



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 356 284**

51 Int. Cl.:
C07H 15/252 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **98956000 .8**

96 Fecha de presentación : **01.12.1998**

97 Número de publicación de la solicitud: **1036797**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.09.2000**

54 Título: **Antibiótico de antraciclina cristalino y procedimiento para su producción.**

30 Prioridad: **05.12.1997 JP 9-350157**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.04.2011

73 Titular/es: **MERCIAN CORPORATION**
5-8, Kyobashi 1-chome
Chuo-ku, Tokyo 104-8305, JP

72 Inventor/es: **Johdo, Osamu;**
Nakamura, Kiyotomo y
Yoshioka, Takeo

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 356 284 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).

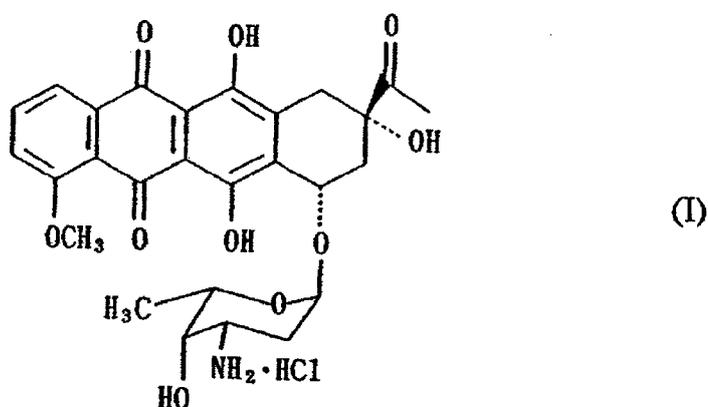
DESCRIPCION

Campo técnico

Esta invención se refiere a nuevas formas cristalinas de un antibiótico de antraciclina, particularmente daunomicina (también conocida como daunorubicina), y a un procedimiento para producir las mismas.

Antecedentes de la técnica

Se sabe que la daunomicina (también conocida como daunorubicina; en lo sucesivo abreviada como DM), que es un antibiótico de antraciclina representado por la siguiente fórmula (I)



10

se obtiene a partir de un medio de cultivo de un actinomiceto, y tiene un amplio espectro anticanceroso contra tumores animales experimentales. De hecho, la DM está siendo ampliamente usada como agente quimioterapéutico para el cáncer en aplicaciones clínicas.

15

Sin embargo, la forma mayoritaria de DM (hidrocloruro de DM) disponible en la actualidad es un polvo amorfo o un sólido que está clasificado provisionalmente como cristalino pero tiene una alta higroscopicidad y una escasa estabilidad. Desde el punto de vista de la preparación de DM en medicinas, las propiedades físicas y químicas, no sólo de su polvo mayoritario final sino también de sus productos intermedios, tienen una gran significación. Por ejemplo, la escasa estabilidad química requiere una gran precaución en el almacenamiento, y la alta higroscopicidad hace que su manejo sea difícil. Además, en consideración a su uso como fármaco, cualquier disolvente residual puede constituir un inconveniente fatal.

20

25

Entre la técnica anterior, la patente europea EP 0 306 541 describe un procedimiento mejorado para la purificación de hidrocloruro de daunorubicina a partir de caldo de fermentación, caracterizado por el uso de una columna de sílice y una mezcla de cloroformo y metanol que contiene ácido fórmico.

Además, la patente británica GB 1 003 383 describe un laborioso procedimiento para la purificación de daunorubicina a partir de caldo de cultivo que incluye mezclar con un material absorbente, suspender en acetona, filtrar, seguido de varias etapas de extracción-concentración y recristalización.

5 La patente de EE.UU. 4.861.870 describe un procedimiento para purificar un glicósido de antraciclinona mediante la adsorción selectiva de una disolución acuosa ligeramente ácida de un glicósido impuro sobre al menos una resina y la posterior desadsorción del glicósido purificado por elución con agua ácida o una mezcla de agua y un disolvente polar.

10 Por consiguiente, un objeto de la presente invención es proporcionar un producto sólido de hidrocloreto de DM que tenga una excelente estabilidad química y, preferiblemente, que tenga además una baja higroscopicidad y un contenido de disolvente residual permisible.

