

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 139**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**C07C 309/04** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.01.2016 PCT/CN2016/070636**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.08.2016 WO16124067**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.01.2016 E 16746062 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019 EP 3255046**

54 Título: **Hidroxietil sulfonato de inhibidor de la proteína quinasa dependiente de ciclina, forma cristalina del mismo y método de preparación para el mismo**

30 Prioridad:

**03.02.2015 CN 201510056995**

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

**02.06.2020**

73 Titular/es:

**JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (100.0%)  
No. 7 Kunlunshan Road Economic and  
Technological Development Zone Lianyungang  
Jiangsu 222047, CN**

72 Inventor/es:

**WU, GUAILI;  
GAO, XIAOHUI y  
JIA, JUNLEI**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 764 139 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Hidroxietil sulfonato de inhibidor de la proteína quinasa dependiente de ciclina, forma cristalina del mismo y método de preparación para el mismo

Campo de la invención

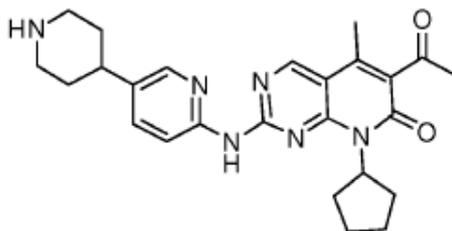
La presente invención se refiere a un hidroxietil sulfonato de inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (CDK4&6), forma cristalina I y método de preparación del mismo.

Antecedentes de la invención

El cáncer de mama es uno de los tumores malignos más comunes de las mujeres, con alta tasa de incidencia e invasividad, pero el curso del progreso es lento. El "Chinese Breast Disease Investigation Report" emitido en Beijing el 1 de febrero de 2010 por la Asociación de Población de China mostró que la tasa de mortalidad por cáncer de mama en las zonas urbanas chinas aumentó en un 38.91%, y el cáncer de mama se ha convertido en la mayor amenaza para la salud de las mujeres. En la actualidad, hay al menos 156 fármacos para el cáncer de mama en desarrollo o en el mercado, en los cuales el 68% son fármacos dirigidos. Una serie de investigaciones han demostrado que el tumor está relacionado con la anormalidad del ciclo celular, las mutaciones de la proteína de señalización mitótica y los defectos de la proteína de señalización antimitótica en las células tumorales conducen al trastorno de proliferación; mientras tanto, la mayoría de los tumores tienen inestabilidad genómica (GIN) e inestabilidad del complemento cromosómico (CIN), estos tres defectos básicos del ciclo celular son inducidos directa o indirectamente por fuera de control de CDK. El inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina (CDK) se ha convertido en un objetivo cada vez más popular.

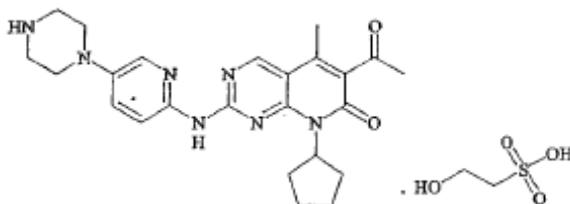
En la actualidad, se desarrollan muchos inhibidores de CDK de primera y segunda generación. El fármaco de segunda generación más preocupado incluye un inhibidor de CDK4&6, PD-0332991, el cual se desarrolló conjuntamente por Pfizer y Onyx. Inhibe la fosforilación de Rb al inhibir la actividad de CDK4&6, permite que el complejo E2F-Rb se detenga en el citoplasma y bloquea el inicio del ciclo celular. Los resultados del ensayo clínico (NCT00721409) mostraron que la supervivencia sin progresión (PFS) de los pacientes tratados con letrozol solo fue de 7.5 meses, mientras que la supervivencia sin progresión de los pacientes sometidos a tratamiento combinado de letrozol y PD-0332991 se extendió a 26.1 meses. Esta notable ventaja ha recibido una atención generalizada. A principios de 2013, la FDA consideró que podría ser un fármaco contra el cáncer innovador después de revisar el resultado a medio plazo del fármaco.

El documento WO2014183520 describe inhibidores de CDK4&6 similares a PD-0332991 en estructura, con actividad inhibidora significativa y alta selectividad para CDK4&6, que comprende un siguiente compuesto:



Sin embargo, este compuesto tiene una solubilidad pobre y no se puede usar directamente como un fármaco. Existe la necesidad de encontrar una forma farmacéuticamente aceptable, que permita mejorar su solubilidad y biodisponibilidad.

