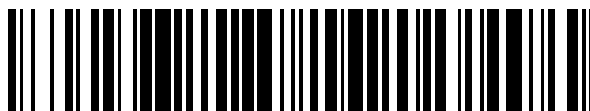


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 142**

51 Int. Cl.:  
**C07D 498/22** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05803350 .7**  
96 Fecha de presentación: **03.11.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1812448**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.08.2007**

54 Título: **Compuestos orgánicos**

30 Prioridad:  
**05.11.2004 US 625343 P**  
**07.01.2005 US 642131 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**09.10.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**09.10.2012**

73 Titular/es:  
**NOVARTIS AG**  
**LICHTSTRASSE 35**  
**4056 BASEL, CH**

72 Inventor/es:  
**HOEHN, Pascale;**  
**KOCH, Bernd y**  
**MUTZ, Michael**

74 Agente/Representante:  
**Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 388 142 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**

## Compuestos orgánicos

5 La invención se refiere a una nueva forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, al procedimiento para la preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, a composiciones que contienen la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, y la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad tumoral, cada una tal como se especifica a continuación y en las reivindicaciones.

10 La descripción también describe N-benzoil-estaurosporina amorfa, el procedimiento para la preparación de N-benzoil-estaurosporina amorfa, composiciones que contienen la N-benzoil-estaurosporina amorfa, y el uso de la N-benzoil-estaurosporina amorfa en métodos de diagnóstico o en el tratamiento terapéutico de animales de sangre caliente, especialmente seres humanos.

## Antecedentes de la invención

15 El fármaco N-benzoil-estaurosporina se utiliza como un agente antitumoral. En general, se conoce en la técnica la preparación de la N-benzoil-estaurosporina. Sin embargo, también se sabe que diferentes formas polimórficas del mismo fármaco pueden tener diferencias sustanciales en ciertas propiedades farmacéuticamente importantes. Por tanto, existe una necesidad continua de nuevas formas sólidas de N-benzoil-estaurosporina y nuevos métodos de preparación. Los documentos US 5.093.330, EP 0 296 110 y JP 5247955 no describen la forma cristalina de N-benzoilestaurosporina.

## Sumario de la Invención

20 Según un aspecto, la invención proporciona una forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina tal como se define en la reivindicación 1 incorporada en el presente documento como referencia. Preferiblemente, la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina tiene un patrón de difracción de rayos X con un pico en un ángulo de refracción 2-theta ( $\theta$ ) de  $8,7 \pm 0,2$  tal como se representa en la figura 1.

25 Según todavía otro aspecto, la invención proporciona una composición que contiene N-benzoil-estaurosporina en una forma sólida, en la que al menos el 80% en peso de la N-benzoil-estaurosporina sólida es su forma cristalina II que tiene especialmente un patrón de difracción de rayos X con un pico en un ángulo de refracción  $2\theta$  de  $8,7 \pm 0,2$  tal como se representa en la figura 1. Se proporcionan diversas realizaciones y variantes.

Según todavía otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que incluye la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, la composición farmacéutica es para administración oral.

30 La presente descripción también describe N-benzoil-estaurosporina amorfa, el procedimiento para la preparación de la N-benzoil-estaurosporina amorfa, y composiciones que contienen N-benzoil-estaurosporina amorfa.

35 La presente descripción proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que incluye una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de N-benzoil-estaurosporina amorfa, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas de este aspecto de la invención pueden formularse, por ejemplo, para administración oral.

Según todavía otro aspecto, la invención proporciona procedimientos para purificar la estaurosporina tal como se define en las reivindicaciones 13 y 14, ambas incorporadas en el presente documento como referencia.

40 Según todavía otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para la preparación de N-benzoil-estaurosporina, mediante la reacción de la estaurosporina con anhídrido benzoico. Este procedimiento, definido en la reivindicación 16 incorporada en el presente documento como referencia, comprende además opcionalmente sembrar la disolución de reacción para producir la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, la presente descripción también describe un procedimiento en el que se produce la forma amorfa.

La presente descripción también proporciona un procedimiento para la preparación de N-benzoil-estaurosporina amorfa, que implica el secado por pulverización de una disolución que contiene N-benzoil-estaurosporina.

45 También se proporcionan en la presente descripción composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de N-benzoil-estaurosporina amorfa, producidas mediante el procedimiento descrito, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Según todavía otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para fabricar la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, incluyendo el procedimiento:

(a) proporcionar una disolución de N-benzoil-estaurosporina en un disolvente o bien prótico o bien aprótico;

5 (b) sembrar con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, y poner en contacto la mezcla de reacción con un disolvente de alcohol para formar un precipitado; y

(c) aislar el precipitado, que es la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina. Se proporcionan diversas realizaciones y variantes.

Breve descripción de los dibujos

10 La figura 1 muestra el diagrama de difracción en polvo de rayos X de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina.

La figura 2 muestra un espectro infrarrojo característico de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina.

La figura 3 muestra el diagrama de difracción en polvo de rayos X de una forma puramente amorfa de N-benzoil-estaurosporina.

15 La figura 4 muestra el diagrama de difracción en polvo de rayos X de una forma esencialmente amorfa de N-benzoil-estaurosporina.

Descripción detallada de la invención

20 A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque pueden usarse cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o prueba de la presente invención, se describen los métodos y materiales preferidos.

Para los propósitos de la presente invención, los siguientes términos se definen a continuación.

25 El compuesto cristalino, designado en el presente documento "forma cristalina II" y denominado a continuación en el presente documento la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina. Se caracteriza por medio de difracción en polvo de rayos X, y/o espectroscopía infrarroja. Además se describe a continuación.

"Farmacéuticamente aceptable" significa lo que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que en general no es tóxica y no es biológicamente indeseable, e incluye lo que es aceptable para uso veterinario y/o para uso farmacéutico humano.

30 "Anti-disolvente" es un disolvente que, cuando se añade a una disolución existente de una sustancia, reduce la solubilidad de la sustancia.

35 El término "composición" incluye, pero no se limita a, un polvo, una disolución, una suspensión, un gel, una pomada, una emulsión, y/o mezclas de los mismos. El término "composición" pretende abarcar un producto que contiene los componentes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. Una "composición" puede contener un solo compuesto o una mezcla de compuestos. Un "compuesto" es una sustancia química que incluye moléculas de la misma estructura química.

40 El término "composición farmacéutica" pretende abarcar un producto que comprende el/los principio(s) activo(s), excipientes farmacéuticamente aceptables que forman el vehículo, así como cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de la combinación, formación de complejo o acumulación de cualesquiera dos o más de los componentes, o de la disociación de uno o más de los ingredientes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los componentes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención abarcan cualquier composición hecha mediante la mezcla del principio activo, principio(s) activo(s) adicional(es), y excipientes farmacéuticamente aceptables.

45 El término "excipiente" significa un componente de un producto farmacéutico que no es el principio activo, tal como carga, diluyente y vehículo. Los excipientes que son útiles en la preparación de una composición farmacéutica preferiblemente son en general seguros, no tóxicos y ni biológicamente ni de otra manera indeseables, y son

aceptables para uso veterinario, así como para uso farmacéutico humano. “Un excipiente farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, incluye tanto uno como más de uno de tales excipientes.

5 “Cantidad terapéuticamente eficaz” significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra para tratar o prevenir una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento o prevención de la enfermedad. La “cantidad terapéuticamente eficaz” variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad y la edad, peso, etcétera del paciente que va a tratarse.

