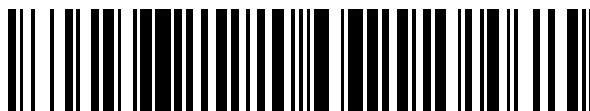


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 926**

51 Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2004** E 15199526 (3)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018** EP 3045175

54 Título: **Formas polimórficas de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona**

30 Prioridad:

04.09.2003 US 499723 P

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

05.07.2019

73 Titular/es:

**CELGENE CORPORATION (100.0%)
86 Morris Avenue
Summit, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, ROGER SHEN-CHU;
MULLER, GEORGE W.;
JAWORSKY, MARKIAN S.;
SAINDANE, MANOHAR T. y
CAMERON, LOUISE**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 718 926 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

Formas polimórficas de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE.UU. 60/499.723, presentada el 4 de septiembre de 2003.

1. CAMPO DE LA INVENCION

- 10 Esta invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden la forma polimórfica B de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Se describen también procedimientos de elaboración de las formas polimórficas y procedimientos para su uso para el tratamiento de enfermedades y afecciones incluyendo, pero sin limitación, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias y cáncer.

15 2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- Muchos compuestos pueden existir en diferentes formas cristalinas, o polimorfos, que exhiben diferentes propiedades físicas, químicas y espectroscópicas. Por ejemplo, ciertos polimorfos de un compuesto pueden ser más fácilmente solubles en disolventes particulares, pueden fluir más fácilmente o pueden comprimirse más fácilmente que otros. Véase, p.ej., P. DiMartino, *et al.*, *J. Thermal Anal.*, 48: 447-458 (1997). En el caso de fármacos, ciertas formas sólidas pueden ser más biodisponibles que otras, mientras que otras pueden ser más estables bajo ciertas condiciones de fabricación, almacenamiento y biológicas. Esto es particularmente importante desde un punto de vista regulatorio, puesto que los fármacos se aprueban por agencias tales como la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. solo si satisfacen estándares exigentes de pureza y caracterización. Es más, la aprobación regulatoria de un polimorfo de un compuesto que exhibe ciertas propiedades de solubilidad y fisicoquímicas (incluyendo espectroscópicas), típicamente no implica la aprobación inmediata de otros polimorfos del mismo compuesto.

- Las formas polimórficas de un compuesto son conocidas en las técnicas farmacéuticas por afectar, por ejemplo, a la solubilidad, estabilidad, fluidez, fragilidad y compresibilidad del compuesto, así como la seguridad y eficacia de los productos farmacológicos que las comprenden. Véase, p.ej., Knapman, K. *Modern Drug Discoveries*, 2000, 53. Por lo tanto, el descubrimiento de nuevos polimorfos de un fármaco puede proporcionar una variedad de ventajas.

- Las patentes de EE.UU. nº 5.635.517 y 6.281.230, ambas de Muller *et al.*, divulgan 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona, que es útil en el tratamiento y la prevención de un amplio intervalo de enfermedades y afecciones incluyendo, pero sin limitación, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias y cáncer. Las nuevas formas polimórficas de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona pueden fomentar el desarrollo de formulaciones para el tratamiento de estas dolencias crónicas, y pueden procurar numerosos beneficios de formulación, fabricación y terapéuticos.

40 3. RESUMEN DE LA INVENCION

- Esta invención engloba un polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. En ciertos aspectos, la invención proporciona un polimorfo del compuesto identificado en la presente memoria como forma B. La invención engloba también mezclas que comprenden esta forma. En aspectos adicionales, se describen procedimientos de elaboración, aislamiento y caracterización de los polimorfos.

- Esta invención proporciona también composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria individuales que comprenden el polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. También se describen procedimientos para el tratamiento o la prevención de una variedad de enfermedades y trastornos, que comprenden administrar a un paciente necesitado de dicho tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente efectiva del polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona.

55 4. BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

- Pueden entenderse aspectos específicos de la invención con referencia a las figuras adjuntas. Las formas A y C-H se proporcionan para referencia:

- La FIGURA 1 proporciona un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) representativo de la forma A;
60 la FIGURA 2 proporciona un espectro IR representativo de la forma A;

- la FIGURA 3 proporciona un espectro de Raman representativo de la forma A;
 la FIGURA 4 proporciona una curva de análisis termogravimético (TGA) representativa y un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) representativo de la forma A;
 la FIGURA 5 proporciona una isoterma de absorción/desorción de humedad representativa de la forma A;
 5 la FIGURA 6 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma B;
 la FIGURA 7 proporciona un espectro IR representativo de la forma B;
 la FIGURA 8 proporciona un espectro de Raman representativo de la forma B;
 la FIGURA 9 proporciona una curva de TGA representativa y un termograma de DSC representativo de la forma B;
 la FIGURA 10 proporciona resultados de TG-IR representativos de la forma B;
 10 la FIGURA 11 proporciona una isoterma de absorción/desorción de humedad representativa de la forma B;
 la FIGURA 12 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma C;
 la FIGURA 13 proporciona un espectro IR representativo de la forma C;
 la FIGURA 14 proporciona un espectro de Raman representativo de la forma C;
 la FIGURA 15 proporciona una curva de TGA representativa y un termograma de DSC representativo de la forma C;
 15 la FIGURA 16 proporciona resultados de TG-IR representativos de la forma C;
 la FIGURA 17 proporciona una isoterma de absorción/desorción de humedad representativa de la forma C;
 la FIGURA 18 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma D;
 la FIGURA 19 proporciona un espectro IR representativo de la forma D;
 la FIGURA 20 proporciona un espectro de Raman representativo de la forma D;
 20 la FIGURA 21 proporciona una curva de TGA representativa y un termograma de DSC representativo de la forma D;
 la FIGURA 22 proporciona una isoterma de absorción/desorción de humedad representativa de la forma D;
 la FIGURA 23 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma E;
 la FIGURA 24 proporciona una curva de TGA representativa y un termograma de DSC representativo de la forma E;
 la FIGURA 25 proporciona una isoterma de absorción/desorción de humedad representativa de la forma E;
 25 la FIGURA 26 proporciona un patrón de XRPD representativo para una muestra de la forma F;
 la FIGURA 27 proporciona un termograma de DSC representativo de la forma F;
 la FIGURA 28 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma G;
 la FIGURA 29 proporciona un termograma de DSC representativo de la forma G;
 la FIGURA 30 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma H;
 30 la FIGURA 31 proporciona una curva de TGA representativa y un termograma de DSC representativo de la forma H;
 la FIGURA 32 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma B;
 la FIGURA 33 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma B;
 la FIGURA 34 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma B;
 la FIGURA 35 proporciona un patrón de XRPD representativo de la forma E;
 35 la FIGURA 36 proporciona un patrón de XRPD representativo de una mezcla polimórfica;
 la FIGURA 37 proporciona una curva de TGA representativa de la forma B;
 la FIGURA 38 proporciona una curva de TGA representativa de la forma B;
 la FIGURA 39 proporciona una curva de TGA representativa de la forma B;
 la FIGURA 40 proporciona una curva de TGA representativa de la forma E;
 40 la FIGURA 41 proporciona una curva de TGA representativa de una mezcla polimórfica;
 la FIGURA 42 proporciona un termograma de DSC representativo de la forma B;
 la FIGURA 43 proporciona un termograma de DSC representativo de la forma B;
 la FIGURA 44 proporciona un termograma de DSC representativo de la forma B;
 la FIGURA 45 proporciona un termograma de DSC representativo de la forma E;
 45 la FIGURA 46 proporciona un termograma de DSC representativo de una mezcla polimórfica;
 la FIGURA 47 proporciona un barrido de UV-VIS de un medio de disolución;
 la FIGURA 48 proporciona un barrido de UV-Vis de 0,04 mg/ml de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en medio de disolución;
 la FIGURA 49 proporciona un barrido de UV-VIS de 0,008 mg/ml de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en medio de disolución;
 50 la FIGURA 50 proporciona una curva de calibración para 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-dione;
 la FIGURA 51 proporciona una curva de solubilidad de la forma A;
 la FIGURA 52 proporciona una curva de solubilidad de la forma B;
 55 la FIGURA 53 proporciona una disolución intrínseca de las formas A, B y E; y
 la FIGURA 54 proporciona una disolución intrínseca de las formas A, B y E.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

60 5.1 DEFINICIONES

Como se usan en la presente memoria y a menos que se indique otra cosa, los términos “tratar”, “tratando” y “tratamiento” hacen referencia al alivio de una enfermedad o trastorno y/o al menos uno de sus síntomas acompañantes.

5

Como se usan en la presente memoria y a menos que se indique otra cosa, los términos “prevenir”, “previniendo” y “prevención” hacen referencia a la inhibición de un síntoma de una enfermedad o trastorno o del trastorno mismo.

Como se usan en la presente memoria y a menos que se indique otra cosa, los términos “polimorfo” y “forma polimórfica” hacen referencia a formas cristalinas sólidas de un compuesto o complejo. Diferentes polimorfos del mismo compuesto pueden exhibir diferentes propiedades físicas, químicas y/o espectroscópicas. Las diferentes propiedades físicas incluyen, pero sin limitación, estabilidad (p.ej. al calor o la luz), compresibilidad y densidad (importante en la formulación y fabricación de producto) y tasas de disolución (que pueden afectar a la biodisponibilidad). Las diferencias en la estabilidad pueden ser el resultado de cambios en la reactividad química (p.ej., oxidación diferencial, tal que una forma de dosificación se decolore más rápidamente cuando está compuesta por un polimorfo que cuando está compuesta por otro polimorfo) o las características mecánicas (p.ej., los comprimidos se desmenuzan en almacenamiento ya que un polimorfo favorecido cinéticamente se convierte en el polimorfo termodinámicamente más estable) o ambas (p.ej., los comprimidos de un polimorfo son más susceptibles de degradación a alta humedad). Las diferentes propiedades físicas de los polimorfos pueden afectar a su procesamiento. Por ejemplo, podría ser más probable que un polimorfo forme solvatos, o podría ser más difícil filtrar o lavar las impurezas que otro debido, por ejemplo, a la forma o distribución de tamaños de las partículas del mismo.

Los polimorfos de una molécula pueden obtenerse mediante una serie de procedimientos conocidos en la materia. Tales procedimientos incluyen, pero sin limitación, recristalización en estado fundido, enfriamiento en estado fundido, recristalización en disolvente, desolvatación, evaporación rápida, enfriamiento rápido, enfriamiento lento, difusión de vapor y sublimación. Los polimorfos pueden detectarse, identificarse, clasificarse y caracterizarse usando técnicas bien conocidas tales como, pero sin limitación, calorimetría de barrido diferencial (DSC), termogravimetría (TGA), difracción de rayos X de polvo (XRPD), difracción de rayos X monocristalina, espectroscopía vibracional, calorimetría en solución, resonancia magnética nuclear en estado sólido (RMN), espectroscopía infrarroja (IR), espectroscopía de Raman, microscopía óptica de platina caliente, microscopía de barrido electrónico (SEM), cristalografía y análisis cuantitativo electrónico, análisis de tamaño de partícula (PSA), análisis de área superficial y tasa de disolución.

Como se usa en la presente memoria para hacer referencia a los espectros o datos presentados en forma gráfica (p.ej., espectros de XRPD, IR, Raman y RMN), y a menos que se indique otra cosa, el término “pico” hace referencia a un pico u otro rasgo especial que un especialista en la materia reconocería como no atribuible al ruido de fondo. El término “picos significativos” hace referencia a picos de al menos el tamaño mediano (p.ej. altura) de los demás picos del espectro o datos, o al menos 1,5, 2 o 2,5 veces el tamaño mediano de los demás picos del espectro o datos.

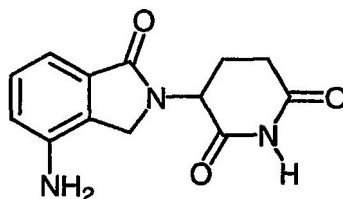
40

Como se usa en la presente memoria y a menos que se indique otra cosa, el término “sustancialmente puro”, cuando se usa para describir un polimorfo de un compuesto, significa una forma sólida del compuesto que comprende ese polimorfo y está sustancialmente exento de otros polimorfos del compuesto. Un polimorfo sustancialmente puro representativo comprende más de aproximadamente un 80 % en peso de una forma polimórfica del compuesto y menos de aproximadamente un 20 % en peso de otras formas polimórficas del compuesto, más preferiblemente más de aproximadamente un 90 % en peso de una forma polimórfica del compuesto y menos de aproximadamente un 10 % de otras formas polimórficas del compuesto, aún más preferiblemente más de aproximadamente un 95 % en peso de una forma polimórfica del compuesto y menos de aproximadamente un 5 % en peso de otras formas polimórficas del compuesto, y lo más preferiblemente más de aproximadamente un 97 % en peso de una forma polimórfica del compuesto y menos de aproximadamente un 3 % en peso de otras formas polimórficas del compuesto.

50

5.2. FORMAS POLIMÓRFICAS

55 Esta invención está dirigida a una forma polimórfica de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona, que tiene la estructura mostrada a continuación:



Este compuesto puede prepararse según los procedimientos descritos en las patentes de EE.UU. n° 6.281.230 y 5.635.517. Por ejemplo, el compuesto puede prepararse mediante hidrogenación catalítica de 3-(4-nitro-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La 3-(4-nitro-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona puede obtenerse dejando reaccionar cloruro de 2,6-dioxopiperidin-3-amonio con 2-bromometil-4-nitrobenzoato de metilo en dimetilformamida en presencia de trietilamina. El 2-bromometil-4-nitrobenzoato de metilo se obtiene a su vez a partir del correspondiente éster metílico de ácido nitro-orto-toluico mediante bromación convencional con N-bromosuccinimida bajo la influencia de la luz.

10

Los polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona pueden obtenerse mediante técnicas conocidas en la materia, incluyendo recristalización en disolvente, desolvatación, difusión de vapor, evaporación rápida, evaporación lenta, enfriamiento rápido y enfriamiento lento. Los polimorfos pueden elaborarse disolviendo una cantidad pesada de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en diversos disolventes a 15 temperaturas elevadas. Las soluciones del compuesto pueden filtrarse entonces y dejarse evaporar en un vial abierto (para evaporación rápida en caliente) o en un vial cubierto con lámina de aluminio que contiene perforaciones (evaporación lenta en caliente). Los polimorfos pueden obtenerse también a partir de suspensiones. Los polimorfos pueden cristalizarse a partir de soluciones o suspensiones usando varios procedimientos. Por ejemplo, una solución creada a una temperatura elevada (p.ej. 60 °C) puede filtrarse rápidamente y dejarse enfriar 20 entonces a temperatura ambiente. Una vez a temperatura ambiente, la muestra que no cristalizó puede trasladarse a una nevera y entonces filtrarse. Como alternativa, las soluciones pueden enfriarse aceleradamente disolviendo el sólido en un disolvente a una temperatura aumentada (p.ej., 45-65 °C) seguido de enfriamiento en un baño de hielo seco/disolvente.

25 Se divulga en la presente memoria la forma A de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma A es un material cristalino no solvatado que puede obtenerse a partir de sistemas disolventes no acuosos. Una realización de la invención engloba la forma B de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma B es un material cristalino hemihidratado que puede obtenerse a partir de diversos sistemas disolventes. Se divulga también en la presente memoria la forma C de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6- 30 diona. La forma C es un material cristalino hemisolvatado que puede obtenerse a partir de disolventes tales como, pero sin limitación, acetona. Se divulga también en la presente memoria la forma D de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma D es un polimorfo cristalino solvatado preparado a partir de una mezcla de acetonitrilo y agua. Se divulga también en la presente memoria la forma E de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma E es un material cristalino dihidratado. Se divulga también en la presente memoria la forma F de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma F es un 35 material cristalino no solvatado que puede obtenerse a partir de la deshidratación de la forma E. Se divulga también en la presente memoria la forma G de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma G es un material cristalino no solvatado que puede obtenerse a partir de la suspensión de las formas B y E en un disolvente tal como, pero sin limitación, tetrahidrofurano (THF). Se divulga también en la presente memoria la forma H de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. La forma H es un material cristalino parcialmente hidratado que puede obtenerse exponiendo la forma E a 0 % de humedad relativa. Cada una de estas formas se discute con 40 detalle a continuación.

Otra realización de la invención engloba una composición que comprende 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2- 45 il)piperidin-2,6-diona amorfa y 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona cristalina de forma B. Composiciones específicas pueden comprender más de aproximadamente 50, 75, 90 o 95 % en peso de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona cristalina.

Otra realización de la invención engloba una composición que comprende al menos dos formas cristalinas de 3-(4- 50 amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona (p.ej., una mezcla de las formas polimórficas B y E).

5.2.1 **FORMA A** (referencia)

Los datos descritos en la presente memoria para la forma A, así como para las formas B-H, se obtuvieron usando los procedimientos experimentales descritos en los ejemplos 6.3-6.7, proporcionados a continuación.

La forma A puede obtenerse a partir de diversos disolventes incluyendo, pero sin limitación, 1-butanol, acetato de butilo, etanol, acetato de etilo, metanol, metiletilcetona y THF. La Figura 1 muestra un patrón de XRPD representativo de la forma A. El patrón se caracteriza por picos, preferiblemente picos significativos, a aproximadamente 8, 14,5, 16, 17,5, 20,5, 24 y 26 grados 2θ . Se proporcionan espectros IR y de Raman representativos en las Figuras 2 y 3.

10 Se muestran las características térmicas representativas de la forma A en la Figura 4. Los datos de TGA muestran un pequeño aumento de peso hasta aproximadamente 150 °C, indicando un material no solvatado. La pérdida de peso por encima de 150 °C se atribuye a descomposición. La curva de DSC de la forma A exhibe una endotermya a aproximadamente 270 °C.

15 Se representan los datos de absorción y desorción de humedad representativos en la Figura 5. La forma A no exhibe una ganancia de peso significativa de 5 a 95 % de humedad relativa. Puede obtenerse el equilibrio en cada etapa de humedad relativa. A medida que la forma se seca de 95 % de vuelta a 5 % de humedad relativa, tiende a mantener su peso, de tal modo que a 5 % de humedad relativa ha perdido típicamente solo aproximadamente un 0,003 % en peso del inicio al final. La forma A es capaz de permanecer como un sólido cristalino durante 20 aproximadamente 11 días cuando se almacena a aproximadamente 22, 45, 58 y 84 % de humedad relativa.

Los estudios de interconversión muestran que la forma A puede convertirse en la forma B en sistemas disolventes acuosos y puede convertirse en la forma C en sistemas disolventes de acetona. La forma A tiende a ser estable en sistemas disolventes anhidros. En sistemas acuosos y en presencia de forma E, la forma A tiende a convertirse en la 25 forma E.

Cuando se almacena durante un periodo de aproximadamente 85 días en dos condiciones diferentes de estrés de temperatura/humedad relativa (temperatura ambiente/0 % de humedad relativa (HR) y 40 °C/93 % de HR), la forma A típicamente no se convierte en una forma diferente.

30 En suma, la forma A es un sólido cristalino no solvatado que funde a aproximadamente 270 °C. La forma A es débilmente o nada higroscópica y parece ser el polimorfo anhidro más termodinámicamente estable de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisindol-2-il)piperidin-2,6-diona descubierto hasta ahora.

35 **5.2.2 FORMA B**

La forma B puede obtenerse a partir de muchos disolventes incluyendo, pero sin limitación, hexano, tolueno y agua. La Figura 6 muestra un patrón de XRPD representativo de la forma B, caracterizado por picos a aproximadamente 16, 18, 22 y 27 grados 2θ .

40 La RMN de protón en solución confirma que la forma B es una forma de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Se muestran los espectros IR y de Raman representativos en las Figuras 7 y 8, respectivamente. En comparación con la forma A, el espectro IR para la forma B tiene picos a aproximadamente 3513 y 1960 cm^{-1} .

45 Los datos de DSC y TGA representativos para la forma B se muestran en la Figura 9. La curva de DSC exhibe endotermyas a aproximadamente 146 y 268 °C. Estos eventos se identifican como deshidratación y fusión por experimentos de microscopía de platina caliente. La forma B pierde típicamente aproximadamente un 3,1 % de volátiles hasta aproximadamente 175 °C (por aproximadamente 0,46 moles de agua). La comparación del espectro 50 IR de los volátiles con el del agua indica que son agua (véase la Figura 10). Los cálculos a partir de los datos de TGA indican que la forma B es un hemihidrato. El análisis de agua de Karl Fischer apoya también esta conclusión.

Se muestran datos de absorción y desorción de humedad representativos en la Figura 11. La forma B típicamente no exhibe una ganancia de peso significativa de 5 a 95 % de humedad relativa, cuando se obtiene equilibrio en cada 55 etapa de humedad relativa. A medida que la forma B se seca desde 95 % de vuelta a 5 % de humedad relativa, tiende a mantener su peso, de tal modo que a 5 % de humedad relativa típicamente ha ganado solo aproximadamente un 0,022 % en peso (aproximadamente 0,003 mg) desde el inicio hasta el final. La forma B no se convierte en una forma diferente tras exposición a aproximadamente 84 % de humedad relativa durante aproximadamente diez días.

60

Los estudios de interconversión muestran que la forma B se convierte típicamente en la forma A en un sistema disolvente de THF, y se convierte típicamente en la forma C en un sistema disolvente de acetona. En sistemas disolventes acuosos tales como agua pura y soluciones acuosas al 10 %, la forma B es la más estable de las formas polimórficas de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Sin embargo, puede convertirse en la forma E en presencia de agua. Los experimentos de desolvatación muestran que, tras calentamiento a aproximadamente 175 °C durante aproximadamente 5 minutos, la forma B se convierte típicamente en la forma A.

Cuando se almacena durante un periodo de aproximadamente 85 días en dos condiciones diferentes de estrés de temperatura/humedad relativa (temperatura ambiente/0 % de HR y 40 °C/93 % de HR), la forma B no se convierte en una forma diferente.

En suma, la forma B es un sólido cristalino hemihidratado que se funde a aproximadamente 267 °C. Los estudios de interconversión muestran que la forma B se convierte en la forma E en sistemas disolventes acuosos y se convierte en otras formas en acetona y otros sistemas anhidros.

15

5.2.3 FORMA C (Referencia)

La forma C puede obtenerse a partir de evaporaciones, suspensiones y enfriamientos lentos en sistemas disolventes de acetona. Se muestra un patrón de XRPD representativo de esta forma en la Figura 12. Los datos se caracterizan por picos a aproximadamente 15,5 y 25 grados 2 θ .

20

La RMN de protón en solución indica que la molécula de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona está intacta. Se muestran espectros IR y de Raman representativos en las Figuras 13 y 14, respectivamente. El espectro IR de la forma C se caracteriza por picos a aproximadamente 3466, 3373 y 3318 cm⁻¹. El espectro de Raman de la forma C se caracteriza por picos a aproximadamente 3366, 3321, 1101 y 595 cm⁻¹.

25

Se representan las características térmicas representativas de la forma C en la Figura 15. La forma C pierde aproximadamente un 10,02 % de volátiles hasta aproximadamente 175 °C, indicando que es un material solvatado. La pérdida de peso por encima de aproximadamente 175 °C se atribuye a la descomposición. La identificación de volátiles en la forma C puede lograrse con experimentos de TG-IR. El espectro IR representativo capturado después de varios minutos de calentamiento, como se expresa en la Figura 13, cuando se compara con una colección de espectros, muestra que la acetona es la mejor coincidencia. Los cálculos a partir de los datos de TGA muestran que la forma C es un hemisolvato (aproximadamente 0,497 moles de acetona). La curva de DSC para la forma C, mostrada en la Figura 15, exhibe endotermias a aproximadamente 150 y aproximadamente 269 °C. La endoterma a aproximadamente 150 °C se atribuye a una pérdida de disolvente basándose en las observaciones realizadas durante los experimentos de microscopía en platina caliente. La endoterma a aproximadamente 269 °C se atribuye al estado fundido basándose en experimentos en platina caliente.

30

35

Se muestran datos de equilibrio de absorción y desorción de humedad representativos en la Figura 17. La forma C no exhibe una ganancia de peso significativa de 5 a 85 % de humedad relativa, cuando se obtiene equilibrio en cada etapa de humedad relativa, hasta un 85 % de humedad relativa. Al 95 % de humedad relativa, la forma C experimenta una pérdida de peso significativa de aproximadamente un 6,03 %. A medida que la muestra se seca de 95 % de vuelta a 5 % de humedad relativa, la muestra mantiene el peso conseguido al final de la fase de adsorción en cada etapa hasta 5 % de humedad relativa. La forma C es capaz de convertirse en la forma B cuando se almacena a aproximadamente un 84 % de humedad relativa durante aproximadamente 10 días.

45

Los estudios de interconversión muestran que la forma C se convierte típicamente en la forma A en un sistema disolvente de THF y se convierte típicamente en la forma E en un sistema disolvente acuoso. En un sistema disolvente de acetona, la forma C es la forma más estable de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Los experimentos de desolvatación efectuados en la forma C muestran que, tras calentamiento a aproximadamente 150 °C durante aproximadamente 5 minutos, la forma C se convertirá típicamente en la forma A.

50

En suma, la forma C es un sólido cristalino hemisolvato que funde a aproximadamente 269 °C. La forma C es no higroscópica por debajo de aproximadamente un 85 % de HR, pero puede convertirse en la forma B a humedades relativas mayores.

55

5.2.4 FORMA D (Referencia)

La forma D puede obtenerse a partir de evaporación en sistemas disolventes de acetonitrilo. Se muestra un patrón de XRPD representativo de la forma en la Figura 18. El patrón se caracteriza por picos a aproximadamente 27 y 28

60

grados 2θ.

La RMN de protón en solución indica que la molécula de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona está intacta. Se muestran espectros IR y de Raman representativos en las Figuras 19 y 20, respectivamente. El espectro IR de la forma D se caracteriza por picos a aproximadamente 3509, 2299 y 2256 cm^{-1} . El espectro de Raman de la forma D se caracteriza por picos a aproximadamente 2943, 2889, 2297, 2260, 1646 y 1150 cm^{-1} .

Se representan las características térmicas representativas de la forma D en la Figura 21. La forma D pierde aproximadamente un 6,75 % de volátiles hasta aproximadamente 175 °C, indicando un material solvatado. La pérdida de peso por encima de aproximadamente 175 °C se atribuye a descomposición. Los experimentos de TG-IR indican que los volátiles son agua y acetonitrilo. Los cálculos a partir de los datos de TG muestran que está presente en la muestra aproximadamente 1 mol de agua. Una curva de DSC representativa para la forma D exhibe endotermias a aproximadamente 122 y aproximadamente 270 °C. La endoterminia a aproximadamente 122 °C se atribuye a la pérdida de volátiles basándose en las observaciones realizadas durante experimentos de microscopía de platina caliente. La endoterminia a aproximadamente 270 °C se atribuye al estado fundido basándose en experimentos de platina caliente.

Se representan los datos de absorción y desorción de humedad representativos en la Figura 22. La forma D no exhibe una ganancia de peso significativa de 5 a 95 % de humedad relativa cuando se obtiene equilibrio en cada etapa de humedad relativa. A medida que la forma se seca de 95 % de vuelta a 5 % de humedad relativa, mantiene su peso, de tal modo que a 5 % de humedad relativa la forma ha ganado típicamente solo aproximadamente un 0,39 % de peso (aproximadamente 0,012 mg) desde el inicio hasta el final. La forma A es capaz de convertirse en la forma B cuando se almacena a aproximadamente 84 % de humedad relativa durante aproximadamente 10 días.