Los documentos CN1835951 y CN101511829 describen la sal de ácido 2-hidroxi-etanosulfónico (1:1) de un compuesto estructuralmente relacionado:

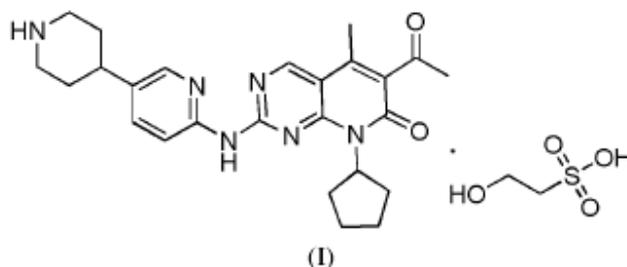


Dicho compuesto se conoce como sal de hidroxietil sulfonato de palbociclib.

Por otro lado, los expertos en el arte saben que la estructura cristalina del ingrediente farmacéuticamente activo a menudo afecta la estabilidad química del fármaco. Las diferentes condiciones de cristalización y las condiciones de almacenamiento pueden conducir a cambios en la estructura cristalina del compuesto y, a veces, a la producción de otras formas de forma cristalina. En general, un producto farmacológico amorfo no tiene una estructura cristalina regular, y a menudo tiene otros defectos, tales como una estabilidad deficiente del producto, un tamaño de partícula más pequeño, filtración difícil, aglomeración fácil y poca liquidez. De este modo, es necesario mejorar las diversas propiedades del producto anterior. Es necesario buscar una nueva forma cristalina con alta pureza y buena estabilidad química.

#### Resumen de la invención

La presente invención proporciona una 6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-2-((5-(piperidin-4-il)piridin-2-il)amino)pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona hidroxietil sulfonato (como se muestra en la fórmula (I)).



El compuesto de fórmula (I) se puede obtener haciendo reaccionar 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo con ácido hidroxietilsulfónico.

La solubilidad del compuesto de fórmula (I) ha mejorado enormemente en comparación con 6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-2-((5-(piperidin-4-il)piridin-2-il)amino)pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona. Su solubilidad en agua alcanza 8.33 mg/mL.

En otro aspecto, la presente invención proporciona la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I).

Se ha obtenido una serie de productos de cristal del compuesto de fórmula (I) en diversas condiciones de cristalización, y se han realizado mediciones de difracción de rayos X y calorimetría de barrido diferencial (DSC) en los productos de cristal obtenidos. Se encontró que una forma cristalina estable del compuesto de fórmula (I), que se denomina forma cristalina I, se puede obtener en condiciones de cristalización normales. El espectro DSC de la forma cristalina I de la presente solicitud muestra un pico endotérmico de fusión a aproximadamente 324 °C. El espectro de difracción de rayos X en polvo, que se obtiene mediante el uso de radiación Cu-K $\alpha$  y se representa mediante una distancia mediante ángulo  $2\theta$  y distancia interplanar (valor d), se muestra en la figura 1, en la que hay picos característicos en 4.17 (21.17), 8.26 (10.69), 9.04 (9.77), 10.78 (8.20), 12.38 (7.14), 14.01 (6.32), 18.50 (4.79), 18.89 (4.70), 20.69 (4.29), 21.58 (4.11), 23.87 (3.73) y 28.15 (3.17).

La presente invención también proporciona un método de preparación de la forma cristalina I de 6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-2-((5-(piperidin-4-il)piridin-2-il)amino)pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona hidroxietil sulfonato. El método comprende las siguientes etapas de:

1) disolución de 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo y ácido hidroxietilsulfónico, o cualquier forma cristalina o forma amorfa del compuesto de fórmula (I) en un disolvente de cristalización para precipitar un cristal; o para precipitar un cristal después de agregar un antidisolvente, en el que el disolvente de cristalización se selecciona de agua, un disolvente orgánico o un disolvente mixto de agua y un disolvente orgánico; el disolvente orgánico se selecciona de uno cualquiera o más de alcoholes, cetonas y nitrilos que tienen 3 o menos átomos de carbono, o un disolvente mixto de uno o más disolventes mencionados anteriormente y un halohidrocarburo que tiene 3 o menos átomos de carbono; el antidisolvente se selecciona de uno cualquiera o más de alcoholes, cetonas y nitrilos que tienen 3 o menos átomos de carbono;

2) filtración del cristal, luego lavado y secado.

En una realización preferible de la presente invención, el disolvente de cristalización de la etapa 1) es metanol/agua, etanol/agua, isopropanol/agua, acetona/agua o acetonitrilo/agua, en el que el disolvente orgánico más preferible es etanol/agua, y la proporción de los dos no está particularmente limitada. En una realización preferible de la presente invención, la proporción de volumen de los dos es 3: 1. En una realización preferible de la presente invención, el

antidisolvente de la etapa 1) es metanol, etanol, isopropanol, acetona o acetonitrilo, en el que el antidisolvente más preferible es etanol.

5 La presente invención también proporciona un compuesto, esto es, 4-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo. Este compuesto es útil en la preparación del compuesto deseado de fórmula (I) y la forma cristalina I del mismo de la presente invención.

