

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 803 028**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.03.2016 PCT/IB2016/051633**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2016 WO16151500**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.03.2016 E 16712082 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 3274349**

54 Título: **Partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida**

30 Prioridad:

25.03.2015 WO PCT/CN2015/000202

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

22.01.2021

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BUSCHMANN, NICOLE;
FAIRHURST, ROBIN ALEC;
FURET, PASCAL;
KNOEPFEL, THOMAS;
LEBLANC, CATHERINE;
MAH, ROBERT;
MALLET, FRANCK;
MARTZ, JULIE;
LIAO, LV;
XIONG, JING;
HAN, BO;
WANG, CAN y
ZHAO, XIANGLIN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 803 028 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

Partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida

Campo de la invención

La presente invención se refiere a partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida, a un proceso para preparar dichas partículas y al uso de dichas partículas en composiciones farmacéuticas.

Antecedentes de la invención

La N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida es un inhibidor selectivo y potente de FGFR4 que se describe en la solicitud de patente PCT/IB2014/065585. Es potencialmente en el tratamiento de enfermedades mediadas por FGFR4, tales como el cáncer, en particular uno tal como el cáncer de hígado. El documento PCT/IB2014/065585 describe un método de preparación de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma libre y en una forma de sal farmacéuticamente aceptable.

Durante el desarrollo del fármaco hay una necesidad continua de desarrollar nuevos procesos enfocados en mejorar las propiedades y/o características del principio activo. Por ejemplo, el principio activo debe estar en una forma que sea fácil de manejar y de procesar para dar un medicamento. Dichas propiedades ideales de un principio activo deben conseguirse por procesos que sean escalables y reproducibles.

Sumario de la invención

La invención proporciona partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y un proceso para preparar dichas partículas. Las partículas pueden ser útiles en la fabricación de composiciones farmacéuticas y son útiles en métodos para el tratamiento, prevención o mejora de los cánceres. Los procesos descritos en el presente documento permiten preparar partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida que tienen propiedades beneficiosas en términos de facilidad de procesabilidad. Las partículas tienen propiedades de flujo mejoradas en comparación con las obtenidas por los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585 como se muestra con mayor detalle en la descripción detallada, la sección experimental y las figuras proporcionadas en el presente documento.

En el presente documento se describen diversas realizaciones de la invención.

En el presente documento se proporciona un proceso para la preparación de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico. Comprendiendo el proceso las etapas de:

- a. Disolver N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en ácido propiónico;
- b. Añadir ácido cítrico a la solución obtenida en la etapa a) para obtener una suspensión que comprende N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico; y
- c. Aislar las partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico de la suspensión obtenida en la etapa b.

La presente invención también proporciona partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño medio de partícula (x50), medido mediante difracción de luz láser, de entre 200 y 300 micrómetros.

En otra realización, la invención proporciona partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una distribución de tamaño de partícula x10, medido por difracción de luz láser, de entre 5 y 10 micrómetros.

En otra realización, la invención proporciona partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una distribución de tamaño de partícula x90, medido por difracción de luz láser, de entre 400 y 500 micrómetros.

En otra realización, la invención proporciona partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido

cítrico que tienen una distribución de tamaño de partícula x50, medido por difracción de luz láser, de entre 10 y 20 micrómetros.

En otra realización, la invención proporciona partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una distribución de tamaño de partícula x10, medido por difracción de luz láser, de entre 1 y 5 micrómetros.

En otra realización, la invención proporciona partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una distribución de tamaño de partícula x90, medido por difracción de luz láser, de entre 50 y 70 micrómetros.

En otra realización, la invención proporciona partículas cristalinas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como ha definido anteriormente, que tienen forma cristalina de columna.

En otra realización, la invención proporciona un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico, teniendo el aglomerado un tamaño medio (x50), medido por difracción de luz láser, de entre 300 y 400 micrómetros.

En otra realización, la invención se refiere al uso de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento en la fabricación de una composición farmacéutica que comprende N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y opcionalmente uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento y opcionalmente uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, la composición farmacéutica descrita en el presente documento es para uso como medicamento. En una realización particular, para su uso en el tratamiento del cáncer, en el que el cáncer es cáncer de hígado, cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de próstata, rhabdomyosarcoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de colon. Aún más particularmente, es para su uso en el tratamiento del cáncer de hígado. Normalmente, la composición farmacéutica descrita en el presente documento es para uso en el tratamiento del cáncer de hígado.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es una imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) de las partículas obtenidas usando un proceso de la invención (escala 20 micrómetros). La imagen se recogió en un aparato SEM de Zeiss equipado con un microscopio Supra 40. Muestra una partícula primaria que tiene una forma cristalina de columna.

La Figura 2 es una micrografía electrónica de barrido (SEM) de las partículas obtenidas utilizando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (escala 20 micrómetros). La imagen se recogió en un aparato SEM de Zeiss equipado con un microscopio Supra 40. Esta muestra agrupaciones de partículas primarias con forma de agujas.

La Figura 3 es una micrografía electrónica de barrido (SEM) de las partículas obtenidas utilizando un proceso de la invención (escala 100 micrómetros). La imagen se recogió en un aparato SEM de Zeiss equipado con un microscopio Supra 40. La figura muestra un aglomerado de partículas primarias. En el aglomerado, son visibles las partículas primarias que tienen una forma cristalina de columna.

La Figura 4 es una micrografía electrónica de barrido (SEM) de las partículas obtenidas utilizando un proceso de la invención (escala 500 micrómetros). La imagen se recogió en un aparato SEM de Zeiss equipado con un microscopio Supra 40. La figura muestra aglomerados de partículas primarias.

La Figura 5 muestra una transparencia del XRPD de las partículas obtenidas utilizando un proceso de la invención y el XRPD de las partículas obtenidas utilizando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585. La transparencia muestra la misma firma tanto para las partículas de la invención como para las obtenidas usando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585.

La Figura 6 muestra la distribución del tamaño de partícula para partículas obtenidas utilizando el proceso de la invención. La figura muestra la densidad de distribución y las curvas de distribución acumulativas en función del tamaño de partícula. Esta muestra una mezcla de partículas primarias que tienen un intervalo de tamaño de partícula de 0,5 a 150 micrómetros y aglomerados que tienen un intervalo de tamaño de partícula de 150 a 875 micrómetros.

La Figura 7 muestra la distribución del tamaño de partícula para partículas obtenidas usando los procesos descritos

en el documento PCT/IB2014/065585. La figura muestra la densidad de distribución y las curvas de distribución acumulativas en función del tamaño de partícula. Esta muestra que las partículas tienen un intervalo de tamaño de partícula de aproximadamente 0,5 a 30 micrómetros.

La Figura 8 es la SEM (200 micrómetros) de las partículas obtenidas por los procesos de las etapas a) y b) de la invención, es decir, antes de la etapa de aislamiento. La imagen se tomó con un microscopio Olympus BX51 (número de serie SN8G30637) equipado con una cámara DP25 (número de serie SN8K08782). El software utilizado para la formación de imágenes es StreamStart. La imagen muestra las partículas cristalinas que tienen un hábito cristalino de columna.

La Figura 9 muestra la energía de flujo básico de las partículas de la invención como se describe en los ejemplos 1 y 1a y de partículas obtenidas usando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1). El gráfico muestra que las partículas de la invención requieren menos energía para fluir en comparación con las obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1), indicando una mejor fluidez.

La Figura 10 muestra el porcentaje de compresibilidad en función de una carga normal aplicada de las partículas de la invención como se describe en los ejemplos 1 y 1a y de partículas obtenidas usando los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1). La gráfica muestra que las partículas de la invención tienen un porcentaje de compresibilidad mayor, lo que sugiere que podría conseguirse una carga de fármaco mayor en el medicamento final utilizando las partículas de la invención.

La Figura 11 muestra las representaciones del esfuerzo de cizalladura en función de la carga normal aplicada de las partículas de la invención como se describe en los ejemplos 1 y 1a y de las partículas obtenidas usando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1). Esto hace posible calcular un ángulo de fricción de las paredes. El gráfico muestra que las partículas de la invención tienen un ángulo de fricción de las paredes inferior en comparación con los obtenidos usando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1), lo que indica que las partículas de la invención muestran un comportamiento menos pegajoso con las superficies metálicas y por tanto mejoran la procesabilidad.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Cuando se define la concentración de un compuesto es una solución, el término "%" se refiere al %p/p, es decir, el peso del compuesto sobre el peso de la solución (es decir, compuesto + disolvente).

Salvo que se defina lo contrario, el término "partículas" en plural como se usa en el presente documento se refiere a una masa de partículas. Salvo que se defina lo contrario, el término "cristales" en plural como se usa en el presente documento se refiere a una masa de cristales. El término "partículas" pretende abarcar partículas primarias y aglomerados.

Como se usa en el presente documento, la expresión "partícula primaria" se refiere a una entidad singular. Las partículas primarias de la invención pueden verse, por ejemplo, en las Figuras 1 y 8.

Como se usa en el presente documento, el término "aglomerado" se refiere a un grupo de partículas primarias. Como se usa en el presente documento, el término "aglomerado" no pretende ser limitante en cuanto a la naturaleza de las uniones entre las partículas primarias y puede utilizarse, por ejemplo, indistintamente con el término "agregados". El tamaño de partícula se determina por la distribución acumulativa del tamaño de partícula de menor tamaño en volumen según se midió por difracción de luz láser. Por ejemplo, el valor de tamaño de partícula medio (x50 o d50) indica el tamaño por debajo del cual existe un 50 % en peso de las partículas en la muestra. Como ejemplo, un valor de x50 de 10 micrómetros indica que un 50 % en peso de las partículas tiene un tamaño por debajo de 10 micrómetros.

De manera similar, un tamaño de partícula de x10 o d10 indica el tamaño debajo del cual existe un 10 % en peso de las partículas en la muestra.

De manera similar, un tamaño de partícula de x90 o d90 indica el tamaño debajo del cual existe un 90 % en peso de las partículas en la muestra.

Se entiende que los tamaños de partícula dados en el presente documento se someten a variaciones dependiendo del aparato y del método utilizados. Una persona experta entendería que estos valores no son valores absolutos y pueden variar en aproximadamente un +/- 10 %.

En la presente descripción, los tamaños de partícula se miden por difracción de luz láser. El aparato utilizado para la difracción de luz láser es un aparato Sympatec Helos. Los detalles del aparato utilizado y las mediciones se dan en los ejemplos 3 y 4.

Como se usa en el presente documento, la abreviatura "micrómetros" se corresponde a micrómetros.

Como se usa en el presente documento, la expresión "de columna" cuando se refiere a la forma cristalina de las

partículas de la invención describe una forma cristalina como se muestra, por ejemplo, en la Fig. 1. Una forma cristalina "de columna" es un cristal de crecimiento tridimensional facetado. Una forma cristalina de columna también puede definirse como un listón. Esta es distinguible de una forma cristalina de agujas (o cristal acicular) donde el crecimiento del cristal es unidireccional.

5 Como se usa en el presente documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes de retardo de la absorción, sales, conservantes, estabilizadores de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de disgregación, lubricantes, agentes
10 edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes y similares, y combinaciones de los mismos, como sería conocido por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed. Mack Printing Company, 1990, págs. 1289-1329). Excepto en la medida en donde un vehículo convencional cualquiera sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

15 La expresión "una cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de una enzima o una actividad proteica, o mejorar los síntomas, aliviar afecciones, retardar o retrasar la progresión de la enfermedad o prevenir una enfermedad, etc. En una realización no limitante, la expresión "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que,
20 cuando se administra a un sujeto, es eficaz para, al menos parcialmente, (1) aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar una afección o un trastorno o una enfermedad (i) mediada por FGFR4, o (ii) asociada con la actividad de FGFR4, o (iii) caracterizada por la actividad (normal o anormal) de FGFR4, o (2) reducir o inhibir la actividad de FGFR4; o (3) reducir o inhibir la expresión de FGFR4. En otra realización no limitante, la expresión "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula o un tejido, o
25 un material biológico no celular, o un medio, es eficaz para reducir o inhibir, al menos parcialmente, la actividad de FGFR4.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Normalmente, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere a, por ejemplo, primates (por ejemplo, seres humanos, de sexo masculino o
30 femenino), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En determinadas realizaciones, el sujeto es un primate. En otras realizaciones más, el sujeto es un ser humano.

Como se usa en el presente documento, el término "inhibir", "inhibición" o "que inhibe" se refiere a la reducción o supresión de una afección, síntoma o trastorno o enfermedad, o una disminución significativa en la actividad inicial de
35 una actividad o proceso biológico.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar", "tratando" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de sus síntomas clínicos). En otra realización "tratar", "tratando" o
40 "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico incluyendo los que pueden no ser discernibles por el paciente. En otra realización más, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o ambos. En otra realización más, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar el inicio o desarrollo o avance de la enfermedad o trastorno.

45 Como se usa en el presente documento, un sujeto se encuentra "con necesidad de" un tratamiento si dicho sujeto se beneficiaría biológicamente, médicamente o en su calidad de vida de tal tratamiento.

Como se usa en el presente documento, el término "un", "una", "el/la" y términos similares usados en el contexto de la presente divulgación (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural a menos que se indique de otro modo en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto.

La invención se refiere a un proceso para la preparación de partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico. La *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tiene la siguiente estructura:

En la etapa b) del proceso de la invención, se añade ácido cítrico a la solución obtenida en la etapa a). Puede añadirse ácido cítrico en forma de un sólido, en forma de una solución o en forma de una suspensión. Cuando se añade en forma de una solución o suspensión, la concentración puede variar del 1 al 50 %p/p. Normalmente, se añade en forma de una solución o suspensión. El disolvente utilizado para la solución de ácido cítrico es típicamente un disolvente en el que la N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico es escasamente soluble. Dicho disolvente puede seleccionarse, por ejemplo, entre heptano, metil *tert*-butil éter, *n*-hexano, acetato de etilo, acetato de *n*-propilo, acetona, acetonitrilo, tolueno, agua o mezclas de los mismos. En una realización, el disolvente utilizado para la solución/suspensión de ácido cítrico es acetona. En una realización, el disolvente utilizado para la solución/suspensión de ácido cítrico es acetato de etilo. En una realización, se añade ácido cítrico a la solución obtenida en la etapa a) en forma de una solución en acetona. En una realización, la concentración de ácido cítrico en acetona está entre 1-50 %, preferentemente entre 20-30 %, más preferentemente aproximadamente 23 %. En otra realización, la concentración de ácido cítrico en acetona está entre 1-10 %, preferentemente entre 1-5 %, más preferentemente aproximadamente 2.5 %.

La cantidad de ácido cítrico añadida durante el proceso depende de la estequiometría deseada de la N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico. En una realización preferida, la estequiometría deseada de N-(5-ciano-4-((2-

metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico es 1:1 (ácido cítrico: N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida). En otra realización, la estequiometría deseada de la N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico es 0,5:1 (ácido cítrico: N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida). Un técnico experto es capaz de determinar la cantidad de ácido cítrico requerida para obtener la estequiometría deseada. La cantidad de ácido cítrico requerida puede añadirse de una vez o en varias alícuotas. En una realización, el ácido cítrico se añade todo de una vez. En otra realización, el ácido cítrico se añade en varias alícuotas. Cada alícuota puede variar en cuanto a la forma o puede ser la misma. Por ejemplo, en una alícuota, el ácido cítrico puede añadirse en forma sólida. En otra alícuota, el ácido cítrico puede añadirse en forma de una solución. En otra alícuota, el ácido cítrico puede añadirse como una suspensión. Cada alícuota de ácido cítrico puede ser de la misma concentración o de concentraciones diferentes. El disolvente utilizado para cada alícuota de ácido cítrico cuando se añade en forma de una solución o una suspensión puede ser igual o diferente. Las alícuotas pueden añadirse durante un periodo de tiempo entre 1 segundo y 10 horas. La temperatura a la cual se añade el ácido cítrico puede variar de 20-80 °C. Preferentemente, la temperatura a la cual se añade el ácido cítrico es aproximadamente 55 °C. Tras la adición de ácido cítrico, se forma una suspensión que comprende N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico.

