA.

La Fig. 12 muestra un ejemplo de superposición XRPD del cristal 4a IIIA antes y después del calentamiento.

La Fig. 13 muestra un diagrama XRPD de una modalidad de un cristal 4b IIIB.

La Fig. 14 muestra un diagrama TGA/DSC de un cristal 4b IIIB.

15 La Fig. 15 muestra un diagrama ^1H NMR de una modalidad del cristal 4b IIIB.

La Fig. 16 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina IIIB bajo temperatura modificada en el ejemplo 4b;

La Fig. 17 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina IV en el ejemplo 5a y 5b.

La Fig. 18 muestra el diagrama TGA/DSC de la forma cristalina IV en el ejemplo 5a.

20 La Fig. 19 muestra el diagrama $^1\text{HNMR}$ de la forma cristalina IV en el ejemplo 5a.

La Fig. 20 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina V en el Ejemplo 6a.

La Fig. 21 muestra el termograma TGA/DSC de la forma cristalina V en el Ejemplo 6a.

La Fig. 22 muestra el espectro ^1H NMR de la forma cristalina V en el Ejemplo 6a.

La Fig. 23 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina VI en el Ejemplo 7a.

- 5 La Fig. 24 muestra el termograma DSC/TGA de la forma cristalina VI en el Ejemplo 7a.

La Fig. 25 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina IV antes y después del calentamiento en el Ejemplo 5a.

La Fig. 26 muestra el diagrama apilado de XRPD de la forma cristalina II en el Ejemplo 3a antes y después del calentamiento.

- 10 La Fig. 27 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina II en el ejemplo 3b antes y después del calentamiento.

La Fig. 28 muestra el diagrama XRPD de la forma cristalina V antes y después del calentamiento en el Ejemplo 6a.

- 15 La Fig. 29 muestra la superposición de XRPD de las formas cristalinas I y IIIA compitiendo en la suspensión de EtOAc.

La Fig. 30 muestra la superposición de XRPD de las formas cristalinas I y IIIA compitiendo en la suspensión de MIBK.

La Fig. 31 muestra el diagrama de apilamiento XRPD (I/II) de la suspensión competitiva de las formas cristalinas I y IIIA en acetona/ H_2O .

- 20 La Fig. 32 muestra el diagrama de apilamiento XRPD (II/II) de la suspensión competitiva de las formas cristalinas I y IIIA en acetona/ H_2O .

La Fig. 33 muestra la isoterma DVS de la forma cristalina I.

La Fig. 34 muestra la superposición de XRPD de la forma cristalina I antes y después de la prueba de DVS.

La Fig. 35 muestra la superposición de XRPD de las muestras amorfas antes y después de la prueba de DVS.

- 5 La Fig. 36 muestra la isoterma DVS de la forma cristalina IIIA en el experimento de humedad.

La Fig. 37 muestra la superposición de XRPD de la forma cristalina IIIA antes y después de la prueba de DVS.

- 10 La Fig. 38 muestra la superposición de XRPD antes y después de la evaluación de la estabilidad del estado sólido de la forma cristalina I en el Ejemplo 2a.

La Fig. 39 muestra la superposición XRPD antes y después de la evaluación de la estabilidad de los sólidos amorfos.

La Fig. 40 muestra la superposición de XRPD antes y después de la evaluación de la estabilidad del estado sólido de la forma cristalina IIIA.

- 15 La Fig. 41 muestra la solubilidad de materiales amorfos a diferentes valores de pH (con una concentración de alimentación de 0,25 mg/mL).

La Fig. 42 muestra el diagrama de solubilidad de la forma cristalina I a diferentes valores de pH (con una concentración de alimentación de 0,25 mg/mL).

- 20 La Fig. 43 muestra los diagramas de solubilidad de las formas amorfas y cristalinas I a diferentes valores de pH (con una concentración de alimentación de 0,05 mg/mL).

La Fig. 44 muestra la superposición de XRPD de la forma cristalina I antes y después de la trituration.

La Fig. 45 muestra la superposición de XRPD de la forma cristalina I antes y después de la laminación.

La Fig. 46 muestra la superposición de XRPD de la forma cristalina IIIA antes y después de la trituración.

La Fig. 47 muestra el diagrama de apilamiento de XRPD de la forma cristalina IIIA antes y después de la laminación.

- 5 La Fig. 48 muestra la superposición de XRPD antes y después de la trituración.

La Fig. 49 muestra la superposición de XRPD antes y después del prensado amorfo.

La Fig. 50 muestra el diagrama de apilamiento de XRPD para evaluar la estabilidad a la luz de la forma cristalina I.

- 10 La Fig. 51 muestra la superposición de XRPD para evaluar la estabilidad a la luz de la forma cristalina IIIA.

La Fig. 52 muestra el diagrama de apilamiento de XRPD para evaluar la estabilidad a la luz de las muestras amorfas.

La Fig. 53 muestra el diagrama de apilamiento de XRPD para evaluar la estabilidad a la luz de la forma cristalina V.

- 15 La Fig. 54 muestra el gráfico de HPLC para evaluar la estabilidad a la luz de la forma cristalina I.

La Fig. 55 es un gráfico de HPLC para evaluar la estabilidad a la luz de la forma cristalina IIIA.

- 20 La Fig. 56 es un gráfico de HPLC para evaluar la estabilidad a la luz de las muestras amorfas.

La Fig. 57 es un gráfico de HPLC para evaluar la estabilidad de la forma cristalina V bajo irradiación de luz.

Ejemplos

Las siguientes modalidades se utilizan únicamente para ejemplificar la invención y no limitan la invención de ningún modo.

Tabla correspondiente de nombres de disolventes

Abreviaturas	Nombres completos	Abreviaturas	Nombres completos
MeOH	Metanol	CPME	Éter metílico de ciclopentilo
EtOH	Etanol		
IPA	Isopropanol	ACN	Acetonitrilo
		DCM	Diclorometano
MIBK	4-Metil-2-pentanona		
MEK	2-Butanona		
EtOAc	Acetato de etilo		
IPAc	Acetato de isopropilo		
MTBE	éter metílico de terc-butilo		
THF	Tetrahidrofurano	DMSO	Dimetilsulfóxido
		DMAc	N,N-dimetilacetamida
2-MeTHF	2-Metiltetrahidrofurano	NMP	N-metil-2-pirrolidona
DMF	N,N-dimetilformamida		

5

En la presente invención se adoptan los siguientes instrumentos y métodos:

Instrumentos y métodos

Difracción en polvo de rayos X (XRPD): los resultados de XRPD se recopilan en los analizadores de difracción en polvo de rayos X X'Pert³ y Empyrean, y los parámetros de escaneo se muestran en la Tabla 1.

10

Tabla 1: parámetros de la prueba de XRPD

Patrón	Reflexión convencional
Rayos X	Cu, $\text{K}\alpha$; $\text{K}\alpha_1$ (Å): 1,540598, $\text{K}\alpha_2$ (Å): 1,544426 Relación de fuerza $\text{K}\alpha_2/\text{K}\alpha_1$: 0,50
Ajuste del tubo de rayos X	45 kV, 40 mA
Rendija divergente	1/8°
Modo de escaneo	Continuo
Rango de escaneo ($^{\circ}2\text{TH}$)	3° ~ 40°
Paso de escaneo ($^{\circ}2\text{TH}$)	0,0263
Tiempo de escaneo por paso (s)	46,67
Tiempo de escaneo (s)	~5 minutos

5 Análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC): el TGA y el DSC se recopilaron en el analizador termogravimétrico TA Discovery 5500 y el calorímetro diferencial de barrido TA Discovery 2500, respectivamente. En la Tabla 2 se enumeran los parámetros de prueba de TGA y DSC.

Tabla 2: parámetros de prueba de TGA y DSC

Parámetros.	TGA	DSC
Método	Aumento lineal de la temperatura	Aumento lineal de la temperatura
Placa de muestra	Placa de aluminio, abierta	Placa de aluminio, prensaestopas
Rango de temperatura	Temperatura ambiente ~ 350 °C	25 °C ~ 300 °C
Tasa de calentamiento	10 °C/min	10 °C/min

Parámetros.	TGA	DSC
Gas protector	Nitrógeno	Nitrógeno

Resonancia magnética nuclear líquida (NMR de solución ^1H): la resonancia magnética nuclear de hidrógeno líquido se recopiló en un equipo de resonancia magnética nuclear Bruker 400M con DMSO-*d*6 como disolvente.