Los estudios de interconversión muestran que la forma D es capaz de convertirse en la forma A en un sistema disolvente de THF, en la forma E en un sistema disolvente acuoso y en la forma C en un sistema disolvente de acetona. Los experimentos de desolvatación efectuados en la forma D muestran que, tras calentamiento a aproximadamente 150 °C durante aproximadamente 5 minutos, la forma D se convertirá típicamente en la forma A.

En suma, la forma D es un sólido cristalino solvatado tanto con agua como acetonitrilo, que funde a aproximadamente 270 °C. La forma D es débilmente o nada higroscópica, pero se convertirá típicamente en la forma B cuando se estrese a humedades relativas mayores.

5.2.5 FORMA E (Referencia)

La forma E puede obtenerse suspendiendo 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en agua y por evaporación lenta de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en un sistema disolvente con una relación de aproximadamente 9:1 de acetona:agua. Se muestra un patrón de XRPD representativo en la Figura 23. Los datos se caracterizan por picos a aproximadamente 20, 24,5 y 29 grados 2θ.

Se representan las características térmicas representativas de la forma E en la Figura 24. La forma E pierde típicamente aproximadamente un 10,58 % de volátiles hasta aproximadamente 125 °C, indicando que es un material solvatado. Se observó una segunda pérdida de peso de aproximadamente un 1,38 % adicional entre aproximadamente 125 y aproximadamente 175 °C. La pérdida de peso por encima de aproximadamente 175 °C se atribuye a la descomposición. Los experimentos de Karl Fischer y TG-IR apoyan la conclusión de que la pérdida de peso de volátiles en la forma E es debida a agua. La curva de DSC representativa para la forma E exhibe endotermias a aproximadamente 99, 161 y 269 °C. Basándose en las observaciones realizadas durante experimentos de microscopía de platina caliente, las endotermias a aproximadamente 99 y aproximadamente 122 °C se atribuyen a la pérdida de volátiles. La endoterminia a aproximadamente 269 °C se atribuye al estado fundido basándose en experimentos de platina caliente.

Se representan los datos de absorción y desorción de humedad representativos en la Figura 25. La forma E típicamente no exhibe un cambio de peso significativo de 5 a 95 % de humedad relativa cuando se obtiene equilibrio en cada etapa de humedad relativa. A medida que la muestra se seca de 95 % de vuelta a 5 % de humedad relativa, la muestra continúa manteniendo el peso, de tal modo que a 5 % de humedad relativa la muestra ha perdido solo aproximadamente un 0,0528 % en peso desde el inicio hasta el final.

Los estudios de interconversión muestran que la forma E puede convertirse en la forma C en un sistema disolvente de acetona y en la forma G en un sistema disolvente de THF. En sistemas disolventes acuosos, la forma E parece ser la forma más estable. Los experimentos de desolvatación efectuados en la forma E muestran que, tras

calentamiento a aproximadamente 125 °C durante aproximadamente 5 minutos, la forma E puede convertirse en la forma B. Tras calentamiento a 175 °C durante aproximadamente 5 minutos, la forma B puede convertirse en la forma F.

5 Cuando se almacena durante un periodo de 85 días bajo dos condiciones diferentes de estrés de temperatura/humedad relativa (temperatura ambiente/0 % de HR y 40 °C/93 % de HR), la forma E típicamente no se convierte en una forma diferente. Cuando se almacena durante 7 días a temperatura ambiente/0 % de HR, la forma E puede convertirse en una nueva forma, la forma H.

10 **5.2.6 FORMA F (Referencia)**

La forma F puede obtenerse mediante deshidratación completa de la forma E. Un patrón de XRPD representativo de la forma F, mostrado en la Figura 26, se caracteriza por picos a aproximadamente 19, 19,5 y 25 grados 2θ.

15 Se muestran las características térmicas representativas de la forma A en la Figura 27. La curva de DSC representativa para la forma F exhibe una endotermia a aproximadamente 269 °C precedida directamente por dos endotermias menores indicativas de una forma cristalizada de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. El termograma de DSC no muestra ningún evento térmico antes de la fusión, sugiriendo que es un material no solvatado.

20

5.2.7 FORMA G (Referencia)

La forma G puede obtenerse suspendiendo las formas B y E en THF. Un patrón de XRPD representativo de esta forma, mostrado en la Figura 28, se caracteriza por un pico a aproximadamente 23 grados 2θ. Aparecen otros dos picos únicos de la forma G a aproximadamente 21 y 24,5 grados 2θ.

Se representan las características térmicas representativas de la forma G en la Figura 29. Una curva de DSC representativa para la forma G exhibe una endotermia a aproximadamente 248 °C seguida de una pequeña endotermia amplia a aproximadamente 267 °C. No se ven eventos térmicos en el termograma de DSC a

30

5.2.8 FORMA H (Referencia)

La forma H puede obtenerse almacenando la forma E a temperatura ambiente y 0 % de HR durante

35

aproximadamente 7 días. Se muestra un patrón de XRPD representativo en la Figura 30. El patrón se caracteriza por un pico a 15 grados 2θ, y otros dos picos a 26 y 31 grados 2θ.

Se muestran las características térmicas representativas en la Figura 31. La forma H pierde aproximadamente un 1,67 % de volátiles hasta aproximadamente 150 °C. La pérdida de peso por encima de aproximadamente 150 °C se atribuye a descomposición. Los datos de Karl Fischer muestran que la forma H contiene típicamente aproximadamente un 1,77 % de agua (aproximadamente 0,26 moles), sugiriendo que la pérdida de peso vista en el TG es debida a deshidratación. El termograma de DSC muestra una endotermia amplia a entre aproximadamente 50 y aproximadamente 125 °C, correspondiente a la deshidratación de la forma H, y una endotermia brusca a aproximadamente 269 °C, que es probablemente debida a una fusión.

45

Cuando se suspende en agua con las formas A o B, después de aproximadamente 14 días, la forma H puede convertirse en la forma E. Cuando se suspende en THF, la forma H puede convertirse en la forma A. cuando se suspende en acetona, la forma H puede convertirse en la forma C.

50 En suma, la forma H es un sólido cristalino, hidratado con aproximadamente 0,25 moles de agua, que funde aproximadamente a 269 °C.

5.3 PROCEDIMIENTOS DE USO Y COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

55 El polimorfo de la invención exhibe características físicas que son beneficiosas para la fabricación, almacenamiento o uso de fármacos. El polimorfo de la invención tiene utilidad como ingrediente farmacéuticamente activo o intermedios del mismo.

Esta invención engloba el polimorfo para uso en procedimientos de tratamiento y prevención de una amplia variedad de enfermedades y afecciones que usan el polimorfo de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona.

60

- En cada uno de los procedimientos, se administra una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva del compuesto a un paciente necesitado de dicho tratamiento o prevención. Los ejemplos de tales enfermedades y afecciones incluyen, pero sin limitación, enfermedades asociadas a angiogénesis indeseada, cáncer (p.ej., tumores sólidos y de origen sanguíneo), enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades inmunitarias. Los ejemplos de cánceres y afecciones precancerosas incluyen aquellos descritos en las patentes de EE.UU. nº 6.281.230 y 5.635.517 de Muller *et al.* y en diversas solicitudes de patente de EE.UU. de Zeldis, incluyendo las solicitudes de nº 10/411.649, presentada el 11 de abril de 2003 (Tratamiento de síndrome mielodisplásico); 10/438.213, presentada el 15 de mayo de 2003 (Tratamiento de diversos tipos de cáncer); 10/411.656, presentada el 11 de abril de 2003 (Tratamiento de enfermedades mieloproliferativas). Se describen ejemplos de otras enfermedades y trastornos que pueden tratarse o prevenirse usando las composiciones de la invención en las patentes de EE.UU. nº 6.235.756 y 6.114.335 de D'Amato y en otras solicitudes de patente de EE.UU. de Zeldis, incluyendo 10/693.794, presentada el 23 de octubre de 2003 (Tratamiento de síndrome de dolor) y 10/699.154, presentada el 30 de octubre de 2003 (Tratamiento de degeneración macular).
- 15 Dependiendo de la enfermedad para tratar y de la condición del sujeto, los polimorfos de la invención pueden administrarse por las vías de administración oral, parenteral (p.ej., intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, ICV, inyección o infusión intracisternal, inyección subcutánea o implantación), pulverizador de inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica y pueden formularse, solos o conjuntamente, en formulaciones de dosificación unitaria adecuadas que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales apropiados para cada vía de administración. Debido a que los polimorfos individuales tienen diferentes propiedades de disolución, estabilidad y otras, el polimorfo óptimo usado en los procedimientos de tratamiento puede depender de la vía de administración. Por ejemplo, se usan preferiblemente las formas que son fácilmente solubles en soluciones acuosas para proporcionar formas de dosificación líquidas, mientras que las formas que exhiben una gran estabilidad térmica pueden preferirse en la fabricación de formas de dosificación sólidas (p.ej., comprimidos y cápsulas).

Aunque las características térmicas de los polimorfos, en algunos casos, pueden afectar a su biodisponibilidad, las cantidades de polimorfos que son terapéutica y profilácticamente efectivas en el tratamiento de diversas enfermedades de afecciones pueden determinarse fácilmente por los especialistas en la materia de las técnicas farmacéuticas o médicas. En ciertas realizaciones de la invención, se administra un polimorfo por vía oral y en dosis diarias individuales o divididas en una cantidad de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 150 mg/día, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 mg/día. En otras realizaciones, se administra un polimorfo cada dos días en una cantidad de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 150 mg/día, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 mg/día.

La invención engloba composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria individuales que pueden usarse en procedimientos de tratamiento y prevención, que comprenden uno o más polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona y opcionalmente uno o más excipientes o diluyentes. Las composiciones y formas de dosificación específicas se divulgan en diversas patentes y solicitudes de patente. En una realización, una forma de dosificación individual comprende un polimorfo en una cantidad de aproximadamente 5, 10, 25 o 50 mg.

6. EJEMPLOS

6.1 CRIBADO DE POLIMORFOS

Se llevó a cabo un cribado de polimorfos para generar las diferentes formas sólidas de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona como sigue.

Se trató una muestra pesada de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona (habitualmente aproximadamente 10 mg) con alícuotas del disolvente de prueba. Los disolventes eran de pureza de reactivo o HPLC. Las alícuotas eran habitualmente de aproximadamente 200 µl. Entre adiciones, se agitó o sometió a sonicación habitualmente la mezcla. Cuando se disolvieron los sólidos, como se juzga por inspección visual, se calcularon las solubilidades estimadas. Se estimaron las solubilidades a partir de estos experimentos basándose en el disolvente total usado para proporcionar una solución. Las solubilidades reales pueden ser mayores que las calculadas debido al uso de alícuotas de disolvente demasiado grandes o a una tasa de disolución lenta.

Se crearon las muestras generando soluciones (habitualmente de aproximadamente 30 mg en 20 ml) a temperaturas elevadas, filtrando y dejando que la solución se evapore en un vial abierto (evaporación rápida en caliente) o en un vial cubierto con lámina de aluminio que contiene perforaciones (evaporación lenta en caliente).

Se efectuaron también experimentos de suspensión. Se dispusieron habitualmente 25 mg de sólido en 3 o 5 ml de disolvente. Se dispusieron entonces las muestras en agitadores orbitales a temperatura ambiente o 40 °C durante 4-10 días.

- 5 Se efectuaron las cristalizaciones usando diversos procedimientos de enfriamiento. Se disolvió el sólido en un disolvente a una temperatura elevada (p.ej., aproximadamente 60 °C), se filtró rápidamente y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez a temperatura ambiente, se trasladaron las muestras que no cristalizaron a una nevera. Se retiraron los sólidos por filtración y decantación y se dejaron secar al aire. Se efectuaron enfriamientos acelerados disolviendo sólido en un disolvente a una temperatura aumentada (p.ej., aproximadamente 45- 65° C)
- 10 seguido de enfriamiento en un baño de hielo seco/acetona.

Se efectuaron los estudios de higroscopicidad disponiendo porciones de cada polimorfo en una cámara a 84 % de humedad relativa durante aproximadamente una semana.

- 15 Se llevaron a cabo estudios de desolvatación calentando cada polimorfo en una estufa a 70 °C durante aproximadamente una semana.

Se llevaron a cabo experimentos de interconversión elaborando suspensiones que contienen dos formas en un disolvente saturado. Se agitaron las suspensiones durante aproximadamente 7-20 días a temperatura ambiente. Se recuperaron los sólidos insolubles por filtración y se analizaron usando XRPD.

20

6.2 PREPARACIÓN DE FORMAS POLIMÓRFICAS

Se prepararon ocho formas sólidas de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-dione como se describe a continuación.

25

Se obtuvo la forma A por cristalización a partir de diversos disolventes no acuosos, incluyendo 1-butanol, acetato de butilo, etanol, acetato de etilo, metanol, metiletilcetona y tetrahidrofurano. Se obtuvo también la forma B por cristalización a partir de los disolventes hexano, tolueno y agua. Se obtuvo la forma C a partir de evaporaciones, suspensiones y enfriamientos lentos en sistemas disolventes de acetona. Se obtuvo la forma D a partir de evaporaciones en sistemas disolventes de acetonitrilo. Se obtuvo la forma E lo más fácilmente suspendiendo 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en agua. Se obtuvo la forma F por desolvatación completa de la forma E. Se encuentra que es un material cristalino no solvatado que funde aproximadamente a 269 °C. Se obtuvo la forma G suspendiendo las formas B y E en THF. Se obtuvo la forma H estresando la forma E a temperatura ambiente y 0 % de HR durante 7 días.

30

35

6.2.1 SÍNTESIS DE LOS POLIMORFOS B Y E (Referencia)

La forma B es el polimorfo deseado para el ingrediente farmacéutico activo (API) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Esta forma se ha usado en la formulación de API en producto farmacológico para estudios clínicos. Se produjeron tres lotes como mezclas aparentes de los polimorfos en el API no micronizado de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona.

40

Se llevó a cabo el trabajo de desarrollo para definir un proceso que generaría el polimorfo B a partir de esta mezcla de polimorfos y podría implementarse para controles polimórficos estrictos en los lotes de validación y la fabricación futura de API de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Se efectuó la caracterización de las formas polimórficas producidas durante el trabajo por XRPD, DSC, TGA y KF.

45

Se desarrolló también un proceso para la preparación a gran escala de la forma E. Se preparó material del polimorfo E para llevar a cabo una comparación con el producto farmacológico polimorfo B en la prueba de disolución de cápsula de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Se agitaron 150 g de una mezcla de polimorfos en 3 l de agua a temperatura ambiente durante 48 horas. Se recogió el producto por filtración y se secó a 25 °C durante 24 horas a vacío. Los análisis de XRPD, DSC, TGA, KF y HPLC confirmaron que el material aislado era polimorfo E.

50

55

En un trabajo preliminar, se demostró que agitar una suspensión de una mezcla de polimorfos de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona con agua a alta temperatura (75 °C) durante un periodo prolongado de tiempo convertía esta mezcla de polimorfos exclusivamente en la forma B. Se identificaron varios parámetros específicos incluyendo temperatura, volumen de disolvente y parámetros de secado (temperatura y vacío). Se usaron análisis de XRPD, DSC, TGA, KF y HPLC para caracterizar todos los lotes. Después de completar el trabajo

60

de optimización, se aumentó la escala del proceso a 100-200 g en tres lotes de API. Se llevaron a cabo estudios de secado a 20°C, 30 °C, 40 °C y 65 °C con un vacío de 150 mm de Hg. Se muestran los resultados en las Tablas 1-5.

Se estudiaron los periodos de enfriamiento y mantenimiento de la suspensión de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Los datos de laboratorio experimentales sugieren que el polimorfo B parece formarse primero, y con el tiempo ocurre el equilibrado a polimorfo E en condiciones de TA, generando por lo tanto una mezcla de polimorfos B y E. Este resultado apoya el hecho de que el polimorfo B parece ser un producto cinético, y que el tiempo de procesamiento extendido convierte el material en polimorfo E, dando como resultado una mezcla de polimorfos B y E.

10

Se desarrolló un procedimiento de laboratorio para producir exclusivamente polimorfo B de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. El procedimiento incluye una suspensión acuosa de 10 volúmenes agitada a ~75 °C durante 6-24 horas. Se han identificado los siguientes parámetros de proceso preferidos:

15 1. Temperatura de suspensión caliente de 70-75 °C.

2. Filtración de producto de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona a 65-75 °C.

3. Se prefiere el secado a vacío a 60-70 °C para una retirada eficiente del agua no unida de la torta húmeda de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona.

25 4. La etapa de filtración de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona puede ser una operación sensible al tiempo. Se prefiere el uso de un equipo de separación de sólido-líquido eficiente.

30 5. Periodos de mantenimiento de la torta húmeda de agua de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona a KF superiores al 5 % pueden causar el equilibrado cinético del polimorfo B a polimorfos mixtos de E y B.

Se consiguió el secado a KF <4,0 % de agua en ~3 horas (30-70 °C, 152 mm de Hg). Los polimorfos B y E se distinguían por los niveles de agua medidos por KF y TGA. La muestra de referencia de polimorfo B es API micronizado. Para hacer una comparación precisa por XRPD, se molieron ligeramente las muestras antes de someter al análisis. Esto aumenta la claridad de la identificación de la forma polimórfica. Se analizaron todas las muestras por XRPD, DSC, TGA, KF y HPLC.

30 **Tabla 1: Estudios preliminares**

Cantidad	Condiciones de reacción	Análisis	Resultados/conclusión
2 g	Agua, ta, 48 h	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo E
25 g	Agua, ta, 48 h	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo E
5 g	Agua, 70-75 °C, 24 h y entonces ta 24 h	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo B
1 g	Acetona-agua 9:1, evap. lenta	XRPD, DSC, TGA, KF	Mezcla polimórfica
1 g	175 °C 1 h en estufa	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo A
0,5 g (polimorfo A)	Agua, ta, 24 h	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo E
1 g de polimorfo B	Agua, ta, 48 h	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo E
1 g de polimorfo E	Agua, 70-75 °C, 24 h	XRPD, DSC, TGA, KF	Polimorfo B
1 g	Suspensión en heptano	XRPD, DSC, TGA, KF	Sin cambios

Tabla 2. Optimización de temperatura, tiempo y volumen de disolvente

Cantidad	Cantidad de agua (ml)	Temp. (°C)	Tiempo (h)	Resultados/conclusión
10 g	50	75	6	Mezcla
10 g	50	75	24	Polimorfo B
10 g	100	70	6	Polimorfo B
10 g	100	70	14	Polimorfo B
10 g	100	70	21	Polimorfo B
10 g	100	75	6	Polimorfo B
10 g	100	75	24	Polimorfo B
10 g	100	75	6	Polimorfo B
10 g	100	75	19	Polimorfo B
10 g	100	75	14	Polimorfo B
10 g	100	75	24	Polimorfo B
5 g	100	75	18	Polimorfo B
10 g	100	80	6	Polimorfo B
10 g	100	80	20	Polimorfo B

10 g	200	45	6	Polimorfo B + E
10 g	200	45	24	Polimorfo E
10 g	200	60	48	Polimorfo B
10 g	200	75	6	Mezcla
10 g	200	75	24	Polimorfo B
10 g	200	75	13	Polimorfo B
10 g	200	75	24	Polimorfo B

Se determinó que las condiciones óptimas eran 10 volúmenes de disolvente (H₂O), 70-80 °C durante 6-24 horas.

Tabla 3: Tiempo de mantenimiento

Cantidad	Condiciones de reacción	Tiempo de mantenimiento (h)	Temp. de mantenimiento (°C)	Resultados/ conclusión
5 g	Agua, 70-75 °C, 24 h	24	23-25	Polimorfo B
1 g de polimorfo B	Agua, 70-75 °C, 24 h	48	23-25	Polimorfo E
2 g	Agua, 40 ml	16	23-25	Polimorfo E
150 g	Agua, 3,0 l	24	23-25	Polimorfo E
150 g	Agua, 3,0 l	48	23-25	Polimorfo E
10 g	Agua, 100 ml, 24 h, 75 °C	18	23-25	Polimorfo B
10 g	Agua, 100 ml, 24 h, 75 °C	18	40	Polimorfo B
10 g	Agua, 200 ml, 24 h, 75 °C	14	-5	Mezcla
10 g	Agua, 200 ml, 24 h, 75 °C	14	23-25	Polimorfo E
10 g	Agua, 200 ml, 24 h, 75 °C	14	40	Mezcla
10 g	Agua, 100 ml, 24 h, 75 °C	21	23-25	Polimorfo E
10 g	Agua, 100 ml, 24 h, 75 °C	21	40	Mezcla
10 g	Agua, 100 ml, 14 h, 75 °C	2	23-25	Mezcla

5

El tiempo de mantenimiento dio resultados mixtos y se determinó que el material debería filtrarse a 60-65 °C y lavarse el material con 0,5 volúmenes de agua caliente (50-60 °C).

Tabla 4: Experimentos de aumento de escala

Cantidad	Cantidad de agua (l)	Temp. (°C)	Tiempo (h)	Resultados/ conclusión
100 g	1,0	75	6	Polimorfo B
100 g	1,0	75	22	Polimorfo B
100 g	1,0	75	6	Polimorfo B
100 g	1,0	75	24	Polimorfo B
100 g	1,0	75	6	Polimorfo B
100 g	1,0	75	22	Polimorfo B

10

Tabla 5: Estudios de secado

Cantidad	Tiempo de secado (h)	Temp. de secado (°C)	Vacío (mm de Hg)	KF§ (%)	Resultados/ conclusión
100 g	0	-	-	3,690	Polimorfo B
100 g	3	30	152	3,452	Polimorfo B
100 g	8	30	152	3,599	Polimorfo B
100 g	0	-	-	3,917	Polimorfo B
100 g	5	40	152	3,482	Polimorfo B

100 g	22	40	152	3,516	Polimorfo B
100 g	3	40	152	3,67	Polimorfo B
100 g	22	40	152	3,55	Polimorfo B

*Condiciones de reacción: agua 1 l, 75 °C, 22-24 h; § media de 2 rondas

Los estudios de secado determinaron que el material debería secarse a 35-40 °C, 125-152 mm de Hg durante 3 a 22 h o hasta que el contenido de agua alcanzara ≤ 4 % p/p.

5

Para la preparación a gran escala del polimorfo E (5222-152-B), se cargó un matraz de fondo redondo de 5 l con 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisindol-2-il)piperidin-2,6-diona (150 g, 0,579 mol) y agua (3000 ml, 20 vol). Se agitó mecánicamente la mezcla a temperatura ambiente (23-25 °C) durante 48 h bajo atmósfera de nitrógeno.

10 Se tomaron muestras después de 24 h y 48 h antes de filtrar la mezcla y secar al aire sobre el filtro durante 1 h. Se transfirió el material a una bandeja de secado y se secó a temperatura ambiente (23-25 °C) durante 24 h. El análisis de KF en el material secado mostró un contenido de agua del 11,9 %. Se sometió al material a análisis de XRPD, TGA, DSC y HPLC. El análisis mostró que el material era polimorfo E puro.

15 Para la preparación a gran escala de polimorfo B (5274-104), se cargó un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 2 l con 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisindol-2-il)piperidin-2,6-diona (mezcla polimórfica, 100 g, 0,386 mol) y agua (1000 ml, 10,0 vol). Se calentó la mezcla a 75 °C durante aproximadamente 30 minutos con agitación mecánica bajo atmósfera de nitrógeno.

20 Se tomaron muestras después de 6 h y 24 h antes de dejar enfriar la mezcla a 60-65 °C, se filtró y se lavó el material con agua caliente (50-60 °C) (50 ml, 0,5 vol). Se transfirió el material a una bandeja de secado y se secó a 30 °C, 152 mm de Hg durante 8 h. El análisis de KF en el material secado mostró un contenido de agua del 3,6 %. Después de moler el material, se sometió a análisis de XRPD, TGA, DSC y HPLC. El análisis mostró que el material era polimorfo B puro. Se muestran los resultados de los análisis en las Figuras 32-46.

25

6.3 MEDIDAS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVO

Se llevaron a cabo análisis de difracción de rayos X de polvo en un difractómetro de rayos X de polvo Shimadzu XRD-6000 usando radiación de Cu $K\alpha$. El instrumento está equipado con un tubo de rayos X de foco fino. Se fijaron el voltaje y amperaje del tubo a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Se fijaron las ranuras de divergencia y difusión a 1° y se fijó la ranura receptora a 0,15 mm. Se detectó la radiación difractada por un contador de centelleo de NaI. Se usó un barrido continuo de 2θ a 3°/min (0,4 s/etapa de 0,02°) desde 2,5 grados 2θ a 40 grados 2θ . Se analizó un patrón de silicio cada día para comprobar el alineamiento del producto.

30

35 Se llevaron a cabo también los análisis de difracción de rayos X de polvo usando radiación de Cu $K\alpha$ en un difractómetro Inel XRG-3000 equipado con un detector sensible a la posición curvado. Se recogieron los datos instantáneamente en un intervalo de 2θ de 120° a una resolución de 0,03°. Se fijaron el voltaje y la corriente del tubo a 40 kV y 30 mA, respectivamente. Se analizó un patrón de silicio cada día para comprobar el alineamiento del instrumento. Se muestra en las figuras solo la región entre los 2,5 y 40 grados 2θ .

40

6.4 ANÁLISIS TÉRMICOS

Se llevaron a cabo los análisis de TG en un instrumento TA TGA 2050 o 2950. Los patrones de calibración eran níquel y alumel. Se dispusieron aproximadamente 5 mg de muestra en una cubeta, se pesaron precisamente y se insertaron en el horno de TG. Se calentaron las muestras en nitrógeno a una tasa de 10 °C/min, hasta una temperatura final de 300 o 350 °C.

45

Se obtuvieron los datos de DSC en un instrumento TA 2920. El patrón de calibración era indio. Se dispusieron muestras de aproximadamente 2-5 mg en una cubeta de DSC y se registró precisamente el peso. Se usaron cubetas engarzadas con una perforación para análisis y se calentaron las muestras bajo nitrógeno a una tasa de 10 °C/min, hasta una temperatura final de 350 °C.

50

Se llevó a cabo microscopía de platina caliente usando una platina caliente Kofler montada en un microscopio Leica. Se calibró el instrumento usando patrones de USP.

55

Se utilizó un instrumento TA TGA 2050 con interfaz con un espectrofotómetro IR con transformada de Fourier Nicolet modelo 560, equipado con una fuente Global, divisor de haz XT/KBr y detector de sulfato de triglicina

deuterado (DTGS) para experimentos de TG-IR. Se calibró la longitud de onda del espectrómetro de IR con poliestireno el día de uso, mientras que se calibró la TG en temperatura y peso bisemanalmente, usando indio para la temperatura de calibración. Se pesó una muestra de aproximadamente 10 mg de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona en una cubeta de aluminio y se calentó de 25 a 30 °C a 200 °C a una tasa de 20 °C/min con purga de helio. Se obtuvieron espectros IR en serie, representando cada espectro 32 barridos coañadidos a una resolución de 4 cm⁻¹. Se recogieron los espectros con un tiempo de repetición de 17 segundos. Se presentan los datos de TG/IR como gráficos de Gram-Schmidt y espectros IR ligados al tiempo. Los gráficos de Gram-Schmidt muestran la intensidad IR total frente al tiempo; por ello, los volátiles pueden identificarse en cada punto temporal. Muestran también cuándo se detectan los volátiles. A partir de los gráficos de Gram-Schmidt, se seleccionaron puntos temporales y se presentan los espectros IR de estos puntos temporales en los espectros ligados apilados. Cada espectro identifica los volátiles que se desprenden en ese punto temporal. Se identificaron los volátiles a partir de una búsqueda en la colección espectral en fase de vapor de TGA HR Nicolet. Se presentan también los resultados de coincidencia con la colección para mostrar el vapor identificado.

