

## **FORMA CRISTALINA VI DE UN COMPUESTO DE ACRILAMIDA, Y MÉTODO DE PREPARACIÓN DE ESTA Y USO DE ESTA**

### **Campo técnico**

[0001] La presente invención pertenece al campo técnico de la investigación y el desarrollo de fármacos químicos de molécula pequeña y, más particularmente, se refiere a una forma cristalina VI de un compuesto de acrilamida, y a un método de preparación de esta y uso de esta.

### **Antecedentes de la técnica**

[0002] La tirosina cinasa de Bruton (BTK) es una proteína cinasa no receptora de la familia Tec, que se expresa en la mayoría de las células hematopoyéticas, como los linfocitos B, los mastocitos y los macrófagos, pero no en los linfocitos T, los linfocitos citolíticos naturales y las células plasmáticas [Smith, C.I. et al. Journal of Immunology (1994), 152(2), 557-65]. La BTK es una parte fundamental de las vías de señalización de BCR y FcR, y la inhibición dirigida de la BTK representa un enfoque novedoso para el tratamiento de muchas enfermedades humanas diferentes, como los tumores malignos de linfocitos B, las enfermedades autoinmunitarias y los trastornos inflamatorios [Uckun, Fatih M. et al., Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (2007); Shinohara et al., Cell 132 (2008) págs. 794-806; Pan, Zhengying, Drug News & Perspectives (2008), 21(7); 7(6), 624-632; Gilfillan et al., Immunological Reviews 288 (2009) págs. 149-169; Davis et al., Nature, 463 (2010) págs. 88-94].

[0003] Los inhibidores covalentes de la tirosina cinasa de Bruton (BTK), incluidos ibrutinib y acalabrutinib, han cambiado el método de tratamiento de algunas neoplasias malignas de linfocitos B dependientes de BTK, en donde las neoplasias malignas de linfocitos B incluyen la leucemia linfocítica crónica, la macroglobulinemia de Waldenstrom, el linfoma de células del manto y el linfoma de la zona marginal. A pesar de las impresionantes respuestas clínicas de ibrutinib en las neoplasias malignas de células B, siguen produciéndose casos de resistencia primaria y secundaria, en los que el pronóstico es malo y las opciones de tratamiento son limitadas. La mayoría de los pacientes con CLL que desarrollan resistencia a los inhibidores irreversibles de BTK, como el ibrutinib, presentan la mutación BTK-C481S. Se ha informado de que el 80 % de los pacientes con CLL recidivante tendrán la mutación C481S [Maddocks KJ, et al. JAMA Oncol. 2015; 1: 80-87]. Otro grupo de investigación de la Universidad Estatal de Ohio informó en el Journal of Clinical Oncology [Vol. 35, n.º 13, 2017, p. 1437] que a los 4 años, aproximadamente 20 % de los pacientes que utilizaban ibrutinib habían experimentado progresión clínica. 85 % de estos pacientes recidivantes adquirieron la mutación C481S. Además, estas mutaciones se detectaron dentro de un promedio de nueve meses antes de la recidiva.

[0004] Aunque los inhibidores de la BTK, como el ibrutinib y el ACP-196, han aportado contribuciones significativas a la técnica, sigue siendo muy necesario seguir desarrollando inhibidores de la BTK altamente potentes y selectivos que no solo puedan inhibir irreversiblemente la BTK WT, sino también inhibir reversiblemente la BTK mutante C481S.

[0005] La Publicación de patente n.º CN111741959A divulga un inhibidor de BTK de molécula pequeña para el tratamiento de una enfermedad neoplásica o un tumor, una enfermedad autoinmunitaria y un trastorno inflamatorio y, específicamente, divulga un compuesto representativo:

[0006] Nombre químico chino: (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-二甲基-1-氧代-1,3,4,6,7,8-六氢-2H-环

戊烷[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-2-基)-3-(羟甲基)吡啶-4-基)-4-甲基-3-氧代-3,4-二氢吡嗪-2-基)氨基)-2-(2-甲基-4-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺。

[0007] Nombre químico en inglés: (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimethyl-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahydro-2H-cyclopenta[4,5]pyrrolo[1,2-a]pyrazin-2-yl)-3-(hydroxymethyl)pyridin-4-yl)-4-methyl-3-oxo-3,4-dihydropyrazin-2-yl)amino)-2-(2-methyl-4-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)piperazin-1-yl)phenyl)acrylamide [(S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida].

[0008] En el caso de las sustancias sólidas, la influencia de diversos factores, como la configuración de la estructura molecular, la conformación, la disposición molecular, las fuerzas moleculares y las sustancias cocrystalinas, conduce a diferentes disposiciones espaciales de la red molecular, lo que da lugar a la formación de dos o más estructuras cristalinas diferentes. Este fenómeno se conoce como «fenómeno del polimorfismo» o «polimorfismo». El «fenómeno del polimorfismo» está muy extendido en los fármacos sólidos. Diferentes formas cristalinas del mismo fármaco pueden presentar diferencias en las propiedades fisicoquímicas, como el aspecto, la densidad, la dureza, el punto de fusión, la solubilidad, la estabilidad, la disolución, la velocidad de disolución y la biodisponibilidad, afectando así a la uniformidad, la biodisponibilidad, la eficacia y la seguridad del fármaco en distintos grados. Además, las formas de existencia y las cantidades de compuestos polimórficos son impredecibles, y la estabilidad fisicoquímica, procesabilidad, biodisponibilidad, eficacia y seguridad de las distintas formas cristalinas no son evidentes.

[0009] Por lo tanto, durante la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos, es necesario examinar exhaustivamente las formas cristalinas y amorfas de los compuestos farmacológicos, teniendo en cuenta múltiples factores. En particular, en el caso de los compuestos mencionados utilizados como inhibidores de BTK de molécula pequeña, es necesario seguir mejorando su higroscopicidad, estabilidad y morfología. Por lo tanto, el desarrollo de formas cristalinas del compuesto o de una sal de este que pueda poseer valor medicinal para mejorar características como la estabilidad del compuesto tiene un valor potencial medicinal y clínico.

### Compendio de la invención

[0010] En vista de los problemas anteriores en la técnica previa, un objetivo primario de la presente invención es proporcionar una forma cristalina VI de un compuesto de acrilamida, que tiene las ventajas de buena estabilidad y baja higroscopicidad.

[0011] El objetivo anterior de la presente invención se consigue mediante las siguientes soluciones técnicas:

[0012] El compuesto de acrilamida anterior, cuyo nombre chino es: (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-二甲基-1-氧代-1,3,4,6,7,8-六氢-2H-环戊烷[4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-2-基)-3-(羟甲基)吡啶-4-基)-4-甲基-3-氧代-3,4-二氢吡嗪-2-基)氨基)-2-(2-甲基-4-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺, es un inhibidor conocido de BTK y un mutante de este.

[0013] Un primer objetivo de la presente solicitud es proporcionar una forma cristalina VI del compuesto anterior, donde un patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina VI incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $8,3\pm 0,2^\circ$ ,  $13,2\pm 0,2^\circ$ ,  $13,6\pm 0,2^\circ$ , y  $18,9\pm 0,2^\circ$ ;

[0014] La patente CN111741959A divulga un compuesto de (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-

2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida. Se muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de una forma amorfa del compuesto anterior en la FIG. 4. La forma amorfa presenta algunas dificultades en la formulación y el desarrollo de fármacos, como una baja estabilidad, una alta higroscopicidad y unas propiedades del polvo relativamente pobres, que no favorecen el desarrollo de fármacos.

[0015] Los inventores han descubierto una forma cristalina estable del compuesto anterior, la forma cristalina VI, a través de una amplia investigación experimental. La forma cristalina VI proporcionada por la presente invención tiene ventajas tales como buena estabilidad, baja higroscopicidad y buena morfología cristalina. Las suspensiones formadas por la forma cristalina VI en agua pura y soluciones amortiguadoras con distintos valores de pH presentan una estabilidad extremadamente excelente. Además, la forma cristalina VI no mostró cambios en la forma cristalina ni cambios significativos en las sustancias relacionadas tras el almacenamiento en las condiciones de 60 °C durante 30 días, 25 °C/60 % RH durante 24 meses y 40 °C/75 % RH durante 6 meses, lo que indica una estabilidad física y química relativamente buena. Los resultados de DVS de la forma cristalina VI muestran que tiene un aumento de peso de 0,79 % a 80 % de humedad relativa y de 1,34 % a 95 % de humedad relativa, lo que indica una ligera higroscopicidad. Los cristales de la forma cristalina VI tienen forma de varilla larga y presentan una dispersabilidad y fluidez relativamente buenas.

[0016] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina VI incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $8,3\pm 0,2^\circ$ ,  $11,3\pm 0,2^\circ$ ,  $13,2\pm 0,2^\circ$ ,  $13,6\pm 0,2^\circ$ ,  $18,9\pm 0,2^\circ$ , y  $21,5\pm 0,2^\circ$ ;

[0017] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina VI incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $4,3\pm 0,2^\circ$ ,  $8,3\pm 0,2^\circ$ ,  $11,3\pm 0,2^\circ$ ,  $13,2\pm 0,2^\circ$ ,  $13,6\pm 0,2^\circ$ ,  $17,8\pm 0,2^\circ$ ,  $18,9\pm 0,2^\circ$ , y  $21,5\pm 0,2^\circ$ .

[0018] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina VI incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $4,3\pm 0,2^\circ$ ,  $6,9\pm 0,2^\circ$ ,  $8,3\pm 0,2^\circ$ ,  $9,7\pm 0,2^\circ$ ,  $11,3\pm 0,2^\circ$ ,  $13,2\pm 0,2^\circ$ ,  $13,6\pm 0,2^\circ$ ,  $14,5\pm 0,2^\circ$ ,  $17,8\pm 0,2^\circ$ ,  $18,9\pm 0,2^\circ$ ,  $20,1\pm 0,2^\circ$ , y  $21,5\pm 0,2^\circ$ .