Descripción de la invención

15 Los presentes inventores hicieron repetidas investigaciones con la idea de solucionar los problemas descritos anteriormente, y han encontrado ahora que la cristalización de hidrocloreto de DM usando un cierto sistema disolvente produce una forma cristalina específica de hidrocloreto de DM que tiene una excelente estabilidad química y, en algunos casos, esta forma cristalina también tiene una baja higroscopicidad y puede solucionar el problema con el disolvente residual.

20 Por tanto, según la presente invención, se proporciona una forma cristalina de hidrocloreto de DM que tiene al menos valores 2θ característicos (en grados) de 6,18, 7,88, 9,82, 11,60, 13,30, 15,80, 20,88 y 23,12 medidos por el método de difracción de rayos X en polvo.

25 Según la presente invención, también se proporciona un procedimiento para producir la forma cristalina mencionada anteriormente de hidrocloreto de DM a partir de una disolución que contiene hidrocloreto de DM, comprendiendo el procedimiento las etapas de preparar la disolución mencionada anteriormente a partir de un polvo de hidrocloreto de daunomicina que tiene una pureza relativa mayor que 90% usando un sistema disolvente compuesto de un mal disolvente para el antibiótico y un buen disolvente que es miscible con el mal disolvente y capaz de disolver el antibiótico; y someter la disolución así preparada a un tratamiento de cristalización, en donde el mal disolvente contiene al menos 1-butanol y en donde el buen disolvente se selecciona entre agua, metanol, etanol y mezclas de dos o más de ellos.

Breve descripción del dibujo

La FIG. 1 es un gráfico que muestra los resultados del análisis por difracción de rayos X en polvo de polvos de hidroclicloruro de DM y diversas formas cristalinas de hidroclicloruro de DM. En este gráfico, b) muestra el resultado del análisis por difracción de rayos X en polvo de una forma cristalina de hidroclicloruro de DM de acuerdo con la presente invención; a), d), e) y f) muestran los resultados del análisis por difracción de rayos X en polvo de polvos de hidroclicloruro de DM amorfos (polvos comparativos); y c), g) y h) muestran los resultados del análisis por difracción de rayos X en polvo de formas sólidas de hidroclicloruro de DM que se consideran cristalinas pero no muestran las propiedades de la forma cristalina de acuerdo con la presente invención (formas cristalinas comparativas).

Descripción específica de la invención

Específicamente, la forma cristalina de hidroclicloruro de DM de acuerdo con la presente invención se caracteriza por tener al menos valores 2θ característicos (en grados) de 6,18, 7,88, 9,82, 11,60, 13,30, 15,80, 20,88 y 23,12 medidos por el método de difracción de rayos X en polvo (el método de Debye-Scherrer) [véase b) en la FIG. 1]. El término "forma cristalina", tal como se emplea en la presente memoria, significa un único cristal o una masa de tales cristales, y los resultados mencionados anteriormente de análisis por difracción de rayos X en polvo son los obtenidos de tales masas.

La forma cristalina de acuerdo con la presente invención se distingue claramente de los polvos amorfos [que corresponden a los mostrados como a), d), e) y f) en la FIG.1] y de las formas sólidas consideradas provisionalmente como cristalinas [que corresponden a las mostradas como c), g) y h) en la FIG. 1]. Además, como se describirá más tarde, la forma cristalina b) tiene unas propiedades excelentes desde los puntos de vista de la higroscopicidad, el disolvente residual y la estabilidad química.

De manera general, y no a modo de limitación, el procedimiento para producir la forma cristalina de acuerdo con la presente invención mencionada anteriormente comprende las etapas de preparar una disolución disolviendo un polvo de hidroclicloruro de daunomicina que tiene una pureza relativa mayor que 90% en un disolvente capaz de disolver la DM; y cristalizar la DM añadiendo a la disolución un disolvente que es miscible con el disolvente mencionado anteriormente pero es un mal disolvente para la DM.

Es importante usar un disolvente que contenga al menos 1-butanol como el mal disolvente mencionado anteriormente. Los ejemplos típicos de tales disolventes

incluyen 1-butanol solo y mezclas de disolventes compuestas de 1-butanol y otros disolventes orgánicos (p.ej., acetona, hexano y éter diisopropílico). Por otra parte, como el disolvente capaz de disolver la DM, se puede usar cualquier disolvente que pueda disolver la DM, sea miscible con el mal disolvente mencionado anteriormente, y sea adecuado por ello para el fin de la presente invención. Los ejemplos típicos de tales disolventes incluyen, pero no se limitan a, agua, metanol, etanol y mezclas de dos o más de ellos.

