

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 3317281
DAL TITOLO:

“FORME SOLIDE E FORMULAZIONI DI (S)-4-(8-AMMINO-3-(1-(BUT-2-INOIL)PIRROLIDIN-2-IL)IMIDAZO[1,5-A]PIRAZIN-1-IL)-N-(PIRIDIN-2-IL)BENZAMMIDE”

*** **

Descrizione

RIFERIMENTO INCROCIATO A DOMANDE CORRELATE

CAMPO DELL'INVENZIONE

L'invenzione riguarda la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide come definita qui di seguito. In altre forme di realizzazione, l'invenzione riguarda composizioni farmaceutiche che includono la Forma I della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide come definita qui di seguito, incluse composizioni farmaceutiche che possono essere usate per superare gli effetti di agenti acido-riducenti, e possono essere usate per trattare cancro.

STATO DELL'ARTE DELL'INVENZIONE

La tirosin chinasi di Bruton (BTK) è una proteina chinasi non recettore della famiglia Tec espressa in cellule B e cellule mieloidi. La BTK è composta da domini di omologia di pleckstrina (PH), omologia di Tec (TH), omologia 3 di Src (SH3), omologia 2 di Src (SH2) e tirosin chinasi oppure omologia 1 di Src (TK o SH1). La funzione di BTK nelle

vie di segnalazione attivate dall'impegno del recettore delle cellule B (BCR) in cellule B mature e FCER1 su mastociti è ben consolidata. Le mutazioni funzionali di BTK nell'uomo determinano una malattia da immunodeficienza primaria (agammaglobulinemia legata all'X) caratterizzata da un difetto nello sviluppo delle cellule B con un blocco tra stadi pro- e pre-cellule B. Il risultato è una quasi completa assenza di linfociti B, che causa una riduzione pronunciata dell'immunoglobulina sierica di tutte le classi. Questi risultati sostengono un ruolo chiave di BTK nella regolazione della produzione di auto-anticorpi in malattie autoimmuni.

La BTK è espressa in numerosi linfomi a cellule B e leucemie. Altre malattie con un ruolo importante per cellule B disfunzionali sono le neoplasie maligne a cellule B, come descritto in Hendriks, et al, Nat. Rev. Cancer, 2014, 14, 219-231. Il ruolo nella regolazione della proliferazione e dell'apoptosi delle cellule B riportato per BTK indica il potenziale di inibitori di BTK nel trattamento di linfomi a cellule B. Gli inibitori di BTK sono stati sviluppati, pertanto, come potenziali terapie per molte di queste neoplasie maligne, come descritto in D'Cruz, et al, OncoTargets and Therapy 2013, 6, 161-176. La pubblicazione di domanda di brevetto internazionale n. WO 2013/010868 divulga inibitori di BTK che includono (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide per l'uso in terapia.

La presente invenzione include la scoperta inattesa di una

nuova Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, indicata nel presente documento come Formula (1). La Formula (1) è un inibitore di BTK che è utile, tra le altre cose, in composizioni farmaceutiche e per l'uso nel trattamento di cancro, infiammazione, malattie immuni e autoimmuni. La nuova Forma I cristallina della base libera di Formula (1) divulgata nel presente documento ha proprietà sorprendenti e utili.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

L'invenzione fornisce una composizione comprendente la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X su polveri comprendente picchi a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 e 15,7° 2θ ± 0,2° 2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-Kα1. Questa è indicata nel presente documento come Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide o Forma I cristallina della base libera di Formula (1).

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente una base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-

(piridin-2-il)benzammide in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X su polveri comprendente picchi a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 e 15,7° 2θ ± 0,2° 2θ, e comprendente, inoltre, picchi a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 e 18,2° 2θ ± 0,2° 2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X è acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-Kα1.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X su polveri comprendente picchi a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6, e 15,7° 2θ ± 0,2° 2θ, comprendente, inoltre, picchi a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 e 18,2° 2θ ± 0,2° 2θ, e comprendente, inoltre, uno o più picchi selezionati dal gruppo costituito da 11,3, 15,1, 15,7, 16,1, 17,3, 19,2, 19,4, 19,8, 20,7, 21,1, 21,4, 21,6, 21,9, 22,6, 23,3, 23,6, 24,9, 25,2, 25,4, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, 26,9, 27,7, 28,6, 29,1, 29,4, 30,1, 30,5, 31,7, 31,9, 32,2, 32,6, 33,1, 33,4, 34,5, 35,9, 36,1, 36,8, 37,4, 38,1, 38,9 e 39,5° 2θ ± 0,2° 2θ in cui il pattern di diffrazione di raggi X è acquisito usando una sorgente di radiazione di Cu-Kα1.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina I della base libera di

(S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X su polveri in trasmissione sostanzialmente uguale al pattern di diffrazione di raggi X su polveri rappresentativo mostrato in Figura 1, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K α 1.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da uno spettro Raman comprendente picchi a 1620, 1609, 1547, 1514 e 1495 cm $^{-1}$ \pm 2 cm $^{-1}$.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da uno spettro Raman comprendente picchi a 1620, 1609, 1547, 1514 e 1495 cm $^{-1}$ \pm 2 cm $^{-1}$, comprendente, inoltre, uno o più picchi selezionati dal gruppo



costituito da 1680, 1574, 1454, 1433, 1351, 1312, 1255, 1232, 1187, 1046, 995, 706, 406 e $280 \text{ cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina I della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da uno spettro Raman sostanzialmente uguale allo spettro Raman rappresentativo mostrato in Figura 2.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da uno spettro infrarosso (IR) comprendente picchi a 1621, 1608, 1403, 1303 e $764 \text{ cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da uno spettro infrarosso (IR) comprendente picchi a 1621, 1608, 1403, 1303 e 764

$\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$, comprendente, inoltre, uno o più picchi selezionati dal gruppo costituito da 3367, 3089, 2246, 1682, 1574, 1514, 1504, 1454, 1428, 1345, 1248, 1194, 1177, 1149, 1109, 1049, 1023, 1003, 947, 900, 858, 842, 816, 734, 729, 701, 689, 665, 623 e $612 \text{ cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina I della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da uno spettro IR sostanzialmente uguale allo spettro IR rappresentativo mostrato in Figura 3.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina I della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata dall'assenza di acqua nella struttura cristallina.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide e un acidificante extragranulare.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una

composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico o un relativo sale, Proacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF), e Carbopol 971P (carbossipolimetilene) e loro combinazioni.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido alginico, o un relativo sale di sodio o potassio, a una concentrazione tra circa 5% e circa 33% in peso.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido alginico, o un relativo sale di sodio o potassio, a una concentrazione tra circa 5% e circa 33% in peso, e in cui la composizione comprende, inoltre, almeno un eccipiente farmaceuticamente accettabile.



In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide per l'uso nel trattamento di una malattia iperproliferativa in un mammifero, in cui la malattia iperproliferativa è selezionata dal gruppo costituito da leucemia linfocitica cronica, linfoma non Hodgkin, linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma mantellare, linfoma follicolare, malattia linfoproliferativa a cellule B, leucemia linfoblastica acuta a cellule B, macroglobulinemia di Waldenström, leucemia di Burkitt, malattia di Hodgkin, mieloma multiplo, leucemia mieloide acuta, leucemia mielomonocitica giovanile, leucemia delle cellule ciliate, leucemia mastocitaria, mastocitosi, disordini mieloproliferativi (MPD), neoplasie mieloproliferative, policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria (PMF), sindrome mielodisplastica, leucemia mielogena cronica (BCR-ABL-1-positiva), leucemia neutrofila cronica, leucemia eosinofila cronica, linfoma primitivo del sistema nervoso centrale (SNC), linfoma multifocale primitivo del sistema nervoso periferico (PNS), cancro del timo, cancro del cervello, glioblastoma, cancro del polmone, cancro a cellule squamose, cancro della pelle (ad esempio, melanoma), cancro dell'occhio, retinoblastoma, melanoma intraoculare, cancri della cavità orale e orofaringei, cancro della vescica, cancro gastrico, cancro dello stomaco, cancro pancreatico, cancro della mammella, cancro della cervice, cancro della testa e del collo, cancro renale, cancro del rene,



cancro del fegato, cancro ovarico, cancro della prostata, cancro coloretale, cancro osseo (ad esempio, cancro osseo metastatico), cancro esofageo, cancro testicolare, cancro ginecologico, cancro della tiroide, cancro epidermoide, cancro correlato ad AIDS (ad esempio, linfoma), carcinoma della cervice indotto da virus (papillomavirus umano), carcinoma nasofaringeo (virus Epstein-Barr), sarcoma di Kaposi, linfoma primitivo effusivo (herpesvirus del sarcoma di Kaposi), carcinoma epatocellulare (virus dell'epatite B e dell'epatite C), leucemie a cellule T (virus umano-1 della leucemia a cellule T), iperplasia benigna della pelle, restenosi, ipertrofia prostatica benigna, angiogenesi tumorale, malattia infiammatoria cronica, artrite reumatoide, aterosclerosi, malattia infiammatoria intestinale, malattie della pelle, come psoriasi, eczema e sclerodermia, diabete, retinopatia diabetica, retinopatia di prematurità, degenerazione maculare legata all'età, emangioma, colite ulcerosa, dermatite atopica, pouchite, spondiloartrite, uveite, malattia di Behcet, polimialgia reumatica, arterite gigantocellulare, sarcoidosi, malattia di Kawasaki, artrite idiopatica giovanile, idratenite suppurativa, sindrome di Sjögren, artrite psoriasica, artrite reumatoide giovanile, spondilite anchilosante, malattia di Crohn, lupus e nefrite lupica.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide per l'uso nel trattamento di un malattia

iperproliferativa in un mammifero, in cui la malattia iperproliferativa è selezionata dal gruppo costituito da leucemia linfocitica cronica, linfoma non Hodgkin, linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma mantellare, linfoma follicolare e macroglobulinemia di Waldenström.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide e un acidificante extragranulare per l'uso in un trattamento di un malattia iperproliferativa in un mammifero, in cui la malattia iperproliferativa è selezionata dal gruppo costituito da leucemia linfocitica cronica, linfoma non Hodgkin, linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma mantellare, linfoma follicolare e macroglobulinemia di Waldenström.

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, un acidificante extragranulare e un agente acido-riducente per l'uso nel trattamento di una malattia iperproliferativa in un mammifero.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

Il sommario precedente, nonché la seguente descrizione dettagliata dell'invenzione, saranno meglio compresi quando letti unitamente ai disegni allegati.

La Figura 1 illustra un pattern PXRD in trasmissione della



Forma I (campione PP502-P1) della base libera di Formula (1).

La Figura 2 illustra uno spettro Raman della Forma I della base libera di Formula (1).

La Figura 3 illustra uno spettro infrarosso (IR) della Forma I della base libera di Formula (1).

La Figura 4 illustra un pattern PXRD in trasmissione della Forma II della base libera di Formula (1).

La Figura 5 illustra uno spettro Raman della Forma II della base libera di Formula (1).

La Figura 6 illustra un pattern PXRD in trasmissione della Forma III della base libera di Formula (1).

La Figura 7 illustra uno spettro Raman della Forma III della base libera di Formula (1).

La Figura 8 illustra un pattern PXRD della Forma IV metastabile della base libera di Formula (1).

La Figura 9 illustra un pattern PXRD della Forma V metastabile della base libera di Formula (1).

La Figura 10 illustra un pattern PXRD della Forma VI metastabile della base libera di Formula (1).

La Figura 11 illustra un pattern PXRD della Forma VII metastabile della base libera di Formula (1).

La Figura 12 illustra un pattern PXRD della Forma VIII metastabile della base libera di Formula (1).

La Figura 13 illustra il pattern PXRD della Formula (1) amorfa.

La Figura 14 illustra lo spettro Raman della Formula (1) amorfa.

La Figura 15 illustra un pattern PXRD in riflessione della Forma A del sale fumarato di Formula (1).

La Figura 16 illustra un pattern PXRD in riflessione della Forma A del sale maleato di Formula (1).

La Figura 17 illustra un pattern PXRD della Forma A del sale fosfato di Formula (1).

La Figura 18 illustra un pattern PXRD della Forma A del sale L-tartrato di Formula (1).

La Figura 19 illustra un pattern PXRD della Forma A del sale citrato di Formula (1) (campione SP211-CIT-P4) cristallizzato da acetone-acqua.

La Figura 20 illustra un pattern PXRD della Forma A del sale citrato di Formula (1) (campione SP211-CIT-P6) cristallizzato da 1-propanolo.

La Figura 21 illustra un pattern PXRD di un campione della Forma A del sale gentsato di Formula (1) monoidrato.

La Figura 22 illustra un pattern PXRD della Forma A del sale ossalato di Formula (1).

La Figura 23 illustra un pattern PXRD di un campione della Forma A di un sale solfato di Formula (1).

La Figura 24 illustra una distribuzione delle specie per la Formula (1) in base a valori di pH calcolati: 2,2, 6,1 e 11,5.

La Figura 25 illustra la solubilità dipendente dal pH della base

libera di Formula (1) (campione PP502-P1) con HCl e soluzioni tampone come mezzi solventi. I marcatori a cerchio corrispondono ai risultati della prima serie di esperimenti, e i marcatori a rombo corrispondono ai risultati della seconda serie di esperimenti.

La Figura 26 illustra la distribuzione delle specie e la solubilità in funzione del pH per la Formula (1).

La Figura 27 illustra la solubilità dipendente dalla temperatura della Formula (1) in acetone (quadrati), etanolo (punti e linea), 96% di etanolo (triangoli) e 1-propanolo (rombi). La linea verticale mostra la temperatura di ebollizione dell'etanolo.

La Figura 28 mostra risultati della velocità di dissoluzione intrinseca per le Forme I e II della base libera di Formula (1).

La Figura 29 mostra dati di esposizione in cani per le Forme I e II della base libera di Formula (1).

La Figura 30 illustra un confronto dei profili di dissoluzione di formulazioni di Formula (1) a un pH di 3,4.

La Figura 31 illustra un confronto dei profili di dissoluzione di formulazioni di Formula (1) a un pH di 5,5.

La Figura 32 mostra tendenze in AUC, C_{max} e T_{max} per cani condizionati trattati con una formulazione di Formula (1) con acidificante e quattro forme di sale di Formula (1). Capsule liquide ("cap. liq.") (100 mg) sono state somministrate per il confronto con le forme solide. Capsule solide di 100 mg di resistenza nella formulazione clinica della Forma I di Formula (1) sono state somministrate ai cani prima o dopo il

trattamento giornaliero con omeprazolo per ridurre l'acidità dello stomaco. Le successive fasi dello studio hanno seguito 4 giorni di dosaggio con omeprazolo (10 mg/giorno); il trattamento con omeprazolo è continuato durante tutto lo studio. Una formulazione di acidificante della Forma I di Formula (1) ("FA-3") è stata confrontata con F-1 maleato, F-1 fosfato, F-1 fumarato, F-1 sali tartrato, nonché formulazioni di controllo (base libera di F-1 e F-2) e somministrate come 100 mg di equivalente di base libera in capsule. Le esposizioni di sali e delle capsule della Forma I di Formula (1) formulate con acidificante o usando una forma di sale di Formula (1) sono aumentate rispetto all'esposizione della Forma I in presenza di omeprazolo.

La Figura 33 illustra l'AUC a dose normalizzata e la C_{max} per la Formula (1) in cani, confrontando capsule liquide ("cap. liq.") (media di n= 2), formulazione F-2 (media di n= 5), formulazione F-2 con omeprazolo ("F-2/Omep" che mostra la perdita di esposizione per la Formula (1)), e cinque formulazioni della presente invenzione che ripristinano l'esposizione in presenza di omeprazolo: FA-3 (con acidificante, "FA-3/Omep"), F-1 maleato ("Maleato/Omep"), F-1 fosfato ("Fosfato/Omep"), F-1 fumarato ("Fumarato/Omep"), e F-1 tartrato ("Tartrato/Omep").

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Sebbene forme di realizzazione preferite dell'invenzione siano mostrate e descritte nel presente documento, tali forme di realizzazione sono fornite solo a titolo esemplificativo e non sono destinate a limitare



altrimenti la portata dell'invenzione. Varie alternative alle forme di realizzazione descritte dell'invenzione possono essere impiegate nella pratica dell'invenzione.

Definizioni

Se non altrimenti definiti, tutti i termini tecnici e scientifici usati nel presente documento hanno il significato comunemente inteso da un tecnico del ramo cui appartiene questa invenzione.

Il termine "forma solida" può riferirsi a una forma o fase solida cristallina, inclusa una base libera cristallina e un sale cristallino.

I termini "co-somministrazione", "co-somministrare", "somministrati in combinazione con" e "somministrare in combinazione con" come usati nel presente documento, comprendono la somministrazione di due o più agenti a un soggetto in modo che entrambi gli agenti e/o i loro metaboliti siano presenti nel soggetto nello stesso momento. La co-somministrazione include la somministrazione simultanea in composizione separate, la somministrazione in diversi momenti in composizioni separate o la somministrazione in una composizione in cui sono presenti due o più agenti.

L'espressione "quantità efficace" o "quantità terapeuticamente efficace" si riferisce a quella quantità di un composto o di una combinazione di composti, come descritto nel presente documento, che è sufficiente per attuare l'applicazione prevista che include, ma non si limita a, il trattamento di una malattia. Una quantità terapeuticamente efficace può variare a seconda dell'applicazione prevista (*in vitro* o *in*



vivo), o del soggetto e della condizione patologica che viene trattata (ad esempio, il peso, l'età e il genere del soggetto), dalla gravità della condizione patologica, dalla modalità di somministrazione ecc. il che può essere facilmente determinato da un tecnico del ramo di ordinaria competenza. L'espressione si applica anche a una dose che indurrà una particolare risposta nelle cellule bersaglio (ad esempio, la riduzione dell'adesione piastrinica e/o migrazione cellulare). La dose specifica varierà a seconda dei particolari composti scelti, del regime posologico da seguire, del fatto che il composto sia somministrato in combinazione con altri composti, del momento di somministrazione, del tessuto cui viene somministrato e del sistema di erogazione fisico in cui il composto è trasportato.

I termini "QD", "qd" o "q. d." significano *quaque die*, una volta al giorno, o una volta ogni giorno. I termini "BID", "bid" o "b. i. d." significano *bis in die*, due volte al giorno, o due volte ogni giorno. I termini "TID", "tid" o "t. i. d." indicano *ter in die*, tre volte al giorno, o tre volte ogni giorno. I termini "QID", "qid" o "q. i. d." indicano *quater in die*, quattro volte al giorno, o quattro volte ogni giorno.

Un "effetto terapeutico", nell'accezione in cui questa espressione viene usata nel presente documento, comprende un beneficio terapeutico e/o un beneficio profilattico come descritto sopra. Un effetto profilattico include ritardare o eliminare l'aspetto di una malattia o condizione, ritardare o eliminare l'insorgenza di sintomi di una malattia o condizione, rallentare, arrestare o invertire la

progressione di una malattia o condizione, o qualsiasi loro combinazione.

L'espressione "sale farmaceuticamente accettabile" si riferisce a sali derivati da una varietà di controioni organici e inorganici, inclusi controioni di fumarato, maleato, fosfato, L-tartrato, citrato, gentisato, ossalato e solfato. Sali di addizione acida farmaceuticamente accettabili possono essere formati con acidi inorganici e acidi organici.

"Trasportatore farmaceuticamente accettabile" o "eccipiente farmaceuticamente accettabile" è destinata a includere qualsiasi e tutti i solventi, mezzi di dispersione, rivestimenti, agenti antibatterici e antifungini, agenti isotonici e ritardanti l'assorbimento. Ad eccezione della misura in cui un qualsiasi mezzo o agente convenzionale è incompatibile con il principio attivo, il suo uso è contemplato nelle composizioni terapeutiche dell'invenzione. Anche principi attivi supplementari possono essere incorporati nelle composizioni descritte.

Il termine "*in vivo*" si riferisce a un evento che ha luogo nel corpo di un soggetto.

Il termine "*in vitro*" si riferisce a un evento che ha luogo al di fuori del corpo di un soggetto. Saggi *in vitro* comprendono saggi basati su cellule in cui sono impiegate cellule vive o morte e possono anche comprendere un saggio privo di cellule in cui vengono impiegate cellule non intatte.

Il termine "extragranulare" si riferisce a sostanze che si trovano all'esterno di un granulo, ad esempio, una sostanza aggiunta a granuli



(compatti multiparticellari formati mediante un processo di granulazione) e fisicamente miscelata con granuli, ma non contenuta all'interno dei granuli.

Il termine "intragranulare" si riferisce a sostanze che si trovano all'interno di un granulo (un compatto multiparticellare formato mediante un processo di granulazione). I granuli possono essere formati mediante processi come granulazione a umido (ossia, preparati usando umidità o vapore, calore, fusione, congelamento, schiuma e altri processi) o granulazione a secco.

Il termine "acidificante" si riferisce a una sostanza che aumenta l'acidità.

I termini "trasmissione" o "modalità di trasmissione", quando usati unitamente a diffrazione di raggi X su polveri, si riferiscono alla modalità di campionamento in trasmissione (anche nota come Debye-Scherrer). I termini "riflessione" o "modalità di riflessione", quando usati unitamente a diffrazione di raggi X su polveri, si riferiscono alla modalità di campionamento in riflessione (anche nota come Bragg-Brentano).

Salvo altrimenti indicato, le strutture chimiche illustrate nel presente documento sono destinate a includere composti che differiscono soltanto per la presenza di uno o più atomi arricchiti isotopicamente. Per esempio, composti in cui uno o più atomi di idrogeno sono sostituiti da deuterio o trizio, o in cui uno o più atomi di carbonio sono sostituiti da carbonio arricchito di ^{13}C o ^{14}C , rientrano nella portata di questa invenzione.

Quando intervalli sono usati nel presente documento per descrivere, per esempio, proprietà fisiche o chimiche come peso molecolare o formule chimiche, sono intese incluse tutte le combinazioni e sottocombinazioni di intervalli e forme di realizzazione specifiche al loro interno. L'uso del termine "circa" o "approssimativamente", quando si riferisce a un numero o un intervallo numerico, indica che il numero o l'intervallo numerico cui si fa riferimento è un'approssimazione entro la variabilità sperimentale (o entro l'errore sperimentale statistico) e, pertanto, il numero o l'intervallo numerico può variare, per esempio, tra 1% e 15% del numero o dell'intervallo numerico indicato. Il termine "comprendente" (e termini correlati come "comprendere" o "comprende" o "avente" o "includente") include quelle forme di realizzazione come, per esempio, una forma di realizzazione di una qualsiasi composizione di materia, metodo o processo che "è costituito da" o "è costituito essenzialmente da" le caratteristiche descritte.

"Purezza enantiomerica", nell'accezione con cui viene usata nel presente documento, si riferisce alle quantità relative, espresse come percentuale, della presenza di un enantiomero specifico rispetto all'altro enantiomero. Per esempio, se un composto, che può potenzialmente avere una configurazione isomerica (*R*) o (*S*), è presente come miscela racemica, la purezza enantiomerica è circa 50% rispetto all'isomero (*R*) o (*S*). Se quel composto ha una forma isomerica predominante sull'altro, per esempio, 80% isomero (*S*) e 20% isomero (*R*), la purezza



enantiomerica del composto rispetto alla forma isomerica (S) è 80%. La purezza enantiomerica di un composto può essere determinata in numerosi modi, inclusi, ma non limitati a, cromatografia con l'uso di un supporto chirale, misurazione polarimetrica della rotazione di luce polarizzata, spettroscopia di risonanza magnetica nucleare con l'uso di reagenti di spostamento chirale che includono, ma non sono limitati a, complessi chirali contenenti lantanide o reagenti di Pirkle, o derivatizzazione di un composto con l'uso di un composto chirale come l'acido di Mosher seguito da cromatografia o spettroscopia di risonanza magnetica nucleare.

In forme di realizzazione preferite, la composizione enantiomericamente arricchita ha una potenza superiore rispetto all'utilità terapeutica per massa unitaria rispetto alla miscela racemica di quella composizione. Gli enantiomeri possono essere isolati dalle miscele mediante metodi noti ai tecnici del ramo, incluse la cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) chirale e la formazione e cristallizzazione di sali chirali; oppure enantiomeri preferiti possono essere preparati mediante sintesi asimmetriche. Si vedano, per esempio, Jacques, et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Wiley Interscience, New York, 1981; Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, McGraw-Hill, NY, 1962; ed Eliel and Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley-Interscience, New York, 1994.

Le espressioni "enantiomericamente arricchito" e "non



racemico", nell'accezione con cui vengono usate nel presente documento, si riferiscono a composizioni in cui la percentuale in peso di un enantiomero è maggiore della quantità di tale enantiomero in una miscela di controllo della composizione racemica (ad esempio, maggiore di 1:1 in peso). Per esempio, una preparazione enantiomericamente arricchita dell'enantiomero (*S*) indica una preparazione del composto avente più di 50% in peso dell'enantiomero (*S*) rispetto all'enantiomero (*R*), come almeno 75% in peso, o come almeno 80% in peso. In alcune forme di realizzazione, l'arricchimento può essere significativamente maggiore di 80% in peso, fornendo una preparazione "sostanzialmente enantiomericamente arricchita" o "sostanzialmente non racemica", il che si riferisce a preparazioni di composizioni che hanno almeno 85% in peso di un enantiomero rispetto all'altro enantiomero, come almeno 90% in peso, o come almeno 95% in peso. Le espressioni "enantiomericamente pura" o "sostanzialmente enantiomericamente pura" si riferiscono a una composizione che comprende almeno 98% di un singolo enantiomero e meno di 2% dell'enantiomero opposto.

"Porzione funzionale" si riferisce a un segmento specifico o gruppo funzionale di una molecola. Le porzioni funzionali chimiche sono spesso entità chimiche incorporate in o accluse a una molecola.

"Tautomeri" sono isomeri strutturalmente distinti che si interconvertono mediante tautomerizzazione. La "tautomerizzazione" è una forma di isomerizzazione e include la tautomerizzazione

prototropica o a spostamento protonico, che è considerata un sottoinsieme della chimica degli acidi e delle basi. La "tautomerizzazione prototropica" o "tautomerizzazione a spostamento protonico" comporta la migrazione di un protone accompagnata da cambiamenti nell'ordine di legame, spesso dall'interscambio di un legame singolo con un legame doppio adiacente. Laddove è possibile una tautomerizzazione (ad esempio, in soluzione), si può raggiungere un equilibrio chimico dei tautomeri. Un esempio di tautomerizzazione è la tautomerizzazione cheto-enolica. Un esempio specifico di tautomerizzazione cheto-enolica è l'interconversione di tautomeri di pentan-2,4-dione e 4-idrossipent-3-en-2-one. Un altro esempio di tautomerizzazione è la tautomerizzazione fenolo-cheto. La formazione di forme solide in diversi stati di tautomerizzazione è nota come "desmotropia" e tali forme sono note come "desmotropi".

Le composizioni dell'invenzione includono anche solvati e idrati, nonché loro miscele. "Forma cristallina", "forma" e "polimorfa" sono intese includere tutte le forme cristalline del composto, inclusi, per esempio, polimorfi, pseudopolimorfi, solvati, idrati, polimorfi non solvati (inclusi anidrati) e polimorfi conformazionali, nonché loro miscele, salvo si faccia riferimento a una particolare forma cristallina.

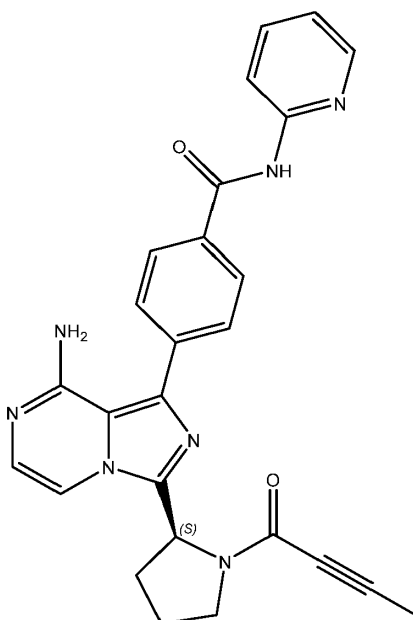
"Solvato" si riferisce a una fase cristallina di un composto in associazione fisica con una o più molecole di un solvente. La fase cristallina di un composto in associazione fisica con una o più molecole di acqua è indicata come "idrato".



"Forma amorfa" si riferisce a una forma di un composto, o un sale o complesso molecolare di un composto, che è priva di un ordine cristallino a lungo raggio.

Forme cristalline

L'(*S*)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide (Formula (1)) ha la seguente struttura chimica:



In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (*S*)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base di (*S*)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X su polveri comprendente picchi a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 e 15,7° 2θ ± 0,2° 2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su

polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K_{α1}. In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide in cui la Forma I cristallina della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X su polveri comprendente picchi a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 e 15,7° 2θ ± 0,2° 2θ, e picchi a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 e 18,2° 2θ ± 0,2° 2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K_{α1}. In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I cristallina I della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide, in cui la Forma I cristallina della base di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è caratterizzata da un pattern di diffrazione di raggi X sostanzialmente conforme al pattern di diffrazione di raggi X mostrato in Figura 1, che può essere misurato usando la modalità in trasmissione o modalità in riflessione, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K_{α1}. In una forma di realizzazione, il pattern di diffrazione di raggi X su polveri di una qualsiasi delle forme di realizzazione precedenti è misurato nella modalità in trasmissione. In una forma di realizzazione, il pattern di



diffrazione di raggi X su polveri di una qualsiasi delle forme di realizzazione precedenti è misurato nella modalità in riflessione.

È noto nell'arte che può essere ottenuto un pattern di diffrazione di raggi X su polveri che ha uno o più errori di misurazione a seconda delle condizioni di misurazione (come attrezzatura, preparazione del campione o strumento usato). In particolare, è noto generalmente che le intensità in un pattern di diffrazione di raggi X su polveri possono variare a seconda delle condizioni di misurazione e della preparazione del campione. Per esempio, i tecnici del ramo della diffrazione di raggi X su polveri realizzeranno che le intensità relative dei picchi possono variare secondo l'orientamento del campione in esame e in base al tipo e alle impostazioni dello strumento usato. Il tecnico del ramo realizzerà anche che la posizione delle riflessioni può essere influenzata dall'altezza precisa alla quale il campione si trova nel diffrattometro, dalla planarità superficiale del campione e dalla calibrazione dello zero del diffrattometro. Pertanto, un tecnico del ramo comprenderà che i dati del pattern di diffrazione presentati nel presente documento non devono essere interpretati come assoluti e che qualsiasi forma cristallina che fornisce un pattern di diffrazione di potenza sostanzialmente uguale a quelle divulgate nel presente documento rientra nella portata della presente divulgazione. Per ulteriori informazioni, si vedano Jenkins and Snyder, Introduction to X-Ray Powder Diffractometry, John Wiley & Sons, 1996.

È anche noto nell'arte che possono essere ottenuti spettri IR e

Raman che possono variare a seconda delle condizioni di misurazione. Lo strumento, la modalità di campionamento (ad esempio, il campionamento IR in riflettanza totale attenuata rispetto al campionamento IR in trasmissione), e la calibrazione dello strumento possono influenzare le posizioni e le intensità dei picchi. Un tecnico del ramo comprenderà che gli spettri presentati nel presente documento non devono essere interpretati come assoluti e che qualsiasi forma cristallina che fornisce uno spettro sostanzialmente uguale a quelli divulgati nel presente documento rientra nella portata della presente divulgazione. Per ulteriori informazioni, si vedano Colthup, et al, Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, III Ed., Academic Press, 1990.

La Forma I cristallina della base di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide fornisce numerosi vantaggi sorprendenti rispetto alla base libera amorfa di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide dell'arte antecedente, inclusa una stabilità chimica migliorata e un'igroscopicità notevolmente ridotta. Rispetto ad altre nuove forme cristalline della base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide divulgate nel presente documento, la Forma I fornisce, inoltre, vantaggi sorprendenti inclusa una stabilità termodinamica migliorata, una velocità di dissoluzione più rapida, prestazioni migliorate nello stomaco e nell'ambiente gastrico (incluso

evitare, o ridurre, la precipitazione dalla soluzione in caso di variazione a pH superiore), un'esposizione migliorata nei mammiferi e una processabilità superiore per la formulazione del farmaco in prodotti finiti idonei a pazienti.

Composizioni farmaceutiche

In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente la Forma I della base libera di Formula (1).

Le composizioni farmaceutiche sono tipicamente formulate per fornire una quantità terapeuticamente efficace di una forma solida dell'inibitore di BTK di Formula (1), come principio attivo, o un relativo sale, estere, profarmaco, solvato, idrato o derivato farmaceuticamente accettabile. Laddove desiderato, le composizioni farmaceutiche contengono un relativo sale farmaceuticamente accettabile, e uno o più eccipienti, trasportatori farmaceuticamente accettabili, inclusi diluenti solidi inerti e cariche, diluenti, potenziatori di permeazione, solubilizzanti o adiuvanti. Le composizioni farmaceutiche possono anche contenere un acidificante, come descritto nel presente documento, per ridurre o superare gli effetti degli agenti di riduzione acidi sull'esposizione dell'inibitore di BTK di Formula (1).

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di Forma I della base libera di Formula (1) fornita nelle composizioni farmaceutiche dell'invenzione è indipendentemente minore di, per esempio, 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%,



15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1%, 0,09%, 0,08%, 0,07%, 0,06%, 0,05%, 0,04%, 0,03%, 0,02%, 0,01%, 0,009%, 0,008%, 0,007%, 0,006%, 0,005%, 0,004%, 0,003%, 0,002% o 0,001% p/p, p/v op v/v, rispetto alla massa o al volume totale della composizione farmaceutica.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione della Forma I della base libera di Formula (1) fornita nelle composizioni farmaceutiche dell'invenzione è indipendentemente maggiore di 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19,75%, 19,50%, 19,25% 19%, 18,75%, 18,50%, 18,25% 18%, 17,75%, 17,50%, 17,25% 17%, 16,75%, 16,50%, 16,25% 16%, 15,75%, 15,50%, 15,25% 15%, 14,75%, 14,50%, 14,25% 14%, 13,75%, 13,50%, 13,25% 13%, 12,75%, 12,50%, 12,25% 12%, 11,75%, 11,50%, 11,25% 11%, 10,75%, 10,50%, 10,25% 10%, 9,75%, 9,50%, 9,25% 9%, 8,75%, 8,50%, 8,25% 8%, 7,75%, 7,50%, 7,25% 7%, 6,75%, 6,50%, 6,25% 6%, 5,75%, 5,50%, 5,25% 5%, 4,75%, 4,50%, 4,25%, 4%, 3,75%, 3,50%, 3,25%, 3%, 2,75%, 2,50%, 2,25%, 2%, 1,75%, 1,50%, 1,25%, 1%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1%, 0,09%, 0,08%, 0,07%, 0,06%, 0,05%, 0,04%, 0,03%, 0,02%, 0,01%, 0,009%, 0,008%, 0,007%, 0,006%, 0,005%, 0,004%, 0,003%, 0,002%, o 0,001% p/p, p/v, o v/v, rispetto alla massa o volume totale della composizione farmaceutica.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di Forma I della base libera di Formula (1) dell'invenzione è indipendentemente nell'intervallo da approssimativamente 0,0001% ad



approssimativamente 50%, approssimativamente da 0,001% ad
approssimativamente 40%, approssimativamente da 0,01% ad
approssimativamente 30%, approssimativamente da 0,02% ad
approssimativamente 29%, approssimativamente 0,03% ad
approssimativamente 28%, approssimativamente 0,04% ad
approssimativamente 27%, approssimativamente 0,05% ad
approssimativamente 26%, approssimativamente 0,06% ad
approssimativamente 25%, approssimativamente 0,07% ad
approssimativamente 24%, approssimativamente 0,08% ad
approssimativamente 23%, approssimativamente 0,09% ad
approssimativamente 22%, approssimativamente 0,1% ad
approssimativamente 21%, approssimativamente da 0,2% ad
approssimativamente 20%, da approssimativamente 0,3% ad
approssimativamente 19%, da approssimativamente 0,4% ad
approssimativamente 18%, da approssimativamente 0,5% ad
approssimativamente 17%, da approssimativamente 0,6% ad
approssimativamente 16%, da approssimativamente 0,7% ad
approssimativamente 15%, da approssimativamente 0,8% ad
approssimativamente 14%, da approssimativamente 0,9% ad
approssimativamente 12% o da approssimativamente 1% ad
approssimativamente 10% p/p, p/v o v/v, rispetto alla massa o volume
totale della composizione farmaceutica.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di Forma I
della base libera di Formula (1) dell'invenzione è indipendentemente

nell'intervallo da approssimativamente 0,001% ad approssimativamente 10%, approssimativamente da 0,01% ad approssimativamente 5%, approssimativamente da 0,02% ad approssimativamente 4,5%, approssimativamente da 0,03% ad approssimativamente 4%, approssimativamente da 0,04% ad approssimativamente 3,5%, approssimativamente 0,05% ad approssimativamente 3%, approssimativamente 0,06% ad approssimativamente 2,5%, approssimativamente 0,07% ad approssimativamente 2%, approssimativamente 0,08% ad approssimativamente 1,5%, approssimativamente 0,09% ad approssimativamente 1%, approssimativamente 0,1% ad approssimativamente 0,9% p/p, p/v, o v/v, rispetto alla massa o volume totale della composizione farmaceutica.

In alcune forme di realizzazione, la quantità di Forma I della base libera di Formula (1) dell'invenzione è indipendentemente uguale o minore di 3,0 g, 2,5 g, 2,0 g, 1,5 g, 1,0 g, 0,95 g, 0,9 g, 0,85 g, 0,8 g, 0,75 g, 0,7 g, 0,65 g, 0,6 g, 0,55 g, 0,5 g, 0,45 g, 0,4 g, 0,35 g, 0,3 g, 0,25 g, 0,2 g, 0,15 g, 0,1 g, 0,09 g, 0,08 g, 0,07 g, 0,06 g, 0,05 g, 0,04 g, 0,03 g, 0,02 g, 0,01 g, 0,009 g, 0,008 g, 0,007 g, 0,006 g, 0,005 g, 0,004 g, 0,003 g, 0,002 g, 0,001 g, 0,0009 g, 0,0008 g, 0,0007 g, 0,0006 g, 0,0005 g, 0,0004 g, 0,0003 g, 0,0002 g o 0,0001 g.

In alcune forme di realizzazione, la quantità di Forma I della base libera di Formula (1) dell'invenzione è indipendentemente maggiore di 0,0001 g, 0,0002 g, 0,0003 g, 0,0004 g, 0,0005 g, 0,0006 g,

0,0007 g, 0,0008 g, 0,0009 g, 0,001 g, 0,0015 g, 0,002 g, 0,0025 g, 0,003 g, 0,0035 g, 0,004 g, 0,0045 g, 0,005 g, 0,0055 g, 0,006 g, 0,0065 g, 0,007 g, 0,0075 g, 0,008 g, 0,0085 g, 0,009 g, 0,0095 g, 0,01 g, 0,015 g, 0,02 g, 0,025 g, 0,03 g, 0,035 g, 0,04 g, 0,045 g, 0,05 g, 0,055 g, 0,06 g, 0,065 g, 0,07 g, 0,075 g, 0,08 g, 0,085 g, 0,09 g, 0,095 g, 0,1 g, 0,15 g, 0,2 g, 0,25 g, 0,3 g, 0,35 g, 0,4 g, 0,45 g, 0,5 g, 0,55 g, 0,6 g, 0,65 g, 0,7 g, 0,75 g, 0,8 g, 0,85 g, 0,9 g, 0,95 g, 1 g, 1,5 g, 2 g, 2,5 o 3 g.

La Forma I della base libera di Formula (1) secondo l'invenzione è efficace su un ampio intervallo di dosaggio. Per esempio, nel trattamento di esseri umani adulti, i dosaggi variano indipendentemente da 0,01 a 1000 mg, da 0,5 a 100 mg, da 1 a 50 mg al dì, da 2 a 40 mg al dì, e da 5 a 25 mg al dì sono esempi di dosaggi che possono essere usati. Il dosaggio esatto dipenderà dalla via di somministrazione, dalla forma in cui il composto viene somministrato, dal genere e dall'età del soggetto da trattare, dal peso corporeo del soggetto da trattare e dalla preferenza e dall'esperienza del medico curante.

In forme di realizzazione selezionate, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica per la somministrazione orale contenente la Forma I della base libera di Formula (1) e un eccipiente farmaceutico idoneo alla somministrazione orale.

In forme di realizzazione selezionate, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica solida per la somministrazione orale



contenente: (i) una quantità efficace della Forma I della base libera di Formula (1) e (ii) un eccipiente farmaceutico idoneo alla somministrazione orale. In forme di realizzazione selezionate, la composizione contiene, inoltre, (iii) una quantità efficace di un altro principio farmaceutico attivo.

In forme di realizzazione selezionate, la composizione farmaceutica può essere una composizione farmaceutica liquida idonea al consumo orale. Composizioni farmaceutiche dell'invenzione idonee alla somministrazione orale possono essere presentate come forme farmaceutiche discrete, come capsule, bustine o compresse, o liquidi o spray aerosol, ciascuna contenente una quantità predeterminata di un principio attivo come polvere o in granuli, una soluzione o una sospensione in un liquido acquoso o non acquoso, un'emulsione olio in acqua o un'emulsione acqua in olio. Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione includono anche polvere per ricostituzione, polveri per il consumo orale, flaconi (come polvere o liquido in flacone), film a dissoluzione per via orale, pastiglie da sciogliere in bocca, paste, tubetti, gomme e pacchi. Tali forme farmaceutiche possono essere preparate mediante uno qualsiasi dei metodi della farmacia, ma tutti i metodi includono la fase di portare l'uno o più principi attivi in associazione con il trasportatore, che costituisce uno o più ingredienti necessari. In generale, le composizioni vengono preparate miscelando uniformemente e intimamente l'uno o più principi attivi con trasportatori liquidi o trasportatori solidi finemente suddivisi o entrambi, e poi, se

necessario, modellando il prodotto nella presentazione desiderata. Per esempio, una compressa può essere preparata mediante compressione o stampaggio, facoltativamente con uno o più ingredienti accessori. Le compresse sottoposte a compressione possono essere preparate comprimendo in una macchina idonea il principio attivo in una forma a flusso libero, come polvere o granuli, facoltativamente miscelata con un eccipiente come, ma non limitato a, un legante, un lubrificante, un diluente inerte e/o un agente tensioattivo o di dispersione. Le compresse stampate possono essere realizzate stampando in una macchina idonea una miscela del composto in polvere umidificato con un diluente liquido inerte.



L'invenzione comprende, inoltre, composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche anidre poiché l'acqua può facilitare la degradazione di alcuni composti. Per esempio, acqua (ad esempio, 5%) può essere aggiunta nelle arti farmaceutiche come mezzo per simulare la conservazione a lungo termine al fine di determinare caratteristiche come il periodo di validità o la stabilità delle formulazioni nel tempo. Le composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche anidre dell'invenzione possono essere preparate usando ingredienti anidri o contenenti basse tracce d'acqua e condizioni di basse tracce d'acqua o bassa umidità. Le composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche dell'invenzione che contengono lattosio possono essere rese anidre se è previsto il contatto sostanziale con tracce d'acqua e/o umidità durante la produzione, il confezionamento e/o la conservazione. Una



composizione farmaceutica anidra può essere preparata e conservata in modo tale che la sua natura anidra sia mantenuta. Di conseguenza, composizioni anidre possono essere preferibilmente confezionate usando materiali noti impedire l'esposizione all'acqua in modo da poter essere incluse in kit di formulario idonei. Esempi di confezionamento idoneo includono, ma non sono limitati a, pellicole ermeticamente sigillate, plastica o simili, contenitori di dose unitaria, pacchi di blister e pacchi di strisce.

