

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 984 617**

(51) Int. Cl.:

C07D 487/22 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.04.2020 PCT/CN2020/088451**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **05.11.2020 WO20221358**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2020 E 20798924 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2024 EP 3964510**

(54) Título: **Forma de cristal del compuesto inhibidor de Wee1 y su uso**

(30) Prioridad:

30.04.2019 CN 201910364694

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2024

(73) Titular/es:

WUXI BIOCITY BIOPHARMACEUTICS CO., LTD.
(100.0%)
Room 315, Meiliang Road No. 88
Mashan, Binhu District
Wuxi, Jiangsu 214000, CN

(72) Inventor/es:

QIAN, WENYUAN;
YANG, CHUNDAO;
LI, ZHENGWEI;
LI, JIE;
LI, JIAN y
CHEN, SHUHUI

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 984 617 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

Forma de cristal del compuesto inhibidor de Wee1 y su uso

Referencia cruzada a la solicitud relevante

CN201910364694.X, fecha de presentación: 30 de abril de 2019.

5 Campo técnico

Se divultan formas de cristal de un compuesto de la fórmula (I) y el uso de las formas de cristal para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad relacionada con Wee1.

Antecedentes

10 El proceso del ciclo celular es un proceso complejo bajo el control de una serie de sistemas reguladores del ciclo celular. La clave del sistema regulador del ciclo celular es el complejo CDKs/Ciclinas formado por la combinación de quinasas dependientes de ciclina (CDKs) y ciclinas (Ciclinas). El complejo puede impulsar a las células a entrar en el ciclo de proliferación, en donde el complejo CDK1 (el autopolídeo humano también es conocido como CDC2)/Ciclina B desempeña un papel clave en el control de las células dentro de la fase M.

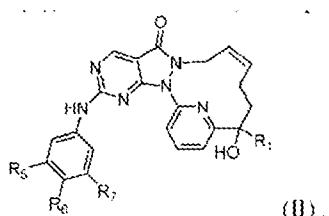
15 La replicación del ADN debe completarse antes de que la célula entre en la fase M. Debido a la interferencia de diversos factores endógenos y exógenos, frecuentemente ocurren mutaciones o daños al ADN. El ADN anormal debe ser reparado o provocará un desastre mitótico y provocará la muerte celular. El punto de control del ciclo celular detendrá el ciclo celular y permitirá la reparación del ADN antes de su entrada a la fase M. El punto G1/S de control al final de la fase G1 y el punto G2/M de control en la fase G2 son dos puntos de control principales del ciclo celular, que juntos son responsables del reconocimiento y reparación del daño del ADN.

20 Las células normales utilizan el punto G1/S de control para completar la reparación del ADN en la fase G1, mientras que casi el 50% de las células cancerosas tienen defectos en el gen p53 supresor de tumores, lo que les hace carecer de la función del punto G1/S de control. Tienen que depender más del punto G2/M de control para completar la reparación del ADN. El punto G2/M de control rara vez sufre mutaciones, lo que hace que las células cancerosas escapen al tratamiento con agentes y la radiación que dañan el ADN.

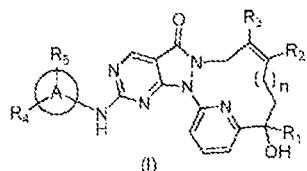
25 La proteína quinasa Wee1 es un regulador del ciclo celular, un miembro de la familia de las proteínas quinasas de serina y treonina en el núcleo y es una quinasa clave para el punto G2/M de control. La familia de proteína quinasa "Wee" humana incluye principalmente Wee1 y Myt1, las cuales pueden fosforilar el sitio Tyr15 en CDC2, inhibir la activación del complejo CDC2/CiclinaB y bloquear la entrada de células a la fase M, hasta que se complete la reparación del ADN. Myt1 también puede fosforilar el sitio Thr14 en CDC2, lo que también constituye una regulación negativa de la actividad de CDC2. La quinasa Wee1 se expresa altamente en muchas células cancerosas. Al inhibir la quinasa Wee1, se puede causar que las células tumorales omitan directamente la reparación del ADN de la etapa G2 y entren en la mitosis por adelantado, lo que conduce a la muerte de las células tumorales y logra el propósito de tratar el cáncer.

35 Actualmente, un inhibidor AZD1775 de Wee1 de AstraZeneca ha entrado en la fase clínica II y se están desarrollando más de 30 ensayos clínicos que muestran buenos efectos terapéuticos. AZD1775 fue desarrollado por primera vez por Merck y, por lo tanto, también se lo conoce como MK-1775. En septiembre de 2013, Merck transfirió el compuesto a AstraZeneca a nivel mundial y las patentes relevantes incluyen principalmente los documentos US20070254892, WO2007126122, EP2213673, WO2008133866, WO2011034743, etc. Abbott y Abbvie también han realizado investigación sobre inhibidores de Wee1, y las patentes relevantes incluyen principalmente los documentos US2012220572, WO2013126656, WO2013012681, WO2013059485, WO2013013031, WO2013126656, etc. Las patentes de Almac con respecto a los inhibidores de Wee1 incluyen los documentos WO2014167347, WO2015019037, WO2015092431.

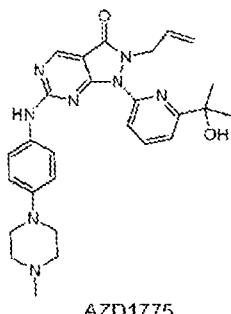
40 El documento WO2019085933A1 divulga un compuesto macrocíclico que sirve como inhibidor de Wee1 y aplicaciones del mismo en la preparación de fármacos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con Wee1. El documento WO2019085933A1 se refiere específicamente a un compuesto representado por la fórmula (II), un isómero del mismo y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



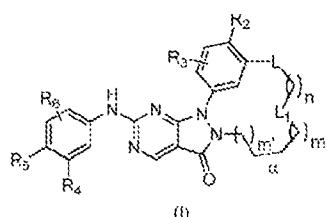
El documento EP3875460A1 divulga un derivado de pirimidopirazolona de la siguiente fórmula (I) como inhibidor de Wee1 y su uso en la preparación de un medicamento para tratar enfermedades relacionadas con Wee1.



- 5 El documento WO2008133866 divulga un compuesto de AZD1775 que tiene la siguiente estructura:

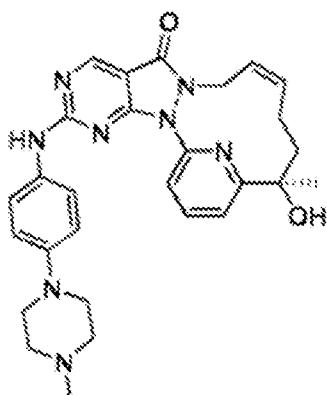


- 10 El documento CN108623615A divulga un derivado macrocíclico de pirazol[3,4-d]pirimidin-3-ona representado por la fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una composición que comprende el compuesto representado por la fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un método de preparación del mismo, uso del mismo como inhibidor de Wee1 y uso del mismo como sensibilizador en quimioterapia o una radioterapia de cánceres.



Resumen

- 15 Se proporciona una Forma A de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma A de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: 5.71±0.2°, 12.68±0.2° y 15.32±0.2°.



Fórmula (I)

ES 2 984 617 T3

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: 5.71±0.2°, 12.68±0.2°, 15.32±0.2°, 19.72±0.2°, 21.44±0.2°, 23.61±0.2° y 25.68±0.2°.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: 5.71±0.2°, 12.68±0.2°, 15.32±0.2°, 18.04±0.2°, 19.72±0.2°, 21.44±0.2°, 23.61±0.2° y 25.68±0.2°.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 1.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene un patrón de XRPD con los Datos de Análisis que se muestran en la Tabla 1:

Tabla 1: Datos de Análisis de Patrón de XRPD de la Forma A de Cristal

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	5.046	17.4994	0.7	17	20.08	4.4184	0.4
2	5.046	17.4994	0.7	18	20.413	4.3471	0.3
3	5.711	15.4612	100	19	21.2	4.1874	0.6
4	7.904	11.176	0.6	20	21.435	4.142	2.1
5	11.218	7.881	0.5	21	21.669	4.0979	0.5
6	12.677	6.9773	27.4	22	22.268	3.989	0.9
7	14.71	6.0172	1.4	23	23.234	3.8252	0.8
8	14.948	5.9216	0.8	24	23.607	3.7656	4.2
9	15.318	5.7794	1.5	25	25.517	3.488	1.9
10	16.051	5.5173	0.5	26	25.678	3.4665	2.2
11	17.159	5.1634	0.9	27	26.043	3.4187	0.5
12	17.768	4.9877	0.5	28	27.765	3.2104	0.4
13	18.043	4.9125	1	29	28.007	3.1832	1
14	18.597	4.7672	0.4	30	29.289	3.0467	0.4
15	18.906	4.69	0.9	31	30.426	2.9354	0.4
16	19.719	4.4984	1.7			-	

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a 34.95±3°C, 174.75 ±3°C y 219.12 ±3°C, respectivamente.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 2.

ES 2 984 617 T3

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $70.33\pm3^\circ\text{C}$ es 0.7367%; y la pérdida de peso a $209.42\pm3^\circ\text{C}$ es del 3.123%.

5 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma A de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 3.

También se proporciona una Forma B de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma B de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $5.58\pm0.2^\circ$, $12.44\pm0.2^\circ$ y $22.16\pm0.2^\circ$.

10 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $5.58\pm0.2^\circ$, $11.71\pm0.2^\circ$, $12.44\pm0.2^\circ$, $14.48\pm0.2^\circ$, $15.13\pm0.2^\circ$, $18.64\pm0.2^\circ$, $22.16\pm0.2^\circ$ y $26.33\pm0.2^\circ$.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $5.58\pm0.2^\circ$, $11.71\pm0.2^\circ$, $12.44\pm0.2^\circ$, $14.48\pm0.2^\circ$, $15.13\pm0.2^\circ$, $17.57\pm0.2^\circ$, $18.64\pm0.2^\circ$, $22.16\pm0.2^\circ$ y $26.33\pm0.2^\circ$.

15 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 4.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene un patrón de XRPD con los Datos de Análisis que se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2: Datos de Análisis de Patrón de XRPD de la Forma B de Cristal

No.	Ángulo 2θ ($^\circ$)	Espaciado interplanar (\AA)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ ($^\circ$)	Espaciado interplanar (\AA)	Intensidad relativa (%)
1	5.577	15.8346	100	17	19.582	4.5295	4.3
2	7.838	11.2705	1.1	18	20.016	4.4325	5.3
3	9.807	9.0113	1.5	19	21.831	4.0677	3.2
4	11.028	8.0162	2.4	20	22.164	4.0075	18.7
5	11.713	7.549	6.4	21	23.018	3.8607	2.8
6	12.056	7.3351	1.3	22	23.626	3.7626	2.1
7	12.439	7.1098	30.4	23	25.007	3.5579	2.3
8	13.706	6.4552	4.6	24	25.261	3.5227	1.4
9	14.233	6.2177	2.9	25	25.808	3.4493	1.3
10	14.476	6.1138	5.7	26	26.327	3.3824	8.5
11	15.127	5.8522	5.8	27	28.535	3.1255	1
12	16.717	5.2989	1.1	28	30.939	2.8879	0.9
13	17.146	5.1674	1.2	29	31.076	2.8755	0.9
14	17.567	5.0443	7.7	30	32.083	2.7875	0.7
15	18.241	4.8596	2	31	34.201	2.6196	0.7

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
16	18.637	4.757	6.5		-		

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $42.88 \pm 3^\circ\text{C}$, $198.79 \pm 3^\circ\text{C}$ y $222.36 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente.

- 5 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 5.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $64.21 \pm 3^\circ\text{C}$ es 3.265%; y la pérdida de peso a $243.05 \pm 3^\circ\text{C}$ es del 1.516%.

- 10 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma B de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 6.

También se proporciona una Forma C de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma C de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.05 \pm 0.2^\circ$, $5.58 \pm 0.2^\circ$ y $12.44 \pm 0.2^\circ$.

- 15 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.05 \pm 0.2^\circ$, $5.58 \pm 0.2^\circ$, $12.44 \pm 0.2^\circ$, $15.91 \pm 0.2^\circ$, $16.68 \pm 0.2^\circ$, $17.61 \pm 0.2^\circ$, $22.19 \pm 0.2^\circ$ y $26.37 \pm 0.2^\circ$.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 7.

- 20 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene un patrón de XRPD con los Datos de Análisis que se muestran en la Tabla 3:

Tabla 3: Datos de Análisis de Patrón de XRPD de la Forma C de Cristal

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	5.047	17.4944	12.4	17	19.6	4.5254	0.8
2	5.577	15.8334	100	18	20.032	4.4288	0.7
3	10.945	8.077	0.6	19	21.275	4.1728	0.5
4	11.137	7.9381	1.4	20	21.436	4.1418	0.7
5	11.712	7.5495	1.2	21	21.869	4.0608	0.8
6	12.438	7.1105	12.8	22	22.186	4.0036	6.1
7	13.726	6.4461	0.6	23	23.035	3.8578	1.8
8	14.221	6.2226	0.8	24	23.627	3.7626	0.9
9	14.496	6.1055	0.9	25	24.832	3.5826	0.3
10	15.126	5.8527	1.1	26	25.002	3.5586	0.6

ES 2 984 617 T3

11	15.911	5.5654	6.4	27	25.278	3.5203	0.5
12	16.108	5.4978	2.8	28	26.367	3.3773	3
13	16.685	5.309	3.3	29	26.98	3.302	0.4
14	17.61	5.0322	2.6	30	28.633	3.1151	0.2
15	17.921	4.9455	0.4	31	28.939	3.0828	0.4
16	18.694	4.7427	2.2	32	34.293	2.6127	0.2

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $37.06 \pm 3^\circ\text{C}$, $189.16 \pm 3^\circ\text{C}$ y $218.61 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente.

- 5 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 8.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $64.98 \pm 3^\circ\text{C}$ es 2.211%; y la pérdida de peso a $224.71 \pm 3^\circ\text{C}$ es del 1.127%.

- 10 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma C de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 9.

También se proporciona una Forma D de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma D de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.22 \pm 0.2^\circ$, $15.99 \pm 0.2^\circ$ y $16.57 \pm 0.2^\circ$.

- 15 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.22 \pm 0.2^\circ$, $15.99 \pm 0.2^\circ$, $16.57 \pm 0.2^\circ$ y $21.22 \pm 0.2^\circ$.

- 20 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.22 \pm 0.2^\circ$, $15.18 \pm 0.2^\circ$, $15.99 \pm 0.2^\circ$, $16.57 \pm 0.2^\circ$, $17.08 \pm 0.2^\circ$, $18.60 \pm 0.2^\circ$, $21.22 \pm 0.2^\circ$ y $21.89 \pm 0.2^\circ$.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.22 \pm 0.2^\circ$, $15.18 \pm 0.2^\circ$, $15.99 \pm 0.2^\circ$, $16.57 \pm 0.2^\circ$, $17.08 \pm 0.2^\circ$, $17.90 \pm 0.2^\circ$, $18.60 \pm 0.2^\circ$, $21.22 \pm 0.2^\circ$, $21.89 \pm 0.2^\circ$, $25.24 \pm 0.2^\circ$ y $27.00 \pm 0.2^\circ$.