De acuerdo con una realización preferida, el procedimiento de producción de la presente invención comprende las etapas de preparar una disolución disolviendo un polvo de hidrocloreuro de DM que tiene una pureza relativa mayor que 90% en metanol (por ejemplo, usando el polvo de hidrocloreuro de DM y metanol en una relación de pesos de 1:5 a 1:20); y cristalizar la DM añadiendo 1-butanol o una mezcla de 1-butanol y acetona, hexano o éter diisopropílico (por ejemplo, que contiene hasta 60% de acetona, hexano o éter diisopropílico) a la disolución mencionada anteriormente en una cantidad de aproximadamente 1 a 20 partes en volumen en base al metanol.

Cuando la expresión "1-butanol/acetona", por ejemplo, se usa en relación con la presente invención, significa el uso combinado de 1-butanol y acetona. Por tanto, según la presente invención, el disolvente usado para disolver un polvo de hidrocloreuro de DM puede comprender no solamente metanol solo, sino también una mezcla de metanol y 1-butanol o una mezcla de metanol, 1-butanol y acetona, hexano o éter diisopropílico, a condición de que la mezcla pueda disolver el polvo de hidrocloreuro de DM. Después, como disolvente para fines de cristalización, se añade 1-butanol o una mezcla de 1-butanol y acetona, hexano o éter diisopropílico a la disolución de hidrocloreuro de DM así obtenida, para que se forme un hidrocloreuro de DM cristalino. Esta etapa de cristalización se puede llevar a cabo dejando que la disolución, después de la adición del disolvente mencionado anteriormente para fines de cristalización, repose a una temperatura de aproximadamente 5 a 35°C, y preferiblemente a temperatura ambiente (18 a 27°C), opcionalmente con enfriamiento (hasta aproximadamente 5°C) y opcionalmente con agitación suave. El hidrocloreuro de DM cristalino así precipitado puede ser recogido mediante una técnica conocida *per se* tal como filtración o centrifugación.

El hidrocloreuro de DM se puede obtener como un producto comercial, o se puede preparar según el procedimiento descrito en la patente japonesa publicada N° 21394/84 (correspondiente a la patente de EE.UU. N° 4.592.999). Como material de partida para el uso en el procedimiento de la presente invención, se puede usar el

hidrocloruro de DM que haya sido obtenido por cualquier método, a condición de que sea adecuado para el fin de la presente invención. Sin embargo, generalmente es favorable usar un hidrocloruro de DM que tenga una pureza no menor que 90% y preferiblemente no menor que 95%.

5 La presente invención se explica de manera más específica con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, no se pretende limitar la presente invención a ninguno de estos ejemplos.

Ejemplo 1 (ejemplo comparativo)

10 Se disolvieron 2 g de hidrocloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de acetona a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 1,2 g de un polvo rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como a) en la FIG. 1. Las condiciones de medida incluyeron un ángulo de paso de 0,02°, un tiempo de recuento de 1,0 segundos, un voltaje de tubo de 40,0 kV, y una corriente de tubo de 20,0 mA (se aplicará lo mismo en lo sucesivo).

Ejemplo 2 (la presente invención)

20 Se disolvieron 2 g de hidrocloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de 1-butanol a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 1,4 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como b) en la FIG. 1.

25 Ejemplo 3 (ejemplo comparativo)

30 Se disolvieron 2 g de hidrocloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de etanol a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 0,9 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como c) en la FIG. 1.

Ejemplo 4 (ejemplo comparativo)

Se disolvieron 2 g de hidroclicloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de éter dietílico a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 1,5 g de un polvo rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como d) en la FIG. 1.

Ejemplo 5 (ejemplo comparativo)

Se disolvieron 2 g de hidroclicloruro de GM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de 1-propanol a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 0,9 g de un polvo rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como e) en la FIG. 1.

Ejemplo 6 (ejemplo comparativo)

Se disolvieron 2 g de hidroclicloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de 2-propanol a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 1,3 g de un polvo rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como f) en la FIG. 1.

Ejemplo 7 (ejemplo comparativo)

Se disolvieron 2 g de hidroclicloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de n-hexano a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 1,3 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como g) en la FIG. 1.

Ejemplo 8 (ejemplo comparativo)

Se disolvieron 2 g de hidroclicloruro de DM en 20 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de éter isopropílico a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 1,6 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo se muestra como h) en la FIG. 1.

