

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 760 503**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**A61K 31/4439** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.05.2016 PCT/JP2016/063989**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.11.2016 WO16181990**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2016 E 16792715 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3296299**

54 Título: **Forma cristalina de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida**

30 Prioridad:

**12.05.2015 JP 2015097521**

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

**14.05.2020**

73 Titular/es:

**TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)  
1-27, Kandanishiki-cho, Chiyoda-ku  
101-8444 Tokyo, JP**

72 Inventor/es:

**UNO, TAKAO**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 760 503 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Forma cristalina de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un nuevo cristal de un compuesto azabíclico que es estable y tiene una excelente capacidad de absorción oral, y que es útil como agente antitumoral.

10

**Antecedentes de la invención**

En general, cuando un compuesto se usa como principio activo eficaz de un producto farmacéutico, se requiere la estabilidad química y física del compuesto para mantener una calidad estable y facilitar la gestión del almacenamiento. Por lo tanto, el compuesto obtenido está preferentemente en una forma cristalina estable y, en general, se selecciona a menudo la forma cristalina más estable como sustancia farmacológica para un producto farmacéutico.

15

Hasta la fecha, se han descrito de una pluralidad de inhibidores de HSP90 como agente antitumoral, por ejemplo, los Documentos de Patente 1 y 2 describen 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida (también denominado en lo sucesivo en el presente documento "Compuesto 1") como un compuesto que tiene una excelente acción inhibidora de HSP90 y muestra actividad antitumoral.

20

Mientras tanto, aunque una composición farmacéutica para administración oral requiere en general no solo la estabilidad de un ingrediente eficaz, sino también una excelente capacidad de absorción en la administración oral, los Documentos de Patente 1 y 2 no describen ningún cristal del Compuesto 1, ni la estabilidad ni capacidad de absorción oral de los cristales.

25

**Lista de citas**

30

[Documento de Patente]

[Documento de Patente 1]  
Publicación internacional n.º WO2012/093708  
[Documento de Patente 2]  
Publicación internacional n.º WO2011/004610

35

**Sumario de la Invención****[Problema que se soluciona mediante la invención]**

40

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un cristal del Compuesto 1 útil como agente antitumoral que sea estable y tenga una capacidad de absorción oral excelente.

**[Medios para solucionar el problema]**

45

Para lograr el objetivo, el presente inventor sintetizó el Compuesto 1 de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el Documento de Patente 1 para obtener un cristal de Forma I del Compuesto 1. Sin embargo, como se describe en posteriormente en los Ejemplos, el cristal de Forma I tuvo problemas en la capacidad de absorción de la forma oral, y de ese modo se llevó a cabo una investigación más profunda de las condiciones de cristalización. Como resultado, se descubrió que se puede obtener un cristal de Forma II por adición y suspensión del Compuesto 1 en un cierto disolvente orgánico, y además se descubrió que el cristal de Forma II es superior en estabilidad y capacidad de absorción oral en comparación con el cristal de Forma I, completando de ese modo la presente invención.

50

55

De ese modo, la presente invención se refiere a la provisión de los siguientes apartados [1] a [13].

[1] Un cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida que muestra un espectro de difracción de rayos X de polvo que tiene al menos los picos de difracción característicos a ángulos ( $2\theta \pm 0,2^\circ$ ) de  $7,7^\circ$ ,  $8,0^\circ$ ,  $11,1^\circ$ ,  $12,5^\circ$ ,  $12,9^\circ$ ,  $15,2^\circ$ ,  $15,8^\circ$ ,  $17,2^\circ$ ,  $19,0^\circ$ ,  $22,5^\circ$ ,  $26,1^\circ$ , y  $27,4^\circ$ .

60

[2] El cristal de Forma II de acuerdo con [1], en el que el pico endotérmico determinado mediante calorimetría diferencial de barrido es de  $270^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ .

[3] Una composición farmacéutica que comprende el cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2].

65

[4] Una composición farmacéutica para administración oral que comprende el cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2].

[5] Un agente antitumoral que comprende el cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2].

[6] Uso del cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2], para la producción de una composición farmacéutica.

5 [7] El uso de acuerdo con [6], en el que la composición farmacéutica es una composición farmacéutica para administración oral.

[8] Uso del cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2], para la producción de un agente antitumoral.

[9] El cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2], para su uso como un medicamento.

[10] El cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2], para su uso en el tratamiento de un tumor.

10 [11] Un método de fabricación del cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2], que comprende las etapas de:

(1) suspender la 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en un disolvente orgánico con calentamiento para obtener una suspensión, y

15 (2) obtener 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en estado sólido a partir de la suspensión obtenida en la etapa (1) anterior.

[12] El método de fabricación del cristal de Forma II de acuerdo con [11], en el que el disolvente orgánico es 2-propanol, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, ciclopentil metil éter, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetona, acetonitrilo o un disolvente mixto de los mismos.

20 [13] Un método de fabricación del cristal de Forma II de acuerdo con cualquiera de [1] o [2], que comprende las etapas de:

(1) suspender la 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en un disolvente orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en 2-propanol, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, ciclopentil metil éter, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetona, acetonitrilo y un disolvente mixto de los mismos para obtener una suspensión, y

25 (2) obtener 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en estado sólido a partir de la suspensión obtenida en el apartado (1) anterior.

30

#### [Efecto de la invención]

De acuerdo con la presente invención, el cristal de Forma II del Compuesto 1 tiene una alta estabilidad y una excelente capacidad de absorción oral, y es útil como producto farmacéutico oral.