- 25 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 10.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de XRPD con los Datos de Análisis que se muestran en la Tabla 4:

Tabla 4: Datos de Análisis de Patrón de XRPD de la Forma D de Cristal

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	5.224	16.9027	100	16	25.242	3.5253	8.2
2	10.424	8.4794	4	17	26.048	3.418	3.5
3	12.774	6.9241	1.9	18	26.609	3.3472	2

ES 2 984 617 T3

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
4	15.18	5.8316	7.9	19	26.997	3.3	7.6
5	15.595	5.6774	22.3	20	27.492	3.2417	2.9
6	15.992	5.5373	58.7	21	28.517	3.1274	1.6
7	16.567	5.3466	18.1	22	29.898	2.986	3.5
8	17.075	5.1886	15.3	23	30.55	2.9238	3.8
9	17.904	4.9503	4.9	24	31.333	2.8525	2
10	18.201	4.87	5.1	25	32.348	2.7653	1.7
11	18.599	4.7668	12.1	26	32.95	2.7161	1.3
12	19.506	4.5472	4.1	27	34.522	2.596	1.9
13	21.22	4.1834	25.5	28	34.545	2.5943	2
14	21.888	4.0573	4.8	29	36.655	2.4496	2.1
15	22.936	3.8743	1.6	30	39.522	2.2783	1.7

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $56.07 \pm 3^\circ\text{C}$, $193.93 \pm 3^\circ\text{C}$ y $216.54 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente.

- 5 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $56.07 \pm 3^\circ\text{C}$, $193.93 \pm 3^\circ\text{C}$ y $216.54 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente; y un valor máximo de pico exotérmico a $206.82 \pm 3^\circ\text{C}$.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 11.

- 10 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $79.35 \pm 3^\circ\text{C}$ es 1.977%; y la pérdida de peso a $223.66 \pm 3^\circ\text{C}$ es del 1.589%.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma D de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 12.

- 15 También se proporciona una Forma E de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma E de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $8.65 \pm 0.2^\circ$, $14.22 \pm 0.2^\circ$ y $24.58 \pm 0.2^\circ$.

- 20 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $8.65 \pm 0.2^\circ$, $11.41 \pm 0.2^\circ$, $13.13 \pm 0.2^\circ$, $14.22 \pm 0.2^\circ$, $17.35 \pm 0.2^\circ$, $18.34 \pm 0.2^\circ$, $20.39 \pm 0.2^\circ$, $20.94 \pm 0.2^\circ$ y $24.58 \pm 0.2^\circ$.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 13.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene un patrón de XRPD con los Datos de Análisis que se muestran en la Tabla 5:

ES 2 984 617 T3

Tabla 5: Datos de Análisis de Patrón de XRPD de la Forma E de Cristal

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	6.507	13.5715	8.8	17	23.173	3.8352	2.8
2	8.653	10.2107	100	18	24.575	3.6195	28.2
3	11.414	7.7457	15.2	19	25.243	3.5252	11
4	13.132	6.7365	26.9	20	26.188	3.4001	6.7
5	14.217	6.2247	66.8	21	26.428	3.3697	6.9
6	16.211	5.4632	4.5	22	26.882	3.3139	1.7
7	17.354	5.1058	16.5	23	28.358	3.1446	5.4
8	18.065	4.9065	4.8	24	28.612	3.1173	2.2
9	18.341	4.8332	18.1	25	30.409	2.937	5.5
10	18.974	4.6733	1.8	26	31.1	2.8733	1.9
11	20.39	4.3518	22.8	27	31.688	2.8213	2.9
12	20.941	4.2386	23.4	28	32.322	2.7674	1.6
13	21.594	4.1119	9.6	29	32.874	2.7222	1.6
14	22.169	4.0065	5.5	30	33.876	2.6439	2
15	22.68	3.9174	9.9	31	34.711	2.5822	2.2
16	22.954	3.8713	4	32	35.02	2.5602	1.6

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $121.57 \pm 3^\circ\text{C}$, 5 $197.26 \pm 3^\circ\text{C}$ y $217.23 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente; y un valor máximo de pico exotérmico a $168.31 \pm 3^\circ\text{C}$ y $212.95 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 14.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $143.31 \pm 3^\circ\text{C}$ es de 6.775%; y la pérdida de peso a $213.62 \pm 3^\circ\text{C}$ es de 0.3184%.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma E de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 15.

También se proporciona una Forma F de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma F de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.06 \pm 0.2^\circ$, $15.91 \pm 0.2^\circ$ y $16.68 \pm 0.2^\circ$.

ES 2 984 617 T3

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.06\pm0.2^\circ$, $8.34\pm0.2^\circ$, $10.98\pm0.2^\circ$, $15.13\pm0.2^\circ$, $15.91\pm0.2^\circ$, $16.68\pm0.2^\circ$, $17.63\pm0.2^\circ$ y $18.87\pm0.2^\circ$.

5 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $5.06\pm0.2^\circ$, $8.34\pm0.2^\circ$, $10.98\pm0.2^\circ$, $15.13\pm0.2^\circ$, $15.91\pm0.2^\circ$, $16.68\pm0.2^\circ$, $17.63\pm0.2^\circ$, $18.87\pm0.2^\circ$, $20.33\pm0.2^\circ$, $21.44\pm0.2^\circ$, $22.01\pm0.2^\circ$, $24.04\pm0.2^\circ$, $25.32\pm0.2^\circ$ y $25.66\pm0.2^\circ$.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 16.

10 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene un patrón de XRPD con los Datos de Análisis que se muestran en la Tabla 6:

Tabla 6: Datos de Análisis de Patrón de XRPD de la Forma F de Cristal

No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	No.	Ángulo 2θ (°)	Espaciado interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	5.062	17.4414	100	13	21.44	4.1411	5.3
2	8.341	10.5913	3.3	14	22.006	4.0358	3.2
3	10.077	8.7708	1.8	15	23.328	3.81	1.2
4	10.98	8.0515	4.7	16	23.898	3.7204	2.7
5	15.128	5.8518	6.1	17	24.181	3.6776	3
6	15.911	5.5653	59	18	25.325	3.5139	3.1
7	16.685	5.3089	30	19	25.656	3.4694	2.5
8	17.628	5.027	12	20	26.96	3.3045	1.2
9	17.945	4.939	1.8	21	27.271	3.2674	1.9
10	18.869	4.6992	2.6	22	29.026	3.0738	1.8
11	19.719	4.4983	0.9	23	32.834	2.7254	0.8
12	20.332	4.3641	4			N / A	

15 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $48.69\pm3^\circ\text{C}$ y $225.26\pm3^\circ\text{C}$, respectivamente.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 17.

20 En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $100\pm3^\circ\text{C}$ es de 3.404%.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, la Forma F de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 18.

Se proporciona además un proceso para preparar una Forma F de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), comprendiendo,

- (a) añadir el compuesto de la fórmula (I) a un solvente alcohólico con agitación que se calienta en un baño de aceite a 55~65°C;
 (b) agitar a 47°C-53°C durante 72 h;
 (c) detener el calentamiento y mantener la agitación con la temperatura reducida espontáneamente durante 1
 5 h a 27°C;
 (d) dejar reposar durante 18 h, filtrar y enjuagar la torta de filtración con metanol;
 (e) secar al vacío a 60°C durante 48 h.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente divulgación, el solvente alcohólico es metanol.

Se proporciona un uso adicional de la Forma A de Cristal, la Forma B de Cristal, la Forma C de Cristal, la Forma D de Cristal, la Forma E de Cristal o la Forma F de Cristal para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad relacionada con Wee1.

Efecto técnico

La Forma A de Cristal, la Forma B de Cristal, la Forma C de Cristal, la Forma D de Cristal, la Forma E de Cristal y la Forma F de Cristal del compuesto de acuerdo con la presente divulgación tienen buena estabilidad, se ven menos afectadas por la luz, el calor y la humedad, tienen alta solubilidad y farmacología prometedora.

Definición

A menos que se indique de otro modo, los siguientes términos y frases tienen las siguientes definiciones. Un término o frase específico no debe ser considerado indefinido o poco claro sin una definición específica y debe ser entendido de acuerdo con sus significados normales. Un nombre comercial utilizado en este documento se referirá al artículo correspondiente o al ingrediente activo.

Los compuestos intermedios en el presente documento se pueden preparar mediante diversos procesos de síntesis bien conocidos por un experto en la técnica, incluidas las realizaciones específicas enumeradas a continuación, las realizaciones mediante una combinación con otros procesos de síntesis química y alternativas equivalentes bien conocidas por un experto en la técnica. Las realizaciones preferidas incluyen, pero no se limitan a, los siguientes ejemplos.

La reacción química de las realizaciones específicas se realiza en un solvente adecuado, y el solvente debería ser adecuado para los cambios químicos de la presente divulgación y los reactivos y materiales requeridos. Para obtener el compuesto de la presente divulgación, un experto en la técnica puede modificar o seleccionar un paso de síntesis o un esquema de reacción basado en las realizaciones disponibles.

La presente divulgación se describirá de manera detallada y los Ejemplos no deberían ser considerados como una limitación de la misma.

Los solventes utilizados en el presente documento están disponibles comercialmente y se pueden utilizar sin purificación adicional.

Los solventes utilizados en el presente documento pueden estar disponibles comercialmente. En este documento se utilizan las siguientes abreviaturas: DCM representa diclorometano; DMF representa *N,N*-dimetilsulfóxido dimetilformamida; DMSO representa dimetilsulfóxido; EtOH representa etanol; MeOH representa metanol; TFA representa ácido trifluoroacético; TsOH representa ácido p-toluenosulfónico; pf representa punto de fusión; EtSO₃H representa ácido etanosulfónico; MeSO₃H representa ácido metanosulfónico; ATP representa trifosfato de adenosina; HEPES representa ácido 4-hidroxietilpiperazin etanosulfónico; EGTA representa ácido etilenbis(oxietilenonitrilo)tetraacético; MgCl₂ representa cloruro de magnesio; MnCl₂ representa cloruro de manganeso; DTT representa ditiotreitol; DCC representa dicitohexilcarbodiimida; DMAP representa 4-dimetilaminopiridina; DIEA representa *N,N*-diisopropiletilamina; % en peso: porcentaje en masa; THF representa tetrahidrofurano.

Instrumentos y métodos de análisis.

45 1.1 Difractómetro de rayos X en polvo (XRPD)

Dispositivo: Difractómetro de rayos X BRUKER D8 advance

Método de prueba: se utilizan entre 10 y 20 mg de muestra para la detección de XRPD.

Los parámetros detallados de XRPD son los siguientes:

Tubo de luz: Cu, κ_{λ} , ($\lambda=1.54056\text{\AA}$).

Tensión del tubo de luz: 40 kV, Corriente del tubo luminoso: 40mA

Rendija de divergencia: 0.60 mm

Rendija del detector: 10.50 mm

Rendija antidispersión: 7.10 mm

Intervalo de escaneo: 4-40 grad
 Tamaño de paso: 0.02 grad
 Tiempo/paso: 0.12 s
 Velocidad de giro de la etapa de muestra: 15 rpm

5 1.2 Calorímetro de barrido diferencial (DSC)

Dispositivo: Calorímetro de barrido diferencial TA Q2000

Método de prueba: La muestra (aproximadamente 1 mg) es colocada en un recipiente de aluminio para DSC para realizar la prueba, bajo 50 mL/min de N₂, es calentada de 30 °C a 300 °C a la tasa de calentamiento de 10 °C/min.

10 1.3 Analizador Gravimétrico Térmico (TGA)

Dispositivo: Analizador Gravimétrico Térmico TA Q5000

Método de prueba: La muestra (2-5 mg) es colocada en un recipiente de platino para TGA para su análisis, bajo 25 mL/min de N₂, es calentada a una tasa de calentamiento de 10 °C/min desde 30°C (temperatura ambiente) a 300 °C, o hasta una pérdida de peso del 20%.

15 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra el patrón de XRPD con radiación Cu-Kα de la Forma A de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 2 muestra el patrón de DSC de la Forma A de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 3 muestra el patrón de TGA de la Forma A de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

20 La Figura 4 muestra el patrón de XRPD con radiación Cu-Kα de la Forma B de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 5 muestra el patrón de DSC de la Forma B de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 6 muestra el patrón de TGA de la Forma B de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

25 La Figura 7 muestra el patrón de XRPD con radiación Cu-Kα de la Forma C de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 8 muestra el patrón de DSC de la Forma C de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 9 muestra el patrón de TGA de la Forma C de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 10 muestra el patrón de XRPD con radiación Cu-Kα de la Forma D de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

30 La Figura 11 muestra el patrón de DSC de la Forma D de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 12 muestra el patrón de TGA de la Forma D de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 13 muestra el patrón de XRPD con radiación Cu-Kα de la Forma E de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 14 muestra el patrón de DSC de la Forma E de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

35 La Figura 15 muestra el patrón de TGA de la Forma E de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 16 muestra el patrón de XRPD con radiación Cu-Kα de la Forma F de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

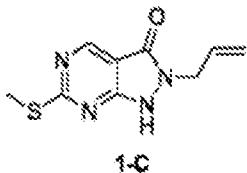
La Figura 17 muestra el patrón de DSC de la Forma F de Cristal del compuesto de la fórmula (I);

La Figura 18 muestra el patrón de TGA de la Forma F de Cristal del compuesto de la fórmula (I).