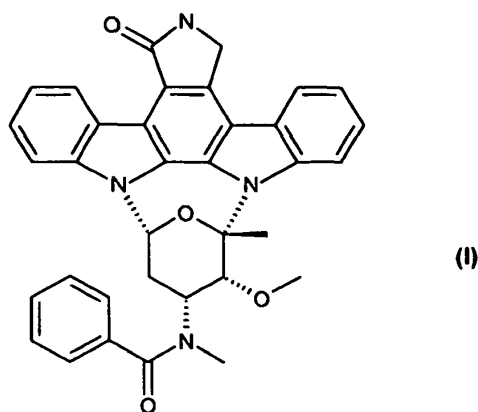
10 Cuando se hace referencia a una reacción química, los términos “tratar”, “poner en contacto” y “hacer reaccionar”, se usan de una manera intercambiable en el presente documento, y se refieren a añadir o mezclar dos o más reactivos en condiciones apropiadas para producir el producto indicado y/o deseado. Debe apreciarse que la reacción que produce el producto indicado y/o deseado puede no necesariamente resultar directamente de la combinación de dos reactivos que se añadieron inicialmente, es decir, puede haber uno o más productos intermedios que se producen en la mezcla que finalmente conduce a la formación del producto indicado y/o deseado.

15 El término “sustancialmente libre de”, con referencia a una composición, tal como se usa en el presente documento, significa que la forma de sustancia que está libre la composición, no puede detectarse mediante los métodos conocidos por los expertos en la técnica.

20 El término “amorfo” significa un material que puede estar sustancialmente libre de impurezas cristalinas, o contener cantidades sustanciales de impurezas cristalinas. El material amorfo que contiene cantidades sustanciales de materiales cristalinos como impurezas, se denomina por el presente documento “N-benzoil-estaurosporina esencialmente amorfa”. Tal como se ilustra en la figura 4, la presencia de impurezas cristalinas no permite tener un buen patrón en forma de halo típico de la forma amorfa que está sustancialmente libre de material cristalino. El material amorfo que está sustancialmente libre de formas cristalinas se denomina por el presente documento “N-benzoil-estaurosporina puramente amorfa”. La figura 3 ilustra un patrón de difractograma de rayos X para esta forma, en donde la forma del halo del patrón ilustra la ausencia sustancial de la estructura cristalina. Faltan en particular los picos en las regiones características de la forma cristalina.

Los ejemplos ilustran además procedimientos para obtener tanto “N-benzoil-estaurosporina esencialmente amorfa” como “N-benzoil-estaurosporina puramente amorfa”.

30 La N-benzoil-estaurosporina se conoce como (9 $\alpha$ ,10 $\beta$ ,11 $\beta$ ,13 $\alpha$ )-N-(2,3,10,11,12,13-hexahidro-10-metoxi-9-metil-1-oxo-9,13-epoxi-1h,9H-di-indolo-[1,2,3-gh:3',2',1'm]-pirrolo[3,4-j][1,7]-benzodiazonin-11-il)-N-metil-benzamida), y tiene la siguiente estructura química:



35 La patente estadounidense n.º 5.093.330 (la patente ‘330), incorporada en el presente documento como referencia en su totalidad, reivindica la N-benzoil-estaurosporina. La invención se refiere especialmente a una forma particular que preferiblemente se denomina a continuación en el presente documento forma cristalina II de un derivado de N-benzoil-estaurosporina del compuesto de la fórmula I, descrito anteriormente, y la presente descripción también describe las formas amorfas de N-benzoil-estaurosporina.

40 Diferentes formas sólidas del mismo fármaco pueden presentar diferentes propiedades, incluyendo las características que tienen implicaciones funcionales con respecto a su uso como fármaco, pueden tener diferencias sustanciales en tales propiedades farmacéuticamente importantes como velocidades de disolución y biodisponibilidad. De la misma manera, los polimorfos diferentes pueden tener propiedades de procesamiento diferentes, tales como hidrosopicidad, fluidez y similares, que podrían afectar su idoneidad como productos farmacéuticos activos para producción comercial.

Los patrones de difracción en polvo de rayos X se midieron en un Scintag INC X 1 usando la geometría de parafoco de Bragg-Brentano. El patrón de difracción de rayos X representado en la figura 1 se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Picos de difracción en polvo de rayos X para la modificación del cristal en la forma II de la N-benzoil-estaurosporina.

2 $\theta$ (grados)	Espacio-d (Å)	Intensidad relativa
3,4	26,1	media
6,0	14,8	media
7,8	11,3	media
8,7	10,1	fuerte
9,2	9,6	media
9,7	9,1	media
10,1	8,8	media
10,4	8,5	baja
11,2	7,9	media
12,6	7,0	media
14,1	6,3	media
15,7	5,7	media
16,8	5,3	media
18,2	4,9	media
18,9	4,7	media
19,3	4,6	media
19,6	4,5	fuerte
20,2	4,4	fuerte
24,5	3,6	media

5

Debe tenerse en mente que se esperan ligeras variaciones en los ángulos  $2\theta$  observados o en los valores de espacio, basándose en el difractómetro específico empleado, el analista, y la técnica de preparación de muestras. Se espera más variación para las intensidades pico relativas. La identificación de la forma cristalina exacta de un compuesto debe basarse principalmente en los ángulos  $2\theta$  observados, atribuyéndose una menor importancia a las intensidades pico relativas.

10

Está presente algún margen de error en cada una de las asignaciones de ángulos  $2\theta$  reportadas en la presente. El margen de error asignado, en una variante preferida, la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, es de aproximadamente  $\pm 0,2$  para cada una de las asignaciones de picos.

15

La forma cristalina II de la N-benzoil-estaurosporina también puede caracterizarse mediante espectroscopía infrarroja. La forma cristalina II presenta un patrón de absorción característico en el análisis espectroscópico infrarrojo (IR), tal como se representa en la figura 2. El análisis espectroscópico infrarrojo se midió en un Bruker IFS-55. La forma cristalina II de la N-benzoil-estaurosporina tiene absorciones características, que pueden distinguirse

de aquellas de otros polimorfos, en aproximadamente 789, 773, 743, 704, 1066, 1026, 1458, 1398, 1383, 1602, 1577, 1497, 1627, 1680, 2934, y 3055  $\text{cm}^{-1}$  en el análisis espectroscópico infrarrojo. Está presente algún margen de error en cada una de las absorciones características reportadas en la presente. El margen de error asignado en las absorciones características es de aproximadamente 2  $\text{cm}^{-1}$  en el intervalo de 1900 a 800  $\text{cm}^{-1}$ .

- 5 Una o más de las propiedades físicas y/o de las propiedades espectroscópicas, pueden ser la base para caracterizar las formas de cristal o polimórficas de la N-benzoil-estaurosporina.

La invención también proporciona una composición que contiene N-benzoil-estaurosporina sólida, que es al menos el 80%, en peso total de la N-benzoil-estaurosporina sólida en la composición, su forma cristalina II. La forma preferida de esta composición es de un polvo sólido de N-benzoil-estaurosporina adecuado para usar como principio activo en la formulación de productos farmacéuticos. El resto de la N-benzoil-estaurosporina sólida en la composición, es decir, el 20% o menos del peso total de la N-benzoil-estaurosporina, puede ser, por ejemplo, de otras formas cristalinas de N-benzoil-estaurosporina. En una realización específica, la composición contiene al menos el 90% de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina con respecto al peso total de la N-benzoil-estaurosporina sólida en la composición. En otra realización específica, la composición contiene al menos el 95% de la forma cristalina II con respecto al peso total de la N-benzoil-estaurosporina sólida en la composición.

