



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 357 942**

⑮ Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **02781589 .3**

⑯ Fecha de presentación : **25.11.2002**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1451192**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **01.09.2004**

⑮ Título: **Compuesto cristalino novedoso.**

⑯ Prioridad: **06.12.2001 US 338984 P**

⑰ Titular/es: **Pfizer Products Inc.**
Eastern Point Road
Groton, Connecticut 06340, US

⑯ Fecha de publicación de la mención BOP: **04.05.2011**

⑰ Inventor/es: **Flanagan, Mark Edward y**
Li, Zheng Jane

⑯ Fecha de la publicación del folleto de la patente: **04.05.2011**

⑰ Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 357 942 T3

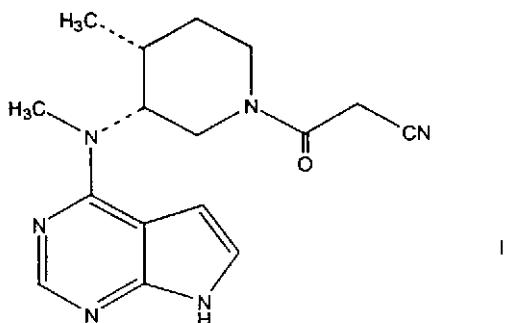
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Compuesto cristalino novedoso.

La presente invención se refiere a una forma cristalina novedosa de sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo y a su procedimiento de preparación.

5 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo tiene la fórmula química C₁₆H₂₀N₆O y la fórmula estructural siguiente



10 Su síntesis se describe en la solicitud de patente de Estados Unidos en tramitación con la presente con el número de serie 09/732,669, presentada el 8 de diciembre de 2000 y la solicitud de patente provisional de Estados Unidos con el número de serie 60/294,775, presentada el 31 de mayo de 2001, normalmente cedidas al cesionario de la presente invención y que se incorporan aquí como referencia en su totalidad. 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo, y su sal citrato correspondiente, son de utilidad como inhibidores de proteínas quinasas, como la enzima Janus Quinasa 3 (en lo sucesivo también denominada JAK3) y como tales son de utilidad terapéutica como agentes inmunosupresores para trasplantes de órganos, xenotrasplantes, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras indicaciones en las que sería deseable la inmunosupresión.

15 20 Se determinó que la forma cristalina de sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo tiene propiedades en estado sólido que son aceptables para ser utilizada en la formación de comprimidos.

La presente invención se dirige también a procedimientos para preparar la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo cristalina.

Sumario de la invención

25 La presente invención se refiere a una forma cristalina novedosa de la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo que es de utilidad para (a) tratar o prevenir un trastorno o enfermedad seleccionado entre rechazo en trasplante de órganos, xenotrasplante, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras enfermedades autoinmunes o (b) inhibir proteínas quinasas o Janus Quinasa 3 (JAK3) en un mamífero, incluido el ser humano. La forma cristalina novedosa funde a una temperatura de aproximadamente 203°C a aproximadamente 210°C, y muestra un diagrama de difracción de rayos X con picos característicos expresados en grados 2-theta (2θ) en 5,7, 16,1, 20,2 y 20,5, como se muestra en la FIG. 1. Puede encontrarse una exposición de la teoría de los diagramas de difracción rayos X de polvo en Stout & Jensen, *X-Ray Structure Determination: A Practical Guide*, MacMillan Co., New Cork, N.Y. (1968), que se incorpora como referencia en su totalidad.

30 35 La presente invención se refiere también a la forma cristalina de la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo con un termograma de calorimetría de barrido diferencial, como se muestra en la Fig. 2, mostrando un pico característico en una temperatura entre aproximadamente 203°C y aproximadamente 210°C, comenzando a una temperatura entre aproximadamente 199°C y aproximadamente 206°C con una velocidad de barrido de 5°C por minuto.

