

MÉTODO DE PREPARACIÓN DE DERIVADOS DE AMINA HETEROCÍCLICA

CAMPO TÉCNICO

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUD(ES) RELACIONADA(S)

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente coreana n.º 10-2020-0023899 presentada el 26 de febrero de 2020 y de la solicitud de patente coreana n.º 10-2021-0025655 presentada el 25 de febrero de 2021 ante la Oficina de Propiedad Intelectual de Corea, cuyas divulgaciones se incorporan al presente documento por referencia en su totalidad.

La presente divulgación se refiere a un método para preparar un derivado de amina heterocíclica.

ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

15 La ITK (tirosina quinasa de interleucina-2) y la BTK (tirosina quinasa de Bruton) son un tipo de tirosina quinasa, junto con Tec (tirosina quinasa expresada en carcinoma hepatocelular), RLK (quinasa de linfocitos en reposo) y BMX (gen de tirosina quinasa de médula ósea en el cromosoma X), que no tiene un receptor de la familia TEC y actúa sobre diversas respuestas inmunitarias.

20

La ITK se expresa no sólo en células T sino también en células NK y mastocitos, y desempeña un papel importante en la proliferación de células T y en la producción de citoquinas importantes tales como IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e IL-17 (Schaeffer *et al.* Nat. Immune 2001, 2, 1183; Fowell *et al.* Immunity, 1999, 11,

399). Las células T se activan por la señalización de TCR, y las células T activadas producen citoquinas inflamatorias y activan las células B y los macrófagos, provocando enfermedades autoinmunitarias tales como la AR (Sahu N. *et al.* Curr Top Med Chem. 2009, 9, 690). Previamente, se sabía que las células Th1 se activan por células T para inducir enfermedades de AR, pero recientemente, se ha notificado que no sólo las células Th17/Treg, sino también las Th1, actúan como patogenicidad de la AR (J Leipe J. *et al.* Arthritis Rheum. 2010, 62, 2876). Además, la ITK se ha desarrollado previamente como diana farmacológica inmunoterápica, tal como asma, pero ninguna ITK se ha desarrollado como fármaco terapéutico para la AR (Lo H. Y Expert Opin Ther Pat. 2010, 20, 459). Recientemente, sin embargo, se ha notificado que regula el desarrollo de células Th17 y Treg a través de ratones ITK^{-/-}, y tiene un amplio potencial como diana terapéutica para la AR (Gomez-Rodriguez J. *et al.* J. Exp. Med. 2014, 211, 529).

En un estudio que usa el inhibidor de ITK PRN694, se ha notificado un estudio sobre la reducción de TNF- α que es una citoquina inflamatoria típica de enfermedades de AR, lo que confirma la posibilidad de desarrollo como agente terapéutico para la AR mediante la regulación de la expresión de Th17 a través de la inhibición de ITK (Zhong Y. *et al.* THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 2015, 290, 5960).

La BTK actúa como regulador del desarrollo de células B tempranas así como de la activación, señalización y supervivencia de células B maduras. La célula

B está señalizada por un receptor de células B (BCR) que reconoce un antígeno unido a la superficie de una célula presentadora de antígeno y se activa en una célula productora de anticuerpo madura. Sin embargo, la señalización aberrante a través del BCR conduce a la proliferación anómala de células B y a la formación de autoanticuerpos patológicos y, por tanto, puede inducir cáncer, enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias. Por tanto, en la proliferación anómala de células B, la señalización a través del BCR puede bloquearse cuando la BTK es deficiente. Por consiguiente, la inhibición de BTK puede bloquear procesos patológicos mediados por células B y, por tanto, el uso de inhibidores de BTK puede ser un enfoque útil para el tratamiento de enfermedades mediadas por células B.

Además, la BTK puede expresarse por otras células que pueden estar asociadas con enfermedad además de las células B. En un ejemplo, la BTK es un componente importante para la señalización de Fc-gamma en células de médula ósea y se expresa por los mastocitos. Específicamente, los mastocitos inducidos por la médula ósea deficientes en BTK presentan una desgranulación inducida por antígenos alterada, y se sabe que la inhibición de la actividad BTK es útil para tratar respuestas patológicas de los mastocitos, tales como alergia y asma (Iwaki *et al.* J. Biol Chem. 2005 280: 40261). Además, se sabe que la producción de TNF alfa en los monocitos de pacientes con XLA, en los que la actividad BTK está ausente, disminuyen tras la estimulación y, por tanto, puede inhibirse la inflamación mediada por TNF alfa mediante inhibidores de BTK (véase, Horwood *et al.*, J. Exp. Med. 197: 1603, 2003).

En la actualidad, no ha habido ningún caso en el que se haya desarrollado como sustancia que inhiba dualmente BTK e ITK. Sin embargo, como inhibidor de BTK, el documento WO 2008/039218 da a conocer derivados de 4-aminopirazolo[3,4-d]pirimidinilpiperidina, y el documento WO2015/061247 da a
5 conocer heterocompuestos tales como piridina, pirimidina, pirazina y piridazina, y el documento WO2014/055934 da a conocer derivados de pirimidinilfenilacrilamida. Como inhibidor de ITK, el documento WO2005/066335 da a conocer aminobencimidazoles, el documento WO2005/056785 da a conocer piridonas, el documento WO2002/050071 da a conocer derivados de aminotiazol y,
10 recientemente, el documento WO2014/036016 da a conocer derivados de bencimidazol.

Dadas estas circunstancias, los presentes inventores han hallado que un derivado de amina heterocíclica, que tiene una estructura química diferente de los
15 inhibidores de BTK e ITK notificados hasta la fecha, presenta un excelente doble efecto inhibidor de la actividad de BTK e ITK. Por tanto, los inventores han llevado a cabo una intensa investigación sobre un método de preparación que pueda preparar un novedoso derivado de amina heterocíclica y, como resultado, hallaron que cuando se usa el método de preparación descrito a continuación en el presente
20 documento, es posible la producción en masa comercial, se mejora el rendimiento como conjunto y se reducen las impurezas, completando de ese modo la presente divulgación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

PROBLEMA TÉCNICO

Un objeto de la presente divulgación es proporcionar un método para preparar un derivado de amina heterocíclica.

5

SOLUCIÓN TÉCNICA

Con el fin de lograr los objetos anteriores, la presente divulgación proporciona un método de preparación tal como se muestra en el siguiente esquema de reacción 1, y más específicamente, proporciona un método de preparación que comprende las etapas de:

10

1) preparar un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-3 mediante reacción de un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-1 con un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-2 en presencia de un catalizador de paladio y una base;

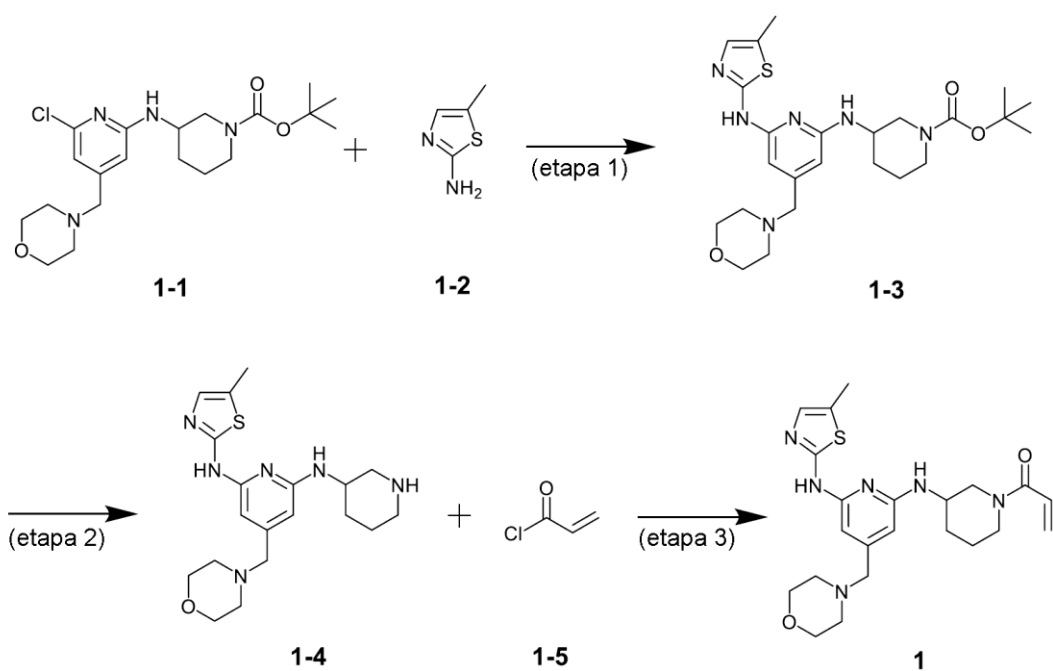
15

2) preparar un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-4 mediante reacción de un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-3 en presencia de un ácido; y

20

3) preparar un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-4 con un compuesto representado por la siguiente fórmula química 1-5 en presencia de una base:

[Esquema de reacción 1]

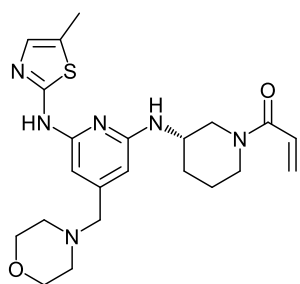


En este caso, el compuesto representado por la fórmula química 1 puede entenderse como un concepto de abarcar todos de los siguientes tres tipos de

5 compuestos según la quiralidad.