[0019] En algunas modalidades, la información de pico característica en un patrón parcial de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina VI es como se muestra en la Tabla 1 a continuación.

[0020] Tabla 1

| valor de $2\theta$ (°) | valor del espaciado d (Å) | Intensidad (%) |
|------------------------|---------------------------|----------------|
| 4,3                    | 20,34                     | 15,2           |
| 6,9                    | 12,72                     | 12,2           |
| 8,3                    | 10,69                     | 100            |
| 9,7                    | 9,15                      | 15,2           |
| 11,3                   | 7,82                      | 42,7           |
| 13,2                   | 6,72                      | 57,2           |
| 13,6                   | 6,49                      | 40,2           |
| 14,5                   | 6,09                      | 13,1           |
| 17,8                   | 4,97                      | 22,7           |

|      |      |      |
|------|------|------|
| 18,9 | 4,68 | 80,6 |
| 20,1 | 4,41 | 20,2 |
| 21,5 | 4,14 | 41,8 |

[0021] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene un patrón de difracción de rayos X sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 1.

[0022] En algunas modalidades, la forma cristalina VI es un anhidrato.

[0023] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene una pureza de  $> 85\%$ .

[0024] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene una pureza de  $> 95\%$ .

[0025] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene una pureza de  $> 99\%$ .

[0026] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene un pico de inicio del punto de fusión a  $218,5 \pm 3^\circ\text{C}$  y un valor de pico de fusión endotérmico a  $227,0 \pm 3^\circ\text{C}$ .

[0027] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene un patrón de DSC sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 2.

[0028] En algunas modalidades, una curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina VI tiene una pérdida de peso de  $0,21\% \pm 0,1\%$  a  $30-150^\circ\text{C}$ . La forma cristalina VI no presenta una pérdida de peso escalonada significativa entre  $30^\circ\text{C}$  y  $150^\circ\text{C}$ .

[0029] En algunas modalidades, la forma cristalina VI tiene un patrón de TGA sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 3.

[0030] Además, la presente invención proporciona una nueva forma cristalina V del compuesto anterior.

[0031] Un patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina V del compuesto anterior proporcionado por la presente invención incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $9,2 \pm 0,2^\circ$ ,  $15,4 \pm 0,2^\circ$  y  $21,5 \pm 0,2^\circ$ .

[0032] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina V incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $9,2 \pm 0,2^\circ$ ,  $15,4 \pm 0,2^\circ$ ,  $19,9 \pm 0,2^\circ$ ,  $20,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $21,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $22,2 \pm 0,2^\circ$ , y  $25,0 \pm 0,2^\circ$ .

[0033] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina V incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $4,1 \pm 0,2^\circ$ ,  $9,2 \pm 0,2^\circ$ ,  $11,7 \pm 0,2^\circ$ ,  $14,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $15,4 \pm 0,2^\circ$ ,  $18,2 \pm 0,2^\circ$ ,  $19,9 \pm 0,2^\circ$ ,  $20,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $21,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $22,2 \pm 0,2^\circ$ ,  $25,0 \pm 0,2^\circ$ , y  $27,7 \pm 0,2^\circ$ .

[0034] En algunas modalidades, la forma cristalina V tiene un patrón de difracción de rayos X sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 7.

[0035] En algunas modalidades, la forma cristalina V es un hidrato.

[0036] Además, la presente invención proporciona una nueva forma cristalina XIII del compuesto anterior.

[0037] Un patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina V del compuesto anterior proporcionado por la presente invención incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $14,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $16,9 \pm 0,2^\circ$ ,  $17,6 \pm 0,2^\circ$ , y  $21,5 \pm 0,2^\circ$ .

[0038] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina XIII incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $11,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $14,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $16,9 \pm 0,2^\circ$ ,  $17,6 \pm 0,2^\circ$ ,  $20,0 \pm 0,2^\circ$ ,  $20,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $21,5 \pm 0,2^\circ$ , y  $24,3 \pm 0,2^\circ$ .

[0039] En algunas modalidades, el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina XIII incluye picos de difracción en los siguientes valores del ángulo  $2\theta$ :  $11,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $14,5 \pm 0,2^\circ$ ,  $14,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $15,1 \pm 0,2^\circ$ ,  $16,9 \pm 0,2^\circ$ ,  $17,6 \pm 0,2^\circ$ ,  $18,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $19,3 \pm 0,2^\circ$ ,  $20,0 \pm 0,2^\circ$ ,  $20,8 \pm 0,2^\circ$ ,  $21,5 \pm 0,2^\circ$ , y  $24,3 \pm 0,2^\circ$ .

[0040] En algunas modalidades, la forma cristalina XIII tiene un patrón de difracción de rayos X sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 8.

[0041] En algunas modalidades, la forma cristalina XIII es un hidrato.

[0042] En algunas modalidades, una curva de calorimetría diferencial de barrido de la forma cristalina XIII tiene un pico de fusión endotérmico a  $129,0 \pm 3$  °C y  $261,5 \pm 3$  °C, respectivamente.

[0043] En algunas modalidades, la forma cristalina XIII tiene un patrón de DSC sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 9.

[0044] En algunas modalidades, una curva de análisis termogravimétrico de la forma cristalina XIII tiene una pérdida de peso de alrededor de 14,71 % entre 30 °C y 170 °C.

[0045] En algunas modalidades, la forma cristalina XIII tiene un patrón de TGA sustancialmente consistente con el que se muestra en la FIG. 10.

[0046] Además, un segundo objetivo de la presente invención es proporcionar un método de preparación para la forma cristalina VI del compuesto, que incluye: añadir el compuesto en un primer disolvente para disolver el compuesto y formar una solución transparente, y después tratar la solución transparente mediante el uso de un proceso de cristalización para obtener la forma cristalina VI; donde el primer disolvente se selecciona de uno o más de disolventes polares a base de alcohol, a base de éster carboxílico, a base de nitrilo, a base de cetona, a base de amida, a base de sulfona, a base de sulfóxido, a base de ácido carboxílico, compuestos nitro, a base de piridina, a base de furano, a base de alquilbenceno y a base de hidrocarburo halogenado; o

[0047] añadir el compuesto a un segundo disolvente para disolver, enfriar y separar una forma cristalina precipitada VI; en donde el segundo disolvente se selecciona de uno o más disolventes a base de alcohol, a base de éter, a base de alcano, a base de éster carboxílico, a base de nitrilo, a base de cetona o a base de alquilbenceno.

[0048] El método de preparación proporcionado por la presente invención tiene un proceso sencillo, disolventes ecológicos y respetuosos con el medio ambiente, y un alto rendimiento, y es adecuado para la producción a escala industrial.

[0049] En algunas modalidades, el proceso de cristalización comprende llevar a cabo la cristalización por volatilización en la solución transparente para volatilizar lentamente el primer disolvente y obtener la forma cristalina VI.

[0050] Cuando la cristalización se realiza adoptando la cristalización por volatilización descrita anteriormente, en algunas modalidades, el primer disolvente se selecciona de disolventes polares a base de cetona y/o a base de éster carboxílico; más específicamente, el primer disolvente se selecciona de un disolvente polar a base de cetona que contiene 3-6 átomos de carbono y/o un disolvente polar a base de éster carboxílico que contiene 3-10 átomos de carbono; y más específicamente, el primer disolvente es un disolvente mixto de acetona y acetato de isopropilo.

[0051] En algunas modalidades, cuando el primer disolvente es un disolvente mixto de acetona y acetato de isopropilo, una relación de volumen-masa de la acetona con respecto al compuesto es de 40-60 mL/g, y una relación de volumen-masa del acetato de isopropilo con respecto al compuesto es de 5-25 mL/g.

[0052] En algunas modalidades, el proceso de cristalización comprende realizar la cristalización por evaporación en la solución transparente para obtener la forma cristalina VI.

[0053] Cuando la cristalización se realiza adoptando la cristalización por evaporación descrita anteriormente, en algunas modalidades, el primer disolvente se selecciona de disolventes polares a base de hidrocarburo halogenado y/o a base de cetona; más específicamente, el primer disolvente se selecciona de un disolvente polar a base de hidrocarburo halogenado que contiene 1-6 átomos de carbono y/o un disolvente polar a base de cetona que contiene 3-6 átomos de carbono; y más específicamente, el primer

disolvente es diclorometano y acetona.

[0054] En algunas modalidades, cuando el primer disolvente es diclorometano y acetona, una relación de volumen-masa del diclorometano con respecto al compuesto es de 1-50 mL/g, y una relación de volumen-masa de la acetona con respecto al compuesto es de 1-100 mL/g; y más específicamente, una relación de volumen-masa del diclorometano con respecto al compuesto es de 1-30 mL/g, y una relación de volumen-masa de la acetona con respecto al compuesto es de 1-50 mL/g.

[0055] En algunas modalidades, el compuesto se añade al diclorometano y se disuelve a temperatura ambiente para formar una solución transparente. La solución transparente se concentra a presión reducida hasta 1/6 a 1/4 de un volumen. La acetona se añade lentamente por goteo a 35-45 °C para precipitar la forma cristalina VI. La mezcla se concentra a presión reducida hasta 2/5 a 2/3 de un volumen, se enfría hasta 10-25 °C, se agita y se somete a filtración por succión para obtener la forma cristalina VI.

[0056] En algunas modalidades, el proceso de cristalización comprende añadir un disolvente pobre a la solución transparente para precipitar la forma cristalina VI.