15 **6.5 MEDIDAS DE ESPECTROSCOPIA**

Se adquirieron los espectros Raman en un espectrómetro Raman con transformada de Fourier Nicolet modelo 750 utilizando una longitud de onda de excitación de 1064 nm y aproximadamente 0,5 W de potencia láser de Nd:YAG. Los espectros representan de 128 a 256 barridos coañadidos a resolución de 4 cm⁻¹. Se prepararon las muestras para análisis disponiendo el material en un contenedor de muestra y colocando ésta en el espectrómetro. Se calibró la longitud de onda del espectrómetro usando azufre y ciclohexano en el momento de uso.

Se adquirieron los espectros de IR medio en un espectrómetro IR con transformada de Fourier Nicolet modelo 860 equipado con una fuente Globar, divisor de haz XT/KBr y un detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS). Se utilizó un accesorio de reflectancia difusa de Spectra-Tech, Inc. para muestrear. Cada espectro representa 128 barridos coañadidos a una resolución espectral de 4 cm⁻¹. Se adquirió un conjunto de datos de fondo con un espejo de alineamiento en posición. Se adquirió entonces un conjunto de datos de muestra de haz individual. Posteriormente, se adquirió un espectro de log 1/R (en que R= reflectancia) dividiendo los dos conjuntos de datos entre sí. Se calibró el espectrofotómetro (longitud de onda) con poliestireno en el momento de uso.

30

6.6 MEDIDAS DE ABSORCIÓN/DESORCIÓN DE HUMEDAD

Se recogieron los datos de absorción/desorción de humedad en un sistema de equilibrado de humedad VTI SGA-100. Para las isotermas de absorción, se usó un intervalo de absorción de 5 a 95 % de humedad relativa (HR) y un intervalo de desorción de 95 a 5 % de HR en incrementos de 10 % de HR para análisis. La muestra no se secó antes del análisis. Los criterios de equilibrio usados para el análisis eran menos de un 0,0100 % en peso de cambio en 5 minutos, con un tiempo de equilibrado máximo de 3 horas si no se satisfacía el criterio de peso. Los datos no se corrigieron por el contenido de humedad inicial de las muestras.

40 **6.7 MEDIDAS DE RMN DE PROTÓN EN SOLUCIÓN**

Se recogieron los espectros de RMN no anteriormente reseñados en SSCI, Inc, 3065 Kent Avenue, West Lafayette, Indiana. Se adquirieron los espectros de RMN-¹H en fase de solución a temperatura ambiente en un espectrómetro Bruker modelo AM. El espectro de RMN-¹H representa 128 transientes coañadidos recogidos con un pulso de 4 µs y un tiempo de retardo de relajación de 5 segundos. Se multiplicó exponencialmente la caída libre de la inducción (FID) por un factor de amplificación de línea lorentziana de 0,1 Hz para mejorar la relación de señal a ruido. Se procesó el espectro de RMN utilizando el software GRAMS, versión 5.24. Se disolvieron las muestras en dimetilsulfóxido-d₆.

50 **6.8 ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN INTRÍNSECA Y SOLUBILIDAD**

Se realizaron experimentos de disolución intrínseca en forma A (anhidra), forma B (hemihidrato) y forma E (dihidrato) de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona. Se realizaron experimentos de solubilidad en equilibrio en las formas A y B. Se analizaron las alícuotas por espectrofotometría ultravioleta-visible, y se analizaron los sólidos restantes de cada experimento por difracción de rayos X de polvo (XRPD).

6.8.1 PARTE EXPERIMENTAL

6.8.1.1 Disolución

60

Se llevaron a cabo los experimentos de disolución en un aparato de disolución VanKel VK6010-8 equipado con un calentador/circulador VK650A. Se usó un aparato de disolución intrínseca (aparato de Woods). Se comprimieron las muestras a 1,5 toneladas métricas (1000 psi) durante 1 min usando el aparato de Woods en una prensa hidráulica, dando una superficie de muestra de 0,50 cm². Se usó para cada experimento un medio de disolución consistente en 5 900 ml de tampón HCl, pH 1,8, con 1 % de laurilsulfato de sodio. Se desgasificó el medio por filtración a vacío a través de un disco de filtro de nailon de 0,22 μm y se mantuvo a 37 °C. Se rotó el aparato a 50 rpm por cada experimento. Se filtraron las alícuotas inmediatamente usando filtros de jeringa de nailon de 0,2 μm. En algunos casos, se recuperaron los sólidos no disueltos y se analizaron por difracción de rayos X de polvo (XRPD).

10 **6.8.1.2 Solubilidad**

Se realizaron experimentos de solubilidad en equilibrio en un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml sumergido en un baño de aceite de temperatura constante mantenido a 25 °C. Se agitó una muestra sólida de 400-450 mg en 50 ml de medio de disolución (tampón HCl, pH 1,8, con 1 % de laurilsulfato de sodio) usando una barra de agitación mecánica. Se filtraron las alícuotas usando filtros de jeringa de nailon de 0,22 μm y se diluyeron inmediatamente 1 ml → 50 ml, y entonces 5 ml → 25 ml con medio de disolución en material de vidrio de clase A, a un factor de dilución final de 250.

20 **6.8.1.3 Espectrofotometría UV-Vis**

Se analizaron soluciones de muestras de disolución y solubilidad con un espectrofotómetro de haz sencillo Beckman DU 640. Se utilizaron una cubeta de cuarzo de 1,000 cm y una longitud de onda de análisis de 228,40 nm. Se taró el detector con una cubeta llena con medio de disolución.

25 **6.8.1.4 Difracción de rayos X de polvo**

Se llevaron a cabo los análisis de XRPD en un difractómetro de rayos X de polvo Shimadzu XRD-6000 usando radiación de Cu Kα. El instrumento está equipado con un tubo de rayos X de foco fino. Se fijaron la potencia y amperaje del tubo a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Se fijaron las ranuras de divergencia y difusión a 1° y se fijó la ranura receptora a 0,15 mm. Se detectó la radiación difractada por un detector de centelleo de NaI. Se usó un barrido continuo de teta/2-teta a 3°/min (0,4 s/etapa de 0,02°) de 2,5 a 40° 2θ. Se analizó un patrón de silicio cada día para comprobar el alineamiento del instrumento. Se empaquetaron las muestras en un contenedor de aluminio con inserción de silicona.

35 **6.8.2 RESULTADOS**

Se resumen en la Tabla 6 los resultados de estos estudios de solubilidad e intrínsecos. Se realizaron ambos experimentos de solubilidad como de disolución en un medio de tampón HCl, pH 1,8, que contiene 1 % de laurilsulfato de sodio. Se encontró que la forma A es inestable en el medio, convirtiéndose en la forma E. Se estimó que las solubilidades de las formas A, B y E eran de 6,2, 5,8 y 4,7 mg/ml, respectivamente. Se estimó que las tasas de disolución de las formas A, B y E eran de 0,35, 0,34 y 0,23 mg/ml, respectivamente.

6.8.2.1 Desarrollo del procedimiento de espectrofotometría UV-Vis

45 Se realizó un barrido de UV-Vis del medio de disolución (con blanco de una cubeta vacía) para identificar cualquier pico interferente. Estaba presente un pico pequeño a 225 nm como se muestra en la Figura 47.

Se analizaron soluciones de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona a concentraciones variables por espectrofotometría UV-Vis. Se realizó un barrido preliminar de una solución a 1,0 mg/ml, con el instrumento con blanco de medio de disolución. La solución era altamente absorbente y ruidosa a 200-280 nm, haciendo necesaria la dilución.

Se barrió entonces una solución a 0,04 mg/ml de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona a 200-300 nm. El gráfico seguía siendo ruidoso entre 200 y 230 nm, como se muestra en la Figura 48. Se diluyó adicionalmente la muestra a 0,008 mg/ml. Un barrido de longitud de onda de 200-350 nm para esta muestra mostró un pico a 228,4 nm sin interferencias, como se muestra en la Figura 49. Por lo tanto, se eligió una longitud de onda de 228,4 nm para análisis de las muestras de solubilidad y disolución.

Se generó una curva de calibración de seis puntos con patrones de las siguientes concentraciones: 0,001 mg/ml, 0,002 mg/ml, 0,005 mg/ml, 0,010 mg/ml, 0,015 mg/ml y 0,020 mg/ml (Notebook 569-90). Se obtuvo un coeficiente de

linealidad de $R^2= 0,9999$ como se muestra en la Figura 50.

6.8.2.2 Solubilidad

5 Se suspendió una muestra consistente en 449,4 mg de forma A en medio de disolución. El tamaño de partícula no se controló. Se tomaron alícuotas a 7, 15, 30, 60, 90 y 150 min. La concentración alcanzó 6,0 mg/ml en el primer punto temporal. La concentración máxima alcanzada era de 6,2 mg/ml, a los 30 min. A partir de este punto, la concentración disminuyó, alcanzando 4,7 mg/ml a los 150 min como en la Figura 51. Se analizaron los sólidos restantes en el punto temporal final por XRPD y se encontró que eran forma E como se muestra en la Tabla 7. No pueden verse en el patrón picos atribuidos a la forma A. Puesto que la concentración no llegaba a una meseta a 4,7 mg/ml, la solubilidad de la forma E puede ser menor que esta.

15 Se suspendió una muestra consistente en 401,4 mg de forma B en medio de disolución. El tamaño de partícula no se controló. Se tomaron alícuotas a 7, 15, 30, 60, 90, 180, 420 y 650 min. La forma B se disolvía mucho más lentamente que la forma A, alcanzando 3,3 mg/ml a los 90 min, La concentración se estabilizó a 5,6-5,7 mg/ml en los tres puntos temporales finales como en la Figura 52. Se mostró que los sólidos restantes eran forma B como en la Tabla 7, sugiriendo que la forma B tiene buena estabilidad en agua.

20 Se da un resumen de las solubilidades en la Tabla 6. Se muestran las cantidades disueltas en cada punto temporal en las Tablas 8 y 9.

Tabla 6: Resumen de resultados

Forma	Solubilidad	Disolución intrínseca nº 1	Disolución intrínseca nº 2	Tasa de disolución intrínseca media
Forma A	6,2 mg/ml	0,35	0,22 ^a	0,29 ^a
Forma B (referencia)	5,8 mg/ml	0,35	0,32	0,34
Forma E (referencia)	4,7 mg/ml	0,21	0,25	0,23

^a. El experimento de disolución de forma A nº 2 puede haberse convertido en la forma E sobre la superficie del disco, sesgando hacia abajo la tasa media.

25

Tabla 7: Detalles experimentales

Experimento	Forma final
Forma A comprimida	A
Forma B comprimida	B
Solubilidad de la forma A	E
Solubilidad de la forma B	B
Disolución de la forma A	-
Disolución de la forma A	A
Disolución de la forma B	-
Disolución de la forma B	B
Disolución de la forma E	E
Disolución de la forma E	-

Tabla 8: Solubilidad de la forma A (referencia)

Punto temporal (min)	Concentración (mg/ml)
7	6,00
15	6,11
30	6,16
60	6,10
90	5,46
150	4,73

30 **Tabla 9: Solubilidad de la forma B**

Punto temporal (min)	Concentración (mg/ml)
7	1,63
15	2,14
30	2,33

60	2,94
90	3,34
180	5,67
420	5,76
650	5,61

6.8.2.3 Disolución intrínseca

Se comprimieron aproximadamente 200 mg de cada una de las formas A y B en discos en el aparato de Woods usando 2 toneladas métricas de presión. Se separaron por rascado posteriormente las muestras, se molieron ligeramente y se analizaron por XRPD. El estudio mostró que compresión y molienda no causan que una forma cambie en ningún caso (véase la Tabla 7).

Se efectuaron dos rondas de disoluciones preliminares. Se fracturaron los discos en cierta medida en ambos experimentos, comprometiendo el requisito de área superficial constante.

El primer experimento de disolución intrínseca que siguió estrictamente el capítulo de la USP sobre disolución intrínseca utilizó aproximadamente 150 mg de cada una de las formas A y B. Se tomaron 7 alícuotas, empezando a 5 min y terminando a 90 min, para mantener las condiciones de sumidero. El experimento dio como resultado perfiles de disolución lineales, con una tasa de 0,35 mg por cm² por minuto para ambas formas. Se realizó el experimento de la forma E después en las mismas condiciones y se añadió a la gráfica para comparación (véase la Figura 53). La tasa de disolución de la forma E era de 0,21 mg por cm² por minuto, significativamente menor que la tasa de disolución de las formas A y B. Esto está en consonancia con las expectativas basadas en los datos de solubilidad. La forma cristalina de los sólidos restantes no cambiaba en ningún caso.

El segundo experimento utilizó aproximadamente 250 mg de cada una de las formas A y B. Se realizó después el experimento de la forma E (135 mg) y se añadió a la gráfica para comparación (véase la Figura 54). Se tomaron 9 alícuotas, empezando a 5 min y terminando a 150 min. Las tasas de disolución eran de 0,22, 0,32 y 0,25 mg por cm² por minuto, respectivamente, para las formas A, B y E. La tasa de disolución para la forma A en este experimento era baja, mientras que las tasas para las formas B y E eran similares a las encontradas en el primer experimento. Se creía que, en este caso, una capa fina del disco de muestra de forma A puede haberse convertido en forma E tras exposición a agua. Esto está apoyado por la evidencia de la rápida conversión de forma A en forma E en el experimento de solubilidad. El patrón de difracción de los sólidos no disueltos no indica un cambio de forma. Sin embargo, el grueso del disco de muestra no se expone a agua. Por lo tanto, se cree que la tasa de disolución intrínseca real de la forma A es cercana a 0,35 mg por cm² por minuto. Estaba disponible una cantidad insuficiente de forma A para repetir el experimento.

Se da un resumen de las tasas de disolución intrínseca en la Tabla 6. Se resumen las cantidades disueltas en cada punto temporal en las Tablas 10 y 11.

Tabla 10: Resultados del experimento de disolución intrínseca nº 1

Punto temporal	Forma A ^a	Forma B ^a	Forma E ^a
5 min	5,76	10,80 ^b	2,70
10 min	7,73	6,85	4,13
20 min	11,31	10,25	6,96
30 min	15,59	14,35	9,60
45 min	21,98	20,57	12,57
60 min	27,11	25,70	15,16
90 min	34,17	34,34	20,82

^a. Los resultados se reseñan como cantidad acumulada disuelta por área unitaria (mg/cm²)

^b. Este punto de datos no se incluye en la gráfica puesto que el valor es mayor que los dos siguientes puntos de datos.

Tabla 11: Resultados del experimento de disolución intrínseca nº 2

Punto temporal	Forma A ^a	Forma B ^a	Forma E ^a
5 min	4,50	5,04	3,06
10 min	5,22	6,12	4,31
20 min	7,54	7,73	11,40
30 min	11,46	12,72	11,93

45 min	15,01	17,33	14,72
60 min	18,38	21,93	18,52
90 min	24,38	31,64	26,24
120 min	30,35	41,31	33,56
150 min	35,26	49,54	40,82

^a. Los resultados se reseñan como cantidad acumulada disuelta por área unitaria (mg/cm²)

6.9 ANÁLISIS DE MEZCLAS DE POLIMORFOS

- 5 Esta invención engloba mezclas de diferentes polimorfos. Como ejemplo de referencia, un análisis de difracción de rayos X de una muestra de producción procuró un patrón que contenía dos picos pequeños vistos aproximadamente a 12,6° y 25,8° 2θ además de aquellos representativos de la forma B. Para determinar la composición de esa muestra, se efectuaron las siguientes etapas:
- 10 1) emparejamiento del nuevo patrón de producción con formas conocidas junto con excipientes y contaminantes farmacéuticos comunes;
- 2) análisis de conglomerados de los picos adicionales para identificar si está mezclada alguna fase desconocida con la forma B original;
- 3) análisis armónico de los picos adicionales para identificar si puede estar presente alguna orientación preferida o si puede haber ocurrido algún cambio en el hábito cristalino; y
- 15 4) indexación de las células unitarias tanto para la forma B como para la nueva muestra de producción para identificar cualquier relación cristalográfica posible.

Basándose en estas pruebas, que pueden adaptarse para el análisis de cualquier mezcla de polimorfos, se determinó que la muestra contenía una mezcla de formas polimórficas B y E.

6.10 FORMA DE DOSIFICACIÓN

La Tabla 12 ilustra una formulación por lotes y formulación de dosificación individual para una dosis unitaria individual de 25 mg de una forma polimórfica de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-3-il)piperidin-2,6-diona.

Tabla 12: Formulación para una cápsula de 25 mg

Material	Porcentaje en peso	Cantidad (mg/comprimido)	Cantidad (kg/lote)
Forma polimórfica de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona	40,0 %	25 mg	16,80 kg
Almidón de maíz pregelatinizado, NF	59,5 %	37,2 mg	24,99 kg
Estearato de magnesio	0,5 %	0,31 mg	0,21 kg
Total	100,0 %	62,5 mg	42,00 kg

Se pasan los componentes de almidón de maíz pregelatinizado (SPRESS B-820) y la forma polimórfica de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona a través de un tamiz (es decir, un tamiz de 710 μm) y se cargan entonces en un mezclador por difusión con un inserto de deflexión y se combinan durante aproximadamente 15 minutos. Se pasa el estearato de magnesio a través de un tamiz (es decir, un tamiz de 210 μm) y se añade al mezclador por difusión. Se encapsula entonces la combinación en cápsulas usando una máquina de relleno de cápsulas de tipo dosificador.

35

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica o forma de dosificación unitaria individual que comprende 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona cristalina y opcionalmente uno o más excipientes o diluyentes, 5 teniendo dicha 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidina-2,6-diona cristalina un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos a 16, 18, 22 y 27 grados 2θ .
2. La composición farmacéutica o forma de dosificación unitaria individual de la reivindicación 1 para uso en un procedimiento de tratamiento o prevención de una enfermedad seleccionada del grupo consistente en 10 enfermedades asociadas a angiogénesis indeseada, cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades inmunitarias.
3. La composición farmacéutica o forma de dosificación unitaria individual para uso de la reivindicación 2, donde la enfermedad es un tumor sólido, un tumor de origen sanguíneo, un síndrome mielodisplásico o una 15 enfermedad mieloproliferativa.
4. La composición farmacéutica o forma de dosificación unitaria individual para uso de las reivindicaciones 2 o 3, donde el procedimiento implica administrar la 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)piperidin-2,6-diona cristalina por una vía de administración oral, parenteral o sublingual.

20

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA A

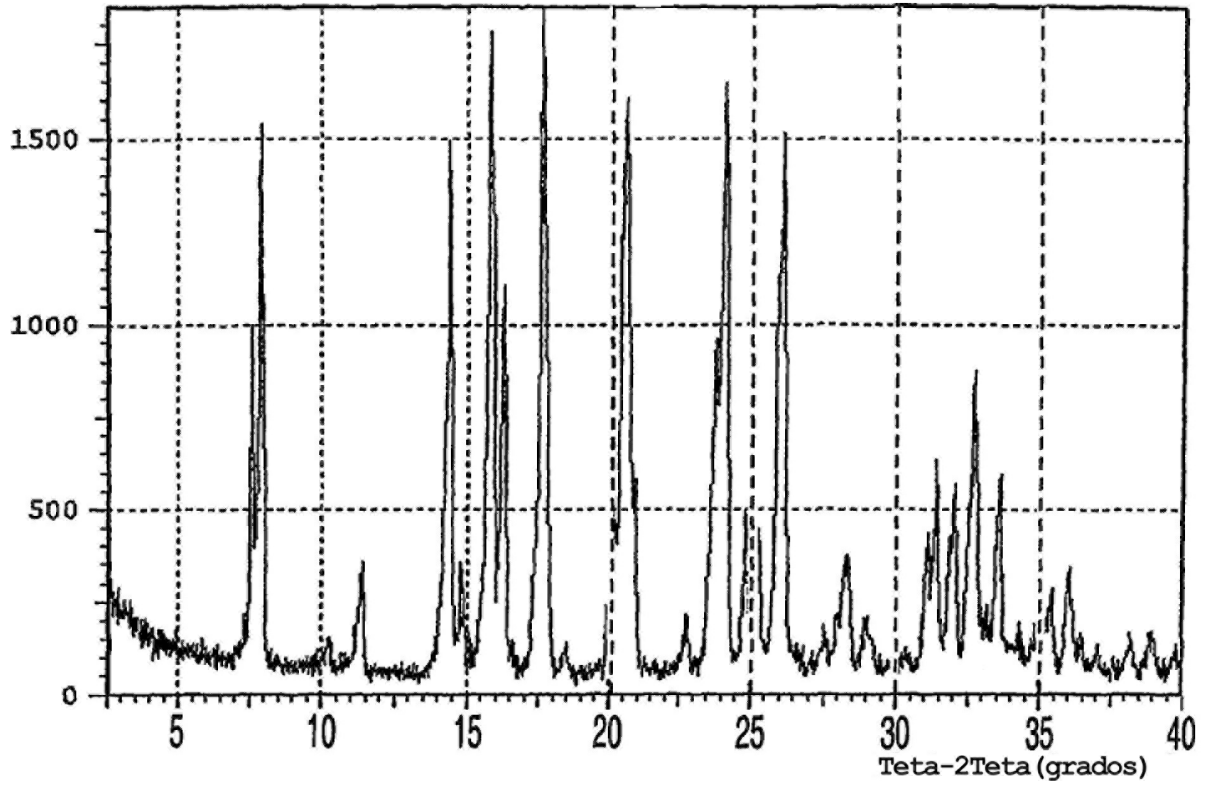


Fig. 1

ESPECTRO IR DE LA FORMA A

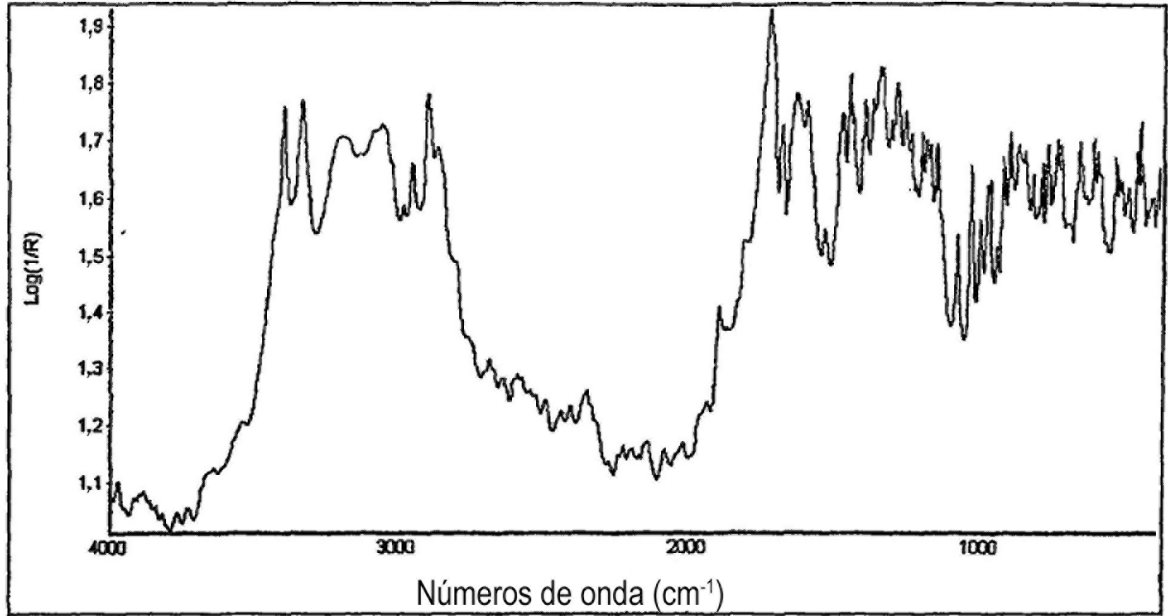


Fig. 2

ESPECTRO DE RAMAN DE LA FORMA A

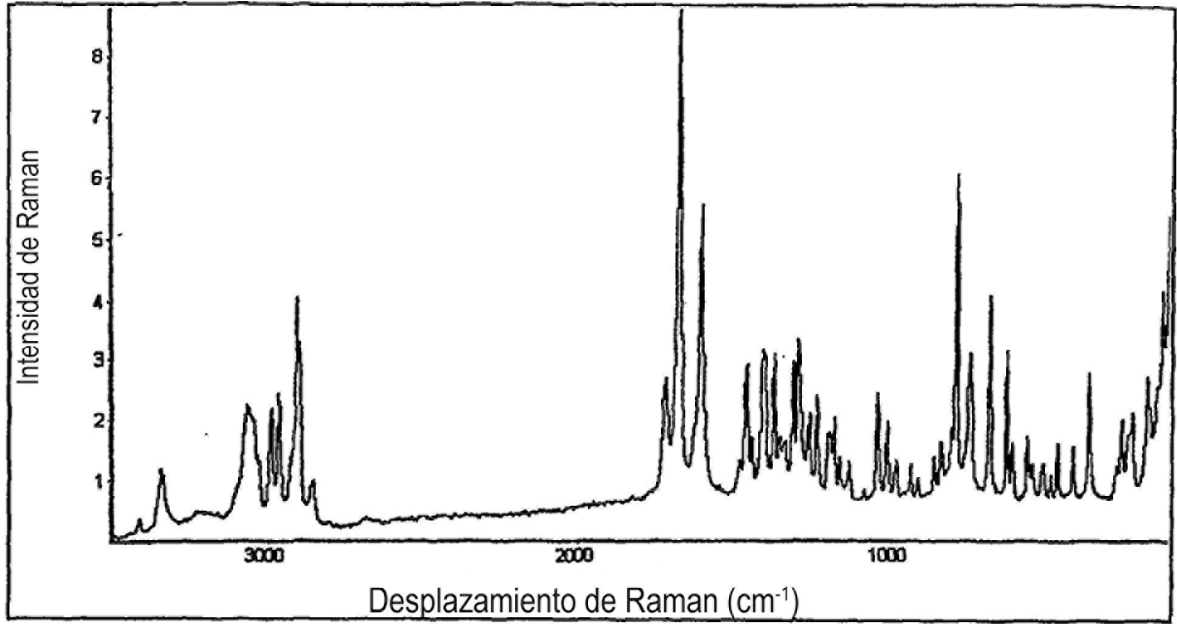
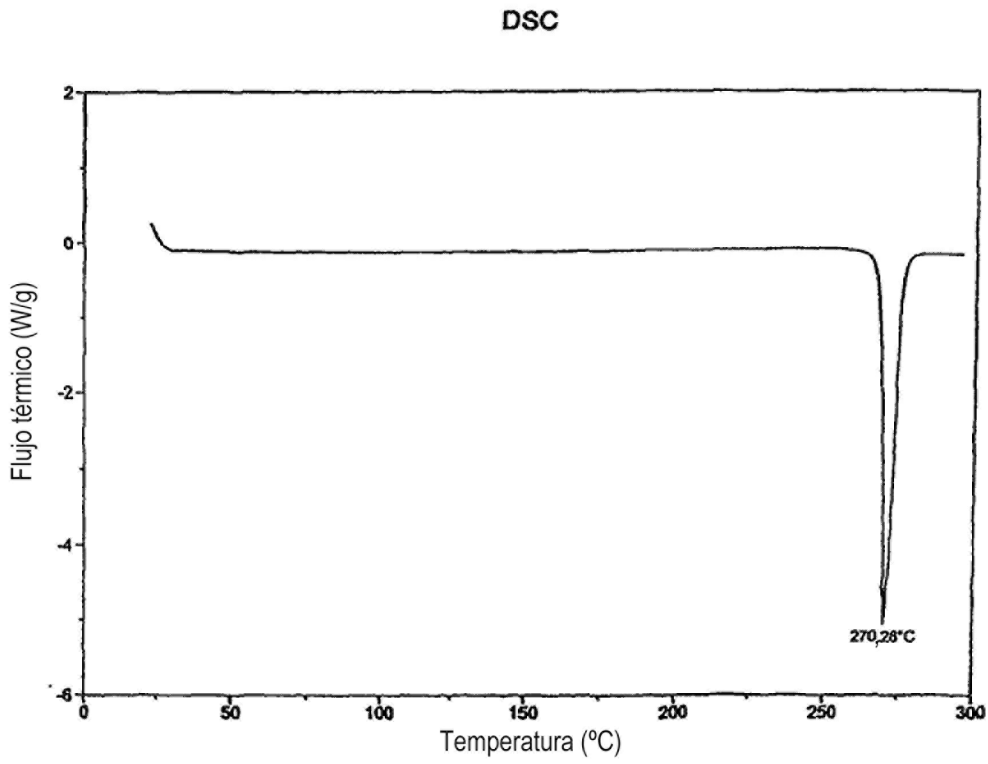
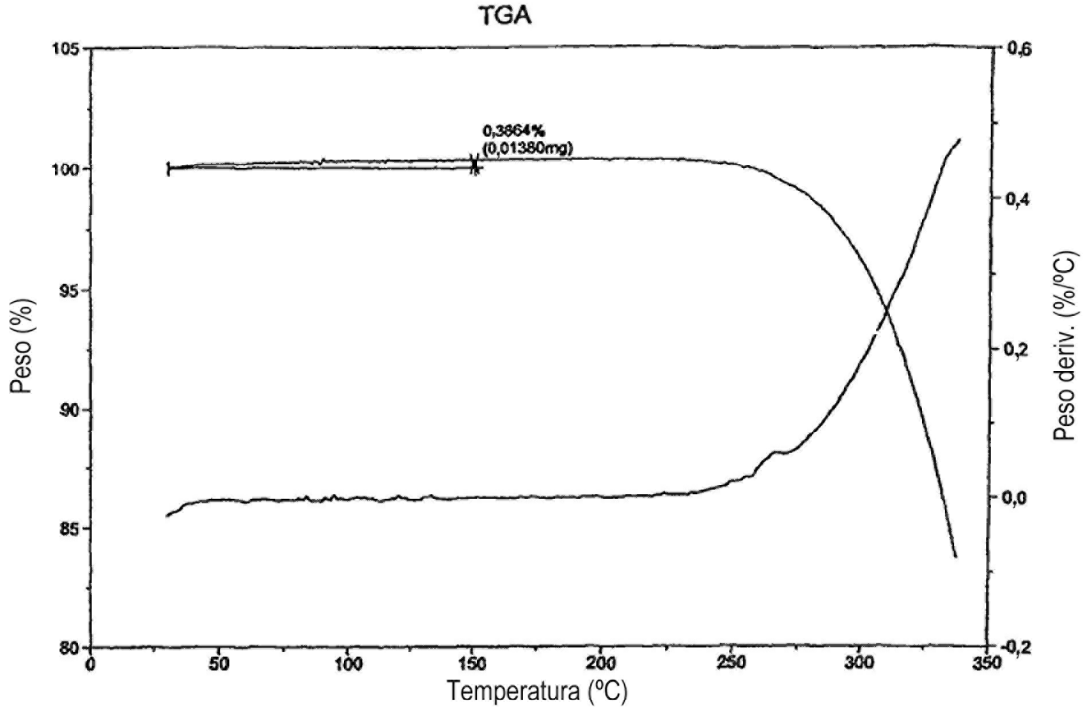