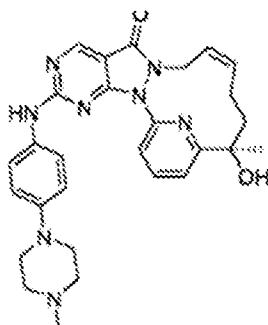
40 Descripción detallada

La presente divulgación será descrita en detalle a continuación haciendo referencia a los Ejemplos, que no significan ninguna limitación desventajosa. La presente divulgación ha sido descrita en detalle en el presente documento y sus realizaciones específicas son también divulgadas

Producto 1 intermedio

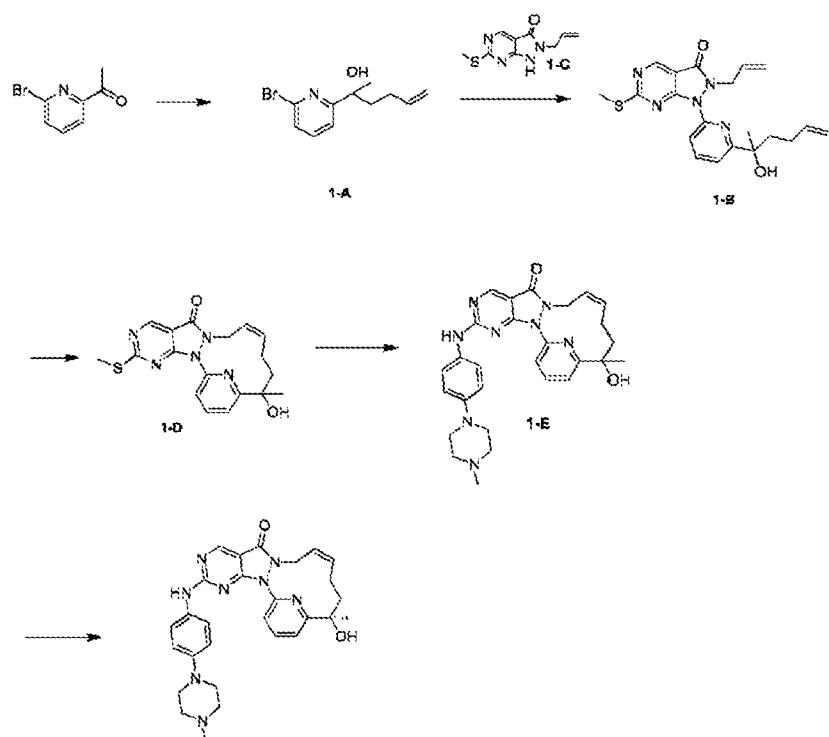


45 La preparación fue realizada con referencia al proceso de síntesis en el documento WO2007126122.

Ejemplo 1: Compuesto de la Fórmula (I)

Fórmula (I)

Esquema de síntesis:

**Paso 1: Síntesis del compuesto 1-A**

5 A 0~15 °C y atmósfera de nitrógeno, a una solución de 2-acetyl-6-bromopyridina (7.35 g, 36.74 mmol) en THF (150 mL) se añadió gota a gota bromuro de 3-butenilmagnesio (1 M, 55.12 mL) y luego se agitó la solución de reacción a 10~20°C durante 3 h. Se añadieron 100 mL de solución saturada de cloruro de amonio para apagar la reacción y se realizó una separación líquida para dar una capa orgánica, que se lavó con 50 mL de cloruro de sodio saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se hizo rotar y se concentró hasta sequedad para dar un aceite marrón. Se purificó el aceite marrón con cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA=7/1) para dar 1-A. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.73 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.64 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.46 (d, J=7.2 Hz, 1H), 5.78-5.7 (m, 1H), 4.94-4.85 (m, 2H), 2.07~2.01 (m, 1H), 1.90~1.71 (m, 3H), 1.41 (s, 3H).

Paso 2: Síntesis del compuesto 1-B

15 A una mezcla de 1-A (3.47 g, 13.55 mmol) y 1-C (3.01 g, 13.55 mmol) en dioxano (150 mL) se añadieron N,N'-dimetiletilendiamina (1.31 g, 14.90 mmol, 1.60 mL), yoduro de cobre (2.58 g, 13.55 mmol) y carbonato de potasio (2.62 g, 18.97 mmol), que se purgó con nitrógeno tres veces. Se agitó la mezcla a 95°C y una atmósfera de nitrógeno durante 1.5 y se añadieron 200 mL de amoníaco (28%). La mezcla de reacción fue sometida a extracción con acetato de etilo (300 mL x 2) y se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con 200 mL de salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida hasta sequedad. Se purificó la mezcla con cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA=3/1) para dar 1-B. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.02 (s, 1H), 8.04 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.76 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.64 (d, J=7.6 Hz, 1H),

5.77-5.67 (m, 2H), 5.01-4.79 (m, 6H), 2.56 (s, 3H), 2.15-2.11 (m, 1H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.70-1.60 (m, 1H),
1.46 (s, 3H).

Paso 3: Síntesis del compuesto 1-D

5 A una solución de 1-B (2.06 g, 5.18 mmol) en tolueno (700 mL) se añadió catalizador de Grubbs de segunda generación (1.32 g, 1.55 mmol) y se agitó la mezcla durante 6 h a 80 °C y atmósfera de nitrógeno. Se añadió adicionalmente catalizador de Grubbs de segunda generación (0.65 g, 0.775mmol) y se agitó la mezcla a 80 °C y bajo atmósfera de nitrógeno durante 3 h. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se filtró. Se concentró el filtrado hasta sequedad para dar un residuo marrón, que se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA=1/1) para dar 1-D. ^1H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.07 (s,1H), 8.06 (t, J=8.0 Hz, 1H),
10 7.79 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.70 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.39-5.25 (m, 3H), 4.66 (d, J=5.2 Hz, 2H), 2.62(s,3H), 2.40-1.95
(m,3H), 1.85-1.65 (m, 1H), 1.64 (s, 3H).

Paso 4: Síntesis del compuesto 1-E

15 A una solución de compuesto 1-D (360 mg, 974.45 μmol) en tolueno (35 mL) se añadió ácido metacloroperbenzoico (265.09 mg, 1.31 mmol, 85% de pureza) y se agitó el sistema de reacción a 25°C durante 2 h. A la solución de reacción se añadió 4-(4-metilpiperazin)anilina (242.30 mg, 1.27 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (503.76 mg, 3.90 mmol). Se agitó la solución de reacción a 25°C durante 12 h. A la solución de reacción se añadieron 25 mL de agua con agitación y se realizó extracción a la fase acuosa con acetato de etilo (30 mL x 3). Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron una vez con solución saturada de bicarbonato de sodio (30 mL) y salmuera saturada (30 mL), respectivamente, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se secaron al vacío para dar un crudo, que se separó con cromatografía líquida preparativa (neutral) para dar 1-E. ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.70 (s, 3H) 1.78 (br d, J=13.54 Hz, 2H), 2.04 (br d, J=6.54 Hz, 1H), 2.08 -2.23 (m, 2 H), 2.39 (s, 3H), 2.62-2.64 (m, 4H), 3.21-3.24 (m, 4H), 4.24 (br s, 1H), 4.51 (br d, J=13.54 Hz, 1H), 5.61-5.88 (m, 2H), 6.95 (d, J=9.04 Hz, 2H) 7.49 (d, J=9.04 Hz, 3H), 7.81-7.90 (m, 2H) 8.87 (s, 1H); MS m/z: 513.1 [M+H]⁺.

25 **Paso 5: Síntesis del Compuesto de la Fórmula (I)**

El compuesto 1-E (100 mg, 195.08 μmol) fue sometido a resolución quiral SFC (columna de cromatografía: AD 250×50mm de D.I., fase móvil de 10μm: A: CO₂ supercrítico, B: EtOH(0.1%NH₃H₂O), A:B =55:45 a 200 mL/min), tiempo de retención: 21 min, para dar el compuesto de la fórmula (I). ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.60 (s, 3H), 1.68 (br s, 2H), 1.94 (br d, J=7.04 Hz, 1H), 2.00-2.20 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.52-2.55 (m, 4H), 3.12-3.15 (m, 4H), 4.24 (br s, 1H), 4.42 (br d, J=9.54 Hz, 1H), 5.65 (br s, 2H), 6.85 (d, J=9.04 Hz, 2H), 7.17 (s, 1H) 7.40 (d, J=9.04 Hz, 2H), 7.69-7.81 (m, 2H), 8.77 (s, 1H). MS m/z: 513.1 [M+H]⁺.

Ejemplo 2: Preparación de la Forma A de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I)

Se añadieron aproximadamente 50 mg del Compuesto de la Fórmula (I) a diversas botellas de vidrio, a los que se añadieron 0.5 mL de acetona respectivamente para formar una suspensión. Las muestras en suspensión 35 fueron probadas en un aparato de agitación a temperatura constante (40°C). Las muestras de suspensión fueron agitadas a 40°C durante 2 días y fueron sometidas a centrifugación. Se eliminó el líquido superior y las muestras residuales se secaron en una cabina de secado al vacío (40°C) durante la noche, para dar la Forma A de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I).

Ejemplo 3: Preparación de la Forma B de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I)

40 Se añadieron aproximadamente 50 mg del Compuesto de la Fórmula (I) a diversas botellas de vidrio, a las que se añadieron 0.3 mL de etanol respectivamente para formar una suspensión. Se probaron las muestras en suspensión en un aparato de agitación a temperatura constante (40°C). Las muestras de suspensión fueron agitadas a 40°C durante 2 días y sometidas a centrifugación. Se eliminó el líquido superior y las muestras residuales se secaron en una cabina de secado al vacío (40°C) durante la noche para dar la Forma B de Cristal 45 del Compuesto de la Fórmula (I).

Ejemplo 4: Preparación de la Forma C de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I)

Se añadieron aproximadamente 50 mg del Compuesto de la Fórmula (I) a diversas botellas de vidrio, a las que se añadieron 0.2 mL de metanol respectivamente para formar una suspensión. Se probaron las muestras en suspensión en un aparato de agitación a temperatura constante (40°C). Las muestras en suspensión fueron agitadas a 40°C durante 2 días y sometidas a centrifugación. Se eliminó el líquido superior y las muestras residuales fueron secadas en una cabina de secado al vacío (40°C) durante la noche para dar la Forma C de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I).

Ejemplo 5: Preparación de la Forma D de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I)

Se añadieron aproximadamente 50 mg del Compuesto de la Fórmula (I) a diversas botellas de vidrio, a las que se añadieron 0.4 mL de metanol/agua (1/1) respectivamente para formar una suspensión. Se probaron las muestras en suspensión en un aparato de agitación a temperatura constante (40°C). Las muestras de suspensión fueron agitadas a 40°C durante 2 días y sometidas a centrifugación. Se eliminó el líquido superior y las muestras residuales se secaron en una cabina de secado al vacío (40°C) durante la noche para dar la Forma D de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I).

Ejemplo 6: Preparación de la Forma E de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I)

Se añadieron aproximadamente 50 mg del Compuesto de la Fórmula (I) a diversas botellas de vidrio, a las que se añadieron 0.5 mL de acetonitrilo respectivamente para formar una suspensión. Se probaron las muestras en suspensión en un aparato de agitación a temperatura constante (40°C). Se agitaron las muestras de suspensión a 40°C durante 2 días y se las sometió a centrifugación. Se eliminó el líquido superior y las muestras residuales se secaron en una cabina de secado al vacío (40°C) durante la noche para dar la Forma E de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I).

Ejemplo 7: Preparación de la Forma F de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I)

15 A 25-26°C, a un matraz de tres cuellos de 1 L con 560 mL de MeOH se añadió el Compuesto de la Fórmula (I) con agitación. Se calentó el sistema de reacción en un baño de aceite a 55~65°C. Después de 20 min, se mantuvo la temperatura interior en 47°C-53°C y se agitó el sistema de reacción durante 72 h a temperatura mantenida. Se detuvo el calentamiento y se continuó con la agitación y la temperatura se redujo espontáneamente durante 1 hora a 27°C. Se dejó reposar el sistema durante 18 h y se filtró, y se enjuagó la torta de filtración con 30 mL de MeOH. Se secó la torta de filtración a 60°C al vacío durante 48 h para dar la Forma F de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I).

Ejemplo 1 experimental: Prueba de estabilidad en sólido de la Forma F de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I) en condiciones de alta temperatura, alta humedad, iluminación.

25 De acuerdo con los factores que influyen y las condiciones de prueba aceleradas, se pesaron con precisión aproximadamente 5 mg de la Forma F de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I) y se colocaron en una botella de vidrio limpia y seca, por duplicado, y se extendieron en una capa delgada, como la muestra de prueba formal, se colocaron bajo las condiciones de prueba de los factores que influyen (60°C, 92.5% HR (humedad relativa)) y condiciones aceleradas (40°C/75% HR y 60°C/75% HR), con las muestras completamente expuestas. Se cubrió el sistema de prueba con papel de lámina de aluminio con pequeños agujeros. Además, 30 se tomó una pequeña cantidad de muestras y se colocaron en una botella de muestra de vidrio de 40 mL en las mismas condiciones, para determinar el estado del cristal. El muestreo y el análisis fueron realizados a los 5 días, 10 días y un mes. El método de análisis se muestra en la Tabla 7 y los resultados del análisis se mostraron en la Tabla 8. Las muestras colocadas en condiciones de iluminación (luz visible 1200000 Lux, UV 200W) quedaron completamente expuestas a temperatura ambiente.

35 Tabla 7: Método analítico de sustancias relacionadas mediante cromatografía líquida de alta resolución

Columna de cromatografía	waters xbridge shield RP18(4.6mmx150 mm, 3.5µm), PN: 186003045			
Longitud de onda	230nm			
Temperatura de columna	40 °C			
Tasa de flujo	0.8mL/min			
Volumen de inyección	10 µL			
Fase móvil	A: solución de acetato de amonio 5mmol/L (pH4.5)(VV) B: 100%ACN			
	Tiempo (min)	A%	B%	
	0.01	95	5	
	10.00	95	5	
	50.00	30	70	
	51.00	10	90	

Programa de fase móvil	55.00	10	90		
	56.00	95	5		
	62.00	95	5		
	62.01	Detención			
Tiempo para la adquisición de datos	62min				
Solvente	acetonitrilo: agua (V/V)=50:50				
Solvente para el lavado de la aguja	acetonitrilo: agua (V/V)=50:50				

Tabla 8 Resultados del análisis del contenido de la muestra de estabilidad en sólido y sustancia relacionada para la Forma F de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I) (5 días, 10 días, un mes)

Condiciones y puntos de tiempo	Forma de cristal	% de impureza total	% de contenido
0 día	Forma F de Cristal	0.63	99.38
60°C_5 días	Forma F de Cristal	0.74	99.39
60°C_10 días	Forma F de Cristal	0.84	99.98
92.5% humedad_5 días	Forma F de Cristal	0.61	98.72
92.5% humedad_10 días	Forma F de Cristal	0.64	98.38
Protección de la luz	Forma F de Cristal	0.61	97.77
Iluminación	Forma F de Cristal	0.67	98.58
40°C -75% humedad-10 días	Forma F de Cristal	0.63	98.01
40°C -75% humedad-1 mes	Forma F de Cristal	0.62	97.94
60°C -75% humedad-10 días	Forma F de Cristal	0.69	100.43
60°C -75% humedad-1 mes	Forma F de Cristal	0.75	99.46

- 5 Conclusión: La Forma F de Cristal del Compuesto de la Fórmula (I) no cambió para la forma de cristal del compuesto de materia prima durante la prueba de factor de influencia en sólido de un mes y acelerada, mostrando una buena estabilidad física. En el análisis de sustancias relacionadas, las impurezas aumentaron ligeramente a alta temperatura (60°C) y condiciones aceleradas (60°C/75%HR), y la cantidad total de impurezas se mantuvo casi sin cambios en otras condiciones, mostrando una ligera sensibilidad a la temperatura.
- 10

Conclusión experimental: La forma de cristal de la presente divulgación tiene buena estabilidad y es fácil para fabricar medicamentos.

Ejemplo 2 experimental: Actividad inhibidora enzimática in vitro del Compuesto de la Fórmula (I)

- La prueba experimental se llevó a cabo en Eurofins y los resultados experimentales fueron proporcionados por la empresa.
- 15

Al sistema de prueba se le añadieron Tris-HCl 20 mM, pH 8.5, EDTA 0.2 mM, sustrato polipeptídico 500 μ M (LSN-LYHQGKFLQTFCGSPLYRRR), acetato de magnesio 10 mM y [γ - 33 P]-ATP 10 μ M (intensidad de aproximadamente 500 cpm/pmol). Después de la adición de Mg²⁺ y mezcla de ATP, la reacción se inició y se incubó a temperatura ambiente durante 40 min. Se añadió amortiguador de fosfato al 3% para detener la reacción.

Se tomaron 10 μ L de solución de reacción y se filtraron en un filtro continuo P30, y se lavó tres veces con amortiguador de fosfato 75 mM, una vez con metanol, cada lavado durante 5 min. Después del secado, se leyeron los valores mediante el método de recuento de centelleo. Los resultados de la prueba se muestran en la Tabla 9.