[0057] Cuando la cristalización se realiza empleando el disolvente pobre tal como se describió anteriormente, el primer disolvente se selecciona de uno o más de disolventes polares a base de amida, a base de hidrocarburo halogenado, a base de sulfóxido y a base de furano; y el disolvente pobre se selecciona de uno o más de un alcohol, un éster carboxílico, un nitrilo, una cetona, un alcano, un éter, un nitrocompuesto y un alquilbenceno. La forma cristalina VI tiene una solubilidad relativamente buena en el primer disolvente anterior. Por lo tanto, el primer disolvente anterior puede utilizarse como un buen disolvente para la forma cristalina VI. Por el contrario, la forma cristalina VI tiene una solubilidad relativamente pobre en el disolvente pobre anterior.

[0058] En algunas modalidades, el primer disolvente se selecciona de un disolvente polar a base de hidrocarburos halogenados, y el disolvente pobre se selecciona de un disolvente a base de éter; más específicamente, el primer disolvente se selecciona de un disolvente polar a base de hidrocarburos halogenados que contiene 1-6 átomos de carbono, y el disolvente pobre se selecciona de un disolvente a base de éter que contiene 2-6 átomos de carbono; y más específicamente, el primer disolvente es diclorometano, y el disolvente pobre es éter metil terc-butilico.

[0059] En algunas modalidades, una relación de volumen-masa del primer disolvente con respecto al compuesto es de 1-50 mL/g; y una relación de volumen-masa del disolvente pobre con respecto al compuesto es de 1-80 mL/g; y más específicamente, una relación de volumen-masa del primer disolvente con respecto al compuesto es de 3-40 mL/g; una relación de volumen-masa del disolvente pobre con respecto al compuesto es de 3-50 mL/g.

[0060] Cuando la cristalización se realiza adoptando un método de suspensión como el descrito anteriormente, en algunas modalidades, el segundo disolvente se selecciona de disolventes a base de cetona y/o disolventes a base de nitrilo; más específicamente, el segundo disolvente se selecciona de un disolvente a base de cetona que contiene 3-6 átomos de carbono y/o un disolvente a base de nitrilo que contiene 2-6 átomos de carbono; y más específicamente, el segundo disolvente es acetonitrilo o acetona.

[0061] En algunas modalidades, una relación de volumen-masa del segundo disolvente con respecto al compuesto es de 1-30 mL/g; y más específicamente, una relación de volumen-masa es de 5-20 mL/g.

[0062] En algunas modalidades, una temperatura de la suspensión es de 0-80 °C; y más específicamente, una temperatura de la suspensión es de 10-50 °C.

[0063] En algunas modalidades, el tiempo de suspensión es de 1-120 h; y más específicamente, el tiempo de suspensión es de 4-20 h.

[0064] En algunas modalidades, un proceso de la suspensión incluye, además, agitación, por ejemplo, agitación durante 1-24 horas, o más; y más específicamente, agitación durante al menos 4 horas, tal como 5 horas, y similares.

[0065] Además, un tercer objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica, que incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina VI del compuesto anterior y un portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

[0066] En algunas modalidades, el adyuvante incluye, de modo no taxativo, un relleno, un excipiente, un aglutinante, un desintegrante, un tensioactivo, un regulador del pH, un deslizante, un lubricante u otros aditivos adecuados, y similares.

[0067] En algunas modalidades, un método de preparación para la composición farmacéutica es introducir la composición farmacéutica que contiene la forma cristalina VI en forma de polvo, gránulo, pélet, o similar, en una cápsula o prepararla en un comprimido; y más específicamente, el gránulo puede prepararse mediante granulación húmeda o granulación seca y otros métodos de granulación adecuados.

[0068] En algunas modalidades, la forma cristalina VI puede representar 1-99 % en peso de la composición farmacéutica; más específicamente, 1-60 % en peso; más específicamente, 1-50 % en peso; y más específicamente, 1-30 % en peso.

[0069] Además, un cuarto objetivo de la presente invención es proporcionar una aplicación de la forma cristalina VI del compuesto o de la composición farmacéutica anterior en la preparación de un medicamento para prevenir y/o tratar una enfermedad neoplásica o tumor, una enfermedad autoinmunitaria y un trastorno inflamatorio.

[0070] En algunas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria y el trastorno inflamatorio son pénfigo vulgar, artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico o alergia.

[0071] En algunas modalidades, la enfermedad neoplásica o el tumor es una neoplasia de linfocitos B o un tumor sólido.

[0072] En algunas modalidades, la enfermedad neoplásica o el tumor es leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma linfocítico pequeño (SLL), linfoma de células del manto (MCL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) o mieloma múltiple (MM).

[0073] Además, un quinto objetivo de la presente invención es proporcionar un método para prevenir y/o tratar una enfermedad neoplásica o un tumor, una enfermedad autoinmunitaria y un trastorno inflamatorio, que incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina VI del compuesto a un sujeto.

[0074] En algunas modalidades, una dosis de administración de la forma cristalina VI es de 0,5-200 mg/día; en algunas modalidades, una dosis de administración de la forma cristalina VI es de 1-100 mg/día; y en algunas modalidades, una dosis de administración de la forma cristalina VI es de 5-50 mg/día. Una frecuencia de administración para lo anterior es de una a tres veces al día.

[0075] En algunas modalidades, la forma cristalina VI o la composición farmacéutica de la presente invención pueden administrarse, preferentemente, por vía oral. Más específicamente, la administración oral puede realizarse, preferentemente, en forma de cápsula o comprimido.

[0076] En comparación con la técnica anterior, la presente invención tiene los siguientes efectos beneficiosos:

[0077] La forma cristalina VI proporcionada por la presente invención tiene ventajas tales como buena estabilidad, baja higroscopicidad y buena morfología cristalina. La forma cristalina VI tiene una estabilidad extremadamente excelente en suspensiones formadas en agua pura y soluciones amortiguadoras con diferentes valores de pH. Además, la forma

cristalina VI no mostró cambios en la forma cristalina ni cambios significativos en las sustancias relacionadas tras el almacenamiento en las condiciones de 60 °C durante 30 días, 25 °C/60 % RH durante 24 meses y 40 °C/75 % RH durante 6 meses, lo que indica una estabilidad física y química relativamente buena. Los resultados de DVS de la forma cristalina VI muestran que tiene un aumento de peso de 0,79 % a 80 % de humedad relativa y de 1,34 % a 95 % de humedad relativa, lo que indica una ligera higroscopicidad. Los cristales de la forma cristalina VI tienen forma de varilla larga y presentan una dispersabilidad y fluidez relativamente buenas. Además, una preparación de la forma cristalina VI muestra una buena exposición en PK animal, cumpliendo los requisitos para la exposición a fármacos *in vivo*. La forma cristalina VI del compuesto proporcionado por la presente invención es beneficiosa para el almacenamiento de fármacos a granel y la preparación de preparaciones, es beneficiosa para mejorar la calidad y estabilidad del fármaco, y es adecuada para la producción industrial de fármacos a granel y el desarrollo de formulaciones de preparaciones.

### **Breve descripción de las figuras**

[0078] La FIG. 1 es un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de una forma cristalina VI.

[0079] La FIG. 2 es un patrón de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de una forma cristalina VI.

[0080] La FIG. 3 es un diagrama de análisis termogravimétrico (TGA) de una forma cristalina VI.

[0081] La FIG. 4 es un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de una forma amorfa.

[0082] La FIG. 5 es un espectro de resonancia magnética nuclear de protones de un compuesto.

[0083] La FIG. 6 es un espectro infrarrojo de un compuesto.

[0084] La FIG. 7 es un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de una forma cristalina V.

[0085] La FIG. 8 es un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de una forma cristalina XIII.

[0086] La FIG. 9 es un patrón de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de una forma cristalina XIII.

[0087] La FIG. 10 es un diagrama de análisis termogravimétrico (TGA) de una forma cristalina XIII.

[0088] La FIG. 11 es un gráfico de prueba de sorción dinámica de vapor (DVS) de una forma cristalina VI.

[0089] La FIG. 12 es un gráfico de prueba de sorción dinámica de vapor (DVS) de una forma amorfa.

[0090] La FIG. 13 es un gráfico de prueba de sorción dinámica de vapor (DVS) de una forma cristalina XIII.

[0091] La FIG. 14 es un diagrama de prueba de estabilidad de un factor de influencia de una forma cristalina VI.

[0092] La FIG. 15 es una imagen de microscopio de luz polarizante (400X) de una forma cristalina VI.

[0093] La FIG. 16 es una imagen de microscopio de luz polarizante (100X) de una forma amorfa.

[0094] La FIG. 17 es una imagen de microscopio de luz polarizante (400X) de una forma cristalina XIII.

### **Descripción detallada de las modalidades**

[0095] En la siguiente descripción, se exponen determinados detalles específicos para proporcionar una comprensión completa de diversas modalidades la presente invención. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que la presente invención puede ponerse en práctica sin estos detalles. La descripción de varias modalidades a continuación se hace con el entendimiento de que la presente divulgación debe considerarse como una ejemplificación de la materia reivindicada, y no pretende limitar las reivindicaciones anexas a las modalidades específicas ilustradas. Los subtítulos utilizados a lo largo de la presente divulgación son meramente por comodidad y no debe interpretarse como que limitan las reivindicaciones en modo alguno. Las modalidades descritas bajo cualquier subtítulo pueden combinarse con modalidades descritas bajo cualquier otro subtítulo.

[0096] En la presente invención, la forma cristalina puede determinarse por diversos medios técnicos, tal como difracción de rayos X en polvo (XRPD), espectroscopía de absorción de infrarrojos (IR), un método de punto de fusión, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), un método de resonancia magnética nuclear, espectroscopía Raman, difracción de rayos X de cristal único, calorimetría de disolución, microscopía electrónica de barrido (SEM), el análisis cuantitativo, la solubilidad y la velocidad de disolución, y similares.