10 El método de cristalización no está particularmente limitado, y puede llevarse a cabo mediante un procedimiento de cristalización convencional. Por ejemplo, el material, esto es, el compuesto de fórmula (I), se puede disolver en un disolvente orgánico con calentamiento, luego se agrega un antidisolvente para precipitar un cristal por enfriamiento. Una vez completada la cristalización, se puede obtener el cristal deseado mediante filtración y secado. En particular, el cristal obtenido por filtración generalmente se seca al vacío a presión reducida a una temperatura de calentamiento de aproximadamente 30~100 °C, preferiblemente 40~60 °C, para eliminar el disolvente de cristalización.

15 La forma cristalina resultante del compuesto de fórmula (I) se determina mediante DSC y espectros de difracción de rayos X. Mientras tanto, también se determina el disolvente residual en el cristal obtenido.

20 La forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) preparada según el método de la presente invención no contiene o contiene solo un contenido relativamente bajo de disolvente residual, que cumple el requisito de la Farmacopea Nacional con respecto a la limitación de la disolvente residual de productos farmacéuticos. Por lo tanto, el cristal de la presente invención es apropiado para su uso como ingrediente activo farmacéutico.

25 Los resultados de la investigación muestran que la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) preparado según la presente invención es estable en condiciones de iluminación, alta temperatura y alta humedad, la forma cristalina I también es estable en condiciones de molienda, presión y calentamiento, que cumple con los requisitos de producción, transporte y almacenamiento de productos farmacéuticos. El procedimiento de preparación del mismo es estable, repetible y controlable, lo que es apropiado para la producción industrial.

30 Descripción de los dibujos

Figura 1 El espectro de difracción de rayos X en polvo de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I).

35 Figura 2 El espectro DSC de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos en detalle.

40 Instrumentos de prueba usados en los experimentos.

1. Espectro DSC

45 Tipo de instrumento: Mettler Toledo DSC 1 Staree System

Gas de purga: nitrógeno

Velocidad de calentamiento: 10.0 °C/min

50 Intervalo de temperatura: 40-300 °C

2. Espectro de difracción de rayos X

55 Tipo de instrumento: difractómetro de rayos X en polvo Bruker D8 Focus

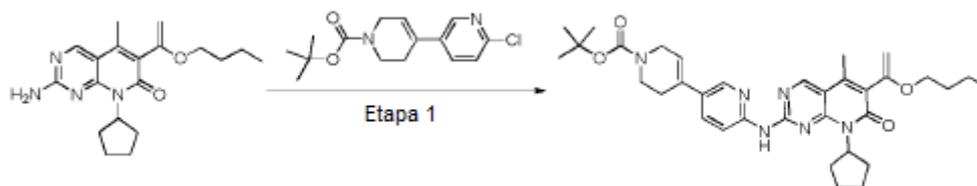
Rayo: Rayo Cu-Ka monocromático ( $\lambda = 1.5406$ )

Modo de barrido:  $\theta/2\theta$ , Rango de barrido: 2-40°

60 Voltaje: 40 KV, corriente eléctrica: 40 mA

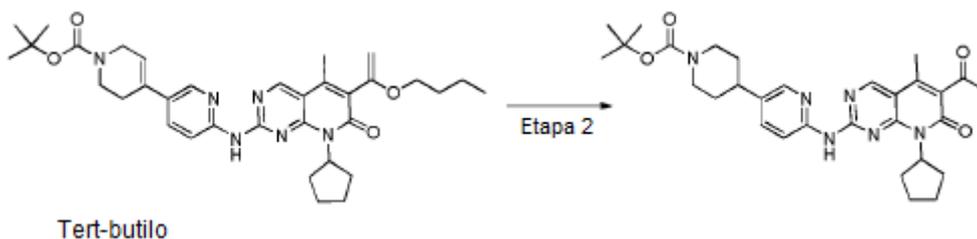
Ejemplo 1: Preparación del 6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-2-((5-(piperidin-4-il)piridin-2-il)amino)pirido[2,3-d] pirimidin-7(8H)-ona hidroxietil sulfonato

65 Etapa 1: Preparación del 6-((6-(1-butoxietenil)-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)-5,6'-dihidro-[3,4'-bipiridil]-1'(2'H)-formiato de tert-butilo



