

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 416 354**

51 Int. Cl.:

C07D 239/96	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
A61K 31/517	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
A61P 1/04	(2006.01) A61P 35/04	(2006.01)
A61P 3/10	(2006.01) A61P 37/02	(2006.01)
A61P 9/00	(2006.01) A61P 37/06	(2006.01)
A61P 9/10	(2006.01) A61P 37/08	(2006.01)
A61P 11/06	(2006.01) A61P 43/00	(2006.01)
A61P 17/06	(2006.01)	
A61P 19/02	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2006 E 06767091 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2013 EP 1916241**

54 Título: **Cristal de derivado de fenilalanina, método de producción del mismo y uso del mismo**

30 Prioridad:

21.06.2005 JP 2005181219

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

31.07.2013

73 Titular/es:

**AJINOMOTO CO., INC. (100.0%)
15-1 KYOBASHI 1-CHOME, CHUO-KU
TOKYO 104-8315, JP**

72 Inventor/es:

**FUJITA, KOICHI;
TAKAHASHI, SHINICHIRO;
OKUZUMI, TATSUYA;
YAMADA, TATSUHIRO;
OKADO, KOTARO;
KATAOKA, NORIYASU;
HIRASHIMA, HARUKO y
YAMAGUCHI, HIDEYUKI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 416 354 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

Cristal de derivado de fenilalanina, método de producción del mismo y uso del mismo

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a cristales de derivados de fenilalanina que tienen una fórmula estructural específica, a un método de producción de los mismos y al uso de los mismos, y particularmente al uso de los mismos como un ingrediente activo de composiciones farmacéuticas.

Antecedentes de la invención

10 Ya se sabe que los derivados de fenilalanina tienen una acción inhibidora de la integrina $\alpha 4$ y son compuestos útiles como agentes terapéuticos para enfermedades inflamatorias de los intestinos o semejantes (bibliografías de patentes 1 y 2).

15 En respuesta, los inventores han encontrado que nuevos derivados específicos de fenilalanina que no han sido específicamente descritos en las anteriores bibliografías de patentes tienen una actividad inhibidora de la integrina $\alpha 4$ particularmente alta en presencia de suero; el aclaramiento total de los mismos es bajo; el área bajo la curva concentración de plasma – tiempo y su biodisponibilidad son altas en la administración oral; y la actividad inhibidora de la integrina $\alpha 4$ de los mismos in vivo también es alta en la administración oral. Se registró una solicitud PCT (PCT/JP2004/019704 publicada como WO 2005/061466) basada en estos hallazgos.

20 Un compuesto de la siguiente fórmula (I) (de aquí en adelante denominado compuesto (I)) descrito en el ejemplo 151 de la anterior solicitud PCT, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es un profármaco de un compuesto de la siguiente fórmula (II) descrito en el ejemplo 99 de la anterior solicitud PCT. El compuesto de la fórmula (II) el cual es el compuesto activo tiene una extremadamente excelente actividad inhibidora de la integrina $\alpha 4$, y su aclaramiento total es bajo (lo cual quiere decir que se retiene de manera excelente en el plasma). Así, es el compuesto valioso en el uso real. Sin embargo, el compuesto de la siguiente fórmula (I) descrito en el ejemplo 151 de la anterior solicitud PCT se obtiene mediante el método que comprende las etapas de agitar una mezcla de un ácido carboxílico correspondiente, el correspondiente alcohol y una disolución en dioxano de cloruro de hidrógeno
25 4M a 90°C durante varias horas; separar el disolvente y purificar el material bruto obtenido por cromatografía de líquidos de alta resolución (agua/acetonitrilo, cada uno conteniendo TFA al 0,1%); y recogiendo a continuación el compuesto por liofilización (que es el método de acuerdo al método C de los ejemplos 101 a 121 ó el procedimiento 3 del ejemplo 53). Es decir, el compuesto obtenido fue una forma cristalina inferior de la sal de trifluoroacetato.

30 En general, cuando se conserva una sustancia fármaco, o se fabrica o conserva una preparación, las sustancias fármaco de inferior cristalinidad, tales como las sustancias sólidas amorfas o no cristalinas, son física y químicamente inestables frente a condiciones ambientales tales como la temperatura, humedad y aire, y son muy higroscópicas. Por lo tanto, tales sustancias fármaco tienden a tener problemas en el desarrollo de composiciones farmacéuticas en las que se requiere una alta pureza de la sustancia, y también tienden a ser acompañadas de dificultades en la fabricación a escala industrial.

35 Además, en general, puesto que las sustancias fármaco de inferior cristalinidad, tales como las sustancias sólidas amorfas o no cristalinas, presentan biodegradabilidad por absorción de humedad, los disolventes que pueden usarse en la fabricación de una preparación están limitados a anhídridos, y, por lo tanto, pueden causar el aumento del coste de la preparación.

Bibliografía de patente 1: WO 02/16329

40 Bibliografía de patente 2: WO 03/070709

Bibliografía de patente 3: WO 2004/074264.

Descripción de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto (I) o sales del mismo en una forma cristalina excelente en el uso.

45 Otro objeto de la presente invención es proporcionar un cristal de excelente estabilidad durante su conservación, resistencia a la humedad o solubilidad como compuesto (I) o como sales del mismo.

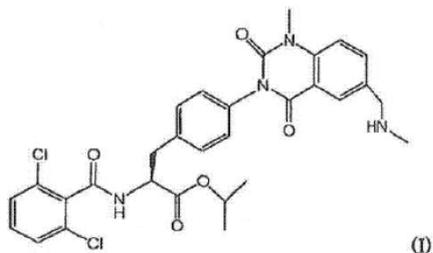
El objeto adicional de la presente invención es proporcionar un cristal que pueda fabricarse a escala industrial como el compuesto (I).

50 Los inventores investigaron exhaustivamente para resolver los problemas anteriores y examinaron formas cristalinas del compuesto (I) o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Como resultado, encontraron que varias formas cristalinas son producidas calentando el compuesto en uno o unos disolventes específicos y enfriándolo a

continuación a la temperatura específica; y que los problemas anteriores pueden resolverse usando tales cristales. La presente invención ha sido finalizada en base a este hallazgo.

Es decir, la presente invención es como sigue.

(1) Un cristal de un compuesto de la fórmula (I) o sales del mismo.



5

(2) El cristal según (1), en donde el cristal del compuesto de la fórmula (I) es la forma A del cristal, la forma B del cristal, la forma D del cristal, la forma E del cristal o la forma F del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

A	B	D	E	F
8,5	9,7	4,4	5,9	5,5
10,4	11,4	5,2	14,3	8,0
15,4	14,5	9,2	20,1	18,2
16,9	20,0	20,6	23,0	19,4
23,5	23,8			21,9

10

(3) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de hidrocloreto del compuesto de la fórmula (I) en la forma Cl1 del cristal, la forma Cl2 del cristal, la forma Cl3 del cristal, la forma Cl4 del cristal o la forma Cl5 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Cl1	Cl2	Cl3	Cl4	Cl5
2,9	8,5	3,6	4,9	8,2
7,7	10,5	8,9	17,5	11,2
11,6	16,0	12,4		12,4
20,3	17,0			14,3
	23,6			15,6

15

(4) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Su1 del cristal, la forma Su2 del cristal o la forma Su3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Su1	Su2	Su3
3,8	2,3	4,7
7,7	12,6	9,1
11,4	18,2	
13,3	23,1	
22,6		

(5) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) en la forma Br1 del cristal, la forma Br2 del cristal, la forma Br3 del cristal, la forma Br4 del cristal o la forma Br5 del cristal, cada

ES 2 416 354 T3

una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Br1	Br2	Br3	Br4	Br5
5,7	3,6	8,4	7,7	5,0
10,1	4,4	11,5	10,1	9,5
	8,9	17,2	16,4	12,2
			20,1	13,4
				14,2
				14,9

5 (6) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Pho1 del cristal, la forma Pho2 del cristal, la forma Pho3 del cristal o la forma Pho4 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Pho1	Pho2	Pho3	Pho4
2,5	4,3	3,5	4,1
11,9	6,9	5,1	6,4
17,2	10,1	6,9	7,6
18,3	16,9	14,0	11,5
			12,1
			12,7

(7) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Mal1 del cristal, la forma Mal2 del cristal o la forma Mal3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Mal1	Mal2	Mal3
3,7	2,8	8,2
7,7	4,8	10,8
8,5	7,3	
9,4	13,8	
	14,6	
	15,3	

10 (8) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Aca1 del cristal, la forma Aca2 del cristal o la forma Aca3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Aca1	Aca2	Aca3
5,7	3,8	4,9
8,1	4,7	18,5
8,5	9,2	19,3
11,3	12,4	
17,7		
18,3		
19,1		

(9) El cristal según (1), el cual es un cristal de una sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Tar1 del cristal o la forma Tar2 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Tar1	Tar2
2,4	4,0
8,5	8,0
14,5	9,3
16,6	11,0
18,5	17,9

5 (10) El cristal según (3) en la forma Cl5 la cual muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) de 8,2, 11,2, 12,4, 14,3 y 15,6 en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

(11) El cristal según (10) el cual tiene el espectro ¹³C-RMN de la figura 20.

(12) El cristal según (10) el cual tiene el espectro de infrarrojos de la figura 21.

10 (13) Un método de producción del cristal según (2), el cual comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, butanol, alcohol amílico, dimetilformamida, dimetil sulfóxido, diclorometano, éter dietílico y piridina; y enfriarlo a continuación hasta 0 a 30°C.

15 (14) Un método de producción del cristal según (3), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocloreto del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, butanol, acetona, éter dietílico, nitrometano, 1,2-dimetoxietano, acetato de isopropilo, acetato de etilo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, 4-trifluorometil tolueno y piridina; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

(15) Un método de producción del cristal según (4), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 1,2-etanodiol, acetona, nitrometano, acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano, éter dietílico, diclorometano, ciclohexanona, n-heptano, tetrahidrofurano y piridina; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

20 (16) Un método de producción del cristal según (5), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, etanol, propanol, butanol, acetona, éter diisopropílico, acetonitrilo, acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano, ciclohexanona y tetrahidrofurano; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

25 (17) Un método de producción del cristal según (6), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, metanol, propanol, acetona, éter diisopropílico, éter dietílico, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo, 1,2-dimetoxietano, 1,1,2,2-tetracloroetano, nitrometano, diclorometano, 2,2,2-trifluoroetano, N,N-dimetilacetamida, ciclohexanona, n-heptano, tetrahidrofurano y piridina; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

30 (18) Un método de producción del cristal según (7), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en etanol, propanol, butanol, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo, 1,2-dimetoxietano y nitrometano; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

35 (19) Un método de producción del cristal según (8), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en propanol, butanol, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo y nitrometano; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

(20) Un método de producción del cristal según (9), el cual comprende las etapas de: calentar la sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, acetona, 1,2-dimetoxietano, nitrometano y ciclohexanona; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

(21) Una composición farmacéutica la cual contiene el cristal según una cualquiera de (1) a (12).

40 (22) Un inhibidor de la integrina α4 el cual contiene el cristal según una cualquiera de (1) a (12).

(23) Un agente terapéutico o preventivo de las enfermedades inflamatorias en las cuales participa en la patología un proceso de adhesión que depende de la integrina α4, el cual contiene como un ingrediente activo el cristal según una cualquiera de (1) a (12).

(24) Un agente terapéutico o preventivo para cualquiera de la artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias de los intestinos, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, asma, psoriasis, alergia, diabetes, enfermedades cardiovasculares, esclerosis arterial, restenosis, proliferación tumoral, metástasis tumoral o rechazo de los trasplantes, el cual contiene como un ingrediente activo el cristal según una cualquiera de (1) a (12).

5 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma A del cristal del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 2 muestra una curva DSC de la forma A del cristal del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) de la presente invención. (Preparación de la forma A del cristal).

10 La figura 3 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma B del cristal del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 4 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma D del cristal del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) de la presente invención.

15 La figura 5 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma E del cristal del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 6 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma F del cristal del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 7 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Cl1 a la forma Cl4 del cristal de una sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

20 La figura 8 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Su1 a la forma Su3 del cristal de una sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 9 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Br1 a la forma Br5 del cristal de una sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

25 La figura 10 muestra una curva DSC de la forma Br4 del cristal de una sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 11 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Pho1 a la forma Pho4 del cristal de una sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 12 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Mal1 del cristal a la forma Mal3 del cristal de una sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

30 La figura 13 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Aca1 del cristal a la forma Aca3 del cristal de una sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 14 muestra cada patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Tar1 del cristal a la forma Tar2 del cristal de una sal de tartrato del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

35 La figura 15 muestra un diagrama de un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Mal2 del cristal de una sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención (eje horizontal: ángulo 2θ de difracción [°]; eje vertical: intensidad [CPS]).

La figura 16 muestra un diagrama de un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Cl5 del cristal de una sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención (eje horizontal: ángulo 2θ de difracción [°]; eje vertical: intensidad [CPS]).

40 La figura 17 muestra un diagrama de un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma Br5 de una sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención (eje horizontal: ángulo 2θ de difracción [°]; eje vertical: intensidad [CPS]).

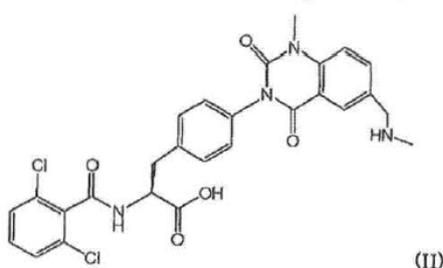
La figura 18 muestra una curva DSC de la forma Cl4 del cristal de una sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención. El eje horizontal es Temp (°C).

45 La figura 19 muestra una curva DSC de la forma Br5 del cristal de una sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 20 muestra los datos del espectro RMN en estado sólido de la forma Cl5 del cristal de una sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

La figura 21 muestra los datos del espectro de infrarrojos de la forma Cl5 del cristal de una sal de hidrocloreuro del compuesto de la fórmula (I) de la presente invención.

El compuesto de la fórmula (I) anterior en la presente invención es un profármaco de una forma activa de la siguiente fórmula (II).



5 En el cristal de (1), las sales del compuesto de la fórmula (I) son preferiblemente una sal de hidrocloreuro, sal de hidrobromuro y sal de maleato, y una sal de hidrocloreuro es particularmente preferible.

10 El cristal del compuesto de la fórmula (I) anterior puede ser cristal de la forma libre, o uno de sus hidratos o solvatos. Ejemplos de estos cristales son la forma A del cristal, la forma B del cristal, la forma D del cristal, la forma E del cristal y la forma F del cristal, como se mencionó en el apartado (2) anterior, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

15 Entre ellas, la forma A del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en dimetilformamida o piridina, y más preferiblemente en piridina; enfriarla rápidamente (por ejemplo a una velocidad de enfriamiento de 20 a 40°C/h y preferiblemente 30°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas; y recoger el cristal precipitado. El cristal obtenido como anteriormente está usualmente en la forma de hidratos.

20 La forma B del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 1-butanol, t-butanol, 2-butanol, 1-propanol, 2-propanol, etanol, éter dietílico o dimetil sulfóxido, y más preferiblemente en 1-butanol, t-butanol o etanol; enfriarla rápida (por ejemplo a una velocidad de enfriamiento de 20 a 40°C/h y preferiblemente 30°C/h) o lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas; y recoger el cristal precipitado.

25 La forma D del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en etanol; enfriarla rápida (por ejemplo a una velocidad de enfriamiento de 20 a 40°C/h y preferiblemente 30°C/h) o lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas; y recoger el cristal precipitado.

30 La forma E del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en etanol, diclorometano o éter dietílico, y más preferiblemente en etanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas; y recoger el cristal precipitado. El cristal obtenido como anteriormente está usualmente en la forma de anhídridos.

35 La forma F del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en alcohol t-amílico; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas; y recoger el cristal precipitado.

45 El cristal de la sal de hidrocloreuro del compuesto de la fórmula (I) es la forma Cl1 del cristal, la forma Cl2 del cristal, la forma Cl3 del cristal, la forma Cl4 del cristal o la forma Cl5 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (3) anterior. La forma Cl5 del cristal está también especificada por el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo del apartado (10) anterior, el espectro ^{13}C -RMN de la figura 20 y/o el espectro de infrarrojos de la figura 21 como se mencionó en los apartados (10) a (12).

5 Entre ellas, la forma CI1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 4-trifluorometil tolueno, piridina o acetona, y más preferiblemente en piridina; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

10 La forma CI2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en nitrometano o éter dietílico, y más preferiblemente en nitrometano; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

15 La forma CI3 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 2-butanol o 1,2-dimetoxietano, y más preferiblemente en 2-butanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

20 La forma CI4 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en acetato de isopropilo o metanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. En el caso de usar 2-propanol, acetonitrilo, etanol o acetato de etilo y preferiblemente 2-propanol como disolvente, la forma CI4 del
25 cristal puede obtenerse mediante el método que se mencionó anteriormente siempre que el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.

30 La forma CI5 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en tetrahidrofurano (THF); a continuación, enfriarla a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 10°C/h y preferiblemente lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

La forma CI5 del cristal es un cristal particularmente preferible.

35 La forma CI5 del cristal también puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de añadir cloruro de hidrógeno a una mezcla que comprende el compuesto de la fórmula (I) y acetona. En el caso de añadir el cloruro de hidrógeno es posible, por ejemplo, usar cloruro de hidrógeno gas, ácido clorhídrico o alcoholes que tienen de 1 a 6 átomos de carbono los cuales comprendan cloruro de hidrógeno.

40 Más específicamente, la forma CI5 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: preparar un ácido clorhídrico diluyéndolo con acetona para obtener una concentración de cloruro de hidrógeno de 0,05 a 1,00 mmol/mL; añadirlo a una disolución de acetona del compuesto (forma libre) de la fórmula (I); calentar la mezcla con agitación preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C; a continuación, enfriarla comparativamente lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 10°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora a 72 horas; y separar por filtración el cristal precipitado y secarlo a 60-85°C a presión reducida.

45 La forma CI5 del cristal también puede obtenerse mediante el método de producción que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente mixto que comprende acetona y agua; añadir a la misma acetona; y a continuación enfriarla.

50 Más específicamente, la forma CI5 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar una mezcla de un disolvente mixto que comprende acetona y agua y la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I), preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 65°C para disolver el compuesto; filtrar la disolución disuelta con calentamiento; añadir acetona gota a gota al filtrado y añadir también un cristal semilla al mismo si es necesario; a continuación, enfriar la suspensión obtenida hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 10°C; y separar por filtración el cristal precipitado y secarlo a 60-85°C, y preferiblemente a 80°C, a presión reducida.