[0097] En la presente invención, la difracción de rayos X en polvo (XRPD) puede detectar información como cambios en la forma cristalina, cristalinidad y estado de la estructura cristalina, y es un medio común para identificar la forma cristalina. Las posiciones de los picos en un patrón de XRPD dependen principalmente de la estructura de la forma cristalina y son relativamente insensibles a los detalles experimentales, mientras que las alturas relativas de los picos del patrón dependen de muchos factores relacionados con la preparación de la muestra y la geometría del instrumento. Por consiguiente, en algunas modalidades, la forma cristalina de la presente invención se caracteriza por un patrón de XRPD que tiene determinadas posiciones de pico, que son sustancialmente como se muestra en el patrón de XRPD proporcionado en los dibujos de la presente invención. Mientras tanto, la medición de  $2\theta$  en el patrón de XRPD puede tener errores experimentales. La medición de  $2\theta$  en el patrón de XRPD puede variar ligeramente entre diferentes instrumentos y diferentes muestras. Por lo tanto, los valores de  $2\theta$  no pueden considerarse absolutos. De acuerdo con el estado del instrumento utilizado en la prueba de la presente invención, el pico de difracción tiene un margen de error de  $\pm 0,2^\circ$ . En la presente invención, las pruebas de XRPD se realizan mediante el uso de un instrumento Bruker modelo D8 Advance con un blanco de cobre y radiación  $K\alpha$  a una longitud de onda de  $1,54 \text{ \AA}$  (voltaje: 40 kV, corriente: 40mA).

[0098] En la presente invención, la calorimetría diferencial de barrido (DSC) es una técnica que mide la diferencia de energía entre una muestra y una referencia inerte (comúnmente  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ) en función de la temperatura mediante un control de programa que implica un calentamiento o enfriamiento continuos. La altura del pico de fusión en una curva de DSC depende de muchos factores relacionados con la preparación de la muestra y la geometría del instrumento, mientras que la posición del pico es relativamente insensible a los detalles experimentales. Por consiguiente, en algunas modalidades, la forma cristalina de la presente invención se caracteriza por un patrón de DSC que tiene una posición de pico característica, que es sustancialmente como se muestra en el patrón de DSC proporcionado en los dibujos de la presente invención. Mientras tanto, un patrón de DSC puede tener errores experimentales. Las posiciones de los picos y los valores de los picos del patrón de DSC pueden variar ligeramente entre diferentes instrumentos y diferentes

muestras. Por lo tanto, los valores de las posiciones de los picos o los valores de los picos endotérmicos de DSC no pueden considerarse absolutos. De acuerdo con el estado del instrumento utilizado en la prueba de la presente invención, el pico de fusión tiene un margen de error de  $\pm 3$  °C.

[0099] En la presente invención, la calorimetría diferencial de barrido (DSC) también puede utilizarse para detectar y analizar si la forma cristalina presenta una transformación cristalina o fenómenos de cristal mixto. Los sólidos con la misma composición química suelen formar polimorfos con estructuras cristalinas diferentes, también denominados variantes, en condiciones termodinámicas distintas. Este fenómeno se denomina polimorfismo o politipismo. Cuando cambian las condiciones de temperatura y presión, se produce una transformación mutua entre las variantes. Este fenómeno se denomina transformación polimórfica. Debido a la transformación polimórfica, las propiedades mecánicas, eléctricas, magnéticas y otras del cristal sufren cambios significativos. Cuando la temperatura de transformación polimórfica está dentro del intervalo medible, este proceso de transformación puede observarse en un patrón de calorimetría diferencial de barrido (DSC), que se caracteriza porque el patrón de DSC tiene un pico exotérmico que refleja este proceso de transformación, y simultáneamente tiene dos o más picos endotérmicos, que son picos endotérmicos característicos de diferentes formas cristalinas antes y después de la transformación, respectivamente.

[0100] En la presente invención, el análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica que mide el cambio de masa de una sustancia en función de la temperatura mediante el control de un programa. Es adecuado para examinar la pérdida de disolvente en cristales o los procesos de sublimación y descomposición de muestras, y puede utilizarse para inferir la presencia de agua cristalina o disolventes cristalinos en los cristales. El cambio de masa que se muestra en una curva de TGA depende de muchos factores, como la preparación de la muestra y el instrumento. El cambio de masa detectado por TGA varía ligeramente entre diferentes instrumentos y diferentes muestras. De acuerdo con el estado del instrumento utilizado en la prueba de la presente invención, el cambio de masa tiene un margen de error de  $\pm 0,1$  %.

[0101] Además, cuando se hace referencia, por ejemplo, a un patrón de XRPD, un diagrama de TGA, un patrón de DSC, un gráfico de DVS, etc., el término «sustancialmente consistente con la FIG....» significa que el patrón, diagrama o gráfico no es necesariamente idéntico al descrito en la presente, sino que entra dentro de los límites de error o la desviación experimental cuando es considerado por los expertos en la técnica.

[0102] En la presente invención, el «primer disolvente» se refiere a uno o más seleccionados de disolventes polares a base de alcohol, a base de éster carboxílico, a base de nitrilo, a base de cetona, a base de amida, a base de sulfona, a base de sulfóxido, a base de ácido carboxílico, a base de nitrocompuesto, a base de piridina, a base de furano, a base de alquilbenceno y a base de hidrocarburo halogenado; y más específicamente, el primer disolvente incluye, de modo no taxativo, metanol, etanol, trifluoroetanol, propanol, isopropanol, butanol, terc-butanol, polietilenglicol, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetonitrilo, acetona, butanona, metiletilcetona, 1-metil-2-pirrolidona, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, formamida, dimetilsulfóxido, cloroformo, diclorometano, ácido fórmico, ácido acético, nitrometano, piridina, tetrahidrofurano, tolueno, xileno y una mezcla formada por cualquier combinación de estos, y similares. El alquilbenceno es benceno en el que los átomos de hidrógeno están sustituidos por uno o más alcanos que contienen 1-6 átomos de carbono; y más específicamente, el alquilbenceno es benceno en el que los átomos de hidrógeno están sustituidos por uno o más grupos metilo.

[0103] En la presente invención, el «segundo disolvente» se refiere a uno o más

seleccionados de disolventes a base de alcohol, a base de éter, a base de alcano, a base de éster carboxílico, a base de nitrilo, a base de cetona, o a base de alquilbenceno; y más específicamente, el segundo disolvente incluye, de modo no taxativo, 1,4-dioxano, acetato de etilo, acetona, metiletilcetona, 1-metil-2-pirrolidona, 2-propanona, y una mezcla formada por cualquier combinación de estos, y similares. El alquilbenceno es benceno en el que los átomos de hidrógeno están sustituidos por uno o más alcanos que contienen 1-6 átomos de carbono; y más específicamente, el alquilbenceno es benceno en el que los átomos de hidrógeno están sustituidos por uno o más grupos metilo.

[0104] En la presente invención, el disolvente bueno se selecciona de uno o más disolventes polares a base de amida, a base de hidrocarburo halogenado, a base de sulfóxido y a base de furano; y más específicamente, el disolvente bueno incluye, de modo no taxativo, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, cloroformo, diclorometano, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, y una mezcla de estos, y similares.

[0105] En la presente invención, el disolvente pobre se selecciona de uno o más de un alcohol, un éster carboxílico, un nitrilo, una cetona, un alcano, un éter, un nitrocompuesto y un alquilbenceno; y más específicamente, el disolvente pobre incluye, de modo no taxativo, isopropanol, acetato de isopropilo, acetonitrilo, acetona, butanona, metiletilcetona, heptano, hexano, 1,4-dioxano, éter metil terc-butilico, isopropil éter, nitrometano, tolueno, y una mezcla de estos, y similares. El alquilbenceno es benceno en el que los átomos de hidrógeno están sustituidos por uno o más alcanos que contienen 1-6 átomos de carbono; y más específicamente, el alquilbenceno es benceno en el que los átomos de hidrógeno están sustituidos por uno o más grupos metilo.

[0106] En la presente invención, el «buen disolvente» se refiere a un disolvente en el que la solubilidad de la forma cristalina VI del compuesto es superior a 1 g/L, superior a 2 g/L, superior a 3 g/L, superior a 4 g/L, superior a 5 g/L, superior a 6 g/L, superior a 7 g/L, superior a 8 g/L, superior a 9 g/L, superior a 10 g/L, superior a 15 g/L, superior a 20 g/L, superior a 30 g/L, superior a 40 g/L, superior a 50 g/L, superior a 60 g/L, superior a 70 g/L, superior a 80 g/L, superior a 90 g/L, o superior a 100 g/L. En determinadas modalidades, en función de la solubilidad en el disolvente de disolución, la solubilidad de la forma cristalina VI del compuesto en el disolvente bueno y el disolvente pobre difiere en alrededor de 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 %. En algunas modalidades, la solubilidad de la forma cristalina VI del compuesto en el disolvente bueno es mayor que su solubilidad en el disolvente pobre, y la solubilidad de la forma cristalina VI del compuesto en el disolvente bueno es alrededor de 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % mayor que la solubilidad en el disolvente pobre.

[0107] En la presente invención, el «disolvente pobre» se refiere a un disolvente capaz de promover la sobresaturación y/o cristalización de la solución. En algunas modalidades, la solubilidad de la forma cristalina VI del compuesto en el disolvente pobre es inferior a 0,001 g/L, inferior a 0,1 g/L, inferior a 0,2 g/L, inferior a 0,3 g/L, inferior a 0,4 g/L, inferior a 0,5 g/L, inferior a 0,6 g/L, inferior a 0,7 g/L, inferior a 0,8 g/L o inferior a 1 g/L.

