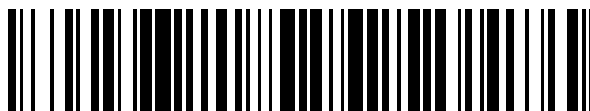


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 882 214**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/275 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.11.2017** **PCT/CN2017/112493**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2018** **WO18095345**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2017** **E 17873546 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.05.2021** **EP 3511333**

54 Título: **Forma cristalina y forma salina del compuesto 7h-pirrolo[2,3-d]pirimidina y procedimiento de preparación del mismo**

30 Prioridad:

23.11.2016 CN 201611046683

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2021

73 Titular/es:

WUXI FORTUNE PHARMACEUTICAL CO., LTD
(100.0%)
No.2 Rongyang 1st Road
Xishan Economic ZoneWuxi, Jiangsu 214191, CN

72 Inventor/es:

MAO, WEIWEI;
WU, HAO;
GUO, QIANG;
ZHENG, XUEJIAN y
LIAO, YONGGANG

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

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

ES 2 882 214 T3

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

DESCRIPCIÓN

Forma cristalina y forma salina del compuesto 7h-pirrolo[2,3-d]pirimidina y procedimiento de preparación del mismo

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a formas cristalinas y formas salinas de compuestos de 7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina y al procedimiento de preparación de los mismos, y también se refiere al uso de la forma cristalina y la forma salina en la fabricación de un medicamento para tratar la artritis.

Antecedentes de la invención

10 La JAK pertenece a la familia de las tirosina quinasas implicadas en la inflamación, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades proliferativas, el rechazo de trasplantes, las enfermedades relacionadas con el recambio del cartilago deteriorado, las malformaciones congénitas del cartilago y/o las enfermedades asociadas con la secreción excesiva de IL6. La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar el compuesto o una composición farmacéutica que comprende el compuesto, y un procedimiento para prevenir y/o tratar la inflamación, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades proliferativas, el rechazo de trasplantes, las enfermedades relacionadas con el recambio del cartilago deteriorado, las malformaciones congénitas del cartilago, y/o las enfermedades asociadas con la secreción excesiva de IL6 mediante la administración del compuesto de la presente invención.

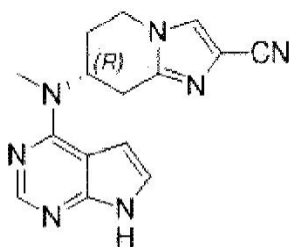
20 La Janus quinasa (JAK) es una tirosina quinasa citoplasmática que transduce una señal de citoquina desde un receptor de membrana a un factor de transcripción STAT. La técnica anterior ha descrito cuatro miembros de la familia JAK: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. Cuando las citoquinas se unen a sus receptores, los miembros de la familia JAK se autofosforilan y/o se transfosforilan entre sí, seguidos de la fosforilación de las STAT, y luego se trasladan al núcleo celular para regular la transcripción. La transducción de señales intracelulares JAK-STAT es adecuada para los interferones, la mayoría de las interleucinas, así como para diversas citoquinas y factores endocrinos, como EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF y PRL (Vainchenker W. et al. (2008)).

25 Un estudio combinatorio de un modelo genético y un inhibidor de JAK de molécula pequeña ha revelado el potencial terapéutico de varias JAK. Se ha confirmado mediante la genética de ratones y humanos que JAK3 es una diana inmunosupresora (O'Shea J. et al. (2004)). Se ha utilizado con éxito un inhibidor de JAK3 en el desarrollo clínico. Al principio, se utilizó en el rechazo de trasplantes de órganos, y más tarde también en otras indicaciones inmunoinflamatorias como la artritis reumatoide (AR), la psoriasis y la enfermedad de Crohn (<http://clinicaltrials.gov/>). Se ha confirmado mediante estudios de genética humana y de ratones knockout que TYK2 es una diana potencial para las enfermedades inmunoinflamatorias (Levy D. y Loomis C. (2007)). JAK1 es una nueva diana en el campo de las enfermedades inmunoinflamatorias. La heterodimerización de JAK1 y otras JAK despierta una transducción de la señalización proinflamatoria impulsada por las citoquinas. Por lo tanto, se espera que la inhibición de JAK1 y/u otras JAK tenga un beneficio terapéutico para una serie de enfermedades inflamatorias y otras enfermedades impulsadas por la transducción de señales mediada por JAK.

35 Documento WO 01/42246 divulga compuestos que muestran una actividad inhibitoria contra JAK3 y un procedimiento para medir la actividad inhibitoria contra JAK3. Sin embargo, no se divulga ninguna actividad inhibidora selectiva entre JAK1, JAK2 y JAK3.

Sumario de la invención

40 La presente invención proporciona una forma cristalina A del siguiente compuesto 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: 12,38±0,2°, 13,34±0,2° y 22,09±0,2°



Compuesto 1

45 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina A del compuesto 1 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: 12,38±0,2°, 13,34±0,2°, 15,85±0,2°, 22,09±0,2°, 23,71 ±0,2°, 25,38±0,2°, 26,21 ±0,2° y 26,81 ±0,2°.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X (XRPD) de la forma cristalina A del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 1.

En algunas realizaciones de la presente invención, los datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina A del compuesto 1 se muestran en la Tabla 1.

5 Tabla 1: Datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina A del compuesto 1

NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	12,383	7,142	77,4	13	29,056	3,0706	2,9
2	13,345	6,6293	68	14	29,352	3,0403	4,7
3	14,808	5,9773	2,3	15	31,968	2,7973	1,3
4	15,854	5,5852	61,2	16	33,094	2,7046	5,4
5	19,345	4,5846	10,3	17	33,473	2,6749	4,9
6	21,516	4,1267	10,9	18	34,598	2,5904	4,4
7	22,087	4,0212	100	19	36,412	2,4654	2,1
8	23,39	3,8	2,5	20	37,669	2,386	4,9
9	23,706	3,7501	62,4	21	38,008	2,3655	2,6
10	25,383	3,506	23,5	22	38,835	2,317	1,3
11	26,209	3,3974	29,7	23	39,015	2,3067	2,9
12	26,806	3,323	25,4				

En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la forma cristalina A del compuesto 1 tiene un pico endotérmico a $314,89^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

10 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón DSC de la forma cristalina A del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 2.

En algunas realizaciones de la presente invención, la pérdida de peso de la curva de análisis termo gravimétrico (TGA) de la forma cristalina A del compuesto 1 es de hasta $0,2516 \pm 0,2\%$ a $120,00 \pm 2^{\circ}\text{C}$

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón TGA de la forma cristalina A del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 3.

15 La presente invención proporciona además una forma cristalina B del compuesto 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $12,25 \pm 0,2^{\circ}$, $21,97 \pm 0,2^{\circ}$ y $23,62 \pm 0,2^{\circ}$.

20 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina B del compuesto 1 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $12,25 \pm 0,2^{\circ}$, $13,24 \pm 0,2^{\circ}$, $15,77 \pm 0,2^{\circ}$, $21,97 \pm 0,2^{\circ}$, $23,62 \pm 0,2^{\circ}$, $25,24 \pm 0,2^{\circ}$, $26,70 \pm 0,2^{\circ}$ y $37,51 \pm 0,2^{\circ}$.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón XRPD de la forma cristalina B del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 4.

En algunas realizaciones de la presente invención, los datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina B del compuesto 1 se muestran en la Tabla 2.

25 Tabla 2: Datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina B del compuesto 1

NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	10,798	8,1866	1,5	12	26,705	3,3353	8,4
2	12,254	7,2171	100	13	29,384	3,0371	0,8
3	13,245	6,6793	11,4	14	32,956	2,7156	3,6
4	14,445	6,1268	2,3	15	33,33	2,686	0,7
5	15,774	5,6133	4,4	16	34,531	2,5953	0,9
6	21,376	4,1533	4,2	17	35,205	2,5471	0,3
7	21,966	4,0431	15,7	18	37,511	2,3956	18
8	23,623	3,7631	19,8	19	37,606	2,3899	9
9	24,731	3,5969	1,4	20	37,865	2,3741	1,7
10	25,241	3,5254	4,1	21	38,904	2,3131	0,9
11	26,073	3,4148	0,8				

En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina B del compuesto 1 tiene un pico endotérmico a $322,33\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

- 5 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón DSC de la forma cristalina B del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 5.

En algunas realizaciones de la presente invención, la pérdida de peso de la curva de análisis termo gravimétrico de la forma cristalina B del compuesto 1 es de hasta $0,6939 \pm 0,2\%$ a $120 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón TGA de la forma cristalina B del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 6.

- 10 La presente invención proporciona además una forma cristalina C del compuesto 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $12,40 \pm 0,2^{\circ}$ y $37,65 \pm 0,2^{\circ}$.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina C del compuesto 1 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $12,40 \pm 0,2^{\circ}$, $13,37 \pm 0,2^{\circ}$, $21,51 \pm 0,2^{\circ}$, $22,14 \pm 0,2^{\circ}$, $24,87 \pm 0,2^{\circ}$, $25,40 \pm 0,2^{\circ}$ y $37,65 \pm 0,2^{\circ}$.

- 15 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón XRPD de la forma cristalina C del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 7.

En algunas realizaciones de la presente invención, los datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina C del compuesto 1 se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina C del compuesto 1

NO.	2θ ángulo (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	2θ ángulo (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	12,4	7,1325	100	5	24,871	3,5771	1,3
2	13,367	6,6183	1,3	6	25,398	3,504	1,8

NO.	2 θ ángulo (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	2 θ ángulo (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
3	21,509	4,1279	1	7	37,651	2,3871	16,8
4	22,139	4,0118	9	8	37,744	2,3814	8,5

En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina C del compuesto 1 tiene un pico endotérmico a $326,62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

5 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón DSC de la forma cristalina C del compuesto 2 es como se muestra en la Fig. 8.

En algunas realizaciones de la presente invención, la pérdida de peso de la curva de análisis termo gravimétrico de la forma cristalina C del compuesto 2 es de hasta $0,5564 \pm 0,2\%$ a $120 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón TGA de la forma cristalina C del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 9.

10 La presente invención proporciona además una forma cristalina D del compuesto 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,36 \pm 0,2^{\circ}$ y $37,62 \pm 0,2^{\circ}$.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina D del compuesto 1 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,36 \pm 0,2^{\circ}$, $24,84 \pm 0,2^{\circ}$ y $37,62 \pm 0,2^{\circ}$.

15 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón XRPD de la forma cristalina C del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 10.

En algunas realizaciones de la presente invención, los datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina C del compuesto 1 se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina D del compuesto 1

NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	12,365	7,1522	100	5	37,615	2,3893	14,1
2	21,512	4,1274	0,4	6	37,706	2,3837	6,9
3	22,089	4,0208	0,5	7	38,023	2,3646	0,9
4	24,836	3,582	1,2				

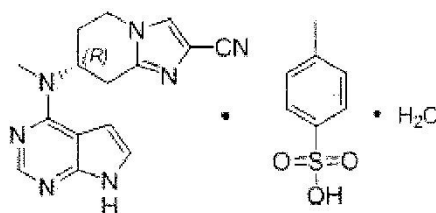
20 En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina D del compuesto 1 tiene un pico endotérmico a $326,13\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón DSC de la forma cristalina D del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 11.

25 En algunas realizaciones de la presente invención, la pérdida de peso de la curva de análisis termo gravimétrico de la forma cristalina D del compuesto 1 es de hasta $0,3076 \pm 0,3\%$ a $185,13 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón TGA de la forma cristalina D del compuesto 1 es como se muestra en la Fig. 12.

