

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 088**

51 Int. Cl.:

C07D 235/02 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/416 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.12.2018** **PCT/CN2018/119716**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.06.2019** **WO19109995**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2018** **E 18886074 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2024** **EP 3722282**

54 Título: **Forma de sal y forma de cristal que sirven como compuestos inhibidores de FGFR y VEGFR, y método de preparación de las mismas**

30 Prioridad:

07.12.2017 CN 201711286398

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.11.2024

73 Titular/es:

HARBIN ZHENBAO PHARMACEUTICAL CO., LTD.
(100.0%)
No. 8 First Yantai Road, Jizhong District, Haping Road, Development Zone
Harbin, Heilongjiang 150060, CN

72 Inventor/es:

CHEN, ZHENGXIA;
ZHANG, YANG;
DAI, MEIBI;
CHENG, HONGFEI;
YANG, SUQIN;
LI, WENJU;
LI, JIAN y
CHEN, SHUHUI

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 989 088 T3

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

DESCRIPCIÓN

Forma de sal y forma de cristal que sirven como compuestos inhibidores de FGFR y VEGFR, y método de preparación de las mismas

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a la forma cristalina G que sirve como compuestos inhibidores de FGFR y VEGFR, y al método de preparación de la misma.

Técnicas anteriores

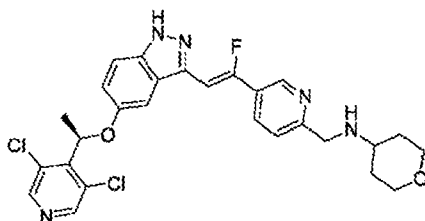
- 10 El factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) se ha reconocido como un mediador importante de muchos procesos fisiológicos, tales como la morfogénesis durante el desarrollo y la angiogénesis. La familia de receptores de factores de crecimiento de fibroblastos (FGFR) consiste en cuatro miembros (FGFR1-FGFR4), que son glicoproteínas compuestas de dominios extracelulares de tipo inmunoglobulina (Ig), una región transmembrana hidrófoba y una parte citoplásmica que contiene un dominio de tirosina quinasa. La unión a FGF conduce a la dimerización de FGFR, seguido de autofosforilación del receptor y activación de rutas de señalización aguas abajo. La activación del receptor es suficiente para la recuperación y activación de parejas de señalización aguas abajo específicas que participan en la regulación de diversos procesos tales como crecimiento celular, metabolismo celular y supervivencia celular. Por tanto, la ruta de señalización de FGF/FGFR tiene efectos pleiotrópicos sobre muchos procesos biológicos críticos para la proliferación, migración, invasión y angiogénesis de células tumorales.

- 15 Se conocen vinilindazoles en la técnica para el tratamiento del cáncer. Véanse, por ejemplo, los documentos WO0210137 y WO2003101968. También se conocen inhibidores de FGFR en la técnica. Véanse, por ejemplo, los documentos WO2002022598 y WO2017024968A1 que divulgan los compuestos de fórmulas (I) y (II) como se comenta a continuación.

Contenido de la presente invención

- 25 La presente invención se define por las reivindicaciones. Especialmente, la presente invención proporciona una forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 1, un método de preparación de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 6, una forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) para su uso en un método de tratamiento de enfermedades relacionadas con inhibidores de tirosina quinasa como se define en la reivindicación 8, y una forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) para su uso en un método de tratamiento de un tumor como se define en la reivindicación 9.

- 30 La presente divulgación proporciona una forma cristalina A de un compuesto de fórmula (I) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $5,26\pm 0,2^\circ$, $10,47\pm 0,2^\circ$ y $20,98\pm 0,2^\circ$.



(I)

- 35 En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina A puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $5,26\pm 0,2^\circ$, $7,65\pm 0,2^\circ$, $10,47\pm 0,2^\circ$, $19,74\pm 0,2^\circ$, $20,33\pm 0,2^\circ$, $20,98\pm 0,2^\circ$, $26,30\pm 0,2^\circ$ y $26,91\pm 0,2^\circ$.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina A puede ser como se muestra en la figura 1.

En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina A pueden ser como se muestra en la tabla 1:

Tabla 1: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	5,26	16,7873	36,4	19	19,738	4,4941	13,4
2	7,651	11,5456	11	20	20,328	4,365	16,3
3	8,376	10,5482	2	21	20,98	4,2307	100
4	8,52	10,3694	2,8	22	21,728	4,0868	2,5
5	9,247	9,5557	3,5	23	22,067	4,0248	2,3
6	10,467	8,4447	29,8	24	22,974	3,8679	3,8
7	11,209	7,8869	2,4	25	23,311	3,8128	6,4
8	11,553	7,6532	2,6	26	23,78	3,7387	2,4
9	11,867	7,4515	2,6	27	25,319	3,5148	9,4
10	12,359	7,1558	3,4	28	25,928	3,4336	6,5
11	14,06	6,2937	2,7	29	26,303	3,3855	23,7
12	14,667	6,0348	3	30	26,912	3,3102	11,1
13	15,713	5,6353	6,6	31	27,746	3,2126	4
14	16,091	5,5036	5,1	32	28,101	3,1728	5,2
15	16,778	5,2799	11,4	33	29,44	3,0315	1,3
16	18,515	4,7882	3,5	34	30,311	2,9463	2,3
17	18,794	4,7177	4	35	37,582	2,3913	1,8
18	19,286	4,5985	5,2				

En la presente divulgación, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina A puede tener un punto de inicio de un pico endotérmico a $42,97\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$, $139,63\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ y $203,56\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ respectivamente, y tener un punto de inicio de un pico exotérmico a $147,45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$.

En la presente divulgación, el patrón de DSC de la forma cristalina A puede ser como se muestra en la figura 2.

En la presente divulgación, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina A puede tener una pérdida de peso del 7,074 % producida a $120,00\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ y una pérdida de peso del 0,4317 % producida a $212,99\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$.

En la presente divulgación, el patrón de TGA de la forma cristalina A puede ser como se muestra en la figura 3.

La presente divulgación proporciona una forma cristalina B del compuesto de fórmula (I) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $11,10 \pm 0,2^\circ$, $18,00 \pm 0,2^\circ$ y $19,84 \pm 0,2^\circ$.

En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina B puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $9,31 \pm 0,2^\circ$, $11,10 \pm 0,2^\circ$, $11,73 \pm 0,2^\circ$, $13,94 \pm 0,2^\circ$, $14,77 \pm 0,2^\circ$, $16,52 \pm 0,2^\circ$, $18,00 \pm 0,2^\circ$ y $19,84 \pm 0,2^\circ$.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina B puede ser como se muestra en la figura 4.

En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina B pueden ser como se muestra en la tabla 2:

Tabla 2: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina B del compuesto de fórmula (I)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	9,307	9,4943	16,3	17	24,256	3,6663	12,5
2	11,1	7,9645	71,9	18	24,768	3,5917	9,3
3	11,728	7,5395	17,7	19	25,955	3,43	6,4
4	13,94	6,3477	24,7	20	26,897	3,312	9,4
5	14,769	5,9932	48,1	21	27,31	3,2629	79
6	16,523	5,3608	21,8	22	27,643	3,2243	13,2
7	17,449	5,0781	5,1	23	28,007	3,1832	4,9
8	18,005	4,9227	61,7	24	29,066	3,0696	8,8
9	18,592	4,7684	13,1	25	30,215	2,9555	3,3
10	19,836	4,4721	100	26	31,41	2,8457	4,5
11	20,428	4,3439	5,3	27	32,296	2,7696	3
12	20,804	4,2663	30,8	28	33,74	2,6543	5,5
13	22,066	4,0249	29,7	29	35,398	2,5337	5,3
14	22,478	3,9522	25,3	30	35,714	2,512	6,1
15	23,466	3,788	49,2	31	38,236	2,3519	3,2
16	23,679	3,7543	19,6				

La presente divulgación proporciona una forma cristalina C del compuesto de fórmula (I) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: 10,19±0,2°, 22,84±0,2° y 24,39±0,2°.

5

En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina C puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: 10,19±0,2°, 11,32±0,2°, 18,73±0,2°, 19,71±0,2°, 22,84±0,2°, 24,39±0,2°, 32,10±0,2° y 34,02±0,2°.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina C puede ser como se muestra en la figura 5.

10 En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina C son como se muestran en la tabla 3:

Tabla 3: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina C del compuesto de fórmula (I)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	10,193	8,6707	100	12	21,083	4,2104	3
2	11,318	7,8115	6	13	22,839	3,8905	11,3
3	14,668	6,034	8,7	14	24,39	3,6465	48,7
4	14,945	5,9229	2,5	15	24,867	3,5776	2,5
5	15,915	5,564	2,3	16	27,312	3,2627	5,2
6	16,423	5,393	1,4	17	27,865	3,1992	4,3
7	16,978	5,218	1,8	18	29,402	3,0352	3,9
8	18,734	4,7327	6,6	19	29,617	3,0138	4,6
9	19,714	4,4995	2	20	32,104	2,7858	2,9
10	20,429	4,3438	15,3	21	34,016	2,6334	5,9
11	20,682	4,2912	6,2				

La presente divulgación proporciona una forma cristalina D del compuesto de fórmula (I) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $8,04\pm 0,2^\circ$, $11,55\pm 0,2^\circ$ y $24,06\pm 0,2^\circ$.

- 5 En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina D puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $8,04\pm 0,2^\circ$, $11,55\pm 0,2^\circ$, $14,92\pm 0,2^\circ$, $15,46\pm 0,2^\circ$, $18,04\pm 0,2^\circ$, $19,03\pm 0,2^\circ$, $22,52\pm 0,2^\circ$ y $24,06\pm 0,2^\circ$.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina D puede ser como se muestra en la figura 6.

En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina D pueden ser como se muestra en la tabla 4:

10 Tabla 4: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina D del compuesto de fórmula (I)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	8,044	10,9818	26,5	20	20,74	4,2792	5,9
2	11,553	7,653	41,3	21	21,707	4,0907	8,3
3	11,947	7,4019	4,4	22	21,889	4,0572	6
4	13,13	6,7372	16,2	23	22,519	3,945	32,9
5	13,447	6,5794	5,1	24	23,034	3,8579	4,1
6	13,661	6,4768	4	25	23,341	3,8079	4,1
7	14,513	6,0982	12,7	26	23,784	3,7381	9,8
8	14,924	5,9314	21,7	27	24,056	3,6963	100
9	15,458	5,7276	19,8	28	24,669	3,6058	22,8
10	16,185	5,4717	6,3	29	25,458	3,4959	4,8
11	16,428	5,3914	9,5	30	26,047	3,4181	6,4
12	17,254	5,1353	15,9	31	26,323	3,383	3,6
13	17,507	5,0616	9,7	32	27,762	3,2107	7,5
14	18,043	4,9124	25	33	28,276	3,1536	3,7
15	19,029	4,66	59,2	34	29,244	3,0513	6,4
16	19,556	4,5356	9,4	35	29,54	3,0214	8,4
17	19,799	4,4805	18,3	36	30,701	2,9098	5,4
18	20,154	4,4024	12,1	37	36,505	2,4593	2,9
19	20,487	4,3315	4				

La presente divulgación proporciona una forma cristalina E del compuesto de fórmula (I) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $5,30\pm 0,2^\circ$, $15,93\pm 0,2^\circ$ y $18,79\pm 0,2^\circ$.

- 15 En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina E puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $5,30\pm 0,2^\circ$, $10,62\pm 0,2^\circ$, $11,16\pm 0,2^\circ$, $14,47\pm 0,2^\circ$, $15,93\pm 0,2^\circ$, $17,33\pm 0,2^\circ$, $18,79\pm 0,2^\circ$ y $32,16\pm 0,2^\circ$.

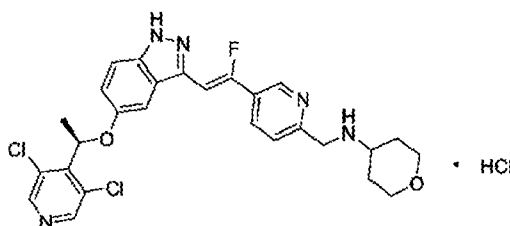
En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina E puede ser como se muestra en la figura 7.

- 20 En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina E pueden ser como se muestra en la tabla 5:

Tabla 5: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina E del compuesto de fórmula (I)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	5,302	16,6538	31,3	13	21,238	4,18	71,1
2	8,793	10,0484	4,4	14	21,786	4,0761	4,8
3	9,463	9,3386	3,6	15	22,403	3,9652	9,5
4	10,625	8,3195	48	16	23,704	3,7504	11,4
5	11,16	7,9221	8,3	17	24,036	3,6993	9,8
6	14,472	6,1155	18,3	18	25,183	3,5334	7,9
7	15,931	5,5585	100	19	26,265	3,3902	15,9
8	16,638	5,3239	3,6	20	26,622	3,3456	14,9
9	17,331	5,1125	8,5	21	27,192	3,2768	5,5
10	18,791	4,7185	35,5	22	27,965	3,1879	3,6
11	20,388	4,3524	6,5	23	32,162	2,7808	9,5
12	20,981	4,2306	31,3				

La presente divulgación se refiere a un compuesto de fórmula (II),



(II).

- 5 La presente divulgación proporciona una forma cristalina F del compuesto de fórmula (II) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: 4,98±0,2°, 7,49±0,2° y 19,18±0,2°.

En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina F puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: 4,98±0,2°, 7,49±0,2°, 9,82±0,2°, 12,15±0,2°, 17,27±0,2°, 19,18±0,2°, 20,10±0,2° y 21,79±0,2°.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina F puede ser como se muestra en la figura 8.

En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina F pueden ser como se muestra en la tabla 6:

Tabla 6: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina F del compuesto de fórmula (II)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	4,985	17,7111	25,9	13	21,79	4,0754	37,8
2	7,492	11,79	20,8	14	23,19	3,8324	60,4
3	9,816	9,0029	27,8	15	23,504	3,7819	31,6
4	12,149	7,2793	13,3	16	25,081	3,5476	14,9
5	14,924	5,9311	33,3	17	25,733	3,4592	40,6
6	15,319	5,7793	39,2	18	26,149	3,4051	64,9
7	17,273	5,1294	28,4	19	27,289	3,2653	46,5

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
8	19,185	4,6225	100	20	28,532	3,1258	17,3
9	19,615	4,522	25,7	21	29,418	3,0337	18,6
10	20,101	4,4138	17,8	22	32,379	2,7627	15,7
11	20,805	4,266	22,2	23	35,38	2,5349	16,1
12	21,1	4,2071	24,1				

En la presente divulgación, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina F puede tener un punto de inicio de un pico endotérmico a $172,07\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ y $277,05\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ respectivamente, y tener un punto de inicio de un pico exotérmico a $284,37\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$.

- 5 En la presente divulgación, el patrón de DSC de la forma cristalina F puede ser como se muestra en la figura 9.

En la presente divulgación, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina F puede tener una pérdida de peso del 3,578 % producida a $153,13\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$

En la presente divulgación, el patrón de TGA de la forma cristalina F puede ser como se muestra en la figura 10.

- 10 La presente invención proporciona una forma cristalina G del compuesto de fórmula (II), en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $7,39 \pm 0,2^\circ$, $19,07 \pm 0,2^\circ$ y $20,04 \pm 0,2^\circ$; en donde dicho patrón de difracción de rayos X en polvo se obtiene usando rayos X K-alfa de cobre a una longitud de onda de 1,54056 Angstroms.