55 La forma CI5 del cristal también puede obtenerse mediante el método de producción que comprende las etapas de: mezclar la sal de hidrocioruro del compuesto de la fórmula (I) y dos o más disolventes seleccionados del grupo que consiste en acetona, agua, THF, acetonitrilo, metanol, etanol, propanol y acetato de isopropilo para obtener una suspensión de la misma.

Más específicamente, la forma Cl5 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: suspender la sal de hidrocloreuro del compuesto de la fórmula (I) diferente de la forma Cl5 del cristal en acetona; agitar la suspensión a 10-55°C y preferiblemente a 25°C; y separar por filtración el cristal precipitado y secarlo a 60-85°C, y preferiblemente a 80°C, a presión reducida.

- 5 El cristal de una sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) es la forma Su1 del cristal, la forma Su2 del cristal o la forma Su3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (4) anterior.

Entre ellas, la forma Su1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 1,2-etanodiol, ciclohexanona, piridina o n-heptano, y más preferiblemente en piridina; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

10

La forma Su2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en nitrometano o acetato de etilo, y más preferiblemente en nitrometano; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

15

La forma Su3 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 1,2-dimetoxietano, etanol, tetrahidrofurano, acetona o diclorometano; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. En el caso de usar acetato de etilo, metanol o éter dietílico como un disolvente, la forma Su3 del cristal también puede obtenerse por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.

20

25

El cristal de la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) es la forma Br1 del cristal, la forma Br2 del cristal, la forma Br3 del cristal, la forma Br4 del cristal o la forma Br5 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (5) anterior.

30

Entre ellas, la forma Br1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en ciclohexanona; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

35

La forma Br2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en agua; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, es preferible obtener la forma Br2 del cristal por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente agua o etanol y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.

40

La forma Br3 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en acetona, acetonitrilo ó 2-propanol y más preferiblemente en acetonitrilo; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

45

La forma Br4 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 2-butanol, 2-propanol o tetrahidrofurano, y más preferiblemente en tetrahidrofurano; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, es preferible obtener la forma Br4 del cristal por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente los anteriores disolventes, acetonitrilo o éter diisopropílico y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas. En tal caso, es particularmente preferible usar 2-butanol o tetrahidrofurano.

50

55

5 La forma Br5 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en acetato de etilo, acetona o 1,2-dimetoxietano, y más preferiblemente en acetato de etilo ó 1,2-dimetoxietano; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, es preferible obtener la forma Br5 del cristal por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente acetato de etilo o 1,2-dimetoxietano y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.

10 El cristal de una sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) es la forma Pho1 del cristal, la forma Pho2 del cristal, la forma Pho3 del cristal o la forma Pho4 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (6) anterior.

15 Entre ellas, la forma Pho1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en ciclohexanona, piridina, acetona o diclorometano y más preferiblemente en ciclohexanona, piridina o acetona; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, también es preferible obtener la forma Pho1 del cristal por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente N,N-dimetilacetamida o acetona y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.

20 La forma Pho2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 1,1,2,2-tetracloroetano, 1,2-dimetoxietano, nitrometano, agua, n-heptano, acetato de isopropilo, acetonitrilo, acetato de etilo, éter diisopropílico, tetrahidrofurano o éter dietílico y más preferiblemente en agua; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

25 La forma Pho3 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en metanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

30 La forma Pho4 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 2,2,2-trifluoroetano; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

35 El cristal de una sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) es la forma Mal1 del cristal, la forma Mal2 del cristal o la forma Mal3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (7) anterior.

40 Entre ellas, la forma Mal1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en nitrometano, 2-butanol, acetato de isopropilo, 2-propanol o etanol y más preferiblemente en 2-butanol, 2-propanol o etanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

45 La forma Mal2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 1,2-dimetoxietano, acetonitrilo o acetato de etilo; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.

50 La forma Mal3 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en acetona; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

El cristal de una sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) es la forma Aca1 del cristal, la forma Aca2 del cristal o la forma Aca3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (8) anterior.

5 Entre ellas, la forma Aca1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en nitrometano, acetonitrilo o acetona y más preferiblemente en acetona; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, es preferible obtener la forma Aca1 del cristal por el mismo método que se
10 mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente acetato de isopropilo, acetonitrilo o acetona y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.

La forma Aca2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en 2-butanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante
15 aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado.

La forma Aca3 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en acetato de etilo; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, es preferible obtener la forma Aca3 del cristal por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente 2-propanol y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.
20

El cristal de una sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) es la forma Tar1 del cristal o la forma Tar2 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los ángulos de difracción (2θ) específicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo como se mencionó en el apartado (9) anterior.
25

Entre ellas, la forma Tar1 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en ciclohexanona, nitrometano, 1,2-dimetoxietano o acetona y más preferiblemente en ciclohexanona; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora; y recoger el cristal precipitado. Sin embargo, es preferible obtener la forma Tar1 del cristal por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que se use como disolvente ciclohexanona y el tiempo de envejecimiento llegue a ser aproximadamente 72 horas.
30

La forma Tar2 del cristal puede obtenerse mediante el método que comprende las etapas de: calentar la sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) preferiblemente a 50-80°C y más preferiblemente a 60°C, preferiblemente en metanol; a continuación, enfriarla lentamente (a una velocidad de enfriamiento de 0,5 a 3°C/h y preferiblemente 1°C/h) hasta 2 a 20°C y preferiblemente a 5°C; envejecer el compuesto a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora ó 72 horas; y recoger el cristal precipitado.
35

En la presente memoria descriptiva, "propanol" quiere decir 1-propanol ó 2-propanol y preferiblemente 2-propanol. Similarmente, "butanol" quiere decir 1-butanol, 2-butanol, 2-metil-1-propanol o terc-butanol y preferiblemente 1-butanol.
40

Mientras tanto, los picos de los ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo pueden cambiar ligeramente debido a matices tales como las condiciones de la medida o semejantes. Los ángulos de difracción descritos en la presente memoria descriptiva pueden aceptar tal error.
45

Además, el patrón global es importante en los espectros de ^{13}C -RMN, espectros de infrarrojo o datos de DSC con el fin de identificar los cristales. Tales espectros pueden cambiar ligeramente debido a las condiciones de la medida o semejantes.

En los anteriores métodos de producción, el tiempo de envejecimiento de 1 hora puede cambiarse a de 30 minutos a 5 horas. Similarmente, aproximadamente 72 horas puede cambiarse a 48 horas o más, y preferiblemente 48 a 120 horas.
50

Entre los cristales anteriores son preferibles la forma Cl5 del cristal, la forma Br3 del cristal, la forma Br4 del cristal, la forma Br5 del cristal y la forma Mal2 del cristal. Son particularmente prefribles la forma Cl5 del cristal y la forma Br5 del cristal.

Las sales del compuesto de la fórmula (I) usadas para producir los cristales de la presente invención pueden ser aquellas que son sales antes de que se añadan a un disolvente, o que pueden llegar a ser sales en la reacción cuando la forma libre se añade a un disolvente y a continuación se añade además al mismo el ácido correspondiente.

- 5 Cuando se preparan las sales anteriores, es preferible añadir al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) un ácido clorhídrico o semejante, de modo que un ácido tal como un cloruro de hidrógeno, un bromuro de hidrógeno y un ácido acético lleguen a estar en una relación molar de 1:1 ó más, preferiblemente en una relación molar alrededor de 1:1,05 a 1:1,2 y más preferiblemente en una relación molar de 1:1,1.

- 10 Las sales del compuesto de la fórmula (I), particularmente una sal de hidrocioruro, sal de hidrobromuro y sal de maleato del mismo, son útiles en sí mismas porque llegan a ser materias primas de los cristales preferibles anteriores.

Además, la cantidad de un disolvente para precipitar los cristales puede ser opcional. Cuando el compuesto (forma libre) de la fórmula (I), o sus sales, está en 1 parte en peso, el disolvente está preferiblemente en 2 a 100 partes en peso y particular y preferiblemente en 5 a 40 partes en peso.

- 15 En los métodos de producción de la presente invención puede producirse otro cristal mediante otro método de producción de la presente invención usando el cristal que se prepara usando una sustancia sólida amorfa, así como el método de producción usando una sustancia sólida amorfa en sí misma.

- 20 Los cristales de la presente invención son fáciles de usar y son excelentes en su “estabilidad durante la conservación” o en mantener la “resistencia a la humedad” de sustancias fármaco o productos fármaco y, por lo tanto, son útiles porque son cristales que pueden fabricarse a escala industrial. Además, tales cristales tienen una excelente solubilidad.

- 25 El compuesto de la fórmula (I) anterior, el cual es un profármaco del compuesto de la fórmula (II) anterior tiene una excelente durabilidad del efecto particularmente después de la administración oral. Además, puesto que su permeabilidad por las membranas es buena, el área bajo la curva concentración en el plasma – tiempo y su biodisponibilidad son altas en la administración oral. El compuesto es también excelente en lo referente a seguridad.

- 30 Así, los cristales de la presente invención pueden usarse como excelentes inhibidores de la integrina $\alpha 4$. Además, pueden usarse efectivamente como un ingrediente activo de agentes terapéuticos o preventivos para enfermedades inflamatorias en las cuales participa en la patología un proceso de adhesión que depende de la integrina $\alpha 4$, tales como la artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias de los intestinos (que incluyen la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, asma, psoriasis, alergia, diabetes, enfermedades cardiovasculares, esclerosis arterial, restenosis, proliferación tumoral, metástasis tumoral o rechazo de los trasplantes.

- 35 Además, los cristales pueden usarse eficazmente como un ingrediente activo de agentes terapéuticos o preventivos para la preclampsia, trastornos cerebrovasculares isquémicos (incluyendo el infarto cerebral), esclerosis sistémica, espondilitis anquilosante, artritis psoriática, sarcoidosis, arteritis de células gigantes, uveitis, pulmón fibroide, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, osteoartritis, enfermedad de Alzheimer, lesión de la médula espinal, lesión traumática del cerebro, colangitis esclerosante primaria, cirrosis hepática provocada por hepatitis C, hepatitis activa crónica, sacroileítis, espondilitis anquilosante, episcleritis, iritis, uveítis, eritema nodoso, pioderma gangrenoso y hepatitis autoinmune.

- 40 Además, los cristales pueden usarse eficazmente como un ingrediente activo de agentes terapéuticos o preventivos para las enfermedades en las cuales una integrina $\alpha 4$ puede participar en la patología, además de en las enfermedades anteriores.

- 45 La dosis administrada para los fines anteriores se determina mediante el efecto terapéutico pretendido, el método de administración, el período de tratamiento, la edad, el peso corporal y factores semejantes. Por ejemplo, mediante una ruta oral o parenteral (tal como administración intravenosa, intra-arterial, subcutánea o intramuscular, supositorios, administración de enemas, ungüento, parche, administración sublingual, gotas para los ojos, inhalación y semejantes), la dosis es usualmente 1 μg a 5 g y preferiblemente 1 mg a 1 g por día para los adultos en el administración oral, y 0,01 μg a 1 g por día para los adultos en la administración parenteral.

- 50 Los cristales de la presente invención pueden aplicarse en varias formas de dosificación, y pueden prepararse en composiciones farmacéuticas sin cambio o con varios vehículos farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los cristales de la presente invención contienen preferiblemente los cristales de la presente invención más que en la relación en la cual puede producirse el efecto terapéutico práctico. La relación en la cual puede producirse el efecto terapéutico práctico se determina mediante la dosis de administración de la composición farmacéutica anterior, el efecto terapéutico pretendido, o factores semejantes.

Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen varios vehículos orgánicos o inorgánicos comunes como materiales para la preparación, tales como excipientes, lubricantes, ligantes, agentes desintegrantes, polímeros solubles en agua, y sales inorgánicas básicas en preparaciones sólidas; y disolventes, agentes solubilizantes, agentes de suspensión, agentes de tonicidad, agentes amortiguadores del pH, y agentes calmantes en preparaciones líquidas. Si es necesario, es posible usar aditivos comunes tales como agentes antisépticos, antioxidantes, agentes colorantes, agentes edulcorantes, acidulantes, agentes espumantes, agentes saborizantes, o semejantes.

Las formas de dosificación de tales composiciones farmacéuticas son, por ejemplo, comprimidos, polvos, píldoras, gránulos, cápsulas, supositorios, disoluciones, comprimidos recubiertos de azúcar, depósitos, jarabes, agentes de suspensión, emulsiones, grageas, agentes sublinguales, parches, agentes desintegrantes orales (comprimidos), inhaladores, agentes enema, ungüentos, parches, adhesivos y gotas para los ojos. Pueden prepararse con aditivos normales para preparaciones mediante métodos ordinarios.

Las composiciones farmacéuticas anteriores pueden producirse por métodos comunes en el campo técnico de las preparaciones y, por ejemplo, mediante los métodos descritos en la Farmacopea Japonesa. Los métodos de producción de preparaciones se describen más adelante en detalle.

Por ejemplo, cuando los cristales de la presente invención se preparan como preparaciones orales, se añaden a los cristales excipientes y, si es necesario, ligantes, agentes desintegrantes, lubricantes, agentes colorantes, sustancias saborizantes y refrescantes. A continuación, se conforman en comprimidos, polvos, píldoras, gránulos, cápsulas, supositorios, disoluciones, comprimidos recubiertos de azúcar, depósitos, jarabes, agentes de suspensión, emulsiones, grageas, agentes sublinguales, agentes desintegrantes orales (comprimidos), inhaladores, o las formas semejantes según los métodos ordinarios. Ejemplos de excipientes incluyen lactosa, almidón de maíz, sacarosa, glucosa, sorbitol y celulosa cristalina. Ejemplos de ligantes incluyen poli(alcohol vinílico) poli(vinil éter), etilcelulosa, metilcelulosa, goma arábiga, tragacanto, gelatina, laca, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilalmidón y polivinilpirrolidona. Ejemplos de agentes desintegrantes son almidón, agar, polvo de gelatina, celulosa cristalina, carbonato de calcio, hidrógeno-carbonato de sodio, citrato de calcio, dextrano y pectina. Ejemplos de lubricantes son estearato de magnesio, talco, polietilenglicol, aceite vegetal hidrogenado. Ejemplos de agentes colorantes son los que está permitido que se añadan a composiciones farmacéuticas. Además, como sustancias saborizantes y refrescantes se usan polvo de coco, mentol, ácidos aromáticos, aceite de menta, borneol, polvo de canela y semejantes. Estos comprimidos o gránulos pueden estar revestidos, si es necesario, con azúcar, gelatina y semejantes.

Cuando se preparan agentes inyectables se añaden a los mismos, si es necesario, compuestos para ajustar el pH, agentes amortiguadores del pH, agentes estabilizantes, conservantes o semejantes y se preparan como agentes inyectables subcutánea, intramuscular o intravenosamente según métodos ordinarios.

A continuación, los ejemplos ilustrarán adicionalmente la producción de los cristales de la presente invención. Sólo explican la presente invención y no limitan particularmente la invención.

Ejemplo de referencia 1. Síntesis del compuesto (forma libre) de la fórmula (I)

Procedimiento 1: Síntesis del éster de isopropilo de 4-nitro-N-(2,6-diclorobenzoil)-L-fenilalanina

Se añadieron isopropanol (130 mL), tetrahidrofurano (50 mL) y ácido sulfúrico (0,44 mL) a 4-nitro-N-(2,6-diclorobenzoil)-L-fenilalanina (Bibliografía de Patentes 3: WO2004/074264) (2,95 g, 7,70 mmol) y se agitó a 50°C durante 5 días. Después de separar el disolvente a presión reducida, la sustancia sólida obtenida se lavó con agua y se secó para obtener el compuesto del título (3,28 g).

MS (ESI) m/z 425 (MH+).

Procedimiento 2: Síntesis del éster de isopropilo de 4-amino-N-(2,6-diclorobenzoil)-L-fenilalanina (es decir, síntesis del éster de isopropilo del ácido (S)-2-(2,6-diclorobenzoilamino)-3-(4-aminofenil) propiónico)

Se añadieron isopropanol (6 mL), tetrahidrofurano (3 mL) y Pt-S/C al 3% (20 mg) al compuesto obtenido en el procedimiento 1 (98 mg) y se agitó en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de filtrar la disolución de reacción, el filtrado se lavó con isopropanol y se condensó a presión reducida para obtener el compuesto del título (92 mg).

MS (ESI) m/z 395 (MH+).

Procedimiento 3: Síntesis del éster de isopropilo de 4-[(2-amino-5-yodobenzoil)amino]-N-(2,6-diclorobenzoil)-L-fenilalanina

Se disolvieron en dimetilformamida (200 mL) el compuesto obtenido en el procedimiento 2 (26,9 g), 1-hidroxibenzotriazol monohidrato (11,5 g) y ácido 5-yodoantranílico (17,8 g) y se enfriaron a 0°C. A continuación se añadió a la misma 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida hidrocioruro (13,7 g) y se agitó a temperatura ambiente

durante 16 horas. La capa orgánica a la cual se añadió acetato de etilo se lavó con una disolución acuosa 0,1N de hidróxido de sodio, agua, ácido clorhídrico 0,1N y una disolución salina saturada, respectivamente, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Después de separar el disolvente a presión reducida, el residuo se suspendió en cloruro de metileno y hexano, se separó por filtración y se secó para obtener el compuesto del título (37,06 g).

5 MS (ESI MH⁺): 640.

Procedimiento 4: Síntesis del éster de isopropilo de N-(2,6-diclorobenzoil)-4-(6-yodo-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina-3(2H)-il)-L-fenilalanina

Se disolvieron en 150 mL de dimetilformamida N,N-carbonildiimidazol (28,16 g) y se calentó a 80°C. Se añadió gota a gota a la misma una disolución (150 mL) en dimetilformamida del compuesto obtenido en el procedimiento 3 (37,06 g) y se agitó a durante toda la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron acetato de etilo y agua a la misma y se llevó a cabo una extracción. A continuación, la capa orgánica se lavó con agua y una disolución salina saturada, respectivamente, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Después de separar el disolvente a presión reducida, la sustancia sólida obtenida se suspendió en cloruro de metileno y hexano, se separó por filtración y se secó para obtener el compuesto del título (33,06 g).

15 MS (ESI MH⁺): 666.

Procedimiento 5: Síntesis del éster de isopropilo de N-(2,6-diclorobenzoil)-4-(6-yodo-1-metil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina-3(2H)-il)-L-fenilalanina

Se añadieron a dimetilformamida (200 mL) el compuesto obtenido en el procedimiento 4 (33,06 g) y carbonato de potasio (14,5 g) y luego se añadió además a la misma yodometano (10 mL). Después de agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 4 horas, la sustancia insoluble se filtró a través de Celite. A continuación, se añadieron al filtrado acetato de etilo y agua y se llevó a cabo una extracción. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico 1N, una disolución saturada de bicarbonato de sodio, agua y una disolución salina saturada, respectivamente. Después de separar el disolvente, la sustancia sólida obtenida se suspendió en cloruro de metileno y hexano, se separó por filtración y se secó para obtener el compuesto del título (31,85 g).