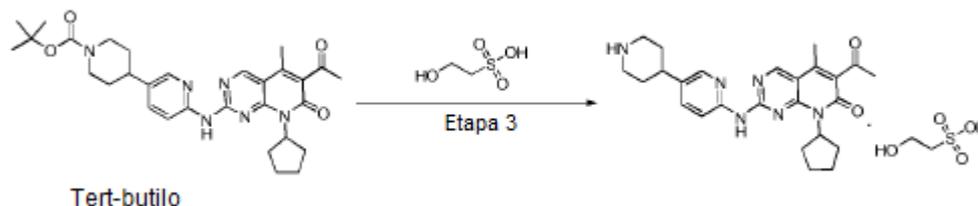
5 2-Amino-6-(1-butoxietenil)-8-ciclopentil-5-metilpirido[2,3-d]pirimidin-7(8 H)-ona (preparado según el método descrito en WO2014183520) (10 g, 29.06 mmol), carbonato de cesio (14.22 g, 43.75 mmol), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (2.12 g, 2.31 mmol), 4,5-bis (difenílfosfina)-9,9-dimetilxanteno (2.69g, 4.69 mmol) y se agregaron 125.00 g de dioxano a un matraz de reacción de tres cuellos bajo argón, y la mezcla se agitó bien y se calentó a reflujo. Una solución mixta de material 4-(6-cloropiridin-3-il)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de tert-butilo (10.34 g, 35.00 mmol, comprado a Yancheng Ruikang Pharmaceutical Chemical Co., Ltd.) y se agregó lentamente dioxano (65.62 g, 0.74 mol) gota a gota durante aproximadamente 5 h. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante otras 1-1.5 h con agitación. El procedimiento de reacción se controló mediante TLC hasta la finalización del material 2-amino-6-(1-butoxietenil)-8-ciclopentil-5-metilpirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona (eluyente: éter de petróleo: acetato de etilo = 2: 1, R<sub>f</sub> de material = 0.6, R<sub>f</sub> de producto = 0.7), luego se terminó la reacción. La solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró, la torta del filtro se lavó con diclorometano (17.19 g X 3). El filtrado se concentró hasta sequedad a presión reducida a 65 °C. Se agregaron 137.50 g de diclorometano para disolver el residuo, luego se agregaron 56.25 g de agua purificada. La solución de reacción se separó y la fase acuosa se extrajo con 68.75 g de diclorometano. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. La torta del filtro se lavó con 23.44 g de diclorometano, y el filtrado se concentró para obtener un líquido aceitoso a presión reducida a 45 °C. Se agregaron 150 g de acetona, luego la mezcla se agitó durante aproximadamente 2 h a temperatura ambiente, y se agitó durante aproximadamente 3 h en un baño de agua con hielo. La mezcla se filtró, la torta del filtro se lavó con acetona fría (25 g X 4) y se secó a temperatura ambiente a presión reducida durante 8-10 horas para obtener un sólido (aproximadamente 14.84 g), con un rendimiento de 80-92%, con la pureza detectada por HPLC no inferior al 90%. ESI/MS:[M+H]=601.43.

25 Etapa 2: Preparación de 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo



30 El 6-((6-(1-butoxietenil)-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)-5',6'-dihidro-[3,4'-bipiridil]-1'(2'H)-formiato (14.84 g, 24.69 mmol) y 75 g de ácido acético se agregaron a un matraz de reacción de tres cuellos bajo argón. Se agregó Pd/C al 10% (5 g), el matraz se purgó con hidrógeno tres veces, la reacción de hidrogenación se llevó a cabo a 50-60 °C bajo agitación y presión normal durante 30-32 h. Cuando la cantidad restante del estado intermedio (un intermedio derivado de 6-((6-(1-butoxietenil)-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)-5',6'-dihidro-[3,4'-bipiridil]-1'(2'H)-formiato de tert-butilo, en el que se ha eliminado el grupo protector de tert-butilo mientras que el doble enlace aún no se ha reducido) es < 0.3% controlado por HPLC, la reacción se terminó. La solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el sistema se purgó con argón. Luego, la solución de reacción se filtró, la torta del filtro se lavó con 37.50 g de diclorometano. El filtrado se concentró hasta sequedad a 65 °C bajo presión reducida. El residuo se disolvió en 50 g de etanol anhidro y se calentó a reflujo durante 0.5 h bajo argón, la mezcla se enfrió naturalmente a temperatura ambiente con agitación y se agitó en un baño de hielo durante aproximadamente 4 h. La mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con etanol anhidro frío (12.50 g X 2). El producto húmedo obtenido se agitó en 31.25 g de diclorometano, y el material insoluble se filtró. Se agregaron lentamente al filtrado 118.75 g de isopropanol con agitación. La mezcla se agitó durante aproximadamente 3 h en un baño de hielo, se filtró y se secó a presión reducida durante 8-10 h para obtener un sólido (aproximadamente 8.75 g) con un rendimiento del 60-72%, con una pureza detectada por HPLC no menos del 98%. ESI/MS:[M+H]=547.26.

