

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 816 600**

51 Int. Cl.:

C07D 471/06 (2006.01)

A61K 31/5025 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.10.2011 PCT/US2011/057039**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.04.2012 WO12054698**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2011 E 11777005 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2020 EP 2630146**

54 Título: **Sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona cristalina**

30 Prioridad:

21.10.2010 US 405476 P

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

05.04.2021

73 Titular/es:

**MEDIVATION TECHNOLOGIES LLC (100.0%)
525 Market St., 28th Floor
San Francisco, CA 94105, US**

72 Inventor/es:

**WANG, BING;
CHU, DANIEL;
LIU, YONGBO y
PENG, SHICHUN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

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

ES 2 816 600 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina

5

Campo técnico

Esta solicitud se refiere a formas de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, incluyendo formas cristalinas; métodos para preparar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona y formas de sal tosilato de la misma; y composiciones farmacéuticas que comprenden una forma de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina.

10

Antecedentes

15

Las enzimas de la familia de proteínas de la poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP) participan en varias funciones celulares, incluida la asistencia en la reparación del daño del ADN. La inhibición de la actividad de PARP es un enfoque terapéutico prometedor para el tratamiento de ciertos cánceres. Varios inhibidores de PARP se encuentran en fases clínicas y preclínicas como fármacos candidatos para tratamientos de cáncer de ovario, mama, colorrectal, próstata y otros cánceres. Una clase de inhibidores de PARP descrita en la Pub. de EE.UU. N.º 2010/0035883 incluye (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. Los estudios preclínicos indican que este compuesto puede ser una terapia útil para algunos pacientes con cáncer.

20

25

La Publicación de EE.UU. N.º 2010/0035883 proporciona una síntesis de 5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona y la resolución quiral de su enantiómero (8*S*,9*R*). Véase, por ejemplo, el documento U.S. 2010/0035883, Ejemplos 94 y 155. En el documento WO 2011/097602 se describen métodos adicionales para preparar el compuesto. Para mover un candidato a fármaco tal como (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona a un producto farmacéutico viable, puede ser importante comprender si el candidato a fármaco tiene formas polimorfas, así como la estabilidad relativa y las interconversiones de estas formas en las condiciones que probablemente se encontrarán en la producción a gran escala, transporte, almacenamiento y preparación previa al uso. La capacidad de controlar y producir un polimorfo estable con un proceso de fabricación sólido puede ser clave para la aprobación regulatoria y el marketing. Se buscan procesos de producción a gran escala para 5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona de alta pureza, lo que se ve obstaculizado por el hecho de que no se conocen los parámetros que afectan a la estabilidad de este compuesto y no están disponibles formas polimórficas del compuesto.

30

35

Breve resumen

40

La invención proporciona una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ grados de ángulo ± 0,2 2θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.

45

50

También se describen formas sólidas de una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, incluyendo formas cristalinas, formas amorfas, o mezclas de las mismas.

También se describen métodos para sintetizar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona en una forma de base libre ("base libre").

55

También se describe un método para preparar una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. La sal tosilato puede prepararse a partir de una suspensión en tetrahidrofurano (THF).

60

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, y en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ grados de ángulo ± 0,2 2θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

65

En otro aspecto, la invención proporciona una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, y en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ grados de ángulo ± 0,2 2θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes, o una composición farmacéutica que comprende la sal y el excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en un método para tratar el cáncer, o un síntoma del mismo.

Descripción de los dibujos

La **figura 1** proporciona una superposición de cinco ejemplos de patrones de difracción de polvo de rayos X (XRPD) de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina.

La **figura 2a** proporciona un gráfico de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 8, de la preparación de acetona-THF.

La **figura 2b** proporciona un gráfico de análisis termogravimétrico (TGA) de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 8, de la preparación de acetona-THF.

La **figura 3a** proporciona un gráfico DSC de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 5, de la preparación de DCM-ACN.

La **figura 3b** proporciona un gráfico TGA de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 5, de la preparación de DCM-ACN.

La **figura 4a** proporciona un gráfico DSC de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 6, de la preparación de acetona.

La **figura 4b** proporciona un gráfico TGA de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 6, de la preparación de acetona.

La **figura 5a** proporciona un gráfico DSC de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 7, de la preparación de THF.

La **figura 5b** proporciona un gráfico TGA de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 7, de la preparación de THF.

La **figura 6** proporciona un espectrograma de difracción de polvo de rayos X (XRPD) de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina.

La **figura 7a** proporciona un gráfico DSC de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina.

La **figura 7b** proporciona un gráfico TGA de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina.

La **figura 8** representa un espectrograma de difracción de polvo de rayos X (XRPD) de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 8, de la preparación de acetona-THF.

La **figura 9** proporciona un gráfico de isoterma de sorción dinámica de vapor de un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalina, 8, de la preparación de acetona-THF.

La **figura 10a** proporciona datos para un ensayo de citotoxicidad de agente único para la base libre en tres líneas celulares de linfoma de células del manto a 1000 células/pocillo.

La **figura 10b** proporciona datos para un ensayo de citotoxicidad de agente único para la base libre en tres líneas celulares de linfoma de células del manto a 5000 células/pocillo.

La **figura 11a** proporciona datos para un ensayo de citotoxicidad de agente único para la base libre en dos líneas celulares de cáncer de cabeza y cuello.

La **figura 11b** proporciona datos para un ensayo de citotoxicidad de agente único para la base libre en la línea celular de cáncer de cabeza y cuello PE/CA-PJ34.

La **figura 12** proporciona un espectro de ¹³C RMN en estado sólido para un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

Descripción detallada

La (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona es un fármaco candidato prometedor para el tratamiento de cánceres incluyendo, por ejemplo, leucemia (incluida leucemia mielógena aguda, leucemia linfocítica crónica), síndrome mielodisplásico, cáncer de colon, tumores

asociados al VEB (incluido linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, linfomas en pacientes con sida, tumores de músculo liso en pacientes con sida, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, enfermedad linfoproliferativa en pacientes inmunodeprimidos, leiomiomas en pacientes inmunodeprimidos, cáncer gástrico VEB+, cáncer de mama VEB+, linfoma de linfocitos T), cánceres de endometrio (incluidos carcinomas y sarcomas), tumor estromal gastrointestinal, gliomas, glioblastoma, linfoma (incluido linfoma de células del manto), melanoma, mama (incluyendo metastásico, BRCA positivo y BRCA negativo), ovario (incluido avanzado, seroso de alto grado, sensible al platino, resistente al platino, refractario al platino y BRCA negativo), cuello del útero, páncreas (incluido BRCA negativo), peritoneal, próstata (incluido BRCA negativo, metastásico y resistente a la castración), cáncer de colon hereditario sin poliposis (HNPCC), cáncer de pulmón (incluido carcinoma de pulmón no microcítico, carcinoma microcítico de pulmón), carcinomas colorrectales, carcinosarcoma uterino, tumores sólidos (tales como aquellos de la vejiga, intestino, cerebro, mama, endometrio, corazón, riñón, pulmón, cáncer de órgano endocrino no pancreático (tiroides), cabeza y cuello), y tumores hematológicos.

En el presente documento se proporcionan métodos para producir el compuesto, incluyendo una forma de sal tosilato del compuesto. Los métodos proporcionados en el presente documento proporcionan, por ejemplo, recuperaciones mejoradas de producto y/o menos etapas de procesamiento, susceptibles de producción a gran escala del compuesto, en comparación con las síntesis informadas previamente de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona en su forma de base libre (véase, por ejemplo, el documento US 2010/0035883). En una realización, como se demuestra en los ejemplos que siguen a continuación, una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona se ha preparado en una forma cristalina que tiene una estabilidad superior a la de otras formas sólidas asociadas con la base libre y otras sales del compuesto, o que tiene otras propiedades beneficiosas. Los ejemplos proporcionados en el presente documento demuestran que se pueden usar ciertos disolventes diferentes para formar un polimorfo de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

Terminología

Para facilitar la comprensión de la divulgación expuesta en el presente documento, a continuación se definen varios términos. Generalmente, la nomenclatura usada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio en química orgánica, química médica y farmacología descritos en el presente documento son los ya conocidos y comúnmente empleados en la técnica. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento generalmente tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación.

Abreviaturas

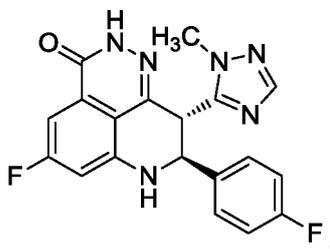
Abreviatura	Significado
ACN o CH ₃ CN	acetronitrilo
DCM	diclorometano
DSC	calorimetría diferencial de barrido
DVS	sorción dinámica de vapor
equiv.	equivalente
ESI	ionización por electronebulización
EtOAc	acetato de etilo
^g	gramo
GMP	buenas prácticas de fabricación
h	hora
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
IR	infrarrojo
kg	kilogramo
LC-MS	cromatografía líquida - espectrometría de masas
m	minuto
MeOH	metanol
mg	miligramo
min	minuto
ml	mililitro
mmol	milimoles
MHz	megahertzio
MPa	megapascal
MS	espectrometría de masas
MTBE	metil terc-butil éter
RMN	resonancia magnética nuclear
PARP	poli(ADP-ribosa)polimerasa
ppm	partes por millón

(continuación)

Abreviatura	Significado
PSA	análisis del tamaño de partícula
PTEN	homólogo de fosfatasa y tensina
HR	humedad relativa
SEM	microscopía electrónica de barrido
TGA	análisis termogravimétrico
THF	tetrahidrofurano
TsOH	ácido p-toluenosulfónico
UV	ultravioleta
XRPD	Difracción de polvo de rayos X

Como se usa en el presente documento, una referencia a "(8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona" o a su fórmula,

5



a menos que se indique de otro modo o se aclare en el contexto en el que se usa la referencia, será una referencia a la forma de base libre del compuesto.

10

Se entenderá que una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona comprende un catión de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (por ejemplo, en una realización, protonado en una posición atómica, o en otras realizaciones, protonado en más de una posición atómica) y un anión de ácido p-toluenosulfónico, en el que el anión se denomina en el presente documento "tosilato". Las formas sólidas de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona comprenderán una relación molar de catión con respecto a anión de aproximadamente 1:1.

15

Como se usan en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, los términos "aproximadamente" y "en torno a", cuando se usan en relación con dosis, cantidades o porcentaje en peso de los ingredientes de una composición o forma de dosificación, significan una dosis, cantidad, o porcentaje en peso que los expertos en la técnica reconocen que proporciona un efecto farmacológico equivalente al obtenido a partir de la dosis, cantidad, o porcentaje en peso especificados. Específicamente, los términos "aproximadamente" y "en torno a", cuando se usan en este contexto, contemplan una dosis, cantidad o porcentaje en peso dentro del 15 %, dentro del 10 %, dentro del 5 %, dentro del 4 %, dentro del 3 %, dentro del 2 %, dentro del 1 % o dentro del 0,5 % de la dosis, cantidad, o porcentaje en peso especificados.

20

Como se usan en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, los términos "aproximadamente" y "en torno a", cuando se usan en relación con un valor numérico o intervalo de valores que se proporciona para describir una forma sólida particular, por ejemplo, una temperatura específica o intervalo de temperatura, tal como, por ejemplo, la que describe una fusión, deshidratación, desolvatación o transición vítrea; un cambio de masa, tal como, por ejemplo, un cambio de masa en función de la temperatura o la humedad; un contenido de disolvente o agua, en términos de, por ejemplo, masa o un porcentaje; o una posición de pico, tal como, por ejemplo, en el análisis mediante, por ejemplo, ¹³C RMN, DSC, TGA y XRPD; indican que el valor o intervalo de valores puede desviarse en un grado que se considere razonable para un experto en la técnica mientras sigue describiendo la forma sólida particular. Específicamente, los términos "aproximadamente" y "en torno a", cuando se usan en este contexto, indican que el valor numérico o intervalo de valores puede variar en un 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,9 %, 0,8 %, 0,7 %, 0,6 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 % o un 0,1 % del valor o intervalo de valores enumerado mientras se sigue describiendo la forma sólida particular.

30

El término "amorfa" o "forma amorfa" pretende referirse a que la sustancia, componente o producto en cuestión no es sustancialmente cristalino según lo determinado, por ejemplo, por XRPD o donde la sustancia, componente o producto en cuestión, por ejemplo, no es birrefringente cuando se mira microscópicamente. En ciertas realizaciones, una muestra que comprende una forma amorfa de una sustancia puede estar sustancialmente libre de otras formas amorfas y/o formas cristalinas.

35

El término "forma cristalina" o "forma de cristal" se refiere a una forma sólida cristalina de un compuesto químico,

incluyendo, pero sin limitación, una forma cristalina monocomponente o de múltiples componentes, por ejemplo, un polimorfo de un compuesto; o un solvato, un hidrato, un clatrato, un cocrystal, una sal de un compuesto, o un polimorfo del mismo. El término "formas cristalinas" y los términos relacionados en el presente documento se refieren a las diversas modificaciones cristalinas de una sustancia determinada, incluyendo, pero sin limitación, 5 polimorfos, solvatos, hidratos, cocrystalos y otros complejos moleculares, así como sales, solvatos de sales, hidratos de sales, otros complejos moleculares de sales y polimorfos de los mismos. Las formas cristalinas de una sustancia pueden obtenerse mediante varios métodos, como se conoce en la técnica. Dichos métodos incluyen, pero sin limitación, recristalización por fusión, enfriamiento por fusión, recristalización con disolvente, recristalización en espacios confinados tales como, por ejemplo, en nanoporos o capilares, recristalización en superficies o plantillas 10 tales como, por ejemplo, en polímeros, recristalización en presencia de aditivos, tal como, por ejemplo, contramoléculas de co-cristales, desolvatación, deshidratación, evaporación rápida, enfriamiento rápido, enfriamiento lento, difusión de vapor, sublimación, trituración y trituración de gotas de disolvente.

Las técnicas para caracterizar formas cristalinas y formas amorfas incluyen, pero sin limitación, TGA, DSC, XRPD, difracción de rayos X de cristal único, espectroscopía vibracional, por ejemplo, espectroscopía IR y de Raman, RMN en estado sólido, microscopía óptica, microscopía óptica de etapa caliente, SEM, cristalografía electrónica y análisis cuantitativo, PSA, análisis de superficie, estudios de solubilidad y estudios de disolución. 15

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "hidrato" significa un compuesto o sal del mismo, que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas intermoleculares no covalentes. Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "solvato" significa un solvato formado a partir de la asociación de una o más moléculas de disolvente a un compuesto proporcionado en el presente documento o una sal del mismo. El término "solvato" incluye hidratos (por ejemplo, hemihidratos, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato, y similares). Los solvatos (por ejemplo, hidratos) de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona pueden ser cristalinos o no cristalinos. 20 25

El término "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, disolvente o material de encapsulación. En una realización, cada componente es "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de una formulación farmacéutica, y adecuado para su uso en contacto con tejidos u órganos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21^a ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Filadelfia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6^a ed.; Rowe *et al.*, Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 3^a ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2^a ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009. 30 35

El término "polimorfo" o "forma polimórfica" se refiere a una de dos o más formas cristalinas que comprenden la misma molécula, moléculas o iones. Diferentes polimorfos pueden tener diferentes propiedades físicas tales como, por ejemplo, temperaturas de fusión, calor de fusión, solubilidades, velocidades de disolución, y/o espectros vibracionales como resultado de la disposición o conformación de las moléculas o iones en la red cristalina. Las diferencias en las propiedades físicas que presentan los polimorfos pueden afectar a los parámetros farmacéuticos, tales como la estabilidad de almacenamiento, la compresibilidad, la densidad (importante en la formulación y la fabricación del producto), y la velocidad de disolución (un factor importante en la biodisponibilidad). Las diferencias en la estabilidad pueden ser resultado de cambios en la reactividad química (por ejemplo, oxidación diferencial, de manera que una forma de dosificación se decolora más rápidamente cuando está compuesta por un polimorfo que cuando está compuesta por otro polimorfo), cambios mecánicos (por ejemplo, los comprimidos se desmoronan durante el almacenamiento ya que un polimorfo cinéticamente favorecido se convierte en un polimorfo termodinámicamente más estable), o ambos (por ejemplo, los comprimidos de un polimorfo son más susceptibles de descomponerse a alta humedad). Como resultado de las diferencias en solubilidad/disolución, en el caso extremo, algunas transiciones polimórficas pueden dar como resultado una falta de potencia o, en el otro extremo, toxicidad. Además, las propiedades físicas de una forma cristalina pueden ser importantes en el procesamiento; por ejemplo, es más probable que un polimorfo forme solvatos o podría ser difícil de filtrar y lavar sin impurezas (por ejemplo, la forma de partícula y la distribución del tamaño pueden ser diferentes entre polimorfos). 40 45 50 55

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "estereoméricamente pura" significa una composición que comprende un estereoisómero de un compuesto y está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. En ciertas realizaciones, se proporciona en el presente documento (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona estereoméricamente pura que está sustancialmente libre de los otros estereoisómeros incluyendo, por ejemplo, (8*R*,9*S*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. En ciertas realizaciones, un compuesto estereoméricamente puro comprende más de aproximadamente el 80 por ciento en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 20 por ciento en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 90 por ciento en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 10 por ciento en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más 60 65

de aproximadamente el 95 por ciento en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 5 por ciento en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente el 97 por ciento en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 3 por ciento en peso de los otros estereoisómeros, o más de aproximadamente el 99 por ciento en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 1 por ciento en peso de los otros estereoisómeros del compuesto. En ciertas realizaciones, el término (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona "estereoméricamente pura" significa que el compuesto está constituido aproximadamente por un 100 % en peso de este estereoisómero particular. Los porcentajes anteriores se basan en la cantidad total de estereoisómeros combinados del compuesto.

Como se usa en el presente documento, una forma cristalina o amorfa que es "pura", es decir, sustancialmente libre de otras formas cristalinas o amorfas, contiene menos de aproximadamente el 10 por ciento en peso de una o más formas cristalinas o amorfas diferentes, menos de aproximadamente el 5 por ciento en peso de una o más formas cristalinas o amorfas diferentes, menos de aproximadamente el 3 por ciento en peso de una o más formas cristalinas o amorfas diferentes, o menos de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de una o más formas cristalinas o amorfas diferentes. En ciertos contextos, como se usa en el presente documento, (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona "sustancialmente pura", o una sal o solvato de la misma puede significar libre de otros compuestos químicos, por ejemplo, precursores sin reaccionar y productos secundarios que podrían estar presentes en el proceso de preparación de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. En otros contextos, como se usa en el presente documento, una forma sólida "sustancialmente pura" (por ejemplo, forma cristalina o forma amorfa) de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, o una sal o solvato de la misma, puede significar libre de otras formas sólidas de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona o sales o solvatos de la misma. Como tal, (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona "sustancialmente pura" puede comprender, en ciertas realizaciones, menos de aproximadamente el 10 %, 5 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 %, o el 0,1 % en peso de una o más formas cristalinas y formas amorfas diferentes del compuesto y/u otros compuestos químicos. En ciertas realizaciones, una forma sólida que es sustancialmente pura está sustancialmente libre de una o más formas cristalinas, formas amorfas diferentes particulares, y/u otros compuestos químicos.

El término "sujeto" se refiere a un animal, incluyendo, pero sin limitación, un primate (por ejemplo, ser humano), mono, vaca, cerdo, oveja, cabra, caballo, perro, gato, conejo, rata o ratón. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento en referencia, por ejemplo, a un sujeto mamífero, tal como un ser humano.

Los términos "tratar", "que trata" y "tratamiento" pretenden incluir aliviar o abrogar un trastorno, enfermedad o afección, o uno o más de los síntomas asociados con el trastorno, enfermedad o afección; o ralentizar la progresión, propagación o empeoramiento de una enfermedad, trastorno o afección o de uno o más de sus síntomas. A menudo, los efectos beneficiosos que un sujeto obtiene de un agente terapéutico no dan como resultado una cura completa de la enfermedad, trastorno o afección.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende incluir la cantidad de un compuesto que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar en cierta medida, uno o más de los síntomas del trastorno, la enfermedad o la afección que se está tratando. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" también se refiere a la cantidad de un compuesto que es suficiente para provocar la respuesta biológica o médica que busca un investigador, veterinario, médico o clínico, por ejemplo, para inhibir la actividad de PARP *in vivo*, para inhibir el crecimiento y/o la proliferación de células cancerosas y/o disminuir el número de células cancerosas.

Como se usa en el presente documento, el término "vol" significa una relación peso/volumen de reactivos sólidos con respecto a disolventes líquidos. Por ejemplo, 250 g de una sustancia sólida en 10 vol de un disolvente significa que la sustancia se disuelve en 10 x 250 ml, o 2,5 l, de disolvente.

Realizaciones

La presente invención proporciona una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, y en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2 θ grados de ángulo \pm 0,2 2 θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.

En algunas realizaciones, la forma cristalina está sin solvatar. En otras realizaciones, la forma cristalina es un solvato. Por ejemplo, una forma de solvato cristalino puede ser un hidrato. También se describe una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona en una forma amorfa. También se describe una forma sólida (por ejemplo, una forma cristalina, una forma amorfa, o

una mezcla de formas) de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, o una sal o solvato de la misma (por ejemplo, una sal proporcionada en otra parte del presente documento). También se describe una forma amorfa de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, o una sal o solvato de la misma.

La forma de sal cristalina mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona de la invención es sustancialmente pura, en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la pureza de la sal tosilito cristalina es de al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 97 %, al menos aproximadamente el 98 %, al menos aproximadamente el 99 %, al menos aproximadamente el 99,2 %, al menos aproximadamente el 99,5 %, al menos aproximadamente el 99,6 %, al menos aproximadamente el 99,7 %, al menos aproximadamente el 99,8 % en peso de una forma monocristalina, el resto del peso total puede ser otras formas cristalinas o amorfas y/u otros compuestos. En una realización, la sal tosilito cristalina es esencialmente una forma cristalina monocomponente o un polimorfo único. En otra realización, la sal tosilito cristalina es una forma cristalina de múltiples componentes que comprende una primera forma cristalina y al menos una forma cristalina y/o amorfa distinta de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la forma cristalina está sustancialmente libre de una forma amorfa de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

A menos que se especifique de otro modo, cuando un pico de XRPD se expresa en 2θ grados de ángulo, debe entenderse que se usa radiación de cobre Kα1. En algunas realizaciones, el valor de 2θ grados de ángulo proporcionado en el presente documento puede variar en una extensión de aproximadamente ± 0,2 °θ, mientras sigue describiendo el mismo pico de XRPD.

