

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 425 474**

51 Int. Cl.:

C07D 251/10 (2006.01)

C07H 19/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2004 E 04721078 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2013 EP 1608634**

54 Título: **Métodos para aislar la forma I cristalina de 5-azacitidina**

30 Prioridad:

17.03.2003 US 390530

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

15.10.2013

73 Titular/es:

**CELGENE INTERNATIONAL SARL (100.0%)
ROUTE DE PERREUX 1
2017 BOUDRY, CH**

72 Inventor/es:

**IONESCU, DUMITRU;
BLUMBERGS, PETER y
SELVEY, LEE ALANI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 425 474 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

Métodos para aislar la forma I cristalina de 5-azacitidina

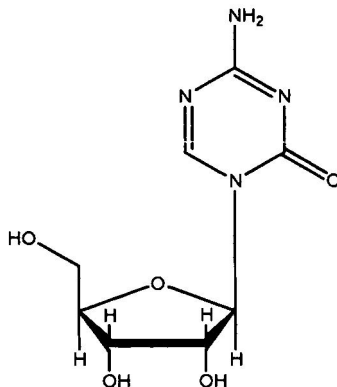
Campo de la invención

5 La invención se refiere al aislamiento de la Forma I polimórfica cristalina de 5-azacitidina (también conocida como azacitidina y 4-amino-1-β-D-ribofuranosil-S-triazin-2(1H)-ona). 5-azacitidina se puede usar en el tratamiento de enfermedades, incluyendo el tratamiento de síndromes mielodisplásicos (SMD).

Antecedentes de la invención

10 Los polimorfos existen como dos o más fases cristalinas que tienen diferentes disposiciones y/o diferentes conformaciones de la molécula en una red cristalina. Cuando dentro de la red cristalina hay contenida una(s) molécula(s) de disolvente, el cristal resultante se denomina un seudopolimorfo, o solvato. Si la(s) molécula(s) de disolvente que se encuentra(n) en la estructura cristalina es(son) una(s) molécula(s) de agua, entonces al seudopolimorfo/solvato se le denomina hidrato. Los sólidos polimórficos y seudopolimórficos presentan diferentes propiedades físicas, incluyendo las debidas al empaquetamiento, y diversas propiedades termodinámicas, espectroscópicas, interfaciales y mecánicas (véase H. Brittain, *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, Marcel Dekker, Nueva York, NY, 1999, páginas 1-2). Las formas polimórficas y seudopolimórficas de la sustancia farmacológica (también conocida como el "principio farmacéutico activo" (IFA)) administradas como tal, o formuladas como un producto farmacéutico (también conocido como la forma de dosificación final o terminada, o como la composición farmacéutica) son bien conocidas y pueden afectar, por ejemplo, a la solubilidad, estabilidad, capacidad de fluir, fractabilidad y compresibilidad de las sustancias farmacológicas y a la seguridad y eficacia de los productos farmacéuticos (véase, por ejemplo, Knapman, *K Modem Drug Discoveries*, Marzo de 2000: 53).

15 5-Azacitidina (también conocida como azacitidina y 4-amino-1-β-D-ribofuranosil-S-triazin-2(1H)-ona); designación del Nation Service Center NSC-102816; Número de Registro CAS 320-67-2) ha sido sometida a ensayos promovidos por NCI para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos (SMD). Véase Komblith *et al.*, *J. Clin. Oncol.* 20(10): 2441-2452 (2002) y Silverman *et al.*, *J. Clin. Oncol.* 20(10): 2429-2440 (2002). Se puede definir 5-azacitidina por tener una fórmula de C₈H₁₂N₄O₅, un peso molecular de 244,20 y una estructura:



20 En la solicitud de patente de Estados Unidos número de serie 10/390.578 (patente de Estados Unidos número 6.887.855) titulada "Forms of 5-azacytidine" ("Formas de 5-azacitidina") presentada el 17 de marzo de 2003, se describen ocho formas polimórficas y seudopolimórficas diferentes de 5-azacitidina (Formas I-VIII), además de una forma amorfa. Cada una de las Formas I-VIII tienen patrones de Difracción de Rayos X de polvo (XRPD) característicos y se distinguen fácilmente una de otra usando XRPD.

25 El documento US 3.817.980 describe la síntesis de determinados nucleósidos de 5-azapirimidina haciendo reaccionar un derivado de 1-O-acil-1-O-alkilo o un derivado 1-halo de un residuo azúcar bloqueado con un compuesto de 5-azacitosina sililado en presencia de un ácido de Lewis. El residuo que contiene la 5-azacitidina se cristaliza en metanol húmedo.

30 M.W. Winkley and R.K. Robins, *The Journal of Organic Chemistry* (1970) 491-495, describen la síntesis de 5-azacitidina por glicosilación directa de 1,3,5-triazinas. El material se cristaliza en etanol acuoso.