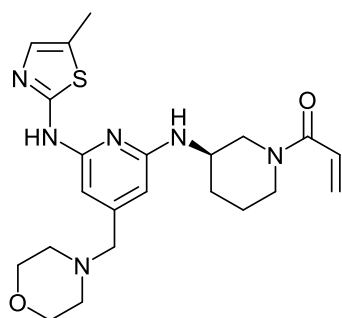
(1) (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)

amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona

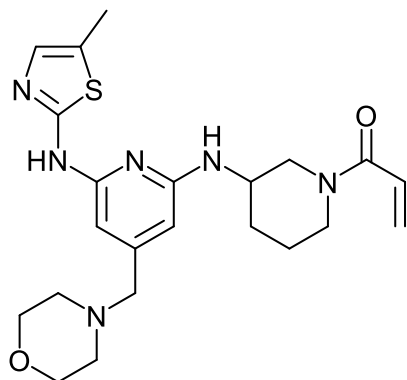


(2) (R)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)

10 amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona



(3) 1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino) piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona



A continuación en el presente documento, la presente divulgación se
5 describirá en detalle para cada etapa.

(Etapas 1)

La etapa 1 es una etapa de preparar el compuesto representado por la
fórmula química 1-3 mediante reacción del compuesto representado por la fórmula
10 química 1-1 con el compuesto representado por la fórmula química 1-2, y la reacción
es una reacción de sustitución de amina, que se lleva a cabo en presencia de un
catalizador de paladio y una base.

En este caso, el compuesto representado por la fórmula química 1-1 y el
15 compuesto representado por la fórmula química 1-2 pueden usarse en una razón
molar de 1:0,1 a 1:2. Específicamente, el compuesto representado por la fórmula
química 1-1 y el compuesto representado por la fórmula química 1-2 pueden usarse
en una razón molar de 1:0,5 a 1:1,7, de 1:0,7 a 1:1,5, o de 1:0,9 a 1:1,5.

20 Además, el catalizador de paladio puede ser un catalizador de paladio(0)

que es paladio con valencia cero (Pd) en el compuesto, o un catalizador de paladio(II) con una valencia de +2. Por ejemplo, como catalizador de paladio, puede usarse al menos uno seleccionado del grupo que consiste en tris(dibencilidenacetona) dipaladio(0), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), bis[tris(2-metilfenil)fosfina]paladio y acetato de paladio(II).

Además, la base usada en la reacción de la etapa 1 puede ser al menos una seleccionada del grupo que consiste en carbonato de cesio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, terc-butóxido de sodio y terc-butóxido de potasio. Entre ellos, se usa preferiblemente carbonato de cesio en cuanto a velocidad de reacción y rendimiento.

Además, la reacción puede llevarse a cabo en presencia de un compuesto a base de fosfina junto con el catalizador de paladio y la base. Como compuesto a base de fosfina, puede usarse al menos uno seleccionado del grupo que consiste en 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo, 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno, 2-(diciclohexilfosfino)-3,6-dimetoxi-2,4',6'-triisopropil-1,1'-bifenilo y diciclohexilfosfino-2',6'-diisopropoxibifenilo.

Además, como disolvente para la reacción, puede usarse un disolvente inactivo para la reacción de sustitución de amina. Por ejemplo, puede usarse un disolvente tal como tolueno, dioxano, dimetilformamida (DMF), alcohol butílico o dimetilacetamida (DMAc), pero se usan preferiblemente tolueno y dimetilacetamida

(DMAC) en cuanto a velocidad de reacción y rendimiento.

En este caso, el disolvente puede usarse en una cantidad (mL/g) de 10 a 30 veces (volumen), más específicamente en una cantidad (mL/g) de 15 a 25 veces (volumen), con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1.

Además, la reacción puede llevarse a cabo a una temperatura de 80 a 150°C durante de 3 horas a 15 horas. Cuando la reacción se lleva a cabo bajo una condición de temperatura inferior y/o durante un tiempo de reacción más corto que el intervalo anteriormente mencionado, la reacción no avanza suficientemente, y puede reducirse el rendimiento de producción. Además, incluso si la reacción se lleva a cabo bajo una condición de temperatura superior y/o un tiempo de reacción más largo que el intervalo anteriormente mencionado, no se aumenta sustancialmente el rendimiento de producción, lo que es indeseable en cuanto a costes del procedimiento. Más específicamente, la reacción puede llevarse a cabo a una temperatura de 90 a 130°C durante de 4 horas a 12 horas, preferiblemente de 4 horas a 10 horas, más preferiblemente de 6 horas a 10 horas.

Además, cuando se usa una combinación del catalizador de paladio, la base y el compuesto a base de fosfina anteriormente mencionados, la reacción puede llevarse a cabo en un reactor convencionalmente conocido sin el uso de un reactor de microondas. Por tanto, la etapa 1) puede aplicarse como un procedimiento para

la producción en masa del compuesto representado por la fórmula química 1.

Por otro lado, después de completarse la reacción, sin la etapa de purificar o aislar el compuesto representado por la fórmula química 1-3 preparado, el procedimiento hasta la etapa 1 y la etapa 2 descrita a continuación en el presente documento puede llevarse a cabo *in situ* en el mismo recipiente de reacción. Tal como se describió anteriormente, puesto que no se requiere la etapa de purificar o aislar el compuesto en la etapa 1, el método de preparación del compuesto representado por la fórmula química 1, incluyendo la etapa 1, puede ser ventajoso en cuanto a la producción en masa industrial del compuesto.

(Etapa 2)

La etapa 2 es una etapa de preparar un compuesto representado por la fórmula química 1-4 mediante reacción de un compuesto representado por la fórmula química 1-3 en presencia de un ácido, que es una etapa de retirar el grupo terc-butiloxycarbonilo, que es un grupo protector sustituido en el anillo de piperidina del compuesto representado por la fórmula química 1-3, en presencia de un ácido.

Como ácido usado en la reacción de la etapa 2), puede usarse ácido clorhídrico, ácido acético, ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético, o similar. Entre ellos, se prefiere ácido clorhídrico en consideración del rendimiento y los costes.

Como disolvente para la reacción, puede usarse un disolvente tal como

acetato de etilo, alcohol metílico, dioxano o tolueno.

Además, la reacción puede llevarse a cabo a temperatura ambiente durante de 30 minutos a 20 horas, preferiblemente de 30 minutos a 4 horas. La reacción de retirar el grupo terc-butiloxicarbonilo, que es un grupo protector, corresponde a una reacción que se produce fácilmente sin tratamiento térmico adicional y, por tanto, puede llevarse a cabo a temperatura ambiente. Sin embargo, si el tiempo de reacción es menor de 30 minutos, la reacción puede no avanzar suficientemente, y si el tiempo de reacción supera las 20 horas, no se aumenta sustancialmente el rendimiento de producción. Por tanto, se prefiere el tiempo de reacción anteriormente mencionado.

Por otro lado, después de completarse la reacción, con el fin de purificar el compuesto representado por la fórmula química 1-4, si es necesario, puede incluirse además una etapa de cristalización del producto de reacción. En la etapa de cristalización, se prepara el compuesto representado por la fórmula química 1-4 cristalizado usando un disolvente de cristalización en el producto de reacción. Dicho de otro modo, la etapa 2) puede llevarse a cabo a través de las etapas de hacer reaccionar el compuesto representado por la fórmula química 1-3 en presencia de un ácido, y luego cristalizar el producto de reacción para preparar el compuesto representado por la fórmula química 1-4.

Específicamente, la etapa de cristalización puede llevarse a cabo mediante

una cristalización primaria con agua y una cristalización secundaria con metanol.

Tal como se describió anteriormente, cuando el producto de reacción generado después de completarse la reacción de la etapa 2) se cristaliza secuencialmente con agua y metanol, es posible retirar eficazmente el catalizador de paladio, el
5 ligando, el residuo de aminotiazol, etc., que son subproductos que permanecen después de la reacción. Por tanto, puede obtenerse un compuesto de alta pureza con un alto rendimiento en comparación con la etapa de purificar en forma de una suspensión usando un disolvente tal como acetato de etilo.

10 La etapa de cristalización primaria con agua puede llevarse a cabo mediante la adición de agua al producto de reacción y la agitación del mismo a una temperatura de aproximadamente 0 a 5°C durante de 10 minutos a 2 horas. Además, la cristalización se lleva a cabo preferiblemente en presencia de una base tal como hidróxido de sodio mientras se mantiene el pH del producto de reacción a 11 o más,
15 o 12 o más. Cuando se forman cristales en las condiciones anteriores, después de completarse la reacción puede filtrarse la disolución de reacción a presión reducida para obtener cristales.

En este caso, puede usarse agua en una cantidad (mL/g) de 5 a 30 veces
20 (volumen), más específicamente en una cantidad (mL/g) de 5 a 25 veces (volumen), con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1.

A continuación, después de secar el cristal resultante, puede llevarse a cabo

una etapa de cristalización secundaria con metanol. La etapa de cristalización secundaria con metanol puede llevarse a cabo mediante la adición de metanol a los cristales resultantes y la agitación de los mismos a una temperatura de aproximadamente 50 a 80°C durante de 10 minutos a 2 horas.

5

En este caso, puede usarse metanol en una cantidad (mL/g) de 5 a 40 veces (volumen), más específicamente en una cantidad (mL/g) de 10 a 35 veces (volumen), con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1.

10

(Etapa 3)

La etapa 3 es una etapa de preparar un compuesto representado por la fórmula química 1 mediante reacción de un compuesto representado por la fórmula química 1-4 con un compuesto representado por la fórmula química 1-5. La reacción es una reacción de amidación, que se lleva a cabo preferiblemente en presencia de una base.

15

En este caso, el compuesto representado por la fórmula química 1-4 y el compuesto representado por la fórmula química 1-5 pueden usarse en una razón molar de 1:0,5 a 1:2,0. Específicamente, el compuesto representado por la fórmula química 1-4 y el compuesto representado por la fórmula química 1-5 pueden usarse en una razón molar de 1:0,5 a 1:1,5, de 1:0,7 a 1:1,3, o de 1:0,9 a 1:1,1.

20

Como base usada en la reacción de la etapa 3), puede usarse al menos una

seleccionada del grupo que consiste en carbonato de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de litio, hidróxido de potasio, trietilamina, diisopropilamina, diisopropiletilamina, hidrogenocarbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio, carbonato de cesio, carbonato de sodio, metilato de sodio y butirato de potasio.