35

#### Breve descripción de las figuras

[Figura 1] Un espectro de difracción de rayos X de polvo del cristal de Forma I del Compuesto 1 (el eje vertical representa la intensidad (cps) y el eje horizontal representa el ángulo de difracción ( $2\theta \pm 0,2^\circ$ )).

40 [Figura 2] Un espectro de difracción de rayos X de polvo del cristal de Forma II del Compuesto 1 (el eje vertical representa la intensidad (cps) y el eje horizontal representa el ángulo de difracción ( $2\theta \pm 0,2^\circ$ )).

[Figura 3] Una curva de calorimetría diferencial de barrido (DSC) del cristal de Forma II del Compuesto 1.

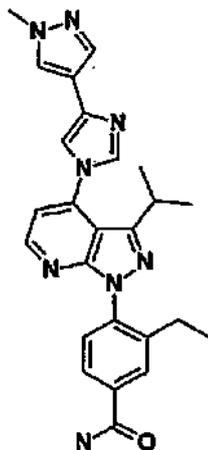
[Figura 4] Un resultado del ensayo de medición de la concentración en sangre del cristal de Forma II del Compuesto 1.

45

#### Descripción detallada de la invención

El Compuesto 1 de la presente invención es 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida (representado por la siguiente fórmula). Se conoce que el Compuesto 1 se conoce muestra actividad inhibidora de HSP90 y muestra una excelente actividad antitumoral. El Compuesto 1 se puede sintetizar basándose en el método de producción que se describe en los Documentos de Patente 1 y 2.

50



El cristal de la presente invención puede ser un cristal que comprende el cristal de Forma II del Compuesto 1, y puede ser un solo cristal del cristal de Forma II o una mezcla polimórfica que comprende cristales distintos al cristal de Forma II. Para el cristal de la presente invención, es preferente el cristal de Forma II con alta pureza. De forma específica, la pureza química del cristal de Forma II es de un 90 % o más, más preferentemente un 95 % o más, de forma particularmente preferente un 98 % o más.

Se puede obtener el cristal de Forma II de la presente invención por adición y suspensión del Compuesto 1 en un cierto disolvente orgánico. De forma específica, el cristal de Forma II se puede obtener mediante el método de producción que comprende las siguientes etapas (1) y (2):

- (1) suspender el Compuesto 1 en un disolvente orgánico para obtener una suspensión,
- (2) obtener el Compuesto 1 en estado sólido a partir de la suspensión obtenida en el apartado (1) anterior.

Aunque el Compuesto 1 que se añade a un compuesto orgánico puede ser o no ser un cristal, la forma cristalina del Compuesto 1 se usa de manera específica y, en particular, el cristal de Forma II del Compuesto 1 se usa desde el punto de vista de la obtención del cristal de Forma II con alta pureza. En la cristalización de la presente invención, se puede usar un cristal de semilla. Desde el punto de vista de obtener el cristal de Forma II con alta pureza, es preferente que se use el cristal de Forma II como cristal de semilla.

Algunos ejemplos del disolvente orgánico que se usa en la cristalización de la presente invención incluyen alcoholes tales como metanol, n-propanol, 2-propanol y etilenglicol; ésteres alifáticos de carboxilato tales como acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, y acetato de butilo; éteres tales como éter dietílico, metil terc-butil éter, ciclopentil metil éter, 1,4-dioxano, tetrahidrofurano; cetonas tales como acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, y ciclohexanona; disolventes aromáticos tales como tolueno, xileno, y clorobenceno; disolventes orgánicos polares apróticos tales como acetonitrilo, N-metil-2-pirrolidona, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, 1,3-dimetil-2-imidazolidinona, y dimetilsulfóxido o los disolventes mixtos de los mismos. Preferentemente, el disolvente orgánico es una cetona, un alcohol monohídrico que tiene 3 o más átomos de carbono, un alcohol dihídrico, un éster alifático de carboxilato, un éter, un disolvente orgánico polar aprótico o un disolvente mixto, y más preferentemente es el 2-propanol, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, ciclopentil metil éter, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetona, acetonitrilo o un disolvente mixto de los mismos. De forma particularmente preferente, desde el punto de vista de la pureza y el rendimiento del cristal de Forma II, el disolvente orgánico es acetato de metilo, metil etil cetona, acetona o un disolvente mixto de los mismos.

Desde el punto de vista de la pureza y el rendimiento del cristal de Forma II, la cantidad (v/p) del disolvente orgánico en la cristalización de la presente invención es preferentemente una cantidad de 2-30 veces, más preferentemente una cantidad de 3-20 veces, y de forma particularmente preferente una cantidad de 4-15 veces, con respecto a la cantidad del Compuesto 1.

Preferentemente, en la cristalización de la presente invención, el Compuesto 1 se agrega y suspende en un polímero orgánico con calentamiento y reflujo durante un período prolongado de tiempo. La temperatura de calentamiento en la cristalización de la presente invención no se limita de forma específica siempre que esté dentro de la temperatura adecuada para el reflujo, y se determina de forma apropiada dependiendo del disolvente orgánico que se usa. Preferentemente, la temperatura de calentamiento es de 52-126 °C.

La duración del reflujo en la cristalización de la presente invención es de 12-60 horas y más preferentemente 16-48 horas pues, de lo contrario, la dosis de cristalización no es suficiente y de ese modo no se puede obtener un cristal de alta pureza con una menor duración. Por otro lado, con una mayor duración se produce la degradación del cristal

y conduce a un bajo rendimiento.