Fig. 3

TGA (ARRIBA) Y DSC (ABAJO) DE LA FORMA A



ISOTERMA DE ABSORCIÓN/DESORCIÓN DE HUMEDAD PARA LA FORMA A

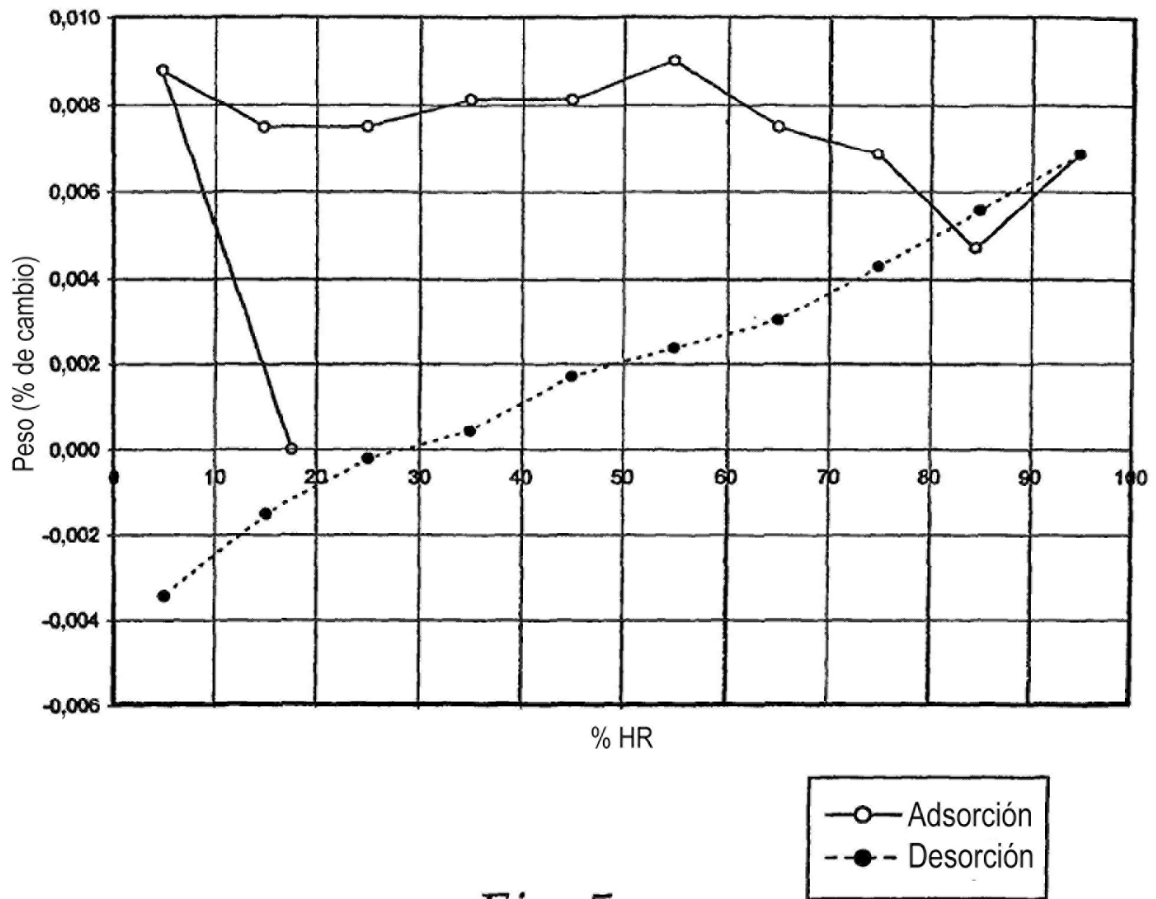


Fig. 5

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA B

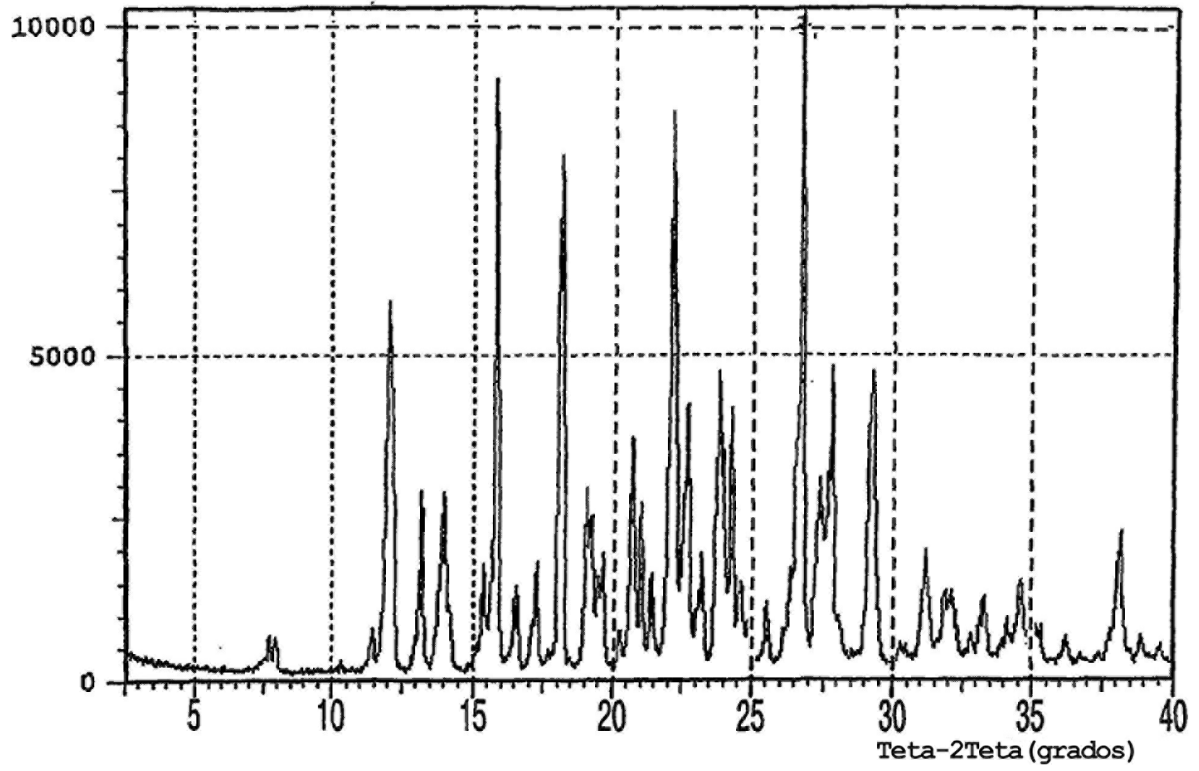


Fig. 6

ESPECTRO IR DE LA FORMA B

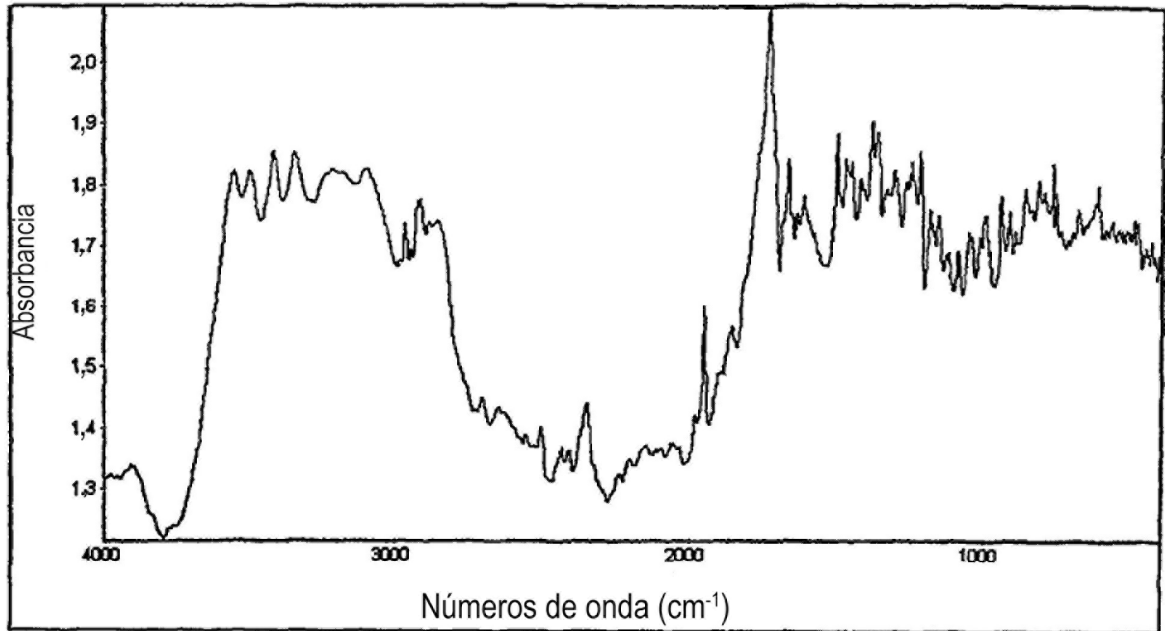


Fig. 7

ESPECTRO DE RAMAN DE LA FORMA B

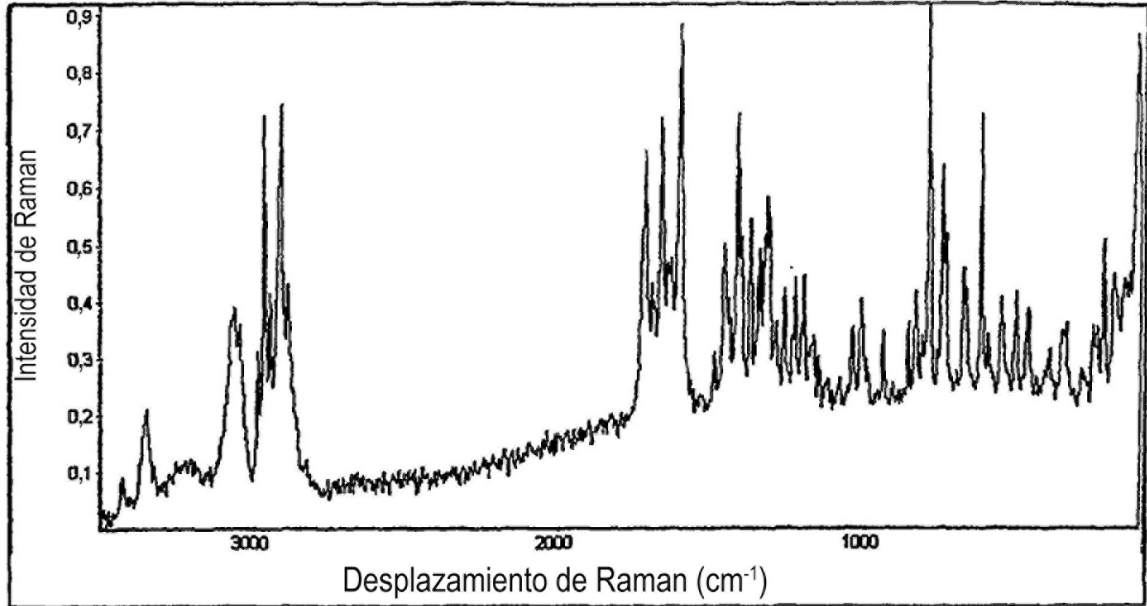
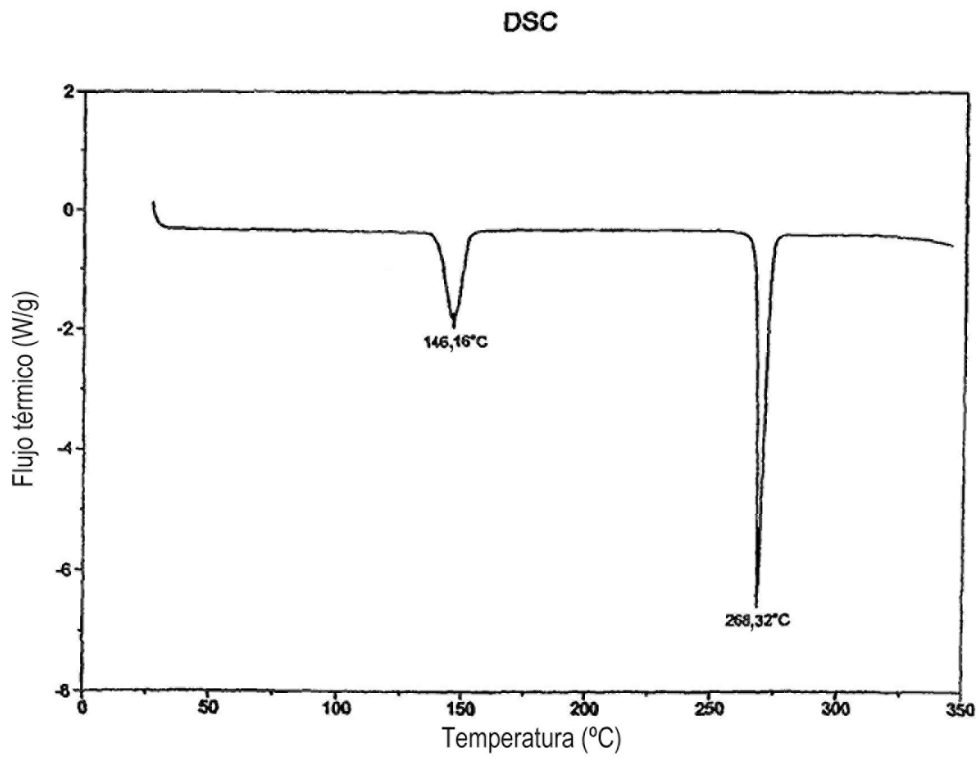
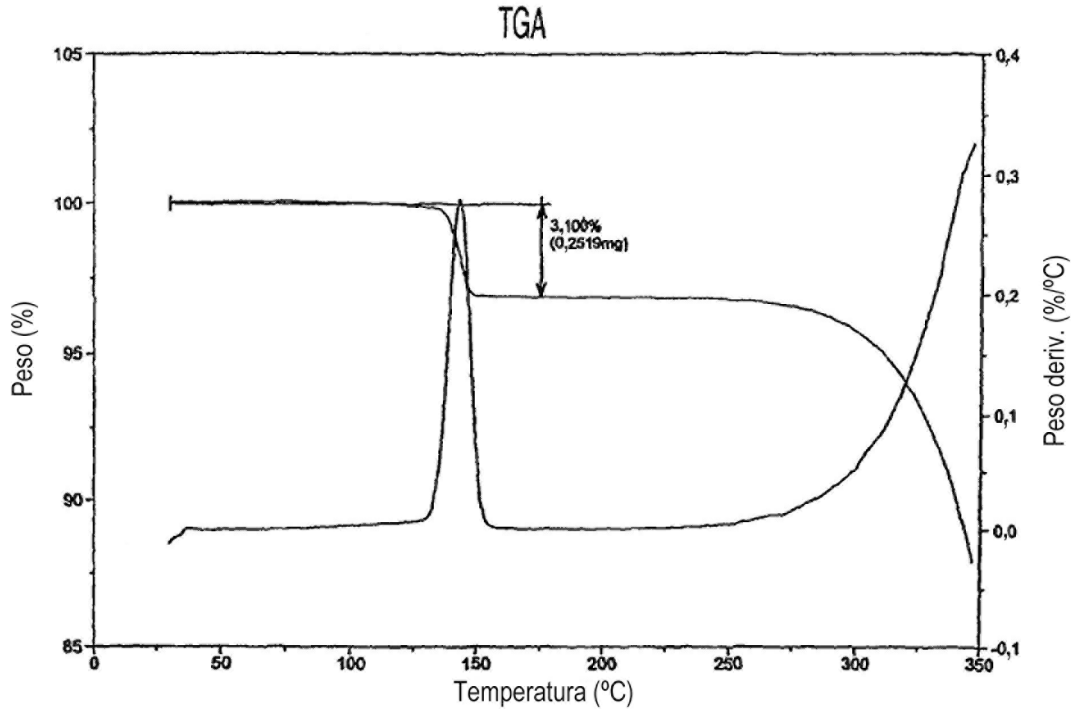