- 5 Entre ellos, se usa preferiblemente carbonato de potasio, carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o hidrogenocarbonato de potasio en cuanto a completitud de la reacción y generación de subproductos.

Como disolvente para esta reacción, puede usarse un disolvente mixto de tetrahidrofurano (THF) y agua. En este caso, el tetrahidrofurano puede usarse en una cantidad (mL/g) de 10 a 40 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4, y el agua puede usarse en una cantidad (mL/g) de 2 a 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4.

15

Por otro lado, el compuesto representado por la fórmula química 1-5 puede añadirse en un estado de mezcla con N,N-diisopropiletilamina o trietilamina. El cloruro de acrilóilo, que es el compuesto representado por la fórmula química 1-5, tiene una pequeña cantidad de ácido clorhídrico remanente en el compuesto. Por tanto, el ácido clorhídrico participa en la reacción y genera, como subproducto, impurezas (denominadas a continuación en el presente documento impureza C (ImpC)), tal como un compuesto en el que se añade HCl al doble enlace del compuesto representado por la fórmula química 1 y un compuesto en el que se

añade HCl al doble enlace de acrilamida, que provoca el problema de que se reduce la pureza del compuesto final. Sin embargo, cuando el compuesto representado por la fórmula química 1-5 se usa en un estado de disolución en el que se disuelve en un disolvente tal como tetrahidrofurano junto con N,N-diisopropiletilamina (DIPEA),
5 puede retirarse de antemano una pequeña cantidad de ácido clorhídrico remanente en el compuesto representado por la fórmula química 1-5 mediante N,N-diisopropiletilamina o trietilamina y, por tanto, puede no generarse la impureza C.

En este caso, en una disolución en la que se mezclan el compuesto
10 representado por la fórmula química 1-5 y N,N-diisopropiletilamina, la N,N-diisopropiletilamina puede estar contenida en una cantidad de 0,01 a 0,2 moles con respecto a 1 mol del compuesto representado por la fórmula química 1-5. Dentro del intervalo anterior, puede retirarse eficazmente el ácido clorhídrico en el compuesto representado por la fórmula química 1-5.

Además, la reacción puede llevarse a cabo a una temperatura de -10°C a 10°C, preferiblemente a una temperatura de 0°C o menos, y más preferiblemente a una temperatura de -10°C o más y menos de 0°C. Puede prepararse un dímero del compuesto representado por la fórmula química 1 (denominado a continuación en
20 el presente documento como impureza B (ImpB)) mediante la reacción anterior. Cuando la reacción ocurre a una temperatura baja, es posible minimizar la generación de tal impureza B. Específicamente, se prefiere una temperatura de reacción de -10 a 0°C, más específicamente, una temperatura de reacción de -8 a -

3°C, en cuanto a reducción de impurezas y rendimiento de producción. Por tanto, se prefiere que todos los reactivos de reacción tales como reactantes y disolventes orgánicos, que se usan para suprimir el aumento en la temperatura de reacción durante la reacción, se usen después de enfriarse hasta una temperatura de 0°C o menos.

Por otro lado, después de completarse la reacción, si es necesario, puede incluirse al menos una de las etapas de extracción del producto de reacción, purificación mediante concentración a presión reducida y cristalización, aislando y purificando de ese modo el compuesto representado por la fórmula química 1. Con el fin de preparar un compuesto de alta pureza, se prefiere realizar secuencialmente todas las etapas de extraer, purificar y cristalizar el producto de reacción.

Específicamente, después de completarse la reacción de la etapa 3, puede incluirse además una etapa de extraer el producto de reacción usando acetato de etilo. Específicamente, el producto de reacción puede extraerse usando acetato de etilo y agua. Es decir, el compuesto representado por la fórmula química 1 puede extraerse usando acetato de etilo y agua después de completarse la reacción. Cuando se extrae de esta manera, pueden retirarse eficazmente con la fase acuosa las impurezas que tienen un tiempo de retención relativo de menos de 1,0, que se aíslan mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), en comparación con cuando se extrae usando un disolvente mixto de cloruro de metileno/agua.

La etapa de extracción con acetato de etilo puede llevarse a cabo entonces a un pH de 6,5 a 7,5. Si el pH es inferior a 6,5, existe la preocupación de que se reduce el rendimiento, y si el pH es superior a 7,5, puede dificultarse la retirada de impurezas. Más específicamente, la etapa de extracción con acetato de etilo puede

5 llevarse a cabo en el intervalo de pH de 7,0 a 7,5.

Adicionalmente, la etapa 3 puede incluir además una etapa de disolver el producto de reacción en tetrahidrofurano; una etapa de mezclar una disolución que contiene ácido fosfórico con la disolución preparada; y una etapa de purificación de

10 filtrar la mezcla preparada y luego concentrar el filtrado a presión reducida. Tal etapa de concentración a presión reducida se lleva a cabo preferiblemente después de la etapa de extracción con acetato de etilo.

Dicho de otro modo, la etapa de purificación puede incluir una etapa de

15 disolver el producto extraído con acetato de etilo en tetrahidrofurano para preparar una disolución; una etapa de mezclar una disolución que contiene ácido fosfórico con la disolución para preparar una mezcla en la que se produce una sal de fosfato; y una etapa de filtrar la mezcla en la que se produce la sal de fosfato, y luego concentrar el filtrado a presión reducida.

20

La disolución que contiene ácido fosfórico es una disolución en la que se disuelve ácido fosfórico en un disolvente de tetrahidrofurano, en la que el ácido fosfórico puede disolverse en una cantidad de 0,05 a 0,5 moles con respecto a 1 mol

del compuesto representado por la fórmula química 1-4. Cuando se añade al producto una disolución que contiene ácido fosfórico en el intervalo anteriormente mencionado, un compuesto en el que están unidos un compuesto representado por la fórmula química 1 y un compuesto representado por la fórmula química 1-4 producido durante la reacción (denominado a continuación en el presente documento como impureza A (ImpA)) reacciona con un anión fosfato (PO_4^{3-}) para producir una sal de fosfato. Sin embargo, la sal de fosfato producida puede retirarse fácilmente mediante filtración y, por tanto, puede reducirse el contenido de impureza A en el compuesto representado por la fórmula química 1 final producido.

Adicionalmente, la etapa 3 puede incluir además una etapa de cristalización del producto de reacción con acetato de etilo. Esta etapa de cristalización se lleva a cabo preferiblemente después de la etapa de purificación.

Dicho de otro modo, la etapa de cristalización puede llevarse a cabo, después de la etapa de purificación, añadiendo acetato de etilo al producto concentrado a presión reducida y luego agitando a una temperatura de aproximadamente 20 a 40°C durante de 30 minutos a 4 horas. Cuando se producen cristales en las condiciones anteriores, la disolución de reacción puede secarse a presión reducida después de completarse la reacción, obteniéndose de ese modo un compuesto representado por la fórmula química 1-1 que es un producto final.

Es decir, cuando se llevan a cabo secuencialmente todas las etapas de

extraer, purificar y cristalizar el producto de reacción de la etapa 3 para preparar el compuesto representado por la fórmula química 1, la etapa 3 puede llevarse a cabo a través de las etapas de:

una etapa de hacer reaccionar el compuesto representado por la fórmula química 1-4 con el compuesto representado por la fórmula química 1-5 en presencia de una base;

una etapa de extraer el producto de reacción usando acetato de etilo;

una etapa de disolver el producto extraído con acetato de etilo en tetrahidrofurano para preparar una disolución, una etapa de mezclar una disolución que contiene ácido fosfórico con la disolución para preparar una mezcla en la que se produce una sal de fosfato y una etapa de filtrar la mezcla en la que se produce la sal de fosfato, y luego concentrar el filtrado a presión reducida; y

una etapa de cristalizar el producto concentrado a presión reducida con acetato de etilo.

Cuando se llevan a cabo etapas de extracción, purificación y cristalización adicionales después de la reacción de esta manera, es posible preparar un compuesto representado por la fórmula química 1 de alta pureza en el que el contenido de impureza que tiene un TRR de menos de 1,0 (TRR <1,0), impureza A (ImpA), impureza B (ImpB) e impureza C (ImpC), es significativamente bajo, que puede confirmarse comparando los ejemplos y los ejemplos de referencia descritos a continuación en el presente documento.

EFFECTOS VENTAJOSOS

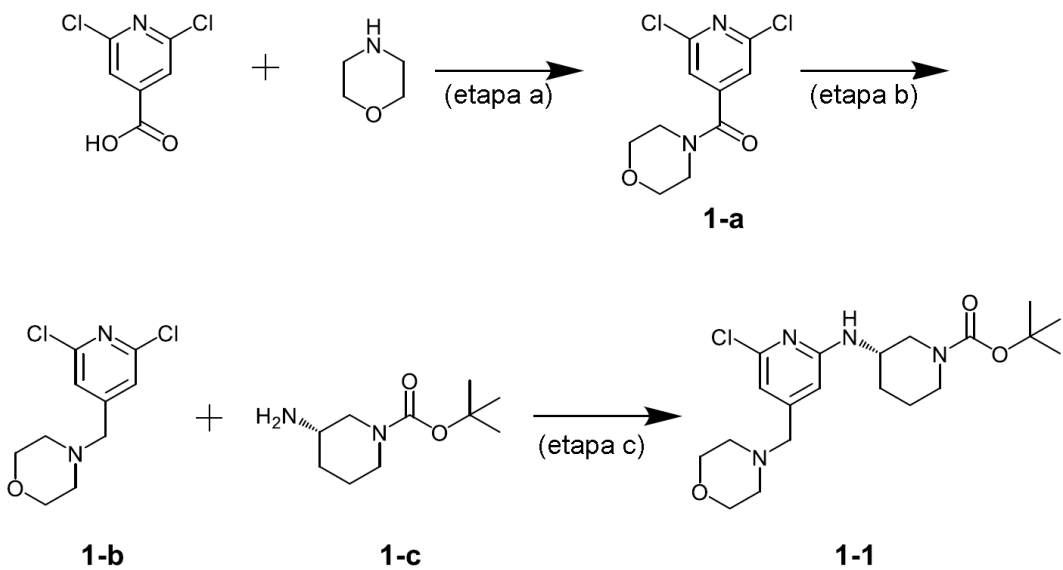
Tal como se describió anteriormente, el método de preparación según la

presente divulgación tiene la ventaja de que puede prepararse un derivado de amina heterocíclica que tiene un contenido de impurezas reducido con un alto rendimiento.