En una realización, hay una etapa adicional de sembrado de la suspensión obtenida en la etapa b) con una suspensión de siembra que comprende N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico. La suspensión de siembra comprende partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenidas por un proceso de la invención. Preferentemente, las partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico usadas en la suspensión de siembra tienen una estequiometría de 1:1 (ácido cítrico: N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida). Para la suspensión de siembra, las partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico se suspenden en un disolvente, tal como acetona. La suspensión de siembra puede añadirse entre las adiciones de alícuotas de ácido cítrico o después de haber añadido la cantidad total de ácido cítrico requerida a la mezcla de reacción. La suspensión de siembra comprende típicamente aproximadamente 0,005-5 %, preferentemente 0,01-1 % de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenidas por un proceso de la invención. En una realización, la suspensión de siembra comprende 0,5 % de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenidas por un proceso de la invención. La temperatura de la suspensión de siembra es típicamente de aproximadamente 20 °C.

La suspensión obtenida en la etapa b) del proceso de la invención se agita típicamente durante un periodo de tiempo que permite que la N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico cristalice desde la solución. Normalmente, la suspensión puede agitarse durante 1 minuto a 20 horas. La temperatura de la suspensión resultante puede dejarse caer a aproximadamente 20 °C, si las etapas precedentes se realizaron a temperaturas mayores de 20 °C. La Figura 8 muestra una imagen de microscopio de las partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenidas después de la etapa b). En la Figura 8, las partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico están en suspensión en el medio de reacción. La etapa c) en el proceso de la invención incluye aislar las partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico de la suspensión obtenida en la etapa precedente b). Esto se realiza típicamente por filtración, lavado y secado. Por tanto, en una realización adicional, la etapa c) en el proceso de la invención incluye:

- la etapa c1) filtrar la suspensión obtenida en la etapa b) para dar partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico;
- la etapa c2) lavar las partículas obtenidas después de la filtración de la etapa c1); y
- la etapa c3) secar las partículas obtenidas en la etapa c2).

La filtración puede realizarse usando técnicas y aparatos estándar. Por ejemplo, la filtración puede realizarse usando un filtro de vidrio sinterizado. La filtración puede realizarse al vacío, por ejemplo, en una atmósfera de 500 mbar. La filtración puede realizarse a temperatura ambiente. La filtración puede realizarse en una atmósfera de nitrógeno.

El lavado puede realizarse con un sistema de disolventes o con varios sistemas de disolventes. Por ejemplo, en una

realización, el sistema de disolventes utilizado puede ser una mezcla 1:1 de ácido propiónico y acetona a temperatura ambiente. En otra realización, el sistema de disolventes utilizado también puede ser una mezcla 1:1 de ácido propiónico y acetato de etilo a temperatura ambiente. En una realización, el sistema de disolventes utilizado también puede ser únicamente acetona a temperatura ambiente. En una realización, una primera etapa de lavado se realiza con una mezcla 1:1 de ácido propiónico y acetona a temperatura ambiente, seguido de una segunda etapa de lavado solo con acetona a temperatura ambiente. En una realización, una primera etapa de lavado se realiza con una mezcla 1:1 de ácido propiónico y acetato de etilo a temperatura ambiente, seguido de una segunda etapa de lavado solo con acetato de etilo a temperatura ambiente.

Normalmente, el secado se realiza usando técnicas convencionales. Por ejemplo, las partículas resultantes pueden secarse en un horno, opcionalmente al vacío, por ejemplo, a aproximadamente 5 mbar. El secado puede realizarse en una atmósfera de nitrógeno. Normalmente, el secado se realiza a aproximadamente 40 °C.

Los tamaños de las partículas de la presente invención se miden usando difracción de luz láser como se describen en el Ejemplo 3 y, por tanto, se basan en la distribución de tamaño de partícula ponderada en volumen obtenida de este modo. La distribución de tamaño de partícula se representa por una curva de distribución acumulativa (tamaño inferior) (Q3(x) %) y una curva de distribución de la densidad (q3lg(x)) como se muestra, por ejemplo, en la Figura 6.

Por tanto, en una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una distribución de tamaño de partícula sustancialmente igual a como se muestra en la Figura 6. En una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una curva de distribución de tamaño inferior acumulativa sustancialmente igual a la mostrada en la Figura 6. En una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen una curva de distribución de la densidad sustancialmente igual a la mostrada en la Figura 6.

En la presente invención, los tamaños de partícula que incluyen los valores x10, x50 y x90 se miden mediante difracción de luz láser.

Como puede verse en la gráfica de distribución del tamaño de partícula mostrada en la Figura 6, las partículas obtenidas utilizando el proceso de la invención tienen una distribución del tamaño de partícula de tamaño inferior acumulativo en volumen que tiene los siguientes valores característicos:

valor x10 de entre 5 y 10 micrómetros;
valor x50 de entre 200 y 300 micrómetros;
valor x90 de entre 400 y 500 micrómetros.

Por tanto, en una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un valor x10 de entre 5 y 10 micrómetros. Preferentemente, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor x10 de aproximadamente 7 micrómetros. En una realización, el valor x10 puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor x10 de entre 4,5 y 11 micrómetros. Como comparación, la *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenida por los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1) tienen un tamaño de partícula de x10 o d10 de aproximadamente 1 micrómetro (véase ejemplo 4 y Figura 7).

En una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tiene un valor x50 de entre 200 y 300 micrómetros. Preferentemente, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor x50 de aproximadamente 265 micrómetros. En una realización, el valor x50 puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor x50 de entre 180 y 330 micrómetros. Como comparación, la *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenida por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1) tiene un tamaño medio de partículas (x50 o d50) de aproximadamente 3 micrómetros (véase ejemplo 4 y Figura 7).

En una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-

metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tiene un valor x_{90} de entre 400 y 500 micrómetros. Preferentemente, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor x_{90} de aproximadamente 450 micrómetros. En una realización, el valor x_{10} puede variar en $\pm 10\%$. Por tanto, en una realización, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor x_{90} de entre 360 y 550 micrómetros. Como comparación, la *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico obtenida por los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1) tienen un tamaño de partícula de x_{90} o d_{90} de aproximadamente 7 micrómetros (véase ejemplo 4 y Figura 7).

También, como puede verse a partir de la gráfica mostrada en la Figura 6, las partículas obtenidas por el proceso de la invención pueden diferenciarse en partículas primarias que tienen un intervalo de tamaños de partícula de 0,5 a 150 micrómetros y aglomerados que tienen un intervalo de tamaños de partícula de 150 a 875 micrómetros.

Por tanto, en una realización, las partículas de la invención comprenden una mezcla de partículas primarias de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y aglomerados de partículas primarias de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico.

Las partículas primarias pueden separarse de los aglomerados por métodos conocidos para una persona experta en la técnica, tales como, por ejemplo, tamizado.

En una realización, la invención se refiere a partículas primarias de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño de partícula en el intervalo de 0,5 a 150 micrómetros.

En una realización, la invención se refiere a partículas primarias de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño medio de partícula x_{50} de entre 10 y 20 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 15 micrómetros (véase el ejemplo 3 y la Figura 6). En una realización, el valor x_{50} puede variar en $\pm 10\%$. Por tanto, en una realización, las partículas primarias de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un tamaño medio de partícula x_{50} de entre 9 y 22 micrómetros.

En una realización, la invención se refiere a partículas primarias de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño de partícula x_{10} de entre 1 y 5 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 3 micrómetros (véase el ejemplo 3 y la Figura 6). En una realización, el valor x_{10} puede variar en $\pm 10\%$. Por tanto, en una realización, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un valor de x_{10} de 0,9 a 5,5 micrómetros.

En una realización, la invención se refiere a partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño de partícula x_{90} de entre 50 y 70 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 60 micrómetros (véase el ejemplo 3 y la Figura 6). En una realización, el valor x_{90} puede variar en $\pm 10\%$. Por tanto, en una realización, las partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tienen un tamaño de partícula x_{90} de entre 45 y 77 micrómetros.

La diferencia en cuanto a tamaño de partículas entre las partículas primarias de la presente invención y las obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 también pueden verse en las imágenes de microscopio electrónico de barrido mostradas en la Figura 1 y la Figura 2, respectivamente.

En una realización, las partículas primarias de la presente invención tienen una forma cristalina de columna. Esto puede verse en la Figura 1 y en la Figura 8.

En una realización, la invención se refiere a una partícula primaria cristalina de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento que tienen una forma cristalina de columna. Una forma cristalina de columna se representa, por ejemplo, en la Figura 1. La forma cristalina de las partículas primarias de la presente invención es diferente de la forma cristalina de las partículas obtenidas utilizando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 y mostrada en la Figura 2.

De manera interesante, la forma polimórfica obtenida usando el proceso de la invención o el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 para generar N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico es idéntica, como puede verse en la Figura 5.

La invención también se refiere, en otro aspecto, a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento. Los aglomerados de la invención pueden verse en las Figuras 3 y 4.

Por lo tanto, en una realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico, aglomerado que puede obtenerse por un proceso de la invención descrito en el presente documento.

En otra realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico, las partículas primarias que tienen un tamaño medio de partícula (x50 o d50) de 10 a 20 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 15 micrómetros. En una realización, el valor x50 de las partículas primarias puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño medio de partícula x50 de entre 9 y 22 micrómetros. El aglomerado en sí mismo tienen un tamaño medio (x50 o d50) de entre 300 y 400 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 340 micrómetros. En una realización, el valor x50 del aglomerado puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, el aglomerado que comprende partículas primarias N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tiene un tamaño medio x50 de entre 270 y 440 micrómetros.

En otra realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico, las partículas primarias tienen un tamaño de partícula (x10 o d10) de entre 1 y 5 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 3 micrómetros. En una realización, el valor x10 de las partículas primarias puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un valor x10 de 0,9 a 5,5 micrómetros. El aglomerado en sí mismo tienen un tamaño x10 o d10 de entre 200 y 300 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 230 micrómetros. En una realización, el valor x10 del aglomerado puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, el aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tiene un tamaño x10 de entre 180 y 330 micrómetros.

En otra realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tiene un tamaño de partícula x90 o d90 de entre 50 y 70 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 60 micrómetros. En una realización, el valor x90 de las partículas primarias puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, la invención se refiere a un aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño de partícula x90 de entre 45 y 77 micrómetros.

El aglomerado en sí mismo tienen un tamaño x90 o d90 de entre 450 y 550 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 490 micrómetros. En una realización, el valor x90 del aglomerado puede variar en +/- 10 %. Por tanto, en una realización, el aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico tiene un tamaño x90 de entre 405 y 605 micrómetros.

Sin desear quedar ligando a teoría alguna, se piensa que los aglomerados se forman tras el secado de las partículas primarias obtenidas en la etapa b) del proceso de la invención. La formación del aglomerado puede deberse al disolvente residual sobre la superficie de las partículas primarias que puede inducir la formación del aglomerado.

Las partículas descritas en el presente documento pueden usarse en la fabricación de una composición farmacéutica. Por lo tanto, la invención se refiere, en una realización, a una composición farmacéutica que comprende partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento y opcionalmente uno

o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la composición farmacéutica comprende partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y ningún vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la composición comprende al menos dos vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como los descritos en el presente documento. Para los fines de la presente invención, a menos que se indique lo contrario, los solvatos e hidratos generalmente se consideran composiciones. Preferentemente, los vehículos farmacéuticamente aceptables son estériles. La composición farmacéutica puede formularse para rutas particulares de administración tales como administración oral, administración parenteral y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse en forma sólida (incluyendo sin limitación cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluyendo sin limitación soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes o agentes tamponantes, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulgentes y tampones, etc.

Normalmente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con uno o más de:

- a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
- b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol;
- c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de aluminio y magnesio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona;
- d) disgregantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y
- e) absorbentes, colorantes, saporíferos y edulcorantes.

En una realización, la composición farmacéutica está en forma de una cápsula que comprende únicamente el principio activo. En otra realización, la composición farmacéutica está en forma de una cápsula que comprende una mezcla del principio activo y excipientes. Los comprimidos pueden recubrirse con una película o recubrirse entéricamente según los métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones adecuadas para la administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires, soluciones o dispersión sólida. Las composiciones destinadas para uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes a fin de proporcionar preparaciones sabrosas y farmacéuticamente elegantes. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico, carbonato de sodio, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos están sin recubrir o recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionan una acción sostenida durante un período más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato cálcico o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda, en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las partículas de la invención ofrecen propiedades beneficiosas en términos de facilidad de procesabilidad. De hecho, las propiedades de flujo de las partículas de la invención se mejoran en comparación con las propiedades de flujo de las partículas obtenidas utilizando el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1). Las propiedades de flujo pueden cuantificarse por reometría de polvo. La reometría de polvo permite medir una diversidad de parámetros en los fármacos, tales como la energía de flujo básico, el porcentaje de compresibilidad, el ángulo de fricción con las paredes. Como puede verse en la Figura 9, las partículas de la invención se diferencian al menos significativamente en la energía de flujo básico en comparación con las obtenidas usando los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585. Esto sugiere que las partículas de la invención ofrecen ventajas en

términos de procesabilidad. También, como puede verse en la Figura 10, el porcentaje de compresibilidad se aumenta con las partículas de la presente invención en comparación con los obtenidos por los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585. Esto sugiere que podría mejorarse la carga de fármaco en la fabricación del producto farmacéutico.

Además, como puede verse en la Figura 11, el ángulo de fricción con las paredes es diferente entre las partículas de la presente invención y las obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585. Esto indica que las características de superficie de las partículas son diferentes y sugieren que las partículas de la presente invención muestran un comportamiento menos pegajoso (menos interacción con el acero inoxidable). De nuevo, esto proporciona ventajas en términos de procesabilidad cuando se utilizan las partículas de la presente invención.

El uso de las partículas de la presente invención facilita la fabricación del producto farmacéutico, por ejemplo, el llenado de cápsulas, dando rendimientos mayores (en comparación con el uso de partículas obtenidas por los procesos descritos en el documento PCT/IB2014/065585). Además, usando las partículas de la presente invención, puede ser posible reducir la cantidad de excipientes necesarios para la fabricación del producto farmacéutico, lo que ofrece ventajas en términos de costes, tiempo y eficacia del proceso. De hecho, si una sustancia farmacológica es pegajosa o no fluye con facilidad, pueden ser necesarios más excipientes para mejorar el manejo de dicha sustancia farmacológica.