[0108] Un portador farmacéutico adecuado incluye agua, varios disolventes orgánicos, varios diluyentes inertes, y similares; y un adyuvante adecuado incluye un relleno, un excipiente, un aglutinante, un desintegrante, un tensioactivo, un regulador del pH, un deslizante, un lubricante, u otro aditivo adecuado, y similares. Si es necesario, una composición farmacéutica puede contener diversos aditivos, tales como una fragancia, un aglutinante y un excipiente. Para la administración oral, un comprimido y una cápsula pueden contener diversos excipientes; algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, glucosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, goma arábica, fosfato de calcio, un alginato, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona,

celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa; diversos rellenos, tales como lactosa monohidratada y celulosa microcristalina, y similares; diversos deslizantes, tales como dióxido de silicio; diversos desintegrantes, tales como croscarmelosa sódica, almidón, ácido algínico y algunos silicatos; y diversos aglutinantes, tales como povidona K30, sacarosa, gelatina y goma arábiga; y un regulador del pH, tal como ácido fumárico, y similares. Además, en la producción de comprimidos se suele utilizar un lubricante o un antiadherente, tal como estearato de magnesio y talco. Los mismos tipos de componentes sólidos pueden utilizarse también para formular cápsulas de gelatina blanda y dura. Cuando se requiere una suspensión acuosa para administración oral, un compuesto activo puede mezclarse en combinación con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, pigmentos o colorantes. Si se desea, pueden utilizarse diversos agentes emulsionantes o agentes de suspensión; y puede utilizarse un diluyente como agua, etanol, propilenglicol, glicerol o una combinación de estos.

[0109] En la presente invención, la composición farmacéutica puede administrarse de las siguientes formas: por vía oral en una forma como una cápsula, un comprimido, una píldora o un polvo; como una inyección de liberación sostenida (como una solución estéril, una suspensión o una emulsión); a través de una forma de tratamiento tópico como una pasta, una crema o una pomada; o a través de un supositorio como una forma de supositorio; o a través de inhalación o insuflación. La composición farmacéutica puede presentarse en una forma de dosificación unitaria adecuada para una aplicación de dosificación precisa.

[0110] La composición farmacéutica puede formularse en forma de dosificación unitaria, donde cada dosificación contiene de alrededor de 5 mg a alrededor de 100 mg, más habitualmente de alrededor de 10 mg a alrededor de 30 mg, de un ingrediente activo. El término «forma de dosificación unitaria» se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

[0111] La composición farmacéutica para inhalación o insuflación incluye una solución, una suspensión o un polvo en un disolvente acuoso u orgánico farmacéuticamente aceptable, o una mezcla de estos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado, tal como se describe en la presente. En algunas modalidades, la composición se administra por vía respiratoria nasal u oral para conseguir un efecto local o sistémico. La composición puede nebulizarse mediante el uso de un gas inerte. La solución nebulizada puede respirarse directamente desde un dispositivo nebulizador, o el dispositivo nebulizador puede conectarse a una mascarilla facial, una tienda o un respirador de presión positiva intermitente. La solución, suspensión o composición en polvo puede administrarse por vía oral o nasal desde un dispositivo que administra la formulación de forma adecuada.

[0112] La cantidad de la forma cristalina o composición administrada a un paciente dependerá de factores como el sujeto de la administración, la finalidad de la administración, tal como prevención o tratamiento, el estado del paciente, el modo de administración, y similares. En aplicaciones terapéuticas, la composición puede administrarse a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o detener al menos parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Una dosificación eficaz dependerá del estado de enfermedad que se esté tratando y del criterio del médico que atienda al paciente, de acuerdo con factores como la gravedad de una enfermedad, y la edad, el peso y el estado general de un paciente.

[0113] El término «tratamiento» se refiere (por ejemplo) a la prevención, inhibición y

mejora de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo.

[0114] La expresión «cantidad terapéuticamente eficaz» se refiere a la cantidad de un compuesto activo o agente farmacéutico que provoca una respuesta biológica o médica en un tejido, un sistema, un animal, un individuo o un ser humano que busca un investigador, un veterinario, un médico u otros clínicos.

[0115] Modalidad 1

[0116] 1. Preparación de la forma cristalina VI mediante cristalización por dilución en sistema de diclorometano/éter metil terc-butílico

[0117] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0118] (2) Se añadieron 5,0 g de la materia prima compuesta a diclorometano (20 mL) y se calentó hasta 40 °C para su completa disolución hasta obtener una solución transparente. Se añadió éter terc-butílico de metilo (80 mL) por goteo para inducir la cristalización. Luego, la mezcla se enfrió lentamente hasta 0 °C, se agitó durante 5 h, se sometió a filtración por succión y se secó para obtener 4,51 g de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 90,2 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina VI.

[0119] 2. Identificación de la forma cristalina VI

[0120] (1) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 4,3 $\pm$ 0,2°, 6,9 $\pm$ 0,2°, 8,3 $\pm$ 0,2°, 9,7 $\pm$ 0,2°, 11,3 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 13,6 $\pm$ 0,2°, 14,5 $\pm$ 0,2°, 17,8 $\pm$ 0,2°, 18,9 $\pm$ 0,2°, 20,1 $\pm$ 0,2°, y 21,5 $\pm$ 0,2°. Su patrón se muestra en la FIG. 1, que es la forma cristalina VI del compuesto.

[0121] (2) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con TA Q200: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se incluyó un pico endotérmico a 227,0 °C (con un pico de inicio del punto de fusión a 218,5 °C), con un margen de error de  $\pm$ 3 °C. Su patrón se muestra en la FIG. 2.

[0122] (3) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis termogravimétrico (TGA) con TA Q500: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se mostró su pérdida de peso de 0,21 % entre 30 °C y 150 °C. Su patrón se muestra en la FIG. 3.

[0123] Modalidad 2

[0124] 1. Preparación de la forma cristalina VI mediante cristalización por evaporación en el sistema de diclorometano/acetona

[0125] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0126] (2) Se añadieron 30,0 g de la materia prima compuesta a diclorometano (150 mL) y se agitó a temperatura ambiente para su disolución. Luego, se concentró 4/5 de la solución de diclorometano a presión reducida. Se añadió lentamente acetona (300 mL) por goteo a una temperatura controlada de 40 °C para inducir la cristalización. Luego, se continuó concentrando 1/2 de la solución a presión reducida. Luego, la mezcla se enfrió hasta 20 °C,

se agitó durante 1 h, se sometió a filtración por succión y se secó para obtener 27,9 g de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 93,0 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina VI.

[0127] 2. Identificación de la forma cristalina VI

[0128] (1) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 4,3 $\pm$ 0,2°, 6,9 $\pm$ 0,2°, 8,3 $\pm$ 0,2°, 9,7 $\pm$ 0,2°, 11,3 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 13,6 $\pm$ 0,2°, 14,5 $\pm$ 0,2°, 17,8 $\pm$ 0,2°, 18,9 $\pm$ 0,2°, 20,1 $\pm$ 0,2°, y 21,5 $\pm$ 0,2°. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 1.

[0129] (2) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con TA Q200: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se incluyó un pico endotérmico a 227,0 °C (con un pico de inicio del punto de fusión a 218,5 °C), con un margen de error de  $\pm$ 3 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 2.

[0130] (3) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis termogravimétrico (TGA) con TA Q500: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se mostró su pérdida de peso de 0,21 % entre 30 °C y 150 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 3.

[0131] Modalidad 3

[0132] 1. Preparación de la forma cristalina VI mediante cristalización por volatilización en el sistema de acetona/acetato de isopropilo

[0133] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0134] (2) Se añadieron 100 mg de la materia prima compuesta a acetona (5 mL) y acetato de isopropilo (1,5 mL), y se calentó hasta 50 °C para su completa disolución hasta obtener una solución transparente. Luego, la mezcla se dejó abierta para volatilizar lentamente el disolvente, lo que dio lugar a la precipitación de un sólido. El sólido se secó para obtener 83 mg de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 83 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina VI.

[0135] 2. Identificación de la forma cristalina VI

[0136] (1) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 4,3 $\pm$ 0,2°, 6,9 $\pm$ 0,2°, 8,3 $\pm$ 0,2°, 9,7 $\pm$ 0,2°, 11,3 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 13,6 $\pm$ 0,2°, 14,5 $\pm$ 0,2°, 17,8 $\pm$ 0,2°, 18,9 $\pm$ 0,2°, 20,1 $\pm$ 0,2°, y 21,5 $\pm$ 0,2°. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 1.

[0137] (2) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con TA Q200: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se incluyó un pico endotérmico a 227,0 °C (con un pico de inicio del punto de fusión a 218,5 °C), con un margen de error de  $\pm$ 3 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 2.

[0138] (3) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis termogravimétrico (TGA) con TA Q500: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se mostró su pérdida de peso de 0,21 % entre 30 °C y 150 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 3.

[0139] Modalidad 4

[0140] 1. Preparación de la forma cristalina VI mediante conversión de la suspensión en el sistema de acetona

[0141] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0142] (2) Se añadieron 2,0 g de la materia prima compuesta a acetona (30 mL) y se agitó como una suspensión a 50 °C durante 12 h. Luego, la mezcla se enfrió lentamente hasta 0 °C, se agitó durante 5 h, se sometió a filtración por succión y se secó para obtener 1,88 g de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 94,0 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina VI.

[0143] 2. Identificación de la forma cristalina VI

[0144] (1) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 4,3 $\pm$ 0,2°, 6,9 $\pm$ 0,2°, 8,3 $\pm$ 0,2°, 9,7 $\pm$ 0,2°, 11,3 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 13,6 $\pm$ 0,2°, 14,5 $\pm$ 0,2°, 17,8 $\pm$ 0,2°, 18,9 $\pm$ 0,2°, 20,1 $\pm$ 0,2°, y 21,5 $\pm$ 0,2°. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 1.

[0145] (2) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con TA Q200: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se incluyó un pico endotérmico a 227,0 °C (con un pico de inicio del punto de fusión a 218,5 °C), con un margen de error de  $\pm$ 3 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 2.

[0146] (3) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis termogravimétrico (TGA) con TA Q500: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se mostró su pérdida de peso de 0,21 % entre 30 °C y 150 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 3.