En la cristalización de la presente invención, el precipitado del cristal de Forma II después de enfriamiento se puede recoger después del reflujo. La temperatura de enfriamiento se puede ajustar de forma adecuada, y es preferentemente la temperatura ambiente.

El precipitado del cristal se puede aislar y purificar a partir de dicha disolución o solución mixta de acuerdo con métodos conocidos de separación y purificación tales como, por ejemplo, filtración, lavado mediante un agente orgánico, y secado a presión reducida.

Algunos ejemplos del disolvente orgánico que se usa para el lavado incluye alcoholes inferiores, acetona y acetonitrilo. El análisis orgánico que se usa en la cristalización de la Forma II se puede usar para lavado.

El cristal de Forma II de la presente invención obtenido de ese modo es un cristal que muestra un espectro de difracción de rayos X de polvo que tiene 12 o más picos de difracción característicos a ángulos ( $2\theta \pm 0,2^\circ$ ) de  $7,7^\circ$ ,  $8,0^\circ$ ,  $11,1^\circ$ ,  $12,5^\circ$ ,  $12,9^\circ$ ,  $15,2^\circ$ ,  $15,8^\circ$ ,  $17,2^\circ$ ,  $19,0^\circ$ ,  $22,5^\circ$ ,  $26,1^\circ$ , y  $27,4^\circ$ , como se muestra en la Figura 2. El cristal de Forma II muestra un pico endotérmico a aproximadamente  $270^\circ\text{C}$ , como se muestra el resultado de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Figura 3.

Por el contrario, el cristal de Forma I es un cristal que muestra un espectro de difracción de rayos X de polvo que tiene picos de difracción característicos a ángulos ( $2\theta \pm 0,2^\circ$ ) de  $8,1^\circ$ ,  $12,1^\circ$ ,  $14,0^\circ$ ,  $16,2^\circ$ ,  $21,5^\circ$ ,  $25,4^\circ$  y  $28,3^\circ$ , como se muestra en la Figura 1.

Los valores máximos en un espectro de difracción de rayos X en polvo pueden implicar algunos errores debido a los instrumentos de medición o las condiciones de medición tales como las condiciones de lectura de los picos. Los valores de los picos en la memoria descriptiva de la presente solicitud pueden tener errores de medición en el intervalo de aproximadamente  $\pm 0,2^\circ$ .

El pico endotérmico (un valor máximo de pico) medido en calorimetría diferencial de barrido puede fluctuar dependiendo del aumento de la temperatura por minuto, la cantidad de muestra y la pureza, etc. El término "aproximadamente" se refiere en la memoria descriptiva de la presente solicitud a  $\pm 5,0^\circ\text{C}$ .

Como se muestra en los siguientes Ejemplos, el cristal de Forma I y el cristal de Forma II del Compuesto 1 tienen una capacidad de absorción significativamente diferente en la administración oral. El resultado de que el cristal de Forma II, una forma estable, muestre una mayor capacidad de absorción oral en comparación con el cristal de Forma I, una forma metaestable, es un resultado inesperado dado que una forma metaestable tiene por lo general mayor solubilidad que una forma estable (Akira Tsuji, "New pharmaceuticals", publicado por NANKODO Co. Ltd.).

El cristal de Forma I del Compuesto 1 cambia al cristal de Forma II por calentamiento a reflujo. El cristal de Forma II es estable en condiciones de alta temperatura y alta humedad. Por lo tanto, el cristal de Forma II es estable en comparación con el cristal de Forma I y es útil como material farmacéutico.

Por lo tanto, el cristal de Forma II de la presente invención es útil como ingrediente eficaz de una composición farmacéutica y en particular útil como ingrediente eficaz de composición farmacéutica para administración oral. El cristal de Forma II de la presente invención es útil como agente antitumoral, dado que el Compuesto 1 muestra una excelente actividad inhibidora de HSP90. Los cánceres diana para tratamiento incluyen, sin limitación, carcinoma de cabeza y cuello, carcinoma gastrointestinal (carcinoma esofágico, cáncer gástrico, tumor del estroma gastrointestinal, carcinoma duodenal, hepatocarcinoma, carcinoma biliar (cáncer de conducto biliar y vesicular), cáncer pancreático, carcinoma de intestino delgado, y cáncer de intestino grueso (tal como carcinoma colorrectal, cáncer de colon, cáncer de recto), carcinoma de pulmón, carcinoma de mama, cáncer de ovario, carcinoma uterino (tal como cáncer cervical, cáncer de endometrio), carcinoma de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, carcinoma urotelial, sarcoma de huesos y tejidos blandos, cáncer de sangre (tal como linfoma de linfocitos B, leucemia linfocítica crónica, linfoma de linfocitos T periférico, síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide aguda, y leucemia linfocítica aguda), mieloma múltiple, cáncer de piel y mesotelioma.

Cuando el cristal de Forma II de la presente invención se usa como principio activo de una composición farmacéutica, se puede mezclar con un vehículo farmacéuticamente aceptable según sea necesario y se puede emplear diversas formas de administración con fines preventivos o terapéuticos. Dichas formas son preferentemente un agente oral tal como un comprimido, una cápsula, un gránulo, un gránulo sutil, y un fármaco en polvo. Cada una de estas formas de administración se puede preparar mediante métodos para formulación de fármacos conocidos por los expertos en la materia.

### Ejemplos

Aunque la presente invención se describe de forma específica a continuación por referencia a Ejemplos, la presente invención no estará limitada por estas realizaciones. Aunque la presente invención está suficientemente descrita por

los Ejemplos, se ha de entender que los expertos en la materia pueden realizar varios cambios y modificaciones. Por lo tanto, dichos cambios y modificaciones están abarcados por la presente invención, siempre que no se aparten del alcance de la presente invención.