5 Adsorción dinámica de agua (DVS):

La curva de adsorción dinámica de agua (DVS) se recopiló en el DVS Intrinsic de SMS (Surface Measurement Systems). La humedad relativa a 25 °C se corrige por el punto de deliquesencia de LiCl, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ y KCl. Los parámetros de prueba de DVS se enumeran en la Tabla 3.

10 Tabla 3: parámetros de la prueba de DVS

Parámetros.	DVS
Temperatura	25 °C
Cantidad de muestra	10-30 mg
Gas protector y caudal	N ₂ , 200 ml/min
dm/dt	0,002 %/min
Tiempo mínimo de equilibrio dm/dt	10 minutos
Tiempo máximo de equilibrio	180 minutos
Rango de HR	0 % HR~95 % HR~0 % HR (forma cristalina I) Humedad ambiente ~95 % HR ~ 0 % HR ~ 95 % HR (amorfo)

Parámetros.	DVS
Gradiente de HR	10 % HR (0 % HR~90 % HR y 90 % HR~0 % HR)
	5 % HR (90 % HR ~ 95 % HR y 95 % HR ~ 90 % HR)

5 Cromatografía líquida de alto rendimiento (UPLC): la pureza y la solubilidad en el experimento se probaron mediante cromatografía líquida de ultra alto rendimiento Agilent 1290. Las condiciones analíticas se muestran en las tablas 4 y 5. Tabla 4: condiciones de prueba de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento para pruebas de pureza

UPLC	Agilent 1290 (detector DAD)	
Columna cromatográfica	Xbridge Shield RP18, 150×4,6 mm, 5 µm	
Fase móvil	A: NH ₄ Ac 10 mM (pH=8,5):ACN = 95:5 (v/v)	
	B: NH ₄ Ac 10 mM (pH=8,5):ACN = 2:8 (v/v)	
Gradiente de elución	Tiempo (min)	%B
	0,0	20
	23,0	80
	35,0	80
	35,1	20
	45,0	20
Tiempo de ejecución	45,0 minutos	
Tiempo posterior a la ejecución	0,0 minutos	
Caudal de la fase móvil	1,0 mL/minutos	
Volumen de inyección	5 µL	
Longitud de onda de detección	270 nm	
Temperatura de la columna	40 °C	
Temperatura del inyector	Temperatura ambiente	

Tabla 5: condiciones de prueba de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento para prueba de solubilidad

UPLC	Agilent 1290 (detector DAD)	
Columna cromatográfica	Xbridge Shield RP18 , 150×4,6 mm, 5 µm	
Fase móvil A	A: NH ₄ Ac 10 mM (pH=8,5):ACN = 95:5 (v/v)	
	B: NH ₄ Ac 10 mM (pH=8,5):ACN = 2:8 (v/v)	
	Tiempo (min)	%B
	0,0	10
Gradiente de elución	7,0	90
	8,0	90
	8,1	20
	11,0	20
Tiempo de ejecución	11,0 minutos	
Tiempo posterior a la ejecución	0,0 minutos	
Caudal de la fase móvil	1,0 mL/min	
Volumen de inyección	5 µL	
Longitud de onda de detección	270 nm	
Temperatura de la columna	40 °C	
Temperatura del inyector	Temperatura ambiente	

Los instrumentos y métodos conocidos en este campo se pueden utilizar para instrumentos y métodos que no estén claramente indicados en la sección "instrumentos y métodos".

Ejemplo 1a (compuesto 1 amorfo, repetido número de solicitud de patente china 201210190520.4 ejemplo 1): de acuerdo con el método de la solicitud de patente china n.º 201210190520.4 ejemplo 1, el producto bruto obtenido en el paso 13 del ejemplo 1 se separó y purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, con

diclorometano/metanol como eluyente, y luego se evaporó para obtener un sólido blanco, que era amorfo por análisis XRPD, y su diagrama XRPD se mostró en la Fig. 1, y adsorción dinámica de agua (DVS) como se muestra en la Fig. 2. Ejemplo 2a: agregar 4 mL de etanol anhidro a la muestra amorfa de aproximadamente 21 mg del ejemplo 1a, 5 calentar y agitar en un baño de aceite a 85 °C durante 5 minutos para disolver la solución; luego, el líquido transparente obtenido se enfrió a 25 °C durante 2,5 horas con agitación a temperatura ambiente y la muestra sólida se filtró para la determinación de XRPD. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig. 3. Los resultados de TGA/DSC (Fig. 4) mostraron que la muestra se calentó a 150 °C con una pérdida de peso del 0,77 % y 10 hubo un pico endotérmico agudo a 221,3 °C (temperatura inicial). Los datos de ¹H NMR se recopilaron con DMSO-d₆ como disolvente y no se detectaron residuos de disolvente obvios, como se muestra en la Fig. 5. Según los resultados de caracterización de la forma cristalina I, tuvo una pérdida de peso pequeña y suave (menos del 1,80 % del contenido teórico de agua del hemihidrato) y una única señal endotérmica de fusión, 15 por lo que se infirió que la forma cristalina I está libre de hidratos o cristales. Los datos del pico de difracción XRPD de la forma cristalina I se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: datos del pico de difracción XRPD de la forma cristalina I.

N.º de pico	2θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
1	5,30	16,69	30,40
2	7,48	11,82	44,34
3	11,81	7,50	29,26
4	14,85	5,97	4,25
5	15,83	5,60	28,43
6	16,71	5,31	62,99
7	17,92	4,95	29,09
8	18,95	4,68	26,30
9	19,17	4,63	28,46
10	19,43	4,57	24,01

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
11	21,14	4,20	19,40
12	21,82	4,07	55,69
13	22,36	3,98	35,44
14	23,75	3,75	100,00
15	24,57	3,62	30,67
16	27,08	3,29	35,05
17	27,83	3,21	22,35
18	28,88	3,09	13,36
19	31,20	2,87	12,50
20	31,92	2,80	20,15
21	32,40	2,76	24,34
22	33,91	2,64	12,43
23	35,83	2,51	2,49
24	37,51	2,40	9,02
25	39,04	2,31	6,06

Ejemplo 2b: la muestra amorfa de aproximadamente 20 mg cada una se agregó a un vial de 20 mL, se disolvió en un buen disolvente de 0,4 mL (ver Tabla 7) y se filtró (una membrana de filtro de PTFE con un diámetro de poro de 0,45 μ m) para obtener una solución clarificada. Mientras se agitaba la solución clarificada, se agregó el antidisolvente de la Tabla 7 hasta que el sólido precipitó, y el sólido se separó mediante centrifugación y prueba de XRPD. Como se muestra en la Tabla 7, el sólido se obtuvo agregando antidisolvente y la forma cristalina I se determinó mediante XRPD.

Tabla 7: resumen de la prueba de adición de antidisolvente

Ejemplos	Peso (mg)	Disolventes	Antidisolventes	Resultados
Ejemplo 2b1[2]	20,6		MTBE (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b2[3]	19,9	MEK	EtOAc (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b3[3]	20,1	(cada 1 mL)	CHCl ₃ (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b4	20,8		n-Heptano (3 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b5	20,6		Anisol (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b6[1]	20,4	1,4-Dioxano	EtOAc (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b7	20,8	(cada 1 mL)	n-Heptano (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b8	20,5		H ₂ O (2 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b9[3]	19,7		IPAc (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b10[3]	20	DMSO	CPME (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b11[3]	19,6	(cada 0,4 mL)	DCM (5 mL)	Forma cristalina I
Ejemplo 2b12[4]	19,6		Tolueno (5 mL)	Forma cristalina I

[1]: Clarificar después de agregar el antidisolvente, llevar a 5 °C y agitar para precipitar los sólidos.