Ciascuna delle forme solide dell'inibitore di BTK di Formula (1) può essere combinata in una miscela intima con un trasportatore farmaceutico secondo tecniche di compounding farmaceutico convenzionali. Il trasportatore può assumere un'ampia varietà di forme a seconda della forma di preparazione desiderata per la somministrazione. Nella preparazione delle composizioni per una forma farmaceutica orale, come trasportatore può essere impiegato uno qualsiasi dei mezzi farmaceutici abituali, come, per esempio, acqua, glicoli, oli, alcoli, agenti aromatizzanti, conservanti, agenti coloranti, e simili nel caso di preparazioni liquide orali (come sospensioni, soluzioni ed elisir) o aerosol; o trasportatori come amidi, zuccheri, cellulosa microcristallina, diluenti, agenti di granulazione, lubrificanti, glidanti, leganti, e agenti disintegranti possono essere usati nel caso di preparazioni solide orali, in alcune forme di realizzazione senza impiegare l'uso di lattosio. Per esempio, trasportatori idonei includono polveri, capsule e compresse, con le preparazioni orali solide. Se

desiderato, le compresse possono essere rivestite mediante tecniche acquose o non acquose standard.

Leganti idonei all'uso in composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche includono, ma non sono limitati a, amido di mais, amido di patata, o altri amidi, gelatina, gomme naturali e sintetiche, come acacia, alginato di sodio, acido alginico, altri alginati, gomma adragante in polvere, gomma di guar, cellulosa e suoi derivati (ad esempio, etilcellulosa, acetato di cellulosa, carbossimetilcellulosa calcio, sodio carbossimetilcellulosa), polivinilpirrolidone, metilcellulosa, amido pre-gelatinizzato, idrossipropilmetilcellulosa, cellulosa microcristallina e relative miscele.

Esempi di cariche idonee all'uso nelle composizioni farmaceutiche e nelle forme farmaceutiche divulgate nel presente documento includono, ma non sono limitati a, talco, carbonato di calcio (ad esempio, granuli o polvere), cellulosa microcristallina, cellulosa in polvere, destrati, caolino, mannitolo, acido silicico, sorbitolo, amido, amido pre-gelatinizzato e relative miscele.

Disintegranti possono essere usati nelle composizioni dell'invenzione per fornire compresse che si disintegrano quando esposte a un ambiente acquoso. Disintegrante in eccesso può produrre compresse che si disintegrano nel flacone. In difetto può essere insufficiente affinché avvenga la disintegrazione, alterando pertanto la velocità e l'entità del rilascio dei principi attivi dalla forma farmaceutica. Pertanto, una quantità sufficiente di disintegrante che non è né troppo



bassa né troppo alta da alterare in modo dannoso il rilascio dell'uno o più principi attivi può essere usata per formare le forme farmaceutiche dei composti divulgati nel presente documento. La quantità di disintegrante usata può variare in base al tipo di formulazione e alla modalità di somministrazione, e può essere facilmente distinguibile dai tecnici del ramo di ordinaria competenza. Da circa 0,5 a circa 15 per cento in peso di disintegrante, o da circa 1 a circa 5 per cento in peso di disintegrante, possono essere usati nella composizione farmaceutica. Disintegranti che possono essere usati per formare composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche dell'invenzione includono, ma non sono limitati a, agar-agar, acido alginico, carbonato di calcio, cellulosa microcristallina, croscarmellosa sodica, crospovidone, polacrilin potassio, sodio amido glicolato, amido di patata o amido di tapioca, altri amidi, amido pre-gelatinizzato, altri amidi, argille, altre aline, altre cellulose, gomme o relative miscele.

Lubrificanti che possono essere usati per formare composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche dell'invenzione includono, ma non sono limitati a, stearato di calcio, stearato di magnesio, olio minerale, olio minerale leggero, glicerina, sorbitolo, mannitolo, glicole polietilenico, altri glicoli, sodio lauril fumarato, sodio lauril solfato, talco, olio vegetale idrogenato (ad esempio, olio di arachidi, olio di semi di cotone, olio di girasole, olio di sesamo, olio di oliva, olio di mais e olio di soia), stearato di zinco, etil oleato, etilaureato, agar, o loro miscele. Lubrificanti aggiuntivi includono, per esempio, un gel di silice siloide, un aerosol

coagulato di silice sintetica, cellulosa microcristallina silificata, o relative miscele. Un lubrificante può essere facoltativamente aggiunto in una quantità minore di circa 1 per cento in peso della composizione farmaceutica.

Quando si desiderano sospensioni acquose e/o elisir per la somministrazione orale, il principio attivo essenziale può essere combinato con vari agenti dolcificanti o aromatizzanti, sostanza colorante o coloranti, e, se così desiderato, agenti emulsionanti o agenti di sospensione, insieme a tali diluenti come acqua, etanolo, propilenglicole, glicerina e varie loro combinazioni simili.

Le compresse possono essere non rivestite o rivestite mediante tecniche note ritardare la disintegrazione e l'assorbimento nel tratto gastrointestinale e fornire in tal modo un'azione prolungata per un periodo più lungo. Ad esempio può essere impiegato un materiale a ritardo temporale come gliceril monostearato o gliceril distearato. Formulazioni per l'uso orale possono anche essere presentate come capsule di gelatina dura, in cui il principio attivo è miscelato con un diluente solido inerte, ad esempio, carbonato di calcio, fosfato di calcio o caolino, o come capsule di gelatina morbida in cui il principio attivo è miscelato con acqua o un mezzo oleoso, ad esempio olio di arachidi, paraffina liquida od olio di oliva.

Tensioattivi che possono essere usati per formare composizioni farmaceutiche e forme farmaceutiche dell'invenzione includono, ma non sono limitati a, tensioattivi idrofili, tensioattivi lipofili e relative miscele. In

altri termini, può essere impiegata una miscela di tensioattivi idrofili, può essere impiegata una miscela di tensioattivi lipofili o può essere impiegata una miscela di almeno un tensioattivo idrofilo e almeno un tensioattivo lipofilo.

Un parametro empirico usato per caratterizzare l'idrofilia relativa e l'idrofobicità di composti anfifilici non ionici è il bilancio idrofilo-lipofilo (valore di "HLB"). Un tensioattivo idrofilo idoneo può generalmente avere un valore di HLB di almeno 10, mentre tensioattivi lipofili idonei possono generalmente avere un valore di HLB uguale o minore di circa 10, Tensioattivi con valori di HLB minori sono più lipofili o idrofobi e hanno una maggiore solubilità in oli, mentre tensioattivi con valori di HLB maggiori sono più idrofili e hanno maggiore solubilità in soluzioni acquose. Sono generalmente considerati tensioattivi idrofili quei composti aventi un valore di HLB maggiore di circa 10, nonché composti anionici, cationici o zwitterionici per i quali la scala HLB non è generalmente applicabile. Analogamente, tensioattivi lipofili (ossia, idrofobi) sono composti aventi un valore di HLB uguale o minore di circa 10, Tuttavia, il valore di HLB di un tensioattivo è semplicemente un mero indicatore usato generalmente per consentire la formulazione di emulsioni industriali, farmaceutiche e cosmetiche.

Tensioattivi idrofili possono essere ionici o non ionici. Tensioattivi ionici idonei includono, ma non sono limitati a, sali di alchilammonio; sali di acido fusidico; derivati di acidi grassi di amminoacidi, oligopeptidi e polipeptidi; derivati di gliceridi di



amminoacidi, oligopeptidi e polipeptidi; lecitine e lecitine idrogenate; lisolecitine e lisolecitine idrogenate; fosfolipidi e relativi derivati; lisofosfolipidi e relativi derivati; sali di esteri di acidi grassi di carnitina; sali di alchilsolfati; sali di acidi grassi; sodio docusato; acilattilati; esteri di acido tartarico mono- e di-acetilati di mono- e di-gliceridi; mono- e di-gliceridi succinilati; esteri di acido citrico di mono- e di-gliceridi; e relative miscele.

All'interno del gruppo summenzionato, i tensioattivi ionici includono, a titolo di esempio: lecitine, lisolecitina, fosfolipidi, lisofosfolipidi e loro derivati; sali di estere di acido grasso di carnitina; sali di alchilsolfati; sali di acidi grassi; sodio docusato; acilattilati; esteri di acido tartarico mono- e di-acetilati di mono- e di-gliceridi; mono- e di-gliceridi succinilati; esteri di acido citrico di mono- e di-gliceridi; e relative miscele.

Tensioattivi ionici possono essere le forme ionizzate di lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerolo, acido fosfatidico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerolo, acido lisofosfatidico, lisofosfatidilserina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, esteri lattilici di acidi grassi, stearoil -2-lattilato, stearoil lattilato, monogliceridi succinilati, esteri di acido tartarico mono/diacetilato di mono/digliceridi, esteri di acido citrico di mono/digliceridi, colilsarcosina, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, stearato,



lauroil solfato, tetracetil solfato, docusato, lauroil carnitine, palmitoil carnitine, miristoil carnitine e sali e relative miscele.

Tensioattivi non ionici idrofili possono includere, ma non sono limitati a, alchilglucosidi; alchilmaltosidi; alchiltiogluosidi; lauril macrogolgliceridi; polioossilchilene alchileteri, come alchileteri di glicole polietilenico; polioossilchilene alchilfenoli, come alchilfenoli di glicole polietilenico; esteri di acidi grassi di polioossilchilene alchilfenolo, come monoesteri di acidi grassi di glicole polietilenico e diesteri di acidi grassi di glicole polietilenico; esteri di acidi grassi di glicerolo di glicole polietilenico; esteri di acidi grassi di poliglicerolo; esteri di acidi grassi di polioossilchilene sorbitano, come esteri di acidi grassi di glicole polietilenico sorbitano; prodotti di transesterificazione idrofili di un poliolo con almeno un membro del gruppo costituito da gliceridi, oli vegetali, oli vegetali idrogenati, acidi grassi e steroli; steroli di poliossietilene, loro derivati e analoghi; vitamine poliossietilate e loro derivati; copolimeri a blocchi di poliossietilene-polioSSIPilene; e loro miscele; esteri di acidi grassi di glicole polietilenico sorbitano e prodotti di transesterificazione idrofili di un poliolo con almeno un membro del gruppo costituito da trigliceridi, oli vegetali e oli vegetali idrogenati. Il poliolo può essere glicerolo, etilenglicole, glicole polietilenico, sorbitolo, propilenglicole, pentaeritritolo o un saccaride.

Altri tensioattivi idrofili non ionici includono, senza limitazione, PEG-10 laurato, PEG-12 laurato, PEG-20 laurato, PEG-32 laurato, PEG-32 dilaurato, PEG-12 oleato, PEG-15 oleato, PEG-20 oleato,



PEG-20 dioleato, PEG-32 oleato, PEG-200 oleato, PEG-400 oleato, PEG-15 stearato, PEG-32 distearato, PEG-40 stearato, PEG-100 stearato, PEG-20 dilaurato, PEG-25 gliceril trioleato, PEG-32 dioleato, PEG-20 gliceril laurato, PEG-30 gliceril laurato, PEG-20 gliceril stearato, PEG-20 gliceril oleate, PEG-30 gliceril oleate, PEG-30 gliceril laurato, PEG-40 gliceril laurato, PEG-40 olio di palmisti, PEG-50 olio di ricino idrogenato, PEG-40 olio di ricino, PEG-35 olio di ricino, PEG-60 olio di ricino, PEG-40 olio di ricino idrogenato, PEG-60 olio di ricino idrogenato, PEG-60 olio di mais, PEG-6 caprato/caprilato gliceridi, PEG-8 caprato/caprilato gliceridi, poligliceril-10 laurato, PEG-30 colesterolo, PEG-25 fitosterolo, PEG-30 steroli di soia, PEG-20 trioleato, PEG-40 sorbitano oleato, PEG-80 sorbitano laurato, polisorbato 20, polisorbato 80, POE-9 laurilettere, POE-23 laurilettere, POE-10 oleilettere, POE-20 oleilettere, POE-20 stearilettere, tocoferil PEG-100 succinato, PEG-24 colesterolo, poligliceril-10-oleato, Tween 40, Tween 60, saccarosio monostearato, saccarosio monolaurato, saccarosio monopalmitato, serie di PEG 10-100 nonilfenolo, serie di PEG 15-100 ottilfenolo e polossameri.

Tensioattivi idonei includono, a titolo puramente esemplificativo: alcoli grassi, esteri di acidi grassi di glicerolo, esteri di acidi grassi di glicerolo acetilati, esteri di acidi grassi di alcoli inferiori, esteri di acidi grassi di glicole polietilenico, esteri di acidi grassi di sorbitano, esteri di acidi grassi di glicole polietilenico sorbitano, steroli e derivati di steroli, alchileteri di glicole polietilenico, esteri di zuccheri, eteri di zuccheri

derivati di acido lattico di mono- e digliceridi e prodotti di transesterificazione idrofobi di un poliolo con almeno un membro del gruppo costituito da gliceridi, oli vegetali, oli vegetali idrogenati, acidi grassi e steroli, vitamine/derivati di vitamine oleosolubili e loro miscele. All'interno di questo gruppo, tensioattivi lipofili preferiti includono esteri di acidi grassi di glicerolo, esteri di acidi grassi di propilenglicole e loro miscele, o sono prodotti di transesterificazione idrofoba di un poliolo con almeno un membro del gruppo costituito da oli vegetali, oli vegetali idrogenati e trigliceridi.

In una forma di realizzazione, la composizione può includere un solubilizzante per garantire una buona solubilizzazione e/o dissoluzione del composto della presente invenzione e ridurre al minimo la precipitazione del composto della presente invenzione. Questo può essere particolarmente importante per composizioni per l'uso non orale - ad esempio, composizioni per iniezione. Può essere aggiunto anche un solubilizzante per aumentare la solubilità del farmaco idrofilo e/o di altri componenti, come tensioattivi, o per mantenere la composizione come una soluzione o dispersione stabile o omogenea.

Esempi di solubilizzanti idonei includono, ma non sono limitati a, i seguenti: alcoli e polioli, come etanolo, isopropanolo, butanolo, alcol benzilico, etilenglicole, propilenglicole, butandioli e loro isomeri, glicerolo, pentaeritritolo, sorbitolo, mannitolo, xilitolo, transcutolo, dimetil isosorbide, glicole polietilenico, propilenglicole, alcol polivinilico, idrossipropilmetilcellulosa, e altri derivati di cellulosa, ciclodestrine e



derivati di ciclodestrina; eteri di glicoli polietilenici aventi un peso molecolare medio da circa 200 a circa 6000, come alcol tetraidrofurfurilico PEG etere (glicofurolo) o metossi PEG; ammidi e altri composti contenenti azoto, come 2-pirrolidone, 2-piperidone, ϵ -caprolattame, *N*-alchilpirrolidone, *N*-idrossialchilpirrolidone, *N*-alchilpiperidone, *N*-alchilcaprolattame, dimetilacetammide e polivinilpirrolidone; esteri come etilpropionato, tributilcitrato, acetil trietilcitrato, acetil tributil citrato, trietilcitrato, etil oleato, etil caprilato, etil butirrato, triacetina, propilenglicole monoacetato, propilenglicole diacetato. epsilon-caprolattone e suoi isomeri, δ -valerolattone e suoi isomeri, β -butirrolattone e suoi isomeri; e altri solubilizzanti noti nell'arte, come dimetil acetammide, dimetil isosorbide, *N*-metil pirrolidoni, monoottanoina, dietilenglicole monoetiletere e acqua.

Possono essere usate anche miscele di solubilizzanti. Esempi includono, ma non sono limitati a, triacetina, trietilcitrato, etil oleato, etil caprilato, dimetilacetammide, *N*-metilpirrolidone, *N*-idrossietilpirrolidone, polivinilpirrolidone, idrossipropilmetilcellulosa, idrossipropil ciclodestrine, etanolo, glicole polietilenico 200-100, glicofurolo, transcutolo, propilenglicole e dimetil isosorbide. Solubilizzanti particolarmente preferiti includono sorbitolo, glicerolo, triacetina, alcol etilico, PEG-400, glicofurolo e propilenglicole.

La quantità di solubilizzante che può essere inclusa non è particolarmente limitata. La quantità di un dato solubilizzante può essere limitata a una quantità biologicamente accettabile, che può



essere facilmente determinata da un tecnico del ramo. In alcune circostanze, può essere vantaggioso includere quantità di solubilizzanti ben superiori a quantità biologicamente accettabili, per esempio, per massimizzare la concentrazione del farmaco, il solubilizzante in eccesso venendo rimosso prima di fornire la composizione a un paziente usando tecniche convenzionali, come distillazione o evaporazione. Pertanto, se presente, il solubilizzante può essere in un rapporto in peso di 10%, 25%, 50%, 100%, o fino a circa 200% in peso, in base al peso combinato del farmaco, e altri eccipienti. Se desiderato, possono essere usate anche quantità molto piccole di solubilizzante, come 5%, 2%, 1% o anche meno. Tipicamente, il solubilizzante può essere presente in una quantità da circa 1% a circa 100%, più tipicamente da circa 5% a circa 25% in peso.

La composizione può includere, inoltre, uno o più additivi ed eccipienti farmaceuticamente accettabili. Tali additivi ed eccipienti includono, senza limitazione, deadesivanti, agenti antischiuma, agenti tamponanti, polimeri, antiossidanti, conservanti, agenti chelanti, viscomodulatori, tonici, aromatizzanti, coloranti, odoranti, opacizzanti, agenti di sospensione, leganti, cariche, plastificanti, lubrificanti e loro miscele.

In aggiunta, nella composizione farmaceutica può essere incorporato/a un acido o una base per facilitare la lavorazione, per potenziare la stabilità o per altri motivi. Esempi di basi farmaceuticamente accettabili includono amminoacidi, esteri



amminoacidici, idrossido di ammonio, idrossido di potassio, idrossido di sodio, idrogenocarbonato di sodio, idrossido di alluminio, carbonato di calcio, idrossido di magnesio, silicato di magnesio alluminio, silicato di alluminio sintetico, idrocalcite sintetica, idrossido di magnesio alluminio, diisopropiletilammina, etanolammina, etilendiammina, trietanolammina, trietilammina, triisopropanolammina, trimetilammina, tris(idrossimetil) amminometano (TRIS) e simili. Sono idonee anche basi che sono sali di un acido farmaceuticamente accettabile, come acido acetico, acido acrilico, acido adipico, acido alginico, acido alcansolfonico, amminoacidi, acido ascorbico, acido benzoico, acido borico, acido butirrico, acido carbonico, acido citrico, acidi grassi, acido formico, acido fumarico, acido gluconico, acido idrochinosolfonico, acido isoascorbico, acido lattico, acido maleico, acido ossalico, acido para-bromofenilsolfonico, acido propionico, acido p-toluensolfonico, acido salicilico, acido stearico, acido succinico, acido tannico, acido tartarico, acido tioglicolico, acido toluensolfonico, acido urico e simili. Possono essere usati sali di acidi poliprotici, come fosfato di sodio, idrogenofosfato di disodio e diidrogenofosfato di sodio. Quando la base è un sale, il catione può essere un qualsiasi catione conveniente e farmaceuticamente accettabile, come ammonio, metalli alcalini e metalli alcalino-terrosi. Un esempio può includere, ma non è limitato a, sodio, potassio, litio, magnesio, calcio e ammonio.

Acidi idonei sono acidi organici o inorganici farmaceuticamente accettabili. Esempi di acidi inorganici idonei includono acido cloridrico,



acido bromidrico, acido iodidrico, acido solforico, acido nitrico, acido borico, acido fosforico e simili. Esempi di acidi organici idonei includono acido acetico, acido acrilico, acido adipico, acido alginico, acidi alcansolfonici, amminoacidi, acido ascorbico, acido benzoico, acido borico, acido butirrico, acido carbonico, acido citrico, acidi grassi, acido formico, acido fumarico, acido gluconico, acido idrochinosolfonico, acido isoascorbico, acido lattico, acido maleico, acido metansolfonico, acido ossalico, acido *para*-bromofenilsolfonico, acido propionico, acido *p*-toluensolfonico, acido salicilico, acido stearico, acido succinico, acido tannico, acido tartarico, acido tioglicolico, acido toluensolfonico e acido urico.

Dosaggi e regimi posologici

Le quantità della Forma I della base libera di Formula (1) somministrate dipenderanno dal mammifero che viene trattato, dalla gravità della patologia o condizione, dalla frequenza di somministrazione, dalla disposizione dei composti e dalla scelta del medico prescrivente. Tuttavia, un dosaggio efficace è nell'intervallo da circa 0,001 a circa 100 mg per kg di peso corporeo al giorno, come da circa 1 a circa 35 mg/kg/giorno in dosi singole o suddivise. Per un essere umano di 70 kg, questo potrebbe equivalere a circa 0,05-7 g/giorno, come da circa 0,05 a circa 2,5 g/giorno. In alcuni casi, livelli di dosaggio al di sotto del limite inferiore dell'intervallo summenzionato possono essere più che adeguati, mentre negli altri casi possono essere impiegate dosi anche maggiori senza causare alcun effetto



collaterale dannoso, per esempio suddividendo in varie piccole dosi per la somministrazione in tutto il giorno.

In forme di realizzazione selezionate, la Forma I della base libera di Formula (1) è somministrata in una dose singola. Tipicamente, tale somministrazione sarà mediante iniezione, per esempio, mediante iniezione endovenosa, al fine di introdurre rapidamente i principi farmaceutici attivi. Tuttavia, altre vie possono essere usate come appropriato. Una dose singola della Forma I della base libera di Formula (1) può anche essere usata per il trattamento di una condizione acuta.

In forme di realizzazione selezionate, la Forma I della base libera di Formula (1) è somministrata in dosi multiple. Il dosaggio può essere circa una volta, due volte, tre volte, quattro volte, cinque volte, sei volte o più di sei volte al giorno. Il dosaggio può essere circa una volta al mese, una volta ogni due settimane, una volta alla settimana o una volta ogni due giorni. In altre forme di realizzazione, la Forma I della base libera di Formula (1) viene somministrata circa da una volta al giorno a circa 6 volte al giorno. In un'altra forma di realizzazione, la somministrazione della Forma I della base libera di Formula (1) continua per meno di circa 7 giorni. In ancora un'altra forma di realizzazione, la somministrazione continua per più di circa 6, 10, 14, 28 giorni, due mesi, sei mesi o un anno. In alcuni casi, il dosaggio continuo viene ottenuto e mantenuto finché necessario.

La somministrazione dei principi farmaceutici attivi



dell'invenzione può continuare finché necessario. In forme di realizzazione selezionate, la Forma I della base libera di Formula (1) è somministrata per più di 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 o 28 giorni. In alcune forme di realizzazione, la Forma I della base libera di Formula (1) è somministrata per meno di 28, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1 giorno. In forme di realizzazione selezionate, la Forma I della base libera di Formula (1) viene somministrata cronicamente su base continua - ad esempio, per il trattamento di effetti cronici.

In alcune forme di realizzazione, un dosaggio efficace di Forma I della base libera di Formula (1) è nell'intervallo da circa 1 mg a circa 500 mg, da circa 10 mg a circa 300 mg, da circa 20 mg a circa 250 mg, da circa 25 mg a circa 200 mg, da circa 10 mg a circa 200 mg, da circa 20 mg a circa 150 mg, da circa 30 mg a circa 120 mg, da circa 10 mg a circa 90 mg, da circa 20 mg a circa 80 mg, da circa 30 mg a circa 70 mg, da circa 40 mg a circa 60 mg, da circa 45 mg a circa 55 mg, da circa 48 mg a circa 52 mg, da circa 50 mg a circa 150 mg, da circa 60 mg a circa 140 mg, da circa 70 mg a circa 130 mg, da circa 80 mg a circa 120 mg, da circa 90 mg a circa 110 mg, da circa 95 mg a circa 105 mg, da circa 150 mg a circa 250 mg, da circa 160 mg a circa 240 mg, da circa 170 mg a circa 230 mg, da circa 180 mg a circa 220 mg, da circa 190 mg a circa 210 mg, da circa 195 mg a circa 205 mg, or da circa 198 a circa 202 mg. In alcune forme di realizzazione, un dosaggio efficace di Forma I della base libera di Formula (1) è da circa 25 mg, da circa 50 mg, da circa 75 mg, da circa 100 mg, da circa 125 mg, da circa



150 mg, da circa 175 mg, da circa 200 mg, da circa 225 mg, da circa 250 mg, da circa 275 mg, da circa 300 mg, da circa 325 mg, da circa 350 mg, da circa 375 mg, da circa 400 mg, da circa 425 mg, da circa 450 mg, da circa 475 mg, or da circa 500 mg. In alcune forme di realizzazione, un dosaggio efficace di Forma I della base libera di Formula (1) è 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg o 500 mg.

In alcune forme di realizzazione, un dosaggio efficace di Forma I della base libera di Formula (1) è nell'intervallo da circa 0,01 mg/kg a circa 4,3 mg/kg, da circa 0,15 mg/kg a circa 3,6 mg/kg, da circa 0,3 mg/kg a circa 3,2 mg/kg, circa 0,35 mg/kg a circa 2,85 mg/kg, da circa 0,15 mg/kg a circa 2,85 mg/kg, da circa 0,3 mg a circa 2,15 mg/kg, da circa 0,45 mg/kg a circa 1,7 mg/kg, da circa 0,15 mg/kg a circa 1,3 mg/kg, da circa 0,3 mg/kg a circa 1,15 mg/kg, da circa 0,45 mg/kg a circa 1 mg/kg, da circa 0,55 mg/kg a circa 0,85 mg/kg, da circa 0,65 mg/kg a circa 0,8 mg/kg, da circa 0,7 mg/kg a circa 0,75 mg/kg, da circa 0,7 mg/kg a circa 2,15 mg/kg, da circa 0,85 mg/kg a circa 2 mg/kg, da circa 1 mg/kg a circa 1,85 mg/kg, da circa 1,15 mg/kg a circa 1,7 mg/kg, da circa 1,3 mg/kg mg a circa 1,6 mg/kg, da circa 1,35 mg/kg a circa 1,5 mg/kg, da circa 2,15 mg/kg a circa 3,6 mg/kg, da circa 2,3 mg/kg a circa 3,4 mg/kg, da circa 2,4 mg/kg a circa 3,3 mg/kg, da circa 2,6 mg/kg a circa da 3,15 mg/kg, da circa 2,7 mg/kg a circa 3 mg/kg, da circa 2,8 mg/kg a circa 3 mg/kg, o da circa 2,85 mg/kg a circa 2,95

mg/kg. In alcune forme di realizzazione, un dosaggio efficace di Forma I della base libera di Formula (1) è circa 0,35 mg/kg, circa 0,7 mg/kg, circa 1 mg/kg, circa 1,4 mg/kg, circa 1,8 mg/kg, circa 2,1 mg/kg, 2,5 mg/kg, circa 2,85 mg/kg, circa 3,2 mg/kg o circa 3,6 mg/kg.

In alcune forme di realizzazione, la Forma I della base libera di Formula (1) viene somministrata a un dosaggio da 10 a 400 mg una volta al giorno (QD), incluso un dosaggio di 5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg e 500 mg una volta al giorno (QD).

In alcune forme di realizzazione, la Forma I della base libera di Formula (1) viene somministrata a un dosaggio da 10 a 400 mg BID, incluso un dosaggio di 5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg e 500 mg BID.

In alcune forme di realizzazione, la Forma I della base libera di Formula (1) viene somministrata a un dosaggio da 10 a 400 mg TID, incluso un dosaggio di 5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg e 500 mg TID.

Una quantità efficace della Forma I della base libera di Formula (1) può essere somministrata in dosi singole o multiple mediante una



qualsiasi delle modalità di somministrazione accettate di principi farmaceutici attivi aventi utilità simili, incluse le vie rettale, buccale, intranasale e transdermica, mediante iniezione intra-arteriosa, per via endovenosa, intraperitoneale, parenterale, intramuscolare, sottocutanea, orale, topica o come inalante.

Composizioni farmaceutiche per l'uso nel superamento degli effetti di agenti acido-riducenti

Le composizioni descritte nel presente documento possono essere usate per superare gli effetti di agenti acido-riducenti. Gli agenti acido-riducenti possono limitare ampiamente l'esposizione di farmaci debolmente acidi (come la base libera di Formula (1)) nei mammiferi. Smelick, et al, Mol. Pharmaceutics 2013,10, 4055-4062. Agenti acido-riducenti includono inibitori della pompa protonica, come omeprazolo, esomeprazolo, lansoprazolo, dexlansoprazolo, pantoprazolo, rabeprazolo e ilaprazolo; antagonisti dei recettori H₂, come cimetidina, ranitidina e famotidina; e antiacidi come bicarbonati, carbonati e idrossidi di alluminio, calcio, magnesio, potassio e sodio, nonché miscele di antiacidi con agenti che bersagliano i meccanismi di secrezione gastrica. Il superamento degli effetti degli agenti acido-riducenti è un problema significativo nel trattamento di pazienti con cancro, malattie infiammatorie, malattie immunitarie e malattie autoimmuni, poiché a questi pazienti vengono comunemente co-somministrati agenti acido-riducenti per l'irritazione gastrica che spesso accompagna le loro condizioni. Gli agenti acido-riducenti sono i



medicinali più comunemente prescritti nel Nord America e nell'Europa occidentale. Gli agenti terapeutici per il cancro orale approvati più recentemente hanno una solubilità dipendente dal pH e, pertanto, una potenziale interazione farmaco-farmaco rispetto agli agenti acido-riducenti. Nei pazienti oncologici si stima che il 20-33% di tutti i pazienti usi una certa forma di agente acido-riducente. In cancri particolari, come cancro pancreatico o cancri gastrointestinali, l'uso dell'agente acido-riducente è pari al 60-80% dei pazienti. Smelick, et al, Mol. Pharmaceutics 2013,10, 4055-4062.

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido tartarico, acido ascorbico, acido alginico, alginato di sodio, alginato di potassio e Carbopol 971P (carbossipolimetilene). In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF), Carbomer 941 (acido poliacrilico), e Carbopol 971P (carbossipolimetilene). In una forma di realizzazione, l'acidificante è



extragranulare. In una forma di realizzazione, l'acidificante è intragranulare.

L'acido alginico è un copolimero polisaccaride di acido β -D-mannuronico (M) e acido α -L-guluronico (G) collegati da 1-4 legami glicosidici. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante che è un acido alginico o relativo sale, in cui l'acido alginico o relativo sale presenta un rapporto M/G selezionato dal gruppo costituito da tra 0,1 e 0,5, tra 0,2 e 0,6, tra 0,3 e 0,7, tra 0,4 e 0,8, tra 0,5 e 0,9, tra 0,6 e 1,0, tra 0,7 e 1,1, tra 0,8 e 1,2, tra 0,9 e 1,3, tra 1,0 e 1,4, tra 1,1 e 1,5, tra 1,2 e 1,6, tra 1,3 e 1,7, tra 1,4 e 1,8, tra 1,5 e 1,9, tra 1,6 e 2,0, tra 1,7 e 2,1, tra 1,8 e 2,2, tra 1,9 e 2,3, tra 2,0 e 2,4 e tra 2,1 e 2,5. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante che è un acido alginico o relativo sale, in cui l'acido alginico o relativo sale presenta un rapporto M/G selezionato dal gruppo costituito da meno di 0,5, meno di 1,0, meno di 1,5, meno di 2,0 e meno di 2,5. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante che è un acido alginico o relativo sale, in cui l'acido alginico o relativo sale presenta un rapporto M/G selezionato dal gruppo costituito da più di 0,5, più di 1,0, più di 1,5, più di 2,0 e più di 2,5. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante

che è un acido alginico o relativo sale, in cui l'acido alginico o relativo sale presenta un rapporto M/G selezionato dal gruppo costituito da 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4 e 2,5. Il rapporto M/G, nonché la frazione di gruppi M e G, le frazioni di "diadi" di MM e GG, le frazioni di "triadi" (ad esempio, MGG), e le frazioni di sequenze maggiori di gruppi M e G, possono essere determinati mediante metodi noti ai tecnici del ramo, inclusa la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR) (con o senza digestione) e la spettrometria di massa. Larsen, et al, Carbohydr. Res., 2003, 338, 2325-2336.

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da tra 1% e 5%, tra 5% e 10%, tra 10% e 15%, tra 15% e 20%, tra 20% e 25%, tra 25% e 30%, e tra 30% e 35%. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da tra 1% e 5%, tra 5% e 10%, tra 10% e 15%, tra 15% e 20%, tra 20% e 25%, tra 25% e 30% e tra 30% e 35%, in cui l'acidificante è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico, alginato di sodio, alginato di potassio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche



come Kelacid NF), e Carbopol 971P (carbossilimetilene).

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da meno di 1%, meno di 5%, meno di 10%, meno di 15%, meno di 20%, meno di 25%, meno di 30% e meno di 35%. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da meno di 1%, meno di 5%, meno di 10%, meno di 15%, meno di 20%, meno di 25%, meno di 30% e meno di 35%, in cui l'acidificante è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico, alginato di sodio, alginato di potassio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF), e Carbopol 971P (carbossilimetilene).

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da più di 1%, più di 5%, più di 10%, più di 15%, più di 20%, più di 25%, più di 30% e più di 35%. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal

gruppo costituito da più di 1%, più di 5%, più di 10%, più di 15%, più di 20%, più di 25%, più di 30% e più di 35%, in cui l'acidificante è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico, alginato di sodio, alginato di potassio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF), e Carbopol 971P (carbossilimetilene).

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da circa 1%, circa 2%, circa 3%, circa 4%, circa 5%, circa 6%, circa 7%, circa 8%, circa 9%, circa 10%, circa 11%, circa 12%, circa 13%, circa 14%, circa 15%, circa 16%, circa 17%, circa 18%, circa 19%, circa 20%, circa 21%, circa 22%, circa 23%, circa 24%, circa 25%, circa 26%, circa 27%, circa 28%, circa 29%, circa 30%, circa 31%, circa 32%, circa 33%, circa 34%, circa 35%, circa 36%, circa 37%, circa 38%, circa 39% e circa 40%. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante in una concentrazione (% in massa) selezionata dal gruppo costituito da circa 1%, circa 2%, circa 3%, circa 4%, circa 5%, circa 6%, circa 7%, circa 8%, circa 9%, circa 10%, circa 11%, circa 12%, circa 13%, circa 14%, circa 15%, circa 16%, circa 17%, circa 18%, circa 19%, circa 20%, circa 21%, circa 22%, circa 23%, circa 24%, circa 25%,



circa 26%, circa 27%, circa 28%, circa 29%, circa 30%, circa 31%, circa 32%, circa 33%, circa 34%, circa 35%, circa 36%, circa 37%, circa 38%, circa 39% e circa 40%, in cui l'acidificante è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico, alginato di sodio, alginato di potassio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF) e Carbopol 971P (carbossipolimetilene).

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico, alginato di sodio, alginato di potassio, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF), e Carbopol 971P (carbossipolimetilene), e loro combinazioni. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido fumarico a una concentrazione tra circa 15% e circa 33% in peso. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui



l'acidificante extragranulare è acido alginico o un suo sale (come alginato di sodio o alginato di potassio) a una concentrazione tra circa 5% e circa 33% in peso. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido tartarico a una concentrazione tra circa 25% e circa 33% in peso. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido ascorbico a una concentrazione tra circa 20% e circa 50% in peso e Carbopol 971P (carbossilimetilene) a una concentrazione tra circa 2,5% e circa 10% in peso. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido fumarico a una concentrazione tra circa 5% e circa 15% in peso e acido alginico o un suo sale a una concentrazione tra circa 15% e circa 33% in peso. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante extragranulare, in cui l'acidificante extragranulare è acido L-tartarico a una concentrazione tra circa 5% e circa 15% in peso e acido alginico a una concentrazione tra circa 15% e circa 33% in peso.

In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante, in cui l'acido è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico,

acido maleico, acido fosforico, acido L-tartarico, acido citrico, acido gentisico, acido ossalico e acido solforico. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e un acidificante, in cui l'acido è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido maleico, acido fosforico, acido L-tartarico, acido citrico, acido gentisico, acido ossalico e acido solforico, e in cui l'acidificante è un controione di sale incluso in una singola fase cristallina con Formula (1).

In una forma di realizzazione, oltre a un acidificante, una composizione farmaceutica include un eccipiente per prolungare l'esposizione della Forma I della base libera di Formula (1) al microambiente acido. In una forma di realizzazione, questo eccipiente è un polimero di origini naturali, sintetiche o semisintetiche. Il polimero può contenere monomeri, oligomeri o polimeri acidi, anionici o non ionici o una miscela di monomeri o copolimeri acidi, anionici e non ionici. In una versione, l'eccipiente è selezionato dal gruppo costituito da idrossipropilmetilcellulosa, idrossipropilcellulosa a bassa sostituzione, idrossipropilcellulosa, tocoferolo polietilenossido succinato (D- α -tocoferolo glicole polietilenico succinato, TPGS, o vitamina E TPGS), metilcellulosa, carbossimetilcellulosa, sodio carbossimetilcellulosa, metilacrilato, etilacrilato, copolimeri di metil ed etil acrilato, idrossipropilmetilcellulosa acetato succinato, gelatina, amido di mais, amido di piselli, amido di mais modificato, amido di patata, amido di patata modificato, amido di sodio glicolato, croscarmellosa,

crospovidone, copovidone, glicole polietilenico, copolimeri di polietilene e polipropilenglicole, alcol polivinilico, copolimeri di alcol polivinilico e ossido di polietilene. Anche copolimeri dei polimeri precedenti, ove applicabile, possono essere usati. I copolimeri possono essere copolimeri a blocchi, ramificati o terminali. In una forma di realizzazione, il polimero presenta proprietà di rigonfiamento, legame o gelificazione che inibiscono la disintegrazione, dissoluzione ed erosione della composizione farmaceutica al fine di prolungare la dissoluzione o di aumentare la dissoluzione totale. In una forma di realizzazione, l'inclusione del polimero aumenta la velocità di dissoluzione e l'entità della dissoluzione rispetto all'uso di un acidificante da solo. Le proprietà di rigonfiamento, legame o gelificazione sono dipendenti dal pH in una forma di realizzazione, in cui il polimero si gonfia, si lega o gelifica a un pH o un intervallo di pH in un modo diverso da quello a un altro pH. In una forma di realizzazione, questo può diminuire la dissoluzione a un pH minore rispetto a un pH maggiore, o viceversa. In un'altra forma di realizzazione, questo porta a una dissoluzione simile di Formula I in pH acido, neutro o basico. Questo porta a un'esposizione plasmatica simile indipendente dal pH dello stomaco.

Il profilo di dissoluzione di una formulazione contenente uno o più eccipienti di rigonfiamento, gelificazione o legame può presentare un ordine zero, primo o secondo di velocità differenziale a uno o più valori di pH o una miscela di diversi ordini di velocità a valori di pH diversi. In una forma di realizzazione, una composizione farmaceutica

fornirà un livello costante di farmaco nel tratto gastrointestinale di un mammifero mediante dissoluzione. Laddove la Formula (1) viene assorbita, questo porta a un livello plasmatico prolungato di farmaco per un periodo, ritarda la t_{max} , e riduce la c_{max} di una dose equivalente di una formulazione a rilascio immediato di Formula (1). In un'altra forma di realizzazione, questo porta all'esposizione simile in un mammifero indipendentemente dal pH gastrico.

Composizioni per l'uso nel trattamento di tumori solidi, neoplasie ematologiche maligne, malattie infiammatorie, disturbi autoimmuni, disturbi immunitari e altre malattie

Le composizioni farmaceutiche descritte nel presente documento possono essere usate per trattare malattie. In forme di realizzazione preferite, esse sono destinate all'uso nel trattamento di disturbi iperproliferativi. Esse possono anche essere usate nel trattamento di altri disturbi, come descritto nel presente documento e nei paragrafi seguenti.

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1), o una composizione farmaceutica comprendente la Forma I cristallina della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di un disturbo iperproliferativo in un mammifero. In forme di realizzazione preferite, il mammifero è un essere umano. In alcune forme di realizzazione, il disturbo iperproliferativo è cancro. In forme di realizzazione preferite, il cancro è selezionato dal gruppo costituito da leucemia linfocitica



cronica, linfoma non Hodgkin, linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma mantellare, linfoma follicolare e macroglobulinemia di Waldenström. In forme di realizzazione preferite, il cancro è selezionato dal gruppo costituito da linfomi non Hodgkin (come linfoma diffuso a grandi cellule B), leucemia mieloide acuta, cancro del timo, del cervello, del polmone, a cellule squamose, della pelle, dell'occhio, retinoblastoma, melanoma intraoculare, della cavità orale e orofaringeo, della vescica, gastrico, dello stomaco, del pancreas, della vescica, della mammella, della cervice, del collo, della testa, del rene, del fegato, del rene, del rene, del fegato, ovarico, della prostata, coloretale, osseo (ad esempio, osseo metastatico), esofageo, testicolare, ginecologico, della tiroide, del SNC, del SNP, correlato ad AIDS (ad esempio, linfoma e sarcoma di Kaposi), cancri indotti da virus come carcinoma cervicale (papillomavirus umano), malattia linfoproliferativa a cellule B e carcinoma nasofaringeo (virus Epstein-Barr), sarcoma di Kaposi e linfomi di effusione primitivi (herpesvirus di sarcoma di Kaposi), carcinoma epatocellulare (virus dell'epatite B e dell'epatite C), e leucemie a cellule T (virus umano-1 della leucemia a cellule T), leucemia linfoblastica acuta a cellule B, leucemia di Burkitt, leucemia mielomonocitica giovanile, leucemia a cellule capellute, malattia di Hodgkin, mieloma multiplo, leucemia mastocitaria e mastocitosi. In forme di realizzazione selezionate, l'uso riguarda il trattamento di un disturbo iperproliferativo non canceroso come iperplasia benigna della pelle (ad esempio, psoriasi), restenosi o condizioni della prostata (ad esempio, ipertrofia prostatica benigna



(BPH)). In alcune forme di realizzazione, il disturbo iperproliferativo è un disturbo infiammatorio, immunitario o autoimmune. In alcune forme di realizzazione, il disturbo iperproliferativo è selezionato dal gruppo costituito da angiogenesi tumorale, malattia infiammatoria cronica, artrite reumatoide, aterosclerosi, malattia infiammatoria intestinale, malattie cutanee come psoriasi, eczema e sclerodermia, diabete, retinopatia diabetica, retinopatia di prematurità, degenerazione maculare legata all'età, emangioma, glioma e melanoma, colite ulcerosa, dermatite atopica, pouchite, spondiloartrite, uveite, malattia di Behcet, polimialgia reumatica, arterite gigantocellulare, sarcoidosi, malattia di Kawasaki, artrite idiopatica giovanile, idratenite suppurativa, sindrome di Sjögren, artrite psoriasica, artrite reumatoide giovanile, spondilite anchilosante, malattia di Crohn, lupus e nefrite lupica. In una forma di realizzazione, l'uso di una qualsiasi delle forme di realizzazione precedenti include, inoltre, la fase di somministrare un agente acido-riducente al mammifero. In una forma di realizzazione, l'agente acido-riducente è selezionato dal gruppo costituito da inibitori della pompa protonica, come omeprazolo, esomeprazolo, lansoprazolo, dexlansoprazolo, pantoprazolo, rabeprazolo e ilaprazolo; antagonisti dei recettori H₂, come cimetidina, ranitidina e famotidina; e antiacidi come bicarbonati, carbonati e idrossidi di alluminio, calcio, magnesio, potassio e sodio.