50 Etapa 3: Preparación de 6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-2-((5-(piperidin-4-il)piridin-2-il)amino)pirido[2,3-d] pirimidin-7(8H)-ona hidroxietil sulfonato



4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato (8.75g, 15.94mmol) y 56.25 g de metanol anhidro se agregaron a un matraz de reacción de tres cuellos y se agitó bien. Se disolvieron ácido hidroxietilsulfónico al 80% (8.81 g, 55.94 mmol) y 0.94 g de agua en 13.75 g de metanol anhidro, y se agregaron gota a gota a la solución anterior, que luego se volvió transparente. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3-3.5 h con agitación. El procedimiento de reacción se controló por TLC hasta completar el material (éter de petróleo: acetato de etilo = 1:1, R<sub>f</sub> de material = 0.3, R<sub>f</sub> de producto = 0), luego la reacción se terminó y se filtró mientras estaba caliente. Se agregó trietilamina (4.00 g, 39.38 mmol) gota a gota al filtrado con agitación. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó durante aproximadamente 1 h, y se agitó en un baño de hielo durante aproximadamente 3 h. La mezcla se filtró, la torta del filtro se lavó con metanol anhidro frío (7.19 g X 2), se secó a 40 °C a presión reducida durante 6-8 h para obtener un sólido (aproximadamente 7.97 g) con un rendimiento de 82-93 %, con la pureza detectada por HPLC no inferior al 98%. TOF-MS: [M+H] = 447.2503 (un pico de iones de 6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-2-((5-(piperidin-4-il)piridin-2-il)amino)pirido[2,3-d] pirimidin-7(8H)-ona se une con un ion de hidrógeno). El espectro de difracción de rayos X en polvo de la muestra de cristal se muestra en la figura 1, en la que hay picos característicos en 4.17 (21.17), 8.26 (10.69), 9.04 (9.77), 10.78 (8.20), 12.38 (7.14), 14.01 (6.32), 18.50 (4.79), 18.89 (4.70), 20.69 (4.29), 21.58 (4.11), 23.87 (3.73) y 28.15 (3.17). El espectro DSC se muestra en la figura 2, que tiene un pico endotérmico de fusión a aproximadamente 324 °C. La forma cristalina se definió como la forma cristalina I.

#### Ejemplo 2

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un cuello de 50 ml, seguido de la adición de 11 mL de etanol al 75%. La mezcla se calentó a reflujo bajo agitación hasta que la solución fue transparente. La mezcla se filtró mientras estaba caliente, se agregaron lentamente al filtrado 11 mL de etanol anhidro con agitación. La mezcla se enfrió naturalmente a temperatura ambiente para precipitar un cristal con agitación. La mezcla se filtró, se lavó y se secó para obtener un sólido (860 mg, rendimiento: 82.1%). El producto fue identificado como forma cristalina I después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

#### Ejemplo 3

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un solo cuello de 25 ml, seguido de la adición de 2.5 mL de agua. La mezcla se calentó a reflujo hasta que la solución fue transparente, luego se agregaron 15 mL de etanol lentamente. La mezcla se enfrió para precipitar un cristal bajo agitación. Al día siguiente, la mezcla se filtró y se secó para obtener un sólido de color blanco (268 mg, rendimiento: 53.6%). El producto fue identificado como forma cristalina I después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

#### Ejemplo 4

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un cuello de 25 ml, seguido de la adición de 2.5 mL de agua. La mezcla se calentó a reflujo hasta que la solución fue transparente, luego se agregaron lentamente 15 mL de isopropanol. La mezcla se enfrió para precipitar un cristal bajo agitación. Al día siguiente, la mezcla se filtró y se secó para obtener un sólido de color blanco (201 mg, rendimiento: 40.2%). El producto fue identificado como forma cristalina I después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

#### Ejemplo 5

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un solo cuello de 25 ml, seguido de la adición de 2.5 mL de agua. La mezcla se calentó a reflujo hasta que la solución fue transparente, luego se agregaron 15 mL de acetona lentamente. La mezcla se enfrió para precipitar un cristal bajo agitación. Al día siguiente, la mezcla se filtró y se secó para obtener un sólido de color blanco (332 mg, rendimiento: 66.4%). El producto fue identificado como forma cristalina I, después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

#### Ejemplo 6

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un solo cuello de 25 ml, seguido de la adición de 2.5 mL de agua. La mezcla se calentó a reflujo hasta que la solución fue transparente, luego se

agregaron lentamente 15 mL de acetonitrilo. La mezcla se enfrió para precipitar un cristal bajo agitación. Al día siguiente, la mezcla se filtró y se secó para obtener un sólido de color blanco (298 mg, rendimiento: 59.6%). El producto fue identificado como forma cristalina I después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

5

Ejemplo 7

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un cuello de 25 ml, seguido de la adición de 4 mL de etanol al 75%. La mezcla se calentó a reflujo hasta que la solución fue transparente, luego se agregaron lentamente 4 mL de etanol. La mezcla se enfrió para precipitar un cristal bajo agitación. Al día siguiente, la mezcla se filtró y se secó para obtener un sólido de color blanco (407 mg, rendimiento: 81.4%). El producto fue identificado como forma cristalina I después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

10

Ejemplo 8

El compuesto de fórmula I (1.0 g, 1.75 mmol) se agregó a un matraz de un cuello de 25 ml, seguido de la adición de 4 mL de etanol al 75%. La mezcla se calentó a reflujo hasta que la solución fue transparente, luego se agregaron lentamente 4 mL de etanol. La mezcla se enfrió para precipitar un cristal bajo agitación. Al día siguiente, la mezcla se filtró y se secó para obtener un sólido de color blanco (418 mg, rendimiento: 83.6%). El producto fue identificado como forma cristalina I después de estudiar y comparar la difracción de rayos X y los espectros DSC.