40 La invención se refiere también a una forma amorfa de la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo.

45 La presente invención se refiere también a composiciones farmacéuticas para (a) tratar o prevenir un trastorno o enfermedad seleccionado entre rechazo en trasplante de órganos, xenotrasplante, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras enfermedades autoinmunes o (b) inhibir proteínas quinasas o Janus Quinasa 3 (JAK3) en un mamífero, incluido el ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de fórmula I, efectiva en dichos trastornos o enfermedades y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se refiere también a un procedimiento para la inhibición de proteínas tirosina quinasas o Janus Quinasa 3 (JAK3) en un mamífero, incluido el ser humano, que comprende la administración a dicho mamífero de una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula I.

- 5 La presente invención se refiere también a un procedimiento para tratar o prevenir un trastorno o enfermedad seleccionado entre rechazo en trasplante de órganos, xenotrasplante, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras enfermedades autoinmunes en un mamífero, incluido el ser humano, que comprende la administración a dicho mamífero de una cantidad de un compuesto de fórmula I, efectiva para tratar dicha enfermedad.
- 10 La presente invención se refiere también a un procedimiento para preparar sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo que comprende hacer reaccionar 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo con ácido cítrico.

Breve Descripción de los Dibujos

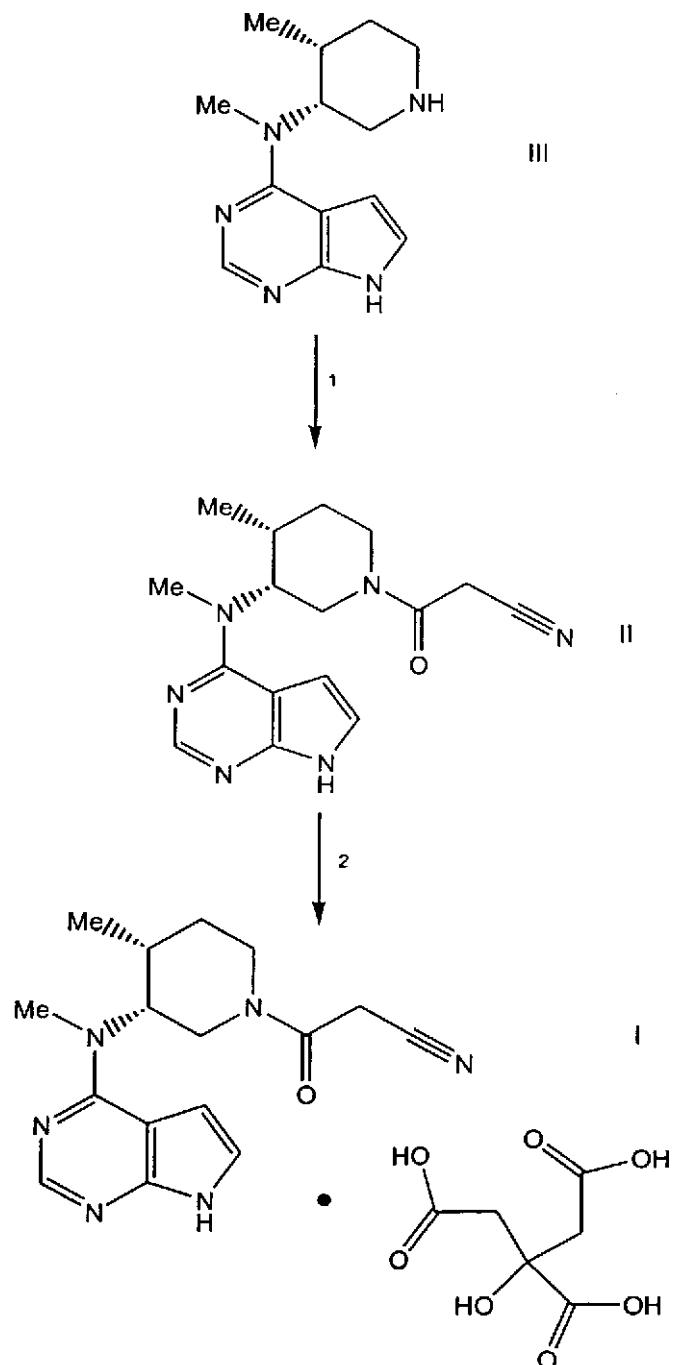
15 La Fig. 1 es un diagrama de difracción de rayos X de polvo característico de la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo. (Eje Vertical: Intensidad (impulsos); Eje Horizontal: Dos Theta (Grados)).