5 [2]: Clarificar después de agregar el antidisolvente, llevar a 5 °C y aún clarificar después de agitar, y llevar a -20 °C para agitar el sólido precipitado.

[3]: Clarificar después de agregar el antidisolvente, llevar a 5 °C y -20 °C agitando y aún clarificar, llevar a temperatura ambiente para volatilización.

10 [4]: Después de agregar el antidisolvente, se convirtió en aceite. Después de circular y agitar a una temperatura de 5-50 °C, se convirtió en aceite y se evaporó a temperatura ambiente.

Ejemplo 2c: pesar la muestra amorfa del ejemplo 1a de aproximadamente 20 mg cada una en un vial de 5 mL o HPLC, agregar el disolvente de la Tabla 8 de 0,7-4,0 mL,

agitar a 50 °C durante aproximadamente 2 horas, luego filtrar el filtrado (una membrana de PTFE con un tamaño de poro de 0,45 µm), colocar el filtrado en una incubadora bioquímica, enfriarlo a 5 °C a una velocidad de enfriamiento de 0,1 °C/min, recolectar los sólidos precipitados y realizar la prueba de XRPD. Los resultados de la prueba se muestran en la Tabla 8. El sólido se obtuvo mediante una prueba de enfriamiento lento y se determinó como forma cristalina I por XRPD.

Tabla 8 Resumen de la prueba de enfriamiento lento a 5 °C

Ejemplos	Peso	Disolventes	Volumen (mL)	Resultados
Ejemplo 2c1[2]	19,9	MIBK	1,0	Forma cristalina I
Ejemplo 2c2	20,7	Acetato de metilo	1,0	Forma cristalina I
Ejemplo 2c3[2]	20,4	2-MeTHF	0,7	Forma cristalina I
Ejemplo 2c4[1]	20,5	Acetona/EtOH (1:1)	0,7	Forma cristalina I

[1]: Se enfrió lentamente a 5 °C y se clarificó, luego se transfirió a -20 °C y se dejó reposar antes de liberar el sólido.

[2]: Se redujo lentamente la temperatura a 5 °C y se clarificó, se transfirió a -20 °C, todavía no había precipitación sólida después del ajuste estático y se transfirió a la volatilización a temperatura ambiente.

Ejemplo 3 Forma cristalina II

Ejemplo 3a: se pesaron 71,6 mg de muestra de forma cristalina I del Ejemplo 2a en un vial de 3 mL, se agregaron 1,5 mL de ACN y se agitó magnéticamente a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 día. Se centrifugó el sólido y se secó en condiciones ambientales (~21 °C/45 % HR) durante aproximadamente 4 horas para obtener el producto final, que luego fue sometido a pruebas de XRPD y TGA/DSC. Los resultados de XRPD se muestran en la Figura 6. Los resultados de TGA se muestran en la Figura 7, TGA mostró que calentar la muestra a 120 °C resultó en una pérdida de

peso gradual del 5,90 %; los resultados de DSC indicaron que hubo dos picos endotérmicos a 94,1 °C y 220,9 °C (temperatura inicial) y un pico exotérmico a 191,6 °C (temperatura máxima). Los resultados del ^1H NMR se muestran en la Figura 8, la relación molar de ACN a API en la muestra fue 0,8 (5,9 % en peso, consistente con la pérdida de peso de TGA). Con base en los resultados experimentales de caracterización y calentamiento, se especuló que la forma cristalina II era un complejo de disolvente de ACN y, después del calentamiento, la desolvatación experimentó una transformación cristalina. Los datos del pico de difracción de XRPD de la forma cristalina II se muestran en la Tabla 9.

10 Tabla 9: datos del pico de difracción de XRPD de la forma cristalina II

N.º de pico	2θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
1	6,35	13,90	50,21
2	9,18	9,63	34,38
3	9,91	8,92	10,86
4	14,44	6,13	25,09
5	16,03	5,52	42,80
6	18,25	4,86	33,79
7	19,77	4,49	10,15
8	20,34	4,36	69,45
9	21,81	4,07	14,52
10	22,41	3,96	74,27
11	22,60	3,93	81,90
12	23,84	3,73	10,10
13	24,64	3,61	19,76
14	24,99	3,56	100,00
15	25,43	3,50	6,69
16	26,05	3,42	94,96
17	26,41	3,37	23,03

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
18	27,07	3,29	48,38
19	28,71	3,11	57,10
20	29,08	3,07	28,99
21	29,81	3,00	8,41
22	31,16	2,87	4,91
23	31,57	2,83	7,74
24	32,27	2,77	27,92
25	32,68	2,74	25,25
26	33,93	2,64	35,81
27	34,19	2,62	9,92
28	35,42	2,53	10,46
29	37,07	2,42	26,08
30	37,56	2,39	11,92
31	38,69	2,33	4,55
32	39,51	2,28	16,48

Ejemplo 3b: pesar 20,4 mg de muestra de forma cristalina I del Ejemplo 2a en un vial de 3 mL, agregar 2 mL de ACN/acetona (1:1, v/v), sonicar y filtrar (membrana de filtro de PTFE de 0,45 μ m) para obtener una solución transparente. Sellar con film
5 sellador y hacer 4 pequeños agujeros, colocar en una campana extractora y evaporar lentamente durante 5 días. Se observó la precipitación sólida y se dejó en condiciones ambientales durante la noche, luego se transfirió a temperatura ambiente y se secó al vacío durante aproximadamente 1 día. Evaporar lentamente la solución de ACN/acetona (1:1, v/v) de la forma cristalina I del Ejemplo 2a, precipitar el sólido y luego
10 transferir a un secado al vacío a temperatura ambiente para obtener el producto final, que luego se somete a la prueba de XRPD. Los resultados de XRPD se muestran en la Figura 6.

Ejemplo 3c: pesar aproximadamente 19,7 mg de la muestra amorfa obtenida del

Ejemplo 1a en un vial de HPLC, agregar 0,5 mL de disolvente ACN/H₂O (19:1) y obtener una suspensión. Colocar la suspensión a 5°C con agitación magnética (~1000 rpm) durante aproximadamente 6 días. Centrifugar el sólido y realizar la prueba de XRPD. El resultado de XRPD es la forma cristalina II.

5 Ejemplo 3d: pesar aproximadamente 19,9 mg de la muestra amorfa obtenida del Ejemplo 1a en un vial de HPLC, agregar 0,5 mL de disolvente ACN/acetona (1:1) y obtener una suspensión. Colocar la suspensión a 5°C y agitar de forma magnética (~1000 rpm) durante aproximadamente 6 días. Centrifugar el sólido y realizar la prueba de XRPD. El resultado de XRPD es la forma cristalina II.

10 Ejemplo 4 (forma cristalina IIIA y IIIB)

Ejemplo 4a: calentar la muestra de forma cristalina II del Ejemplo 3a con DSC a 120 °C y mantener una temperatura constante durante 5 minutos antes de enfriar a temperatura ambiente para obtener la forma cristalina IIIA. Los resultados de XRPD se muestran en la Figura 9. Los resultados de TGA/DSC (Fig. 10) muestran que la muestra
15 pierde 0,26 % de peso cuando se calienta a 200 °C, lo que es menor que el contenido de agua teórico del semihidrato (1,80 %). Los resultados del DSC muestran que hay una señal exotérmica a 200,3 °C (temperatura máxima) y una señal endotérmica aguda a 219,6 °C (temperatura inicial). Los resultados del ¹H NMR (Fig. 11) mostraron que no se detectaron residuos de disolvente significativos. Calentar la forma cristalina IIIA a
20 205 °C, enfriarla a temperatura ambiente y exponerla a condiciones ambientales antes de transformarla en la forma cristalina I. Los resultados de XRPD antes y después del calentamiento se muestran en la Figura 12. Con base en los resultados de caracterización de la forma cristalina IIIA, se especula que la forma cristalina IIIA está libre de hidratos y la señal exotérmica a 198,8 °C es una señal térmica para la transición
25 a la forma cristalina I. Los datos del pico de difracción de XRPD de esta forma cristalina IIIA se pueden encontrar en la Tabla 10.