- 5 Los reactivos que se usan en los Ejemplos estaban disponibles en el mercado, a menos que se indique de otro modo. Se midió el espectro de RMN mediante el uso de tetrametilsilano como estándar interno cuando se incluye tetrametilsilano en un solvente deuterado y de otro modo el uso de un disolvente de RMN como estándar interno, usando un espectrómetro modelo AL400 (400 MHz; Japan Electro Optical Laboratory (JEOL)), Mercury 400 (400 MHz; Agilent Technologies), o un espectrómetro modelo Inova 400 (400 MHz; Agilent Technologies) equipado con una sonda 400MRMN (Protasis). Todos los valores de  $\delta$  se indican en ppm.

Los significados de las abreviaturas se muestran a continuación.

- 15 s: Singlete  
 d: Doblete  
 t: Triplete  
 c: Cuadruplete  
 dd: Doblete de dobletes  
 dt: Doblete de tripletes  
 20 td: Triplete de dobletes  
 tt: Triplete de tripletes  
 ddd: Doblete de doblete de dobletes  
 ddt: Doblete de doblete de tripletes  
 dtd: Doblete de triplete de dobletes  
 25 tdd: Triplete de doblete de dobletes  
 m: Multiplete  
 a: Ancho  
 s a: Singlete ancho

- 30 Medición de difracción de rayos X de polvo

La difracción de rayos X de polvo se midió de acuerdo con las siguientes condiciones de ensayo después de pulverizar ligeramente una cantidad adecuada de material de ensayo mediante el uso un mortero de ágata según fue necesario.

- 35 Instrumento: PANalytical EMPYREAN  
 Diana: Cu  
 Configuración de salida de rayos X: 40 mA, 45 kV  
 Intervalo de barrido: 2,0-40,0°  
 40 Tamaño de etapa: 0,026°  
 Ranura de divergencia: automática  
 Anchura de irradiación: 10,00 mm  
 Anchura de muestra: 10,00 mm

- 45 La manipulación de los instrumentos incluyendo el procesamiento de los datos se llevó a cabo de acuerdo con el método y el procedimiento indicado para cada instrumento.

Medición de análisis térmico (calorimetría diferencial de barrido (DSC))

- 50 DSC se llevó a cabo de acuerdo con las siguientes condiciones de ensayo.

- Instrumento: TA Instruments Q1000  
 Muestra: aproximadamente 1 mg  
 Contenedor de muestra: hecho de aluminio  
 55 Velocidad de calentamiento: calentamiento a 10 °C/min hasta 300 °C  
 Gas de atmósfera: nitrógeno  
 Caudal de gas nitrógeno: 50 ml/min.

- 60 La manipulación de los instrumentos, incluyendo el procesamiento de los datos, se llevó a cabo de acuerdo con el método y el procedimiento indicado para cada instrumento.

Ejemplo Comparativo 1: Síntesis del cristal de Forma I de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

- 65 Un sólido de color blanco (3,58 g) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el

documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a etanol (7,84 ml) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de la recogida del sólido por filtración, el sólido se lavó con etanol (7,84 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 20 horas para obtener el cristal de Forma I (rendimiento: 2,40 g, porcentaje de rendimiento: 61,2 %, pureza: 98,21 %).

El cristal de Forma I dio un espectro de difracción de rayos X de polvo que tenía picos característicos a ángulos de difracción (2θ) de 8,1°, 10,9°, 12,1°, 14,0°, 14,9°, 16,2°, 17,7°, 20,2°, 21,0°, 21,5°, 22,6°, 24,3°, 25,4°, 26,4°, 27,0°, 28,3°, 30,2°, 30,9°, 31,5°, 32,7°, 34,7°, 35,4° y 36,6°, como se muestra en la Figura 1.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ ppm 9,35 (1H, d, J = 4,88 Hz), 8,93 (1H, d, J = 1,22 Hz), 8,84 (1H, s a), 8,72 (1H, d, J = 1,95 Hz), 8,70 (1H, s), 8,63 (1H, d, J = 1,22 Hz), 8,60 (1H, dd, J = 8,29, 1,95 Hz), 8,46 (1H, s), 8,25 (1H, d, J = 8,29 Hz), 8,22 (1H, s a), 8,12 (1H, d, J = 4,88 Hz), 4,59 (3H, s), 3,95 (1H, tt, J = 6,83, 6,83 Hz), 3,21 (2H, c, J = 7,56 Hz), 1,83 (6H, d, J = 6,83 Hz), 1,75 (3H, t, J = 7,56 Hz); LRMS (ESI) m/z 455 [M + H].

**Ejemplo 1:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

Un sólido de color blanco (4,0 g) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a acetona (19,54 ml) y se agitó durante 16 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetona (8,4 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 16-24 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 1,59 g, porcentaje de rendimiento: 57,0 %, pureza 98,37 %).