En la ¹³C RMN en estado sólido, las posiciones pico pueden variar según factores tales como la relación señal-ruido, el ancho del pico, la temperatura, la velocidad de giro, la eficiencia de desacoplamiento, el ajuste del ángulo mágico, los procedimientos y parámetros de procesamiento de datos, y el software del algoritmo de selección de picos. Además, la posición pico es relativa al procedimiento de referencia del desplazamiento químico. Se pueden usar varios estándares de referencia de desplazamiento químico diferentes y no necesariamente darán los mismos resultados. Esto puede conducir a posiciones pico que son diferentes en varias ppm. Sin embargo, típicamente todos los picos tendrán un cambio sistemático de posición en la misma dirección si se utilizó un patrón de referencia diferente o si el analista usó un valor diferente para la posición pico de referencia del mismo patrón. En algunas realizaciones, los valores de ppm en la ¹³C RMN en estado sólido proporcionados en el presente documento pueden variar en una extensión de aproximadamente ± 0,2 ppm, describiendo aún al mismo tiempo el mismo pico.

En ciertas realizaciones, se proporciona una sal cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona que tiene un patrón XRPD que comprende uno o más (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o más de diez; o al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis o al menos siete) picos característicos seleccionados de picos expresados en valores d (Å) de acuerdo con una cualquiera de las **Tablas 9, 11, 13, 15, 17 y 25**. En otra realización, la sal cristalina es una sal tosilito que tiene uno o más (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o más de diez; o al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete) picos XRPD seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de acuerdo con una cualquiera de las **Tablas 9, 11, 13, 15, 17 y 25**. En ciertas realizaciones, la sal tosilito cristalina tiene un patrón XRPD sustancialmente como se proporciona en las **figuras 1, 6, u 8**.

En ciertas realizaciones, la sal tosilito cristalina proporcionada en el presente documento tiene un patrón XRPD que comprende uno o más (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, o más de diez; o al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete) picos XRPD seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 15**. En algunas realizaciones, la sal tosilito cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,79, 5,86, 4,90, 4,42, 4,35, 3,93, y 3,70. En algunas realizaciones, la sal tosilito cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,79; 5,86; 4,90; 4,65; 4,42; 4,35; 4,13; 3,93; y 3,70. En ciertas realizaciones, el patrón XRPD de la sal tosilito cristalina comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,79; 5,86; 4,98; 4,90; 4,79; 4,65; 4,42; 4,35; 4,13; 3,93; 3,70; y 3,58. En ciertas realizaciones, el patrón XRPD de la sal tosilito cristalina comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) comprenden 11,79; 7,07; 6,13; 5,86; 5,10; 4,98; 4,90; 4,79; 4,65; 4,42; 4,35; 4,13; 4,08; 3,93; 3,85; 3,70; 3,58; 3,31; y 2,99. En algunas realizaciones, la sal tosilito cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,49, 15,10, 18,10, 20,06, 20,40, 22,61, y 24,01. En algunas realizaciones, la sal tosilito cristalina tiene un patrón XRPD que comprende

uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,49, 15,10, 18,10, 19,08, 20,06, 20,40, 21,49, 22,61, y 24,01. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,49, 15,10, 17,78, 18,10, 18,49, 19,08, 20,06, 20,40, 21,49, 22,61, 24,01, y 24,84. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,49, 12,50, 14,44, 15,10, 17,38, 17,78, 18,10, 18,49, 19,08, 20,06, 20,40, 21,49, 21,76, 22,61, 23,05, 24,01, 24,84, 26,93, y 29,82.

En ciertas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 15**. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 5,9, 4,9, 4,42, 4,35, 3,9, y 3,7. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8; 5,9; 4,9; 4,7; 4,42; 4,35; 4,1; 3,9; y 3,7. En ciertas realizaciones, el patrón XRPD comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) comprenden aproximadamente 11,8; 5,9; 5,0; 4,9; 4,8; 4,7; 4,42; 4,35; 4,1; 3,9; 3,70; y 3,58. En ciertas realizaciones, el patrón XRPD comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) comprenden aproximadamente 11,8; 7,1; 6,1; 5,9; 5,1; 5,0; 4,9; 4,8; 4,7; 4,42; 4,35; 4,1; 4,1; 3,9; 3,9; 3,7; 3,6; 3,3; y 3,0. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,4, 22,6, y 24,0. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 18,1, 19,1, 20,1, 20,4, 21,5, 22,6, y 24,0. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 17,8, 18,1, 18,5, 19,1, 20,1, 20,4, 21,5, 22,6, 24,0, y 24,8. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 12,5, 14,4, 15,1, 17,4, 17,8, 18,1, 18,5, 19,1, 20,1, 20,4, 21,5, 21,8, 22,6, 23,1, 24,0, 24,8, 26,9, y 29,8.

En ciertas realizaciones, la sal tosilato cristalina comprende picos XRPD a 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 9**. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,42, 15,01, 17,70, 18,01, 18,47, 18,98, 19,98, 20,33, 21,41, 22,58, 23,95, y 24,76. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,42, 15,01, 18,01, 19,98, 20,33, 22,58, y 23,95. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,42, 15,01, 17,70, 18,01, 19,98, 20,33, 21,41, 22,58, 23,95, y 24,76. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,90, 5,90, 5,01, 4,92, 4,44, 4,37, 4,15, 3,93, 3,71, y 3,59. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,90, 5,90, 5,01, 4,92, 4,80, 4,67, 4,44, 4,37, 4,15, 3,93, 3,71, y 3,59. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,90, 5,90, 4,92, 4,44, 4,37, 3,93, y 3,71.

En ciertas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 9**. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,0, 17,7, 18,0, 18,5, 19,0, 20,0, 20,3, 21,4, 22,6, 24,0, y 24,8. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de

aproximadamente 7,4, 15,0, 18,0, 20,0, 20,3, 22,6, y 24,0. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4; 15,0; 17,7; 18,0; 20,0; 20,3; 21,4; 22,6; 24,0; y 24,8. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 5,0, 4,9, 4,44, 4,37, 4,1, 3,9, 3,7, y 3,6. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 5,0, 4,9, 4,8, 4,7, 4,44, 4,37, 4,1, 3,9, 3,7, y 3,6. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina comprende picos XRPD a valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 4,9, 4,44, 4,37, 3,9, y 3,7.

En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 11**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,42, 15,02, 17,38, 17,74, 18,03, 18,54, 19,02, 20,08, 20,39, 21,44, 22,63, 24,00, y 24,83. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,42, 15,02, 18,03, 20,08, 20,39, 22,63, y 24,00. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,91, 5,89, 5,10, 5,00, 4,92, 4,78, 4,66, 4,42, 4,35, 4,14, 3,93, 3,71, y 3,58. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,91, 5,89, 4,92, 4,42, 4,35, 3,93, y 3,71.

En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 11**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,0, 17,3, 17,7, 18,0, 18,5, 19,0, 20,1, 20,4, 21,4, 22,6, 24,0, y 24,8. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,0, 18,0, 20,1, 20,4, 22,6, y 24,0. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 5,1, 5,0, 4,9, 4,8, 4,7, 4,42, 4,35, 4,1, 3,9, 3,7, y 3,6. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 4,9, 4,42, 4,35, 3,9, y 3,7.

En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 13**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,46, 12,47, 14,45, 15,09, 17,40, 18,11, 18,53, 19,05, 20,09, 20,43, 21,46, 22,63, 23,10, 24,03, 24,85, y 26,96. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,46, 14,45, 15,09, 17,74, 18,11, 18,53, 19,05, 20,09, 20,43, 21,46, 22,63, 24,03, 24,85, y 26,96. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,46, 15,09, 18,11, 20,09, 20,43, 22,63, y 24,03. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,84, 7,09, 6,13, 5,87, 5,09, 5,00, 4,89, 4,78, 4,66, 4,42, 4,34, 4,13, 4,08, 3,93, 3,85, 3,70, 3,58, 3,30, 2,99, y 2,86. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,84, 6,13, 5,87, 5,09, 5,00, 4,89, 4,78, 4,42, 4,34, 4,13, 3,93, 3,70, 3,58, y 3,30. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,84, 5,87, 4,89, 4,42, 4,34, 3,93, y 3,70.

En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 13**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 12,5, 14,5, 15,1, 17,4, 17,7, 18,1, 18,5, 19,0, 20,1, 20,4, 21,5, 22,6, 23,1, 24,0, 24,9, y 27,0. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 14,5, 15,1, 17,7, 18,1, 18,5, 19,0, 20,1, 20,4, 21,5, 22,6, 24,0, 24,9, y 27,0. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,4, 22,6, y 24,0. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 7,1, 6,1, 5,9, 5,1, 5,0, 4,9, 4,8, 4,7, 4,4, 4,3, 4,13, 4,08, 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,3, 3,0, y 2,9. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 6,1, 5,9, 5,0, 4,9, 4,8, 4,7, 4,4, 4,3, 4,1, 3,9, 3,7, 3,6, y 3,3. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 5,9, 4,9, 4,4, 4,3, 3,9, y 3,7.

En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 17**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,50, 12,51, 14,48, 15,12, 17,38, 17,78, 18,17, 18,58, 19,11, 20,09, 20,54, 21,54, 21,86, 22,65, 23,19, 24,08, 24,86, 26,98, 29,97, 30,44, 30,84, 32,07, 32,49, y 37,56. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,50, 15,12, 17,38, 17,78, 18,17, 18,58, 19,11, 20,09, 20,54, 21,54, 21,86, 22,65, 23,19, 24,08, 24,86, y 26,98. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,50, 15,12, 18,17, 20,09, 20,54, 22,65, y 24,08. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,78, 7,07, 6,11, 5,85, 5,10, 4,98, 4,88, 4,77, 4,64, 4,42, 4,32, 4,12, 4,06, 3,92, 3,83, 3,69, 3,57, 3,30, 2,98, 2,93, 2,78, 2,75, 2,39. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,78, 5,85, 5,10, 4,98, 4,88, 4,77, 4,64, 4,42, 4,32, 4,12, 4,06, 3,92, 3,83, 3,69, 3,57, y 3,30. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,78, 5,85, 4,88, 4,42, 4,32, 3,92, y 3,69.

En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo o valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 17**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 12,5, 14,5, 15,1, 17,4, 17,8, 18,2, 18,6, 19,1, 20,1, 20,5, 21,5, 21,9, 22,6, 23,2, 24,1, 24,9, 27,0, 30,0, 30,4, 30,8, 32,1, 32,5, y 37,6. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 17,4, 17,8, 18,2, 18,6, 19,1, 20,1, 20,5, 21,5, 21,9, 22,6, 23,2, 24,1, 24,9, y 27,0. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 18,2, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 7,1, 6,1, 5,9, 5,1, 5,0, 4,9, 4,8, 4,6, 4,4, 4,3, 4,12, 4,06, 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,3, 3,0, 2,9, 2,78, 2,75, 2,4. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 5,9, 5,1, 5,0, 4,9, 4,8, 4,6, 4,4, 4,3, 4,12, 4,06, 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, y 3,3. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un

patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 5,9, 4,9, 4,4, 4,3, 3,9, y 3,7.

5 En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD sustancialmente como se proporciona en la **figura 6**. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con 2θ grados de ángulo según se proporciona en la **Tabla 25**. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,51, 14,47, 15,14, 17,41, 18,12, 18,53, 19,07, 20,09, 20,46, 21,48, 21,81, 24,05, 24,83, y 29,81. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,51, 14,47, 15,14, 20,09, 21,48, y 24,05. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,51, 15,14, 18,12, 20,09, 20,46, 22,65, y 24,05. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,51, 20,09, y 24,05. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 14,5, 15,1, 17,4, 18,1, 18,5, 19,1, 20,1, 20,46, 21,48, 21,8, 24,1, 24,8, y 29,8. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 14,5, 15,1, 20,1, 21,5, y 24,1. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con \pm aproximadamente $0,2$ 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,5, 20,1, y 24,1. En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) según se proporciona en la **Tabla 25**. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 6,1, 5,9, 5,1, 4,9, 4,8, 4,6, 4,4, 4,3, 4,1, 4,1, 3,7, 3,6, y 3,0. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 6,1, 5,9, 4,4, 4,1, y 3,7. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 5,9, 4,9, 4,4, 4,3, 3,9, y 3,7. En otras realizaciones, la sal tosilato cristalina tiene un patrón XRPD que comprende uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de picos con valores d (Å) de aproximadamente 11,8, 4,4, y 3,7.

En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato cristalina presenta un espectro de ^{13}C RMN correspondiente sustancialmente al espectro en la **figura 12** o presenta un espectro con picos correspondientes sustancialmente a aquellos en la **Tabla 28**. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato cristalina presenta un espectro ^{13}C RMN con uno o más picos (por ejemplo, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, o al menos siete picos) seleccionados de aproximadamente $\pm 0,2$ ppm a aproximadamente 166,9, 164,3, 162,2, 160,6, 151,8, 149,4, 143,2, 140,2, 139,1, 136,0, 131,8, 129,4, 128,6, 127,7, 123,9, 116,8, 115,1, 112,2, 105,2, 100,3, 58,5, 45,3, 37,4, y 23,9. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato cristalina presenta un espectro de ^{13}C RMN con picos aproximadamente $\pm 0,2$ ppm a aproximadamente 151,8, 149,4, 143,2, 136,0, 131,8, 123,9, 116,8, 115,1, 112,2, 105,2, 100,3, 58,5, 45,3, 37,4, y 23,9. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato cristalina presenta un espectro de ^{13}C RMN con picos aproximadamente $\pm 0,2$ ppm a aproximadamente 143,2, 136,0, 131,8, 123,9, 112,2, 105,2, 100,3, 58,5, 45,3, 37,4, y 23,9. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato cristalina presenta un espectro de ^{13}C RMN con picos aproximadamente $\pm 0,2$ ppm a aproximadamente 143,2, 136,0, 131,8, 123,9, 112,2, 105,2, y 100,3.

En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un pico XRPD a 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,1, 17,4, 17,8, 18,1, 18,5, 19,1, 20,1, 20,4, 21,5, 22,6, 24,0, 24,8, y 27,0. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un pico XRPD a 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,1, 18,1, 19,1, 20,1, 20,4, 21,5, 22,6, y 24,0. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un pico XRPD a 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,1, 20,1, 20,4, 22,6, 24,0, y 24,8. En algunas o en

cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un pico XRPD a 2θ grados de ángulo de aproximadamente 7,4, 15,1, 18,1, 20,1, 20,4, 22,6, y 24,0.

5 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un patrón XRPD que comprende picos a valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 5,1, 5,0, 4,9, 4,8, 4,6, 4,4, 4,3, 4,1, 3,9, 3,7, 3,6, y 3,3. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un patrón XRPD que comprende picos a valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 4,9, 4,6, 4,4, 4,3, 4,1, 3,9, y 3,7. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un patrón XRPD que comprende picos a valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 4,4, 4,3, 3,9, 3,7, y 3,6. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal cristalina tiene un pico XRPD a valores d (Å) de aproximadamente 11,9, 5,9, 4,9, 4,4, 4,3, 3,9, y 3,7.

15 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el tosilato (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalino es un polimorfo cristalino que presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ grados de ángulo $\pm 0,2$ 2θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1 y al menos uno de un espectro de ^{13}C RMN en estado sólido con picos a 143,2, 136,0, 131,8, 123,9, 112,2, 105,2, y 100,3 ppm $\pm 0,2$ ppm; y un patrón de difracción de rayos X que comprende picos característicos expresados en valores d (Å): 11,9, 5,9, 4,9, 4,4, 4,3, 3,9, y 3,7.

20 En algunas realizaciones, la sal tosilato cristalina presenta un único pico endotérmico en calorimetría diferencial de barrido entre la temperatura ambiente y aproximadamente 350 °C, en el que el máximo pico endotérmico único se produce entre aproximadamente 320 °C a aproximadamente 335 °C. En ciertas realizaciones, el máximo pico endotérmico único se produce de entre aproximadamente 330 °C a aproximadamente 335 °C. En algunas realizaciones, el máximo pico endotérmico único se produce de aproximadamente 333 °C a aproximadamente 334 °C.

30 En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento no tiene una endotermia observable de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 250 °C según se determina por DSC. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento tiene un termograma DSC que comprende una endotermia con un máximo entre aproximadamente 320 °C y aproximadamente 335 °C, entre 330 °C y aproximadamente 335 °C, o entre aproximadamente 333 °C y aproximadamente 334 °C. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento tiene un termograma DSC correspondiente sustancialmente a la termografía DSC de la **figura 2a, 3a, 4a, 5a, o 7a**.

40 En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento tiene un gráfico de isoterma DVS correspondiente sustancialmente al gráfico de isoterma DVS de la figura 9. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento no presenta un cambio de peso significativo (por ejemplo, menos de aproximadamente el 0,05 % en peso, menos de aproximadamente el 0,1 % en peso, menos de aproximadamente el 0,15 % en peso, o menos de aproximadamente el 0,2 % en peso) de aproximadamente el 0 % a aproximadamente el 95 % de humedad relativa.

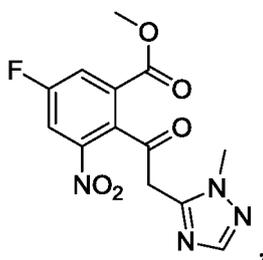
50 En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento tiene un termograma TGA correspondiente sustancialmente a la termografía TGA de la **figura 2b, 3b, 4b, 5b, o 7b**. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento tiene un termograma TGA que no presenta una pérdida de peso significativa (por ejemplo, menos de aproximadamente el 0,05 % en peso, menos de aproximadamente el 0,1 % en peso, menos de aproximadamente el 0,5 % en peso, menos de aproximadamente el 1 % en peso, menos de aproximadamente el 5 % en peso, menos de aproximadamente el 10 % en peso, menos de aproximadamente el 15 % en peso, menos de aproximadamente el 20 % en peso, o menos de aproximadamente el 25 % en peso) cuando se calentó de aproximadamente temperatura ambiente a una temperatura de aproximadamente 200 °C, aproximadamente 210 °C, aproximadamente 220 °C, aproximadamente 230 °C, aproximadamente 240 °C, aproximadamente 250 °C, aproximadamente 260 °C, aproximadamente 270 °C, aproximadamente 280 °C, aproximadamente 290 °C, aproximadamente 300 °C, aproximadamente 310 °C, aproximadamente 320 °C, o más de aproximadamente 320 °C. En diversas realizaciones, la sal tosilato cristalina proporcionada en el presente documento tiene una pérdida de peso de no más de aproximadamente el 1 %, no más de aproximadamente el 0,5 %, o no más de aproximadamente el 0,1 % en un termograma termogravimétrico entre aproximadamente 25 °C y aproximadamente 200 °C.

65 En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-

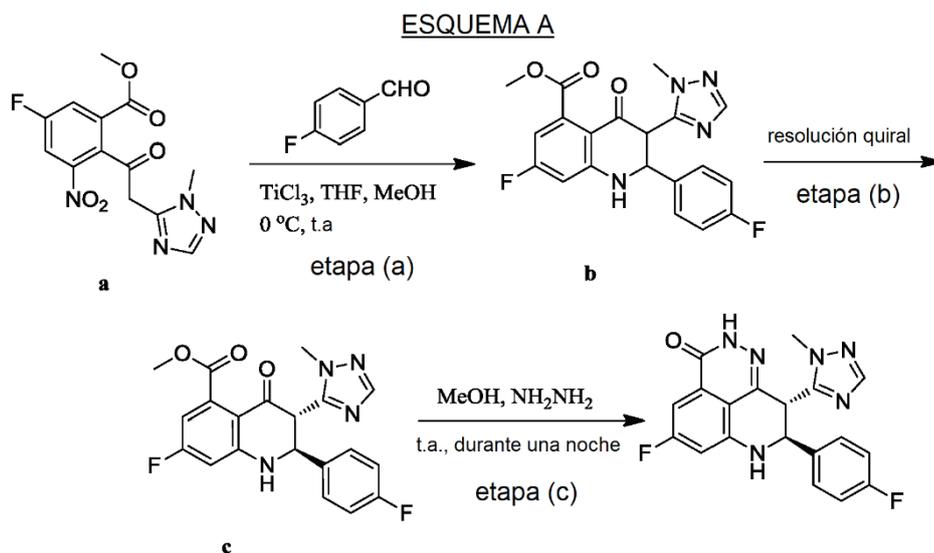
il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento está sin solvatar. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento es anhidra. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento es térmicamente estable. En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento no es higroscópica.

En ciertas realizaciones, una sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona como se proporciona en el presente documento presenta características deseables para la preparación, procesamiento y/o almacenamiento de una composición farmacéutica o producto farmacéutico que comprende la sal tosilato cristalina de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

También se describe un método para sintetizar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. El **Esquema A** proporciona una descripción ejemplar del método sintético. El método comprende 3 etapas, el primero de los cuales es poner en contacto 5-fluoro-2-(2-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)acetil)-3-nitrobenzoato de metilo, es decir,



con 4-fluorobenzaldehído en una mezcla que comprende uno o más disolventes de la etapa (a) y cloruro de titanio (III) para preparar un primer intermedio (**b** en el **Esquema A**). El uno o más disolventes de la etapa (a) pueden seleccionarse de THF y MeOH, por ejemplo, en una relación volumen-volumen de 6 partes de THF con respecto a 1 parte de MeOH. Puede añadirse cloruro de titanio (III) a la primera mezcla de reacción de 0 °C a temperatura ambiente.



La mezcla de reacción que comprende 5-fluoro-2-(2-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)acetil)-3-nitrobenzoato de metilo, uno o más disolventes de la etapa (a), y cloruro de titanio (III) pueden agitarse a una temperatura de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 50 °C.

La segunda etapa (etapa (b)) del método sintético proporcionado es aislar por separación quiral un enantiómero (**c**) del primer intermedio (**b**). La resolución quiral del primer intermedio (**b**) en sus enantiómeros se puede realizar mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante métodos cromatográficos tales como cromatografía líquida de alto rendimiento y cromatografía de fluidos supercríticos. El enantiómero mostrado como **c** en el **Esquema A** se puede aislar en la segunda etapa del método sintético.

La tercera etapa (etapa (c)) del método sintético comprende poner en contacto el enantiómero aislado (**c**) del primer intermedio (**b**) con uno o más disolventes de la etapa (c) e hidrazina monohidrato para elaborar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. El uno o más disolventes de la etapa (c) pueden seleccionarse independientemente de metanol, etanol y acetonitrilo. El disolvente de la etapa (c) puede ser metanol. El disolvente de la etapa (c) puede ser etanol. El disolvente de la etapa (c) puede ser acetonitrilo. Típicamente, la tercera etapa puede realizarse a temperatura ambiente, lo que permite que la reacción transcurra durante una noche.