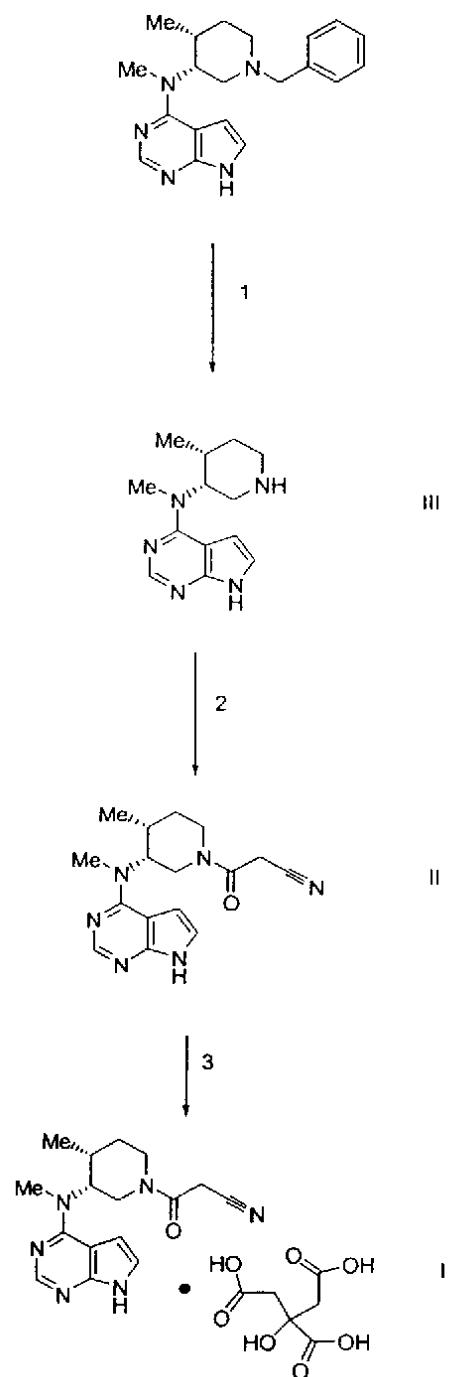
La Fig. 2 es un termograma de calorimetría de barrido diferencial característico de la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo. (Velocidad de barrido: 5°C por minuto; Eje Vertical: Flujo de Calor (w/g); Eje Horizontal: Temperatura (°C)).

20 **Descripción Detallada de la Invención**

La forma cristalina del compuesto de esta invención: sal mono citrato de 3-((4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo se prepara de la forma descrita a continuación.