El cristal de Forma II dio un espectro de difracción de rayos X de polvo que tenía picos característicos a ángulos de difracción (2θ) de 7,7°, 8,0°, 11,1°, 12,5°, 12,9°, 14,2°, 15,2°, 15,8°, 17,2°, 17,7°, 19,0°, 20,2°, 21,1°, 22,5°, 22,8°, 23,5°, 24,5°, 26,1°, 26,7°, 27,4°, 28,0°, 28,7°, 29,4°, 30,0°, 31,7°, 35,1°, 36,2°, 36,9° y 37,6°, como se muestra en la Figura 2. El cristal de Forma II mostró un pico endotérmico a aproximadamente 270 °C, como se muestra en el resultado de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) en la Figura 3.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ ppm 9,35 (1H, d, J = 4,88 Hz), 8,93 (1H, d, J = 1,22 Hz), 8,84 (1H, s a), 8,72 (1H, d, J = 1,95 Hz), 8,70 (1H, s), 8,63 (1H, d, J = 1,22 Hz), 8,60 (1H, dd, J = 8,29, 1,95 Hz), 8,46 (1H, s), 8,25 (1H, d, J = 8,29 Hz), 8,22 (1H, s a), 8,12 (1H, d, J = 4,88 Hz), 4,59 (3H, s), 3,95 (1H, tt, J = 6,83, 6,83 Hz), 3,21 (2H, c, J = 7,56 Hz), 1,83 (6H, d, J = 6,83 Hz), 1,75 (3H, t, J = 7,56 Hz); LRMS (ESI) m/z 455 [M + H].

**Ejemplo 2:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a metil etil cetona (2,8 ml) y se agitó durante 16 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con metil etil cetona (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 16-24 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 197 mg, porcentaje de rendimiento: 60,9 %, pureza 98,83 %).

**Ejemplo 3:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a acetonitrilo (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetonitrilo (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 120 mg, porcentaje de rendimiento: 43,0 %, pureza 98,25 %).

**Ejemplo 4:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a metil iso-butil cetona (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con metil iso-butil cetona (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de

Forma II (rendimiento: 154 mg, porcentaje de rendimiento: 55,3 %, pureza 96,89 %).

**Ejemplo 5:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

5 Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a 2-propanol (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de  
10 dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con 2-propanol (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 108 mg, porcentaje de rendimiento: 38,8 %, pureza 96,83 %).

**Ejemplo 6:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

15 Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a acetato de etilo (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato  
20 de etilo (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 156 mg, porcentaje de rendimiento: 56,0 %, pureza 96,45 %).

**Ejemplo 7:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

25 Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a acetato de butilo (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato  
30 de butilo (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 164 mg, porcentaje de rendimiento: 58,8 %, pureza 96,04 %).

**Ejemplo 8:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

35 Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a ciclopentil metil éter (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con ciclopentil  
40 metil éter (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 192 mg, porcentaje de rendimiento: 68,8 %, pureza 95,68 %).

**Ejemplo 9:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

50 Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a acetato de propilo (4,0 ml) y se agitó durante 3 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato  
55 de propilo (1,2 ml), seguido de secado a presión reducida a 70-80 °C durante 3 horas para obtener el cristal de Forma II (rendimiento: 172 mg, porcentaje de rendimiento: 61,5 %, pureza 96,77 %).

**Ejemplo 10:** Síntesis del cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida

60 Un sólido de color blanco (400 mg) de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida obtenida de acuerdo con el método de fabricación que se describe en el documento de Publicación Internacional n.º WO2012/093708 y el documento de Publicación Internacional n.º WO2011/004610 se añadió a acetato de metilo (2,2 ml) y se agitó durante 16 horas por calentamiento a reflujo. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato  
65 de metilo (0,94 ml), seguido de secado a presión reducida a 80 °C para obtener el cristal de Forma II (rendimiento:

## ES 2 760 503 T3

215,5 mg, porcentaje de rendimiento: 68,6 %, pureza 98,06 %).

Ejemplo de ensayo 1: ensayo de medición de concentración en sangre

5 Se produjeron soluciones respectivas para administración (50 mg/10 ml/kg) del cristal de Forma I y el cristal de Forma II. Estas soluciones se administraron por vía oral a ratones (Balb/cA) criados en condiciones de alimentación a un volumen de 10 ml/kg de peso corporal utilizando una sonda para administración oral. Después de la administración, los ratones se devolvieron a jaulas para que los ratones inspeccionaran sus condiciones. El agua y la alimentación estaban disponibles de forma libre para los ratones en las jaulas. Los se anestesiaron con isoflurano 1, 2, 3, 4, 8 y 24 horas después de la administración y se recogieron 60 ml de sangre de sus senos orbitales mediante tubos de extracción de sangre por capilaridad. La sangre recogida se enfrió en hielo y se centrifugó para separar el plasma.

15 Se calcularon las AUC<sub>0-24 h</sub> con un método trapezoidal de registro lineal usando el software Phoenix WinNonlin (v6.3.0), de Pharsight, a partir de las concentraciones del Compuesto 1 en las muestras de plasma medidas con el método de monitorización múltiple de reacción usando LC-MS/MS.

20 Los resultados se muestran en la Figura 4 y la Tabla 1. Esta prueba demostró que AUC<sub>0-24 h</sub> (área bajo la curva de concentración en sangre-tiempo 0-24 horas después de la administración) del cristal de Forma II fue aproximadamente 3 veces más alta que la del cristal de Forma I. Por lo tanto, el cristal de Forma II de acuerdo con la presente invención es notablemente excelente en absorción oral y útil como composición farmacéutica oral.

[Tabla 1]

Parámetro	Administración oral	
	Cristal de Forma I	Cristal de Forma II
AUC <sub>0-24 h</sub> (μM·h)	59,64	171,33

25 Ejemplo de ensayo 2: ensayo de estabilidad en estado sólido (prueba acelerada)

30 La estabilidad en estado sólido del cristal de Forma II obtenido en el Ejemplo 1 después del almacenamiento de 1, 3 y 6 meses a 40 °C ± 2 °C/75 % de HR ± 5 % de HR se midió en las siguientes condiciones.