- 15 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina G comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $7,39 \pm 0,2^\circ$, $19,07 \pm 0,2^\circ$, $20,04 \pm 0,2^\circ$, $21,05 \pm 0,2^\circ$, $21,76 \pm 0,2^\circ$, $25,64 \pm 0,2^\circ$, $26,23 \pm 0,2^\circ$ y $27,16 \pm 0,2^\circ$; en donde dicho patrón de difracción de rayos X en polvo se obtiene usando rayos X K-alfa de cobre a una longitud de onda de 1,54056 Angstroms.

En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de XRPD de la forma cristalina G es como se muestra en la figura 11.

- 20 En algunas realizaciones de la presente invención, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina G son como se muestra en la tabla 7:

Tabla 7: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	7,393	11,948	9,6	23	24,66	3,6072	6,1
2	12,087	7,3161	14,3	24	24,957	3,5649	10,6
3	12,42	7,1208	6,8	25	25,308	3,5163	11,4
4	13,23	6,6868	3,7	26	25,643	3,4711	44,6
5	13,475	6,5656	4,3	27	26,233	3,3943	14,7
6	15,206	5,822	33,5	28	27,157	3,2809	56,1
7	15,576	5,6845	2,9	29	28,424	3,1375	10,2
8	17,213	5,1473	29,9	30	28,583	3,1204	8,5
9	17,495	5,0651	13,5	31	29,309	3,0447	5,3
10	17,767	4,9881	9,7	32	29,55	3,0204	4
11	18,198	4,8708	4,6	33	30,654	2,9141	7
12	18,559	4,7768	2,7	34	31,106	2,8728	5,4
13	19,073	4,6494	100	35	31,461	2,8412	2,6
14	20,035	4,4281	20,4	36	31,854	2,807	3,4
15	21,046	4,2177	15,1	37	32,307	2,7687	7,5

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
16	21,755	4,0818	37,6	38	33,297	2,6886	5,4
17	22,902	3,8799	12,6	39	33,731	2,655	3,5
18	23,134	3,8416	34	40	34,836	2,5733	3,1
19	23,294	3,8155	24,5	41	35,403	2,5333	6,6
20	23,433	3,7932	21	42	36,672	2,4485	2,2
21	24,003	3,7043	2,6	43	37,14	2,4187	3,9
22	24,282	3,6624	8,3	44	37,755	2,3807	3,1

En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina G tiene un punto de inicio de un pico endotérmico a $278,70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, y tiene un punto de inicio de un pico exotérmico a $285,46\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- 5 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de DSC de la forma cristalina G es como se muestra en la figura 12.

En algunas realizaciones de la presente invención, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina G tiene una pérdida de peso del 3,870 % producida a $120\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una pérdida de peso del 1,170 % producida a $221,76\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- 10 En algunas realizaciones de la presente invención, el patrón de TGA de la forma cristalina G es como se muestra en la figura 13.

La presente divulgación proporciona una forma cristalina H del compuesto de fórmula (II) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $4,95 \pm 0,2^{\circ}$, $7,30 \pm 0,2^{\circ}$ y $19,01 \pm 0,2^{\circ}$.

- 15 En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina H puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $4,95 \pm 0,2^{\circ}$, $7,30 \pm 0,2^{\circ}$, $11,99 \pm 0,2^{\circ}$, $14,36 \pm 0,2^{\circ}$, $16,66 \pm 0,2^{\circ}$, $18,26 \pm 0,2^{\circ}$, $19,01 \pm 0,2^{\circ}$ y $21,49 \pm 0,2^{\circ}$.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina H puede ser como se muestra en la figura 14.

- 20 En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina H pueden ser como se muestra en la tabla 8:

Tabla 8: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina H del compuesto de fórmula (II)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	4,949	17,8408	17,2	24	23,37	3,8033	17,3
2	7,295	12,1076	12	25	24,315	3,6575	30,5
3	8,576	10,3015	6,4	26	24,769	3,5916	15,7
4	11,99	7,3753	9,3	27	25,359	3,5093	78,8
5	14,361	6,1624	10,1	28	25,576	3,48	47,5
6	14,987	5,9064	13,2	29	26,17	3,4024	16,8
7	15,163	5,8382	20,1	30	27,093	3,2885	46,1
8	16,028	5,5252	6,3	31	28,358	3,1446	10,1
9	16,661	5,3167	16,7	32	29,008	3,0756	5,8
10	17,15	5,166	20	33	29,638	3,0116	20,3
11	17,428	5,0843	9,8	34	29,893	2,9865	5,2
12	17,706	5,005	9,4	35	30,58	2,921	3,9
13	18,257	4,8552	31,1	36	31,158	2,8681	3,5

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
14	19,01	4,6647	100	37	31,394	2,8471	3,5
15	19,972	4,4419	12,4	38	32,223	2,7757	6,8
16	20,19	4,3945	13,6	39	33,288	2,6893	5
17	20,693	4,2888	6,9	40	33,426	2,6785	7,6
18	20,981	4,2305	10,9	41	33,726	2,6554	4,5
19	21,492	4,1312	41,6	42	34,446	2,6015	3,8
20	21,689	4,094	25,7	43	34,824	2,5741	3,9
21	22,014	4,0343	9,9	44	35,142	2,5516	7,9
22	22,876	3,8843	3,9	45	36,448	2,463	5,5
23	23,055	3,8546	20,5	46	37,733	2,3821	2,8

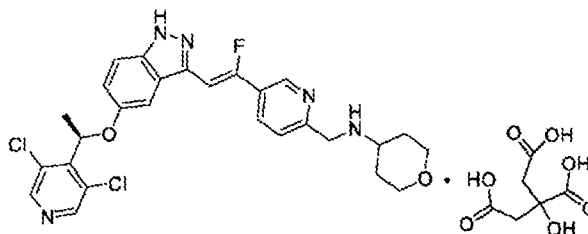
En la presente divulgación, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina H puede tener un punto de inicio de un pico endotérmico a $172,97\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $277,33\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente, y tener un punto de inicio de un pico exotérmico a $283,38\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5 En la presente divulgación, el patrón de DSC de la forma cristalina H puede ser como se muestra en la figura 15.

En la presente divulgación, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina H puede tener una pérdida de peso del 0,8819 % producida a $120\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una pérdida de peso del 2,892 % producida a $206,30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En la presente divulgación, el patrón de TGA de la forma cristalina H puede ser como se muestra en la figura 16.

La presente divulgación se refiere a un compuesto de fórmula (III),



(III).

La presente divulgación proporciona una forma cristalina I del compuesto de fórmula (III) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $6,73 \pm 0,2^{\circ}$, $11,66 \pm 0,2^{\circ}$ y $19,51 \pm 0,2^{\circ}$.

15 En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina I puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $6,73 \pm 0,2^{\circ}$, $11,66 \pm 0,2^{\circ}$, $14,28 \pm 0,2^{\circ}$, $14,99 \pm 0,2^{\circ}$, $16,39 \pm 0,2^{\circ}$, $19,51 \pm 0,2^{\circ}$, $23,34 \pm 0,2^{\circ}$ y $25,61 \pm 0,2^{\circ}$.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina I puede ser como se muestra en la figura 17.

En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina I pueden ser como se muestra en la tabla 9:

Tabla 9: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (II)

N. ^o	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N. ^o	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	6,727	13,128	9,7	14	19,889	4,4604	46,3
2	9,96	8,8732	5,8	15	20,996	4,2277	18,8
3	11,656	7,5858	19,9	16	21,612	4,1085	7,7
4	12,133	7,2887	5,6	17	22,197	4,0016	22,3
5	13,293	6,6551	6,4	18	23,343	3,8075	56,7
6	13,833	6,3963	6,8	19	24,297	3,6602	6,2
7	14,283	6,1961	8,8	20	25,614	3,4749	38,2
8	14,993	5,9039	13,4	21	26,662	3,3406	7,7
9	16,394	5,4027	10	22	27,745	3,2127	16,2
10	17,641	5,0233	9,7	23	28,71	3,1068	4,3
11	17,975	4,9307	13	24	30,448	2,9334	10
12	18,807	4,7145	8,7	25	36,059	2,4887	7
13	19,514	4,5452	100				

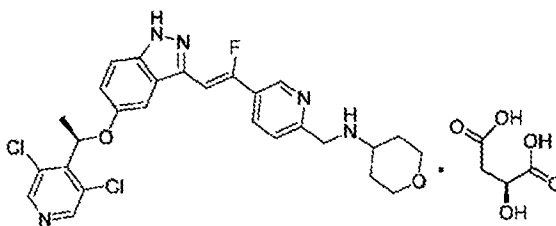
En la presente divulgación, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina I puede tener un punto de inicio de un pico endotérmico a $32,94\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $204,62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

- 5 En la presente divulgación, el patrón de DSC de la forma cristalina I puede ser como se muestra en la figura 18.

En la presente divulgación, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina I puede tener una pérdida de peso del 0,8601 % producida a $85,39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una pérdida de peso del 2,264 % producida a $184,93\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En la presente divulgación, el patrón de TGA de la forma cristalina I puede ser como se muestra en la figura 19.

La presente divulgación se refiere a un compuesto de fórmula (IV),



(IV).

La presente divulgación proporciona una forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV) que no es parte de la presente invención, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo del mismo comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $4,99 \pm 0,2^{\circ}$, $11,32 \pm 0,2^{\circ}$ y $19,95 \pm 0,2^{\circ}$.

- 15 En la presente divulgación, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina J puede comprender picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ: $4,99 \pm 0,2^{\circ}$, $6,90 \pm 0,2^{\circ}$, $9,9 \pm 0,2^{\circ}$, $10,73 \pm 0,2^{\circ}$, $11,32 \pm 0,2^{\circ}$, $14,41 \pm 0,2^{\circ}$, $16,73 \pm 0,2^{\circ}$ y $19,95 \pm 0,2^{\circ}$.

En la presente divulgación, el patrón de XRPD de la forma cristalina J puede ser como se muestra en la figura 21.

En la presente divulgación, los datos analíticos del patrón de XRPD de la forma cristalina J pueden ser como se muestra en la tabla 10:

Tabla 10: Datos de difracción de XRPD de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV)

N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)	N.º	Ángulo 2θ (°)	Espaciado d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	4,987	17,7057	23	17	20,699	4,2877	22,5
2	6,905	12,791	12,5	18	20,94	4,2388	35,7
3	9,9	8,9268	15,4	19	21,486	4,1322	18
4	10,732	8,237	24	20	21,939	4,0479	21,7
5	11,323	7,8079	57,5	21	23,484	3,785	56,2
6	11,937	7,4077	10,1	22	23,755	3,7424	19,7
7	13,848	6,3894	11,7	23	25,494	3,4911	10,3
8	14,406	6,1432	42	24	25,909	3,436	48,4
9	14,839	5,965	32,3	25	27,763	3,2106	15,2
10	15,072	5,8732	17	26	28,158	3,1665	15,6
11	16,729	5,295	21,8	27	29,044	3,0719	9
12	17,82	4,9734	18,9	28	30,864	2,8947	6,8
13	18,328	4,8365	39,4	29	32,697	2,7365	8,4
14	19,036	4,6583	14,4	30	35,52	2,5252	4,8
15	19,694	4,5042	54,8	31	36,078	2,4874	7,7
16	19,948	4,4474	100				

En la presente divulgación, la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina J puede tener un punto de inicio de un pico endotérmico a $33,34\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $194,84\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

- 5 En la presente divulgación, el patrón de DSC de la forma cristalina J puede ser como se muestra en la figura 22.

En la presente divulgación, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina J puede tener una pérdida de peso del 1,357 % producida a $120\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una pérdida de peso del 0,8330 % producida a $177,11\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En la presente divulgación, el patrón de TGA de la forma cristalina J puede ser como se muestra en la figura 23.

- 10 La presente divulgación proporciona un método de preparación de las formas cristalinas A, B, C, D, E, F, H, I y J de un compuesto de fórmula (I), (II), (III) o (IV), que no es parte de la presente invención, que comprende añadir el compuesto de fórmula (I), (II), (III) o (IV) a un disolvente respectivamente; y calentar y agitar, o recrystallizar.

En la presente divulgación, el disolvente puede seleccionarse de metanol, etanol, acetona, tetrahidrofurano, acetato de etilo, acetato de etilo-etanol, isopropanol o etanol-agua.

En la presente divulgación, la agitación puede realizarse a una temperatura de $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- 15 En la presente divulgación, el tiempo de suspensión puede ser de 12 horas a 36 horas.

En la presente divulgación, la razón en peso del compuesto con respecto al disolvente puede ser de 1:10 a 1:15.

La presente invención proporciona un método de preparación de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II), que comprende añadir el compuesto de fórmula (I) en etanol, añadir ácido clorhídrico/acetato de etilo gota a gota a la botella de reacción, calentar y agitar, enfriar hasta temperatura ambiente y filtrar.

- 20 En algunas realizaciones de la presente divulgación, el calentamiento y la agitación de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) se realiza a una temperatura de $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En algunas realizaciones de la presente invención, la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) es para su uso en un método para tratar enfermedades relacionadas con inhibidores de tirosina quinasa.

- 25 En algunas realizaciones de la presente invención, la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II), para su uso en un método para tratar un tumor.

Definiciones y explicaciones

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos y frases usados en el presente documento pretenden tener los siguientes significados. Un término o frase específica no debe considerarse indefinido o poco claro en ausencia de una definición particular, sino que debe entenderse en el sentido ordinario. Cuando aparece un nombre comercial en la presente memoria, se pretende que se refiera a su correspondiente producto o principio activo del mismo.

Los compuestos intermedios de la presente divulgación pueden prepararse mediante diversos métodos de síntesis conocidos por los expertos en la técnica, incluidas las realizaciones y realizaciones de referencia descritas a continuación, los métodos formados combinando las realizaciones y realizaciones de referencia descritas a continuación con otros métodos de síntesis química, y alternativas equivalentes bien conocidas por los expertos en la técnica.

Las reacciones químicas de las realizaciones y realizaciones de referencia de la presente divulgación se llevan a cabo en un disolvente adecuado, y el disolvente debe ser adecuado para el cambio químico, y los reactivos y materiales requeridos para ello de la presente divulgación. Para obtener los compuestos de la presente divulgación, a veces es necesario para los expertos en la técnica modificar o seleccionar las etapas de síntesis o esquemas de reacción basándose en las realizaciones existentes y realizaciones de referencia.

La presente invención se describirá específicamente a continuación por medio de realizaciones.

Todos los disolventes usados en la presente divulgación están disponibles comercialmente y pueden usarse directamente sin purificación adicional.

La presente divulgación emplea las siguientes abreviaturas: t.a. representa temperatura ambiente; THF representa tetrahidrofurano; NMP representa *N*-metilpirrolidona; MeSO₃H representa ácido metanosulfónico; DME representa dimetoxietano; DCM representa diclorometano; Xphos representa 2-diciclohexilfosfo-2',4',6'-trisisopropilbifenilo; EtOAc representa acetato de etilo; MeOH representa metanol; acetona representa propanona; 2-Me-THF representa 2-metiltetrahidrofurano; IPA representa isopropanol; m-CPBA representa ácido 3-cloroperoxibenzoico; Pd(dppf)Cl₂ representa dicloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio; DIEA representa *N,N*-diisopropiletilamina; DMSO representa dimetilsulfóxido; HEPES representa ácido 2-[4-(2-hidroxietil)piperazin-1-il]etanosulfónico; EGTA representa ácido etilenglicol bis(2-aminoetil éter)tetraacético; THP representa tetrahidropirano.