30 La presente invención proporciona además *p*-toluensulfonato del compuesto 1, que se muestra como el siguiente compuesto 2



Compuesto 2

La presente invención proporciona además una forma cristalina E del compuesto 2, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $6,21 \pm 0,2^\circ$, $10,92 \pm 0,2^\circ$ y $12,78 \pm 0,2^\circ$.

- 5 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina E del compuesto 2 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $6,21 \pm 0,2^\circ$, $10,92 \pm 0,2^\circ$, $12,34 \pm 0,2^\circ$, $12,78 \pm 0,2^\circ$, $15,16 \pm 0,2^\circ$, $20,23 \pm 0,2^\circ$, $22,77 \pm 0,2^\circ$ y $23,03 \pm 0,2^\circ$.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón XRPD de la forma cristalina E del compuesto 2 es como se muestra en la Fig. 13.

- 10 En algunas realizaciones de la presente invención, los datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina E del compuesto 2 se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina E del compuesto 2

NO.	ángulo 2θ ($^\circ$)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO	ángulo 2θ ($^\circ$)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	6,21	14,2216	71,7	21	22,774	3,9014	39,4
2	7,594	11,632	1,6	22	23,033	3,8581	38,5
3	10,919	8,0958	61,8	23	23,983	3,7075	3,4
4	12,343	7,1651	20,1	24	25,003	3,5585	3,3
5	12,776	6,9233	100	25	25,559	3,4822	3
6	14,882	5,9477	5,8	26	25,831	3,4463	8,9
7	15,16	5,8394	17,5	27	26,797	3,3241	9,4
8	15,656	5,6556	3,6	28	27,506	3,24	2,7
9	16,11	5,4972	15	29	27,718	3,2158	3,8
10	17,015	5,2067	1,7	30	28,216	3,1602	5,5
11	17,509	5,0609	9,2	31	29,068	3,0694	4,5
12	17,728	4,999	12,8	32	29,522	3,0232	12,8
13	18,18	4,8758	12,8	33	29,914	2,9845	23
14	18,513	4,7887	4,3	34	30,448	2,9333	5,3
15	20,231	4,3858	28	35	31,001	2,8823	8,5
16	20,447	4,3399	14,9	36	32,259	2,7727	2,7

NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
17	20,805	4,2661	2,5	37	32,951	2,716	2,1
18	21,081	4,2108	2,7	38	34,019	2,6332	3,3
19	21,825	4,0689	5,9	39	37,408	2,402	3,6
20	22,458	3,9557	3,9	40	37,901	2,3719	2,5

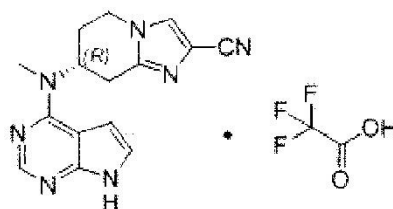
En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina E del compuesto 2 tiene puntos iniciales de picos endotérmicos a $90,87 \pm 2$ °C, $149,18 \pm 2$ °C y $207,91 \pm 2$ °C.

- 5 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón DSC de la forma cristalina E del compuesto 2 es como se muestra en la Fig. 14.

En algunas realizaciones de la presente invención, la pérdida de peso de la curva analítica termogravimétrica de la forma cristalina E del compuesto 2 alcanza hasta $3,723 \pm 0,5\%$ a $64,37 \pm$ °C

- 10 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón TGA de la forma cristalina E del compuesto 3 es como se muestra en la Fig. 15.

La presente invención proporciona además un *p*-trifluoroacetato del compuesto 1, que se muestra como el siguiente compuesto 3



Compuesto 3

- 15 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina F del compuesto 3 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $12,89 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$ y $24,70 \pm 0,2^\circ$.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina F del compuesto 3 tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ: $12,89 \pm 0,2^\circ$, $15,78 \pm 0,2^\circ$, $17,67 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$, $19,38 \pm 0,2^\circ$, $20,47 \pm 0,2^\circ$, $24,70 \pm 0,2^\circ$ y $25,66 \pm 0,2^\circ$.

- 20 Tabla 6: Datos analíticos del patrón XRPD de la forma cristalina F del compuesto 3

NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
1	8,541	10,3438	17,3	18	24,304	3,6592	3
2	10,182	8,6804	5,7	19	24,698	3,6017	100
3	12,279	7,2025	2,5	20	25,663	3,4685	27,8
4	12,452	7,1027	2,6	21	25,923	3,4343	8,5
5	12,887	6,864	53,4	22	26,57	3,352	3,2

NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)	NO.	ángulo 2θ (°)	Distancia interplanar (Å)	Intensidad relativa (%)
6	13,479	6,5637	6,2	23	27,128	3,2844	7,5
7	14,074	6,2875	12,5	24	27,678	3,2203	4,7
8	15,275	5,7957	37,5	25	27,996	3,1845	7,5
9	16,638	5,3237	15,7	26	28,334	3,1473	1,9
10	17,095	5,1825	13,3	27	28,671	3,111	3,8
11	17,668	5,0158	44,4	28	29,241	3,0517	4,1
12	18,415	4,814	31,5	29	30,264	2,9507	11
13	18,792	4,7181	44,9	30	30,82	2,8988	2,9
14	19,383	4,5756	26,4	31	34,255	2,6155	2,5
15	20,47	4,335	20,9	32	35,539	2,5239	2,1
16	21,141	4,1989	15,3	33	36,231	2,4773	2,7
17	23,135	3,8414	6,8	34	37,277	2,4102	2,3

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón XRPD de la forma cristalina F del compuesto 3 es como se muestra en la Fig. 16.

- 5 En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina F del compuesto 3 tiene un punto inicial de un pico endotérmico a 203,73 °C ± 2 °C

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón DSC de la forma cristalina F del compuesto 3 es como se muestra en la Fig. 17.

En algunas realizaciones de la presente invención, la pérdida de peso de la curva analítica termogravimétrica de la forma cristalina F del compuesto 3 alcanza hasta 0,9086 ± 0,2% a 138,71 ± 2. °C

- 10 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón TGA de la forma cristalina F del compuesto 3 es como se muestra en la Fig. 18.

Efecto técnico

- 15 Las formas cristalinas A, B, C y D del compuesto 1, la forma cristalina E del compuesto 2 y la forma cristalina F del compuesto 3 tienen propiedades estables, baja higroscopicidad, excelente solubilidad en agua y una prometedora forma farmacéutica.

Definición y descripción

- 20 A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos y frases utilizados en el presente documento tienen el siguiente significado. Una frase o término específico no debe considerarse indefinido o poco claro sin una definición especial, sino que debe entenderse en el sentido ordinario. Cuando un nombre comercial aparece en el presente documento, pretende referirse a su producto básico correspondiente o a su ingrediente activo.

- 25 Los compuestos intermedios de la presente invención pueden prepararse a través de una variedad de métodos sintéticos bien conocidos por los expertos en la materia, incluyendo las realizaciones particulares enumeradas a continuación, las realizaciones formadas mediante la combinación de las realizaciones anteriores con otros métodos de síntesis química, y los equivalentes bien conocidos por los expertos en la materia. Las realizaciones preferibles incluyen, pero no se limitan a, ejemplos de la presente invención.

Las reacciones químicas en las realizaciones de la presente invención se llevan a cabo en disolventes apropiados que deben ser adecuados para los cambios químicos de la presente invención y los reactivos y materiales requeridos por las reacciones. Para obtener los compuestos de la presente invención, a veces es necesario que los expertos en la materia modifiquen o seleccionen los pasos sintéticos o los esquemas de reacción basados en las realizaciones existentes.

La presente invención se describirá en detalle a través de los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar la presente invención de ninguna manera.

Todos los disolventes utilizados en la presente invención están disponibles en el mercado, y se utilizan directamente sin más purificación.

En la presente invención se utilizan las siguientes abreviaturas: DMF representa la dimetilformamida; MsOH representa el ácido metanosulfónico; EtOH representa el etanol; y NaOH representa el hidróxido de sodio.

Los compuestos se nombran manualmente o mediante el software ChemDraw®, y los compuestos disponibles comercialmente utilizan el nombre del catálogo del proveedor.

El procedimiento del difractómetro de rayos X en polvo (XRPD) de la presente invención

Modelo de instrumento: Difractómetro de rayos X Brooke D8 advance; y
Procedimiento de ensayo: unos 10-20 mg de una muestra para la detección de XRPD.

Los parámetros detallados para XRPD son los siguientes:

Tubo de luz: Cu, α , ($\lambda=1,54056\text{\AA}$);
Tensión del tubo de luz: 40 kV; Corriente de tubo de luz: 40 mA;
Ranura de divergencia: 0,60 mm;
Ranura del detector: 10,50 mm;
Ranura antidispersión: 7,10 mm;
Alcance del escaneo: 4-40 grados;
Diámetro de paso: 0,02 grados;
Tamaño de paso: 0,12 segundos; y
Velocidad de rotación del disco de muestra: 15 rpm.

El procedimiento del calorímetro de barrido diferencial (DSC) de la presente invención

Modelo de instrumento: Calorímetro diferencial de barrido TAQ2000; y
Procedimiento de ensayo: colocar una muestra (aproximadamente 1 mg) en un recipiente de aluminio DSC para el ensayo, y calentar la muestra de 25 °C a 350°C a una velocidad de 10 °C/min bajo la condición de 50 ml/min de N₂.

El procedimiento del analizador termo gravimétrico (TGA) de la presente invención

Modelo de instrumento: Analizador termo gravimétrico TAQ5000IR; y

Procedimiento de ensayo: colocar una muestra (2-5 mg) en un recipiente de platino para ensayos TGA, y calentar la muestra desde la temperatura ambiente hasta 350 °C (o hasta una pérdida de peso del 20%) a una velocidad de 10 °C/min bajo la condición de 25 ml/min de N₂.