Fig. 8

TGA (ARRIBA) Y DSC (ABAJO) DE LA FORMA B



RESULTADOS DE TGA-IR PARA LA FORMA B

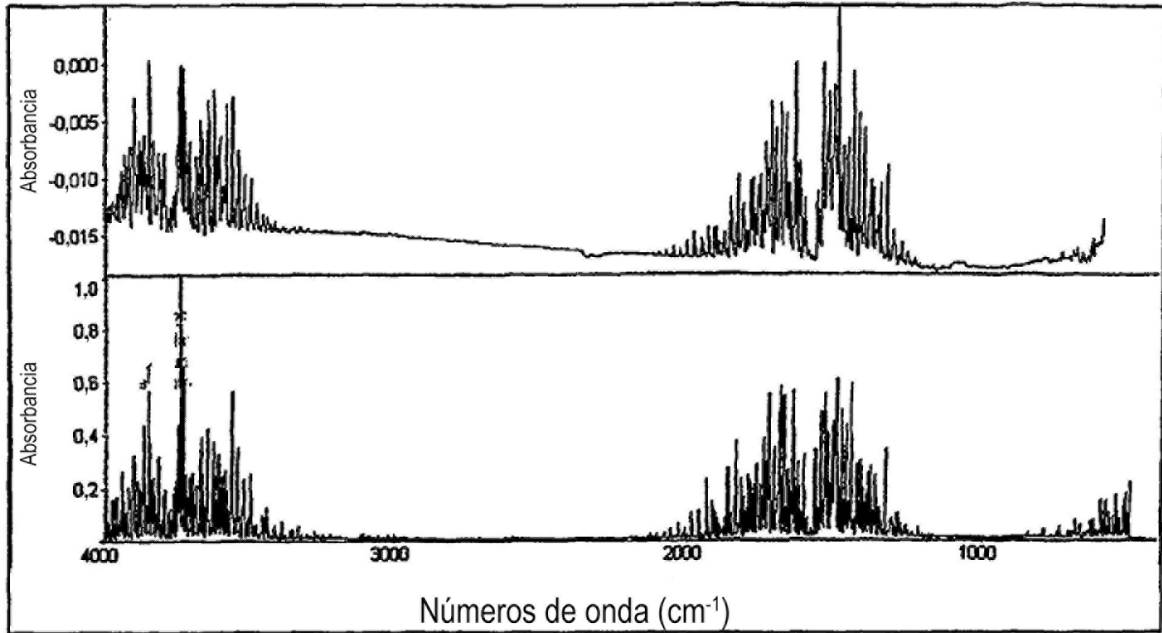


Fig. 10

ISOTERMA DE ABSORCIÓN/DESORCIÓN DE HUMEDAD PARA LA FORMA B

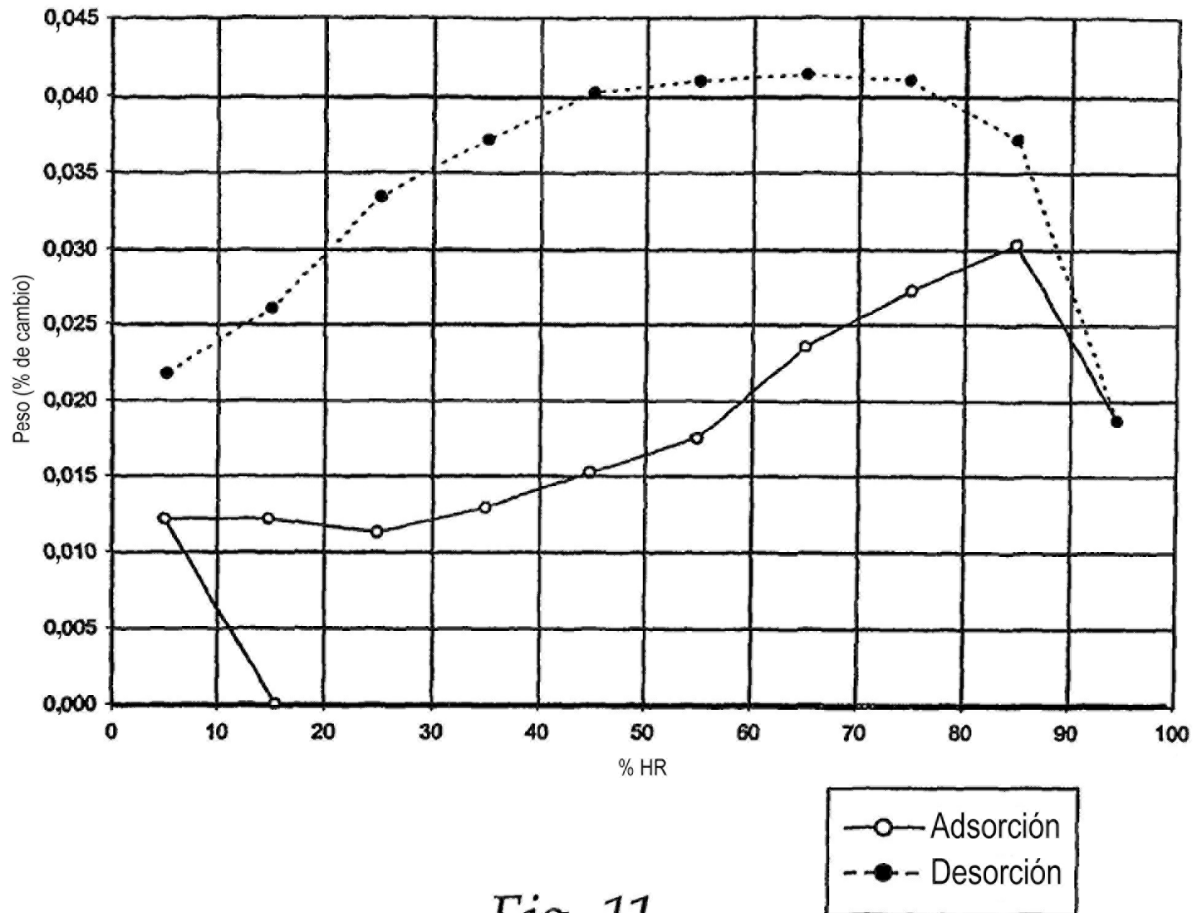


Fig. 11

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA C

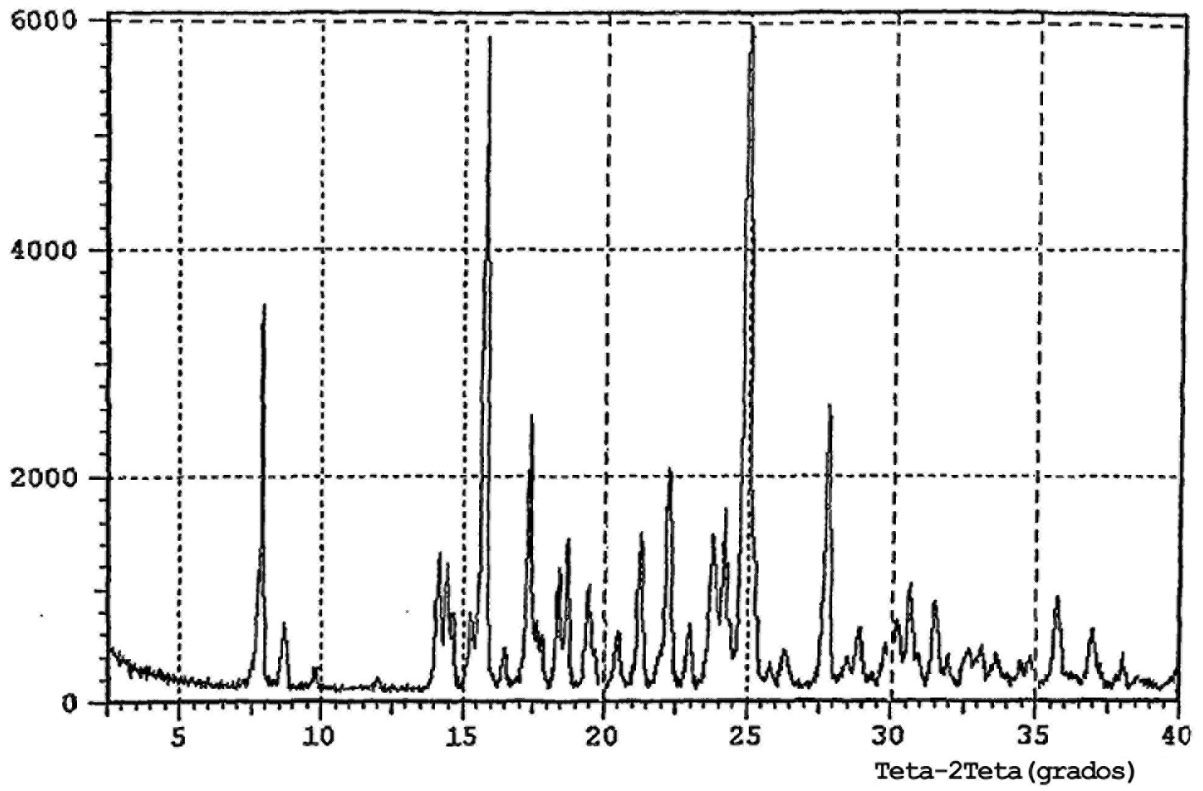


Fig. 12

ESPECTRO IR DE LA FORMA C

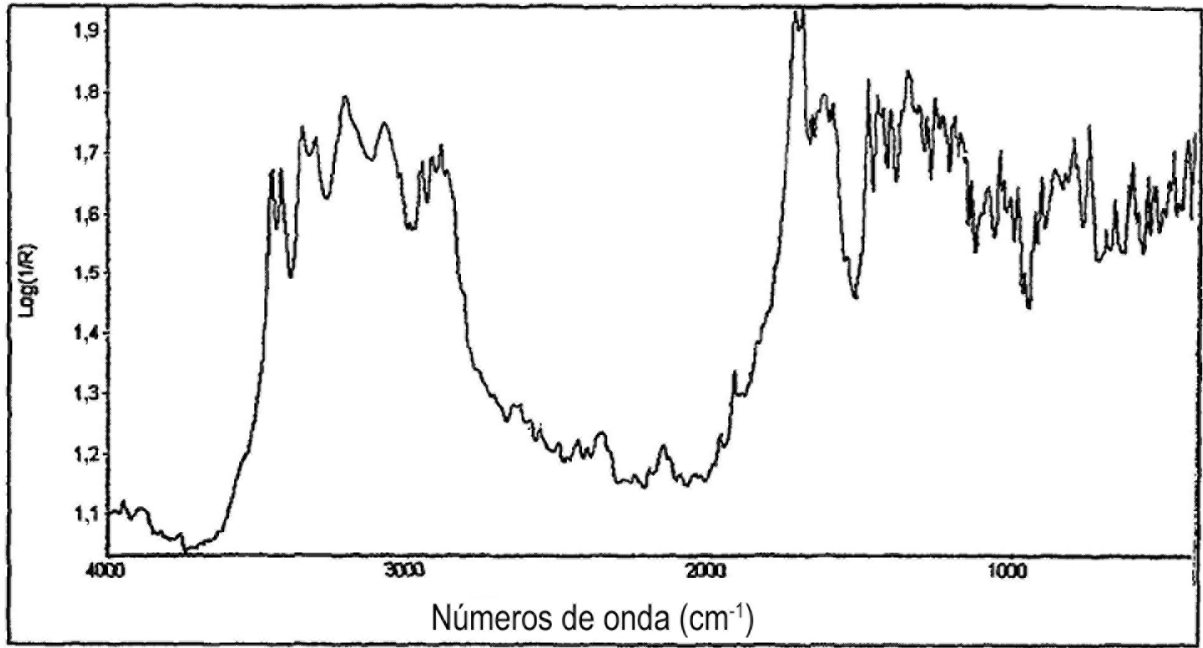


Fig. 13

ESPECTRO DE RAMAN DE LA FORMA C

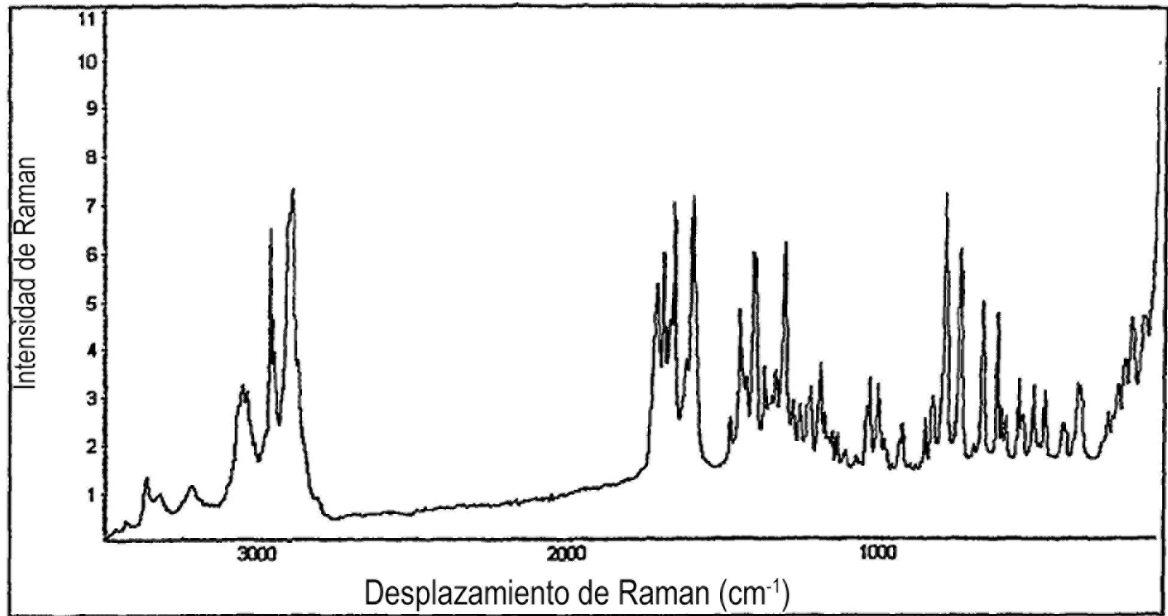
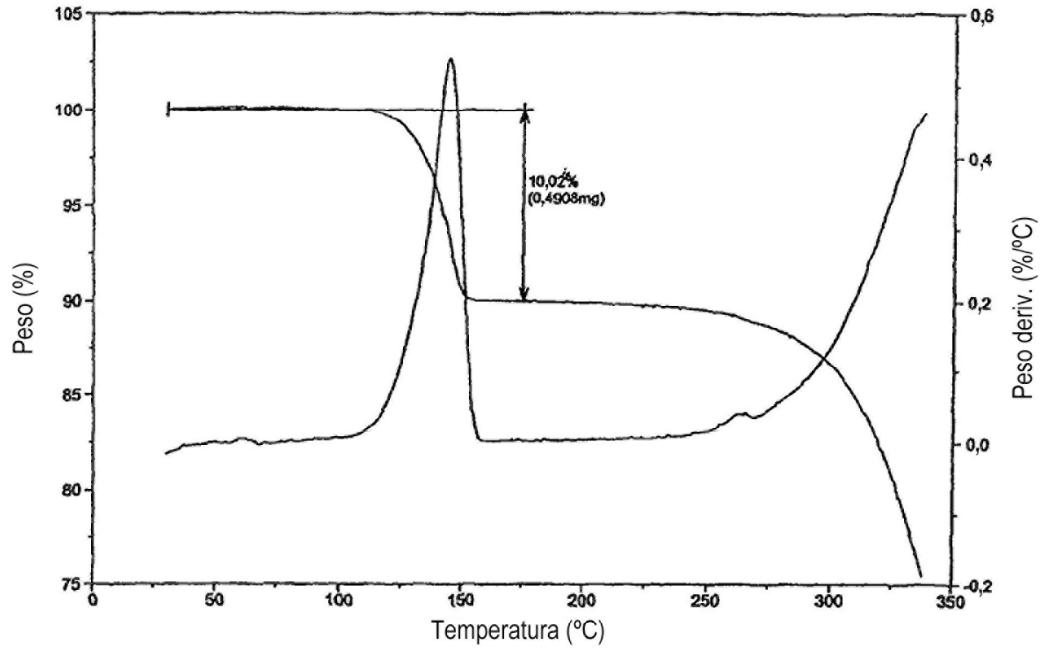
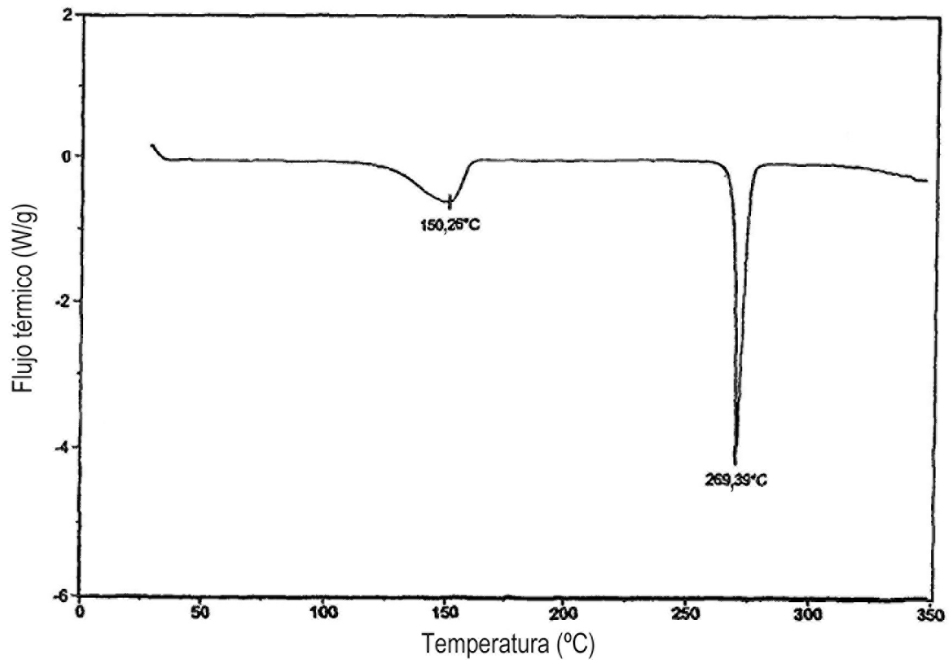


Fig. 14

TGA (ARRIBA) Y DSC (ABAJO) DE LA FORMA C
TGA



DSC



RESULTADOS DE TGA-IR PARA LA FORMA C

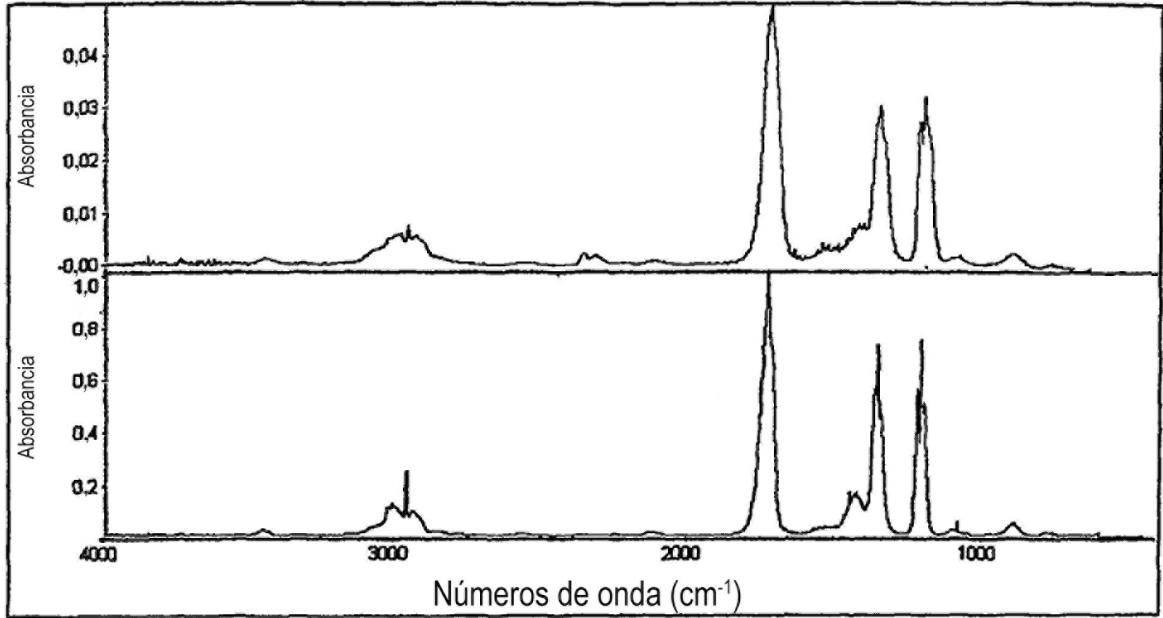


Fig. 16

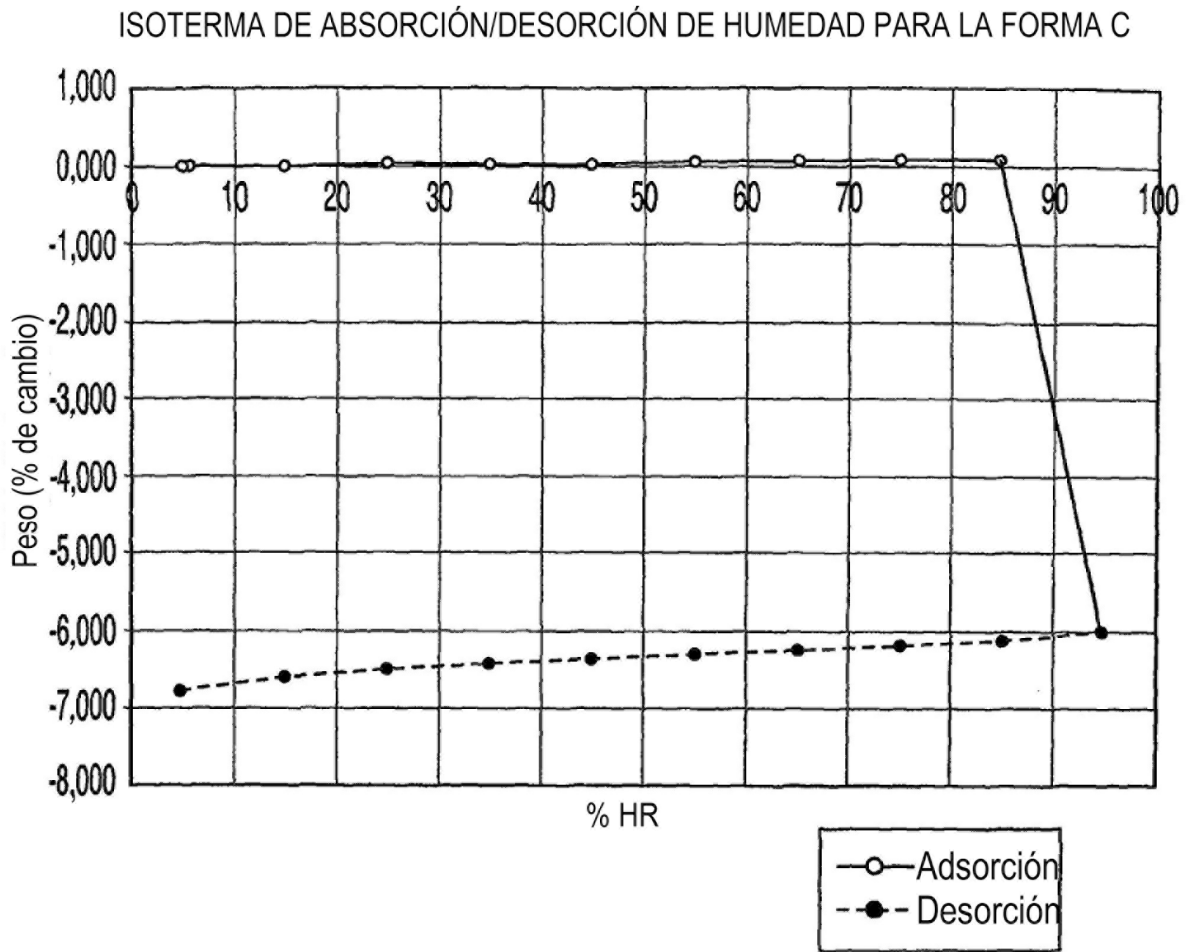


Fig. 17

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA D

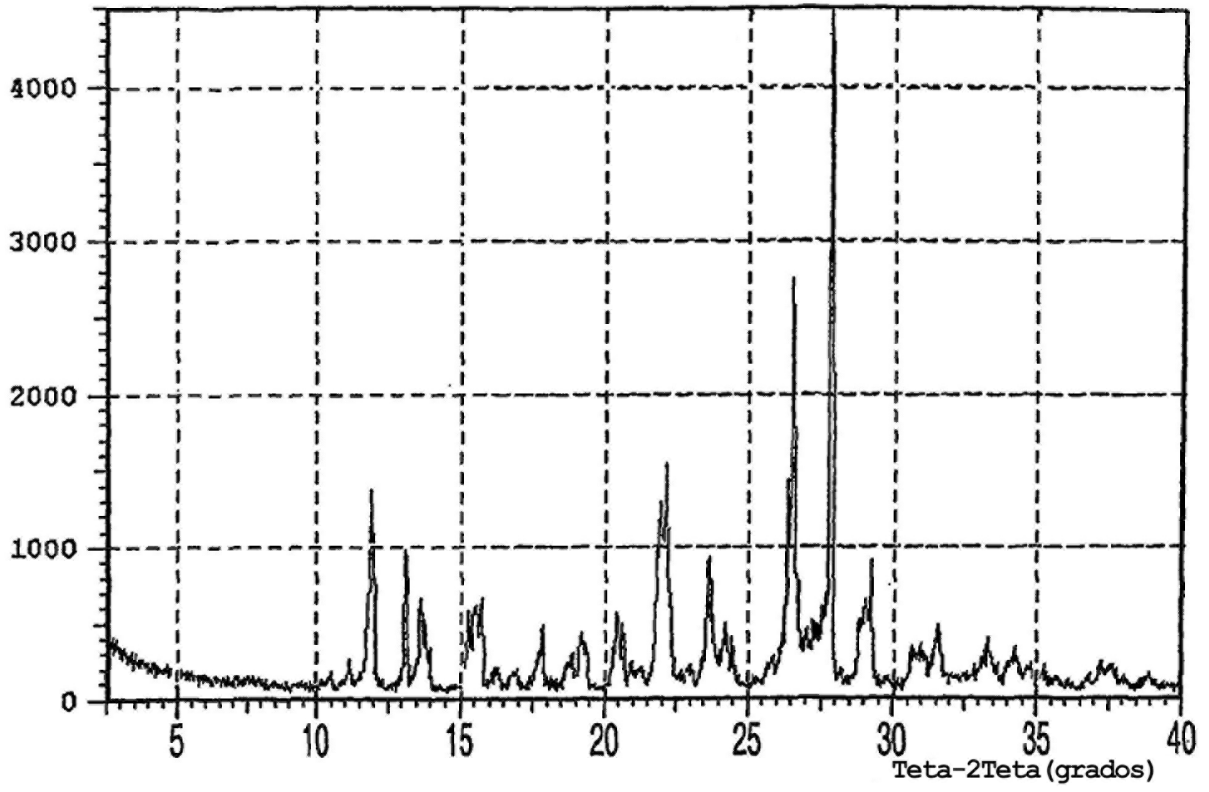


Fig. 18

ESPECTRO IR DE LA FORMA D

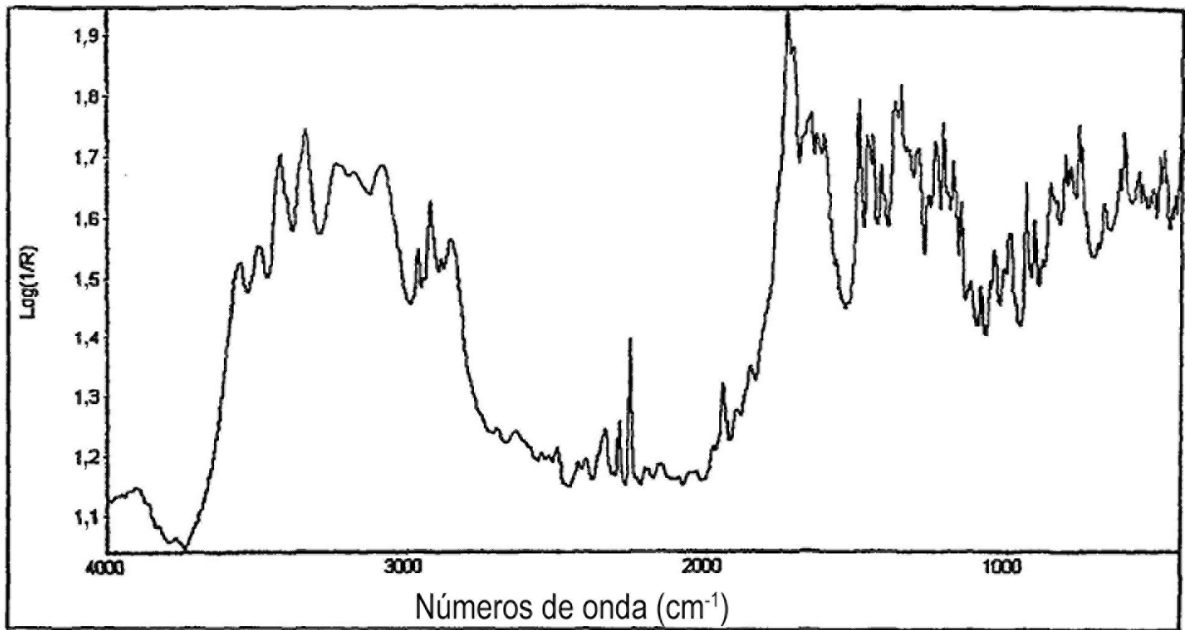


Fig. 19

ESPECTRO DE RAMAN DE LA FORMA D

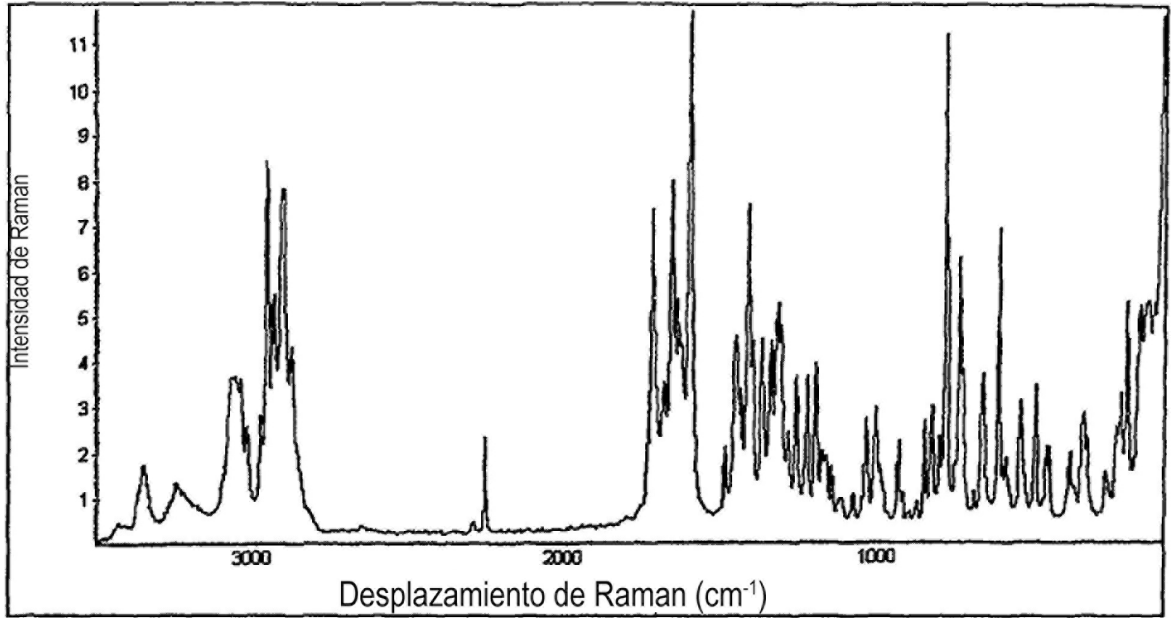
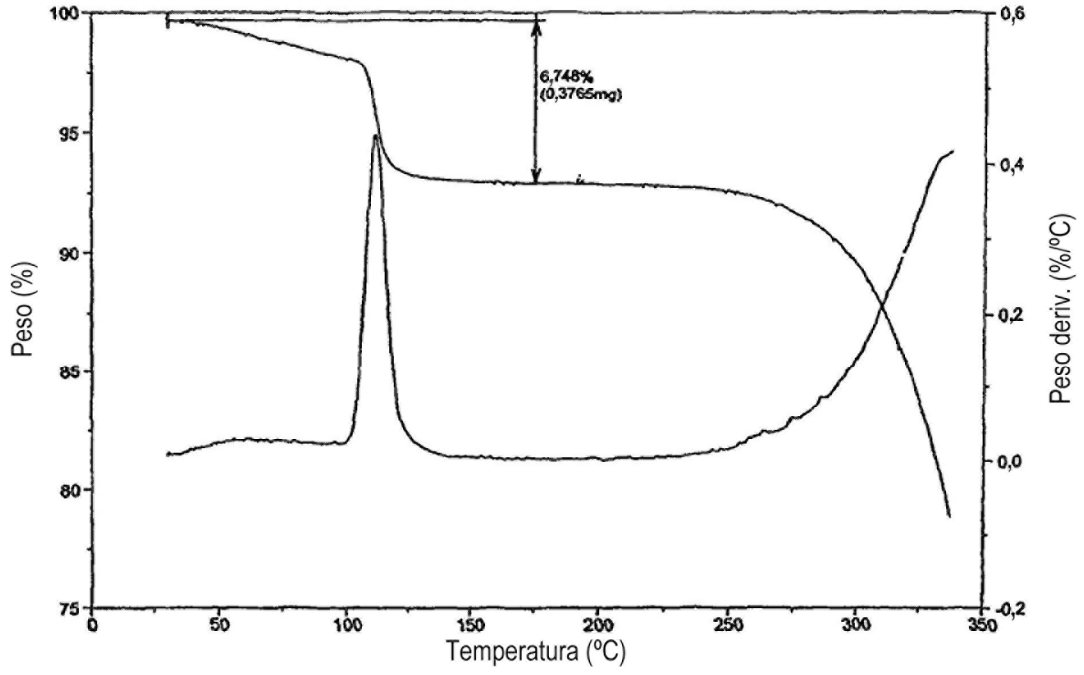