Esquema 1



Esquema 2

- En la reacción 1 del Esquema 1, el compuesto de fórmula **III** (3R,4R)-metil-(4-metil-piperidin-3-il)-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino se convierte en el correspondiente compuesto de fórmula **II** 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo haciendo reaccionar **III** con el éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo del ácido cianoacético en presencia de una base, como trietilamina. La mezcla de reacción se agita, a temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 15 minutos y aproximadamente 2 horas, preferiblemente unos 30 minutos.
- En la reacción 2 del Esquema 1, el compuesto de fórmula **II** 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo se convierte en el correspondiente compuesto de fórmula **I** de sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo haciendo reaccionar **II** con ácido cítrico acuoso.
- En la reacción 1 del Esquema 2, el compuesto de fórmula **IV** ((3R,4R)-1-bencil-4-metil-piperidin-3-il)-metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amina se convierte en el compuesto de fórmula **III** correspondiente (3R,4R)-metil-(4-metil-piperidin-3-il)-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)amina tratando **IV** con hidrógeno en presencia de hidróxido de paladio 20% sobre carbono (50% agua en peso) y un disolvente polar protíco, como etanol. La mezcla de reacción se agita a una temperatura entre aproximadamente 45°C y aproximadamente 75°C, preferiblemente unos 60°C, a una presión de aproximadamente 413,7 kPa, preferiblemente unos 344,75 kPa, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente dos días y aproximadamente cuatro días, preferiblemente unos tres días.
- En la reacción 2 del Esquema 2, el compuesto de fórmula **III** correspondiente (3R,4R)-metil-(4-metil-piperidin-3-il)-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)amina se convierte en el compuesto de fórmula **II** 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo mediante reacción de **III** con éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo del ácido cianoacético en presencia de un disolvente polar protíco, como etanol. La mezcla de reacción se agita, a temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo de entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 3 horas, preferiblemente alrededor de 1 hora.
- En la reacción 3 del esquema 2, el compuesto de fórmula **II** 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo se convierte en el correspondiente compuesto de fórmula **I** sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo haciendo reaccionar **II** con ácido cítrico en presencia de un disolvente polar, como acetona. La mezcla de reacción se agita a una temperatura entre aproximadamente 30°C y aproximadamente 50°C, preferiblemente unos 40°C, durante un periodo de tiempo de entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 3 horas, preferiblemente unas 2 horas. La mezcla de reacción resultante puede opcionalmente agitarse más a una temperatura entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 40°C, preferiblemente unos 30°C, durante un periodo de tiempo de entre aproximadamente 3 horas y aproximadamente 5 horas, preferiblemente unas 4 horas, seguido de agitación adicional, a temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 16 horas y aproximadamente 20 horas, preferiblemente unas 18 horas.
- Las composiciones de la presente invención pueden formularse de forma convencional utilizando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
- Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden ser en forma de comprimidos preparados por procedimientos convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables como ligantes (p. e., almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa); cargas (p. e., lactosa, celulosa microcristalina o fosfato cálcico); lubricantes (p. e. estearato magnésico, talco o sílice); desintegrantes (p. e., almidón de patata o glicolato de almidón sódico); o agentes humectantes (p. e., lauril sulfato sódico). Los comprimidos pueden recubrirse por procedimientos bien conocidos en la técnica.
- Una dosis propuesta de los compuestos activos de la invención para su administración oral, parenteral o bucal al humano adulto medio para el tratamiento de las enfermedades referidas anteriormente (p. e., artritis reumatoide) es de 0,1 a 1000 mg de la sustancia activa por dosis unitaria que podría administrarse, por ejemplo de 1 a 4 veces al día.
- Un compuesto de fórmula **I** administrado en una forma farmacéuticamente aceptable solo o en combinación con uno o más agentes adicionales que modulan el sistema inmunitario de un mamífero, o con agentes antiinflamatorios, pudiendo incluir dichos agentes, pero sin limitarse, ciclosporina A (p. ej. Sandimmune®, o Neoral®, rapamicina, FK-506 (tacrolimo), leflunomida, deoxispergualina, micofenolato (p.ej. Cellcept®), azatioprina (p.e. Imuran®), dacizumab (p.ej. Zenapax®), OKT3 (p.ej. Orthoclona®), AtGam, aspirina, actaminofeno, ibuprofeno, naproxeno, piroxicam, y esteroides antiinflamatorios (p.ej. prednisolona o dexametasona); y dichos agentes pueden administrarse como parte de la misma u otra forma de dosificación separada, por la misma o por otra vía de administración diferente, y con la misma u otra pauta de administración distinta de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar.
- FK506 (Tacrolimo) se administra oralmente, 0,10-0,15 mg/kg de peso corporal, cada 12 horas, durante las primeras 48 horas del postoperatorio. La dosis se monitoriza por niveles de Tacrolimo en suero.
- Ciclosporina A (Sandimmune formulación oral o intravenosa, o Neoral®, solución oral o cápsulas) se administra oralmente, 5 mg/kg de peso corporal, cada 12 horas, durante las 48 horas del postoperatorio. La dosis se monitoriza por niveles en sangre de Ciclosporina A.
- Los agentes activos pueden formularse para una liberación sostenida de acuerdo con procedimientos bien conocidos para los expertos en la técnica. Pueden encontrarse ejemplos de dichas formulaciones en las patentes de Estados Unidos 3.538.214, 4.060.598, 4.173.626, 3.119.742, y 3.492.397.
- En los siguientes ensayos *in vitro* se muestra la capacidad del compuesto de fórmula **I** para inhibir la Janus Quinasa 3 y, en consecuencia, se demuestra su efectividad para tratar trastornos o enfermedades caracterizadas por la Janus Quinasa 3.