Breve descripción de los dibujos

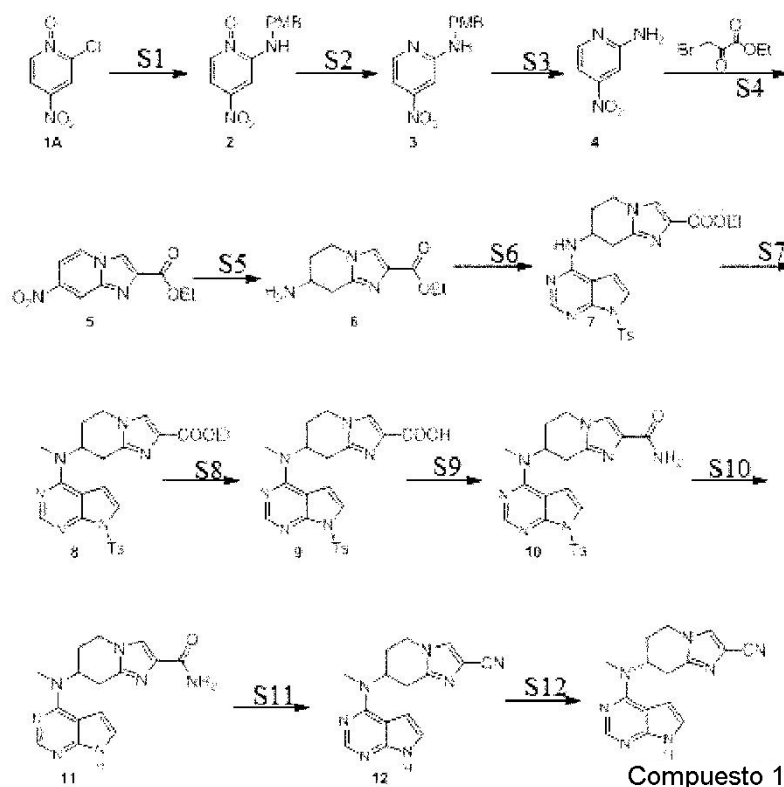
La Fig. 1 es un patrón XRPD de radiación Cu-ka de la forma cristalina A del compuesto 1;
La Fig. 2 es un patrón DSC de la forma cristalina A del compuesto 1;
La Fig. 3 es un patrón TGA de la forma cristalina A del compuesto 1;
La Fig. 4 es un patrón XRPD de radiación Cu-ka de la forma cristalina B del compuesto 1;
La Fig. 5 es un patrón DSC de la forma cristalina B del compuesto 1;
La Fig. 6 es un patrón TGA de la forma cristalina B del compuesto 1;
La Fig. 7 es un patrón XRPD de radiación Cu-ka de la forma cristalina C del compuesto 1;
La Fig. 8 es un patrón DSC de la forma cristalina C del compuesto 1;
La Fig. 9 es un patrón TGA de la forma cristalina C del compuesto 1;
La Fig. 10 es un patrón XRPD de radiación Cu-ka de la forma cristalina D del compuesto 1;
La Fig. 11 es un patrón DSC de la forma cristalina D del compuesto 1;
La Fig. 12 es un patrón TGA de la forma cristalina D del compuesto 1;
La Fig. 13 es un patrón XRPD de radiación Cu-ka de la forma cristalina E del compuesto 2;
La Fig. 14 es un patrón DSC de la forma cristalina E del compuesto 2;
La Fig. 15 es un patrón TGA de la forma cristalina E del compuesto 2;
La Fig. 16 es un patrón XRPD de radiación Cu-ka de la forma cristalina F del compuesto 3;

La Fig. 17 es un patrón DSC de la forma cristalina F del compuesto 3; y
La Fig. 18 es un patrón TGA de la forma cristalina F del compuesto 3.

Descripción detallada de las realizaciones

La presente invención se ilustra más adelante en combinación con los ejemplos específicos para comprender mejor el contenido de la presente invención, pero estos ejemplos específicos no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1: Preparación del compuesto 1



Compuesto 1

Paso 1: El 2-cloro-4-nitro-1-oxo-piridin-1-ío (40,0 g, 229,2 mmol) y la (4-metoxifenil)metilamina (63 g, 458,4 mmol) se disolvieron en EtOH (400 ml), y la solución resultante se agitó a reflujo durante 5 horas. TLC (PE: EA = 2:1) mostró que la reacción era completa. El EtOH se concentró hasta la mitad de su volumen y se enfrió en un baño de hielo durante 2-3 horas. La mezcla fría resultante se filtró y el sólido aislado se lavó con PE (60 ml*3) y agua helada (60 ml*3), respectivamente. El secado al vacío dio un sólido anaranjado, N-[(4-metoxifenil)metil]-4-nitro-1-oxo-piridina-1-ío-2-amina (2) (38,6 g, 140,2 mmol, con un rendimiento del 61,2%). MS (ESI) calcd. Para $C_{13}H_{13}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 275, encontrado 276.

Paso 2: a una solución de N-[(4-metoxifenil)metil]-4-nitro-1-oxo-piridina -1-ío-2-amina (5,0 g, 18,16 mmol) en $CHCl_3$ (50 ml) se añadió gota a gota PCl_3 (8,4 g, 60,8 mmol) a 0 °C. Tras la adición, la mezcla de reacción se calentó a 25 °C y se agitó enérgicamente durante 16 horas. TLC (PE: EA = 1: 1) mostró que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se filtró y el sólido resultante se lavó con PE (30ml*3) para dar un compuesto sólido de color amarillo, N-[(4-metoxifenil)metil]-4-nitro-piridina-2-amina (3) (4,2 g, un producto bruto) que se utilizó directamente en el siguiente paso sin más purificación. MS (ESI) calcd. Para $C_{15}H_{18}N_6$ $[M+H]^+$ 259, encontrado 260.

Paso 3: a una solución de N-[(4-metoxifenil)metil]-4-nitropiridina-2-amina (4,2 g, 16,2 mmol) en tolueno (10 ml) se añadió gota a gota TFA (5,0 ml) a temperatura atmosférica. Luego, la mezcla se agitó a 80 °C durante 2 horas. TLC (PE: EA = 1: 1) mostró que la reacción estaba completa. La mezcla se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se diluyó con H_2O (50 ml), y su pH se ajustó hasta ser neutro con $NaHCO_3$ sólido. La fase acuosa se extrajo con EA (50 ml*3). La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna (sílice, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/0 - 1:1) para obtener un compuesto sólido de color naranja, la 4-nitropiridina-2-amina (4) (700 mg, 5,0 mmol, con un rendimiento del 31,1%). MS (ESI) calcd. Para $C_5H_5N_3O_2$ $[M+H]^+$ 139, encontrado 140.

Paso 4: a una solución de 4-nitropiridina-2-amina (200 mg, 1,4 mmol) en DME (5 ml) se añadió 3-bromo-2-oxopropanoato (280 mg, 1,4 mmol) a temperatura atmosférica. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 hora y luego se concentró a presión reducida para eliminar el disolvente. El residuo se disolvió con EtOH (10ml); y luego se

reflujo durante 3 horas. La TLC mostró que la reacción estaba completa. La solución de la reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se concentró a presión reducida. El residuo se basificó con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 (25 ml). La fase acuosa se extrajo con DCM (15 ml*3); y la fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna flash (EA: PE=10-60%) para obtener un compuesto sólido amarillo claro, 7-nitroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (5) (302 mg, con un rendimiento del 88,9%). MS (ESI) calcd. Para $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 235, encontrado 236.

Paso 5: una solución de 7-nitroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (150 mg, 637,8 mmol) en etanol (20 ml) se añadió HCl (7mg, 0,2mmol) y PtO_2 (15 mg, 0,6mmol) a temperatura atmosférica. El sistema de reacción se aspiró repetidamente y se llenó de N_2 durante tres veces, luego se llenó de H_2 (50 psi), y se agitó a 50 °C durante 16 horas. TLC (PE: EA = 1: 1) mostró que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se concentró hasta la mitad de su volumen y se filtró para obtener un compuesto sólido blanco, clorhidrato de 7-amino-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (6) (120 mg, un producto bruto). MS (ESI) calcd. Para $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 209, encontrado 210.

Paso 6: el clorhidrato de 7-amino-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (100 mg, 0,4 mmol) y 4-cloro-7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (137 mg, 0,4 mmol) se disolvieron en *n*-BuOH (5 ml), y se añadió DIEA (158 mg, 1,2 mmol) a la solución anterior. La mezcla resultante se agitó a reflujo durante 16 horas. La LC-MS mostró que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con H_2O (10 ml). La fase acuosa se extrajo con EA (20 ml*3); y la fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante TLC preparativa (PE:EA=0:1) para obtener un compuesto sólido de color amarillo claro, 7-[[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il] amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (7) (55 mg, 0,11 mmol, con un rendimiento del 28,1%). MS (ESI) calcd. Para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 480, encontrado 481.

Paso 7: a una solución de 7-[[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (3,0 g, 6,2 mmol) en THF (150 ml) se añadió NaH (499 mg, 12,5mmol) en porciones bajo atmósfera de N_2 a 0 °C. La mezcla se agitó a esa temperatura durante 1 hora y después se añadió gota a gota MeI (7,1 g, 50,2 mmol). Tras la adición, la mezcla se agitó a temperatura atmosférica durante 1 hora. La TLC mostró que la reacción estaba completa. La reacción se apagó mediante la adición de NH_4Cl saturado (10 ml), y luego se diluyó mediante la adición de agua helada (50 ml). La fase acuosa se extrajo con un disolvente mixto de DCM/MeOH (3:1, 50 ml*3). La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna flash (DCM: MeOH = 10:1) para obtener un sólido amarillo claro, el 7-[metil-[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il] amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (8) (1,5 g, con un rendimiento del 45%). MS (ESI) calcd. Para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 494, encontrado 495.

Paso 8: a una solución de 7-[metil-[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxilato de etilo (4,0 g, 8,1 mmol) en THF (40 ml) y H_2O (8ml) se añadió $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (509 mg, 12,1mmol), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 10 horas. La TLC mostró que los reactivos se consumieron por completo. El THF de la mezcla de reacción se eliminó a presión reducida; y el pH del residuo se ajustó a 2-3 con HCl 2M (4ml) para formar un sólido blanco. El sólido se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el ácido 7-[metil-[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxílico (9) como sólido blanco (3,6 g, con un rendimiento del 95,4%). MS (ESI) calcd.

Para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 466, encontrado 467.

Paso 9: a una solución de ácido 7-[metil-[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il] amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxílico (1,8 g, 3,9 mmol) en DMF (20 ml) se añadió CDI (751 mg, 4,6 mmol) a 0 °C. La solución de reacción se calentó a 25 °C y se agitó durante 2 horas, tras lo cual se añadió cloruro de amonio sólido (2,1 g, 38,6 mmol), y luego la reacción se mantuvo durante toda la noche a temperatura atmosférica. La LC-MS mostró que los reactivos se consumieron por completo. La mezcla de reacción se vertió en agua helada (50 ml), y se precipitó un sólido blanco. El sólido se filtró, se lavó con agua (20 ml) y se secó a presión reducida de forma rotatoria para obtener 7-[metil-[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il] amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxamida (10) como un sólido blanco (2,5 g, un producto bruto) que se utilizó directamente en el siguiente paso. MS (ESI) calcd. Para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 465, encontrado 466.

Paso 10: La 7-[metil-[7-(*p*-toluensulfonyl)pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxamida (2,5 g, 5,4 mmol) se disolvió en una mezcla de THF (20 ml), MeOH (10 ml) y H_2O (6 ml), y se añadió NaOH (429,6 mg, 10,7mmol). La mezcla se calentó a 60 °C y se agitó durante 30 minutos. La LC-MS mostró que los reactivos se consumieron por completo. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener 7-[metil-[heptahidropirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]piridin-2-carboxamida (11) como un sólido blanco (2,5 g, un producto bruto) que se utilizó directamente en el siguiente paso. MS (ESI) calcd. Para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 311, encontrado 312.

Paso 11: a una solución de 7-[metil-[heptahidropirrol[2,3-d]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-2-carboxamida (2,0 g, 6,4 mmol) y trietilamina (3,9 g, 38,5 mmol) en THF (20 ml) se añadió gota a gota TFAA (4,1 g, 19,3 mmol) a 0 °C. Tras la adición, la solución de reacción se agitó a temperatura atmosférica durante 30 minutos. La LC-MS mostró que los materiales de partida se consumieron por completo. La mezcla de reacción se vertió en agua helada (20 ml) y se extrajo con DCM/MeOH (5:1, 100 ml*2). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina saturada (20 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH = 40/1 a 20:1) para obtener 7-[metil-[7-hidropirrol[2,3-d]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-2-nitrilo (12,378 mg, con un rendimiento del 19,8%). MS (ESI) calcd. Para C₁₅H₁₅N₇ [M+H]⁺ 293, encontrado 294. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 11,44-11,71 (m, 1H), 7,99-8,17 (m, 2H), 7,11-7,20 (m, 1H), 6,63 (dd, J = 1,76, 3,26 Hz, 1H), 5,33 (s, br, 1H), 4,21-4,21-4,31 (m, 1H), 4,13 (dt, J = 4,14, 12,49 Hz, 1H), 3,27 (s, 3H), 2,91-3,11 (m, 2H), 2,31-2,44 (m, 1H), 2,07 (d, J=11,54 Hz, 1H).