Los compuestos se nombran manualmente o mediante el software ChemDraw® y los compuestos disponibles comercialmente usan sus nombres de directorio de vendedor.

Método de difractorio de rayos X de polvo (XRPD) de la presente divulgación

Modelo de instrumento: difractorio de rayos X Bruker D8 advance

Método de detección: se usaron aproximadamente 10-20 mg de la muestra para la detección por XRPD.

Los parámetros de XRPD detallados fueron los siguientes:

Tubo de rayos X: Cu, K α , ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$).

Tensión del tubo de rayos X: 40 kV, corriente del tubo de rayos X: 40 mA

Ranura de divergencia: 0,60 mm

Rendija de detector: 10,50 mm

Rendija antidispersión: 7,10 mm

Intervalo de exploración: 4-40 grados

Tamaño de etapa: 0,02 grados

Tiempo de etapa: 0,12 segundos

Velocidad de rotación de la bandeja de muestras: 15 rpm

Método de calorímetro diferencial de barrido (DSC) de la presente divulgación

Modelo de instrumento: calorímetro diferencial de barrido TA Q2000

Método de detección: las muestras (aproximadamente 1 mg) se colocaron en un crisol de aluminio de DSC para la detección, y se calentaron de 30 °C (temperatura ambiente) a 300 °C (o 350 °C) con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min en condiciones de 50 ml/min de N₂.

Método de analizador termogravimétrico (TGA) de la presente divulgación

Modelo de instrumento: analizador termogravimétrico TA Q5000IR

Método de detección: las muestras (de 2 mg a 5 mg) se colocaron en un crisol de platino de TGA para la detección, y se calentaron con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min en condiciones de 25 ml/min de N₂ de temperatura ambiente a 300 °C o hasta que se perdió el 20 % en peso de las mismas.

Sorción dinámica de vapor (DVS) de la presente divulgación

5 Modelo de instrumento: Analizador de sorción dinámica de vapor SMS DVS Advantage

Condiciones de detección: las muestras (de 10 mg a 15 mg) se colocaron en una bandeja de muestras de DVS para la detección.

Los parámetros detallados de DVS son los siguientes:

Temperatura: 25 °C

10 Equilibrio: $dm/dt = 0,01$ %/min (más corto: 10 min, más largo: 180 min)

Secado: 120 minutos a 0 % de HR

Gradiente de HR (%) para los ensayos: 10 %

Intervalo de HR (%) para los ensayos de gradiente: 0 %-90 %-0 %

La higroscopicidad se evaluó usando las siguientes escalas:

Escalas para la higroscopicidad	Ganancia de peso higroscópica*
Delicuescencia	Absorber suficiente agua para formar líquido
Elevada higroscopicidad	$\Delta W \% \geq 15 \%$
Higroscopicidad media	$15 \% > \Delta W \% \geq 2 \%$
Baja higroscopicidad	$2 \% > \Delta W \% \geq 0,2 \%$
No hay o casi no hay higroscopicidad	$\Delta W \% < 0,2 \%$

* Ganancia de peso higroscópica a 25 ± 1 °C y 80 ± 2 % de HR

15

Cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento (HPLC)

Las condiciones de cromatografía para el método de análisis del contenido del compuesto son como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11: Método de análisis por HPLC para detectar el contenido

Instrumento	Cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento Agilent 1200 (PDS-PF-HPLC-02 o PDS-PF-HPLC-01)		
Columna	Ascentis Express C18 (4,6 * 150 mm, 2,7 μ m) (PDS-HPLC-94)		
Fase móvil A	Solución acuosa de ácido fosfórico al 0,1 %		
Fase móvil B	Acetonitrilo al 100 %		
Caudal	1 ml/min		
Volumen de inyección	10 μ l		
Longitud de onda de detección	280 nm		
Temperatura de la columna	40 °C		
Diluyente	N,N-dimetilformamida:acetonitrilo 50/50 (v/v) o acetonitrilo:agua 1/1 (v/v)		
Procedimiento de elución en gradiente	Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
	0,00	90	10
	13,00	5	95
	15,00	5	95
	15,01	90	10
	18,00	90	10

20

Efecto técnico

Los compuestos de la presente divulgación tienen una excelente actividad inhibidora de la quinasa FGFR1 y actividad inhibidora de células SNU-16 *in vitro*, y pueden usarse como inhibidor de tirosina quinasa de molécula pequeña; pueden inhibir la proliferación celular y la angiogénesis, tienen una excelente actividad antitumoral y tienen un excelente efecto en el tratamiento de diversos mamíferos (incluidos seres humanos).

Los datos de solubilidad de las sales de la presente divulgación muestran que el clorhidrato tiene la mayor solubilidad en la fase acuosa, y las tres sales tienen una solubilidad similar en el fluido intestinal simulado y el fluido gástrico simulado; y la base libre tiene una buena solubilidad en los tres vehículos biológicos, pero es extremadamente difícil de disolver en agua. Las formas cristalinas G, I y J (las formas cristalinas I y J no son parte de la presente invención) tienen una excelente estabilidad térmica y estabilidad en condiciones aceleradas, generan ligeras impurezas en condiciones de irradiación de luz y presentan buena estabilidad en condiciones de oscuridad.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I).

Figura 2: el patrón de DSC de la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I).

Figura 3: el patrón de TGA de la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I).

Figura 4: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina B del compuesto de fórmula (I).

Figura 5: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina C del compuesto de fórmula (I).

Figura 6: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina D del compuesto de fórmula (I).

Figura 7: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina E del compuesto de fórmula (I).

Figura 8: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina F del compuesto de fórmula (II).

Figura 9: el patrón de DSC de la forma cristalina F del compuesto de fórmula (II).

Figura 10: el patrón de TGA de la forma cristalina F del compuesto de fórmula (II).

Figura 11: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II).

Figura 12: el patrón de DSC de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II).

Figura 13: el patrón de TGA de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II).

Figura 14: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina H del compuesto de fórmula (II).

Figura 15: el patrón de DSC de la forma cristalina H del compuesto de fórmula (II).

Figura 16: el patrón de TGA de la forma cristalina H del compuesto de fórmula (II).

Figura 17: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III).

Figura 18: el patrón de DSC de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III).

Figura 19: el patrón de TGA de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III).

Figura 20: la isoterma de DVS de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III).

Figura 21: el patrón de XRPD medido por radiación Cu-K α de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV).

Figura 22: el patrón de DSC de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV).

Figura 23: el patrón de TGA de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV).

Figura 24: la isoterma de DVS de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV).

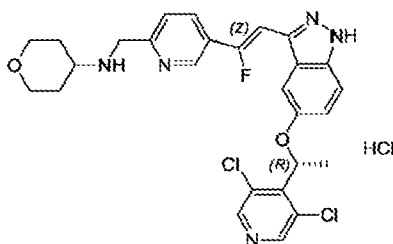
Nota: las figuras 1-10 y 14-24 son solamente para referencia y no son parte de la presente invención.

Descripción detallada de la realización preferida

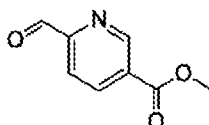
Para comprender mejor el contenido de la presente divulgación, las siguientes realizaciones y realizaciones de referencia ilustran adicionalmente la presente divulgación.

Síntesis de la realización de referencia 1

Nota: Las realizaciones 1A a 1L son solo para referencia y no son parte de la presente invención

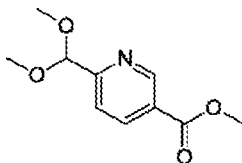


Realización 1A



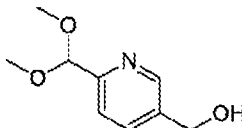
A una solución de 6-carboxilato de metilo-1-picolina (20 g, 0,13 mol) en *N,N*-dimetilsulfóxido (200 ml) se le añadieron yodo (33,5 g, 0,13 mmol) y ácido trifluoroacético (35,3 ml, 0,4 mmol) a 0 °C. La mezcla obtenida se agitó durante 1 hora y después se calentó hasta 140 °C y se agitó durante 2,5 horas. Después de enfriarse hasta 0 °C, la reacción se terminó con una solución saturada de tiosulfato de sodio (30 ml) y se agitó durante 30 minutos. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (150 mlx3) y las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera saturada (50 mlx2), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, se concentraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice para obtener la realización 1A. ¹H-RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) ppm: 10,14 (s, 1H), 9,36 (s, 1H), 8,47 (dd, *J*= 1,3, 8,0 Hz, 1H), 8,03 (d, *J*=8,0 Hz, 1H), 4,05-3,94 (s, 3H).

Realización 1B



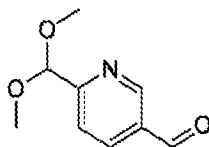
A una solución de la realización 1A (20 g, 120 mmol) en ortoformiato de trimetilo (400 ml) se le añadió lentamente ácido fórmico (40 ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla obtenida se agitó a esta temperatura durante 30 minutos, seguido de la adición gota a gota de ácido sulfúrico concentrado (1,2 ml). Después de la adición, la mezcla se calentó hasta 50 °C y se agitó durante 30 minutos, después se enfrió hasta 25 °C y se agitó durante 3 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadió a agua (100 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (200 mlx3). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada (100 mlx2), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener la realización 1B, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Realización 1C



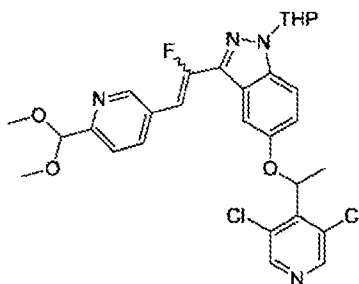
A una solución de la realización 1B (8 g, 38 mmol) en tetrahidrofurano (120 ml) se le añadió hidruro de litio y aluminio (4,4 g, 114 mmol) en porciones a 0 °C bajo la protección de nitrógeno. Después de la adición, la mezcla obtenida se agitó durante 1 hora a esta temperatura. La reacción se terminó con agua (4,4 ml) e hidróxido de sodio al 15 % (4,4 ml) seguido de agua (13,2 ml), se agitó durante 30 minutos, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener la realización 1C, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Realización 1D



5 A una solución de la realización 1C (5 g, 27 mmol) en diclorometano (120 ml) se le añadió dióxido de manganeso (19 g, 216 mmol) y después la mezcla obtenida se calentó hasta 40 °C y se agitó durante 16 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice para obtener la realización 1D. ¹H-RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) ppm 10,1 (s, 1H), 9,04-9,13 (m, 1H), 8,22 (dd, *J*= 2,01, 8,03 Hz, 1H), 7,75 (d, *J*=8,03 Hz, 1H), 5,44 (s, 1H), 3,43 (s, 6H).

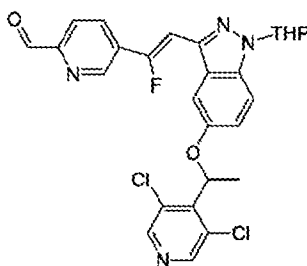
Realización 1E



10 A una solución de la realización 1D (2,7 g, 5 mmol) en tetrahidrofurano (80 ml) se le añadió hidruro de sodio (600 mg, 60 %, 14,5 mmol) en porciones a 5 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de la adición, la mezcla se agitó durante 30 minutos a esta temperatura, se añadió a la misma la realización 1J (2 g, 10,6 mmol), y la mezcla se calentó hasta 70 °C y se agitó durante 16 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se vertió en agua con hielo (50 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (40 mlx3). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada (20 mlx2), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener la realización 1E.

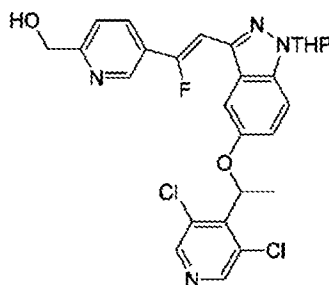
15 Esta mezcla se resolvió por HPLC quiral para obtener isómeros cis y trans, columna quiral: Chiralcel OD-3 150x4,6 mm D.I., 3 μm, fase móvil: etanol (DEA al 0,05 %)-CO₂, del 5 % al 40 %, caudal: 2,5 ml/min, longitud de onda: 220 nm.

20 Realización 1F



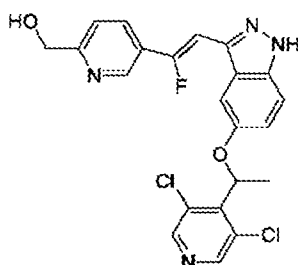
25 A una solución mixta de la realización 1E (900 mg, 1,53 mmol) en acetona (4 ml) y agua (4 ml) se le añadió ácido p-toluenosulfónico monohidratado (291 mg, 1,53 mmol) a temperatura ambiente. La solución de reacción se calentó hasta 50 °C y se agitó durante 10 horas. Después de la finalización de la reacción, se añadió agua (4 ml) y se añadió diclorometano (30 mlx3) para la extracción. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada (20 ml), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para obtener la realización 1F como un sólido amarillo. CLEM (IEN) *m/z*: 541 [M+1]⁺.

Realización 1G



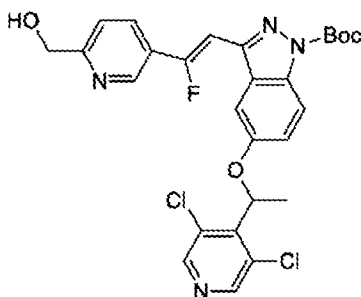
- 5 A una solución de la realización 1F (850 mg, 1,57 mmol) en metanol (8 ml) se le añadió borohidruro de sodio (119 mg, 3,14 mmol) en porciones en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La solución de reacción se agitó durante 1 hora. Se añadió agua (30 ml) para terminar la reacción y se añadió acetato de etilo (40 mlx3) para la extracción. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera saturada (20 ml), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para obtener la realización 1G como un líquido amarillo. CLEM (IEN) m/z: 543 [M+1]⁺.

Realización 1H



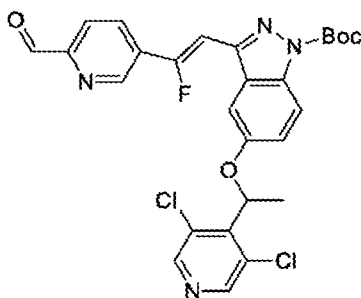
- 10 A una solución de la realización 1G (900 mg, producto en bruto) en metanol (2 ml) se le añadió una solución recién preparada de cloruro de acetilo (2 ml) en metanol (6 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. La solución de reacción se agitó a 40 °C durante 3 horas. El disolvente se retiró a presión reducida para obtener la realización 1H en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m/z: 459 [M+1]⁺.

Realización 1I



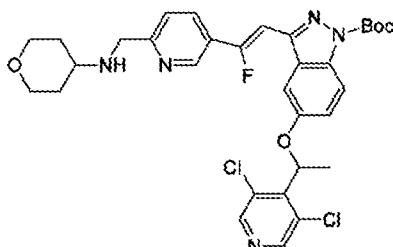
- 15
20 A una solución de la realización 1H (748 mg, 1,63 mmol) en diclorometano (12 ml) se le añadieron trietilamina (495 mg, 4,89 mmol), dicarbonato de di-terc-butilo (356 mg, 1,63 mmol) y DMAP (20 mg, 0,16 mmol). La solución de reacción obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de la finalización de la reacción, la mezcla se ajustó a aproximadamente pH de 7 con ácido clorhídrico 1 M y se extrajo con diclorometano (20 mlx3). Las fases orgánicas se combinaron, y se lavaron con salmuera saturada (20 ml), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron, y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice para obtener la realización 1I en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m/z: 559 [M+1]⁺.