Tabla 10 datos del pico de difracción de XRPD de la forma cristalina IIIA

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
1	6,59	13,41	38,94
2	9,90	8,93	6,81
3	10,80	8,19	31,28
4	13,09	6,76	8,78
5	13,75	6,44	28,04
6	17,14	5,17	28,86
7	17,87	4,96	3,27
8	18,71	4,74	13,40
9	19,19	4,63	4,40
10	20,32	4,37	80,68
11	21,59	4,12	27,30
12	21,97	4,05	17,85
13	22,69	3,92	100,00
14	23,62	3,77	59,78
15	23,91	3,72	68,84
16	24,15	3,69	63,99
17	25,54	3,49	23,09
18	26,01	3,43	23,93
19	27,13	3,29	23,69
20	27,59	3,23	14,30
21	28,83	3,10	12,47
22	29,24	3,05	5,86
23	30,51	2,93	18,64
24	31,13	2,87	9,85
25	31,79	2,82	6,52
26	33,60	2,67	6,98
27	34,14	2,63	11,49

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
28	36,08	2,49	6,97
29	36,67	2,45	2,54
30	37,26	2,41	5,82

Ejemplo 4b: pesar 100,0 mg de muestra de forma cristalina I del Ejemplo 2a en un vial de 20 mL, agregar 10 mL de THF para disolver, filtrar (membrana de filtro de PTFE de 0,45 μ m) para obtener una solución transparente. El filtrado se trata con evaporación rotatoria a 50 °C y se recoge el producto final. Los resultados de XRPD se muestran en la Figura 13. Los resultados de TGA/DSC (Fig. 14) mostraron que la muestra perdió 3,49 % de peso cuando se calentó a 200 °C. Los resultados del DSC muestran que hay una señal endotérmica débil y una señal exotérmica a 121,3 °C y 144,6 °C (temperatura máxima), respectivamente, y una señal endotérmica fuerte a 218,3 °C (temperatura inicial). Los resultados del ^1H NMR (Fig. 15) muestran que la relación molar del disolvente residual THF al API es 0,09 (1,3 % en peso), lo que sugiere que se trata de un disolvente adsorbido en la superficie. Las señales térmicas de la forma cristalina IIIB a 121,3 °C y 144,6 °C son las señales térmicas para la transición a la forma cristalina I. Los datos del pico de difracción de XRPD de esta forma cristalina IIIB se pueden encontrar en la Tabla 11.

Tabla 11: datos del pico de difracción de XRPD de la forma cristalina IIIB

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
1	6,53	13,52	25,02
2	10,75	8,23	15,71
3	12,62	7,01	8,28
4	13,05	6,78	14,77
5	13,69	6,46	40,38
6	16,63	5,33	11,35

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
7	17,07	5,19	19,30
8	18,60	4,77	27,70
9	19,59	4,53	8,59
10	20,19	4,39	58,98
11	20,82	4,26	21,02
12	21,52	4,13	35,89
13	21,93	4,05	36,74
14	22,64	3,92	100,00
15	23,57	3,77	52,72
16	24,01	3,70	26,55
17	25,46	3,50	8,40
18	26,13	3,41	37,54
19	27,55	3,24	28,62
20	30,46	2,93	43,71
21	31,04	2,88	8,06
22	31,79	2,81	18,05
23	32,81	2,73	6,62
24	33,54	2,67	5,67
25	34,06	2,63	8,44
26	34,46	2,60	8,74

Ejemplo 5 (Forma cristalina IV)

5 Ejemplo 5a: pesar aproximadamente 20 mg de la muestra amorfa obtenida del Ejemplo 1a en un vial de HPLC, agregar 0,5 mL de disolvente 1,4-dioxano y colocar la suspensión obtenida a temperatura ambiente con agitación magnética (~1000 rpm) durante aproximadamente 6 días. Centrifugar el sólido y secar durante la noche al vacío a temperatura ambiente para obtener el producto final, que luego se somete a pruebas de XRPD y TGA/DSC. Los resultados de XRPD y de TGA/DSC se muestran en la Fig

17 y Figura 18. Los resultados del TGA mostraron que el 16,80 % de las muestras perdieron peso de forma escalonada al calentarse a 120 °C. Los resultados del DSC indican que hay dos picos endotérmicos a 95,6 °C y 220,5 °C (temperatura inicial). Los resultados del ^1H NMR se muestran en la Figura 19, la relación molar de 1,4-dioxano a API en la muestra es 1,2 (17,8 % en peso, consistente con la pérdida de peso de TGA). Con base en los resultados de caracterización anteriores y los resultados de XRPD de temperatura variable, se especula que la forma cristalina IV es un solvato de 1,4-dioxano. Los datos del pico de difracción XRPD de esta forma cristalina IV se muestran en la Tabla 12.

10 Tabla 12: datos del pico de difracción XRPD de la forma cristalina IV

N.º de pico	2θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
1	5,26	16,79	6,24
2	8,56	10,33	12,76
3	9,85	8,98	4,26
4	13,29	6,66	35,90
5	17,69	5,01	23,16
6	18,29	4,85	6,66
7	19,75	4,49	24,35
8	20,35	4,36	5,79
9	21,09	4,21	6,80
10	22,45	3,96	100,00
11	22,86	3,89	21,15
12	23,44	3,80	12,39
13	24,44	3,64	1,79
14	25,68	3,47	21,54
15	26,57	3,35	9,10
16	27,52	3,24	8,17
17	28,40	3,14	1,61

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
18	29,78	3,00	3,82
19	31,43	2,85	5,30
20	31,83	2,81	23,10
21	32,81	2,73	17,25
22	34,29	2,62	4,72
23	35,69	2,52	7,27
24	37,72	2,38	5,24

Ejemplo 5b: la muestra de forma cristalina I (500 mg) del Ejemplo 2a se agitó a temperatura ambiente en 1,4-dioxano (12,5 mL) durante 2 días y el sólido resultante se secó al vacío a temperatura ambiente durante 1 día. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig 17.

Ejemplo 6 (Forma cristalina V)

Ejemplo 6a: Pesar 20,8 mg de la muestra de forma cristalina I del Ejemplo 2a en un vial de 5 mL y añadir 4 mL de EtOH. Agitar a 70 °C y disolver, luego enfriar a 5 °C durante 650 minutos (velocidad de enfriamiento de 0,1 °C/min) y dejar reposar a 5 °C. Después de retirar la solución, dejar el sólido abierto y seco en condiciones ambientales (temperatura: ~21 °C, humedad: ~36 % HR). Los resultados de XRPD se muestran en la Fig 20. Los resultados de TGA/DSC (Fig. 21) muestran que hay una pérdida de peso gradual del 7,64 % cuando la muestra se calentó a 120 °C y hubo dos picos endotérmicos a 103,1 °C y 223,3 °C (temperatura inicial). Los resultados del ¹H NMR se muestran en la Figura 22, la relación molar de EtOH a API en la muestra fue 0,7 (6,2 % en peso, consistente con la pérdida de peso de TGA). Con base en los resultados de caracterización anteriores y los resultados de XRPD de temperatura variable, se especula que la forma cristalina V es un solvato de EtOH, que sufre desolvatación y transformación en la forma cristalina anhidra I después del calentamiento. Los datos del pico de difracción XRPD de la forma cristalina V se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13: datos del pico de difracción XRPD de la forma cristalina V

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
1	6,21	14,23	100,00
2	8,47	10,44	82,35
3	9,06	9,76	17,23
4	9,61	9,21	23,79
5	12,42	7,13	2,06
6	14,26	6,21	8,59
7	15,62	5,67	63,47
8	16,95	5,23	5,59
9	17,55	5,05	50,65
10	19,25	4,61	30,15
11	20,07	4,43	10,07
12	21,73	4,09	52,92
13	22,22	4,00	30,54
14	23,12	3,85	35,57
15	24,32	3,66	7,34
16	24,94	3,57	2,94
17	25,53	3,49	56,04
18	25,94	3,43	67,57
19	28,05	3,18	55,07
20	28,49	3,13	13,01
21	30,21	2,96	11,66
22	31,25	2,86	13,34
23	32,33	2,77	4,66
24	32,92	2,72	36,12
25	34,22	2,62	26,83
26	35,47	2,53	13,10
27	36,43	2,47	3,79

N.º de pico	2 θ [°]	Espaciado de cristales interplanares [Å]	Int. Rel. [%]
28	37,86	2,38	1,95
29	38,94	2,31	14,63
30	39,78	2,27	9,04

Ejemplo 7 (Forma cristalina VI)

Disolver la muestra amorfa (1 g) del Ejemplo 1a en DMF (3 mL). Después de disolver por completo, agregar IPA (6 mL) y agitar durante la noche a temperatura ambiente. Precipitar el sólido, filtrar, lavar la torta de filtración con isopropanol. El secado al vacío da la forma cristalina solvatada de DMF, que es la forma cristalina VI.