Como alternativa, el intermedio **b** se trata con un disolvente, tal como metanol, etanol, o acetonitrilo, e hidrazina monohidrato para elaborar 5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona que, a continuación, se resuelve por resolución quiral en (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. La resolución quiral puede realizarse mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, por ejemplo, por ejemplo, mediante métodos cromatográficos tales como cromatografía líquida de alta resolución, cromatografía de fluidos supercríticos, y simulación de cromatografía de lecho móvil.

También se describe un método para preparar sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. El método de preparación de la sal tosilato proporcionado en el presente documento es adecuado para la producción a gran escala de la sal tosilato y puede cumplir los requisitos de GMP.

El método preparativo puede comprender poner en contacto la base libre de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona en uno o más disolventes con ácido p-toluenosulfónico y eliminar el uno o más disolventes para elaborar la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. La base libre puede obtenerse de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento para sintetizar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en uno o más disolventes seleccionados independientemente de THF, acetona, metanol, acetonitrilo, y DCM. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en una mezcla de metanol y acetonitrilo. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en una mezcla de DCM y acetonitrilo. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en una mezcla de acetona y THF. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en acetona. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en THF. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en uno o más disolventes seleccionados independientemente de THF, acetona, metanol, acetonitrilo, y DCM, y calentarse antes de añadir TsOH. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en una mezcla de acetona y THF, y calentarse antes de añadir TsOH. La base libre puede suspenderse en un disolvente que consiste esencialmente en THF. En el método preparativo para la forma de sal tosilato, la base libre puede suspenderse o disolverse en THF y calentarse antes de añadir TsOH.

En el método descrito en el presente documento, puede disolverse o suspenderse ácido p-toluenosulfónico en uno o más disolventes y, a continuación, se añade a la base libre que se suspende o se disuelve en un segundo conjunto de uno o más disolventes. En el método descrito en el presente documento, la base libre puede disolverse o suspenderse en uno o más disolventes y, a continuación se añade al ácido p-toluenosulfónico que se suspende o se disuelve en un segundo conjunto de uno o más disolventes.

En el método descrito en el presente documento, (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona puede ponerse en contacto con ácido p-toluenosulfónico a una temperatura elevada. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, TsOH y la base libre pueden ponerse en contacto a una temperatura de entre aproximadamente 0 °C y aproximadamente 70 °C. Típicamente, la base libre tiene una temperatura de aproximadamente 20 °C a 55 °C cuando se pone en contacto con el TsOH. La base libre puede ponerse en contacto con TsOH cuando la temperatura es de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 70 °C, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 30 °C, de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 60 °C, de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 70 °C, o de aproximadamente 48 °C a aproximadamente 58 °C. El disolvente puede eliminarse y la sal puede secarse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Después de poner en contacto la base libre con el TsOH, la solución/suspensión resultante se puede dejar reposar en condiciones suficientes para precipitar una forma cristalina y la forma cristalina se aísla. Las condiciones suficientes para precipitar la forma cristalina incluyen enfriamiento. Las condiciones suficientes para precipitar la forma cristalina pueden incluir enfriamiento a 25 °C o más frío.

Además de los métodos proporcionados en el presente documento, las formas sólidas de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona proporcionadas en el presente documento también pueden prepararse usando técnicas conocidas en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, enfriamiento por fusión, enfriamiento rápido por fusión, liofilización, secado por pulverización, secado en rodillos, liofilización, inactivación que enfría la fusión, evaporación rápida de disolvente, evaporación lenta de disolvente, recristalización con disolvente, recristalización de la suspensión, cristalización por fusión, desolvatación, sublimación, recristalización en espacios reducidos (por ejemplo, en nanoporos o capilares), recristalización en superficies o plantillas (por ejemplo, en polímeros), recristalización en presencia de aditivos (por ejemplo, contramoléculas de cocrystal), deshidratación, enfriamiento rápido, enfriamiento lento, difusión de vapor, trituración, ciotrituración, trituración de gotas de disolvente, precipitación inducida por microondas, precipitación inducida por ultrasonidos, precipitación inducida por láser, y precipitación de un fluido supercrítico.

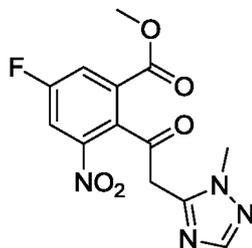
También se describe un método para preparar sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona que comprende

etapa (1): en presencia de uno o más disolventes de la etapa 1 seleccionados independientemente de THF, acetona, metanol, acetonitrilo, y DCM, poner en contacto (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona con ácido p-toluenosulfónico a una temperatura elevada;
 etapa (2): dejar en reposo en condiciones suficientes para precipitar la forma cristalina; y
 etapa (3): aislar la forma cristalina.

La temperatura elevada puede ser de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 70 °C. El uno o más disolventes de la etapa 1 pueden seleccionarse independientemente de metanol y acetonitrilo. El uno o más disolventes de la etapa 1 pueden seleccionarse independientemente de DCM y acetonitrilo. El uno o más disolventes de la etapa 1 pueden seleccionarse independientemente de acetona y THF.

El disolvente de la etapa 1 puede ser acetona. El disolvente de la etapa 1 puede ser THF. Las condiciones suficientes para precipitar la forma cristalina incluyen enfriamiento. Las condiciones suficientes para precipitar la forma cristalina pueden incluir enfriamiento a 25 °C o más frío. El método puede comprender además

etapa (a): poner en contacto



con 4 fluorobenzaldehído en una mezcla que comprende uno o más disolventes de la etapa (a) y cloruro de titanio (III) para elaborar un primer intermedio;

etapa (b): aislar por separación quiral un enantiómero del primer intermedio; y

etapa (c): poner en contacto el enantiómero aislado del primer intermedio con hidrazina monohidrato en uno o más disolventes de la etapa (c) para elaborar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. El enantiómero aislado del primer intermedio puede ponerse en contacto con hidrazina monohidrato en uno o más disolventes de la etapa (c) seleccionados independientemente de metanol, etanol y acetonitrilo. El uno o más disolventes de la etapa (a) pueden seleccionarse independientemente de THF y metanol. El método puede comprender además

etapa (x): poner en contacto



con hidrazina monohidrato en uno o más disolventes de la etapa x para producir 5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona; y

etapa (y): aislar (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona por separación quiral. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el uno o más disolventes de la etapa (x) se seleccionan independientemente de metanol, etanol y acetonitrilo.

- 5 En ciertas realizaciones, se proporciona una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona preparada de acuerdo con los métodos descritos en los párrafos anteriores, o como se describe sustancialmente en los siguientes ejemplos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se proporciona una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona cristalizada a partir de un disolvente que consiste esencialmente en tetrahidrofurano (THF).

En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato presenta menos del 2 % de pérdida de peso térmico a o por debajo de una temperatura de aproximadamente 280 °C por TGA.

- 15 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, la sal tosilato presenta un valor de pérdida de histéresis menor de aproximadamente el 1 % en DVS a 25 °C del 0 % de HR al 95 % de HR.

Composiciones, incluidas las composiciones farmacéuticas

- 20 También se describen composiciones que comprenden o consisten esencialmente en sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona sustancialmente pura, en otra realización en una forma cristalina de la misma como se proporciona en el presente documento.

- 25 La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, y en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ grados de ángulo ± 0,2 2θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. La elección del excipiente, en gran medida, depende de factores, tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad del principio activo, y la naturaleza de la forma de dosificación.

- 35 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se pueden proporcionar en formas de dosificación unitaria o formas de dosificación múltiple. Las formas de dosificación unitaria, como se usan en el presente documento, se refieren a unidades físicamente discretas adecuadas para su administración a sujetos humanos y animales y envasadas individualmente como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona suficiente para producir un efecto terapéutico deseado, en asociación con los vehículos o excipientes farmacéuticos requeridos. Los ejemplos de formas de dosificación unitaria incluyen ampollas, jeringas y comprimidos y cápsulas envasados individualmente. Las formas de dosificación unitaria se pueden administrar en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma de dosificación múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitaria idénticas envasadas en un único recipiente para administrarse en forma de dosificación unitaria segregada. Los ejemplos de formas de dosificación múltiple incluyen viales, frascos de comprimidos o cápsulas, o frascos de pintas o galones.

- 50 Cantidades de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona en formas de dosificación unitaria pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente 5 µg a aproximadamente 1500 µg, de aproximadamente 20 µg a aproximadamente 1250 µg, de aproximadamente 25 µg a aproximadamente 1000 µg, o de aproximadamente 25 µg a aproximadamente 250 µg. En algunas realizaciones, la cantidad de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona en una forma de dosificación unitaria comprende (en la que lo siguiente no incluye la masa aportada por la porción de tosilato de la sal) de aproximadamente 5 µg a aproximadamente 30 µg, de aproximadamente 20 µg a aproximadamente 60 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 120 µg a aproximadamente 250 µg, de aproximadamente 20 µg a aproximadamente 112 µg, o de aproximadamente 25 µg a aproximadamente 250 µg de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. En ciertas realizaciones, la cantidad de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona es de aproximadamente 10 µg, aproximadamente 20 µg, aproximadamente 25 µg, aproximadamente 30 µg, aproximadamente 50 µg, aproximadamente 75 µg, aproximadamente 100 µg, aproximadamente 150 µg, aproximadamente 200 µg, aproximadamente 250 µg, o aproximadamente 1000 µg.

- 65 Formas de dosificación oral. En cierta realización, la composición farmacéutica, como se proporciona en el presente documento, se formula para administración oral a un sujeto. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral se pueden presentar como formas de dosificación discretas, tales como, pero sin limitación,

comprimidos, comprimidos masticables, comprimidos oblongos, cápsulas y líquidos (por ejemplo, jarabes aromatizados). Dichas formas de dosificación contienen cantidades predeterminadas de principios activos y pueden prepararse por métodos farmacéuticos bien conocidos por los expertos en la técnica. Véase, generalmente, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

5 Por ejemplo, las formas de dosificación oral proporcionadas en el presente documento se pueden preparar combinando sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en una realización en una forma cristalina de la misma como se proporciona en el presente documento (en lo sucesivo en el presente documento, el "principio activo"), una mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con las técnicas de composición farmacéutica convencionales. Los excipientes pueden tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan las formas unitarias de dosificación oral más ventajosas, en cuyo caso se emplean excipientes sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas habituales acuosas o no acuosas. Dichas formas de dosificación pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación se preparan mezclando uniforme e íntimamente el principio activo con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después conformando el producto en la presentación deseada si es necesario. Se pueden usar desintegrantes o lubricantes en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención. La producción de composiciones farmacéuticas o formas de dosificación de acuerdo con la presente invención puede requerir, además de los ingredientes del fármaco terapéutico, excipientes o aditivos que incluyen, pero sin limitación, diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, colorantes, aromas, agentes edulcorantes y similares o mezclas de los mismos. Mediante la incorporación de estos y otros aditivos, se pueden preparar una diversidad de formas de dosificación (por ejemplo, comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos, trociscos y similares). Estos incluyen, por ejemplo, cápsulas de gelatina dura, comprimidos oblongos, comprimidos recubiertos de azúcar, comprimidos con recubrimiento entérico (por ejemplo, para retrasar la acción), comprimidos múltiples comprimidos, comprimidos de acción prolongada, comprimidos para solución, comprimidos efervescentes, comprimidos bucales y sublinguales, trociscos y similares. La forma de dosis o la formulación de dosificación se puede formar mediante métodos bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª y 18ª eds., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1980 y 1990). Véase también U.S. Pharmacopeia XXI, U.S. Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville, Md. (1985).

Otras formas de dosificación. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento se puede formular en formas de dosificación parenteral. Pueden administrarse formas de dosificación parenteral a los pacientes por diversas rutas, incluyendo, pero sin limitación, subcutánea, intravenosa (incluida la inyección en bolo), intramuscular e intraarterial. Debido a que su administración evita típicamente las defensas naturales de los pacientes contra los contaminantes, las formas de dosificación parenteral son, en algunas realizaciones, estériles o pueden esterilizarse antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen, pero sin limitación, soluciones listas para inyección, productos secos listos para disolverse o suspenderse en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección, suspensiones listas para inyección, y emulsiones. Los vehículos adecuados que se pueden usar para proporcionar formas de dosificación parenteral proporcionadas en el presente documento se conocen bien por los expertos en la técnica.

Todavía en otras realizaciones, la composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento se puede formular en una forma de dosificación transdérmica, tópica o mucosal. Las formas de dosificación transdérmicas, tópicas y mucosales proporcionadas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, soluciones oftálmicas, pulverizaciones, aerosoles, cremas, lociones, pomadas, geles, soluciones, emulsiones, suspensiones u otras formas conocidas por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª y 18ª eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 y 1990); e Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4ª ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985). Los excipientes adecuados (por ejemplo, vehículos y diluyentes) y otros materiales que se pueden usar para proporcionar formas de dosificación transdérmica, tópicas y mucosales incorporadas por esta divulgación se conocen bien por los expertos en la técnica farmacéutica, y dependen del tejido particular al que se aplicará una determinada composición farmacéutica o forma de dosificación.

55 Métodos de tratamiento

En el presente documento se proporcionan métodos para el tratamiento de una enfermedad o afección, o síntoma de la misma, como se explica a continuación.

60 Se proporciona en el presente documento un uso de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para el tratamiento de una enfermedad o afección, o síntoma de las mismas, en un sujeto.

65 La invención proporciona una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, y en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ

grados de ángulo $\pm 0,2$ 2 θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes, para su uso en un método para tratar un cáncer, o síntoma del mismo.

5 Algunas o cualquiera de las realizaciones proporcionan una sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método de potenciación de la terapia citotóxica del cáncer en un sujeto con necesidad reconocida de dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente aceptable de sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

10 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, se proporciona en el presente documento una sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona junto con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el compuesto descrito en el presente documento se administra simultáneamente con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el compuesto descrito en el presente documento se administra secuencialmente con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos. Los expertos en la técnica conocen la radiación ionizante y agentes quimioterapéuticos.

25 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el agente o agentes terapéuticos son un agente alquilante, tal como metanosulfonato de metilo (MMS), temozolomida y dacarbazina (DTIC); un inhibidor de topoisomerasa-1 tal como Topotecán, Irinotecán, Rubitecán, Exatecán, Lurtotecán, Gimetecán, Diflomotecán (homocamptotecinas), no silatecanos 7-sustituidos, las 7-silil camptotecinas (BNP 1350), SN38, NK012 (un nanodispositivo de liberación de SN-38 construido uniendo covalentemente SN-38 al copolímero de bloque PEG-PGlu, seguido de autoensamblaje de copolímeros de bloque anfílicos en medio acuoso), y XR 11576/MLN 576; alemtuzumab; trióxido de arsénico; asparaginasa (pegilada o no); bevacizumab; cetuximab; compuestos a base de platino, tal como cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, y tetranitrato de triplatino; cladribina; daunorrubicina; doxorubicina; idarrubicina; 30 fludarabina; 5-fluorouracilo; gemtuzumab; metotrexato; Paclitaxel™; taxol; temozolomida; tioguanina; terapias hormonales tales como un antiestrógeno, un antiandrógeno y análogos de la hormona liberadora de gonadotropina; interferones tales como interferón alfa; mostazas nitrogenadas tales como busulfán, melfalán y mecloretamina; retinoides tales como tretinoína; inhibidores de la tirosina cinasa tales como gefinitinib e imatinib; un inhibidor del proteasoma tal como bortezomib; o agentes para tratar los signos o síntomas inducidos por dicha terapia, incluyendo alopurinol, filgrastim, granisetron/ondansetrón/palonosetrón y dronabinol.

35 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, se proporciona una sal tosilato (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona junto con un inhibidor de topoisomerasa. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el inhibidor de topoisomerasa es SN38, irinotecán, o NK012. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el inhibidor de topoisomerasa es irinotecán. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el cáncer es cáncer de mama.

45 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, se proporciona una sal tosilato (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona junto con un platino. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el platino es cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, o tetranitrato de triplatino. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el inhibidor de topoisomerasa es cisplatino. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el cáncer es cáncer de mama.

50 En algunas o en cualquiera de las realizaciones, se proporciona una sal tosilato (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona junto con temozolomida. En algunas o en cualquiera de las realizaciones, el cáncer es cáncer colorrectal.

55 En algunas realizaciones, se proporciona en el presente documento una sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método de tratamiento de un cáncer deficiente en la ruta de reparación de rotura de doble cadena de ADN (DSB) dependiente de la recombinación homóloga (HR), cuyo método incluye administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-

1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. En ciertas realizaciones, el cáncer incluye una o más células cancerosas que tienen una capacidad reducida o abrogada para reparar la DSB del ADN por HR en relación con las células normales. En algunas realizaciones, las células cancerosas tienen un fenotipo deficiente en BRCA1 o BRCA2. En algunas realizaciones, las células cancerosas son deficientes en BRCA1 o BRCA2. En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento implican el tratamiento de un individuo que es heterocigoto para una mutación en un gen que codifica un componente de la ruta de reparación de DSB del ADN dependiente de la HR. En cierta realización, el individuo es heterocigoto para una mutación en BRCA1 y/o BRCA2.

En ciertas realizaciones, el cáncer a tratar comprende células deficientes en homólogo fosfatasa y tensina (PTEN) (por ejemplo, células en las que PTEN está mutado o su expresión es mínima o está ausente). En ciertas realizaciones, el cáncer a tratar comprende células con una mutación del gen PTEN. Los cánceres ejemplares asociados con la deficiencia de PTEN pueden incluir, por ejemplo, glioblastoma, cánceres de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de pulmón y cáncer de mama.

En ciertas realizaciones, el cáncer a tratar es uno resultante de una mutación de activación de la ruta de señalización de Wnt ("cánceres mediados por Wnt"). Se entenderá que por "mutación de activación de la ruta de señalización de Wnt" se pretende incluir, por ejemplo, mutaciones oncogénicas en genes que conducen a la acumulación de β -catenina en células cancerosas, mutaciones de ganancia de función en el gen CTNNB1 (que codifica β -catenina), mutaciones en el gen supresor de tumor APC o mutaciones en el gen AXIN2. Se cree, por ejemplo, y sin pretender limitarse a ninguna teoría o mecanismo, que el tratamiento útil de un cáncer mediado por Wnt puede obtenerse mediante la inhibición de la tanquirasa, una enzima que tiene actividad de poli(ADP-ribosa)polimerasa. Los cánceres mediados por Wnt ejemplares que se pueden tratar de acuerdo con los métodos proporcionados en el presente documento incluyen, por ejemplo, cáncer de vejiga, fibromatosis de mama, cáncer de cuello del útero, cáncer colorrectal, carcinoma de colon, tumor desmoide, adenocarcinoma de esófago, poliposis adenomatosa familiar, pólipos de glándula fúndica, carcinoma gástrico, adenoma gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular, angiofibroma nasofaríngeo juvenil, linfoma no Hodgkin, adenocarcinoma de pulmón, meduloblastoma, melanoma, carcinoma de ovario, cáncer de páncreas (incluyendo, por ejemplo, carcinoma pseudopapilar sólido no ductal y de células acinares no ductales), pancreoblastoma, pilomatricomas, cáncer de próstata, adenocarcinoma de intestino delgado, sarcoma sinovial, carcinoma de tiroides, cáncer de cuello del útero, cáncer de endometrio uterino y tumor de Wilm.

En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de vejiga, cáncer de mama (incluyendo metastásico, BRCA positivo y BRCA negativo), cáncer de cuello del útero, cáncer de colon, cáncer colorrectal, tumores asociados al VEB (incluido linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, linfomas en pacientes con sida, tumores de músculo liso en pacientes con sida, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, enfermedad linfoproliferativa en pacientes inmunodeprimidos, leiomiomas en pacientes inmunodeprimidos, cáncer gástrico VEB+, cáncer de mama VEB+, linfoma de linfocitos T), cánceres de endometrio (incluidos carcinomas y sarcomas), tumor estromal gastrointestinal, gliomas, glioblastoma (incluyendo, por ejemplo, glioblastoma multiforme y astrocitoma anaplásico), cáncer de cabeza y cuello, carcinoma hepatocelular, cáncer de colon hereditario sin poliposis (HNPCC), cáncer de riñón, leucemia (incluida leucemia mielógena aguda, leucemia linfocítica crónica), cáncer de pulmón (incluido carcinoma de pulmón no microcítico, carcinoma microcítico de pulmón), linfoma (incluido linfoma de células del manto), meduloblastoma, melanoma, meningioma, síndrome mielodisplásico, cáncer de ovario (incluyendo avanzado, seroso de alto grado, sensible al platino, resistente al platino, refractario al platino y BRCA negativo), cáncer de páncreas (incluido BRCA negativo), cáncer peritoneal, cáncer de próstata (incluido BRCA negativo, metastásico y resistente a la castración), cáncer renal, cáncer de tiroides, carcinosarcoma uterino, o cáncer del útero.

También se describe una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para tratar una enfermedad o afección, o síntoma de las mismas, asociada con una deficiencia de PTEN, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto con la enfermedad o afección asociada con una deficiencia de PTEN una cantidad terapéuticamente eficaz de la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona. Las enfermedades y afecciones ejemplares asociadas con una deficiencia de PTEN incluyen, por ejemplo, síndrome de Cowden, síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba, enfermedad de Lhermitte-Duclos, síndrome de Proteus, síndrome tipo Proteus, o síndrome del tumor hamartoma.

También se describe una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para tratar enfermedades inflamatorias incluyendo, pero sin limitación, artritis, gota, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación del SNC, esclerosis múltiple, encefalitis alérgica, sepsis, choque séptico, choque hemorrágico, fibrosis pulmonar y uveítis en un sujeto con una necesidad reconocida de dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente aceptable de la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

También se describe una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para tratar enfermedades o trastornos inmunitarios

tales como artritis reumatoide y choque séptico en un sujeto con necesidad reconocida de dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente aceptable de la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

5 También se describe una sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona para su uso en un método para tratar enfermedades degenerativas incluyendo, pero sin limitación, diabetes y enfermedad de Parkinson en un sujeto en necesidad reconocida de dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente aceptable de la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona.

10 En ciertas realizaciones de este uso, la cantidad precisa de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona administrada depende del estado de salud, peso, y similares del paciente. En algunas realizaciones, se considera apropiado que el cuidador determine dichas cantidades terapéuticamente eficaces mediante experimentación de rutina (por ejemplo, un ensayo clínico de aumento de dosis). En ciertas realizaciones, cuando se usan en un paciente, las cantidades eficaces para este uso dependerán de la gravedad y el curso de la enfermedad, trastorno o afección, de la terapia previa, el estado de salud del paciente y la respuesta a los fármacos, y el criterio juicio del médico tratante.