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce composizioni farmaceutiche della Forma I della base libera di Formula

(1) descritta nel presente documento per l'uso nel trattamento di cancri come cancro del timo, cancro del cervello (ad esempio, glioma), cancro del polmone, cancro a cellule squamose, cancro della pelle (ad esempio, melanoma), cancro dell'occhio, cancro da retinoblastoma, cancro da melanoma intraoculare, cancro della cavità orale, cancro orofaringeo, cancro della vescica, cancro gastrico, cancro dello stomaco, cancro pancreatico, cancro della mammella, cancro della cervice, cancro della testa e del collo, cancro renale, cancro del rene, cancro del fegato, cancro ovarico, cancro della prostata, cancro coloretale, cancro del colon, cancro esofageo, cancro testicolare, cancro ginecologico, cancro ovarico, cancro della tiroide, cancro del SNC, cancro del SNP, cancro correlato ad AIDS (ad esempio linfoma e sarcoma di Kaposi), cancro indotto da virus e cancro epidermoide. In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce composizioni farmaceutiche della Forma I della base libera per l'uso nel trattamento di un disturbo iperproliferativo non canceroso, come iperplasia benigna della pelle (ad esempio, psoriasi), restenosi o malattie della prostata (ad esempio, ipertrofia prostatica benigna (BPH)). In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce composizioni farmaceutiche della Forma I della base libera di Formula (1) descritta nel presente documento per l'uso nel trattamento di disturbi come disordini mieloproliferativi (MPD), neoplasie mieloproliferative, policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria (PMF), sindrome mielodisplastica, leucemia mielogena cronica (BCR-ABL-1-

positiva), leucemia neutrofila cronica, leucemia eosinofila cronica o mastocitosi. L'invenzione fornisce anche composizioni per l'uso nel trattamento di una malattia correlata a vasculogenesi o angiogenesi in un mammifero che può manifestarsi come angiogenesi tumorale, malattia infiammatoria cronica come artrite reumatoide, malattia infiammatoria intestinale, aterosclerosi, malattie della pelle come psoriasi, eczema e sclerodermia, diabete, retinopatia diabetica, retinopatia di prematurità, degenerazione maculare legata all'età ed emangioma.

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di un cancro tumorale solido. In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento del cancro del pancreas, cancro della mammella, cancro ovarico, melanoma, cancro del polmone, carcinoma a cellule squamose incluso cancro della testa e del collo. In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una combinazione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) e un secondo agente per l'uso nel trattamento del cancro del pancreas, cancro della mammella, cancro ovarico, melanoma, cancro del polmone, cancro della testa e del collo e cancro coloretale, in cui il secondo agente selezionato dal gruppo costituito da bendamustina, venetoclax, gemcitabina, paclitaxel legato ad albumina, rituximab, obinutuzumab, ofatumumab, pembrolizumab, nivolumab,

durvalumab, avelumab, e atezolizumab. In una forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una combinazione per l'uso nel trattamento di cancro pancreatico, cancro della mammella, cancro ovarico, melanoma, cancro del polmone, cancro della testa e del collo e cancro coloretale, in cui la combinazione comprende la Forma I della base libera di Formula (1) e bendamustina, venetoclax, gemcitabina, paclitaxel legato ad albumina, rituximab, obinutuzumab, ofatumumab, pembrolizumab, nivolumab, durvalumab, avelumab e atezolizumab.

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di un disturbo infiammatorio, immunitario o autoimmune in un mammifero. In forme di realizzazione selezionate, l'invenzione riguarda anche una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di una malattia, in cui la malattia è selezionata dal gruppo costituito da angiogenesi tumorale, malattia infiammatoria cronica, artrite reumatoide, aterosclerosi, malattia infiammatoria intestinale, malattie della cute psoriasi, eczema e sclerodermia, diabete, retinopatia diabetica, retinopatia di prematurità, degenerazione maculare legata all'età, emangioma, glioma e melanoma, colite ulcerosa, dermatite atopica, dermatite atopica, psoriasi, spondiloartrite, uveite, malattia di Behcet, polimialgia reumatica, arterite gigantocellulare, sarcoidosi, malattia di Kawasaki, artrite idiopatica giovanile, idratenite suppurativa, sindrome di Sjögren, artrite psoriasica, artrite reumatoide giovanile, spondilite



anchilosante, malattia di Crohn, lupus e nefrite lupica.

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una composizione comprendente una Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di un disturbo iperproliferativo in un mammifero, in cui il disturbo iperproliferativo è una neoplasia ematologica maligna a cellule B selezionata dal gruppo costituito da leucemia linfocitica cronica (CLL), leucemia a piccoli linfociti (SLL), linfoma non Hodgkin (NHL), linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL), linfoma follicolare (FL), linfoma mantellare (MCL), linfoma di Hodgkin, leucemia linfoblastica acuta a cellule B (B-LLA), linfoma di Burkitt, macroglobulinemia di Waldenström (WM), linfoma di Burkitt, mieloma multiplo, sindromi mielodisplastiche o mielofibrosi. In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di un disturbo iperproliferativo in un mammifero, in cui il disturbo iperproliferativo è selezionato dal gruppo costituito da leucemia mielocitica cronica, leucemia mieloide acuta, DLBCL (inclusi i sottotipi a cellule B attivate (ABC) e a cellule B del centro germinativo (GCB)), linfoma centrollicolare, malattia di Hodgkin, mieloma multiplo, linfoma non Hodgkin indolente e ALL a cellule B mature.

In alcune forme di realizzazione, il disturbo iperproliferativo è un sottotipo di CLL. Numerosi sottotipi di CLL sono stati caratterizzati. La CLL è spesso classificata per lo stato mutazionale della regione variabile di catena pesante di immunoglobulina (IgV_H) nelle cellule

leucemiche. R. N. Damle, et al, Blood 1999, 94, 1840-47; T. J. Hamblin, et al, Blood 1999, 94, 1848-54. I pazienti con mutazioni di IgV_H sopravvivono generalmente più a lungo rispetto ai pazienti senza mutazioni di IgV_H. Anche l'espressione di ZAP70 (positiva o negativa) è usata per caratterizzare la CLL. L. Z. Rassenti, et al, N. Engl. J. Med. 2004, 351, 893-901. Anche la metilazione di ZAP-70 a CpG3 è usata per caratterizzare la CLL, per esempio mediante pirosequenziamento. R. Claus, et al, J. Clin. Oncol. 2012, 30, 2483-91; J. A. Woyach, et al, Blood 2014, 123, 1810-17. La CLL è classificata anche mediante lo stadio della malattia con i criteri Binet o Rai. J. L. Binet, et al, Cancer 1977, 40, 855-64; K. R. Rai, T. Han, Hematol. Oncol. Clin. North Am. 1990, 4, 447-56. Altre mutazioni comuni, come delezione di 11q, delezione di 13q e delezione di 17p possono essere valutate usando tecniche ben note, come l'ibridazione fluorescente *in situ* (FISH). In una forma di realizzazione, l'invenzione riguarda una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di CLL in un essere umano, in cui la CLL è selezionata dal gruppo costituito da CLL negativa con mutazione di IgV_H, CLL ZAP-70-positiva, CLL ZAP-70 metilata a CpG3, CLL CD38-positiva, leucemia linfatica cronica caratterizzata da una delezione di 17p13.1 (17p), e CLL caratterizzata da una delezione di 11q22.3 (11q).

In alcune forme di realizzazione, il disturbo iperproliferativo è una CLL in cui la CLL ha subito una trasformazione di Richter. Metodi per valutare la trasformazione di Richter, nota anche come sindrome di

Richter, sono descritti in Jain e O'Brien, *Oncology*, 2012, 26, 1146-52. La trasformazione di Richter è un sottotipo di CLL che si osserva nel 5-10% dei pazienti. Essa coinvolge lo sviluppo di linfoma aggressivo da CLL e ha una prognosi generalmente infausta.

In alcune forme di realizzazione, il disturbo iperproliferativo è una CLL o SLL in un paziente, in cui il paziente è sensibile alla linfocitosi. In una forma di realizzazione, l'invenzione riguarda una composizione comprendente la Forma I della base libera di Formula (1) per l'uso nel trattamento di CLL o SLL in un paziente, in cui il paziente presenta linfocitosi causata da un disturbo selezionato dal gruppo costituito da un'infezione virale, un'infezione batterica, un'infezione protozoica o uno stato post-splenectomia. In una forma di realizzazione, l'infezione virale in una qualsiasi delle forme di realizzazione precedenti è selezionata dal gruppo costituito da mononucleosi infettiva, epatite e citomegalovirus. In una forma di realizzazione, l'infezione batterica in una qualsiasi delle forme di realizzazione precedenti è selezionata dal gruppo costituito da pertosse, tubercolosi e brucellosi.

ESEMPI

Esempio 1. Anidrato cristallino di Forma I (della base libera) di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide

Esempio 1.1. Preparazione dell'anidrato cristallino di Forma I

Uno studio di cristallizzazione è stato effettuato usando (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-



(piridin-2-il)benzammide amorfa come materiale iniziale. Il carattere amorfo di questo lotto è stato confermato mediante PXRD. Per esperimenti di cristallizzazione per raffreddamento, 25 mg di Formula (1) amorfa sono stati dissolti in 300 μ l di solvente, riscaldati a 60 °C a una velocità di 5 °C/ora, mantenuti per 1 ora a quella temperatura e, quindi, raffreddati fino a 5 °C alla stessa velocità. Per esperimenti di slurry, 25 mg di Formula (1) amorfa sono stati sospesi in 150 μ l di solvente a 20 °C per 3 giorni. Tutti i solidi sono stati isolati per l'analisi PXRD. I solventi sono stati fatti evaporare sottovuoto (200 mbar) quando si è ottenuta una soluzione trasparente. I risultati sono riassunti nella Tabella 1.

TABELLA 1. Risultati di esperimenti di cristallizzazione e slurry per (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide.

Campione	Solvente	Tipo	Aspetto	Aspetto dopo l'evaporazione	PXRD	DSC	TGA
1	metanolo	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
2	etanolo	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
3	2-propanolo	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-

B

4	N,N-dimetilacetammide	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
5	acetone	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
6	2-butanone	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
7	cicloesanone	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
8	dimetil solfossido	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-

9	clorobenzene	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Amorfo	-	-
10	diclorometano	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
11	metanolo - acqua 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
12	metanolo - acqua 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
13	metanolo - acqua 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-

B

14	etanolo - acqua 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
15	etanolo - acqua 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
16	etanolo - acqua 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
17	2-propanolo - acqua 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
18	2-propanolo - acqua 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-

19	2-propanolo - acqua 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
20	N,N- dimetilacetammide - acqua 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
21	N,N- dimetilacetammide - acqua 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
22	N,N- dimetilacetammide - acqua 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
23	acetone - eptano 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Forma I	-	-

B

24	acetone - eptano 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Forma I	-	-
25	acetone - eptano 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
26	2-butanone - eptano 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
27	2-butanone - eptano 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
28	2-butanone - eptano 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Amorfo	-	-

B

29	cicloesanone - eptano 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Gel	-	-	-
30	cicloesanone - eptano 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
31	cicloesanone - eptano 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
32	dimetil solfossido - acqua 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
33	dimetil solfossido - acqua 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-

AB

34	dimetil solfossido - acqua 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Amorfo	-	-
35	clorobenzene - eptano 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Amorfo	-	-
36	clorobenzene - eptano 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Amorfo	-	-
37	clorobenzene - eptano 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Amorfo	-	-
38	diclorometano - eptano 3:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-

B

39	diclorometano - eptano 1:1	Cristallizzazione per raffreddamento	Solido	-	Forma I	207 °C (-161 J/g)	-1,6% (40- 140 C) -1,2% (150- 240 °C)
40	diclorometano - eptano 1:3	Cristallizzazione per raffreddamento	Gel	Gel	-	-	-
41	metil terz-butiletere	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
42	tetraidrofurano	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
43	diisopropiletere	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-

13

44	2- metiltetraidrofurano	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
45	ciclopentilmetiletere	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
46	metanolo - acqua 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
47	metanolo - acqua 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
48	metanolo - acqua 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
49	etanolo - acqua 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
50	etanolo - acqua 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-

51	etanolo - acqua 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
52	2-propanolo - acqua 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
53	2-propanolo - acqua 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Forma II	~105 °C	-9,7%
						~150 °C	(40-
						~220 °C	120 °C)
54	2-propanolo - acqua 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
55	N,N-dimetilacetammide - acqua 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Gel	-	-	-
56	N,N-dimetilacetammide - acqua 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Gel	-	-	-

B

57	N,N- dimetilacetammide - acqua 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
58	acetone - eptano 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Forma I	-	-
59	acetone - eptano 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
60	acetone - eptano 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
61	2-butanone - eptano 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
62	2-butanone - eptano 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
63	2-butanone - eptano 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-

64	cicloesanone - eptano 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Gel	-	-	-
65	cicloesanone - eptano 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
66	cicloesanone - eptano 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
67	dimetil solfossido - acqua 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Scarsamente cristallino	-	-
68	dimetil solfossido - acqua 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
69	dimetil solfossido - acqua 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Forma II	-	-
70	clorobenzene - eptano 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-

B

71	clorobenzene - eptano 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
72	clorobenzene - eptano 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-
73	diclorometano - eptano 3:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Dissolto	Solido	Amorfo	-	-
74	diclorometano - eptano 1:1	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Gel	Gel	-	-	-
75	diclorometano - eptano 1:3	Slurry (20 °C per 3 giorni)	Solido	-	Amorfo	-	-

I risultati indicano che, quando si ottengono solidi, la forma amorfa di Formula (1) è ottenuta dalla maggior parte dei solventi, e che la Forma I è difficile da cristallizzare ma può essere preparata da un insieme molto limitato di solventi, in particolare determinate miscele con *n*-eptano (ad esempio, con acetone). La Forma I può anche essere cristallizzata o ricristallizzata da etanolo su scale maggiori, inclusa una scala di 60 g.

Esperimenti di addizione di anti-solvente sono stati effettuati mediante un'addizione graduale di anti-solvente, fino alla cristallizzazione, a una soluzione trasparente di Formula (1) nel solvente mostrato nella Tabella 2. I risultati sottolineano nuovamente la difficoltà di preparare la Formula (1) cristallina.

TABELLA 2. Risultati di esperimenti di addizione di anti-solvente per (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide.

Campione	Solvente	Tipo	Anti-solvente	Aspetto¹	PXRD
76	metanolo	Anti-solvente	Acqua	FFP	Amorfo
77	etanolo	Anti-solvente	Acqua	FFP	Amorfo
78	2-propanolo	Anti-solvente	Acqua	Nessun solido	

79	N,N-	Anti-solvente	Acqua	FFP	Amorfo
80	acetone	Anti-solvente	Eptano	Solidi appiccicosi	Amorfo
81	2-butanone	Anti-solvente	Eptano	Solidi appiccicosi	Amorfo
82	cicloesanone	Anti-solvente	Eptano	FFP	Amorfo
83	dimetil solfossido	Anti-solvente	Acqua	FFP + solidi appiccicosi	Amorfo
84	clorobenzene	Anti-solvente	Eptano	FFP + solidi appiccicosi	Amorfo
85	diclorometano	Anti-solvente	Eptano	FFP	Amorfo

1. FFP si riferisce a polvere a flusso libero.

Esempio 1.2. Caratterizzazione fisica dell'anidrato cristallino di Forma I

La caratterizzazione della Forma I della base libera di Formula (1) prodotta mediante cristallizzazione da acetone in presenza di metanolo (indicato come campione PP502-P1 nel presente documento) è stata eseguita usando varie tecniche incluse: PXRD in trasmissione (Figura 1), spettroscopia Raman (Figura 2) e IR (Figura 3), spettroscopia NMR allo stato in soluzione dopo la dissoluzione della Forma I, TG-FTIR, calorimetria differenziale a scansione (DSC), test di

solubilità semi-quantitativo e assorbimento di vapore dinamico (DVS; noto anche come assorbimento di vapore gravimetrico o GVS).

Il pattern PXRD in trasmissione della Forma I è stato acquisito usando uno strumento goniometrico a due cerchi ad alta precisione Stoe Stadi P dotato di un rilevatore Mythen 1K e una fonte di radiazione di Cu-K_{α1} operante in condizioni di misurazione standard di: tensione del tubo di 40 kV e corrente del tubo di 40 mA; monocromatore Ge curvo; ampiezza del passo di 0,02° 2θ; tempo di fase di 48 secondi, intervallo di scansione di 1,5-50,5° 2θ; e modalità di rilevamento includente una fase di scansione a una fase di rilevamento di 1° 2θ. Campioni sono stati preparati posizionando da 10 a 20 mg di materiale tra due pellicole di acetato nel portacampione in trasmissione Stoe, ruotato durante la misurazione. Le misurazioni usando il diffrattometro Stoe Stadi sono state registrate nella modalità in trasmissione (Debye-Scherrer). Questo strumento può anche essere azionato nella modalità in riflessione (Bragg-Brentano).

La Figura 1 mostra il pattern PXRD per la Forma I misurata usando la geometria in trasmissione. I seguenti picchi sono stati identificati nel pattern PXRD di Figura 1: 6,4, 8,7, 10,5, 11,0, 11,4, 11,6, 12,8, 13,5, 14,3, 14,9, 15,1, 15,5, 15,7, 16,1, 17,3, 18,2, 19,1, 19,2, 19,5, 19,8, 20,6, 20,8, 21,2, 21,4, 21,6, 22,0, 22,2, 22,3, 22,6, 22,8, 23,3, 23,7, 24,9, 25,2, 25,4, 25,8, 26,1, 26,5, 26,8, 27,0, 27,1, 27,7, 28,7, 29,2, 29,9, 30,5, 31,7, 32,0, 32,6, 33,1, 33,2, 33,5, 34,5 e 35,1 °2θ ± 0,2 °2θ. La Forma I mostra picchi distintivi (rispetto alle altre forme) a

6,4, 8,6, 10,5, 11,6, e $15,7^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$, e mostra ulteriori picchi distintivi (rispetto alle altre forme) a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9, e $18,2^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. Il pattern PXRD di Figura 1 insieme alla birifrangenza osservata nelle immagini di microscopia ottica polarizzata della Forma I (campione PP502-P1) mostrano che l'anidrato della Forma I di Formula (1) è cristallino.

Sono state effettuate anche misurazioni PXRD in riflessione usando un secondo strumento, un diffrattometro a raggi X su polveri Bruker D8 dotato di un rilevatore LynxEye e operante nella modalità di geometria in riflessione Bragg-Brentano. I valori di 2θ sono generalmente accurati entro un errore di $\pm 0,2^\circ$. I campioni sono stati generalmente preparati senza alcun trattamento speciale diverso dall'applicazione di una leggera pressione per ottenere una superficie piatta. I campioni sono stati misurati non coperti, se non altrimenti indicato. Le condizioni operative includevano una tensione del tubo di 40 kV e una corrente di 40 mA. Una fenditura di divergenza variabile è stata usata con una finestra a 3° . L'ampiezza del passo era di $0,02^\circ 2\theta$ con un tempo di fase di 37 secondi. Il campione è stato ruotato a 0,5 rps durante la misurazione. Quando calibrato, il pattern PXRD nella modalità in riflessione della Forma I può essere confrontato con il pattern PXRD nella modalità in trasmissione della Forma I, sebbene il tecnico del ramo comprenderà che i pattern di diffrazione possono variare, in particolare rispetto alle intensità di picco, come descritto nel presente documento.

Il pattern PXRD in riflessione per la Forma I di Formula (1) è stato misurato, e i seguenti picchi sono stati identificati nel pattern PXRD in riflessione: 6,36, 8,60, 10,50, 10,90, 11,32, 11,57, 12,73, 13,4, 14,27, 14,86, 15,08, 15,66, 16,09, 17,28, 18,17, 19,15, 19,39, 19,76, 20,70, 21,10, 21,36, 21,56, 21,94, 22,59, 23,3, 23,63, 24,87, 25,19, 25,37, 25,72, 26,05, 26,42, 26,77, 26,93, 27,68, 28,62, 29,11, 29,42, 30,14, 30,49, 31,69, 31,90, 32,22, 32,57, 33,05, 33,39, 34,45, 35,87, 36,09, 36,80, 37,42, 38,08, 38,86, e $39,54 \text{ } ^\circ 2\theta \pm 0,20^\circ 2\theta$.

Lo spettro Raman in trasformata di Fourier (FT) della Forma I è stato acquisito usando uno spettrofotometro FT-Raman Bruker RFS 100 dotato di un rilevatore al germanio raffreddato con azoto liquido e un laser di Nd:YAG a IR-vicino operante a 1064 nm con un'impostazione di potenza di 100 mW. Gli spettri erano il risultato di 64 scansioni raccolte con una risoluzione di 2 cm^{-1} nell'intervallo tra 3500 e 50 cm^{-1} . Lo spettro FT-Raman della Forma I è mostrato in Figura 2 e presenta picchi a 1680, 1620, 1609, 1574, 1547, 1514, 1495, 1454, 1433, 1351, 1312, 1255, 1232, 1187, 1046, 995, 706, 406 e 280 (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$).

Si è ottenuto lo spettro IR della Forma I (campione PP502-P1) usando la spettroscopia IR. Gli spettri sono stati ottenuti registrando 32 scansioni usando il campionamento in riflettanza totale attenuato (ATR) e uno spettrometro Perkin Elmer BXII IR a una risoluzione di 2 numeri d'onda (cm^{-1}). Per lo spettro mostrato qui, gli spettri originali nella modalità in trasmissione sono stati convertiti nella modalità in

assorbimento usando il software OPUS 7.0 di Bruker, e sono state generate tabelle di picchi. Lo spettro IR della Forma I è illustrato in Figura 3. I picchi caratteristici della Forma I si osservano a 3367, 3089, 2246, 1682, 1621, 1608, 1574, 1514, 1504, 1454, 1428, 1403, 1345, 1303, 1248, 1194, 1177, 1149, 1109, 1049, 1023, 1003, 947, 900, 858, 842, 816, 764, 734, 729, 701, 689, 665, 623 e 612 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Lo spettro ^1H NMR della Forma I registrato in dimetil solfossido deuterato (d_6 -DMSO) ha confermato la struttura molecolare di (*S*)-4-(8-ammino-3-(1-(but -2-inoil)pirrolidin-2-il) imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide presente in questo anidrato cristallino.

L'analisi TGA e TG-FTIR è stata eseguita usando un Thermo-Microbalance TG 209 Netzsch accoppiato a uno spettrometro FTIR Bruker (modello strumento Vector 22). Recipienti per campione aventi un foro sono stati tarati prima che il campione venisse introdotto e, quindi, riscaldati a 350 °C a una velocità di rampa di 10 °C/minuto sotto un flusso costante di un azoto. L'analisi TG-FTIR del campione della Forma I ha rivelato una perdita di massa di circa 0,8% dopo un riscaldamento fino a 250 °C. La spettroscopia TG-FTIR ha mostrato che la perdita di massa osservata fino a 250 °C è essenzialmente attribuibile al solvente di acetone, che sembra essere trattenuto fortemente dalle polveri di Forma I poiché la perdita di massa si verifica al di sopra di 200 °C. Una perdita di peso superiore a 250 °C è principalmente attribuibile alla decomposizione.

Una DSC è stata eseguita con un Perkin Elmer DSC-7 o con uno strumento Q2000 di TA Instruments. Campioni sono stati preparati in un recipiente per campione, in oro, chiuso, a velocità di rampa di temperatura di 10 °C/minuto o 20 °C/minuto fino a circa 250 °C. La fusione inizia a circa 200 °C e si osserva un picco a circa 214,7 °C con un flusso di calore di circa 16 mW (81,9 J/g) per l'endoterma di fusione; tuttavia la fusione era concomitante con la decomposizione termica e l'entalpia di fusione è, pertanto, una stima. Ciò nonostante, l'intervallo di temperatura della perdita di massa osservata nell'analisi TGA suggerisce che la Forma I deve essere fusa al fine di rilasciare il solvente residuo. Il termogramma DSC ha mostrato che dopo l'evento di fusione a circa 214,7 °C, la degradazione esotermica si verifica a 226,4 °C.

La Forma I è stata testata anche rispetto alle solubilità in varie miscele di solvente e acqua e solventi non acquosi. Studi di solubilità sono stati condotti mediante diluizione graduale di una sospensione di circa 10 mg di Forma I in 0,1 ml di solvente di grado analitico. I risultati delle solubilità approssimate sono mostrati nella Tabella 3. I valori della solubilità sono approssimazioni stimate e sono soggetti a errore sperimentale variabile.

TABELLA 3. Misurazioni di solubilità approssimate per la Forma I.

Solvente puro	Solubilità [S, mg/ml]	Miscela di solventi	Solubilità [S, mg/ml]
----------------------	----------------------------------	----------------------------	----------------------------------

acido acetico	102 < S < 204	acido acetico: acqua 1:1	104 < S < 208
acetone	S ~ 2	acido acetico:etil acetato 1:1	92 < S < 184
acetonitrile	S < 1	acido acetico:etil acetato 1:9	60 < S < 90
diclorometano, DCM	36 < S < 43	acido acetico:MEK 1:9	63 < S < 95
<i>N,N</i> - dimetilformamide, DMF	49 < S < 65	acido acetico:isopropanolo 1:9	S ~ 4
dimetilsolfossido, DMSO	39 < S < 49	acetone:acqua 4:1	26 < S < 31
etil acetato	S < 1	etanolo:acqua 1:1	S ~ 6
etanolo	S ~ 3	etanolo:acqua 9:1 a 60 °C	S > 60
acido formico	97 < S < 194	etanolo:acqua 95:5	S ~ 8
2-butanone, MEK	S < 1	MEK saturo con acqua	26 < S < 30
metanolo	S ~ 14	metanolo:MEK 1:1 a riflusso	S > 90
<i>N</i> -metil-2-pirrolidone, NMP	39 < S < 49	metanolo:acqua 9:1	S ~ 15
2-propanolo	S < 1	THF:acqua 9:1	S > 50



tetraidrofurano, THF	S ~ 5		
trifluoroetano	97 < S < 194		

La solubilità acquosa della Forma I è stata determinata dopo un bilanciamento a 25 °C per tre giorni. La cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) è stata usata per determinare la concentrazione nella soluzione filtrata, il che ha determinato S ~ 68 µg/ml. La PXRD del residuo solido ha confermato che la Forma I è stata mantenuta.

Uno studio gravimetrico di assorbimento di vapore è stato eseguito usando una procedura standard. I campioni sono stati esaminati usando un analizzatore dinamico di assorbimento di vapore (DVS). Le dimensioni del campione erano di circa 10 mg. Un'isoterma di adsorbimento-desorbimento di tracce d'acqua è stata effettuata come esposto di seguito. I campioni sono stati esposti a 0% di UR, diminuendo l'umidità fino a 0% di UR, aumentando l'umidità fino a 95% di UR e, infine, diminuendo l'umidità nuovamente fino alla UR al 50% iniziale. I risultati DVS, incluse le curve isoterme di assorbimento e desorbimento, mostrano che l'aumento di peso totale osservato tra 0% di UR e 80% di UR è di circa 0,17%, il che indica che la Forma I è non igroscopica secondo la classificazione della Farmacopea Europea (EP) (non igroscopica: < 0,2%; lievemente igroscopica: ≥ 0,2% e < 2%; igroscopica: ≥ 2% e < 15%; molto igroscopica: ≥ 15%; deliquescente: è adsorbita acqua sufficiente per formare un liquido; tutti i valori misurati come aumento di peso a 80% di UR e 25 °C). La curva di desorbimento



indica che la Forma I ha perso tracce d'acqua a una velocità simile alle tracce d'acqua acquisite durante l'assorbimento, con isteresi limitata. Quasi tutta l'acqua adsorbita è stata rimossa al termine dell'esperimento DVS. Nessuna variazione di forma è stata osservata mediante PXRD dopo l'esperimento DVS.

Esempio 2 (per riferimento). Triidrato di Forma II (della base libera) di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide

Esempio 2.1. Preparazione del triidrato cristallino di Forma II

Lo studio di cristallizzazione descritto sopra e riportato nella Tabella 1 ha prodotto anche la Forma II in un insieme molto limitato di solventi.

Anche la Forma II (campione PP502-P21) della base libera di Formula (1) è stata prodotta dissolvendo la Forma I in una miscela di acetone-acqua (8:2) a temperatura di riflusso, seguita da raffreddamento della soluzione e rimozione del 50% del volume del solvente in un leggero spurgo di azoto. I campioni ottenuti sono stati essiccati a temperatura ambiente in aria e in condizioni ambiente (a circa 45% di UR). Dopo l'essiccazione è stata osservata una perdita di massa di circa 9,7% corrispondente a circa 2,7 molecole di acqua per molecola di Formula (1) (ossia, un triidrato).

Esempio 2.2. Caratterizzazione fisica del triidrato cristallino di Forma II

La caratterizzazione della Forma II della base libera di Formula

(1) è stata eseguita usando varie tecniche, incluse PXRD (Figura 4), microscopia ottica, spettroscopia di Raman (Figura 5), spettroscopia IR, TG-FTIR, DSC, DVS, e test di solubilità semi-quantitativo. I metodi di caratterizzazione usati per la Forma II sono stati effettuati come descritto precedentemente per la caratterizzazione della Forma I.

La Figura 4 mostra il pattern PXRD per la Forma II di Formula (1) misurato nella modalità in trasmissione. I seguenti picchi caratteristici sono stati identificati nel pattern PXRD di Figura 4: 6,6, 9,9, 11,0, 13,6, 14,0, 14,3, 18,1, 18,4, 18,9, 19,3, 20,2, 21,1, 22,0, 22,2, 22,5, 22,7, 22,9, 23,4, 23,5, 23,9, 24,2, 24,6, 25,0, 26,1, 26,6, 26,9, 27,5, 28,2, 31,0, 32,1, 32,4, 32,7, 33,4, 33,9 e $34,4 \pm 0,2^\circ 2\theta$. Il pattern PXRD di Forma I e Forma II mostrano riflessioni distinte per ciascuna di queste forme della base libera di Formula (1). La Forma II mostra picchi distintivi (rispetto alle altre forme) a $5,7, 6,6, 8,2$ e $9,8^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$, e mostra ulteriori picchi distintivi (rispetto alle altre forme) a $11,0, 14,1, 14,3, 18,9, 20,1$ e $24,6^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. Un'immagine microscopica ottica della Forma II ha mostrato che il campione di Forma II (PP502-P21) presenta particelle a forma di barra con lunghezze di fino a circa $50 \mu\text{m}$, il che può influenzare negativamente le proprietà di flusso e lavorazione di questa forma, come descritto nell'Esempio 12.

Lo spettro FT-Raman della Forma II è mostrato in Figura 5, e presenta picchi (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$) a 1668, 1611, 1580, 1564, 1537, 1506, 1493, 1454, 1436, 1416, 1401, 1349, 1321,

1287, 1272, 1252, 1244, 1183, 1165, 1097, 1039, 1025, 996, 950, 871, 853, 776, 730, 645, 633, 375, 352, 279 e 247.

Lo spettro IR della Forma II (campione PP502-P21) ha mostrato picchi caratteristici a 3212, 2206, 1665, 1618, 1577, 1548, 1535, 1504, 1465, 1452, 1432, 1416, 1397, 1348, 1316, 1243, 1208, 1181, 1164, 1149, 1095, 1038, 1004, 948, 891, 869, 821, 776, 736, 716, 643 e 617 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

La preparazione TG-FTIR dei campioni di Forma II è consistita nell'esposizione di due campioni (PP502-P14 e PP502-P21) a 60% di UR per circa tre giorni, momento in cui entrambi contenevano quantità identiche di acqua. L'analisi TG-FTIR dei campioni di Forma II ha rivelato una perdita di massa di circa 10,2% dopo un riscaldamento fino ad approssimativamente 130 °C. Questa diminuzione è essenzialmente attribuibile al rilascio di acqua ed è conforme al contenuto teorico di acqua per un triidrato di 10,4%. La perdita di massa di circa 0,3% dopo un riscaldamento, successivamente, fino ad approssimativamente 250 °C era dovuta principalmente alla decomposizione.

È stata effettuata un'analisi DSC rappresentativa di un campione di Forma II. Il campione è stato stabilizzato all'equilibrio sotto approssimativamente 62% di UR prima dell'analisi, usando velocità di rampa di temperatura di 10 °C/minuto o 20 °C/minuto fino ad approssimativamente 150 °C. La fusione inizia a circa 75 °C e si osserva un picco in prossimità di circa 109 °C con un'entalpia di fusione di circa 127 J/g. Il termogramma DSC mostra un lieve margine sul lato

sinistro del picco, il che suggerisce che parte dell'acqua idrata può essere stata rilasciata dal campione nel volume residuo del recipiente per campione sigillato ermeticamente.



L'analisi DVS della Forma II (campione PP502-P14) è stata effettuata esponendo i campioni a un 0% di UR, riducendo l'umidità a 0% di UR, aumentando l'umidità fino a 95% di UR e, infine, riducendo l'umidità nuovamente all'UR al 50% iniziale. I risultati DVS, incluse le curve di assorbimento e desorbimento, mostrano che una perdita di acqua significativa si verifica al di sotto di circa 10% di UR, quando il contenuto di acqua triidrata diminuisce rapidamente da approssimativamente 10% ad approssimativamente 0%. Questo risultato è coerente con la perdita di massa nell'analisi TGA. Aumentando l'UR a 95%, l'acqua è stata riadsorbita per ottenere un contenuto di acqua massimo di circa 10,4%, che corrisponde al contenuto di acqua atteso per un triidrato. Tra le curve di assorbimento e desorbimento è stata osservata anche l'isteresi. La Forma II si comporta, pertanto, come idrato variabile. I risultati DVS, incluse le curve isoterme di assorbimento e desorbimento, mostrano che l'aumento di peso totale osservato tra 0% di UR e 80% di UR è circa di 10%, il che indica che la Forma II è igroscopica secondo la classificazione EP (si veda l'Esempio 1.2).

Infine, la Forma II è stata testata anche rispetto alle solubilità in varie miscele di solvente e acqua e solventi non acquosi. La solubilità acquosa della Forma II è stata determinata dopo un bilanciamento a



25 °C per tre giorni. La cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) è stata usata per determinare la concentrazione di Forma II nella soluzione filtrata ad approssimativamente 14 µg/ml, il che si traduce in un'attività dell'acqua critica (a_w) di circa 0,59. In confronto, la solubilità acquosa per la Forma I è circa 68 µg/ml.

L'attività dell'acqua critica è una misura della stabilità termodinamica relativa della Forma I rispetto alla Forma II triidrata. Al di sotto di una a_w di circa 0,59, la Forma I è più stabile a temperatura ambiente, mentre al di sopra di questo valore è più stabile la Forma II. Questo indica che in miscele di solventi con basso contenuto d'acqua, che sono preferibili per la cristallizzazione di Formula (1), la Forma I è la forma più stabile. Esperimenti di bilanciamento in sospensione in miscele di etanolo-acqua, ciascuno avente una diversa attività dell'acqua, hanno confermato questa conclusione. Le attività dell'acqua incluse negli esperimenti sono state mantenute a: circa 0,35 (rapporto etanolo-acqua di 95:5, PP502-P32), circa 0,53 (rapporto etanolo-acqua di 9:1, PP502-P33) e circa 0,77 (rapporto etanolo-acqua di 7:3, PP502-P34). A una a_w di circa 0,53, gli esperimenti di sospensione aventi miscele di Forma I e Forma II hanno dato come risultato la Forma I pura, e a una a_w di circa 0,77 il risultato era la Forma II pura.

Esempio 3. Diidrato di Forma III (della base libera) di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide - Esempio di riferimento


Esempio 3.1. Preparazione del diidrato cristallino di Forma III -

Esempio di riferimento

La forma III della base libera di Formula (1) è stata preparata da esperimenti di cristallizzazione per germinazione usando germi di Forma I. Soluzioni sature di Formula (1) sono state preparate a 60 °C. Le soluzioni sono state raffreddate e i germi di Forma I sono stati aggiunti prima che si verificasse una cristallizzazione spontanea. I risultati sono riassunti nella Tabella 4.

TABELLA 4. Risultati di esperimenti di cristallizzazione per germinazione per (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamide.

Campione	Solvente	Tipo	Aspetto	PXRD	DSC	TGA
86	metanolo - acqua 1:1	Germinazione	Solido	Forma III	147 °C (- 23,7 J/g) 215 °C (141 J/g)	-4,8% (40- 130 °C)
87	etanolo - acqua 1:3	Germinazione	Solido	Forma III	-	-
88	2-propanolo - acqua 1:3	Germinazione	Solido	Forma III	-	-
89	N,N- dimetilacetammide - acqua 1:2	Germinazione	Solido	Scarsamente cristallino	-	-
90	Acetone - eptano 1:1	Germinazione	Solido	Forma I	-	-
91	2-butanone - eptano 1:1	Germinazione	Gel	-	-	-



92	cicloesano - eptano 1:1	Germinazione	Solido	Forma I	-	-
93	dimetil solfossido - acqua 1:3	Germinazione	Solido	Scarsamente cristallino	-	-
94	metil terz-butiletere	Germinazione	Solido	Amorfo	-	-
95	tetraidrofurano - acqua 1:6	Germinazione	Solido	Forma III	-	-
96	diisopropiletere	Germinazione	Solido	Amorfo	-	-
97	2-metiltetraidrofurano	Germinazione	Solido	Scarsamente cristallino	-	-
98	ciclopentilmetiletere	Germinazione	Solido	Scarsamente cristallino	-	-
99	clorobenzene	Germinazione	Solido	Scarsamente cristallino	-	-
100	diclorometano - acqua 1:3	Germinazione	Gel	-	-	-

La Forma III può essere preparata mediante cristallizzazione della base libera di Formula (1) amorfa in acqua pura. Per esempio, il campione PP502-P120 era il risultato di uno slurry della base libera di Formula (1) amorfa (campione PP502-P 107A) in acqua. Dopo un giorno, la Forma III è stata trovata nella sospensione e, dopo un periodo di agitazione esteso di tre giorni, la Forma III è stata ancora mantenuta. Tuttavia, poiché la Forma II può essere ottenuta anche in altri esperimenti in condizioni simili, procedure aggiuntive per preparare



la Forma III erano di sviluppo.

La Forma III può essere preparata anche dalla Formula (1) amorfa sospesa in acqua. A circa 160 mg di Formula (1) amorfa vengono aggiunti 5,0 ml di acqua, e la sospensione risultante viene agitata a temperatura ambiente. L'esame del solido dopo circa 24 ore di bilanciamento a temperatura ambiente ha portato alla cristallizzazione della Forma III.

La Forma III può essere preparata anche mediante precipitazione diretta tramite regolazione del pH. 940 mg di Forma I di Formula (1) vengono dissolti in 4,0 ml di soluzione acquosa di acido cloridrico 1 N. La soluzione è stata neutralizzata con la stessa quantità di soluzione acquosa 1 N di idrossido di sodio. L'ulteriore diluizione con 8,0 ml di acqua porta a una sospensione densa da cui il solido viene separato mediante filtrazione. Il flacone di vetro viene sciacquato con 16 ml di acqua e il liquido di lavaggio viene versato sul filtro di vetro sinterizzato ed estratto attraverso l'unità di filtrazione mediante applicazione di vuoto. Il materiale solido ottenuto viene essiccato in un essiccatore ad aria a 40 °C per circa 24 ore. La diffrazione di raggi X su polveri conferma che la Forma III di Formula (1) è ottenuta, e la termogravimetria accoppiata a spettroscopia infrarossa mostra che il campione contiene circa 6% di acqua, il che suggerisce che il materiale era leggermente sovraessiccato. Il contenuto di acqua trovato è ancora coerente con il risultato del test DVS poiché questo contenuto di acqua viene trovato in prossimità di 40% di UR.



Esempio 3.2. Caratterizzazione fisica del diidrato cristallino di
Forma III - Esempio di riferimento

Studi di caratterizzazione TGA e DSC iniziali della Forma III della base libera di Formula (1) sono stati effettuati usando un sistema Mettler Toledo TGA/DSC1 STARe con un autocampionatore a 34 posizioni. Campioni sono stati preparati usando crogioli di alluminio (40 μ l; forati). Tipicamente, 5 - 10 mg di campione sono stati caricati in un crogiolo di alluminio pre-pesato e mantenuti a 30 °C per 5 minuti, dopodiché riscaldati a 10 °C/min da 30 °C a 300 °C. Sul campione è stato mantenuto uno spurgo di azoto di 40 ml/min. Come controllo di idoneità del sistema, indio e zinco sono usati come riferimenti. Il software usato per la raccolta e la valutazione dei dati è il software STARe v10.00 build 2480. Non si applicano correzioni al termogramma. Un'ulteriore caratterizzazione DSC della Forma III è stata effettuata come descritto negli Esempi 1 e 2, usando una velocità di riscaldamento di 20 °C/min e una configurazione a recipiente aperto.

Il pattern PXRD in trasmissione della Forma III è mostrato in Figura 6 (campione PP502-P120). I seguenti picchi sono stati identificati nel pattern PXRD di Figura 6: 10,4, 12,6, 12,8, 17,9, 21,3, 21,7, 23,1, 24,2, 25,2, e 27,0° $2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. La Forma III mostra picchi distintivi (rispetto alle altre forme) a 7,6, 8,5, 12,6, 12,8, 14,6, 16,8 e 23,2° $2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. La natura debole del pattern PXRD indica che la Forma III è scarsamente cristallina. Un'immagine ottenuta mediante microscopia ottica della Forma III ha mostrato la presenza di parte di

materiale cristallino con disposizione irregolare.

Si è ottenuto lo spettro Raman della Forma III in modo simile a quanto descritto nell'Esempio 1.2 per la Forma I, mostrato in Figura 7, e presenta picchi (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$) a 1668, 1609, 1562, 1535, 1494, 1450, 1350, 1324, 1306, 1264, 1245, 1190, 997 e 272.

Si è ottenuto lo spettro IR della Forma III usando lo stesso metodo descritto nell'Esempio 1.2 per la Forma I. Lo spettro IR della Forma III (campione PP502-P120) presenta picchi caratteristici a 3446, 2248, 1667, 1592, 1531, 1504, 1428, 1349, 1305, 1243, 1189, 1158, 1089, 1001, 896, 862, 829, 780, 759, 736 e 699 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Un termogramma DSC della Forma III ha mostrato eventi a 147 °C (-23,7 J/g) e 215 °C (141 J/g), assegnati a perdita di solvente e fusione, rispettivamente. Usando un recipiente aperto e una velocità di riscaldamento di 20 °C/minuto, si è ottenuto un termogramma DSC che ha mostrato un endoterma a 128,6 °C. Mediante TGA, è stato osservato che la Forma III perde 4,8% di massa nell'intervallo di temperatura di 40-130 °C. Esperimenti TGA aggiuntivi hanno confermato che la Forma III perde 6,9% di massa nell'intervallo di temperatura di approssimativamente 25-200 °C.

Variazioni molto lievi del pattern PXRD della Forma III sono state riscontrate quando un campione di Forma III è stato sottoposto a essiccazione sottovuoto a 40 °C per circa 20 ore. Le variazioni erano



esigue e il pattern era ancora caratteristico della Forma III. Tuttavia, dopo l'essiccazione tra 90 e 100 °C in un essiccatore ad aria, è stato osservato un sostanziale spostamento di picco nel pattern PXRD.

Poiché era noto che la Forma III è un idrato metastabile, l'analisi DVS della Forma III (campione PP502-P120) è stata programmata per iniziare con umidità relativa crescente anziché l'umidità relativa decrescente. L'esperimento è iniziato a 0% di UR, che è stata aumentata a 95% di UR, diminuita a 0% di UR e, infine, aumentata nuovamente fino alla UR al 50% iniziale. Il DVS risultante mostra un contenuto di acqua massimo di circa 8,5% a 95% di UR e quasi tutta l'acqua è rimossa a 0% di UR. I risultati DVS, incluse le curve isotermitiche di assorbimento e desorbimento, mostrano che l'aumento di peso totale osservato tra 0% di UR e 80% di UR è circa di 8%, il che indica che la Forma III è igroscopica secondo la classificazione EP (si veda l'Esempio 1.2). Tra le curve di assorbimento e desorbimento si osserva poca isteresi. I risultati DVS, combinati con dati PXRD registrati prima e dopo gli esperimenti DVS, indicano che la Forma III è un idrato di canale non stechiometrico, anziché un diidrato, poiché il contenuto di acqua può variare continuamente sull'intero intervallo di umidità relativa. Come la Forma II, pertanto, anche la Forma III si comporta come idrato variabile.

Esempio 4. Forme preparate dalla Forma II (Forme IV-VIII della base libera di Formula (1)) - Esempio di riferimento

Oltre alla Forma II, che è un triidrato con un contenuto di acqua

tipico di circa 10%, sono stati studiati anche svariati altri derivati della Forma II. Per esempio, quando la Forma II viene disidratata al di sotto di circa 20% di umidità relativa (UR), si ottiene un'altra forma non solvata. Questa forma è indicata come Forma IV. La caratterizzazione della Forma IV è stata eseguita usando varie tecniche, incluse PXRD e DSC, che sono state effettuate come descritto precedentemente per la caratterizzazione delle Forme I e II.