Los resultados de XRPD de la forma cristalina VI se muestran en la Figura 23. Los resultados de DSC muestran que hay dos picos endotérmicos a 147,39 °C y 208,56 °C. Los resultados de TGA de la Fig. 24 muestran una pérdida de peso del 0,67 % cuando se calienta a 180 °C.

Ejemplo 8 (Conversión de cristales)

Ejemplo 8a: la forma cristalina IV en el Ejemplo 5a se calentó a 120 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se expuso a condiciones ambientales antes de transformarla en la forma cristalina I. Los resultados de XRPD se muestran en Fig. 25.

Ejemplo 8b: calentar la forma cristalina II del Ejemplo 3a a 120 °C y 210 °C, enfriarla a temperatura ambiente y exponerla a condiciones ambientales. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig. 26 que muestra que cuando se calienta a 120 °C, se transforma en la forma cristalina IIIB, y cuando se calienta a 210 °C, se transforma en la forma cristalina I.

Ejemplo 8c: la forma cristalina II en el Ejemplo 3b se calentó a 120 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se expuso a condiciones ambientales antes de transformarla en la forma cristalina I. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig. 27. Se especula

que la muestra también puede transformarse primero en la forma cristalina IIIB después del calentamiento, pero se transforma rápidamente en la forma cristalina I en condiciones ambientales, lo que se demostró que se transforma en la forma cristalina I durante la prueba de XRPD.

- 5 Ejemplo 8d: identificación de la forma cristalina IIIB en el Ejemplo 4a mediante XRPD de temperatura variable, como se muestra en la Figura 16. Después de 20 minutos de soplado de N₂ a 30 °C, la estructura cristalina permaneció inalterada. Al calentar a 120 °C bajo protección de N₂, se observó un pico de difracción de estructura cristalina I. Cuando se calentó aún más a 170 °C, el pico de difracción principal fue la
10 estructura cristalina I, con sólo una pequeña cantidad de picos de difracción de la estructura cristalina IIIB. Al enfriarse a 30 °C bajo protección de N₂ no continuó transformándose.

- Ejemplo 8e: la forma cristalina V en el Ejemplo 6a se calentó a 120 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se expuso a condiciones ambientales antes de transformarla
15 en la forma cristalina I. Los resultados de XRPD se muestran en la Figura 28.

Ejemplo 8f (experimento de suspensión competitiva para las formas cristalinas I y IIIA)

- Esta modalidad implica experimentos de competencia de suspensiones de las formas cristalinas I y IIIA en EtOAc y MIBK a temperatura ambiente y 50 °C, así como
20 experimentos de competencia de suspensiones en acetona/H₂O con diferentes actividades de agua a temperatura ambiente.

- Pesar aproximadamente 15 mg de muestra de forma cristalina I del Ejemplo 2a y agregar 1 mL del disolvente correspondiente a la botella de HPLC. Agitar a la temperatura correspondiente durante 4 horas o toda la noche. Filtrar (0,45 µ Obtener
25 una solución saturada utilizando una membrana de filtro de PTFE. Pesar las muestras de la forma cristalina I y IIIA del Ejemplo 2 y del Ejemplo 4a de igual masa (aproximadamente 5 mg cada una) en botellas nuevas de HPLC y agregar la solución saturada obtenida en el Paso 1. Agitar a la temperatura correspondiente y realizar la

prueba de XRPD en la muestra sólida húmeda (cubierta con película de Kapton para evitar la posible transformación de los cristales causada por la evaporación del disolvente durante el proceso de prueba).

Los resultados de la competencia de suspensiones se resumen en la Tabla 14. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig. 29. Fig. 30. Fig. 31. Fig. 32.

Tabla 14 Resultados del experimento de competencia de suspensiones para las formas cristalinas I y IIIA

Identificación del experimento	Forma cristalina inicial	Disolvente (v/v)	Temperatura	Resultado
Ejemplo 8f1	forma cristalina I y IIIA	EtOAc	Temperatura ambiente	Forma cristalina I
Ejemplo 8f2		EtOAc	50 °C	Forma cristalina I
Ejemplo 8f3		MIBK	Temperatura ambiente	Forma cristalina I
Ejemplo 8f4		MIBK	50 °C	Forma cristalina I
Ejemplo 8f5		acetona (aw~0)	Temperatura ambiente	Forma cristalina I
Ejemplo 8f6		acetona/H ₂ O (aw~0,2, 984:16)	Temperatura ambiente	Forma cristalina I
Ejemplo 8f7		acetona/H ₂ O (aw~0,4, 952:48)	Temperatura ambiente	Forma cristalina I
Ejemplo 8f8		acetona/H ₂ O (aw~0,6, 857:143)	Temperatura ambiente	Forma cristalina I
Ejemplo 8f9		acetona/H ₂ O (aw~0,8, 604:396)	Temperatura ambiente	Forma cristalina I

Identificación del experimento	Forma cristalina inicial	Disolvente (v/v)	Temperatura	Resultado
Ejemplo 8f10		H ₂ O (aw=1)	Temperatura ambiente	Forma cristalina I

Donde aw: actividad teórica del agua.

Según los resultados de la comparación de XRPD, la mezcla física de las formas cristalinas I y IIIA se transformó en la forma cristalina I después de la competencia de suspensiones en todas las condiciones, lo que indica que en condiciones anhidras en el rango de temperatura ambiente a 50 °C y condiciones de actividad de agua de 0-1 a temperatura ambiente, la forma cristalina anhidra I es termodinámicamente más estable que la forma cristalina IIIA.

Ejemplo 9 (higroscopicidad de la forma cristalina I)

La higroscopicidad de la forma cristalina IIIA en el Ejemplo 2a, amorfa en el Ejemplo 1a y de la forma cristalina IIIA en el Ejemplo 4a se evaluó mediante pruebas de adsorción dinámica de agua (DVS) a 25 °C.

Los resultados de DVS de la forma cristalina I se muestran en la Figura 33, la absorción de agua y la ganancia de peso a 25 °C/80 % HR son 0,047 %, lo que indica casi ninguna higroscopicidad. Los resultados de la comparación de XRPD (Fig. 34) muestran que la forma cristalina I no sufrió una transformación de forma cristalina después de la prueba de DVS.

Los resultados del DVS amorfo se muestran en la Figura 2, a medida que la humedad aumenta del 50 % HR al 95 % HR, la absorción de agua y la ganancia de peso disminuyen continuamente. Se especula que las muestras amorfas experimentan una transformación cristalina durante el proceso de aumento de la humedad y el agua o los disolventes orgánicos adsorbidos o encapsulados en la muestra original se

eliminan mediante soplado de N₂. Los resultados de la comparación de XRPD (Fig. 35) muestran que la muestra amorfa se transformó en la forma cristalina I después de la prueba de DVS.

5 Los resultados de DVS de la forma cristalina IIIA se muestran en la Figura 36, la absorción de agua y la ganancia de peso a 25 °C/80 % HR son 0,060 %, lo que indica casi ninguna higroscopicidad. Los resultados de la comparación de XRPD (Fig. 37) muestran que la forma cristalina IIIB no sufrió una transformación de forma cristalina después de la prueba de DVS.