10 Tabla 9: Resultados de las pruebas de actividad enzimática in vitro de los compuestos de la presente divulgación (IC_{50})

Compuesto No.	Wee1 (IC_{50} nM)
AZD1775	47
Compuesto de la Fórmula (I)	29

Ejemplo 3 experimental: Prueba de permeabilidad in vitro del compuesto de la presente divulgación.

En el estudio se utilizó la célula MDR1-MDCK II autorizada por el Laboratorio Piet Borst del Instituto del Cáncer 15 de los Países Bajos, la célula es una célula de riñón canino Madin-Darby transfectada con el gen humano de resistencia a múltiples fármacos (MDR1), que puede expresar de manera estable el transportador de flujo de salida de glicoproteína P (P-gp) y, por lo tanto, es adecuado para detectar sustrato o inhibidor de P-gp y para predecir la permeabilidad de compuestos con barreras de flujo de salida altas, como el duodeno, la barrera hematoencefálica, el núcleo de las células hepáticas y la unidad renal. Se usaron células MDR1-MDCK II de los pases 5-35 para el estudio de permeabilidad.

Las células MDR1-MDCK II se cultivaron con medio α -MEM (medio esencial mínimo a) en condición de cultivo de 37±1°C, 5% de CO₂ y humedad relativa saturada. Luego, se sembraron las células en una placa de pocillos BD Transwell-96 a una densidad de siembra de 2.3 x 10⁵ células/cm² y luego las células se cultivaron en una incubadora de dióxido de carbono durante 4 a 7 días para el experimento de transporte. El método de preparación de su medio α -MEM fue el siguiente:

25 Se preparó la base nutritiva líquida con polvo (polvo de α -MEM de Gibco, nº de catálogo: 11900) disuelto en agua pura y se le añadió L- (L-glutamina) y NaHCO₃. Luego se agregaron 10% de FBS (suero bovino fetal), 1% de PS (anticuerpo doble) y 1% de NEAA durante su uso para obtener un medio completo. El lote de medio α -MEM es mostrado en la Tabla 10.

30 Tabla 10. Tabla de lotes α MEM (1L x)

Tabla de lotes α MEM (1L x)			
Compuesto (1 L x)	Peso molecular.	Concentración (mM)	Cantidad (mg/L)
Polvo del medio	/	/	1 paquete
L-glutamina	146	2	292
NaHCO ₃	84	17.85	1500

Se administraron AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación) y Digoxin a una concentración de 2 μ M, de dos vías (direcciones AB y BA), con pocillos duplicados. Las concentraciones de prueba de Fenoterol y Propranolol fueron ambas de 2 μ M y se administraron en una dirección (dirección A-B), con pocillos duplicados.

ES 2 984 617 T3

Se preincubaron las soluciones que se iban a utilizar, en un baño de agua a $37\pm1^{\circ}\text{C}$ durante 30 min. Se agregaron la solución de dosificación y la solución receptora a los pocillos de la placa celular correspondientes (75 y 250 μL para cada pocillo superior y base, respectivamente) respectivamente para iniciar el experimento de transporte bidireccional. Después de la adición de las muestras, se colocaron las placas celulares en una incubadora a $37\pm1^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 y humedad relativa saturada para incubar durante 150 min. La información de la recolección de muestras fue listada en la Tabla 11.

Tabla 11. La información de la colección de muestras.

Tipo de muestra	Volumen de muestra por pocillo (μL)	Volumen de solución de detención (μL)	Volumen de amortiguador de transporte (μL)
Extremo de dosificación A-B	50	250	100
Extremo receptor A-B	150	250	0
Extremo de dosificación B-A	50	250	100
Extremo receptor B-A	50	250	100
T_0	50	250	100

Nota: T_0 se refiere a una muestra de la solución de dosificación inicial.

Una vez todas las muestras se agitaron en vortex y centrifugaron a 3220 g durante 10 minutos, se transfirió un volumen apropiado de sobrenadante a la placa de análisis de muestras. Después de sellar la placa, la muestra debería ser almacenada a $2\text{-}8^{\circ}\text{C}$ si no fue analizada inmediatamente, utilizando el método LC-MS/MS para el análisis.

Una vez finalizado el experimento de transporte, se probó la integridad de las células MDR1-MDCK II mediante el Ensayo de Rechazo de Amarillo Lucifer. Después de 30 minutos de incubación con la solución de Amarillo Lucifer, se recogió la muestra de Amarillo Lucifer y se usó el lector de placas 2e ajustado a 425/528 nm (Excitación/Emisión) para detectar la intensidad relativa de fluorescencia (RFU) del amarillo fluorescente en el muestra.

Se realizó un análisis semicuantitativo de la sustancia de prueba AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación), donde la sustancia de referencia Fenoterol, Propranolol y Digoxin, se usó la relación entre el área del pico del analito y la del estándar interno, como la concentración de la sustancia de referencia.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Tasa de penetración (10^{-6} cm/s)

	AZD1775	Compuesto de la Fórmula (I)
A a B	2.83	4.55
B a A	29.3	17.38
Relación de flujo de salida	10.37	3.82

Conclusión experimental:

En comparación con AZD1775, la propiedad de permeabilidad del compuesto de la Fórmula (I) mejoró enormemente, lo que es beneficioso para la utilización de fármacos por organismos.

Ejemplo 4 experimental: Evaluación farmacocinética del compuesto.

Este experimento es utilizado para estudiar la farmacocinética de AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación) en el plasma de ratones hembra Balb/c desnudos después de una única administración intravenosa y una única administración oral.

Se dividieron aleatoriamente en dos grupos doce ratones (proporcionados por Lingchang), 6 hembras en cada grupo, y se recolectaron muestras mediante muestreo cruzado de sangre. A todos los animales del grupo intravenoso se les administró 1 mg/kg de AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación) mediante inyección intravenosa, y la formulación vehículo fue una solución transparente de HP-betaCD al 5% (Kunshan Ruisk Chemical Materials Co., Ltd.) que contenía 0.2 mg/mL de AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación). Los animales del grupo oral recibieron 10 mg/kg de AZD1775 (o el compuesto de las presentes divulgaciones) mediante alimentación forzada por sonda, y la formulación del vehículo fue una suspensión uniforme de metilcelulosa al 0.5% que contenía 1 mg/mL de AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación).

En el grupo intravenoso, se recogieron muestras de plasma en 9 momentos: 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h después de la administración. En el grupo oral, se recogieron muestras de plasma en 8 momentos: 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h después de la administración. Las muestras se analizaron mediante LC-MS/MS para obtener datos de concentración plasmática de AZD1775 (o el compuesto de la presente divulgación) y para calcular los parámetros farmacocinéticos, tales como concentración máxima, tiempo de pico, tasa de eliminación, semivida, área bajo la curva fármaco-tiempo, biodisponibilidad, etc.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Resultados de las pruebas farmacocinéticas.

Modo de administración/Dosis	Administración intravenosa, 1 mg/kg		Administración forzada por sonda, 10 mg/kg	
Producto de prueba (compuestos preparados en cada Ejemplo)	Tasa de eliminación (mL/min/kg)	Semivida $T_{1/2}$ (h)	Área bajo la curva fármaco-tiempo $AUC_{0-\text{último}}$ (nM.hr)	Biodisponibilidad F (%)
AZD1775	85.7	0.252	1200	31
Compuesto de la Fórmula (I)	33.5	1.69	6037	62.4

Conclusiones experimentales: En comparación con AZD1775, el compuesto de la Fórmula (I) puede mejorar significativamente múltiples indicadores de farmacocinética en ratones, donde la tasa de eliminación *in vivo*, semivida, la concentración integral *in vivo* y la biodisponibilidad mostraron ventajas significativas.

Ejemplo 5 experimental: Estudio *in vivo*

(1) Estudio farmacodinámico *in vivo* del compuesto sobre modelo de tumor de ratón BALB/c desnudo, por xenoinjerto subcutáneo de célula LoVo de cáncer de colon humano

Método experimental: Los animales experimentales seleccionados (proporcionados por Shanghai SIPPR-BK Experimental Animal Co., Ltd.) fueron ratones BALB/c desnudos, de 6 a 8 semanas, que pesaban 18- 22 g.

Se cultivaron células LoVo de cáncer de colon humano en monocapa *in vitro*, y las condiciones de cultivo fueron medio Ham's F-12 con 10% de suero bovino fetal, 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina y glutamina 2 mM, 37°C, 5% de CO₂. Se utilizó tripsina-EDTA para la digestión y el pase de rutina, dos veces por semana. Cuando la saturación celular es del 80%-90%, se recogieron las células, se contaron e inocularon. Se inocularon por vía subcutánea 0.1 mL (10×10^6 células) de células LoVo en la parte posterior derecha de cada ratón desnudo, y la administración grupal se inició cuando el volumen tumoral promedio alcanzó 213 mm³. La dosificación para la administración por sonda fue de 40 mg/kg, dos veces al día. El índice experimental consistía en investigar si el crecimiento del tumor se inhibía, aliviaba o curaba. Los diámetros de los tumores fueron medidos con un calibrador vernier dos veces por semana. La fórmula de cálculo para el volumen del tumor fue $V = 0.5a \times b^2$, donde a y b representan el diámetro largo y el diámetro corto del tumor, respectivamente.

La eficacia antitumoral del compuesto se evaluó mediante TGI (%) o la tasa de crecimiento tumoral relativo T/C (%). TGI (%) refleja la tasa de inhibición del crecimiento tumoral. Cálculo de TGI (%): TGI (%)=[(1- (Volumen tumoral promedio al final de la administración de un cierto grupo de tratamiento - Volumen tumoral promedio al inicio de la administración del grupo de tratamiento))/(Volumen tumoral promedio al final del tratamiento en el

grupo de control de solvente - Volumen tumoral promedio al inicio del tratamiento en el grupo de control de solvente)]×100%.

Los resultados finales de 16 días de administración se mostraron en la Tabla 14.

5 Tabla 14. Resultados de la prueba farmacodinámica del modelo de ratón tumoral con xenoinjerto de células LoVo de cáncer de colon humano

Compuesto	TGI (%)
AZD1775	26.73
Compuesto de la Fórmula (I)	84.74

Conclusión: En comparación con AZD1775, el compuesto de la presente divulgación puede mejorar significativamente el efecto inhibidor sobre los tumores del cuerpo del ratón, y la quiralidad del compuesto tiene un efecto inesperado sobre la eficacia *in vivo*.

- 10 (2) estudio farmacodinámico *in vivo* del compuesto sobre el modelo de tumor trasplantado subcutáneamente en ratones desnudos BxPC-3 BALB/c, de cáncer de páncreas humano

Procedimiento experimental: Los animales experimentales seleccionados fueron ratones desnudos BALB/c, de 6 a 8 semanas, con un peso de 18 a 22 g.

15 Se cultivó en monocapa *in vitro* la 10^a generación de células BxPC-3, y las condiciones de cultivo fueron medio RPMI 1640 (Fabricante: Gibco, Catálogo: 22400-089) con 10% de suero bovino fetal, penicilina 100 U/mL y estreptomicina 100 µg/mL, 37 °C, 5% de CO₂, 4 pasos. El método de pase fue dos veces por semana con tripsina-EDTA para digestión y pase de rutina. Cuando la saturación celular alcanzó el 80%-90%, se sometieron a digestión las células con tripsina-EDTA, se contaron y se resuspendieron en PBS a una densidad de 5 × 10⁷ células/mL. Cada animal fue inoculado con 0.1 mL (5×10⁶ células) de células BxPC-3 en la parte posterior derecha. Cuando el volumen tumoral promedio alcanzó los 153 mm³, se agruparon aleatoriamente de acuerdo con el volumen del tumor y se inició la administración. Dosificación de alimentación forzada: 25 mg/Kg, una vez al día.

20 El índice experimental consistía en investigar si el crecimiento del tumor se inhibía, aliviaba o curaba. Los diámetros de los tumores se midieron con un calibrador vernier dos veces por semana. La eficacia antitumoral del compuesto se evaluó mediante TGI (%) o la tasa de crecimiento tumoral relativo T/C (%). TGI (%) refleja la tasa de inhibición del crecimiento tumoral. Cálculo de TGI (%): TGI (%)=[(1- (Volumen tumoral promedio al final de la administración de un determinado grupo de tratamiento - Volumen tumoral promedio al inicio de la administración del grupo de tratamiento))/(Volumen tumoral promedio al final del tratamiento en el grupo de control de solvente - Volumen tumoral promedio al inicio del tratamiento en el grupo de control de solvente)] × 100%.

25 30 Los resultados experimentales finales de 27 días de administración se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Resultados de la prueba farmacodinámica en el modelo de ratón con tumor de xenoinjerto de células BxPC-3 de cáncer de páncreas humano

Compuesto	TGI (%)
AZD1775	24.3
Compuesto de la Fórmula (I)	73.3

35 Conclusión: Puede verse en la Tabla 15 que, en comparación con AZD1775, el compuesto de la Fórmula (I) puede mejorar significativamente el efecto inhibidor sobre los tumores del cuerpo del ratón.

(3) eficacia antitumoral *in vivo* del compuesto en el modelo de tumor trasplantado de células CT26 de cáncer de colon de ratón

40 Procedimiento experimental: Los animales experimentales seleccionados fueron ratones BALB/c desnudos, de 7 semanas, con un peso de 16-20 g, hembras.

Células: Se cultivaron células CT26 de cáncer de colon de ratón (Banco de Células del Comité de Colección de Cultivos Tipo de la Academia de Ciencias de China) en monocapa *in vitro*, y la condición de cultivo fue medio RPMI-1640 que contenía 10% de suero bovino fetal, en incubadora a 37°C, 5% de CO₂. Se utilizó tripsina-EDTA para la digestión y el paso de rutina. Cuando las células estaban en la fase de crecimiento exponencial y la saturación era del 80%-90%, se recogieron las células, se contaron e inocularon. Se inoculó por vía subcutánea 0.1 mL de DPBS (que contenía 3×10⁵ células CT26) en la parte posterior derecha de cada ratón. Cuando el volumen tumoral promedio alcanzó 50-70 mm³, se realizó la administración aleatoria de acuerdo con el volumen del tumor. Dosificación de alimentación forzada: 30 mg/kg, dos veces por día.

El índice experimental consistía en investigar si el crecimiento del tumor se inhibía, aliviaba o curaba. Los diámetros de los tumores se midieron con un calibrador vernier dos veces por semana. La eficacia antitumoral del compuesto se evaluó mediante TGI (%) o la tasa de crecimiento tumoral relativo T/C (%). TGI (%) refleja la tasa de inhibición del crecimiento tumoral. Cálculo de TGI (%): TGI (%)=[(1- (Volumen tumoral promedio al final de la administración de un determinado grupo de tratamiento - Volumen tumoral promedio al inicio de la administración del grupo de tratamiento))/(Volumen tumoral promedio al final del tratamiento en el grupo de control de solvente - Volumen tumoral promedio al inicio del tratamiento en el grupo de control de solvente)] × 100%.