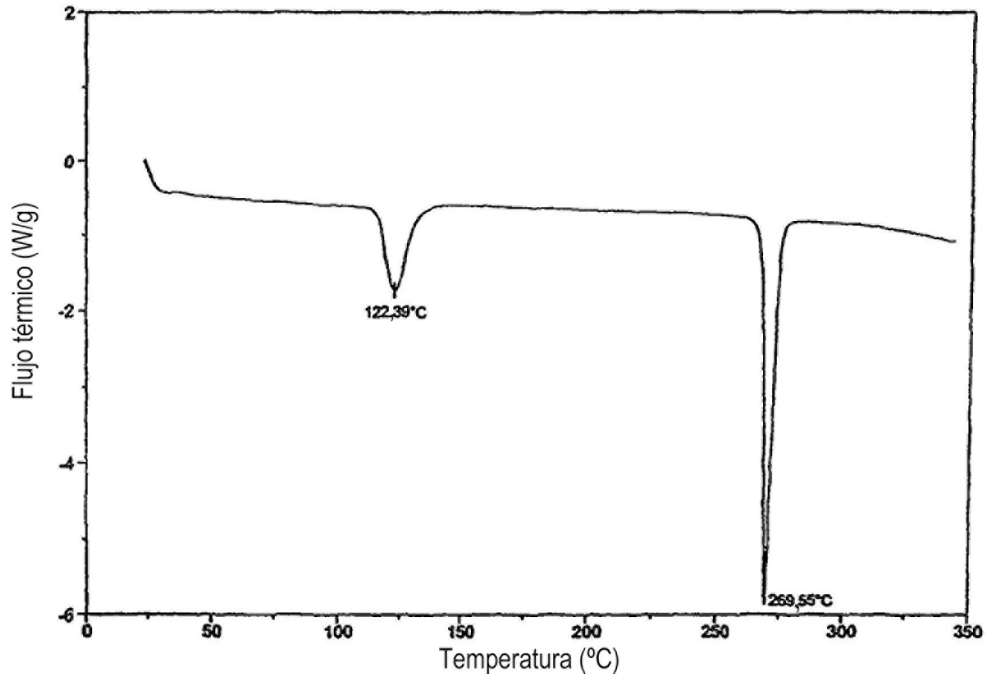
Fig. 20

TGA (ARRIBA) Y DSC (ABAJO) DE LA FORMA D

TGA



DSC



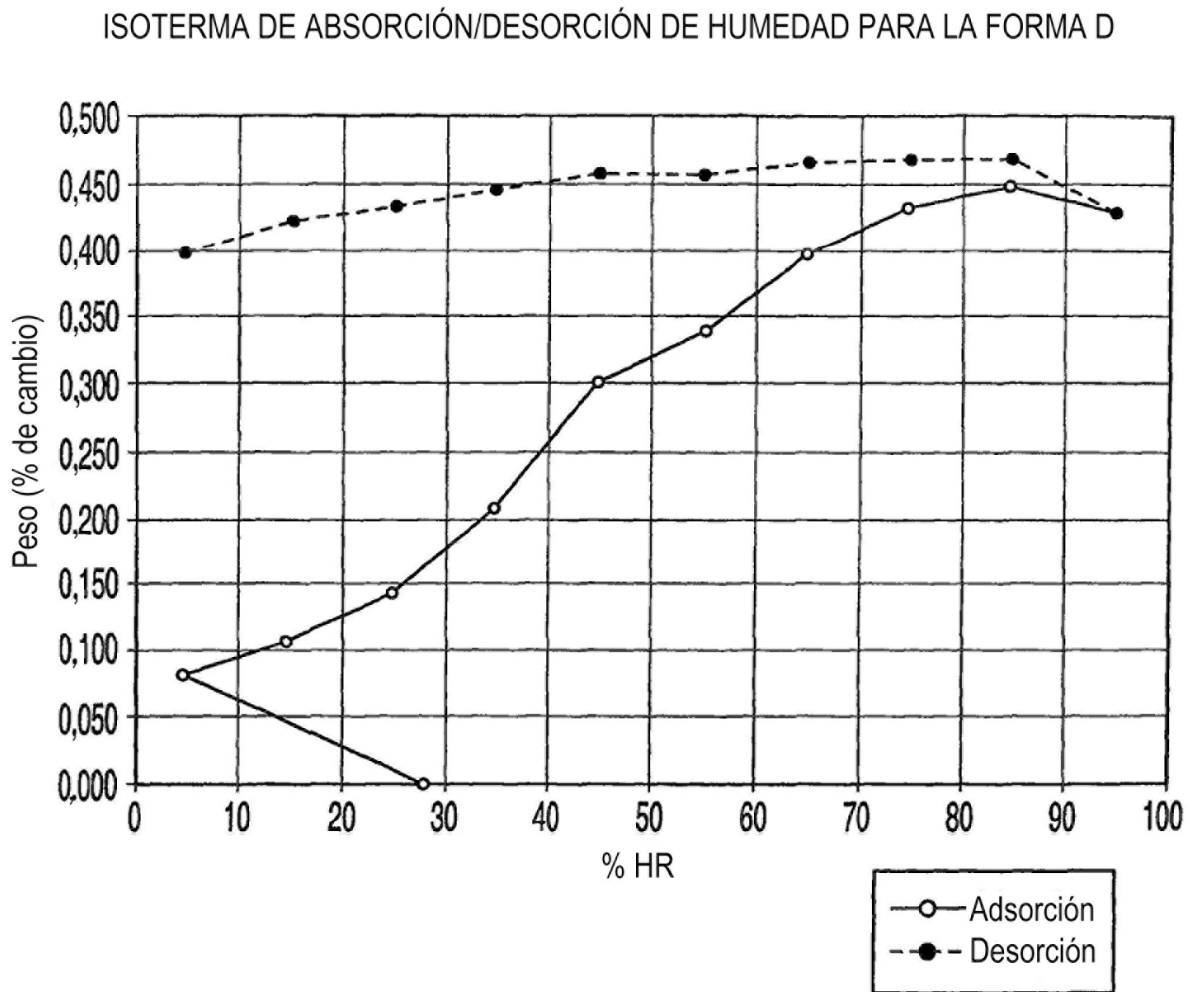


Fig. 22

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA E

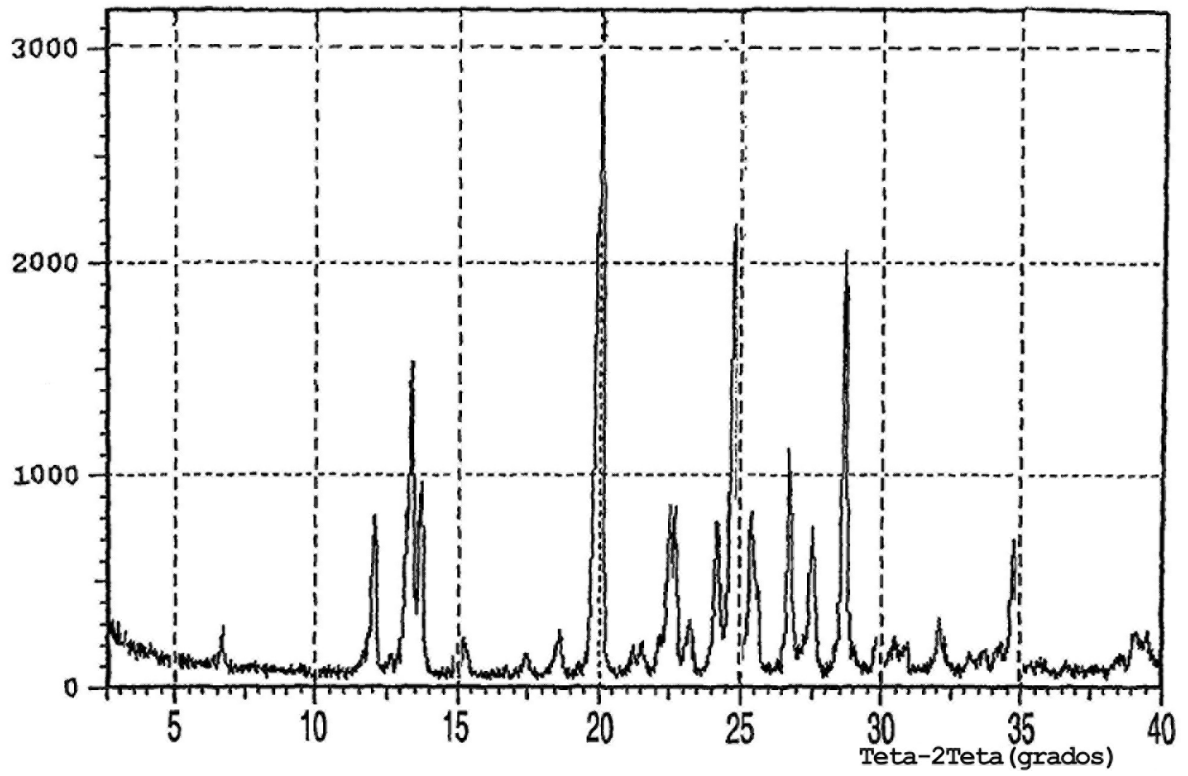
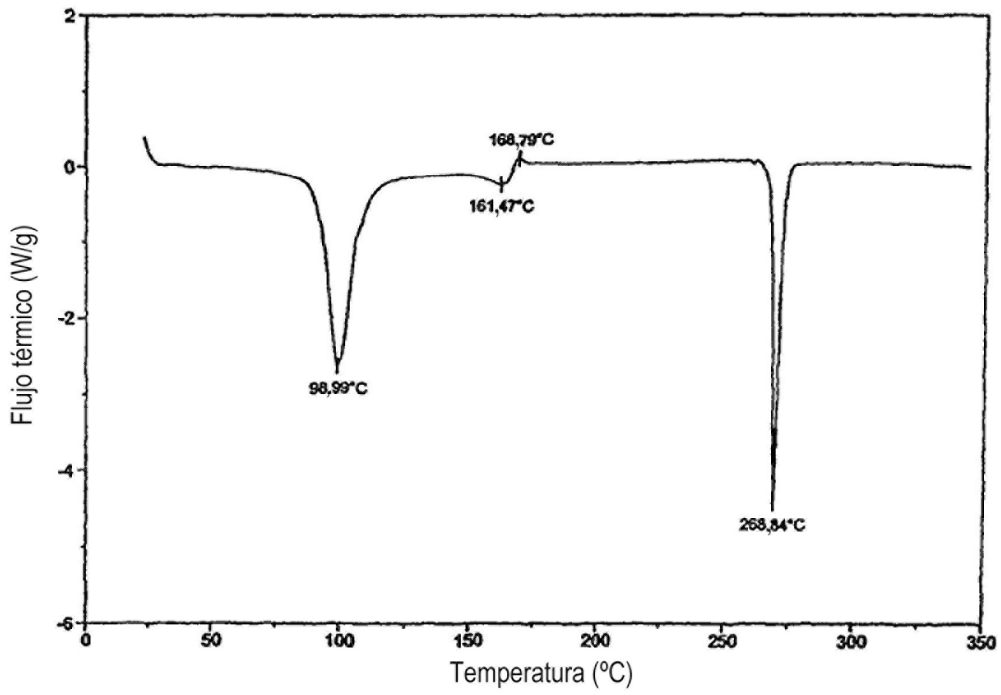
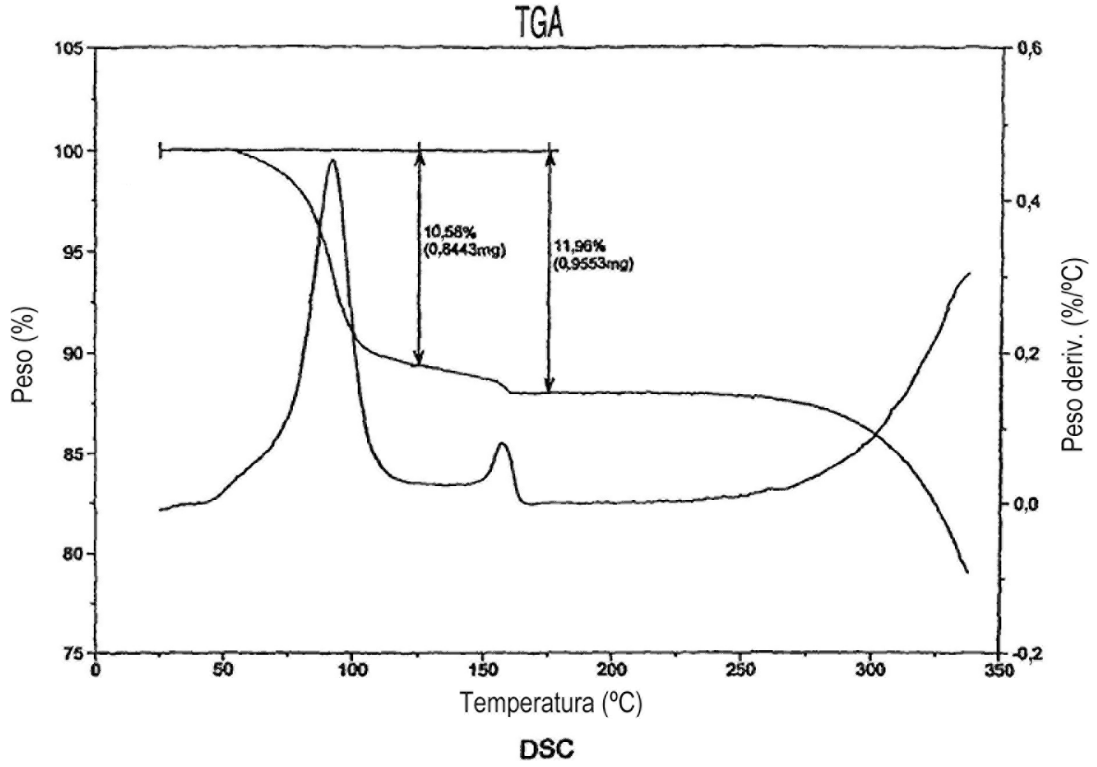