Ejemplo 10 (Estabilidad del estado sólido de la forma cristalina I)

10 Para evaluar la estabilidad en estado sólido de las formas cristalinas I, IIIA y amorfas, se pesaron cantidades apropiadas de muestras amorfas del Ejemplo 2a, Ejemplo 1a y Ejemplo 4a, y se realizaron experimentos de estabilidad en condiciones de 60 °C/cerrado/1 día, 25 °C/60 % HR/abierto/1 semana y 40 °C/75 % HR/abierto/1 semana, respectivamente. Evaluar la estabilidad física de muestras estables en
15 diferentes condiciones mediante pruebas de XRPD para la forma cristalina y evaluar la estabilidad química mediante pruebas HPLC para la pureza. Los resultados de la evaluación se resumen en la Tabla 15 y los resultados de XRPD se muestran en la Fig 38. Fig. 39 y Fig. 40 (se observó un pico de difracción débil de la forma cristalina I en la marca de estrella en la Fig. 40). Los resultados de estabilidad mostraron que la forma
20 cristalina I no sufrió ninguna transformación de forma cristalina o reducción de pureza bajo las tres condiciones de evaluación, lo que indica que la forma cristalina I tiene buena estabilidad física y química bajo las condiciones de evaluación; la pureza de los materiales amorfos no mostró cambios significativos bajo tres condiciones de evaluación, pero todos se transformaron en la forma cristalina I; se observó un pico de
25 difracción débil de la forma cristalina I en la forma cristalina IIIA después de dejarse abierta durante 1 semana a 60 °C, mientras que la forma cristalina permaneció sin cambios después de dejarse abierta durante 1 semana a 25 °C/60% HR y 40 °C/75 % HR.

Tabla 15 Resumen de los resultados de la evaluación de la estabilidad del estado sólido para la forma cristalina I en el ejemplo 2a

Forma cristalina inicial	Condición	Pureza (% de área)	Cambio de forma cristalina
Forma cristalina I del ejemplo 2a	Inicial	100,00	--
	60 °C/sellado/1 día	100,00	No
	25 °C/60 % HR/abierto/1 semana	100,00	No
	40 °C/75 % HR/abierto/1 semana	100,00	No
Amorfo del ejemplo 1a	Inicial	100,00	--
	60 °C/sellado/1 día	100,00	Sí*
	25 °C/60 % HR/abierto/1 semana	100,00	Sí*
	40 °C/75 % HR/abierto/1 semana	100,00	Sí*
Forma cristalina IIIA	Inicial	100,00	--
	60 °C/sellado/1 día	100,00	Sí#
	25 °C/60 % HR/abierto/1 semana	100,00	No
	40 °C/75 % HR/abierto/1 semana	100,00	No

*: Todas las muestras amorfas se transformaron en la forma cristalina I después de la evaluación de estabilidad;

5 #: se observaron picos de difracción débiles de la forma cristalina I

Ejemplo 11 (solubilidad)

Se probó la solubilidad dinámica de la forma cristalina I en el Ejemplo 2a y amorfa en el Ejemplo 1a en diferentes condiciones de pH (HCl 1 M y tampón de pH

2,0/4,5/6,8/7,4) a temperatura ambiente. Los pasos específicos son los siguientes:

5 (1) pesar aproximadamente 2,5 mg de la forma cristalina I o la muestra amorfa en una botella de vidrio de 20 mL y agregar 10 mL de tampón de pH diferente, o pesar aproximadamente 2,0 mg de la forma cristalina I o la muestra amorfa en una botella de vidrio de 20 mL y agregar 8 mL de ácido clorhídrico (1 M).

(2) Después de agitar (~500 rpm) durante 3 minutos a temperatura ambiente, se succionaron muestras de 0,8-1 mL con una jeringa, se filtraron (membrana de filtro de PTFE de 0,45 μ m) y se analizaron mediante HPLC.

10 (3) Para la solución obtenida del material amorfo, retirar 100 μ L y diluir 10 veces con el tampón correspondiente para su posterior uso. Si hay precipitación sólida en la solución diluida, se analizará la muestra diluida. Si no hay precipitación sólida, se analizará la muestra diluida. Para la solución obtenida de la forma cristalina I, que se esperaba que fuera de baja solubilidad, no se realizó dilución y la solución transparente filtrada se probó directamente mediante HPLC.

15 La solubilidad de la forma cristalina I y la forma amorfa en diferentes condiciones de PH se muestra en la Tabla 16. Los resultados mostraron que la solubilidad de la forma cristalina I casi no cambió a diferentes pH, mientras que la forma amorfa mostró un gran cambio con el cambio de pH (Fig. 41). Sin embargo, la disolución del genotipo I in vivo es más estable (como se muestra en la Fig. 42), y es más fácil obtener
20 resultados farmacocinéticos in vivo con una concentración sanguínea estable, lo que es beneficioso para evitar el riesgo de seguridad del fármaco causado por fluctuaciones demasiado grandes en la concentración sanguínea. Se observaron resultados similares cuando la concentración de alimentación fue de 0,05 mg/mL (por ejemplo, Fig. 43).

25 Tabla 16 Resultados de solubilidad a 3 minutos de la forma cristalina I y forma amorfa en diferentes medios (concentración de alimentación a 0,25 mg/mL)

	solubilidad (mg/mL)	
Medios	Forma amorfa	Forma cristalina I
HCl 1 M	0,023	0,0025*
pH 1,0	0,0039	0,0006
pH 2,0	0,0039	0,0007
pH 4,5	0,015	0,0009
pH 7,4	0,013	0,0010

LOQ = 0,28 µg/mL.

Ejemplo 12 (propiedades del polvo)

Se llevó a cabo la evaluación de las propiedades del polvo, incluido el ángulo de reposo, la densidad aparente y la densidad compactada, en la forma cristalina I del ejemplo 2a y la muestra amorfa del ejemplo 1a para comprender las propiedades de flujo de la forma cristalina I y el polvo amorfo.

Densidad aparente y densidad compactada: agregar una cierta cantidad de la muestra a evaluar en un cilindro graduado de 5 ml y registrar el volumen en este momento. La densidad aparente se calcula dividiendo la masa de la muestra por el volumen en este momento; golpear el cilindro graduado 200 veces y registrar el volumen final. La densidad compactada se obtiene dividiendo la masa de la muestra por el volumen final. Cada parámetro se probó tres veces en paralelo.

Ángulo de reposo: fijar el embudo verticalmente con la parte inferior y agregar lentamente el material en el embudo. La base forma un cuerpo vertebral de material simétrico. Se midieron la altura y el diámetro inferior del cuerpo vertebral. Tres veces en paralelo.

Los resultados de densidad aparente/densidad compactada se resumen en la Tabla 17. Los resultados mostraron que la densidad aparente y la densidad compactada promedio de la forma cristalina I fueron 0,34 g/cm³ y 0,46 g/cm³, respectivamente, y el

índice de Karl calculado fue del 26 %; la densidad aparente y la densidad compactada promedio del amorfo son 0,31 g/cm³ y 0,46 g/cm³, respectivamente, y el índice de Karl calculado es del 33 %.

Los resultados del ángulo de reposo se resumen en la tabla 18. Los resultados mostraron que los ángulos de reposo de las muestras de forma cristalina I y amorfa fueron 27,7° y 26,7°, respectivamente. Según los resultados de la evaluación integral, la forma cristalina I y las muestras amorfas tienen un índice de Karl y un ángulo de reposo relativamente cercanos, lo que indica que la forma cristalina I y la amorfa tienen una fluidez similar.