Ensayo Biológico**JAK3 (JH1:GST) Ensayo Enzimático**

El ensayo de la JAK3 quinasa utiliza una proteína expresada en células SF9 infectadas con baculovirus (una proteína de fusión de GST y el dominio catalítico de la JAK3 humana) purificada por cromatografía de afinidad con glutationa-sefarosa. El sustrato para la reacción es poli-ácido glutámico-tirosina (PGT (4:1), nº catálogo de Sigma P0275), recubriendo placas Nunc Maxi Sorp con 100 µg/ml hasta la mañana siguiente a 37°C. La mañana después del recubrimiento, las placas se lavan tres veces y se añade JAK3 a los pocillos que contienen 100 µl de tampón de quinasa (HEPES 50 mM, pH 7,3, NaCl 125 mM, MgCl₂ 24 mM) + ATP 0,2 µM + ortovanadato de Na 1 mM). La reacción prosigue durante 30 minutos a temperatura ambiente y las placas se lavan tres veces más. Se cuantifica el nivel de tirosina fosforilada en un pocillo determinado por medio de análisis ELISA estándar utilizando un anticuerpo antifosfotirosina (ICN PY20, nº de cat 69-151-1).

Inhibición de la Proliferación de Blastocitos T Humanos Dependientes de IL-2

Esta detección mide el efecto inhibidor de los compuestos sobre la proliferación de blastocitos T dependientes de IL-2 *in vitro*. Dado que la señalización a través del receptor de IL-2 necesita JAK-3, los inhibidores activos celulares de JAK-3 deberían inhibir la proliferación de blastocitos T dependientes de IL-2.

Las células para esta prueba se aislaron de sangre humana fresca. Despues de separar las células mononucleares utilizando el sistema Accuspin-Histopaque-1077 (Sigma nº A7054), se aislaron células T primarias humanas por selección negativa utilizando Lympho-Kwik T (One Lambda, Inc., Nº Cat LK-50T). Las células T se cultivan con 1-2 x 10⁶/ml en Medio (RPMI + suero bovino fetal inactivado térmicamente 10% (Hyclone Nº Cat A-1111-L) + Penicilina/Estreptomicina 1% (Gibco)) y se induce su proliferación añadiendo 10 µg/ml de PHA (Murex Diagnostics, Nº Cat HA 16). Despues de 3 días a 37°C en CO₂ 5%, las células se lavan tres veces en Medio, se resuspenden a una densidad de 1-2 x 10⁶ células/ml en Medio más 100 Unidades/ml de IL-2 recombinante humana (R&D Systems, Nº Cat 202-IL). Despues de 1 semana las células son dependientes de IL-2 y pueden mantenerse hasta 3 semanas suministrando dos veces por semana volúmenes iguales de Medio + 100 Unidades/ml de IL-2.

Para analizar la capacidad de los compuestos de inhibir la proliferación de células T dependientes de IL-2, se lavan 3 veces las células dependientes de IL-2, se resuspenden en Medio y despues se plaquean (50.000 células/pocillo/0,1 ml) en una placa de microensayo de 96 pocillos de base plana (Falcon Nº 353075). A partir de una solución madre 10 mM de compuesto de ensayo en DMSO, se añaden diluciones seriadas de orden 2 del compuesto a pocillos por triplicado empezando con 10 µM. Despues de una hora, se añaden 10 Unidades/ml de IL-2 a cada pocillo de ensayo. Las placas entonces se incuban a 37°C, CO₂ 5% durante 72 horas. Entonces se pulsan las placas con timidina-H³ (0,5 µCi/pocillo) (NEN Nº de cat NET-027A), y se incuban otras 18 horas más. Entonces se recolectan las placas de cultivo con un recolector de placas de 96 pocillos y se determina la cantidad de timidina-H³ incorporada a las células en proliferación utilizando un escintímetro Packard Top Count. Los datos se analizan representando el % de inhibición de la proliferación en función de la concentración del compuesto de prueba. El valor de IC₅₀ (µM) se determina a partir de esta gráfica.