Realización 1J



A una solución de la realización 1I (280 mg, 0,5 mmol) en diclorometano (6 ml) se le añadió reactivo de Dess-Martin (318 mg, 0,75 mmol) en porciones a temperatura ambiente. La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se enfrió en un baño de agua helada y precipitó un sólido blanco. La solución de reacción se filtró y el filtrado se evaporó hasta sequedad para obtener la realización 1J en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m/z: 557 [M+1]⁺.

Realización 1K

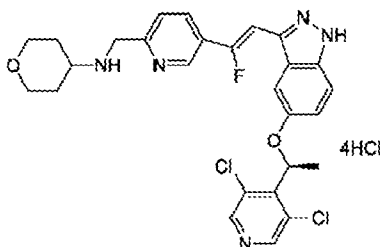


A una solución de la realización 1J (50 mg, 90 μmol) y tetrahidro-2-hidropiran-4-amina (18 mg, 180 μmol) en 1,2-dicloroetano (2,5 ml) se le añadió ácido acético (aproximadamente 0,1 ml) a temperatura ambiente hasta que el valor de pH de la solución es aproximadamente 5. La solución de reacción se agitó durante 2 horas. Se añadió cianoborohidruro de sodio (12 mg, 180 μmol) a la solución de reacción a temperatura ambiente, y la solución de reacción se continuó agitando durante 1 hora. Se añadió agua (5 ml) a una solución de reacción, seguido de la adición de diclorometano (20 ml x3) para la extracción. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada (20 ml), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron, y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna sobre gel de sílice para obtener la realización 1K. La muestra sólida se sometió a resolución de columna quiral para obtener la configuración 1K-R de la realización (8 mg) y la configuración 1K-S de la realización (8 mg).

CLEM (IEN) m/z: 642 [M+1]⁺.

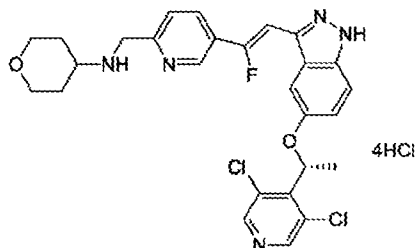
Método de columna quiral: Columna quiral, Chiralcel OJ-H 250x4,6 mm D.I., 5 μm; fase móvil, metanol (DEA (dietilamina) al 0,05 %)-CO₂ del 5 % al 40 %; caudal, 2,35 ml/min; longitud de onda, 280 nm.

Realización 1L



A una solución de la configuración 1K-S de la realización (15 mg, 23 μmol) (se obtuvieron 15 mg de producto de la configuración 1K-S mediante una reacción amplificada de escala de 200 mg según el método de preparación de la realización 1K) en metanol (1 ml) se le añadió una solución recién preparada de cloruro de acetilo (1 ml) en metanol (3 ml) bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La solución de reacción se agitó a 40 °C durante 3 horas. La solución se eliminó al vacío para obtener la realización 1L. CLEM (IEN) m/z: 542 [M+1]⁺. ¹H-RMN (400 MHz, METANOL-d₄) ppm 9,04 (s, 1H), 8,50 (s, 2H), 8,23 (d, J= 7,03 Hz, 1H), 7,64 (d, J=8,03 Hz, 1H), 7,49 (d, J=8,53 Hz, 1H), 7,18-7,26 (m, 2H), 7,04 (s, 2H), 6,12 (q, J= 6,53 Hz, 1H), 4,53 (s, 2H), 4,08 (dd, J= 4,02, 11,54 Hz, 2H), 3,56-3,66 (m, 7H), 2,15 (d, J=11,04 Hz, 2H), 1,83 (d, J= 6,53 Hz, 4H), 1,18 (t, J= 7,03 Hz, 9H).

Realización de referencia 1



Como método descrito en la realización 1L, se añadió una solución recién preparada de cloruro de acetilo (1 ml) en metanol (3 ml) a una solución de la configuración 1K-R de la realización (15 mg, 23 μ mol) (se obtuvieron 15 mg de producto de la configuración 1K-R mediante una reacción amplificada de escala de 200 mg) en metanol (1 ml) bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La solución de reacción se agitó a 40 °C durante 3 horas. La solución se eliminó al vacío para obtener la realización de referencia 1. CLEM (IEN) m/z: 542 [M+1]⁺. ¹H-RMN (400 MHz, METANOL-d₄) ppm 8,95-9,12 (m, 1H), 8,44-8,59 (m, 1H), 8,25 (s a, 1H), 7,68 (s a, 1H), 7,51 (d, J=8,78 Hz, 1H), 7,25 (d, J= 15,06 Hz, 2H), 6,91-7,10 (m, 1H), 6,13 (d, J= 5,77 Hz, 1H), 4,54 (s a, 2H), 4,07 (d, J=10,54 Hz, 2H), 3,42-3,57 (m, 3H), 2,15 (d, J=10,79 Hz, 2H), 1,83 (m, 5H).

La realización de referencia 1 se disolvió en metanol, se disoció con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se sometió a evaporación rotatoria hasta sequedad para obtener un compuesto de fórmula (I).

Realización de referencia 2: Preparación de la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I)

La realización de referencia 1 se disolvió en metanol, se disoció con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se sometió a evaporación rotatoria hasta sequedad, seguido de suspensión con una pequeña cantidad de metanol para la purificación, y se filtró para obtener un sólido. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina A del compuesto de fórmula (I).

Realización de referencia 3: preparación de la forma cristalina B del compuesto de fórmula (I)

Se pesaron 30 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio, seguido de la adición de 400 μ l de metanol para obtener una suspensión. La muestra de suspensión se colocó en un agitador magnético (40 °C) y se sometió a un ensayo de agitación en la oscuridad. La muestra de suspensión se agitó a 40 °C durante 2 días y después se centrifugó, y después la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó durante la noche. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina B del compuesto de fórmula (I).

Realización de referencia 4: Preparación de la forma cristalina C del compuesto de fórmula (I)

Se pesaron 30 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio, seguido de la adición de 400 μ l de acetato de etilo-etanol (3:2) para obtener una suspensión. La muestra de suspensión se colocó en un agitador magnético (40 °C) y se sometió a un ensayo de agitación en la oscuridad. La muestra de suspensión se agitó a 40 °C durante 2 días y después se centrifugó, y después la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó durante la noche. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina C del compuesto de fórmula (I).

Realización de referencia 5: Preparación de la forma cristalina D del compuesto de fórmula (I)

Se pesaron 30 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio, seguido de la adición de 400 μ l de acetona para obtener una suspensión. La muestra de suspensión se colocó en un agitador magnético (40 °C) y se sometió a un ensayo de agitación en la oscuridad. La muestra de suspensión se agitó a 40 °C durante 2 días y después se centrifugó, y después la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó durante la noche. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina D del compuesto de fórmula (I).

Realización de referencia 6: Preparación de la forma cristalina E del compuesto de fórmula (I)

Se pesaron 30 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio, seguido de la adición de 400 μ l de isopropanol para obtener una suspensión. La muestra de suspensión se colocó en un agitador magnético (40 °C) y se sometió a un ensayo de agitación en la oscuridad. La muestra de suspensión se agitó a 40 °C durante 2 días y después se centrifugó, y después la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó durante la noche. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina E del compuesto de fórmula (I).

Realización de referencia 7: Preparación de la forma cristalina F del compuesto de fórmula (II)

Se pesaron 60 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio con una barra de agitación

magnética. La botella de vidrio se colocó en un agitador magnético. Se añadieron 1,8 ml de acetato de etilo y la mezcla obtenida se calentó hasta 50 °C para obtener una solución transparente. Se añadió lentamente una cantidad apropiada de una solución de ácido clorhídrico en etanol (1,2 ml) (con la razón molar del compuesto de fórmula (I) con respecto a ácido de 1:2), y se observó. Después de la adición de ácido clorhídrico, la solución se agitó a 50 °C durante 2 horas y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se formó precipitación, y la solución se centrifugó. A continuación, la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina F del compuesto de fórmula (II).

Realización 8: Preparación de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II)

Se pesaron 30 mg de clorhidrato del compuesto de fórmula (I) (realización de referencia 1) y se colocaron en una botella de vidrio, y se añadieron 400 µl de metanol. La muestra disuelta se centrifugó rápidamente. El sobrenadante se colocó en un tubo de centrifuga, y el tubo de centrifuga se selló con una lámina de aluminio empapada con poros. El tubo de centrifuga se colocó en una campana extractora para su volatilización. La muestra de suspensión se colocó en un agitador magnético, se agitó (40 °C) (en la oscuridad) y se centrifugó rápidamente después de 2 días. El sobrenadante se puso en una campana extractora para volatilizarse hasta sequedad. La muestra residual obtenida por centrifugación y el sólido obtenido por volatilización se recogieron y se secaron en un horno de vacío a 30 °C durante la noche. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II).

Realización 9: Preparación de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II)

Se añadió etanol (1,25 l) al matraz de tres bocas (3 l) que contenía el compuesto de fórmula (I) (41,7 g); la solución de reacción se calentó hasta 90 °C y se añadió gota a gota ácido clorhídrico/acetato de etilo (38,4 ml) al matraz. Después de agitar a 90 °C durante 2 horas, la solución de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20 horas; la solución de reacción se filtró y el sólido obtenido se lavó con 0,1 l de etanol; el sólido obtenido finalmente se trató con un evaporador rotatorio (50 °C, 6 horas) para eliminar una pequeña cantidad de etanol contenido en el mismo para obtener la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II).

Realización de referencia 10: Preparación de la forma cristalina H del compuesto de fórmula (II)

Se pesaron 30 mg del clorhidrato del compuesto de fórmula (I) (realización de referencia 1) y se colocaron en una botella de vidrio, y se añadieron 400 µl de etanol. La muestra disuelta se centrifugó rápidamente, y el sobrenadante se colocó en un tubo de centrifuga. El tubo de centrifuga se selló con una lámina de aluminio empapada con poros. El tubo de centrifuga se colocó en una campana extractora para su volatilización. La muestra de suspensión se colocó en un agitador magnético, se agitó (40 °C) (en la oscuridad) y se centrifugó rápidamente después de 2 días. El sobrenadante se puso en una campana extractora para volatilizarse hasta sequedad. La muestra residual obtenida por centrifugación y el sólido obtenido por volatilización se recogieron y se secaron en un horno de vacío a 30 °C durante la noche. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina H del compuesto de fórmula (II).

Realización de referencia 11: Preparación de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III)

Se pesaron 60 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio con una barra de agitación magnética. La botella de vidrio se colocó en un agitador magnético. Se añadieron 1,8 ml de acetato de etilo y la mezcla obtenida se calentó hasta 50 °C para obtener una solución transparente. Se añadió lentamente una cantidad apropiada de una solución de ácido cítrico en etanol (1,2 ml) (con la razón molar del compuesto de fórmula (I) con respecto a ácido de 1:2), y se observó. Después de la adición de ácido clorhídrico, la solución se agitó a 50 °C durante 2 horas y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se formó precipitación, y la solución se centrifugó. A continuación, la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III).

Realización de referencia 12: Preparación de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV)

Se pesaron 60 mg del compuesto de fórmula (I) y se añadieron a una botella de vidrio con una barra de agitación magnética. La botella de vidrio se colocó en un agitador magnético. Se añadieron 1,8 ml de acetato de etilo y la mezcla obtenida se calentó hasta 50 °C para obtener una solución transparente. Se añadió lentamente una cantidad apropiada de una solución de ácido L-málico en etanol (1,2 ml) (con la razón molar del compuesto de fórmula (I) con respecto a ácido de 1:2), y se observó. Después de la adición de ácido clorhídrico, la solución se agitó a 50 °C durante 2 horas y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se formó precipitación, y la solución se centrifugó. A continuación, la muestra residual se colocó en un horno de vacío (40 °C) y se secó. Se usó XRPD para detectar el estado de la forma cristalina, y se obtuvo la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV).

Ejemplo de ensayo de referencia 1: Ensayo de solubilidad de los compuestos de fórmula (I), (II), (III) o (IV)

Preparación de la solución de muestra de control (usando el compuesto de fórmula (I) como muestra de control)

Se pesaron con precisión aproximadamente 5 mg del compuesto de fórmula (I), y se colocaron en una botella de

muestra. Se añadieron 10 ml de acetonitrilo. La mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos, se enfrió hasta temperatura ambiente y se mezcló bien. Se prepararon dos soluciones de muestra de control en paralelo y se marcaron como STD-1 y STD-2, respectivamente.

Preparación de solución lineal

- 5 La solución de muestra de control STD-1 se diluyó en serie 1, 5, 10, 100 y 1000 veces y se marcó como soluciones lineales L1, L2, L3, L4 y L5.

Ensayo de solubilidad del compuesto (I) y su sal

- 10 Se sometió a ensayo la solubilidad del compuesto de fórmula (I) y su sal en 4 vehículos con diferentes pH. Se pesaron aproximadamente 10 mg de los compuestos de fórmula (I)-(IV) respectivamente, luego se añadieron 5,0 ml de diferentes vehículos (agua, SGF, FaSSIF, FeSSIF) a los mismos, respectivamente, y se mezclaron bien para obtener suspensiones. Se añadieron barras de agitación magnéticas a las suspensiones, y las suspensiones se colocaron en un agitador magnético para la agitación. Después de agitar durante 2 horas, 4 horas y 24 horas, las muestras se recogieron y centrifugaron. Las muestras sólidas residuales en la capa inferior se detectaron mediante XRPD. Las concentraciones de las muestras en la capa superior se determinaron por HPLC, y también se detectó el valor de pH
- 15 de las muestras. Los resultados del ensayo de solubilidad son como se muestran en la tabla 12 y la tabla 13.

Tabla 12: Resultado del ensayo de solubilidad de los compuestos de fórmula (I) y (II) en 4 vehículos

Vehículo	El compuesto de fórmula (I)				El compuesto de fórmula (II)			
	H ₂ O	SGF	FaSSIF	FeSSIF	H ₂ O	SGF	FaSSIF	FeSSIF
pH (vehículo)	8,23	1,57	6,62	4,59	8,23	1,57	6,62	4,59
pH (4 horas)	8,33	2,10	6,58	5,01	2,68	1,86	6,25	4,90
pH (24 horas)	7,97	2,06	6,57	5,01	2,68	1,86	6,22	4,91
Solubilidad (µg/ml)_4 horas	5,8	1971,3	781,0	1948,4	1576,9	106,3	949,7	2010,0
Solubilidad (µg/ml)_24 horas	<LOQ	1825,6	611,3	1726,2	1540,9	45,4	281,6	1831,5

Nota: <LOQ significa por debajo del límite de detección

- 20 • FaSSIF: (1) se pesaron 0,042 g de hidróxido de sodio, 0,3438 g de dihidrogenofosfato de sodio y 0,6186 g de cloruro de sodio, y se añadieron 90 ml de agua purificada y se mezclaron bien. El valor de pH de la solución obtenida se ajustó a 6,5 con ácido clorhídrico 1 N o hidróxido sódico 1 N, y la solución se diluyó con agua purificada hasta un volumen final de 100 ml. (2) Se tomaron 50 ml de la solución tampón anterior, seguido de la adición de 0,224 g de polvo de FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF disponible comercialmente (Biorelevant.com). La solución tampón se agitó hasta que se disolvió, y se diluyó con agua purificada hasta un volumen final de 100 ml. La solución tampón se puso a temperatura ambiente. Después de reposar durante dos horas, se observó que la solución tampón era ligeramente blanca lechosa
- 25 y estaba lista para su uso.