Condiciones de almacenamiento: 40 °C ± 2 °C/75 % de HR ± 5 % de HR

Puntos de medición: 1, 3 y 6 meses.

Cantidad de almacenamiento: 6 g

Recipiente de almacenamiento: bolsas de plástico dobladas, bandas cantoneadas + tambores de plástico.

35 Método de preparación de la solución de muestra: se miden de forma precisa 100 mg del cristal de Forma II, se añade una solución mixta de acetonitrilo-agua (4:1) para disolver el cristal (se somete a ultrasonidos para la disolución, si resulta difícil de disolver), y la solución se diluye en un cilindro de medición para obtener un total de 200 ml. Se miden de forma precisa 10 ml de esta solución, y se añade solución de mezcla de acetonitrilo-agua (1:1) a 20 ml exactos que se usa como solución de muestra.

40 Se llevó a cabo HPLC en las siguientes condiciones.

Columna: fundación general Chemicals Evaluation and Research Institute, Japón L-column2 ODS

Tamaño de partícula: 3 μm, diámetro interior: 4,6 mm, longitud: 15 cm

45 Longitud de onda de medición: 220 nm

Fase móvil: Fase móvil A: 10 mmol/l de tampón fosfato (pH 6,9), Fase móvil B: acetonitrilo

Caudal: aproximadamente 1,0 ml/min.

50 El gradiente de concentración se controla por cambio de la proporción de mezcla de las fases móviles A y B como sigue a continuación, cuando se alimenta el líquido.

[Tabla 2]

Tiempo (min) después de la inyección	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0 a 25	80	20
25 a 45	80 → 65	20 → 35
45 a 55	65	35

(continuación)

Tiempo (min) después de la inyección	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
55 a 70	65 → 10	35 → 90
70 a 80	10	90
80 a 80,1	10 → 80	90 → 20
80,1 a 95	80	20

Las cantidades de sustancias relacionadas en las soluciones de muestra se midieron y se evaluaron por HPLC, cuyos resultados se muestran en la Tabla 3.

5 Las sustancias relacionadas se definen como las sustancias detectadas que son distintas a 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida.

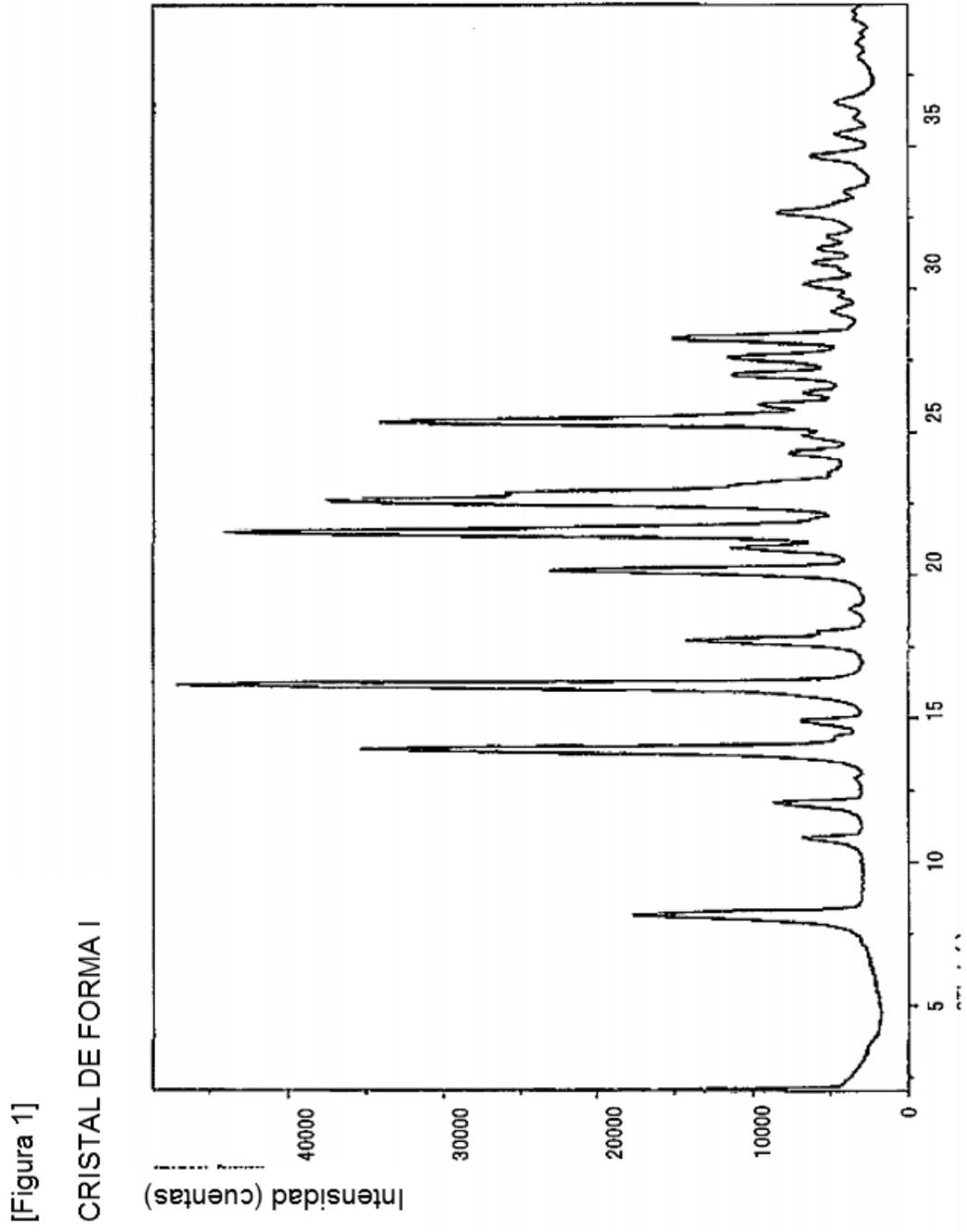
[Tabla 3]