Al fine di valutare lo stato della Forma II disidratata, un campione del triidrato (Forma II) è stato posto in un portacampione PXRD da 1,0 mm e mantenuto sotto azoto secco per tutta la notte. Dopo 24 ore, il portacampione è stato coperto con una cupola di poli (metil metacrilato) (PMMA) per mantenere il campione sotto azoto, ed è stato registrato un pattern PXRD. La Figura 8 illustra il pattern PXRD per la Forma IV. I seguenti picchi sono stati identificati nel pattern PXRD di Figura 8: 7,0, 8,5, 9,6, 10,3, 11,5, 11,9, 14,3, 14,9, 16,1, 17,0, 18,2, 19,3, 20,2, 20,6, 21,1, 21,6, 22,1, 22,8, 23,1, 24,0, 25,4, 26,9, 27,6, 28,4, 28,7, 29,3, 30,4, 31,8, 32,5, 33,5, 33,9 e 34,9 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

Poiché i risultati DVS della Forma II indicano un comportamento di assorbimento-desorbimento di tracce d'acqua reversibile (si veda sopra), sono stati effettuati test per confermare che la conservazione del campione di Forma II disidratata (ossia, la Forma IV) a circa 60% di UR portasse nuovamente alla forma triidrata (Forma II). Il riesame mediante PXRD conferma che la Forma IV disidratata si trasforma nella Forma II dopo una conservazione a 60% di UR per tre giorni.

L'analisi DSC della Forma IV è stata effettuata dopo che il campione è stato equilibrato sotto azoto secco per circa 60 ore. Il campione disidratato è stato esposto a velocità di rampa di temperatura di 10 °C/minuto o 20 °C/minuto fino ad approssimativamente 240 °C. Il termogramma DSC illustra un picco di fusione ad approssimativamente 159 °C con un'entalpia di fusione di circa 57 J/g. La decomposizione termica inizia immediatamente dopo la fusione.

Un'altra forma disidratata si è ottenuta quando la Forma II è stata essiccata a 100 °C sottovuoto per 2 ore. Questa forma è indicata come Forma V. Dall'analisi DVS della Forma II (si veda sopra) è noto che la Forma II perde acqua quando mantenuta sotto azoto secco. La Forma V è stata identificata durante lo studio del comportamento della Forma II dopo l'esposizione a temperature elevate. La caratterizzazione della Forma V è stata eseguita usando varie tecniche incluse: PXRD (Figura 9); TG-FTIR; DSC; e spettroscopia Raman. La Forma V mostra un pattern PXRD distinto e un nuovo spettro Raman, che sono stati effettuati come descritto precedentemente per la caratterizzazione delle Forme I e II. La spettroscopia ¹H NMR ha confermato l'integrità chimica del composto.

La Figura 9 mostra il pattern PXRD per la Forma V, e specificamente, il campione PP502-P44. I seguenti picchi sono stati identificati nel pattern PXRD di Figura 9: 4,5, 5,5, 5,9, 8,1, 10,6, 11,1, 11,9, 13,2, 17,9, 19,2, 19,9, 20,4, 21,3, 21,8, 22,6, 23,9, 24,3, 24,7, 25,0, 26,0, 26,3, 27,6, 28,6 e 30,0 °2θ ± 0,2 °2θ. Confronti tra il pattern

PXRD per la Forma II e il pattern PXRD per la Forma V mostrano picchi sovrapposti a 11,0, 19,3, 22,0, 22,5, 22,7, 23,9, 24,2, 24,6, 25,0, 26,1, 27,5 °2θ ± 0,2 °2θ per la Forma II e 11,1, 19,2, 21,8, 22,6, 23,9, 24,3, 24,7, 25,0, 26,0, 27,6 °2θ ± 0,2 °2θ per la Forma V con i seguenti picchi di Forma II che compaiono interamente o diminuiscono di intensità: 9,9, 11,0, 14,3, 18,1, 18,4, 18,9, 20,2, 22,0, 22,2, 22,5, 22,7, 22,9, 23,9, 24,6, 26,1 26,6, 28,2 e 32,7° 2θ.

La caratterizzazione termoanalitica della Forma V è stata eseguita usando tecniche analitiche TG-FTIR e DSC. Il termogramma TG-FTIR ha mostrato che il campione perde immediatamente circa 5% della sua massa d'acqua dopo un riscaldamento a una velocità da 10 °C al minuto a circa 100 °C - 120 °C. Il campione rimane stabile fino ad approssimativamente 200 °C, momento in cui si osserva un cambiamento di massa aggiuntivo di circa 17% a causa della decomposizione del campione, continuando a riscaldare fino ad approssimativamente da 340 °C a 350 °C.

La DSC di un campione di Forma V è stata eseguita in un recipiente per campione sigillato in condizioni ambiente. Il termogramma DSC mostrava un endoterma molto ampio con un picco a circa 125 °C. Una parte sostanziale di questo segnale endotermico corrisponde al rilascio di acqua dal campione nel volume vuoto del recipiente per campione sigillato ermeticamente, poiché il termogramma TG-FTIR mostra che il rilascio di acqua inizia appena al di sopra della temperatura ambiente, indicando che l'acqua è

probabilmente legata in modo lento nella struttura cristallina.



Lo spettro FT-Raman della Forma V nella regione di stampa digitale pertinente (da 200 cm^{-1} a 1800 cm^{-1}) presenta picchi (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2\text{ cm}^{-1}$) a 1686, 1613, 1574, 1540, 1504, 1488, 1349, 1314, 1288, 1266, 1193, 1153, 1052, 1027, 852, 775, 708, e 378. Differenze negli spettri Raman di Forma V e Forma II sono evidenziate dai picchi a 1686, 1574, 1488, 1314, 1266, 1193, 1153, 1052 e 708 cm^{-1} degli spettri della Forma V, tutti non presenti nello spettro di Forma II. Inoltre, picchi che appaiono a 1668, 1580, 1564, 1493, 1454, 1436, 1416, 1401, 1321, 1272, 1252, 1244, 1183, 1165, 1097, 1039, 996, 950, 871, 730, 645, 633, 352, 279, e 247 cm^{-1} dello spettro di Forma II non sono presenti negli spettri della Forma V, indicando la presenza di fasi distinte.

La cristallizzazione di Formula (1) in miscele di metanolo e metanolo-acqua (95:5) ha portato a campioni con nuovi pattern PXRD (campioni P502-P26 e PP502-P16, rispettivamente). La Forma VI era il prodotto di un esperimento di cristallizzazione condotto in una miscela di metanolo-acqua (95:5) a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (campione PP502-P16). La Forma VI presenta un pattern PXRD (Figura 10) e uno spettro Raman unici. Il confronto del pattern PXRD per la Forma VI con quelli della Forma I e Forma II mostra che né la Forma I né la Forma II sono presenti nel campione PP502-P16. I seguenti picchi caratteristici sono stati identificati nel pattern PXRD della Forma VI: 6,5, 6,8, 8,5, 11,8, 12,6, 13,5, 13,8, 14,8, 15,0, 16,2, 16,4, 16,9, 18,5, 19,4, 19,9, 20,6, 21,6,

22,1, 22,7, 23,6, 24,5, 24,8, 25,3, 26,0, 27,2, 27,8, 28,5, 28,9, 30,2, e 34,3 °2θ ± 0,2 °2θ. Picchi Raman caratteristici della Forma VI sono osservati a 1667, 1609, 1580, 1562, 1535, 1495, 1450, 1350, 1323, 1306, 1264, 1245, 1190, 1161, 1042, 997, 838, 762, 717, 630, e 272 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

La Forma VII si è ottenuta dall'esperimento di cristallizzazione condotto in metanolo puro, in cui il campione solido PP502-P26 ottenuto è precipitato quando conservato a 4 °C. La Forma VII presenta un pattern PXRD (Figura 11) e uno spettro Raman unici. Il confronto del pattern PXRD per la Forma VII con quelli della Forma I e Forma II mostra che né la Forma I né la Forma II sono presenti nel campione PP502-P26. I seguenti picchi caratteristici sono stati identificati nel pattern PXRD della Forma VII: 5,9, 6,5, 6,9, 7,8, 8,5, 9,6, 9,9, 10,4, 13,4, 13,9, 15,0, 16,5, 16,9, 17,7, 18,5, 19,0, 19,9, 20,8, 21,6, 22,4, 23,7, 23,9, 24,8, 25,2, 27,5, 28,3, e 30,0 °2θ ± 0,2 °2θ. Picchi Raman caratteristici della Forma VII sono osservati a 1687, 1663, 1604, 1578, 1561, 1534, 1486, 1462, 1443, 1397, 1361, 1348, 1327, 1305, 1251, 1234, 1184, 1163, 1037, 1001, 835, 774, 757, 717, 653, 606, 422, 348, e 268 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

La spettroscopia ¹H NMR mostra che le Forme sia VI sia VII contengono circa 0,7 equivalenti di metanolo e, secondo TG-FTIR, entrambe le forme contengono anche quantità sostanziali di acqua. Le Forme VI e VII sono verosimilmente solvati di metanolo metastabili o solvati-idrati misti (ossia metanolato-idrato). Esperimenti di

bilanciamento in sospensione condotti a 5 °C in metanolo con una miscela delle Forme I, VI e VII mostrano che la Forma I pura è stata recuperata dopo cinque giorni, suggerendo che anche in metanolo puro, la Forma I è probabilmente più stabile della Forma VI o della Forma VII.

La Forma VIII (campione PP502-P23) è un presunto disolvato di acido acetico. Il pattern PXRD della Forma VIII è mostrato in Figura 12. I seguenti picchi sono stati identificati nel pattern PXRD della Forma VIII: 4,3, 6,2, 6,6, 8,6, 11,8, 12,0, 12,4, 15,6, 17,2, 18,0, 18,6, 19,4, 20,0, 20,9, 22,1, 22,7, 23,7, 25,1, 26,0, 26,4 e $27,5^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. Picchi Raman caratteristici della Forma VIII sono osservati a 1681, 1580, 1529, 1497, 1456, 1437, 1349, 1313, 1302, 1268, 1243, 1193, 1157, 1047, 1025, 1006, 951, 896, 851, 775, e $264 \text{ cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

Una panoramica delle forme è presentata nella Tabella 5.

TABELLA 5. Panoramica delle forme cristalline della base libera di Formula (1).

Forma	Descrizione	Stabilità a temperatura ambiente	Commenti
Forma I	anidra, non solvata	stabile rispetto alla Forma II al di sotto di una $a_w = 0,6$	La stabilità a una a_w minore consente l'isolamento della Forma I da solventi organici

Forma II	triidrata	stabile rispetto alla Forma I al di sopra di una $a_w = 0,6$	Idrata variabile; contiene fino a circa 10% di acqua a livelli variabili
Forma III	diidrata	metastabile	Idrata variabile a energia elevata; contiene fino a circa 8% di acqua a livelli variabili
Forma IV	anidra, non solvata	metastabile	Forma II disidratata mediante basse tracce d'acqua
Forma V	anidra, non solvata	metastabile	Forma II disidratata mediante calore
Forma VI	metanolo solvato	metastabile	Solvato organico
Forma VII	metanolo solvato	metastabile	Solvato organico
Forma VIII	disolvato di acido acetico	metastabile	Solvato organico

[00206]

Esempio 5. Preparazione e caratterizzazione di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide - Esempio di riferimento

(S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide amorfa può essere preparata

mediante vari metodi, inclusa la procedura descritta nell'Esempio 6 della Pubblicazione di domanda di brevetto U.S. n. US 2014/0155385 A1 e la Pubblicazione di domanda di brevetto internazionale n. WO 2013/010868 A1, la cui divulgazione è incorporata nella presente per riferimento. L'evaporazione veloce del solvente da una soluzione in diclorometano o in una miscela di diclorometano con un cosolvente, ad esempio, acetone o un alcol, può essere usata per preparare la forma amorfa. Inoltre, la forma amorfa può essere prodotta mediante liofilizzazione di una soluzione acquosa che contiene una piccola quantità di un acido, ad esempio, acido formico o acido acetico, per solubilizzare la Forma I della base libera.

(S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide amorfa può essere preparata aggiungendo 3,0 ml di acqua a 200 mg della Forma I cristallina. In seguito, acido formico viene aggiunto a gocce finché la dissoluzione del solido è completa. Circa 50 microlitri di acido formico sono tipicamente sufficienti per ottenere la completa dissoluzione della Forma I. La soluzione trasparente viene filtrata in un pallone rotondo da 100 ml attraverso un filtro microporoso di politetrafluoroetilene (PTFE) da 0,22 μm (per esempio, usando una siringa) e la soluzione nel pallone rotondo viene liofilizzata. Il prodotto risultante (campione PP502-P107) è la forma amorfa. La caratterizzazione del prodotto dopo la liofilizzazione mediante diffrazione di raggi X su polveri rivela che si ottiene la forma amorfa. Il pattern PXRD risultante è mostrato in Figura

13. Non si osservano riflessioni di Bragg e il pattern PXRD è caratterizzato da una diffusione diffusa tipica di un materiale amorfo.

Lo spettro Raman di un campione di Formula (1) amorfa preparato in modo simile (campione PP502-P118) è mostrato in Figura 14. Lo spettro è distinto dagli spettri di altre forme cristalline di Formula (1). Picchi Raman caratteristici si osservano a 1674, 1608, 1577, 1537, 1492, 1449, 1348, 1307, 1238, 1188 e 992 cm^{-1} \pm 2 cm^{-1} .

Lo spettro IR di un campione di Formula (1) amorfa preparato in modo simile (numero di campione P502-P148), ottenuto con campionamento ATR, mostra uno spettro distinto dagli spettri di altre forme cristalline di Formula (1). Picchi IR caratteristici si osservano a 1668, 1605, 1505, 1428, 1302, 1237, 1200, 1153, 1091, 997, 944, 894, 863, 776, e 735 cm^{-1} \pm 4 cm^{-1} .

L'ulteriore caratterizzazione del prodotto dopo una liofilizzazione mediante TG-FTIR ha rivelato che è presente una piccola quantità di acido formico. Pertanto, il campione amorfo ottenuto è stato ulteriormente essiccato sottovuoto a 80 °C per circa 20 ore e ritestato mediante TG-FTIR e DSC (campione PP502-P107A). La TG-FTIR del campione essiccato ha mostrato che erano presente solo pochissima acqua e solvente residuo. La DSC della forma amorfa essenzialmente priva di solvente mostra una temperatura di transizione vetrosa a circa 130 °C con una ΔC_p di circa 0,3 J/(g · K). Una variazione minore della capacità termica a circa 120 °C può essere dovuta a un'altra frazione del materiale amorfo che può contenere tracce di solventi, mostrando

pertanto una temperatura di transizione vetrosa ridotta. La degradazione termica inizia al di sopra di circa 160 °C.

Il DVS per un campione di Formula (1) amorfa preparato in modo simile (campione P502-P148), incluse le curve di assorbimento e desorbimento, è stato effettuato esponendo i campioni a 0% di UR, diminuendo l'umidità fino a 0% di UR, aumentando l'umidità fino a 95% di UR e, infine, diminuendo l'umidità nuovamente fino alla UR al 50% iniziale. I risultati DVS, incluse le curve di assorbimento e desorbimento, mostrano che un aumento di acqua significativo si verifica durante l'assorbimento a partire da circa 20% di UR. L'aumento totale di acqua osservato tra 0% di UR e 80% di UR è circa 6% in peso, il che indica che la Forma II è igroscopica secondo la classificazione EP (si veda l'Esempio 1.2). Inoltre, la massa totale acquisita fino a 95% di UR è approssimativamente 13%, e la massa è irreversibilmente acquisita dopo l'assorbimento (con la diminuzione finale a 50% di UR che rimuove solo 5% del 10% di tracce d'acqua acquisite nell'intervallo da 50 a 95% di UR). I risultati illustrano la natura igroscopica della forma amorfa, incluso l'assorbimento irreversibile di una grande quantità di acqua dopo esposizione a UR elevata.

Esempio 6. Sali cristallini di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide -
Esempio di riferimento

Uno screening dei sali con la base libera di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-

il)benzammide (campione PP502-P1, preparato come descritto sopra) comprendeva esperimenti di cristallizzazione con 11 acidi differenti, inclusi: acido benzoico, acido benzensolfonico, acido citrico, acido fumarico, acido cloridrico, acido maleico, acido nicotinico, acido fosforico, saccarina, acido succinico e acido L-tartarico. Di questi, sono stati ottenuti campioni cristallini con acido citrico, acido fumarico, acido maleico, acido fosforico, acido succinico e acido L-tartarico.

Un sommario dei materiali di partenza per le preparazioni saline è fornito nella Tabella 6. A ciascun prodotto preparato è stato dato un identificatore del campione come segue: SP221-XXX-Pn (XXX= codice identificativo del sale, e n= numero esperimento/campione).

TABELLA 6. Sommario dei materiali di partenza per la preparazione del sale.

Composto	pK_a	m [g/mol]	Fonte/Numero	Designazione campione
Base libera	~5,7	465,5	Formula (1)/CML1476, Lotto CS13-083 HB873-98	PP502-P1
Acido fumarico	3,0 (4,4)	116,07	Sigma # 240745	SP221-FUM-Pn
Acido maleico	1,9 (6,2)	116.1	Fluka # 63180	SP221-MLE-Pn
Acido fosforico	2,0 (7,1)	98.0	Fluka # 79606	SP221-PO4-Pn

acido L-tartarico	3,0 (4,4)	150.09	Fluka # 95310	SP221-LTA-Pn
-------------------	--------------	--------	---------------	--------------

La caratterizzazione di sale fumarato, sale maleato, sale fosfato e sale L-tartrato è stata condotta usando spettroscopia ^1H NMR, TG-FTIR, DSC, assorbimento di vapore dinamico, microscopia ottica, cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC), diffrazione laser, massa approssimata e densità allo scuotimento e tecniche analitiche di solubilità acquosa.

Una volta ottenuti i cristalli di germinazione, si è mostrato che la formazione dei sali cristallini era riproducibile, i vari sali mostrando una buona tendenza alla cristallizzazione. Un sommario delle proprietà dei sali è descritto in dettaglio nella Tabella 7.

TABELLA 7. Sommario delle proprietà dei sali di Formula (1) rispetto alla base libera.

Sale	Solubilità (3 ore)	Punto di Fusione/Stabilità termica (Punto di decomposizione)	Comportamento in DVS	Valutazione della forma solida
Base libera	S < 1 mg/ml	215 °C, (Forma I)	La Forma I è non igroscopica; punto di fusione superiore	Forma I anidrata e Forma II triidrata

Fumarato	~ 1,8 mg/ml	~ 170 °C / 170 °C	Formazione reversibile di anidrato-idrato, $\Delta m \sim 0,8\%$ (20-80% di UR)	Sesquidrata, possibilmente molteplici forme
Maleato	2,2 mg/ml	~ 161 °C / 170 °C	Acqua legata più fortemente che nel fumarato, $\Delta m \sim 0,7\%$ (20-80% di UR)	Possibilmente sesquidrata, forme multiple
Fosfato	9,8 mg/ml	~ 157 °C / 180 °C	Formazione reversibile di anidrato-idrato, $\Delta m \sim 0,7\%$ (20-80% di UR)	Almeno due forme, anidrata e idrata
L-Tartrato	5,3 mg/ml	~ 158 °C / 165 °C	Non si disidrata completamente a 0% di UR, $\Delta m \sim 0,7\%$ (20-80% di UR)	Possibilmente sesquidrata, possibilmente molteplici forme

Poiché la solubilità è stata misurata dopo un tempo di bilanciamento di sole tre ore e senza regolazione del pH, la solubilità di tutti i sali è notevolmente aumentata rispetto alla base libera. Mentre la base libera è un farmaco scarsamente idrosolubile, i sali erano ben

solubili in acqua.

Tutti i sali descritti sopra sembrano formare idrati. Esperimenti di test preliminari consistevano di uno - tre esperimenti di bilanciamento in sospensione per ciascun sale. I risultati mostrano che tutti e quattro i sali possono esistere in molteplici forme solide, incluse forme polimorfiche.

Esempio 6.1. Forma A del sale fumarato di Formula (1) -
Esempio di riferimento

La forma cristallina A del sale fumarato di Formula (1) è stata preparata dissolvendo 16,294 g di base libera di PP502-P1 e 4,065 g di acido fumarico in 500 ml di acetone. La miscela è stata successivamente riscaldata fino a 50 °C, per cui sono stati aggiunti 50 ml di acqua. L'aggiunta di acqua ha portato a una soluzione trasparente, momento in cui la soluzione è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente agitando al contempo a circa 300 rpm. A temperatura ambiente, la soluzione trasparente è stata germinata con circa 20 mg di SP221-FUM-P5 e, dopo circa 48 ore, la sospensione è stata filtrata per ottenere un solido che è stato essiccato all'aria a 40 °C per circa 24 ore. La caratterizzazione iniziale del solido ottenuto ha determinato una resa di circa 13,6 grammi (circa 64%) a circa 99,9% di purezza, misurata mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).

La forma A del sale fumarato è stata caratterizzata mediante spettroscopia ¹H NMR; microscopia ottica, diffrazione laser di

Fraunhofer, PXRD in riflessione (Figura 15), TG-FTIR, DSC, e assorbimento di vapore dinamico (DVS).

L'identità chimica del sale fumarato è stata confermata mediante spettroscopia ^1H NMR. Lo spettro ^1H NMR del sale fumarato (campione SP221-FUM-P9) registrato in solvente acetone è coerente con un sale fumarato 1:1. Un picco in prossimità di 2,1 ppm ha indicato una traccia di acetone come solvente residuo che è ancora presente dopo l'essiccazione.

Il sale fumarato è stato ottenuto come particelle piccole. Poiché il sale ottenuto formava aggregati, il materiale essiccato è stato setacciato attraverso un setaccio da 500 μm prima dell'ulteriore caratterizzazione. Un esame mediante microscopia ottica a luce polarizzata è stato condotto disperdendo il composto in eptano e successivamente sonicando per un breve periodo di tempo sufficiente a disperdere i cristalli. La microscopia ottica ha rivelato particelle cristalline molto piccole che, dopo la setacciatura e la dispersione, sono ancora ampiamente agglomerate.

Un test di distribuzione granulometrica è stato condotto usando la diffrazione laser di Fraunhofer con valori di granulometria massima per un dato volume percentuale del campione mostrati nella Tabella 8 di seguito. Per esempio, la dimensione a x50 (42 μm) rappresenta il diametro massimo delle particelle al di sotto del quale esiste 50% del volume del campione. Questo parametro è noto anche come granulometria mediana in volume.

TABELLA 8. Risultati della distribuzione granulometrica per il sale fumarato.

Campione	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-FUM-P9a	3,6 μm	42 μm	329 μm

Monitorando questi tre parametri (x10, x50, x90), è possibile determinare se vi sono variazioni significative della granulometria principale, nonché variazioni agli estremi della distribuzione, eventualmente a causa della presenza di particelle fini o particelle o agglomerati sovradimensionati nella distribuzione granulometrica. I risultati sono coerenti con la microscopia ottica, mostrando una funzione di distribuzione granulometrica in cui è presente una proporzione significativa di agglomerati.

Tecniche di diffusione della luce statica, come diffrazione laser, forniscono una distribuzione ponderata in volume in cui il contributo di ciascuna particella nella distribuzione riguarda il volume di quella particella (equivalente alla massa se la densità è uniforme). Questo è estremamente utile poiché la distribuzione rappresenta la composizione del campione in termini del suo volume/massa.

La PXRD, insieme alla microscopia ottica, ha confermato la natura cristallina del sale. Il pattern PXRD in riflessione del campione di sale fumarato SP221-FUM-P9 è illustrato in Figura 15 e mostra i seguenti picchi rappresentativi a: 4,9, 5,4, 7,0, 9,8, 10,8, 11,5, 12,1, 14,1, 16,1, 16,6, 17,8, 18,5, 19,4, 20,3, 20,5, 21,8, 22,1, 22,5, 23,1, 24,0, 24,8, 26,6, 26,8, 27,3, e $28,2 \pm 0,2$ °2 θ .

La caratterizzazione termooanalitica della Forma A del sale fumarato è stata eseguita usando TG-FTIR (campione SP221-FUM-P9) e DSC (campione SP221-FUM-P9a). L'analisi TG-FTIR di un campione di Formula (1) cristallina di rappresentativa ha rivelato una perdita di massa di circa 4,5%; questo essendo essenzialmente attribuibile alla perdita di acqua. La quantità di acqua attribuita alla perdita di massa corrisponde strettamente al contenuto teorico di acqua di un sesquidrato a 4,6%. La perdita di massa di circa 12,75% dopo un riscaldamento, successivamente, fino ad approssimativamente 300 °C era dovuta principalmente alla decomposizione. La DSC dello stesso campione mostra un picco endotermico in prossimità di 162 °C che si discosta dalla basale al di sopra di circa 120 °C e aumenta lentamente. Tuttavia, a causa di una degradazione esotermica che inizia a circa 170 °C, l'entalpia di fusione non può essere valutata in modo affidabile.

Il comportamento igroscopico del sale fumarato (campione SP221-FUM-P9a) è stato misurato usando l'assorbimento di vapore dinamico. I risultati dell'assorbimento e desorbimento DVS indicano che il sale perde quasi tutto il contenuto di acqua in condizioni di bassa umidità, raggiungendo al contempo una saturazione massima di approssimativamente 6% a una UR di circa 95%. La variazione di contenuto di acqua tra 20% e 80% di UR è circa 0,8%. Analogamente alle isoterme di adsorbimento-desorbimento di tracce d'acqua precedentemente descritte, i campioni sono stati esposti a 50% di UR, riducendo l'umidità a 0% di UR, aumentando l'umidità fino a 95% di UR

e, infine, diminuendo l'umidità nuovamente fino alla UR al 50% iniziale.

Esempio 6.2. Forma A del sale maleato di Formula (1) -

Esempio di riferimento

Il sale maleato di Forma A cristallina (campione SP221-MLE-P9) è stato preparato dissolvendo 16,296 g di base libera di PP502-P1 in a 350 ml di acetone e 35 ml di miscela di acqua. La miscela è stata successivamente riscaldata fino a 50 °C, il che ha portato a una soluzione trasparente. In seguito, sono stati aggiunti 20 ml di una soluzione acquosa contenente 4,043 g di acido maleico. Inoltre, il recipiente e la pipetta che conteneva la soluzione acquosa di acido maleico sono stati lavati con 1,0 ml di acqua e la soluzione di lavaggio è stata anch'essa inclusa nella miscela. La soluzione è stata lasciata raffreddare durante agitazione a circa 300 rpm. A circa 45 °C, la soluzione trasparente è stata germinata con circa 20 mg di SP221-MLE-8 e ulteriormente raffreddata fino ad approssimativamente 20 °C. Dopo circa 24 ore, la sospensione è stata filtrata per ottenere un solido che è stato essiccato all'aria a 40 °C per circa 20 ore. La caratterizzazione iniziale del solido ottenuto ha determinato una resa di circa 14,1 grammi (circa 66%).

Il sale maleato è stato caratterizzato mediante spettroscopia ^1H NMR; microscopia ottica, diffrazione laser di Fraunhofer, PXRD in riflessione (Figura 16), TG-FTIR, DSC e DVS.

L'identità chimica del sale maleato è stata confermata mediante spettroscopia ^1H NMR. Lo spettro ^1H NMR del sale maleato (campione

SP221-MLE-P9) registrato in solvente acetone è coerente con un sale maleato 1:1. Analogamente all'analisi ^1H NMR del sale fumarato di Formula (1), una traccia esigua (0,7%) di acetone come solvente residuo è anch'essa presente negli spettri.

L'esame mediante microscopia ottica polarizzata ha rivelato che il sale maleato è costituito da piccole particelle cristalline che variano di dimensione da circa 10 μm a circa 100 μm . Il sale maleato preparato era sostanzialmente più grande delle particelle del sale fumarato (discusso sopra), del sale fosfato e del sale L-tartrato (ultimi due discussi di seguito). La polvere fine mostrava proprietà di flusso favorevoli e non era necessaria alcuna setacciatura dopo l'essiccazione.

Un test di distribuzione granulometrica è stato condotto usando la diffrazione laser di Fraunhofer con valori di granulometria massima per un dato volume percentuale del campione mostrati nella Tabella 9 di seguito.

TABELLA 9. Risultati della distribuzione granulometrica per il sale maleato.

Campione	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-MLE-P9	10,7 μm	38 μm	73 μm

La funzione della distribuzione granulometrica per il sale maleato ha confermato l'analisi di microscopia ottica nell'illustrare una distribuzione granulometrica che varia approssimativamente tra 10 μm e 100 μm .

La diffrazione di raggi X su polveri, insieme alle immagini di

microscopia ottica, ha confermato la natura cristallina del sale. Il pattern PXRD in riflessione del campione di sale maleato SP221-MLE-P9 è illustrato in Figura 16 e mostra i seguenti picchi rappresentativi a: 5,3, 9,8, 10,6, 11,6, 13,5, 13,8, 13,9, 14,3, 15,3, 15,6, 15,8, 15,9, 16,6, 17,4, 17,5, 18,7, 19,3, 19,6, 19,8, 20,0, 20,9, 21,3, 22,1, 22,3, 22,7, 23,2, 23,4, 23,7, 23,9, 24,5, 24,8, 25,2, 25,6, 26,1, 26,4, 26,7, 26,9, 27,1, 27,6, 28,8, 29,5, 30,0, 30,3, 30,9, 31,5, 31,9, 32,5, 34,0, e 35,1 °2θ ± 0,2 °2θ.

La caratterizzazione termooanalitica del sale maleato è stata eseguita usando TG-FTIR e DSC. L'analisi TG-FTIR del campione maleato di Formula (1) cristallina rappresentativo ha rivelato una perdita di massa di circa 5,3%; questo essendo essenzialmente attribuibile alla perdita di acqua. La quantità di acqua attribuita alla perdita di massa corrisponde strettamente al contenuto teorico di acqua di sesquidrati a 4,6%. Tuttavia, non è stato rilevato acetone. La perdita di massa di circa 10,1% dopo un riscaldamento, successivamente, fino ad approssimativamente 300 °C era dovuta principalmente alla decomposizione. La DSC dello stesso campione mostra un picco endotermico in prossimità di 174 °C, seguito da decomposizione.

Il comportamento igroscopico del sale maleato (campione SP221-MLE-P9) è stato misurato usando l'assorbimento di vapore dinamico. I risultati dell'assorbimento e desorbimento DVS indicano che il sale perde molto poca acqua a 0% di UR. Il campione raggiunge una saturazione massima di approssimativamente 5,8% a una UR di circa

95%. La variazione di contenuto di acqua tra 20% e 80% di UR è circa 0,5%. I campioni sono stati esposti a 0% di UR, diminuendo l'umidità fino a 0% di UR, aumentando l'umidità fino a 95% di UR e, infine, diminuendo l'umidità nuovamente fino alla UR al 50% iniziale.

Esempio 6.3. Forma A del sale fosfato di Formula (1) - Esempio di riferimento

La preparazione della Forma A del sale fosfato di Formula (1) è stata realizzata come segue. In primo luogo, 350 ml di acetone e 35 ml di acqua sono stati aggiunti a 16,2998 grammi (35 mmol) della base libera PP502-P1 di Formula (1). A seguito di un riscaldamento fino a 50 °C si è ottenuta una soluzione trasparente. A questa soluzione sono stati aggiunti lentamente 2,5 ml di acido fosforico 85-90% (35 mmol). La soluzione è stata lasciata raffreddare durante agitazione a circa 300 rpm. A circa 38 °C, è stata osservata la cristallizzazione senza germinazione. Dopo circa 80 ore, la sospensione è stata filtrata e il solido ottenuto è stato essiccato all'aria a 40 °C per circa 24 ore. La resa era di circa 20,48 grammi (97%). Il sale fosfato è stato ottenuto come particelle piccole. Dopo l'essiccazione, il materiale formava agglomerati e si osservavano particelle molto fortemente agglomerate. Al fine di ottenere una polvere a flusso libero per il test di densità allo scuotimento e l'analisi granulometrica, il materiale essiccato è stato setacciato attraverso un setaccio da 500 µm. Il campione dopo l'essiccazione è stato denominato SP221-PO4-P5 e il campione dopo la setacciatura è stato denominato SP221-PO4-P5a.

La caratterizzazione iniziale del solido ottenuto ha determinato una purezza di circa 99,9%, misurata mediante HPLC. In base a DVS e TG-FTIR, è probabile che la forma di sale fosfato prodotta sia un diidrato avente un contenuto di fosforo teorico di circa 5,2%. Il contenuto di fosforo è stato esaminato mediante spettrometria di emissione ottica al plasma accoppiato induttivamente (ICP-ALLO) ed è stato determinato che era approssimativamente 4,7%, il che è leggermente al di sotto del contenuto richiesto per un sale 1:1.

Il sale fosfato è stato caratterizzato mediante spettroscopia ^1H NMR; microscopia ottica, diffrazione laser di Fraunhofer, PXRD in riflessione (Figura 17), TG-FTIR, DSC e DVS.

L'identità chimica del sale fosfato (campione SP221-PO4-P5) è stata confermata, mediante spettroscopia ^1H NMR, coerente con la struttura di un sale fosfato cristallino. L'esame mediante microscopia ottica polarizzata ha rivelato che il sale fosfato era un materiale cristallino costituito da particelle molto piccole, la maggior parte delle quali era inferiore a circa 10 μm di diametro. Le particelle erano chiaramente a forma di ago nel campione SP221-PO4-P4.

Un test di distribuzione granulometrica è stato condotto usando la diffrazione laser di Fraunhofer con valori di granulometria massima per un dato volume percentuale del campione mostrati nella Tabella 10 di seguito.

TABELLA 10. Risultati della distribuzione granulometrica per il sale fosfato.

Campione	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-PO4-P5	2,8 μm	29 μm	191 μm

La PXR, insieme all'analisi di microscopia ottica, ha confermato la natura cristallina del sale. Il pattern PXR in riflessione di un campione prelevato da un lotto da 20 grammi (campione SP221-PO4-P5) del sale fosfato è raffigurato nella Figura 17 e mostra i seguenti picchi rappresentativi a: 4,5, 6,0, 7,2, 10,4, 12,0, 12,5, 13,1, 14,3, 15,5, 17,4, 18,0, 18,3, 18,9, 19,3, 20,2, 20,5, 20,9, 21,4, 21,9, 22,0, 22,6, 22,9, 23,1, 23,3, 24,2, 24,6, 25,0, 25,7, 26,2, 26,4, 26,9, 27,3, 27,5, 29,3, 30,0, 30,3, 30,5, 30,9, 31,2, 31,9, e 35,7 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$. Il sale fosfato esiste in almeno due diverse forme cristalline, una forma anidra della struttura cristallina e una forma idrata della struttura cristallina, ciascuna forma presentando pattern PXR unici. I picchi di Figura 17 corrispondono alla forma idrata del sale fosfato cristallino.

La caratterizzazione termoanalitica del sale fosfato è stata eseguita usando TG-FTIR e DSC. L'analisi TG-FTIR del sale fosfato di Formula (1) cristallina (campione SP221-PO4-P1) ha rivelato una perdita di massa di circa 5,9%; questo essendo essenzialmente attribuibile alla perdita di acqua. Questo risultato suggerisce che la forma cristallina del fosfato ottenuta è un diidrato dato che 5,9% di contenuto di acqua del campione di fosfato è prossimo al contenuto atteso per un diidrato (6,0%). Perdite di massa aggiuntive dopo il riscaldamento, successivamente, fino ad approssimativamente 250 $^{\circ}\text{C}$ erano dovute principalmente alla decomposizione. La DSC dello stesso

campione mostra un picco endotermico ampio prossimo a 138 °C. L'entalpia di fusione è stimata a circa 134 J/g.

Il comportamento igroscopico del sale fosfato (campione SP221-PO4-P1) è stato misurato usando DVS. I risultati dell'assorbimento e desorbimento DVS indicano che il sale perde quasi tutto il contenuto di acqua in condizioni di bassa UR, raggiungendo al contempo una saturazione massima di approssimativamente 6,6 % a una UR di circa 95%. L'analisi DVS suggerisce che il sale fosfato forma un diidrato con un contenuto di acqua di circa 6,0%. I campioni sono stati esposti a 0% di UR, diminuendo l'umidità fino a 0% di UR, aumentando l'umidità fino a 95% di UR e, infine, diminuendo l'umidità nuovamente fino alla UR al 50% iniziale.

Esempio 6.4. Forma A del sale L-tartrato di Formula (1) -
Esempio di riferimento

Il sale L-tartrato di Forma A cristallina di Formula (1) è stato preparato dissolvendo 16,298 g di base libera di PP502-P1 in 350 ml di acetone e 35 ml di miscela di acqua. La miscela è stata successivamente riscaldata fino a 50 °C, il che ha portato a una soluzione trasparente. Successivamente, 20 ml di una soluzione acquosa contenente 5,257 g di acido L-tartarico sono stati aggiunti alla soluzione trasparente. La soluzione è stata lasciata raffreddare fino ad approssimativamente 20 °C agitando a circa 300 rpm. Dopo circa 24 ore, la sospensione è stata filtrata per ottenere un solido che è stato essiccato all'aria a 40 °C per circa 20 ore. La caratterizzazione iniziale

del solido ottenuto ha determinato una resa di circa 20,1 grammi (circa 89%) a circa 99,78% di purezza, misurata mediante HPLC.

Il sale L-tartrato è stato caratterizzato mediante spettroscopia ^1H NMR; microscopia ottica, diffrazione laser di Fraunhofer, PXRD in riflessione (Figura 18), TG-FTIR, DSC e DVS.

L'identità chimica del sale L-tartrato (campione SP221-LTA-P8) è stata confermata, mediante spettroscopia ^1H NMR, coerente con la struttura di un sale L-tartrato cristallino 1:1. Il sale L-tartrato è stato ottenuto come materiale cristallino; l'esame mediante microscopia ottica polarizzata ha rivelato che il materiale è costituito da aghi fini parzialmente agglomerati che variano di lunghezza da circa 2 a circa 40 μm e larghezze dell'ordine di pochi μm .

Un test di distribuzione granulometrica è stato condotto usando la diffrazione laser di Fraunhofer con valori di granulometria massima per un dato volume percentuale del campione mostrati nella Tabella 11 di seguito.

TABELLA 11. Risultati della distribuzione granulometrica per il sale L-tartrato.

Campione	x10	x50 (mediana)	x90
SP221-LTA-P8a	1,7 μm	17 μm	59 μm

La PXRD, insieme alle immagini di microscopia ottica di Figura 18, ha confermato la natura cristallina del sale. Il pattern PXRD in riflessione del campione di sale L-tartrato SP221-LTA-P8 è illustrato in Figura 18 e mostra i seguenti picchi rappresentativi a: 4,6, 5,5, 7,2, 9,3,

10,7, 10,9, 11,8, 14,3, 14,9, 16,4, 17,0, 17,7, 19,2, 19,4, 19,5, 20,3, 21,6, 22,4, 23,3, 23,8, 24,3, 24,5, 24,7, 25,1, 25,6, 26,8, 27,2, 27,8, 28,4, 28,7, 29,0, 29,5, 30,0, 30,9, 31,6, 32,1, 32,4, 33,0, 33,5, e $33,9 \text{ } ^\circ\text{20} \pm 0,2 \text{ } ^\circ\text{20}$.

La caratterizzazione termoanalitica del sale L-tartrato è stata eseguita usando TG-FTIR e DSC. L'analisi TG-FTIR del sale L-tartrato di Formula (1) cristallina (campione SP221-LTA-P8) ha rivelato una perdita di massa di circa 4,8%; questo essendo essenzialmente attribuibile alla perdita di acqua. Questa quantità di acqua è prossima alla quantità teorica di acqua per un sesquidrato, ossia 4,3%. Una perdita di massa aggiuntiva di circa 20% dopo riscaldamento, successivamente, fino ad approssimativamente 300 °C era dovuta principalmente alla decomposizione. La DSC del campione SP221-LTA-P8a mostra un picco endotermico in prossimità di 156,5 °C con un'entalpia di fusione di circa 40,70 J/g.

Il comportamento igroscopico del sale L-tartrato (campione SP221-LTA-P8a) è stato misurato usando l'assorbimento di vapore dinamico. I risultati dell'assorbimento e desorbimento DVS indicano che il sale perde acqua in condizioni di bassa umidità, raggiungendo al contempo una saturazione massima di approssimativamente 5,4% a una UR di circa 95%. Inoltre, da un contenuto di acqua iniziale di circa 4,8% a 50% di UR (confermato mediante TG-FTIR, che ha mostrato un contenuto di acqua totale di circa 4,8%), l'analisi DVS suggerisce che circa 30% di questa acqua è stato rimosso all'interno della scala



temporale della misurazione. La variazione di contenuto di acqua tra 20% e 80% di UR è circa 0,7%. Le isoterme di adsorbimento-desorbimento di tracce d'acqua sono state preparate in modo simile a quanto descritto sopra.

Esempio 6.5. Forma A del sale citrato di Formula (1) - Esempio di riferimento

L'acido citrico ha la formula molecolare $C_6H_8O_7$ e una massa molecolare di 192,12 g/mol. I valori di pK_a dei tre gruppi di acido carbossilico nell'acido citrico sono 2,93, 4,76 e 6,40. La cristallizzazione del sale citrato da miscele di acetone-acqua ha portato a campioni che contenevano quantità significative di acetone e di acqua, mentre la cristallizzazione da 1-propanolo ha portato a un campione che conteneva una grande quantità di 1-propanolo, indicando che entrambe le fasi possono essere solvati.

Il campione SP221-CIT-P4 è stato preparato come segue: 941 mg di base libera di Formula (1) (PP502-P1) e 384,5 mg di acido citrico sono stati dissolti in 22 ml di acetone-acqua (10:1) riscaldando la miscela fino a 50 °C. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, si è formata una sospensione diluita che è stata agitata in una fiala aperta per consentire a parte del solvente di evaporare. È stato aggiunto altro acetone, il che ha portato a una sospensione più densa e che è stata filtrata dopo agitazione a temperatura ambiente per circa un'ora. Circa 436 mg di un prodotto solido bianco sono stati ottenuti dopo essiccazione all'aria a temperatura ambiente. Il prodotto

dall'esperimento SP221-CIT-P4 è stato ulteriormente essiccato all'aria a 40 °C per 24 ore per fornire il campione SP221-CIT-P4A. I lotti prodotti mediante le procedure usate per SP221-CIT-P4 e SP221-CIT-P4A possono essere, inoltre, esposti a umidità controllata al fine di scambiare acetone con acqua.

Il campione SP221-CIT-P6 è stato preparato come segue: 466 mg di base libera di Formula (1) (PP502-P1) e 96,4 mg di acido citrico sono stati dissolti in 10 ml di 1-propanolo 10:1 riscaldando la miscela fino a 70 °C. A 50 °C, la miscela è stata germinata con SP221-CIT-P4 e lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente. Si è formata una sospensione da cui il prodotto solido è stato rimosso per filtrazione dopo agitazione a temperatura ambiente per circa un'ora. Circa 660 mg di un prodotto solido bianco sono stati ottenuti dopo essiccazione all'aria a temperatura ambiente. I lotti prodotti mediante la procedura usata per SP221-CIT-P6 possono essere, inoltre, esposti a umidità controllata al fine di scambiare 1-propanolo con acqua.