25 MS (ESI MH⁺): 680.

Procedimiento 6: Síntesis del éster de isopropilo de N-(2,6-diclorobenzoil)-4-(6-carboxi-1-metil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina-3(2H)-il)-L-fenilalanina

Se disolvió en dimetilformamida (140 mL) el compuesto obtenido en el procedimiento 5 (31,85 g) y se añadieron a la misma trietilamina (13,1 mL) y agua (8,5 mL). Después de borbotear monóxido de carbono, se añadió además acetato de paladio (52 mg) a la misma y se agitó a 70°C en atmósfera de monóxido de carbono durante 11 horas. Después de filtrar la sustancia insoluble a través de Celite, la dimetilformamida se separó a presión reducida. A continuación, se añadieron al residuo acetato de etilo y ácido clorhídrico 1N y se llevó a cabo una extracción. La capa orgánica obtenida se lavó con ácido clorhídrico 1N y una disolución salina saturada, respectivamente, y se secó con sulfato de sodio. Después de separar el disolvente a presión reducida, la sustancia sólida obtenida se suspendió en cloruro de metileno y hexano, se separó por filtración y se secó para obtener el compuesto del título (27,32 g).

MS (ESI MH⁺): 598.

Procedimiento 7: Síntesis del éster de isopropilo de N-(2,6-diclorobenzoil)-4-[(6-(hidroximetil)-1-metil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina-3(2H)-il)-L-fenilalanina

Se disolvió en tetrahidrofurano (200 mL) el compuesto obtenido en el procedimiento 6 (27,32 g). Se añadieron a la misma trietilamina (9,51 mL) y se enfrió a 0°C. A continuación, se añadió gota a gota a la misma cloroformiato de etilo (4,56 mL) y se agitó durante 30 minutos. Después de separar por filtración la sustancia insoluble, el filtrado se enfrió a 0°C y se añadieron al mismo borohidruro de sodio (2,58 g) y hielo (5 trozos). Después de agitar durante 1 hora, se añadió borohidruro de sodio (0,25 g) y se agitó durante 20 minutos. A continuación, se añadieron ácido clorhídrico 1N y luego acetato de etilo y agua y se llevó a cabo una extracción. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico 0,3N, agua, agua saturada con bicarbonato de sodio y una disolución salina saturada, respectivamente. Después de separar el disolvente, la sustancia sólida obtenida se suspendió en cloruro de metileno y hexano, se separó por filtración y se secó para obtener el compuesto del título (25,69 g).

MS (ESI MH⁺): 584.

50 Procedimiento 8: Síntesis del éster de isopropilo de 4-[6-(clorometil)-1-metil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina-3(2H)-il]-N-(2,6-diclorobenzoil)-L-fenilalanina

Se enfrió a 0°C un disolvente mixto de cloruro de metileno (140 mL) y dimetilformamida (140 mL), y a continuación se añadió al mismo oxicluro de fósforo (4,1 mL) y se agitó durante 30 minutos. A continuación, se añadió a 0°C el

compuesto obtenido en el procedimiento 7 (25,69 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió más oxocloruro de fósforo (0,4 mL) y se agitó durante 1 hora. A continuación, se añadieron además acetato de etilo (400 mL) y agua saturada con bicarbonato de sodio (100 mL) y se agitó vigorosamente. Después de que se añadieran acetato de etilo (500 mL) y agua (200 mL) para separar las capas, la capa orgánica se lavó con agua saturada con bicarbonato de sodio, una disolución acuosa de hidróxido de sodio 1N y una disolución salina saturada. A continuación, la capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro. Después de separar el disolvente a presión reducida, la sustancia sólida obtenida se suspendió en cloruro de metileno y hexano, se separó por filtración y se secó para obtener el compuesto del título (20,32 g).

MS (ESI MH⁺): 602.

10 Procedimiento 9: Síntesis del éster de isopropilo de N-(2,6-diclorobenzoil)-4-[6-(metilamino)metil-1-metil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina-3(2H)-il]-L-fenilalanina [el compuesto (forma libre) de la fórmula (I)]

Se añadió gota a gota una disolución en acetonitrilo (450 mL) del compuesto obtenido en el procedimiento 8 (20,32 g) a una disolución mixta de una disolución (200 mL) 2M de metilamina en tetrahidrofurano y acetonitrilo (100 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas y el disolvente se separó a presión reducida. Una parte del producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo : metanol, 5:1) y el residuo se disolvió en cloroformo y se filtró. Después de condensarlo a presión reducida, se añadió agua-acetonitrilo, y el acetonitrilo se separó a presión reducida. A continuación, el residuo se liofilizó para obtener el compuesto del título (2,04 g).

MS (ESI MH⁺): 597.

20 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1,17 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,21 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,23 (3H, s), 3,00 (1H, dd, J = 14,1, 9,9 Hz), 3,17 (1H, dd, J = 14,1, 5,4 Hz), 3,51 (3H, s), 3,69 (2H, s), 4,70-4,80 (1H, m), 4,90-4,99 (1H, m), 7,18 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,35-7,45 (6H, m), 7,74 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,98 (1H, d, J = 2,1 Hz), 9,22 (1H, d, J = 8,0 Hz).

Ejemplo de referencia 2. Síntesis del compuesto de la fórmula (II) (sal de TFA)

25 Una disolución 4N (15 mL) de cloruro de hidrógeno en dioxano y agua (3 mL) se añadieron al compuesto (I) obtenido en el ejemplo de referencia 1 (500 mg, 0,838 mmol) y se agitó a 90°C durante 3 horas. Después de separar el disolvente, la masa de reacción se purificó por cromatografía de líquidos de alta velocidad (agua/acetonitrilo, conteniendo cada uno TFA al 0,1%) para obtener el compuesto pretendido (330 mg).

MS (ESI MH⁺): 555.

30 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 2,58 (3H, d, J = 5,1 Hz), 2,98 (1H, dd, J = 14,1, 10,5 Hz), 3,24 (1H, dd, J = 14,1, 4,5 Hz), 3,55 (3H, s), 4,22-4,28 (1H, m), 4,61-4,80 (1H, m), 7,20 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,39-7,46 (5H, m), 7,60 (1H, d, J = 9,0 Hz), 7,88 (1H, d, J = 6,9 Hz), 8,24 (1H, d, J = 1,5 Hz), 8,80 (2H, brs), 9,15 (1H, d, J = 8,7 Hz), 12,90 (1H, brs).

Ejemplo de ensayo 1. Ensayo de la actividad antagonista a la unión VCAM-a/integrina α4β1 en presencia de suero sanguíneo

35 Se determinó la capacidad antagonista de una sustancia de ensayo del enlace a VCAM-1 de la cepa celular de células T de ser humano, Jurkat (ATCC TIB-152), que se sabe expresa a la integrina α4β1.

40 Se añadieron 50 μL/pocillo de una disolución (500 ng/mL) de VCAM-1/Fc recombinante de ser humano (R&D systems) diluidos con tampón A (BaHCO₃ 0,1 M, pH 9,6) a una placa de microtitulación de 96 pocillos (Nunc Maxisorp). Después de su incubación a 4°C durante toda la noche y lavarla una vez con PBS, se añadió un tampón (tampón B), obtenido diluyendo Block Ace (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.) con PBS hasta la mitad de su concentración, en la cantidad de 150 μL/pocillo. Después de su incubación a temperatura ambiente durante 2 horas, el tampón B se separó y la placa se lavó con PBS una vez.

45 Se lavaron células Jurkat con medio Eagle modificado por Dulbecco (SIGMA, de aquí en adelante denominado "DMEM") una vez. A continuación, las células se suspendieron otra vez en un tampón enlazante (DMEM que contenía HEPES 20 mM, BSA al 0,1%, MnCl₂ 2 mM y suero sanguíneo de ser humano al 50% (Sigma) hasta una concentración de 1 x 10⁶ células /mL.

50 Se añadieron sesenta μL de una sustancia de ensayo de varias concentraciones obtenidas mediante la dilución con el tampón enlazante a placas de 96 pocillos de fondo redondo (IWAKI). Inmediatamente después, se añadieron a la misma 60 μL de las células Jurkat (1 x 10⁶ células /mL) y se agitó en un agitador vibratorio de placas (IKA-Labortechnik, IKA-SCHUTTLER MTS-4) a 1000 rpm durante 10 segundos. En 120 μL de las suspensiones de células a los que se añadió la sustancia de ensayo, cada 100 μL de los mismos se transfirieron a la placa revestida con VCAM-1/Fc y se incubaron en un lugar oscuro a temperatura ambiente durante 60 minutos. Después de la agitación en el agitador vibratorio a 1000 rpm durante 30 segundos, la disolución se separó inmediatamente. A continuación, las células no enlazadas se separaron lavándolas una vez con PBS. Se añadió el tampón C (PBS que

5 contenía Triton X-100 al 0,82%) a la placa en la cantidad de 70 μL /pocillo. Después de agitar en el agitador vibratorio a 1000 rpm durante 5 minutos, las células Jurkat enlazadas se lisaron. Después de centrifugar las células en una centrífuga de placas (SIGMA 4-15C) a temperatura ambiente a 2500 rpm durante 5 minutos, se transfirieron 50 μL de su sobrenadante a una placa de microtitulación de 96 pocillos (Nunc Maxisorp). A cada uno se añadieron 50 μL de Tampón Sustrato (Promega, Ensayo CytoTox 96 no Radioactivo de Citotoxicidad), se agitaron en un agitador vibratorio de placas a 1000 rpm durante 10 segundos y se hicieron reaccionar en un lugar oscuro durante 30 minutos. A continuación, a cada uno se añadieron 50 μL de Disolución de Parada (Promega, Ensayo CytoTox 96 no Radioactivo de Citotoxicidad) y se agitaron en un agitador vibratorio de placas a 1000 rpm durante 10 segundos. A continuación, se determinó su absorbancia a 490 nm con un lector de placas (Molecular Devices, Vmax).

10 La absorbancia así obtenida detecta la actividad de la lactato deshidrogenasa (LDH) disuelta en el sobrenadante de cada pocillo. Es decir, la absorbancia es proporcional al número de células Jurkat restantes en la placa vía el enlace a VCAM-1. El ensayo se llevó a cabo por duplicado y se determinó la velocidad del enlace de cada sustancia de ensayo en varias concentraciones mientras que se determinó que la absorbancia del pocillo exento de sustancia de ensayo era 100% y la absorbancia del pocillo exento de células Jurkat era 0%. Se calculó la concentración para una inhibición del enlace del 50%, IC_{50} .

Como resultado, el IC_{50} del compuesto de la fórmula (II) fue 11,2 nM, que fue muy superior al IC_{50} del compuesto del ejemplo 1 en el documento WO 02/16329 (Bibliografía de Patentes 1), 148,8 nM.

Ejemplo de ensayo 2. Estudio farmacocinético por administración intravenosa a una rata

20 Después de que el compuesto de la fórmula (II), que es la forma activa, se pesara en un platillo, su concentración se ajustó a 10 mg/mL con dimetil sulfóxido. Se añadieron a la misma polietilenglicol 400 y agua destilada para preparar 1 mg/mL de una disolución de administración. Se administró intravenosamente 1 mg/mL de la disolución de administración como una dosis única a una rata Wistar en una cantidad de 1 mL/kg. 1, 5, 10, 30, 60 y 180 minutos después, se determinó por LC/MS la concentración del fármaco en el plasma sanguíneo obtenido extrayendo sangre de su vena cervical a lo largo del tiempo bajo anestesia. A partir de los resultados obtenidos, se calculó el área bajo la curva concentración en el plasma – tiempo de cero a tiempo infinito ($\text{AUC}_{\text{inf(IV)}}$) según el método trapezoidal de análisis farmacocinético. El aclaramiento corporal total (CL_{tot} , [L/h/kg]) se calculó como un índice de la desaparición del fármaco en el plasma sanguíneo desde una dosis [mg/kg] y AUC [$\mu\text{g} \times \text{h/mL}$] según la fórmula: $\text{CL}_{\text{tot}} = \text{Dosis} + \text{AUC}_{\text{inf(IV)}}$.

30 Como resultado, el CL_{tot} del compuesto de la fórmula (II) fue 0,23 [L/h/kg], el cual fue muy superior al CL_{tot} del compuesto del ejemplo 1 en el documento WO 02/16329 (Bibliografía de Patentes 1), 1,89.

Ejemplo de ensayo 3. Actividad para elevar el número de linfocitos en la sangre periférica de una rata

35 Después de que se administre in vivo la sustancia que inhibe el enlace entre la integrina $\alpha 4$ y VCAM-1, en el caso de que su actividad inhibidora funcione eficazmente, se sugiere que aumenta el número de linfocitos en la sangre periférica inhibiendo la adhesión de los linfocitos a los vasos sanguíneos o a los órganos. Por lo tanto, se examinó la actividad del compuesto de la fórmula (I) para elevar el número de linfocitos en la rata.

La disolución de dosificación se preparó disolviendo el compuesto de la fórmula (I) en dimetil sulfóxido, añadiendo una disolución mixta de polietilenglicol 400 : propilenglicol 1:1 a la misma y agitando repetidamente por volteo. La concentración final de DMSO se ajustó a 2,5%.

40 La disolución de dosificación de una sustancia de ensayo (30 mg/kg) se administró oralmente a ratas macho Wistar (6 a 8 semanas de edad) en la cantidad de 4 mL/kg. A determinados tiempos después de la administración, la sangre se extrajo de la gran vena abdominal con anestesia y se mezcló en un recipiente revestido con EDTA-2K para recoger sangre. A continuación, se determinó el número de linfocitos en la sangre periférica mediante un analizador automatizado hematológico exhaustivo (SF-3000, Sysmex). El ensayo se llevó a cabo en $n = 5$, y se calculó la relación (%) del número de linfocitos en la sangre periférica en un grupo administrado con sustancia de ensayo al del grupo tratado con vehículo (grupo testigo) a la vez que se determinó que el valor medio del número de linfocitos en la sangre periférica en un grupo testigo era 100%.

La evaluación del número de linfocitos en la sangre periférica 12 horas después de la administración resulta en que el compuesto del ejemplo 1 en el documento WO 02/16329 (Bibliografía de Patentes 1) no pasó (120%) y el compuesto de la fórmula (I) pasó (150% o mayor).

50 Método de medida 1. Patrón de difracción de rayos X

Las condiciones de las medidas del patrón de difracción de rayos X de polvo descrito en los ejemplos 1 a 15 son como sigue:

Dispositivo: Difractómetro Bruker GADDS

	Diana:	Monocromador CuK α
	Voltaje:	40 kV
	Corriente:	40 mA
	Tiempo total:	90 segundos ó 180 segundos
5	Intervalo 2 θ :	1,5 a 41,5 $^{\circ}$.

Ejemplo 1. Preparación de la forma A del cristal

Procedimiento 1

El compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el ejemplo de referencia se disolvió en tetrahidrofurano (THF) y el disolvente se separó a presión reducida para obtener la forma amorfa del compuesto (I).

10 Procedimiento 2

Se añadieron 3 mg del compuesto obtenido en el procedimiento 1 a 40 μ L de dimetilformamida y se calentó a 60 $^{\circ}$ C. A continuación, la masa de reacción se enfrió rápidamente a 5 $^{\circ}$ C (a una velocidad de enfriamiento de 30 $^{\circ}$ C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas, y a continuación el cristal precipitado se recogió. El cristal obtenido estaba en forma de un hidrato. La figura 1 muestra el patrón de difracción de rayos X de polvo del mismo.

Ejemplo 2. Preparación de la forma B del cristal

Se añadieron 3 mg del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 a 40 μ L de t-butanol y se calentó a 60 $^{\circ}$ C. A continuación, la masa de reacción se enfrió rápidamente a 5 $^{\circ}$ C (a una velocidad de enfriamiento de 30 $^{\circ}$ C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas, y a continuación el cristal precipitado se recogió.

Además, el cristal también puede recogerse por el mismo método que se mencionó anteriormente siempre que el disolvente se cambie a 1-butanol o etanol.

Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido. La figura 3 muestra el resultado del mismo.

25 En la figura, 002 B2 representa el cristal obtenido a partir de t-butanol; 002 E1 representa el cristal obtenido en 1-butanol; y 002 E2 representa el cristal obtenido en etanol.

Ejemplo 3. Preparación de la forma D del cristal

30 Se añadió el compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 a metanol para obtener una concentración de 75 mg/mL en metanol, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se calentó a 60 $^{\circ}$ C. A continuación, la masa de reacción se enfrió rápidamente a 5 $^{\circ}$ C (a una velocidad de enfriamiento de 30 $^{\circ}$ C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas, y a continuación el cristal precipitado se recogió. Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido. La figura 4 muestra el resultado del mismo junto con el patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma A del cristal. En la figura FORMA D representa la forma D del cristal, y FORMA A representa la forma A del cristal.

35 Ejemplo 4. Preparación de la forma E del cristal

Se añadió el compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 a etanol para obtener una concentración de 75 mg/mL en etanol, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se calentó a 60 $^{\circ}$ C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5 $^{\circ}$ C (a una velocidad de enfriamiento de 1 $^{\circ}$ C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas, y a continuación el cristal precipitado se recogió. Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido. La figura 5 muestra el resultado del mismo junto con el patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma B del cristal. En la figura E001_E8 representa la forma E del cristal y B002_E2 a representa la forma B del cristal.

Ejemplo 5. Preparación de la forma F del cristal

45 Se añadió el compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 a alcohol t-amílico para obtener una concentración de 75 mg/mL en alcohol t-amílico, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se calentó a 60 $^{\circ}$ C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5 $^{\circ}$ C (a una velocidad de enfriamiento de 1 $^{\circ}$ C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 24 horas, y a continuación el cristal precipitado se recogió. Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido. La figura 6

muestra el resultado del mismo junto con el patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma A del cristal. En la figura, F001_H7 representa la forma F del cristal y A representa la forma A del cristal.

Ejemplo 6. Preparación de la forma CI2 del cristal a la forma CI4 del cristal

5 Se añadió nitrometano, que comprendía cloruro de hidrógeno en una relación molar al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 de 1,1:1, a dicho compuesto de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en nitrometano. La mezcla se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 72 horas, y a continuación la forma CI2 precipitada del cristal se recogió.

10 La forma CI3 del cristal y la forma CI4 del cristal se obtuvieron por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

Forma CI3 del cristal: uso de 2-butanol como el disolvente

Forma CI4 del cristal: uso de 2-propanol como el disolvente.