5 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES**

A continuación, la presente divulgación se describirá en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos son sólo con propósitos ilustrativos, y el alcance de la presente divulgación no está limitado por los mismos. Además, en lo siguiente, puede entenderse que equivalente (eq) significa el número de moles con respecto al material de partida en la reacción que tiene lugar en cada etapa.

Ejemplo de preparación: preparación del compuesto representado por la fórmula química 1-1 ((S)-3-((6-cloro-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo)



(Etapa a)

Se disolvió ácido 2,6-dicloroisonicotínico (10,0 g, 1,0 eq) en dimetilformamida (100,0 mL), y luego se le añadió al mismo 1,1-carbonildiimidazol (1,0 g, 1,2 eq). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente (25-30°C) bajo gas de nitrógeno durante 1 hora, luego se añadió morfolina (5,4 mL, 1,2 eq) y se agitó a la misma temperatura durante 2 horas para completar la reacción. Se añadieron acetato de etilo (200,0 mL) y agua (200,0 mL) y se extrajo, y volvió a extraerse la fase acuosa tres veces usando acetato de etilo (200,0 mL). Se secó la fase de acetato de etilo sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna (acetato de etilo:hexano = 1:5) para obtener el compuesto representado por la fórmula química 1-a, (2,6-dicloropiridin-4-il)(morfolino)metanona (13,0 g, 93,0%).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 7,27(s, 2H), 3,77(m, 4H) 3,65(m, 2H), 3,37(m, 2H)

(Etapa b)

Se disolvió el compuesto representado por la fórmula química 1-a (10,0 g, 1,0 eq) obtenido en la etapa a en diclorometano (100,0 mL), y luego se enfrió hasta de 0 a 10°C bajo gas de nitrógeno. Se le añadió lentamente gota a gota al mismo borano-tetrahidrofurano 1 M (115,0 mL, 3,0 eq), y luego se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas para completar la reacción. Se enfrió la disolución de reacción hasta 0-10°C, y luego se añadió lentamente gota a gota disolución acuosa de ácido clorhídrico 6 N (256,0 mL, 20,0 eq) y luego se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Se ajustó el pH a de 9 a 12 usando una disolución acuosa de

hidróxido de sodio 10 N, y luego se extrajo dos veces con diclorometano. Se aisló la fase de diclorometano, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna (acetato de etilo:hexano = 1:1) para obtener el compuesto representado por la fórmula química 1-b, 4-((2,6-dicloropiridin-4-il)metil)morfolina (8,1 g, rendimiento: 90,0%).

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3): 7,27(s, 2H), 3,72(m, 4H) 3,46(s, 2H), 2,45(m, 4H)

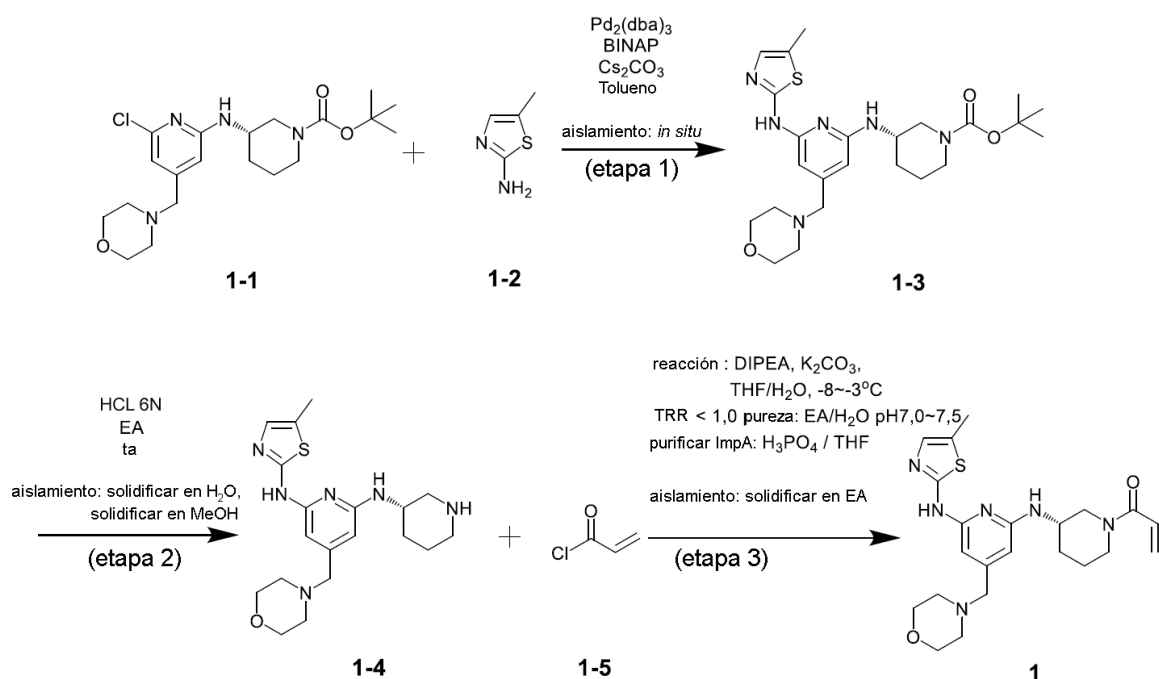
(Etapa c)

Se disolvió el compuesto representado por la fórmula química 1-b (1,0 g, 1,0 eq) obtenido en la etapa b en 1,4-dioxano (10,0 mL), y luego se le añadieron al mismo tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (465,8 mg , 0,2 eq) y Xantphos (1,5 g, 0,4 eq). Se añadió (S)-3-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (780,0 μL 1,0 eq), que es un compuesto representado por la fórmula química 1-c, y luego se añadió carbonato de sodio (1,3 g, 3,0 eq), y luego se sometió a reflujo la mezcla durante 12 horas para completar la reacción. Después de enfriar hasta 30°C o menos, se le añadieron a la misma agua (20,0 mL) y acetato de etilo (20,0 mL), y luego se aislaron las fases. Se secó la fase de acetato de etilo sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna (acetato de etilo:hexano = 1:1) para obtener el compuesto representado por la fórmula química 1-1, (S)-3-((6-cloro-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (900,0 mg, rendimiento: 54,1%).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 6,63(s, 1H), 6,31(s, 1H), 4,66-4,65(m, 1H), 3,84-3,82(m, 1H) 3,75-3,70(m, 5H), 3,59-3,54(m, 1H), 3,37(s, 2H), 3,27-3,23(m, 2H), 2,46(t, 4H), 1,98-1,94(m, 1H), 1,73(s, 1H), 1,63-1,56(m, 2H), 1,50(s, 9H)

5

Ejemplo: preparación de (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona



(Etapa 1)

Se añadieron a un matraz el compuesto representado por la fórmula química

- 10 1-1 (50,0 g, 1,0 eq) obtenido en el ejemplo de preparación, el compuesto representado por la fórmula química 1-2 (16,7 g, 1,2 eq), tris(dibencilidenacetona) dipaladio(0) (11,1 g, 0,1 eq), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (BINAP) (30,3 g, 0,4 eq), carbonato de cesio (118,9 g, 3,0 eq) y 1000 mL de tolueno con un volumen de 20 veces con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química
- 15 1-1, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después de elevar la temperatura en el interior del matraz hasta 110°C, se agitó la mezcla de reacción a un intervalo de temperatura de 105-111°C durante 8 horas. Se filtró el

residuo resultante a través de Celite para retirar el catalizador y la sal inorgánica producida. Luego, se concentró la fase orgánica a presión reducida, y se le añadieron a la misma 250 mL de agua purificada con un volumen de 5 veces con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1 y 1000 mL de ácido etilacético con un volumen de 20 veces con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1 y se extrajo la fase orgánica. Se descartó la fase acuosa aquí generada. Luego, se concentró la fase orgánica a presión reducida a 40-45°C para preparar el compuesto representado por la fórmula química 1-3, que se usó posteriormente en la etapa 2 a continuación sin purificación adicional.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,51(s, 1H), 6,93(s, 1H) 6,40(s, 1H), 6,06(s, 1H), 5,98(s, 1H), 4,01(s, 2H), 3,55(s, 5H), 3,21(s, 4H), 2,32(s, 4H), 2,24(s, 3H), 1,97(s, 1H), 1,72(s, 1H), 1,32(sa, 2H), 1,15(s, 9H)

(Etapa 2)

Se añadieron acetato de etilo (EA) (500 mL) y HCl 6 N (250 mL, 5,0 eq) al compuesto representado por la fórmula química 1-3 preparado en la etapa 1, y luego se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas para completar la reacción.