	1 mes	3 meses	6 meses
Sustancias relacionadas en el cristal de Forma II	Menos de un 0,1 %	Menos de un 0,1 %	Menos de un 0,1 %

10 Como resulta evidente a partir de este resultado, el cristal de Forma II del Compuesto 1 produce una baja cantidad de sustancias relacionadas y muestra una excelente estabilidad en estado sólido.

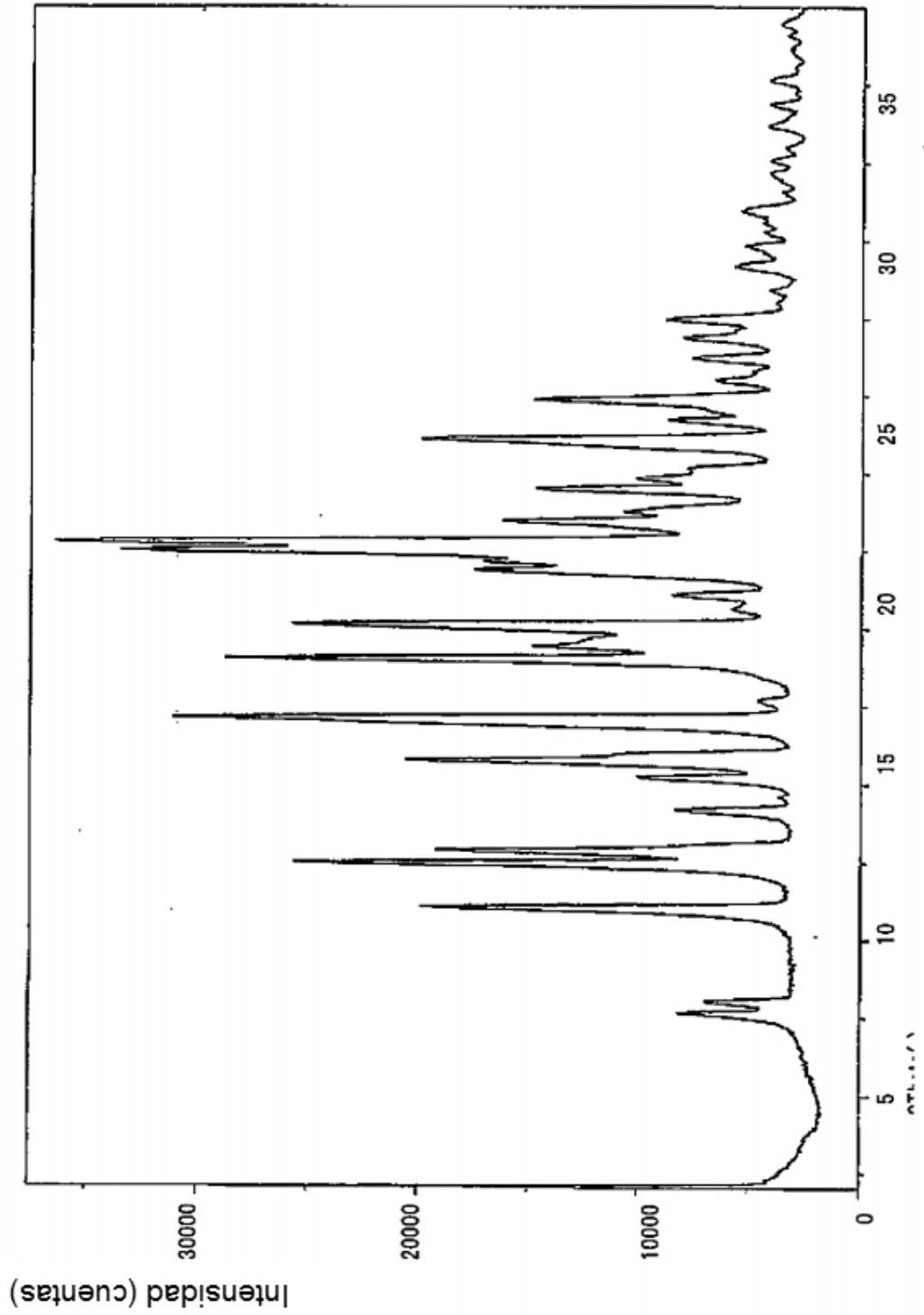
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un cristal de Forma II de 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida que muestra un espectro de difracción de rayos X de polvo que tiene al menos picos de difracción característicos a ángulos ( $2\theta \pm 0,2^\circ$ ) de  $7,7^\circ$ ,  $8,0^\circ$ ,  $11,1^\circ$ ,  $12,5^\circ$ ,  $12,9^\circ$ ,  $15,2^\circ$ ,  $15,8^\circ$ ,  $17,2^\circ$ ,  $19,0^\circ$ ,  $22,5^\circ$ ,  $26,1^\circ$ , y  $27,4^\circ$ .
- 10 2. El cristal de Forma II de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el pico endotérmico determinado mediante calorimetría diferencial de barrido es  $270^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ .
- 15 3. Una composición farmacéutica que comprende el cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.
4. Una composición farmacéutica para administración oral que comprende el cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.
- 20 5. Un agente antitumoral que comprende el cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.
- 25 6. Uso del cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, para la producción de una composición farmacéutica.
7. El uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la composición farmacéutica es una composición farmacéutica para administración oral.
- 30 8. Uso del cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, para la producción de un agente antitumoral.
9. El cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, para su uso como un medicamento.
- 35 10. El cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, para su uso en el tratamiento de un tumor.
- 40 11. Un método de fabricación del cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende las etapas de:
- (1) suspender la 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en un disolvente orgánico con calentamiento para obtener una suspensión, y
- (2) obtener 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en estado sólido a partir de la suspensión obtenida en el apartado (1) anterior.
- 45 12. El método de fabricación del cristal de Forma II de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el disolvente orgánico es 2-propanol, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, ciclopentil metil éter, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetona, acetonitrilo o un disolvente mixto de los mismos.
- 50 13. Un método de fabricación del cristal de Forma II de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende las etapas de:
- (1) suspender la 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en un disolvente orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en 2-propanol, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, ciclopentil metil éter, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetona, acetonitrilo y un disolvente mixto de los mismos para obtener una suspensión, y
- (2) obtener 3-etil-4-{3-isopropil-4-(4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-imidazol-1-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il}benzamida en estado sólido a partir de la suspensión obtenida en el apartado (1) anterior.
- 60