15 Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 7 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 7. Preparación de la forma Su1 del cristal a la forma Su3 del cristal

20 Se añadió una disolución acuosa de ácido sulfúrico al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 de modo que la relación molar del ácido sulfúrico a dicho compuesto fuera 1,1:1, y a continuación se evaporó el agua. La sal de sulfato así obtenida se añadió a piridina de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en piridina, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 72 horas, y a continuación la forma Su1 precipitada del cristal se recogió.

25 La forma Su2 del cristal y la forma Su3 del cristal se obtuvieron por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

Forma Su2 del cristal: uso de nitrometano como el disolvente y un tiempo de envejecimiento e aproximadamente 1 hora

Forma Su3 del cristal: uso de etanol como el disolvente y un tiempo de envejecimiento e aproximadamente 1 hora.

30 Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 8 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 8. Preparación de la forma Br1 del cristal a la forma Br5 del cristal

35 Se añadió ciclohexanona, que comprendía bromuro de hidrógeno en una relación molar al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 de 1,1:1, a dicho compuesto de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en ciclohexanona. La mezcla se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 72 horas, y a continuación la forma Br1 precipitada del cristal se recogió.

40 La forma Br2 del cristal y la forma Br5 del cristal se obtuvieron por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

Forma Br2 del cristal: uso de etanol como el disolvente

Forma Br3 del cristal: uso de acetonitrilo como el disolvente y un tiempo de envejecimiento e aproximadamente 1 hora

Forma Br4 del cristal: uso de tetrahidrofurano (THF) como el disolvente

45 Forma Br5 del cristal: uso de 1,2-dimetoxietano como el disolvente.

Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 9 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 9. Preparación de la forma Pho1 del cristal a la forma Pho4 del cristal

5 Se añadió una disolución acuosa de ácido fosfórico al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 de modo que la relación molar del ácido fosfórico a dicho compuesto fuera 1,1:1, y a continuación se evaporó el agua. La sal de fosfato así obtenida se añadió a ciclohexanona de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en ciclohexanona, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora, y a continuación la forma Pho1 precipitada del cristal se recogió.

10 La forma Pho2 del cristal a la forma Pho4 del cristal se obtuvieron por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

Forma Pho2 del cristal: uso de agua como el disolvente

Forma Pho3 del cristal: uso de metanol como el disolvente

Forma Pho4 del cristal: uso de 2,2,2-trifluoroetanol como el disolvente

15 Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 11 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 10. Preparación de la forma Mal1 del cristal a la forma Mal3 del cristal

20 Se añadió una disolución acuosa de ácido maleico al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 de modo que la relación molar del ácido maleico a dicho compuesto fuera 1,1:1, y a continuación se evaporó el agua. La sal de maleato así obtenida se añadió a etanol de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en etanol, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora, y a continuación la forma Mal1 precipitada del cristal se recogió.

25 La forma Mal2 del cristal y la forma Mal3 del cristal se obtuvieron por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

Forma Mal2 del cristal: uso de acetato de etilo como el disolvente

Forma Mal3 del cristal: uso de acetona como el disolvente.

Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 12 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 11. Preparación de la forma Aca1 del cristal a la forma Aca3 del cristal

35 Se añadió acetona, que comprendía ácido acético cuya relación molar al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 era 1,1: 1, a dicho compuesto de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en acetona. La mezcla se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora, y a continuación la forma Aca1 precipitada del cristal se recogió.

La forma Aca2 del cristal y la forma Aca3 del cristal se obtuvieron por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

Forma Aca2 del cristal: uso de 2-butanol como el disolvente

40 Forma Aca3 del cristal: uso de acetato de etilo como el disolvente.

Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 13 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 12. Preparación de la forma Tar1 del cristal a la forma Tar2 del cristal

45 Se añadió una disolución acuosa de ácido D-tartárico al compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el procedimiento 1 del ejemplo 1 de modo que la relación molar del ácido D-tartárico a dicho compuesto fuera 1,1:1, y a continuación se evaporó el agua. La sal de D-tartrato así obtenida se añadió a ciclohexanona de modo que la concentración fuera la equivalente a 75 mg/mL de la forma libre en ciclohexanona, se puso en 1 pocillo de una placa de 96 pocillos y se disolvió calentándola a 60°C. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a

una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 1 hora, y a continuación la forma Tar1 precipitada del cristal se recogió.

La forma Tar2 del cristal se obtuvo por el mismo método que se mencionó anteriormente con tal que se cambiara a las siguientes condiciones:

- 5 Forma Tar2 del cristal: uso de metanol como el disolvente.

Se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo de cada cristal así obtenido. La figura 14 muestra el resultado de los mismos.

Ejemplo 13. Preparación de la forma C11 del cristal

- 10 Se añadió una disolución de acetona (1,0 mL, 0,140 mmol), a la cual se añadió ácido clorhídrico al 37% con el fin de que comprendiera 0,14 mmol/L de cloruro de hidrógeno, a 76 mg (0,127 mmol) del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el ejemplo de referencia (relación molar de dicho compuesto a cloruro de hidrógeno = 1,1:1). La mezcla se agitó mediante una barra de agitación magnética, se calentó a una velocidad de calentamiento de 1°C/min, y se mantuvo a 60°C durante 30 minutos. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 72 horas, y a continuación la forma C11 precipitada del cristal se recogió.

15 Cuando se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido, el patrón fue el mismo que el de la forma C11 del cristal de la figura 7.

Ejemplo 14. Preparación de la forma Br4 del cristal (escalado)

- 20 Se añadió una disolución de THF (1,1 mL, 0,154 mmol), a la cual se añadió ácido bromhídrico al 48% con el fin de que comprendiera 0,14 mmol/mL de HBr, a 82,7 mg (0,139 mmol) del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el ejemplo de referencia (relación molar de dicho compuesto a HBr = 1,1:1). La mezcla se agitó mediante una barra de agitación magnética, se calentó a una velocidad de calentamiento de 1°C/min, y se mantuvo a 60°C durante 30 minutos para disolver la sal de hidrobromuro. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 72 horas, y a continuación la forma Br4 precipitada del cristal se recogió.

25 Cuando se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido, el patrón fue el mismo que el de la forma Br4 del cristal obtenida en el ejemplo 8.

Ejemplo 15. Preparación de la forma Mal2 del cristal (escalado)

- 30 Se añadió una disolución (0,140 mmol), en la que 16,3 mg de ácido maleico (pureza: 99%) se disolvió en 1,004 mL de acetato de etilo, a 75,3 mg (0,126 mmol) del compuesto (forma libre) de la fórmula (I) preparado en el ejemplo de referencia (relación molar de dicho compuesto a ácido maleico = 1,1:1). La mezcla se agitó mediante una barra de agitación magnética, se calentó a una velocidad de calentamiento de 1°C/min, y se mantuvo a 60°C durante 30 minutos para disolver la sal de maleato. A continuación, la masa de reacción se enfrió lentamente a 5°C (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h), se envejeció a la misma temperatura durante aproximadamente 72 horas, y a continuación la forma Mal2 precipitada del cristal se recogió.

35 Cuando se midió el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal así obtenido, el patrón fue el mismo que el de la forma Mal2 del cristal obtenida en el ejemplo 10.

Método de medida 2. Medida de la difracción de rayos X de polvo

- 40 Las condiciones de las medidas del patrón de difracción de rayos X de polvo descrito en los ejemplos 16 a 18 y 24 son como sigue:

Dispositivo:	Difractómetro de rayos X de polvo, X-Pert-Pro-MPD (PANanalytical)
Detector:	Detector de conjunto de haz de semiconductores, X'CeLerator.
Diana:	Monocromador Cu completamente automático
Voltaje:	40 kV
45 Corriente:	40 mA
Ranura:	Divergencia ½°
	Difusión ½°

Luz que se recibe 0,15 mm

Velocidad de barrido: 2°/min

Intervalo 2 θ : 3 a 30°.

Ejemplo 16. Síntesis de la forma Mal2 del cristal (escalado)

- 5 Se disolvió ácido maleico en acetato de etilo para dar una disolución de concentración de 0,14 mmol/L. Se añadieron 10 mL de la misma al compuesto (I) (750 mg, 1,25 mmol) preparado en el ejemplo de referencia, y la mezcla se calentó de 20 a 60°C agitándola (a una velocidad de calentamiento de 1°C/min). La masa de reacción se mantuvo a 60°C durante 30 minutos y se enfrió de 60°C a 5°C durante 55 horas (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h). A continuación, se envejeció a 5°C durante aproximadamente 14 horas, se filtró y se secó a presión reducida (a temperatura ambiente durante 24 horas) para obtener un cristal blanco.

Patrón de difracción de rayos X de polvo: Figura 15.

- 15 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1,18 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,23 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,58 (3H, s), 3,02 (1H, dd, J = 14,1, 9,9 Hz), 3,19 (1H, dd, J = 14,1, 5,4 Hz), 3,55 (3H, s), 4,24 (2H, s), 4,72-4,82 (1H, m), 4,90-5,00 (1H, m), 6,02 (2H, s), 7,21 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,39-7,48 (5H, m), 7,59 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,87 (1H, dd, J = 9,0, 2,4 Hz), 8,24 (1H, d, J = 2,4 Hz), 8,68-8,80 (brs, 1H), 9,24 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Ejemplo 17. Preparación de la forma Cl5 del cristal

(Método en el que se usa tetrahidrofurano como disolvente: Método de producción 1)

- 20 Se diluyó ácido clorhídrico con tetrahidrofurano para dar una disolución de concentración de 0,14 mmol/L. Se añadieron 10 mL de la misma al compuesto (I) (forma libre, 750 mg, 1,25 mmol) preparado en el ejemplo de referencia, y la mezcla se calentó de 20 a 60°C agitándola (a una velocidad de calentamiento de 1°C/min). La masa de reacción se mantuvo a 60°C durante 30 minutos y se enfrió de 60°C a 5°C durante 55 horas (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h). A continuación, se envejeció a 5°C durante aproximadamente 14 horas, se filtró y se secó a presión reducida (a temperatura ambiente durante 90 horas) para obtener un cristal blanco (725 mg).

La figura 16 muestra el resultado del patrón de difracción de rayos X de polvo.

- 25 Además, los ángulos de difracción y las intensidades de los picos principales se muestran a continuación.

Tipo Cl5	
2 θ	Intensidad
5,4	Fuerte
8,2	Fuerte
11,2	Fuerte
12,4	Débil
14,3	Media
15,6	Media
17,4	Fuerte
18,4	Débil
18,8	Débil

Entre los anteriores, los picos particularmente característicos son 8,2, 11,2, 12,4, 14,3 y 15,6 y además 8,2, 11,2, 14,3 y 15,6.

- 30 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1,18 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,23 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,54 (3H, s), 3,02 (1H, dd, J = 14,1, 9,9 Hz), 3,19 (1H, dd, J = 14,1, 5,4 Hz), 3,55 (3H, s), 4,22 (2H, s), 4,70-4,82 (1H, m), 4,90-5,00 (1H, m), 7,21 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,35-7,48 (5H, m), 7,59 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,95 (1H, dd, J = 9,0, 2,4 Hz), 8,23 (1H, d, J = 2,4 Hz), 9,05-9,18 (brs, 2H), 9,24 (1H, d, J = 8,1 Hz).

(Método en el que se usa acetona como disolvente: Método de producción 2)

5 Se diluyó ácido clorhídrico (5,92 mL, 71,0 mmol) con acetona (76,6 mL) para dar una disolución de concentración de 0,86 mmol/L. La dilución se añadió a una disolución en acetona (433 mL) del compuesto (I) (forma libre, 38,3 g, 64,1 mmol) preparado en el ejemplo de referencia, y la mezcla se calentó de 20 a 60°C agitándola (a una velocidad de calentamiento de 1°C/min). La masa de reacción se mantuvo a 60°C durante 30 minutos y se enfrió de 60°C a 5°C durante 5,5 horas (a una velocidad de enfriamiento de 10°C/h). A continuación, se envejeció a 5°C durante aproximadamente 6 horas, se filtró y se secó a presión reducida (a 60°C durante unos pocos días) para obtener un cristal blanco (36,23 g). El patrón de difracción de rayos X de polvo del mismo representó el tipo C15.

(Método de la cristalización en acetona acuosa + adición de un mal disolvente: Método de producción 3)

10 Se mezclaron 23 mL de acetona y 15 mL de agua. Se añadieron a la mezcla 5,04 g de una sal de hidrocloreto del compuesto (I) (que se obtuvo, por ejemplo, mezclando el compuesto (I) (forma libre) y una disolución en dioxano que comprendía cloruro de hidrógeno; y a continuación se separó el disolvente) y se disolvieron calentando a 65°C. La disolución disuelta se filtró con calentamiento, y se añadieron al filtrado 220 mL de acetona gota a gota durante 40 minutos. En dicho tratamiento también se añadieron 30 mg de un cristal semilla. La suspensión obtenida se enfrió a 10°C y se agitó durante toda la noche. A continuación, el cristal precipitado se separó por filtración y se lavó con 30 mL de acetona fría. El cristal húmedo obtenido se secó a 70°C a presión reducida para obtener 4,47 g de un cristal blanco (rendimiento 88,7%). El patrón de difracción de rayos X de polvo del mismo representó el tipo C15.

(Método de la suspensión de la suspensión en acetona: Método de producción 4)

20 Se añadieron 30,47 g de una sal de hidrocloreto del compuesto (I) a 112,5 mL de acetonitrilo y 37,5 mL de agua y se disolvieron por calentamiento a 80°C. A continuación, la mezcla se enfrió a 30°C y se añadieron gota a gota 600 mL de acetona. La suspensión del cristal precipitado se agitó a 10°C durante toda la noche. A continuación, el cristal se separó en una centrífuga para obtener 61,11 g de un cristal húmedo. El patrón de difracción de rayos X de polvo de este cristal húmedo representó el tipo NW2. Se suspendieron 10,75 g del cristal húmedo (peso seco 5,0 g) en 100 mL de acetona y se agitaron a 25°C durante toda la noche. El cristal se separó por filtración y se secó a 80°C durante 18 horas a presión reducida para obtener 4,63 g de una sustancia sólida cristalina blanca. El patrón de difracción de rayos X de polvo del mismo representó el tipo C15.

25 La figura 20 muestra los datos del espectro RMN en estado sólido de la forma C15 del cristal producida por el método anterior (dispositivo = VANCE 400 WB de BRUKER; método de medida = método 13C-CPTOSS; MAS = 6 KHz). La figura 21 muestra los datos del espectro de infrarrojos de dicho cristal (dispositivo = FTIR 8300 de Shimadzu Corporation; método de medida = método del cloruro de potasio).

Ejemplo 18. Síntesis de la forma Br5 del cristal (escalado)

35 Se diluyó ácido bromhídrico con 1,2-dimetoxietano para dar una disolución de concentración de 0,14 mmol/L. Se añadieron 10 mL de la misma al compuesto (I) (750 mg, 1,25 mmol) preparado en el ejemplo de referencia, y la mezcla se calentó de 20 a 60°C agitándola (a una velocidad de calentamiento de 1°C/min). La masa de reacción se mantuvo a 60°C durante 30 minutos y se enfrió de 60°C a 5°C durante 55 horas (a una velocidad de enfriamiento de 1°C/h). A continuación, se envejeció a 5°C durante aproximadamente 14 horas, se filtró y se secó a presión reducida (a temperatura ambiente durante 114 horas) para obtener un cristal blanco (803 mg).

Patrón de difracción de rayos X de polvo: Figura 17

40 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1,18 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,23 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,57 (3H, s), 3,02 (1H, dd, J = 14,1, 9,9 Hz), 3,20 (1H, dd, J = 14,1, 5,4 Hz), 3,55 (3H, s), 4,24 (2H, s), 4,70-4,82 (1H, m), 4,92-5,00 (1H, m), 7,21 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,38-7,48 (5H, m), 7,59 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,89 (1H, dd, J = 9,0, 2,4 Hz), 8,23 (1H, d, J = 2,4 Hz), 8,70-8,80 (brs, 2H), 9,24 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Método de medida 3. Medida de la difracción de rayos X de polvo

45 Las condiciones de las medidas del patrón de difracción de rayos X de polvo descrito en los ejemplos 19 a 23 son como sigue:

Dispositivo:	Difractómetro de rayos X de polvo, X-Pert-Pro-MPD (PANalytical)
Detector:	Detector de conjunto de haz de semiconductores, X'Celerator.
Diana:	Monocromador Cu completamente automático
Voltaje:	40 kV
50 Corriente:	55 mA
Ranura:	Divergencia 1/2°

Difusión $\frac{1}{2}^\circ$

Luz que se recibe 0,15 mm

Intervalo 2θ : 5 a 40° .

Ejemplos de ensayo

- 5 Los siguientes ejemplos de ensayo ilustrarán el efecto de la presente invención. El ejemplo de ensayo 4 confirmó tipos de cristal termodinámicamente estables, y el ejemplo de ensayo 5 confirmó tipos de cristal termodinámicamente estables. Además, el ejemplo de ensayo 6 confirmó tipos de cristal estables que no dependían de la humedad relativa, y el ejemplo de ensayo 7 confirmó tipos de cristal escasamente higroscópicos.

Ejemplo de ensayo 4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

- 10 (1) Método y condiciones de medida

Se pesaron en platillos de 1 a 5 mg de una muestra de cada uno de los cristales obtenidos anteriormente (formas A, Br4, Cl5 o Br5 del cristal) y se sellaron en una cápsula de aluminio. A continuación, se llevó a cabo la DSC en las siguientes condiciones.

- | | | |
|----|--------------------------|--------------------------------------|
| | Referencia: | Una cápsula vacía de aluminio |
| 15 | Tiempo de muestreo: | 0,2 s. |
| | Intervalo: | 25 a 350°C |
| | Tiempo de calentamiento: | 10 ó $20^\circ\text{C}/\text{min}$. |

Los resultados se muestran en la figura 2 (forma A del cristal), figura 10 (forma Br4 del cristal), figura 18 (forma Cl5 del cristal) y figura 19 (forma Br5 del cristal).

- 20 El punto de fusión de la forma Cl5 del cristal por DSC está a una alta temperatura de alrededor de 255°C (250 a 260°C) y el de la forma Br5 del cristal por DSC también está a una alta temperatura de alrededor de 226°C (221 a 231°C).

Ejemplo de ensayo 5. Ensayo de estabilidad durante la conservación

- 25 Las formas Cl5, Br5 y A del cristal se conservaron en las siguientes condiciones y a continuación se comparó la cantidad de impurezas de cada muestra. Sin embargo, no se observó aumento de las impurezas por calentamiento.

Duración: 4 semanas.

Temperatura/humedad:

Humedad relativa $40^\circ\text{C}/75\%$ - abierto

60°C /abierto

- 30 Temperatura ambiente/cerrado (testigo).