15 En ciertas realizaciones del uso proporcionado en el presente documento, incluidas las proporcionadas anteriormente, la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona puede administrarse en forma sólida. En algunas realizaciones, la sal se administra en forma cristalina.

20 En ciertas realizaciones del uso proporcionado en el presente documento, la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona se administra al sujeto en un régimen de aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses o aproximadamente 6 meses. En algunas realizaciones, la sal de tosilato se administra diariamente en el régimen. En otras realizaciones, la sal de tosilato se administra durante 2, 3 o 4 días a la semana, intercalada o seguida de días del régimen semanal en los que no se administra la sal de tosilato.

25 En ciertos casos, la afección de un paciente no mejora o no mejora significativamente después de la administración de la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, incluyendo en forma cristalina, y, a discreción del médico, la administración del compuesto se administra opcionalmente de forma crónica, es decir, durante un periodo de tiempo prolongado, que incluye a lo largo de la vida del paciente para mejorar o controlar o limitar de otro modo los síntomas de la enfermedad o afección del paciente.

30 En ciertos casos en los que el estado del paciente mejora o no mejora sustancialmente, a discreción del médico, la administración del principio activo se administra opcionalmente de forma continua; como alternativa, la dosis de fármaco que se administra se reduce opcionalmente temporalmente o se suspende temporalmente durante un cierto periodo de tiempo (es decir, un "descanso del fármaco"). En ciertas realizaciones, la duración del descanso del fármaco varía entre 2 días y 1 año, incluyendo solo a modo de ejemplo, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días, 12 días, 15 días, 20 días, 28 días, 35 días, 50 días, 70 días, 100 días, 120 días, 150 días, 180 días, 200 días, 250 días, 280 días, 300 días, 320 días, 350 días, o 365 días.

35 En ciertas realizaciones, la cantidad de la sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona que corresponde a una cantidad eficaz varía dependiendo de factores tales como el compuesto particular, la enfermedad o afección y su gravedad, la identidad (por ejemplo, peso) del sujeto o huésped que necesita tratamiento. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz se determina, no obstante, de acuerdo con las circunstancias particulares que rodean el caso, incluyendo, por ejemplo, el agente específico que se administra, la vía de administración, la afección que se está tratando, y el sujeto o huésped que se está tratando. En ciertas realizaciones, sin embargo, las dosis empleadas para el tratamiento de seres humanos adultos están en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 8000 µg al día, en una realización específica de aproximadamente 10 a aproximadamente 5000 µg al día. En ciertas realizaciones, la cantidad de sal tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona a administrar está entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 5000 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 1500 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 500 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 250 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 200 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 150 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 100 µg, entre aproximadamente 25 µg y aproximadamente 2500 µg, entre aproximadamente 25 µg y aproximadamente 1000 µg, entre aproximadamente 25 µg y aproximadamente 250 µg, entre aproximadamente 25 µg y aproximadamente 150 µg, o entre aproximadamente 25 µg y aproximadamente 75 µg. En diversas realizaciones, la dosis deseada se presenta convenientemente en una sola dosis o como dosis divididas administradas simultáneamente (o durante un periodo corto de tiempo) o en intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más subdosis al día.

En ciertas realizaciones, las dosificaciones diarias apropiadas para la sal tosiloato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona descritas en el presente documento son de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 200 µg/kg de peso corporal. En ciertas realizaciones, la dosificación diaria es de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 3,0 µg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, una dosificación diaria indicada en el sujeto más grande, incluyendo, pero sin limitación, seres humanos, está en el intervalo de aproximadamente de aproximadamente 25 a aproximadamente 8000 µg, convenientemente administrada en dosis divididas, incluyendo, pero sin limitación, hasta a cuatro veces al día o en forma de liberación prolongada. En ciertas realizaciones, las formas de dosificación unitaria adecuadas para la administración oral comprenden las descritas anteriormente. Los intervalos anteriores son meramente sugerentes, ya que el número de variables con respecto a un régimen de tratamiento individual es grande, y no son infrecuentes desviaciones considerables de estos valores recomendados. En ciertas realizaciones, las dosificaciones se alteran dependiendo de una serie de variables, no limitadas a la actividad del compuesto utilizado, la enfermedad o afección a tratar, el modo de administración, los requisitos del sujeto individual, la gravedad de la enfermedad o afección que se está tratando, y el criterio del médico.

Ejemplos

Métodos y procedimientos. Los reactivos y disolventes usados a continuación se pueden obtener de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wis., EE.UU.). Los análisis químicos de rutina se realizaron usando RMN, MS y HPLC. Los picos de RMN significativos se representan en tablas por desplazamiento químico y se marcan con multiplicidad (s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuadruplete; m, multiplete; s a, singlete ancho) y el número de protones. Los datos de espectrometría de masas se proporcionan en relación con la masa del ión precursor, M. Los datos de HPLC se proporcionan como porcentaje de pureza.

A menos que se indique de otro modo, los patrones XRPD se adquirieron en un difractorómetro Bruker D8 Advance (Bruker AXS Inc., Madison, WI, EE.UU.). Las muestras se aplanaron suavemente sobre un portamuestras de inserción de silicio de fondo cero. Se utilizó un rango de barrido continuo 2θ de 4° a 40° con una fuente de radiación de Cu Kα (λ 1,54056 Å) y una potencia de generador de 40 kV y 40 mA. Se utilizó un tamaño de etapa de 2θ de 0,05 grados/etapa con un tiempo de etapa de 1 segundo/etapa. Los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y a humedad ambiental. El error estándar fue de aproximadamente 0,2 2θ grados de ángulo. La lista completa de picos identificados en el patrón XRPD, o un subconjunto del mismo, puede ser suficiente para caracterizar el polimorfo o polimorfos obtenidos.

A menos que se indique de otro modo, los termogramas DSC se adquirieron usando un calorímetro de barrido diferencial Q2000 de TA Instruments (New Castle, DE, EE.UU.). La muestra se pesó directamente en una bandeja DSC de aluminio. La bandeja se selló aplicando presión a mano y empujando cada parte de la bandeja juntas (también conocida como configuración de tapa suelta). Excepto en lo que se indica más adelante, la temperatura se elevó de 25,00 °C a 400,00 °C a 10,00 °C/minuto. En las figuras de DSC, los eventos exotérmicos se representan en dirección ascendente.

A menos que se indique de otro modo, los termogramas TGA se adquirieron usando un analizador termogravimétrico TA Instruments Q500 (New Castle, DE, EE.UU.). Las muestras se pesaron en la bandeja. Excepto en lo que se indica más adelante, la temperatura se elevó de 25,00 °C a 400,00 °C a 10,00 °C/minuto.

A menos que se indique de otro modo, los DVS se adquirieron usando procedimientos estándar en un modelo DVS ADVANTAGE 1 de Surface Measurement Systems Ltd. (Alperton, Middlesex, Reino Unido). Se realizó una isoterma de desorción por adsorción de humedad como se describe a continuación. El ciclo de isoterma estándar es un ciclo que comienza de un 0 % de HR a un 95 % de HR a intervalos del 5 %, seguido de un secado a un 0 % de HR en intervalos del 5 % de HR.

Síntesis ejemplar de (8S, 9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona

Este ejemplo proporciona un proceso representativo para la preparación de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona de acuerdo con un aspecto de la divulgación. La síntesis se describe en el Esquema A.

Preparación de **b**. A una suspensión de **a** (5 g, 15,5 mmol, 1 equiv.) y 4-fluorobenzaldehído **2** (3,6 g, 29 mmol, 1,87 equiv.) en una mezcla de disolvente THF (30 ml) y MeOH (5 ml) se le añadió gota a gota cloruro de titanio (III) (solución al 20 % p/p en ácido clorhídrico 2 N) (80 ml, 6 equiv.) con agitación a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dejó en agitación a 30-50 °C durante 2 h. Después, la mezcla se diluyó con agua (160 ml), la solución resultante se extrajo con EtOAc (100 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado (50 ml x 3) y NaHSO₃ acuoso (100 ml x 3), se secaron por Na₂SO₄, se concentraron para proporcionar un sólido de color amarillo, y el sólido en bruto se lavó con éter de petróleo (120 ml). Después del secado al vacío, proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (5,9 g, rendimiento: 95 %, Pureza: 97 %). LC-MS (ESI)

m/z: 399 (M+1)⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃-d) δ (ppm): 3,58 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 4,16-4,19 (d, J²=13,2 Hz, 1H), 4,88 (s, 1H), 5,37-5,40 (d, J²=13,2 Hz, 1H), 6,47-6,53 (m, 2H), 6,97-7,01 (m, 2H), 7,37-7,41 (m, 2H), 7,80 (s, 1H).

5 El compuesto **b** también se preparó siguiendo una versión modificada del procedimiento anterior en el que las capas orgánicas combinadas lavadas se concentraron a 1-2 vol, y después se añadieron 6 vol de heptano, tras lo cual se repitió el lavado, la concentración y la adición de heptano. Después, la solución se concentró a 1-2 vol y se añadieron 6 vol de MTBE. Esta mezcla se agitó durante 1 hora y se filtró para dar un sólido de color amarillo claro (92 % de rendimiento, 98 % de pureza).

10 Preparación de **c**. La separación quiral de **b** para obtener **c** se logró mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC). La muestra se preparó usando metanol como disolvente (**b**: 45 mg/ml), se calentó a 40-50 °C y se filtró antes de la inyección. Se empleó una columna CHIRALPAK IC, 250*30 mm (D.l.), y una fase móvil de CO₂/metanol (80/20) con un caudal de 65 g/minuto. La temperatura de la columna se mantuvo a 35 °C. La fracción deseada salió de la columna como el primer pico con un tiempo de retención de 2,3 minutos y otro enantiómero con un tiempo de retención de 4,3 minutos. La detección UV fue a 254 nm. La recuperación de **c** fue de aproximadamente el 92 % con >98 % de e.e.

20 (8S,9R)-5-Fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona. A una solución de **c** en metanol se le añadió hidrazina monohidrato, y la mezcla se agitó a 25 °C durante 10 h. Después, la mezcla se filtró y se secó para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. En ciertos casos en los que, en lugar de usar metanol, se usó acetonitrilo (10 vol) con 3 equivalentes de hidrazina monohidrato, la reacción puso terminar en 5 horas a 35 °C. Los rendimientos fueron de aproximadamente el 77 % al 80 % después de estos procedimientos.

25 Preparación y comparación de las formas de sal y base libre de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-Metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona

30 El siguiente ejemplo proporciona la preparación y la caracterización de los polimorfos de sal y base libre de (8S,9R)-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona. Se ha demostrado que las propiedades de una sal tosílato son superiores a las de otras formas de sal y base libre de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona. Estas propiedades mejoradas incluyen, pero sin limitación, la presencia de una forma monocristalina, no solvatación, alto punto de fusión, no higroscopicidad, y/o estabilidad térmica.

35 Las formas de sal de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona se prepararon tratando el compuesto en una condición dada con un ácido. Las formas de sal, n.º 1-18, se identifican en la **Tabla 1** a continuación, en las que el ácido usado para tratar la (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona se proporcionan en la columna "Ácido", y las condiciones utilizadas durante el tratamiento se proporcionan en la columna "Condición".

40 Los polimorfos de (8S,9R)-5-Fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona de base libre se prepararon a partir de soluciones preparadas con diferentes disolventes. Las caracterizaciones de formas de base libre, n.º 19-24, se resumen en la **Tabla 2** y los párrafos que hacen referencia a la **Tabla 2**.

45 Se emplearon microscopía y otras mediciones de laboratorio estándar para caracterizar formas sólidas, temperaturas de fusión, solvatación y/o hidratación, y otras propiedades fisicoquímicas (incluyendo, pero sin limitación, solubilidad, PKa, y Log P), de las formas de sal y polimorfos de base libre.

50 **TABLA 1:** Formas de sales de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido [4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona

N.º	Ácido	Condición	Producto	Rendimiento, %
1	HCl 2 N en H ₂ O.	MeOH, 2 h, precipitado en CH ₃ CN	Polvo de color blanco	64
2	HCl 3,3 N en THF	THF, disuelto a 60 °C, HCl añadido a 5 °C	Sólido de color amarillo pálido	73
3	Ácido metanosulfónico ("MsOH")	MeOH-CH ₃ CN, 50 °C → 25 °C, 1 h	Sólido de color amarillo	53
4	Ácido toluenosulfónico ^p ("TsOH")	MeOH-CH ₃ CN, 50 °C → 25 °C, 2 h	Polvo de color blanquecino	56

(continuación)

N.º	Ácido	Condición	Producto	Rendimiento, %
5	TsOH	DCM-CH ₃ CN, 40 °C → 25 °C, 1 h	Polvo de color blanquecino	95
6	TsOH	Acetona, 60 °C → 45 °C → 25 °C, 1 h	Polvo de color blanquecino	62
7	TsOH	THF, 60 °C → 45 °C → 25 °C, 30 min	Polvo de color blanquecino	69
8	TsOH	acetona-THF, 60 °C → 25 °C, 0,5 h	polvo de color blanco	93
9	Ácido isetiónico en isopropanol	MeOH-isopropanol, 35 °C, precipitado a través de la adición de agua	No se forma sal	--
10	Ácido isetiónico en etanol (0,62 M)	MeOH, 35 °C, precipitado a través de la adición de agua	No se forma sal	--
11	Ácido isetiónico en etanol (0,62 M)	THF, 40 °C, 10 min	Sólido de color blanco	25
12	Ácido isetiónico en etanol (0,62 M)	THF, 40 °C, 10 min, reposo durante una noche	Sólido de color blanco	98
13	Ácido isetiónico en etanol (0,62 M)	THF (diluir), 60 °C, 10 min, precipitado rápidamente, reposo durante una noche	Sólido de color blanco	80
14	Ácido fumárico	MeOH, 30 °C, 1,5 h	No se forma sal	--
15	Ácido fumárico	THF, 40 °C, 40 min	No se forma sal	--
16	83 % de H ₃ PO ₄	MeOH, 32 °C, 0,5 h, precipitado a través de la adición de agua	Polvo de color blanco	40
17	83 % de H ₃ PO ₄	Acetona, 30-40 °C, 1,5 h, precipitado a través de la adición de agua	Polvo de color blanco	40
18	83 % de H ₃ PO ₄	Acetona-MeOH, 52 °C, 20 min, reposo a t.a. durante una noche, precipitado en Acetona - MeOH		64

TABLA 2: Disolventes en la preparación de polimorfos de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-*il*)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona

N.º	Disolvente	Forma
19	Acetona	Polvo de color blanco
20	Metanol/acetato de etilo	Polvo de color blanco
21	Acetonitrilo	Polvo de color blanco
22	Metanol	Polvo de color blanco
23	Isopropanol	Polvo de color blanquecino
24	DMSO/etanol	Polvo de color blanquecino

5

Sal HCl, **1**: Microscopia: cristalino en gran medida. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 3**), DSC (**Tabla 4**) y TGA (**Tabla 5**) sugieren que esta sal de HCl se encuentra en formas mixtas cristalinas y amorfas y posiblemente solvatadas.

10

TABLA 3: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de **1***

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
6,083	14,5174	76
12,259	7,21408	40,8
18,471	4,79966	22,1
21,609	4,10925	29,1
22,068	4,02473	24,6
22,392	3,96718	23,4
22,952	3,87167	100
25,765	3,45499	29,8

(continuación)

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
26,389	3,37471	27,9

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 20 %

TABLA 4: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de 1

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C			
Inicio, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
40,28	79,83	120	43,97
195,43	216,86	225,21	105,1
248,11	253,55	256,2	35,39

5

TABLA 5: Resultados del análisis termogravimétrico de 1

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C Temperatura de partida = 25,7 °C	
Temperatura, °C	Cambio de peso, %
120	1,45
164	4,068
225	9,125
238	9,214
252	9,265

Sal mesilato, **3**: Microscopía: cristalina y amorfa mixta. Punto de fusión: 179-184 °C mediante el aparato de punto de fusión. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 6**), DSC (**Tabla 7**) y TGA (**Tabla 8**) sugieren que esta sal mesilato está en formas mixtas y posiblemente solvatadas.

10

TABLA 6: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de 3*

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
5,418	16,299	100
10,212	8,65532	20
16,526	5,35996	24
18,641	4,7561	40
19,176	4,62469	25,9
22,486	3,95078	26,9
27,956	3,18897	30,7

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 20 %

TABLA 7: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de 3

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C			
Inicio, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
25,9	66,91	152,71	167
173,02	178,7	186,83	32,12
193,88	205,29	234,02	47,6
240,14	250,24	255,91	34,84

15

TABLA 8: Resultados del análisis termogravimétrico de 3

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C Temperatura de partida = 25,64 °C	
Temperatura, °C	Cambio de peso, %
120	2,33
152	2,584
178	2,829
Temperatura, °C	Cambio de peso, %
205	3,42

(continuación)

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C Temperatura de partida = 25,64 °C	
250	5,193

5 Sal tosilato, 4, de metanol-acetonitrilo: Se disolvió (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (190 mg, 0,5 mmol) en MeOH (2 ml) y CH₃CN (2 ml) a 50 °C. A continuación, se añadió TsOH (190 mg, 1 mmol), disuelto en una mezcla de MeOH (2 ml) y CH₃CN (2 ml). Después de 30 segundos, un sólido de color blanco precipitó en la solución, y la solución se dejó enfriar a 25 °C. La agitación continuó a 25 °C durante aproximadamente 2 h. El sólido de color blanco se recogió por filtración, se lavó con CH₃CN (2 ml), y se secó al vacío a 45 °C durante 3 días. Se elaboraron tres preparaciones con rendimientos del 47 %, 56 % y del 56 %, con resultados similares según lo determinado por microscopía, XRPD, DSC y TGA

10 (aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C). Los resultados proporcionados en el presente documento son de una de estas preparaciones. Microscopía: cristalina. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 9**) y DSC (**Tabla 10**) sugieren que esta sal tosilato es sustancialmente una forma monocristalina.

TABLA 9: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de 4*

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
7,420	11,90485	100,0
15,007	5,89882	12,1
17,702	5,00619	10,4
18,011	4,92105	16,8
18,466	4,80095	8,2
18,980	4,67196	9,3
19,981	4,44018	37,8
20,328	4,36515	20,8
21,408	4,14726	10,6
22,580	3,93464	18,0
23,952	3,71229	23,2
24,755	3,59370	13,0

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 8 %

15

TABLA 10: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de 4

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C			
Inicio de endoterminia, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
332,22	333,93	340,84	155,2

20

Sal tosilato, 5, de diclorometano-acetonitrilo: Se suspendió (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (120 mg, 0,316 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) y CH₃CN (5 ml) a 40 °C, después se añadió TsOH (66 mg, 0,348 mmol), después de la adición, la solución estaba transparente. Después de 5 segundos, un sólido de color blanco se precipitó en la solución, continuó en agitación a 25 °C durante 1 h, se filtró para obtener el sólido cristalino de color blanco, el sólido se lavó con CH₃CN (2 ml), y se secó al vacío a 45 °C durante 3 días. Microscopía: Birrefringente, cristalina. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 11**), DSC (**Tabla 12a** y la **figura 3a**), y TGA (**Tabla 12b** y la **figura 3b**) sugieren que esta sal tosilato es sustancialmente

25 una forma monocristalina.

TABLA 11: Difracción de rayos X: Picos seleccionados de 5*

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
7,417	11,90865	100
15,021	5,89335	13,8
17,375	5,09992	10,3
17,739	4,99597	13,4
18,034	4,91502	23,1
18,54	4,78195	10,4
19,021	4,66202	11,8
20,075	4,41956	65,7

(continuación)

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
20,394	4,35116	28,4
21,436	4,14198	17,5
22,629	3,92624	20,6
23,999	3,70513	30,6
24,826	3,58348	15,4

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 10 %

TABLA 12a: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de **5**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C			
Inicio de endoterminia, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
331,72	333,5	340,46	134,6

5

TABLA 12b: Resultados de TGA de **5**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C				
Inicio, °C	Inicio, %	Parada, °C	Parada, %	% de cambio en peso
25,13	100,2	120	100,2	0,1231
25,13	100,2	250	100,2	0,2894
25,13	100,2	340,46	100,2	43,54

Sal tosilato, **6**, de acetona: Se suspendió (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (120 mg, 0,316 mmol) en acetona (15 ml) a 25 °C. Después del calentamiento a 60 °C, la mezcla se volvió transparente y la temperatura se redujo a 45 °C. Después, se añadió TsOH (70 mg, 0,35 mmol), y después de 30 segundos, un sólido de color blanco precipitó en la solución que se dejó enfriar a 25 °C. La agitación se continuó a 25 °C durante 1 h. El sólido cristalino de color blanco se recogió por filtración, se lavó con acetona (8 ml), y se secó al vacío a 45 °C durante 3 días. Microscopia: Birrefringente, cristalina. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 13**), DSC (**Tabla 14a** y la **figura 4a**), y TGA (**Tabla 14b** y la **figura 4b**) sugieren que esta sal tosilato es sustancialmente una forma monocristalina.

15

TABLA 13: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de **6***

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
7,461	11,83921	100
12,474	7,09046	10,2
14,447	6,12594	23,7
15,092	5,86557	27,3
17,4	5,09252	19,6
17,741	4,99533	17,9
18,11	4,89433	29,4
18,529	4,78464	15,8
19,045	4,65619	22,1
20,092	4,41595	100
20,425	4,34457	38,1
21,464	4,13667	22,7
21,772	4,0787	22,4
22,626	3,92672	22,4
23,101	3,84709	12,9
24,03	3,70042	78,7
24,851	3,5799	17,2
26,96	3,30456	12
29,82	2,99375	13,6
31,304	2,85511	10,5

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 10 %

TABLA 14a: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de **6**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C			
Inicio de endotermita, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
327,04	329,59	338,56	141,6

TABLA 14b: Resultados de TGA de **6**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C				
Inicio, °C	Inicio, %	Parada, °C	Parada, %	% de cambio en peso
25,2	100,1	120	100,1	0,0388
25,2	100,1	250	100,1	0,5425
25,2	100,1	338,56	100,1	24,56

- 5 Sal tosilato, 7, de THF: Se suspendió (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (120 mg, 0,316 mmol) en THF (6 ml) a 25 °C. Después del calentamiento a reflujo, la mezcla se volvió transparente y la temperatura se redujo a 45 °C. Después, se añadió TsOH (66 mg, 0,35 mmol), y después de 1,5 min, un sólido de color blanco precipitó en la solución que se dejó enfriar a 25 °C. La agitación se continuó a 25 °C durante 30 min. El sólido cristalino de color blanco se recogió por filtración, se lavó con CH₂Cl₂ (10 ml), y se secó al vacío a 45 °C durante 3 días. Microscopía: Birrefringente, cristalina. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 15**), DSC (**Tabla 16a** y la **figura 5a**), y TGA (**Tabla 16b** y la **figura 5b**) sugieren que esta sal tosilato es sustancialmente una forma monocristalina.