La presente descripción también proporciona procedimientos para purificar la estaurosporina. Aunque la descripción no está limitada a ninguna teoría específica, los inventores encontraron que un procedimiento implica:

- (a) proporcionar una suspensión de estaurosporina en un disolvente de alcohol;
- (b) poner en contacto la suspensión con ácido metanosulfónico para obtener una disolución;
- 20 (c) poner en contacto adicionalmente la disolución con trietilamina; y
- (d) aislar el producto.

El procedimiento comprende además lavar el producto en un disolvente prótico o aprótico. Un ejemplo no limitante de un disolvente prótico es etanol, y un ejemplo no limitante de un disolvente aprótico es tetrahidrofurano (THF). La invención también proporciona un procedimiento para:

- 25 (a) proporcionar una disolución de estaurosporina bruta en un disolvente o bien prótico o bien aprótico;
- (b) sembrar la disolución con estaurosporina purificada;
- (c) poner en contacto la mezcla de reacción con etanol para formar un precipitado; y
- (d) aislar el producto que es la estaurosporina purificada.

30 Después de que se purifica el material de partida, el material puede convertirse o bien en la forma cristalina II o bien amorfa de la N-benzoil-estaurosporina. El material puede convertirse a la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, un procedimiento dado a conocer que comprende:

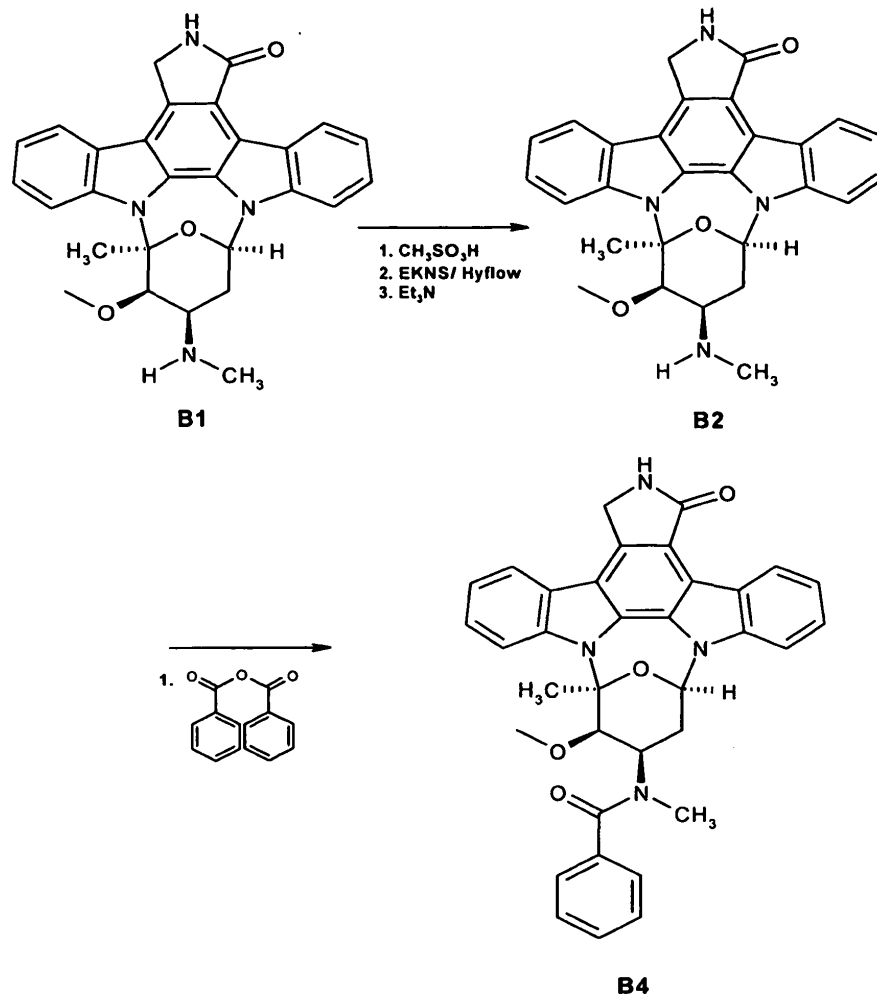
- (a) hacer reaccionar la estaurosporina en un disolvente de alcohol, tal como etanol, con anhídrido benzoico; y
- (b) sembrar la disolución de reacción con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina, para producir el producto;
- 35 (c) aislar el producto que es la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina.

El material puede convertirse en la N-benzoil-estaurosporina amorfa mediante:

- (a) hacer reaccionar la estaurosporina en un disolvente, tal como etanol o THF, con anhídrido benzoico; y
- (b) sembrar la reacción con N-benzoil-estaurosporina amorfa, para producir el producto; y
- (c) aislar el producto que es N-benzoil-estaurosporina amorfa.

40 El producto puede lavarse adicionalmente con el disolvente varias veces para producir la N-benzoil-estaurosporina esencialmente amorfa.

También puede emplearse la técnica de secado por pulverización para preparar la N-benzoil-estaurosporina puramente amorfa.



- 5 La descripción también proporciona una composición que contiene N-benzoil-estaurosporina esencialmente amorfa.  
La descripción también proporciona una composición que contiene N-benzoil-estaurosporina puramente amorfa.

También se proporciona un procedimiento para la preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina. El procedimiento implica:

- proporcionar una disolución de N-benzoil-estaurosporina en un disolvente o bien prótico o bien aprótico;
- sembrar la disolución con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina;
- 10 poner en contacto la suspensión con un disolvente de alcohol para formar un precipitado; y
- aislar el precipitado, que es la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina.

Los ejemplos no limitantes de los solventes próticos o apróticos se enumeran en la tabla a continuación:

---

**Ejemplos**

Alcohol bencílico

Etanol

Dimetilsulfóxido (DMSO)

Dimetilformamida (DMF)

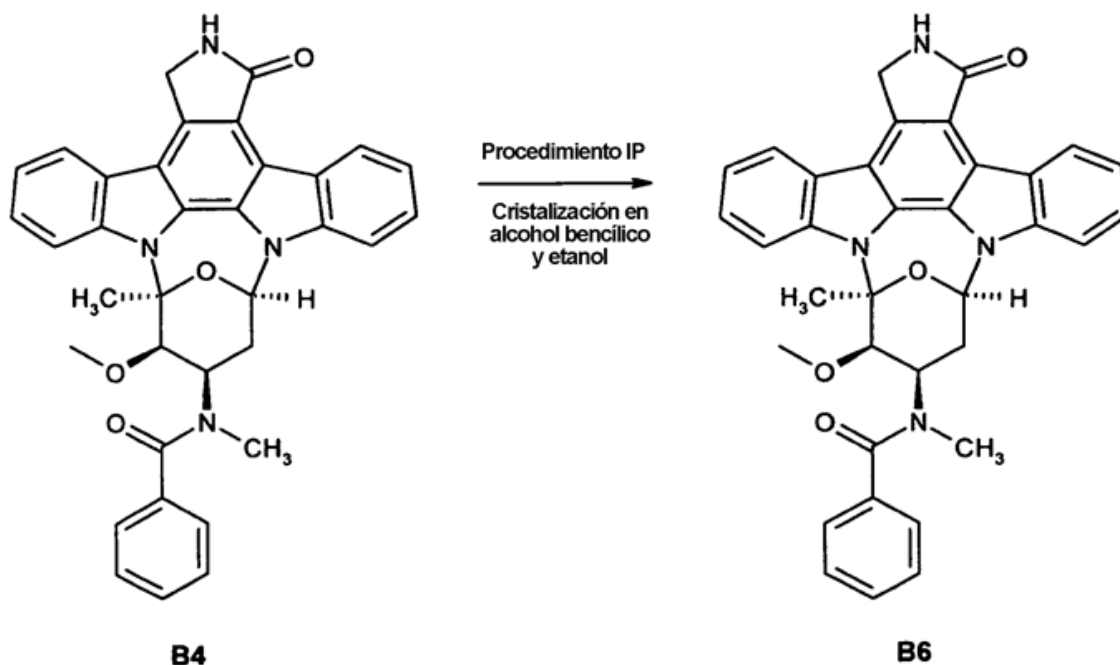
THF

Ácido acético

Polietilenglicol (PEG 200)