Paso 12: el 7-[metil-[7-hidropirrol[2,3-d]pirimidin-4-il]amino]-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-2-nitrilo racémico (30 mg, 102,3 μmol) se separó mediante una columna quiral para obtener el compuesto 1 (10 mg, con un rendimiento del 32,8%).

Las condiciones de separación SFC (cromatografía de fluidos supercríticos):

Columna: Columna quiral AD (250mm * 30mm, 10μm);
 Fase móvil: A: CO₂ supercrítico, B: etanol (con 0,1% de isopropanol), A: B = 55:45;
 Caudal: 80 ml/min;
 Temperatura de la columna: 38 °C;
 Longitud de onda: 220 nm;
 Presión de inyección: 100 Bar;
 Temperatura de la boquilla: 60 °C;
 Temperatura de evaporación: 20 °C; y
 Temperatura de reacondicionamiento: 25 °C.

Compuesto 1: tiempo de retención 6,407 min; MS (ESI) calcd. Para C₁₅H₁₅N₇ [293, encontrado 294 M+H]⁺. La pureza es del 98,8%, el e.e. es del 98,9%; [α]_D²⁰ = +78,4 ° (c = 0,6, DMSO). **MS ESI** calcd. Para C₁₅H₁₅N₇ [M + H]⁺ 294, encontrado 294. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,02 - 2,15 (m, 1 H) 2,39 (qd, J=12,42, 5,90 Hz, 1 H) 2,92 - 3,12 (m, 2 H) 3,28 (s, 3 H) 4,05 - 4,36 (m, 2 H) 5,20 - 5,45 (m, 1 H) 6,64 (dd, J=3,39, 1,88 Hz, 1 H) 7,17 (dd, J=3,26, 2,51 Hz, 1 H) 8,02 - 8,17 (m, 2 H) 11,69 (br s, 1 H)

Ejemplo 2: Preparación de la forma cristalina F del compuesto 3 y de la forma cristalina A del compuesto 1

Se añadió 1 g del compuesto 1 a 5 ml de acetona y 0,5 ml de TFA, y se calentó a reflujo. Se añadieron 10 ml de MTBE. La mezcla se filtró para eliminar las sustancias insolubles. La solución resultante se dejó reposar durante 12 horas para que precipitara un sólido que se filtró. La torta de filtración se lavó con MTBE y se secó para obtener una sal de trifluoroacetato del compuesto 1, es decir, la forma cristalina F del compuesto 3. Después de disolver cada gramo del compuesto 3 añadiendo 10 ml de agua, 0,1 ml de TFA y 1 ml de MeOH, se ajustó el sistema para que fuera alcalino con una solución saturada de NaHCO₃. En este momento, se precipitó un sólido blanco que se filtró.

La torta de filtración se lavó con H₂O (5 ml*3) para eliminar las sales inorgánicas. El secado al vacío dio un sólido blanco libre, a saber, la forma cristalina A del compuesto 1.

Ejemplo 3: Preparación de la forma cristalina B del compuesto 1

Se añadieron unos 20 mg de la forma cristalina A del compuesto 1 a 20 ml de etanol, y la mezcla se disolvió con la ayuda de la sonicación, y luego se centrifugó. El sobrenadante resultante se volatilizó de forma natural en una campana de humos. La muestra sólida residual se secó en una estufa de vacío (30 °C) durante la noche para obtener la forma cristalina B del compuesto 1.

Ejemplo 4: Preparación de la forma cristalina C del compuesto 1

Se añadieron unos 20 mg de la forma cristalina A del compuesto 1 a 20 ml de tetrahidrofurano, y la mezcla se disolvió con la ayuda de la sonicación, y luego se centrifugó. El sobrenadante resultante se volatilizó de forma natural en una campana de humos. La muestra sólida residual se secó en una estufa de vacío (30 °C) durante la noche para obtener la forma cristalina C del compuesto 1.

Ejemplo 5: Preparación de la forma cristalina D del compuesto 1

Unos 25 mg de la forma cristalina A del compuesto 1 se añadieron gota a gota a 10 ml de una mezcla de disolvente de etanol-agua (3:1), y la mezcla se colocó en un agitador magnético y se calentó (50 °C) para su disolución, y se filtró rápidamente mientras se ho. El filtrado se enfrió en la nevera a 5 °C. La muestra sólida precipitada se secó en una estufa de vacío (30 °C) durante la noche para obtener la forma cristalina D del compuesto 1.

Ejemplo: 6: Preparación del compuesto 2

Se añadieron 60 mg del compuesto 1 a un vial de vidrio, seguido de 2 ml de DMSO. La mezcla se colocó en un agitador magnético y se calentó (50 °C) para su disolución, y a continuación el ácido *p*-toluensulfónico (la relación molar del compuesto 1 con el ácido *p*-toluensulfónico fue de 1: 1) se añadió lentamente. Se observó que todas las muestras estaban en estado de solución y no se generó ninguna precipitación. Después de calentar y agitar durante 1 hora, se detuvo el calentamiento; y la solución de la muestra se enfrió naturalmente mientras se continuaba agitando. Después de 3 horas, la muestra seguía en estado de solución y se añadió acetato de etilo. La solución se concentró por evaporación rotatoria y luego se liofilizó para obtener el compuesto 2.

Ejemplo 7: Preparación de la forma cristalina E del compuesto 2

Se añadieron unos 40 mg del compuesto original 2 a 0,4 ml de metanol para formar una suspensión. La muestra de la suspensión se agitó en un homogeneizador termostático (40 °C) durante 2 días (lejos de la luz). El sólido residual se centrifugó y se secó durante la noche en una estufa de vacío a 25 °C para obtener la forma cristalina E del compuesto 2.

Ejemplo experimental 1: Ensayos de solubilidad de la forma cristalina A del compuesto 1 en diferentes disolventes

Estos ensayos de solubilidad se llevaron a cabo mediante dilución manual por etapas y observación simultánea de la disolución a temperatura atmosférica. Se añadieron unos 2 mg de la forma cristalina A del compuesto 1 a viales que tenían una fase líquida diferente respectivamente, y luego se añadió repetidamente una pequeña cantidad de un disolvente orgánico o de una mezcla de disolventes (indicados en la Tabla 7). Se observó la disolución de la forma cristalina A del compuesto 1. Los resultados de los ensayos se muestran en la Tabla 7.

Tabla: 7: Solubilidad de la forma A en diferentes disolventes

NO.	Disolvente	Solubilidad (mg/ml)	Conclusión
1	Metanol	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
2	Etanol	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
3	Isopropanol	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
4	N -butanol	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
5	Acetonitrilo	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
6	Acetona	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
7	Metil etil cetona	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
8	Metil isobutil cetona	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
9	Acetato de etilo	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
10	Acetato de isopropilo	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
11	Metil tert-butil éter	<2	Ligeramente soluble/muy soluble
			ligeramente soluble
12	Tetrahidrofurano	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
13	2-metiltetrahidrofurano	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
14	Tolueno	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble

NO.	Disolvente	Solubilidad (mg/ml)	Conclusión
15	Heptano	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
16	Ciclohexano	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
17	1,4-dioxano	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
18	Agua	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
19	Metanol-agua (1:1)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
20	Metanol-agua (3:1)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
21	Etanol-agua (1:1)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
22	Etanol-agua (3:1)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
23	Acetonitrilo -agua (1:1)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
24	Acetona-agua (1:2)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble
25	Alcohol isopropílico-agua (1:1)	<2	Ligeramente soluble/muy poco soluble

Ejemplo experimental 2: Ensayos de estabilidad de la forma cristalina A del compuesto 1 en diferentes disolventes

Se añadieron 30 mg de la forma cristalina A del compuesto 1 a 0,2 ml de un disolvente simple o mixto en la tabla siguiente, respectivamente; y cada mezcla se agitó a 40 °C durante 2 días y se centrifugó. Los sólidos de todas las muestras se recogieron y se secaron durante la noche en una estufa de secado al vacío (25 °C). Las formas cristalinas de los sólidos se detectaron mediante XRPD y los resultados se muestran en la Tabla 8.

5

Tabla 8: Ensayos de estabilidad de la forma cristalina A del compuesto 1 en diferentes disolventes

NO.	Disolvente	Aspecto (2 días)	Resultados
1	Metanol	Suspensión	Forma de cristal A
2	Etanol	Suspensión	Forma de cristal A
3	Isopropanol	Suspensión	Forma de cristal A
4	Acetona	Suspensión	Forma de cristal A
5	Acetato de etilo	Suspensión	Forma de cristal A
6	Tetrahy drofuran	Suspensión	Forma de cristal A
7	Metanol-agua (3:1)	Suspensión	Forma de cristal A
8	Etanol-agua (3:1)	Suspensión	Forma de cristal A
9	Acetona-agua (1:2)	Suspensión	Forma de cristal A
10	Alcohol isopropílico-agua (1:1)	Suspensión	Forma de cristal A

Ejemplo experimental 3: Ensayos de estabilidad de los sólidos de la forma cristalina E del compuesto 2 a alta temperatura, alta humedad y luz intensa

Según las "Directrices para el ensayo de estabilidad de los API y los preparados" (Principios generales 9001 de las cuatro partes de la Farmacopea China, Edición 2015), se investigó la estabilidad de la forma cristalina E del compuesto 2 a alta temperatura (60 °C, abierta), alta humedad (temperatura ambiente/humedad relativa 92,5%, abierta) y fuerte radiación de luz (5000 lx, cerrada).

Se colocó una cantidad adecuada de la muestra de la forma cristalina E del compuesto 2 en el fondo de un vial de vidrio y se extendió en una capa fina. El vial en el que se colocaron las muestras a alta temperatura y alta humedad se selló con una lámina de aluminio, en la que se formaron pequeños agujeros para garantizar que las muestras estuvieran suficientemente en contacto con el aire atmosférico; y la muestra colocada a fuerte radiación de luz se selló con una tapa roscada. Las muestras colocadas en diferentes condiciones fueron muestreadas y examinadas por XRPD el día 5 y el día 10. Los resultados de los ensayos se compararon con los resultados iniciales del día 0. Los resultados de los ensayos se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Ensayos de estabilidad sólida de la forma cristalina E del compuesto 2

Condiciones del ensayo	Tiempo	Apariencia	XRPD
-	día 0	Polvo blanco	Forma cristalina E
Alta temperatura (60 °C, abierta)	día 5	Polvo blanco	Forma cristalina E
	día 10		Forma cristalina E
Humedad elevada (temperatura ambiente/humedad relativa 92,5%, abierta)	día 5	Polvo blanco	Forma cristalina E
	día 10		Forma cristalina E
Fuerte radiación de luz (5000 lx, cerca)	día 5	Polvo blanco	Forma cristalina E
	día 10		Forma cristalina E

Ensayos de actividad in vitro de las quinasas Jak 1, Jak 2 y Jak3

Materiales experimentales

Las proteasas humanas recombinantes JAK1, JAK2 y JAK3 se adquirieron de Life technology. El péptido LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) y el LANCE Eu-W1024 Anti-fosfotirosina (PT66) se adquirieron en PerkinElmer. Las placas se leyeron con un lector enzimático múltiple Envision (PerkinElmer).

Procedimiento experimental

Los compuestos de ensayo se sometieron a una dilución de gradiente de concentración triple para obtener 11 concentraciones finales que iban de 10 µM a 0,17 nM; se formaron dos pozos para cada concentración; y el contenido de DMSO en la reacción de detección fue del 1%.