La composición farmacéutica de la presente invención puede estar en una dosificación unitaria de aproximadamente 1-1000 mg de principio activo para un sujeto de aproximadamente 50-70 kg, o aproximadamente 1-500 mg o aproximadamente 1-250 mg o aproximadamente 1-150 mg o aproximadamente 0,5-100 mg, o aproximadamente 1-50 mg de principio activo. En una realización, es aproximadamente 50 mg de principio activo. En otra realización, es aproximadamente 100 mg de principio activo. En otra realización, es aproximadamente 200 mg de principio activo. En otra realización, es aproximadamente 300 mg de principio activo. La dosificación terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica depende de la especie del sujeto, el peso corporal, la edad y el estado individual, el trastorno o enfermedad o la gravedad de la misma que se va a tratar. Un médico, clínico o veterinario con experiencia en la técnica puede determinar fácilmente la cantidad eficaz principio activo necesario para prevenir, tratar o inhibir el avance del trastorno o enfermedad.

La actividad de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida se muestra en el ejemplo 2.

Teniendo en cuenta la actividad de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida como inhibidor de FGFR4, la composición farmacéutica de la invención puede ser útil en el tratamiento de afecciones que están mediadas por la actividad de las proteínas FGFR4, tales como el cáncer y/o que responden (es decir, especialmente de una manera terapéuticamente beneficiosa) a la inhibición de FGFR4, del modo más especial una enfermedad o trastorno que se menciona más adelante en el presente documento.

La composición farmacéutica de la invención puede ser útil en el tratamiento del cáncer. En particular, la composición farmacéutica de la invención puede ser útil en el tratamiento de una indicación seleccionada entre cáncer de hígado, cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de próstata, rabdomiosarcoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de colon.

Por tanto, como una realización adicional, la presente invención proporciona el uso de una composición farmacéutica que comprende partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento, en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona de una enfermedad que puede tratarse mediante la inhibición de FGFR4. En otra realización, la enfermedad se selecciona de la lista mencionada anteriormente, adecuadamente, cáncer de hígado.

Por tanto, como una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende partículas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico como se describe en el presente documento para su uso en terapia. En una realización adicional, la terapia es para una enfermedad que puede tratarse mediante la inhibición de FGFR4. En otra realización, la enfermedad se selecciona de la lista mencionada anteriormente, adecuadamente, cáncer de hígado.

La composición farmacéutica de la invención también puede ser útil en el tratamiento de tumores malignos sólidos caracterizados por la expresión positiva de FGFR4.

La composición farmacéutica de la invención también puede ser útil en el tratamiento de tumores malignos sólidos caracterizados por la expresión positiva de KLB (beta-klotho).

La composición farmacéutica de la invención también puede ser útil en el tratamiento de tumores malignos sólidos

caracterizados por la expresión positiva de FGF19.

La composición farmacéutica de la invención también puede ser útil en el tratamiento de tumores malignos sólidos caracterizados por la expresión positiva de FGFR4 y la expresión positiva de KLB.

La composición farmacéutica de la invención también puede ser útil en el tratamiento de tumores malignos sólidos caracterizados por la expresión positiva de FGFR4 y la expresión positiva de FGF19.

La composición farmacéutica de la invención también puede ser útil en el tratamiento de tumores malignos sólidos caracterizados por la expresión positiva de FGFR4, positiva de KLB y positiva de FGF19.

Cualquier expresión positiva en FGFR4, KLB y/o FGF19 como se describe en el presente documento puede evaluarse mediante métodos conocidos por la persona experta, como por ejemplo PCR cuantitativa en tiempo real, análisis por transferencia de Western, ELISA, inmunohistoquímica.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar la invención y no deben interpretarse como que son limitaciones a la misma. Las temperaturas se dan en grados Celsius. Si no se menciona lo contrario, todas las evaporaciones se realizan a presión reducida, típicamente entre aproximadamente 15 mm de Hg y 100 mm de Hg (= 20-133 mbar). La estructura de los productos finales, intermedios y materiales de partida se confirma por métodos analíticos convencionales, por ejemplo, microanálisis y características espectroscópicas, por ejemplo, EM, IR, RMN. Las abreviaturas usadas son las convencionales en la técnica.

Todos los materiales de partida, componentes básicos, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, disolventes y catalizadores utilizados para sintetizar los compuestos de la presente invención están disponibles en el mercado o pueden producirse por métodos de síntesis orgánicas conocidos para alguien con una habilidad habitual en la técnica. Además, los compuestos de la presente invención pueden producirse por métodos de síntesis orgánica conocidos para el experto en la materia que se muestran en los siguientes ejemplos.

Abreviaturas

Abreviatura	Descripción
ac.	acuoso
conc.	concentrado
DAST	trifluoruro de (dietilamino)azufre
dba	dibencilidenoacetona
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina, N-etil-N-isopropilpropan-2-amina
DMA	N,N-dimetilacetamida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DME	1,2-dimetoxietano
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Hexadeuterodimetilsulfóxido
dppf	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
IEN-EM	Espectroscopía de masas con ionización por electronebulización
h	hora
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
KHMDS	Hexametildisilazida potásica
l/ml	litro/mililitro
CL-EM	Cromatografía líquida y espectrometría de masas
LHMDS	Hexametildisilazida de litio
M	molar
min	minutos
pf	Punto de fusión
MO	microondas
pm	Peso molecular
m/z	relación masa a carga
NBS	N-bromosuccinimida

(continuación)

Abreviatura	Descripción
NCS	N-clorosuccinimida
NIS	N-yodosuccinimida
NMP	N-metilpirrolidinona, 1-metil-2-pirrolidinona
RMN	Resonancia magnética nuclear
org.	orgánico
FI	Fase inversa
sat.	saturado
SFC	Cromatografía de fluidos supercríticos
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
T _R o Tr	Tiempo de retención (si no se indica, en minutos)
UPLC	Cromatografía líquida de ultra rendimiento

Detalles analíticos

RMN: Las mediciones se realizaron en un espectrómetro *Bruker Ultrashield™ 400* (400 MHz), *Bruker Ultrashield™ 600* (600 MHz), *400 MHz DRX Bruker CryoProbe* (400 MHz) o un *500 MHz DRX Bruker CryoProbe* (500 MHz) usando o sin usar trimetilsilano como patrón interno. Los desplazamientos químicos (valores de δ) se indican en ppm campo abajo a partir de tetrametilsilano, los patrones de división del espectro se designan como singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuádruplete (c), multiplete, señales sin resolver o de más solapamiento (*m*), señal ancha (a). Los disolventes se dan entre paréntesis.

DSC: se realizaron mediciones de DSC usando un DSC Q2000 (TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos de América) equipado con un sistema de refrigeración DSC Refrigerated (TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos de América). Los datos se trataron matemáticamente usando el software residente Universal Analysis®. La calibración para la temperatura y calor de fusión se realizó con indio como material de referencia. Las muestras se analizaron en bandejas de aluminio abiertas y se exploraron bajo una purga con nitrógeno con una tasa de calentamiento de 10 °C/min de 20 a 300 °C.

UPLC-EM 3:

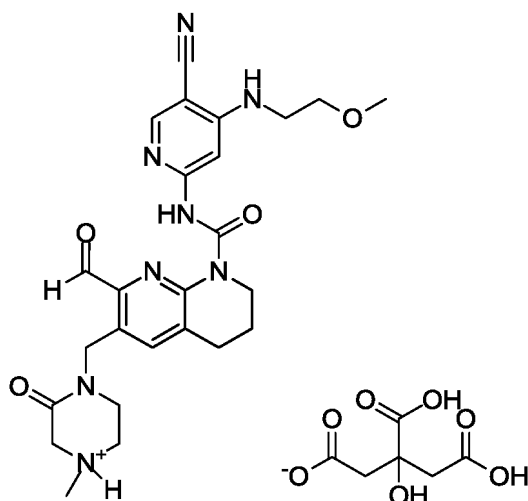
Sistema: Waters Acquity UPLC con detector Waters SQ.
 Columna: Acquity HSS T3 1,8 μ m, 2,1 x 50 mm.
 Flujo: 1,0 ml/min. Temperatura de la columna: 60 °C.
 Gradiente: de 5 a 98 % de B en 1,4 min, A = agua + 0,05 % de ácido fórmico + acetato amónico 3,75 mM, B = acetonitrilo + 0,04 % de ácido fórmico.

UPLC-EM 6:

Sistema: Waters Acquity Ultra Performance con detector Waters SQ.
 Columna: Acquity HSS T3 1,8 μ m, 2,1 x 50 mm.
 Flujo: 1,0 ml/min. Temperatura de la columna: 60 °C.
 Gradiente: de 5 a 98 % de B en 1,4 min, A = agua + 0,05 % de ácido fórmico + acetato amónico 3,75 mM, B = acetonitrilo + 0,04 % de ácido fórmico.

IEN-EM: CL Water Acquity™ Ultra Performance

Ejemplo 1 - N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico (1:1).



Etapa 1: 2-(dimetoximetil)-1,8-naftiridina.

5 Se usó el procedimiento descrito en J. Org. Chem., 2004, 69 (6), págs. 1959-1966. En un matraz de fondo redondo de 4 bocas y 20 l se puso 2-aminopiridin-3-carbaldehído (1000 g, 8,19 mol), 1,1-dimetoxipropan-2-ona (1257 g, 10,64 mol), etanol (10 l) y agua (2 l). Esto se siguió de la adición gota a gota de una solución de hidróxido sódico (409,8 g, 10,24 mol) en agua (1000 ml) con agitación a 0-15 °C. La solución se agitó durante 3 h a 0-20 °C y después se concentró al vacío. La solución resultante se extrajo con 3 x 1200 ml de acetato de etilo y las capas orgánicas se combinaron. La mezcla se secó con sulfato sódico y se concentró al vacío. El residuo se lavó con 3 x 300 ml de hexano y el sólido se recogió por filtración. Esto dio como resultado el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,11 (dd, 1H), 8,53 (d, 1H), 8,50 (dd, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,67 (dd, 1H), 5,44 (s, 1H), 3,41 (s, 6H).

15 **Etapa 2:** 7-(dimetoximetil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina.

Se usó el procedimiento descrito en J. Org. Chem., 2004, 69 (6), págs. 1959-1966. En un reactor de tanque de presión de 5 l (5 atm) se puso 2-(dimetoximetil)-1,8-naftiridina (200 g, 979 mmol), etanol (3 l), PtO₂ (12 g). El reactor se evacuó y se enjuagó tres veces con nitrógeno, seguido de purga con hidrógeno. La mezcla se agitó durante una noche a 23 °C en una atmósfera de hidrógeno. Esta reacción se repitió cuatro veces. Los sólidos se retiraron por filtración y la mezcla resultante se concentró al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,14 (d, 1H), 6,51 (d, 1H), 6,47 - 6,41 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 3,28 - 3,19 (m, 2H), 3,23 (s, 6H), 2,64 (t, 2H), 1,73-1,79 (m, 2H).

25 **Etapa 3:** 6-bromo-7-(dimetoximetil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina.

En un matraz de fondo redondo de 4 bocas y 3 l se puso 7-(dimetoximetil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina (114,6 g, 550,3 mmol) en acetonitrilo (2 l). Esto se siguió de la adición en porciones de NBS (103 g, 578 mol) con agitación a 25 °C. La solución resultante se agitó durante 30 min a 25 °C. La mezcla resultante se concentró al vacío y el residuo se diluyó con 1000 ml de éter dietílico. La mezcla se lavó con 3 x 100 ml de hielo/agua. La fase acuosa se extrajo con 2 x 100 ml de éter dietílico y las capas orgánicas se combinaron. La mezcla resultante se lavó con 1 x 100 ml de salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo claro. CL-EM: (EN, m/z): 286,03 [M+H]⁺. RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃) δ 1,86 - 1,94 (2H, m), 2,70 - 2,74 (2H, m), 3,9 - 3,43 (2H, m), 3,47 (6H, s), 5,23 (1H, s), 5,58 (1H, s), 7,29 (1H, s).

Etapa 4: 2-(dimetoximetil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-3-carbaldehído.

A una solución de 6-bromo-7-(dimetoximetil)-1,2,3,4-tetrahidro-1,8-naftiridina (15,0 g, 52,2 mmol) en THF (400 ml) a -78 °C en una atmósfera de argón, se añadió MeLi (1,6 M en Et₂O, 32,6 ml, 52,2 mmol), la solución se agitó durante 5 min, después se añadió lentamente n-BuLi (1,6 M en hexano, 35,9 ml, 57,5 mmol) y la solución se agitó durante 20 min. Se añadió THF (100 ml) a la reacción a -78 °C. A continuación, se añadió n-BuLi (1,6 M en hexano, 49,0 ml, 78 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 20 min, después se añadió de nuevo n-BuLi (1,6 M en hexano, 6,53 ml, 10,45 mmol) y la mezcla se agitó durante 10 min a -78 °C. Se añadió DMF (2,10 ml, 27,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 45 min, después se dejó calentar a temperatura ambiente, se vertió en NH₄Cl ac. sat. y se extrajo dos veces con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color naranja. (UPLC-EM 3) T_r 0,63 min; IEN-EM 237,2 [M+H]⁺.

Etapa 5: 2-((2-((terc-butoxicarbonil)amino)etil)(metil)amino)acetato de etilo.

Se añadió bromoacetato de etilo (1,27 ml, 11,48 mmol) a una mezcla de 2-((metilamino)etil)carbamato de *terc*-butilo (2,0 g, 11,48 mmol), trietilamina (4,81 ml) y THF (24 ml) a 0 °C. Después de agitar 24 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se repartió entre NaHCO₃ acuoso saturado y DCM, se extrajo 2x con DCM, las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un aceite transparente de color amarillo pálido. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 5,20 (s, a, 1H), 4,18 (c, 2H), 3,24 (s, 2H), 3,22 - 3,16 (m, 2H), 2,65 - 2,61 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,24 (t, 3H).

Etapas 6: diclorhidrato de 2-((2-aminoetil)(metil)amino)acetato etilo.

Se añadió ácido clorhídrico concentrado (10 ml) a una solución de 2-((2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)(metil)amino)acetato de etilo (3,05 g, 11,13 mmol) en THF (20 ml) y EtOH (100 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar 1 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se evaporó, se añadió etanol (20 ml), se evaporó, se añadió más cantidad de etanol (50 ml) y después se agitó a 60 °C durante 70 min. Después, la mezcla de reacción enfriada se evaporó para dar el compuesto del título en forma de un cristal de color amarillo pálido. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,58 (s, a, 3H), 4,19 (c, 2H), 4,26 - 4,15 (m, 2H), 3,44 (s, a, 2H), 3,21 (s, a, 2H), 2,88 (s, 3H), 1,21 (t, 3H).

Etapas 7: 1-((2-(dimetoximetil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-3-il)metil)-4-metilpiperazin-2-ona.

Se añadió triacetoxiborohidruro sódico (3,10 g, 14,61 mmol) a una mezcla de 2-(dimetoximetil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-3-carbaldehído (obtenido en la etapa 4, 2,30 g, 9,74 mmol), diclorhidrato de 2-((2-aminoetil)(metil)amino)acetato de etilo (obtenido en la etapa 6, 2,6 g, 14,61 mmol) y trietilamina (6,75 ml, 48,7 mmol) en 1,2-dicloroetano (20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 21 h a temperatura ambiente y se añadió más cantidad de triacetoxiborohidruro sódico (2,6 g, 9,74 mmol). Después de 4 h más de agitación a temperatura ambiente, se añadió de nuevo más cantidad de triacetoxiborohidruro sódico (1,3 g, 4,87 mmol) y la reacción se mantuvo a 4 °C durante 2,5 días. Después, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se añadió una solución acuosa saturada de NaHCO₃, la mezcla se extrajo con DCM (3 x), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. El residuo se aplicó a una columna de sílice RediSep® de 120 g como una solución en DCM y se purificó por cromatografía de fase normal, eluyendo con un gradiente de DCM a MeOH al 10 % en DCM. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de una espuma de color naranja. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,08 (s, 1H), 5,30 (s, a, 1H), 5,20 (s, 1H), 4,69 (s, 2H), 3,44 - 3,34 (m, 2H), 3,40 (s, 6H), 3,22 - 3,15 (m, 2H), 3,24 (s, 2H), 2,71 - 2,64 (m, 2H), 2,58 - 2,50 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 1,98 - 1,82 (m, 2H). (UPLC-EM 6) T_r 0,33; IEN-EM 335,3 [M+H]⁺.