Ejemplo de ensayo 6. Medida de la difracción de rayos X de polvo bajo control de la humedad relativa

Se midió la difracción de rayos X de polvo de cada una de las formas Cl5 y Mal2 del cristal en las siguientes condiciones, y se compararon los patrones de difracción entre las muestras secas y húmedas. Sin embargo, no hubo ninguna diferencia entre las mismas en cada cristal.

- 35 Condiciones de secado (seca): Medida de una muestra secándola a 50°C a presión reducida.
Condiciones húmedas (húmeda): Medida de una muestra a una humedad relativa 85%.
Difractómetro de polvos: RINT2100S de RIGAKU (y una temperatura y humedad asociadas a dicho difractómetro). Generador de humedad. SRH-1R, Shinei Co., Inc.

Ejemplo de ensayo 7. Preparación de isotermas de adsorción de vapor

- 40 Se pesaron en platillos 50 mg de cada una de las formas Cl5 y MI2 del cristal y se secaron a vacío a 50°C durante toda la noche. A continuación, a temperatura constante, se midió la cantidad de adsorción de agua de cada cristal con un aparato automático para medir la adsorción de vapor (BELSORP-18, de BEL Japan, Inc.). (Mitsuiki et al., J. Agric. Food Chem., Vol. 46, No. 9, páginas 3528-34, 1998).

La cantidad de adsorción de agua de cada una de las formas CI5 y MI2 del cristal fue baja incluso a una humedad relativa del 100%, esto es, 4% o menor.

Ejemplo de ensayo 8. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

(1) Método y condiciones de medida

- 5 Se pesaron en platillos de 1 a 5 mg de una muestra de cada uno de los cristales obtenidos anteriormente (formas N1 a N5, CI6 a CI8 y Ms1) y se sellaron en una cápsula de aluminio. A continuación, se llevó a cabo la DSC en las siguientes condiciones.

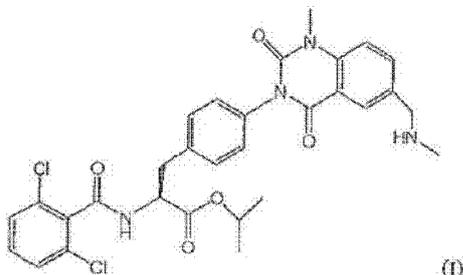
	Referencia:	Una cápsula vacía de aluminio
	Tiempo de muestreo:	0,2 s.
10	Intervalo:	40 a 300°C
	Tiempo de calentamiento:	10 ó 20°C/min.

Los resultados se muestran en la figura 24 (forma N1 del cristal), figura 27 (forma N2 del cristal), figura 31 (forma N3 del cristal), figura 34 (forma N4 del cristal), figura 37 (forma N5 del cristal), figura 52 (forma CI6 del cristal), figura 53 (forma CI7 del cristal), figura 54 (forma CI8 del cristal), y figura 55 (forma Ms1 del cristal).

- 15 El punto de fusión de la forma CI5 del cristal por DSC está a una alta temperatura de alrededor de 255°C (250 a 260°C) y el de la forma Br5 del cristal por DSC también está a una alta temperatura de alrededor de 226°C (221 a 231°C).

REIVINDICACIONES

1. Un cristal, de un compuesto de la fórmula (I) o sales del mismo.



- 5 2. El cristal según la reivindicación 1, en donde el cristal del compuesto de la fórmula (I) es la forma A del cristal, la forma B del cristal, la forma D del cristal, la forma E del cristal o la forma F del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

A	B	D	E	F
8,5	9,7	4,4	5,9	5,5
10,4	11,4	5,2	14,3	8,0
15,4	14,5	9,2	20,1	18,2
16,9	20,0	20,6	23,0	19,4

- 10 3. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de hidrocloreto del compuesto de la fórmula (I) en la forma Cl1 del cristal, la forma Cl2 del cristal, la forma Cl3 del cristal, la forma Cl4 del cristal o la forma Cl5 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Cl1	Cl2	Cl3	Cl4	Cl5
2,9	8,5	3,6	4,9	8,2
7,7	10,5	8,9	17,5	11,2
11,6	16,0	12,4		12,4
20,3	17,0			14,3
	23,6			15,6

4. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Su1 del cristal, la forma Su2 del cristal o la forma Su3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Su1	Su2	Su3
3,8	2,3	4,7
7,7	12,6	9,1
11,4	18,2	
13,3	23,1	
22,6		

- 15 5. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) en la forma Br1 del cristal, la forma Br2 del cristal, la forma Br3 del cristal, la forma Br4 del cristal o la forma Br5 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Br1	Br2	Br3	Br4	Br5
5,7	3,6	8,4	7,7	5,0
10,1	4,4	11,5	10,1	9,5
	8,9	17,2	16,4	12,2
			20,1	13,4
				14,2
				14,9

6. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Pho1 del cristal, la forma Pho2 del cristal, la forma Pho3 del cristal o la forma Pho4 del cristal, cada

ES 2 416 354 T3

una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Pho1	Pho2	Pho3	Pho4
2,5	4,3	3,5	4,1
11,9	6,9	5,1	6,4
17,2	10,1	6,9	7,6
18,3	16,9	14,0	11,5
			12,1
			12,7

- 5 7. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Mal1 del cristal, la forma Mal2 del cristal o la forma Mal3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Mal1	Mal2	Mal3
3,7	2,8	8,2
7,7	4,8	10,8
8,5	7,3	
9,4	13,8	
	14,6	
	15,3	

8. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Aca1 del cristal, la forma Aca2 del cristal o la forma Aca3 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Aca1	Aca2	Aca3
5,7	3,8	4,9
8,1	4,7	18,5
8,5	9,2	19,3
11,3	12,4	
17,7		
18,3		
19,1		

- 10 9. El cristal según la reivindicación 1, el cual es un cristal de una sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) en la forma Tar1 del cristal o la forma Tar2 del cristal, cada una de las cuales muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Tar1	Tar2
2,4	4,0
8,5	8,0
14,5	9,3
16,6	11,0
18,5	17,9

10. El cristal según la reivindicación 3, en la forma Cl5 la cual muestra el pico a los siguientes ángulos de difracción (2θ) de 8,2, 11,2, 12,4, 14,3 y 15,6 en el patrón de difracción de rayos X de polvo.
11. El cristal según la reivindicación 10, el cual tiene el espectro ^{13}C -RMN de la figura 20.
- 15 12. El cristal según la reivindicación 10, el cual tiene el espectro de infrarrojos de la figura 21.
13. Un método de producción del cristal según la reivindicación 2, el cual comprende las etapas de: calentar el compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, butanol, alcohol amílico, dimetilformamida, dimetil sulfóxido, diclorometano, éter dietílico y piridina; y enfriarlo a continuación hasta 0 a 30°C.
- 20 14. Un método de producción del cristal según la reivindicación 3, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de hidrocloreto del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en

metanol, etanol, propanol, butanol, acetona, éter dietílico, nitrometano, 1,2-dimetoxietano, acetato de isopropilo, acetato de etilo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, 4-trifluorometil tolueno y piridina; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.

- 5 **15.** Un método de producción del cristal según la reivindicación 4, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de sulfato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 1,2-etanodiol, acetona, nitrometano, acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano, éter dietílico, diclorometano, ciclohexanona, n-heptano, tetrahidrofurano y piridina; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.
- 10 **16.** Un método de producción del cristal según la reivindicación 5, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de hidrobromuro del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, etanol, propanol, butanol, acetona, éter diisopropílico, acetonitrilo, acetato de etilo, 1,2-dimetoxietano, ciclohexanona y tetrahidrofurano; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.
- 15 **17.** Un método de producción del cristal según la reivindicación 6, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de fosfato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, metanol, propanol, acetona, éter diisopropílico, éter dietílico, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo, 1,2-dimetoxietano, 1,1,2,2-tetracloroetano, nitrometano, diclorometano, 2,2,2-trifluoroetanol, N,N-dimetilacetamida, ciclohexanona, n-heptano, tetrahidrofurano y piridina; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.
- 20 **18.** Un método de producción del cristal según la reivindicación 7, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de maleato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en etanol, propanol, butanol, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo, 1,2-dimetoxietano y nitrometano; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.
- 25 **19.** Un método de producción del cristal según la reivindicación 8, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de acetato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en propanol, butanol, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo y nitrometano; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.
- 20.** Un método de producción del cristal según la reivindicación 9, el cual comprende las etapas de: calentar la sal de D-tartrato del compuesto de la fórmula (I) en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, acetona, 1,2-dimetoxietano, nitrometano y ciclohexanona; y enfriarla a continuación hasta 0 a 30°C.
- 21.** Una composición farmacéutica, la cual contiene el cristal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
- 30 **22.** Un inhibidor de la integrina $\alpha 4$, el cual contiene el cristal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
- 23.** Un agente terapéutico o preventivo de las enfermedades inflamatorias en las cuales participa en la patología un proceso de adhesión que depende de la integrina $\alpha 4$, el cual contiene como un ingrediente activo el cristal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
- 35 **24.** Un agente terapéutico o preventivo para cualquiera de artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias de los intestinos, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, asma, psoriasis, alergia, diabetes, enfermedades cardiovasculares, esclerosis arterial, restenosis, proliferación tumoral, metástasis tumoral o rechazo de los trasplantes, el cual contiene como un ingrediente activo el cristal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