- 30 • FeSSIF: (1) se pesaron 0,404 g de hidróxido de sodio, 0,865 g de ácido acético glacial, 1,1874 g de cloruro de sodio, y se añadieron 90 ml de agua purificada y se mezclaron bien. El valor de pH de la solución obtenida se ajustó a 5,0 con ácido clorhídrico 1 N o hidróxido de sodio 1 N, y la solución se diluyó con agua purificada hasta un volumen final de 100 ml. (2) Se tomaron 50 ml de la solución tampón anterior, seguido de la adición de 1,12 g de polvo de FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF disponible comercialmente (Biorelevant.com). La solución tampón se agitó hasta que se disolvió, y se diluyó con agua purificada hasta un volumen final de 100 ml. La solución tampón se puso a temperatura ambiente. Después de reposar durante dos horas, se observó que la solución tampón era un líquido transparente y estaba lista para su uso.

- 35 FaSSGF (SGF): (1) se añadieron 0,2 g de cloruro de sodio a 90 ml de agua purificada y se mezclaron bien. El valor de pH del mismo se ajustó a 1,8 con ácido clorhídrico 1 N y la solución se diluyó con agua purificada hasta un volumen final de 100 ml. La solución obtenida se dejó reposar a temperatura ambiente.

Tabla 13 Resultados del ensayo de solubilidad de los compuestos de fórmula (III) y (IV) en 4 vehículos

Vehículo	El compuesto de fórmula (III)				El compuesto de fórmula (IV)			
	H ₂ O	SGF	FaSSiF	FeSSiF	H ₂ O	SGF	FaSSiF	FeSSiF
pH (vehículo)	8,23	1,57	6,62	4,59	8,23	1,57	6,62	4,59
pH (4 horas)	5,60	2,09	6,43	4,96	6,93	2,09	6,26	4,95
pH (24 horas)	5,47	2,08	6,33	4,97	6,46	2,09	6,27	4,95
Solubilidad (µg/ml)_4 horas	99,5	2422,6	910,0	2373,7	7,4	2470,7	1127,3	2410,4
Solubilidad (µg/ml)_24 horas	183,9	16,8	941,5	2229,7	19,3	43,3	823,6	2281,9

Conclusión: los datos de solubilidad de las sales en vehículo biológico muestran que el clorhidrato tiene la mayor solubilidad en la fase acuosa, y las tres sales tienen una solubilidad similar en líquido intestinal simulado y líquido gástrico simulado; y la base libre tiene una buena solubilidad en los tres vehículos biológicos, pero es extremadamente difícil de disolver en agua.

Ejemplo de ensayo 2: Ensayo de estabilidad sólida de la forma cristalina G, la forma cristalina I y la forma cristalina J (las formas cristalinas I y J no son parte de la presente invención)

Se pesaron con precisión aproximadamente 10 mg de forma cristalina G, forma cristalina I o forma cristalina J, y se colocaron en el fondo de una botella de muestra de vidrio de 40 ml y se extendieron en una capa fina. Para una muestra abierta, la boca de la botella de la misma se selló con papel de aluminio empapado con poros para garantizar que la muestra pueda entrar en contacto completamente con el aire ambiente. Para una muestra sellada, la boca de la botella de la misma se selló con una tapa de botella, y se envolvió con una película de sellado. Se pesaron dos muestras duplicadas en cada punto de tiempo de cada condición en paralelo, y se tomó una cantidad apropiada de muestra (no pesada) adicionalmente para la detección de XRPD. Las muestras preparadas se colocaron en cada condición y se tomaron muestras y se analizaron cuando llegó el punto de tiempo. El día 0, se pesaron 5 muestras de control en paralelo y se almacenaron en un refrigerador a -20 °C hasta el análisis. Las muestras sometidas a irradiación de luz se prepararon mediante el mismo método, y se colocaron en el fondo de una botella de muestra de vidrio de 40 ml. La botella de vidrio se dejó abierta y se colocó en la posición vertical en una caja de irradiación de luz. Además, se tomaron dos muestras en una cantidad apropiada como muestras en la oscuridad, y las botellas de vidrio que contenían las mismas se dejaron abiertas, se colocaron en la posición vertical y se envolvieron con lámina de estaño, y se irradiaron con una luminancia total de $1,2 \times 10^6$ Lux.h y una potencia ultravioleta cercana de 200 w.h/m². Después de la irradiación, las muestras se almacenaron en el refrigerador a -20 °C para su análisis.

Los compuestos se colocaron en las siguientes condiciones y se tomaron muestras en diferentes puntos de tiempo para detectar las propiedades físicas, y el contenido y las impurezas totales se analizaron por HPLC. Las condiciones de investigación y los elementos de ensayo se muestran en la tabla 14 a la tabla 16.

Tabla 14: Ensayo de estabilidad sólida de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II)

Condición de ensayo	Punto de tiempo	Apariencia	Forma cristalina (XRPD)	Contenido (%)	Impurezas totales (%)
-	0º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	100	0,11
Alta temperatura (60 °C, abierta)	5º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	102,02	0,16
	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	100,14	0,16
Humedad elevada (temperatura ambiente/humedad relativa del 92,5 %, abierta)	5º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	100,82	0,11
	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	98,79	0,11
Irradiación de luz (iluminancia total: $1,2 \times 10^6$)	Irradiación de luz	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	102,93	0,37
Lux•h; ultravioleta cercano: 200 w•h/m ² , abierta)	Oscuro	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	101,69	0,11

Condición de ensayo	Punto de tiempo	Apariencia	Forma cristalina (XRPD)	Contenido (%)	Impurezas totales (%)
Ensayo acelerado (40 °C/humedad relativa 75 %, abierta)	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	99,97	0,11
	1º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	102,45	0,16
	2º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	101,07	0,17
	3º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	98,81	0,18
Ensayo acelerado (60 °C/humedad relativa 75 %, abierta)	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	98,38	0,15
	1º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	101,51	0,17
	2º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	99,86	0,18
	3º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina G	100,21	0,19

Tabla 15: Ensayo de estabilidad sólida de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III)

Condición de ensayo	Punto de tiempo	Apariencia	Forma cristalina (XRPD)	Contenido (%)	Impurezas totales (%)
-	0º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	100,00	1,91
Alta temperatura (60 °C, abierta)	5º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	100,40	1,93
	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	100,26	1,83
Humedad elevada (temperatura ambiente/humedad relativa del 92,5 %, abierta)	5º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,10	1,88
	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,92	1,73
Irradiación de luz (iluminancia total: 1,2x10 ⁶ Lux•h/ultravioleta cercano: 200 w•h/m ² , abierta)	Irradiación de luz	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	97,37	2,35
	Oscuro	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,42	1,85
Ensayo acelerado (40 °C/humedad relativa 75 %, abierta)	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,93	1,85
	1º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,83	1,88
	2º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	100,06	1,82
	3º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,32	1,86
Ensayo acelerado (60 °C/humedad relativa 75 %, abierta)	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	100,19	1,85
	1º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	99,95	1,74
	2º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	98,46	1,79
	3º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina I	97,31	1,83

Tabla 16: Ensayo de estabilidad sólida de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV)

Condición de ensayo	Punto de tiempo	Apariencia	Forma cristalina (XRPD)	Contenido (%)	Impurezas totales (%)
-	0º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	100,00	1,42
Alta temperatura (60 °C, abierta)	5º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	98,83	1,39
	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	99,11	1,46
Humedad elevada (temperatura ambiente/humedad relativa del 92,5 %, abierta)	5º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	99,06	1,31
	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	100,58	1,32
Irradiación de luz (iluminancia total: $1,2 \times 10^6$ Lux•h/ultravioleta cercano: 200 w•h/m ² , abierta)	Irradiación de luz	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	96,41	1,90
	Oscuro	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	98,04	1,30
Ensayo acelerado (40 °C/humedad relativa 75 %, abierta)	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	99,44	1,33
	1º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	99,31	1,36
	2º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	99,40	1,20
	3º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	98,62	1,20
Ensayo acelerado (60 °C/humedad relativa 75 %, abierta)	10º día	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	99,05	1,36
	1º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	97,07	1,43
	2º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	97,22	1,48
	3º mes	Polvo amarillo térreo	Forma cristalina J	97,18	1,53

- 5 Conclusión: tanto los factores influyentes como los ensayos acelerados muestran que las formas cristalinas G, I y J tienen una excelente estabilidad térmica y estabilidad en condiciones aceleradas, generan ligeras impurezas en condiciones de irradiación de luz y presentan buena estabilidad en condiciones de oscuridad.

Ejemplo de ensayo de referencia 3: Ensayo de higroscopicidad de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III)

Materiales experimentales:

Analizador sorción dinámica de vapor SMS DVS Advantage

- 10 Método experimental:

Se tomaron de 10 a 15 mg de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III) y se colocaron en una bandeja de muestras de DVS para someterse a ensayo.

Resultados experimentales:

- 15 El patrón de DVS de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (III) es como se muestra en la figura 20, $\Delta W=2,134$ %.

Resultados experimentales:

La forma cristalina I del compuesto de fórmula (III) tiene una ganancia de peso higroscópico del 2,134 % a 25 ± 1 °C y 80 ± 2 % de HR, que es higroscópico.

Ejemplo de ensayo de referencia 4: Ensayo de higroscopicidad de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV)

5 Materiales experimentales:

Analizador de sorción dinámica de vapor SMS DVS Advantage

Método experimental:

Se tomaron de 10 a 15 mg de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV) y se colocaron en una bandeja de muestras de DVS para someterse a ensayo.

10 Resultados experimentales:

El patrón de DVS de la forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV) es como se muestra en la figura 24, $\Delta W=5,227$ %.

Resultados experimentales:

15 La forma cristalina J del compuesto de fórmula (IV) tiene una ganancia de peso higroscópico del 5,227 % a 25 ± 1 °C y 80 ± 2 % de HR, que es higroscópico.

Ejemplo de ensayo de referencia 5: Ensayo de actividad enzimática *in vitro* del compuesto de la presente divulgación

Propósito experimental:

La actividad enzimática se detectó mediante el ensayo de detección de quinasas Z'-LYTE™ y se usó el valor de CI_{50} del compuesto como indicador para evaluar el efecto inhibidor del compuesto contra FGFR1.

20 Materiales experimentales:

FGFR1 (Invitrogen n.º PV4105)

Tyr4 (Invitrogen-PR5053U)

ATP (Sigma-A7699)

DMSO (n.º de cat. de Sigma 34869-100ML)

25 Solución tampón de reacción: Hepes 50 mM (pH 7,5), $MgCl_2$ 10 mM, EGTA 1 mM, Brij-35 al 0,01%, DTT 1 mM, $MnCl_2$ 2 mM;

Placa de reacción 384 (Corning Costar 3573)

Placa de compuesto 384 (Greiner n.º 781280)

Reactivo de desarrollo B (Invitrogen n.º PR5193D)

30 Tampón de desarrollo (Invitrogen n.º PR4876B)

Centrífuga (Eppendorf n. 5810R)

Pistola de carga electrónica (Eppendorf)

Estación de trabajo de líquidos de múltiples gotas (ThermoScientific)

Estación de trabajo automática de líquidos Bravo (Agilent)

35 Envision (Perkin Elmer)

Procedimientos y métodos experimentales:

A. Preparación de la mezcla de enzima/sustrato

FGFR1 0,6 nM, péptido Tyr⁴ 2 μ m y ATP 10 μ m en solución tampón de reacción (Hepes 50 mM, pH 7,5, $MgCl_2$ 10 mM, BRIJ-35 al 0,01%, EGTA 1 mM, $MnCl_2$ 4 mM, DTT 2 mM).

B. Carga del compuesto:

- a. Diluir el compuesto con DMSO hasta 10 mM, dilución de 3 veces, 11 gradientes, dos pocillos duplicados;
- b. transferir el compuesto diluido con una razón de 1:25 a la placa media en la estación de trabajo automática de líquidos Bravo. Después transferir 2,5 µl a la placa de reacción para garantizar que la concentración final de DMSO sea del 1 %;
- c. transferir 5 µl de enzima/tampón sustrato a cada pocillo;
- d. añadir solución de ATP a cada pocillo secuencialmente con la estación de trabajo de líquidos de múltiples gotas;
- e. centrifugar a 1000 rpm durante 1 minuto;
- f. colocar la placa de reacción en una incubadora a 23 °C y dejar reaccionar durante 60 minutos.

C. Experimento de reacción de color:

- a. Preparar una mezcla de reactivo de desarrollo B y tampón de desarrollo con una razón de 1:128;
- b. Añadir 5 µl a cada pocillo y centrifugar a 1000 rpm durante 1 minuto;
- c. Colocar la placa de reacción en una incubadora (23 °C) durante 90 minutos después de la centrifugación, sacarla y leerla en el lector de placas Envision (Perkin Elmer)

D. Análisis de datos: usar XLFIT (IDBS) para analizar los datos y calcular el valor de CI_{50} del compuesto.

Los resultados experimentales se muestran en la tabla 17:

Tabla 17: Resultados del ensayo de CI_{50} Z'-LYTE™

Muestra de ensayo	FGFR1
Realización de referencia 1	AAA

Nota: 50 nM < A ≤ 1 µM, 10 nM < AA ≤ 50 nM, AAA ≤ 10 nM, N/A significa no medido.

Conclusión: El compuesto de la presente divulgación tiene un efecto inhibidor significativo contra FGFR1.

Ejemplo de ensayo de referencia 6: Análisis de inhibición del crecimiento tumoral (TGI) del compuesto de la presente divulgación

El potencial de crecimiento evolutivo de los tumores se evaluó mediante la relación entre el volumen tumoral y el tiempo. El eje largo (L) y el eje corto (W) del tumor subcutáneo se midieron dos veces a la semana con el calibrador y el volumen tumoral (TV) se calculó mediante la fórmula $((L \cdot W^2)/2)$. Se calculó la TGI a partir de la diferencia entre la mediana del volumen tumoral en los ratones del grupo de disolvente y la mediana del volumen tumoral en los ratones del grupo de fármaco, expresado como un recuento porcentual para la mediana del volumen tumoral en el grupo de control de disolvente, calculado mediante la siguiente fórmula:

% de TGI = $((\text{mediana del volumen tumoral (control)} - \text{mediana del volumen tumoral (grupo de dosificación)}) / \text{mediana del volumen tumoral (grupo de control)}) \times 100$

El análisis estadístico original se realizó repitiendo el análisis de varianza, seguido del método de ensayo de Scheffe a posteriori para comparaciones múltiples, con disolvente solo (metilcelulosa al 0,5% + Tween al 0,2% en agua) como control negativo.

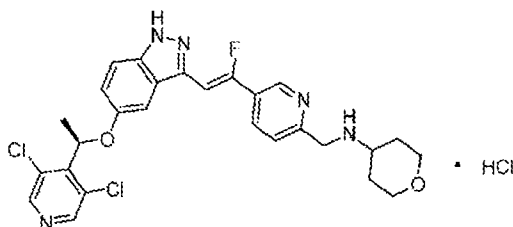
Los resultados experimentales se muestran en la tabla 18:

	Modelo de trasplante de tumor hepático derivado de pacientes con alta expresión de FGFR1/2	% de TGI (última administración)
Realización de referencia 1	5 mg/kg, BID	85

El compuesto de la presente divulgación tiene excelente actividad inhibidora de la quinasa FGFR1 *in vitro* y puede usarse como inhibidor de tirosina quinasa de molécula pequeña; y puede inhibir la proliferación celular y la angiogénesis, teniendo una excelente actividad antitumoral, y teniendo excelentes resultados para el tratamiento de diversos mamíferos (incluidos seres humanos).