Etapas 8: 4-fluoro-5-yodopiridin-2-amina.

Una suspensión de 4-fluoropiridin-2-amina (336 g, 2,5 mol) y NIS (745 g, 2,75 mol) en MeCN (9 l) se trató con TFA (114 g, 1 mol). Después, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (10 l), se lavó con Na₂S₂O₃ ac. sat. (2 x 5 l) y salmuera (4 x 5 l). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó por recristalización en EtOAc/pentano (1/10) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,14 (d, 1H), 6,45 (s, 2H), 6,33 (d, 1H).

Etapas 9: 6-amino-4-fluoronicotinonitrilo.

Se desgasificaron 4-fluoro-5-yodopiridin-2-amina (obtenida en la etapa 8, 240 g, 1 mol), cianuro de cinc (125 g, 1,05 mol), cinc (13 g, 0,2 mol), Pd₂(dba)₃ (25 g, 25 mmol) y dppf (55 g, 0,1 mol) en DMA (800 ml) y se cargaron en un matraz de fondo redondo en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 100 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con NaHCO₃ al 5 % (2 l), se extrajo con EtOAc (4 x 600 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaOH al 5 % (1 l), se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron a 700 ml. La fase orgánica resultante se eluyó a través de una columna de gel de sílice con EtOAc (1,7 l). El filtrado orgánico combinado se lavó con HCl 2 M (3 x 800 ml). El pH de la fase acuosa se ajustó a 10 con NaHCO₃ saturado. La fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 500 ml). El DCM se combinado secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó adicionalmente por cromatografía en columna (eluyendo con 10:1 a 3:2 de pentano:EtOAc), seguido de recristalización en 3/1 de pentano/EtOAc para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,40 (d, 1H), 7,40 (s, 2H), 6,34 (d, 1H).

Etapas 10: (4-cloro-5-cianopiridin-2-il)carbamato de *terc*-butilo.

Una mezcla de 2,4-dicloro-5-cianopiridina (10 g, 57,8 mmol), carbamato de *terc*-butilo (8,2 g, 70,5 mmol), Pd(OAc)₂ (0,26 g, 1,1 mmol), Xantphos (1,34 g, 2,3 mmol) y K₂CO₃ (12 g, 87 mmol) en THF (150 ml) se desgasificó 3x con nitrógeno. Después, la mezcla se calentó a 70 °C durante 4-5 h y se controló por cromatografía hasta su conversión completa. Tras la finalización de la reacción, se añadió más cantidad de THF (100 ml) y la mezcla se calentó a 70 °C durante 1 h más y después se enfrió a temperatura ambiente. Después, la suspensión se filtró a través de un lecho de celite para retirar el sólido. Después, el filtrado se concentró y se destiló azeotrópicamente con acetato de etilo antes

de filtrar para dar el compuesto del título. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10,82 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 1,49 (s, 9H).

Etapa 11: N-(5-Ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)carbamato de *terc*-butilo.

Una mezcla de (4-cloro-5-cianopiridin-2-il)carbamato de *terc*-butilo (obtenido en la etapa 10, 9,8 g, 38,6 mmol), 2-metoxietilamina (5,8 g, 77,3 mmol) y DIPEA (6 g, 46,4 mmol) en DMSO (80 ml) se calentó a 65-70 °C durante 24 h y se controló por cromatografía hasta su conversión completa. Después, la solución se enfrió a temperatura ambiente y un sólido de color blanco precipitó gradualmente. Después, se añadió lentamente agua (20 ml) en 1 h. La suspensión se agitó durante 1 h más, se filtró y se secó para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 9,87 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,86 (s, 9H), 3,51 (t, 2H), 3,36 (t, 2H), 3,28 (s, 3H), 1,47 (s, 9H).

Etapa 12: 6-amino-4-((2-metoxietil)amino)nicotinonitrilo.

Una solución de 6-amino-4-fluoronicotinonitrilo (obtenido en la etapa 9, 1,10 g, 8,02 mmol) en DMA (20 ml) se trató con 2-metoxietilamina (2,07 ml, 24,1 mmol) y DIPEA (4,20 ml, 24,1 mmol), se calentó a 50 °C y se agitó durante 15 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El material en bruto se purificó por cromatografía de fase normal (cartucho de gel de sílice de 24 g, de 100:0 a 0:100 de heptanos/EtOAc). Las fracciones que contenían el producto se concentraron y se secaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino.

A continuación se indica una síntesis alternativa de 6-amino-4-((2-metoxietil)amino)nicotinonitrilo: A N-{5-ciano-4-[(2-metoxietil)amino]piridin-2-il}carbamato de *terc*-butilo (obtenido en la etapa 11, 7 g) se añadió HCl acuoso al 30-36 % (40 ml), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se controló por cromatografía hasta su conversión completa. Después, la solución se basificó a pH = 9-10 con una solución al 20-30 % de NaOH y se filtró para dar un sólido de color blanco. El sólido se añadió a acetato de etilo (15 ml) y se calentó a 50-55 °C para formar una solución transparente. Después, la solución se enfrió a 3-6 °C, se agitó durante 2-3 h y se filtró. Después, la torta de filtro se secó para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,92 (s, 1H), 6,39 (s, 2H), 6,15 (t, 1H), 5,61 (s, 1H), 3,46 (t, 2H), 3,27 (s, 3H), 3,24 (c, 2H). (UPLC-EM 3) T_r 0,62; IEN-EM 193,1 [M+H]⁺.

Etapa 13: N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-(dimetoximetil)-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida.

Se añadió gota a gota una solución de 6-amino-4-((2-metoxietil)amino)nicotinonitrilo (obtenido en la etapa 12, 481 mg, 2,50 mmol) en DMF anhidra (1,5 ml) durante 10 minutos a una mezcla de di(1H-1,2,4-triazol-1-il)metanona (410 mg, 2,50 mmol) y DMF (1,5 ml) enfriada a 0 °C. Después de agitar durante 45 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y, después de 90 minutos más a temperatura ambiente, se añadió una solución de 1-((2-(dimetoximetil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-3-il)metil)-4-metilpiperazin-2-ona (obtenida en la etapa 7, 418 mg, 1,00 mmol) en DMF (2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 17,5 h a temperatura ambiente, se inactivó mediante la adición de MeOH y se evaporó. El residuo se aplicó a una columna de sílice RediSep® de 80 g como una solución en DCM y se purificó por cromatografía de fase normal, eluyendo con un gradiente de DCM a MeOH al 2 % en DCM. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de una espuma de color naranja. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,50 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 6,93 (t, 1H), 5,45 (s, 1H), 4,65 (s, 2H), 3,94 - 3,89 (m, 2H), 3,54 - 3,50 (m, 2H), 3,40 - 3,35 (m, 2H), 3,38 (s, 6H), 3,29 (s, 3H), 3,20 - 3,16 (m, 2H), 3,05 (s, 2H), 2,86 - 2,80 (m, 2H), 2,61 - 2,55 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,94 - 1,88 (m, 2H). (UPLC-EM 6) T_r 0,72; IEN-EM 553,3 [M+H]⁺.

Etapa 14: N-(5-Ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida

Se añadió ácido clorhídrico concentrado (0,40 ml) a una solución de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-(dimetoximetil)-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida (obtenida en la etapa 13, 470 mg, 0.808 mmol) en THF (3 ml) y agua (1 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 3 h a temperatura ambiente, se añadió NaHCO₃ acuoso saturado, la mezcla se extrajo con DCM (3 x), las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. El residuo se sometió a ultrasonidos con EtOAc (6 ml) y pentano (6 ml) y después se filtró. Después, el sólido de color blanco obtenido se disolvió en DCM (6 ml), se añadió EtOAc (3 ml), la solución se calentó, se cerró herméticamente y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 h. La filtración y el secado dieron N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,43 (s, 1H), 10,06 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,96 (t, a, 1H), 4,86 (s, 2H), 3,96 - 3,90 (m, 2H), 3,52 - 3,46 (m, 2H), 3,39 - 3,33 (m, 2H), 3,30 - 3,21 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,02 (s, 2H), 2,93 - 2,86 (m, 2H), 2,61 - 2,56 (m, 2H), 2,21 (s, 3H), 1,95 - 1,85 (m, 2H). (UPLC-EM 6) T_r 0,70, IEN-EM 507,2, [M+H]⁺.

Etapas 15: *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1). Se agitó *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida (obtenida en la etapa 14, 4 g, 7,896 mmol) en ácido propiónico (29,3 g, 29,60 ml) a 70 °C hasta que se completó la disolución (20 minutos). La solución se enfrió a 55 °C y se le añadió una solución de ácido cítrico en acetona (23 % p/p). Por separado, se preparó una suspensión de siembra añadiendo acetona (0,2 g, 0,252 ml) a *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (0,0185 g, 0,026 mmol). La suspensión de siembra se añadió a la solución a 50 °C y la suspensión resultante se dejó en agitación a 50 °C durante 40 minutos. Se añadió una solución adicional de ácido cítrico en acetona (26,6 g, 2,51 % p/p, 33,63 ml) durante 380 minutos. La suspensión resultante se agitó durante 120 minutos y se enfrió a 20 °C con agitación durante 4 horas. La suspensión se agitó durante 12 horas más antes de filtrar la suspensión al vacío y de lavar el sólido resultante con una solución de ácido propiónico:acetona (1:1, 7 g, 7,96 ml) a temperatura ambiente. El sólido se lavó adicionalmente con acetona (7 g, 8,85 ml) a temperatura ambiente. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 40 °C y 5 mbar para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (5,2 g, 7,443 mmol). (pm 698,70), pf (DSC) 168,8 °C (inicio).

El análisis de XRPD mostró el mismo patrón que con partículas obtenidas por un proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1) - véase la Figura 5.

Ejemplo 1a

Las Etapas 1 a 14 se realizaron como se describe en el ejemplo 1.

Etapas 15a: *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1)

Se agitó *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida (obtenida en la etapa 14, 5 g, 9,930 mmol) en ácido propiónico (33,5 g, 33,84 ml) a 60 °C. Una vez se había disuelto la *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida, se añadió polvo de ácido cítrico anhidro (0,19 g, 0,9889 mmol). La suspensión resultante se calentó a 70 °C y se sometió a ultrasonidos durante 5 minutos para asegurar una disolución completa. La solución resultante se enfrió a 50 °C y se añadió una solución de ácido cítrico en acetato de etilo (3,7 g, ácido cítrico al 1,3 % en acetato de etilo) durante 20 minutos. Se añadieron semillas de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (0,02 g) a la solución y la suspensión se maduró durante 15 minutos. Se añadió otra alícuota de ácido cítrico en acetato de etilo (128 g, ácido cítrico al 1,3 % en acetato de etilo) a la suspensión durante 11,85 horas. La suspensión se dejó en agitación durante 4 horas. Después, la suspensión se filtró al vacío (500 mbar) y el sólido resultante se lavó en primer lugar con una solución de ácido propiónico: acetato de etilo (1:1, 7 g, 7,44 ml) a temperatura ambiente y después con acetato de etilo (12 g, 13,38 ml) a temperatura ambiente. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 40 °C y 5 mbar para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (6,3 g, 9,074 mmol).

El análisis de XRPD mostró el mismo patrón que con partículas obtenidas por un proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 (ejemplo de referencia 1) - véase la Figura 5.

Ejemplo de referencia 1 (descrito en el documento PCT/IB2014/065585) - *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1)

Las Etapas 1 a 14 se realizaron como se describe en el ejemplo 1.

Etapas de referencia 15 - *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1)

Una solución de ácido cítrico (96,9 mg) en acetona (5 ml) se preparó a temperatura ambiente (0,1 M). Después, se añadió una porción de la solución 0,1 M de ácido cítrico en acetona (2 ml) a una suspensión de *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida (100 mg) en acetona (4 ml) y la mezcla se sometió a ultrasonidos durante 1 minuto, después se calentó a 55 °C con agitación durante 2 h antes de enfriar lentamente a temperatura ambiente. Después, el sólido de color blanco se recogió por filtración, lavando 2x con acetona (2 ml) y se secó durante 18 h a 40 °C al vacío para dar la sal del título.

Como alternativa, se puso *N*-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida (6,5 g, 12,83 mmol) en un matraz reactor de 4 bocas y 500 ml. Se añadieron 49 ml de ácido acético glacial y la suspensión resultante se agitó a 23 °C hasta que se obtuvo una mezcla transparente. En un matraz separado, se disolvió ácido 2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxílico anhidro (2,59 g,

13,47 mmol, 1,05 equiv.) en 49 ml de ácido acético glacial a 50 °C hasta que se obtuvo una solución transparente. Después, esta solución se añadió, a 23 °C, a la solución de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida preparada previamente. Esta mezcla se agitó durante 30 min a 23 °C y después se añadió gota a gota durante 1 h a 192 ml de acetato de etilo calentado a 75 °C. La temperatura permaneció constante durante la adición. Al final de la adición, la temperatura de la mezcla se enfrió lentamente a 23 °C y se dejó 16 h a esta temperatura con agitación cuidadosa. La suspensión se enfrió a 5-10 °C y se filtró. La torta se lavó con 15 ml de acetato de etilo y 15 ml de acetona. La torta húmeda (aprox. 8,5 g) se transfirió a un matraz de 500 ml que contenía 192 ml de acetona seca. La suspensión resultante se calentó a reflujo durante 24 h. La suspensión se filtró y la torta se lavó 2 veces con 15 ml de acetona seca, después se secó a 50 °C al vacío durante varias horas para dar la sal del título.

Ej. 2 - Ensayos bioquímicos *in vitro* de cinasa para FGFR4

Todos los ensayos se realizaron en placas de microtitulación de 384 pocillos. Cada placa de ensayo contenía diluciones en serie de 8 puntos para 40 compuestos de ensayo, así como cuatro diluciones en serie de 8 puntos de estaurosporina como compuesto de referencia, más 16 controles altos y 16 bajos.