FIG. 1

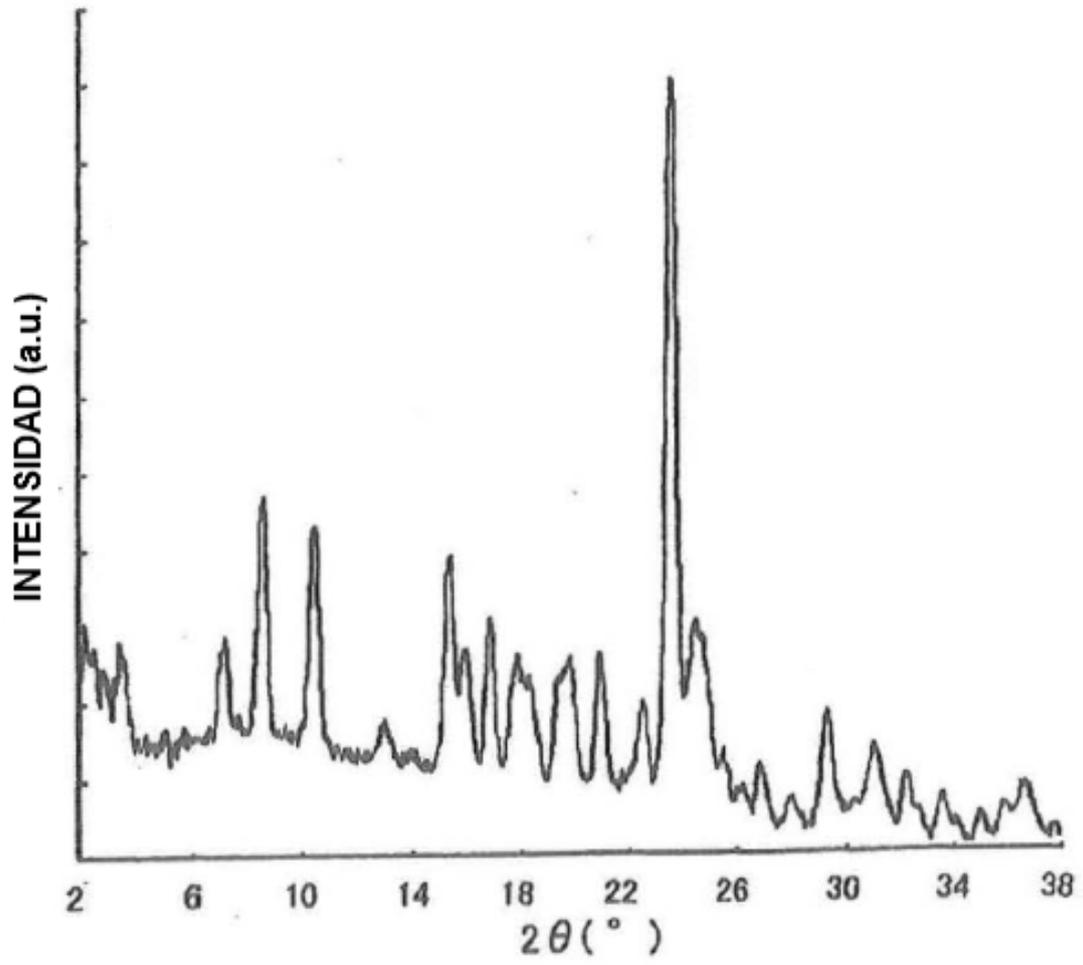


FIG. 2

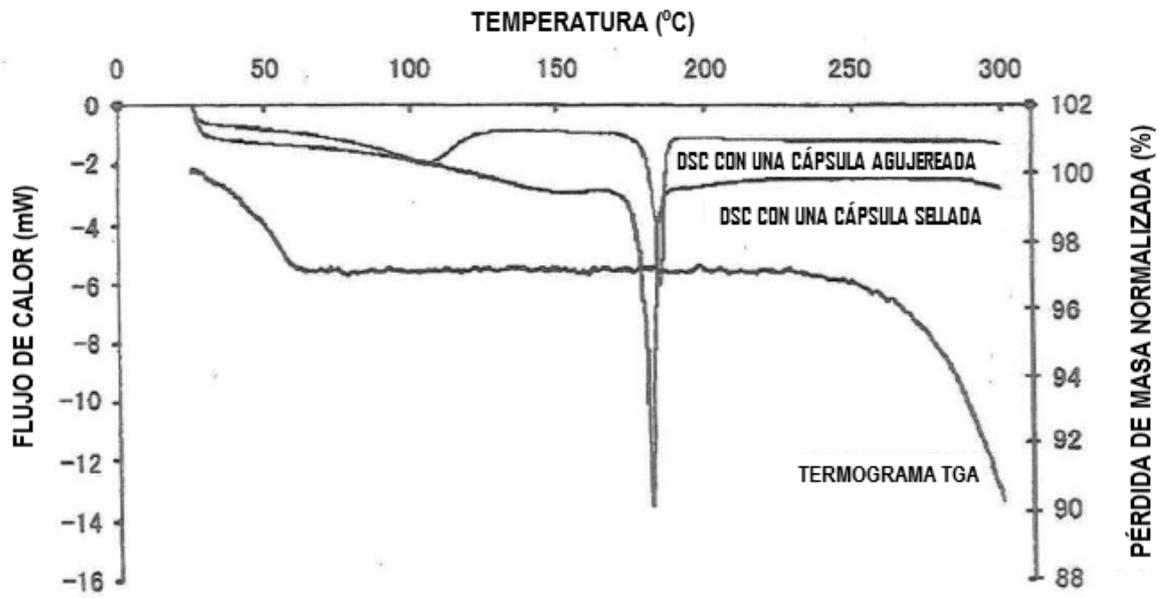


FIG. 3

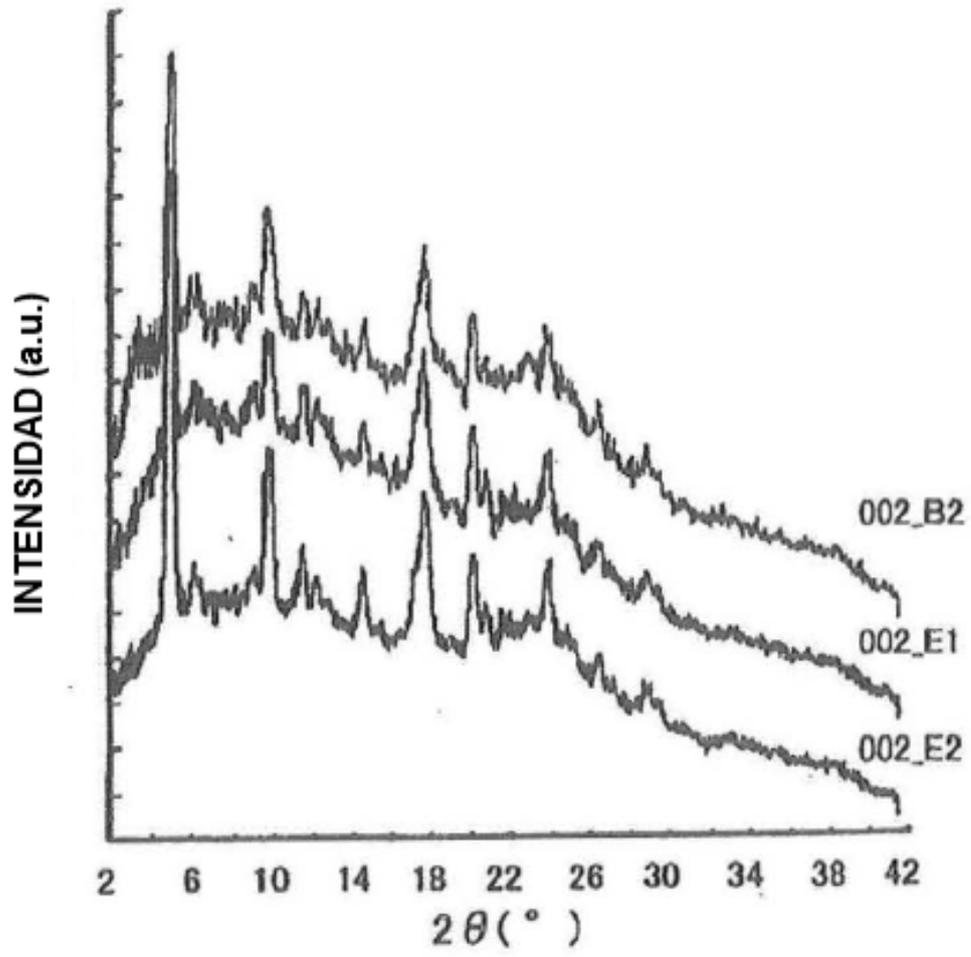


FIG. 4

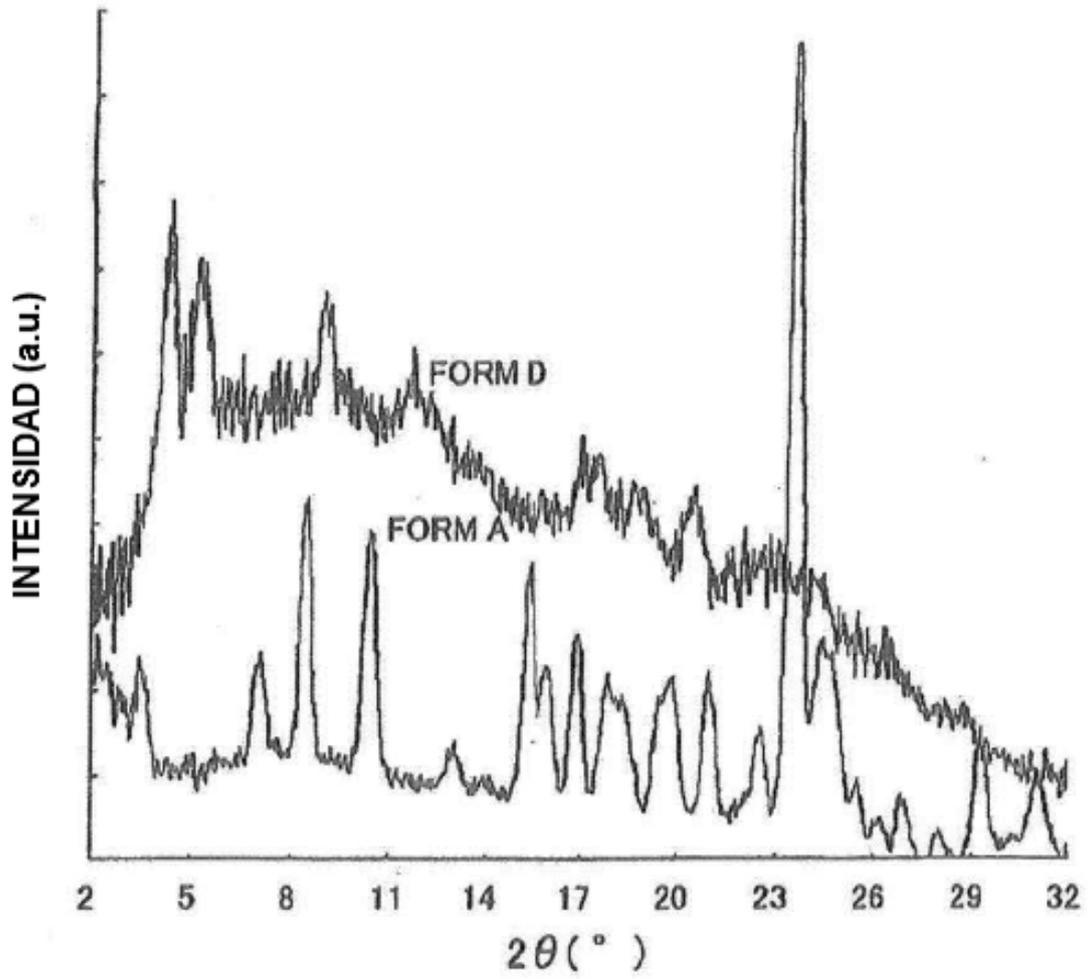


FIG. 5

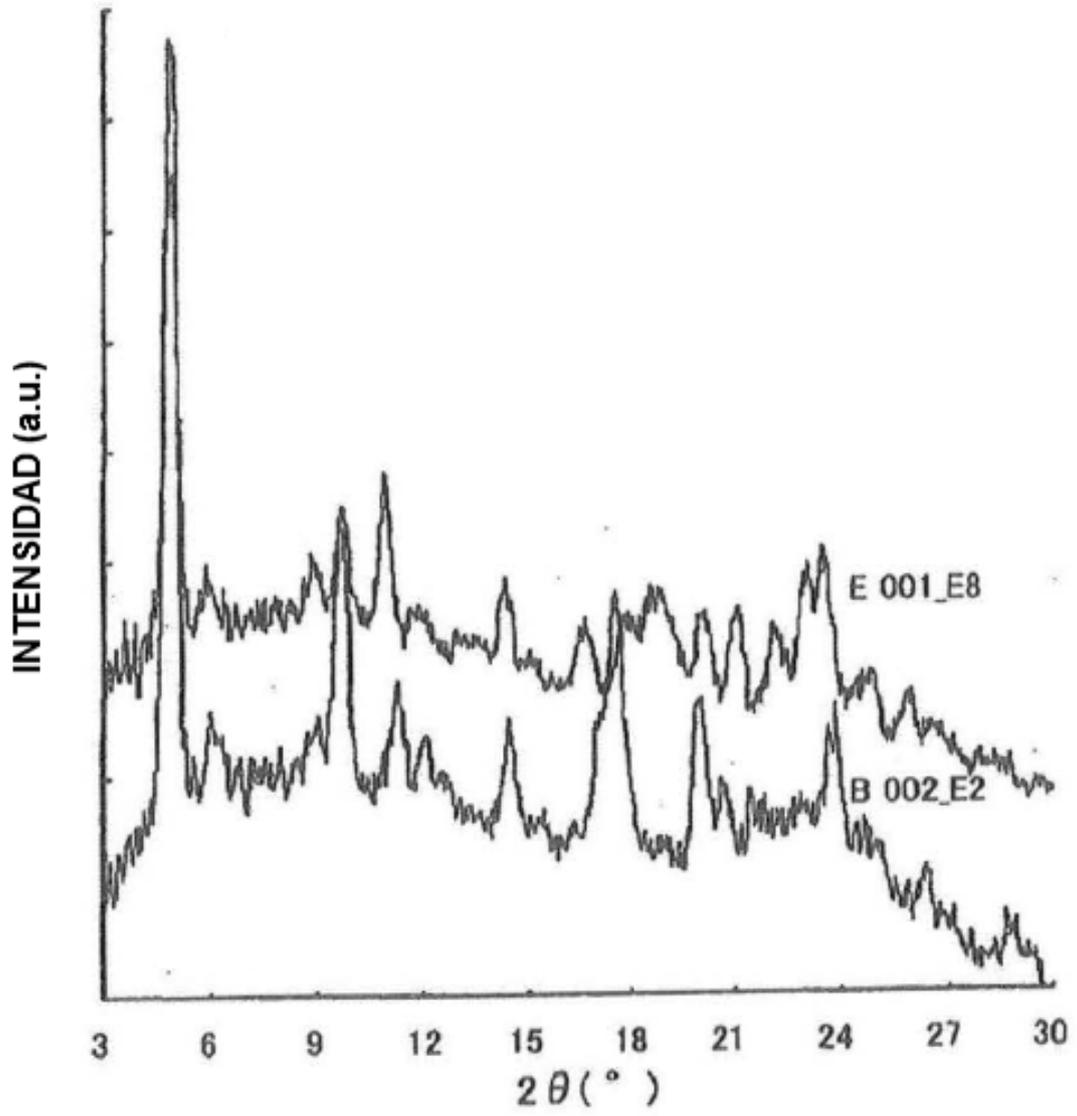


FIG. 6

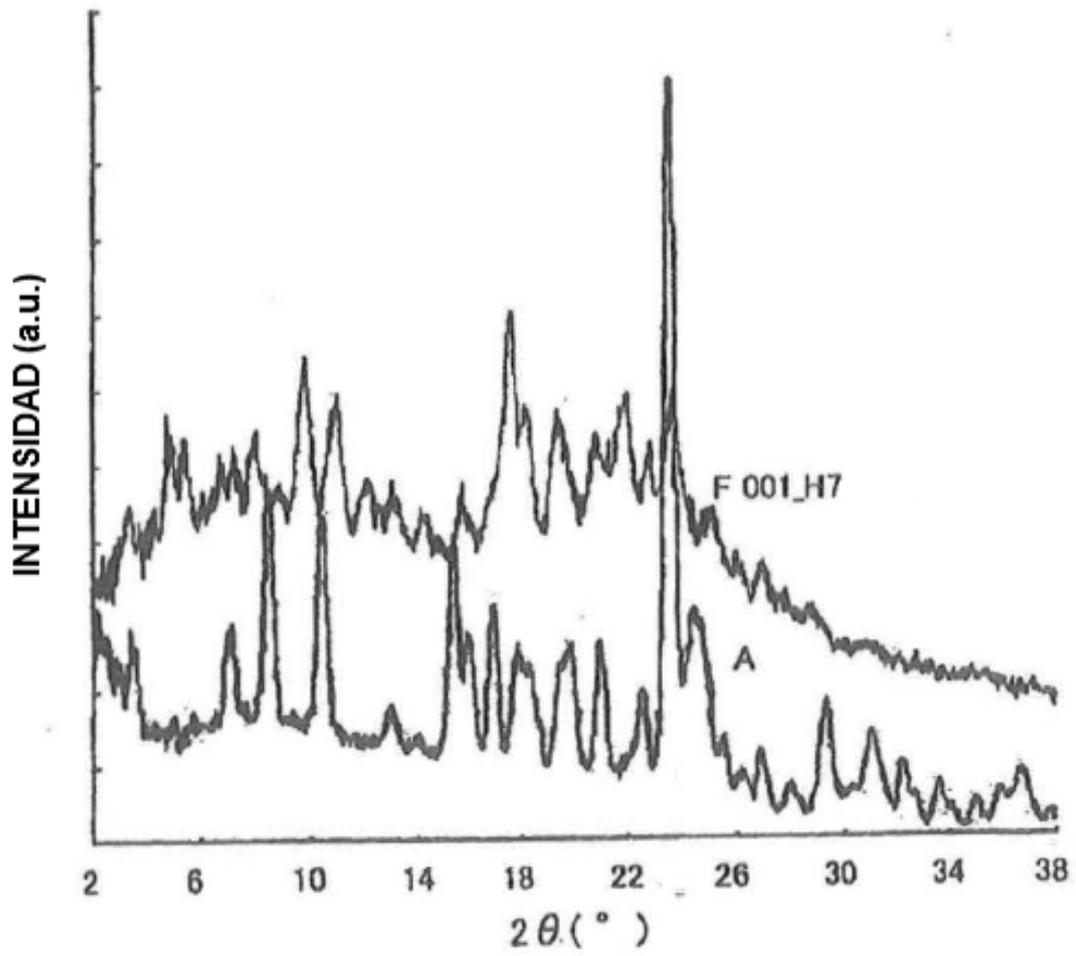


FIG. 7

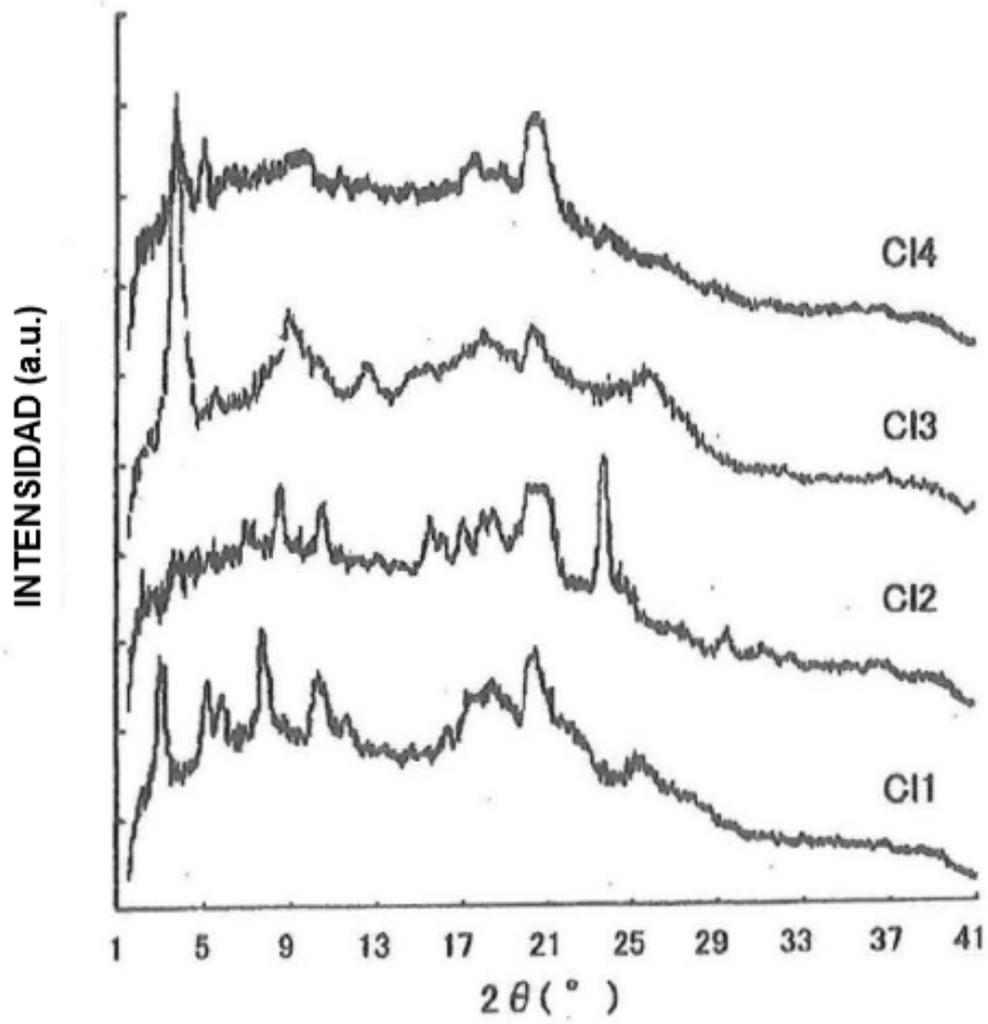