TABLA 15: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de **7***

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
7,49	11,79319	77,3
12,501	7,07487	10,2
14,435	6,13139	23
15,097	5,86364	22,7
17,375	5,09982	19,4
17,782	4,98388	15,7
18,095	4,89857	24,6
18,493	4,79388	13,6
19,079	4,64788	20,2
20,059	4,42307	100
20,397	4,35056	33,4
21,491	4,13147	21,8
21,763	4,08054	20,5
22,61	3,92944	20,3
23,054	3,85486	12,1
24,005	3,7041	71
24,839	3,5816	15,3
26,934	3,30766	10,7
29,822	2,99352	11,6

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 10 %

15

TABLA 16a: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de **7**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C			
Inicio de endotermita, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
319,51	321,73	334,02	131,2

TABLA 16b: Resultados de TGA de **7**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C				
Inicio, °C	Inicio, %	Parada, °C	Parada, %	% de cambio en peso
25,5	100	120	100	0,2109
25,5	100	250	100	2,552

(continuación)

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C				
Inicio, °C	Inicio, %	Parada, °C	Parada, %	% de cambio en peso
25,5	100	334	100	26,55

- 5 **Sal tosilato, 8, de acetona-THF:** Se suspendió (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (400 mg, 1,05 mmol) en una mezcla de acetona (27 ml) y THF (13 ml) a 25 °C, después del calentamiento a reflujo, la mezcla de reacción se volvió transparente. A continuación, se añadió TsOH (220 mg, 1,16 mmol), después de 30 segundos, un sólido de color blanco se precipitó en la solución, continuó en agitación a 25 °C durante 30 min, se filtró para obtener el sólido cristalino de color blanco, que se lavó con una mezcla de acetona (10 ml) y 1,4-dioxano (4 ml), y se secó al vacío a 45 °C durante 3 días. Microscopía: Birrefringente, cristalina. Resultados basados en microscopía, XRPD (**Tabla 17** y la **figura 8**), DSC (**Tabla 18a** y la **figura 2a**), y TGA (**Tabla 18b** y la **figura 2b**) sugieren que esta sal tosilato es sustancialmente una forma monocristalina. Se realizó un DVA en este polimorfo y mostró una ganancia en peso del 0,1574 % del 0 %-95 % de HR (**figura 8**).

TABLA 17: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de **8***

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
		100
12,509	7,07056	2,7
14,478	6,11288	2,5
15,119	5,85526	6,9
17,381	5,09812	3
17,782	4,98407	7,3
18,172	4,87778	11,5
18,584	4,77078	4,2
19,114	4,63967	4,6
20,087	4,41697	15,5
20,538	4,32097	12,3
21,538	4,12263	4,8
21,862	4,06217	2,7
22,649	3,92287	16,3
23,194	3,83181	2,4
24,077	3,69326	8,7
24,864	3,57812	7,6
26,984	3,30157	5
29,974	2,97873	3,4
30,443	2,93386	2,2
30,844	2,89668	2,3
32,065	2,7891	3,5
32,49	2,75357	2,2
37,563	2,39253	2,2

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 2 %

15

TABLA 18a: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de **8**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C			
Inicio de endotermia, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
330,73	333,43	334,1	252,6

TABLA 18b: Resultados de TGA de **8**

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C				
Inicio, °C	Inicio, %	Parada, °C	Parada, %	% de cambio en peso
24,9	99,81	120	99,81	0,06696
24,9	99,81	274,33	99,81	2,071

(continuación)

Aumento de 10,00 °C/min a 400,00 °C				
Inicio, °C	Inicio, %	Parada, °C	Parada, °C	% de cambio en peso
24,9	99,81	320	99,81	19,97
24,9	99,81	335	99,81	34,56
24,9	99,81	363,03	99,81	50,39
24,9	99,81	394,92	99,81	54,39

Los picos XRPD de preparaciones de las formas de sal tosilato cristalinas **4, 5, 6, 7, y 8** son similares. La superposición de gráficos XRPD para **5, 6, 7, y 8** se muestra en la **figura 1**. Cada forma de sal tosilato **4, 5, 6, 7, y 8** tenía un pico endotérmico único por encima de 300 °C como se determina por DSC, mientras que otras formas de sal y base libre tenían picos endotérmicos muy por debajo de 300 °C. Estos resultados indican que existe un polimorfo relativamente estable individual para la sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona.

Sal isetiónica, 11, 12 y 13, de THF: Microscopía: cristalina. Los resultados de DSC no son consistentes entre **11, 12 y 13**, aunque las tres preparaciones tenían al menos 2, a veces 3, picos endotérmicos, incluido un pico endotérmico amplio por debajo de 150 °C y una endoterma brusca en la proximidad de 272 °C a 282 °C. A diferencia de las sales tosilato descritas anteriormente, que no mostraron ningún cambio de peso por debajo de 200 °C por TGA, la sal isetiónica **11** tuvo una pérdida de peso del 5,72 % a 134,8 °C y la sal isetiónica **12** mostró una pérdida de peso del 7,034 % a 139,06 °C. Los resultados obtenidos con las sales isetiónicas sugieren que esta forma de sal existe en más de una forma.

Sal fosfato, 16, 17 y 18: Los resultados de microscopía, XRPD y DSC fueron consistentes con la presencia de formas cristalinas y amorfas mixtas en cada una de las tres preparaciones de sal fosfato.

Base libre, 19, de acetona: Los resultados de microscopía, XRPD y DSC fueron consistentes con una mezcla de formas.

TABLA 19: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de la base libre **19***

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
5,128	17,21795	62,4
8,987	9,83224	100
10,383	8,5132	39,2
20,388	4,3525	30
22,851	3,88849	48,2

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 30 %

25

TABLA 20: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de base libre **19**

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C			
Inicio, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
26,5	67,29	120	71,07
164,92	171,21	174,32	4,897
176,16	180,39*	185,4	20,58
251,82	255,36	258,76	50,61

* Exotermia

TABLA 21: Resultados del análisis termogravimétrico de la base libre **19**

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C Temperatura de partida = 25,64 °C	
Temperatura, °C	Cambio de peso, %
120	1,054
161	4,256
174	5,977
185	7,82
238	8,874

Base libre, 20, de MeOH/EtOAc: La microscopía mostró una forma cristalina birrefringente; los resultados de XRPD y

DSC fueron consistentes con una mezcla de formas.

TABLA 22: Difracción de polvo de rayos X: Picos seleccionados de la base libre 20*

Ángulo, °2θ	valor d, Å	Intensidad relativa, %
5,181	17,04465	83,7
9,021	9,79532	100
10,427	8,47684	23,3
18,855	4,70265	43,9
22,836	3,89114	43,3

* No se informan picos con intensidad relativa de menos del 14 %

5

TABLA 23: Resultados de la calorimetría diferencial de barrido de base libre 20

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C			
Inicio, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
37,21	76,28	111,48	104,2
163,49	170,11	174,03	2,886
Inicio, °C	Máximo, °C	Parada, °C	Área, J/g
177,94	181,36*	189,67	23,47
249,57	253,69	256,48	52,94

* Exotermia

TABLA 24: Resultados del análisis termogravimétrico de la base libre 20

Aumento de 10,00 °C/min a 300,00 °C Temperatura de partida = 25,64 °C	
Temperatura, °C	Cambio de peso, %
120	1,926
174,03	3,167
189,67	3,234
256,48	3,448

10 Forma de base libre 21, de acetonitrilo: Se observó una mezcla de formas cristalinas y amorfas. DSC: endotermia amplia con máxima cercana a 133,05 °C, exotermia máxima cercana a 209,21 °C y endotermia brusca con máxima a 253,85 °C. TGA: La pérdida de peso, a 142,46 °C fue del 3,7 %, y a 256,48 °C fue del 4,259 %. Los valores d en angstroms (Å) para los picos, superiores al 19 % de intensidad relativa, resueltos por XRPD fueron los siguientes: 16,58486; 11,49904; 6,33021; y 6,01178.

15 Forma de base libre 22, de metanol: Se observó una mezcla de formas cristalina y amorfa con propiedades similares a las de la forma de base libre 20.

Forma de base libre 23, de isopropanol: El material producido era amorfo.

20 Forma de base libre 24, de DMS/etanol: Se observó una mezcla de formas cristalinas y amorfas. DSC: picos de endotermia: 52,20 °C_{máx} (12,54 J/g); 202,63 °C_{máx} (120,9 J/g); 249,34 °C_{máx} (40,65 J/g). TGA: ambiente a 120 °C, 0,9388 % de pérdida de peso; a 223,8 °C, 17,47 % de pérdida de peso.

25 Estos resultados demuestran que las formas cristalinas de la base libre de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona se pueden preparar a partir de ciertos disolventes, sin embargo, se encontró que estas preparaciones no eran formas monocristalinas que tuvieran una estabilidad equivalente a la de una forma de sal tosilato cristalina proporcionada en el presente documento.

30 Preparación ejemplar de sal tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona

Lo siguiente ilustra un proceso adecuado para la producción a gran escala de GMP de la sal mono-tosilato de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona como una forma monocristalina.

35

Variación 1: A una solución de (8S,9R)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2H-pirido[4,3,2-de]ftalazin-3(7H)-ona (12,4 g) en THF (40 vol) se le añadió lentamente una solución de TsOH (1,05 equiv.) en THF (5 vol) a 50 °C~54 °C. La mezcla se agitó durante 30 minutos más a esta temperatura. Después, la

mezcla se concentró a 3~5 vol por destilación a 30 °C-40 °C a presión reducida (vacío: -0,07 MPa~-0,08 MPa). Se consiguió una mayor eliminación del disolvente THF añadiendo acetona (20 vol) y después por destilación hasta 3~5 vol a presión reducida, que se repitió tres veces. La mezcla se enfrió a 5 °C y se filtró bajo protección de nitrógeno. El sólido se secó a 60 °C durante 17 horas. Dio el compuesto del título en forma de un sólido cristalino de color blanco (16,0 g, 89 % de rendimiento). LC-MS (ESI) m/z: 381 (M+1)⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,29 (s, 3H), 3,67 (s, 3H), 4,97-5,06 (m, 2H), 6,91-6,94 (dd, J¹=2, J²=10,8 Hz, 1H), 7,06-7,19 (m, 5H), 7,19-7,51 (m, 4H), 7,74 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 10,32 (s a, 1H), 12,36 (s, 1H).

Variación 2: A una solución de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona (0,24 kg) en THF (40 vol) se le añadió lentamente una solución de TsOH (1,05 equiv.) en THF (5 vol) a 50 °C~54 °C. La mezcla se agitó durante 30 minutos más a esta temperatura. Después, la mezcla se concentró a 3~5 vol por destilación a 30 °C-40 °C a presión reducida (vacío: -0,07 MPa~-0,08 MPa). Se consiguió una mayor eliminación del disolvente THF añadiendo acetona (20 vol) y después por destilación hasta 3~5 vol a presión reducida, que se repitió tres veces. Después de la eliminación del disolvente THF y la destilación, la mezcla se suspendió de nuevo con 12 vol de acetona durante 14-15 horas a 50 °C~54 °C. Después, la mezcla se enfrió a 5 °C y se filtró bajo protección de nitrógeno. El sólido se secó a 60 °C durante 17 horas. Dio el compuesto del título en forma de un sólido cristalino de color blanco (0,31 kg, 91,7 % de rendimiento, 99,65 % de pureza).

Cuando se sometió a ¹H-RMN, la relación de integración uno a uno de N-metilo a 3,67 ppm de la base libre y el metilo a 2,29 ppm de ácido toluenosulfónico sugiere una formación de sal mono-tosilato.

Cuando se sometió a DVS a 25 °C, la sal de tosilato producida mediante el uso de las etapas descritas en la Variación 2 mostró una ganancia de peso insignificante (menos del 1 %) de la sal de tosilato ya que la humedad aumentó del 0 % al 95 %, lo que sugiere que no es higroscópica. (Véase la **Tabla 29**).

El patrón XRPD en la figura 6 se recogió con un difractómetro PANalytical X'Pert PRO MPD PW3040 usando un haz incidente de radiación de Cu producido usando una fuente de enfoque fino y largo Optix. Se utilizó un espejo multicapa graduado elípticamente para enfocar los rayos X de Cu K α (1,54059 Å) a través del espécimen y sobre el detector. Antes del análisis, se analizó un espécimen de silicio (NIST SRM 640d) para verificar que la posición observada del pico de Si 111 es consistente con la posición certificada por NIST. Se intercaló un espécimen de la muestra entre películas de 3 μ m de espesor y se analizó en geometría de transmisión. Para minimizar el fondo generado por el aire, se utilizó un filo de cuchillo antidispersión con parada de haz, de extensión corta y antidispersión. Se utilizaron rendijas de Soler (0,02 \times 0,02 radianes) para los haces incidente y difractado para minimizar el ensanchamiento de la divergencia axial. Los patrones de difracción se recogieron utilizando un detector sensible a la posición de exploración (X'Celerator) ubicado a 240 mm del espécimen y el software Data Collector v. 2.2b. Los parámetros de adquisición de datos de XRPD son: modo de transmisión, ajustes del tubo de rayos X de 45 kV y 40 mA, rango de exploración de 1,00-39,99 °2 θ , tamaño de etapa de 0,017 °2 θ , 1939 segundos de tiempo de recolección, 1,2°/minuto de velocidad de exploración, 1/2° de rendija de divergencia, y tiempo de revolución de la muestra de 1,0 segundo. La lista completa de picos identificados en el patrón XRPD, o un subconjunto del mismo, puede ser suficiente para caracterizar el polimorfo o polimorfos obtenidos. Los resultados proporcionados para XRPD (**Tabla 25**) son para una sal tosilato preparada usando las etapas descritas en la Variación 2. Los datos en la **Tabla 25** son del espectrograma XRPD proporcionado en la **figura 6**.

Se realizaron análisis DSC en las sales de tosilato preparadas usando la variación 1 y la variación 2 anteriores y se observaron resultados similares.

Se adquirió un termograma DSC para la sal de tosilato preparado usando las etapas descritas en la Variación 2 usando un calorímetro de barrido diferencial 1 Mettler Toledo. La temperatura se elevó de 25 °C a 400 °C a 10 °C/minuto. En la figura de DSC, los eventos exotérmicos se representan en dirección ascendente. Los datos de la **Tabla 26** son del gráfico DSC proporcionado en la **figura 7a**. El termograma muestra un inicio de fusión muy brusco, y una exotermia después de completarse la fusión indica que la fusión se produce con descomposición. El valor inicial plano antes de alcanzar el inicio de la fusión indica que no hay transiciones térmicas antes de la fusión, lo que sugiere que no hay formación de solvatos ni transformación de una forma cristalina a otra.

Se adquirió un termograma TGA para la sal tosilato preparada usando las etapas descritas en la Variación 2 usando un analizador termogravimétrico/calorímetro de barrido diferencial Mettler Toledo 1. La temperatura se elevó de 25 °C a 400 °C a 10 °C/minuto. El gráfico TGA se muestra en la **figura 7b**. La traza muestra un valor inicial estable hasta el inicio de la fusión y la descomposición. Esto indica que hay poco o ningún disolvente residual o agua absorbida presente en el producto cristalino, y que el producto es estable al calor, antes del inicio de la descomposición en el punto de fusión.

El espectro de RMN de giro del ángulo mágico de polarización cruzada (CP/MAS) ¹³C en estado sólido para la sal tosilato preparada usando las etapas descritas en la Variación 2 se adquirió a 25 °C en un espectrómetro Varian UNITY/NOVA-400 (frecuencias de Larmor: ¹³C = 100,543 MHz, ¹H = 399,787 MHz). La muestra se empaquetó en un rotor de circonio tipo PENCIL de 4 mm y se hizo girar a 12 kHz en el ángulo mágico. El espectro se adquirió con desacoplamiento de ¹H de alta potencia SPINAL-64 modulado en fase durante el tiempo de adquisición utilizando un

ancho de pulso de ^1H de 2,6 μs (90°), un tiempo de contacto de polarización cruzada de amplitud en aumento de 5 ms, un tiempo de adquisición de 30 ms, un retardo de 20 segundos entre exploraciones, un ancho espectral de ~ 45 kHz con 2799 puntos de datos, y 400 exploraciones añadidas conjuntamente. El decaimiento de inducción libre (FID) se procesó utilizando el software Varian/Agilent VNMR 6.1C con 65536 puntos y un factor de ensanchamiento de línea exponencial de 10 Hz para mejorar la relación señal-ruido. Los primeros tres puntos de datos del FID se predijeron utilizando el algoritmo de predicción lineal VNMR para producir un valor inicial plano. Los desplazamientos químicos de los picos espectrales se referenciaron externamente a la resonancia de carbonil carbono de la glicina a 176,5 ppm. La lista completa de picos identificados en el espectro de ^{13}C RMN, o un subconjunto de los mismos, puede ser suficiente para caracterizar el polimorfo o polimorfos obtenidos. Los datos de la Tabla 28 son del espectro proporcionado en la **figura 12**.

TABLA 25: XRPD: Picos seleccionados de sal tosilato preparada a partir de un proceso a gran escala*

Ángulo, $^\circ 2\theta$ ($\pm 0,2$ 2 θ)	valor d, Å	Intensidad relativa, %
7,22	12,242 \pm 0,348	6
7,51	11,780 \pm 0,322	46
9,49	9,316 \pm 0,200	2
11,27	7,855 \pm 0,142	2
12,35	7,166 \pm 0,117	8
12,52	7,071 \pm 0,114	7
13,82	6,407 \pm 0,094	1
14,47	6,120 \pm 0,085	18
15,14	5,851 \pm 0,078	15
17,41	5,092 \pm 0,059	9
17,62	5,035 \pm 0,057	3
17,78	4,988 \pm 0,056	5
18,12	4,897 \pm 0,054	10
18,53	4,787 \pm 0,052	6
19,07	4,654 \pm 0,049	9
20,09	4,420 \pm 0,044	100
20,46	4,342 \pm 0,042	13
21,48	4,138 \pm 0,038	17
21,81	4,075 \pm 0,037	12
22,26	3,994 \pm 0,036	6
22,65	3,927 \pm 0,035	5
23,10	3,851 \pm 0,033	8
24,05	3,701 \pm 0,031	53
24,25	3,670 \pm 0,030	6
24,83	3,585 \pm 0,029	6
25,25	3,527 \pm 0,028	5
26,37	3,380 \pm 0,025	2
26,77	3,330 \pm 0,025	2
26,96	3,308 \pm 0,024	3
27,84	3,204 \pm 0,023	3
28,64	3,116 \pm 0,021	1
28,78	3,102 \pm 0,021	2
29,18	3,061 \pm 0,021	1
29,81	2,997 \pm 0,020	8

TABLA 26: Resultados de DSC de la sal tosilato preparada a partir de un proceso a gran escala

Aumento a 10,00 $^\circ\text{C}/\text{min}$ de 25,00 a 400,00 $^\circ\text{C}$			
Inicio de endotermy, $^\circ\text{C}$	Máximo, $^\circ\text{C}$	Parada, $^\circ\text{C}$	Área, J/g
331,41	334,54	337,78	-184,73

TABLA 28: Resultados de la ^{13}C RMN en estado sólido de la sal tosilato preparada a partir de un proceso a gran

escala	
PPM	Altura
166,911	32,9
164,316	60,5
162,171	30,3
160,573	76,8
151,804	81,5
149,359	71,3
143,198	54,1
140,166	143,0
139,142	122,0
135,959	110,3
131,752	85,5
129,361	83,6
128,597	93,3
127,736	140,3
123,857	128,3
116,822	56,8
115,142	62,6
112,219	80,5
105,212	68,7
100,335	61,4
58,483	68,6
45,288	90,8
37,379	102,1
23,911	123,0

TABLA 29: Resultados de la isoterma DVS de la sal tosilito preparada a partir de un proceso a gran escala

% de P/Po diana	Cambio en la masa (%)		
	Sorción	Desorción	Histéresis
0,0	0,0002	-0,0015	
5,0	0,0214	0,0203	-0,0011
10,0	0,0301	0,0326	0,0025
15,0	0,0375	0,0421	0,0045
20,0	0,0529	0,0513	-0,0016
25,0	0,0617	0,0649	0,0033
30,0	0,0698	0,0791	0,0092
35,0	0,0812	0,0947	0,0134
40,0	0,1043	0,1084	0,0042
45,0	0,1233	0,1266	0,0033
50,0	0,1451	0,1456	0,0005
55,0	0,1641	0,1668	0,0027
60,0	0,1842	0,1895	0,0053
65,0	0,2127	0,2192	0,0065
70,0	0,2450	0,2535	0,0085
75,0	0,2798	0,2919	0,0121
80,0	0,3253	0,3402	0,0149
85,0	0,3922	0,4113	0,0190
90,0	0,4983	0,5230	0,0247
95,0	0,7473	0,7473	

Ejemplos biológicos**Ejemplo 1: Ensayo de citotoxicidad de agente único en línea celular de linfoma de células del manto**

- 5 Se cultivó la línea celular de linfoma de células del manto Granta-519 en MEM de Dulbecco (4,5 g/l de glucosa) que contenía FBS al 10 %, L-glutamina 2 mM, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina. La línea celular de linfoma de células del manto Jeko-1 se cultivó en RPMI1640 que contenía FBS al 10 %, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina. La línea celular de linfoma de células del manto Z138 se cultivó en IMDM que contenía suero de caballo al 10 %, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina. Todas las líneas celulares se mantuvieron en una incubadora a 37 °C con CO₂ al 5 % hasta que estuvieron listas para el ensayo. Se sembraron células Granta-519, Jeko-1 y Z138 a 1000 o 5000 células/pocillo en placas de 96 pocillos. Las células se incubaron durante una noche a 37 °C antes de tratarlas con su correspondiente medio de crecimiento que contenía base libre en DMSO al 0,1 % a diversas concentraciones que variaban de 1000 nM a 0,32 nM. Se usó DMSO al 0,1 % como tratamiento simulado o control. Después de 4 días de incubación, se midió la supervivencia celular mediante CellTiter Glo (Promega) y se calculó la fracción de supervivencia celular con respecto al control. Se usó el software GraphPad Prism5 para representar los datos y calcular los valores de CI₅₀. Véanse las **figuras 10a** y **10b**.