La spettroscopia ^1H NMR del prodotto dall'esperimento SP221-CIT-P4 ha rivelato un rapporto tra Formula (1) e acido citrico di circa 2:1 (1,83), riferito alla somma degli integrali per i 10 protoni aromatici di Formula (1) divisa per l'integrale dai quattro protoni dai gruppi metilene dell'acido citrico tra 2,6 e 2,9 ppm. Il rapporto acido citrico:Formula (1) di 1:2 può essere una fase contenente sia acido citrico ionizzato (come in un sale) sia acido citrico non ionizzato (come in un co-cristallo). La formula molecolare di un sale o co-cristallo 2:1 di Formula (1) con acido

citrico è $2 \cdot [C_{26}H_{23}N_7O_2] + C_6H_8O_7$ con un peso molecolare di 1123,1 g/mol. In un tentativo iniziale di convertire l'acetone solvato in un campione idrato, SP221-CIT-P4 è stato sottoposto a bilanciamento in sospensione in acqua a 25 °C per 24 ore, il che ha determinato la conversione nella Forma III della base libera di Formula (1) (il diidrato).

I pattern PXRD in riflessione del sale citrato ottenuto da acetone-acqua (SP221-CIT-P4) e 1-propanolo (SP221-CIT-P6) sono mostrati in Figura 19 e Figura 20, rispettivamente. Un confronto dei due pattern PXRD illustra che i pattern PXRD delle due forme mostrano similarità notevoli, indicando un reticolo cristallino simile per entrambi i campioni e, pertanto, i due motivi rappresentano probabilmente due diversi stati di solvatazione di una singola struttura ospite comprendente citrato e Formula (1). Entrambi i campioni sono, pertanto, designati Forma A. La Forma A del sale citrato di Formula (1) può includere anche altri piccoli solventi organici e acqua in quantità variabili. I seguenti picchi sono caratteristici della Forma A del sale citrato di Formula (1), quando nello stato di solvatazione approssimato del campione SP221-CIT-P4a: 6,1, 6,6, 7,2, 7,9, 8,3, 9,7, 10, 8, 11,1, 12,2, 13,5, 14,1, 14,9, 15,9, 16,6, 17,5, 17,9, 18,3, 18,9, 19,5, 20,3, 21,5, 21,9, 22,7, 23,8, 24,4, 24,8, 26,1, 26,3, 27,2, 27,4, 27,9, e 29,3 °2θ ± 0,2 °2θ. I seguenti picchi sono caratteristici della Forma A del sale citrato di Formula (1), quando nello stato di solvatazione approssimato del campione SP221-CIT-P6: 6,1, 6,4, 7,2, 7,9, 8,2, 9,6, 10,9, 12,0, 13,4, 13,8, 14,0, 14,9, 15,5, 15,9, 16,4, 17,3, 17,5, 18,2, 18,6, 19,3,

20,1, 20,4, 21,4, 21,6, 22,6, 23,2, 23,7, 24,3, 26,0, 27,0, 27,3, 27,8, e 29,2 °2θ ± 0,2 °2θ. I picchi caratteristici precedenti possono variare nella loro posizione con lo scambio di solvente in questa fase cristallina.

La spettroscopia Raman della Forma A del sale citrato di Formula (1) è stata effettuata sui campioni SP221-CIT-P4a e SP221-CIT-P6. Si è ottenuto lo spettro Raman di un campione essiccato di SP221-CIT-P4, denominato campione SP221-CIT-P4a. Picchi Raman caratteristici della Forma A del sale citrato di Formula (1), quando nello stato di solvatazione approssimato del campione SP221-CIT-P4a, si osservano a 3068, 2921, 2237, 1682, 1612, 1551, 1505, 1436, 1332, 1313, 1241, 1188, 993 e 712 (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$). Si è ottenuto anche lo spettro Raman per il campione SP221-CIT-P6. Picchi Raman caratteristici della Forma A del sale citrato di Formula (1), quando nello stato di solvatazione approssimato del campione SP221-CIT-P6, si osservano a 3055, 2920, 2237, 1685, 1612, 1549, 1504, 1436, 1333, 1313, 1286, 1240, 1187, 993 e 712 (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$). I picchi caratteristici precedenti possono variare nella loro posizione con lo scambio di solvente in questa fase cristallina.

La spettroscopia ATR-IR della Forma A del sale citrato di Formula (1) è stata effettuata sui campioni SP221-CIT-P4a e SP221-CIT-P6. Si è ottenuto lo spettro IR del campione SP221-CIT-P4a. Picchi IR caratteristici della Forma A del sale citrato di Formula (1), quando nello stato di solvatazione approssimato del campione SP221-CIT-P4a, si osservano a 3396, 2234, 1673, 1606, 1537, 1428, 1304, 1264, 1200,

1092, 1008, 893, 866, 773, 735 e 693 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$). È stato ottenute anche lo spettro IR del campione SP221-CIT-P6. Picchi IR caratteristici della Forma A del sale citrato di Formula (1), quando nello stato di solvatazione approssimato del campione SP221-CIT-P6, si osservano a 3403, 2960, 2872, 2233, 1678, 1608, 1582, 1538, 1434, 1403, 1352, 1302, 1253, 1201, 1094, 1055, 1010, 967, 895, 813, 772, 750, 735, 693 e 612 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$). Le posizioni di picchi caratteristici precedenti possono variare nella loro posizione con lo scambio di solvente in questa fase cristallina.

L'analisi TG-FTIR è stata eseguita su tre diversi campioni del sale citrato. Il termogramma TG-FTIR del campione SP221-CIT-P4 ha mostrato che il campione contiene sia acqua sia acetone e che l'acqua è legata in modo meno forte rispetto all'acetone. Un campione di SP221-CIT-P4 è stato conservato per tre mesi dopo la preparazione in condizioni ambiente e indicato come campione SP221-CIT-P3. L'analisi TG-FTIR di questo campione ha rivelato che la maggior parte della perdita di massa era dovuta all'acqua. Questo fornisce la prova del fatto che l'acetone è stato lentamente sostituito da acqua nel tempo, con un aumento di contenuto di acqua a circa 8%. Questa osservazione è supportata dalla scoperta che, tipicamente, la perdita di massa si verifica in due fasi. Nella prima fase, l'acqua e parte dell'acetone vengono rilasciati e, nella seconda fase, la perdita di massa è prevalentemente dovuta all'acetone. Il contenuto teorico di acetone sale acetone monosolvato con il rapporto Formula (1):citrato di 2:1 sarebbe

5% e il contenuto teorico di acqua per un pentaidrato sarebbe 8%. Pertanto, oltre a un acetone solvato (o un acetato solvato-idrato misto), può essere preparato uno stato idrato puro di Forma A del sale citrato di Formula (1). Il risultato dell'analisi TG-FTIR dell'1-propanol solvato ha mostrato due fasi distinte, il che può indicare che esiste una seconda fase di 1-propanol solvato con una stechiometria diversa.

Il campione SP221-CIT-P3 di Forma A del sale citrato di Formula (1) è stato selezionato per un test DSC in un recipiente per campione chiuso. ed è stato osservato che presenta un ampio endoterma che ha oscurato la fusione. Per un secondo esperimento DSC, il campione citrato SP221-CIT-P3 è stato conservato sotto 33% di umidità relativa per diversi giorni di bilanciamento. Il termogramma DSC risultante non mostrava alcuna differenza significativa. Il massimo del segnale endotermico è a 90 °C; Tuttavia, la deviazione dalla basale inizia anche al di sotto di 60 °C e un margine pronunciato si trova a circa 82 °C. Un'esoterma che inizia a circa 140 °C è probabilmente il risultato della degradazione termica.

L'analisi di assorbimento dinamico di vapore (DVS) del sale citrato (campione SP221-CIT-P4) mostra che la forma di sale data assorbe una quantità sostanziale di acqua in condizioni di umidità elevata (fino a 12% nell'intervallo da 0 a 100% di UR) e che, al termine del test, il contenuto di acqua è circa 7,5% in peso. È probabile che parte dell'acetone che è stata trovata mediante TG-FTIR sia stata scambiata con acqua durante il test DVS.

Esempio 6.6. Forma A e altre forme del sale gentisato di
Formula (1) - Esempio di riferimento

L'acido gentisico ha il nome chimico di acido 2,5-diidrossibenzoico, la formula molecolare $C_7H_6O_4$ e una massa molecolare di 154,12 g/mol. La pK_a dell'acido gentisico è 2,93. Il sale gentisato è stato prima identificato nello screening descritto sopra (campione SP221-GEN-P1) ed è stato riprodotto mediante cristallizzazione da una miscela di acetone-acqua come emisolvato di acetone (SP221-GEN-P2). Il bilanciamento in sospensione dell'emisolvato di acetone in acetonitrile ha portato a un campione cristallino che non conteneva solvente organico residuo (campione SP221-GEN-P3). La TG-FTIR ha mostrato che questo campione conteneva circa 2,6% di acqua. Questo risultato è ben conforme al contenuto teorico di acqua per un gentisato monoidrato di 2,8%.

Il campione SP221-GEN-P1 è stato preparato come segue: 235,6 mg della base libera di Formula (1) (PP502-P1, 0,5 mmol) sono stati dissolti in 4,0 ml di acetone-acqua (9:1) a 57 °C e sono stati aggiunti 5,0 ml di una soluzione madre 0,1 M di acido gentisico in acetone. La miscela è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente e agitata mentre il coperchio è stato mantenuto aperto per lasciare evaporare l'acetone. Dopo aver ottenuto una sospensione con un volume di circa 3 ml, il prodotto solido è stato rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-GEN-P2 è stato preparato come segue: 470

mg della base libera di Formula (1) (PP502-P1, 0,5 mmol) sono stati dissolti in 11,0 ml di una soluzione madre 0,1 M di acido gentisico in acetone. 2,0 ml di acqua sono stati aggiunti a questa soluzione. La soluzione è stata germinata con una piccola quantità di SP221-GEN-P1 e agitata in una fiala aperta per consentire l'evaporazione del solvente. La soluzione è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente ed è stata agitata mentre il coperchio è stato lasciato aperto per continuare a consentire all'acetone di evaporare. Dopo aver ottenuto una sospensione con un volume di circa 3 ml, il prodotto solido è stato rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-GEN-P3 è stato preparato come segue: 2,0 ml di acetonitrile sono stati aggiunti a 58 mg del campione SP221-GEN-P2, e la sospensione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per tre giorni. I solidi sono stati filtrati ed essiccati all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-GEN-P4 è stato preparato come segue: 466 mg di PP502-P1 (0,5 mmol) e 154 mg di acido gentisico dissolti in 10,0 ml di 2-propanolo mediante riscaldamento a 70 °C. Per facilitare la dissoluzione, sono stati aggiunti 0,2 ml di acido formico. La soluzione è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente ed è stata germinata con SP221-GEN-P2 a circa 45 °C, e sono stati aggiunti 5,0 ml di 2-propanolo. Entro circa quattro ore si è ottenuta una sospensione da cui il prodotto solido è stato rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Un lotto aggiuntivo (campione SP221-GEN-P5) del sale gentisato di monoidrato di Formula (1) è stato preparato mediante un metodo simile a quello usato per preparare SP221-GEN-P3. A circa 400 mg di campione SP221-GEN-P4 sono stati aggiunti 4,2 ml di acetonitrile contenente 5% di acqua. La sospensione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per un giorno. I solidi sono stati rimossi per filtrazione ed essiccati all'aria a temperatura ambiente. Il campione SP221-GEN-P5 A è stato preparato mantenendo il campione SP221-GEN-P5 a 33% di umidità relativa per due settimane.

Un secondo idrato, possibilmente un diidrato, è stato ottenuto come residuo solido dopo un test di solubilità (campione SP221-GEN-P6).

La spettroscopia ^1H NMR del prodotto dell'esperimento SP221-GEN-P5 ha rivelato un rapporto tra base libera di Formula (1) e acido gentisico di 1:1, riferito alla somma dei segnali integrati di quattro protoni aromatici di Formula (1) tra 7,5 e 8,5 ppm e due protoni aromatici di acido gentisico che appaiono tra 6,6 e 7,0 ppm. Lo spettro ^1H NMR ha mostrato anche che il materiale ottenuto è essenzialmente privo di solvente organico.

Inoltre, il campione SP221-GEN-P5 è stato analizzato per il contenuto di CHNO mediante analisi della composizione elementare. Si prevede che la formula molecolare di un sale 1:1 di Formula (1)/acido gentisico sia $\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{N}_7\text{O}_6$ con un peso molecolare di 619,6 g/mol. Un monoidrato di un sale 1:1 di Formula (1)/acido gentisico avrebbe la

formula molecolare di $C_{33}H_{31}N_7O_7$ e un peso molecolare di 637,65 g/mol (con un contenuto di acqua di 2,8%). I risultati come presentati nella Tabella 12 sono conformi alla formula prevista per un monoidrato.


TABELLA 12. Risultati dall'analisi della composizione elementare e determinazione del contenuto d'acqua per il campione SP221-GEN-P5.

Elemento	% trovata	$C_{33}H_{31}N_7O_7$
C	60,9	62,16
H	5,1	4,90
N	15,0	15,38
O	16,5	17,56
acqua	2,6*	2,82

* Questo valore è stato derivato dall'analisi TG-FTIR del campione SP221-GEN-P3, come descritto di seguito.

La microscopia ottica del sale gentisato del monoidrato di Formula (1) (campione SP221-GEN-P5) ha mostrato un materiale cristallino con particelle prevalentemente a forma di ago con lunghezze da circa 5 a 50 μm e larghezze da circa 1 a 10 μm .

Un pattern PXRD in riflessione del sale gentisato del monoidrato di Formula (1) è mostrato in Figura 21 (campione SP221-GEN-P3). Il pattern PXRD del campione SP221-GEN-P5 (non mostrato) era indistinguibile dal pattern del campione SP221-GEN-P3, indicando che entrambi i campioni sono rappresentativi della stessa fase cristallina. Questa fase cristallina è designata Forma A (monoidrato) del



sale gentisato di Formula (1). I seguenti picchi sono caratteristici della Forma A (monoidrato) del sale gentisato di Formula (1): 4,6, 8,2, 9,0, 9,7, 11,8, 12,9, 13,8, 14,5, 15,5, 16,6, 16,8, 18,4, 19,6, 20,5, 21,1, 24,1, 24,5, 25,5, 25,8, 26,0, 26,6, 26,9, 27,4, e 29,8 °2θ ± 0,2 °2θ.

La spettroscopia Raman è stata effettuata usando un campione di Forma A (monoidrato) del sale gentisato di Formula (1) (campione SP221-GEN-P5). Si è ottenuto lo spettro Raman in modo simile a quanto descritto nell'Esempio 1.2 per la Forma I. I picchi Raman caratteristici per la Forma A (monoidrato) del sale gentisato di Formula (1) sono stati osservati a 3057, 2919, 2223, 1681, 1613, 1576, 1552, 1518, 1437, 1333, 1312, 1228, 1192, 1156, 990, 716, 485 e 257 (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$).

La spettroscopia IR è stata effettuata usando un campione di Forma A (monoidrato) del sale gentisato di Formula (1) (campione SP221-GEN-P5). Si è ottenuto lo spettro IR in modo simile a quanto descritto nell'esempio 1.2 per la forma I. I picchi IR caratteristici della Forma A (monoidrato) del sale gentisato di Formula (1) si osservano a 2957, 1682, 1668, 1602, 1574, 1523, 1504, 1481, 1429, 1377, 1346, 1302, 1274, 1228, 1157, 1092, 1010, 939, 896, 865, 826, 810, 778, 748, 734, 686, 660, e 617 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Il termogramma TG-FTIR della Forma A (monoidrato) del sale gentisato di Formula (1) (campione SP221-GEN-P3) ha mostrato una perdita di massa di 2,64% a 120 °C e una decomposizione che inizia a 220 °C. La DSC della Forma A (monoidrato) del sale gentisato di

Formula (1) (campione SP221-GEN-P5A) ha rivelato due piccoli picchi endotermici a 106 °C e 121 °C. È improbabile che questi picchi corrispondano alla fusione del sale, ma possono essere assegnati a trasformazioni di fase. La deviazione dalla basale a 180 °C è attribuita, provvisoriamente, all'inizio di un processo di fusione; tuttavia, la degradazione termica è il fenomeno dominante al di sopra di 195 °C e un punto di fusione distinto potrebbe non essere identificato mediante DSC.

L'analisi DVS della Forma A (monoidrato) del sale gentisato di formula (1) (campione SP221-GEN-P5) rivela varie fasi di circa 2% di contenuto di acqua, quando scansionate da alta a bassa UR. Ciò suggerisce che può esistere più di un idrato. Anche se l'isteresi osservata non era simmetrica, un secondo test dello stesso campione ha mostrato che l'intero ciclo di idratazione-disidratazione DVS è reversibile. La PXRD del campione recuperato dal recipiente per campione DVS mostrava lo stesso pattern del residuo solido degli esperimenti di solubilità. Il contenuto di acqua di 5,2% corrisponde essenzialmente al contenuto di acqua di un diidrato. I seguenti picchi sono caratteristici del sale gentisato diidrato di Formula (1) ottenuto dopo il test DVS: 4,6, 8,7, 11,7, 12,5, 12,8, 13,1, 14,1, 15,1, 15,6, 16,5, 16,8, 19,7, 24,1, 24,5, 25,3, 25,7, 25,9, 26,6, 26,9, e 29,4 °2θ ± 0,2 °2θ.

In totale, sono stati ottenuti cinque pattern PXRD differenti per i sei diversi campioni del sale gentisato di Formula (1). Il pattern PXRD del sale gentisato acetone solvato (campione SP221-GEN-P2) era

distinto. L'analisi TG-FTIR di questo solvato (campione SP221-GEN-P2) ha mostrato una perdita di massa di 5,0% entro 150 °C (corrispondente ad acetone e acqua) con una decomposizione che inizia a 220 °C. Il pattern PXRD del sale genticato del solvato di acido formico di Formula (1) (campione SP221-GEN-P2) era anch'esso distinto. L'analisi TG-FTIR di questo solvato (campione SP221-GEN-P4) ha mostrato una perdita di massa di 8,6% entro 150 °C (corrispondente ad acido formico e acqua), con una decomposizione che iniziava a 220 °C. Infine, il pattern PXRD del sale genticato del diidrato di Formula (1) (campione SP221-GEN-P6) era anch'esso distinto dalle altre fasi.

Esempio 6.7. Forma A del sale ossalato di Formula (1) -
Esempio di riferimento

L'acido ossalico ha la formula molecolare $C_2H_2O_4$ con una massa molecolare di 90,04 g/mol. I valori di pKa dei due gruppi acidi sono 1,27 e 4,27. Il sale ossalato è stato prima identificato nello screening descritto sopra.

Il campione SP221-OXA-P1 è stato preparato come segue: 236 mg di campione PP502-P1 e 45,4 mg di acido ossalico (Sigma Aldrich # 75688) sono stati aggiunti a 5,0 ml di acetone:acqua (95:5) e la miscela è stata riscaldata fino a circa 55 °C. Il composto non si è dissolto; la miscela è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente e agitata per tutta la notte, dopodiché il solido è stato rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-OXA-P2 è stato preparato come segue:

468,2 mg di campione PP502-P1 e 90,9 mg di acido ossalico (Sigma Aldrich # 75688) sono stati aggiunti a 10,0 ml di 1-propanolo e riscaldati fino a 70 °C. Si è ottenuto un gel essenzialmente non agitolabile cui sono stati aggiunti altri 15,0 ml di 1-propanolo e 1,0 ml di acqua. L'agitazione è stata continuata a temperatura ambiente per tre giorni prima che il solido fosse rimosso per filtrazione ed esaminato mediante PXRD dopo breve essiccazione all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-OXA-P3 è stato preparato come segue: 468 mg di campione PP502-P1 sono stati dissolti in 10,0 ml di metanolo a riflusso, e sono stati aggiunti 90 mg di acido ossalico dissolti in 2,0 ml di metanolo. Il materiale è stato raffreddato fino a temperatura ambiente, germinato con SP221-OSSA-P2, e circa metà della sospensione è stata prelevata e agitata a temperatura ambiente, quindi riscaldata nuovamente fino a 50 °C; dopodiché tutti i solidi si sono dissolti. La soluzione è stata lasciata raffreddare nuovamente fino a temperatura ambiente e agitata prima che parte del campione fosse filtrata e un solido studiato dopo essiccazione all'aria a temperatura ambiente. Questo campione è stato designato SP221-OXA-P3A. All'altra metà della sospensione sono stati aggiunti 3,0 ml di acqua. Tutto il solido è stato immediatamente dissolto, poi la miscela è stata agitata sotto spurgo di azoto a temperatura ambiente finché tutti i solventi sono stati rimossi. Al residuo secco sono stati aggiunti 2,0 ml di acetonitrile, 2,0 ml di etanolo e 0,2 ml di acqua e si è agitato per due giorni a temperatura ambiente. Si è ottenuta una sospensione da cui il solido è stato rimosso

per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente. Questo campione è stato designato SP221-OXA-P3B.

Il campione SP221-OXA-P4 è stato preparato come segue: 468 mg di campione PP502-P1 sono stati dissolti in 10,0 ml di acetone e 1,0 ml di acqua a riflusso, e sono stati aggiunti 45 mg di acido ossalico (Sigma Aldrich # 75688) dissolti in 1,0 ml di acqua. Non si è osservata alcuna cristallizzazione. Ulteriori 46 mg di acido ossalico solido e 5,0 ml di acetone sono stati aggiunti e l'agitazione a temperatura ambiente è stata continuata mentre la fiala è stata mantenuta aperta. Dopo agitazione per tutta la notte, si è ottenuta una pasta densa. Il riscaldamento della miscela fino a 50 °C ha portato alla completa dissoluzione, e il raffreddamento fino a temperatura ambiente ha portato nuovamente a una sospensione molto densa. Parte della sospensione è stata filtrata e il solido essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-OXA-P5 è stato preparato come segue: 470 mg di campione PP502-P1 e 90 mg di acido ossalico (Sigma Aldrich # 75688) sono stati combinati in 10,0 ml di tetraidrofurano e 1,0 ml di metanolo riscaldato a riflusso per ottenere la dissoluzione dei solidi. Dopo la germinazione con SP221-OSSA-P2 e il raffreddamento fino a temperatura ambiente, si è ottenuta una pasta densa che è stata riscaldata da 60 °C a 65 °C e agitata per due giorni prima che il solido fosse rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-OSSA-P7 è stato preparato come segue: i rimanenti prodotti degli esperimenti SP221-OXA-P4 e SP221-OXA-P5 (circa 300 mg) sono stati combinati e sono stati sospesi in 5,0 ml di acqua. La miscela è stata agitata a temperatura ambiente per quattro giorni. La sospensione è stata filtrata e i solidi sono stati essiccati all'aria a temperatura ambiente per 24 ore.

La spettroscopia ^1H NMR dell'ossalato non è stata eseguita a causa della mancanza di idrogeni non scambiabili in acido ossalico. Il contenuto di CHNO di SP221-OXA-P1 è stato determinato mediante analisi della composizione elementare, con i risultati mostrati nella Tabella 13. Si prevede che la formula molecolare di un sale 1:1 di Formula (1)/acido ossalico sia $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}_6$ con un peso molecolare di 555,55 g/mol. Un idrato con una stechiometria di 2,5 moli di acqua per 1 mole di Formula (1) avrebbe la formula molecolare di $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{O}_{8,5}$ e un peso molecolare di 602,6 g/mol (con un contenuto di acqua di 7,5%). I risultati come presentati per il campione SP221-OXA-P7 sono chiaramente conformi con la formula molecolare per tale "2,5 idrato". Un contenuto di acqua ipotizzato di circa 7,5% si basa sul risultato di TG-FTIR che ha rivelato una perdita di massa di 8,3% essenzialmente attribuibile all'acqua. Un triidrato conterrebbe 8,9% di acqua e, pertanto, è anche possibile un triidrato.

TABELLA 13. Risultati dall'analisi della composizione elementare di sali di ossalato e composizioni teoriche.

Elemento	% trovata per SP221-OSSA-P1	% trovata per SP221-OSSA-P7	% teorica per la forma anidra	% teorica per il monoidrato	% teorica per il 2,5 idrato
C	57,4	53,8	60,54	58,63	55,81
H	4,9	5,3	4,54	4,74	5,35
N	16,6	15,9	17,65	17,09	16,27
O	17,4	21,1	17,28	19,53	22,57
Somma	96,3%	96,1%	100%	100%	100%

Un pattern PXRD in riflessione del sale ossalato del monoidrato di Formula (1) è mostrato in Figura 22 (campione SP221-OXA-P7). Questa fase cristallina è designata Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1). I seguenti picchi sono caratteristici della Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1): 5,5, 5,8, 7,4, 9,3, 11,0, 11,5, 12,7, 15,2, 16,5, 17,3, 18,5, 18,7, 19,1, 19,7, 20,2, 20,8, 22,0, 22,3, 23,3, 23,6, 24,8, 27,4, 28,6, 29,3, 29,6, 31,2, e 33,1 °2θ ± 0,2 °2θ.

La spettroscopia Raman è stata effettuata usando un campione di Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) (campione SP221-OXA-P7). Si è ottenuto lo spettro Raman in modo simile a quanto descritto nell'esempio 1.2 per la Forma I. I picchi Raman caratteristici della Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) si osservano a 3073, 2992, 2950, 2922, 2247, 1671, 1612, 1584, 1552, 1504, 1469, 1440, 1336, 1311, 1273, 1235, 1191, 1162, 1095, 1012, 897, 718, 633, 409, 370 e 263 (spostamento Raman, cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹).

La spettroscopia IR è stata effettuata usando un campione di Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) (campione SP221-OXA-P7). Si è ottenuto lo spettro IR in modo simile a quanto descritto nell'esempio 1.2 per la forma I. I picchi IR caratteristici della Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) si osservano a 3419, 2249, 1670, 1615, 1544, 1503, 1438, 1391, 1334, 1304, 1262, 1195, 1151, 1126, 1093, 1013, 894, 877, 823, 783, 765, 738 e 652 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Si è ottenuto il termogramma TG-FTIR della Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) (campione SP221-OXA-P7). La perdita di massa osservata, probabilmente dovuta all'acqua, è tra il contenuto di acqua atteso per un triidrato (8,9%) e un diidrato (6,1%). L'acqua sembra essere legata debolmente, poiché l'inizio della perdita di massa è essenzialmente a temperatura ambiente. I risultati di calorimetria differenziale a scansione per la Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) (campione SP221-OSSA-P7) hanno rivelato un endoterma di fusione a 127 °C con un'entalpia di fusione di circa 70 J/g. Gli eventi termici osservati nella DSC al di sopra di 150 °C sono probabilmente dovuti a decomposizione termica.

L'analisi DVS della Forma A (2,5 idrato) del sale ossalato di Formula (1) (campione SP221-OSSA-P7) rivela che l'acqua viene rimossa a 0% di UR, e si osserva un'isoterma reversibile che comporta l'assorbimento di circa 6,5% di acqua nell'intervallo da 0% a 100%. La PXRD del campione recuperato dal recipiente per campione DVS

mostrava un pattern uguale al pattern prima dell'inizio del test DVS. A 50% di UR, il contenuto di acqua è circa 5,5% e a 95% di UR, il contenuto di acqua è circa 6,5%. Questo risultato suggerisce che la Forma A può formare un diidrato stabile.

Due pattern PXRD aggiuntivi sono stati ottenuti dalle altre preparazioni di ossalato (campioni SP221-OSSA-P3B e SP221-OSSA-P4). In base ai loro pattern PXRD, questi campioni rappresentano probabilmente altre fasi cristalline di sali di ossalato di Formula (1).

Esempio 6.8. Forma A del sale solfato di Formula (1) - Esempio di riferimento

Un sale solfato di Formula (1) (campione SP221-SO4-P1) è stato preparato come segue. A 5,0 ml di una soluzione madre 0,1 M di Formula (1) in acetone-acqua (campione SL20150415FB, 0,1 M) è stato aggiunto un equivalente di acido solforico sotto forma di acido solforico concentrato (27,8 μ l), che è stato riscaldato fino a 50 °C e lasciato raffreddare fino a temperatura ambiente. Poiché la cristallizzazione non è avvenuta, la miscela è stata germinata con pochi mg di sale fosfato cristallino. Dopo agitazione per tutta la notte a temperatura ambiente, si è ottenuta una sospensione gialla/bianca da cui il solido è stato rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-SO4-P3 è stato preparato mediante ripetizione dell'esperimento usato per produrre SP221-SO4-P1 usando un rapporto 1:1 tra acido solforico e base libera.



Il campione SP221-SO4-P4 è stato preparato dissolvendo 941 mg di PP502-P1 in 22 ml di acetone-acqua 10:1 a circa 50 °C e aggiungendo un equivalente di acido solforico concentrato (112 µl). Una sospensione si è formata a 50 °C; la miscela è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente e, quindi, agitata per tutta la notte a temperatura ambiente prima che il solido fosse rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria. Si sono ottenuti circa 880 mg di solido leggermente giallastro.

Il campione SP221-SO4-P5 è stato preparato aggiungendo 300 mg di SP221-SO4-P4 a 3,0 ml di acetonitrile e 0,3 ml di acqua. La sospensione è stata agitata a temperatura ambiente per un giorno. La sospensione è stata filtrata e i solidi sono stati essiccati all'aria a temperatura ambiente.

Il campione SP221-SO4-P6 è stato preparato aggiungendo 944 mg di base libera di Formula (1) (campione PP502-P1) a 15,0 ml di acetone: acqua (9:1) e riscaldando a riflusso per ottenere la dissoluzione. Acido solforico (0,8 ml/1 equivalente) è stato, quindi, aggiunto sotto forma di una soluzione acquosa 2,5 M. La soluzione è stata germinata con SP221-SO4-P1 e lasciata raffreddare fino a 35 °C mentre l'agitazione è continuata per tutta la notte. Si è ottenuta una sospensione che è stata riscaldata fino a 50 °C per circa tre ore, quindi lasciata raffreddare nuovamente fino a temperatura ambiente e agitata per due ore prima che il solido fosse rimosso per filtrazione ed essiccato all'aria a temperatura ambiente. Si è ottenuta una resa di

circa 950 mg.

La spettroscopia ^1H (spettro non mostrato) del prodotto dall'esperimento SP221-SO4-P4 era coerente con la Formula (1). I campioni SP221-SO4-P4 e SP221-SO4-P5 sono stati analizzati mediante analisi della composizione elementare CHONS, con i risultati mostrati nella Tabella 14. La formula bruta molecolare prevista per un sale solfato monostochiometrico privo di solvente di Formula (1) è $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}$, con un peso molecolare di 563,6 g/mol. Si prevede che un sale solfato monostochiometrico triidrato di Formula (1) abbia una formula molecolare bruta di $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_9\text{S}$ e un peso molecolare di 617,6 g/mol (con un contenuto di acqua di 8,7%). Si prevede che un sale solfato monostochiometrico tetraidrato di Formula (1) abbia una formula molecolare bruta di $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_7\text{O}_{10}\text{S}$ e un peso molecolare di 635,7 g/mol (con un contenuto di acqua di 11,3%). Il migliore adattamento ai valori sperimentali per il campione SP221-SO4-P4 è a un tetraidrato con un eccesso di acido solforico equivalente a un rapporto molare di circa 1,25. Il migliore adattamento ai valori sperimentali per il campione SP221-SO4-P5 è stato riscontrato per un sale tetraidrato monosolfato, in cui è stato riscontrato una buona conformità con il contenuto di idrogeno, ossigeno e zolfo teoricamente atteso, con solo una lieve discrepanza riscontrata per carbonio e azoto.

TABELLA 14. Risultati della composizione elementare (analisi CHNOS) per campioni e SP221-SO4-P5 del sale solfato di Formula (1).

Elemento	SP221-SO4-P4 (% riscontrata, sperimentale)	SP221-SO4-P5 (% riscontrata, sperimentale)	$C_{26}H_{33.5}N_7O_{11}S_{1.25}$ sale solfato tetraidrato (teorico)	Sale monosolfato tetraidrato (teorico)
C	47,4	46,8	47,30	49,13
H	4,9	4,7	5,11	5,23
N	14,9	14,4	14,85	15,42
O	non determinato	25,0	26,66	25,17
S	6,2	5,0	6,07	5,04
acqua,	10,6	Non disponibile	10,9	11,3

*Il contenuto di acqua è stato determinato mediante titolazione di Karl Fischer.

La microscopia ottica del campione SP221-SO4-P5 mostrava materiale cristallino con particelle prevalentemente a forma di ago. Le particelle nel campione SP221-SO4-P5 erano considerevolmente più piccole di quelle per il campione SP221-SO4-P6, che mostrava lunghezze di particella fino a circa 100 μm e larghezze da circa 5 a 10 μm .

Il pattern PXRD in riflessione del campione SP221-SO4-P6 è mostrato in Figura 23. Questa fase cristallina è designata Forma A del sale solfato di Formula (1). I seguenti picchi sono caratteristici della Forma A del sale solfato di Formula (1): 4,6, 5,0, 8,0, 9,0, 9,8, 12,0,

12,7, 13,2, 14,6, 15,0, 15,6, 16,2, 17,5, 18,0, 19,8, 20,2, 21,9, 23,8, 24,4, 24,9, 25,7, 26,0, 27,2, 29,5, 30,4, 31,6, e 32,5 °2θ ± 0,2 °2θ. I pattern PXRD per altri tre campioni (SP221-SO4-P1, SP221-SO4-P3 e SP221-SO4-P4) indicano che la stessa forma cristallina del sale solfato si è ottenuta anche in questi altri esperimenti.

La spettroscopia Raman è stata effettuata usando un campione di Forma A del co-cristallo di sale solfato di Formula (1) (campione SP221-SO4-P4). Si è ottenuto lo spettro Raman in modo simile a quanto descritto nell'esempio 1.2 per la forma I. I picchi Raman caratteristici della Forma A del sale solfato di Formula (1) si osservano a 3115, 2977, 2926, 2224, 1675, 1611, 1537, 1498, 1449, 1409, 1361, 1327, 1310, 1288, 1243, 1198, 1155, 1042, 1009, 978, 948, 906, 849, 771, 713, 652, 632, 464, 370, e 254 (spostamento Raman, $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$).

La spettroscopia IR è stata effettuata usando un campione di Forma A del sale solfato di Formula (1) (campione SP221-SO4-P4). Si è ottenuto lo spettro IR in modo simile a quanto descritto nell'esempio 1.2 per la forma I. I picchi IR caratteristici della Forma A del sale solfato di Formula (1) si osservano a 3430, 3101, 3029, 2225, 1667, 1633, 1615, 1598, 1563, 1557, 1508, 1428, 1350, 1328, 1308, 1276, 1225, 1088, 1036, 1018, 925, 891, 848, 816, 783, 736, 723, 694, e 612 (frequenza IR, $\text{cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$).

Il termogramma TG-FTIR della Forma A del sale solfato di Formula (1) (campione SP221-SO4-P4) mostrava una perdita di massa

osservata di 10,1%, che era dovuta all'acqua. La perdita di acqua inizia con il riscaldamento ed è completa entro circa 110 °C usando una velocità di riscaldamento di 10 °C al minuto. I risultati DSC per la Forma A del sale solfato di Formula (1) (campione SP221-SO4-P4) mostravano un endoterma di fusione con una temperatura di picco di 118 °C e un'entalpia di fusione di circa 92 J/g. La DSC ha rivelato un endoterma di fusione a 127 °C con un'entalpia di fusione di circa 70 J/g.

L'analisi DVS è stata effettuata per la Forma A del sale solfato di Formula (1) (campione SP221-SO4-P4). I risultati DVS mostrano che l'acqua non è completamente rimossa a 0% di UR dopo cinque ore. Il contenuto di acqua iniziale del campione di solfato dato è stato determinato mediante titolazione di Karl Fischer, e l'isoterma DVS variava da 2,5% a 12,5% nell'intervallo da 0% di UR a 100% di UR. Si è riscontrato che l'assorbimento di vapore era ampiamente reversibile; al termine del test, il contenuto di acqua è quasi uguale all'inizio della misurazione.

Esempio 7. Solubilità in funzione del pH

Esempio 7.1. Solubilità della base libera

La solubilità acquosa della base libera di Formula (1) è stata esaminata in funzione del pH. Gli esperimenti sono stati condotti in soluzione acquosa di HCl e soluzioni tampone a pH di 1, 3, 5, 6,8, 7,4 e 9. È stato determinato che a bassi valori di pH di 1 e 3, il solido si è completamente dissolto nel tempo di bilanciamento, mentre il pH nel sistema si stabilizzava ad approssimativamente 3 in entrambi gli



esperimenti. È stato riscontrato che la solubilità in una soluzione di HCl avente un pH di circa 1 è almeno 150 mg/ml. La solubilità della forma libera (PP502-P1) a vari valori di pH maggiori di 3 è presentata nella Tabella 15.

TABELLA 15. Dati di solubilità per la base libera di Formula (1).

pH efficace al termine del test	Solubilità (mg/ml)
5,0	0,69
6,7	0,056
7,3	0,049
8,9	0,051

I dati mostrano che la solubilità acquosa della base libera di Formula (1) (campione PP502-P1) si stabilizza ad approssimativamente 50 µg/ml a circa pH 6,7. La Figura 24 illustra le possibili specie di Formula (1) in base alla pK_a calcolata che varia da 2,2 (basica) a 6,1 (basica) a 11,5 (acida). Pertanto, una molecola a doppia carica positiva è altamente solubile in acqua, mentre le forme virtualmente positive e neutre sono scarsamente solubili. Questo evidenzia le esposizioni nell'erogazione riuscita di Formula (1) attraverso lo stomaco nell'ambiente di pH superiore del duodeno.

La relazione tra pH di equilibrio e solubilità calcolata per la base libera di Formula (1) è mostrata nella Figura 25 rispetto alle misurazioni sperimentali a intervalli selezionati. A pH 6,7 e maggiore, la solubilità acquosa raggiunge un livello costante di circa 50 µg/ml, illustrando ulteriormente le esposizioni con l'erogazione di Formula (1).

I valori di pK_a per la Formula (1) sono stati determinati e usati per creare il grafico di speciazione mostrato in Figura 26, per illustrare le specie presenti quando la Formula (1) passa attraverso il tratto gastrointestinale. I valori di pK_a del campione sono stati determinati usando una tecnica spettrometrica ultravioletta (UV). Il campione è stato inizialmente titolato in una titolazione tripla UV veloce tra pH 2 - 12 a concentrazioni di 31 - 19 μM , in condizioni acquose. Sono stati determinati tre valori di pK_a , con valori medi di $\sim 3,6$, $\sim 5,8$ e $\sim 12,0$. Il campione è stato successivamente titolato in sei titolazioni, in condizioni acquose, su un intervallo totale di pH 1,5 - 12,5 a concentrazioni di 30 - 18 μM . Tre valori di pK_a per la Formula (1), con valori medi di $3,54 \pm 0,01$, $5,77 \pm 0,01$ e $12,12 \pm 0,03$, sono stati determinati dai dati spettroscopici raccolti.

Il $\log P$ della Formula (1) è stato determinato usando la tecnica potenziometrica (pH-metrica). Il campione è stato titolato in vari rapporti di ottanolo/acqua da pH 1,9 - 12,1 a concentrazioni di 1,1 - 0,5 mM a 25 °C in un ambiente ionico di KCl 0,15 M. I dati potenziometrici raccolti sono stati usati per calcolare il $\log P$ delle specie neutre ($2,03 \pm 0,01$) e cationiche ($-0,31 \pm 0,06$).

Esempio 8. Ottimizzazione della cristallizzazione per la Forma I della base libera di Formula (1)

Esperimenti di cristallizzazione sono stati effettuati per la produzione ottimizzata della Forma I della base libera di Formula (1). Il materiale di partenza per gli esperimenti di cristallizzazione era la

Forma I di Formula (1) ricristallizzata. Lo studio è stato integrato con cristallizzazioni aggiuntive della base libera da un campione di olio grezzo. I prodotti ottenuti sono stati caratterizzati usando la diffrazione di raggi X su polveri (PXRD) o la spettroscopia Raman per studiare la forma cristallina e mediante TG-FTIR o ^1H NMR, o entrambe, per studiare il contenuto di solvente residuo. Immagini di microscopia polarizzata sono state registrate per determinare la granulometria.

Acetone, etanolo e 1-propanolo sono i solventi più promettenti per la ricristallizzazione della Forma I. Poiché la Forma I cristallina ha una bassa solubilità in molti solventi di classe 3 ICH, è stata esplorata l'aggiunta di co-solventi potenzialmente utili. Per esempio, etanolo, acqua e acido acetico sono solventi che possono essere usati per aumentare la solubilità della Forma I, il che è importante nella progettazione di un processo di cristallizzazione che massimizza l'efficienza di volume e la resa.

I dati di solubilità sono stati raccolti per diversi sistemi solventi. La dipendenza dalla temperatura della solubilità della Forma I è stata stimata per acetone, etanolo, etanolo-acqua 94:4 (v/v) e 1-propanolo. Profili di raffreddamento lineari e non lineari e varie strategie di ciclo di temperatura sono stati applicati al fine di migliorare la qualità della natura cristallina della Forma I.

Un metodo si basa sulla cristallizzazione del sale maleato da un olio grezzo in cui il sale maleato cristallino è neutralizzato con una base e la base libera viene estratta (presumibilmente in forma amorfa).

Successivamente, la base libera viene cristallizzata da acetone e si ottiene la Forma I cristallina (forma anidra). La Forma I cristallina risultante contiene, in modo coerente, quantità sostanziali di solvente residuo sebbene i pattern PXRD di tutti i campioni prodotti siano identici.

Per esempio, un campione di Forma I ricristallizzata (campione PP502-P1) contiene circa 0,9% di acetone come determinato mediante TG-FTIR. Non è stata osservabile una perdita di massa al di sotto di circa 200 °C; Tuttavia, il riscaldamento successivo determina un rilascio di solvente di acetone insieme alla fusione della forma solida (il punto di fusione della forma solida è approssimativamente 215 °C). L'essiccazione prolungata a temperature di essiccazione convenzionali non riduce necessariamente in modo efficiente i solventi residui. Tuttavia, si è mostrato che la ricristallizzazione da altri solventi (ad esempio, etanolo) rimuove il solvente residuo dalla Forma I.

La cristallizzazione di un materiale amorfo dopo la conversione di un sale nella base libera è fondamentalmente diversa dal processo di ricristallizzazione di una forma polimorfica stabile, come la Forma I. La Forma I è molto meno solubile della forma amorfa poiché viene tipicamente recuperata dopo l'estrazione ed evaporazione del solvente; Tuttavia, la solubilità può cambiare se la base libera si cristallizza spontaneamente dopo la fase di estrazione. Ipotizzata la differenza specifica di solubilità tra la forma amorfa e la forma cristallina stabile non sia nota, essa varia da un fattore di 10 a 100,

Nella metodologia attuale, 100 mg/ml di Forma I stabile sono



preferibilmente miscelati in un solvente di classe 3 ICH o una miscela di solventi per gli scopi di ricristallizzazione. Le possibilità di solvente sono state limitate raccogliendo dati di solubilità dettagliati per i solventi più comuni. La Formula (1) non è nota cristallizzare in polimorfi differenti, vale a dire che non si è ottenuta alcuna altra forma non solvata da un esperimento di cristallizzazione da una soluzione satura.

Lo studio del polimorfismo ha mostrato che la Forma I è stabile e che questa forma è ottenuta in modo coerente quando l'attività dell'acqua era al di sotto del limite critico per la formazione di idrati. Si raccomanda un processo con germinazione poiché la germinazione consente un migliore controllo del processo di cristallizzazione per ottenere forma, granulometria e distribuzione dimensionale più riproducibili. I campioni nella Tabella 18 sono stati usati in questo studio.

TABELLA 18. Campioni usati nell'ottimizzazione del processo di cristallizzazione per lo studio della Forma I della base libera di Formula (1).

Nome campione	Campione n.	Codice campione	Forma
Formula (1), ricristallizzata	CS13-083 HB873-98	PP502-P1	Forma I
Formula (1), olio grezzo	CS13-083 HB933-54-4	PP502-P61	Olio
Formula (1), sale maleato (CML 1476)	CS13-083 HB933-54-5	PP502-P67	Cristallina

Formula (1), ricristallizzata	CS13-083, Am-1406	PP502-P62	Forma I
-------------------------------	-------------------	-----------	---------

Esempio 8.1. Solubilità secondo HPLC

La solubilità della Forma I di Formula (1) ricristallizzata è stata testata in varie miscele di solventi acquosi e solventi non acquosi. I dati di solubilità completi generati per questi e altri sistemi solventi sono presentati nella Tabella 19 di seguito.