Etapas de cristalización con agua y metanol

Luego, se extrajo la fase acuosa, y se añadieron 1000 mL de agua purificada (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1) a la fase orgánica, y se sometió a extracción secundaria. Se combinaron las fases acuosas obtenidas en la 1ª y en la

2ª, se mantuvo la temperatura interna a 0-5°C usando un baño de hielo, y se añadieron 700 mL de NaOH 4 N (una cantidad (mL/g) de 14 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1) durante aproximadamente 30 minutos, y se agitó la mezcla durante 30 minutos mientras se mantenía el pH de 12 o superior. Se filtraron los cristales resultantes a presión reducida, y se lavó el filtrado con 500 mL de agua purificada (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1) y 500 mL de hexano (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1). En este caso, se colocó el filtrado lavado en un secador, y luego se secó a vacío a una temperatura de 40-45°C durante 12 horas o más, y luego se le añadieron al mismo 1,65 L de metanol (una cantidad (mL/g) de 33 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-1), y se agitó la mezcla a una temperatura interna de 65°C durante aproximadamente 30 minutos y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. Se filtraron los cristales resultantes a presión reducida, se colocó el filtrado resultante en un secador, y luego se secó a vacío a una temperatura de 40-45°C durante 12 horas o más para obtener 28,5 g del compuesto representado por la fórmula química 1-4 (rendimiento: 60,3% (incluyendo las etapas 1 y 2)).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,47(s, 1H), 6,93(s, 1H) 6,28(d, 1H), 6,02(s, 1H), 5,94(s, 1H), 3,91(s, 1H), 3,56 (s, 4H), 3,20 (s, 2H), 3,06 (d, 1H), 2,79 (d, 1H), 2,44-2,42 (m, 1H), 2,37-2,34 (m, 1H), 2,32(s, 3H), 2,28(s, 4H), 2,03-2,01(m, 2H), 1,63-1,60(m, 1H), 1,44-1,42 (m, 1H), 1,30-1,28 (m, 1H)

(Etapa 3)

Al compuesto representado por la fórmula química 1-4 (5,0 g, 1,0 eq) preparado en la etapa 2, se le añadieron 90,0 mL de THF (una cantidad (mL/g) de 18 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 20,0 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 4 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) para preparar una disolución a temperatura ambiente. Luego, se disminuyó la temperatura interna hasta -8 - -3°C usando un baño de temperatura externa de -8 - -5°C (mezcla de hielo, H₂O y MeOH), y luego se añadió K₂CO₃ (2,6 g, 1,5 eq) y se disolvió. En este caso, a 5 mL de THF enfriado hasta -8 - -3°C se le añadió gota a gota una disolución mixta de N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) (111,5 µL, 0,05 eq) y el compuesto representado por la fórmula química 1-5 (1,1 mL, 1,05 eq) a una temperatura interna de -8 - -3°C. Se agitó la mezcla resultante a -8 - -3°C durante 0,5 horas para completar la reacción.

Etapa de extracción con acetato de etilo

Al recipiente de reacción en el que se completaron las reacciones, se le añadieron 100,0 mL de acetato de etilo a una temperatura de -8 - -3°C (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 50,0 mL de disolución acuosa de NH₄Cl saturado (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), y se aislaron las fases y se aisló sólo la fase orgánica. Luego, se añadieron 50,0 mL de acetato de etilo a una temperatura

de -8 - -3°C (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) a la fase acuosa, y volvió a extraerse. Luego, se recogió sólo la fase orgánica y se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 35°C. Se le añadieron a la misma 100,0 mL de acetato de etilo a una temperatura de -8 - -3°C (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 50,0 mL de H₂O a una temperatura de 0 - 5°C (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), se ajustó el pH a 7,0-7,5 con una disolución de HCl 1 N, y se aislaron las fases dos veces. Se recogió la fase orgánica aislada, se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 35°C.

Etapas de purificación con ácido fosfórico (H₃PO₄)

Se le añadieron a la misma 90,0 mL de THF a una temperatura de -8 - -3°C (una cantidad (mL/g) de 18 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y se disolvió. Luego, se añadió gota a gota a una temperatura de -8 - -3°C una disolución de H₃PO₄ (9,3 g, 0,095 eq) disuelta en 5,0 mL de THF a una temperatura de -8 - -3°C, y luego se agitó la mezcla durante 30 minutos. Se filtró la mezcla a través de Celite para retirar las sales, y se le añadió gota a gota al filtrado una disolución de H₃PO₄ (8,3 g, 0,085 eq) disuelta en THF 5,0 mL a una temperatura de -8 - -3°C, y se agitó la disolución durante 30 minutos a -8 - -3°C. Se filtró el residuo resultante a través de Celite para retirar las sales, y se concentró el filtrado a presión reducida a una temperatura externa de 35°C. Se le

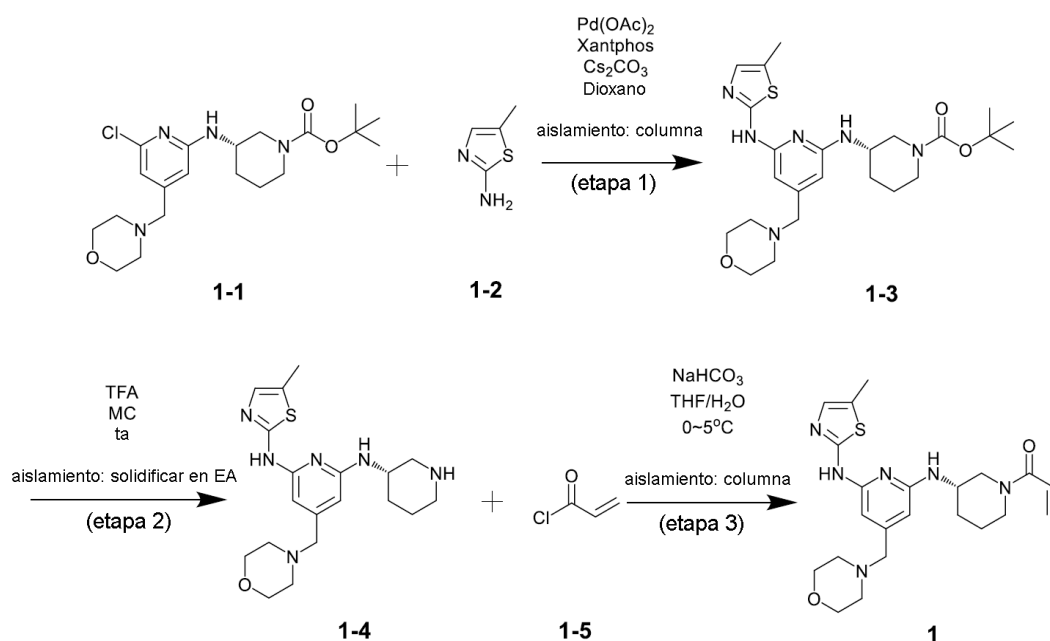
añadieron al mismo 25,0 mL de cloruro de metileno (MC) a una temperatura de -8 -
-3°C (una cantidad (mL/g) de volumen 5 veces (volumen) con respecto al peso del
compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 10,0 mL de H₂O a una
temperatura de 0 a 5°C (una cantidad (mL/g) de 2 veces (volumen) con respecto al
5 peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) para ajustar el pH a
9,0 - 9,5, y luego se aisló la fase orgánica. Se secó la fase orgánica aislada con
Na₂SO₄ y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 35°C.

Etapas de cristalización con acetato de etilo

10 Se le añadieron a la misma 75,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g)
de 15 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la
fórmula química 1-4), y luego, cuando se formaron cristales, se agitaron a 20-30°C
durante 2 horas y se filtraron. Se secó el filtrado a presión reducida a temperatura
ambiente durante 12 horas para obtener 3,4 g del compuesto representado por la
15 fórmula química 1, (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-
il)amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (rendimiento: 60,0%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,57(m, 1H), 6,91-6,90(m, 1H), 6,80-6,85(m,
0,5H), 6,70-6,40(m, 1,5H), 6,10-5,96(m, 3H), 5,65-5,63(d, 0,5H), 5,42-5,40(d, 0,5H),
4,42-4,40(m, 0,5H), 4,10-4,0(m, 1H), 3,90-3,87(m, 1,5H), 3,56(m, 4H), 3,20(s, 2H),
20 3,14-3,10(m, 1H), 2,68-2,63(m, 0,5H), 2,32(m, 4H), 2,19(s, 3H), 1,90-2,0(m, 1H),
1,80(m, 1H), 1,50-1,40(m, 2,5H)

Ejemplo de referencia 1



(Etapa 1)

Se disolvió el compuesto representado por la fórmula química **1-1** (730,0 mg, 1,0 eq) obtenido en el ejemplo de preparación en 1,4-dioxano (14,0 mL). Se añadieron secuencialmente acetato de paladio (40,0 mg, 0,1 eq), Xantphos (204,7 mg, 0,2 eq), el compuesto representado por la fórmula química **1-2** (203,6 mg, 1,0 eq) y carbonato de cesio (1,7 g, 3,0 eq). Se llevó a cabo la reacción en un reactor de microondas a 150°C durante 30 minutos. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 30°C o menos, y luego se le añadieron a la misma agua (15,0 mL) y acetato de etilo (15,0 mL), y luego se aislaron las fases. Se secó la fase de acetato de etilo sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna (el 100% de EA) para obtener 564,0 mg del compuesto representado por la fórmula química **1-3** (rendimiento: 65,0%).

^1H -RMN (500 MHz, DMSO): 10,51(s, 1H), 6,93(s, 1H) 6,40(s, 1H), 6,06(s, 1H), 5,98(s, 1H), 4,01(s, 2H), 3,55(s, 5H), 3,21(s, 4H), 2,32(s, 4H), 2,24(s, 3H), 1,97(s, 1H), 1,72(s, 1H), 1,32(sa, 2H), 1,15(s, 9H)

(Etapa 2)

Se disolvió el compuesto representado por la fórmula química 1-3 (500,0 mg, 1,0 eq) obtenido en la etapa 1 en diclorometano (10,0 mL), y luego se enfrió hasta 0-10°C. Se añadió lentamente gota a gota al mismo ácido tricloroacético (1,6 mL, 20,0 eq), y luego se agitó la mezcla durante 1 hora. Luego, se ajustó el pH a 9-12 usando una disolución acuosa de hidróxido de sodio 12 N, y luego se secó la fase de diclorometano aislada sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. Se añadió acetato de etilo (10,0 mL) al residuo resultante para formar cristales durante 30 minutos. Se filtraron los cristales resultantes y luego se secaron para obtener 357,5 mg del compuesto representado por la fórmula química 1-4 (rendimiento: 90,0%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,47 (s, 1H), 6,93(s, 1H) 6,28(d, 1H), 6,02(s, 1H), 5,94(s, 1H), 3,91(s, 1H), 3,56 (s, 4H), 3,20 (s, 2H), 3,06 (d, 1H), 2,79 (d, 1H), 2,44-2,42 (m, 1H), 2,37-2,34 (m, 1H), 2,32(s, 3H), 2,28(s, 4H), 2,03-2,01(m, 2H), 1,63-1,60(m, 1H), 1,44-1,42 (m, 1H), 1,30-1,28 (m, 1H)