FIG. 8

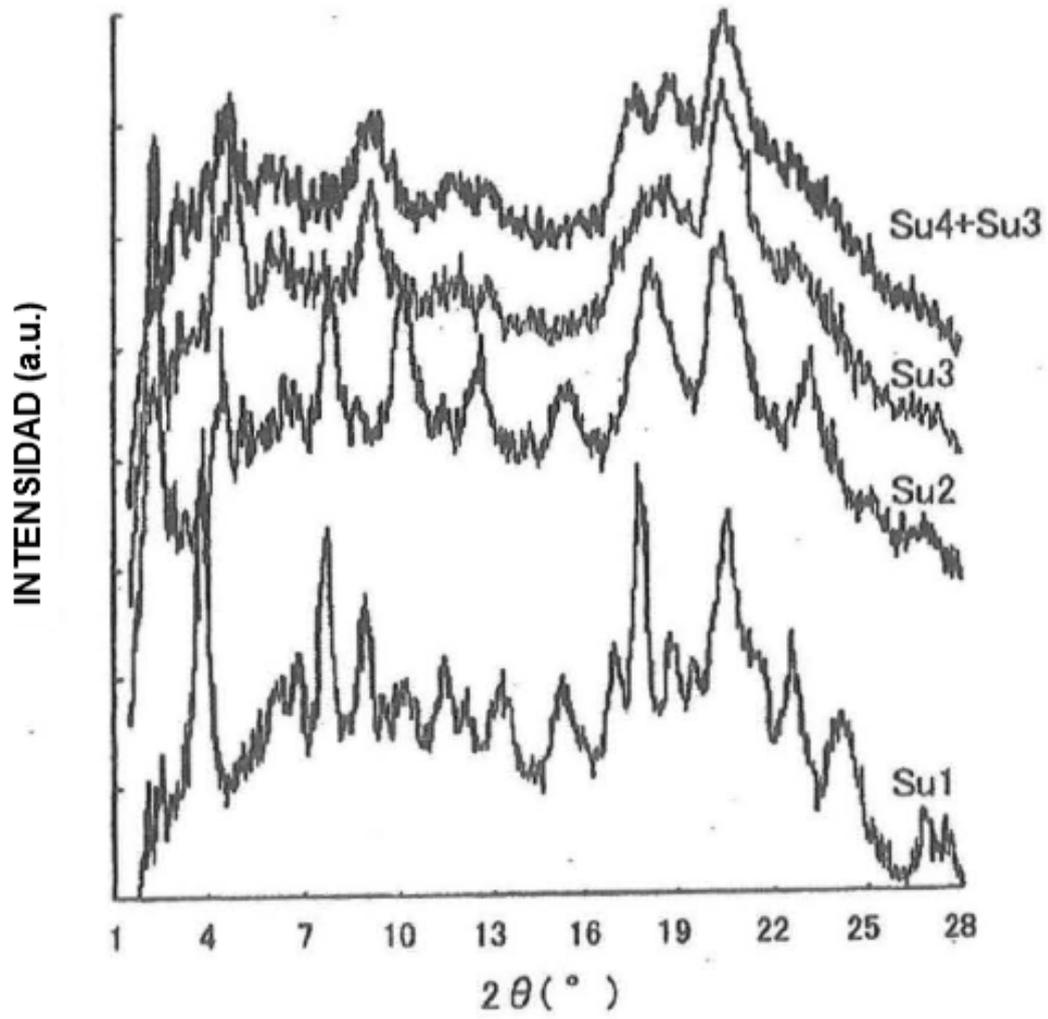


FIG. 9

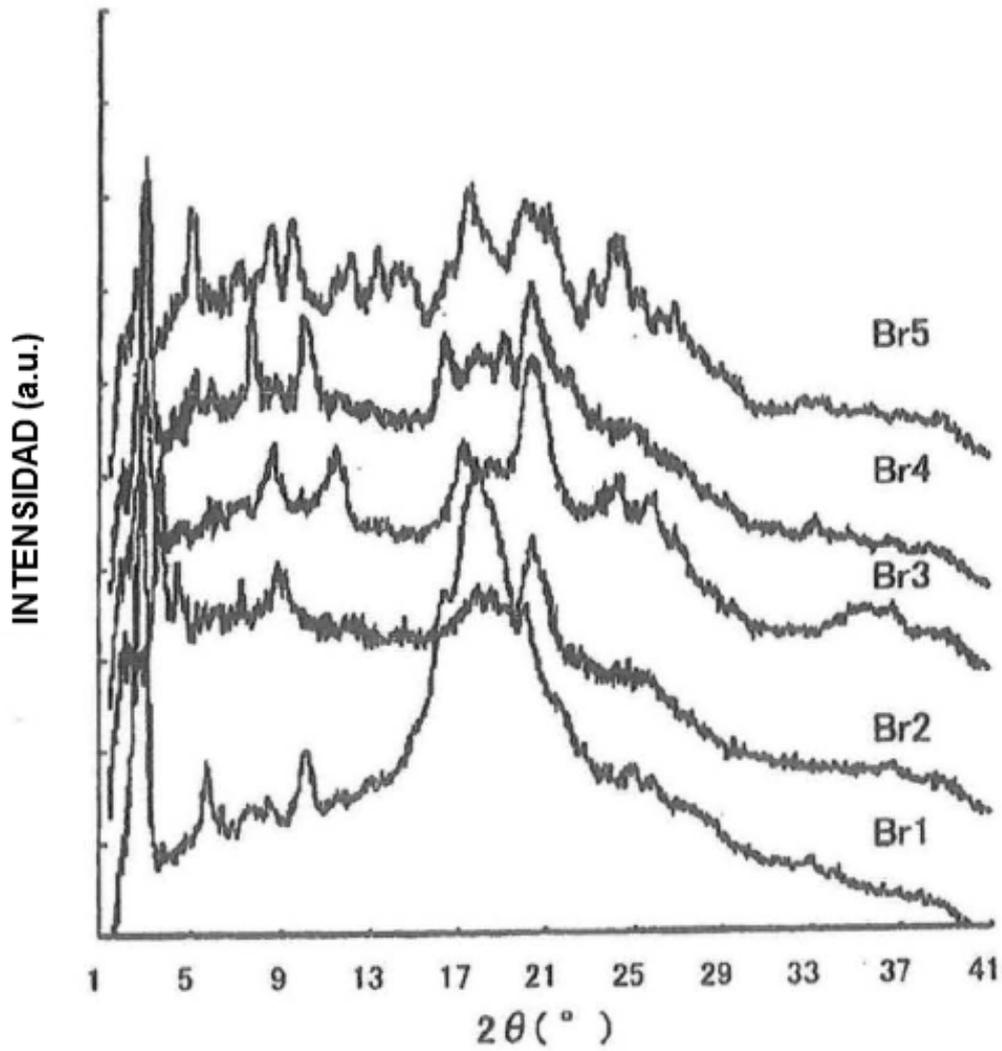


FIG. 10

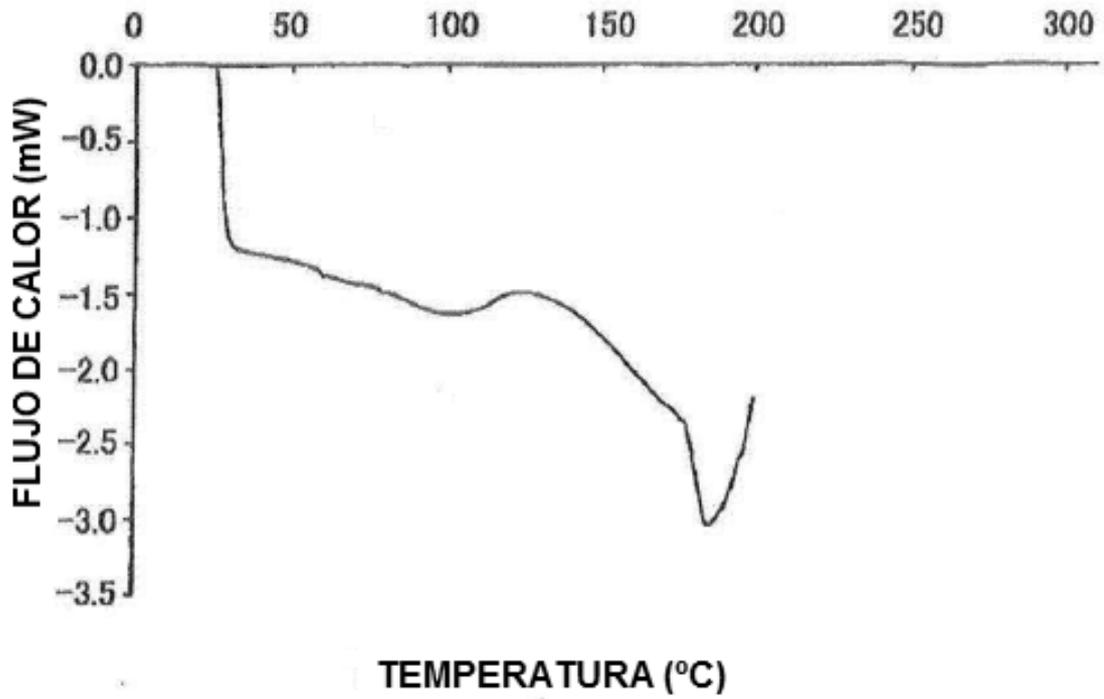


FIG. 11

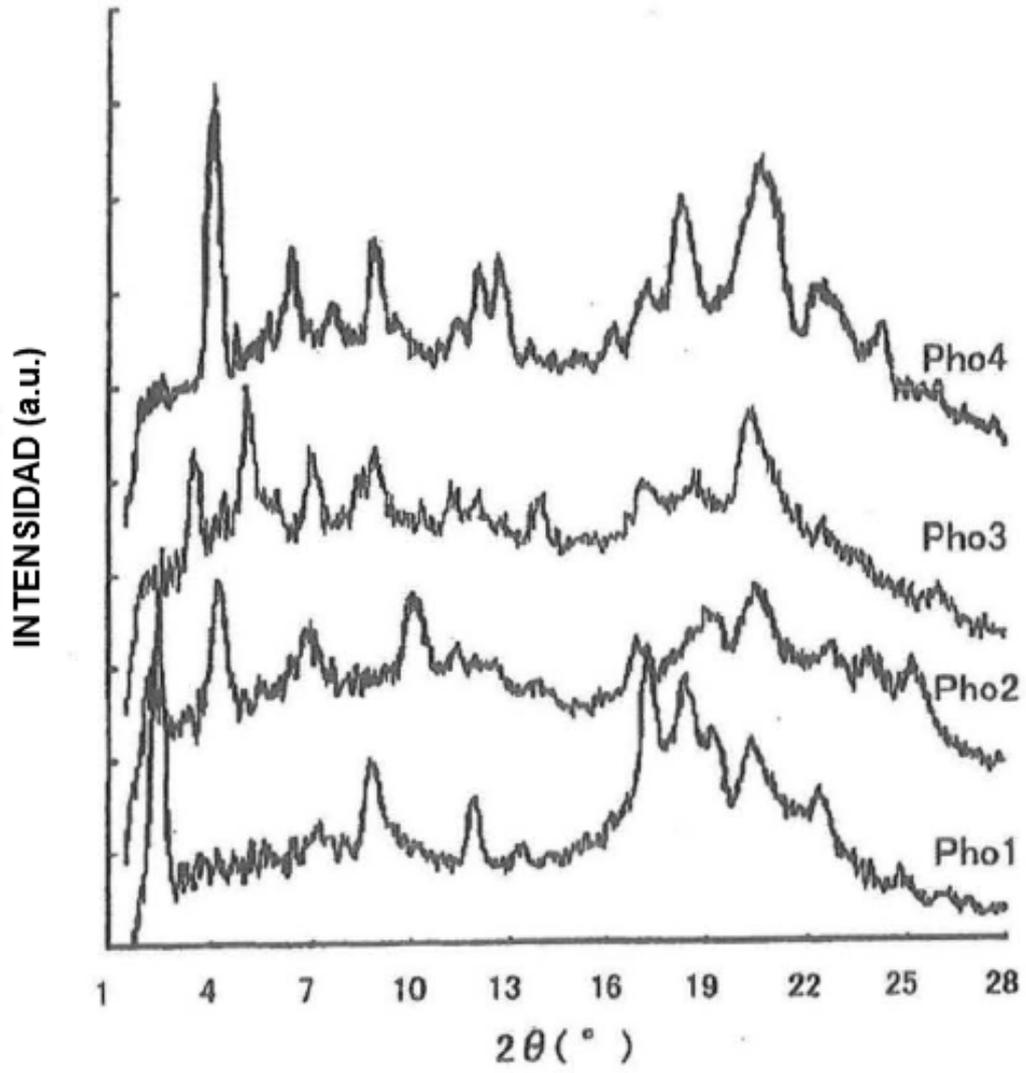


FIG. 12

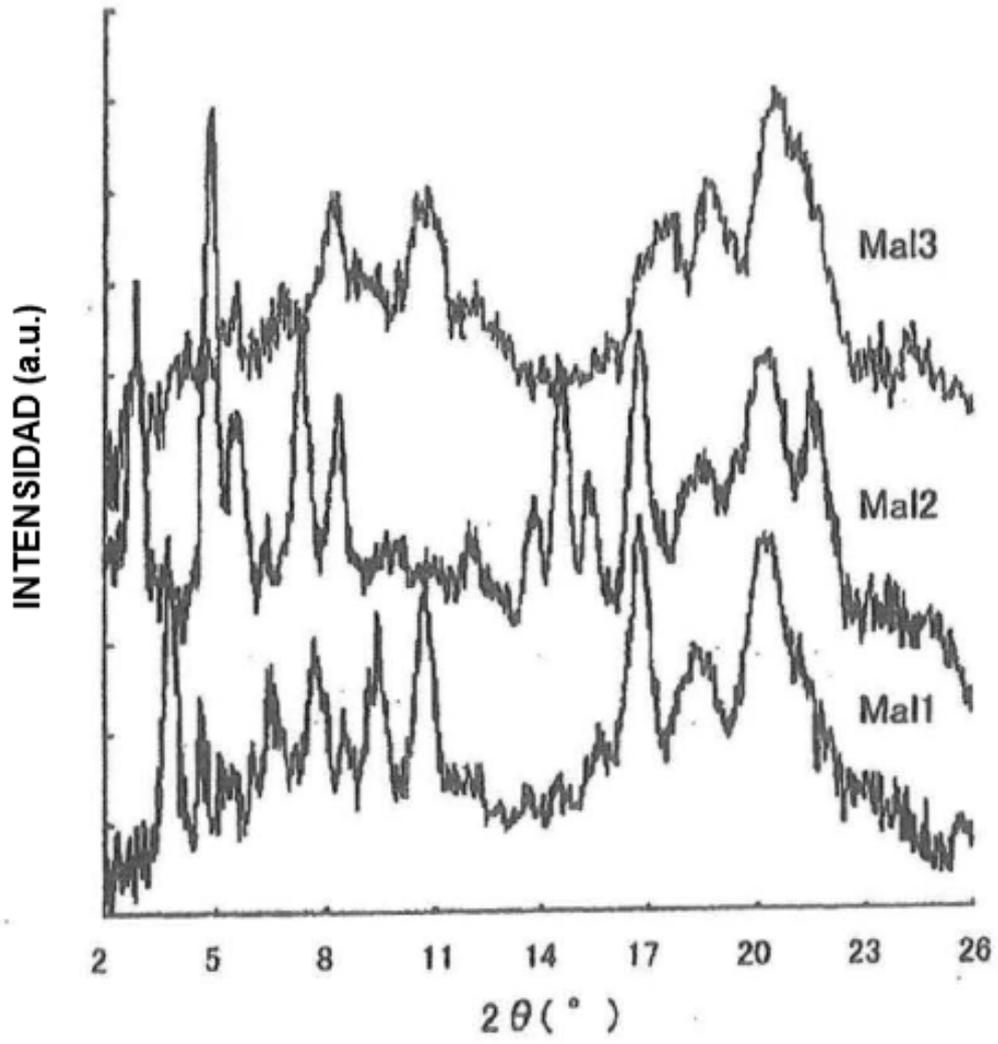


FIG. 13

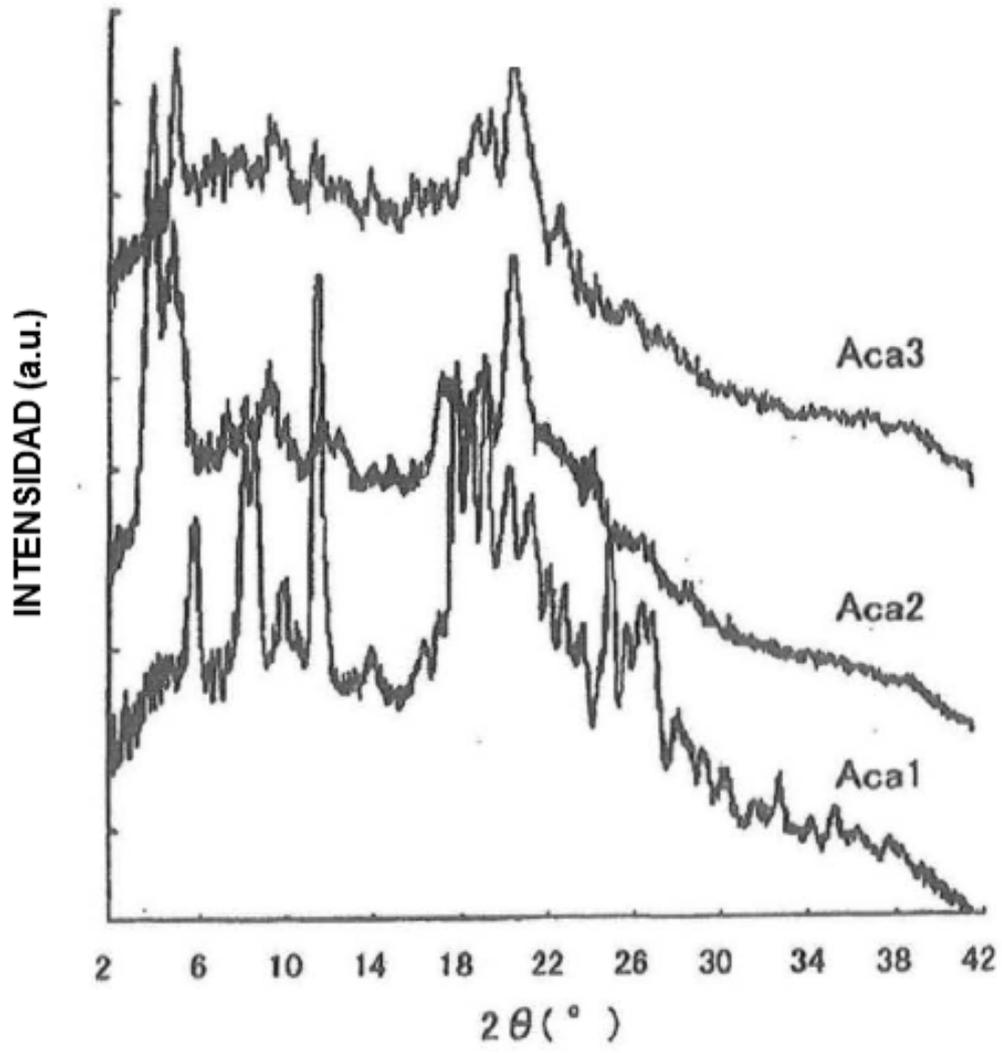


FIG. 14