TABELLA 19. Dati di solubilità per la Forma I. MEK si riferisce a metiletilchetone e THF si riferisce a tetraidrofurano.

Solvente puro	Solubilità (S, mg/ml)	Miscela di solventi	Solubilità (S, mg/ml)
acetone, 25 °C	4,1	etanolo - acqua 96:4, 0 °C	6,7
acetone a RFT	10,0	etanolo - acqua 96:4, 25 °C	10,0
etil acetato, 25 °C	1,5	etanolo - acqua 96:4, 60 °C	24,7
etanolo, 5 °C	3,6	etanolo - acqua 9:1, 25 °C	23,7
etanolo, 25 °C	4,4		
etanolo, 50 °C	10,2		
MEK, 25 °C	3,7		
metanolo, 25 °C	19,9		

1-propanolo, 5 °C	3,4		
1-propanolo, r. t.	4,7		
1-propanolo, 25 °C	4,0		
1-propanolo, 60 °C	14,4		
2-propanolo, 25 °C	1,3		
THF, 25 °C	20,4		



Acetone, etanolo, 96%-etanolo e 1-propanolo sono stati considerati come sistemi solventi promettenti. La solubilità in 96% di etanolo è piuttosto elevata a temperatura ambiente (approssimativamente 22 °C) e il raffreddamento fino a bassa temperatura sarebbe necessario per ottenere buone rese. Il raffreddamento al di sotto di 0 °C non è stato esplorato durante lo studio del polimorfismo poiché la cristallizzazione a temperature al di sotto dello zero porta alla formazione di idrati. Sebbene la presenza di acqua in miscele co-solventi ad alta temperatura possa portare a deteriorare la stabilità di Formula (1) (indicata da uno scolorimento rosso), l'acqua funge ancora da co-solvente utile a bassi livelli di concentrazione da circa 0,5 a 4%.

Esempio 8.2. Test di solubilità Multimax

Esperimenti sulla larghezza della zona metastabile sono stati condotti in un sistema di ottimizzazione del processo di cristallizzazione Mettler-Toledo Multimax dotato di sonde di torbidità, al fine di dimostrare il controllo della cristallizzazione per la Forma I.

Acetone, etanolo ed etanolo-acqua (96:4) sono stati selezionati come sistemi solventi. Tre concentrazioni diverse sono state selezionate per acetone ed etanolo; due concentrazioni diverse sono state selezionate per il sistema solvente etanolo-acqua (96:4). I dati di solubilità ottenuti dagli esperimenti Multimax erano conformi ai dati precedentemente ottenuti; Tuttavia, i valori dell'esperimento Multimax sono leggermente minori del valore reale, per via della natura cinetica dell'esperimento Multimax. La dipendenza dalla temperatura della solubilità della Forma I della base libera di Formula (1) in etanolo e acetone è rappresentata in Figura 27.

Etanolo e 1-propanolo mostrano caratteristiche di solubilità simili dato che i punti di dati per il solvente 1-propanolo sembrano allinearsi bene all'adattamento della curva per i punti di dati di etanolo. Inoltre, poiché il punto di ebollizione di 1-propanolo è 97 °C, rispetto a un punto di ebollizione di 78 °C per etanolo, 1-propanolo è considerato un'alternativa fattibile all'etanolo determinando un sostanziale aumento dell'efficienza di volume e della resa.

Senza germinazione, gli esperimenti di cristallizzazione dal raffreddamento di soluzioni supersature non hanno portato alla cristallizzazione in nessuno dei solventi esaminati. Di conseguenza, le

zone metastabili in tutti i solventi testati sono molto ampie. Pertanto, la germinazione è obbligatoria per controllare il processo di cristallizzazione e viene applicata poco dopo l'ottenimento della saturazione.

Esempio 9. Confronto tra velocità di dissoluzione e l'esposizione in cani alla Forma della base libera I e alla Forma II della base libera

La velocità di dissoluzione intrinseca (IDR) è stata misurata per le Forme I e II della base libera di Formula (1). La IDR è stata misurata usando una pala su un apparecchio di dissoluzione dotato di disco stazionario con concentrazione determinata usando analisi cromatografica liquida rispetto a uno standard. I risultati normalizzati di intercetta y sono mostrati in Figura 28 con le pendenze e il coefficiente di regressione illustrati. La Forma I ha una IDR di 6,8 mg/cm²/min nel fluido gastrico simulato (SGF) (pH 1,2) e una IDR di 0,44 mg/cm²/min in tampone HCl/NaCl di pH 2,5. La Forma II ha una IDR di 5,4 mg/cm²/min in SGF e una IDR di 0,35 mg/cm²/min in tampone HCl/NaCl di pH 2,5. La Forma I mostra, pertanto, circa un aumento del 26% di IDR in entrambe le condizioni rispetto alla Forma II, il che fornisce una velocità di dissoluzione significativamente più elevata, che è vantaggiosa.

L'esposizione plasmatica delle Forme I e II della base libera di Formula (1) è stata confrontata in nove cani Beagle a digiuno dopo una singola somministrazione orale di 6 mg/kg di entrambe le forme usando lotti con una distribuzione granulometrica simile. L'esperimento è stato

effettuato in 5 fasi settimanali, con la fase di Forma II per ultima. L'area sotto la curva concentrazione plasmatica-tempo (AUC), mostrata in Figura 29, riflette l'esposizione al farmaco dopo la somministrazione di ciascuna preparazione di Formula (1) ed è espressa in ng*h/l. La Forma II mostra un'AUC minore rispetto alla Forma I in tutti i cani. La Forma II mostra anche una C_{max} (concentrazione massima) minore rispetto alla Forma I in tutti i cani. Si è concluso che la Forma I aveva un'esposizione nel Beagle superiore rispetto alla Forma II. Vi era una buona correlazione *in vitro in vivo* per le velocità di dissoluzione della Forma I e Forma II, e le prestazioni di ciascuna forma di Formula (1) quando erogata mediante capsula orale ai cani. Le prestazioni superiori della Forma I in questo studio sui cani dimostrano che un dosaggio più favorevole è possibile nell'uomo rispetto alla Forma II.

Esempio 10. Superamento degli effetti di agenti acido-riducenti con formulazioni di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzamide

Gli agenti acido-riducenti, come l'omeprazolo, possono limitare l'esposizione della base libera di Formula (1) nei mammiferi grazie al profilo di solubilità del pH della Formula (1) precedentemente discusso. Questo è un problema significativo nel trattamento di pazienti con cancro, malattie infiammatorie, malattie immunitarie e malattie autoimmuni, poiché a questi pazienti vengono comunemente co-somministrati agenti acido-riducenti per l'irritazione gastrica che spesso accompagna le loro condizioni. Gli agenti acido-riducenti sono i


medicinali più comunemente prescritti nel Nord America e nell'Europa occidentale. Delle terapie orali recentemente approvate, > 50% ha una solubilità dipendente dal pH e, pertanto, ha una potenziale interazione farmaco-farmaco rispetto ad agenti acido-riducenti. Nei pazienti oncologici si stima che il 20-33% di tutti i pazienti usi una certa forma di agente acido-riducente. In cancri particolari, come cancro pancreatico o cancri gastrointestinali, l'uso dell'agente acido-riducente è pari al 60-80% dei pazienti. Smelick, et al., Mol. Pharmaceutics 2013, 10, 4055-4062.

La preoccupazione di potenziali interazioni farmaco-farmaco con agenti acido-riducenti per farmaci debolmente basici ha portato allo sviluppo di strategie di valutazione del rischio e di studi di interazione farmaco-farmaco per nuovi farmaci che presentano solubilità e dissoluzione dipendenti dal pH. Smelick, et al., Mol. Pharmaceutics 2013, 10, 4055-4062. Gli agenti acido-riducenti includono inibitori della pompa protonica, come omeprazolo, esomeprazolo, lansoprazolo, dexlansoprazolo, pantoprazolo, rabeprazolo e ilaprazolo; antagonisti dei recettori H₂, come cimetidina, ranitidina e famotidina; e antiacidi come bicarbonati, carbonati e idrossidi di alluminio, calcio, magnesio, potassio e sodio. Anche miscele di antiacidi più agenti di bersagliamento dei meccanismi di secrezione gastrica possono essere usate come agenti acido-riducenti di prescrizione o non prescrizione. Anche un qualsiasi altro agente acido-riducente noto nell'arte può essere usato. In alcuni casi, l'effetto di un agente acido-riducente è provvisorio e dipende dalla presenza dell'agente nello stomaco. In altri

casi, l'effetto di un agente acido-riducente può essere pronunciato attraverso l'intervallo di trattamento, fornendo un aumento costante del pH gastrico a livelli maggiori di pH 4.

I termini ipocloridria e acloridria si riferiscono a condizioni in cui la secrezione gastrica di acido cloridrico è minore di quella normale o fortemente ridotta a inesistente. Il pH naturale dello stomaco viene abbassato da secrezioni acide in risposta alla stimolazione alimentare; in alcune condizioni mediche la capacità della pompa protonica gastrica di secernere acido è compromessa. Infezioni da *H. pylori* sono state associate alla secrezione compromessa di acido gastrico (ipocloridria o acloridria). Altri stati patologici, inclusi quelli in cui le cellule parietali gastriche vengono distrutte o eliminate, o la segnalazione alle cellule parietali gastriche è alterata, possono portare a ipocloridria o acloridria. L'uso a lungo termine di inibitori della pompa protonica o antagonisti dei recettori H_2 può anche determinare queste condizioni. La valutazione del pH gastrico nel corso di un giorno (attraverso i pasti) può essere monitorata in pazienti con sonde di pH *in situ*, se necessario, come ausilio diagnostico.

La dissoluzione della Forma 1 di Formula (1) in mezzi acquosi come il fluido gastrico è dipendente dal pH (si veda, ad esempio, la Figura 30 e Figura 31, discusse in maggior dettaglio nell'Esempio 11). La biodisponibilità della Formula (1) può, pertanto, essere modificata mediante fattori che migliorino la sua dissoluzione. Forme alternative di Formula (1), e acidificazione della formulazione di Forma 1 di Formula



(1) sono state testate in cani trattati con 10 mg/giorno di omeprazolo per valutare la misura in cui una forma alternativa di Formula (1) possa superare gli effetti di agenti acido-riducenti.

I cani sono stati trattati con capsule di Formula (1) da 100 mg in svariati studi correlati usando gli stessi animali e un programma di dosaggio rigoroso per ridurre al minimo la variabilità intra- e inter-animale. Tutte le dosi sono state inseguite con 35 ml di H₂O distillata mediante gavage gastrico orale per standardizzare il volume di dissoluzione con ciascuna somministrazione di dose. I cani sono stati condizionati per ricevere capsule sham e inseguire l'acqua nei giorni di non dosaggio; è stato anche controllato il cibo per ridurre la variabilità associata alle secrezioni di acido gastrico in risposta alla presentazione e al consumo di mangime. Il regime di condizionamento è stato seguito continuamente per almeno sei mesi, e gli stessi 12 cani sono stati usati per tutti gli studi descritti di seguito.

Lo studio 2219-057 ha usato 100 mg di Formula (1) in capsule liquide (idrossil- β -ciclodestrina/citrato, 2 dosi) per impostare la barra per l'assorbimento senza un componente di dissoluzione associato alla forma solida. Lo studio 2219-059 ha usato la Formula (1) con la formulazione F-1 e lo studio 2219-061 ha usato la Formula (1) con la formulazione F-2 da sola o dopo pretrattamento dei cani con omeprazolo, quindi, è continuato per testare le forme di sale di Formula (1) nella formulazione F-1 e una formulazione acida della Forma I di Formula (1) designata FA-3 (si veda l'Esempio 11 di seguito per la

preparazione delle formulazioni). Ai cani condizionati sono stati somministrati 100 mg di Formula (1) in fasi di dosaggio sequenziali separate da periodi di lavaggio di 4-7 giorni. Capsule liquide o capsule solide contenenti la Forma I di Formula (1) sono state somministrate; per confronto; una formulazione clinica o capsule riempite a mano con una miscela di Avicel sono state somministrate. Dopo queste fasi di studio iniziali, i cani sono stati trattati con 10 mg/giorno di omeprazolo per tutto il resto dello studio. Dopo quattro giorni di trattamento con omeprazolo, 100 mg di Forma I di Formula (1) sono stati somministrati nella formulazione clinica, in una formulazione contenente acidificanti, o in capsule contenenti 100 mg di equivalente di base libera dei sali di Formula (1) di maleato, fosfato, fumarato o tartrato, e concentrazioni plasmatiche di Formula (1) sono state misurate in molteplici punti temporali tra 0 e 12 ore.

Lo studio 2219-061 ha usato la Forma I di Formula (1) ricristallizzata da etanolo, come descritta nel presente documento, e le forme di sale maleato, fosfato, fumarato e tartrato di Formula (1) qui descritte. In seguito alla raccolta dei dati farmacocinetici dopo la somministrazione di dose singola di capsule da 100 mg nella formulazione F-2, il trattamento con omeprazolo (10 mg/giorno) è stato avviato come parte del regime di condizionamento. Le restanti fasi dello studio sono state condotte in cani trattati con omeprazolo. Dopo 4 giorni di omeprazolo, ai cani sono stati somministrati forme di farmaco di Formula (1) sperimentali o sopra la formulazione della dose giornaliera

di omeprazolo continua. Le forme di sale sono state dosate a pari 100 mg di base libera di Formula (1). La formulazione F-1 è stata usata per dosare le forme di sale dopo la correzione per controione e contenuto d'acqua. La formulazione acida prototipo (FA-3) ha usato sia acido fumarico sia acido alginico come miscela extragranulare con la Formula (1) granulata nella formulazione F-2.



La Figura 32 mostra cambiamenti di AUC, C_{max} e T_{max} mediante la fase di studio, con ciascuno studio o ciascuna fase di studio presentato/a in sequenza. Lo studio iniziale con l'uso della formulazione liquida in capsule per erogare 100 mg di Formula (1) in soluzione è stato progettato per mostrare le esposizioni a seguito di questa dose (ossia, non limitata dalla dissoluzione), e per caratterizzare la variabilità nei cani quando la varianza associata alla dissoluzione è rimossa. L'esposizione media superiore e la minore variabilità inter e intra-animale osservata dopo la somministrazione della Formula (1) completamente dissolta in capsule liquide a cani condizionati dimostrano che la dissoluzione della Forma I di Formula (1) svolge un ruolo nel limitare l'assorbimento orale, indicando che la dissoluzione ottimale potenzierà l'assorbimento.

La varianza rimanente dei parametri farmacocinetici osservati dopo la somministrazione di capsule liquide può essere dovuta a fattori intrinseci che variano tra i cani Beagle endogamici. Questo effetto è stato anche dimostrato usando capsule liquide da 25 mg e capsule della Forma I di Formula (1) con l'uso di una versione a dosaggio

graduato di F-1. La variabilità inter-animale dopo la somministrazione di una capsula liquida o di capsule solide corrispondenti contenenti la Forma 1 di Formula (1) a una dose fissa può derivare da piccole variazioni nel dosaggio di mg/kg della sostanza di test nonché da altri fattori intrinseci, come quelli che regolano il metabolismo e l'eliminazione del farmaco. L'aggiunta di una normalizzazione proporzionale per le AUC negli esperimenti di forma solida con questo gruppo di cani circoscriverà ulteriormente la varianza tra gli animali in corrispondenza di ciascun intervallo di dosaggio. Valori di AUC e C_{max} da regolazione di dose possono essere confrontati più accuratamente per l'analisi statistica dei risultati sperimentali.

Dopo la somministrazione delle forme di sale o della Forma I di Formula (1) in una formulazione acida per superare l'effetto dell'omeprazolo, T_{max} è aumentata nella maggior parte dei cani. Sebbene vi fosse una tendenza verso una C_{max} media minore in queste fasi dello studio (Figura 32), il pattern non è stato osservato con ogni fase o per tutti i cani. Una tendenza simile è stata osservata nei cani e nell'uomo quando la Forma I di Formula (1) viene somministrata con alimenti. In particolare, i livelli di AUC media nei cani trattati con forme di sale di Formula (1) o con la formulazione acida della Forma I, erano simili alle AUC osservate nei cani dopo la somministrazione della Forma I senza omeprazolo. Vi era una tendenza a ridurre la variabilità inter-animale quando sono state somministrate queste forme di dosaggio sperimentali, rispetto alle capsule di Forma I somministrate in



cani condizionati senza trattamento con omeprazolo. Pertanto, le esposizioni dopo il dosaggio orale con Formula (1) in una forma di sale sono aumentate in presenza di omeprazolo, e la variabilità nell'esposizione è ridotta sia nei cani trattati con omeprazolo sia nei cani condizionati senza trattamento con omeprazolo. La formulazione acida prototipo (FA-3) per la Forma I di Formula (1) ha un effetto simile.

L'effetto osservato di forme di sale alternative e acidificanti con la Formula (1) sull'assorbimento orale in cani trattati con omeprazolo è nuovo e sorprendente. La dipendenza dal pH della Formula (1) è associata alla stabilità di specie acide e basiche in soluzioni acquose, e all'energia libera della dissoluzione durante la transizione di fase. Correlazioni *in vitro-in vivo* hanno dimostrato che le limitazioni della dissoluzione erano associate a uno scarso assorbimento della Forma I di Formula (1) in cani trattati con omeprazolo (o cani trattati con agenti riducenti l'acido gastrico alternativi, come famotidina, carbonato di calcio o altri trattamenti elencati sopra). In uno studio di Fase 1 umano, monocentrico, aperto, a sequenza fissa, a 2 periodi, di III parte per valutare l'interazione monodirezionale di carbonato di calcio, omeprazolo o rifampina sulla Formula (1) in soggetti adulti sani, il trattamento di soggetti con agenti acido-riducenti prima della somministrazione della Forma I di Formula (1) ha determinato riduzioni significative dell'esposizione. Il ruolo del pH nella dissoluzione della Formula (1) è stato dimostrato *in vitro*, e la limitazione della dissoluzione all'assorbimento è stata postulata *in vivo*. L'aggiunta di

acidificanti alla formulazione, o la somministrazione della Formula (1) completamente dissolta, sono metodi per facilitare la dissoluzione abbassando il pH nel microambiente, o per aggirare la fase di dissoluzione per un modello di prova di concetto *in vivo*. Al contrario, il dosaggio con le forme di sale alternative di Formula (1), che si prevede abbia poco impatto sul pH gastrico, ha dimostrato che la forma solida di Formula (1) ha effetti significativi e inattesi sulle caratteristiche di assorbimento orale nei mammiferi.

La Figura 33 confronta l'AUC a dose normalizzata e C_{max} , con la media aggiuntiva di esposizioni ripetute per cani per capsule liquide (n= 2 per cane) e F-2 (n= 5 per cane). I risultati mostrano nuovamente che l'esposizione di Formula (1) può essere ripristinata in presenza di omeprazolo usando la formulazione di acidificante FA-3 della presente invenzione nonché i sali della presente invenzione.

Questi studi dimostrano che buone esposizioni possono essere ottenute in cani trattati con omeprazolo o consentendo una formulazione della Forma I di Formula (1) o generando una nuova forma di sale di Formula (1). Le esposizioni ottenute usando la formulazione FA-3 con acidificante e i sali con omeprazolo sono sorprendentemente simili alle esposizioni osservate senza omeprazolo, e si può prevedere una buona prestazione per altri sali e acidificanti nonché per altri agenti acido-riducenti. L'assorbimento mediato da dissoluzione osservato in soggetti umani può essere modellizzato nei cani. Il saggio di dissoluzione *in vitro* è anche un buon fattore predittivo

di caratteristiche di assorbimento *in vivo* di diverse formulazioni di Forma I di Formula (1) incapsulate.

Uno studio della comparabilità di PK separato (2219-060) è stato completato per caratterizzare le esposizioni dalla sostanza farmaceutica acetone-ricristallizzata ed etanolo-ricristallizzata in capsule prodotte con la formulazione F-2. Questi dati caratterizzano in modo più completo la variabilità associata all'assorbimento di Formula (1) tra e all'interno dei cani in cani condizionati che non sono trattati con omeprazolo e indicano che la sostanza farmaceutica ricristallizzata in etanolo è idonea allo sviluppo clinico di fase tardiva.

Esempio 11. Formulazioni di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide

Formulazioni di forme solide di Formula (1) (sali e Forma I di base libera) sono state preparate come mostrato nella Tabella 20,

TABELLA 20. Descrizione della formulazione 1 (F-1) e formulazioni di sale acido.

	Base libera F-1 (Forma I)	F-1 maleato (Forma A)	F-1 fumarato (Forma A)	F-1 L-tartrato (Forma A)	F-1 fosfato (Forma A)
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
Formula (1)	10-50%	10-50%	10-50%	10-50%	10-50%
Cellulosa microcristallina	50-90%	50-90%	50-90%	50-90%	50-90%

Formulazioni aggiuntive sono state preparate come mostrato nella Tabella 21 usando la seguente procedura. Un granulato secco di Formula (1) è stato mescolato con acidificanti extragranulari. Le miscele sono state in seguito caricate in capsule di gelatina dura (nel caso di FA-1, FA-2, FA-4 e FA-5) o compresse a dare una compressa (nel caso di FA-4).

TABELLA 21. Formulazioni di Formula (1), che mostrano componenti intragranulari e componenti extragranulari.

		FORMULA (1)	CELLULOSA MICROCRISTALLINA SILICIFICATA	AMIDO DI MAIS PARZIALMENTE PREGELATINIZZATO	SODIO AMIDO GLICOLATO	STEARATO DI MAGNESIO	STEARATO DI MAGNESIO	ACIDO FUMARICO	ACIDO ALGINICO	POLOSSAMERO 407	IDROSSIPROPIL-METILCELLULOSA
F-2	p/p %	25-50%	25-33%	20-33%	0-5%	0.05-1%	0.05-1%	--	--	--	--
FA-1	p/p %	25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	0.05-1%	0.05-1%	25-33%	--	--	1-5%
FA-2	p/p %	25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	0.05-1%	0.05-1%	--	15-33%	--	--
FA-3	p/p %	25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	0.05-1%	0.05-1%	15-33%	5-15%	--	--
FA-4	p/p %	25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	0.05-1%	0.05-1%	15-33%	5-15%	--	--
FA-5	p/p %	25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	0.05-1%	0.05-1%	15-33%	5-15%	0.5-5%	--

1. Polossamero 407 si riferisce al copolimero triblocco di polipropilenglicole e glicole polietilenico (disponibile da BASF, Inc., con il nome commerciale PLURONIC F127)

I risultati degli esperimenti di dissoluzione con l'uso di formulazioni rappresentative di quelle nella Tabella 21 a due valori di pH diversi sono mostrati in Figura 30 e Figura 31. Il sistema di



dissoluzione era un apparecchio del tipo II della farmacopea U.S. dotato di pale (a 50 rpm) e recipienti da 900 ml equilibrati a 37 °C. I campioni sono stati prelevati a intervalli usando una cannula a una profondità impostata attraverso un filtro in linea e analizzati mediante HPLC a fase inversa con rilevazione spettroscopica UV. Le capsule sono state testate in dispositivi di zavorramento, e la compressa è stata testata pura.

Formulazioni aggiuntive possono essere preparate secondo la Tabella 22. Formulazioni intragranulari possono essere preparate mediante la seguente procedura. I materiali vengono premiscelati in un miscelatore a V da 250 ml per 300 giri. Dopo la miscelazione, viene aggiunto lubrificante e viene effettuata la miscelazione per 100 ulteriori giri. La miscela viene compattata a rullo su un compattatore a rulli TF-mini e, quindi, alimentata attraverso un granulatore oscillante dotato di uno vaglio da 20 mesh. Formulazioni extragranulari possono essere preparate mediante la seguente procedura. Quando vengono aggiunti acidi o polimeri extragranulari, essi vengono aggiunti al materiale extragranulare pre-miscelato o puro e, in seguito, aggiunti in un miscelatore a V da 250 ml e per 300 giri. Dopo la miscelazione, viene aggiunto lubrificante e viene effettuata la miscelazione per 100 ulteriori giri. I granuli lubrificati sono quindi inseriti in capsule di gelatina dura di dimensione 1 riempite usando un disco di dosaggio o un incapsulatore dotato di dosatore semiautomatico o automatico. In alternativa, il materiale può essere compresso su una pressa o stampo per

compresse.



TABELLA 22. Formulazioni di Formula (1).

			FORMULA (1) (BASE LIBERA DI FORMA D)	CELLULOSA MICROCRISTALLINA SILICIFICATA	AMIDO DI MAIS PARZIALMENTE PREGELATINIZZATO	SODIO AMIDO GLICOLATO	ACIDO TARTARICO	STEARATO DI MAGNESIO	ACIDO ALGINICO		STEARATO DI MAGNESIO	ACIDO TARTARICO	ACIDO ALGINICO	ACIDO ASCORBICO	CARBOPOL 971P ¹	IDROSSIPROPILMETIL-CELLULOSA	
FA-7	p/p %	Intragranulare	25-50%	25-33%	20-33%	0-5%	15-33%	0.05-1%	5-15%	Extragranulare	0.05-1%	--	--	--	--	--	
FA-8	p/p %		25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	--	0.05-1%	--		0.05-1%	25-33%	5-15%	--	--	--	--
FA-9	p/p %		25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	--	0.05-1%	--		0.05-1%	--	15-33%	--	--	--	7.5-15%
FA-10	p/p %		25-35%	15-35%	20-33%	0-5%	--	0.05-1%	--		0.05-1%	0.05-1%	--	--	20-50%	2.5 - 10%	--

1. Carbopol 971P (Lubrizol, Inc.) è anche indicato come carbossipolimetilene o "carbomeri" (ad esempio, in monografie farmaceutiche come USP/NF o Ph. Eur)

Oltre alle formulazioni descritte nella Tabella 21 e nella Tabella 22, anche altri acidificanti possono essere usati come descritto nel presente documento, inclusi acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e D-araboascorbico), acido alginico, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF), Carbopol 971P (carbossipolimetilene) e Carbomer 941 (acido poliacrilico).

Formulazioni non limitative aggiuntive sono fornite nella Tabella

23, e possono essere preparate come descritto sopra o usando metodi noti nell'arte. Queste formulazioni, e tutte le formulazioni precedenti, possono essere preparate come capsule o compresse, con o senza rivestimento.

TABELLA 23. Formulazioni di Formula (1).

FA-11	p/p %	Intragranulare	FORMULA (1) (BASE LIBERA DI FORMA I)	CELLULOSA MICROCRISTALLINA SILICIFICATA	AMIDO DI MAIS PARZIALMENTE PREGELATINIZZATO	SODIO AMIDO GLICOLATO	ACIDO TARTARICO	STEARATO DI MAGNESIO	ACIDO ALGINICO	IDROSSIPROPILMETIL-CELLULOSA	Extragranulare	STEARATO DI MAGNESIO	ACIDO TARTARICO	SODIO AMIDO GLICOLATO
			25-50%	10-25%	10-25%	0-5%	10-30%	0.05-1%	10-30%	--		0.05-2%	--	0-6%
FA-12	p/p %	Intragranulare	25-50%	10-25%	10-25%	0-5%	--	0.05-1%	--	0-20%	Extragranulare	0.05-2%	10-35%	0-6%

Esempio 12. Confronto della lavorabilità per la Forma I della base libera e la Forma II della base libera

Sia la Forma I sia la Forma II di Formula (1) sono state lavorate a parametri simili usando il processo e la composizione per la formulazione F-2 (come descritto sopra). La Formula (1) è stata miscelata con gli ingredienti e quindi lubrificata, in seguito compattata a rullo con un compattatore a rullo ad alimentazione superiore con una fase di granulazione separata. I granuli sono stati quindi lubrificati. I granuli risultanti dalla Forma I e dalla Forma II sono stati in seguito caratterizzati per la densità allo scuotimento e aerata. I granuli della

Forma II mostravano una tendenza generale a scarso flusso e scarsa uniformità.

La scorrevolezza influenza tipicamente la facilità di manipolazione del prodotto farmaceutico durante la lavorazione. Quando la scorrevolezza è molto scarsa, si verificano problemi con la manipolazione e la lavorazione durante miscelazione, granulazione e riempimento/compressione. La scorrevolezza basata su interazioni interparticellari può essere misurata usando il rapporto di Hausner o l'indice di comprimibilità misurando la densità allo scuotimento e aerata delle polveri. Questi valori vengono calcolati e classificati come indicato nella monografia della farmacopea U.S. USP<1174>. Hausner, Int. J. Powder Metall. 1967, 3, 7-13; Carr, Chem. Eng. 1965, 72, 163-168. La monografia della farmacopea U.S. USP<1174> definisce le seguenti categorie di carattere di flusso: Eccellente (indice di comprimibilità \leq 10%, rapporto di Hausner da 1,00 a 1,11); Buono (indice di comprimibilità 11-15%, rapporto di Hausner da 1,12 a 1,18); Mediocre (indice di comprimibilità 16-20%, rapporto di Hausner da 1,19 a 1,25); Passabile (indice di comprimibilità 21-25%, rapporto di Hausner da 1,26 a 1,34); Scarso (indice di comprimibilità 26-31%, rapporto di Hausner da 1,35 a 1,45); Molto scarso (indice di comprimibilità 32-37%, rapporto di Hausner da 1,46 a 1,59); e Scarsissimo (indice di comprimibilità $>$ 38%, rapporto di Hausner $>$ 1,60).

Il rapporto di Hausner e l'indice di comprimibilità per i granuli della Forma I era 1,33 e 25%, rispettivamente, mentre i granuli della

Forma II presentavano un rapporto di Hausner di 1,47 e un indice di comprimibilità di 32%. Pertanto, i risultati indicano che i granuli della Forma I hanno un flusso passabile mentre i granuli della Forma II hanno un flusso da scarso a molto scarso.

Le miscele sono state quindi caricate in capsule usando un incapsulatore automatico operante sul principio del disco di dosaggio. Dopo il caricamento fino a un peso bersaglio, le capsule vengono controllate per l'uniformità del peso, le capsule fuori peso venendo scartate. Le capsule della Forma I hanno una resa di 90-100% di capsule accettabili, mentre le capsule contenenti la Forma II avevano una resa solo di 40-60%.

Al momento della misurazione dell'uniformità di contenuto come definita dalla monografia della farmacopea U.S. USP<905> per una capsula di gelatina dura, le capsule contenenti la Forma II hanno un valore di accettazione maggiore di 15, mentre le capsule contenenti la Forma I hanno un valore di accettazione minore di 15.

I risultati sono riassunti in Tabella 24.

TABELLA 24. Risultati dei test di processabilità per la Forma I e la Forma II della base libera di Formula (1).

Lotto	Densità apparente g/cc	Densità allo scuotimento g/cc	Rapporto di Hausner	Indice di comprimibilità (%)
--------------	---------------------------------------	--	--------------------------------	---



F-2 con l'uso della Forma I	0,527	0,703	1,33	25
F-2 con l'uso della Forma II	0,438	0,644	1,47	32

RIVENDICAZIONI

1. Composizione comprendente una base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** un pattern di diffrazione di raggi X su polveri in trasmissione comprendente picchi a 6,4, 8,6, 10,5, 11,6 e 15,7° 2θ ± 0,2° 2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K_{α1}.

2. Composizione della rivendicazione 1, in cui la base cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** un pattern di diffrazione di raggi X su polveri in trasmissione comprendente, inoltre, picchi a 10,9, 12,7, 13,4, 14,3, 14,9 e 18,2° 2θ ± 0,2° 2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K_{α1}.

3. Composizione di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 o 2, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-*a*]pirazin-1-il)-*N*-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** un pattern di diffrazione di raggi X su polveri in trasmissione comprendente, inoltre, uno o più picchi selezionati dal gruppo costituito da 11,3, 15,1, 16,1, 17,3, 19,2, 19,4, 19,8, 20,7, 21,1, 21,4, 21,6, 21,9, 22,6, 23,3, 23,6, 24,9, 25,2, 25,4, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, 26,9, 27,7, 28,6, 29,1, 29,4, 30,1, 30,5, 31,7, 31,9, 32,2, 32,6,

33,1, 33,4, 34,5, 35,9, 36,1, 36,8, 37,4, 38,1, 38,9, e 39,5 °2θ ± 0,2 °2θ, in cui il pattern di diffrazione di raggi X su polveri è stato acquisito usando una fonte di radiazione di Cu-K_{α1}.

4. Composizione di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** uno spettro Raman comprendente picchi a 1620, 1609, 1547, 1514 e 1495 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

5. Composizione della rivendicazione 4, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** uno spettro Raman comprendente, inoltre, uno o più picchi selezionati dal gruppo costituito da 1680, 1574, 1454, 1433, 1351, 1312, 1255, 1232, 1187, 1046, 995, 706, 406 e 280 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

6. Composizione di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** uno spettro infrarosso (IR) comprendente picchi a 1621, 1608, 1403, 1303, e 764 cm⁻¹ ± 4 cm⁻¹.

7. Composizione della rivendicazione 6, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è **caratterizzata da** uno spettro IR comprendente, inoltre, uno o più picchi selezionati dal gruppo costituito da 3367, 3089, 2246, 1682, 1574, 1514, 1504, 1454, 1428,

1345, 1248, 1194, 1177, 1149, 1109, 1049, 1023, 1003, 947, 900, 858, 842, 816, 734, 729, 701, 689, 665, 623, e $612 \text{ cm}^{-1} \pm 4 \text{ cm}^{-1}$.

8. Composizione di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 7, in cui la base libera cristallina di (S)-4-(8-ammino-3-(1-(but-2-inoil)pirrolidin-2-il)imidazo[1,5-a]pirazin-1-il)-N-(piridin-2-il)benzammide è, inoltre, **caratterizzata dall'assenza** di acqua nella struttura cristallina.

9. Composizione di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 8, comprendente, inoltre, un acidificante extragranulare.

10. Composizione della rivendicazione 9, in cui l'acidificante extragranulare è selezionato dal gruppo costituito da acido fumarico, acido succinico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, acido tartarico racemico, acido ascorbico, acido isoascorbico (noto anche come acido eritorbico e acido D-araboascorbico), acido alginico o un relativo sale, Protacid F 120 NM, Protacid AR 1112 (noto anche come Kelacid NF) e Carbopol 971P (carbospolimetilene) e loro combinazioni.

11. Composizione della rivendicazione 9, in cui l'acidificante extragranulare è acido alginico, o un relativo sale di sodio o potassio, a una concentrazione tra 5% e 33% in peso.

12. Composizione di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 11, in cui la composizione comprende, inoltre, almeno un eccipiente farmaceuticamente accettabile.

13. Composizione della rivendicazione 12 per l'uso nel trattamento di una malattia iperproliferativa, in cui la malattia iperproliferativa è selezionata dal gruppo costituito da leucemia



linfocitica cronica, linfoma non Hodgkin, linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma mantellare, linfoma follicolare, malattia linfoproliferativa a cellule B, leucemia linfoblastica acuta a cellule B, macroglobulinemia di Waldenström, leucemia di Burkitt, malattia di Hodgkin, mieloma multiplo, leucemia mieloide acuta, leucemia mielomonocitica giovanile, leucemia delle cellule ciliate, leucemia mastocitaria, mastocitosi, disordini mieloproliferativi (MPD), neoplasie mieloproliferative, policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria (PMF), sindrome mielodisplastica, leucemia mielogena cronica (BCR-ABL-1-positiva), leucemia neutrofila cronica, leucemia eosinofila cronica, linfoma primitivo del sistema nervoso centrale (SNC), linfoma multifocale primitivo del sistema nervoso periferico (PNS), cancro del timo, cancro del cervello, glioblastoma, cancro del polmone, cancro a cellule squamose, cancro della pelle (ad esempio, melanoma), cancro dell'occhio, retinoblastoma, melanoma intraoculare, cancri della cavità orale e orofaringei, cancro della vescica, cancro gastrico, cancro dello stomaco, cancro pancreatico, cancro della mammella, cancro della cervice, cancro della testa e del collo, cancro renale, cancro del rene, cancro del fegato, cancro ovarico, cancro della prostata, cancro coloretale, cancro osseo (ad esempio, cancro osseo metastatico), cancro esofageo, cancro testicolare, cancro ginecologico, cancro della tiroide, cancro epidermoide, cancro correlato ad AIDS (ad esempio, linfoma), carcinoma della cervice indotto da virus (papillomavirus umano), carcinoma nasofaringeo (virus Epstein-Barr), sarcoma di

Kaposi, linfoma primitivo effusivo (herpesvirus del sarcoma di Kaposi), carcinoma epatocellulare (virus dell'epatite B e dell'epatite C), leucemie a cellule T (virus umano-1 della leucemia a cellule T), iperplasia benigna della pelle, restenosi, ipertrofia prostatica benigna, angiogenesi tumorale, malattia infiammatoria cronica, artrite reumatoide, aterosclerosi, malattia infiammatoria intestinale, malattie della pelle, come psoriasi, eczema e sclerodermia, diabete, retinopatia diabetica, retinopatia di prematurità, degenerazione maculare legata all'età, emangioma, colite ulcerosa, dermatite atopica, pouchite, spondiloartrite, uveite, malattia di Behcet, polimialgia reumatica, arterite gigantocellulare, sarcoidosi, malattia di Kawasaki, artrite idiopatica giovanile, idratenite suppurativa, sindrome di Sjögren, artrite psoriasica, artrite reumatoide giovanile, spondilite anchilosante, malattia di Crohn, lupus e nefrite lupica.

14. Composizione della rivendicazione 12 per l'uso nel trattamento di una malattia iperproliferativa, in cui la malattia iperproliferativa è leucemia linfocitica cronica.

15. Composizione della rivendicazione 12 per l'uso nel trattamento di una malattia iperproliferativa, in cui la malattia iperproliferativa è linfoma mantellare.

16. Composizione della rivendicazione 12 per l'uso nel trattamento di una malattia iperproliferativa, in cui la malattia iperproliferativa è linfoma diffuso a grandi cellule B.

17. Composizione di rivendicazione 12 per l'uso nel



trattamento di una malattia iperproliferativa, in cui la malattia iperproliferativa è linfoma follicolare.

*** **

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.



LEGENDA DELLE TAVOLE DEI DISEGNI

TAVOLA 1/20

Figura 1

“counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

Figura 2

“Wavenumber cm^{-1} ” = Numero d’onda cm^{-1}

TAVOLA 2/20

Figura 3

“converted to absorption by OPUS 7.0” = convertiti per l’assorbimento
mediante OPUS 7.0

“Sample Name” = Nome campione

“Form I (PP502-P1)” = Forma I (PP502-P1)

Figura 4

“counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

TAVOLA 3/20

Figura 5

“Wavenumber cm^{-1} ” = Numero d’onda cm^{-1}

Figura 6

“counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

TAVOLA 4/20

Figura 7

“Wavenumber cm^{-1} ” = Numero d’onda cm^{-1}

Figura 8

“sample PP522-P21 (inhydrate) after storage under storage under nitrogen” = campione PP522-P21 (inidrato) dopo conservazione sotto azoto

“Counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

TAVOLE 5-6/20

Figure 9-12

“Counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

TAVOLA 7/20

Figura 13

“Counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

Figura 14

“Wavenumber cm^{-1} ” = Numero d’onda cm^{-1}

TAVOLE 8-11/20

Figure 15-22

“Counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

TAVOLA 12/20

Figura 23

“Counts /s” = conte/s

“ 2θ (Cu K-alpha radiation)” = 2θ (radiazione di Cu K-alfa)

Figura 24

“alpha (mol fraction of species)” = alfa (frazione molare di specie)



“di-acid salt” = sale di-acido

“mono-acid sale” = sale monoacido

“neutral” = neutro

“mono-base” = monobase

“mono-basic salt (1- charge)” = sale monobasico (carica 1-)

“neutral free base” = base libera neutra

“mono-acid salt (1+ charge)” = sale monoacido (carica 1+)

“di-acid salt (2+ charge)” = sale di-acido (carica 2+)

TAVOLA 13/20

Figura 25

“solubility” = solubilità

Figura 26

“Formula (I) Species Distribution And Solubility” = Distribuzione delle specie e solubilità di Formula (I)

“%Species” = % di specie

“Concentration of Formula (I)” = Concentrazione di Formula (I)

“neutral (freebase)” = (base libera) neutra

“Freebase” = Base libera

“Titration from Low pH to High” = Titolazione da pH basso ad alto

“Titration from High pH to Low” = Titolazione da pH alto a basso

TAVOLA 14/20

Figura 27

“Solubility of Formula (I) Free Base Form I” = Solubilità della base libera di Formula (I)

“solubility in mg/ml” = solubilità in mg/ml



“Ethanol” = Etanolo

“1-Propanol” = 2-Propanolo

“temperature in °C” = temperatura in °C

TAVOLA 15/20

Figura 28

“Intrinsic Dissolution comparison between SGF and pH 2.5” = Confronto della dissoluzione intrinseca tra SGF e pH 2,5

“Amount Dissolved” = Quantità dissolta

“Form I in SGF” = Forma I in SGF

“Form II in SGF” = Forma II in SGF

“Form I in pH 2.5” = Forma I in pH 2,5

“Form II in pH 2.5” = Forma II in pH 2,5

“Time (min)” = tempo (min)

TAVOLA 16/20

Figura 29

“Form I” = Forma I

“Form II” = Forma II

“Lot Compared” = Lotto confrontato

TAVOLA 17/20

Figura 30

“Dissolution Comparison in pH 3.4 Phthalate Buffer” = Confronto della dissoluzione in tampone ftalato pH 3,4

“% Released” = % rilasciata

“Time (minutes)” = Tempo (minuti)

TAVOLA 18/20



Figura 31

“Dissolution Comparison in pH 5.5 Acetate Buffer” = Confronto della dissoluzione in tampone acetato pH 3,4

“% Released” = % rilasciata

“Time (minutes)” = Tempo (minuti)

TAVOLA 19/20

Figura 32

“AUC 100 mg capsules” = AUC di capsule da 100 mg

“Liq Cap” = Cap. liq.