Tabla 28: CI₅₀ (nM) para ensayos de 4 días

Densidad celular	Jeko-1	Granta-519	Z-138
5000/pocillo	356,96	8,83	59,40
1000/pocillo	64,20	1,70	10,43

Ejemplo 2: Ensayo de citotoxicidad de agente único en líneas celulares de tumor de cabeza y cuello

- Se cultivaron células HSC-3 y HSC-4 de carcinoma escamoso oral en MEM + FBS al 10 %. Se cultivó CAL 27 de carcinoma escamoso oral en DMEM + FBS al 10 %. Se cultivó la línea de células escamosas basaloideas PE/CA-PJ34 (clon 12) en IMDM + FBS al 10 %. Todas las líneas celulares se mantuvieron en sus correspondientes medios de crecimiento que contenían 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina en una incubadora a 37 °C con CO₂ al 5 % hasta que estuvieron listas para el ensayo. De acuerdo con la velocidad de crecimiento de la línea celular individual, las células se sembraron a diferentes densidades como se indica en cada gráfico en placas de 96 pocillos en el momento del ensayo. Las células se incubaron durante una noche a 37 °C antes de tratarlas con su correspondiente medio de crecimiento que contenía base libre en DMSO al 0,1 % a diversas concentraciones que variaban de 5000 nM a 0,064 nM. Se usó DMSO al 0,1 % como tratamiento simulado o control. El medio y el compuesto se repusieron cada 5 días. Después de la incubación durante 7, 10, 11 o 13 días (como se indica en cada gráfico), se midió la supervivencia celular mediante CellTiter Glo (Promega) y se calculó la fracción de supervivencia celular con respecto al control. Se usó el software GraphPad Prism5 para representar los datos y calcular los valores de CI₅₀. Véanse las **figuras 11a** y **11b**.

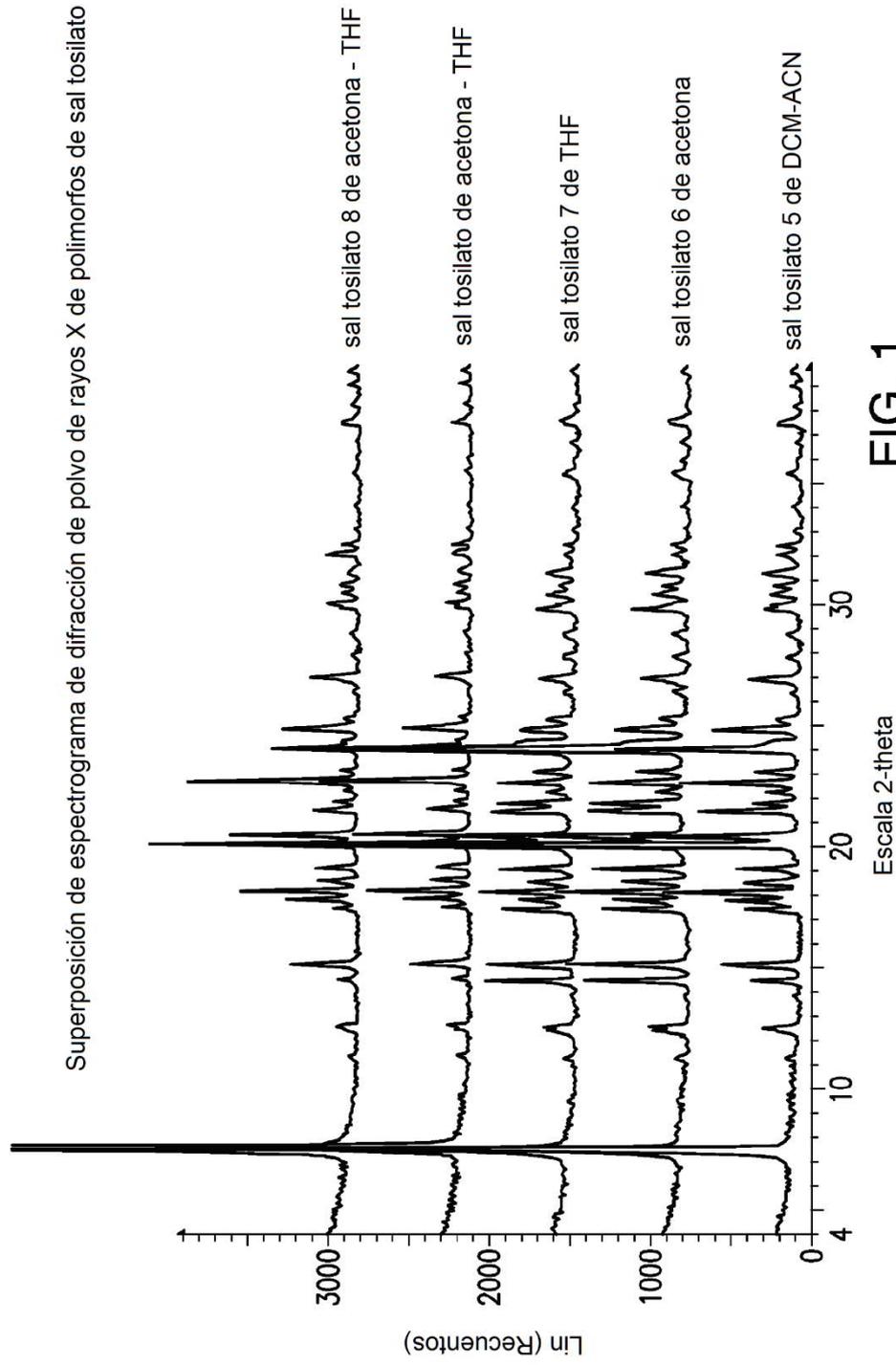
Tabla 29: CI₅₀ (nM)

Línea celular	Días	Densidad celular	CI ₅₀
HSC-4	7	100/pocillo	58
	11	200/pocillo	48,8
CAL27	7	800/pocillo	23
	11	400/pocillo	15,3
PE/CA-PJ34 C12	13	1000/pocillo	18,1
	10	2000/pocillo	13,6
HSC-3	7	1500/pocillo	972
	11	750/pocillo	931

- Se espera que a los expertos en la técnica se les ocurran modificaciones y variaciones en la materia objeto expuesta en los ejemplos ilustrativos anteriores. Solo las limitaciones que aparecen en las reivindicaciones adjuntas deben imponerse a cualquier invención reivindicada.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una sal mono-tosilato de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, en la que la sal está en una forma cristalina sustancialmente pura, y en la que la sal presenta un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende al menos tres picos a 2θ grados de ángulo ± 0,2 2θ grados de ángulo seleccionados del grupo que consiste en 7,5, 15,1, 18,1, 20,1, 20,5, 22,6, y 24,1, y en la que sustancialmente pura significa que la sal contiene menos del 10 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.
- 10 2. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la sal presenta un espectro de ¹³C RMN en estado sólido con picos a 143,2, 136,0, 131,8, 123,9, 112,2, 105,2, y 100,3 ppm ± 0,2 ppm.
- 15 3. La sal de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que la forma cristalina tiene una pureza de al menos aproximadamente el 99,5 %.
- 20 4. La sal de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la forma cristalina está sustancialmente libre de una forma amorfa de (8*S*,9*R*)-5-fluoro-8-(4-fluorofenil)-9-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-il)-8,9-dihidro-2*H*-pirido[4,3,2-*de*]ftalazin-3(7*H*)-ona, o una sal o solvato de la misma.
- 25 5. Una composición farmacéutica que comprende una sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 30 6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la composición se formula para administración oral a un sujeto.
- 35 7. La sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 5 o 6 para su uso en un método para tratar un cáncer, o un síntoma del mismo.
- 40 8. La sal o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la sal se prepara para su administración en una cantidad de dosificación de aproximadamente 0,3 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 3,0 µg/kg de peso corporal al día.
- 45 9. La sal o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en la que el cáncer es cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello del útero, cáncer de colon, cáncer colorrectal, linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, cáncer gástrico VEB+, cáncer de endometrio, tumor estromal gastrointestinal, glioblastoma, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma hepatocelular, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, linfoma, meduloblastoma, melanoma, meningioma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer renal, carcinoma de pulmón microcítico, cáncer de tiroides, o cáncer de útero.
- 50 10. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en la que sustancialmente pura significa que contiene menos del 5 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.
11. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en la que sustancialmente pura significa que contiene menos del 3 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.
12. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en la que sustancialmente pura significa que contiene menos del 1 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.
13. La sal de acuerdo con la reivindicación 1, en la que sustancialmente pura significa que contiene menos del 0,5 % en peso de una o más formas cristalinas diferentes.