5 Los picos del difractograma en polvo de rayos X de la forma cristalina II que son de una concentración media a baja, obtenidos de los solventes anteriormente identificados, pueden mostrar algunas variaciones debido a la presencia de diferentes moléculas de disolvente dentro de la estructura reticular del cristal.

10 En una realización, se disuelve la N-benzoil-estaurosporina en alcohol bencílico, se precipita mediante la adición de cristales de siembra de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina y la adición de etanol como anti-disolvente, y se obtiene la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina. Este procedimiento es altamente reproducible, y el producto cristalino resultante tiene una buena filtración. El contenido de disolvente residual en B6 es de alrededor del 4,3% en p/p del alcohol bencílico, y del 0,5 al 1% en p/p del etanol. El procedimiento se muestra esquemáticamente como:



15 Las condiciones anteriores sobre la preparación selectiva de las formas de cristal individuales no son conclusivas. En general, por ejemplo, es posible variar los parámetros, tales como la razón en peso del compuesto de la fórmula (I) al disolvente y al anti-disolvente.

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que contienen una forma cristalina II o amorfa de N-benzoil-estaurosporina y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además del compuesto activo, la composición farmacéutica incluye uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, también conocidos como excipientes, que habitualmente carecen de actividad farmacéutica, pero tienen diversas propiedades útiles, que pueden, por ejemplo,



potenciar la estabilidad, esterilidad, biodisponibilidad y facilidad de formulación de una composición farmacéutica. Estos vehículos son farmacéuticamente aceptables, significando que no son peligrosos para los seres humanos o animales cuando se toman apropiadamente, y son compatibles con otros componentes en una formulación dada. Los vehículos pueden ser sólidos, semi-sólidos o líquidos, y pueden formularse con el compuesto a granel, pero finalmente en la forma de una formulación de dosis unitaria, es decir, físicamente separada, hasta que contenga una cantidad específica de principio activo, tal como un comprimido o una cápsula. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir, además del compuesto de esta invención, uno o más compuestos farmacéuticos activos.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de suspensiones, disoluciones, elixires, aerosoles o formas farmacéuticas sólida.

Las composiciones farmacéuticas se contemplan en diversas formulaciones adecuadas para diversos modos de administración, incluyendo, pero no limitándose a, la administración por inhalación, oral, rectal, parenteral (incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular e intravenosa), implantable y transdérmica. La vía de administración más adecuada en un caso dado depende de la duración del estado del sujeto, de la duración del tratamiento deseado, de la naturaleza y gravedad del estado que está tratándose, y de la formulación particular que está usándose. Las formulaciones pueden estar en una forma a granel o de dosificación unitaria, y pueden prepararse mediante métodos bien conocidos en la técnica para una formulación dada.

La cantidad de principio activo incluida en una forma farmacéutica unitaria depende del tipo de formulación en la que se presente el principio activo. Una composición farmacéutica generalmente contendrá de aproximadamente el 0,1% en peso a aproximadamente el 99% en peso del principio activo, de manera preferible de aproximadamente el 1% en peso al 50% en peso para administración oral, y de aproximadamente el 0,2% en peso a aproximadamente el 20% en peso para administración parenteral.

Las formulaciones adecuadas para administración oral incluyen cápsulas (duras y blandas), cachets, pastillas para chupar, jarabes, supositorios y comprimidos, cada uno conteniendo una cantidad predeterminada del compuesto activo; como un polvo o gránulos, como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite. Tales formulaciones pueden prepararse mediante cualquier método farmacéutico adecuado que incluya la etapa de poner en asociación el compuesto activo y el vehículo o los vehículos adecuados. La cantidad de principio activo por dosificación unitaria de las formulaciones sólidas puede ser tal como se describe en la técnica anterior para las preparaciones de N-benzoil-estaurosporina.

En otro aspecto, la invención también proporciona los compuestos y las composiciones farmacéuticas de esta invención para su uso en métodos de tratamiento. Los compuestos y composiciones de esta invención pueden administrarse a un sujeto en una cantidad eficaz para usarse para el tratamiento y la prevención de los estados dados a conocer en la patente '330. Por sujeto se entiende un ser humano o un animal, preferiblemente un ser humano. Los animales contemplados por esta invención incluyen cualquier animal que puede tratarse con seguridad mediante los compuestos de esta invención. Más notoriamente, la forma cristalina II y amorfa de la N-benzoil-estaurosporina muestran una alta actividad anti-proliferativa y antitumoral, como un resultado de la inhibición de la proteína cinasa C (PKC), que puede ser extremadamente útil para el tratamiento de cáncer. Además, su inhibición altamente selectiva y potente de PKC, puede conducir a resultados clínicos superiores para el paciente, es decir, demorar o suprimir el progreso de la enfermedad, con regímenes igualmente tolerables. Las aplicaciones potenciales incluyen una variedad de tumores sólidos, y más específicamente, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de ovario y leucemia. Además, diversas otras indicaciones que pueden afectarse por la actividad de PKC, pueden tratarse de manera eficaz mediante estas composiciones, incluyendo resistencia a múltiples fármacos (MDR), uno de los principales problemas en la quimioterapia de cáncer empleada en la actualidad, y en las enfermedades inflamatorias en general.

La invención se refiere especialmente a la forma cristalina II dada a conocer en el presente documento para el tratamiento de una de dichas enfermedades o en la preparación de un agente farmacológico para este tratamiento.

La descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de animales de sangre caliente que padecen dichas enfermedades, especialmente una enfermedad tumoral, en la que se administra una cantidad de la forma cristalina II o amorfa de la N-benzoil-estaurosporina, que es eficaz contra la enfermedad concernida, especialmente una cantidad con una eficacia anti-proliferativa, y especialmente inhibidora de tumor, a los animales de sangre caliente que necesitan dicho tratamiento. Además, la descripción se refiere al uso de la forma cristalina II o amorfa de la N-benzoil-estaurosporina para la inhibición de PKC anteriormente mencionada o como parte de la invención del uso de la forma II de benzoilestarurospina para la preparación de composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal, especialmente para el tratamiento de una variedad de tumores sólidos, y más específicamente, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de ovario y leucemia. Dependiendo de la especie, edad, estado individual, modo de administración, y del cuadro clínico en cuestión, se administran dosis eficaces, por ejemplo dosis diarias de aproximadamente 1-2500 mg, preferiblemente de 1-1000 mg, especialmente de 5-500 mg, a animales de sangre caliente de un peso corporal de aproximadamente 70 kg.