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina G del compuesto de fórmula (II), en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $7,39 \pm 0,2^\circ$, $19,07 \pm 0,2^\circ$ y $20,04 \pm 0,2^\circ$; en donde dicho patrón de difracción de rayos X en polvo se obtiene usando rayos X K-alfa de cobre a una longitud de onda de 1,54056 Angstroms



(II)

2. La forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 1, en donde el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) comprende picos de difracción característicos en el siguiente ángulo 2θ : $7,39 \pm 0,2^\circ$, $19,07 \pm 0,2^\circ$, $20,04 \pm 0,2^\circ$, $21,05 \pm 0,2^\circ$, $21,76 \pm 0,2^\circ$, $25,64 \pm 0,2^\circ$, $26,23 \pm 0,2^\circ$ y $27,16 \pm 0,2^\circ$; en donde dicho patrón de difracción de rayos X en polvo se obtiene usando rayos X K-alfa de cobre a una longitud de onda de 1,54056 Angstroms.

3. La forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 2, en donde el patrón de XRPD de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) es como se muestra en la figura 11.

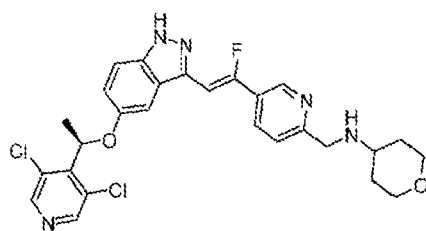
4. La forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) tiene un punto de inicio de un pico endotérmico a $278,70^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$, y tiene un punto de inicio de un pico exotérmico a $285,46^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$;

y/o, la curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) tiene una pérdida de peso del 3,870 % producida a $120^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ y una pérdida de peso del 1,170 % producida a $221,76^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$.

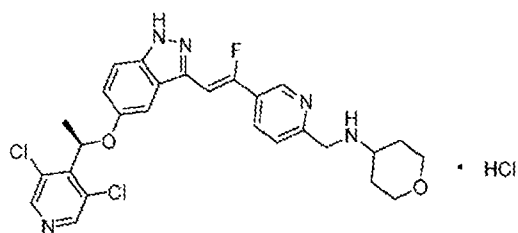
5. La forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 4, en donde el patrón de DSC de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) es como se muestra en la figura 12;

y/o, el patrón de TGA de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) es como se muestra en la figura 13.

6. Un método de preparación de la forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende añadir el compuesto de fórmula (I) en etanol, añadir ácido clorhídrico/acetato de etilo gota a gota a la botella de reacción, calentar y agitar, enfriar hasta temperatura ambiente y filtrar;



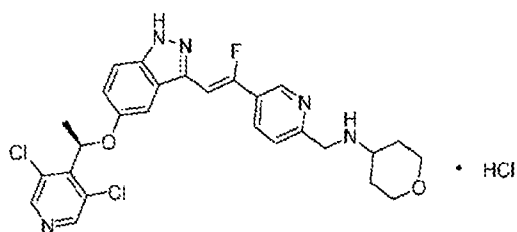
(I)



(II)

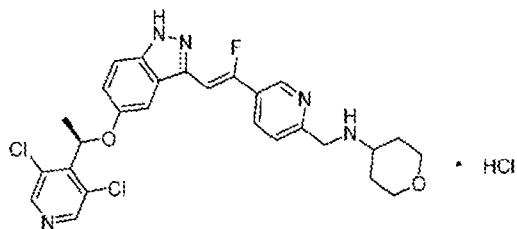
7. El método de preparación como se define en la reivindicación 6, en donde el calentamiento y la agitación se realizan a una temperatura de 85 °C a 95 °C.

5 8. La forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en al menos una de las reivindicaciones 1-5 para su uso en un método para tratar enfermedades relacionadas con inhibidores de tirosina quinasa;



(II).

9. La forma cristalina G del compuesto de fórmula (II) como se define en al menos una de las reivindicaciones 1-5 para su uso en un método para tratar un tumor;



(II).