Los resultados finales de 18 días de administración se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Resultados de la prueba de eficacia *in vivo* del modelo de tumor de aloinjerto de células CT26 de cáncer de colon de ratón

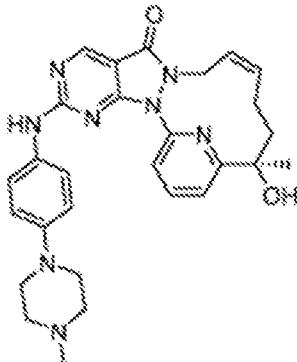
Compuesto	TGI (%)
AZD1775	66.43
Compuesto de la Fórmula (I)	93.38

20

Conclusión: Puede verse a partir de la Tabla 16 que, en comparación con AZD1775, el compuesto de la Fórmula (I) puede mejorar significativamente el efecto inhibidor sobre los tumores del cuerpo del ratón.

REIVINDICACIONES

1. Una Forma A de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma A de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.71\pm0.2^\circ$, $12.68\pm0.2^\circ$ y $15.32\pm0.2^\circ$;



Fórmula (I)

5

por ejemplo,

en donde la Forma A de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.71\pm0.2^\circ$, $12.68\pm0.2^\circ$, $15.32\pm0.2^\circ$, $18.04\pm0.2^\circ$, $19.72\pm0.2^\circ$, $21.44\pm0.2^\circ$, $23.61\pm0.2^\circ$ y $25.68\pm0.2^\circ$;

10

por ejemplo,

en donde la Forma A de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo como el mostrado en la Figura 1.

15

2. La Forma A de Cristal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la Forma A de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $34.95\pm3^\circ\text{C}$, $174.75\pm3^\circ\text{C}$ y $219.12\pm3^\circ\text{C}$, respectivamente;

por ejemplo,

en donde la Forma A de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 2;

o

20

en donde la Forma A de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $70.33\pm3^\circ\text{C}$ es 0.7367%, y la pérdida de peso a $209.42\pm3^\circ\text{C}$ es 3.123%;

por ejemplo,

en donde la Forma A de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 3.

25

3. Una Forma B de Cristal un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma B de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.58\pm0.2^\circ$, $12.44\pm0.2^\circ$ y $22.16\pm0.2^\circ$;

por ejemplo,

en donde la Forma B de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.58\pm0.2^\circ$, $11.71\pm0.2^\circ$, $12.44\pm0.2^\circ$, $14.48\pm0.2^\circ$, $15.13\pm0.2^\circ$, $18.64\pm0.2^\circ$, $22.16\pm0.2^\circ$ y $26.33\pm0.2^\circ$;

30

por ejemplo,

en donde la Forma B de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 4.

4. La Forma B de Cristal de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la Forma B de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $42.88\pm3^\circ\text{C}$, $198.79\pm3^\circ\text{C}$ y $222.36\pm3^\circ\text{C}$, respectivamente;

35

por ejemplo,

en donde la Forma B de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 5;

o

en donde la Forma B de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $64.21\pm3^\circ\text{C}$ es 3.265%; y la pérdida de peso a $243.05\pm3^\circ\text{C}$ es del 1.516%;

40

por ejemplo,

en donde la Forma B de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 6.

5. Una Forma C de Cristal un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma C de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.05\pm0.2^\circ$, $5.58\pm0.2^\circ$ y $12.44\pm0.2^\circ$;
- por ejemplo,
 5 en donde la Forma C de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.05\pm0.2^\circ$, $5.58\pm0.2^\circ$, $12.44\pm0.2^\circ$, $15.91\pm0.2^\circ$, $16.68\pm0.2^\circ$, $17.61\pm0.2^\circ$, $22.19\pm0.2^\circ$ y $26.37\pm0.2^\circ$;
 por ejemplo,
 en donde la Forma C de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 7.
- 10 6. La Forma C de Cristal de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la Forma C de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $37.06\pm3^\circ\text{C}$, $189.16\pm3^\circ\text{C}$ y $218.61\pm3^\circ\text{C}$, respectivamente;
- por ejemplo,
 en donde la Forma C de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 8;
- 15 o
 en donde la Forma C de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $64.98\pm3^\circ\text{C}$ es 2.211%; y la pérdida de peso a $224.71\pm3^\circ\text{C}$ es del 1.127%;
 por ejemplo,
 en donde la Forma C de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 9.
- 20 7. Una Forma D de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma D de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.22\pm0.2^\circ$, $15.99\pm0.2^\circ$ y $16.57\pm0.2^\circ$;
- por ejemplo,
 en donde la Forma D de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $5.22\pm0.2^\circ$, $15.18\pm0.2^\circ$, $15.99\pm0.2^\circ$, $16.57\pm0.2^\circ$, $17.08\pm0.2^\circ$, $18.60\pm0.2^\circ$, $21.22\pm0.2^\circ$ y $21.89\pm0.2^\circ$;
 por ejemplo,
 en donde la Forma D de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 10.
- 30 8. La Forma D de Cristal de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la Forma D de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $56.07\pm3^\circ\text{C}$, $193.93\pm3^\circ\text{C}$ y $216.54\pm3^\circ\text{C}$, respectivamente;
- por ejemplo,
 en donde la Forma D de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 11;
- 35 o
 en donde la Forma D de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $79.35\pm3^\circ\text{C}$ es 1.977%; y la pérdida de peso a $223.66\pm3^\circ\text{C}$ es del 1.589%;
 por ejemplo,
 en donde la Forma D de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 12.
- 40 9. Una Forma E de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma E de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $8.65\pm0.2^\circ$, $14.22\pm0.2^\circ$ y $24.58\pm0.2^\circ$;
- por ejemplo,
 45 en donde la Forma E de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2Θ : $8.65\pm0.2^\circ$, $11.41\pm0.2^\circ$, $13.13\pm0.2^\circ$, $14.22\pm0.2^\circ$, $17.35\pm0.2^\circ$, $18.34\pm0.2^\circ$, $20.39\pm0.2^\circ$, $20.94\pm0.2^\circ$ y $24.58\pm0.2^\circ$;
 por ejemplo,
 en donde la Forma E de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 13.
- 50 10. La Forma E de Cristal de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la Forma E de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a $121.57\pm3^\circ\text{C}$, $197.26\pm3^\circ\text{C}$ y $217.23\pm3^\circ\text{C}$, respectivamente; y un valor máximo de pico exotérmico a $168.31 \pm 3^\circ\text{C}$ y $212.95 \pm 3^\circ\text{C}$, respectivamente;
- por ejemplo,
 55 en donde la Forma E de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 14;
- o
 en donde la Forma E de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a $143.31\pm3^\circ\text{C}$ es 6.775%; y la pérdida de peso a $213.62\pm3^\circ\text{C}$ es del 0.3184%;

por ejemplo,

en donde la Forma E de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 15.

11. Una Forma F de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), en donde la Forma F de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2 Θ : 5.06±0.2°, 15.91±0.2° y 16.68±0.2°;

5 por ejemplo,

en donde la Forma F de Cristal tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2 Θ : 5.06±0.2°, 8.34±0.2°, 10.98±0.2°, 15.13±0.2°, 15.91±0.2°, 16.68±0.2°, 17.63±0.2° y 18.87±0.2°;

10 por ejemplo,

en donde la Forma F de Cristal tiene un patrón de XRPD como el mostrado en la Figura 16.

12. La Forma F de Cristal de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la Forma F de Cristal tiene una curva de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) que tiene un punto de inicio del pico endotérmico a 48.69±3°C y 225.26±3°C, respectivamente;

15 por ejemplo,

en donde la Forma F de Cristal tiene un patrón de DSC como el mostrado en la Figura 17;

o

en donde la Forma F de Cristal tiene una curva de Análisis Termogravimétrico (TGA), en donde la pérdida de peso a 100±3°C es 3.404%;

20 por ejemplo,

en donde la Forma F de Cristal tiene un patrón de TGA como el mostrado en la Figura 18.

13. La Forma A de Cristal de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, la Forma B de Cristal de acuerdo con las reivindicaciones 3 ó 4, la Forma C de Cristal de acuerdo con las reivindicaciones 5 ó 6, la Forma D de Cristal de acuerdo con las reivindicaciones 7 u 8, la Forma E de Cristal de acuerdo con las reivindicaciones 9 o 10, o la Forma F de Cristal de acuerdo con las reivindicaciones 11 o 12, para uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con Wee1.

14. Un proceso para preparar una Forma F de Cristal de un compuesto de la fórmula (I), comprendiendo,

(a) añadir el compuesto de la fórmula (I) a un solvente alcohólico con agitación que se calienta en un baño de aceite a 55~65°C;

30 (b) agitar a 47°C-53°C durante 72 h;

(c) detener el calentamiento y mantener la agitación con la temperatura reducida espontáneamente, durante 1 h a 27°C;

(d) dejar reposar durante 18 h, filtrar y enjuagar la torta de filtración con metanol;

(e) secar al vacío a 60°C durante 48 h.

35 15. El proceso de preparación de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el solvente alcohólico es metanol.