Ejemplo 9 (la presente invención)

Se disolvieron 0,5 g de hidrocloreuro de DM en 5 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 50 ml de una mezcla (2:3) de 1-butanol y acetona a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 0,28 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo mostró el mismo patrón que el de b) en la FIG. 1.

Ejemplo 10 (la presente invención)

Se disolvieron 0,5 g de hidrocloreuro de DM en 5 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 50 ml de una mezcla (3:2) de 1-butanol y hexano a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 0,38 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo mostró el mismo patrón que el de b) en la FIG. 1.

Ejemplo 11 (la presente invención)

Se disolvieron 0,5 g de hidrocloreuro de DM en 5 ml de metanol. A temperatura ambiente, se añadieron 50 ml de una mezcla (3:2) de 1-butanol y éter diisopropílico a la disolución, dando como resultado la formación de un precipitado. Este precipitado se recogió por filtración y se secó (a presión reducida a 60°C durante 16 horas) para obtener 0,38 g de un polvo cristalino rojizo-marrón. El resultado de la medición de este polvo según el método de difracción de rayos X en polvo mostró el mismo patrón que el de b) en la FIG. 1.

25 Ejemplo 12 (ensayos de higroscopicidad)

Se almacenaron muestras de los polvos (o polvos cristalinos) obtenidos en los Ejemplos 1-8 a 30°C y a humedades relativas que oscilaron de 32 a 91%. Se midieron sus contenidos de humedad hasta que se alcanzó un estado estable. Las humedades relativas críticas calculadas a partir de los aumentos o disminuciones en el contenido de humedad se muestran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Polvo	Ej. 1	Ej. 2	Ej. 3	Ej. 4	Ej. 5	Ej. 6	Ej. 7	Ej. 8
Humedad relativa crítica (%)	34	73	41	28	29	29	41	53

Se puede ver, a partir de los resultados descritos anteriormente, que el hidrocloreuro de DM cristalino obtenido en el Ejemplo 2 (la presente invención) tiene una higroscopicidad muy baja.

Ejemplo 13 (ensayos de estabilidad química)

- 5 Cada una de las mismas muestras usadas en el Ejemplo 12 se puso en un recipiente sellado herméticamente y se almacenó a 60°C durante 1 mes. Después, la muestra se analizó por HPLC para determinar el contenido de DM en la muestra. Los resultados así obtenidos se muestran en la Tabla 2 a continuación.

10

Tabla 2

Polvo	Ej. 1	Ej. 2	Ej. 3	Ej. 4	Ej. 5	Ej. 6	Ej. 7	Ej. 8
Cantidad de DM remanente (%)	91,4	100	97,1	90,4	97,5	94,2	97,2	96,5

Se puede ver, a partir de los resultados descritos anteriormente, que el polvo cristalino del Ejemplo 2 tiene una excelente estabilidad química.

(Condiciones para el análisis por HPLC)

15

Columna: YMC A-312 (ODS) (fabricada por YMC Co., Ltd.).

Fase móvil: Acetonitrilo-agua (38:62) (ajustada a pH 2,2 con ácido fosfórico).

Velocidad de flujo: Aproximadamente 1,5 ml/min.

Detección: 254 nm.

Ejemplo 14 (contenido de disolvente residual)

20

Cada una de las mismas muestras usadas en el Ejemplo 12 se analizó por cromatografía de gases (GC) para determinar su contenido de disolvente residual. Los resultados así obtenidos se muestran en la Tabla 3 a continuación.

25

Tabla 3

Forma cristalina

Polvo	Ej. 1	Ej. 2	Ej. 3	Ej. 4	Ej. 5	Ej. 6	Ej. 7	Ej. 8
Contenido de disolvente residual (%)	0,14	0,40	0,03	0,50	0,19	0,18	0,05	0,95

Se puede ver, a partir de los resultados descritos anteriormente, que el contenido de disolvente residual del polvo cristalino del Ejemplo 2 está dentro de un límite aceptable.

(Condiciones de operación para el análisis por GC)

Detector: Detector de ionización de llama.

Columna: Shimadzu CBP 10-S25-050.

5 Temperatura de la columna: Puesta en funcionamiento a 40°C durante 5 minutos, y elevada después a 80°C en 5 minutos y mantenida a esa temperatura.

Temperatura de la cámara de vaporización: Una temperatura constante de alrededor de 200°.

Gas portador: Helio.