Las etapas de incubación y manejo de líquidos se realizaron en un Innovadyne Nanodrop Express equipado con un brazo robótico (Thermo CatX, Caliper Twister II) y una incubadora (Liconic STX40, Thermo Cytomat 2C450). Las placas de ensayo se prepararon mediante la adición de 50 nl por pocillo de solución de compuesto en DMSO al 90 %. Las reacciones de cinasa se iniciaron mediante la adición por etapas de 4,5 µl por pocillo de solución de péptido/ATP (50 mM de HEPES, pH 7,5, DTT 1 mM, 0,02 % de Tween20, 0,02 % de BSA, 0,6 % de DMSO, 10 mM de beta-glicerofosfato y 10 µM de ortovanadato sódico, 16 mM de MgCl₂, 1122 µM de ATP, 4 µM de péptido (5-Fluo-Ahx-KKKKEEYFFFG-NH₂, Biosyntan GmbH) y 4,5 µl por pocillo de solución de enzima (50 mM de HEPES, pH 7,5, DTT 1 mM, 0,02 % de Tween20, 0,02 % de BSA, 0,6 % de DMSO, 10 mM de beta-glicerofosfato y 10 µM de ortovanadato sódico, 16 mM de MgCl₂, 6 nM de FGFR4 (GST-FGFR4(388-802), producido de forma doméstica mediante expresión en células de insectos y cromatografía de afinidad). Las reacciones de cinasa se incubaron a 30 °C durante 60 minutos y posteriormente se terminaron mediante la adición de 16 µl por pocillo de solución de parada (HEPES 100 mM, pH 7,5, DMSO al 5 %, reactivo de recubrimiento Caliper 0,1 %, EDTA 10 mM y Brij35 al 0,015 %). Las placas con reacciones de quinasa terminadas se transfirieron a las estaciones de trabajo Caliper LC3000 para su lectura. Los péptidos fosforilados y no fosforilados se separaron usando la tecnología de cambio de movilidad microfluidica Caliper. Brevemente, las muestras de las reacciones de cinasa terminadas se aplicaron a la microplaca. Los analitos se transportan a través de la microplaca mediante un flujo constante de tampón y la migración del péptido del sustrato se controla mediante la señal de fluorescencia de su marcador. El péptido fosforilado (producto) y el péptido no fosforilado (sustrato) se separan en un campo eléctrico mediante su relación carga/masa. Las actividades de cinasa se calculan a partir de las cantidades de fosfo-péptido formado. Los valores de CI50 se determinaron a partir de valores de porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones de compuestos mediante análisis de regresión no lineal.

Preparación de diluciones de compuesto

Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO (10 mM) y se transfirieron a tubos de matriz de fondo plano o con forma de V de 1,4 ml que portaban una matriz 2D única. Las soluciones madre se almacenaron a +2 °C si no se usaron inmediatamente. Para el procedimiento de ensayo, los viales se descongelaron y se identificaron mediante un escáner mediante el cual se generó una hoja de trabajo que guio las etapas funcionales posteriores.

Las diluciones de compuesto se hicieron en placas de 96 pocillos. Este formato permitió el ensayo de un máximo de 40 compuestos de ensayo individuales a 8 concentraciones (puntos individuales) incluyendo 4 compuestos de referencia. El protocolo de dilución incluyó la producción de "placas de predilución", "placas maestras" y "placas de ensayo". Placas de predilución: Se usaron placas de polipropileno de 96 pocillos como placas de predilución. Se prepararon un total de 4 placas de predilución que incluían 10 compuesto de ensayo en cada una de las posiciones de la placa A1-A10, un compuesto patrón en A11 y un control de DMSO en A12. Todas las etapas de dilución se hicieron un robot HamiltonSTAR.

Placas maestras: Se transfirieron 30 µl de diluciones de compuesto individuales incluyendo compuesto patrón y controles de las 4 "placas de predilución" en una "placa maestra" 384 incluyendo las siguientes concentraciones 1.810, 362, 72,5, 54,6, 14,5, 2,9, 0,58 y 0,12 µM, respectivamente en un 90 % de DMSO. Placas de análisis: Después, se prepararon "placas de ensayo" idénticas pipeteando 50 nl de cada una de las diluciones de compuesto de las "placas maestras" en "placas de ensayo" de 384 pocillos por medio de un dispensador de 384 canales HummingBird. Estas placas se usaron directamente para el ensayo, que se realizó en un volumen total de 9,05 µl. Esto condujo a una concentración de compuesto final de 10, 2,0, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 y 0,000128 µM y una concentración final de DMSO del 0,5 % en el ensayo.

Ensayos *in vitro* de cinasa celular para FGFR4

Como una lectura de la actividad celular de la quinasa FGFR4, se desarrolló un ensayo que mide el contenido de fosforilación de tirosina en FGFR4. Para esto, se generó una línea celular BaF3-Tel-FGFR4: Las células BaF3 se

transdujeron establemente con un retrovirus que codifica una proteína de fusión compuesto de la porción amino terminal de TEL (aa1-337) condensada al dominio citoplasmático de FGFR4, incluyendo el dominio yuxtamembrana. La presencia del dominio TEL media la activación constitutiva de la cinasa FGFR4 condensada por oligomerización y por tanto la autofosforilación en los sitios de tirosina.

5

Se desarrolló un ELISA de captura basado en MSD (Meso Scale Discovery) y se usó de la siguiente manera:

- Tratamiento celular: Se sembraron 250000 células BaF3-Tel-FGFR4 por pocillo en placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Corning Cat n.º 3359) en 40 µl de medio de cultivo (RPMI-1640 (Amimed Cat n.º 1-41F01-I) complementado con suero de ternera fetal al 10 %, HEPES 10 mM, piruvato sódico 1 mM, glutamina estable 2 mM y 1x penicilina-estreptomycin). Usando un dispositivo de manipulación de líquidos (Velocity 11 Bravo, Agilent), se prepararon diluciones de compuestos de 3 veces en DMSO, prediluidas en medio de cultivo, seguido de transferencia de 10 µl/pocillo a las placas celulares. Después de incubación durante 1 hora a 37 °C/CO₂ al 5 %, se añadieron 50 µl de tampón de lisis (NaCl 150 mM, Tris 20 mM (pH 7,5), EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 al 1 %, NaF 10 mM, complementado con inhibidores de proteasa (Complete Mini, Roche Cat n.º 11836153001) e inhibidores de fosfatasa (Phosphatase Inhib I, SIGMA Cat n.º P2850; Phosphatase Inhib II, SIGMA Cat n.º P5726 de acuerdo con las instrucciones del proveedor) y se incubaron durante 30 minutos en hielo con agitación a 300 rpm. Después, las muestras se congelaron y se almacenaron a - 70 °C. Después de descongelar en hielo, las muestras se centrifugaron durante 15 minutos a 1200 rpm a 6 °C.
- Ensayo ELISA: Se recubrieron placas de 96 pocillos de matriz múltiple (MSD, Cat n.º L15XB-3) durante 1 hora a temperatura ambiente con 25 µl/pocillo de anticuerpo anti-H-TEL de ratón (Santa Cruz, Cat n.º sc-166835) diluido a 1:400 en PBS/O. Después de la adición de 150 µl de bloqueador A de MSD al 3 % (Cat# R93BA-1) en TBS-T (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, Tween-20 al 0,02 %), las placas se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Después, las placas se lavaron 3 veces con 200 µl/pocillo de TBS-T. Después, se transfirieron 50 µl del lisado celular a la placa recubierta y se incubaron durante 15 horas a 4 °C, seguido de 3 lavados con 200 µl de TBS-T/pocillo y la adición de 25 µl/pocillo de anticuerpo MSD SULFOTAGGED PY20 (MSD Cat n.º R32AP-5), diluido a 1:250 en TBS-T + 1 % de bloqueador A de MSD. Después de la incubación durante 1 h a temperatura ambiente con agitación, los pocillos se lavaron 3 veces con 200 µl de TBS-T/pocillo. Después de la adición de 150 µl de solución madre de MSD Read Buffer (MSD, Cat n.º R92TC-2) diluída a 1:4 con agua a escala nano, se cuantificó inmediatamente la generación de señales electro-quimioluminiscentes en un instrumento SectorImager 6000 (MSD). Cálculo de CI50: Para el análisis de datos, Se determinó el fondo del ensayo en pocillos que contenían medio y tampón de lisis, pero no células, y el valor correspondiente se sustrajo de todos los puntos de datos. El efecto de una concentración particular de compuesto de ensayo sobre la fosforilación de FGFR4 se expresa como un porcentaje de la lectura de electro-quimioluminiscencia corregida con respecto al fondo obtenida para células tratadas únicamente con vehículo (DMSO, 0,2 % f.c.), que se establece como el 100 %. Las concentraciones de compuesto que conducen a la inhibición de señal semimáxima (CI50) se determinaron por un ajuste de curva de cuatro parámetros estándar (XLfit 5.4, IDBS).

Ensayo de proliferación celular

40

Ensayo de proliferación con tinción con azul de metileno (MBS): El efecto de los compuestos sobre la proliferación celular se evalúa utilizando células de carcinoma hepatocelular HuH-7 obtenidas de la Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank (N.º de Cat. JCRB0403) y cultivándolas en el medio recomendado por el proveedor (glucosa alta en DMEM (Amimed N.º de Cat. 1-26F01-I), suero de ternera fetal al 10 % (Invitrogen N.º de Cat. 16140-071), Piruvato de sodio 1 mM (Amimed N.º de Cat. 5-60F00-H), 1x penicilina/estreptomycin (Amimed N.º de Cat. 4-01F00-H)) a 37 °C en una incubadora humidificada con el 5 % CO₂. De manera específica, se sembraron 5000 células/pocillo en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (TPP N.º de Cat. 92696) en un volumen de medio total de 100 µl/pocillo y se añadieron diluciones de compuesto crecientes o DMSO 24 horas después por triplicado. 72 horas después de la adición del compuesto, las células se fijaron añadiendo 25 µl/pocillo de glutaraldehído al 20 % (Sigma Aldrich N.º de Cat. G400-4) y se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las células se lavaron tres veces con H₂O, 200 µl/pocillo y se tiñeron con 100 µl/pocillo de azul de metileno al 0,05 % (ABCR GmbH N.º de Cat. AB117904) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las células se lavaron 3 veces con H₂O, 200 µl/pocillo y luego se lisaron agregando 200 µl/pocillo de HCl al 3 % (Fluka N.º de Cat. 84422) durante 30 minutos a temperatura ambiente con agitación. La densidad óptica se midió a A650 nm. Se determinó la concentración de compuesto que proporciona el 50 % de inhibición de la proliferación con respecto a las células tratadas con DMSO (CI₅₀) utilizando el programa informático XLFit.

55

Ensayo CellTiter Glo (CTG): El efecto funcional de los compuestos sobre la proliferación celular se evalúa utilizando células de carcinoma hepatocelular HuH-7 obtenidas de la Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank (N.º de Cat. JCRB0403) y cultivadas en el medio recomendado por el proveedor (DMEM alto en glucosa (Amimed N.º de Cat. 1-26F01-I), suero de ternera fetal al 10 % (Invitrogen N.º de Cat. 16140-071), Piruvato de sodio 1 mM (Amimed N.º de Cat. 5-60F00-H), 1x penicilina/estreptomycin (Amimed N.º de Cat. 4-01F00-H)) a 37 °C en una incubadora humidificada con el 5 % CO₂. La supresión mediada por compuestos de la proliferación/viabilidad celular se evalúa cuantificando los niveles de ATP celular usando el reactivo CellTiter-Glo (CTG) (Promega, N.º de Cat. G7573). Brevemente, las células se siembran a 3.000 células/pocillo/80 µl de medio fresco en placas de 96 pocillos tratadas con cultivo de tejidos (Costar N.º de Cat. 3904), seguido de la adición de 20 µl de diluciones de compuesto que

60

65

contienen medio a 5 veces su concentración final prevista. Los efectos de la respuesta a la dosis se evalúan mediante diluciones en serie de 3 veces del compuesto de ensayo, comenzando a 10 μ M. Después de la incubación de las células durante 3 días a 37 °C y el 5 % de CO₂, el efecto de los inhibidores sobre la viabilidad celular se cuantifica después de la adición de 50 μ l de CTG y la medición de luminiscencia (tiempo de integración: 500 ms) según el manual del proveedor, utilizando un lector de placas multimodo equipado correspondientemente (M200Pro, TECAN, Suiza). Para el análisis de datos, el valor de fondo del ensayo determinado en los pocillos que contienen medio, pero sin células, se resta de todos los puntos de datos. Para permitir la diferenciación de compuestos citotóxicos de compuestos citostáticos, el número de células viables se evalúa en relación con el observado en el momento de la adición del compuesto usando una placa celular separada (día 0). El efecto de una concentración de compuesto de prueba particular sobre la proliferación/viabilidad celular se expresa como porcentaje de la lectura de luminiscencia corregida en el fondo y el día 0 obtenida para células tratadas solo con vehículo (DMSO, f.c. al 0,1 %), que se establece como el 100 %, mientras que la lectura de luminiscencia para pocillos que contienen solo medio, pero sin células, se establece como -100 %. Las concentraciones de compuestos que llevan a la inhibición del crecimiento medio máximo (GI50) se determinan utilizando un ajuste de curva de cuatro parámetros estándar (XLfit 5.2., IDBS, Reino Unido).

Ejemplo	Bioquímico CI ₅₀ de FGFR4 (nM)	BaF ₃ celular CI ₅₀ de FGFR4 (nM)	proliferación de HUH7 (nM)	
			MBS	CTG
1	1,9	4,3	12	60,9

Datos comparativos

Los ensayos bioquímicos *in vitro* para FGFR1 (407-822), FGFR2 (406-821) y FGFR3 (411-806) se realizaron de una manera similar al ensayo bioquímico *in vitro* para FGFR4 descrito anteriormente, usando las porciones indicadas de los dominios de cinasa. El Ejemplo 1 produjo valores de CI₅₀ > 10000 nM en los ensayos bioquímicos de FGFR1, FGFR2 y FGFR3.

Ejemplo 3 - Medición de difracción láser de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida obtenida en el ejemplo 1.

La distribución del tamaño de partícula de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1) obtenida en el ejemplo 1 se analizó de acuerdo con el método de análisis del tamaño de partícula descrito en la Farmacopea Europea, capítulo 2.9.31, mediante difracción de luz láser.

Para la medición, se usó un dispositivo Sympatec HELOS con una longitud focal de 500 mm de Sympatec GmbH, Alemania, equipado con un dispositivo de dispersión en húmedo Cuvette de Sympatec GmbH, Alemania. La sustancia de ensayo se dispersó en alcohol blanco, Brenntag Schweizerhall AG, Suiza (número de catálogo 12200-150) usando un auxiliar de dispersión (por ejemplo, Statsafe™ 6000, INNOSPEC Limited, aprox. 1 % en el alcohol blanco).

Procedimiento: Se añadieron gotas del auxiliar de dispersión con un mezclador manual a la muestra de polvo de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1) obtenida en el ejemplo 1. Las partículas se mezclaron intensamente, por ejemplo, en un mezclador de vórtice, para humedecer la sustancia completamente y para formar una pasta lisa y homogénea. La pasta se diluyó con el alcohol blanco a un volumen final de varios milímetros y la dispersión madre se mezcló de nuevo.

Medición: La dispersión de ensayo se preparó diluyendo la dispersión madre con un alcohol blanco para una concentración óptica adecuada y la distribución de volumen acumulativa se determinó usando un instrumento de difracción de luz láser de acuerdo con el manual de instrucciones. Las mediciones se hicieron antes y después de 10 segundos, 20 segundos, 30 segundos de tratamiento de ultrasonidos. Los parámetros se ajustaron de la siguiente manera: amplitud del 30 % y tiempo de ciclo del 80 % en el dispositivo de ultra-tratamiento de ultrasonidos GM70 de Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, y una duración de medición de aproximadamente 20 segundos.

Los tamaños de partícula en los valores de tamaño inferior de 10 %, 50 % y 90 % (x10, x50, x90) se evaluaron a partir de la distribución del volumen acumulativo sin tratamiento de ultrasonidos. El tratamiento de ultrasonidos no tuvo ningún impacto significativo sobre los tamaños de partícula medidos.

La distribución del tamaño de partícula resultante se muestra en la Figura 6.

Ejemplo 4 - Medición de difracción láser de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida obtenidas en el ejemplo de referencia 1 (descrita en el documento PCT/IB2014/065585).