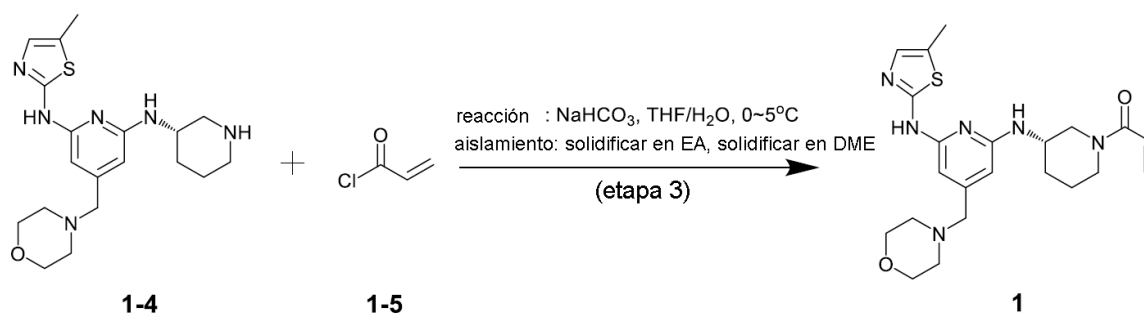
(Etapa 3)

Se disolvió el compuesto representado por la fórmula química 1-4 (350,0 mg, 1,0 eq) obtenido en la etapa 2 en tetrahidrofurano (7,0 mL), al que se le añadió agua (7,0 mL), se añadió bicarbonato de sodio (226,8 mg, 3,0 eq), y luego se enfrió hasta 0-10°C. Se añadió lentamente gota a gota al mismo el compuesto representado por la fórmula química 1-5 (73,1 µL, 1,0 eq), y luego se agitó la mezcla durante 30 minutos para completar la reacción. Se sometió la misma al aislamiento de fases usando diclorometano, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentró a

presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna (diclorometano:metanol = 15:1) para obtener 318,0 mg del compuesto representado por la fórmula química 1 (rendimiento: 60,0%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,57(m, 1H), 6,91-6,90(m, 1H), 6,80-6,85(m, 0,5H), 6,70-6,40(m, 1,5H), 6,10-5,96(m, 3H), 5,65-5,63(d, 0,5H), 5,42-5,40(d, 0,5H), 4,42-4,40(m, 0,5H), 4,10-4,0(m, 1H), 3,90-3,87(m, 1,5H), 3,56(m, 4H), 3,20(s, 2H), 3,14-3,10(m, 1H), 2,68-2,63(m, 0,5H), 2,32(m, 4H), 2,19(s, 3H), 1,90-2,0(m, 1H), 1,80(m, 1H), 1,50-1,40(m, 2,5H)

Ejemplo de referencia 2



(Etapas 1 y 2)

Se preparó el compuesto representado por la fórmula 1-4 usando los mismos métodos que en las etapas 1 y 2 preparadas en el ejemplo.

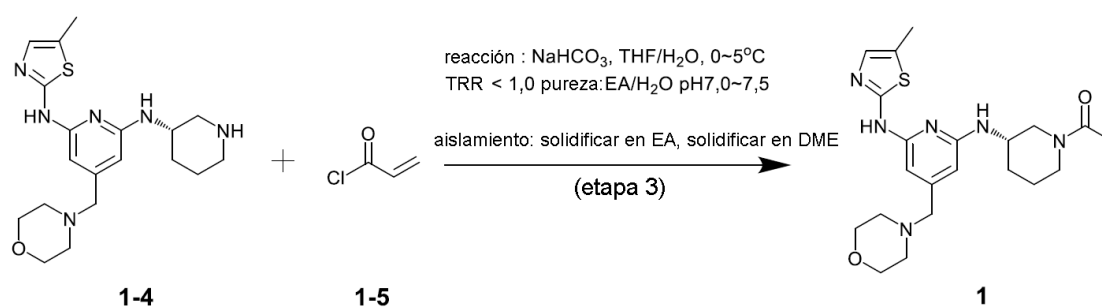
(Etapa 3)

Se disolvió el compuesto representado por la fórmula química 1-4 (350,0 mg, 1,0 eq) obtenido en la etapa 2 en tetrahidrofurano (7,0 mL), al que se le añadió agua (7,0 mL), se añadió bicarbonato de sodio (226,8 mg, 3,0 eq), y luego se enfrió hasta 0-10°C. Se añadió lentamente gota a gota al mismo el compuesto representado por la fórmula química 1-5 (73,1 µL, 1,0 eq), y se agitó la mezcla durante 30 minutos

para completar la reacción. Se sometió la misma al aislamiento de fases usando diclorometano, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentró a presión reducida. Se añadió acetato de etilo al residuo resultante en una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del residuo, y luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas para formar cristales. Se filtraron los cristales resultantes, se secaron a presión reducida a temperatura ambiente, y se añadió a los mismos dimetoxietano en una cantidad (mL/g) de 15 veces (volumen) con respecto al peso de los cristales, luego se disolvió a reflujo, y se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente, y luego se agitó durante 2 horas para formar cristales. Se filtró esto y se secó a presión reducida a temperatura ambiente para obtener 0,12 g del compuesto representado por la fórmula química 1 como 6º material (rendimiento: 30,0%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,57(m, 1H), 6,91-6,90(m, 1H), 6,80-6,85(m, 0,5H), 6,70-6,40(m, 1,5H), 6,10-5,96(m, 3H), 5,65-5,63(d, 0,5H), 5,42-5,40(d, 0,5H), 4,42-4,40(m, 0,5H), 4,10-4,0(m, 1H), 3,90-3,87(m, 1,5H), 3,56(m, 4H), 3,20(s, 2H), 3,14-3,10(m, 1H), 2,68-2,63(m, 0,5H), 2,32(m, 4H), 2,19(s, 3H), 1,90-2,0(m, 1H), 1,80(m, 1H), 1,50-1,40(m, 2,5H)

Ejemplo de referencia 3



(Etapas 1 y 2)

Se preparó el compuesto representado por la fórmula química 1-4 usando los

mismos métodos que en las etapas 1 y 2 preparadas en el ejemplo.

(Etapa 3)

Al compuesto representado por la fórmula química 1-4 (2,34 g, 1,0 eq)
5 obtenido en la etapa 2, se le añadieron 46,8 mL de THF (una cantidad (mL/g) de
20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula
química 1-4) y 9,4 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 4 veces (volumen) con
respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) para
preparar una disolución a temperatura ambiente. Luego, se disminuyó la
10 temperatura interna hasta 0-5°C usando un baño con temperatura externa de 0-5°C
(mezcla de hielo y H₂O), y luego se añadió NaHCO₃ (1,51 g, 3,0 eq) y se disolvió.
Se le añadió gota a gota a la misma una disolución en la que se mezcló el
compuesto representado por la fórmula química 1-5 (0,51 mL, 1,05 eq) a una
temperatura interna de 0-5°C. Se agitó esto a 0-5°C durante 0,5 horas para
15 completar la reacción.

Etapa de extracción con acetato de etilo

Al recipiente de reacción en el que se completaron las reacciones, se le
añadieron 46,8 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen)
con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 23,4
20 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del
compuesto representado por la fórmula química 1-4), y luego se sometieron al
aislamiento de fases para aislar sólo la fase orgánica. Luego, se le añadieron a la
fase acuosa 23,4 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen)

con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y volvió a extraerse, y luego se recogió sólo la fase orgánica y se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 40°C. Se añadieron 46,8 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 23,4 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), se ajustó el pH a 7,0-7,5 con disolución de HCl 1 N, y luego se aislaron las fases dos veces. Se recogió la fase orgánica aislada, se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 40°C.

Etapas de cristalización con acetato de etilo

Se le añadieron a la misma 46,8 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), y luego, cuando se formaron cristales, se agitaron a 20-30°C durante 2 horas y se filtraron. Se secó el filtrado a presión reducida a temperatura ambiente durante 12 horas para obtener 1,75 g del compuesto representado por la fórmula química 1, (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (rendimiento: 68,9%).

Etapas de cristalización con dimetoxietano

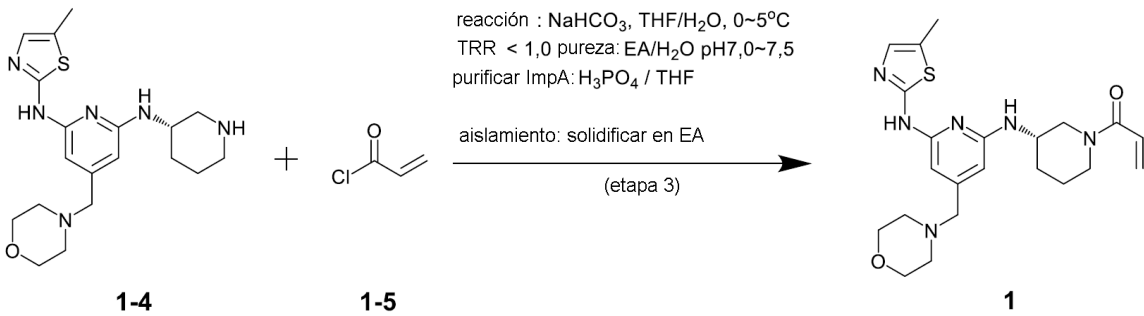
Se añadieron 7,5 mL de dimetoxietano (una cantidad (mL/g) de 15 veces (volumen) con respecto al peso de los cristales con acetato de etilo) a 0,5 g de los cristales con acetato de etilo, y luego se disolvió a 50-60°C, y luego se enfrió de manera natural hasta 20-30°C para formar cristales. Después de formarse los

cristales, se agitaron a 20-30°C durante 2 horas y se filtraron. Se secó el filtrado a presión reducida a temperatura ambiente durante 12 horas para obtener 0,25 g del compuesto representado por la fórmula química 1, (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona

(rendimiento: 35%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,57(m, 1H), 6,91-6,90(m, 1H), 6,80-6,85(m, 0,5H), 6,70-6,40(m, 1,5H), 6,10-5,96(m, 3H), 5,65-5,63(d, 0,5H), 5,42-5,40(d, 0,5H), 4,42-4,40(m, 0,5H), 4,10-4,0(m, 1H), 3,90-3,87(m, 1,5H), 3,56(m, 4H), 3,20(s, 2H), 3,14-3,10(m, 1H), 2,68-2,63(m, 0,5H), 2,32(m, 4H), 2,19(s, 3H), 1,90-2,0(m, 1H), 1,80(m, 1H), 1,50-1,40(m, 2,5H)

Ejemplo de referencia 4



(Etapas 1 y 2)

Se preparó el compuesto representado por la fórmula 1-4 usando los mismos métodos que en las etapas 1 y 2 preparadas en el ejemplo.