35 El documento US 3.891.623 describe la síntesis de citidina y derivados de citidina haciendo reaccionar un derivado de 4-trialquilsililoxiuridina con amoníaco o una amina primaria o secundaria, o con una sal de una amina primaria o secundaria en presencia de una amina terciaria.

40 El documento US 6.723.728 describe formas polimórficas de (-) y (±)-cis-FTC (4-amino-5-fluoro-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolan-5-il)-2(1H)-pirimidinona). La forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC se obtiene disolviendo (±)-cis-FTC en

agua y recristalizando la FTC.

El documento GB 1 227 691 A describe el aislamiento de 1-glicosil-S-azacitosina como un sólido en determinadas mezclas de reacción que contienen metanol.

5 A. Piscala *et al.*, Nucleid Acid Chemistry (1978) 435-441 describen el aislamiento de 5-azacitidina como un sólido en una mezcla de reacción. La reacción se llevó a cabo en metanol. El sólido se cristalizó seguidamente en agua-acetona.

A. Piscala *et al.*, Collection of Czechoslovak Chemical Communications (1964) 2060-2069, describe el aislamiento de 5-azacitidina como un sólido en una mezcla de reacción. La reacción se llevó a cabo en metanol. El sólido se cristalizó seguidamente en agua-metanol.

10 Beisler J.A. *et al.*, Journal of Carbohydrates (1977) 281-299 describen el aislamiento de 5-azacitidina como un sólido en determinadas mezclas de reacción. Las reacciones se llevaron a cabo en metanol.

Beisler J.A. *et al.*, Journal of Medicinal Chemistry (1978) 204-208 describen la cristalización de 5-azacitidina en etanol-agua.

15 En la solicitud de patente de Estados Unidos número de serie 10/390.578 (patente de Estados Unidos número 6.877.855) titulada "Forms of 5-azacytidine" ("Formas de 5-azacitidina") presentada el 17 de marzo, se demuestra que este procedimiento de la técnica anterior para la recristalización del producto de síntesis bruto no controla las formas polimórficas de 5-azacitidina. De forma específica, el procedimiento de recristalización de la técnica anterior produce bien la Forma I sustancialmente exenta de otras formas, o bien una fase mezclada de Forma I/II, es decir, un material sólido en el que la 5-azacitidina está presente en una fase mezclada de la Forma I polimórfica y la Forma II polimórfica. Así, los procedimientos de la técnica anterior no permiten fijar como objetivo de forma fiable la Forma I como la única forma polimórfica en la sustancia farmacológica. La presente invención proporciona procedimientos que permiten recristalizar 5-azacitidina como la Forma I polimórfica de forma robusta y reproducible.

Sumario de la invención

25 La presente invención proporciona métodos para el aislamiento de forma robusta y reproducible de 5-azacitidina como Forma I polimórfica, sustancialmente exenta de las otras formas. Los métodos suponen recristalizar 5-azacitidina disuelta en una mezcla de DMSO/co-disolvente y, a continuación, recoger los cristales resultantes. También se describen composiciones farmacéuticas que comprenden la Forma I de 5-azacitidina junto con un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Forma I polimórfica de 5-azacitidina

30 En la solicitud de patente de Estados Unidos número de serie 10/390.578 (patente de Estados Unidos número 6.877.855) titulada "Forms of 5-azacytidine" ("Formas de 5-azacitidina") presentada el 17 de marzo, se describe la Forma I de 5-azacitidina. La Tabla 1 proporciona los ángulos 2θ , separaciones d e intensidades relativas más destacados para la Forma I observados usando Difracción de Polvo de Rayos X (XRPD) llevado a cabo de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 4:

Ángulo 2θ (°)	Separación d (Å)	Intensidad relativa
12,182	7,260	39,1
13,024	6,792	44,1
14,399	6,146	31,5
16,470	5,378	27,1
18,627	4,760	16,0
19,049	4,655	35,9
20,182	4,396	37,0
21,329	4,162	12,4
23,033	3,858	100,0
23,872	3,724	28,0
26,863	3,316	10,8
27,135	3,284	51,5
29,277	3,048	25,6
29,591	3,016	11,5
30,369	2,941	10,8
32,072	2,788	13,4

Tabla 1: Forma I de 5-azacitidina - ángulos 2 θ , separaciones d e intensidades relativas más destacados (radiación K α de Cu)

Aislamiento de la Forma I polimórfica de 5-azacitidina por recristalización

5 Se puede aislar de forma reproducible la Forma I de 5-azacitidina, sustancialmente exenta de otras formas recristalizando 5-azacitidina disuelta y recogiendo los cristales resultantes. De forma específica, en primer lugar se disuelve totalmente 5-azacitidina en dimetil sulfóxido (DMSO).