Fig. 23

TGA (ARRIBA) Y DSC (ABAJO) DE LA FORMA E



ISOTERMA DE ABSORCIÓN/DESORCIÓN DE HUMEDAD PARA LA FORMA E

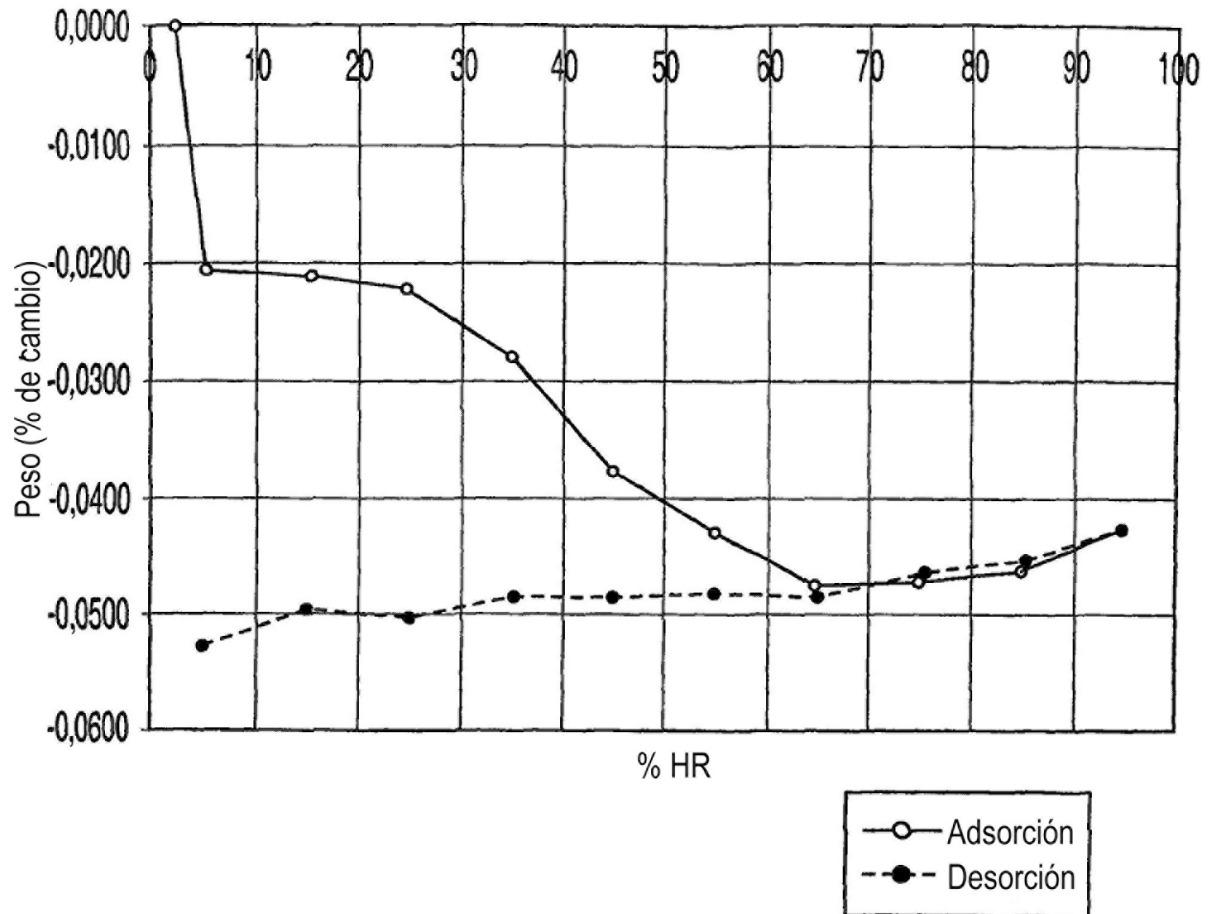


Fig. 25

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA F

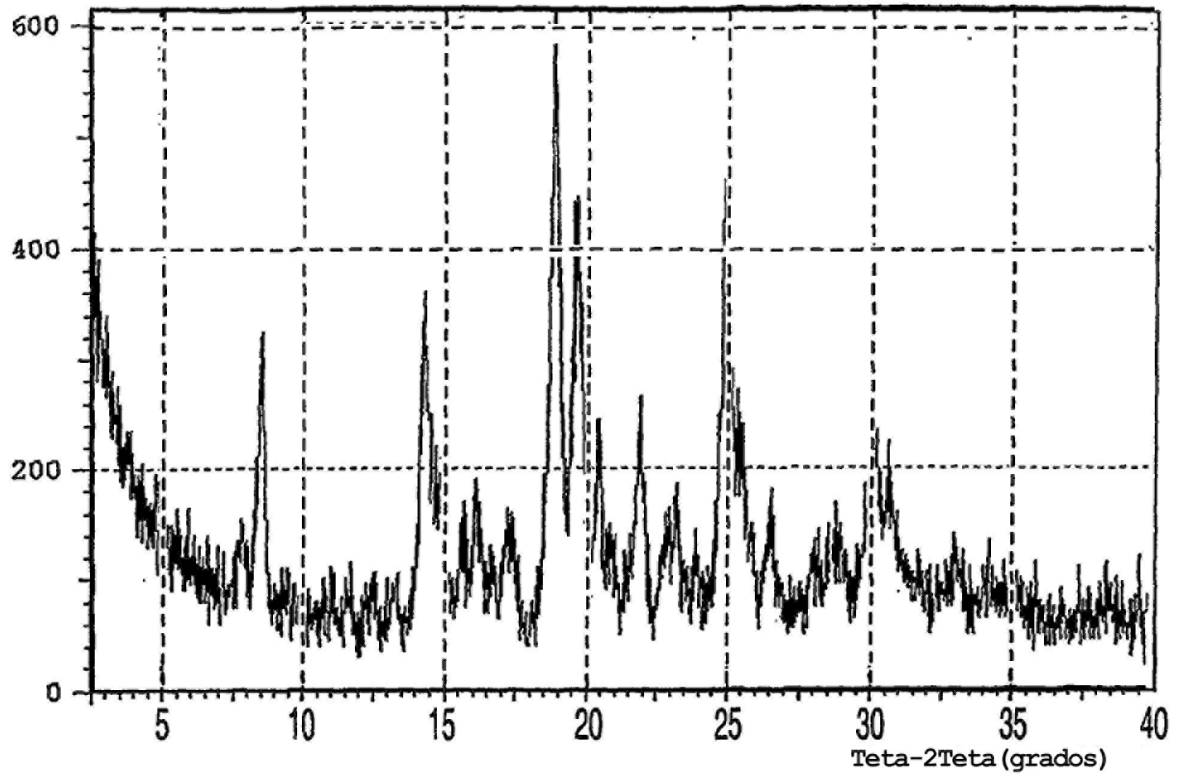


Fig. 26

TERMOGRAMA DE DSC PARA LA FORMA F

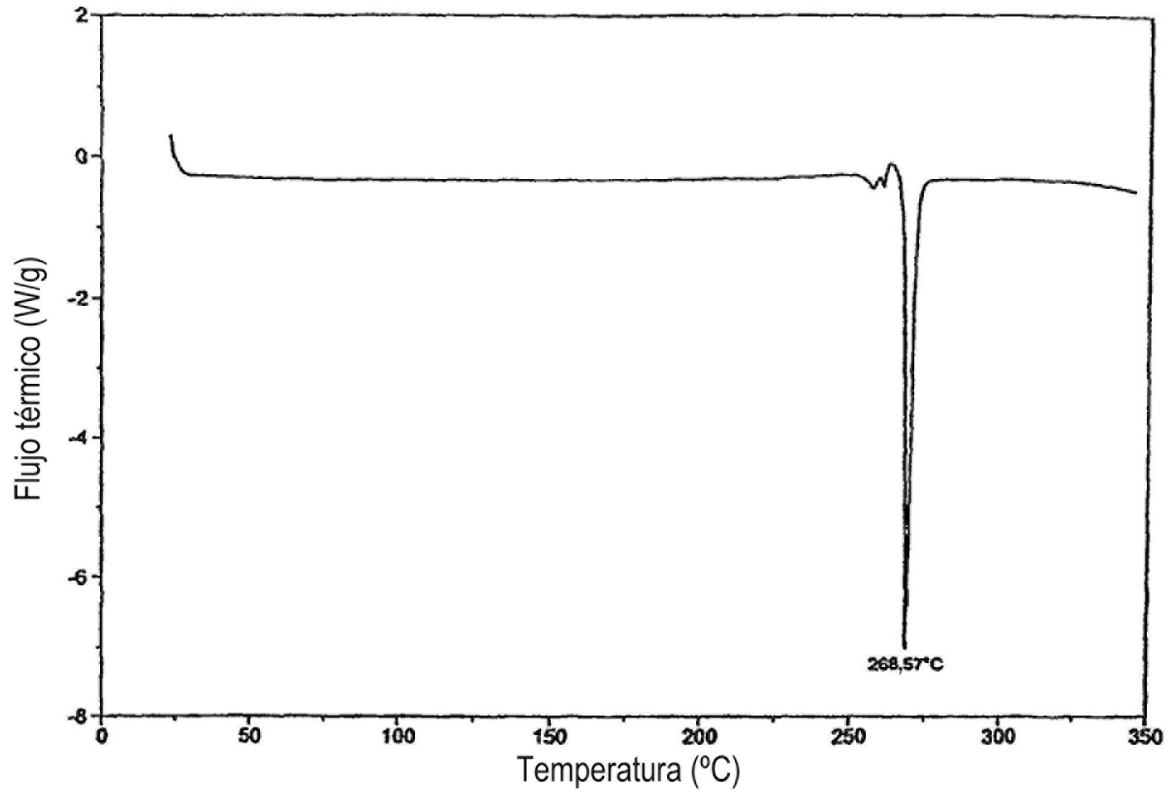


Fig. 27

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA G

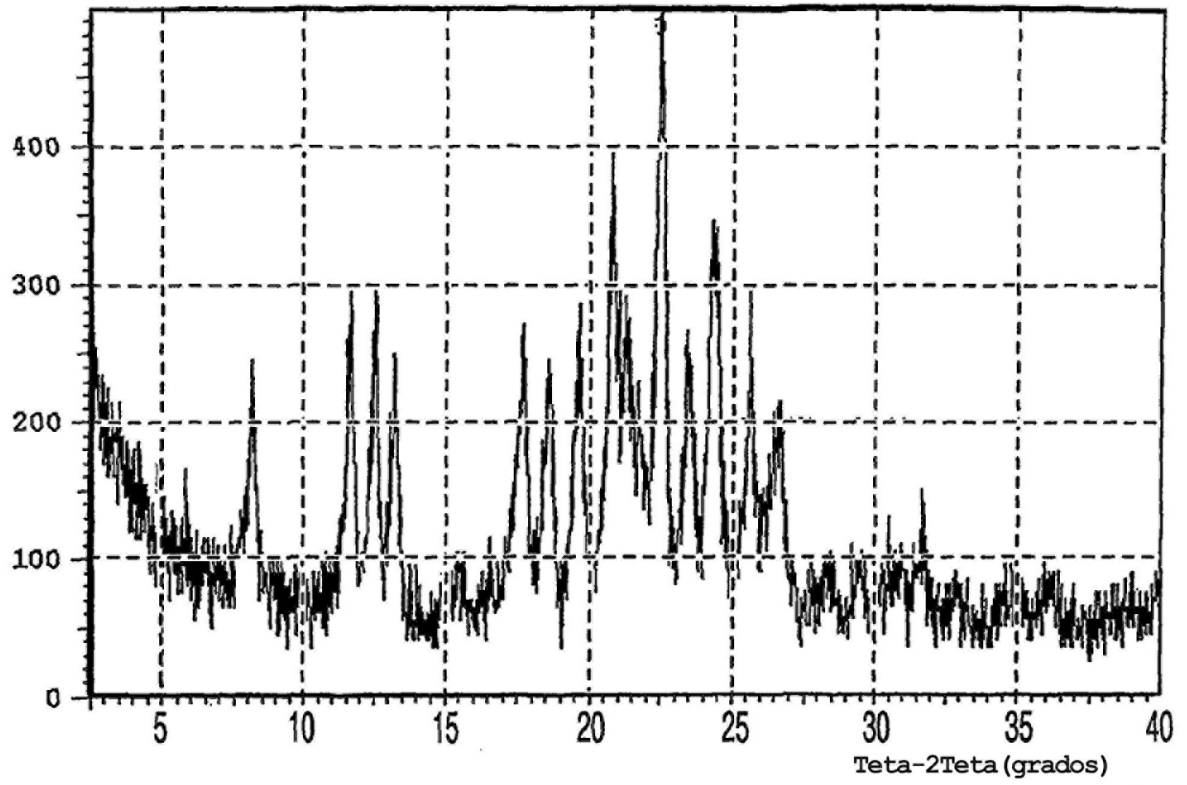


Fig. 28

TERMOGRAMA DE DSC PARA LA FORMA G

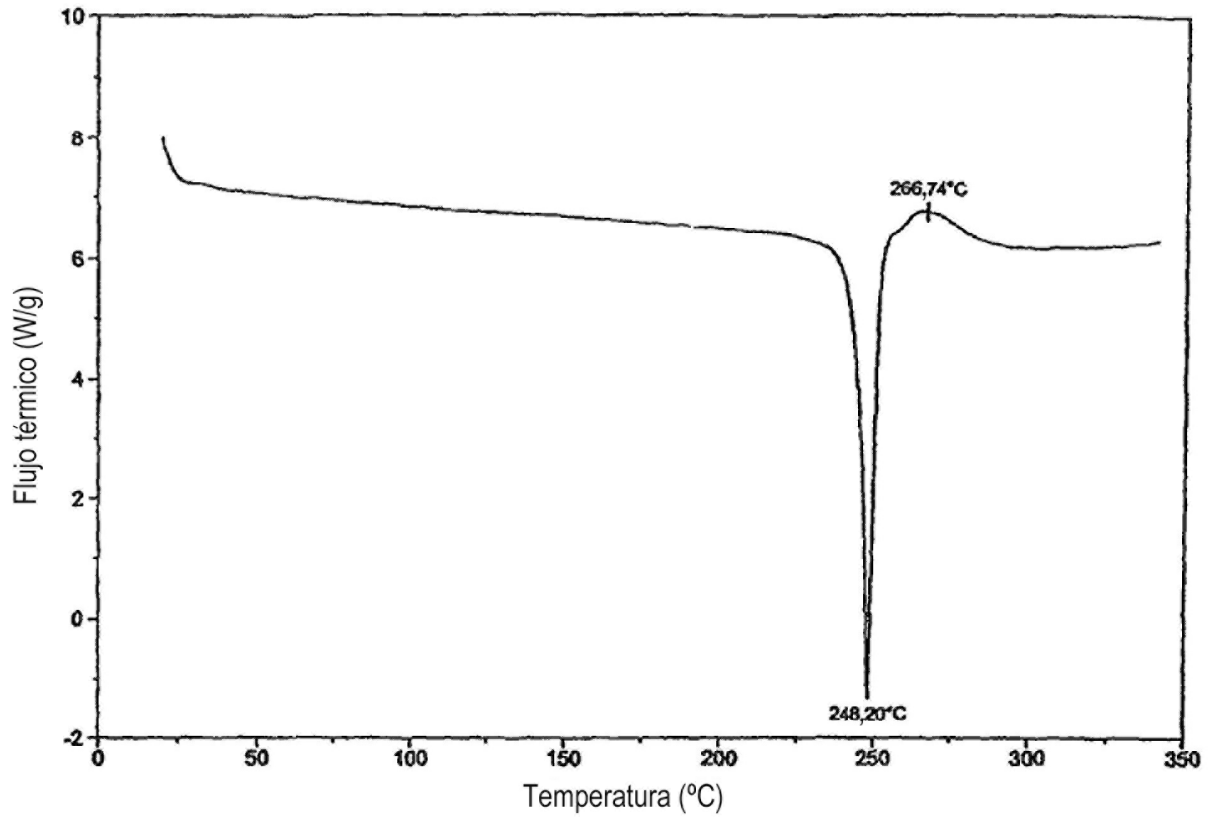


Fig. 29

PATRÓN DE XRPD DE LA FORMA H

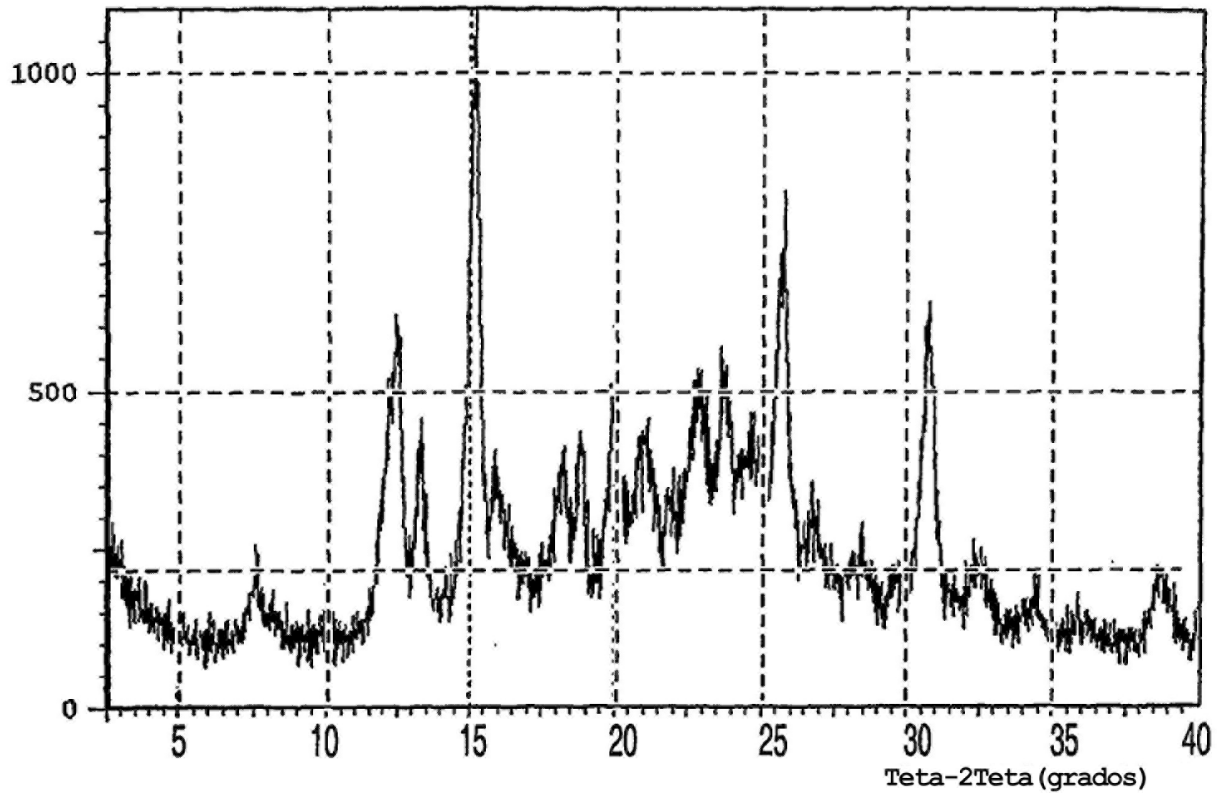
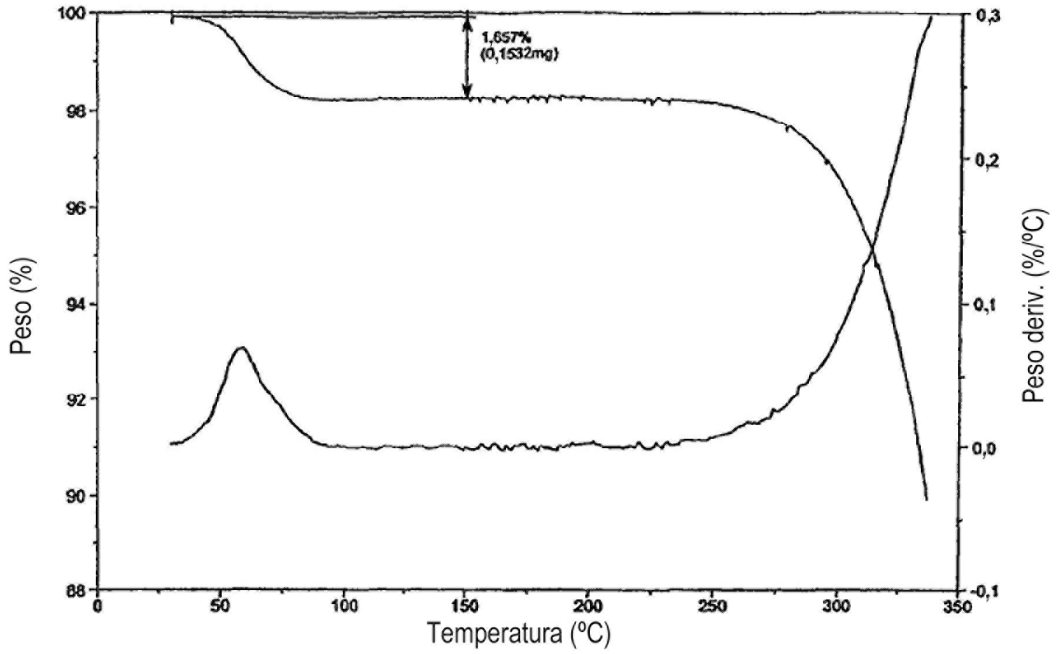