La distribución del tamaño de partícula de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-

oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de ácido cítrico (1:1) obtenidas en el ejemplo de referencia 1 se analizó de acuerdo con el método de análisis del tamaño de partícula descrito en la Farmacopea Europea, capítulo 2.9.31 por difracción de luz láser.

5 Para la medición, se usó un dispositivo Sympatec HELOS con una longitud focal de 100 mm de Sympatec GmbH, Alemania, equipado con un dispositivo de dispersión en húmedo Cuvette de Sympatec GmbH, Alemania. La sustancia de ensayo se dispersó en alcohol blanco, Brenntag Schweizerhall AG, Suiza (número de catálogo 12200-150) usando un auxiliar de dispersión (por ejemplo, Statsafe™ 6000, INNOSPEC Limited, aprox. 1 % en el alcohol blanco).

10 Procedimiento: Se añadieron gotas del auxiliar de dispersión con agitación manual a la muestra en polvo de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico (1:1) obtenida en el ejemplo 1. Las partículas se mezclaron intensamente, por ejemplo, en un mezclador de vórtice, para humedecer la sustancia completamente y para formar una pasta lisa y homogénea. La pasta se diluyó con el alcohol blanco a un volumen final de varios milímetros y la dispersión madre se
15 mezcló de nuevo.

Medición: La dispersión de ensayo se preparó diluyendo la dispersión madre con un alcohol blanco para una concentración óptica adecuada y la distribución de volumen acumulativa se determinó usando un instrumento de difracción de luz láser de acuerdo con el manual de instrucciones. Las mediciones se hicieron antes del tratamiento de ultrasonidos y después del tratamiento de ultrasonidos durante hasta 600 segundos. Los parámetros se ajustaron de la siguiente manera: 50 % de amplitud en el dispositivo de ultrasonidos USGD-100 de Telsonic AG, y una duración de la medición de aproximadamente 20 segundos. La medición se realizó dos veces.

20 Los tamaños de partícula en los valores de tamaño inferior de 10 %, 50 % y 90 % (x10, x50, x90) se evaluaron a partir de la distribución del volumen acumulativo después de un tratamiento de ultrasonidos de 240 segundos. Se determinó que esto era representativo de los tamaños de las partículas principales.

La distribución del tamaño de partícula resultante se muestra en la Figura 7.

30 **Ejemplo 5 - Mediciones de energía de flujo básico**

La energía de flujo básico (BFE) es la energía requerida para establecer un patrón de flujo particular en un volumen acondicionado y preciso de polvo. Este patrón de flujo es un movimiento antihorario descendente de la hoja, que genera un modo de flujo de carga de compresión relativamente alto en el polvo. La BFE se calcula a partir del trabajo
35 realizado en el movimiento de la hoja a través del polvo desde la parte superior del recipiente a la inferior, es decir, durante el recorrido descendente.

En el presente caso, la energía de flujo básico se mide usando un reómetro de polvo FT4 de Freeman Technology en las siguientes condiciones: tamaño del recipiente: 25 mm; Nombre de programa estándar: 25 mm_1C_Split_1T; Accesorio de partida: hoja de 23,5 mm; Recipiente: recipiente dividido de 25 mm x 25 ml. Los resultados se representaron en la Figura 9.

La energía de flujo básico medida para 2 muestras de partículas de la invención fue 39,17 mJ para partículas obtenidas por el proceso descrito en el ejemplo 1a; y 65,07 mJ para partículas obtenidas por el proceso descrito en el ejemplo
45 1.

La energía de flujo básico medido para las muestras de partículas obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 fue 185,20 mJ.

50 Estos resultados sugieren que las partículas de la invención tienen propiedades de flujo mejoradas sobre aquellas de las partículas obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585.

Ejemplo 6 - Mediciones de compresibilidad

55 La compresibilidad es una medida de cómo cambia la densidad en función de la carga normal aplicada. Por definición, la compresibilidad es el porcentaje de cambio en volumen después de la compresión (%). Las mediciones se hicieron usando un reómetro de polvo FT-4 de Freeman Technology. Se colocaron en un recipiente partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida obtenidas por los procesos de la presente invención y partículas obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 y se utilizó un pistón ventilado para comprimir las partículas. El pistón ventilado está
60 diseñado de manera que la cara de compresión esté construida a partir de una malla de acero inoxidable tejida y que permite que el aire arrastrado por el polvo escape de manera uniforme a través de la superficie del lecho de polvo. Una carga normal se aplica en 8 etapas de compresión secuenciales, partiendo a 0,5 kPa y terminando a 15 kPa. En cada etapa, la carga normal se mantuvo constante durante 60 segundos y la compresibilidad se calculó automáticamente como un porcentaje de cambio de volumen. Los resultados se representaron en la Figura 10. El
65 porcentaje de compresibilidad medido a 15 kPa fue del 54,14 % y del 54,63 % para partículas de la presente invención.

Para las partículas obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585, el porcentaje de compresibilidad medido a 15 kPa fue del 49,93 %.

- 5 Estos resultados sugieren que las partículas de la invención son más compresibles en comparación con las obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585, lo que ofrecería la ventaja de podría conseguirse una carga de fármaco mayor en el producto farmacéutico final usando las partículas de la invención.

Ejemplo 7 - Mediciones de ángulo de fricción de pared

- 10 El método de ensayo de fricción de pared se ha desarrollado para evaluar la interacción entre la sustancia farmacológica y el acero inoxidable. El aparato utilizado es un reómetro de polvo FT-4 de Freeman Technology.

- 15 Se colocaron partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida obtenidas por el proceso de la presente invención y partículas obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585 en un recipiente que contenía la muestra y un cabezal de fricción de pared para inducir tensiones tanto verticales como rotacionales. La muestra de polvo se preparó mediante el acondicionado y después preconsolidado usando la hoja FT4 convencional y un pistón ventilado.

- 20 El cabezal de fricción de pared equipado con una rugosidad promedio de 1,2 micrómetros de discos de acero inoxidable 316 se mueve hacia abajo hasta la superficie de la muestra e induce una carga normal según el disco entra en contacto con la parte superior de la muestra. El cabezal continúa moviéndose hacia abajo hasta que se establece la carga normal requerida. Entonces, comienza la rotación lenta del cabezal de fricción de pared, induciendo un esfuerzo de cizalladura. Se establece un plano de cizalladura entre el disco y las superficies de la muestra. Según el lecho de polvo resiste la rotación del cabezal de fricción de pared, aumenta el par hasta que finalmente se supera la resistencia. En este punto, se observa un par máximo. El cabezal de fricción de pared continúa rotando a 18 grados/min durante 5 minutos. Se mide el par requerido para mantener rotación, lo que hace posible calcular un esfuerzo de cizalladura de "estado estable". La carga normal se mantiene constante en la carga diana aplicada para cada etapa a lo largo de esa etapa. Se mide una serie de valores de esfuerzo de cizalladura para un intervalo de cargas aplicadas diana. Debido a la naturaleza de las muestras y al hecho de que es poco probable que se consiga un par de rotación constante exacto, el software determina un valor promedio durante el 10 % del tiempo de cizalladura. Después, se calcula el ángulo de fricción de pared dibujando una línea que se ajusta mejor a los puntos de datos en la gráfica y midiendo el ángulo delimitado entre esta línea de mejor ajuste y la horizontal. Los resultados se representaron en la Figura 11.

- 35 El ángulo de fricción de pared medido fue 34,58° y 35,85° para partículas de la presente invención. Para las partículas obtenidas por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585, el ángulo de fricción de pared fue 43,18°.

- 40 Estos resultados sugieren que las partículas de la invención muestran un comportamiento menos pegajoso a superficies metálicas y por tanto tienen una procesabilidad mejorada en comparación con los obtenidos por el proceso descrito en el documento PCT/IB2014/065585.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que comprende las etapas de:
 - a. Disolver N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en ácido propiónico;
 - b. Añadir ácido cítrico a la solución obtenida en la etapa a) para obtener una suspensión que comprende N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico; y
 - c. Aislar las partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico de la suspensión obtenida en la etapa b.
2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende después de la etapa b), una etapa de siembra de la solución obtenida en la etapa b) con partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico para obtener una suspensión que comprende N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico.
3. Un procedimiento acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el ácido cítrico añadido en la etapa b) se añade en alícuotas.
4. Un procedimiento acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el ácido cítrico añadido en la etapa b) se añade como una solución y/o en forma sólida.
5. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el ácido cítrico se añade en forma de una solución de ácido cítrico en un disolvente seleccionado entre heptano, metil *tert*-butil éter, *n*-hexano, acetato de etilo, acetato de *n*-propilo, acetona, acetonitrilo, tolueno, agua o mezclas de los mismos.
6. Partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño medio de partícula, medido por difracción de luz láser, de:
 - i) x50 de entre 200 y 300 micrómetros, o
 - ii) x10 de entre 5 y 10 micrómetros, o
 - iii) x90 de entre 400 y 500 micrómetros.
7. Partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico que tienen un tamaño medio de partícula x50, medido por difracción de luz láser, de entre 10 y 20 micrómetros, en el que las partículas primarias son opcionalmente partículas primarias cristalinas que tienen una forma cristalina de columna.
8. Aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico, en el que las partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico están de acuerdo con la reivindicación 7.
9. Aglomerado que comprende partículas primarias de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico, teniendo el aglomerado un tamaño medio x50, medido por difracción de luz láser, de entre 300 y 400 micrómetros.
10. Uso de partículas de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7 en la fabricación de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico y opcionalmente uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
11. Una composición farmacéutica que comprende partículas de N-(5-ciano-4-((2-metoxietil)amino)piridin-2-il)-7-formil-6-((4-metil-2-oxopiperazin-1-il)metil)-3,4-dihidro-1,8-naftiridin-1(2H)-carboxamida en forma de sal de ácido cítrico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7 y opcionalmente uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
12. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11 para su uso como medicamento.
13. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento del cáncer, en

el que el cáncer es cáncer de hígado, cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de próstata, rabdomiosarcoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de colon.