15

20

Ejemplo 9

La muestra de producto de forma cristalina preparada en el ejemplo 1 se extendió completamente en el aire, para probar su estabilidad en condiciones de iluminación (4500 Lux), calentamiento (40 °C, 60 °C) y alta humedad (RH 75%, RH 90%). Los muestreos se llevaron a cabo el día 5 y el día 10. La pureza detectada por HPLC se muestra en la tabla 1.

25

Tabla 1. Comparación de la estabilidad de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I)

30

Número de lote	Tiempo (día)	Iluminación	40°C	60°C	RH 75%	RH 90%
S011305130806	0	99.36%	99.36%	99.36%	99.36%	99.36%
	5	99.36%	99.40%	99.40%	99.33%	99.36%
	10	99.38%	99.40%	99.38%	99.34%	99.37%

Los resultados del estudio de estabilidad mostraron que la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) tenía buena estabilidad cuando se extendía en el aire en condiciones de iluminación, alta temperatura y alta humedad.

35 Ejemplo 10

La forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) preparada según el método del ejemplo 1 se molió, calentó y prensó. Los resultados mostraron que la forma cristalina es estable. Los datos experimentales detallados se muestran en la tabla 2 a continuación.

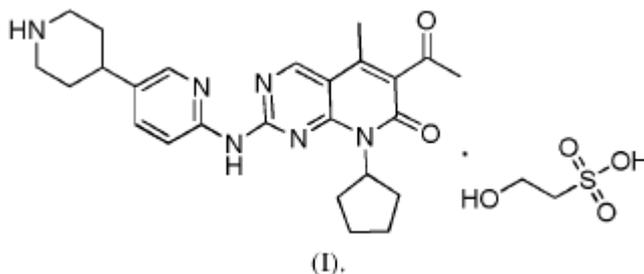
40

Tabla 2. Estudio especial de estabilidad de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I)

Número de lote	Procedimiento de tratamiento	Procedimiento experimental	Forma cristalina	Pico DSC
S011305130808G	Tratamiento de molienda durante 10 min	Se molió 1 g de muestra de forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) durante 10 minutos en un mortero bajo atmósfera de nitrógeno.	Forma cristalina I	Pico DSC 324.71°C
S011305130808H	Tratamiento térmico durante 3 h a 80 °C	1 g de muestra de forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) se extendió plana y se calentó a 80 °C durante 3 h.	Forma cristalina I	Pico DSC 324.77°C
S011305130808P	Tratamiento de prensado	La muestra de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) se presionó en una rebanada.	Forma cristalina I	Pico DSC 324.42°C

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),



- 5
2. Forma cristalina I de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, caracterizada porque el cristal tiene un espectro de difracción de rayos X en polvo, que se obtiene mediante el uso de radiación Cu-Ka y se representa con un ángulo de  $2\theta$ , como se muestra en la figura 1, en la que hay picos característicos a aproximadamente 4.17, 8.26, 9.04, 10.78, 12.38, 14.01, 18.50, 18.89, 20.69, 21.58, 23.87 y 28.15.
- 10
3. La forma cristalina I según la reivindicación 2, caracterizada porque el cristal tiene un espectro de difracción de rayos X en polvo, que se obtiene mediante el uso de radiación Cu-Ka y se representa mediante ángulo  $2\theta$  y una distancia interplanar, como se muestra en la figura 1, en el que hay picos característicos a aproximadamente 4.17 (21.17), 8.26 (10.69), 9.04 (9.77), 10.78 (8.20), 12.38 (7.14), 14.01 (6.32), 18.50 (4.79), 18.89 (4.70), 20.69 (4.29), 21.58 (4.11), 23.87 (3.73) y 28.15 (3.17).
- 15
4. Un método de preparación del compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, que comprende la etapa de hacer reaccionar el 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo con ácido hidroxietilsulfónico.
- 20
5. Un método de preparación de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 2 o 3, que comprende las siguientes etapas de:
- 25
- 1) disolución del 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo y ácido hidroxietilsulfónico, o cualquier forma cristalina o forma amorfa del compuesto de fórmula (I) en un disolvente de cristalización para precipitar un cristal, en el que el disolvente de cristalización se selecciona del agua, un disolvente orgánico, o un disolvente mixto de agua y un disolvente orgánico; el disolvente orgánico se selecciona de uno cualquiera o más de alcoholes, cetonas y nitrilos que tienen 3 o menos átomos de carbono, o un disolvente mixto de uno o más disolventes mencionados anteriormente y un hidrocarburo halogenado que tiene 3 o menos átomos de carbono;
- 30
- 2) filtración del cristal, luego lavado y secado.
- 35
6. Un método de preparación de la forma cristalina I del compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 2 o 3, que comprende las siguientes etapas de:
- 40
- 1) disolución de 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo y ácido hidroxietilsulfónico, o cualquier forma cristalina o forma amorfa del compuesto de fórmula (I) en el disolvente de cristalización según la reivindicación 5, luego agregando un antidisolvente para precipitar un cristal, en el que el antidisolvente se selecciona de uno cualquiera o más de alcoholes, cetonas y nitrilos que tienen 3 o menos átomos de carbono;
- 45
- 2) filtración del cristal, luego lavado y secado.
7. El método según la reivindicación 5, en el que el disolvente de cristalización es preferiblemente un disolvente mixto de etanol/agua.
8. El método según la reivindicación 6, en el que el disolvente de cristalización es preferiblemente un disolvente mixto de etanol/agua, y el antidisolvente es etanol.
- 50
9. 4-(6-((6-acetil-8-ciclopentil-5-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-2-il)amino)piridin-3-il)piperidina-1-formiato de tert-butilo.
- 55
10. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 o la forma cristalina I del mismo según las reivindicaciones 2 o 3, y un portador farmacéuticamente aceptable.