10 La 5-azacitidina usada para formar la solución se puede sintetizar por cualquier método conocido en la técnica; en el Ejemplo 1 se proporciona un esquema de síntesis ejemplo. Para formar la solución se puede usar cualquier forma(s) polimórfica(s) o seudopolimórfica(s) de 5-azacitidina, incluyendo fases mezcladas. También se puede usar 5-azacitidina amorfa para formar la solución. Se prefiere, aunque no es necesario, que se precaliente el DMSO hasta una temperatura elevada con el fin de garantizar que la 5-azacitidina se disuelve totalmente. Lo más preferiblemente, el dimetil sulfóxido (DMSO) se precaliente hasta una temperatura en el intervalo de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 90 °C.

15 Después de la solvatación de la 5-azacitidina en DMSO, se añade a la solución de 5-azacitidina al menos un co-disolvente seleccionado del grupo que consiste en etanol, 2-propanol (alcohol isopropílico), acetonitrilo y metiletil cetona. El uso de mezclas de dos o más de cualquiera de los co-disolventes antes citados también está incluido en el alcance de la invención.

20 Se prefiere, aunque no es necesario, que los co-disolventes se precalienten antes de mezclar con el DMSO, preferiblemente hasta una temperatura inferior a la temperatura a la cual una porción sustancial del co-disolvente estaría en ebullición, lo más preferiblemente, hasta aproximadamente 50 °C. Se prefiere también, aunque no es necesario, que el(los) co-disolvente(s) se añada(n) de forma gradual al DMSO.

Después de mezclar, seguidamente se equilibra la mezcla de DMSO/co-disolvente(s) a temperaturas diferentes con el fin de promover, bien una recristalización lenta o una recristalización rápida de la Forma I de 5-azacitidina, como se describe a continuación.

25 Recristalización lenta quiere decir que la solución de co-disolvente/DMSO se deja equilibrar a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 40 °C, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 30 °C y, lo más preferiblemente, a aproximadamente temperatura ambiente. La recristalización lenta de la Forma I de 5-azacitidina se lleva a cabo usando etanol, alcohol isopropílico, metiletil cetona o acetonitrilo.

30 Recristalización rápida quiere decir que la solución de co-disolvente se deja equilibrar a una temperatura inferior a 0 °C, preferiblemente inferior a aproximadamente -10 °C y, lo más preferiblemente, a aproximadamente -20 °C. La recristalización rápida de la Forma I de 5-azacitidina se lleva a cabo con 2-propanol (alcohol isopropílico) o acetonitrilo como co-disolvente.

35 Ejemplos de protocolos para la recristalización de la Forma I de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento se proporcionan más adelante en los Ejemplos 2 (recristalización lenta con DMSO como disolvente principal y etanol, alcohol isopropílico, acetonitrilo o metiletil cetona como co-disolvente) y 3 (recristalización rápida con DMSO como disolvente principal y alcohol isopropílico o acetonitrilo como co-disolvente).

Después de la recristalización, los cristales de la Forma I de 5-azacitidina se pueden aislar de la mezcla de co-disolvente por cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Preferiblemente, los cristales de Forma I se aíslan usando filtración a vacío a través de un medio de filtro adecuado o por centrifugación.

40 Usando los métodos novedosos proporcionados en el presente documento, por primera vez es posible fijar como objetivo la Forma I de 5-azacitidina como sustancia farmacológica de forma reproducible y robusta. En particular, alcohol isopropílico y acetonitrilo producen de forma fiable la Forma I independiente de la velocidad de enfriamiento (ya sea recristalización lenta o recristalización rápida) y se prefieren como co-disolventes de recristalización para recuperar la Forma I. Lo más preferiblemente, la Forma I se aísla usando alcohol isopropílico como co-disolvente puesto que el alcohol isopropílico tiene una clasificación de riesgo Clase 3 (disolvente de bajo potencial tóxico), mientras que el acetonitrilo tiene una clasificación de riesgo Clase 2 (disolvente a limitar) según las International Conference of Harmonization's Guidelines for residual Solvents ("Normas de la Conferencia Internacional de Armonización para Disolventes Residuales"), Julio de 1997. El uso del sistema de DMSO/alcohol isopropílico permite que la Forma I de 5-azacitidina se recupere de forma fiable por primer vez de disolventes de bajo potencial tóxico sin necesidad de controlar la velocidad de recristalización. En la realización más preferida, la Forma I de 5-azacitidina se puede recuperar sencillamente disolviendo 5-azacitidina en DMSO (preferiblemente calentado hasta una temperatura en el intervalo de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 90 °C antes de la adición de 5-azacitidina), añadiendo alcohol isopropílico, y dejando que la mezcla de disolventes se equilibre a aproximadamente temperatura ambiente.