[0147] Modalidad 5

[0148] 1. Preparación de la forma cristalina VI mediante conversión de la suspensión en el sistema de acetonitrilo

[0149] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0150] (2) Se añadieron 1,0 g de la materia prima compuesta a acetonitrilo (10 mL) y se agitó como una suspensión a 25 °C durante 24 h. La mezcla se sometió a filtración por succión y se secó para obtener 0,89 g de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 89,0 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina VI.

[0151] 2. Identificación de la forma cristalina VI

[0152] (1) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 4,3 $\pm$ 0,2°, 6,9 $\pm$ 0,2°, 8,3 $\pm$ 0,2°, 9,7 $\pm$ 0,2°, 11,3 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 13,6 $\pm$ 0,2°, 14,5 $\pm$ 0,2°, 17,8 $\pm$ 0,2°, 18,9 $\pm$ 0,2°, 20,1 $\pm$ 0,2°, y 21,5 $\pm$ 0,2°. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 1.

[0153] (2) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó

mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con TA Q200: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se incluyó un pico endotérmico a 227,0 °C (con un pico de inicio del punto de fusión a 218,5 °C), con un margen de error de  $\pm 3$  °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 2.

[0154] (3) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis termogravimétrico (TGA) con TA Q500: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se mostró su pérdida de peso de 0,21 % entre 30 °C y 150 °C. Su patrón coincidía sustancialmente con el que se muestra en la FIG. 3.

[0155] Ejemplo comparativo 1

[0156] 1. Preparación del compuesto

[0157] Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida.

[0158] 2. Identificación del compuesto

[0159] Se tomó una cantidad apropiada del sólido compuesto de la etapa 1 y se evaluó mediante XRPD. Su patrón se muestra en la FIG. 4, que es amorfo. Se determinó el espectro de resonancia magnética nuclear de protones y el espectro infrarrojo del compuesto de la etapa 1. Los resultados mostraron que tanto el espectro de resonancia magnética nuclear de protones como el espectro infrarrojo coincidían con la estructura del compuesto objetivo. El espectro de resonancia magnética nuclear de protones se muestra en la FIG. 5, y los datos específicos del espectro de resonancia magnética nuclear de protones se muestran en la Tabla 2, a continuación. El espectro infrarrojo se muestra en la FIG. 6, y los datos específicos del espectro infrarrojo se muestran en la Tabla 3, a continuación.

[0160] Tabla 2

| <sup>1</sup> H desplazamiento químico (ppm, TMS) | Cantidad de protones | Multiplicidad (J en Hz)* | Asignación |
|--------------------------------------------------|----------------------|--------------------------|------------|
| 9,25, 9,20**                                     | 1                    | s, s                     | 6          |
| 9,18, 9,17**                                     | 1                    | s, s                     | 20         |
| 8,61                                             | 1                    | d, J = 5,2               | 36         |
| 8,38                                             | 1                    | s                        | 25         |
| 8,17-8,13                                        | 2                    | m                        | 35         |
|                                                  |                      | s                        | 29         |
| 7,51-7,45                                        | 1                    | m                        | 2          |
| 7,20                                             | 1                    | d, J = 8,4               | 3          |
| 6,83                                             | 1                    | s                        | 51         |
| 6,44-6,39                                        | 1                    | m                        | 24a        |
| 6,32-6,25                                        | 1                    | dd, J = 10,0, 10,4       | 22         |
| 5,79-5,76                                        | 1                    | dd, J = 10,0, 1,2        | 24b        |
| 5,15                                             | 1                    | d, J = 12,8              | 41         |
| 4,69                                             | 1                    | d, J = 12,0              | 40a        |
| 4,52-4,46                                        | 1                    | m                        | 43b        |

|           |   |                     |            |
|-----------|---|---------------------|------------|
| 4,39      | 1 | t, $J = 11,2$       | 40b        |
| 4,14      | 2 | t, $J = 5,6$        | 44         |
| 4,07-4,04 | 2 | dd, $J = 10,8, 3,2$ | 16a, 18a   |
| 3,84      | 1 | d, $J = 11,2$       | 43b        |
| 3,65      | 3 | s                   | 33         |
| 3,40      | 2 | t, $J = 11,6$       | 16b, 18b   |
| 3,10-2,99 | 3 | m                   | 8, 9a, 11a |
| 2,92-2,87 | 1 | m                   | 12a        |
| 2,82      | 1 | m                   | 12b        |
| 2,56      | 2 | d, $J = 5,2$        | 52         |
| 2,50-2,44 | 2 | s                   | 54         |
|           | 1 | m                   | 14         |
| 2,41-2,36 | 1 | m                   | 11b        |
| 2,09      | 1 | t, $J = 10,0$       | 9b         |
| 1,84-1,81 | 2 | m                   | 15a, 19a   |
| 1,68-1,57 | 2 | m                   | 15b, 19b   |
| 1,26      | 6 | s                   | 55, 56     |
| 0,79      | 3 | d, $J = 5,2$        | 13         |

[0161] Nota: m es un multiplete; s es un singlete; d es un doblete; t es un triplete; y dd es un doblete de dobletes.

[0162] Tabla 3

| Pico de absorción ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Intensidad de absorción | Tipo de vibración                                    | Asignación                                        |
|----------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 3319                                   | w                       | Vibraciones de tensión O-H y N-H                     | Hidroxilo alcohólico O-H y amino N-H              |
| 3080                                   | w                       | Vibración de tensión C-H                             | Anillo aromático C-H                              |
| 2952-2840                              | w                       | Vibración de tensión C-H                             | Alquilo C-H                                       |
| 1684, 1645, 1625-1616                  | s                       | Vibración de tensión C=O                             | Amida C=O                                         |
| 1595, 1582, 1533-1447                  | s                       | Vibraciones de tensión C=C y C=N                     | Anillo aromático C=C y anillo heteroaromático C=N |
| 1397, 1351, 1296                       | s                       | Vibración de flexión C-H<br>Vibración de tensión C-N | Alquilo C-H y amina aromática C-N                 |
| 1237                                   | m                       | Vibración de tensión C-N                             | Amida C-N                                         |
| 1192, 1138                             | s                       | Vibraciones de tensión C-C y C-O                     | Alquilo C-C y éter alifático C-O                  |

|            |   |                                  |                                      |
|------------|---|----------------------------------|--------------------------------------|
| 1058, 1012 | s | Vibraciones de tensión C-N y C-O | Amino C-N e hidroxilo alcohólico C-O |
| 858, 822   | s | Vibración de flexión C-H         | Anillo aromático C-H                 |

[0163] Nota: m representa medio, s representa fuerte y w representa débil.

[0164] Ejemplo comparativo 2

[0165] 1. Preparación de la forma cristalina V mediante cristalización en el sistema de trifluoroetanol/agua

[0166] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0167] (2) Se añadieron 1,0 g de la materia prima compuesta a trifluoroetanol (3 mL) y se agitó a 50 °C para su completa disolución hasta obtener una solución transparente. Luego, se añadió lentamente agua pura (8 mL) por goteo para inducir la cristalización. Se continuó agitando a 50 °C durante 18 h, seguido de filtración por succión. Tras secarse al aire a temperatura ambiente durante 4 h, se obtuvieron 0,95 g de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 95,0 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina V.

[0168] 2. Identificación de la forma cristalina V

[0169] El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 4,1 $\pm$ 0,2°, 9,2 $\pm$ 0,2°, 11,7 $\pm$ 0,2°, 14,8 $\pm$ 0,2°, 15,4 $\pm$ 0,2°, 18,2 $\pm$ 0,2°, 19,9 $\pm$ 0,2°, 20,5 $\pm$ 0,2°, 21,5 $\pm$ 0,2°, 22,2 $\pm$ 0,2°, 25,0 $\pm$ 0,2°, y 27,7 $\pm$ 0,2°. Su patrón se muestra en la FIG. 7, que es la forma cristalina V.

[0170] Ejemplo comparativo 3

[0171] 1. Preparación de la forma cristalina XIII mediante conversión de la suspensión en el sistema de dimetilsulfóxido

[0172] (1) Con referencia al método de preparación descrito en la publicación de patente n.º CN111741959A, se obtuvo el compuesto (S)-N-(5-((6-(2-(7,7-dimetil-1-oxo-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-ciclopenta[4,5]pirrolo[1,2-a]pirazin-2-il)-3-(hidroximetil)piridin-4-il)-4-metil-3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)amino)-2-(2-metil-4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)piperazin-1-il)fenil)acrilamida (la forma sólida no está limitada);

[0173] (2) Se añadieron 1,5 g de la materia prima compuesta a dimetilsulfóxido (18 mL) y se agitó como una suspensión a 25 °C durante 24 h. La mezcla se sometió a filtración por succión y se secó para obtener 1,34 g de un polvo sólido blancuzco con un rendimiento de 89,3 %. La medición de XRPD confirmó que se trataba de una forma cristalina XIII.

[0174] 2. Identificación de la forma cristalina XIII

[0175] (1) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante el análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con Bruker D8 Advance: Se utilizó radiación de Cu-K $\alpha$ , y presentaba picos característicos representados por el ángulo 2 $\theta$  de la siguiente manera: 11,5 $\pm$ 0,2°, 14,5 $\pm$ 0,2°, 14,8 $\pm$ 0,2°, 15,1 $\pm$ 0,2°, 16,9 $\pm$ 0,2°, 17,6 $\pm$ 0,2°, 18,8 $\pm$ 0,2°, 19,3 $\pm$ 0,2°, 20,0 $\pm$ 0,2°, 20,8 $\pm$ 0,2°, 21,5 $\pm$ 0,2°, y 24,3 $\pm$ 0,2°. Su patrón se muestra en la FIG. 8, que es la forma cristalina XIII.

[0176] (2) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con TA Q200: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se incluyeron dos picos endotérmicos a 129,0 °C y 261,5 °C, con

un margen de error de  $\pm 3$  °C. Su patrón se muestra en la FIG. 9.