La invención también se refiere a preparaciones farmacéuticas que contienen una cantidad eficaz, especialmente una cantidad eficaz para la prevención o el tratamiento de una de dichas enfermedades, de la forma cristalina II o amorfa de la N-benzoil-estaurosporina de fórmula (I), junto con vehículos farmacéuticamente aceptables que sean adecuados para administración tópica, enteral, por ejemplo oral o rectal, o parenteral, y pueden ser inorgánicos u orgánicos, y sólidos o líquidos. Especialmente comprimidos o cápsulas de gelatina que contienen la sustancia activa junto con diluyentes, por ejemplo lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicerina; y/o lubricantes, por ejemplo sílice, talco, ácido esteárico o sales de los mismos, normalmente estearato de magnesio o calcio; y/o PEG, se usan para administración oral. Los comprimidos de la misma manera pueden contener aglutinantes, por ejemplo silicato de magnesio y aluminio, almidones, típicamente almidón de maíz, de trigo, o de arroz, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, y/o polivinilpirrolidona; y si se desea, disgregantes, por ejemplo almidones, ágar, ácido algínico o una sal del mismo, típicamente alginato de sodio; y/o mezclas efervescentes, o adsorbentes, agentes colorantes, saborizantes, y agentes edulcorantes. Los compuestos farmacológicamente activos de la presente invención pueden usarse además en forma de preparaciones para administración parenteral o disoluciones para infusión. Tales disoluciones preferiblemente son disoluciones o suspensiones acuosas isotónicas, preparándose éstas posiblemente antes de usarse, por ejemplo, en el caso de las preparaciones liofilizadas que contienen la sustancia activa o bien sola o bien junto con un vehículo, por ejemplo manitol. Las sustancias farmacéuticas se pueden esterilizar y/o pueden contener excipientes, por ejemplo conservantes, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes; solubilizantes; sales para la regulación de la presión osmótica; y/o tampones. Las presentes preparaciones farmacéuticas que, si se desea, pueden contener otras sustancias farmacológicamente activas, tales como antibióticos, se preparan de una manera conocida por sí misma, por ejemplo por medio de procedimientos convencionales de mezcla, granulación, recubrimiento, disolución, o liofilización, y pueden contener de aproximadamente el 1 al 100%, especialmente de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 20% de la sustancia o de las sustancias activas.

La invención se define además por referencia a los siguientes ejemplos que se describen con detalle la preparación del compuesto y de las composiciones de la presente invención, así como su utilidad. Los siguientes ejemplos que siguen no pretenden limitar el alcance de la invención tal como se definió anteriormente en el presente documento o tal como se reivindica a continuación.

### Ejemplos

#### **Ejemplo 1 Purificación de estaurosporina B1 para dar estaurosporina B2 usando ácido metanosulfónico y trietilamina (ejemplo de referencia)**

Se carga un reactor con estaurosporina B1 y etanol. La suspensión se calienta hasta aproximadamente 70°C. Se añade ácido metanosulfónico a la suspensión, y se envejece la disolución obtenida. Se añaden carbón activado y Hyflo, y se envejece la mezcla. Se filtra la suspensión, y se lavan el aparato del filtro y la torta del filtro varias veces con etanol. Se transfiere la disolución filtrada transparente a otro reactor, y se enfría hasta aproximadamente 60°C. Se añade lentamente trietilamina diluida en etanol a la mezcla de reacción. Después, se enfría la suspensión hasta aproximadamente 20°C, y se envejece. Se aísla la estaurosporina B2 mediante filtración. Se aclara el producto varias veces con etanol.

#### **Ejemplo 2 Purificación de estaurosporina B1 bruta para dar estaurosporina B2 a través de cristalización**

Se carga un reactor con estaurosporina B1 y alcohol bencílico. Se calienta la suspensión hasta aproximadamente 85°C y se envejece. Se añaden carbón activado y Hyflo a la disolución, y se envejece nuevamente la mezcla. Se filtra la suspensión a aproximadamente 90°C. Se lavan el aparato del filtro y la torta del filtro varias veces con alcohol bencílico. Se transfiere la disolución filtrada transparente a otro reactor, y se enfría hasta aproximadamente 70°C. Se siembra la disolución con estaurosporina B2 suspendida en etanol. Después, se añade etanol a la suspensión, y se envejece la suspensión, y luego se enfría a aproximadamente 0°C. Se envejece la suspensión nuevamente durante al menos 2 horas a aproximadamente 0°C. Se aísla la estaurosporina B2 mediante filtración. Se aclara el producto varias veces con etanol.

#### **Ejemplo 3 Bencilación de estaurosporina B2 para preparar N-benzoil-estaurosporina esencialmente amorfa.**

Se carga un reactor con estaurosporina B2 con anhídrido benzoico, etanol y agua. Se calienta la mezcla de reacción hasta aproximadamente 70°C, y se envejece. Se filtra la disolución, y se lavan el aparato del filtro y la torta del filtro varias veces con etanol. Se transfiere la disolución filtrada a otro reactor, y se enfría hasta aproximadamente 60°C. Se añade lentamente agua a la disolución. Se siembra la disolución con N-benzoil-estaurosporina amorfa. Se envejece la suspensión, luego se enfría hasta aproximadamente 20°C, y luego se envejece nuevamente. Se aísla la N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara la torta húmeda de N-benzoil-estaurosporina varias veces con etanol absoluto. Luego se vuelve a suspender la torta húmeda en el aparato del filtro en etanol, se envejece a aproximadamente 25°C, y luego se enfría hasta aproximadamente 0-5°C, y se envejece nuevamente. Esta etapa del procedimiento puede repetirse varias veces. Se aísla la N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se seca la torta húmeda en un horno a vacío a una temperatura externa de aproximadamente 40°C y un vacío de aproximadamente

10-20 mbar durante aproximadamente 24 horas, para obtener el producto: 35-40 g de torta seca: 27 g de control teórico. Rendimiento: aproximadamente el 82% del control teórico en relación con el 100% de B1.

El uso de etanol en la reacción anterior puede reemplazarse con THF.

**Ejemplo 4 Bencilación de estaurosporina B2 para preparar la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina B4.**

Se carga un reactor con estaurosporina B2 con anhídrido benzoico, etanol absoluto y agua. Se calienta la mezcla de reacción hasta aproximadamente 70°C y se envejece. Al final del tiempo de reacción, se siembra la mezcla de reacción con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina suspendida en etanol absoluto. Después de envejecerse, se añaden lentamente etanol absoluto y agua a la suspensión. Se envejece la suspensión de nuevo, luego se enfría hasta aproximadamente 0°C, antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara la torta húmeda de N-benzoil-estaurosporina varias veces con etanol absoluto, y luego se seca en un horno a vacío a una temperatura externa de 60°C, y con un vacío de aproximadamente 5 a 30 mbar durante aproximadamente 16 horas, para obtener el producto: 39,70 g de torta seca: 27,2 g de control teórico. Rendimiento: aproximadamente el 91,5% del control teórico en relación con el 100% de B1.

**Ejemplo 5 Preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina usando alcohol bencílico y etanol.**

Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina bruta y alcohol bencílico. Se calienta la mezcla hasta 85°C, y posteriormente se envejece la disolución. Se enfría la disolución hasta aproximadamente 70°C, luego se siembra con la forma cristalina purificada II de N-benzoil-estaurosporina B6 suspendida en etanol. Después, se añade etanol, y se envejece la suspensión, luego se enfría hasta aproximadamente 0°C, antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara la torta húmeda con etanol varias veces, y se seca.