Reacción de la enzima JAK1:

Se incluyeron 2 nM de proteína quinasas JAK1, 50 nM de péptido LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023), 38 µM de ATP, 50 mM de HEPES (pH 7,5), 10 mM de MgCl₂, 1 mM de EGTA, 2 mM de DTT y 0,01% de BRIJ-35. La placa de ensayo era una placa Proxiplate 384-Plus blanca (PerkinElmer). La reacción se realizó a temperatura ambiente durante 90 minutos; y el sistema de reacción fue de 10 µl.

Reacción de la enzima JAK2:

Se incluyeron 0,02 nM de proteína quinasa JAK2, 50 nM de péptido LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023), 12 uM de ATP, 50 mM de HEPES (pH 7,5), 10 mM de MgCl₂, 1 mM de EGTA, 2 mM de DTT y 0,01% de BRIJ-35. La placa de ensayo era una placa Proxiplate 384-Plus blanca (PerkinElmer). La reacción se realizó a temperatura ambiente durante 60 minutos; y el sistema de reacción fue de 10 ul.

5 **Reacción de la enzima JAK3:**

Se incluyeron 0,05 nM de proteína quinasa JAK2, 50 nM de péptido LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023), 4 uM de ATP, 50 mM de HEPES (pH 7,5), 10 mM de MgCl₂, 1 mM de EGTA, 2 mM de DTT y 0,01% de BRIJ-35. La placa de ensayo era una placa Proxiplate 384-Plus blanca (PerkinElmer). La reacción se realizó a temperatura ambiente durante 90 minutos; y el sistema de reacción fue de 10 ul.

10 **Detección de la reacción:**

Se añadieron 10 ul del reactivo de detección a una placa de reacción, donde la concentración final de LANCE Eu-W1024 Anti-fosfotirosina (PT66) era de 2 nM, y la concentración final de EDTA era de 10 mM. Los reactivos se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente y la placa se leyó con el instrumento Envision.

Análisis de datos

- 15 La lectura se convirtió en una tasa de inhibición mediante la siguiente fórmula: (%) = (Relación mínima)/(Máxima-Mínima)*100%. Los datos de IC₅₀ se midieron mediante el ajuste de curvas de 4 parámetros (Modelo 205 en XLFIT5, iDBS). Véase la Tabla 9 para más detalles.

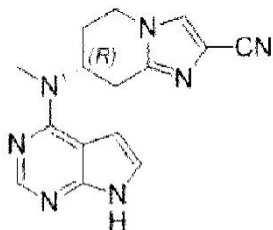
Cuadro 9

Compuesto	JAK1	JAK2
Compuesto 1	A	B
A≤10nM; 10 < B≤100 nM.		

- 20 El compuesto 1 tenía una fuerte actividad inhibitoria contra JAK1 y una actividad inhibitoria relativamente débil contra JAK2, lo que mostraba que el compuesto 1 tenía una mejor inhibición selectiva para JAK

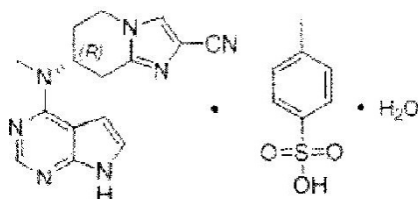
REIVINDICACIONES

1. Forma cristalina A del siguiente compuesto 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,38 \pm 0,2^\circ$, $13,34 \pm 0,2^\circ$ y $22,09 \pm 0,2^\circ$,



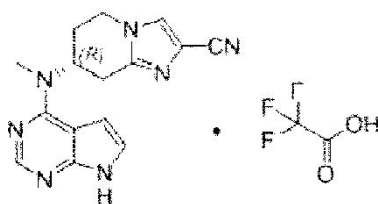
Compuesto 1

2. La forma cristalina A de la reivindicación 1, en la que el patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,38 \pm 0,2^\circ$, $13,34 \pm 0,2^\circ$, $15,85 \pm 0,2^\circ$, $22,09 \pm 0,2^\circ$, $23,71 \pm 0,2^\circ$, $25,38 \pm 0,2^\circ$, $26,21 \pm 0,2^\circ$ y $26,81 \pm 0,2^\circ$.
3. Forma cristalina B del compuesto 1 que tiene una fórmula como la mostrada en la reivindicación 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,25 \pm 0,2^\circ$, $21,97 \pm 0,2^\circ$ y $23,62 \pm 0,2^\circ$.
4. La forma cristalina B de la reivindicación 3, en la que el patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,25 \pm 0,2^\circ$, $13,24 \pm 0,2^\circ$, $15,77 \pm 0,2^\circ$, $21,97 \pm 0,2^\circ$, $23,62 \pm 0,2^\circ$, $25,24 \pm 0,2^\circ$, $26,70 \pm 0,2^\circ$ y $37,51 \pm 0,2^\circ$.
5. Forma cristalina C del compuesto 1 que tiene una fórmula como la mostrada en la reivindicación 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,40 \pm 0,2^\circ$ y $37,65 \pm 0,2^\circ$.
6. La forma cristalina C de la reivindicación 5, en la que el patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,40 \pm 0,2^\circ$, $13,37 \pm 0,2^\circ$, $21,51 \pm 0,2^\circ$, $22,14 \pm 0,2^\circ$, $24,87 \pm 0,2^\circ$, $25,40 \pm 0,2^\circ$ y $37,65 \pm 0,2^\circ$.
7. Forma cristalina D del compuesto 1 que tiene una fórmula como la mostrada en la reivindicación 1, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,36 \pm 0,2^\circ$ y $37,62 \pm 0,2^\circ$.
8. La forma cristalina D de la reivindicación 7, en la que el patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,36 \pm 0,2^\circ$, $24,84 \pm 0,2^\circ$ y $37,62 \pm 0,2^\circ$.
9. Una sal de sulfonato de p-tolueno del compuesto 1 que tiene una fórmula como muéstrala mostrada en la reivindicación 1, que es como se muestra en el siguiente compuesto 2:



Compuesto 2

10. Forma cristalina E del compuesto 2 que tiene una fórmula como la mostrada en la reivindicación 9, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $6,21 \pm 0,2^\circ$, $10,92 \pm 0,2^\circ$ y $12,78 \pm 0,2^\circ$.
11. La forma cristalina E de la reivindicación 10, en la que el patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $6,21 \pm 0,2^\circ$, $10,92 \pm 0,2^\circ$, $12,34 \pm 0,2^\circ$, $12,78 \pm 0,2^\circ$, $15,16 \pm 0,2^\circ$, $20,23 \pm 0,2^\circ$, $22,77 \pm 0,2^\circ$ y $23,03 \pm 0,2^\circ$.
12. Una sal de p-trifluoroacetato del compuesto 1 que tiene una fórmula como muéstrala mostrada en la reivindicación 1, que es como se muestra en el siguiente compuesto 3



Compuesto 3

13. Forma cristalina F del compuesto 3 que tiene una fórmula como la mostrada en la reivindicación 12, cuyo patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,89 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$ y $24,70 \pm 0,2^\circ$.
- 5 14. La forma cristalina F de la reivindicación 13, en la que el patrón de difracción de rayos X en polvo tiene picos de difracción característicos en los siguientes ángulos 2θ : $12,89 \pm 0,2^\circ$, $15,78 \pm 0,2^\circ$, $17,67 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$, $19,38 \pm 0,2^\circ$, $20,47 \pm 0,2^\circ$, $24,70 \pm 0,2^\circ$ y $25,66 \pm 0,2^\circ$.