ES 2 984 617 T3

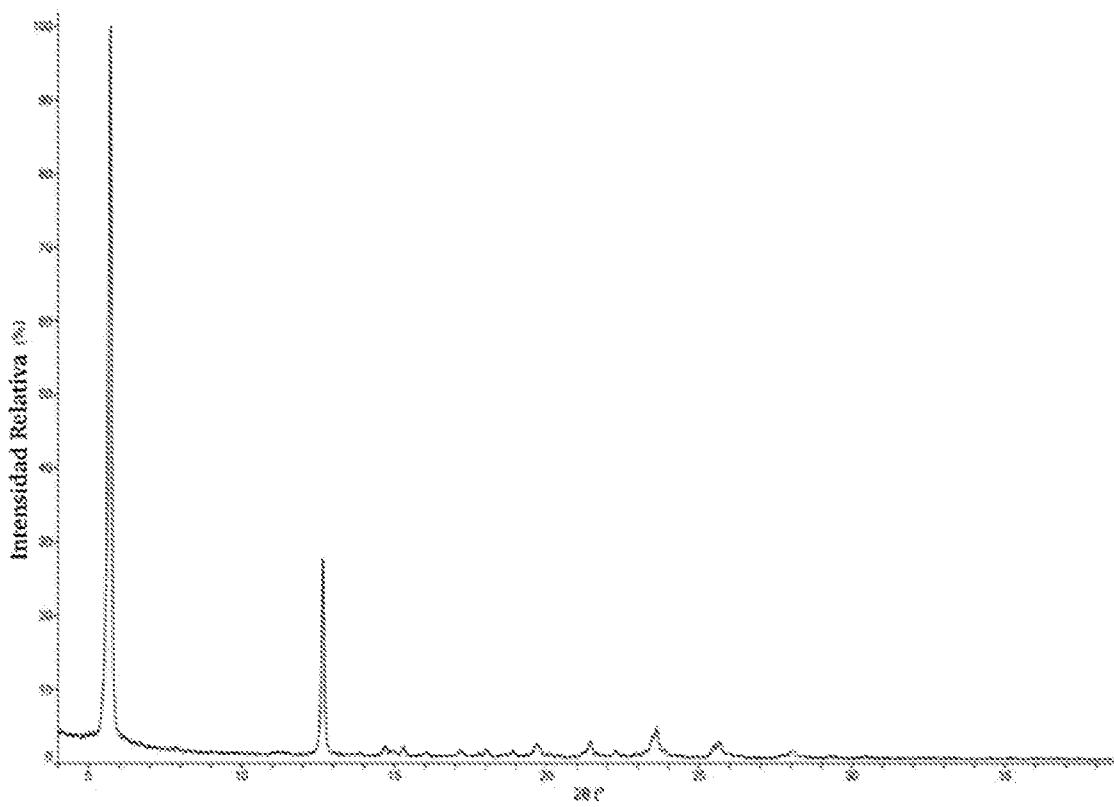


Figura 1

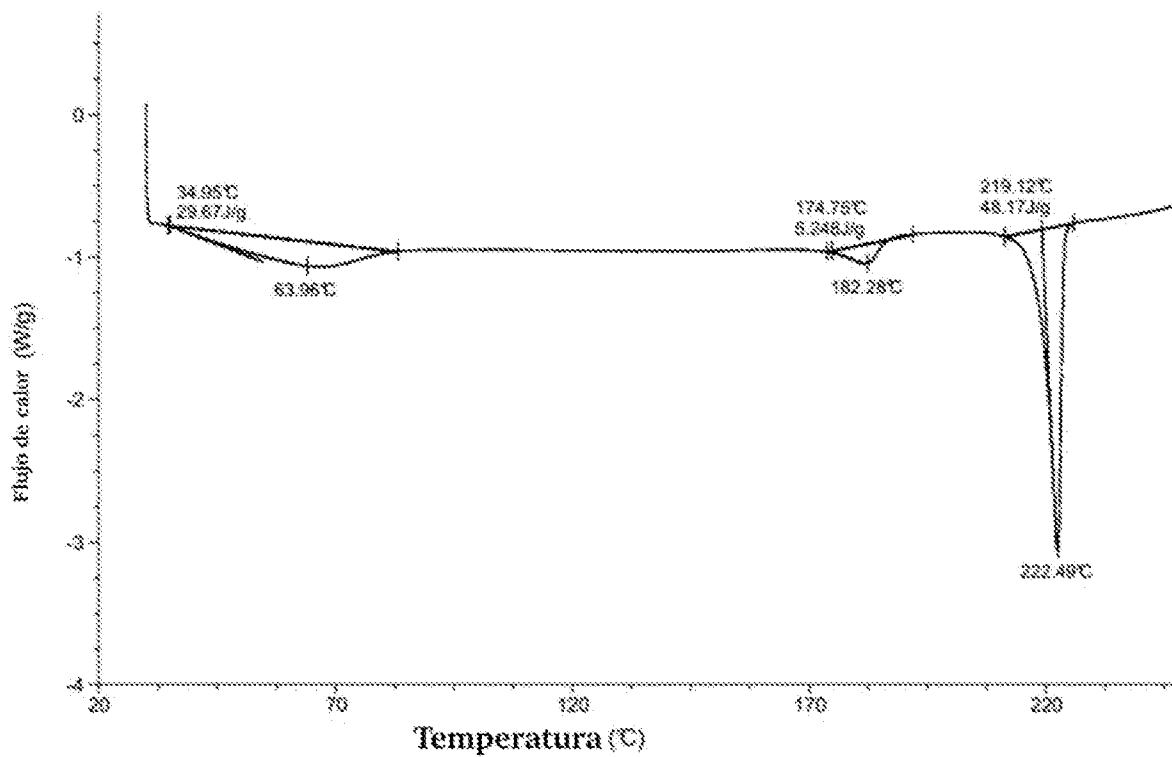


Figura 2

ES 2 984 617 T3

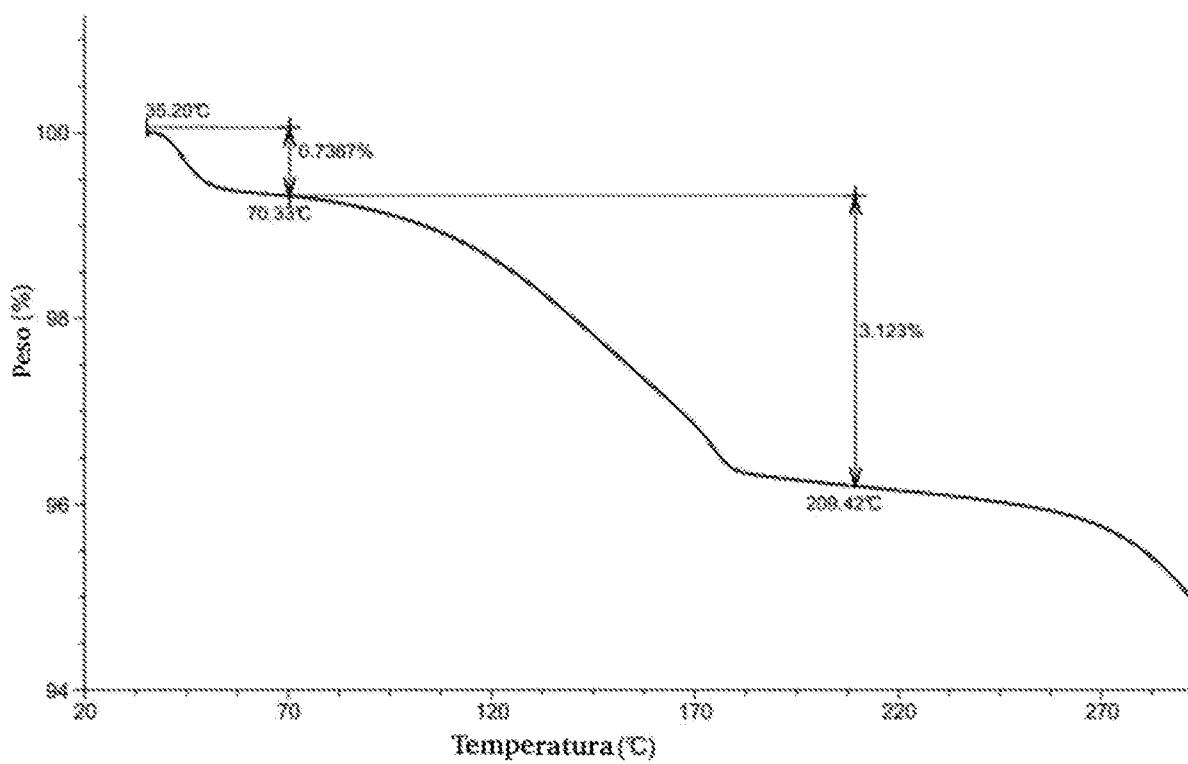


Figura 3

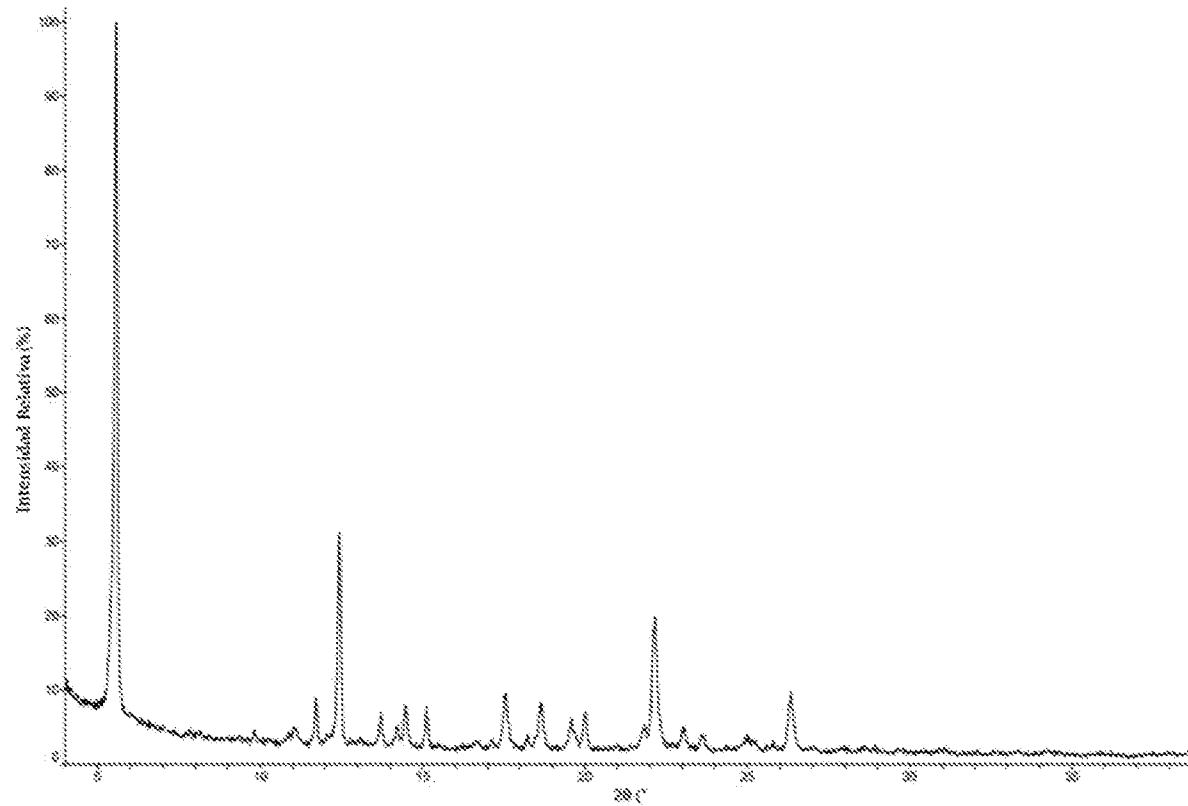


Figura 4

ES 2 984 617 T3

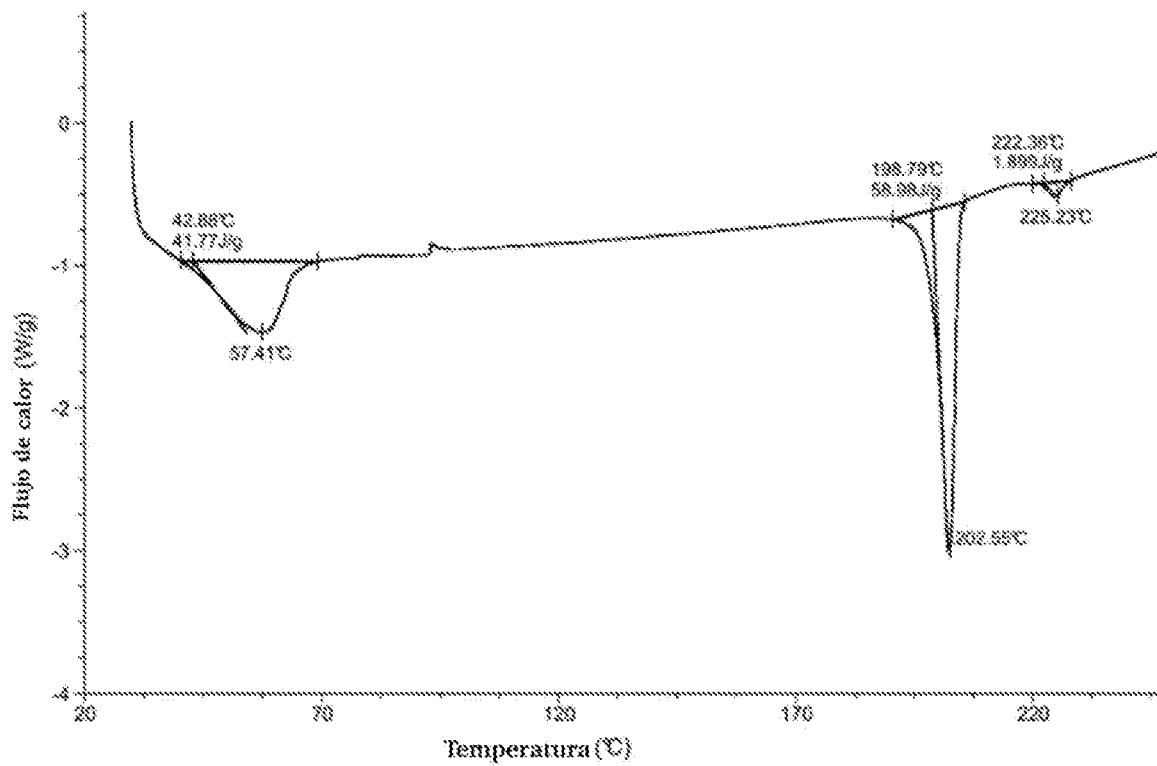


Figura 5

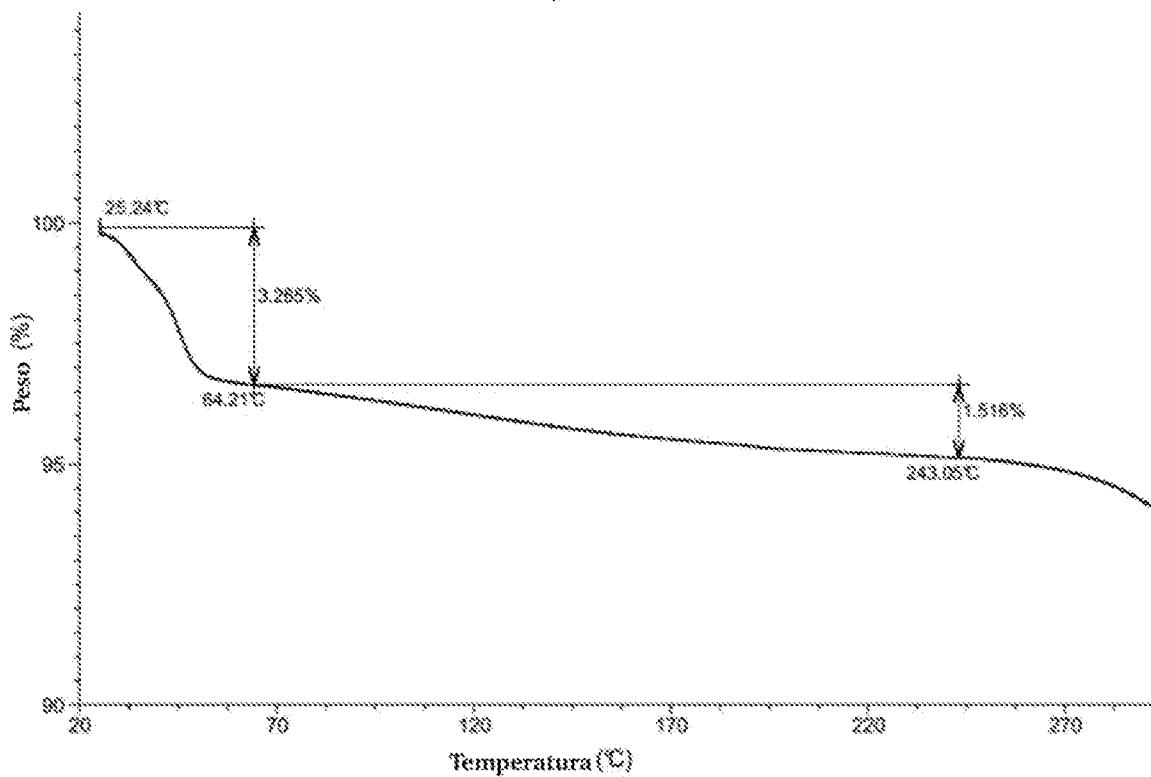


Figura 6