“F-2 Omeprazole” = F-2 Omeprazole

“Maleate Omeprazole” = Maleato Omeprazole

“Phosphate Omeprazole” = Fosfato Omeprazole

“F-3 Omeprazole” = F-3 Omeprazole

“Fumarate / Omeprazole” = Fumarato/Omeprazole

“Tartrate / Omeprazole” = Tartrato/Omeprazole

“Study Phase” = Fase di studio

“Cmax 100 mg capsules” = Cmax di capsule da 100 mg

“Tmax 100 mg capsules” = Tmax max di capsule da 100 mg

TAVOLA 20/20

Figura 33

“Dose Normalized AUC (100 mg capsules)” = AUC a dose normalizzata
(capsule da 100 mg)

“Liq Caps (avg, n=2)” = Cap liq (media, n= 2)

“F-2 (avg, n=5)” = F-2 (media, n= 5)

“F-2 / Omeprazole” = F-2/Omeprazole



“FA-3 / Omeprazole” = F-3/Omeprazole

“Maleate / Omeprazole” = Maleate/Omeprazole

“Phosphate / Omeprazole” = Fosfato/Omeprazole

“Fumarate / Omeprazole” = Fumarato/Omeprazole

“Tartrate / Omeprazole” = Tartrato/Omeprazole

“Study Phase” = Fase di studio

“Dose Normalized C_{max} (100 mg capsules)” = C_{max} a dose normalizzata
(capsule da 100 mg)