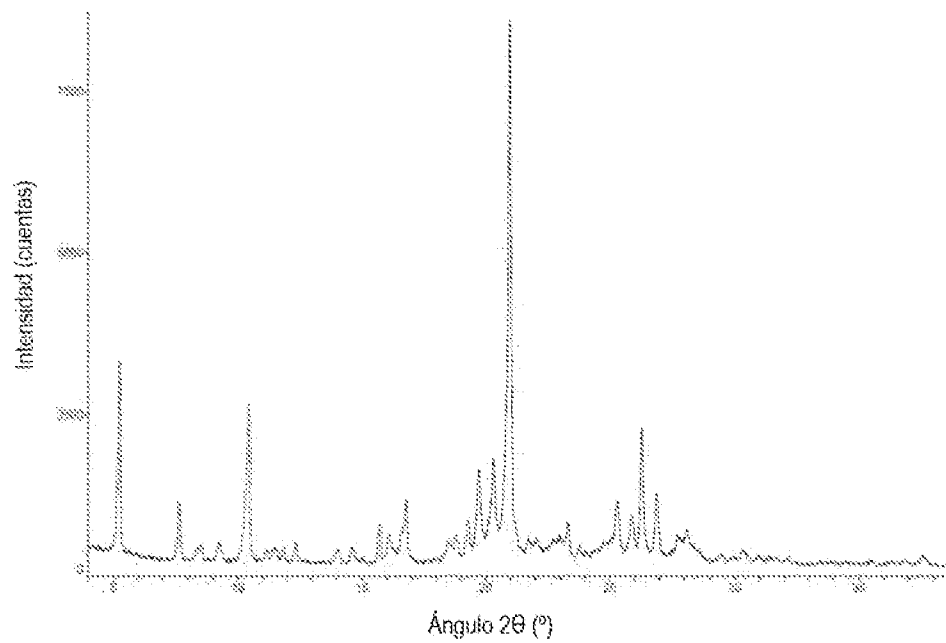


Figura 1

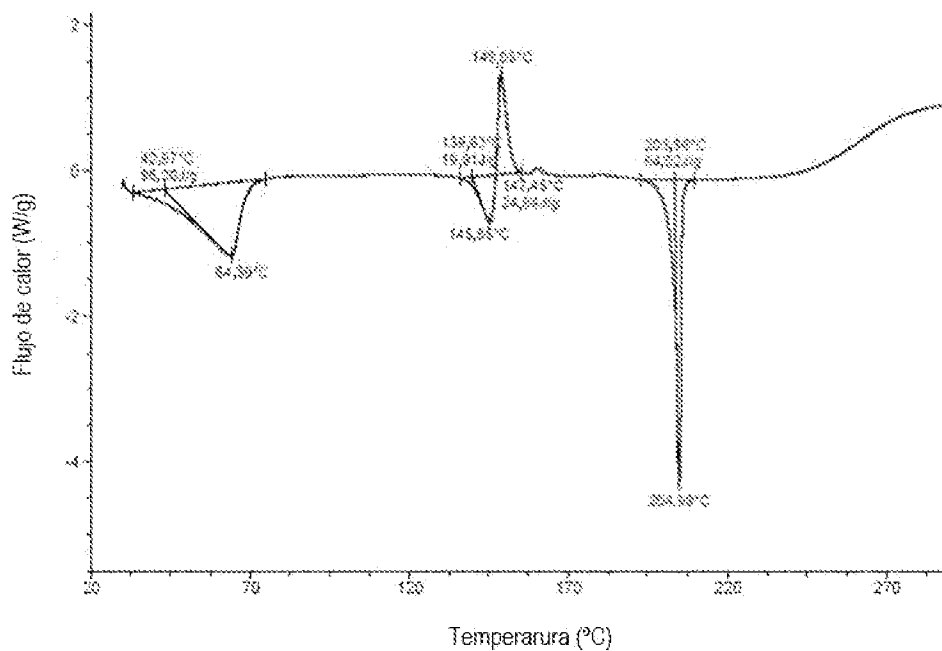


Figura 2

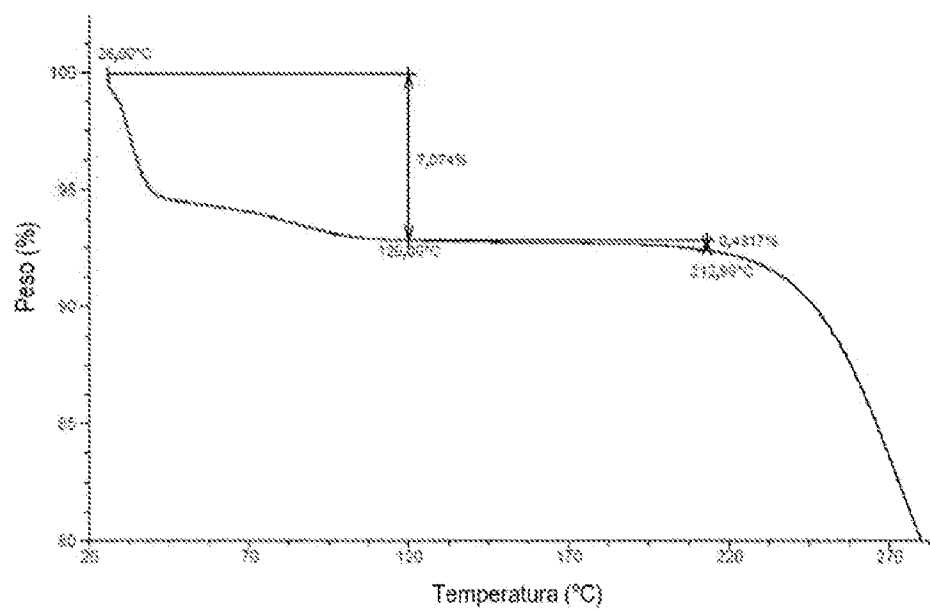


Figura 3

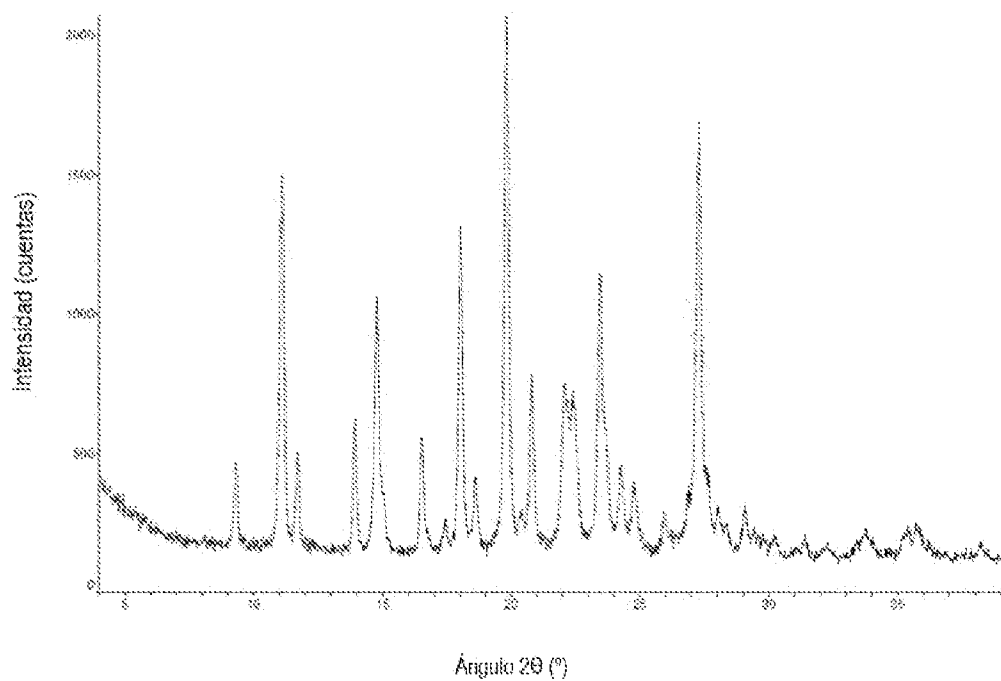


Figura 4

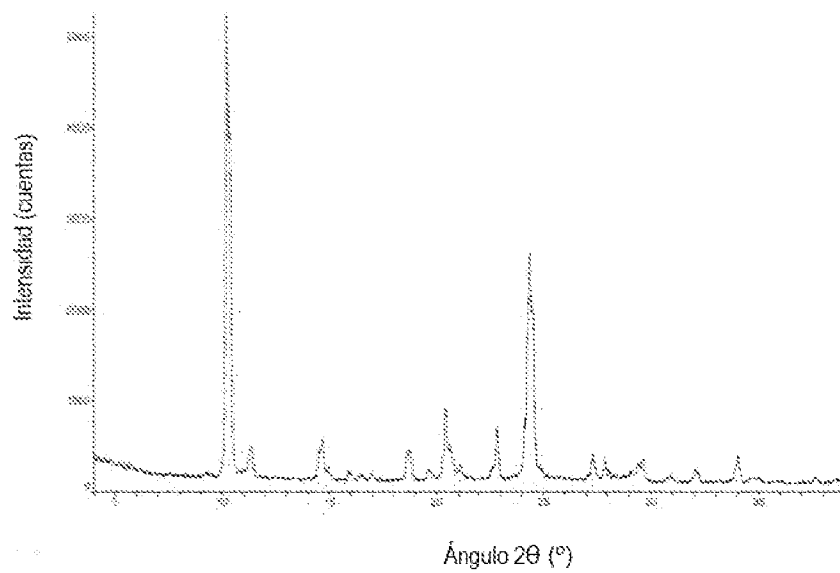


Figura 5

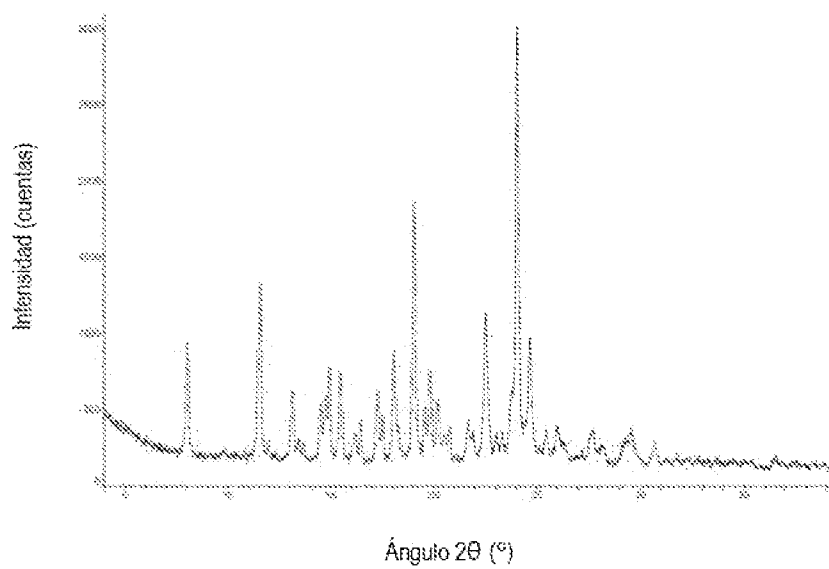


Figura 6

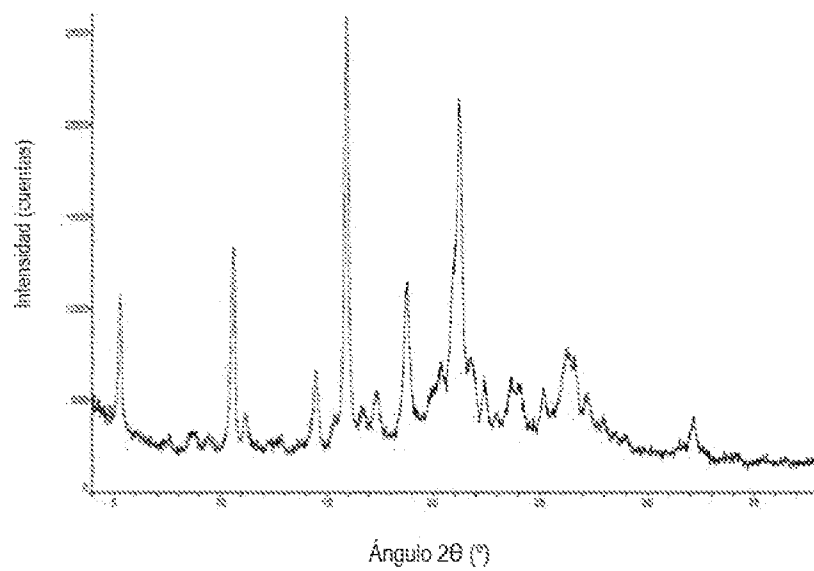


Figura 7

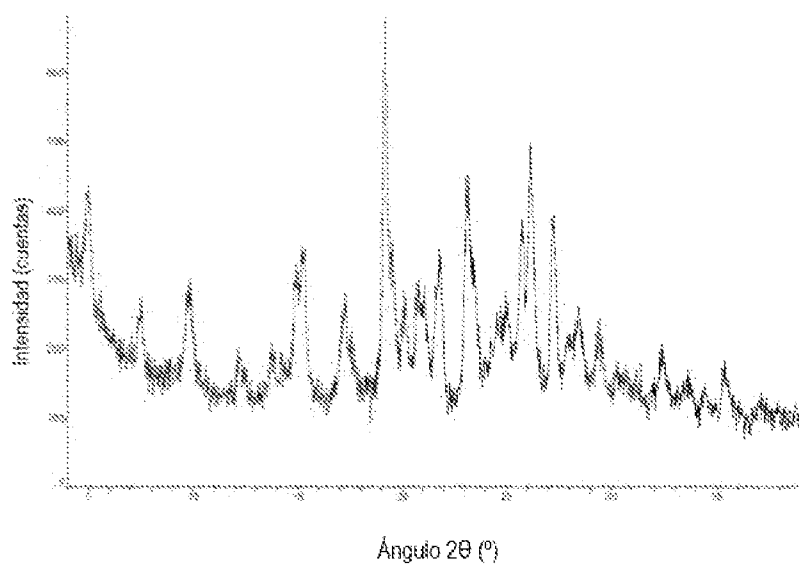


Figura 8

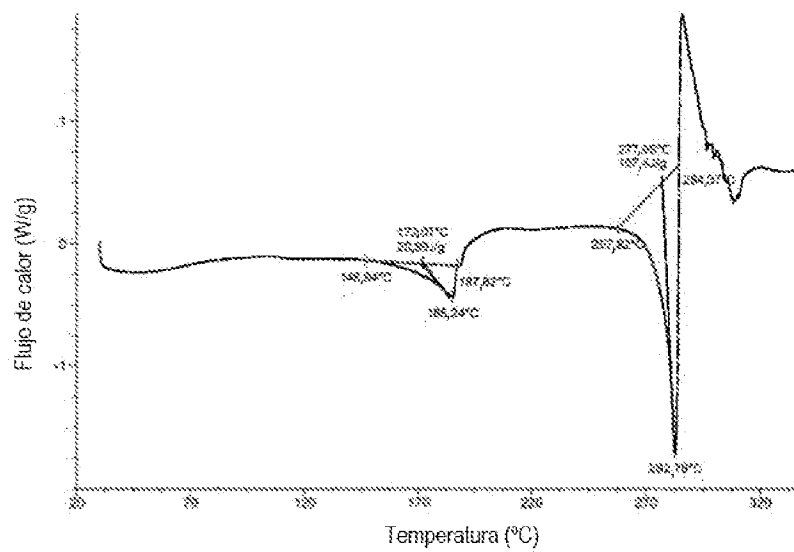


Figura 9

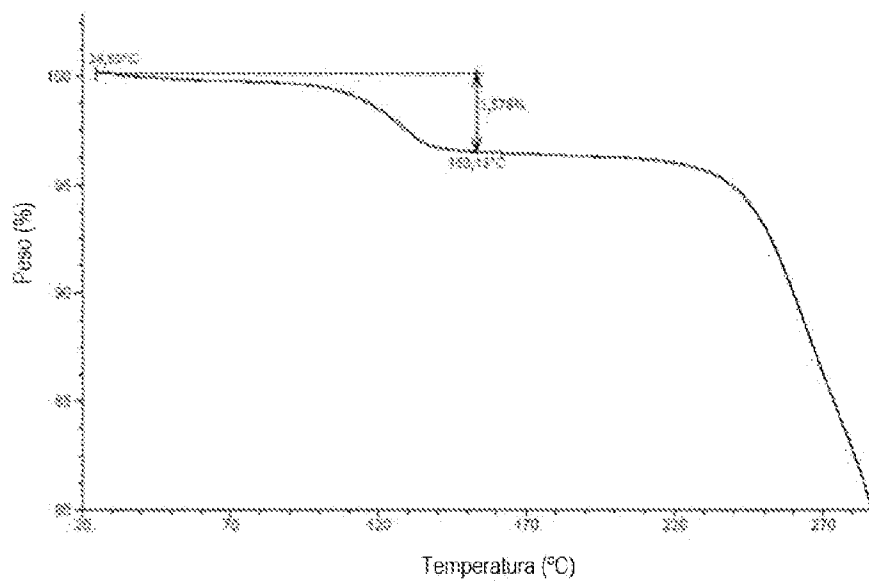


Figura 10

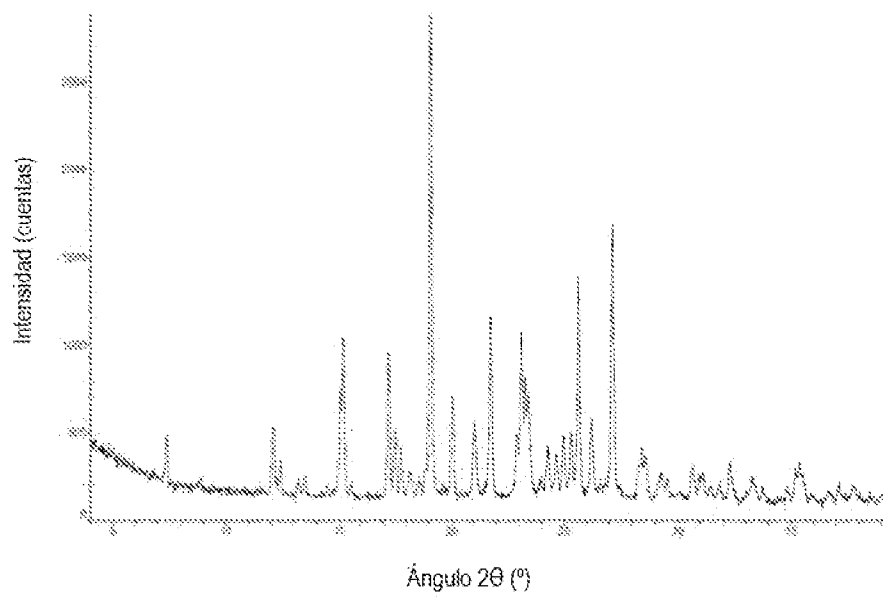


Figura 11

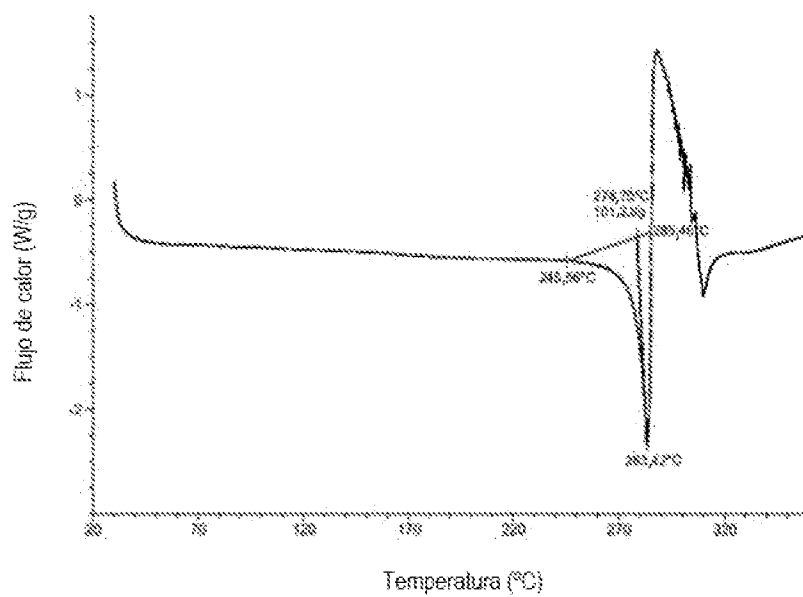


Figura 12