ES 2 984 617 T3

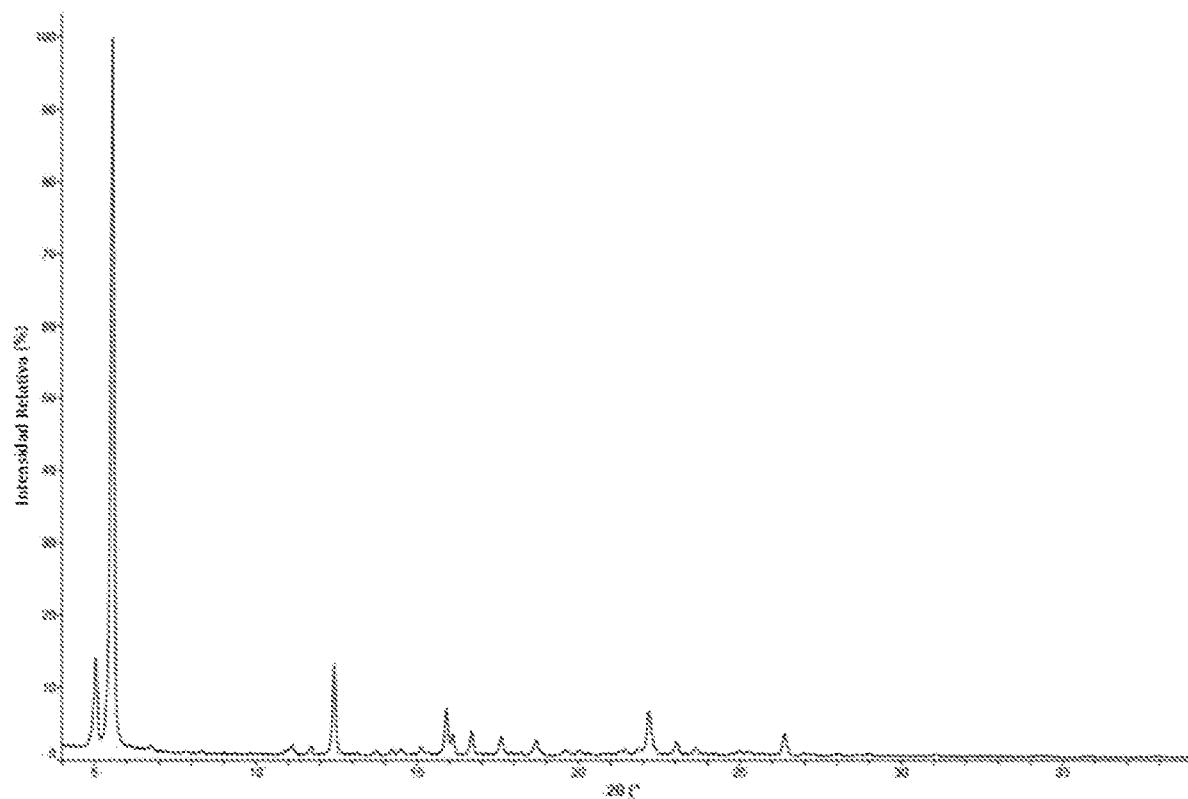


Figura 7

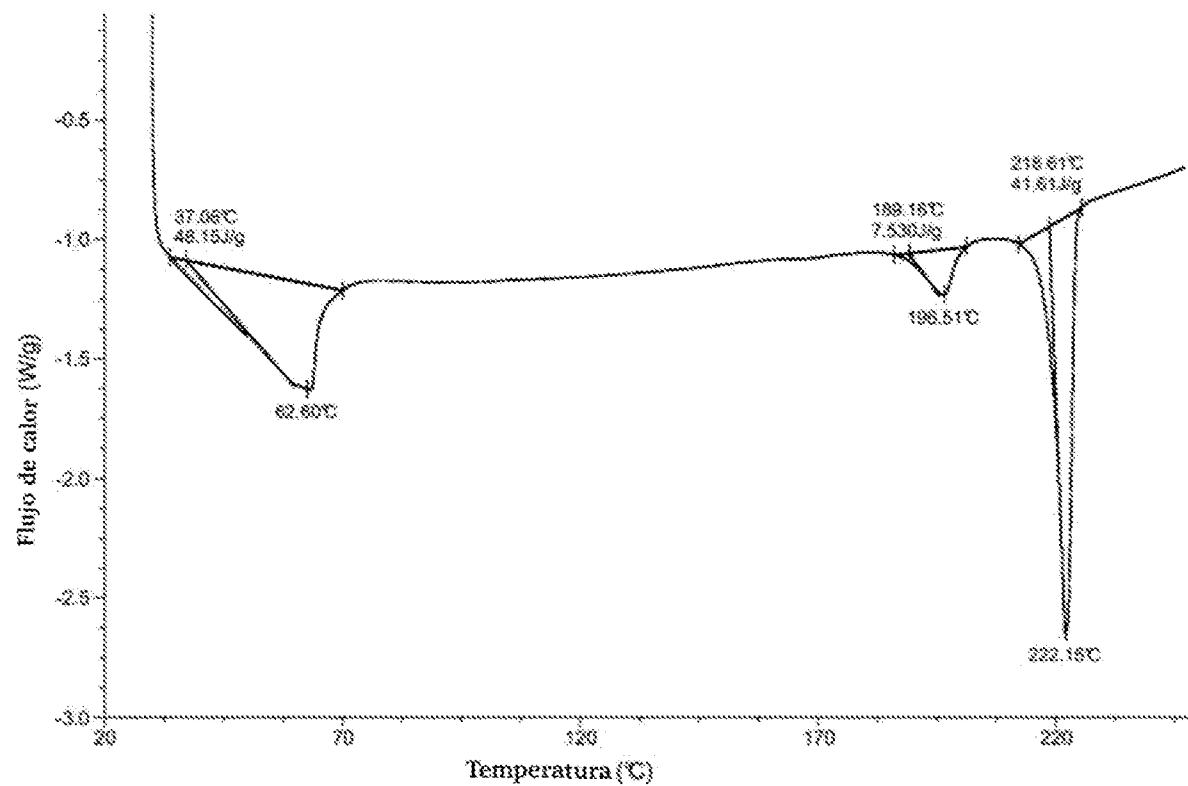


Figura 8

ES 2 984 617 T3

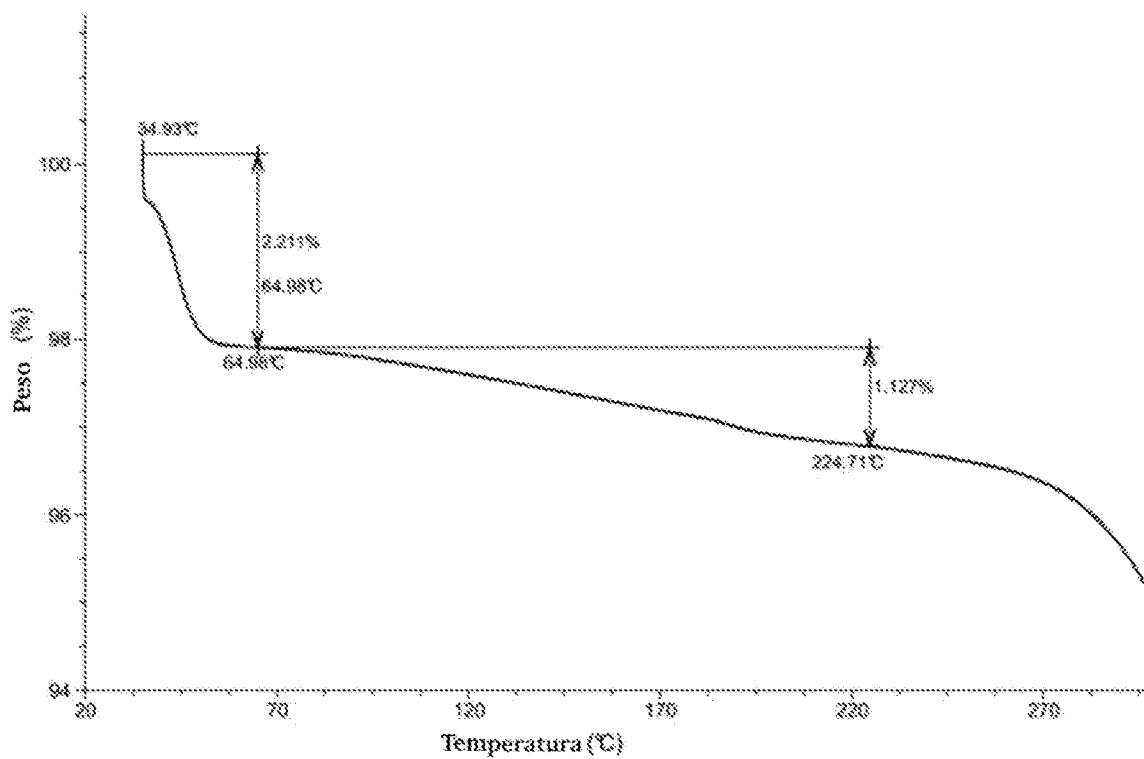


Figura 9

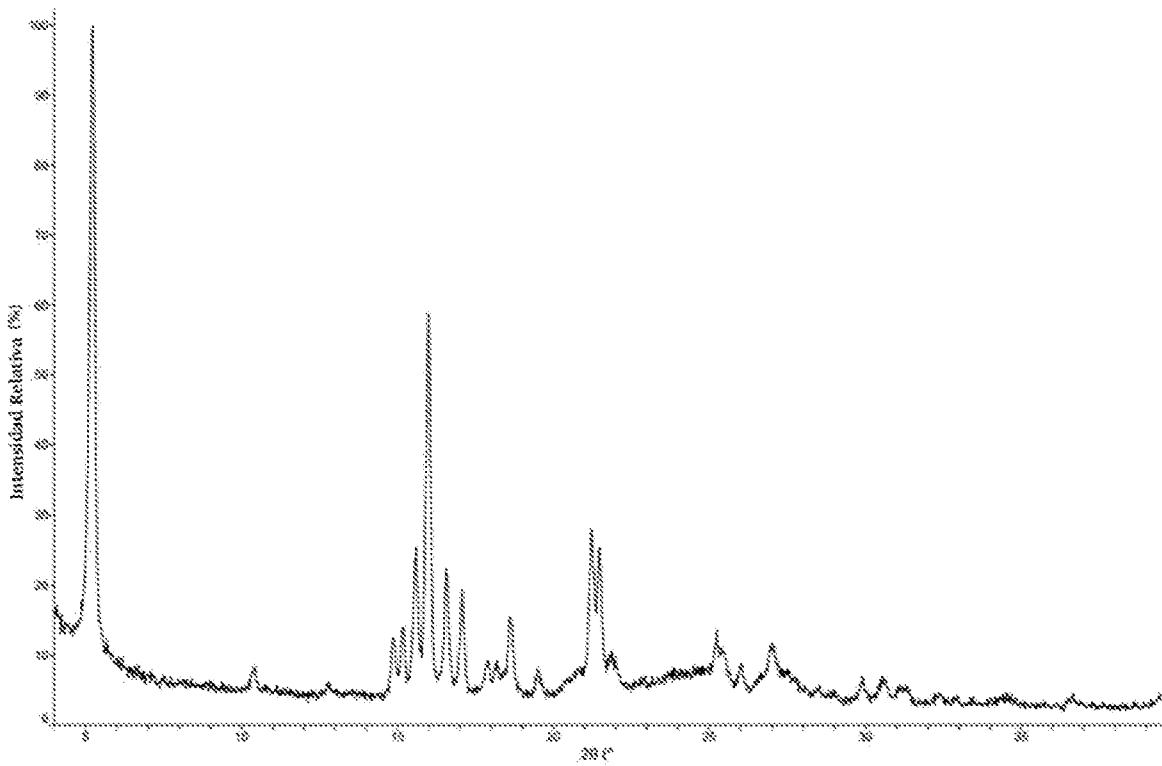


Figura 10

ES 2 984 617 T3

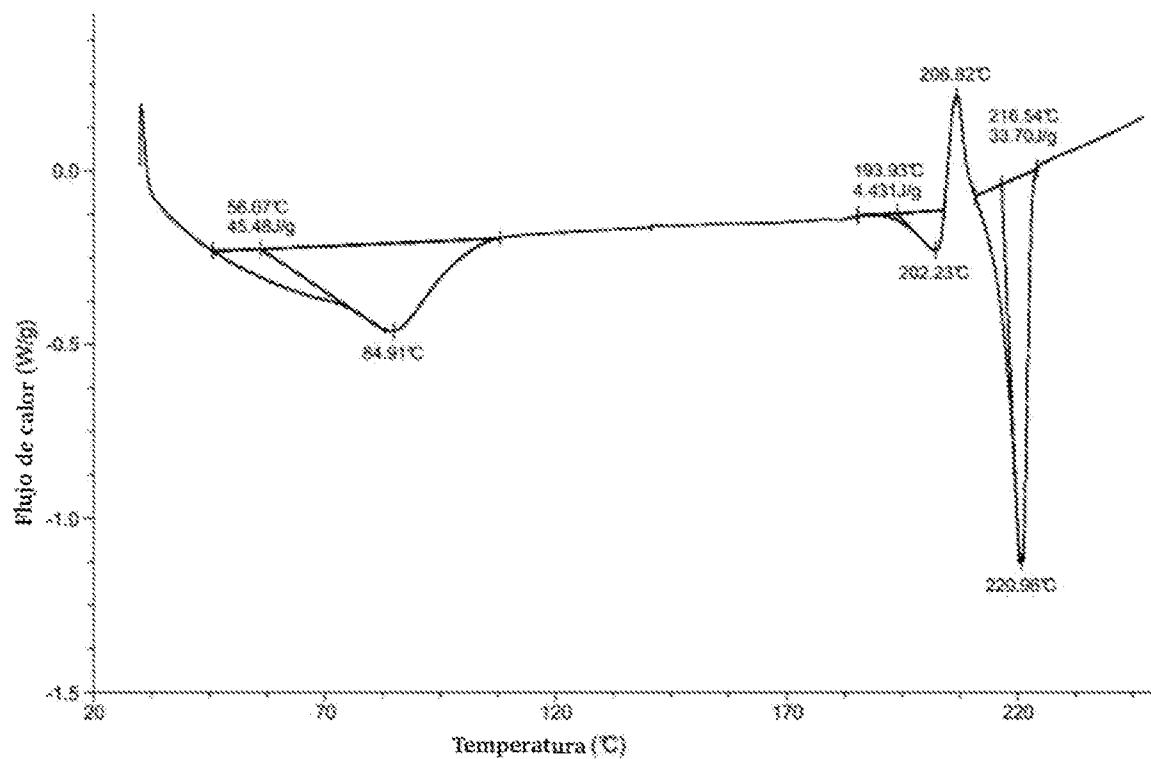


Figura 11

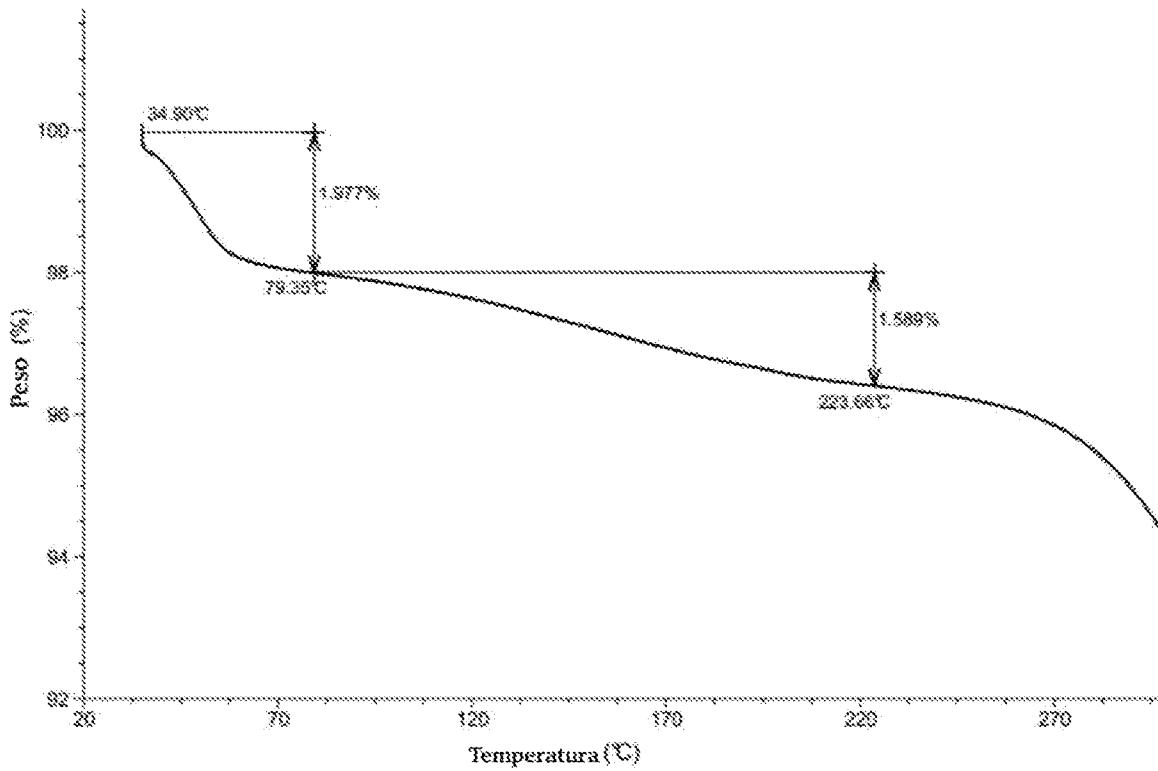