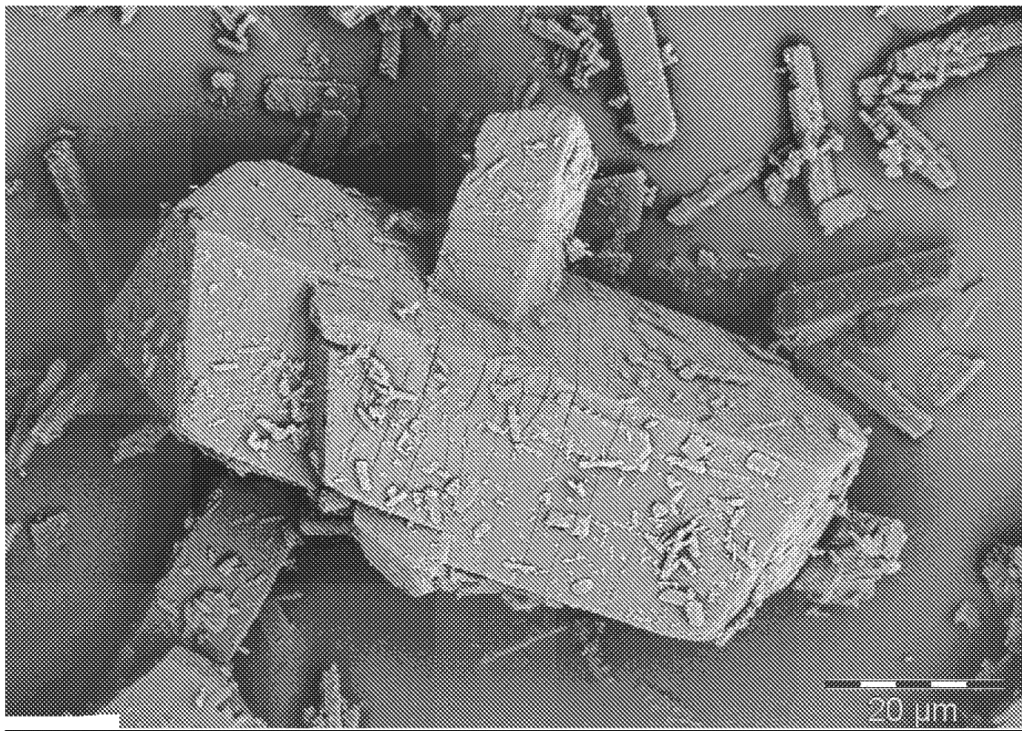


Figura 1

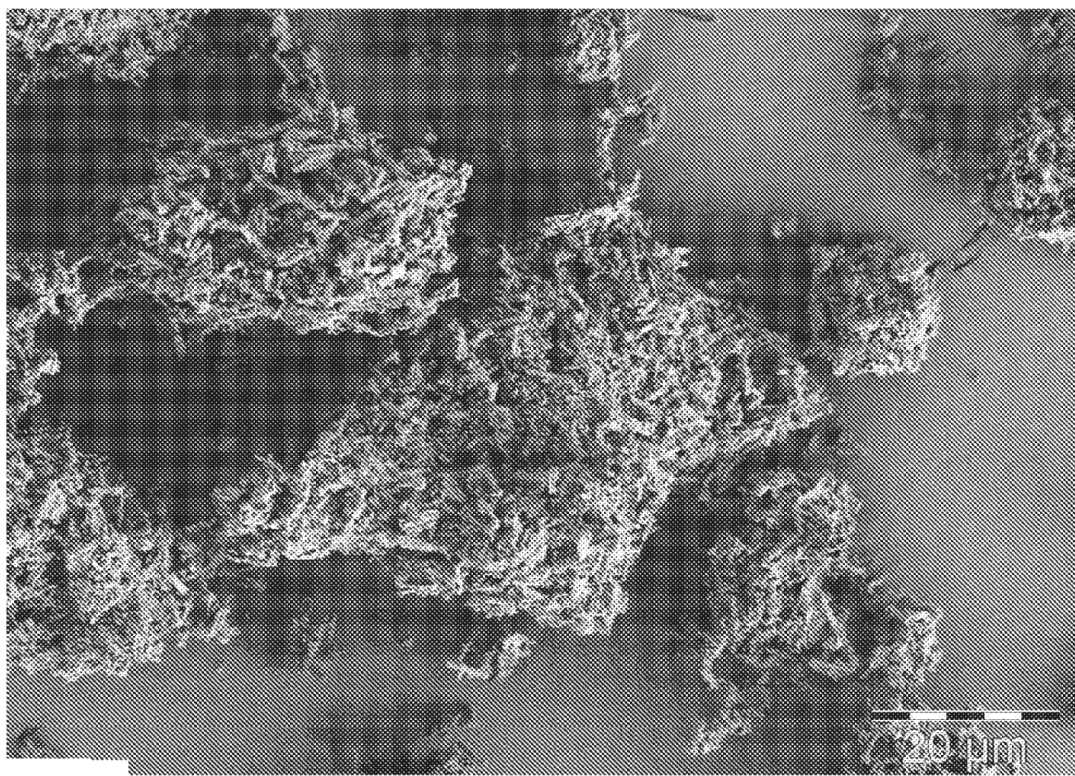


Figura 2

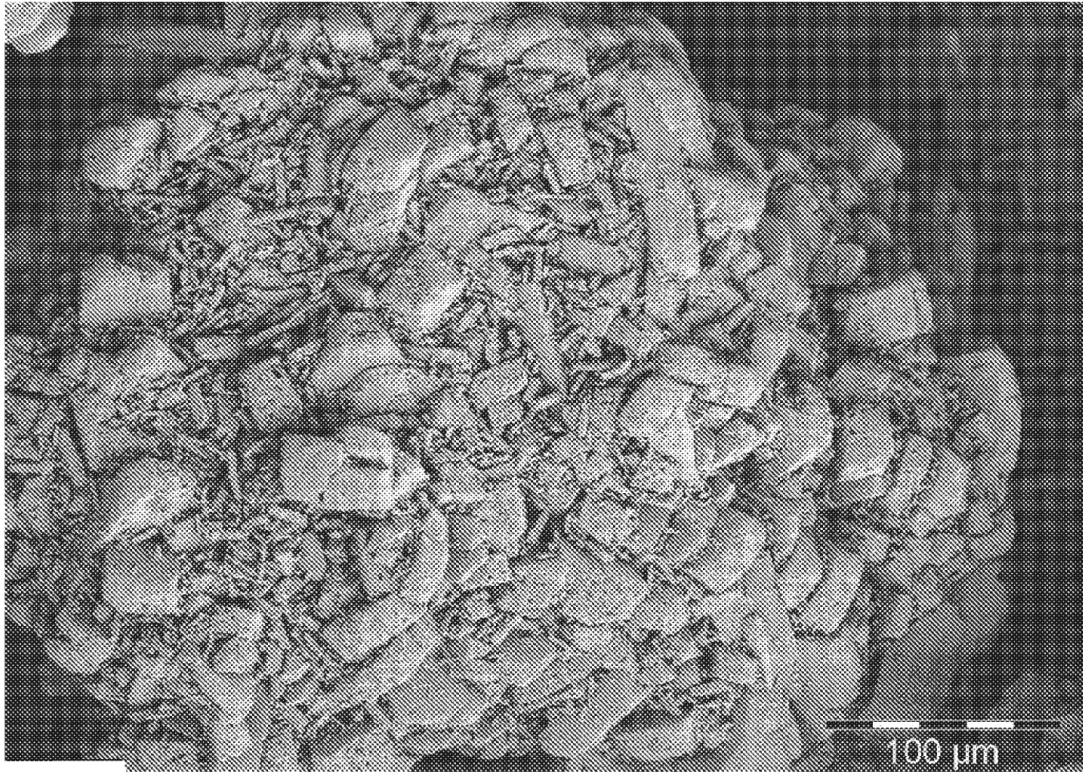


Figura 3

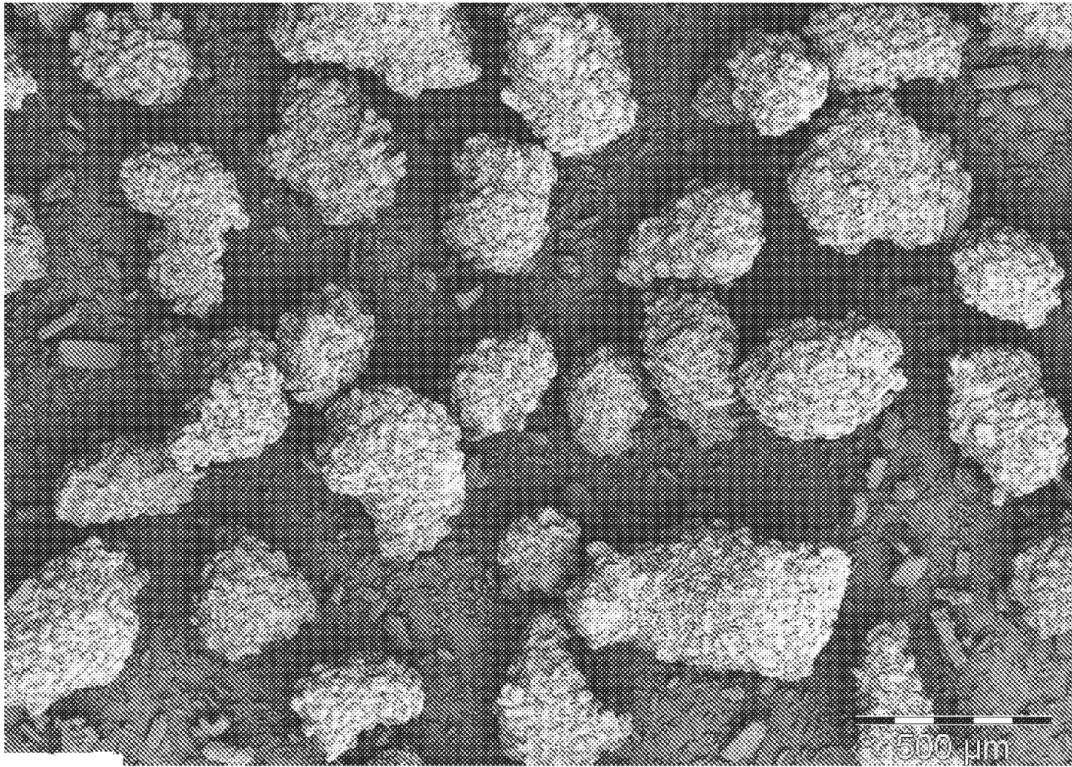


Figura 4

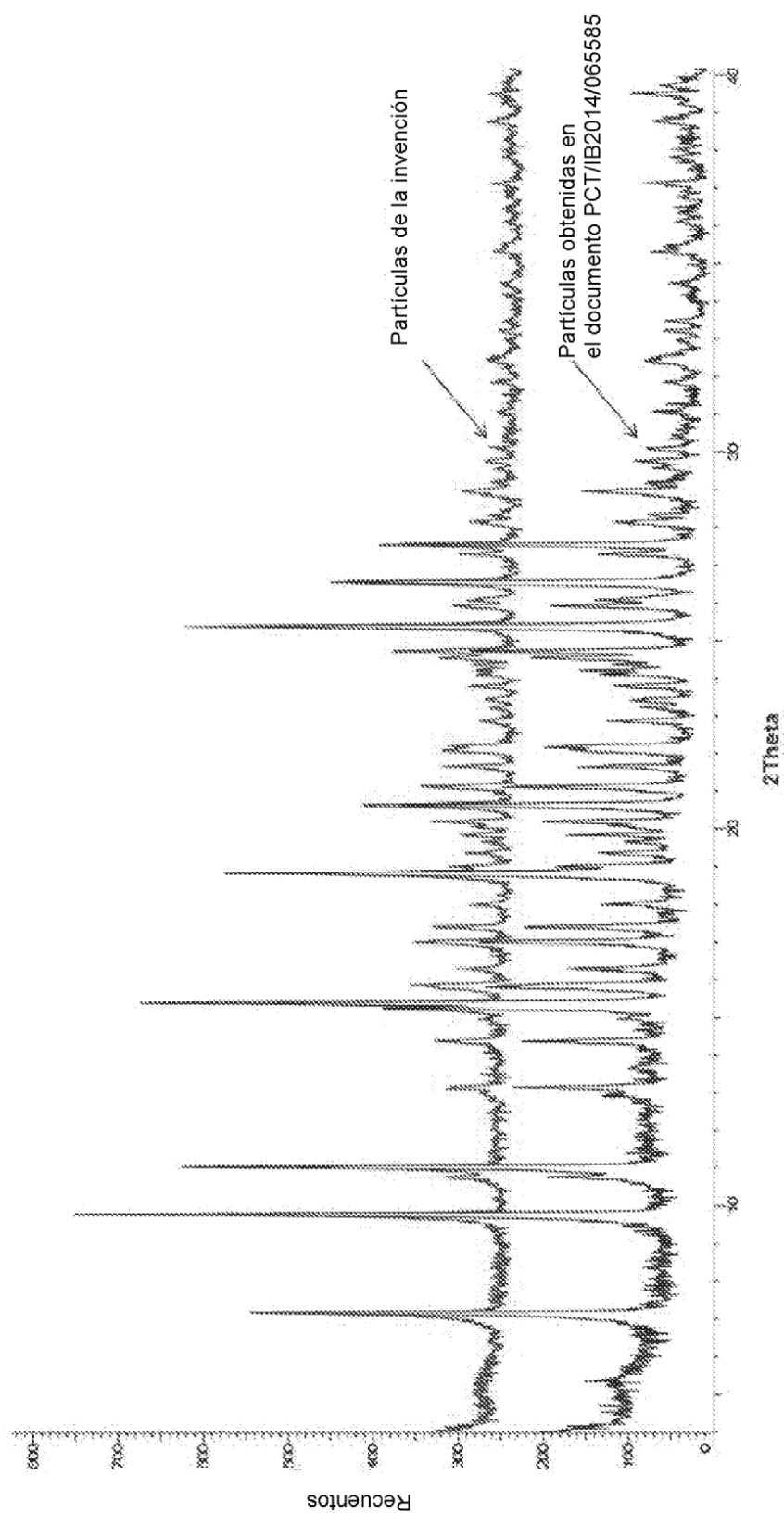


Figura 5

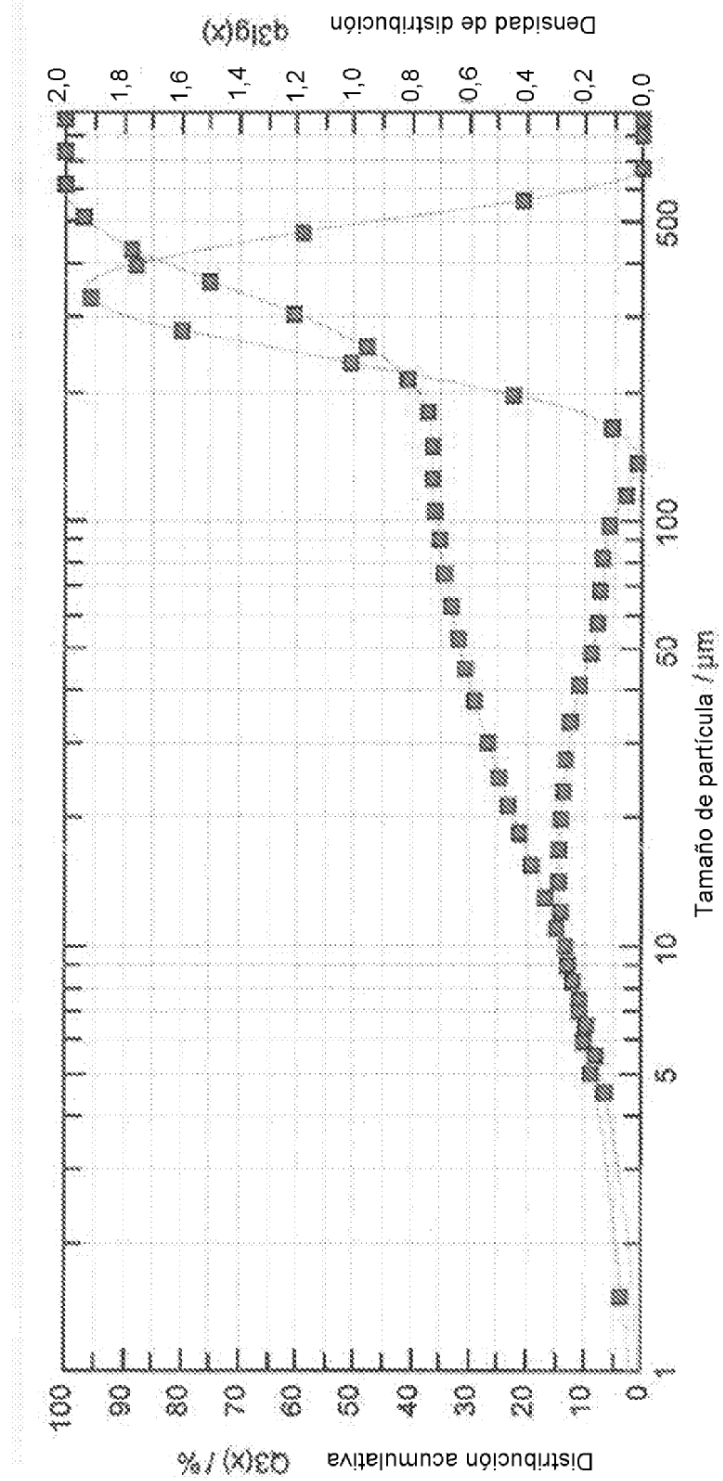