**Ejemplo 6 Preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina usando ácido acético y etanol.**

Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina bruta y ácido acético. Se calienta la mezcla hasta aproximadamente 70°C, y posteriormente se envejece la disolución. Luego se siembra la disolución con la forma cristalina purificada II de N-benzoil-estaurosporina B6 suspendida en etanol. Después, se añade etanol a la suspensión, y se envejece la suspensión, luego se enfría hasta aproximadamente 20°C antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara la torta húmeda con etanol varias veces, y se seca.

**Ejemplo 7 Preparación de la forma cristalina II del cristal de N-benzoil-estaurosporina usando PEG.**

Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina bruta y PEG. Se calienta la mezcla hasta aproximadamente 90°C, y posteriormente se envejece la disolución. Se enfría la disolución hasta aproximadamente 70°C, y se siembra con la forma cristalina purificada II de N-benzoil-estaurosporina B6 suspendida en etanol. Después, se añaden lentamente etanol/agua en una razón de 1:1, y luego la suspensión se envejece antes de enfriarse hasta 20°C. Se aísla la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara la torta húmeda con etanol varias veces, y se seca.

**Ejemplo 8 Preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina usando DMSO.**

Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina y DMSO. Se calienta la mezcla hasta aproximadamente 70°C, y posteriormente se envejece la disolución, y luego se siembra con la forma cristalina purificada II de N-benzoil-estaurosporina B6 suspendida en etanol. Después, se añade etanol a la suspensión, y se envejece la suspensión a 70°C, y luego se enfría hasta aproximadamente 20°C. Se envejece la suspensión nuevamente antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara el producto con etanol varias veces, y se seca.

**Ejemplo 9 Preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina usando DMF.**

Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina y dimetil-formamida. Se calienta la mezcla hasta aproximadamente 70°C, se envejece, y luego se siembra con la forma cristalina purificada II de N-benzoil-estaurosporina B8 en etanol. Después, se añade etanol a la suspensión, y se envejece la suspensión a aproximadamente 70°C, y luego se enfría hasta aproximadamente 20°C. Se envejece la suspensión nuevamente antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara el producto con etanol varias veces, y se seca.

**Ejemplo de referencia 10 Preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina usando THF.**

5 Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina amorfa y THF. Se calienta la mezcla hasta aproximadamente 65°C, se envejece, y luego se siembra con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina B6 en tetrahidrofurano. Se envejece la suspensión, luego se enfría hasta aproximadamente 20°C, y nuevamente se envejece antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara el producto varias veces con tetrahidrofurano, y se seca.

**Ejemplo de referencia 11 Preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina usando etanol.**

10 Se carga un reactor con N-benzoil-estaurosporina amorfa y etanol. Se calienta la mezcla hasta aproximadamente 70°C, se envejece, y luego se siembra con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina B6 en etanol. Se envejece la suspensión, se enfría hasta aproximadamente 20°C, y nuevamente se envejece antes de que se aisle la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina mediante filtración. Se aclara el producto varias veces con etanol, y se seca.

**Ejemplo de referencia 12 Experimento de secado por pulverización para obtener la PKC 412 amorfa.**

15 Se prepara la disolución de alimentación disolviendo 10 g de PKC 412 (forma cristalina II) en aproximadamente 160 g de diclorometano. La alimentación está lista para atomizarse en gotitas, desde donde se evapora el disolvente orgánico en la cámara de secado mediante nitrógeno calentado, dando como resultado la formación de PKC 412 amorfa. La temperatura de entrada se establece a 60°C, mientras que la temperatura de salida se establece en 40°C. El contenido de disolvente residual después del secado por pulverización fue de aproximadamente el 1% en p/p. Se seca la PKC 412 adicionalmente a vacío, para obtener un material libre de disolvente.

**Ejemplo de referencia 13 Del experimento de secado por pulverización para obtener la PKC 412 amorfa.**

20 Se preparó la disolución de alimentación disolviendo 7 g de PKC 412 (forma cristalina II) en aproximadamente 400 g de THF. La alimentación está lista para atomizarse en gotitas, desde donde se evapora el disolvente orgánico en la cámara de secado mediante nitrógeno calentado, dando como resultado la formación de PKC 412 amorfa. La temperatura de entrada se establece en 110-120°C, mientras que la temperatura de salida se establece en 70-80°C. El contenido de disolvente residual después del secado por pulverización es de aproximadamente el 3% en p/p. La PKC 412 Se seca adicionalmente a vacío, para obtener un material libre de disolvente.

**Ejemplo de referencia 14 Del experimento de secado por pulverización para obtener PKC 412 amorfa**

30 Se prepara la disolución de alimentación disolviendo 7 g de PKC 412 (forma cristalina II) en aproximadamente 350 g de etanol/ácido acético, 70:30 en p/p. La alimentación está lista para atomizarse en gotitas desde donde se evapora el disolvente orgánico en la cámara de secado mediante nitrógeno calentado, dando como resultado la formación de PKC 412 amorfa. La temperatura de entrada se establece en 215°C, mientras que la temperatura de salida se establece en 120°C. El contenido de disolvente residual después del secado por pulverización está debajo del 0,5%. No se requiere secado convencional adicional.

**Ejemplo 15: Comprimidos con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina**

35 Normalmente se preparan comprimidos que contienen 100 mg de la sustancia activa nombrada en el título, en la siguiente composición:

Composición	Cantidad (mg)
Principio activo	100
Lactosa cristalina	240
Avicel	80
PVPPXL	20
Aerosil	2
Estearato de magnesio	5
<b>Total</b>	<b>447</b>

Preparación: La sustancia activa se mezcla con los materiales de vehículo, y se comprimen en una máquina formadora de comprimidos (Korsch EKO, diámetro de la perforadora de 10 mm).

Avicel es celulosa microcristalina (FMC, Filadelfia, EE.UU.).

PVPPXL es polivinilpolipirrolidona, reticulada (BASF, Alemania).

- 5 Aerosil es dióxido de silicio (Degussa, Alemania).

#### **Ejemplo 16 Cápsulas con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina**

Se preparan normalmente cápsulas que contienen 100 mg del compuesto nombrado en el título como sustancia activa, en la siguiente composición:

<b>Composición</b>	<b>Cantidad (mg)</b>
Principio activo	100
Avicel	200
PVPPXL	15
Aerosil	2
Estearato de magnesio	1,5
<b>Total</b>	<b>318,5</b>

- 10 Se preparan las cápsulas mezclando los componentes y cargando la mezcla en cápsulas de gelatina dura, tamaño 1.