Fig. 30

TGA (ARRIBA) Y DSC (ABAJO) DE LA FORMA H

TGA



DSC

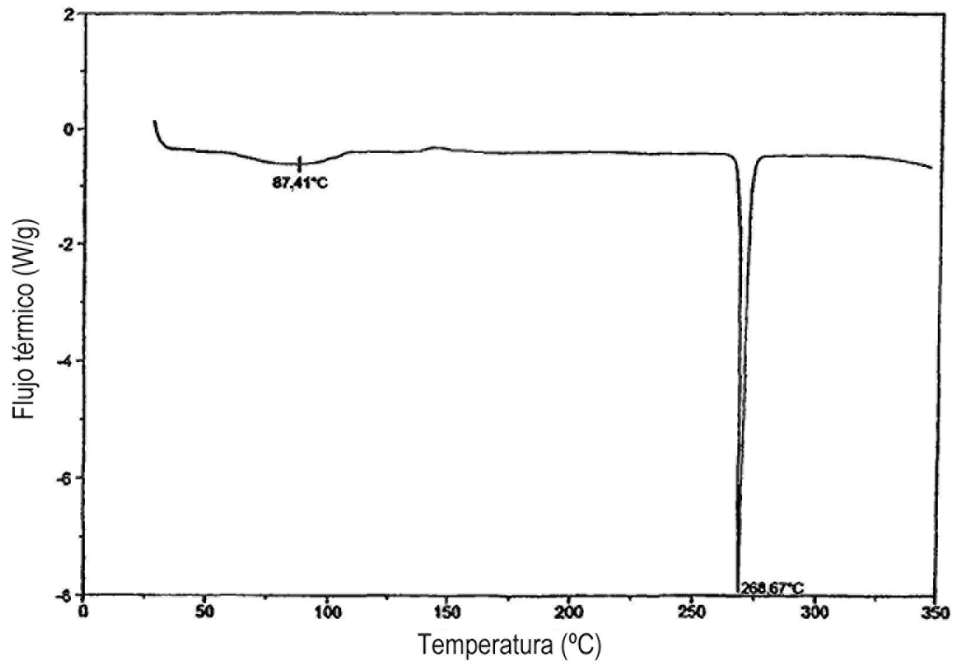


Fig. 31

PATRÓN DE XRPD DEL POLIMORFO B

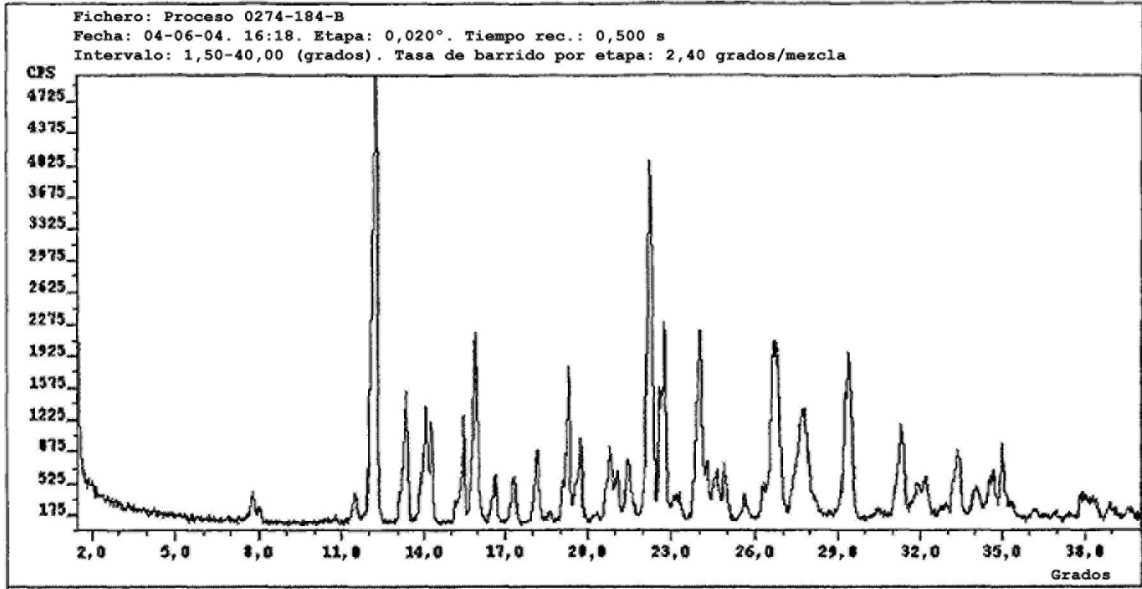


Fig. 32

PATRÓN DE XRPD DEL POLIMORFO B

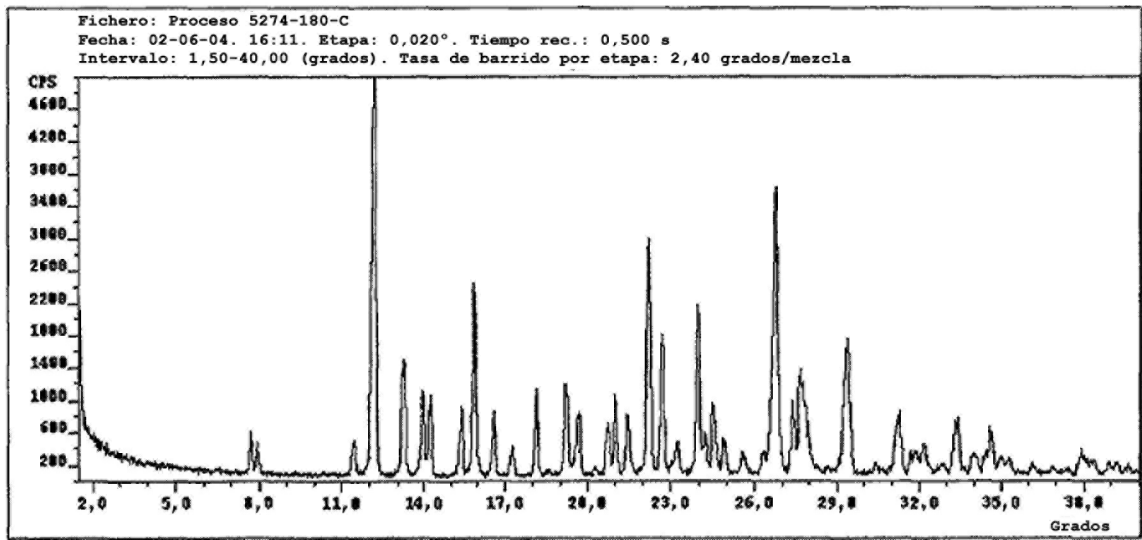


Fig. 33

PATRÓN DE XRPD DEL POLIMORFO B

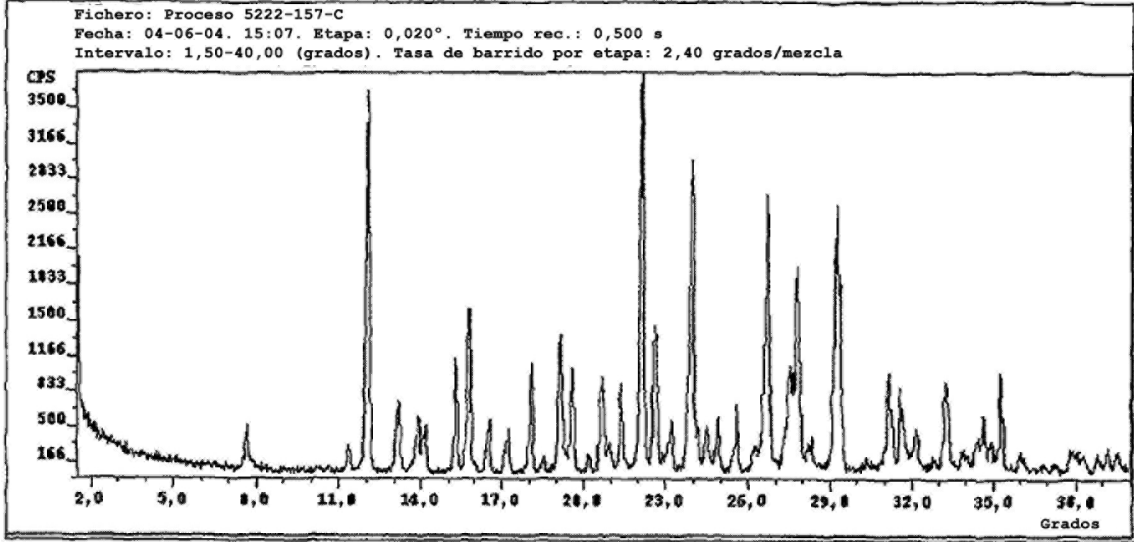


Fig. 34

PATRÓN DE XRPD DEL POLIMORFO E

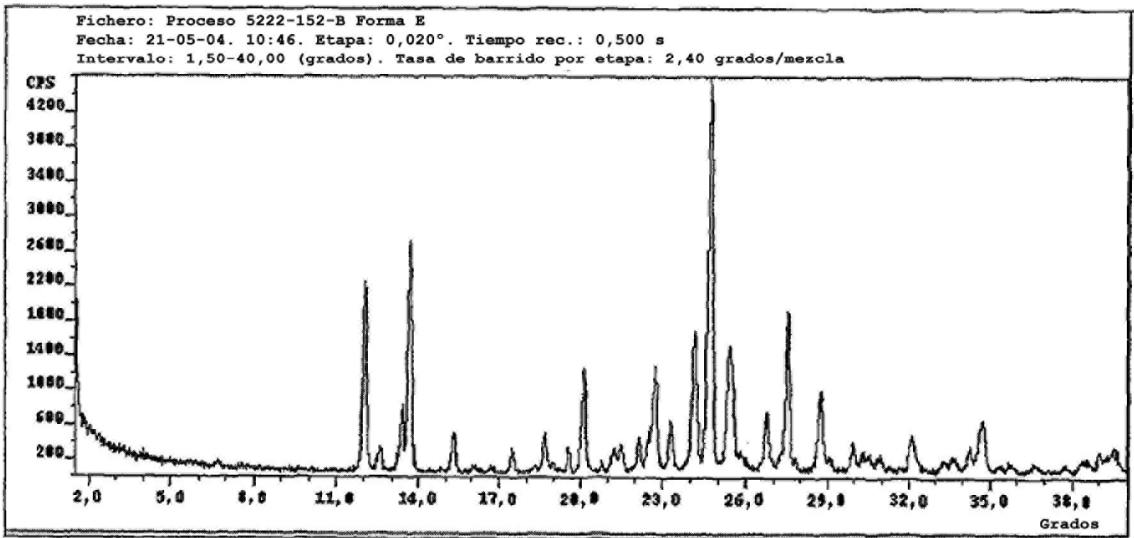


Fig. 35

PATRÓN DE XRPD DE LA MEZCLA DE POLIMORFOS

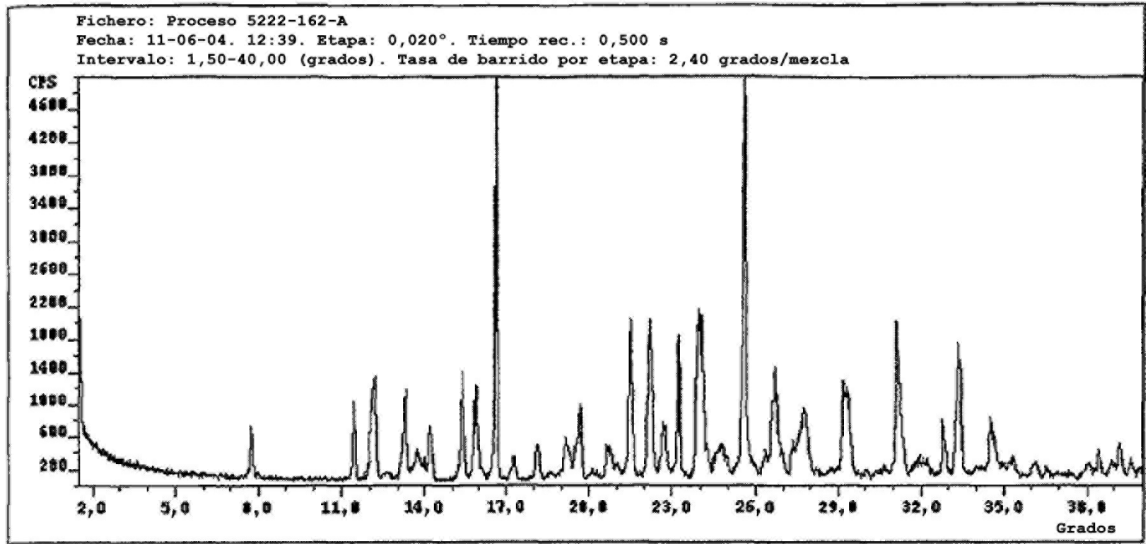


Fig. 36

CURVA DE TGA DEL POLIMORFO B

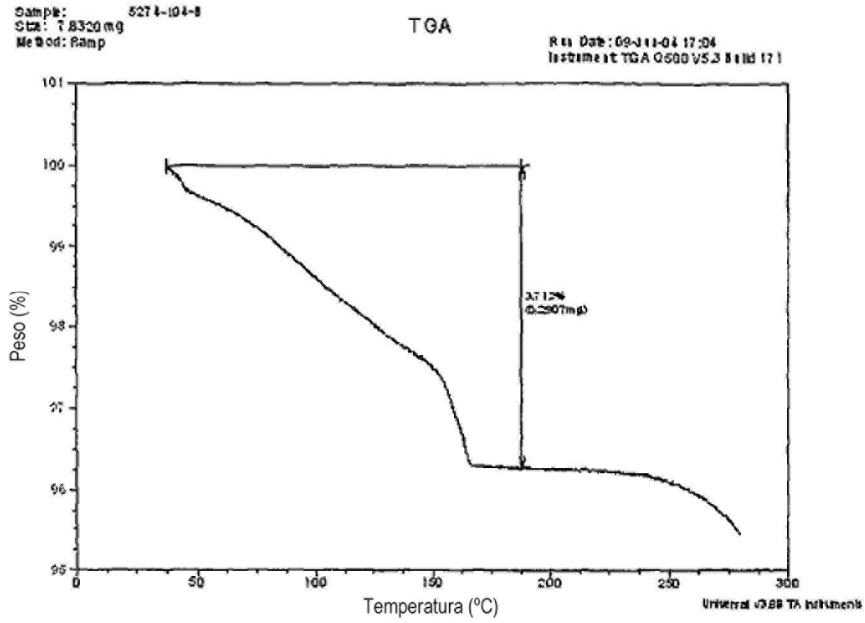


Fig. 37

CURVA DE TGA DEL POLIMORFO B

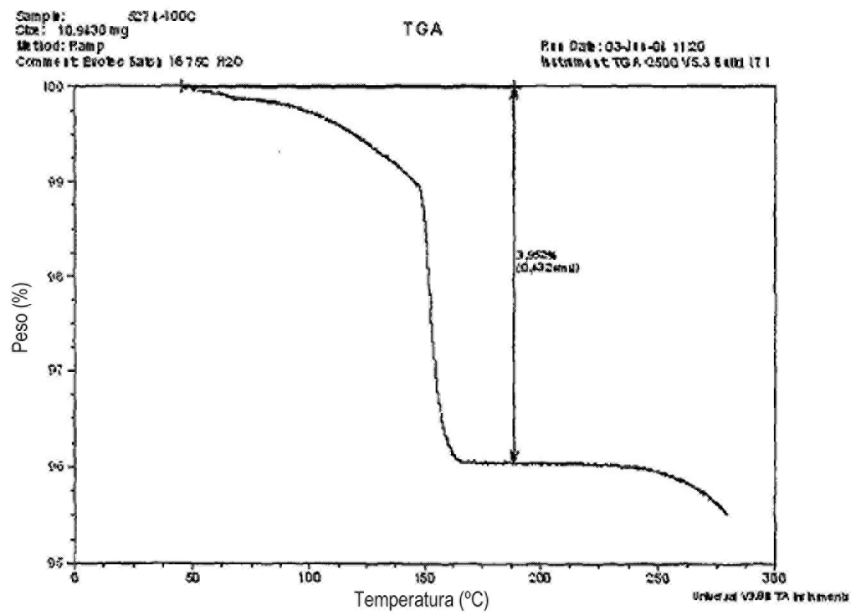


Fig. 38

CURVA DE TGA DEL POLIMORFO B

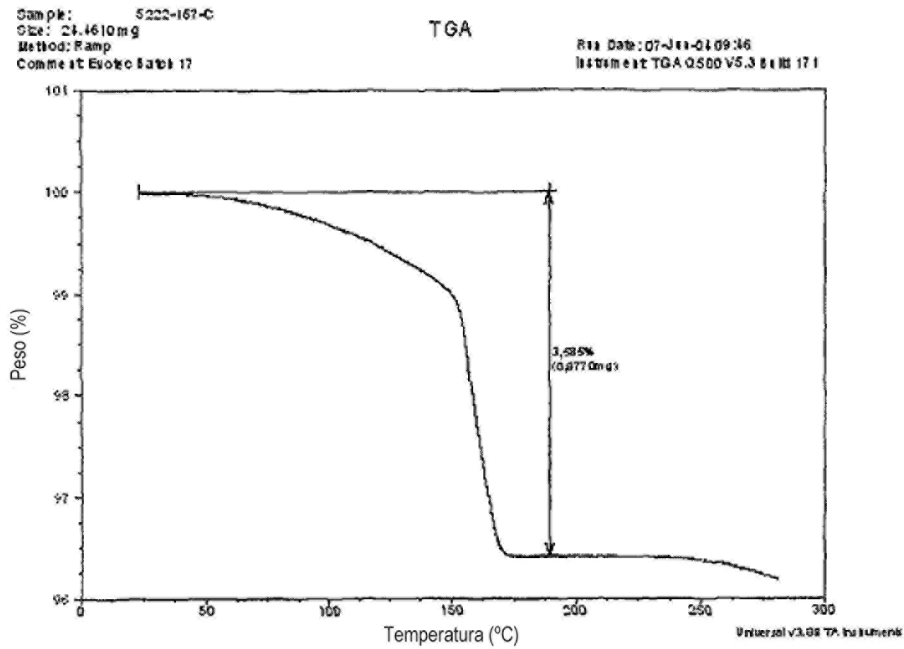


Fig. 39

CURVA DE TGA DEL POLIMORFO E

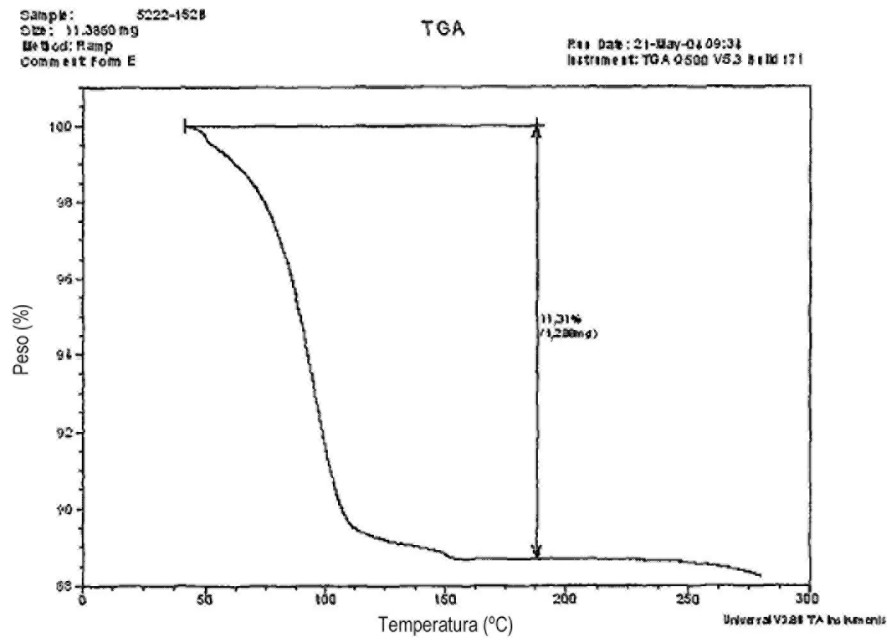


Fig. 40

CURVA DE TGA DE LA MEZCLA POLIMÓRFICA

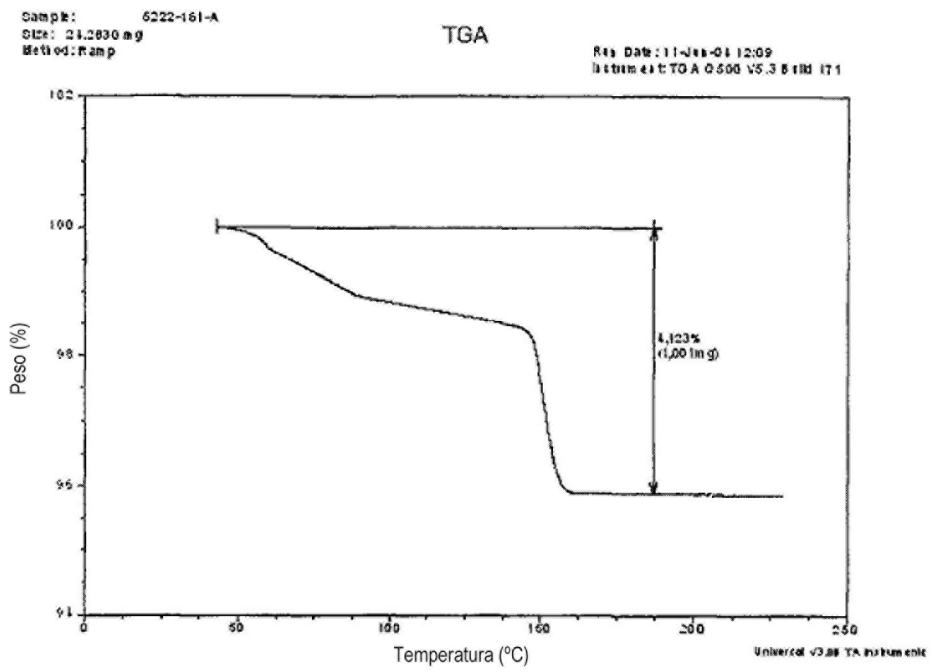


Fig. 41

DSC DEL POLIMORFO B

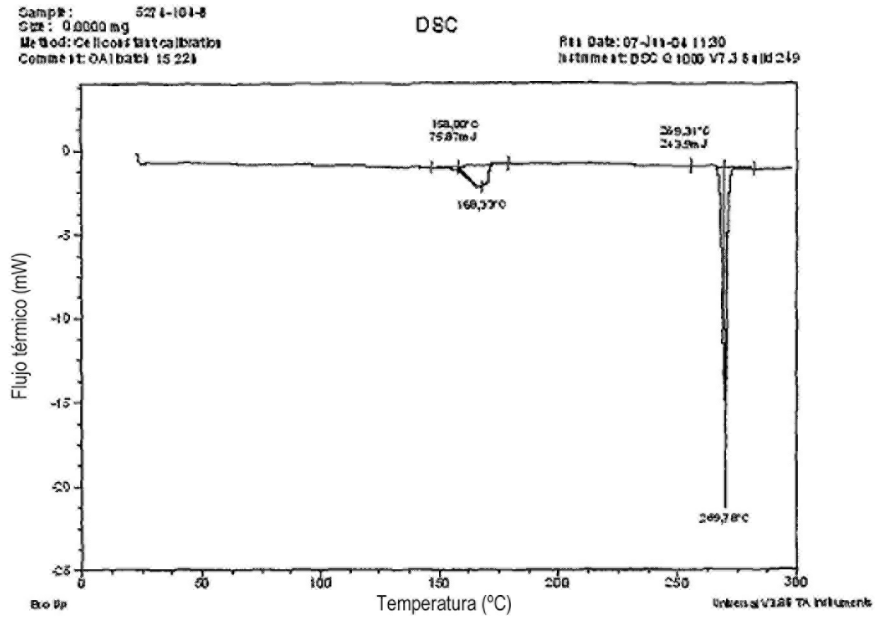


Fig. 42

DSC DEL POLIMORFO B

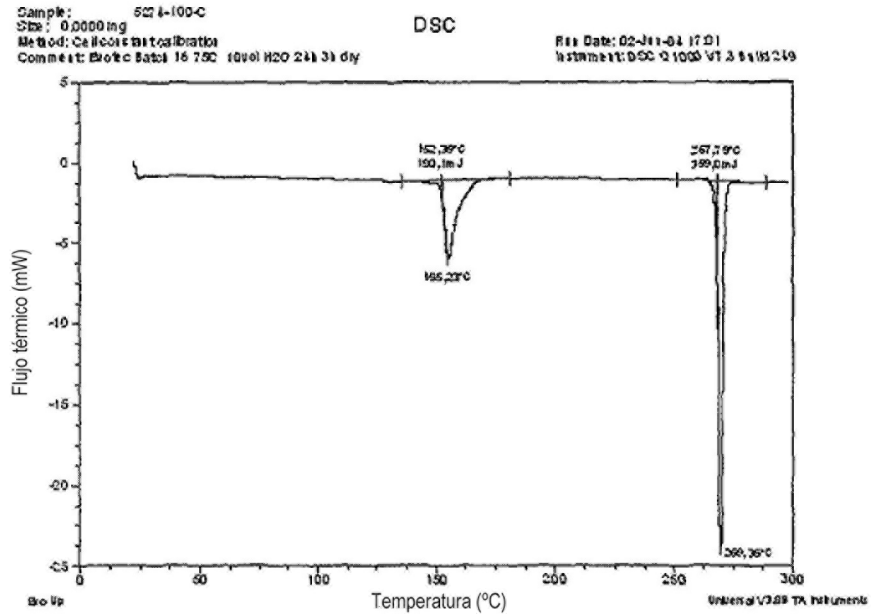


Fig. 43

DSC DEL POLIMORFO B

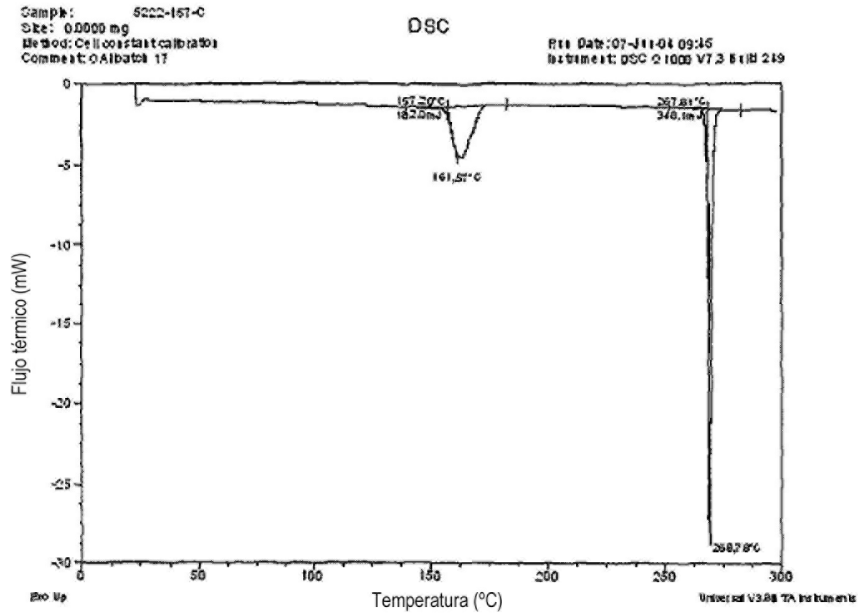


Fig. 44

DSC DEL POLIMORFO E

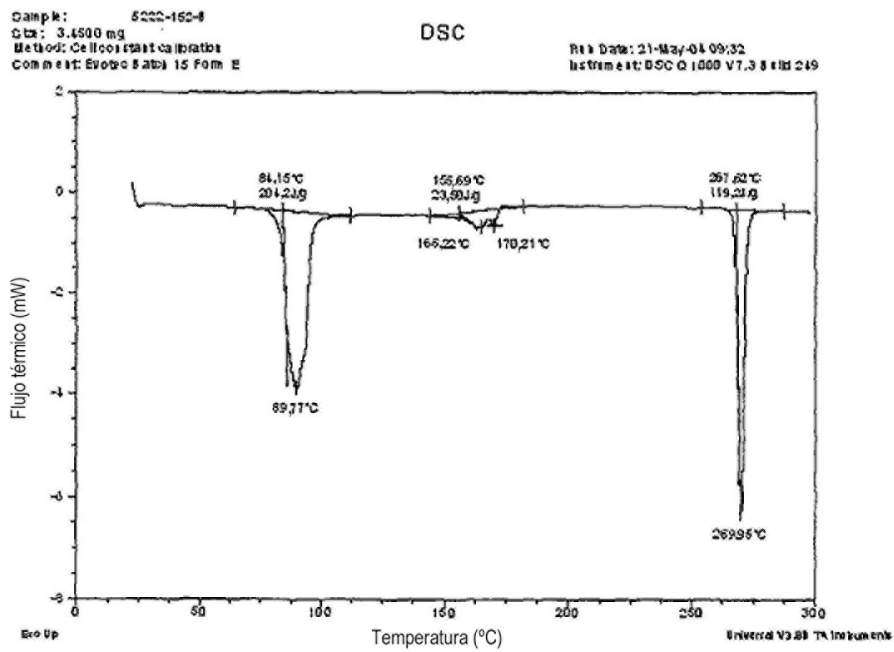


Fig. 45

DSC DE LA MEZCLA POLIMÓRFICA

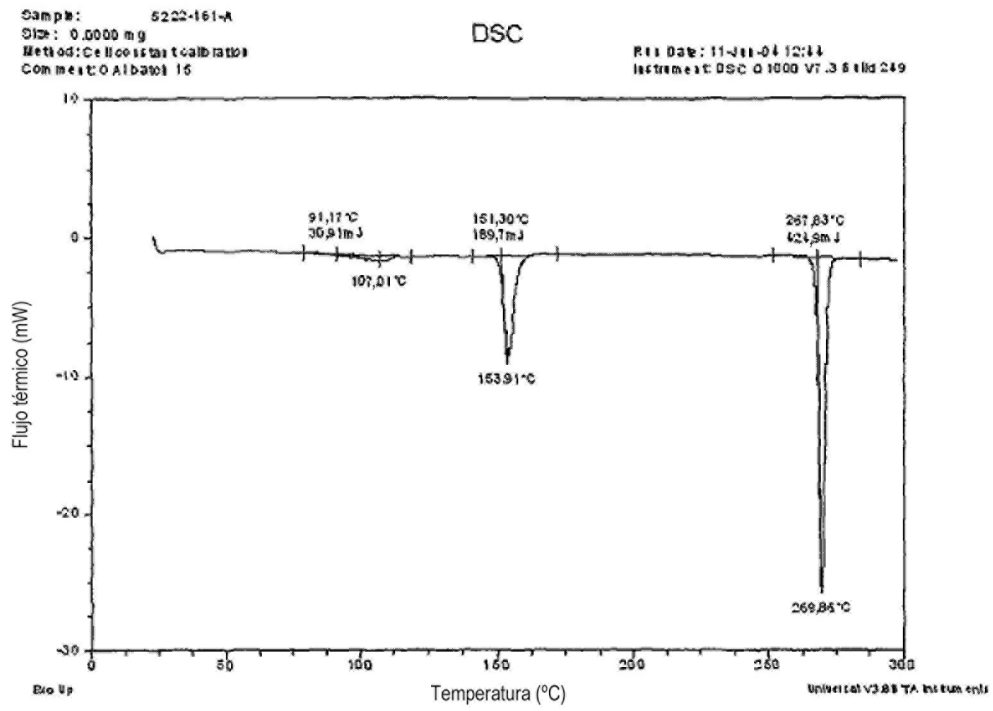


Fig. 46

BARRIDO DE UV-VIS DEL MEDIO DE DISOLUCIÓN

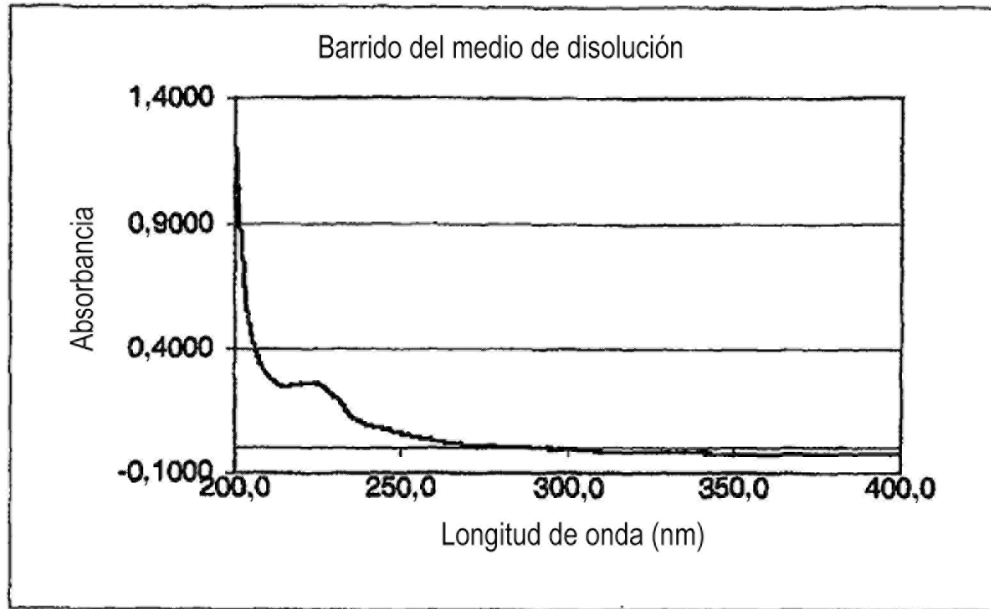


Fig. 47

BARRIDO DE UV-VIS DE SOLUCIÓN 0,04 MG/ML

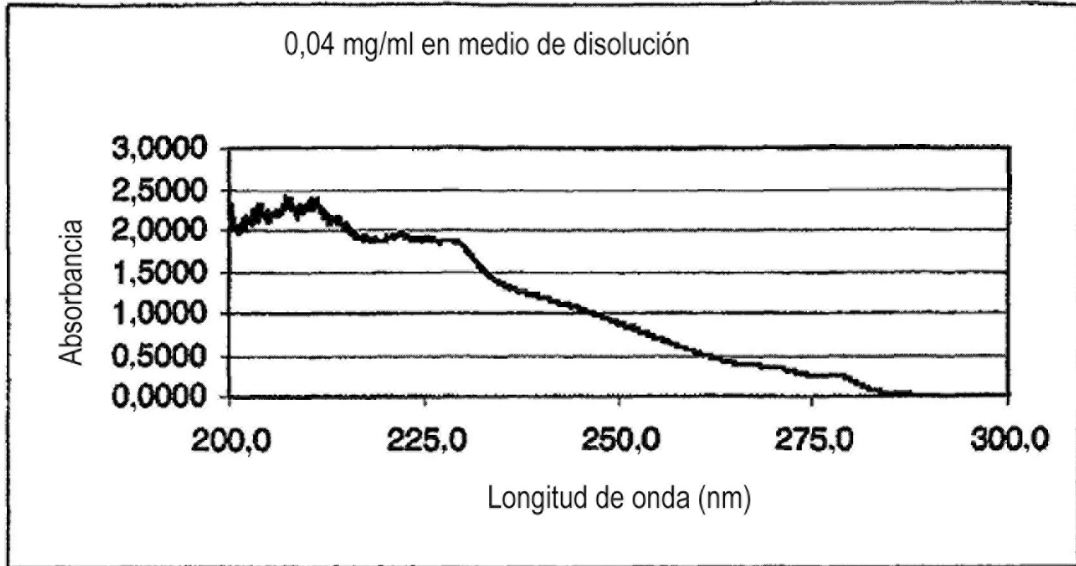


Fig. 48

BARRIDO DE UV-VIS DE SOLUCIÓN 0,008 MG/ML

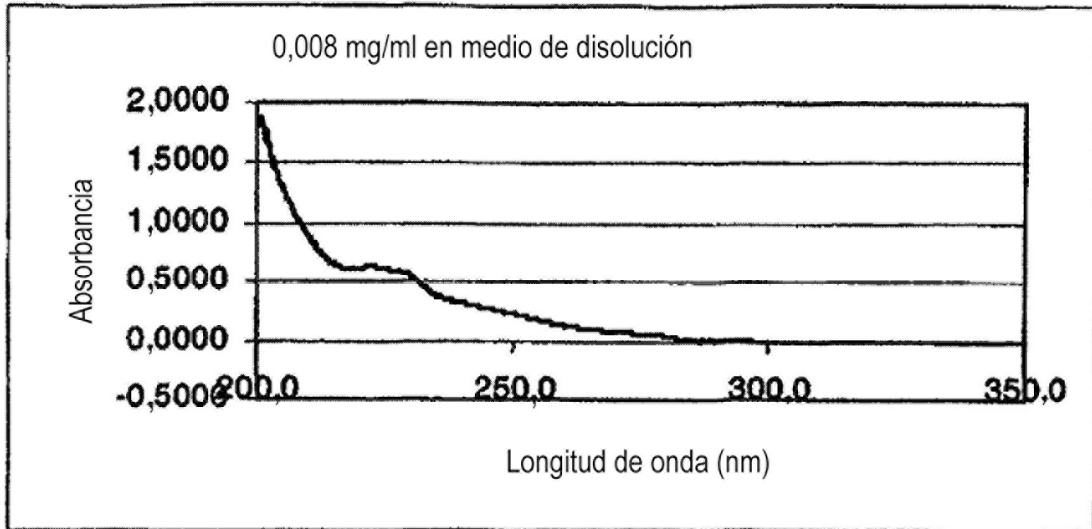


Fig. 49

CURVA DE CALIBRACIÓN PARA 3-(4-AMINO-1-OXO-1,3-DIHIDROISOINDOL-2-IL)PIPERIDIN-2,6-DIONA

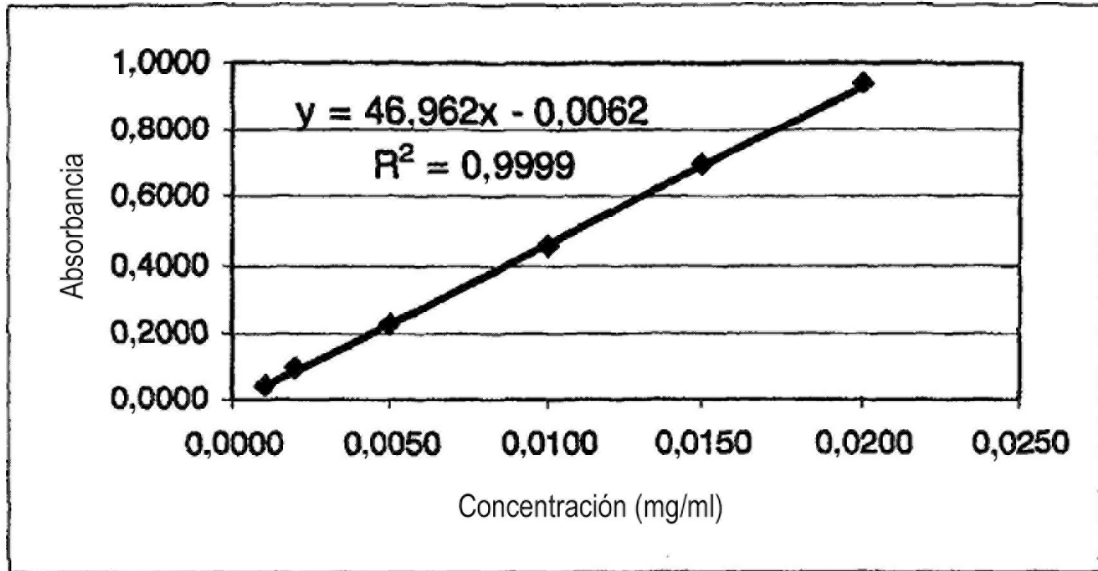


Fig. 50

SOLUBILIDAD DE LA FORMA A

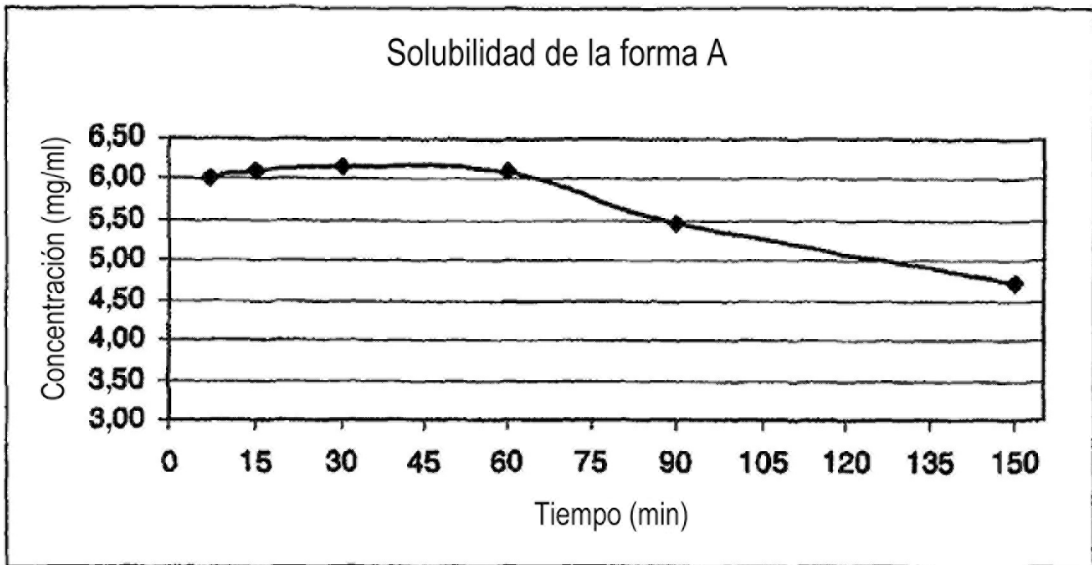


Fig. 51

SOLUBILIDAD DE LA FORMA B

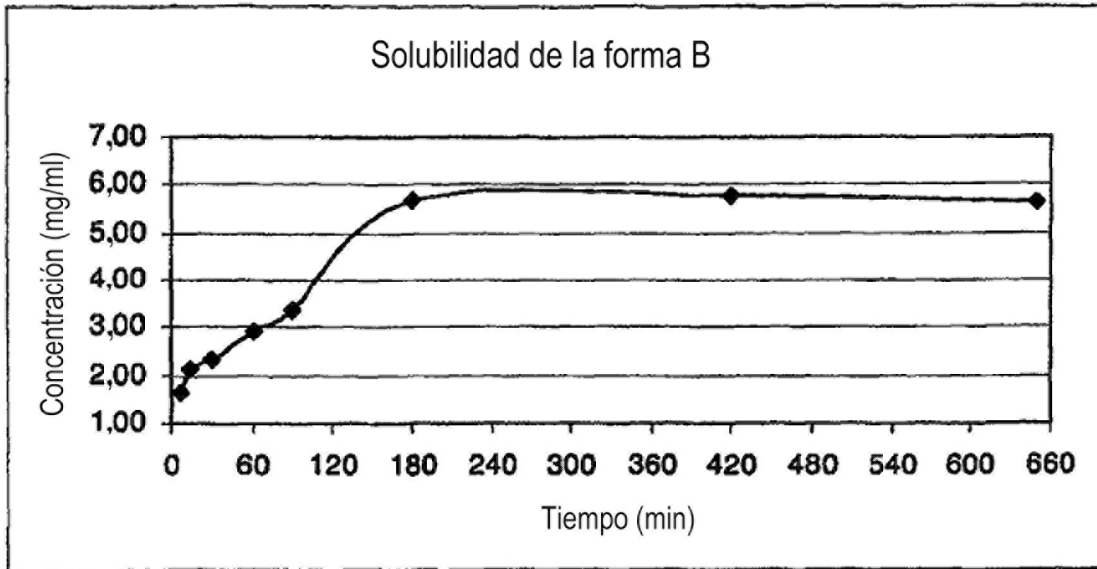


Fig. 52

DISOLUCIÓN INTRÍNSECA DE LAS FORMAS A, B Y E (EXPERIMENTO N ° 1)

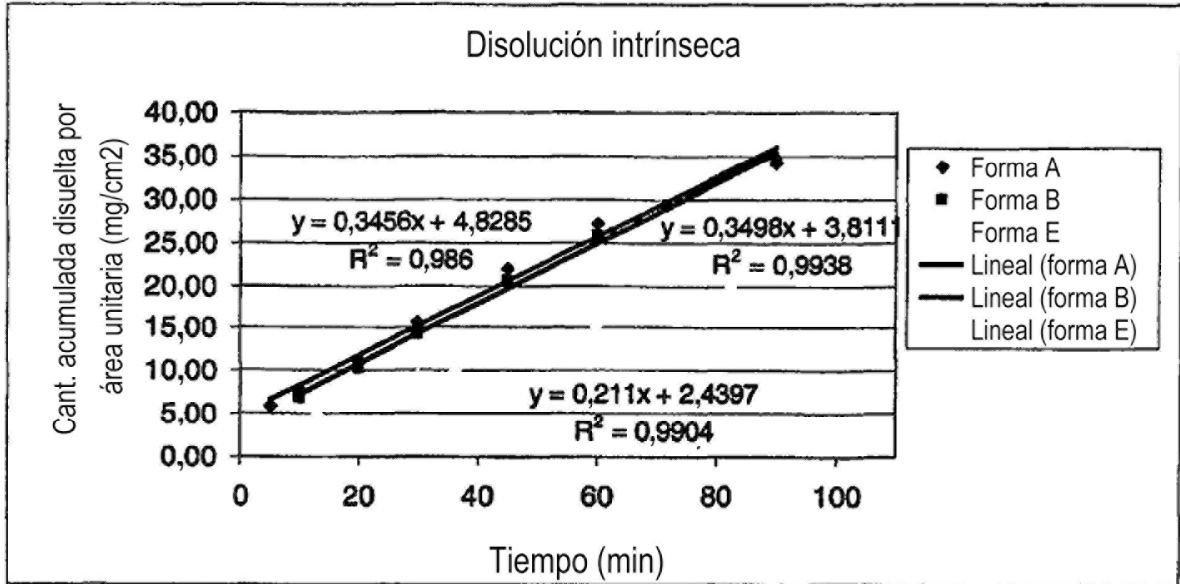


Fig. 53

DISOLUCIÓN INTRÍNSECA DE LAS FORMAS A, B Y E (EXPERIMENTO N ° 2)

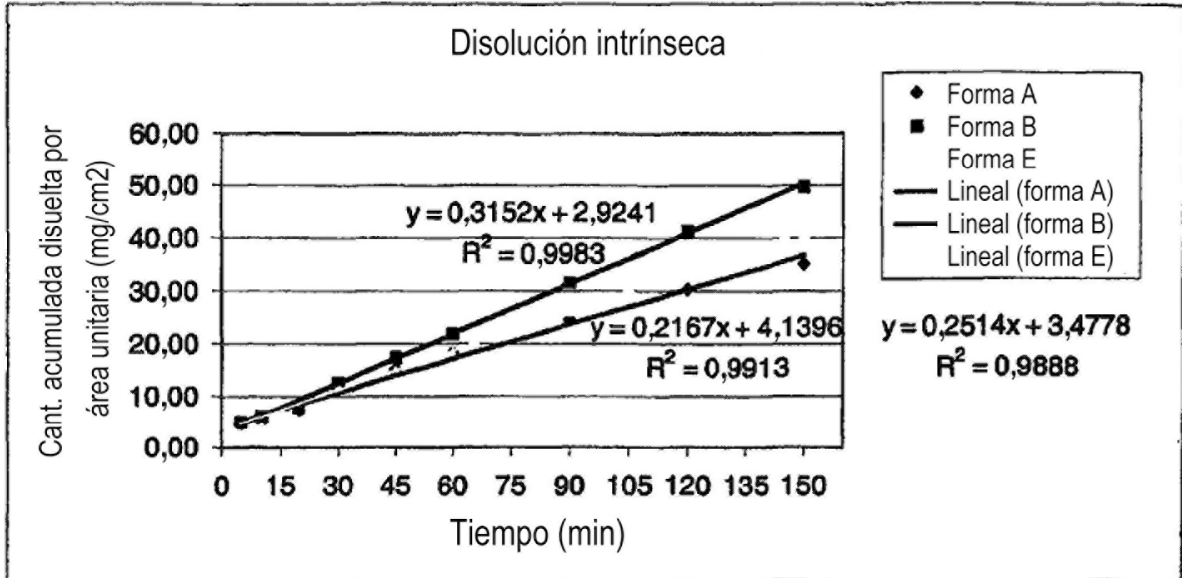


Fig. 54