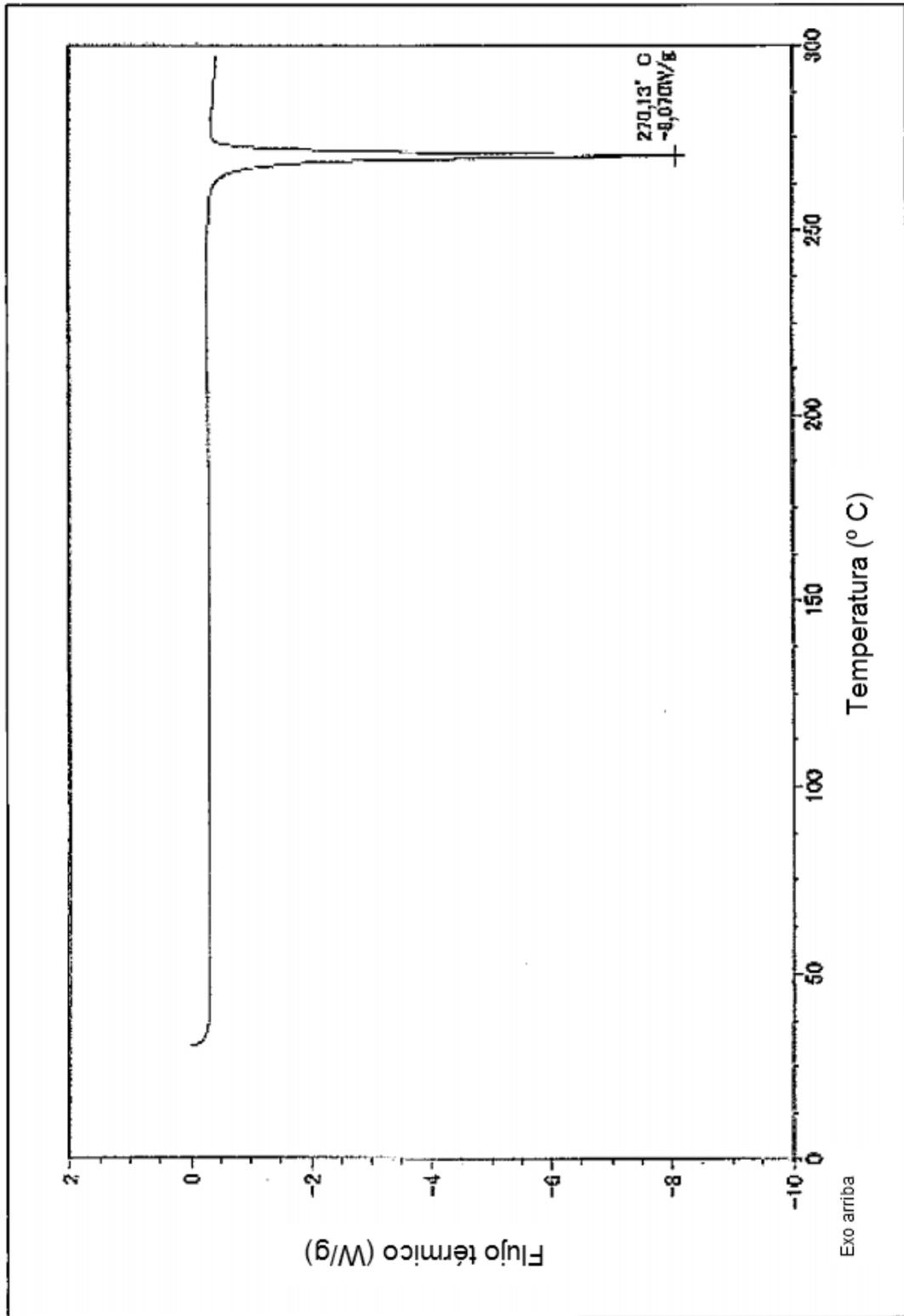


[Figura 2]

CRISTAL DE FORMA II



[Figura 3]



[Figura 4]