10 Tabla 17 Resultados de las pruebas de densidad aparente y densidad compactada

Número de muestras	Número de prueba	Densidad aparente (g/cm ³)	Densidad aparente media (g/cm ³)	Densidad compactada (g/cm ³)	Densidad compactada media (g/cm ³)	Índice de Karl
Forma cristalina I del Ejemplo 2a	1	0,34	0,34	0,48	0,46	26 %
	2	0,35		0,44		
	3	0,34		0,47		
Forma amorfa del Ejemplo 1a	1	0,30	0,31	0,46	0,46	33 %
	2	0,32		0,48		
	3	0,32		0,43		

Índice de Karl = (densidad compactada - densidad aparente)/densidad compactada

Tabla 18 Resultados de la prueba del ángulo de reposo

Número de muestras	Número de prueba	altura del cuerpo vertebral (cm)	Diámetro del cuerpo vertebral (cm)	Ángulo de reposo (°)	Ángulo de reposo medio (°)
Forma cristalina I	1	1,1	4,4	26,6	27,7
	2	1,1	4,3	27,1	
	3	1,3	4,6	29,5	
Forma amorfa	1	1,1	4,1	28,2	26,7
	2	0,9	3,6	26,6	
	3	0,9	3,8	25,4	

Fórmula de cálculo α del ángulo de reposo: $\alpha = \tan^{-1} (h/D)$, h: altura del cuerpo vertebral, D: diámetro del cuerpo vertebral

Ejemplo 13 (Estabilidad de fuerza mecánica)

- 5 El cristal I del Ejemplo 2a, el cristal IIIA del Ejemplo 4a y la forma amorfa del Ejemplo 1a se trituraron y se comprimieron manualmente (presión de 350 MPa), y las muestras trituradas y comprimidas se sometieron a pruebas de XRPD para evaluar su estabilidad mecánica. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig. 44, Fig. 45, Fig. 46, Fig. 47, Fig. 48 y Fig. 49. Los resultados de la evaluación mostraron que no hubo transformación
- 10 cristalina ni reducción significativa de la cristalinidad de la forma cristalina I después de la trituración y el prensado del comprimido. Después de la trituración, la forma cristalina III permaneció sin cambios, pero la cristalinidad disminuyó ligeramente. Después del prensado, la forma cristalina III permaneció sin cambios, pero la cristalinidad disminuyó significativamente. La forma amorfa se convierte en la forma I después de triturarla y
- 15 trocearla.

Según los resultados de

caracterización e identificación de la forma cristalina, la forma cristalina I fue seleccionada para la evaluación de la conducción de humedad, estabilidad del sólido, solubilidad, propiedades del polvo y estabilidad mecánica. Al mismo tiempo, también se evaluó la forma amorfa para comparar sus propiedades con la forma cristalina I. Los resultados de DVS mostraron que la forma cristalina I casi no tuvo desviación de humedad y no se produjo ninguna transformación cristalina después de la prueba de DVS. La forma amorfa se convierte en la forma I después de la prueba de DVS. Los resultados de estabilidad del estado sólido mostraron que no ocurrió ninguna transformación cristalina ni reducción de la pureza después del almacenamiento cerrado a 60 °C durante 1 día y el almacenamiento abierto a 25 °C/60 % HR y 40 °C/75 % HR durante 1 semana, lo que indica que la forma cristalina I tenía buena estabilidad física y química en las condiciones evaluadas. Las formas amorfas no mostraron cambios significativos en la pureza bajo las tres condiciones evaluadas, pero todas cambiaron a la forma I. Los resultados de la prueba de propiedades químicas del polvo de cristal I muestran que el cristal I y la muestra amorfa tienen una fluidez similar. Los resultados de estabilidad mecánica mostraron que después de la tabulación (350 MPa) y la trituración manual (aproximadamente 3 minutos), la forma amorfa cambió a la forma cristalina I sin una transformación cristalina significativa ni una reducción de la cristalinidad.

Con base en los datos de caracterización y los resultados de la evaluación, la forma cristalina I no experimentó una transición cristalina en todas las condiciones evaluadas, mientras que la forma amorfa cambió al cristal I después de las pruebas de DVS, estabilidad del estado sólido, solubilidad y estabilidad de fuerza mecánica, lo que indica que la forma cristalina I tiene mejor estabilidad física que la forma amorfa.

Ejemplo 14 (Estabilidad a la luz)

“Para la forma cristalina I del Ejemplo 2a, la forma cristalina IIIA del Ejemplo 4a, la forma cristalina V del Ejemplo 6a y la forma amorfa del Ejemplo 1a, se tomaron muestras

a las 6 y 24 horas bajo luz (luz blanca de 5800 a 5890 Lux + UV de 7,9 a 8,7 W/m²) para realizar pruebas de pureza mediante XRPD y HPLC". Se realizó una evaluación de estabilidad. Los resultados de XRPD se muestran en la Fig. 50, Fig. 51, Fig. 52 y Fig. 53: no se produjo ninguna transformación cristalina en las formas cristalinas I, IIIA, V y formas amorfas después de colocarlas en condiciones de luz durante 24 horas. En condiciones de referencia en la oscuridad, no se produjo transcristalización después de 24 horas de almacenamiento para el cristal I, el cristal IIIA y el cristal V, y se observó un pico de difracción débil del cristal I después de 6 y 24 horas de almacenamiento amorfo. Los resultados de HPLC se muestran en la Fig. 54, Fig. 55, Fig. 56, Fig. 57 y Tabla 19: después de 24 horas de exposición a la luz, la pureza del cristal I disminuyó ligeramente del 100,00 % del área al 99,14 % del área (el contenido de impureza A fue del 0,79 %) bajo exposición a la luz. La pureza de la forma cristalina IIIA, la forma cristalina V y la forma amorfa disminuyó del 100,00 % del área al 98,46 % del área (contenido de impureza A 1,34 %), 92,05 % del área (contenido de impureza A 7,95 %) y 90,42 % del área (contenido de impureza A 8,83 %) en condiciones de luz, respectivamente. No hubo cambios significativos en la pureza de las cuatro muestras en las condiciones de referencia en la oscuridad (las muestras expuestas a la luz durante 6 horas en la Fig. 54, Fig. 55 y Fig. 56 se probaron por separado de las impurezas fotodegradadas en dos secuencias de prueba de HPLC, por lo que el tiempo de retención de las impurezas puede estar ligeramente desplazado). Según los resultados de la estabilidad a la luz, la forma cristalina I exhibe una mejor estabilidad a la luz en comparación con la forma cristalina IIIA, V y la forma amorfa.

Tabla 19 Resultados de la estabilidad a la luz de las formas cristalinas I/IIIA/V y la forma amorfa

Forma cristalina (N.º de muestra)	Condición de luz	Punto de muestreo	Cambio de forma cristalina	Pureza (% de área)
Forma cristalina I	--	0 horas	--	100,00
	luz	6 horas	no	99,95
		24 horas	no	99,14

Forma cristalina (N.º de muestra)	Condición de luz	Punto de muestreo	Cambio de forma cristalina	Pureza (% de área)
	Evitar la luz	6 horas	no	100,00
		24 horas	no	100,00
Forma cristalina IIIA	--	0 horas	--	100,00
	luz	6 horas	no	99,75
		24 horas	No	98,46
	Evitar la luz	6 horas	No	100,00
		24 horas	No	100,00
forma amorfa	--	0 horas	--	100,00
	luz	6 horas	No	95,90
		24 horas	No	90,42
	Evitar la luz	6 horas	Sí	100,00
		24 horas	Sí	99,94
Forma cristalina V	--	0 horas	--	100,00
	luz	24 horas	No	92,05
	Evitar la luz	24 horas	no	100,00

Ejemplo 15 (Experimentos farmacocinéticos en ratas SD)

Se utilizaron 2,39 mg de la forma cristalina I del Ejemplo 2a, 2,38 mg de la forma cristalina IIIA del Ejemplo 4a y 2,46 mg de la forma amorfa del Ejemplo 1 como materiales de prueba, y se añadieron 7,967 mL, 7,906 mL y 8,193 mL de solución acuosa de CMC-Na al 0,5 %, respectivamente. Se prepararon formulaciones para administración intragástrica a una concentración final de 0,3 mg/mL. A tres ratas Sprague-Dawley (SD) macho se les administraron las tres soluciones de prueba por sonda en una dosis de 3 mg/kg de peso corporal del animal, respectivamente. Se recogieron muestras de sangre de 0,15 mL del seno yugular a las 0, 0,25 h, 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 10 h y 24 h. La sangre entera recolectada se colocó en tubos anticoagulantes EDTA-K2, se mezcló bien, se centrifugó (1500~1600 g) durante 10

minutos y el plasma se separó y se utilizó para análisis biológico. Se utilizó el método de análisis LC-MS/MS (modelo de instrumento: Triple Quad 5500; columna Agilent ZORBAX XDB-C18; velocidad de flujo: 0,50 mL/min; volumen de inyección: 2 µL; fase móvil A: agua [ácido fórmico al 0,1 % + acetato de amonio 5 mM], fase móvil B: acetonitrilo [ácido fórmico al 0,1 %]) para determinar la concentración de la sustancia de prueba en muestras de plasma. Los parámetros farmacocinéticos correspondientes se calcularon con el uso del modelo no compartimental en Pharsight Phoenix 8.3 (Tabla 20). Según los datos, el AUC_{0-t} de la forma I y la forma IIIA fueron 9820 ng·h/mL y 8890 ng·h/mL, respectivamente, y la C_{máx} fue 1160 ng/mL y 1030 ng/mL, respectivamente, lo que indica una exposición plasmática adecuada al fármaco in vivo y mejores propiedades farmacocinéticas. La forma cristalina I posee una mayor exposición y concentración sanguínea que la forma cristalina IIIA, que ha demostrado tener el potencial de reducir la dosis.