Figura 12

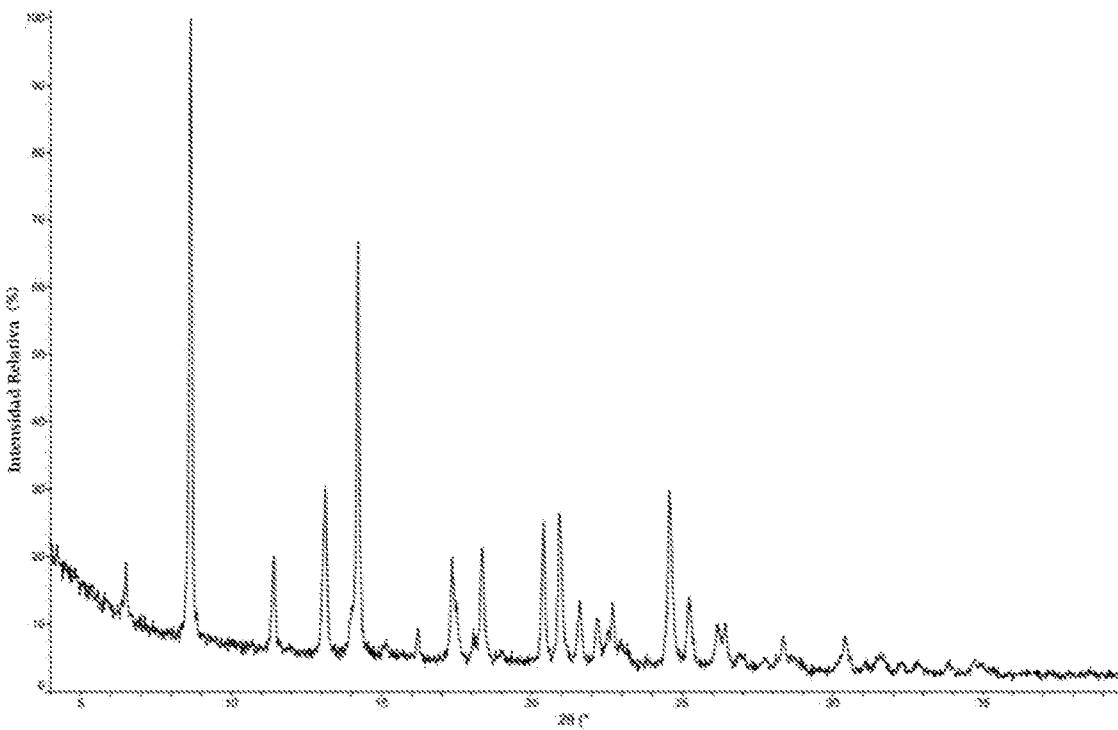


Figura 13

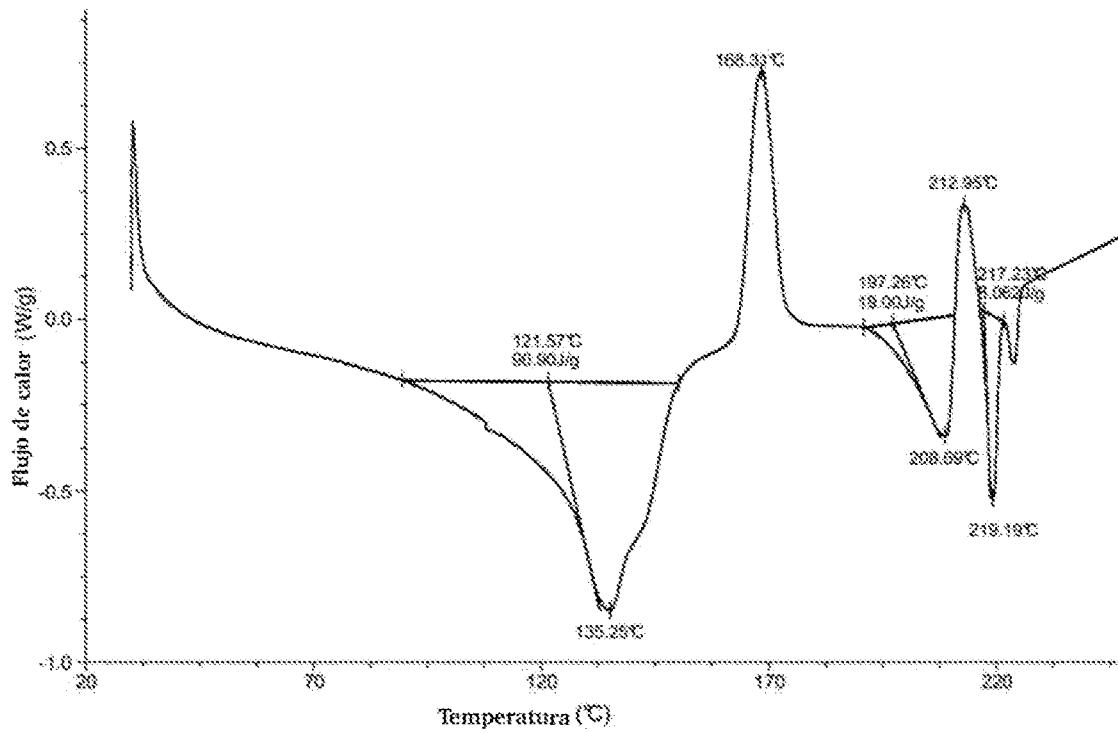


Figura 14

ES 2 984 617 T3

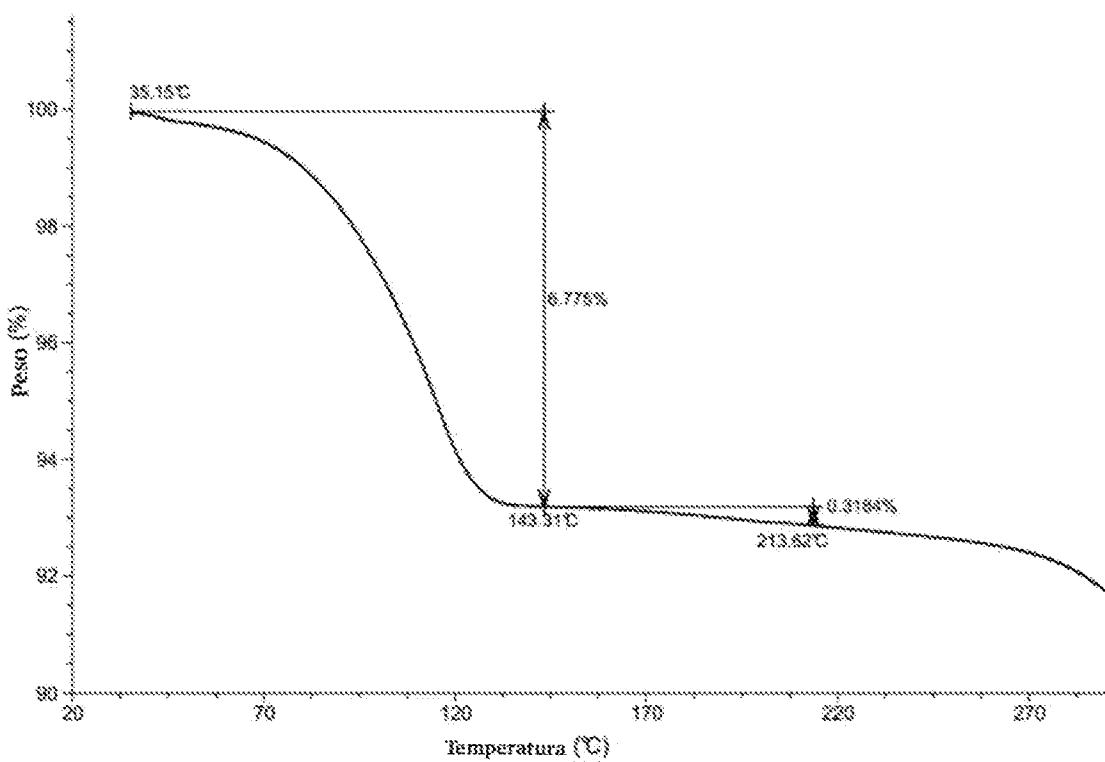


Figura 15

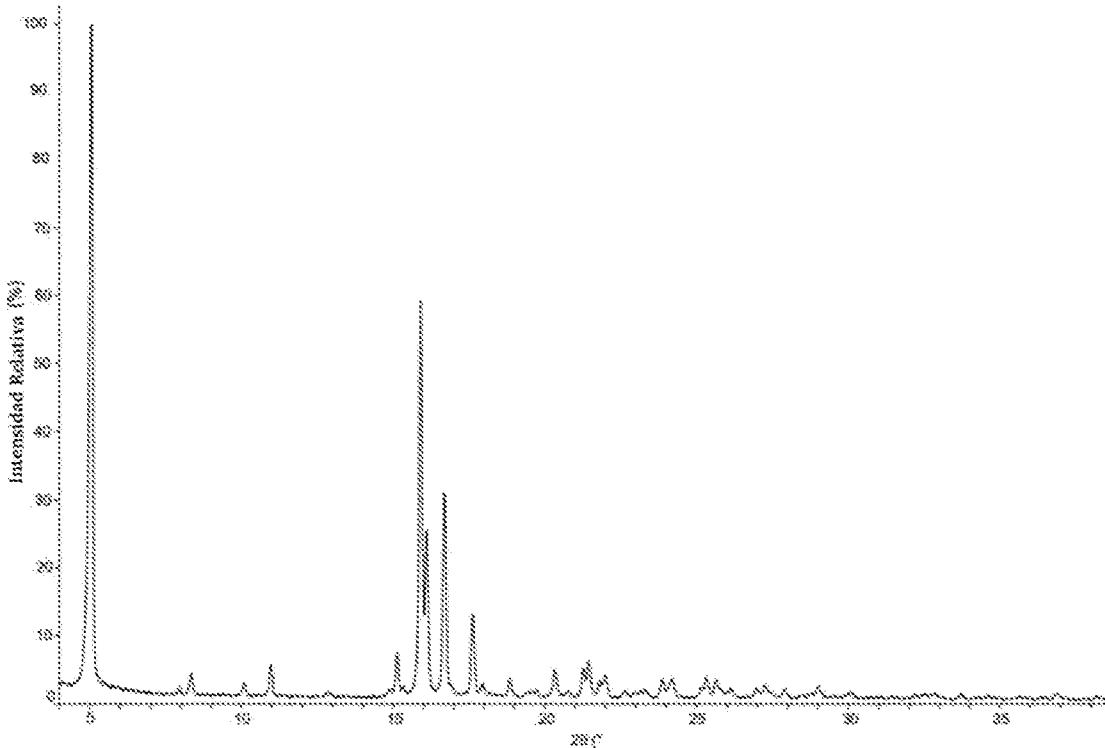


Figura 16

ES 2 984 617 T3

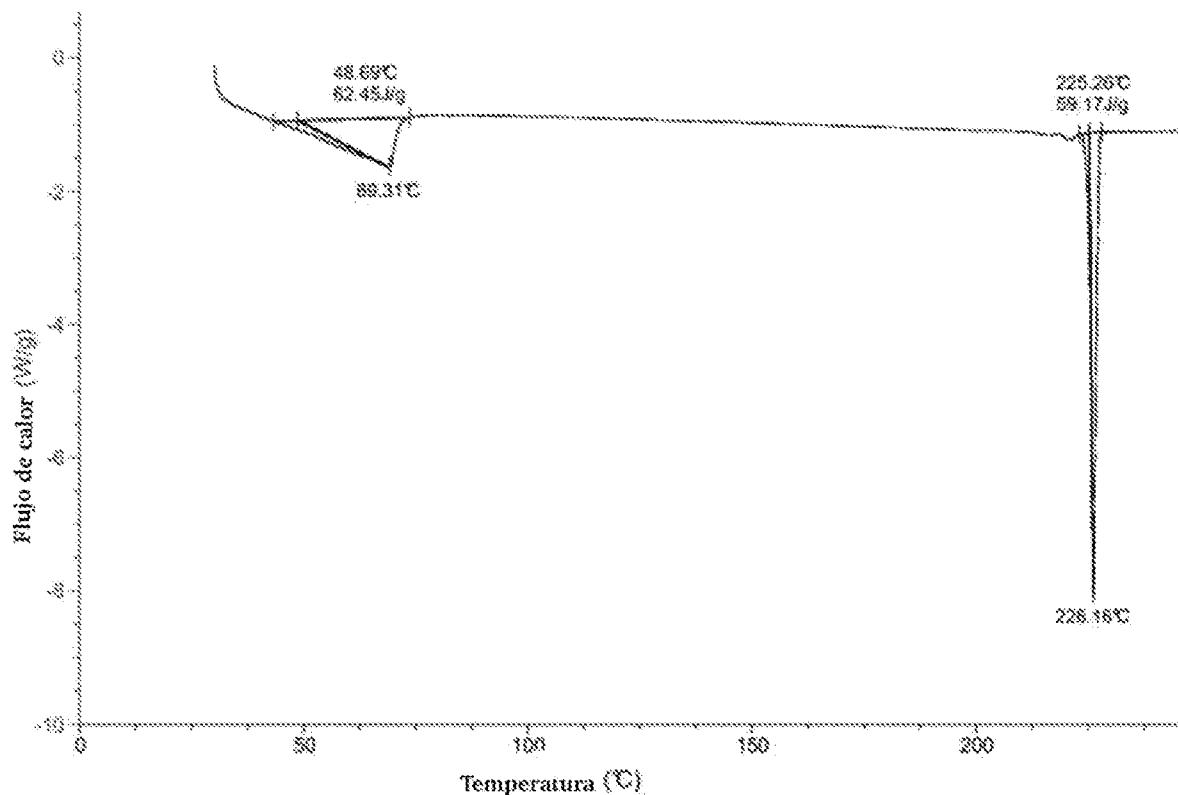


Figura 17

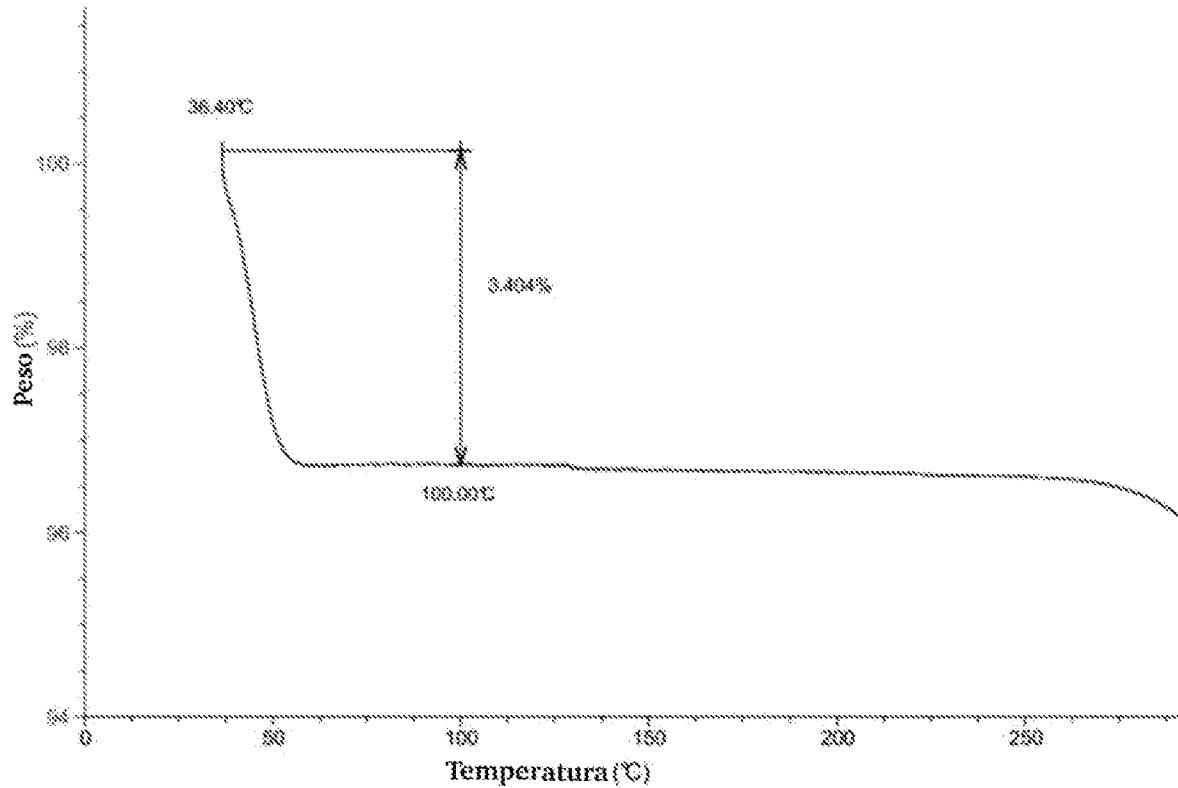


Figura 18