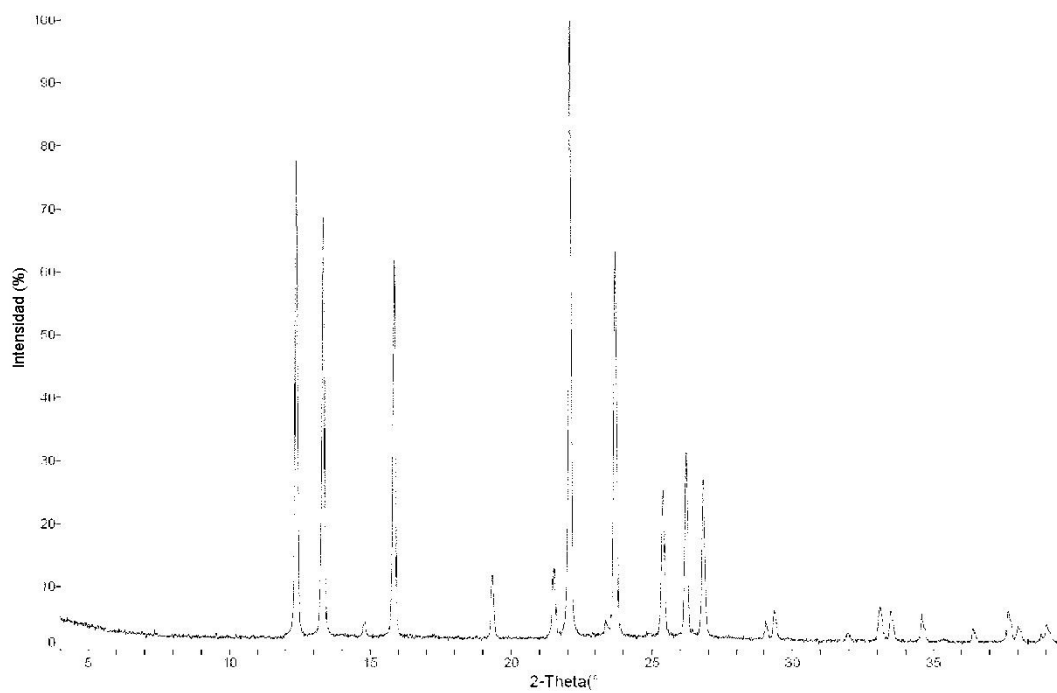


Fig. 1

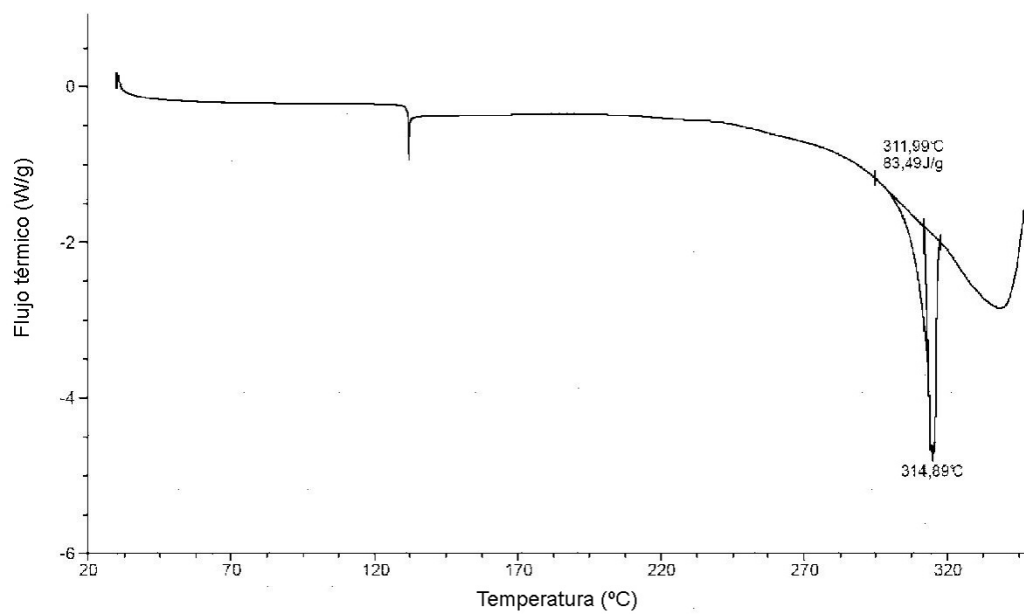


Fig. 2

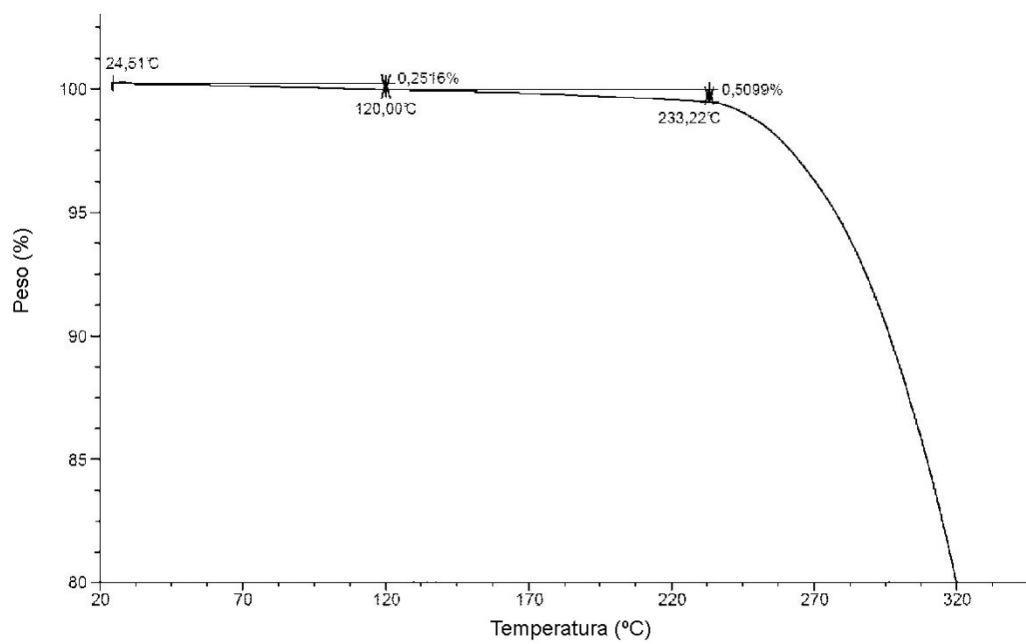


Fig. 3

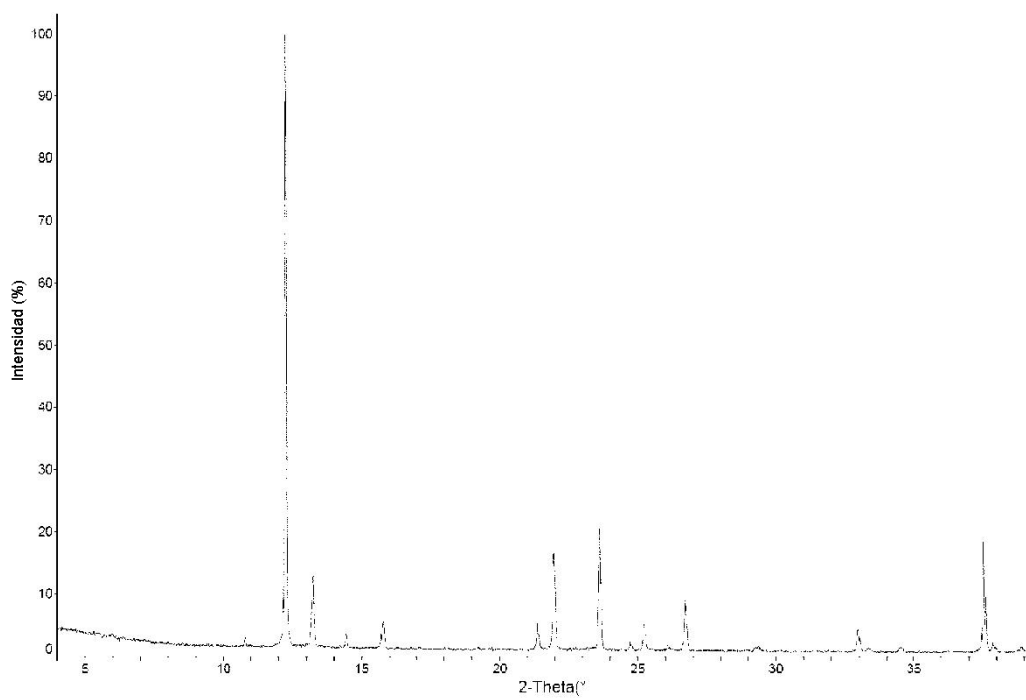


Fig. 4

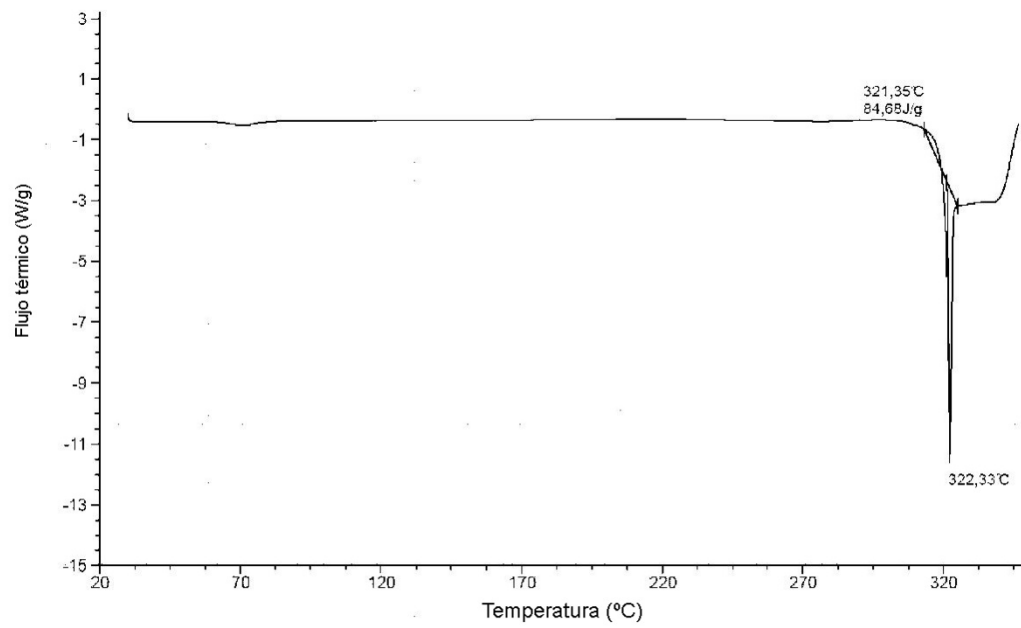


Fig. 5

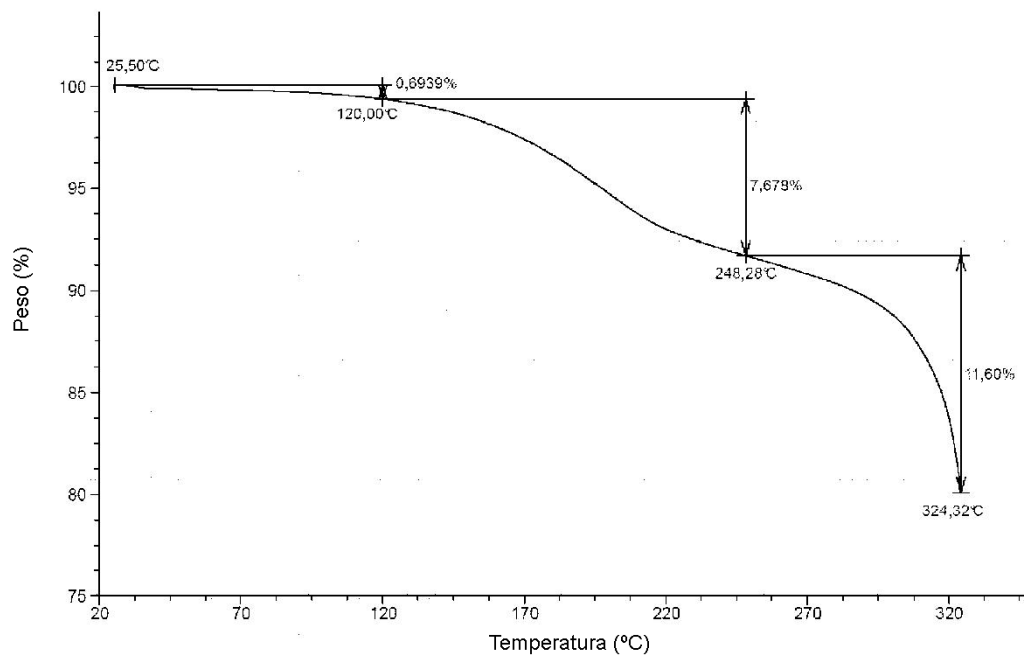


Fig. 6