En general, para referencia, la forma cristalina II de N-benzoilestaurosporina puede obtenerse mediante

- a) un procedimiento para la preparación de la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina que comprende:

(a) proporcionar una disolución de N-benzoil-estaurosporina en un disolvente;

- 15 (b) poner en contacto la disolución con un segundo disolvente para formar un precipitado; y

(c) aislar el precipitado; o

mediante un procedimiento según el párrafo anterior a), en el que el disolvente se selecciona de alcohol bencílico, DMF, DMSO, ácido acético o PEG; o

- 20 mediante un procedimiento según el párrafo anterior a), en el que el segundo disolvente se selecciona de etanol, THF o una disolución de etanol en agua; o

mediante el procedimiento según el párrafo anterior a), que comprende además secar el precipitado aislado.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto que es una forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina,  
 que tiene un patrón de difracción de rayos X, expresado en cuanto a ángulos  $2\theta$ , que incluye 5 o más picos seleccionados a partir del grupo que consiste en aproximadamente 3,4, 6,0, 7,8, 8,7, 9,2, 9,7, 10,1, 10,4, 11,2, 12,6, 14,1, 15,7, 16,8, 18,2, 18,9, 19,3, 19,6, 20,2 y 24,5 + 0,2 grados.
2. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene sustancialmente el mismo patrón de difracción de rayos X que se muestra en la figura 1.
3. Compuesto según la reivindicación 1, que permanece seco a humedad relativa del 95% y 25°C.
4. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene un espectro de absorción infrarroja con bandas de absorción a aproximadamente 789, 773, 743, 704, 1066, 1026, 1458, 1398, 1383, 1602, 1577, 1497, 1627, 1680, 2934 y 3055  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ .
5. Composición que comprende N-benzoil-estaurosporina como un sólido, en la que al menos el 80% en peso de dicha N-benzoil-estaurosporina sólida es la forma cristalina II según la reivindicación 1.
6. Composición según la reivindicación 5, en la que al menos el 90% en peso de dicha N-benzoil-estaurosporina sólida es la forma cristalina II.
7. Composición según la reivindicación 5, en la que al menos el 95% en peso de dicha N-benzoil-estaurosporina sólida es la forma cristalina II.
8. Composición farmacéutica que comprende:
  - (a) el compuesto según la reivindicación 1; y
  - (b) un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
9. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, que comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
10. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, que es una forma farmacéutica adecuada para administración oral.
11. Composición farmacéutica según la reivindicación 10, en la que dicha forma farmacéutica se selecciona de un comprimido, una cápsula o una disolución.
12. N-benzoil-estaurosporina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso en el tratamiento de una enfermedad tumoral.
13. Procedimiento para la preparación de la forma cristalina II según la reivindicación 1 de N-benzoil-estaurosporina que comprende:
  - (a) proporcionar una disolución de N-benzoil-estaurosporina en un disolvente;
  - (b) poner en contacto la disolución con un segundo disolvente para formar un precipitado; y
  - (c) aislar el precipitado; en el que disolvente se selecciona de alcohol bencílico, DMF, DMSO, ácido acético, o PEG; y en el que el segundo disolvente se selecciona de etanol, THF o una disolución de etanol en agua.
14. Procedimiento según la reivindicación 13, que comprende además secar el precipitado aislado.
15. Compuesto que es la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina producida mediante el procedimiento según la reivindicación 13.
16. Procedimiento para la preparación de la forma cristalina II según la reivindicación 1 de N-benzoil-estaurosporina que comprende:

(a) hacer reaccionar la estaurosporina con anhídrido benzoico para formar una disolución;

(b) sembrar la disolución con la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina;

(c) añadir un segundo disolvente; y

(d) aislar el producto; en el que el segundo disolvente se selecciona de etanol o una disolución de etanol en agua.

5

17. Compuesto que es la forma cristalina II de N-benzoil-estaurosporina producida mediante el procedimiento según la reivindicación 16.