11. El compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 o la forma cristalina I según las reivindicaciones 2 o 3 o la composición farmacéutica según la reivindicación 10 para uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la quinasa dependiente de ciclina (CDK4&6), en el que la enfermedad es preferiblemente un tumor, y más preferiblemente cáncer de seno.

5

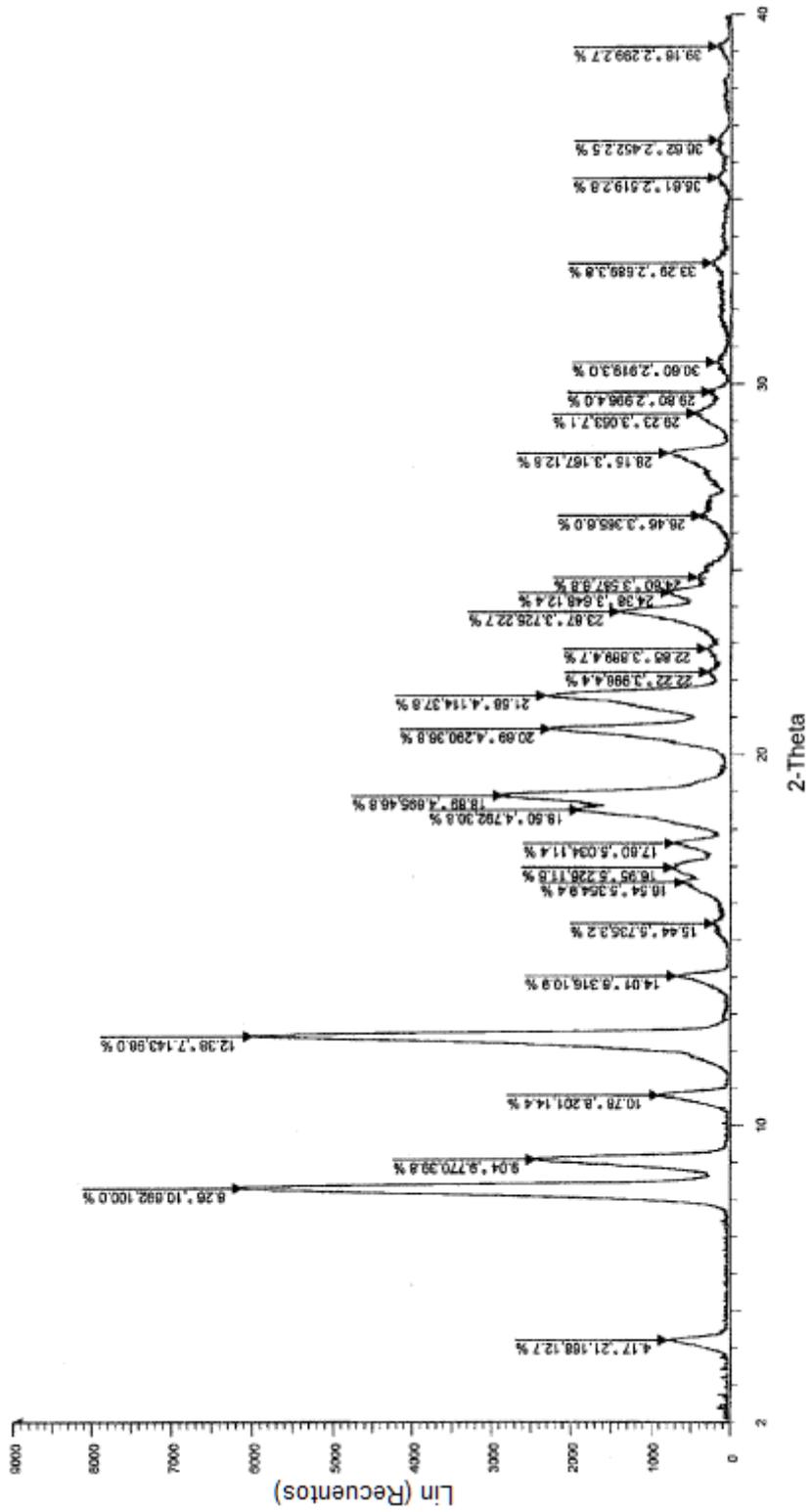


Figura 1

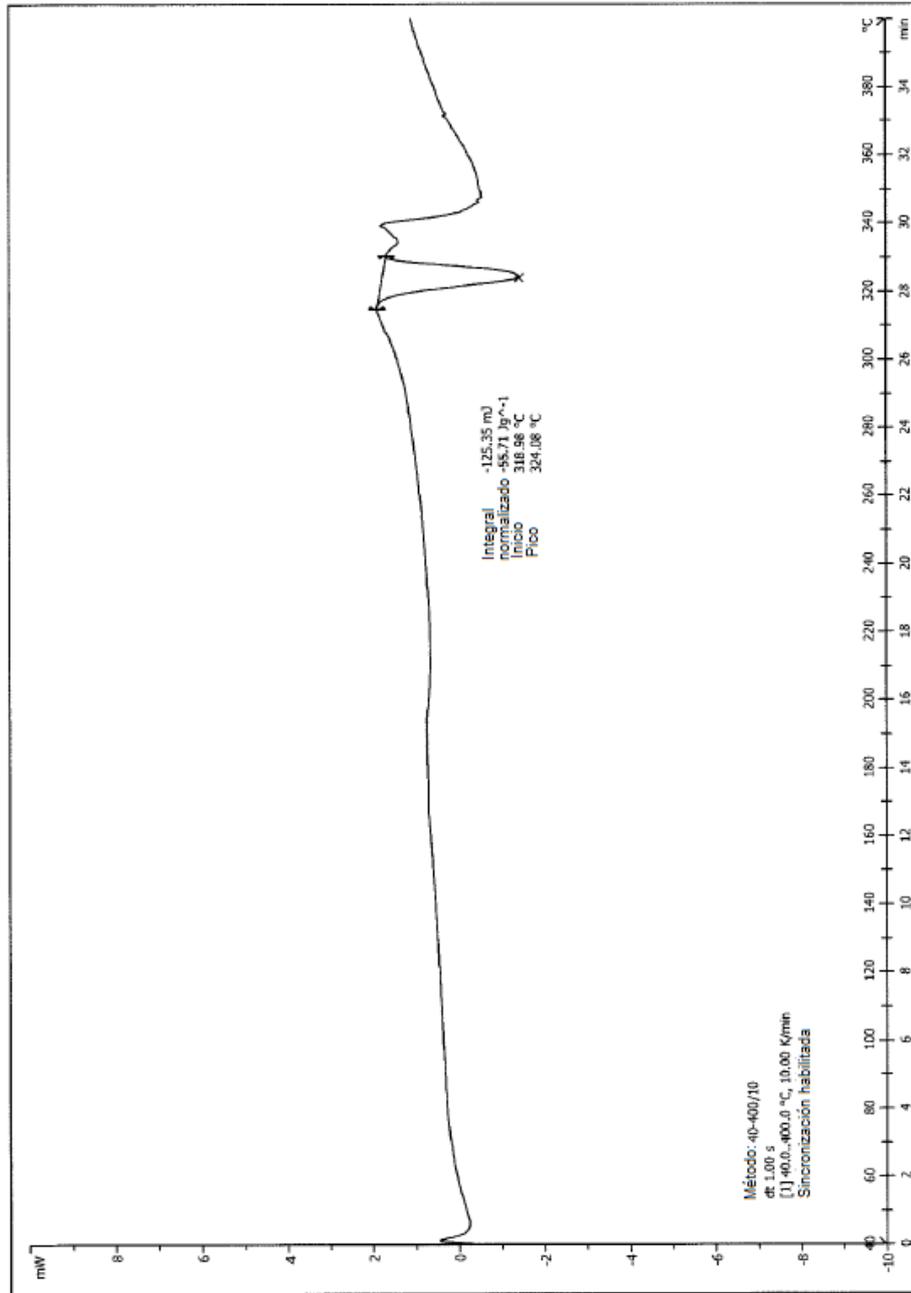


Figura 2