[0177] (3) El polvo sólido blancuzco preparado en la etapa (2) anterior se identificó mediante análisis termogravimétrico (TGA) con TA Q500: la velocidad de barrido fue de 10 °C/min, y se mostró su pérdida de peso de alrededor de 14,71 % entre 30 °C y 170 °C. Su patrón se muestra en la FIG. 10.

[0178] Ejemplo de prueba 1 Experimento de sorción dinámica de vapor

[0179] Se tomó una cantidad adecuada de la forma cristalina VI preparada en el Ejemplo 1, de la forma amorfa preparada en el Ejemplo comparativo 1 y de la forma cristalina XIII preparada en el Ejemplo comparativo 3, respectivamente, y se sometieron a pruebas de sorción dinámica de vapor (DVS). La Tabla 4 muestra los resultados experimentales de DVS para la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII. Como puede observarse en la Tabla 4: la forma cristalina VI presentó un aumento de peso de alrededor de 0,79 % a 80 % de RH y de alrededor de 1,34 % a 95 % de RH (véase la FIG. 11, con un margen de error de  $\pm 0,1$  % en el cambio de masa), lo que demuestra que es ligeramente higroscópica. Por el contrario, la forma amorfa presentó un aumento de peso de alrededor de 4,55 % a 80 % de RH y de alrededor de 6,76 % a 95 % de RH (véase la FIG. 12), y la forma cristalina XIII presentó un aumento de peso de alrededor de 6,53 % a 80 % de RH y de alrededor de 14,45 % a 95 % de RH (véase la FIG. 13), lo que demuestra que ambas son higroscópicas. Esto indica que la forma cristalina VI tiene menor higroscopicidad, lo que es beneficioso para el almacenamiento del fármaco a largo plazo.

[0180] Tabla 4

| Forma cristalina      | Aumento del peso de adsorción (80 % RH) | Aumento del peso de adsorción (95 % RH) | Higroscopicidad          |
|-----------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------|
| Forma cristalina VI   | 0,79 %                                  | 1,34 %                                  | Ligeramente higroscópica |
| Forma amorfa          | 4,55 %                                  | 6,76 %                                  | Higroscópica             |
| Forma cristalina XIII | 6,53 %                                  | 14,45 %                                 | Higroscópica             |

[0181] En cuanto a la descripción de las características de higroscopicidad y la definición del aumento de peso higroscópico (Guiding Principles for Drug Hygroscopicity Testing, Appendix to the Chinese Pharmacopoeia 2010 Edition; condiciones experimentales:  $25 \pm 0,2$  °C, 80 % de humedad relativa):

[0182] Delicuescente: absorbe suficiente humedad para formar un líquido;

[0183] Altamente higroscópico: el aumento de peso higroscópico no es inferior a 15 %;

[0184] Higroscópico: el aumento de peso higroscópico es inferior a 15 % pero no inferior a 2 %;

[0185] Ligeramente higroscópico: el aumento de peso higroscópico es inferior a 2 % pero no inferior a 0,2 %; y

[0186] No higroscópico o casi no higroscópico: el aumento de peso higroscópico es inferior a 0,2 %.

[0187] Ejemplo de prueba 2 Prueba de estabilidad en agua pura y solución amortiguadora

[0188] La forma cristalina VI, la forma amorfa, la forma cristalina V y la forma cristalina XIII del compuesto se formaron en suspensiones en agua pura y soluciones amortiguadoras de diferentes valores de pH, respectivamente. Las suspensiones se agitaron a 25 °C durante 24 h y se filtraron para obtener los sólidos. Se tomaron muestras para la medición de XRPD. Los resultados experimentales específicos se muestran en la Tabla 5, a

continuación. La Tabla 5 muestra los experimentos de estabilidad de cada forma cristalina en agua pura y en soluciones amortiguadoras. Como puede observarse en la Tabla 5, la forma cristalina de la forma cristalina VI permaneció inalterada tras la suspensión en agua pura y soluciones amortiguadoras a 25 °C durante 24 h. En cambio, la forma amorfa, la forma cristalina V y la forma cristalina XIII se transformaron en otras formas cristalinas tras la suspensión en agua pura y soluciones amortiguadoras a 25 °C durante 24 h. Esto indica que la forma cristalina VI tiene mayor estabilidad.

[0189] Tabla 5

| Forma cristalina inicial | Disolvente                    | Temperatura | Resultado de la suspensión                |
|--------------------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------------------|
| Forma cristalina VI      | Agua pura                     | 25 °C       | Forma cristalina VI                       |
|                          | Solución amortiguadora pH 4,5 | 25 °C       | Forma cristalina VI                       |
|                          | Solución amortiguadora pH 6,8 | 25 °C       | Forma cristalina VI                       |
| Forma amorfa             | Agua pura                     | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
|                          | Solución amortiguadora pH 4,5 | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
|                          | Solución amortiguadora pH 6,8 | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
| Forma cristalina V       | Agua pura                     | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
|                          | Solución amortiguadora pH 4,5 | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
|                          | Solución amortiguadora pH 6,8 | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
| Forma cristalina XIII    | Agua pura                     | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
|                          | Solución amortiguadora pH 4,5 | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |
|                          | Solución amortiguadora pH 6,8 | 25 °C       | Se transforma en otras formas cristalinas |

[0190] Ejemplo de prueba 3 Prueba de estabilidad de los factores de influencia

[0191] De acuerdo con los principios rectores de las pruebas de estabilidad de las preparaciones de fármacos, se llevaron a cabo experimentos de factores de influencia en la

forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII del compuesto, incluidas una prueba de alta temperatura, una prueba de alta humedad y una prueba de alta exposición a la luz, para investigar los factores que afectan a la estabilidad de las formas cristalinas anteriores. Los resultados de la forma cristalina en diferentes condiciones se identificaron mediante análisis de XRPD, y los resultados de la pureza en diferentes condiciones se identificaron mediante análisis de HPLC. Los resultados para la forma cristalina VI se muestran en la FIG. 14 (en la figura, de menor a mayor intensidad, los patrones corresponden al día 0, día 5 de alta temperatura, día 10 de alta temperatura, día 15 de alta temperatura, día 30 de alta temperatura, día 5 de alta humedad, día 10 de alta humedad, día 15 de alta humedad, día 30 de alta humedad, día 5 de exposición a la luz, día 10 de exposición a la luz, día 15 de exposición a la luz y día 30 de exposición a la luz, respectivamente).

[0192] (1) Prueba de alta humedad

[0193] Se tomaron cantidades adecuadas de muestras de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII, se extendieron en frascos de pesaje y se colocaron en una cámara de temperatura y humedad constantes a 25 °C y RH 92,5±5 %. Luego, se tomaron las muestras anteriores los días 5, 10, 15 y 30, respectivamente. Sus formas cristalinas se evaluaron mediante difracción de rayos X en polvo (XRPD), y la pureza de las muestras, mediante HPLC. La Tabla 6 muestra los resultados de las pruebas de alta humedad de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII. Como puede observarse en la Tabla 6: tras someterla a condiciones de 25 °C y 92,5±5 % de RH durante 30 días, la forma cristalina de la forma cristalina VI permaneció inalterada y no se observó una disminución significativa de la pureza. Por el contrario, tras someterlas a condiciones de 25 °C y 92,5±5 % de RH durante 30 días, las formas cristalinas de la forma amorfa y de la forma cristalina XIII tampoco se transformaron, pero las purezas disminuyeron en diversos grados. Esto indica que la forma cristalina VI tiene mayor estabilidad.

[0194] Tabla 6

| Forma cristalina inicial              | Condiciones de almacenamiento en estabilidad | Tiempo de almacenamiento | Forma cristalina      | Pureza  |
|---------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------|
| Forma cristalina VI<br>Pureza 99,32 % | Temperatura 25 °C, humedad relativa 92,5±5 % | 5 días                   | Forma cristalina VI   | 99,35 % |
|                                       |                                              | 10 días                  | Forma cristalina VI   | 99,35 % |
|                                       |                                              | 15 días                  | Forma cristalina VI   | 99,32 % |
|                                       |                                              | 30 días                  | Forma cristalina VI   | 99,31 % |
| Forma amorfa<br>Pureza 98,80 %        | Temperatura 25 °C, humedad relativa 92,5±5 % | 5 días                   | Forma amorfa          | 98,72 % |
|                                       |                                              | 10 días                  | Forma amorfa          | 98,50 % |
|                                       |                                              | 15 días                  | Forma amorfa          | 98,38 % |
|                                       |                                              | 30 días                  | Forma amorfa          | 98,21 % |
| Forma cristalina XIII                 | Temperatura 25 °C, humedad                   | 5 días                   | Forma cristalina XIII | 98,92 % |

|                |                   |         |                       |         |
|----------------|-------------------|---------|-----------------------|---------|
| Pureza 99,01 % | relativa 92,5±5 % | 10 días | Forma cristalina XIII | 98,86 % |
|                |                   | 15 días | Forma cristalina XIII | 98,81 % |
|                |                   | 30 días | Forma cristalina XIII | 98,77 % |

[0195] (2) Prueba de alta temperatura

[0196] Se tomaron cantidades adecuadas de muestras de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII, se extendieron en frascos de pesaje y se colocaron en una estufa de secado a 60 °C. Luego, se tomaron las muestras anteriores los días 5, 10, 15 y 30, respectivamente. Sus formas cristalinas se evaluaron mediante difracción de rayos X en polvo (XRPD), y la pureza de las muestras, mediante HPLC. La Tabla 7 muestra los resultados de las pruebas de alta temperatura de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII. Como puede observarse en la Tabla 7: tras someterla a condiciones de 60 °C durante 30 días, la forma cristalina de la forma cristalina VI permaneció inalterada y la pureza disminuyó ligeramente. Tras someterla a condiciones de 60 °C durante 30 días, la forma cristalina de la forma amorfa tampoco se transformó, pero la pureza disminuyó de forma relativamente significativa. Por el contrario, la forma cristalina XIII ya había sufrido una transformación cristalina tras someterla en condiciones de 60 °C durante 5 días, y la pureza también disminuyó de forma relativamente significativa tras someterla durante 30 días. Esto indica que la forma cristalina VI tiene mayor estabilidad.