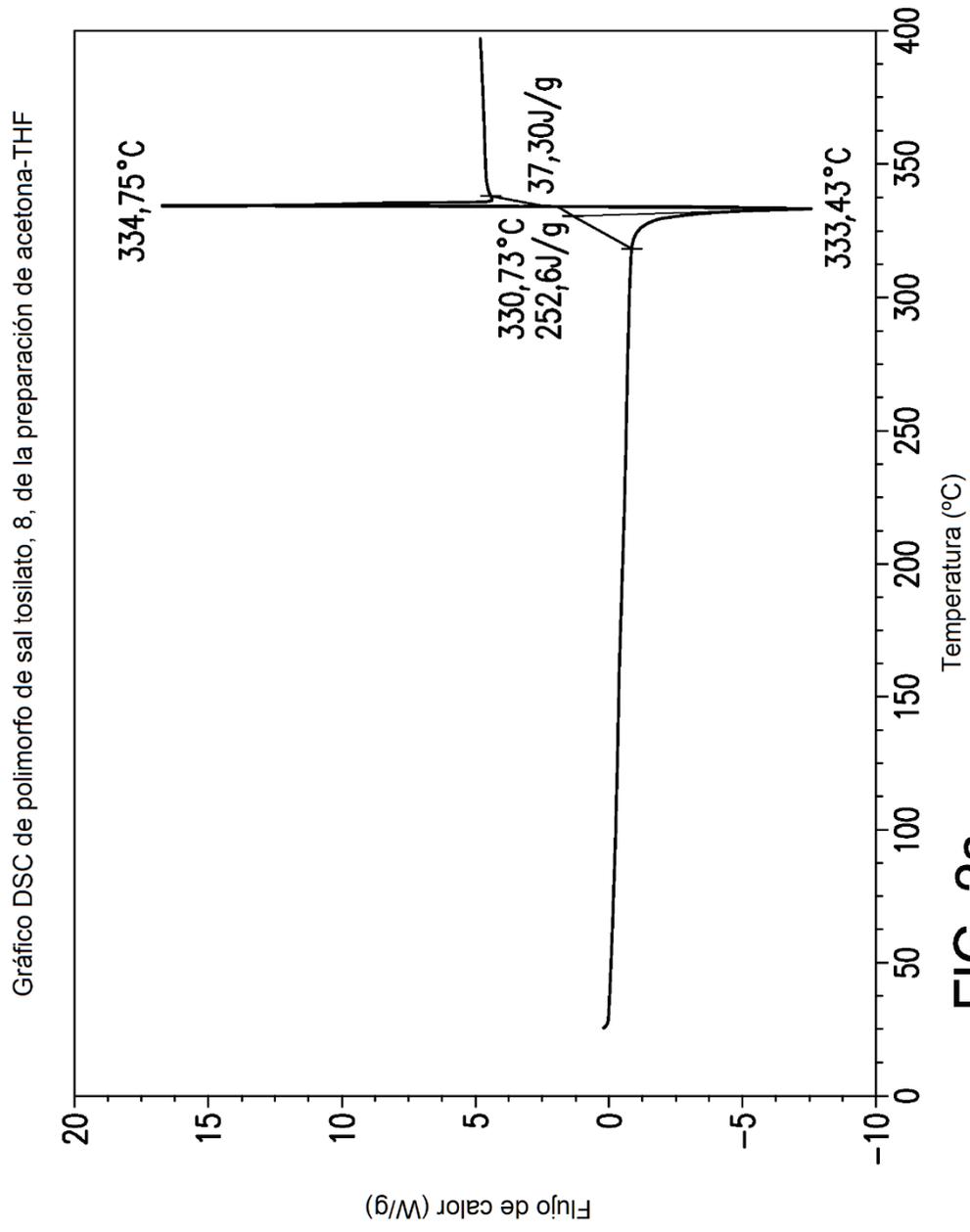


FIG. 2a

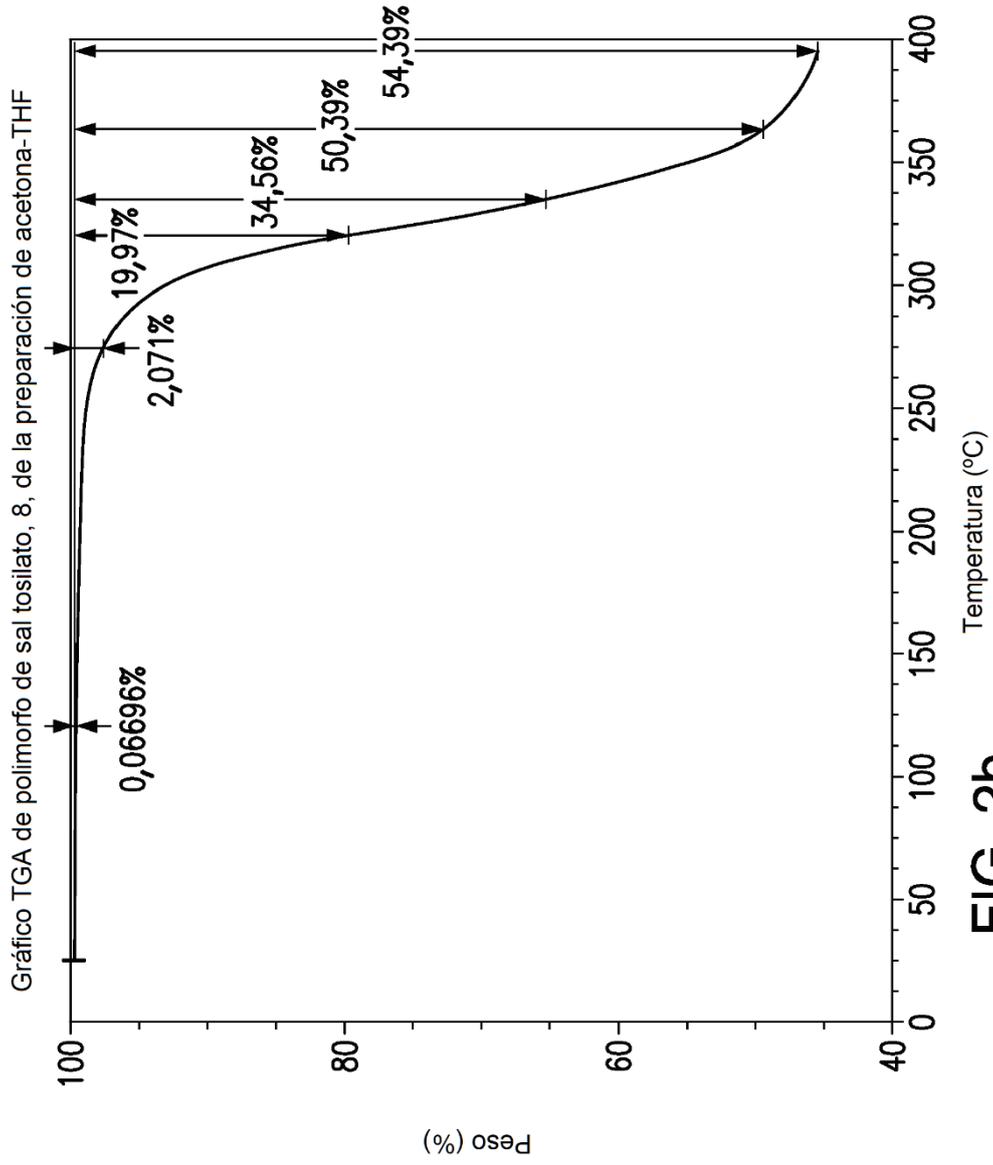


FIG. 2b

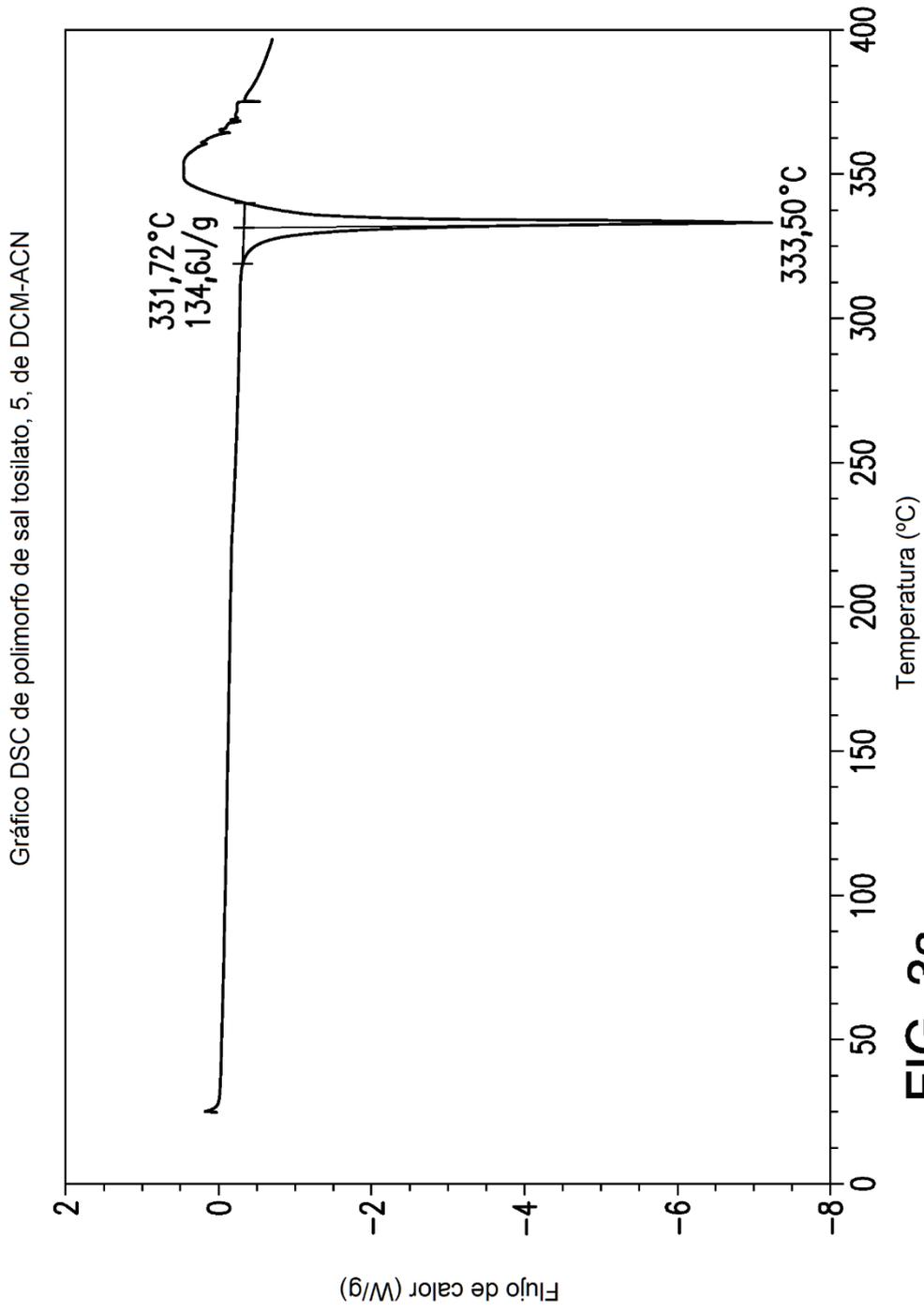


FIG. 3a

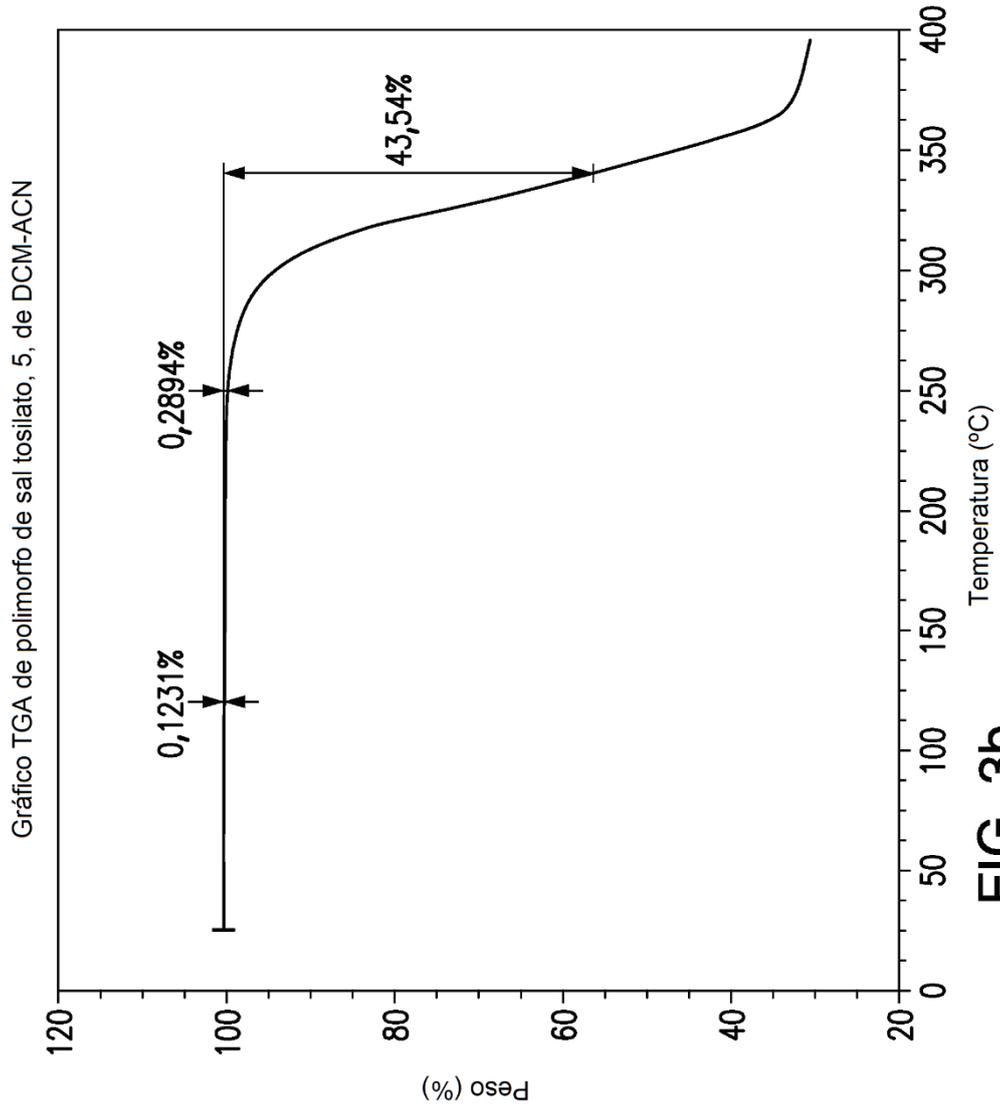


FIG. 3b

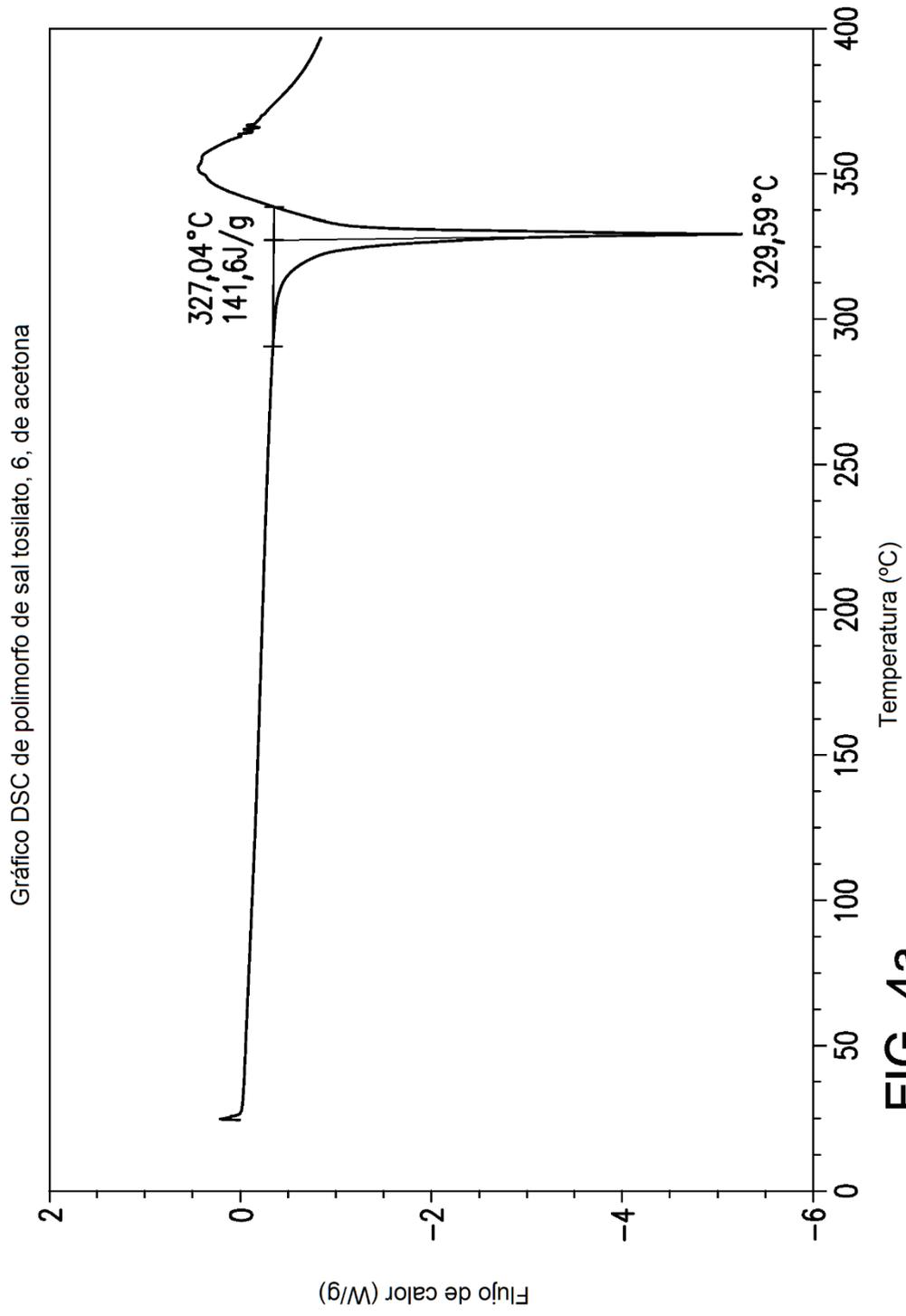


FIG. 4a

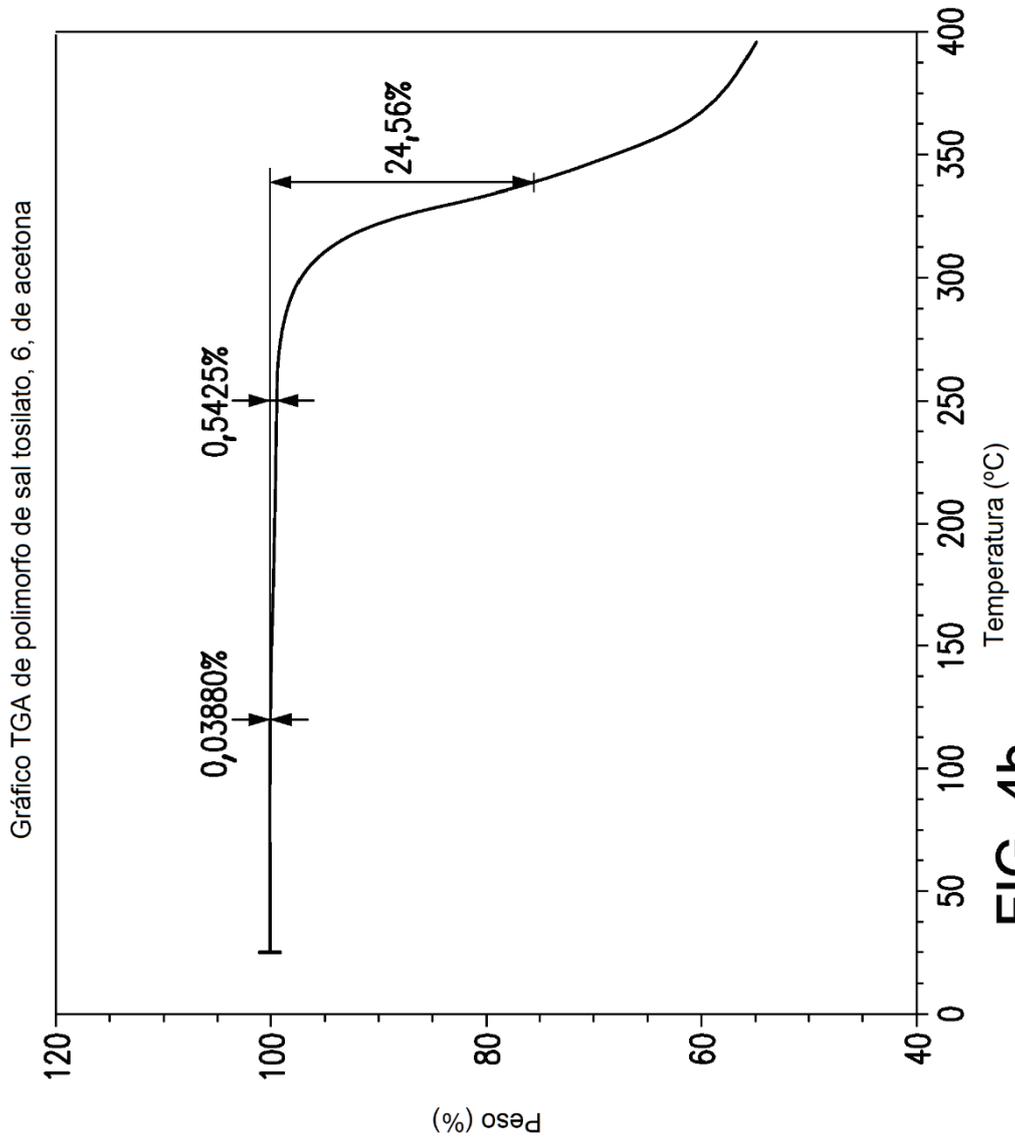


FIG. 4b

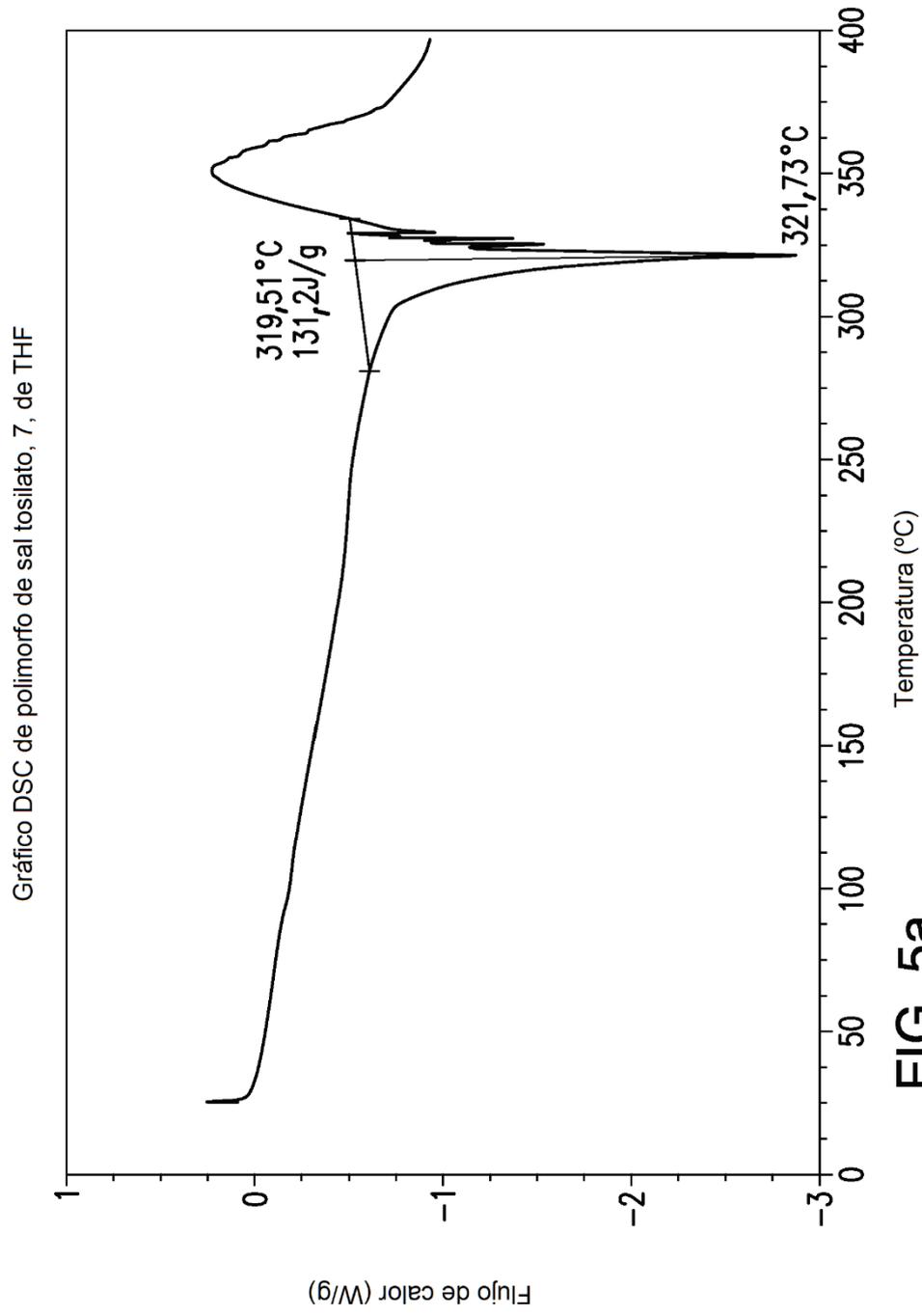


FIG. 5a

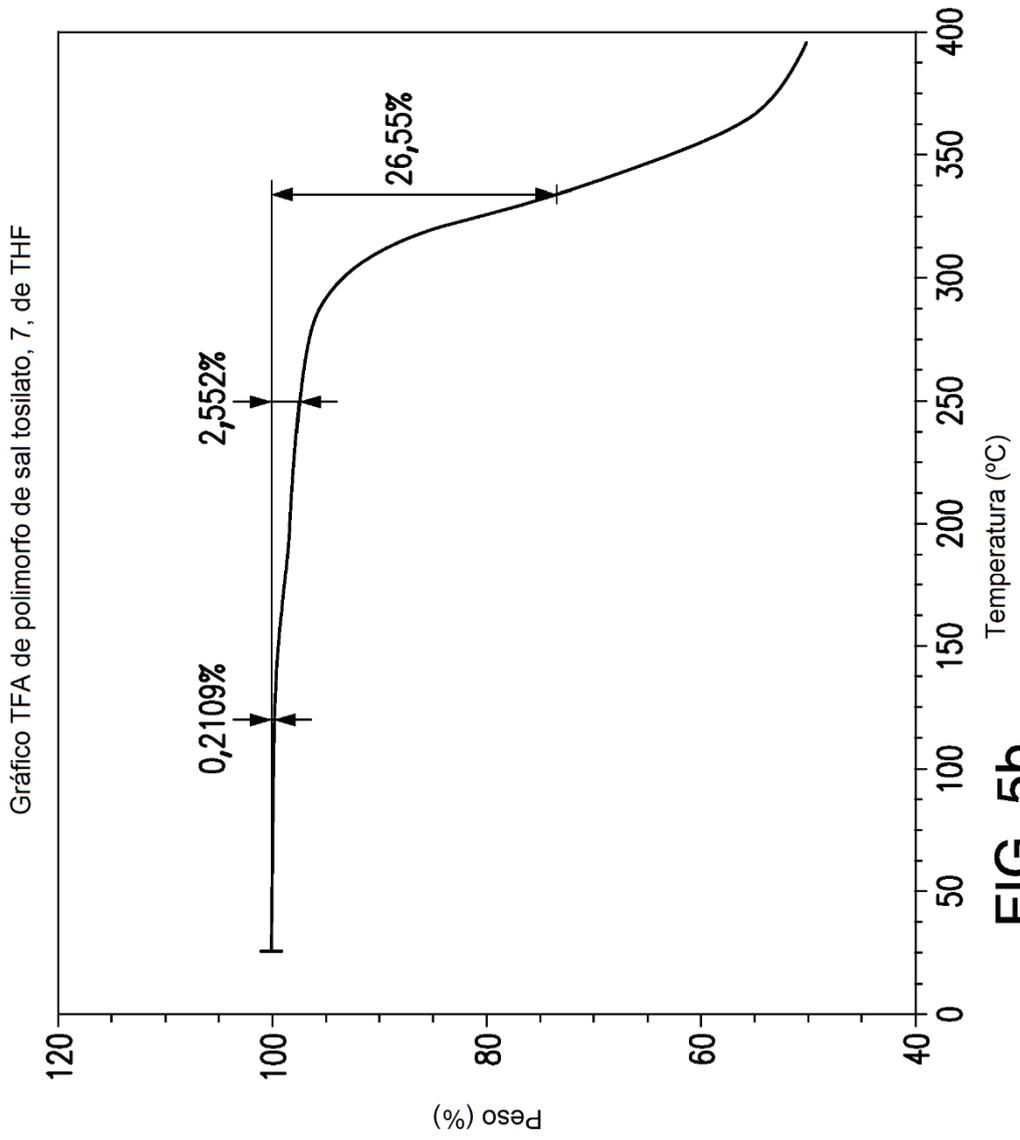


FIG. 5b

Espectrograma de difracción de polvo de rayos X de polimorfo de sal tosilato

Panalytical X-Pert MPD PW3040 Pro

Tubo de rayos X: Cu(1,54059 Å) Tensión: 45 kV Amperaje: 40 mA Rango de exploración: 1,00-39,99 °2θ Tamaño de etapa: 0,017 °2θ
 Tiempo de recogida: 1939 s Velocidad de exploración: 1,2°/min DS de rendija: 1/2° SS: nulo Tiempo de revolución: 1,0 s Modo: Transmisión