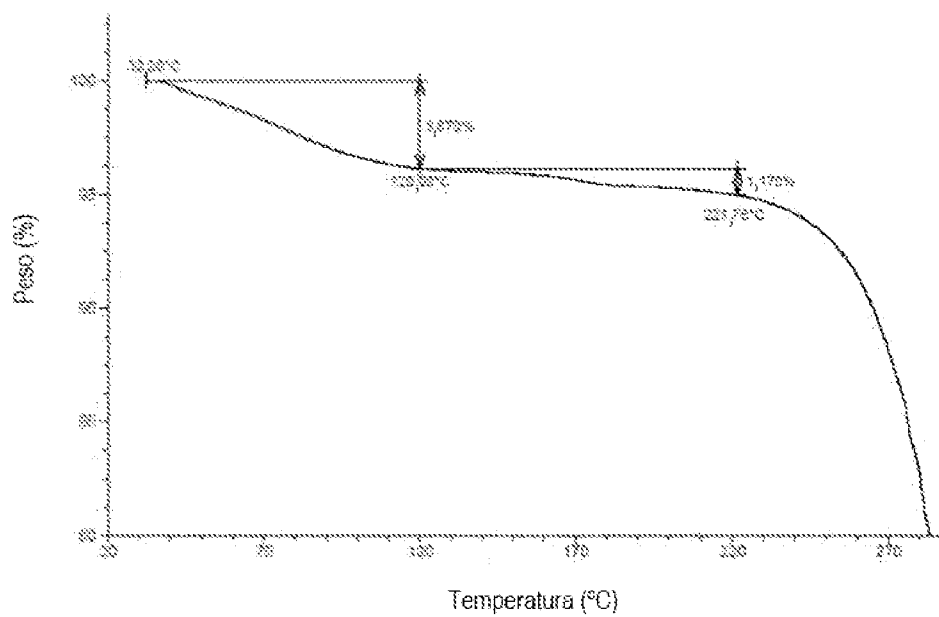


Figura 13

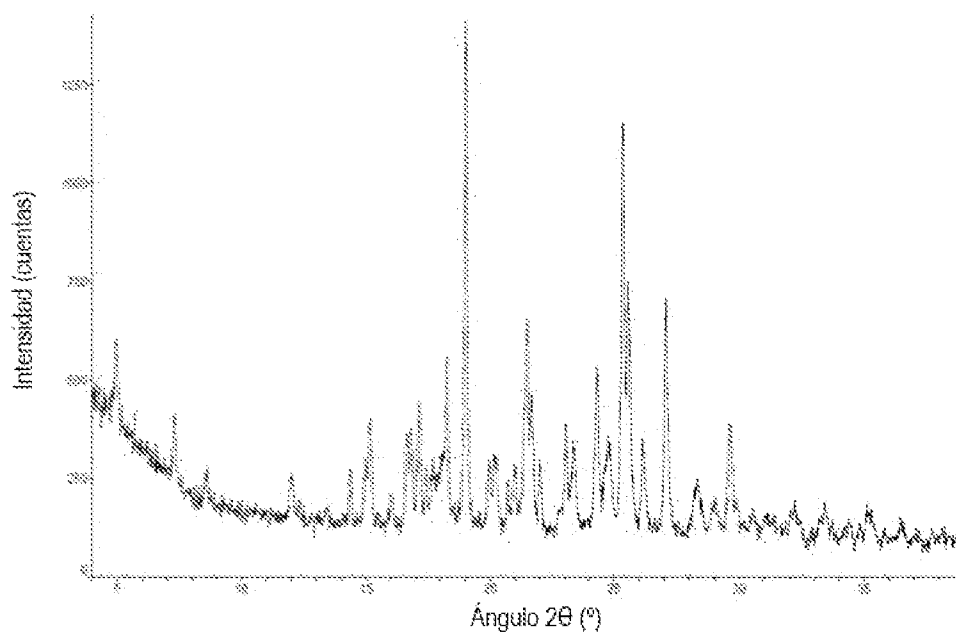


Figura 14

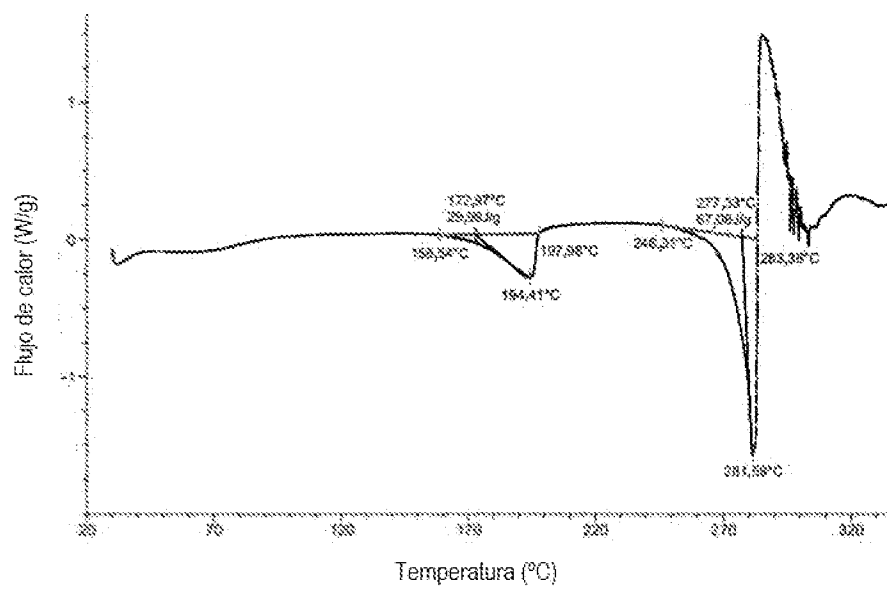


Figura 15

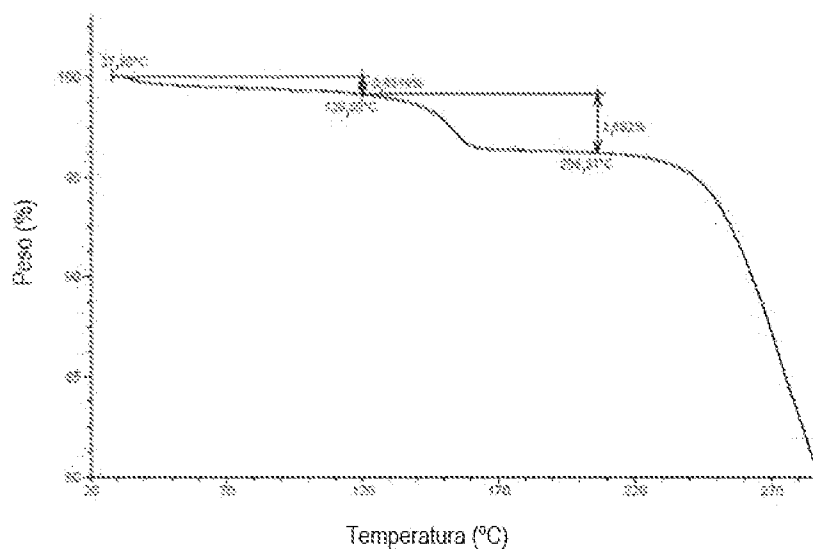


Figura 16

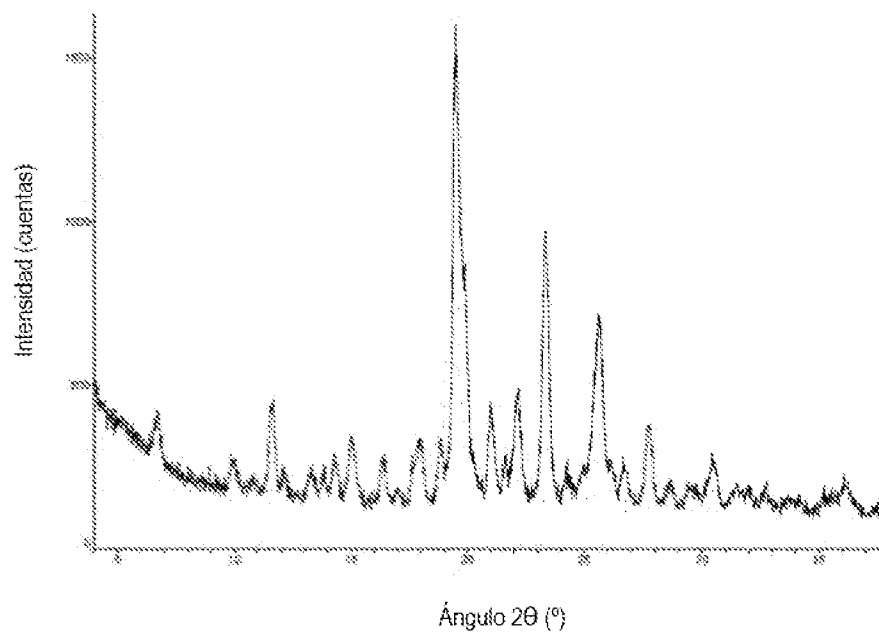


Figura 17

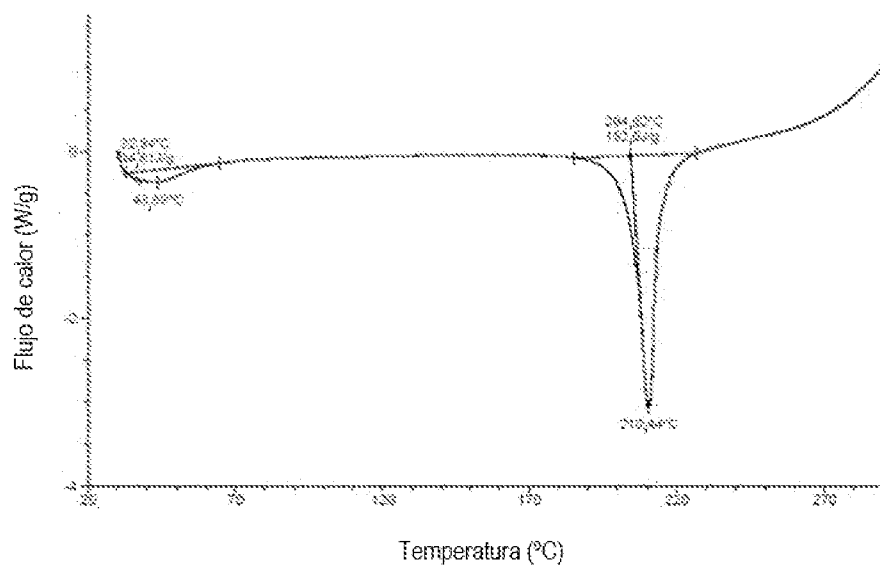


Figura 18

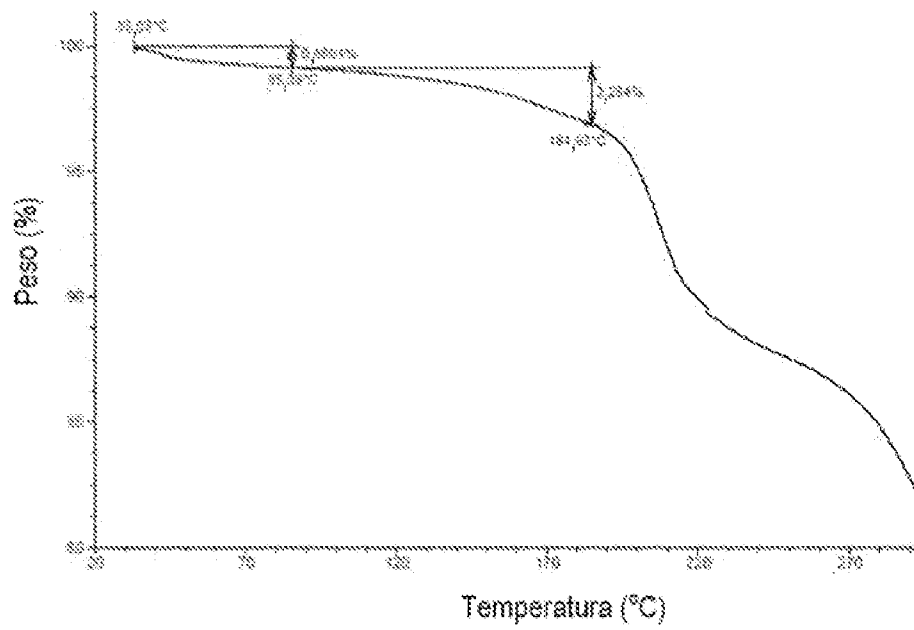


Figura 19

Isoterma de DVS

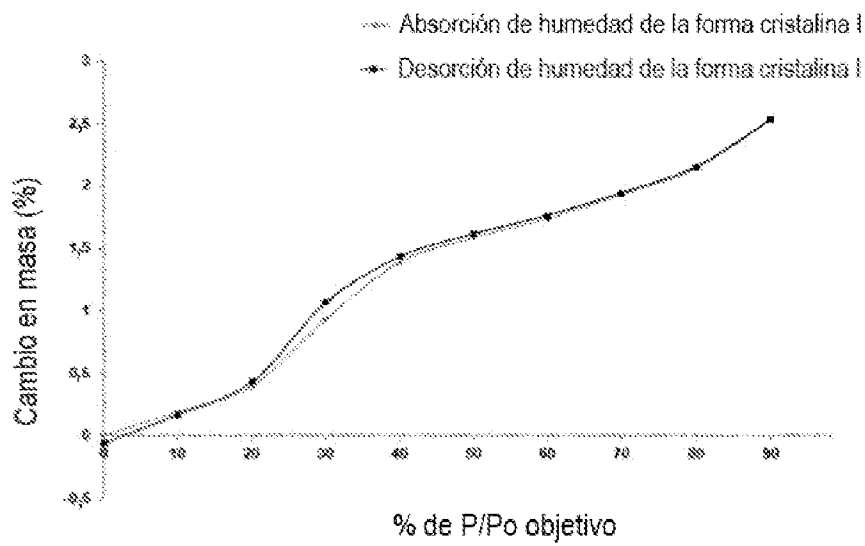


Figura 20

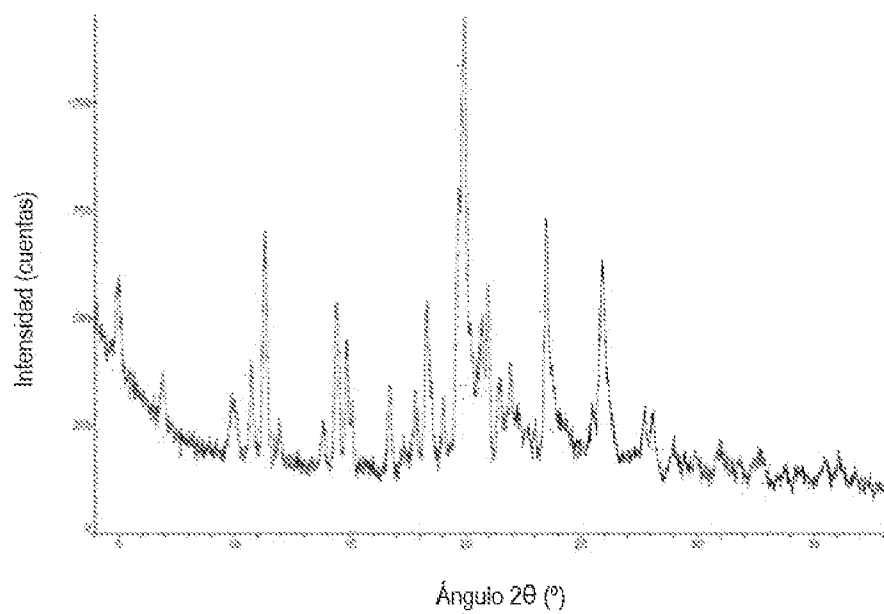


Figura 21

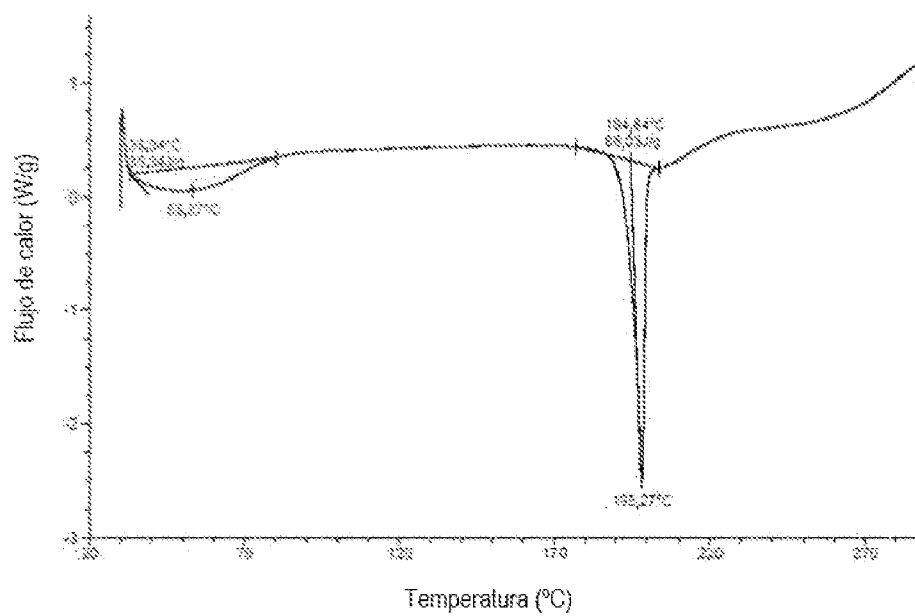


Figura 22

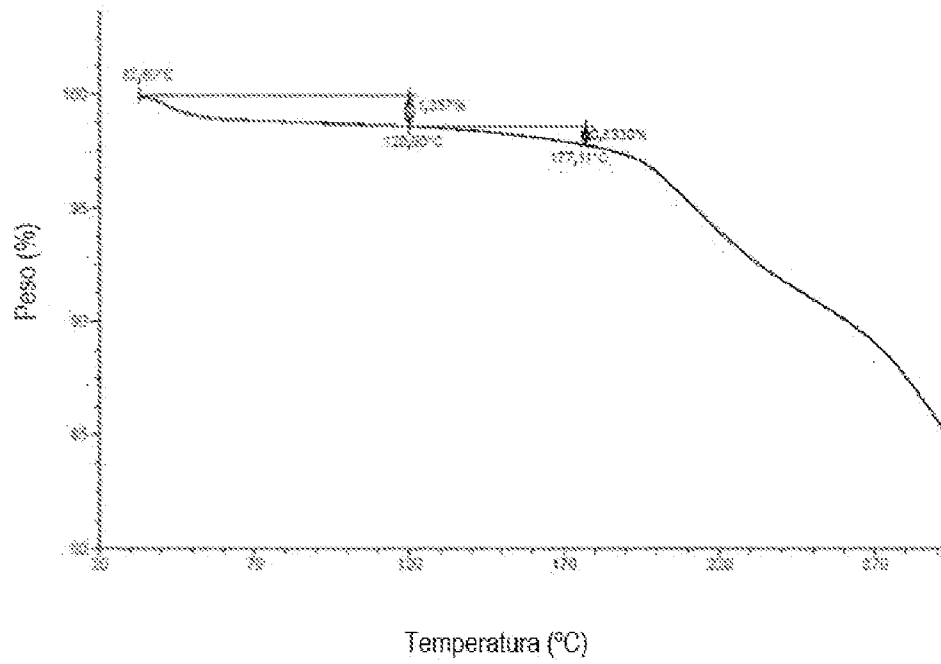


Figura 23

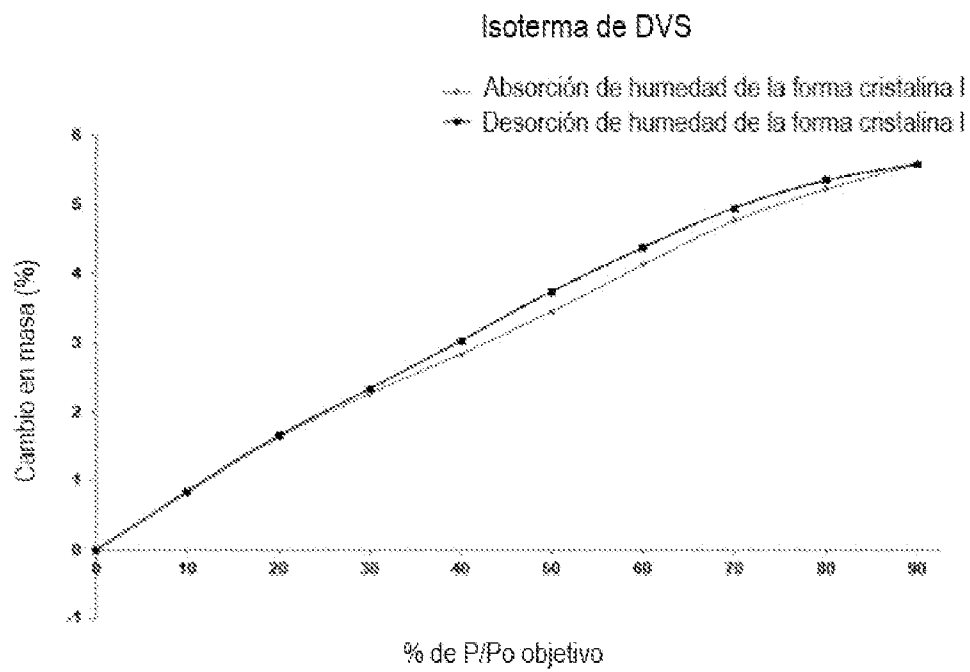


Figura 24