[0197] Tabla 7

| Forma cristalina inicial                | Condiciones de almacenamiento en estabilidad | Tiempo de almacenamiento | Forma cristalina                          | Pureza  |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|---------|
| Forma cristalina VI<br>Pureza 99,32 %   | Temperatura 60 °C                            | 5 días                   | Forma cristalina VI                       | 99,31 % |
|                                         |                                              | 10 días                  | Forma cristalina VI                       | 99,25 % |
|                                         |                                              | 15 días                  | Forma cristalina VI                       | 98,96 % |
|                                         |                                              | 30 días                  | Forma cristalina VI                       | 98,72 % |
| Forma amorfa<br>Pureza 98,80 %          | Temperatura 60 °C                            | 5 días                   | Forma amorfa                              | 98,61 % |
|                                         |                                              | 10 días                  | Forma amorfa                              | 98,44 % |
|                                         |                                              | 15 días                  | Forma amorfa                              | 98,39 % |
|                                         |                                              | 30 días                  | Forma amorfa                              | 97,88 % |
| Forma cristalina XIII<br>Pureza 99,01 % | Temperatura 60 °C                            | 5 días                   | Se transforma en otras formas cristalinas | 98,79 % |
|                                         |                                              | 10 días                  | Se transforma en otras formas cristalinas | 98,54 % |
|                                         |                                              | 15 días                  | Se transforma                             | 98,20 % |

|  |  |         |                                           |         |
|--|--|---------|-------------------------------------------|---------|
|  |  |         | en otras formas cristalinas               |         |
|  |  | 30 días | Se transforma en otras formas cristalinas | 97,85 % |

[0198] (3) Prueba de exposición a la luz

[0199] Se tomaron cantidades adecuadas de muestras de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII, se extendieron en frascos de pesaje y se colocaron en una cámara de temperatura y humedad constantes (25 °C, RH 60 %±5 %) con luz visible de 4500 Lux±500 Lux y luz ultravioleta de 1,7 W\*h/m<sup>2</sup>. Luego, se tomaron las muestras anteriores los días 5, 10, 15 y 30, respectivamente. Sus formas cristalinas se evaluaron mediante difracción de rayos X en polvo (XRPD), y la pureza de las muestras, mediante HPLC. La Tabla 8 muestra los resultados de las pruebas de exposición a la luz de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII. Como puede observarse en la Tabla 8: tras someterla a condiciones de luz visible de 4500 Lux±500 Lux y luz ultravioleta de 1,7 W\*h/m<sup>2</sup> durante 30 días, la forma cristalina de la forma cristalina VI permaneció inalterada y la pureza disminuyó ligeramente. Tras someterlas a condiciones de luz visible de 4500 Lux±500 Lux y luz ultravioleta de 1,7 W\*h/m<sup>2</sup> durante 30 días, las formas cristalinas de la forma amorfa y la forma cristalina XIII tampoco se transformaron, pero las purezas disminuyeron de forma relativamente significativa.

[0200] Tabla 8

| Forma cristalina inicial                | Condiciones de almacenamiento o en estabilidad                          | Tiempo de almacenamiento | Forma cristalina      | Pureza  |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------|
| Forma cristalina VI<br>Pureza 99,32 %   | Luz visible 4500 Lux ± 500 Lux, luz ultravioleta 1,7 W*h/m <sup>2</sup> | 5 días                   | Forma cristalina VI   | 99,17 % |
|                                         |                                                                         | 10 días                  | Forma cristalina VI   | 99,23 % |
|                                         |                                                                         | 15 días                  | Forma cristalina VI   | 98,71 % |
|                                         |                                                                         | 30 días                  | Forma cristalina VI   | 98,14 % |
| Forma amorfa<br>Pureza 98,80 %          | Luz visible 4500 Lux ± 500 Lux, luz ultravioleta 1,7 W*h/m <sup>2</sup> | 5 días                   | Forma amorfa          | 98,46 % |
|                                         |                                                                         | 10 días                  | Forma amorfa          | 97,98 % |
|                                         |                                                                         | 15 días                  | Forma amorfa          | 97,29 % |
|                                         |                                                                         | 30 días                  | Forma amorfa          | 96,55 % |
| Forma cristalina XIII<br>Pureza 99,01 % | Luz visible 4500 Lux ± 500 Lux, luz ultravioleta 1,7 W*h/m <sup>2</sup> | 5 días                   | Forma cristalina XIII | 98,65 % |
|                                         |                                                                         | 10 días                  | Forma cristalina XIII | 98,32 % |
|                                         |                                                                         | 15 días                  | Forma cristalina XIII | 97,76 % |
|                                         |                                                                         | 30 días                  | Forma cristalina XIII | 97,15 % |

[0201] Ejemplo de prueba 4 Prueba de estabilidad acelerada

[0202] Proceso experimental: la forma cristalina VI preparada en el Ejemplo 1 se sometió a condiciones de estabilidad acelerada ( $40\pm 2$  °C, RH= $75\pm 5$  %) durante 1, 3 y 6 meses y, luego, se tomaron muestras para la medición de XRPD. La Tabla 9 muestra los resultados de la prueba de estabilidad acelerada de la forma cristalina VI. Como puede observarse en la Tabla 9: la forma cristalina VI permaneció inalterada tras ser sometida a condiciones de estabilidad acelerada durante 6 meses, lo que muestra una excelente estabilidad física y química.

[0203] Tabla 9

| Condiciones de colocación | 40±2 °C, 75±5 % RH  |                     |                     |                     |
|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                           | 0 días              | 1 mes               | 3 meses             | 6 meses             |
| Forma cristalina          | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI |
| Pureza                    | 99,32 %             | 99,18 %             | 98,98 %             | 98,54 %             |

[0204] Ejemplo de prueba 5 Prueba de estabilidad a largo plazo

[0205] Proceso experimental: la forma cristalina VI preparada en el Ejemplo 1 se sometió a condiciones de estabilidad a largo plazo ( $25\pm 2$  °C, RH= $60\pm 5$  %) durante 1, 6, 12, 18 y 24 meses y, luego, se tomaron muestras para la medición de XRPD. La Tabla 10 muestra los resultados de la prueba de estabilidad a largo plazo de la forma cristalina VI. Como puede observarse en la Tabla 10: la forma cristalina VI permaneció inalterada tras ser sometida a condiciones de estabilidad a largo plazo durante 24 meses, y no se observó ninguna disminución significativa de la pureza, lo que demuestra una excelente estabilidad física y química.

[0206] Tabla 10

| Condiciones de colocación | 25±2 °C, 60±5 % RH  |                     |                     |                     |                     |                     |
|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                           | 0 días              | 1 mes               | 6 meses             | 12 meses            | 18 meses            | 24 meses            |
| Forma cristalina          | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI | Forma cristalina VI |
| Pureza                    | 99,32 %             | 99,31 %             | 99,35 %             | 99,28 %             | 99,31 %             | 99,30 %             |

[0207] Ejemplo de prueba 6 Estudio comparativo morfológico de la forma cristalina VI, la forma amorfa y la forma cristalina XIII

[0208] Proceso experimental: la forma cristalina VI preparada en el Ejemplo 1, la forma amorfa preparada en el Ejemplo comparativo 1 y la forma cristalina XIII preparada en el Ejemplo comparativo 3 se fotografiaron respectivamente bajo un microscopio de luz polarizante, tal como se muestra en las FIGS. 15 a 17. Como puede observarse en las FIGS. 15 a 17: a partir de los resultados fotográficos del microscopio de luz polarizante, los cristales de la forma cristalina VI tenían forma de varilla larga, con una dispersabilidad y fluidez relativamente buenas. El sólido amorfo se encontraba en un estado vítreo irregular, con aglomeración y apelmazamiento significativos. Por el contrario, los cristales de la forma cristalina XIII eran finos, también presentaban aglomeración y apelmazamiento, con una fluidez relativamente pobre.

[0209] Ejemplo de prueba 7 Prueba de PK *in vivo* en animales de comprimidos de forma cristalina VI

[0210] Proceso experimental: con una formulación básica que utiliza la forma cristalina VI preparada en el Ejemplo 1 como forma cristalina del fármaco a granel, celulosa microcristalina como relleno, croscarmelosa de sodio como desintegrante, estearato de magnesio como antiadherente y ácido fumárico como regulador del pH, se prepararon comprimidos para el ensayo de PK *in vivo* en animales. La tabla 11 muestra el experimento de PK *in vivo* en animales (perros beagle, dosificación de administración de 10 mg/kg) de la preparación de forma cristalina VI. Como puede observarse en la Tabla 11: el fármaco en comprimidos de la forma cristalina VI mostró una buena exposición en animales, cumpliendo los requisitos de exposición.

[0211] Tabla 11

| Vía oral en perros (10 mg/kg) |                   | Género       | C <sub>máx</sub> (ng·mL <sup>-1</sup> ) | T <sub>máx</sub> (h) | T <sub>1/2</sub> (h) | AUC <sub>0-t</sub> (ng·h·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------|-------------------|--------------|-----------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------------------|
|                               | PK (preparación ) | Macho (n=2)  | 5310                                    | 1,50                 | 2,52                 | 22.900                                      |
|                               |                   | Hembra (n=2) | 3535                                    | 1,0                  | 2,95                 | 21.900                                      |

[0212] Los ejemplos anteriores son modalidades preferidas de la presente invención, pero las modalidades de la presente invención no están limitadas por los ejemplos anteriores. Cualquier otro cambio, modificación, sustitución, combinación o simplificación realizada sin apartarse del espíritu, la esencia y los principios de la presente invención serán sustituciones equivalentes y se incluirán en el ámbito de protección de la presente invención.