Figura 6 - Densidad de distribución

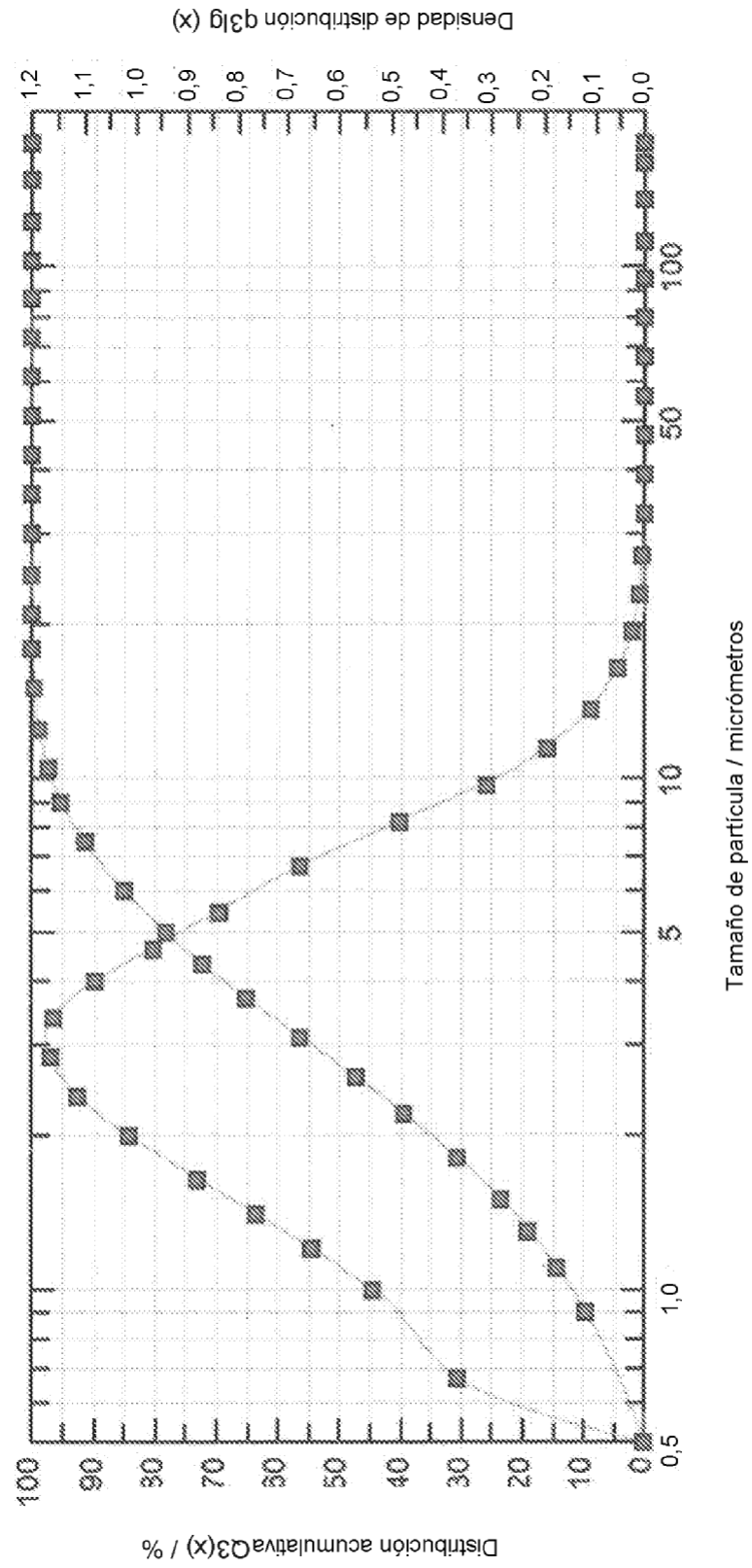


Figura 7 - Densidad de distribución

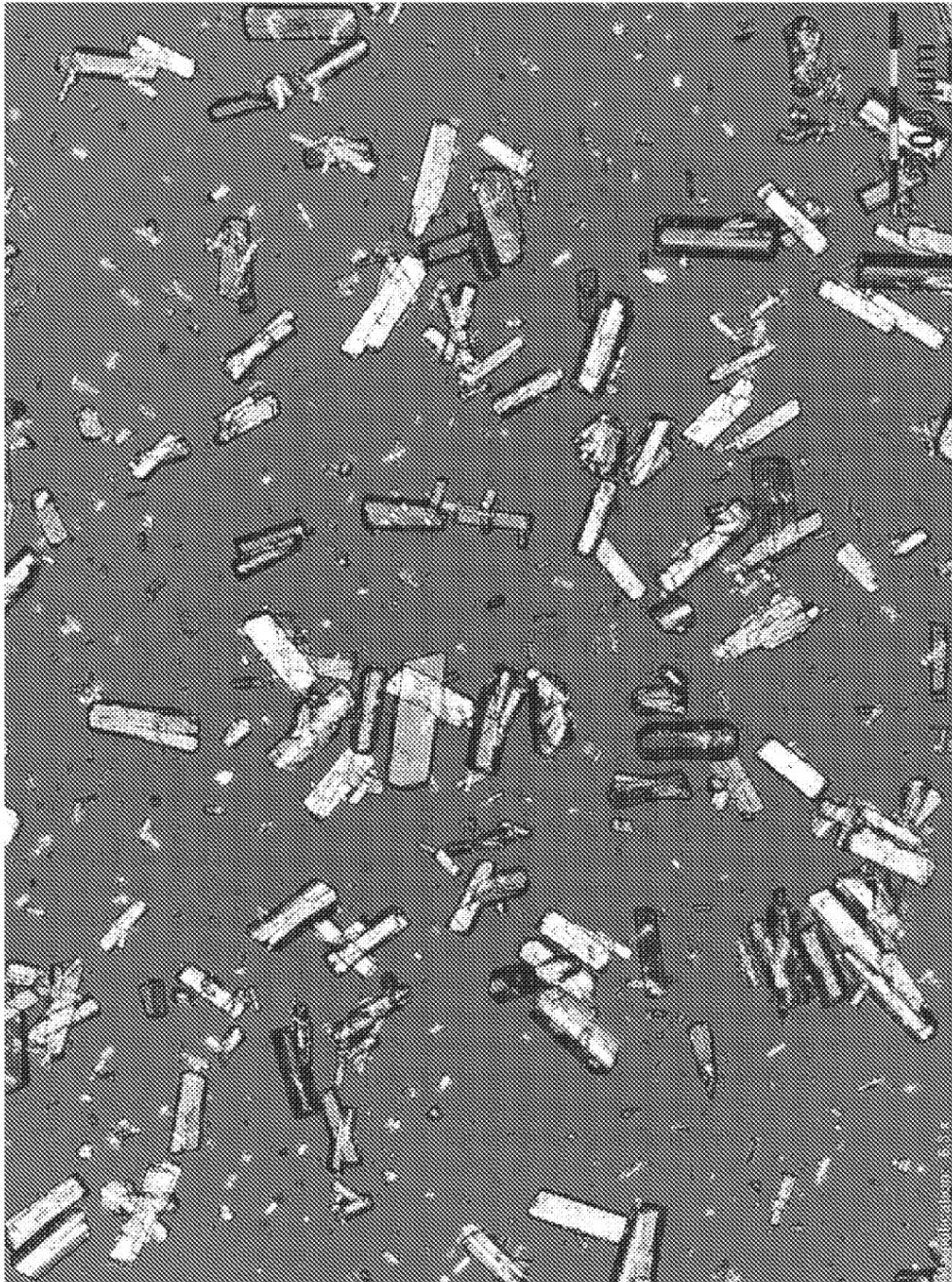


Figura 8

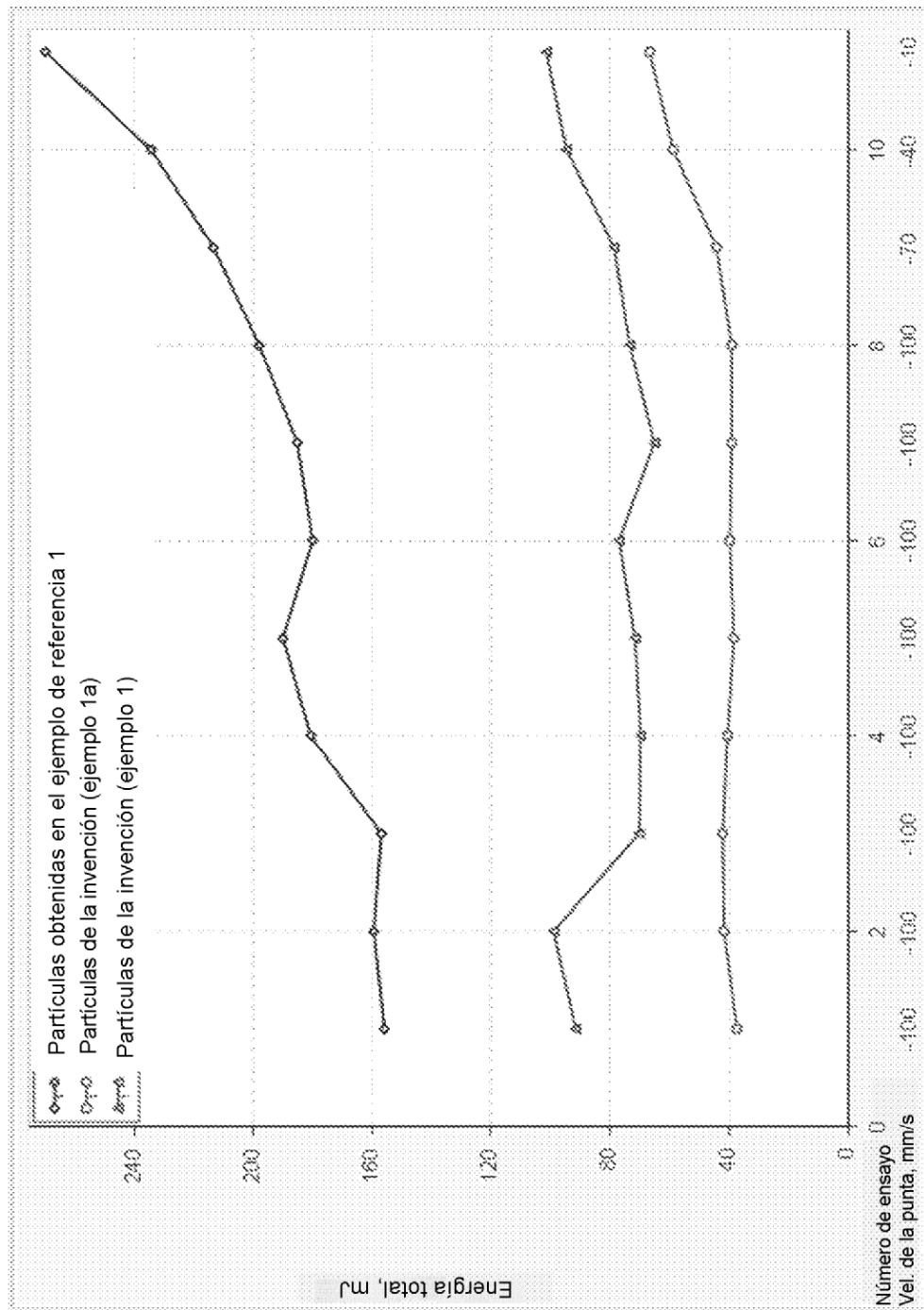


Figura 9

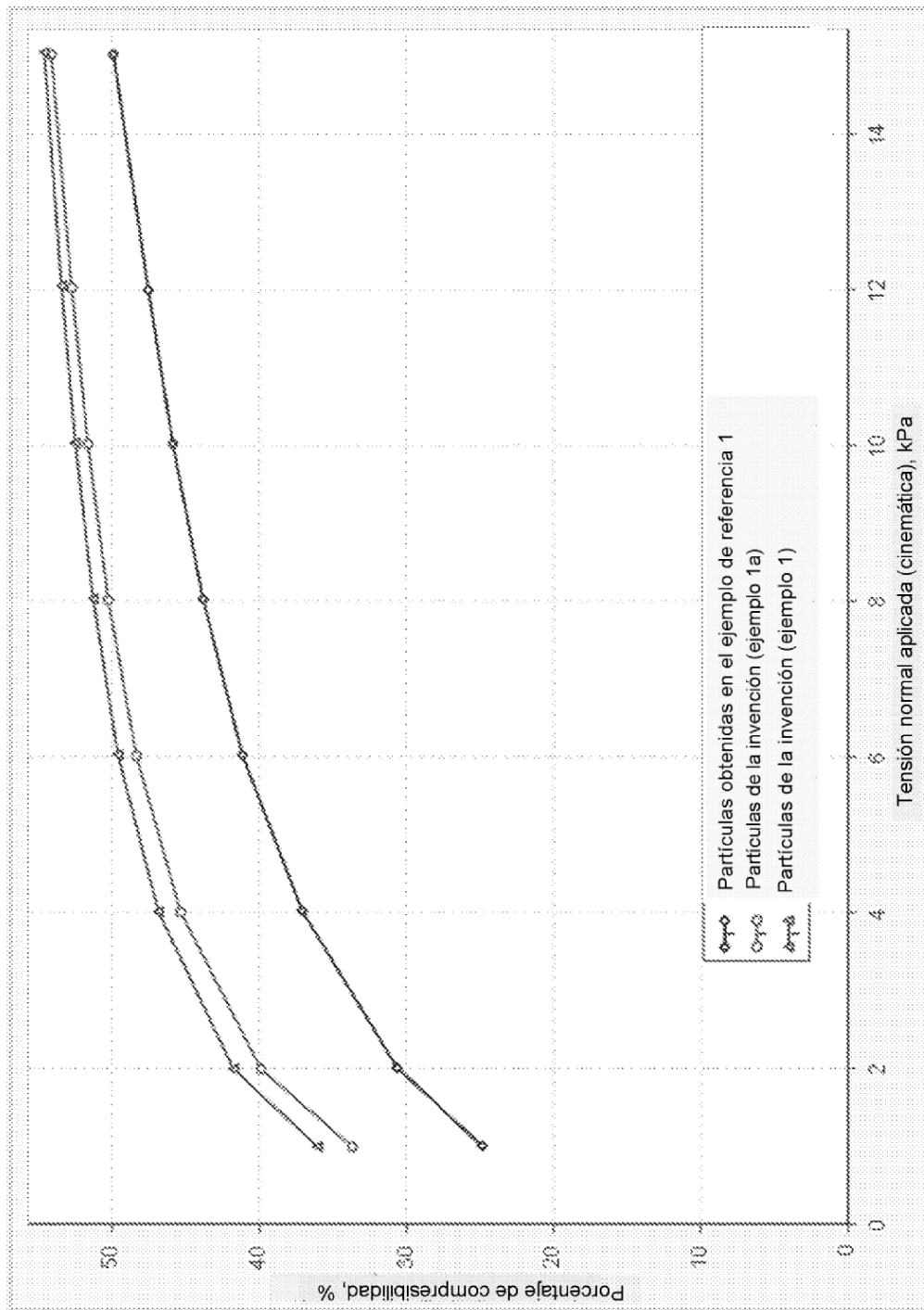


Figura 10

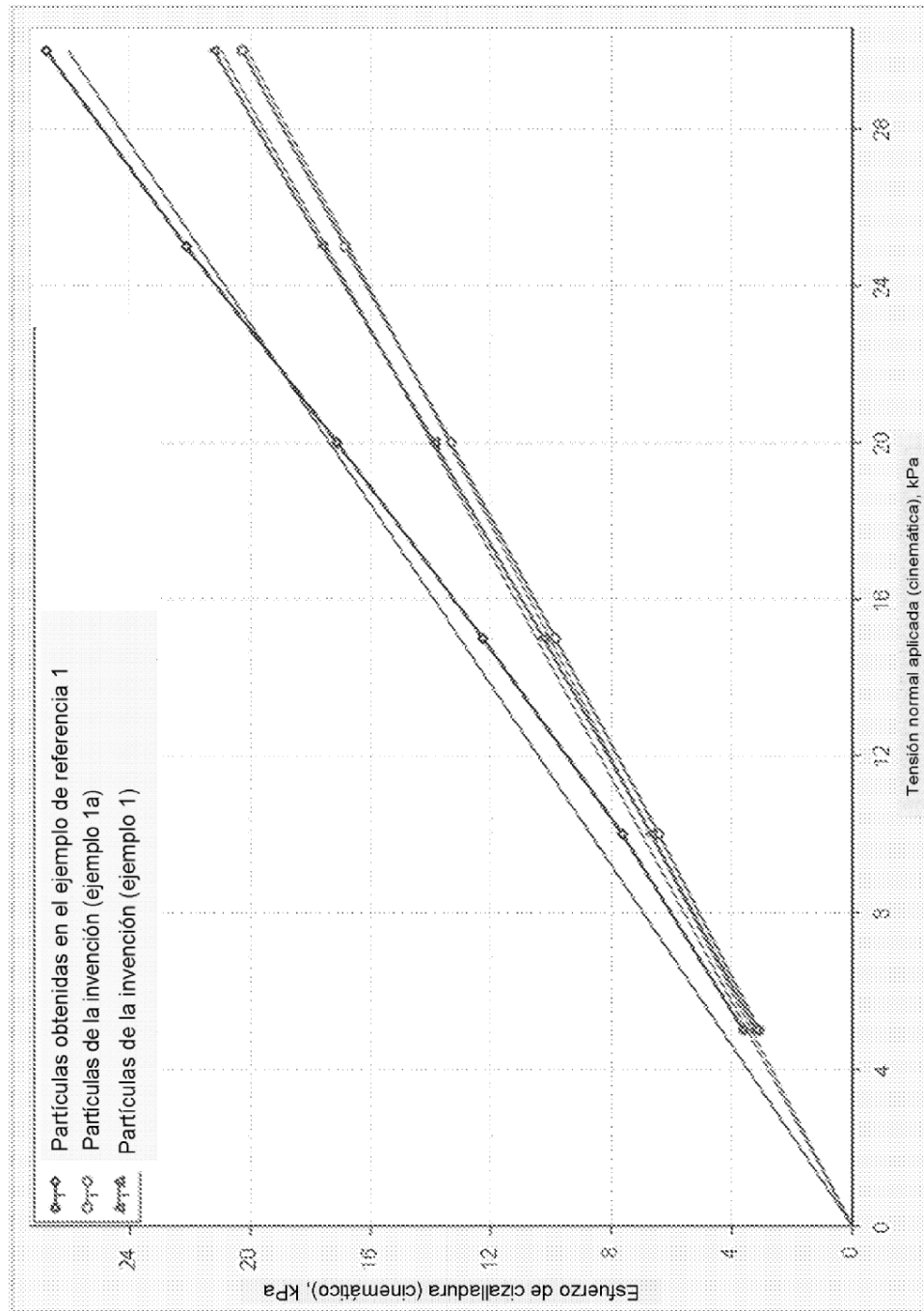


Figura 11