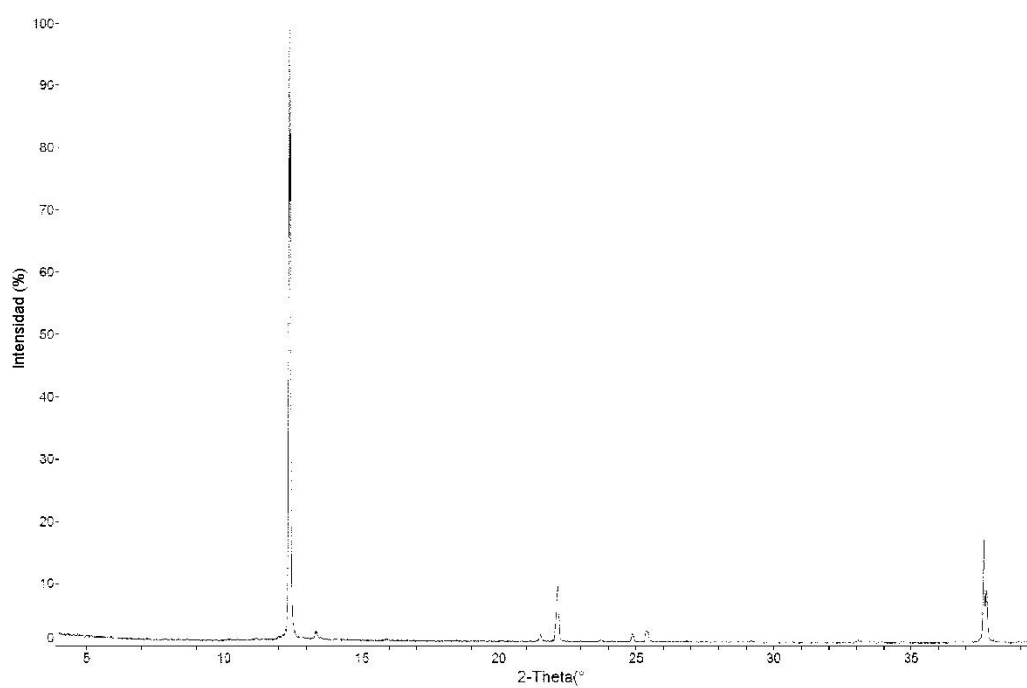


Fig. 7

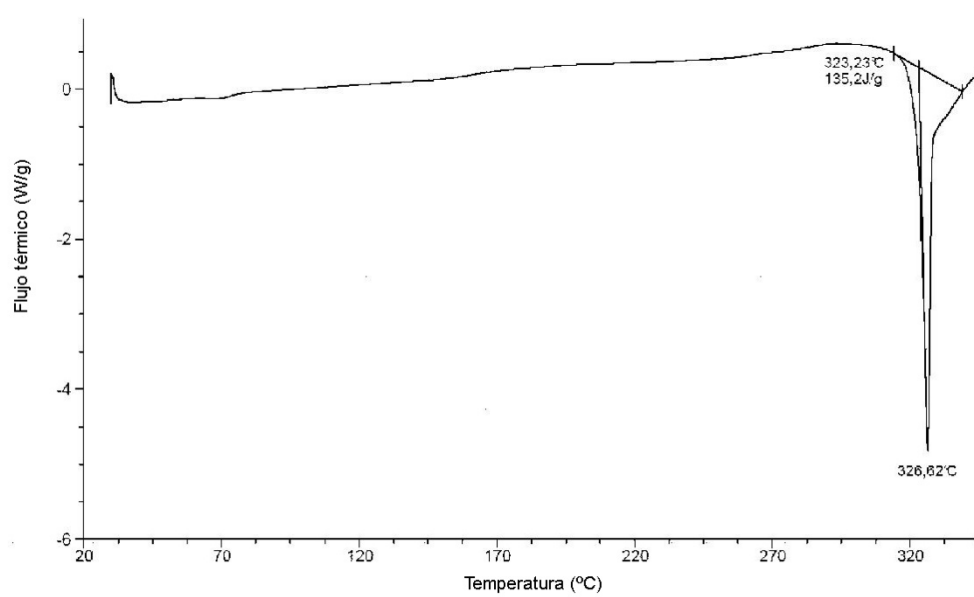


Fig. 8

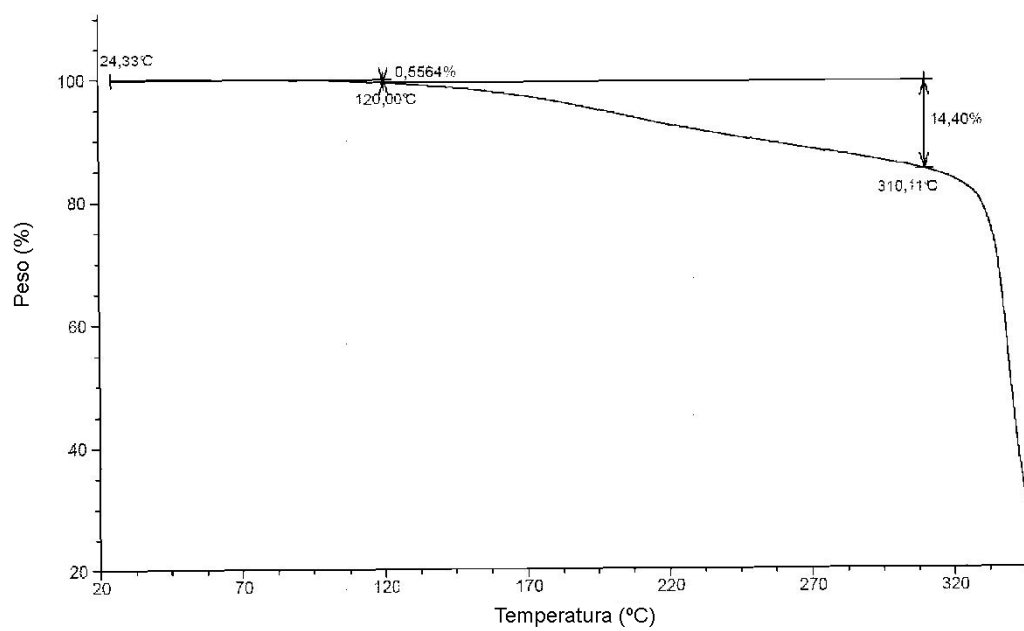


Fig. 9

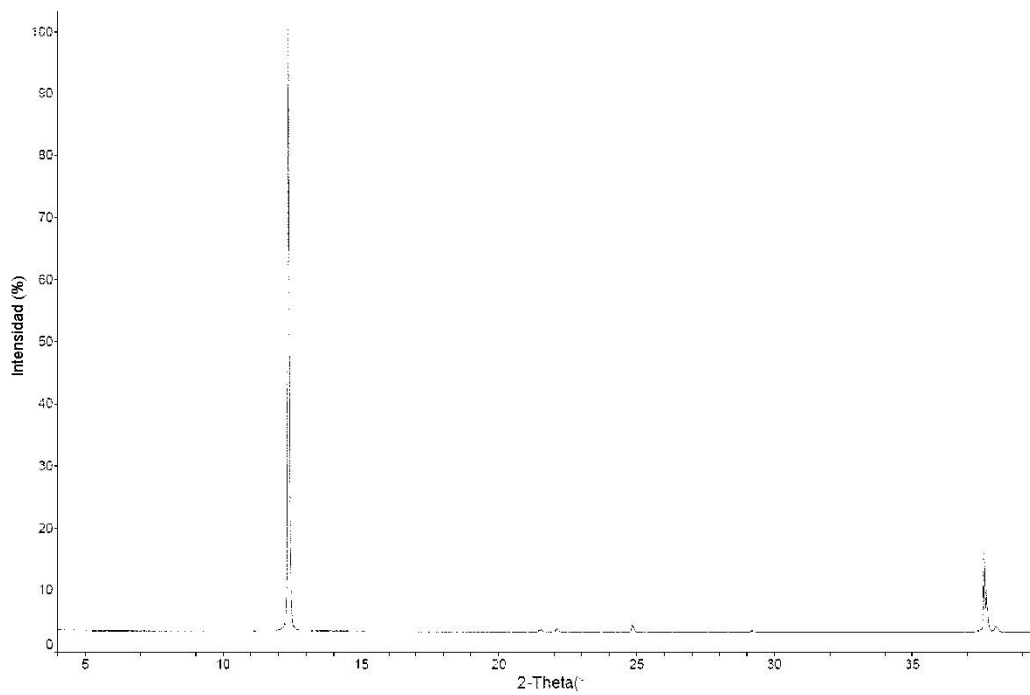


Fig. 10

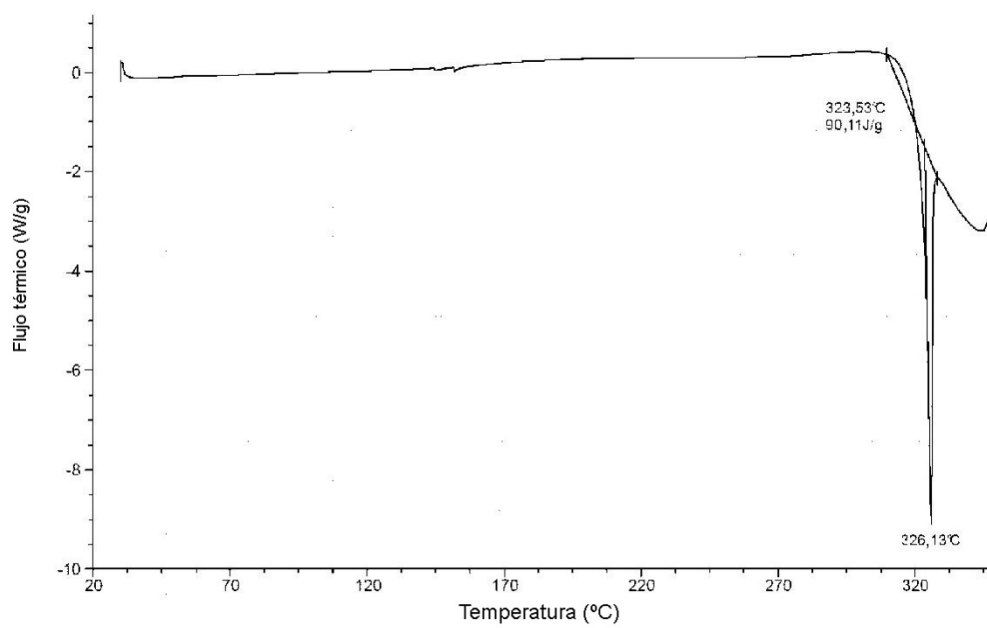


Fig. 11

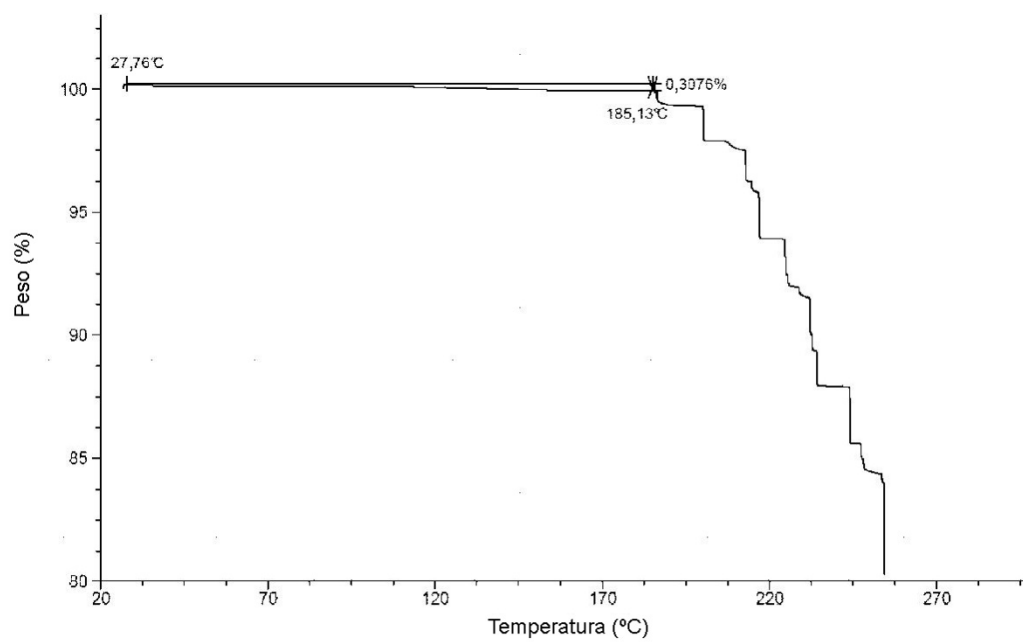


Fig. 12