(Etapa 3)

Al compuesto representado por la fórmula química 1-4 (288,0 g, 1,0 eq) preparado en la etapa 2, se le añadieron 5760,0 mL de THF (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la

fórmula química 1-4) y 1152,0 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 4 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) para preparar una disolución a temperatura ambiente. Luego, se disminuyó la temperatura interna hasta 0-5°C usando un baño con temperatura externa de 0-5°C (mezcla de hielo y H₂O), y luego se añadió NaHCO₃ (186,0 g, 3,0 eq) y se disolvió. Se le añadió gota a gota a la misma una disolución en la que se mezcló el compuesto representado por la fórmula química 1-5 (63,0 mL, 1,05 eq) a una temperatura interna de 0-5°C. Se agitó esto a 0-5°C durante 0,5 horas para completar la reacción.

Etapas de extracción con acetato de etilo

Al recipiente de reacción en el que se completaron las reacciones, se le añadieron 5760,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 2880,0 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), y luego se sometieron al aislamiento de fases para aislar sólo la fase orgánica. Luego, se le añadieron a la fase acuosa 1440,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 5 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), volvió a extraerse, y se recogió sólo la fase orgánica y se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 40°C. Se añadieron 5760,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 2880,0 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto

representado por la fórmula química 1-4), se ajustó el pH a 7,0-7,5 con disolución de HCl 1 N, y luego se aislaron las fases dos veces. Se recogió la fase orgánica aislada, se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 40°C.

5 **Etapas de purificación con ácido fosfórico (H₃PO₄)**

Se le añadieron a la misma 5184,0 mL de THF (una cantidad (mL/g) de 18 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y se disolvió. Luego, se le añadió gota a gota a la misma una disolución de H₃PO₄ (6,8 g, 0,095 eq) disuelta en 288,0 mL de THF, y luego se agitó durante 30 minutos. Se filtró la mezcla a través de Celite para retirar las sales, y luego se le añadió gota a gota al filtrado una disolución de H₃PO₄ (6,1 g, 0,085 eq) disuelta en 288,0 mL de THF, y luego se agitó durante 30 minutos. Se filtró el residuo resultante a través de Celite para retirar las sales, y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 40°C.

15 **Etapas de cristalización con acetato de etilo**

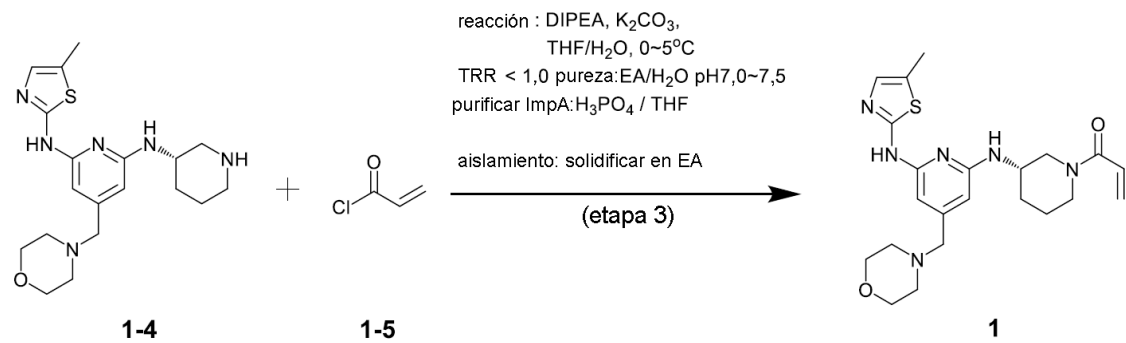
Se le añadieron al mismo 5760,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), y luego, cuando se formaron cristales, se agitaron a 20-30°C durante 2 horas y se filtraron. Se secó el filtrado a presión reducida a temperatura ambiente durante 12 horas para obtener 195,5 g del compuesto representado por la fórmula química 1, (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (rendimiento: 60,0%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,57(m, 1H), 6,91-6,90(m, 1H), 6,80-6,85(m,

0,5H), 6,70-6,40(m, 1,5H), 6,10-5,96(m, 3H), 5,65-5,63(d, 0,5H), 5,42-5,40(d, 0,5H), 4,42-4,40(m, 0,5H), 4,10-4,0(m, 1H), 3,90-3,87(m, 1,5H), 3,56(m, 4H), 3,20(s, 2H), 3,14-3,10(m, 1H), 2,68-2,63(m, 0,5H), 2,32(m, 4H), 2,19(s, 3H), 1,90-2,0(m, 1H), 1,80(m, 1H), 1,50-1,40(m, 2,5H)

5

Ejemplo de referencia 5



(Etapas 1 y 2)

Se preparó el compuesto representado por la fórmula 1-4 usando los mismos

10 métodos que en las etapas 1 y 2 preparadas en el ejemplo.

(Etapas 3)

Al compuesto representado por la fórmula química 1-4 (15,0 g, 1,0 eq)

preparado en la etapa 2, se le añadieron 270,0 mL de THF (una cantidad (mL/g) de

15 18 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula

química 1-4) y 60,0 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 4 veces (volumen) con

respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) para

preparar una disolución a temperatura ambiente. Luego, se disminuyó la

temperatura interna hasta 0-5°C usando un baño con temperatura externa de 0-5°C

20 (mezcla de hielo y H₂O), y luego se añadió K₂CO₃ (8,0 g, 1,5 eq) y se disolvió. En

este caso, al THF enfriado hasta 0-5°C, se le añadió gota a gota una disolución mixta de N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) (334,4 µL, 0,05 eq) y el compuesto representado por la fórmula química 1-5 (3,3 mL, 1,05 eq) a una temperatura interna de 0-5°C. Se agitó esto a 0-5°C durante 0,5 horas para completar la reacción.

5 **Etapas de extracción con acetato de etilo**

Al recipiente de reacción en el que se completaron las reacciones, se le añadieron 300,0 mL de acetato de etilo a una temperatura de 0-5°C (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 150,0 mL de H₂O a una temperatura de 0-5°C (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), y luego se sometieron al aislamiento de fases para aislar sólo la fase orgánica. Luego, se le añadieron a la fase acuosa 75,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 5 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), volvió a extraerse, y se recogió sólo la fase orgánica y se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 40°C. Se le añadieron a la misma 300,0 mL de acetato de etilo a una temperatura de 0-5°C (una cantidad (mL/g) de 20 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y 150,0 mL de H₂O (una cantidad (mL/g) de 10 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), se ajustó el pH a 7,0-7,5 con disolución de HCl 1 N, y luego se aislaron las fases dos veces. Se recogió la fase orgánica aislada, se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 35°C.

Etapas de purificación con ácido fosfórico (H₃PO₄)

Se le añadieron a la misma 270,0 mL de THF a 0-5°C (una cantidad (mL/g) de 18 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4) y se disolvió. Luego, se añadió gota a gota una disolución de H₃PO₄ (0,36 g, 0,095 eq) disuelta en 15,0 mL de THF, y luego se agitó la mezcla durante 30 minutos. Se filtró la mezcla a través de Celite para retirar las sales, y se le añadió gota a gota al filtrado una disolución de H₃PO₄ (0,32 g, 0,085 eq) disuelta en 15,0 mL de THF, y se agitó la disolución durante 30 minutos. Se filtró el residuo resultante a través de Celite para retirar las sales, y luego se concentró a presión reducida a una temperatura externa de 35°C.

Etapas de cristalización con acetato de etilo

Se le añadieron al mismo 225,0 mL de acetato de etilo (una cantidad (mL/g) de 15 veces (volumen) con respecto al peso del compuesto representado por la fórmula química 1-4), y luego, cuando se formaron cristales, se agitaron a 20-30°C durante 2 horas y se filtraron. Se secó el filtrado a presión reducida a temperatura ambiente durante 12 horas para obtener 10,2 g del compuesto representado por la fórmula química 1, (S)-1-(3-((6-((5-metiltiazol-2-il)amino)-4-(morfolinometil)piridin-2-il)amino)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (rendimiento: 60,0%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO): 10,57(m, 1H), 6,91-6,90(m, 1H), 6,80-6,85(m, 0,5H), 6,70-6,40(m, 1,5H), 6,10-5,96(m, 3H), 5,65-5,63(d, 0,5H), 5,42-5,40(d, 0,5H), 4,42-4,40(m, 0,5H), 4,10-4,0(m, 1H), 3,90-3,87(m, 1,5H), 3,56(m, 4H), 3,20(s, 2H), 3,14-3,10(m, 1H), 2,68-2,63(m, 0,5H), 2,32(m, 4H), 2,19(s, 3H), 1,90-2,0(m, 1H), 1,80(m, 1H), 1,50-1,40(m, 2,5H)

Actividad inhibidora contra BTK e ITK

Se midieron las actividades inhibidoras contra BTK e ITK para el compuesto representado por la fórmula química 1 preparado en los ejemplos anteriores de la siguiente manera.