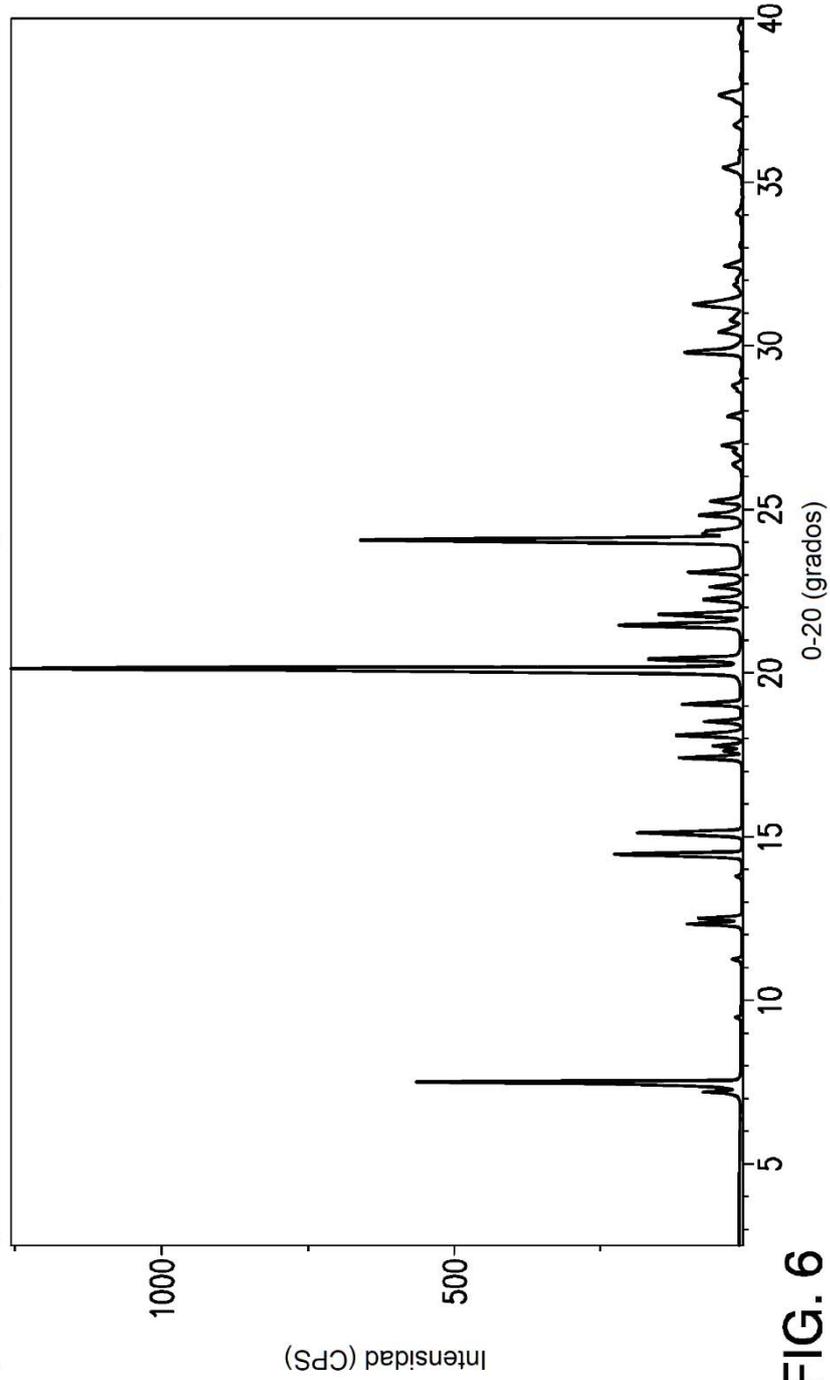


FIG. 6

Gráfico DSC de polimorfo de sal tosilato

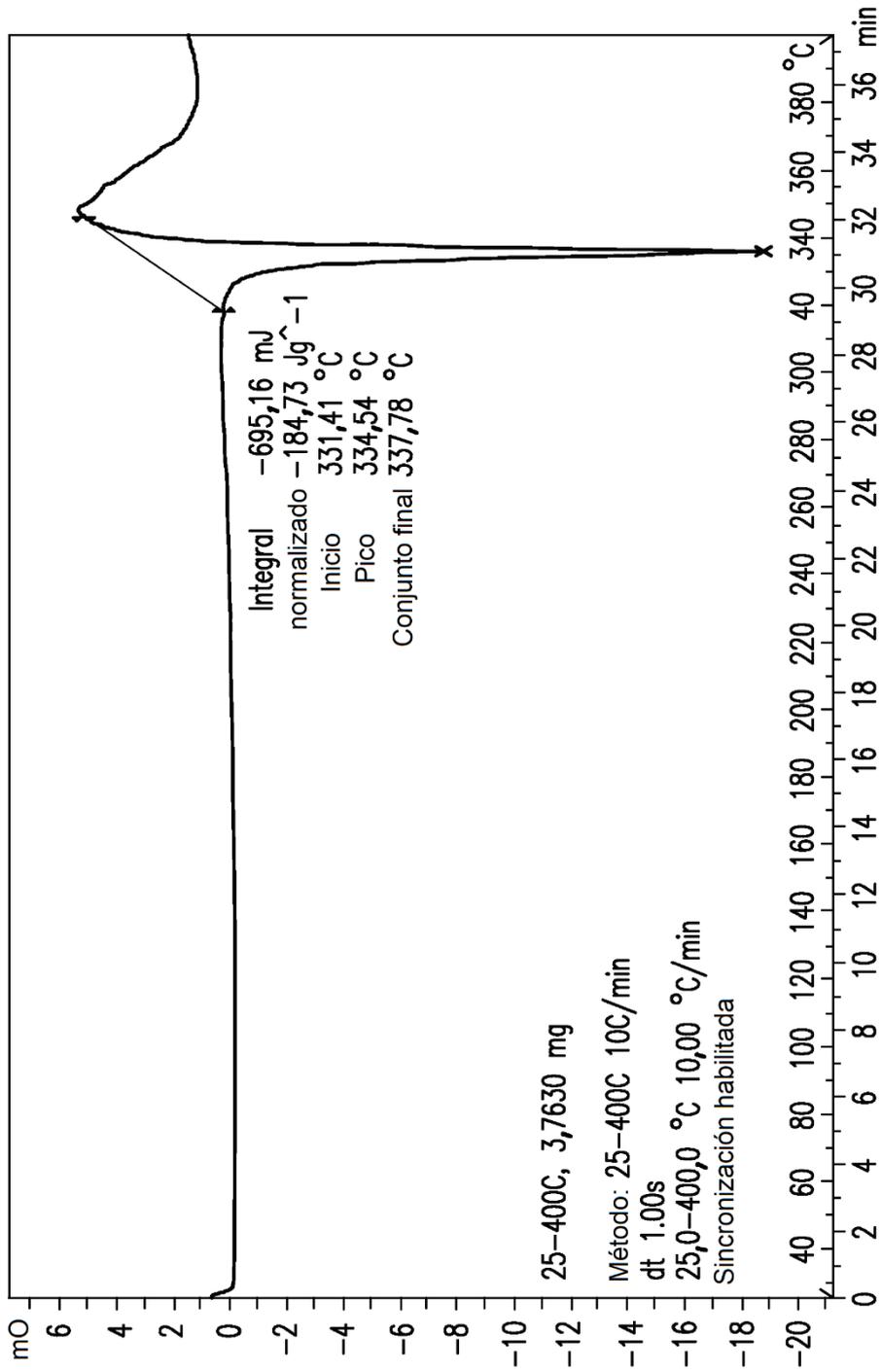


FIG. 7a

Gráfico TGA de polimorfo de sal tosilato

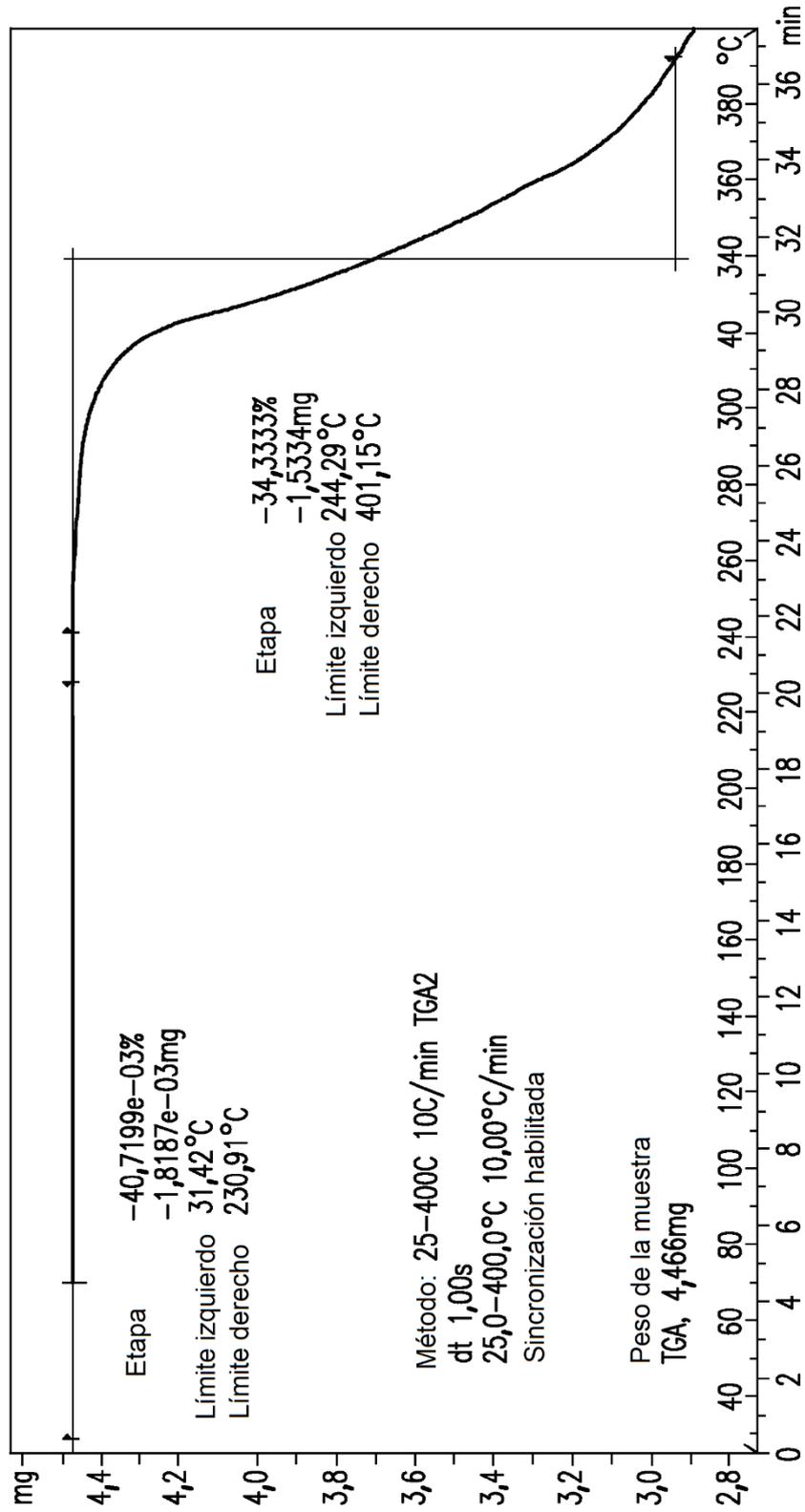


FIG. 7b

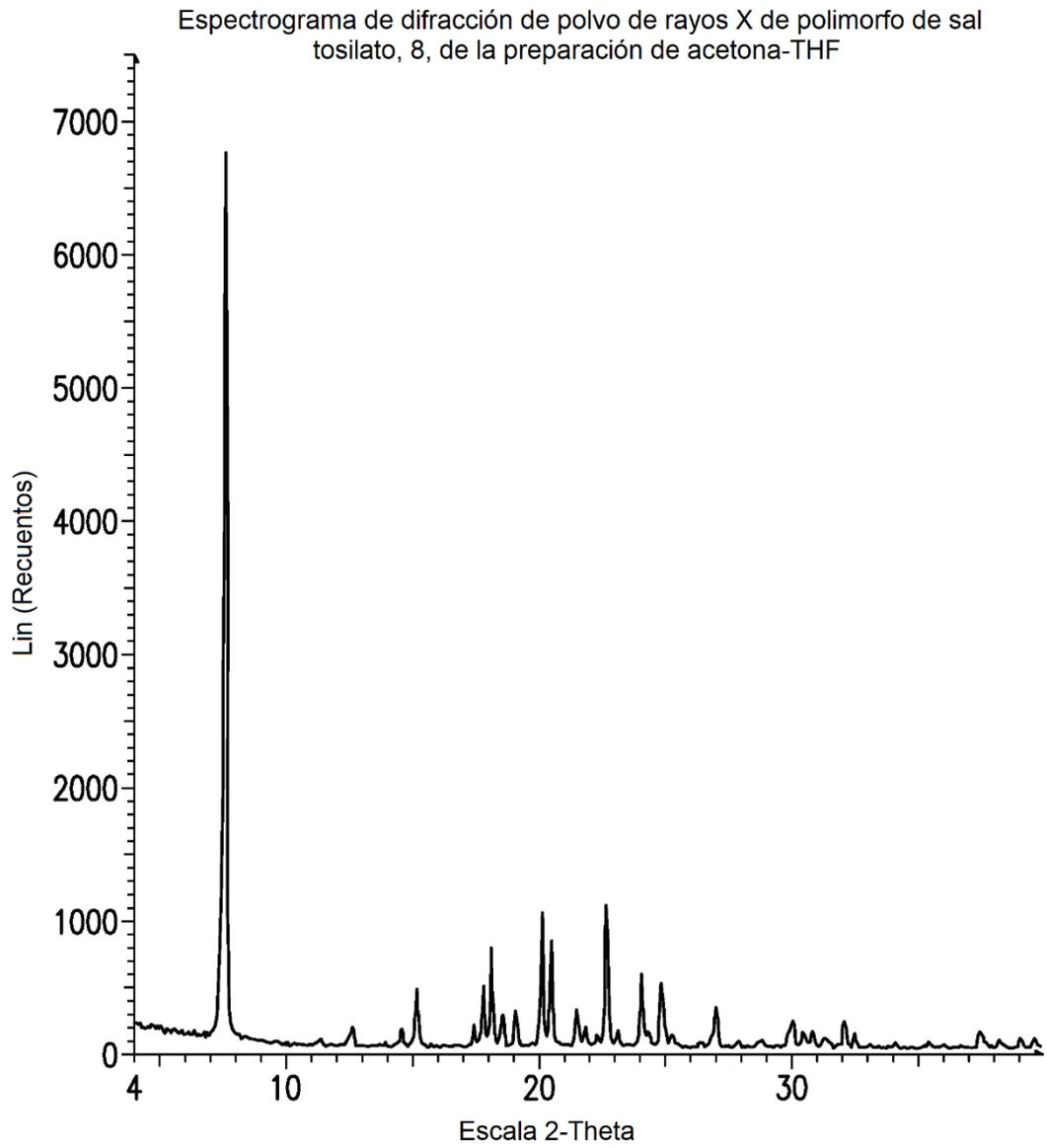


FIG. 8

DVS de polimorfo de sal tosilato, 8, de la preparación de acetona-THF

Gráfica de isoterma DVS

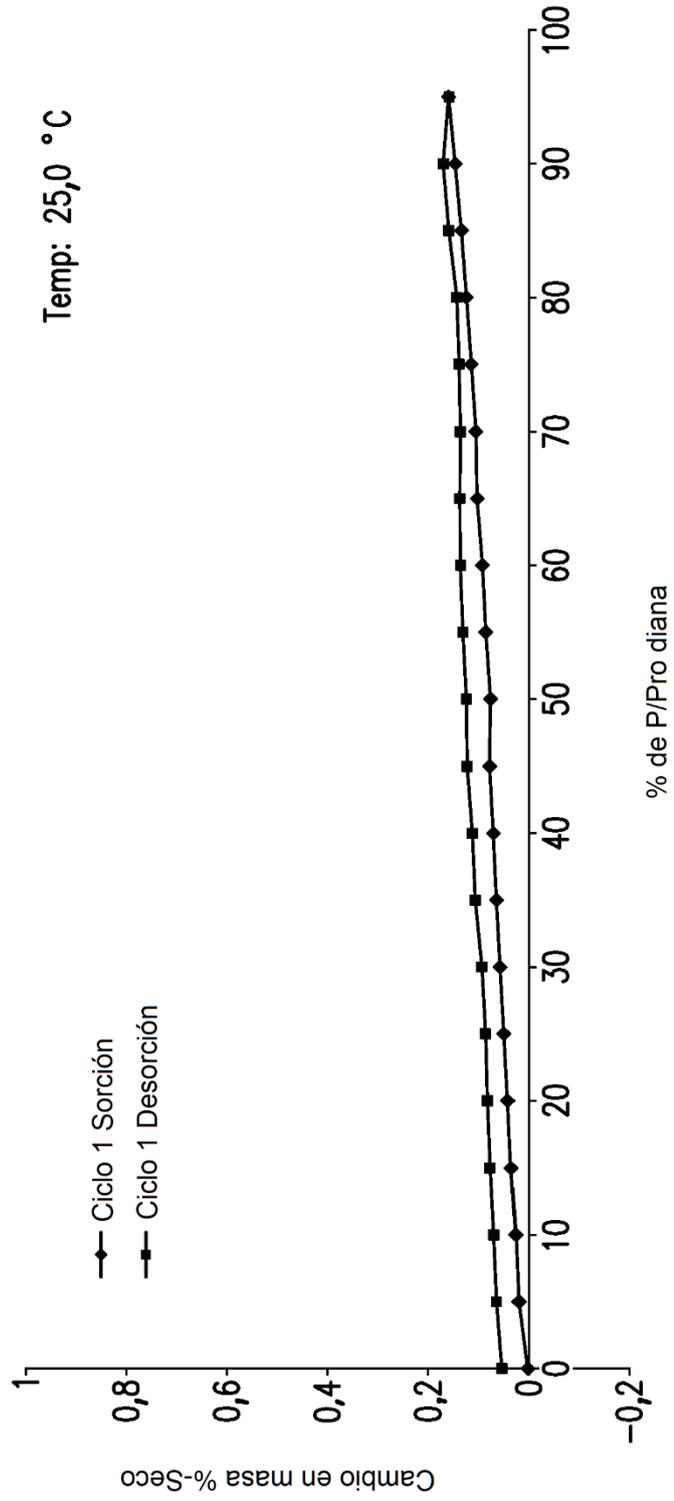


FIG. 9

Ensayo de citotoxicidad de agente único para base libre en tres líneas celulares de linfoma de células del manto a 1000 células/pocillo

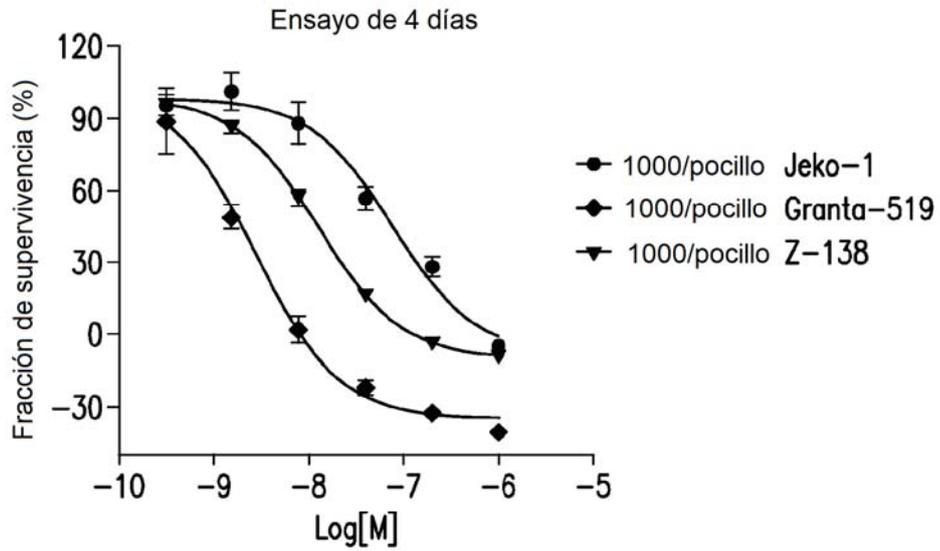


FIG. 10a

Ensayo de citotoxicidad de agente único para base libre en tres líneas celulares de linfoma de células del manto a 5000 células/pocillo

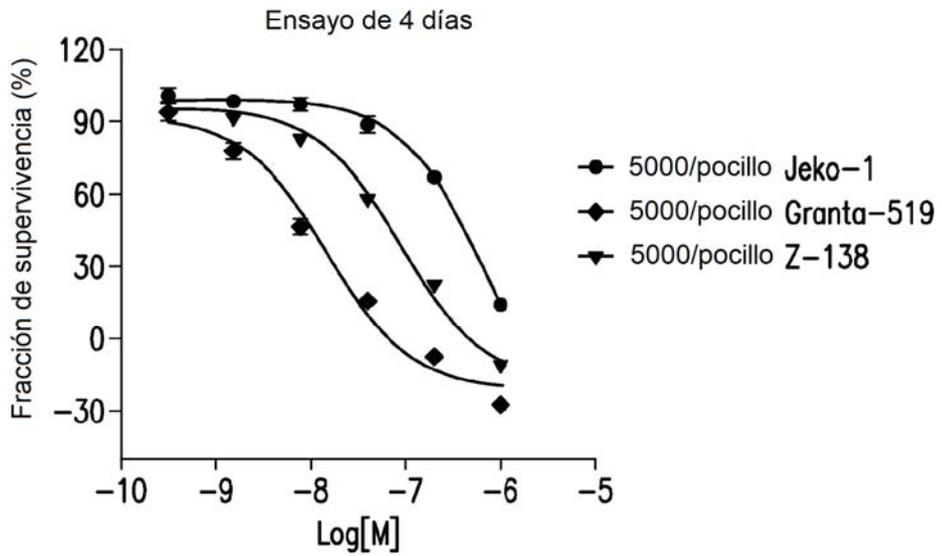


FIG. 10b

Ensayo de citotoxicidad de agente único para base libre en dos líneas celulares de cáncer de cabeza y cuello

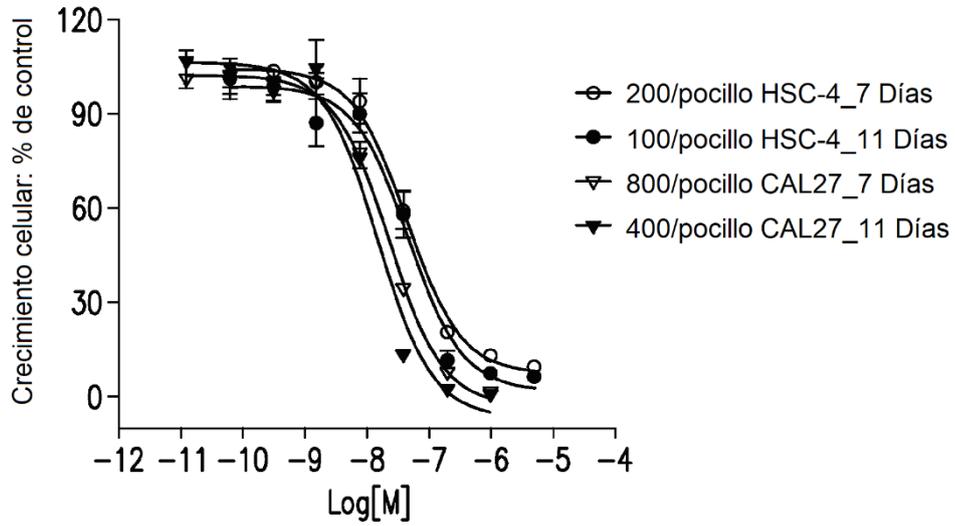


FIG. 11a

Ensayo de citotoxicidad de agente único para base libre en línea celular de cáncer de cabeza y cuello PE/CA-PJ34

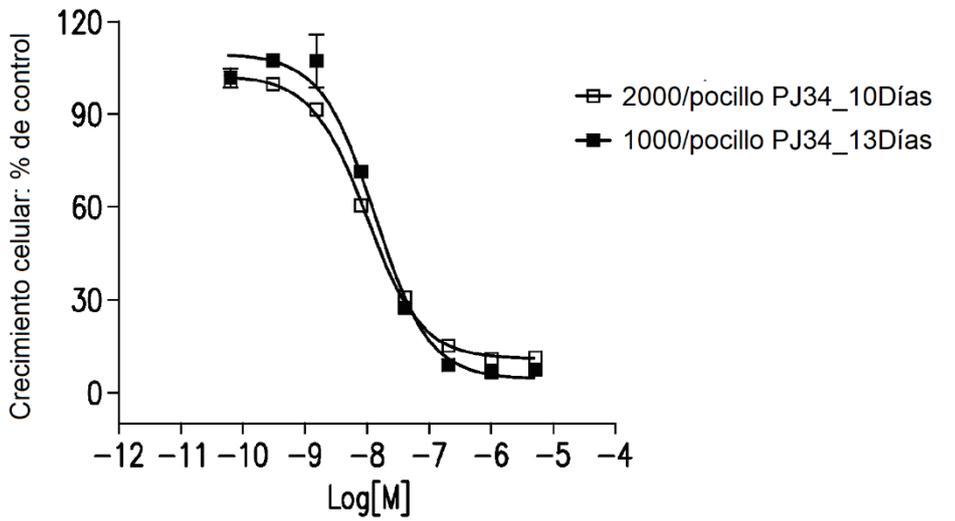


FIG. 11b

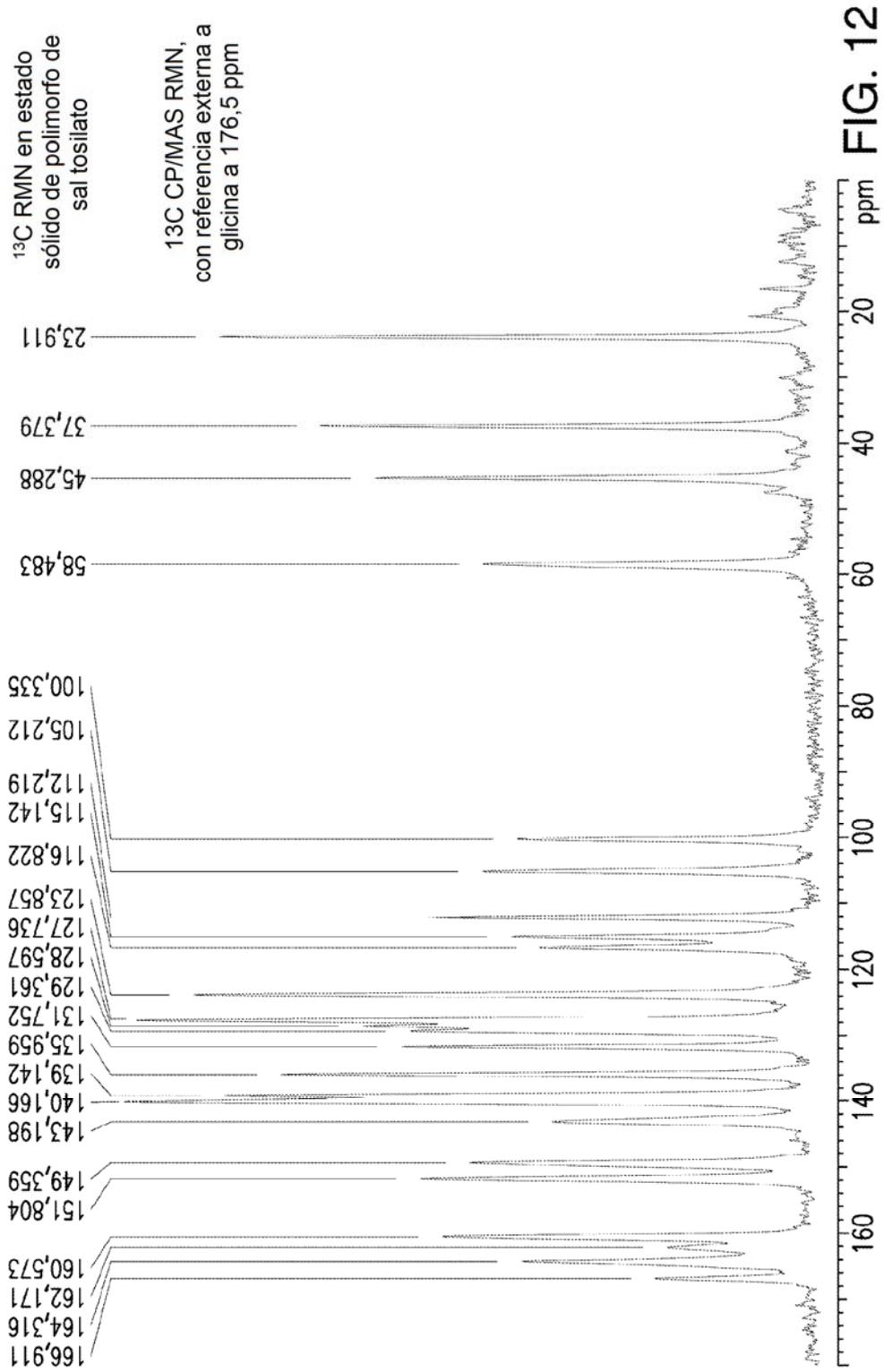


FIG. 12