Los siguientes Ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de la presente invención pero no se limita a los detalles de los mismos. Los puntos de fusión no están corregidos. Los datos de RMN se dan en partes por millón (δ) y se refieren a la señal de fijación del deuterio del disolvente del ensayo (deuteriocloroformo a no ser que se especifique lo contrario).

Ejemplo 1**Sal mono citrato de 3-{(3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il}-3-oxo-propionitrilo**

Se combinaron etanol (13 litros), (3R,4R)-metil-(4-metil-piperidin-3-il)-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amina (1,3 kg), éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo del ácido cianoacético (1,5 kg), y trietilamina (1,5 litros) y agitaron a temperatura ambiente. Al completarse la reacción (determinado por análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia(HPLC), aproximadamente 30 minutos), la solución se filtró, se concentró y se formó un azeótropo con 15 litros de cloruro de metileno. La mezcla de reacción se lavó secuencialmente con 12 litros de solución de hidróxido sódico 0,5 N, 12 litros de salmuera y 12 litros de agua. La fase orgánica se concentró y se formó un azeótropo con 3 litros de acetona (temperatura final del recipiente 42°C). La solución resultante se enfrió hasta entre 20°C y 25°C y despues se añadieron 10 litros de acetona. Esta solución se filtró y despues se añadió ácido cítrico acuoso (0,8 kg en 4 litros de agua) añadidos por medio de un filtro en línea. La mezcla de reacción se dejó granular. La mezcla espesa se enfrió antes de recolectar los sólidos por filtración. Los sólidos se secaron para dar 1,9 kg (71%) de mono citrato de 3-{(3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il}-3-oxo-propionitrilo. Esta sustancia entonces se combinó con 15 litros de etanol/agua en proporción 1:1 y la mezcla espesa se agitó hasta la mañana siguiente. Los sólidos se filtraron y secaron para dar 1,7 kg (63% de rendimiento partiendo (3R,4R)-metil-(4-metil-piperidin-3-il)-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amina) del compuesto del título en forma de sólido blanco cristalino. ¹H RMN (400 MHz)(D₂O) δ HOD: 0,92 (2H, d, J = 7,2 Hz), 0,96 (1H, d, J = 7,6 Hz), 1,66 (1H, m), 1,80 (1H, m), 2,37 (1H, m), 2,58 (2H, ½ ABq, J = 15,4 Hz), 2,70 (2H, ½ ABq, J = 154 Hz), 3,23 (2H, s), 3,25 (1H, s), 3,33 (1H, m), 3,46 (1H, m), 3,81 (4H, m), 4,55 (1H, m), 6,65 (1H, d, J = 3,2 Hz), 7,20 (1H, t, J = 3,2 Hz), 8,09 (1H, m).

Ejemplo 2**Sal mono citrato de 3-{(3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il-amino)-piperidin-1-il}-3-oxo-propionitrilo**

A una solución de 79 gramos de ((3R,4R)-1-bencil-4-metil-piperidin-3-il)-metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amina disuelta en 2 litros de etanol se añadieron 79 gramos de hidróxido de paladio 20% sobre carbono (50% agua en

peso) y la mezcla se agitó con una presión atmosférica de 344,75 kPa de hidrógeno durante tres días (realizar la hidrogenólisis a temperatura elevada [50° a 70°C] disminuye los tiempos de reacción de forma significativa). Despues de eliminar el catalizador por filtración con Celite®, se añadieron 51 gramos del éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo del ácido cianoacético a la solución etánolica y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, momento en el que se eliminó el etanol a presión reducida. El residuo se redissolvió en 1,0 litros de diclorometano y la solución se lavó secuencialmente con 0,6 litros de solución acuosa de bicarbonato sódico y 0,4 litros de bicarbonato sódico saturado. Las fases acuosas combinadas se lavaron de nuevo con 0,4 litros de diclorometano, se combinaron las fases de diclorometano, se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y concentraron a vacío para dar 61 gramos de un aceite ámbar. Esta sustancia se disolvió de nuevo en 2,1 litros de acetona y la solución se calentó a 40°C. Lentamente se añadió ácido cítrico triturado fino (37 gramos) (en forma sólida) a la solución. La mezcla se continuó agitando a 40°C durante dos horas (se completó la granulación). Despues de enfriar a temperatura ambiente se recolectaron los sólidos por filtración, se lavaron con acetona y se secaron a vacío para dar 78,5 gramos (66% de rendimiento partiendo de ((3R,4R)-1-bencil-4-metil-piperidin-3-il)-metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amina) del compuesto del título en forma de sólido cristalino ligeramente blanquecino.