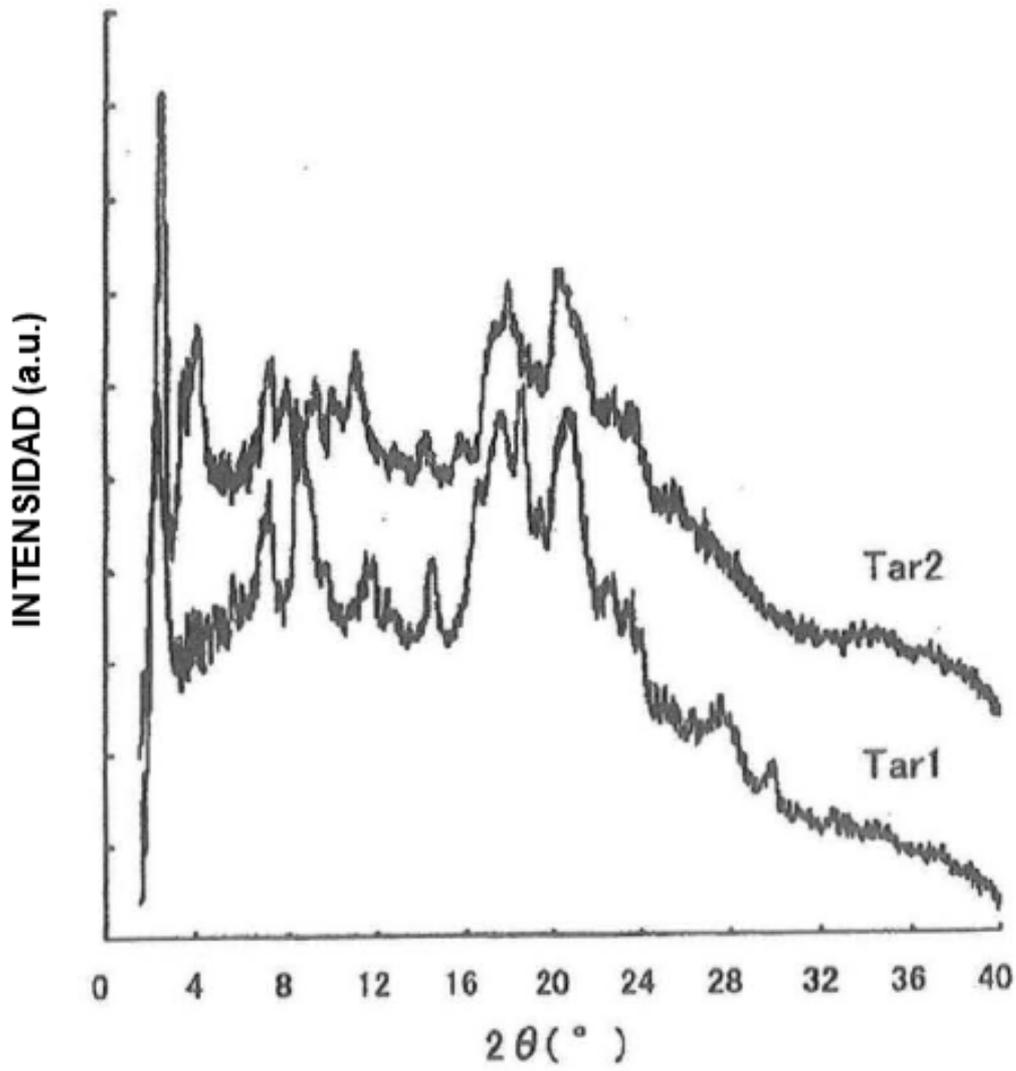


FIG. 15

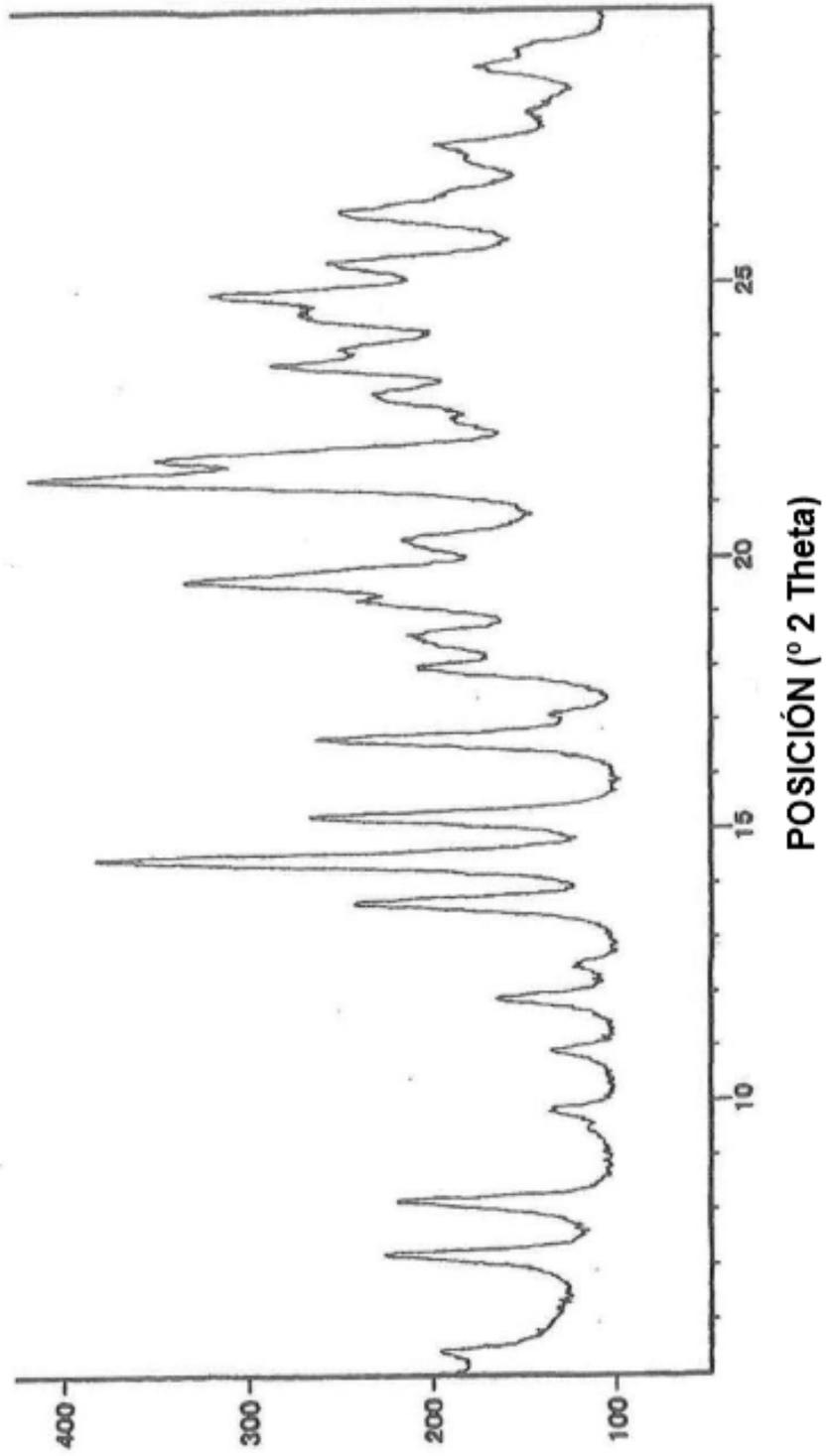


FIG. 16

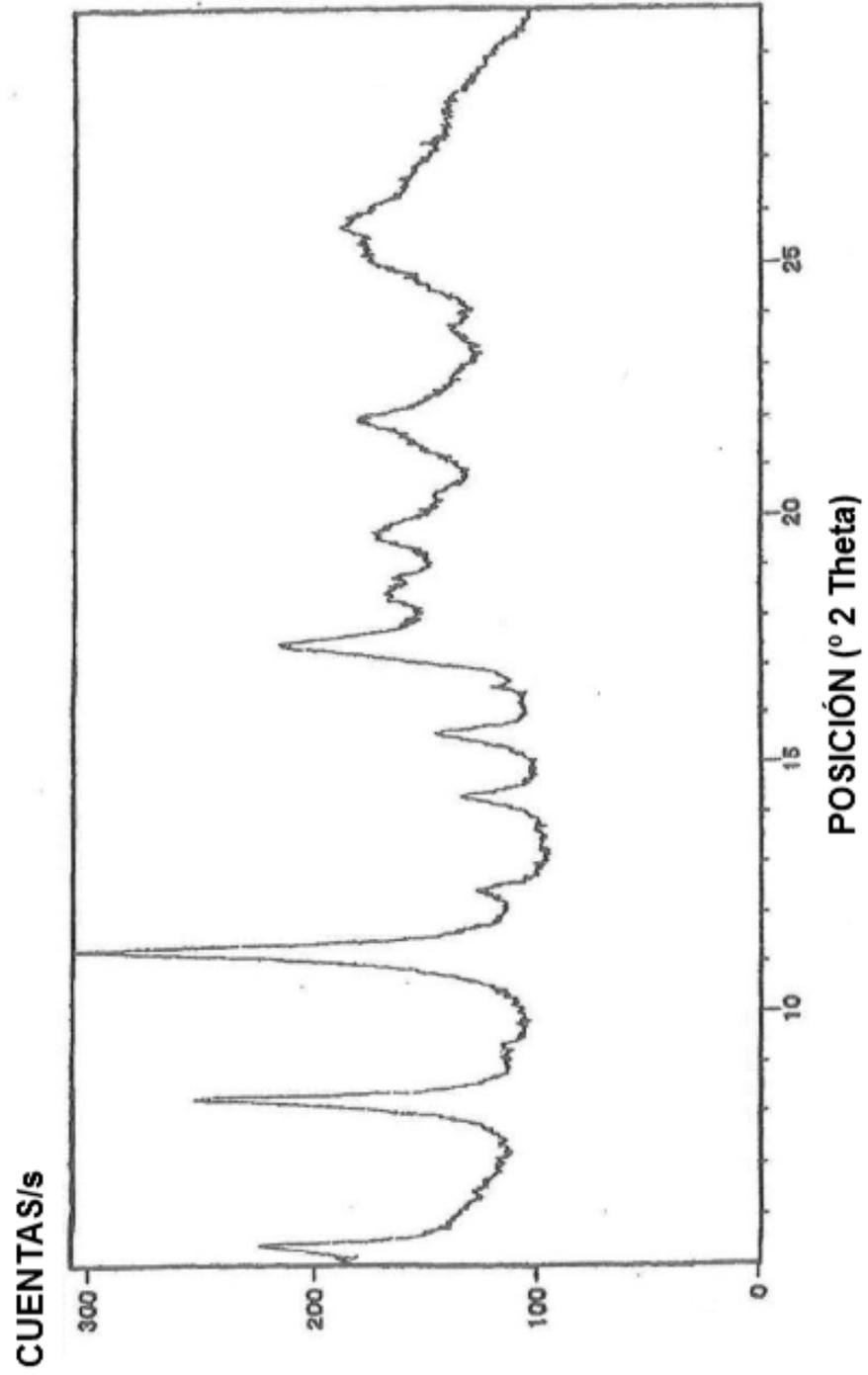


FIG. 17

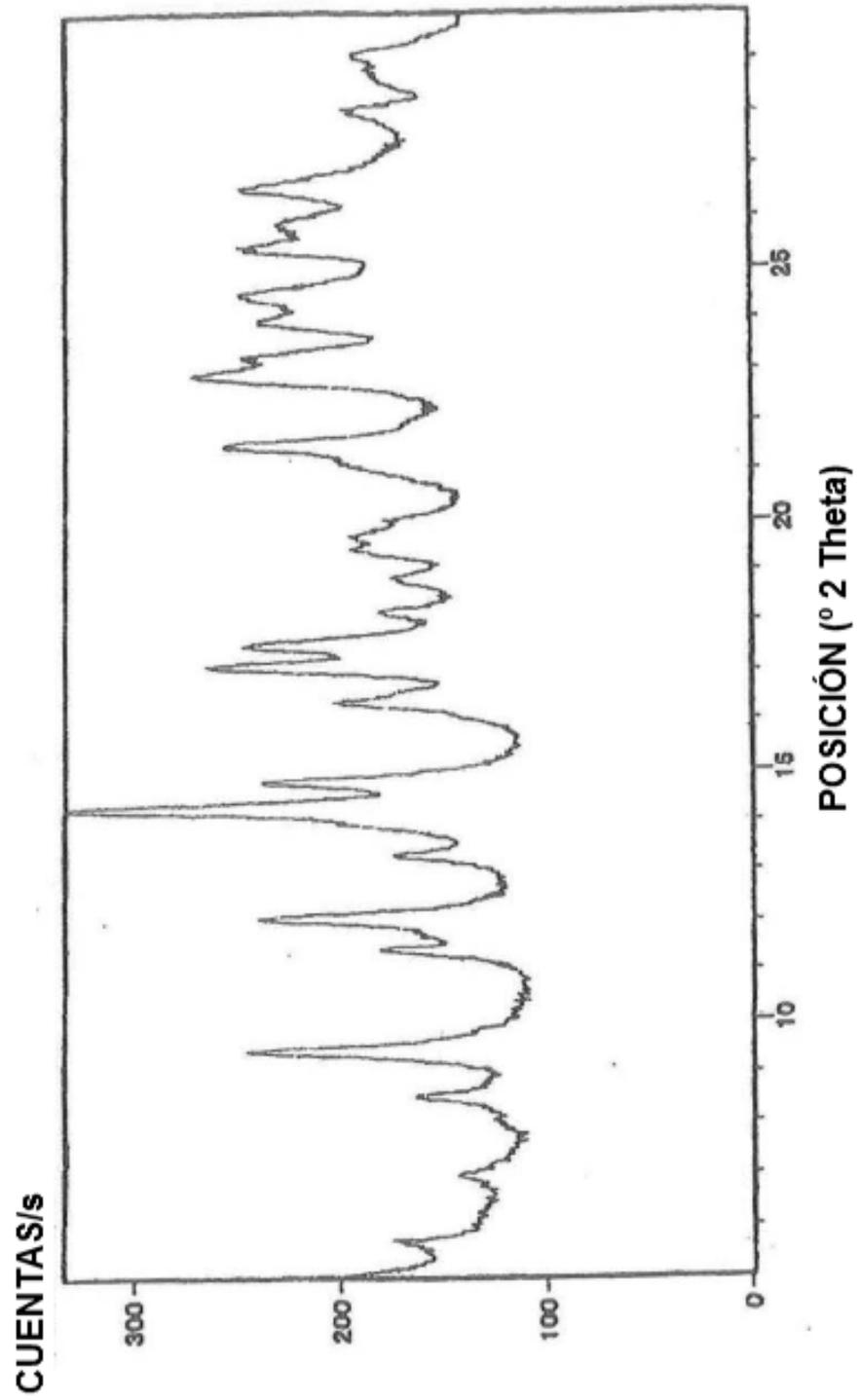


FIG. 18

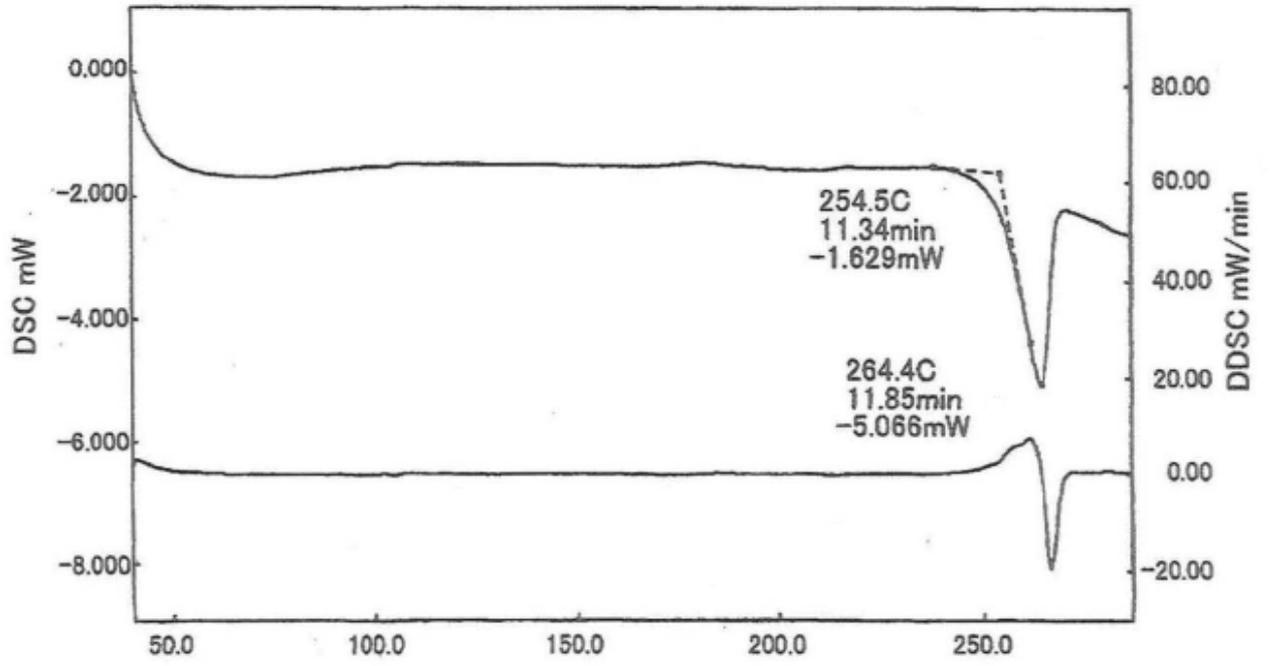
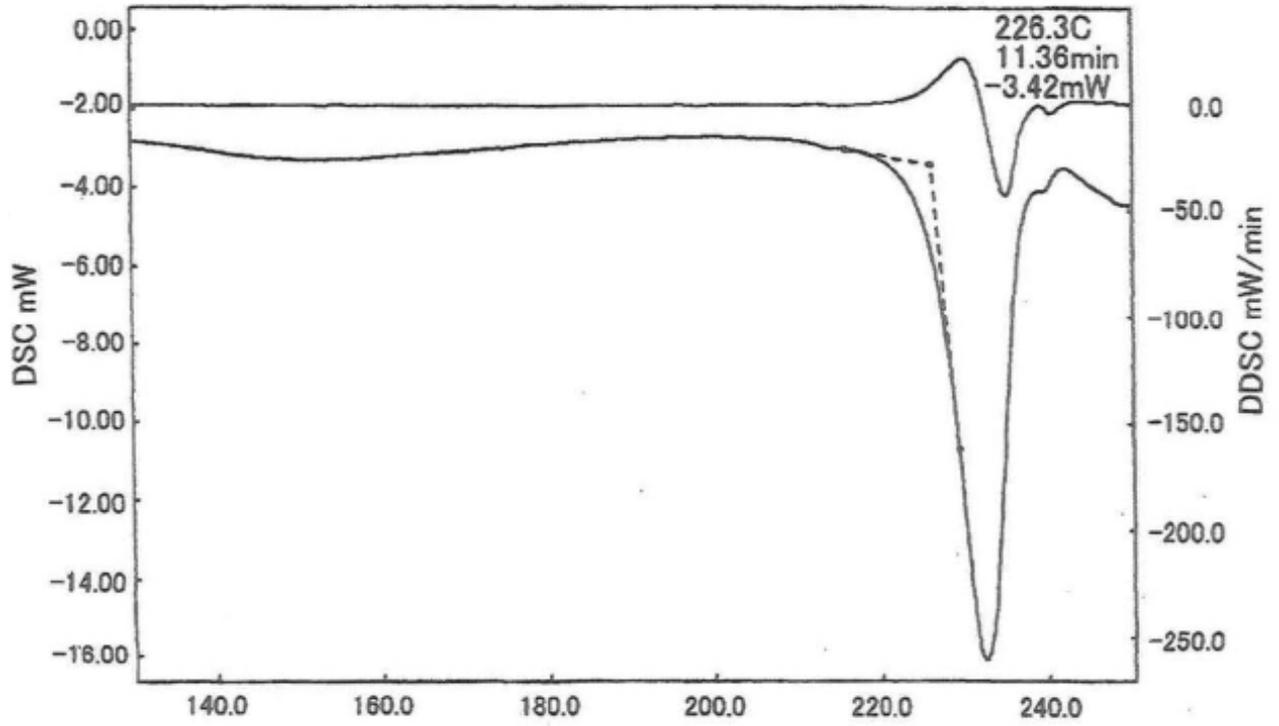


FIG. 19



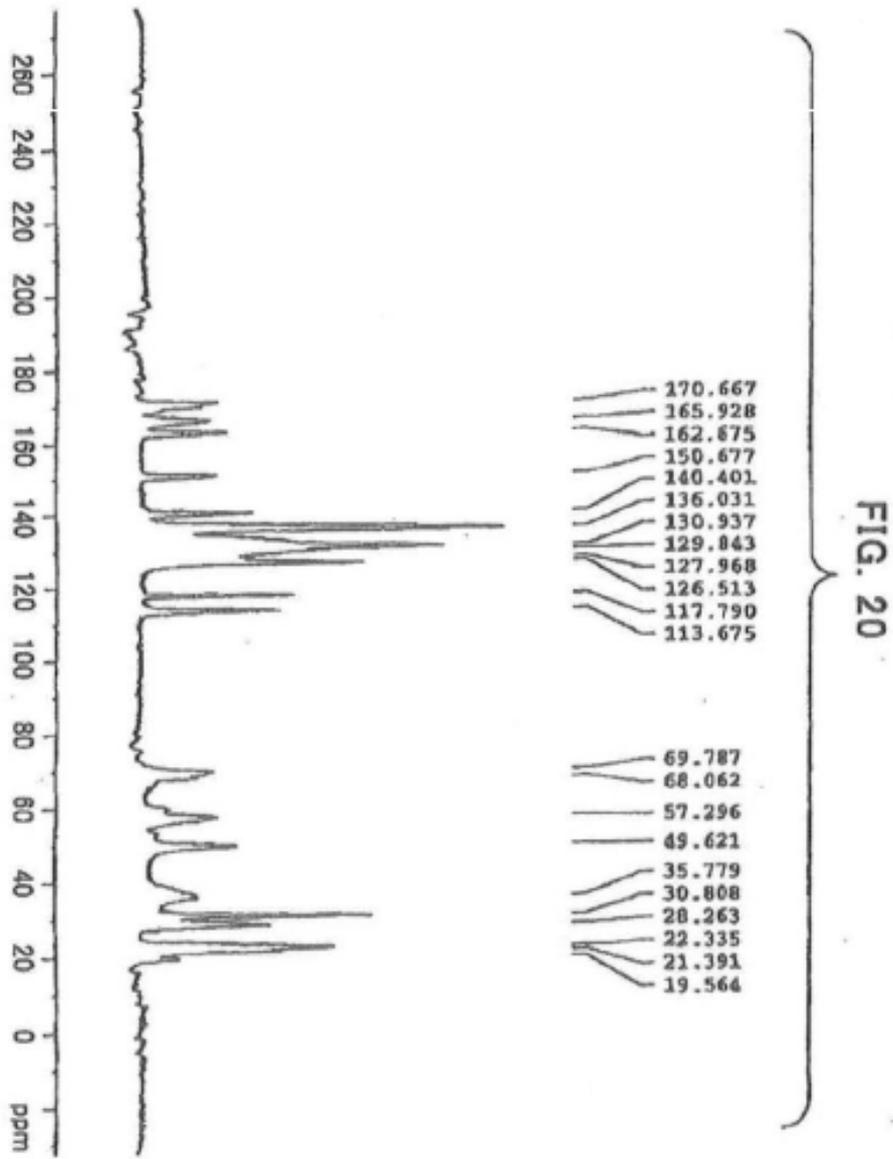


FIG. 21