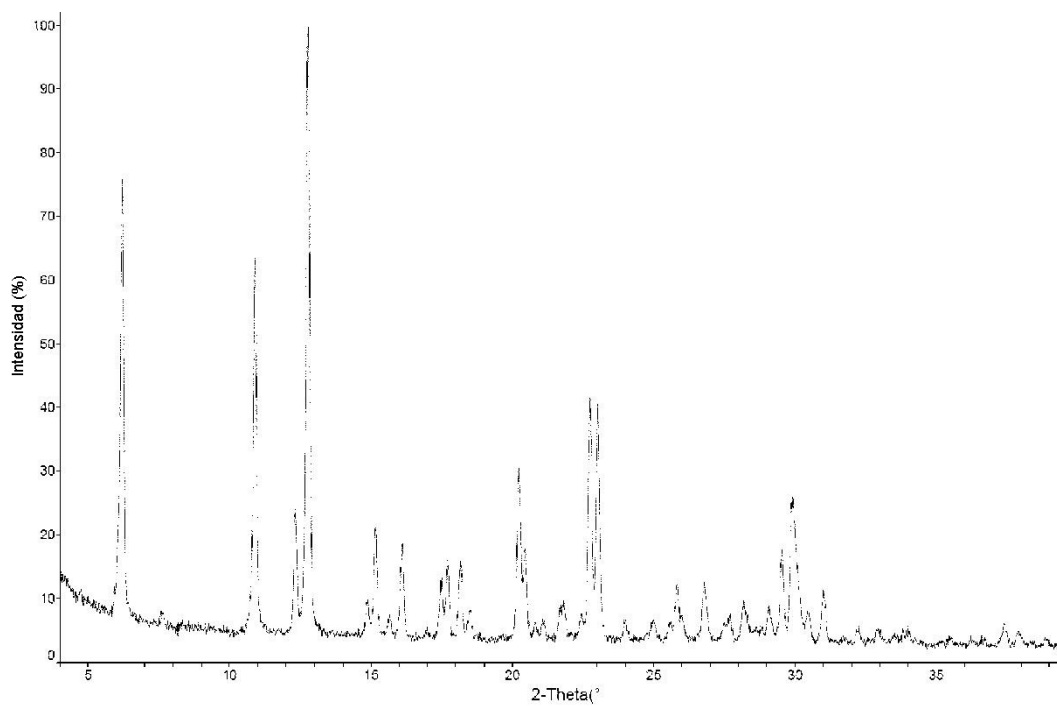


Fig. 13

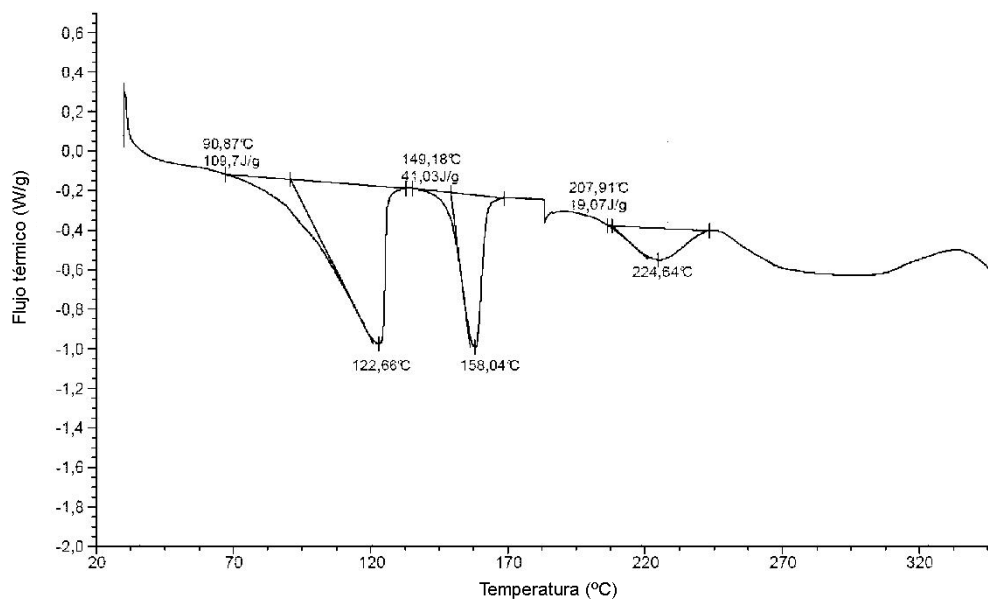


Fig. 14

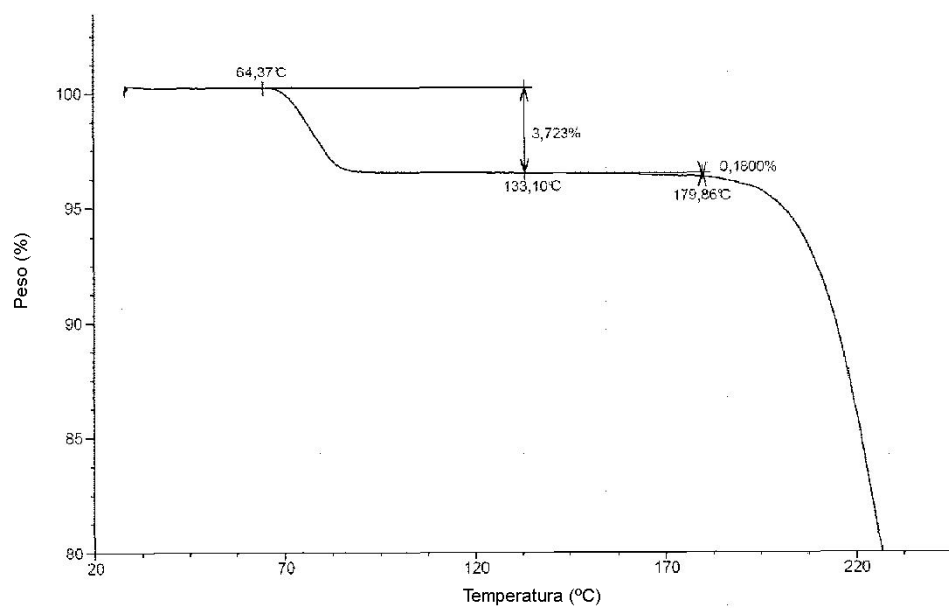


Fig. 15

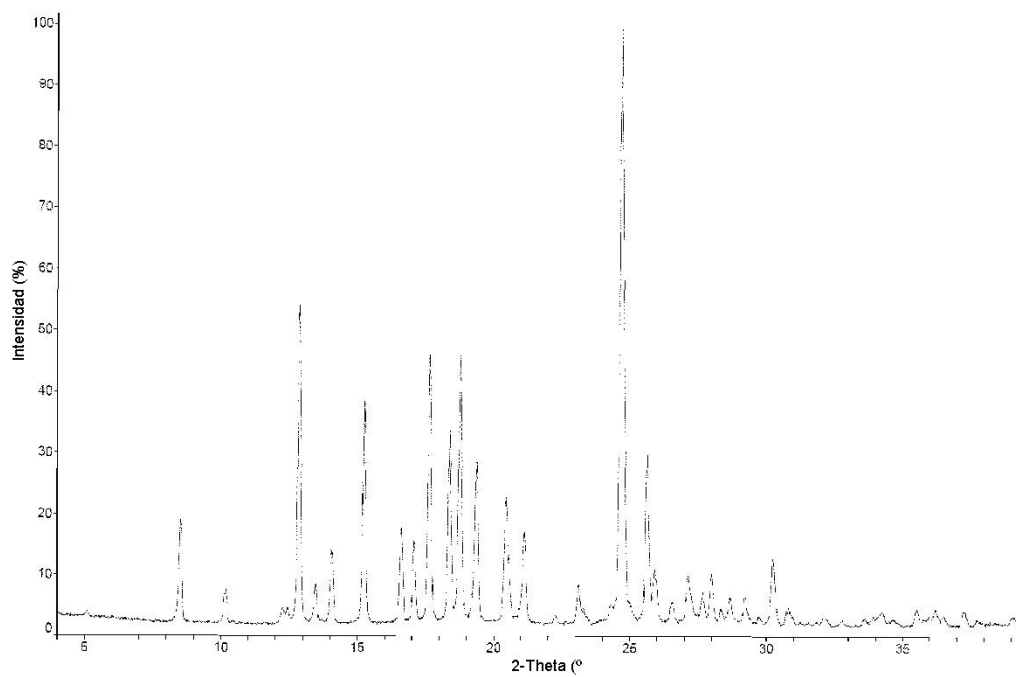


Fig. 16

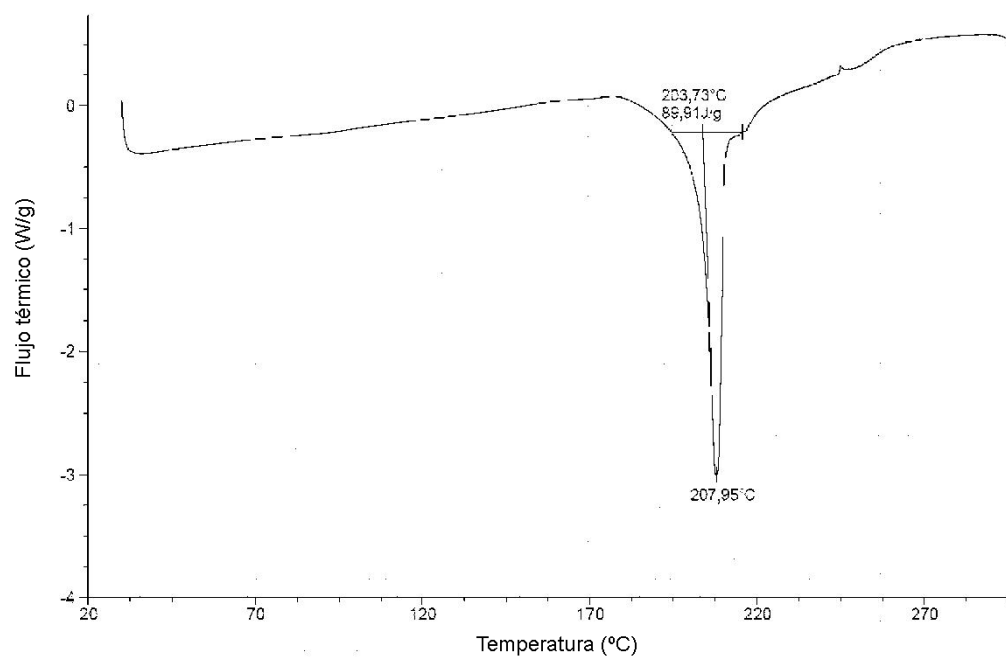


Fig. 17

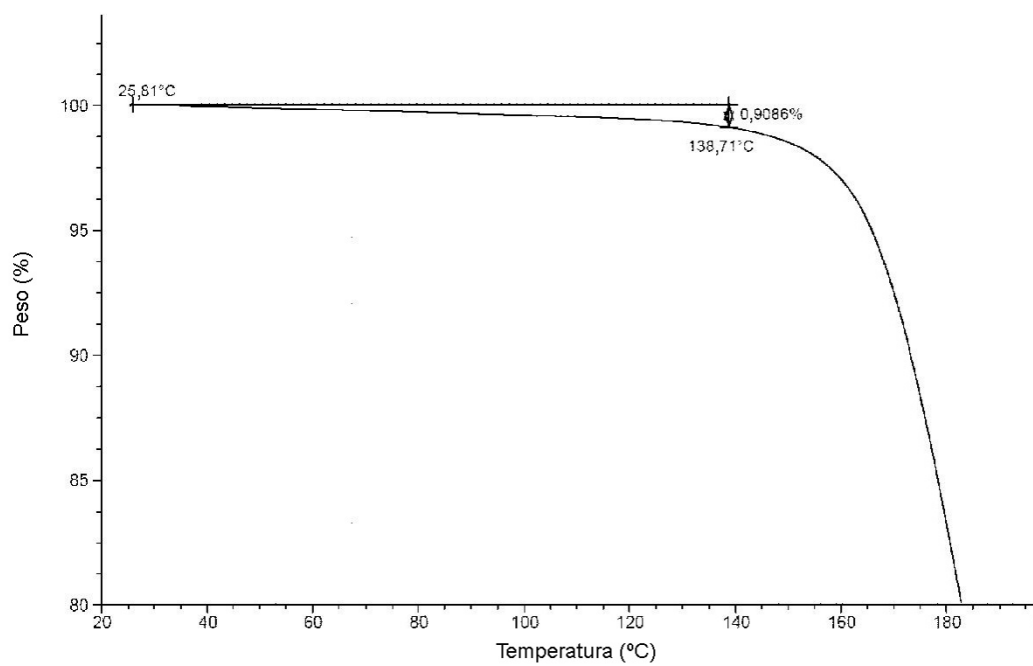


Fig. 18