Ejemplo 3

Sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo

Una solución en agitación de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo (230 mg /0,74 mmol) disuelto en 23 ml de acetona se calentó a 40°C. A esta solución se añadieron 155 mg (0,81 mmol) de ácido cítrico finamente triturado. La mezcla resultante se agitó a 40°C durante 2 horas, después a 30°C durante 4 horas, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 18 horas más. En ese momento, los sólidos se recolectaron por filtración, se lavaron con acetona y se secaron a vacío para dar 280 mg (75%) del compuesto del título en forma de sólido cristalino blanco.

Ejemplo 4

Procedimiento de obtención de difracción de rayos X de polvo de la sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo

Se obtuvieron diagramas de difracción de rayos X de polvo de sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo utilizando un difractómetro Bruker D5000 (Madison, Wisconsin) provisto de radiación de cobre, con ranuras fijas (1,0, 1,0, 0,6 mm) y un detector de estado sólido Kevex. Los datos se obtuvieron de la forma siguiente: ánodo de Cu; longitud de onda 1: 1,54056; longitud de onda 2: 1,54439 (intensidad rel.: 0,500); de 3,0 a 40,0 grados en 2 theta utilizando una progresión de 0,04 grados y un tiempo de progresión de 1,0 segundos. Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1
Lista de Picos de Difracción de Rayos X de polvo (+ 0,2 grados)

Ángulo 2-theta	Valor d ángstrom	Intensidad* (rel.) %	Ángulo 2-theta	Valor d ángstrom	Intensidad* (rel.) %
<u>5,7</u>	<u>15,4</u>	<u>62,4</u>	25,5	3,5	21,5
7,7	11,5	7,5	26,2	3,4	16,7
8,9	9,9	6,8	27,0	3,3	43,6
11,0	8,0	7,7	27,5	3,2	15,1
11,5	7,7	9,7	28,1	3,2	32,1
13,6	6,5	13,7	28,7	3,1	12,6
13,9	6,4	19,6	29,4	3,0	14,8
14,8	6,0	38	30,1	3,0	13,8
15,2	5,8	42,4	30,3	2,9	11
<u>16,1</u>	<u>5,5</u>	<u>87,8</u>	31,1	2,9	23,4
16,6	5,3	11,4	32,0	2,8	6,8
17,3	5,1	50,8	32,8	2,7	14,1
18,7	4,7	49,7	33,6	2,7	22,9
20,2	4,4	100	34,4	2,6	7,7

<u>20,5</u>	<u>4,3</u>	<u>59,4</u>	34,8	2,6	5,7
21,1	4,2	46,7	35,3	2,5	8,5
21,4	4,1	24	35,9	2,5	16,3
22,0	4,0	46,5	36,5	2,5	9,2
23,0	3,9	7,5	37,8	2,4	8,5
23,4	3,8	12,8	38,5	2,3	6,8
24,0	3,7	6	39,2	2,3	11,1
25,0	3,6	28,3			

* Las intensidades de los picos pueden cambiar dependiendo del tamaño y el hábito del cristal.

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina de la sal mono citrato de 3-((3R, 4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo.
- 5 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un diagrama de difracción de rayos X de polvo con picos característicos expresados en grados 2-theta en aproximadamente 5,7, 16,1, 20,2 y 20,5.
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende un diagrama de difracción de polvo con picos característicos expresados en grados de 2-theta en aproximadamente:

Angulo 2-theta	Angulo 2-theta	Angulo 2-theta	Angulo 2-theta
5,7	17,3	25,5	32,8
7,7	18,7	26,2	33,6
8,9	20,2	27,0	34,4
11,0	20,5	27,5	34,8
11,5	21,1	28,1	35,3
13,6	21,4	28,7	35,9
13,9	22,0	29,4	36,5
14,8	23,0	30,1	37,8
15,2	23,4	30,3	38,5
16,1	24,0	31,1	39,2
16,6	25,0	32,0	