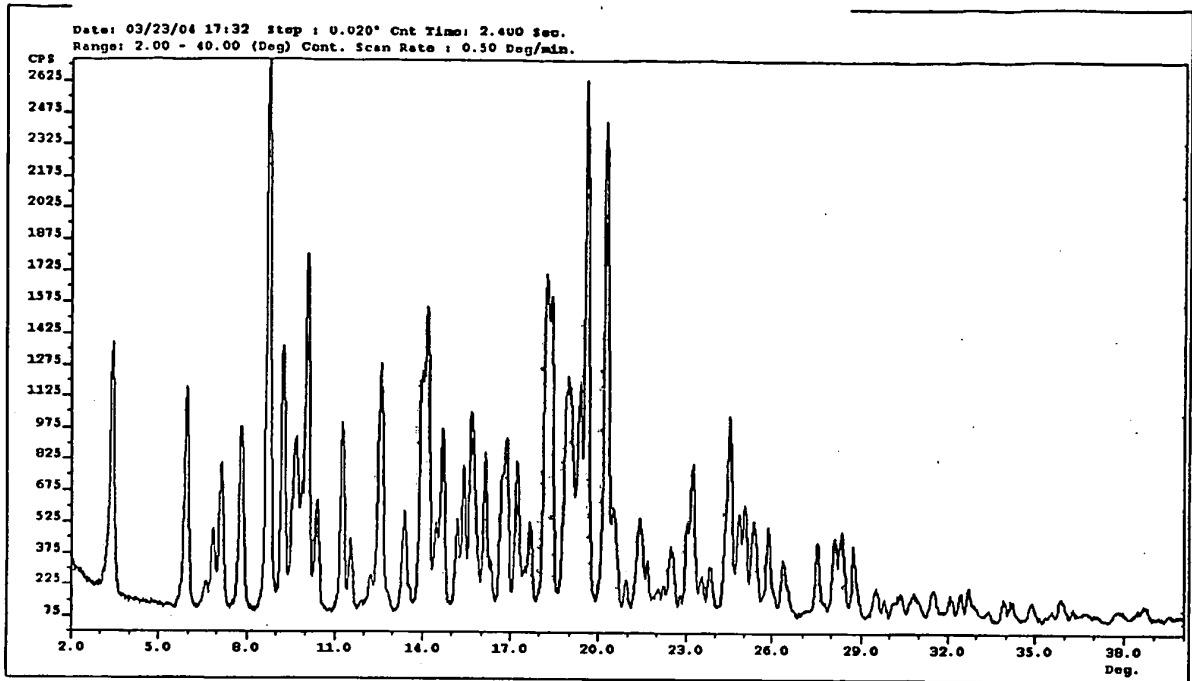


FIG. 1



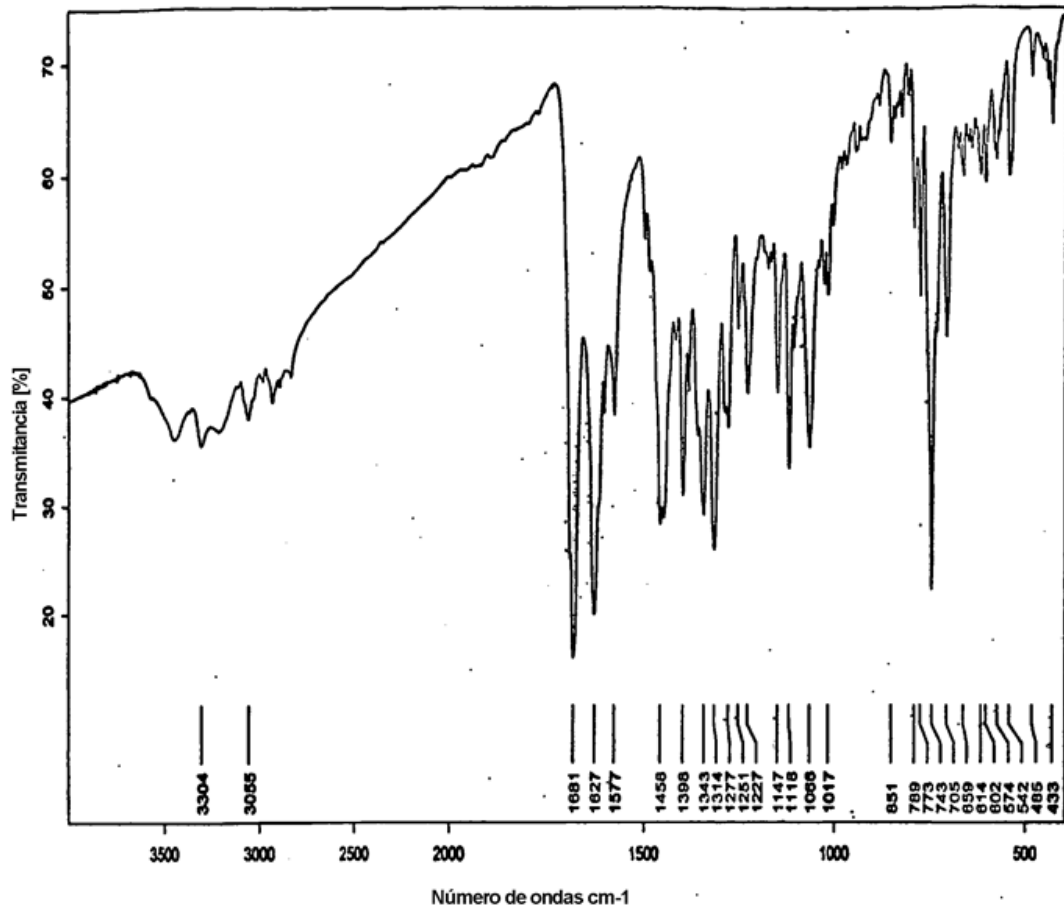


FIG. 2

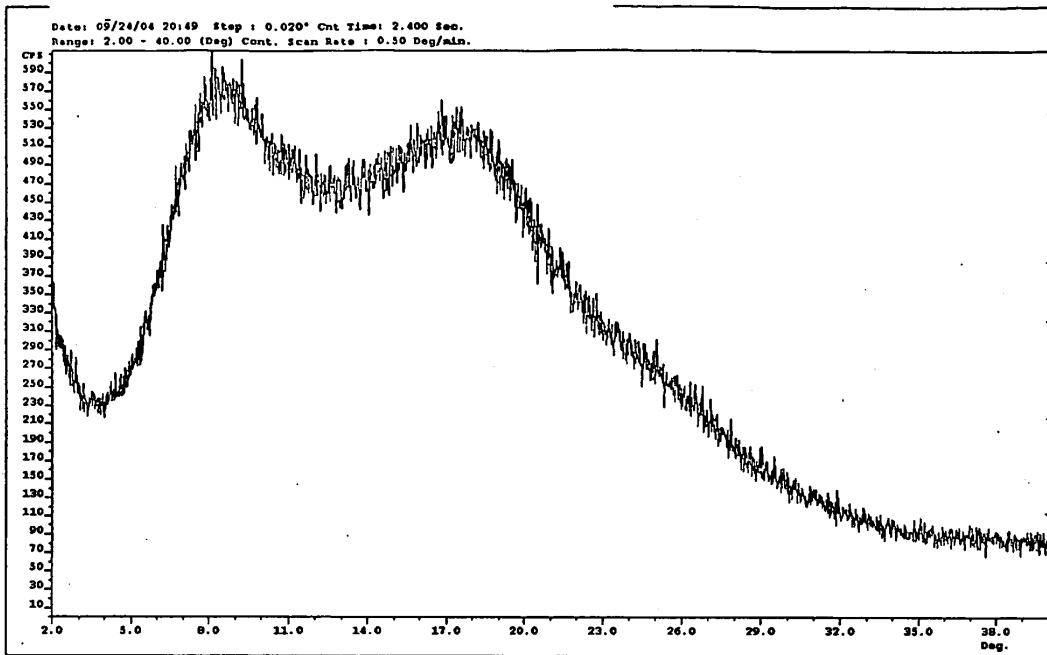


FIG. 3

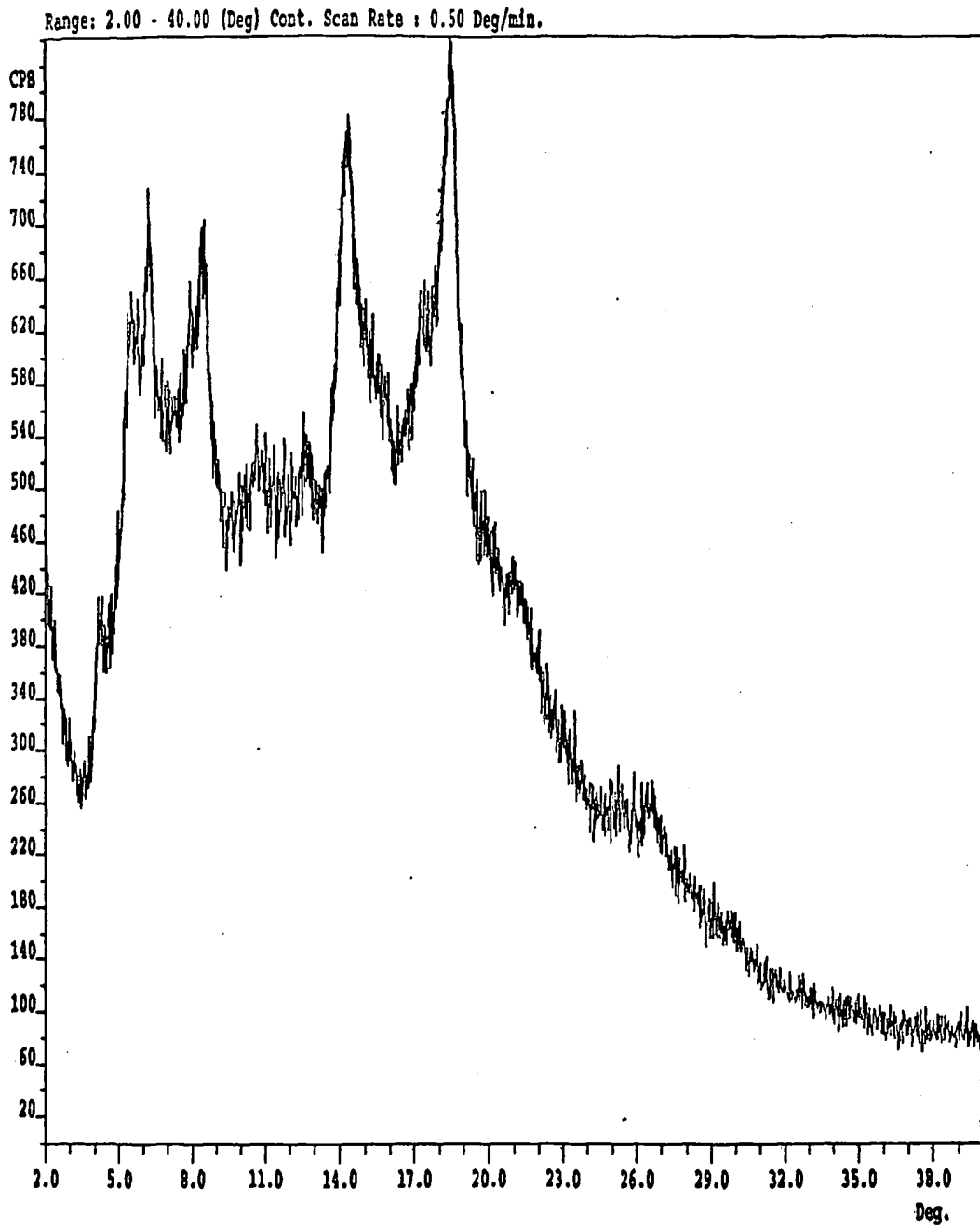


FIG. 4