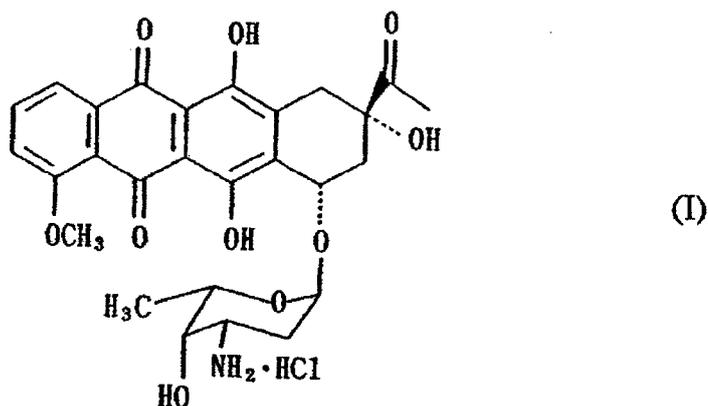
10 Caudal: un caudal constante en el cual el tiempo de retención de una sustancia patrón interno (dioxano) es aproximadamente 6 minutos.

Capacidad de explotación en la industria

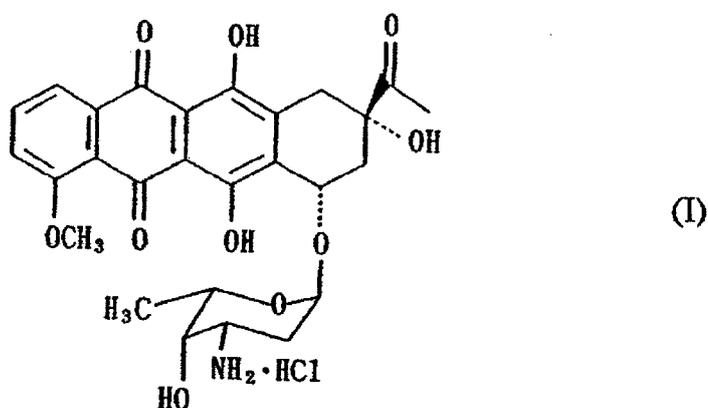
15 La presente invención proporciona formas cristalinas de hidrocloreto de DM que muestran una reducción en la higroscopicidad y en el contenido de disolvente residual y una mejora en la estabilidad química, así como un procedimiento que puede producirlas fácilmente. Por consiguiente, la presente invención se puede utilizar, por ejemplo, en el campo de la fabricación de medicinas y materiales masivos para medicinas.

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina de un antibiótico de antraciclina representado por la siguiente fórmula (I) y que tiene al menos valores 2θ característicos (en grados) de 6,18, 7,88, 9,82, 11,60, 13,30, 15,80, 20,88 y 23,12 medidos por el método de difracción de rayos X en polvo.



2. Un procedimiento para producir una forma cristalina de un antibiótico de antraciclina representado por la siguiente fórmula (I) y que tiene al menos valores 2θ característicos (en grados) de 6,18, 7,88, 9,82, 11,60, 13,30, 15,80, 20,88 y 23,12 medidos por el método de difracción de rayos X en polvo,



- a partir de una disolución que contiene el antibiótico, comprendiendo el procedimiento las etapas de preparar dicha disolución a partir de un polvo de hidrocloreuro de daunomicina que tiene una pureza relativa mayor que 90% usando un sistema disolvente compuesto de un mal disolvente para el antibiótico y un buen disolvente que es miscible con el mal disolvente y capaz de disolver el antibiótico; y someter la disolución así preparada a un tratamiento de cristalización, en donde el mal disolvente contiene al menos 1-butanol y en donde el buen disolvente se selecciona entre agua, metanol, etanol y mezclas de dos o más de ellos.

3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el mal disolvente se selecciona del grupo que consiste en 1-butanol, 1-butanol/acetona, 1-butanol/hexano y 1-butanol/éter diisopropílico.
- 5 4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende las etapas de disolver 1 parte en peso del antibiótico de fórmula (I) en 5 a 20 partes en peso de metanol, añadir 1-butanol o una mezcla de disolventes que comprende 1-butanol/acetona, 1-butanol/hexano o 1-butanol/éter diisopropílico (en donde la acetona, el hexano o el éter diisopropílico pueden comprender hasta 60% en volumen de la mezcla de disolventes) a la disolución resultante en una cantidad de
10 1 a 20 partes en volumen en base al volumen de metanol, y cristalizar el antibiótico a una temperatura en el intervalo de 5 a 35°C.

Fig. 1