5

Se evaluaron las actividades inhibidoras contra BTK usando el kit 'ADP-Glo™ + sistema enzimático de quinasa BTK' (Promega Corporation). En una placa blanca de 96 pocillos, se mezclaron 10 µL de enzima BTK preparada para tener una concentración final de 10 ng/mL con 5 µL de compuestos que tenían una

10 concentración final de 1 uM en el caso de la evaluación de una única concentración de compuesto y una concentración de 1000, 200, 40, 8, 1,6 y 0,32 nM en el caso de la evaluación de la CI_{50} , y luego se hicieron reaccionar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadieron 5 µL de sustrato y 5 µL de ATP preparados para tener una concentración final de 10 uM a la placa en la que se completaron las

15 reacciones, y luego se permitió que reaccionaran a 30°C durante 1 hora. Se trataron todos los pocillos de la placa en la que se completaron las reacciones con 25 µL de reactivo ADP-Glo™ y se permitió que reaccionaran a 30°C durante 40 minutos. Después de eso, se trataron todos los pocillos con 50 µL de tampón de detección de quinasa, y luego se hicieron reaccionar durante 30 minutos en condiciones de

20 protección frente a la luz. Para la placa en la que se completaron todas las reacciones, se midió la luminiscencia y se calcularon los resultados. Se llevó a cabo la evaluación por duplicado, y se calcularon el control negativo y el control positivo dependiendo de si se añadió o no la enzima sin tratamiento del compuesto. Se

calculó la CI_{50} basándose en los valores calculados.

Además, se evaluó la actividad inhibidora contra ITK usando el kit 'ADP-Glo™ + sistema enzimático de quinasa ITK' (Promega Corporation). En una placa blanca de 96 pocillos, se mezclaron 10 μ L de enzima ITK preparada para tener una concentración final de 4 ng/mL con 5 μ L de compuestos que tenían una concentración final de 1 μ M en el caso de la evaluación de una única concentración de compuesto y una concentración de 1000, 200, 40, 8, 1,6 y 0,32 nM en el caso de la evaluación de la CI_{50} , y luego se hicieron reaccionar a temperatura ambiente durante 15 minutos. A la placa en la que se completaron las reacciones, se le añadieron 5 μ L de sustrato y 5 μ L de ATP preparados para tener una concentración final de 25 μ M y luego se permitió que reaccionaran a 30°C durante 1 hora. Se trataron todos los pocillos de la placa en la que se completaron las reacciones con 25 μ L de reactivo ADP-Glo™ y luego se permitió que reaccionaran a 30°C durante 40 minutos. Después de eso, se trataron todos los pocillos con 50 μ l de tampón de detección de quinasa, y luego se permitió que reaccionaran a 30°C durante 30 minutos en condiciones de protección frente a la luz. Para la placa en la que se completaron todas las reacciones, se midió la luminiscencia y se calcularon los resultados. Se llevó a cabo la evaluación por duplicado, y se calcularon el control negativo y el control positivo dependiendo de si se añadió o no la enzima sin tratamiento del compuesto. Se calculó la CI_{50} basándose en los valores calculados.

Como resultado del cálculo, la actividad inhibidora contra BTK (CI_{50} de BTK)

del compuesto representado por la fórmula química 1 preparado en el ejemplo fue de 0,4 nM - 1,4 nM, y la actividad inhibidora contra ITK (CI₅₀ de ITK) fue de 1,0 nM - 1,7 nM. A partir de esto, puede confirmarse que el compuesto representado por la fórmula química 1 presenta un excelente doble efecto inhibidor de la actividad de BTK e ITK.

Comparación de los ejemplos y de los ejemplos de referencia 2 a 5

Con el fin de confirmar las impurezas producidas conjuntamente durante la preparación del compuesto representado por la fórmula química 1, que es el compuesto final preparado en los métodos de preparación del ejemplo y de los ejemplos de referencia 2 a 5, se aislaron las impurezas usando cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) según el tiempo de retención relativo (TRR) en las condiciones mostradas en la tabla 1 a continuación, y los resultados se muestran en la tabla 2 a continuación junto con el rendimiento de la etapa 3.

Tabla 1

Columna	Capcell Pak C18, 250 x 4,6 mm, 5 μm
Fase móvil A	Acetato de amonio 20 mM
Fase móvil B	El 100% de acetonitrilo
UV	280 nm
Temp. de columna	30°C
Velocidad de flujo	1 mL/min
Preparación de muestra	Compuesto representado por la fórmula química 1 10 mg / MeOH 25 mL

Gradiente	Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)	Curva
	0	80	20	
	1	80	20	6
	30	40	60	
	35	40	60	
	40	80	20	
	45	80	20	

1) Impureza que tiene un TRR de menos de 1,0 (TRR<1,0)

2) Impureza A que tiene un TRR de 1,17 (ImpA): un compuesto en el que están unidos el compuesto representado por la fórmula química 1 y el compuesto representado por la fórmula química 1-4

5 3) Impureza B que tiene un TRR de 1,37 (ImpB): dímero del compuesto representado por la fórmula química 1

4) Impureza C (ImpC) con un TRR de 1,18: compuesto en el que se añadió HCl a un doble enlace del compuesto representado por la fórmula química 1 y compuesto en el que se añadió HCl a un doble enlace de acrilamida

10

Tabla 2

	Rendimiento de la etapa 3	Pureza	TRR<1,0	ImpA	ImpB	ImpC
Ejemplo	60%	99,74%	< 0,1%	< 0,1%	< 0,1%	0%
Ejemplo de referencia 2	30%	98,00%	0,5%	0,5%	-	0,4%
Ejemplo de referencia 3	35%	98,00%	< 0,1%	0,6%	0,13%	0,08%
Ejemplo de	60%	99,00%	< 0,1%	< 0,1%	0,30%	0,50%

referencia 4						
Ejemplo de referencia 5	60%	99,39%	< 0,1%	< 0,1%	0,30%	0%

Tal como se muestra en la tabla 2 anterior, se confirmó que, cuando se prepara el compuesto mediante el procedimiento del ejemplo, puede prepararse un compuesto de alta pureza en el que se reducen todas las clases de impurezas con un alto rendimiento, en comparación con el procedimiento del ejemplo de referencia 2 en el que el compuesto se aísla y purifica mediante cristalización primaria y secundaria además del procedimiento del ejemplo de referencia 1 descrito anteriormente.

Además, se confirmó que, cuando se prepara el compuesto mediante el procedimiento del ejemplo, pueden prepararse compuestos de alta calidad con impurezas reducidas, en comparación con los procedimientos de los ejemplos de referencia 3 a 5 en los que se prepara el compuesto representado por la fórmula química 1 cambiando algunos procedimientos en la etapa 3 en el procedimiento del ejemplo.

Específicamente, puede confirmarse que el compuesto preparado según el procedimiento del ejemplo, en el que (1) se usa N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) en la reacción de la etapa 3, (2) se ajusta la temperatura de reacción de la etapa 3 a de -8 a -3°C, (3) se aísla el compuesto final mediante cristalización con acetato de

etilo (EA), tiene las siguientes características:

en comparación con el compuesto preparado según el procedimiento del ejemplo de referencia 3, en el que (1) no se usa N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) en la reacción de la etapa 3, (2) se ajusta la temperatura de reacción de la etapa 3 a de 0 a 5°C y (3) se aísla el compuesto final mediante cristalización con acetato de etilo (EA) y dimetoxietano (DME), el contenido de impureza A (ImpA), impureza B (ImpB) e impureza C (ImpC) es bajo;

en comparación con el compuesto preparado según el procedimiento del ejemplo de referencia 4, en el que (1) no se usa N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) en la reacción de la etapa 3, (2) se ajusta la temperatura de reacción de la etapa 3 a de 0 a 5°C y (3) se aísla el compuesto final mediante cristalización con acetato de etilo (EA), el contenido de impureza B (ImpB) e impureza C (ImpC) es bajo; y

en comparación con el compuesto preparado según el procedimiento del ejemplo de referencia 5, en el que (1) se usa N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) en la reacción de la etapa 3, pero (2) se ajusta la temperatura de reacción de la etapa 3 a de 0 a 5°C y (3) se aísla el compuesto final mediante cristalización con acetato de etilo (EA), el contenido de impureza B (ImpB) es bajo.

Comparación del ejemplo, del ejemplo de referencia 1 y del ejemplo de referencia 2

Los rendimientos de cada etapa de los métodos de preparación del ejemplo, del ejemplo de referencia 1 y del ejemplo de referencia 2 se muestran en la tabla 3 a continuación.

Tabla 3

	Etapas 1 y 2		Etapa 3		Rendimiento total	Pureza final
	Rendimiento	Pureza	Rendimiento	Pureza		
Ejemplo	60,3%	99,8%	60,0%	99,74%	36,0%	99,74%
Ejemplo de referencia 1	58,5%	-	60,0%	98,00%	35,1%	98,00%
Ejemplo de referencia 2	58,5%	-	30,0%	98,00%	17,6%	98,00%

Tal como se muestra en la tabla 3 anterior, se confirmó que, cuando se prepara el compuesto representado por la fórmula química 1 mediante el procedimiento del ejemplo, la etapa 1 y la etapa 2 se realizan *in situ*, y el aislamiento y la purificación del compuesto se logran mediante cristalización, lo que es ventajoso para la producción industrial, a diferencia del procedimiento del ejemplo de referencia 1 en el que se requiere un dispositivo de microondas y el aislamiento y la purificación del compuesto preparado se realizan mediante una columna, y también que no hay ninguna disminución en el rendimiento en comparación con el procedimiento del ejemplo de referencia 1.

Además, puede confirmarse que el procedimiento del ejemplo puede preparar el compuesto final con un rendimiento notablemente alto, en comparación con el procedimiento del ejemplo de referencia 2 en el que el aislamiento y la purificación del compuesto se realizan además mediante cristalización primaria y secundaria después del procedimiento del ejemplo de referencia 1 para aumentar la pureza final del compuesto

Por tanto, se confirmó que el compuesto representado por la fórmula química 1 que tiene alta calidad puede producirse en masa a nivel industrial mediante el procedimiento del ejemplo según la presente divulgación.

5