- 10 4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, con una temperatura de inicio de fusión de entre aproximadamente 199°C y aproximadamente 206°C.
- 5 5. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de un trastorno o enfermedad seleccionado entre rechazo en trasplante de órganos, xenotrasplante, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras enfermedades autoinmunes que comprende una cantidad de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, solo o en combinación con uno o más agentes adicionales que modulan el sistema inmune de mamíferos o con agentes antiinflamatorios, efectivo en dichos trastornos o enfermedades y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 6. El uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, solo o en combinación con uno o más agentes adicionales que modulan el sistema inmune de mamíferos o con agentes antiinflamatorios, efectivos para tratar dichos trastornos para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir un trastorno o enfermedad seleccionado entre rechazo en trasplante de órganos, xenotrasplante, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras enfermedades autoinmunes en un mamífero, incluido el ser humano.
- 25 7. Un procedimiento para preparar sal mono citrato de 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo que comprende hacer reaccionar 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo con ácido cítrico.
- 30 8. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que dichos uno o más agentes adicionales se seleccionan del grupo que consiste en ciclosporina A, rapamicina, tacrolimo, leflunomida, deoxispergualina, micofenolato, azatioprina, daclizumab, muromonab-CD3, globulina antimiocito, aspirina, acetaminofeno, ibuprofeno, naproxeno, piroxicam, y esteroides antiinflamatorios.
- 35 9. El uso, de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicho uno o más agentes adicionales se seleccionan del grupo que consiste en ciclosporina A, rapamicina, tacrolimo, leflunomida, deoxispergualina, micofenolato, azatioprina, daclizumab, muromonab-CD3, globulina antimiocito, aspirina, acetaminofeno, ibuprofeno, naproxeno, piroxicam, y esteroides antiinflamatorios.
- 40 10. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, solo o en combinación con uno o más agentes adicionales que modulan el sistema inmune de mamíferos o con agentes antiinflamatorios, efectivos para el tratamiento de tales trastornos, para su uso en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos seleccionados entre rechazo en trasplante de órganos, xenotrasplante, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo I y complicaciones de la diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos tiroideos autoinmunes, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer, leucemia y otras enfermedades autoinmunes en un mamífero, incluido el ser humano.

FIG. 1

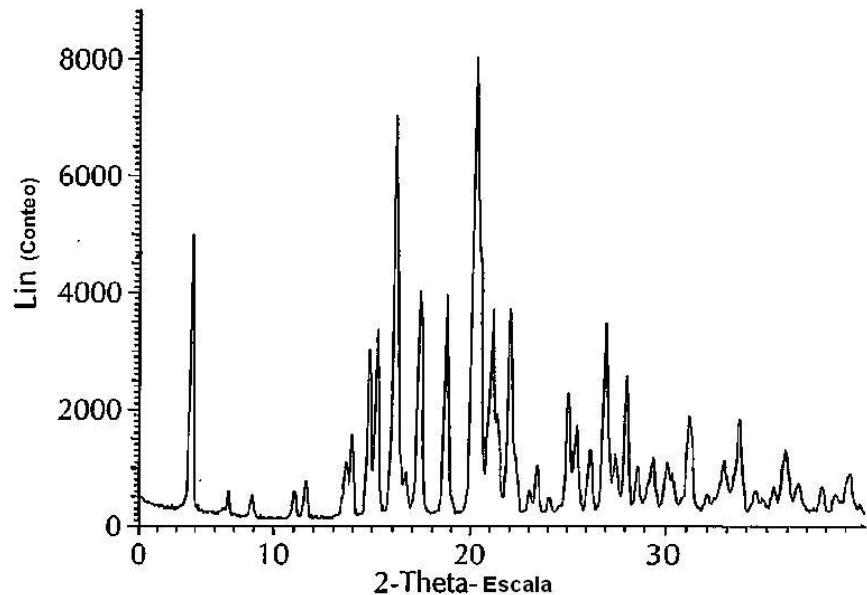


FIG. 2