*** **

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

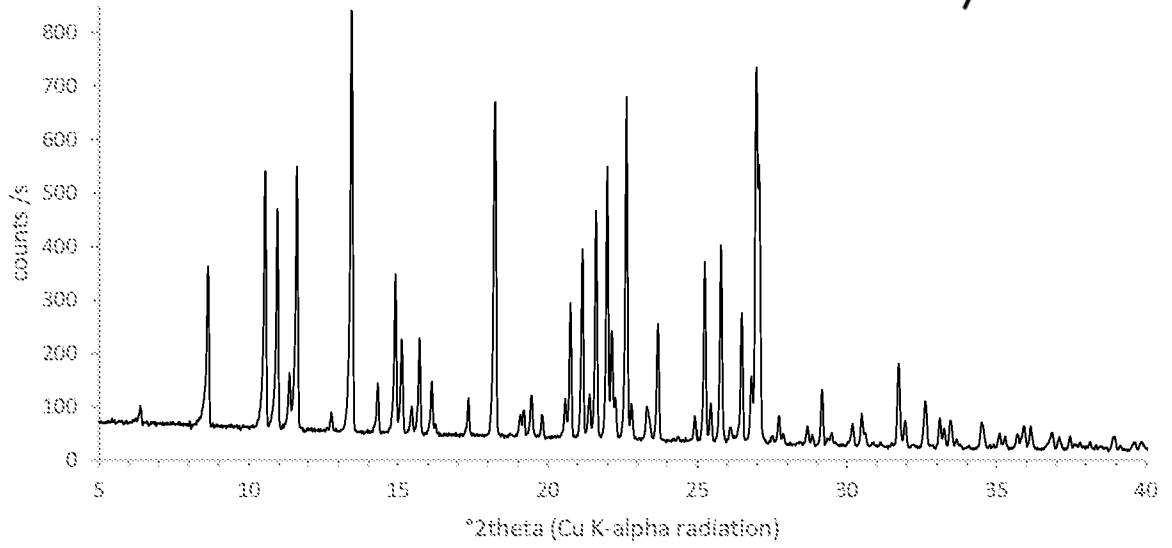


FIG. 1

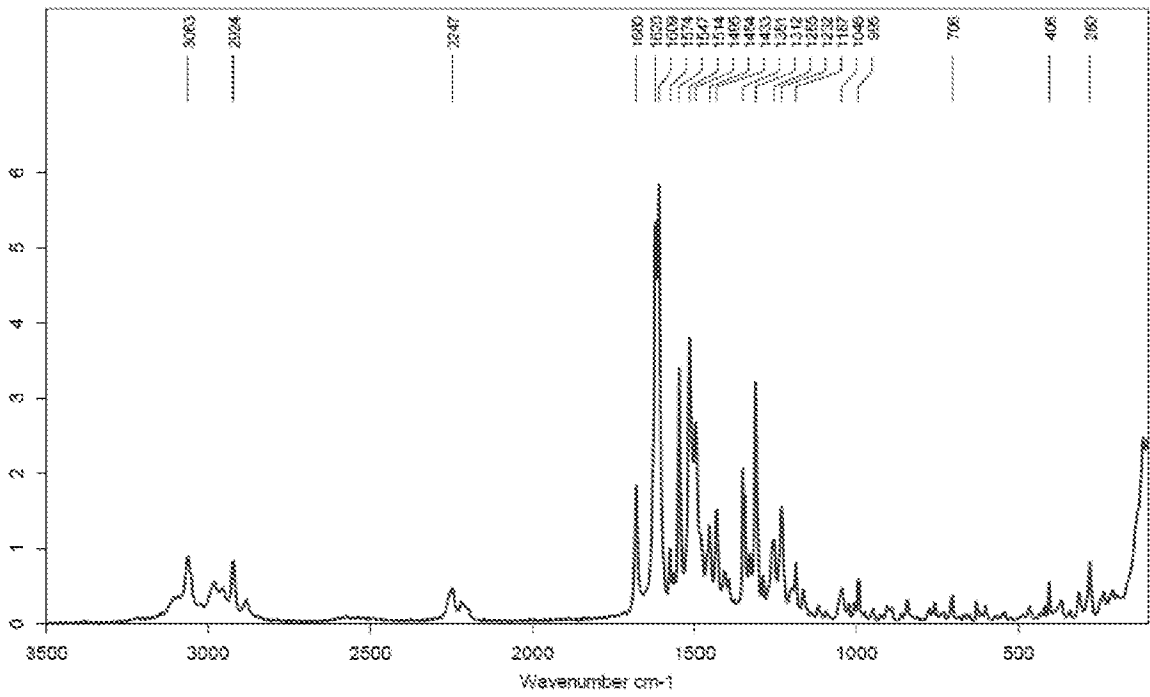


FIG. 2

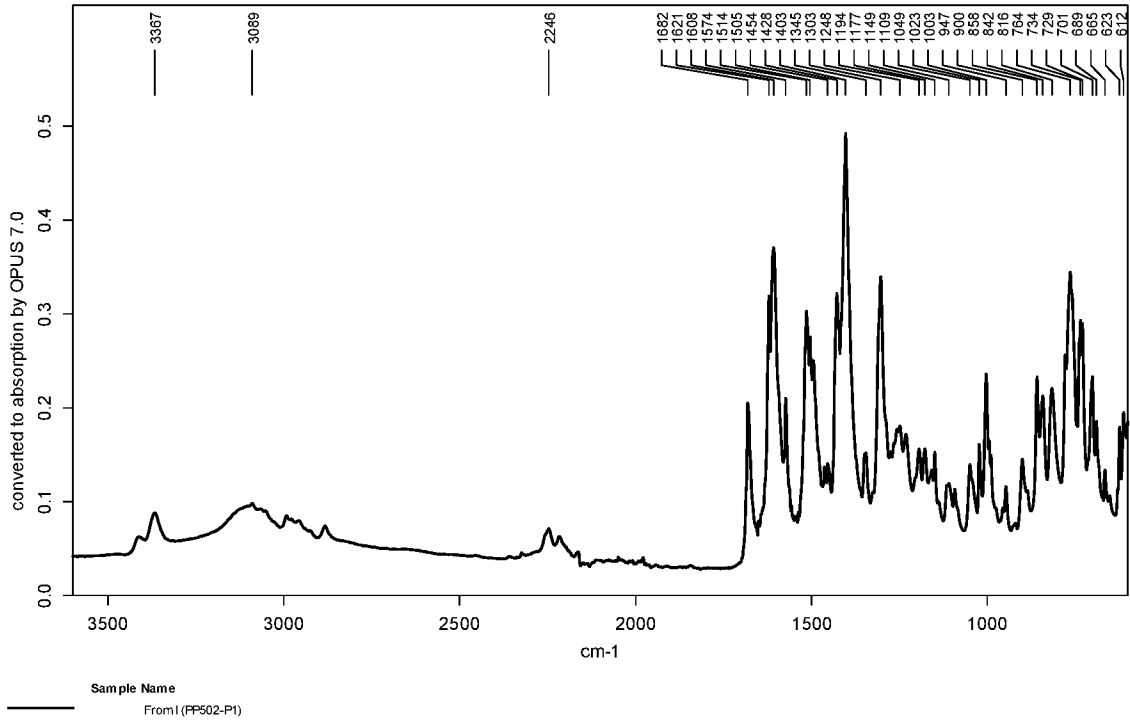


FIG. 3

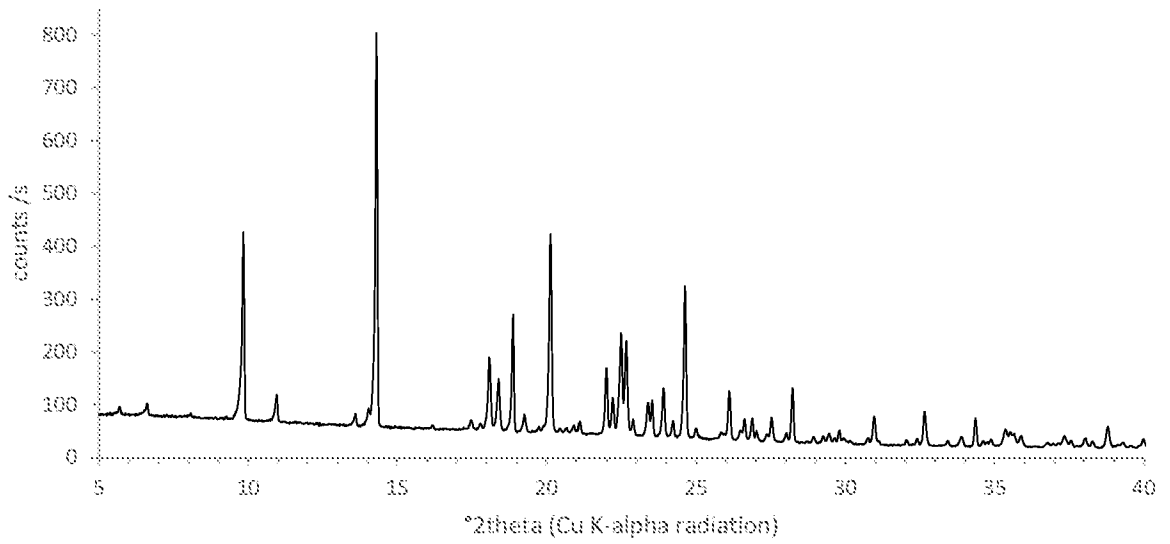


FIG. 4

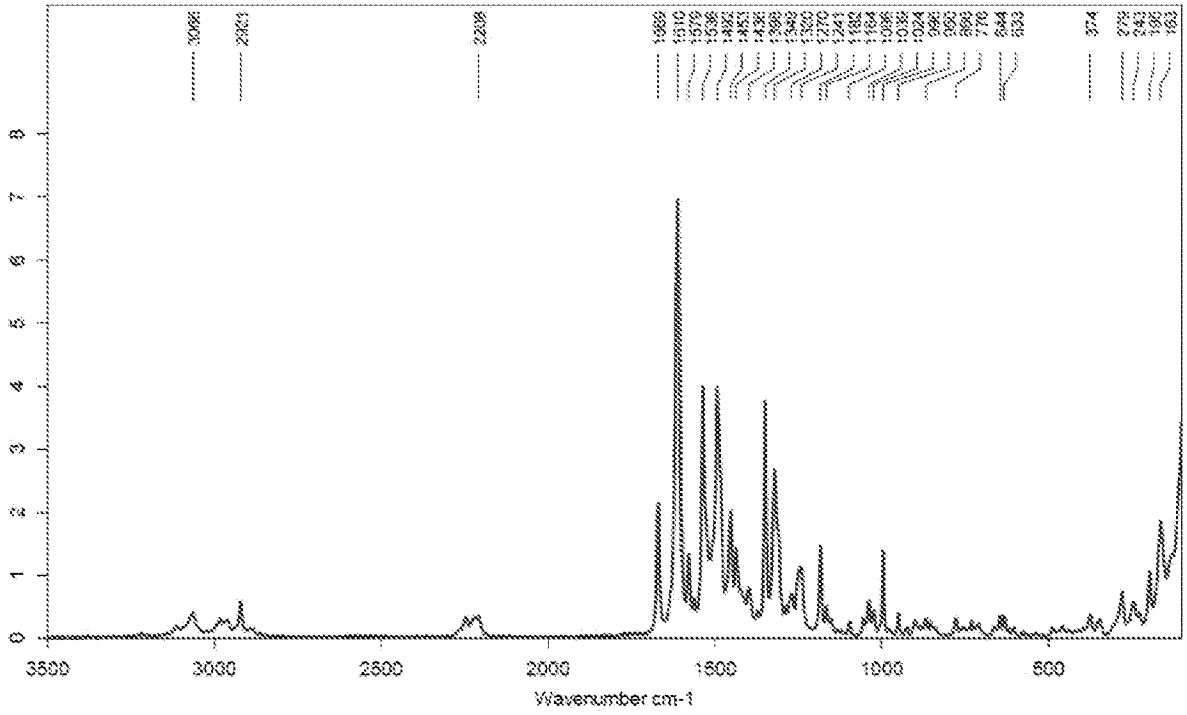


FIG. 5

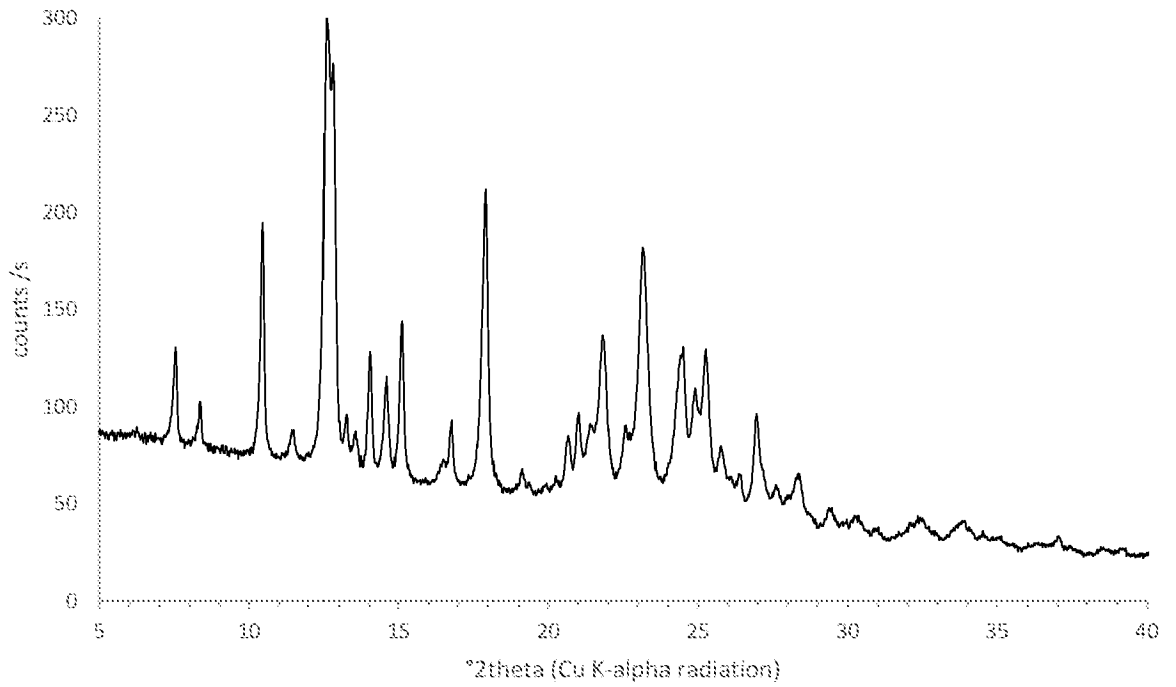


FIG. 6

B

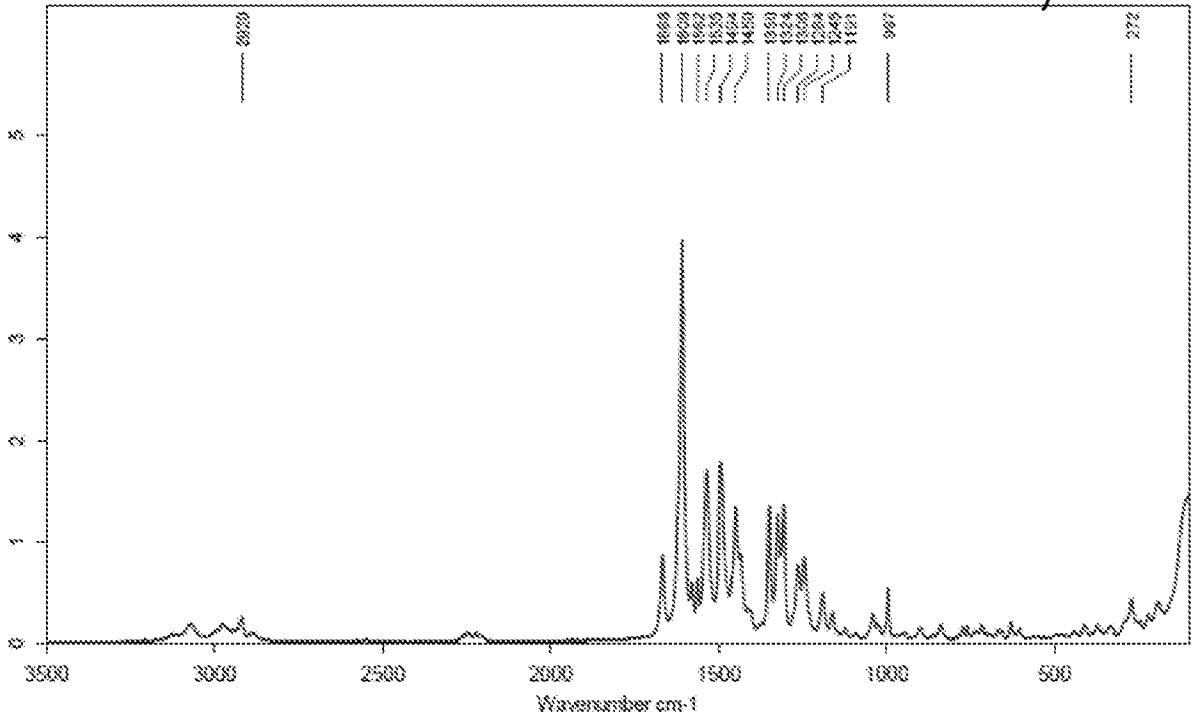


FIG. 7

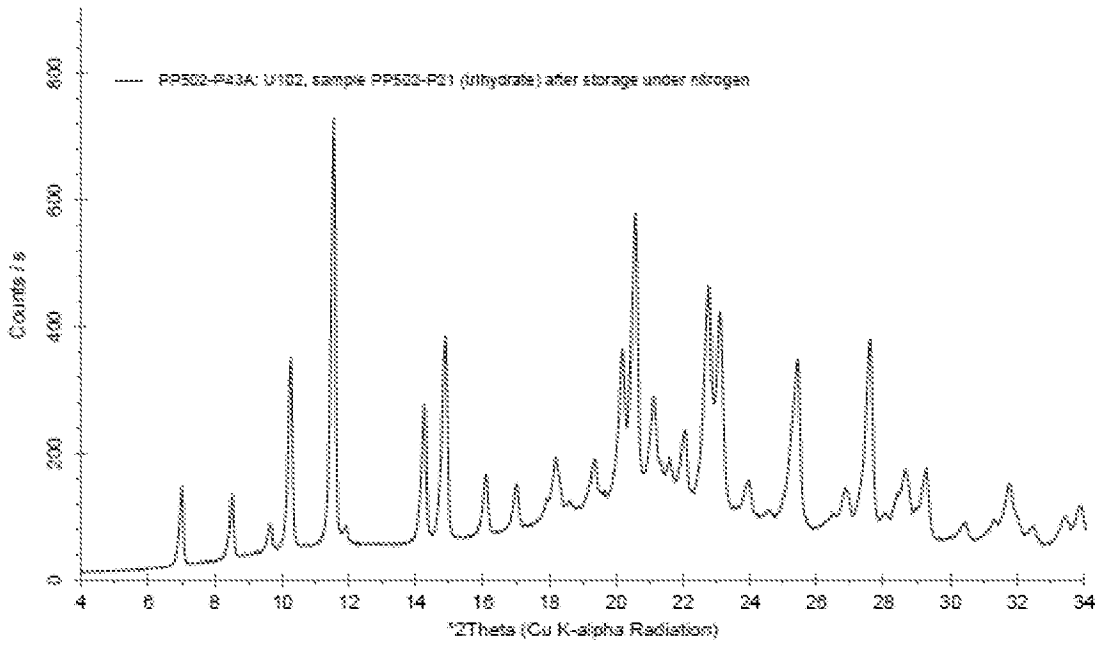


FIG. 8

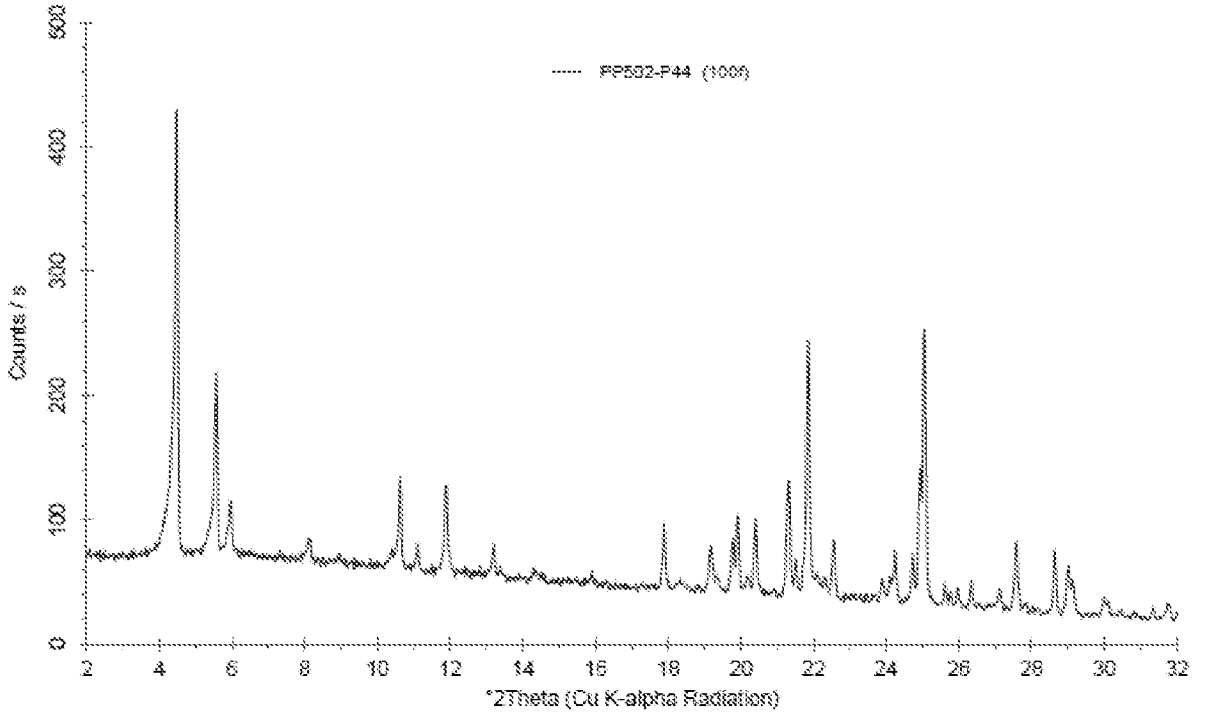


FIG. 9

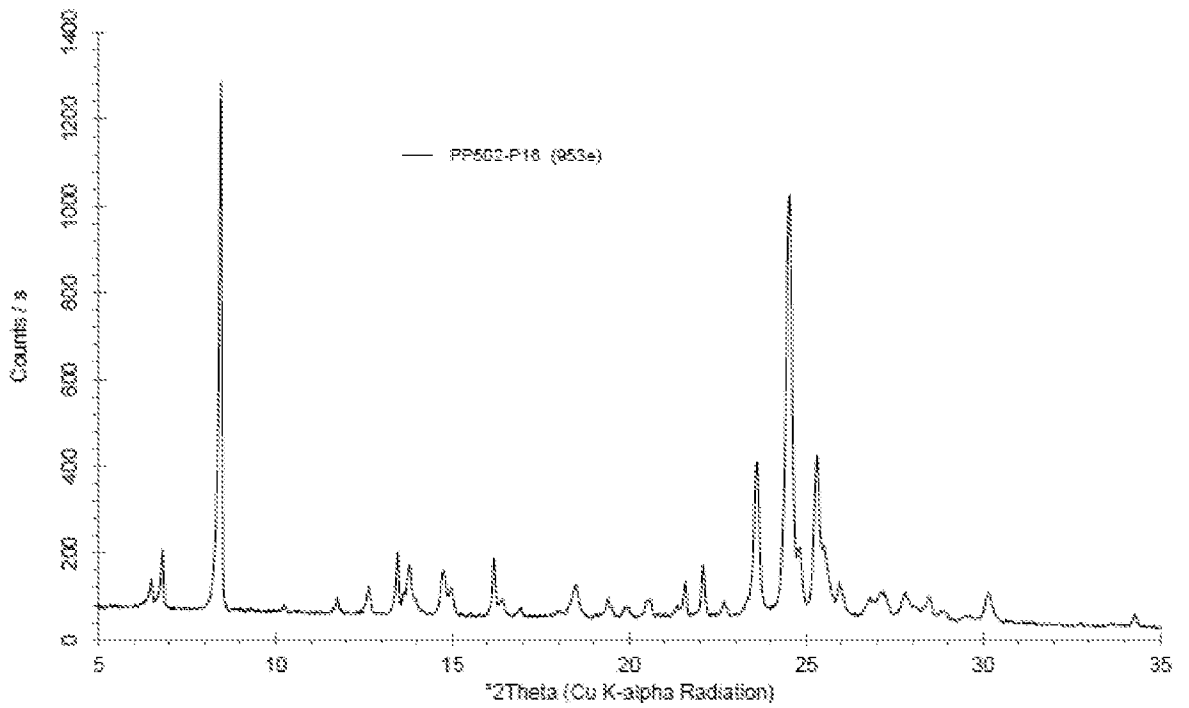


FIG. 10

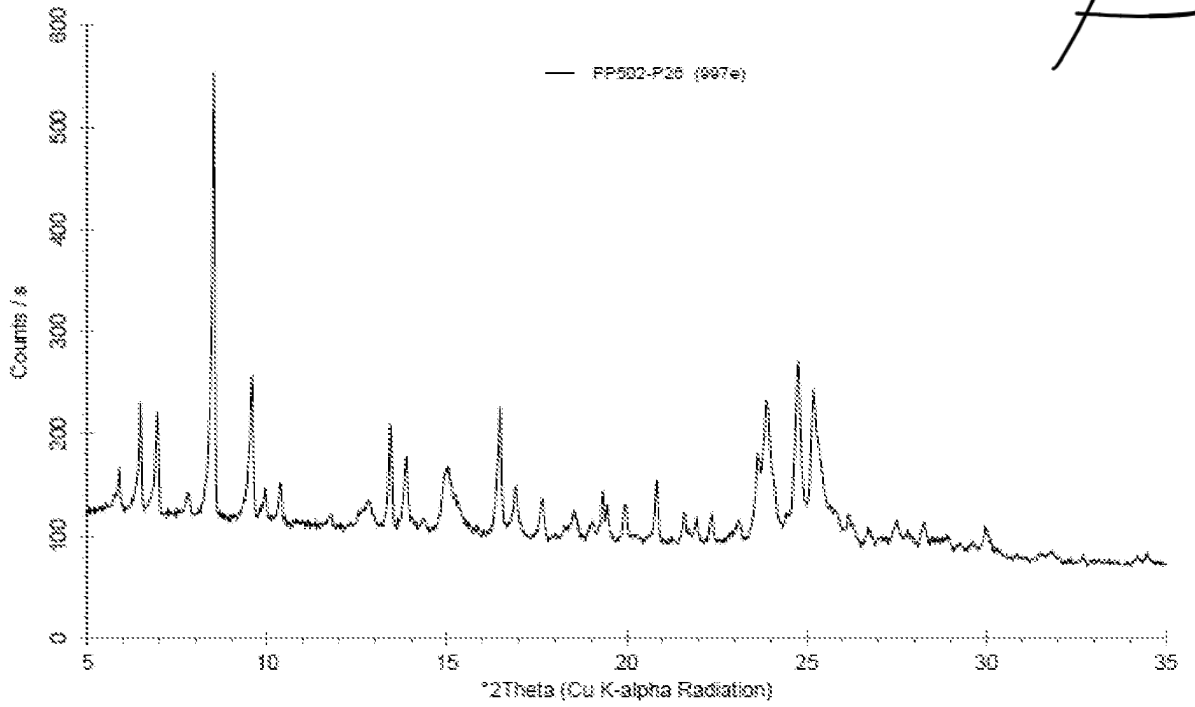


FIG. 11

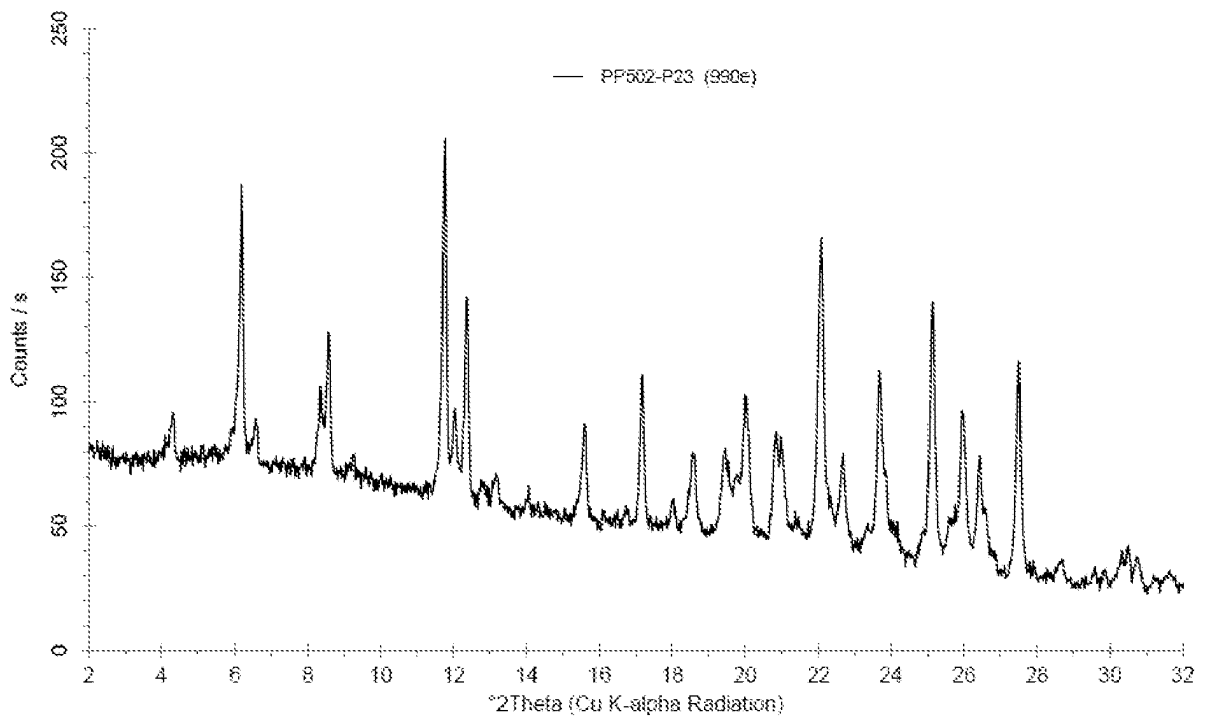


FIG. 12

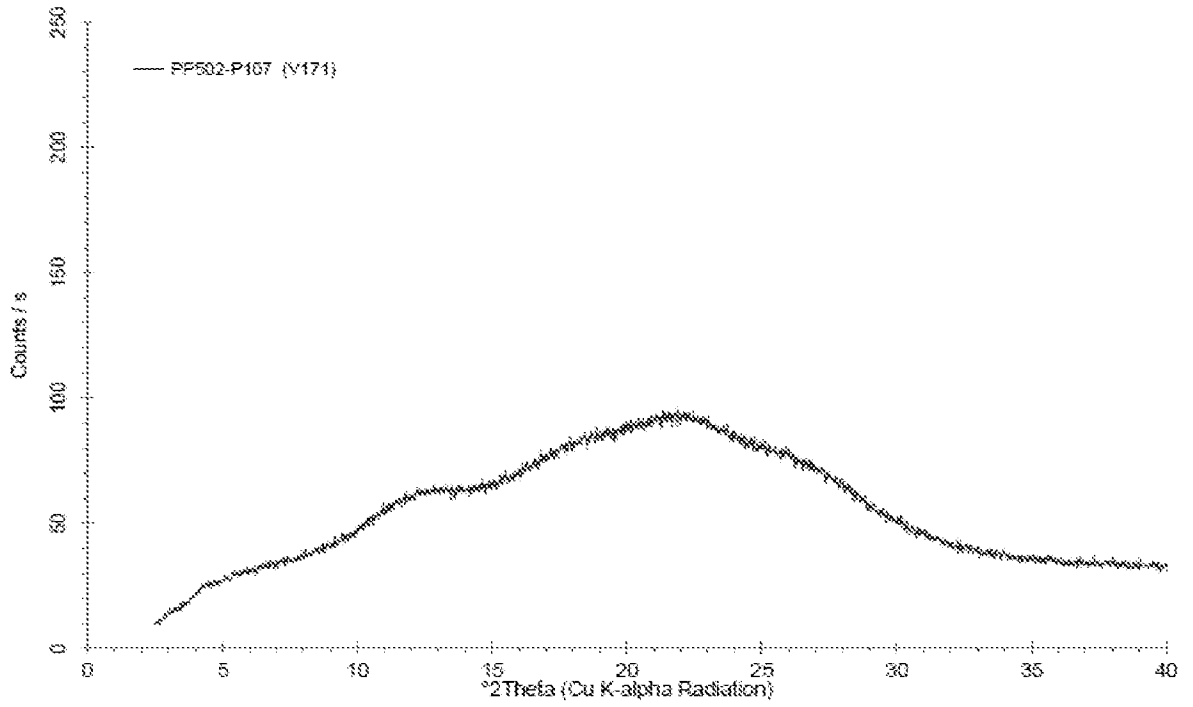


FIG. 13

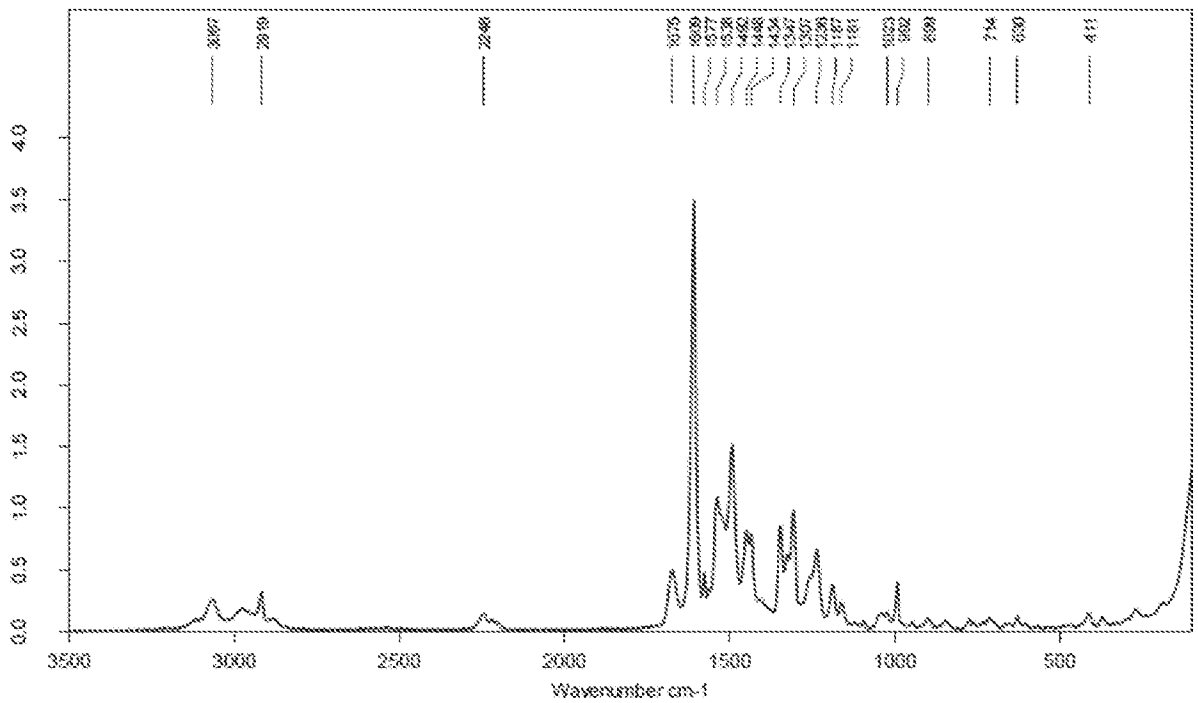


FIG. 14

B

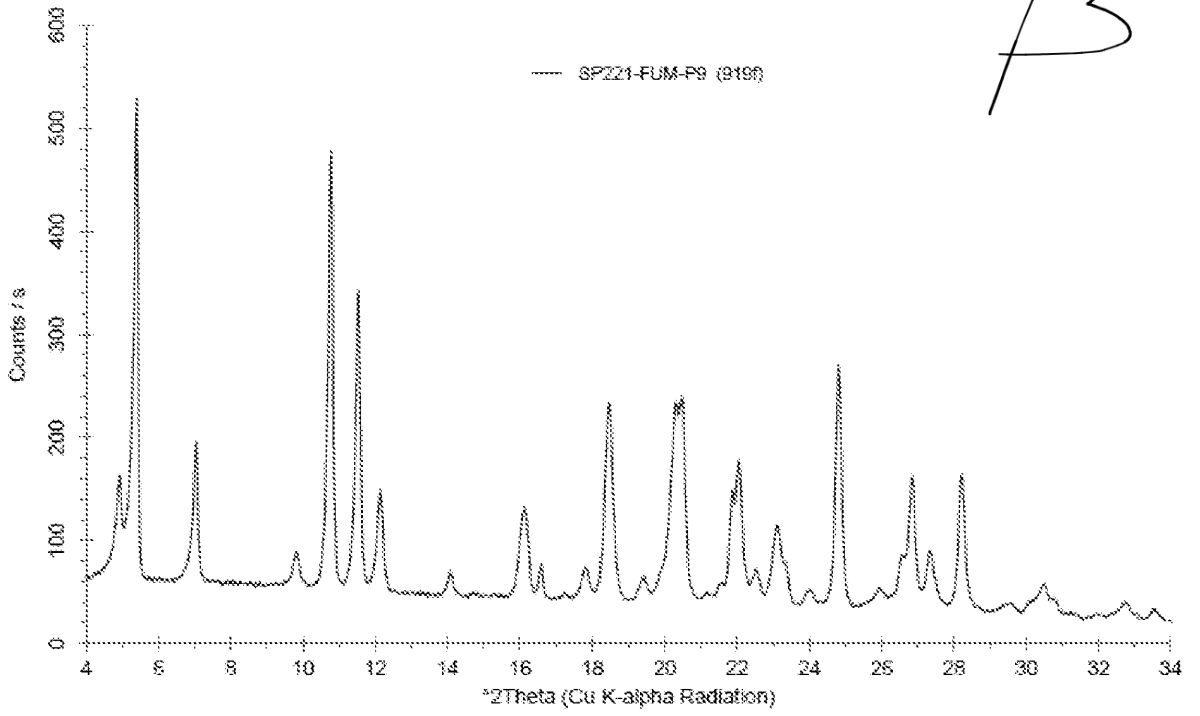


FIG. 15

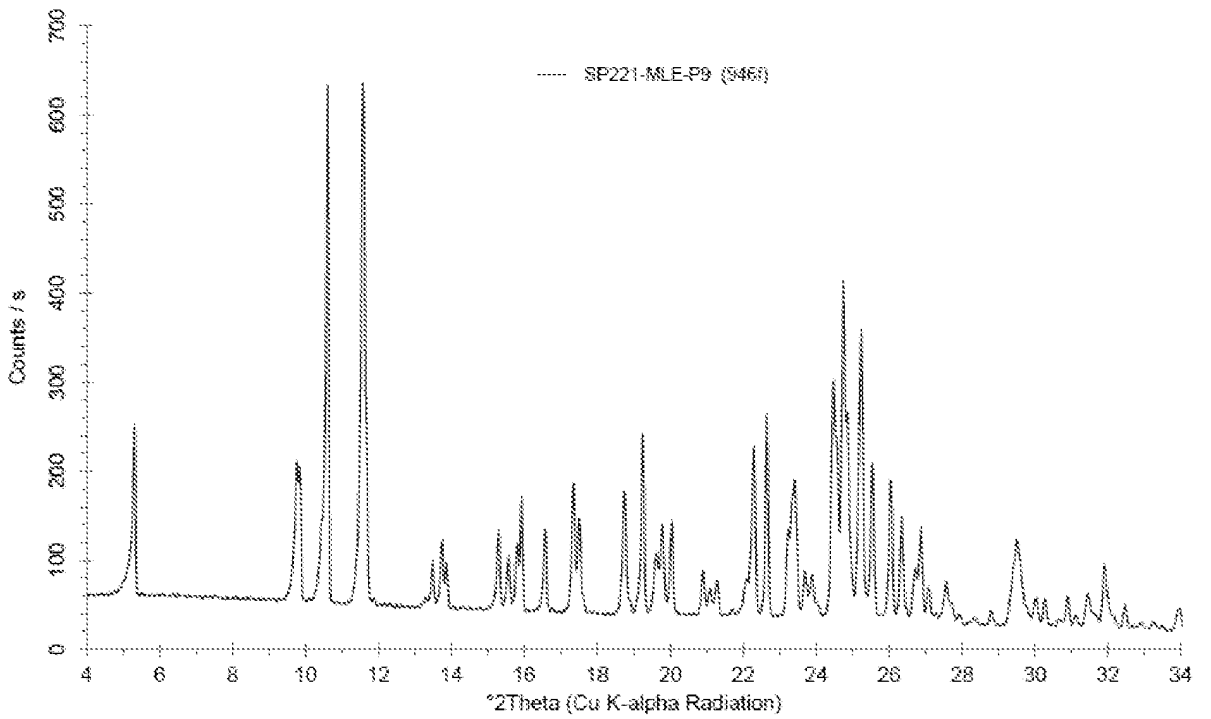


FIG. 16

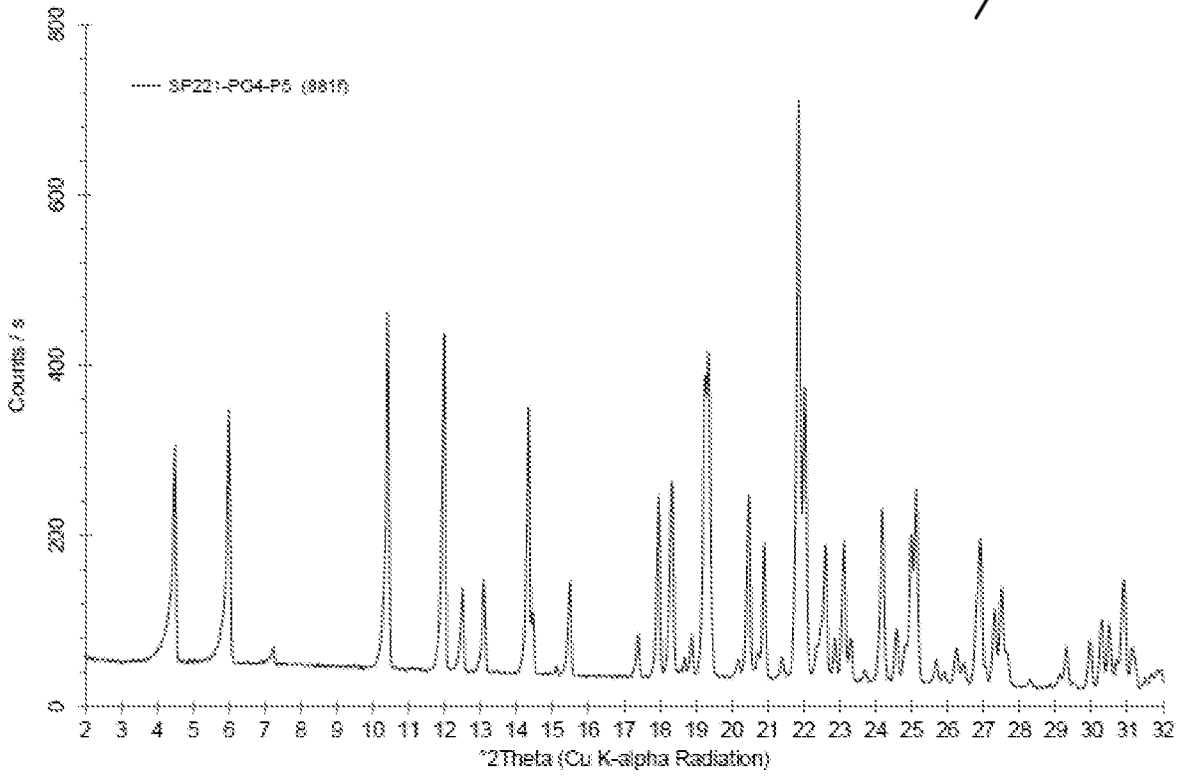


FIG. 17

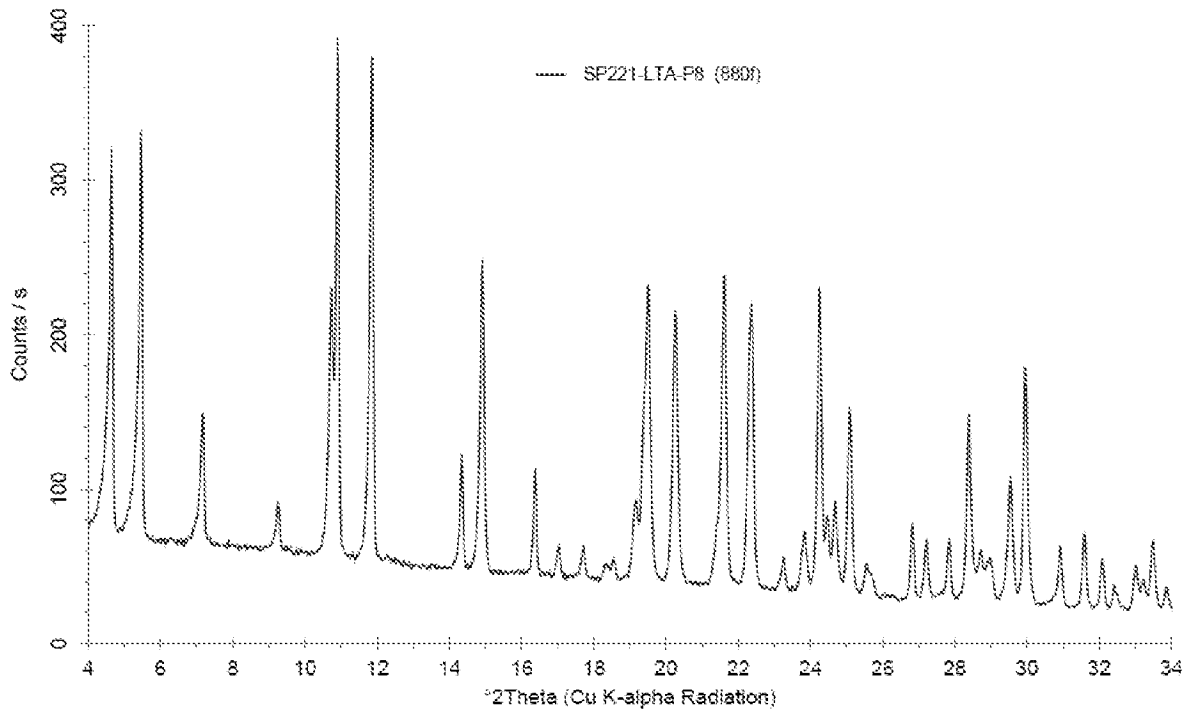


FIG. 18

B

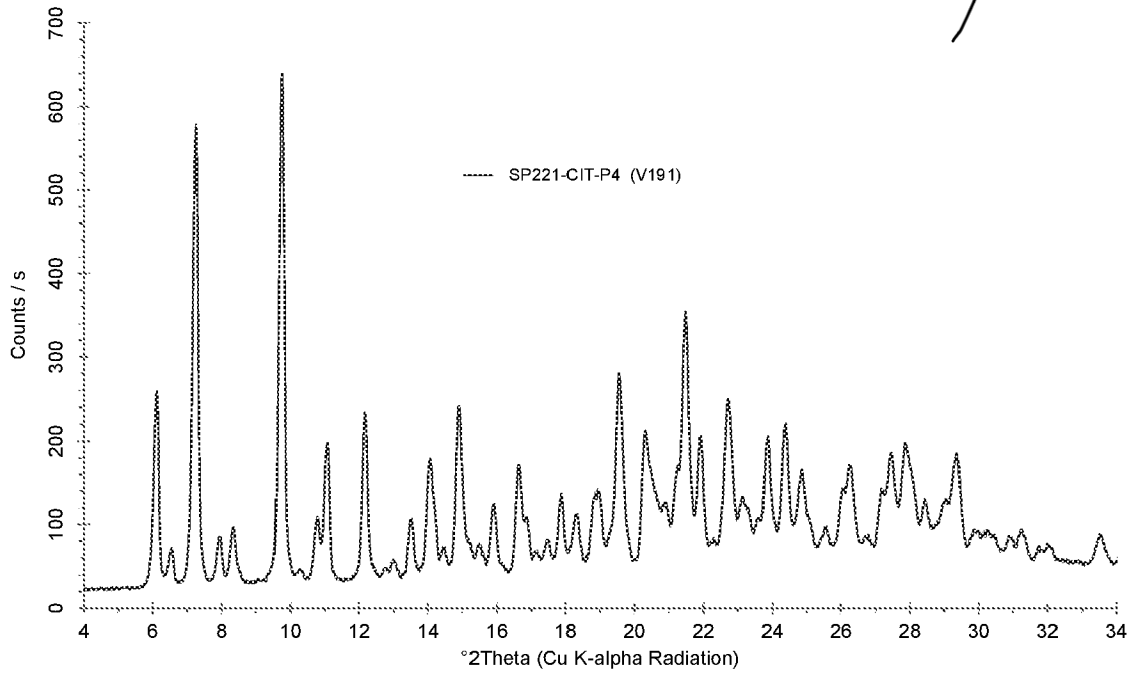


FIG. 19

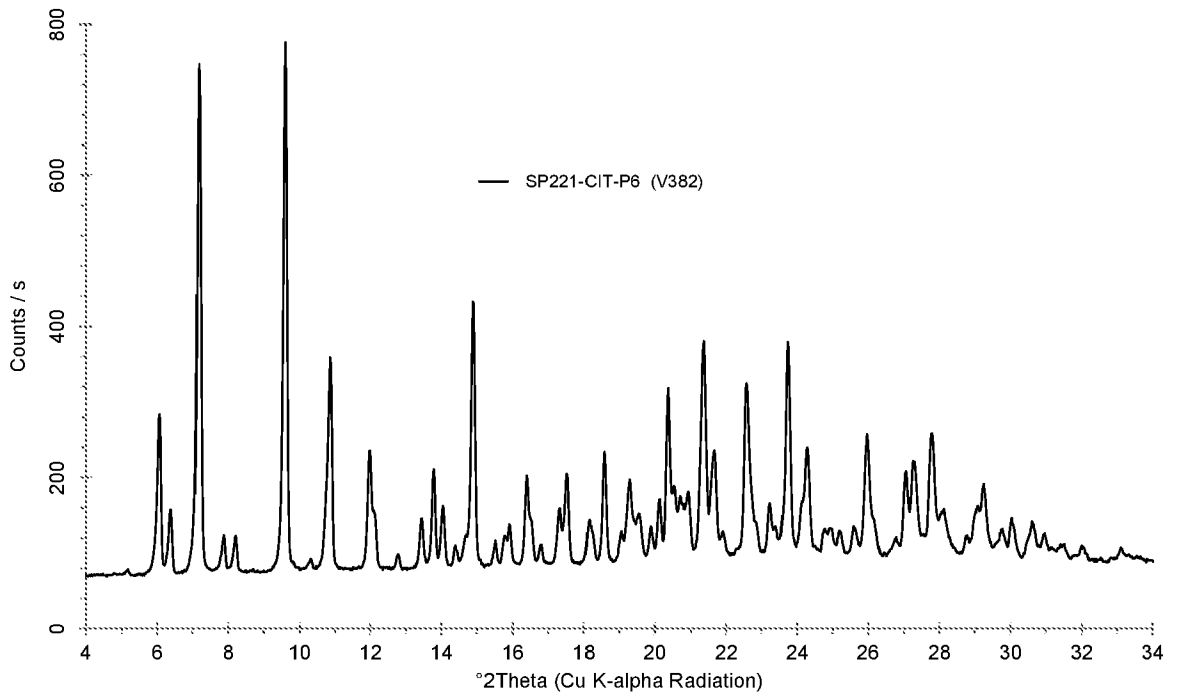


FIG. 20

B

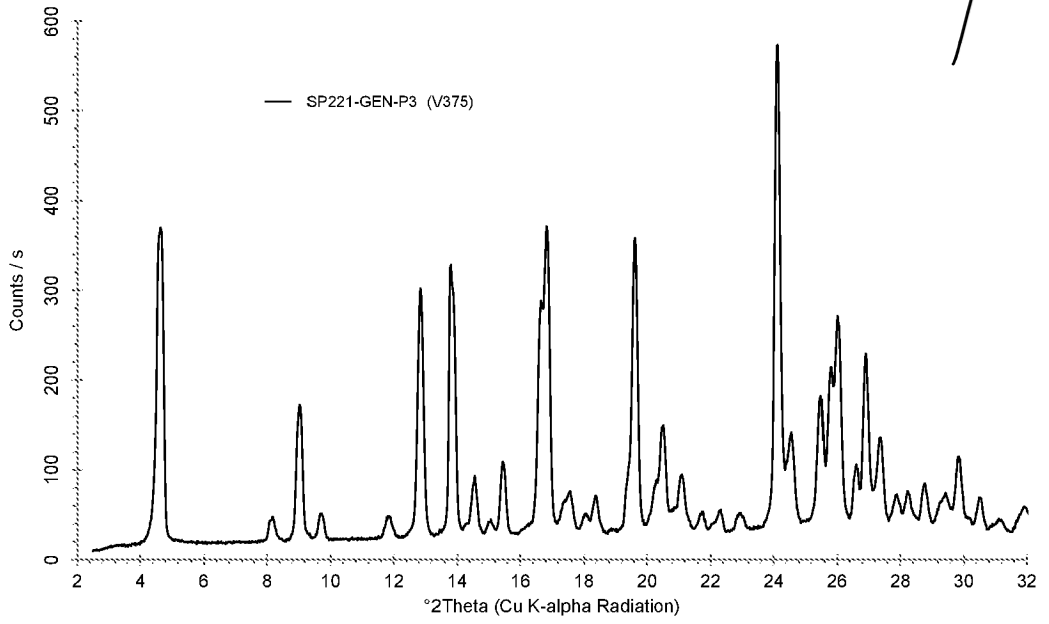


FIG. 21

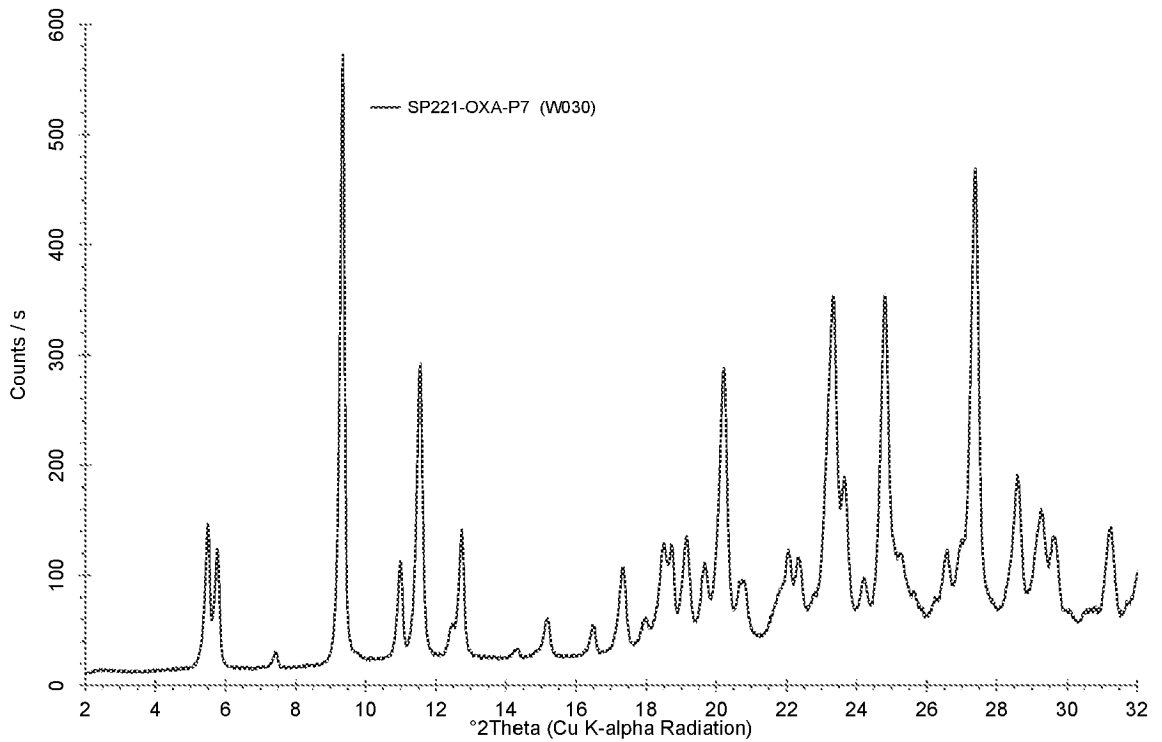


FIG. 22

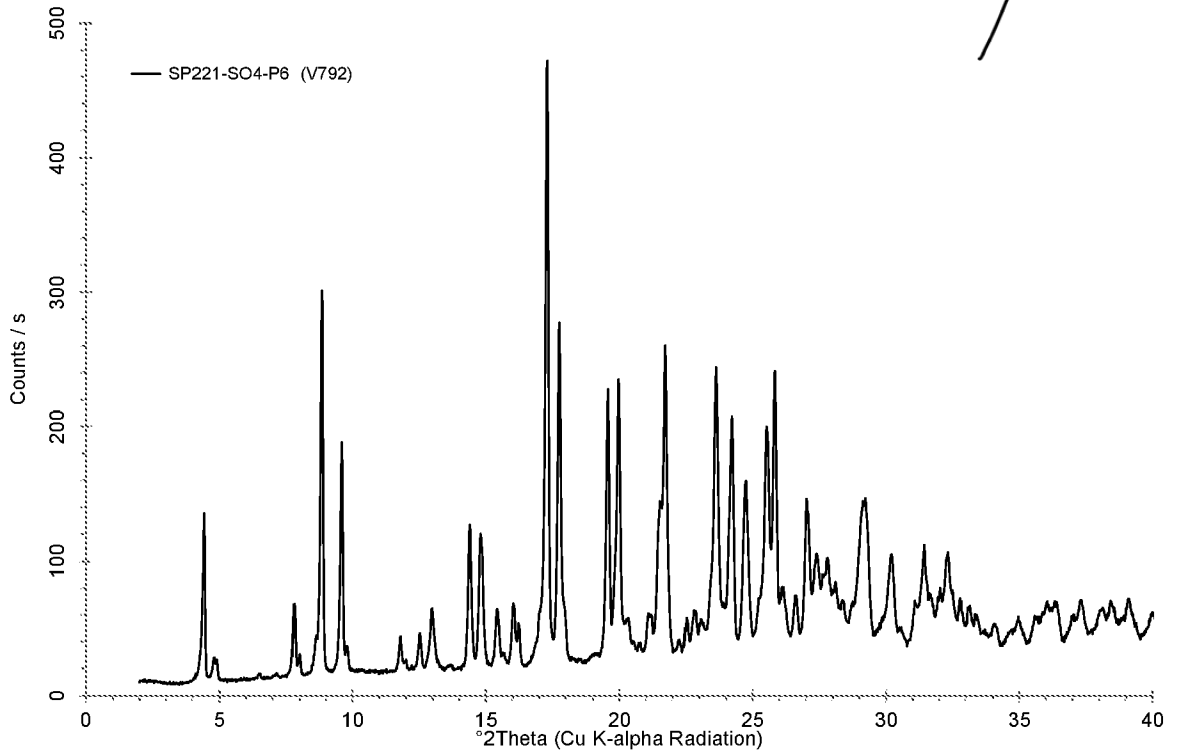


FIG. 23

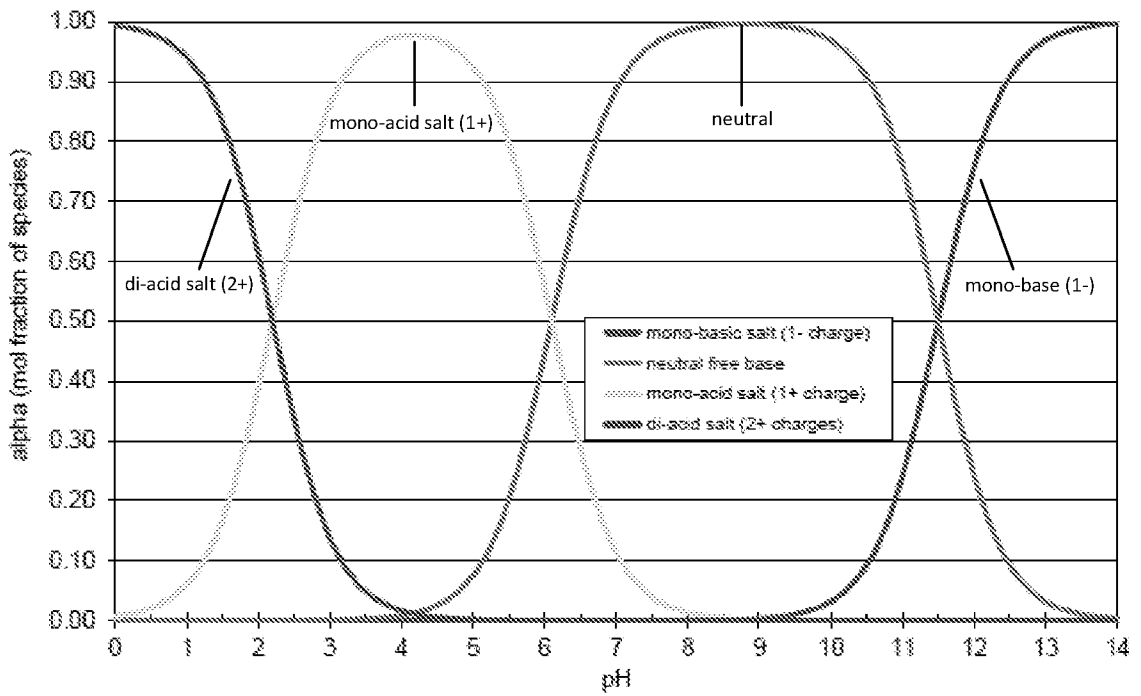


FIG. 24

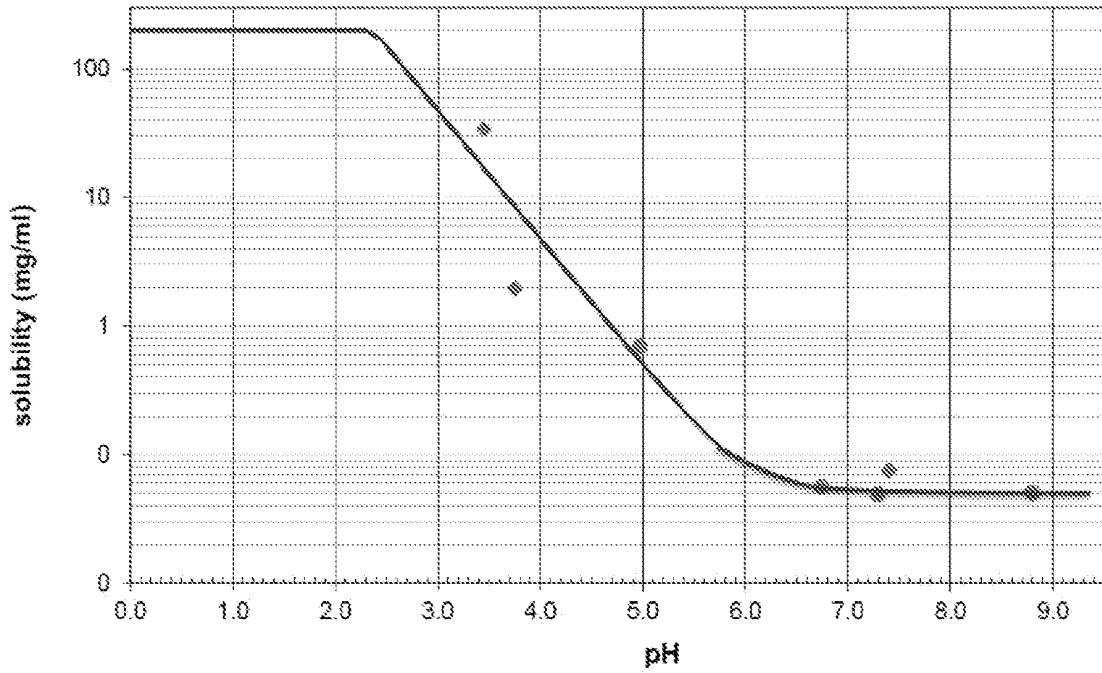


FIG. 25

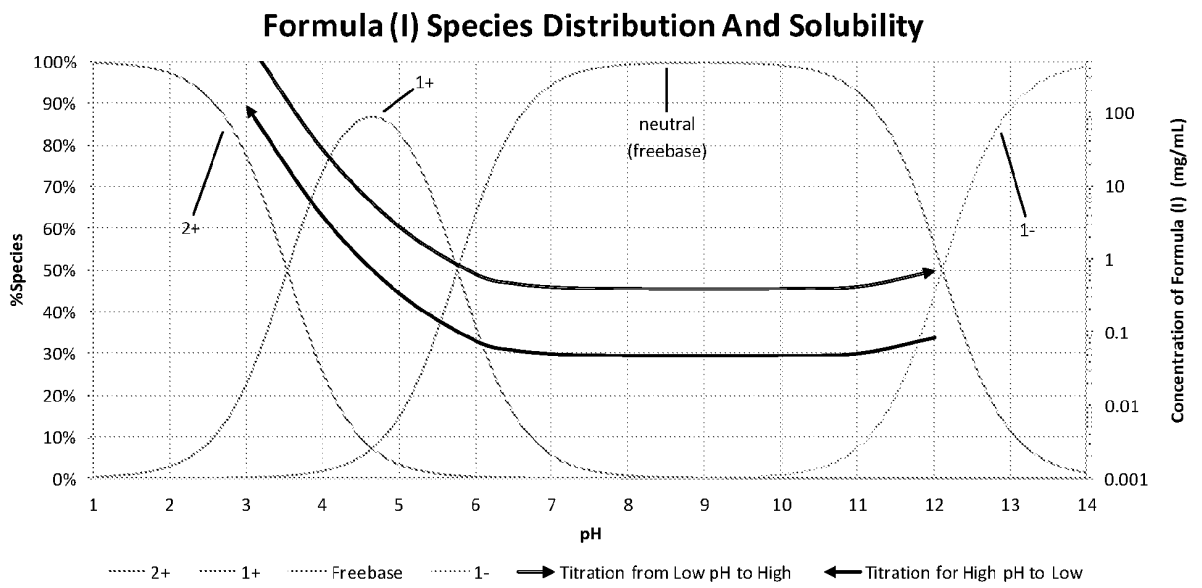


FIG. 26

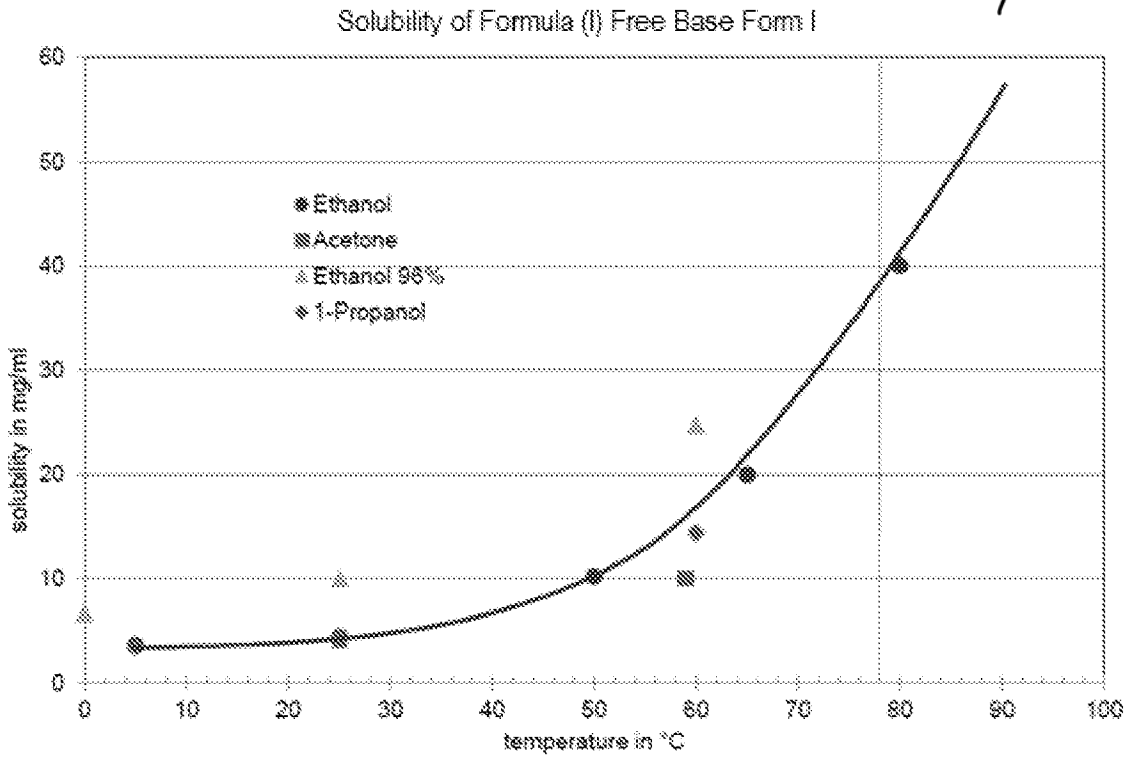


FIG. 27

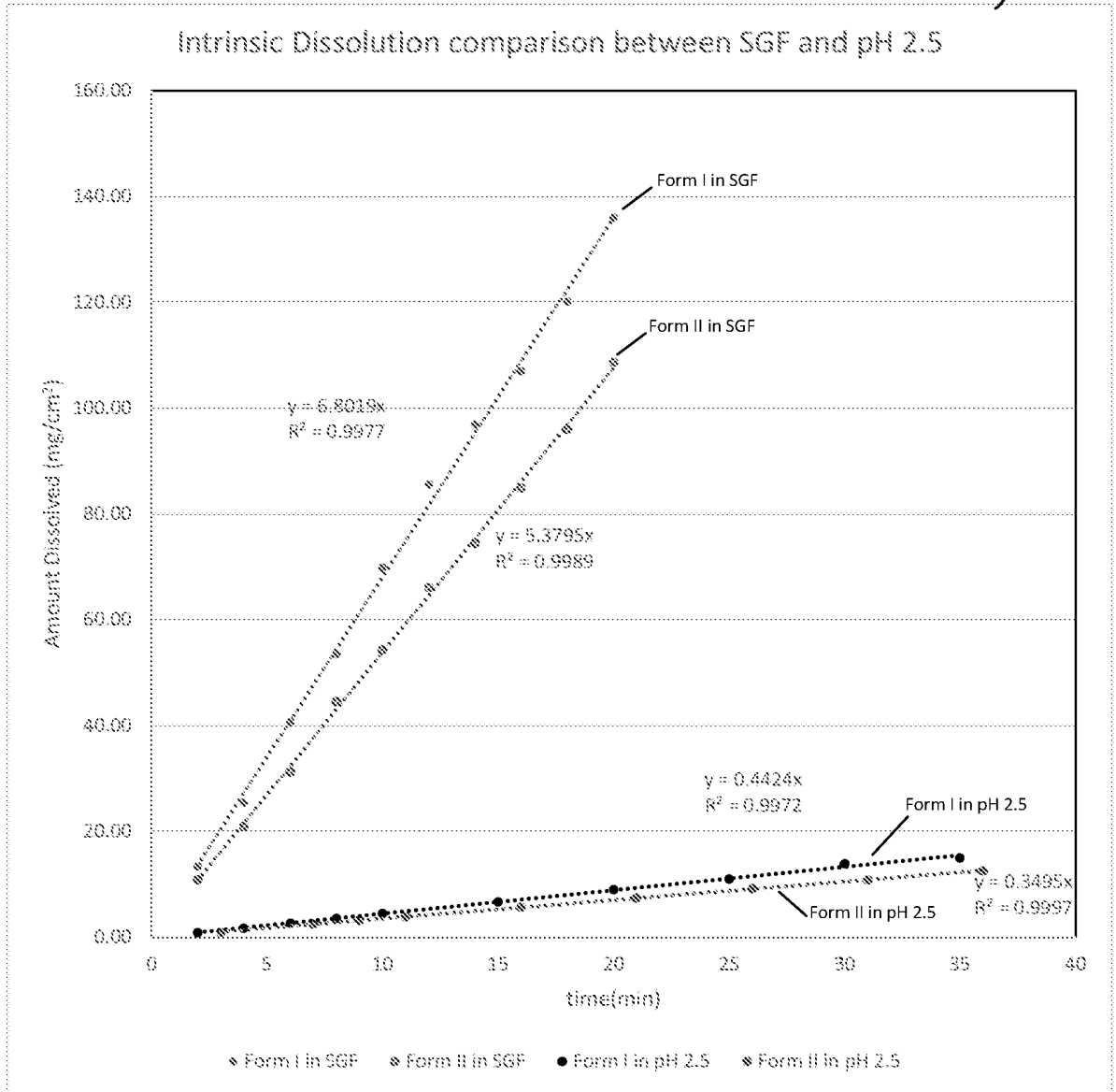


FIG. 28

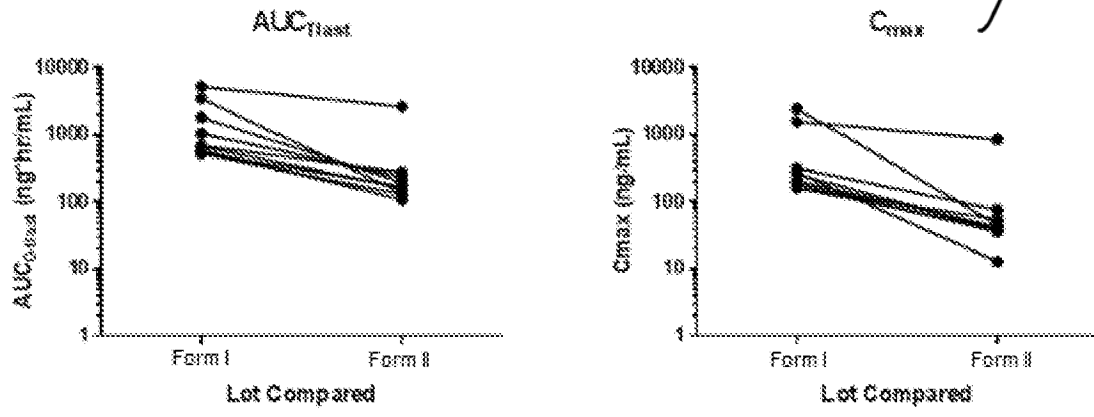


FIG. 29

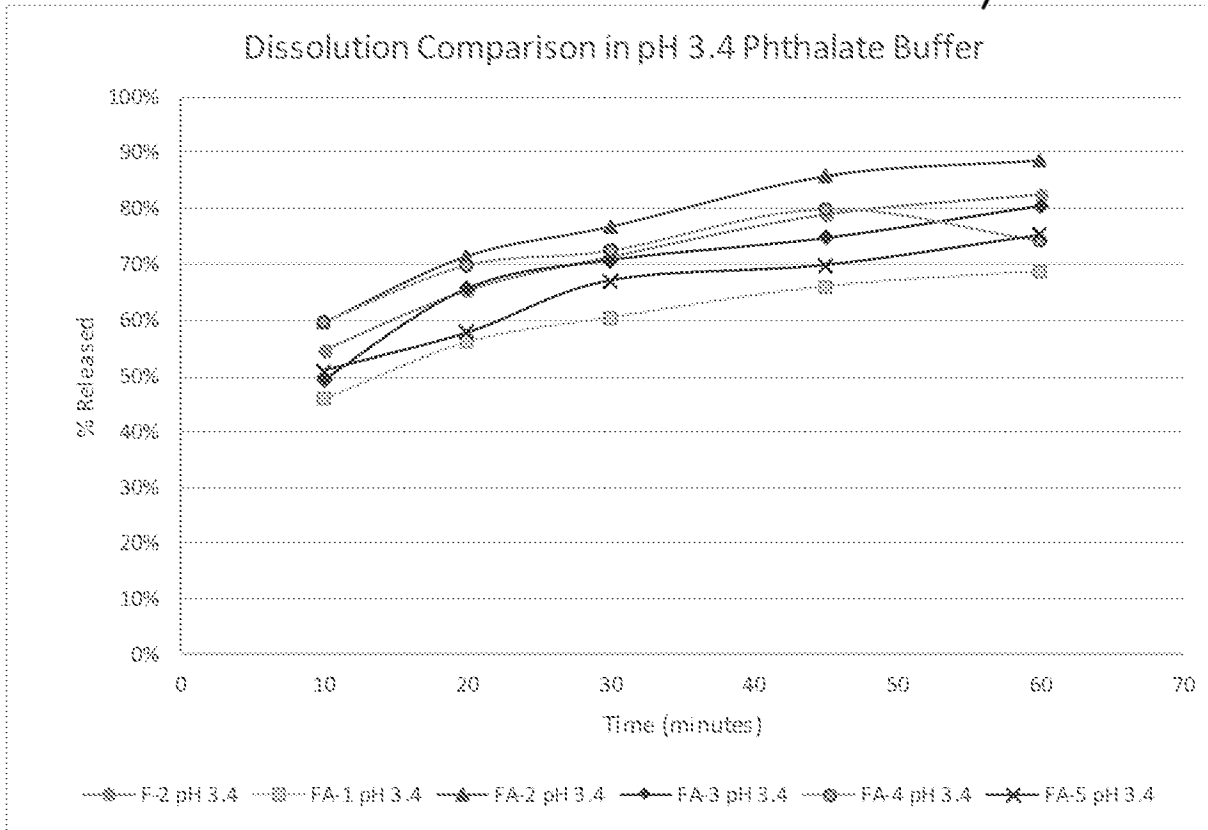


FIG. 30

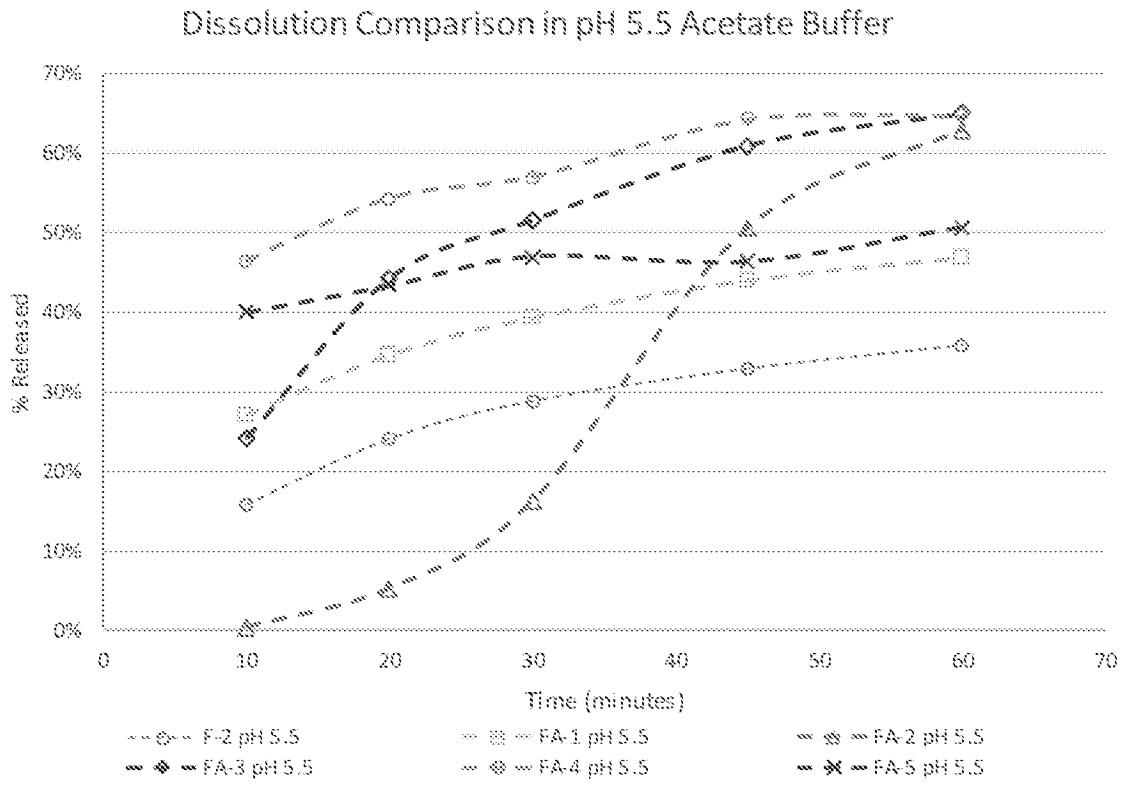


FIG. 31

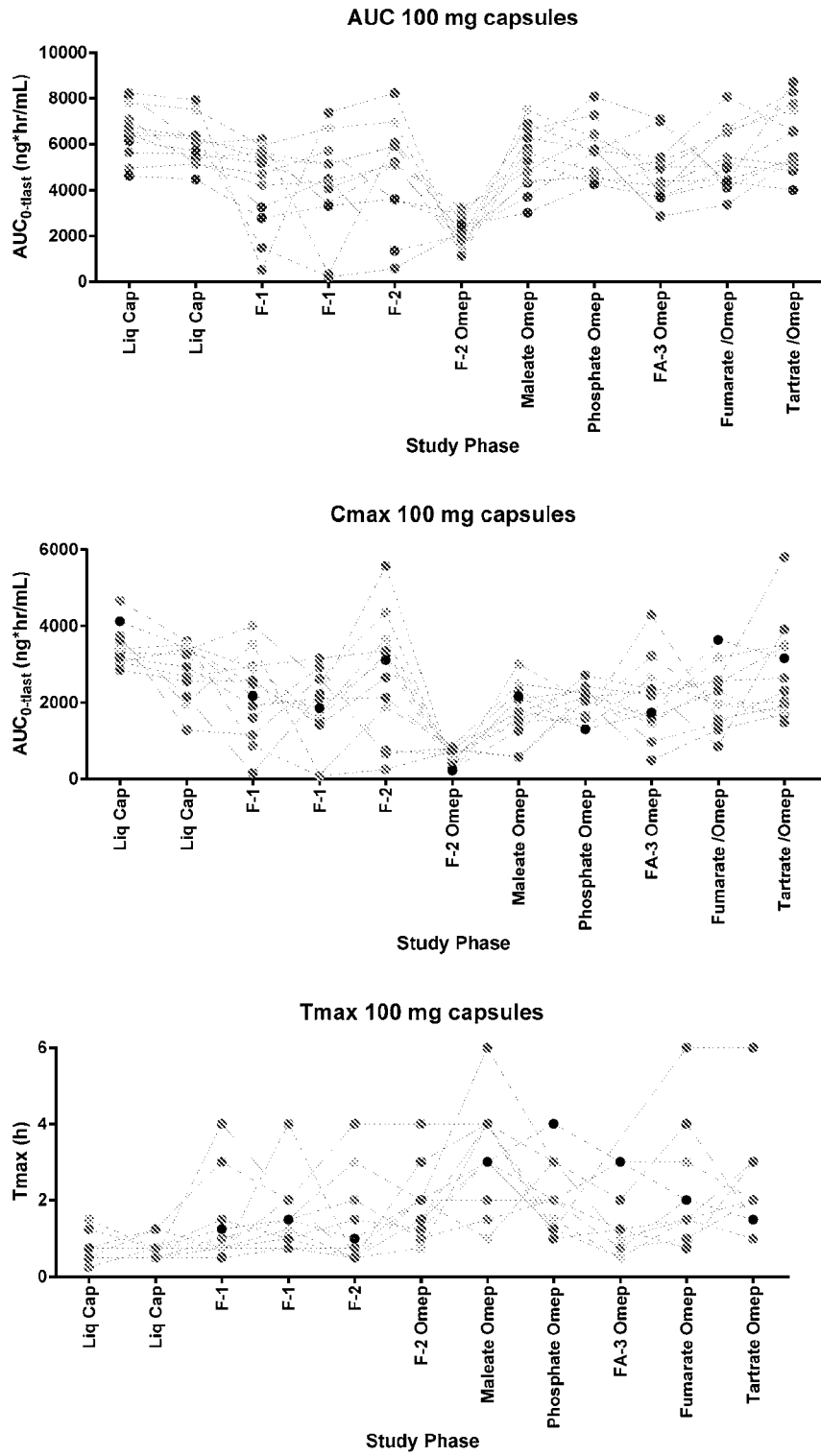


FIG. 32

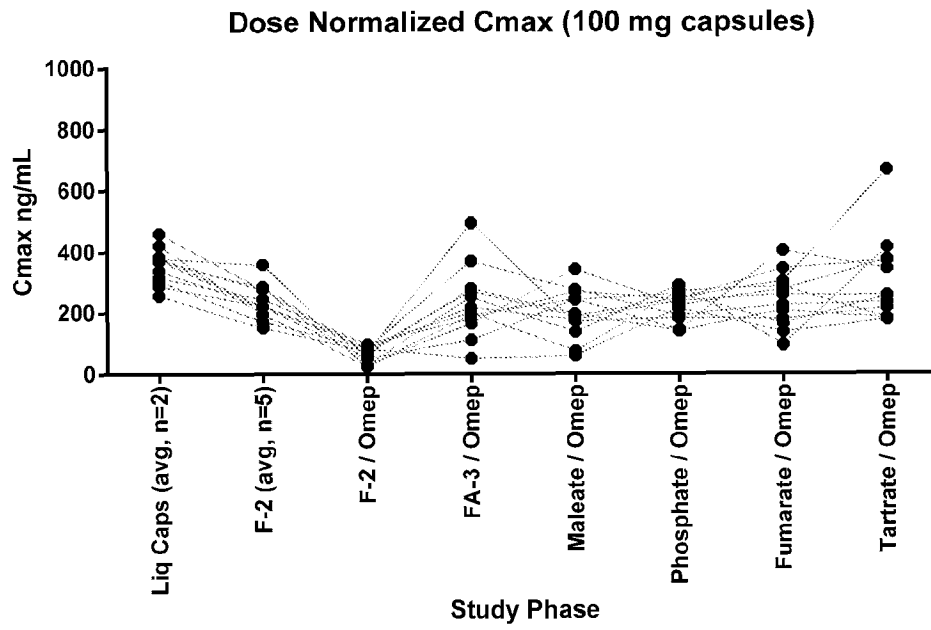
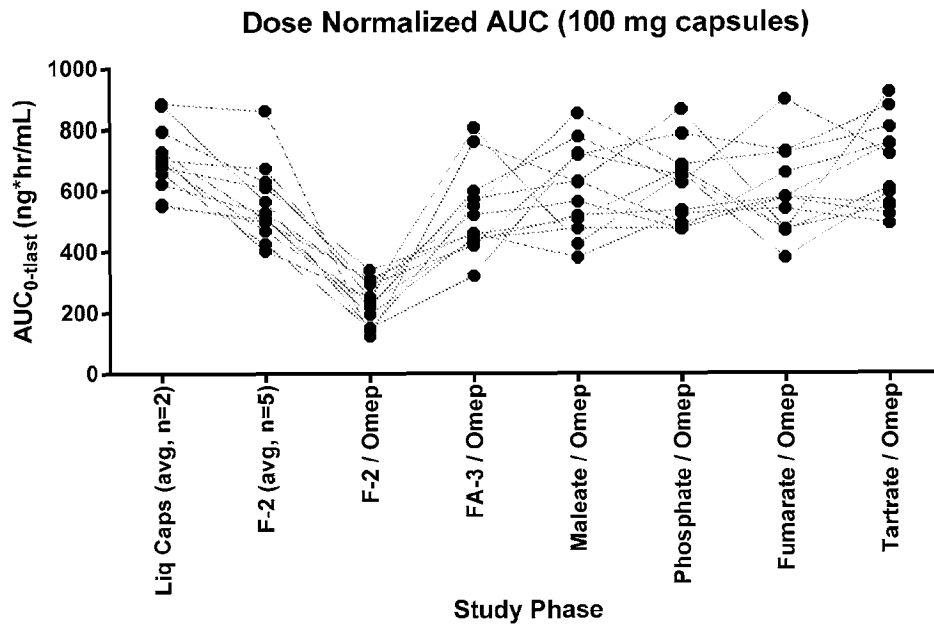


FIG. 33