Tabla 20 Parámetros farmacocinéticos de la forma cristalina I, IIIA y la forma amorfa

		Forma cristalina I	Forma cristalina III A	Forma amorfa
T _{1/2}	h	3,37	2,99	2,99
T _{máx}	h	4,00	2,00	4,00
C _{máx}	ng/mL	1160	1030	1800
AUC _{0-t}	ng·h/mL	9730	8840	13800
AUC _{0-inf}	ng·h/mL	9820	8890	13900
MRT _{0-t}	h	5,93	5,42	5,67
MRT _{0-inf}	h	6,16	5,54	5,80

Ejemplo 16: inhibición de la proliferación de una línea celular de melanoma con mutación en NRAS

Todas las células fueron proporcionadas por el Hospital Oncológico de Pekín. La línea celular de melanoma humano SK-MEL-2 (NRAS Q61R) se cultivó con MEM suplementado con FBS al 10 % y penicilina-estreptomicina en una incubadora a 37 °C

y 5 % de dióxido de carbono. La línea celular de melanoma humano HMVII (NRAS Q61K) se cultivó con F12K suplementado con FBS al 10 % y penicilina-estreptomicina en una incubadora a 37 °C y 5 % de dióxido de carbono.

Cuando la confluencia de las células cultivadas alcanzó más del 80 %, las células adherentes se digirieron con tripsina y el precipitado celular se recogió por centrifugación, se contó y se sembraron 90 µL de la suspensión celular en una placa de 96 pocillos a la densidad adecuada. Después de 24 horas, se agregaron una serie de diluciones en gradiente del compuesto (forma cristalina I) a cada pocillo en un volumen de 10 µL (que oscila de 0,15 nM a 10 µM, dilución de gradiente de 4 veces). Cada concentración se montó en tres pocillos múltiples, un total de 9 puntos de concentración. Los pocillos añadidos con el mismo volumen de DMSO al 5 % se utilizaron como control y la concentración final de DMSO fue del 0,5 %. Después de 3 días de tratamiento farmacológico, se detectó la viabilidad celular mediante MTT y se agregaron 10 µL de MTT a cada pocillo y se incubaron en la incubadora durante otras 4 horas. Después de descartar el sobrenadante, se agregaron 150 µL de DMSO para disolver el cristal y se detectó la absorbancia a 490 nm mediante un lector de microplacas. Los experimentos anteriores se repitieron tres veces. Se realizó la curva dosis-efecto y se calculó la IC₅₀ mediante el software GraphPad Prism 8. Los resultados se presentan como la media IC₅₀ ±SD de tres experimentos (Tabla 21 y 22).

Tabla 21. Valores de IC₅₀ del compuesto 1 en células SK-MEL-2

Compuesto	IC ₅₀ (nM)			Valor medio (nM)	SD
	1°	2°	3°		
Compuesto1	2,76	4,26	4,01	3,68	0,66
MEK162	74,79	68,27	221,99	121,68	70,98

Tabla 22. Valores de IC₅₀ del compuesto 1 en células HMVII

Compuesto	IC ₅₀ (nM)			Valor medio (nM)	SD
	1°	2°			
compuesto 1	4,81	7,45	3,19	5,15	2,15

Ejemplo 17: inhibición de mutaciones en RAS o RAF

Se utilizó el ensayo MTS para detectar la actividad antiproliferativa in vitro del compuesto 1 en líneas de células tumorales con mutación en RAS o con mutación en RAF, líneas de células tumorales en estado natural RAS/RAF y líneas de células humanas normales.

Las células adherentes en fase de crecimiento logarítmico se digirieron con tripsina o las células suspendidas se recolectaron por centrifugación, se contaron y se sembraron en 150 µL en una placa de 96 pocillos. Después de 24 horas, se agregaron 50 µL/pocillo de una concentración final 4 veces mayor del compuesto (forma cristalina I) diluido en medio (que oscila de 0,15 nM a 1000 nM, dilución de gradiente de 3 veces). Los pocillos en los que se añadió el mismo volumen de DMSO al 2 % a una concentración final de DMSO del 0,5 % se utilizaron como controles. Después de que las células continuaron en cultivo durante 72 horas, se utilizó MTS para medir la viabilidad celular. El método fue el siguiente: se descartó el medio de células adherentes, se agregaron 20 µL de MTS y 100 µL de medio celular a cada pocillo y se agregaron 20 µL de MTS directamente a las células suspendidas. El OD₄₉₀ se detectó después de 1-4 horas de cultivo continuo en la incubadora y el valor de OD₆₅₀ se utilizó como referencia. Se realizó la curva dosis-efecto mediante el software GraphPad Prism y se calculó la IC₅₀. Los resultados se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23. Valores de IC₅₀ del compuesto 1 en líneas celulares tumorales con mutación en RAS o RAF y en la línea celular de pulmón embrionario humano MRC-5

N.º	líneas celulares	Estado de Ras/Raf	IC ₅₀ (nM)
1	A375	Mutación en Raf	0,86±0,07
2	COLO-205	Mutación en Raf	0,94±0,26
3	LOX	Mutación en Raf	1067,99±324,79
4	COLO-829	Mutación en Raf	3,46±0,27
5	HT-29	Mutación en Raf	2,35±0,03
6	Calu-6	Mutación en Ras	10,07±1,18
7	A549	Mutación en Ras	59,89±11,06
8	PANC-1	Mutación en Ras	>1000
9	HL-60	Mutación en Ras	0,67±0,28
10	H1975	Ras/Raf wt	>1000
11	BxPC-3	Ras/Raf wt	252,04±81,39
12	MRC-5	Células normales	>1000

Ejemplo 18:

Un estudio multicéntrico, de un solo brazo, de fase II para evaluar la eficacia y seguridad del compuesto 1, forma cristalina I, en pacientes con melanoma avanzado con mutaciones en NRAS. Los pacientes recibieron 12 mg dos veces al día hasta la aparición de toxicidad intolerable, progresión de la enfermedad (según la evaluación del investigador de acuerdo con RECIST 1.1), abstinencia, muerte o hasta que el investigador determinó que los riesgos superaban los beneficios. Hasta el 19 de febrero de 2023, se inscribieron un total de 100 sujetos, de los cuales el 95,0 % (95/100 casos) se incluyeron en el conjunto de análisis completo (FAS).

Mediciones de eficacia primarias:

En el grupo FAS, la ORR (tasa de respuesta objetiva) evaluada por IRRC fue del 35,8 % (34/95 casos) (IC del 95 %: 26,2 %, 46,3 %).

En el grupo FAS, la mediana de PFS fue de 4,2 meses (IC del 95 %: 3,5, 5,6), la

DCR fue del 72,6 % (69/95 casos) (IC del 95 %: 62,5 %, 81,3 %) y la mediana de DoR fue de 6,1 meses (IC del 95 %: 3,9, 8,9).

El compuesto 1 tuvo un buen efecto antitumoral en pacientes con melanoma avanzado con mutación en NRAS, y la ORR fue del 35,8 % según la evaluación del
5 IRRC, lo que fue significativamente mejor que los datos clínicos de fármacos similares.