55 En algunas realizaciones de la invención, la Forma I de 5-azacitidina se puede recuperar de una mezcla de DMSO/co-disolvente(s) "iniciando la cristalización con una pequeña cantidad de Forma I de 5-azacitidina bien antes de, o durante la adición del/de los co-disolvente(s).

Al permitirse el aislamiento de una única forma polimórfica, un experto en la técnica apreciará que la presente invención permite por primera vez la producción de sustancia farmacológica 5-azacitidina con propiedades uniformes y consistentes entre lotes, propiedades que incluyen, aunque sin quedar limitadas a las mismas, solubilidad y velocidad de disolución. A su vez, esto permite proporcionar producto farmacéutico 5-azacitidina (véase más adelante) que también tiene unas propiedades uniformes y consistentes entre lotes.

Formulaciones farmacéuticas

Para la administración más eficaz de la sustancia farmacológica de la presente invención, se prefiere preparar una formulación farmacéutica (también conocida como el "producto farmacéutico" o "composición farmacéutica"), preferiblemente en forma de monodosis, que comprende uno o más de los polimorfos de 5-azacitidina y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Lo más preferiblemente, para preparar la formulación farmacéutica se usa la Forma I de 5-azacitidina preparada de acuerdo con los métodos proporcionados en el presente documento.

Dicha formulación farmacéutica puede incluir una forma sólida de la presente invención que se mezcla con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, se diluye por un excipiente o se rodea por dicho vehículo que puede estar en la forma de una cápsula, un sobrecito, comprimido, gragea, tableta, papelillo u otro contenedor. Cuando el excipiente sirve como diluyente, este puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, soporte o medio para el (los) polimorfo(s) de 5-azacitidina. Así, las formulaciones pueden estar en forma de comprimidos, pastillas, polvos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, cápsulas (tales como, por ejemplo, cápsulas de gelatina blandas y duras), supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos empaquetados estériles.

Ejemplos de excipientes adecuados incluyen almidones, goma arábiga, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir además agentes lubricantes tales como, por ejemplo, talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; conservantes tales como metil- y propil-hidroxibenzoatos; edulcorantes; o aromatizantes. También se pueden usar polioles, tampones y cargas inertes. Ejemplos de polioles incluyen: manitol, xilitol, sacarosa, maltosa, glucosa, lactosa, dextrosa y similares. Tampones adecuados incluyen fosfato, citrato, tartrato, succinato y similares. Otras cargas inertes que se pueden usar incluyen las que se conocen en la técnica y son útiles en la preparación de diversas formas de dosificación. Si se desea, las composiciones farmacéuticas sólidas pueden incluir otros componentes tales como agentes de relleno y/o agentes de granulación, y similares. Las composiciones descritas en el presente documento se pueden formular de modo que proporcionen una liberación rápida, sostenida, controlada o retardada de la sustancia farmacológica después de la administración al paciente empleando métodos bien conocidos en la técnica.

Únicamente a modo de referencia, el(los) polimorfo(s) de 5-azacitidina se pueden preparar en forma de unidades de dosificación para administración oral. El(los) polimorfo(s) de 5-azacitidina se puede(n) mezclar con un vehículo sólido, pulverulento tal como, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, amilopectina, derivados de la celulosa o gelatina, así como con un agente antifricción tal como, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio y ceras de polietilenglicol. La mezcla se prensa a continuación en forma de comprimidos o se rellena en cápsulas. Si se desean comprimidos, cápsulas o Pulvules, tales comprimidos, cápsulas o Pulvules se pueden revestir con una solución concentrada de azúcar, que puede contener goma arábiga, gelatina, talco, dióxido de titanio o, con un esmalte disuelto en el disolvente orgánico o mezcla de disolventes orgánicos volátiles. A este revestimiento se pueden añadir diversos colorantes con el fin de diferenciar los comprimidos con diferentes compuestos activos o con diferentes cantidades del compuesto activo presente.

Se pueden preparar cápsulas de gelatina blandas en las que las cápsulas contienen una mezcla del(de los) polimorfo(s) de 5-azacitidina y aceite vegetal o materiales miscibles en agua no acuosos tales como, por ejemplo, polietilenglicol y similares. Las cápsulas de gelatina duras pueden contener gránulos o polvos del polimorfo de 5-azacitidina con un vehículo sólido pulverulento, tal como, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón de patata, almidón de maíz, amilopectina, derivados de la celulosa o gelatina.

De forma típica se preparan comprimidos para uso oral de la siguiente forma, aunque se pueden emplear otras técnicas. Las sustancias sólidas se muelen suavemente hasta un tamaño de partículas deseado y se homogeniza y se suspende un agente aglutinante en un disolvente adecuado. El(los) polimorfo(s) de 5-azacitidina y los agentes auxiliares se mezclan con la solución de agente aglutinante. La mezcla resultante se humecta para formar una suspensión uniforme. De forma típica, la humectación provoca que las partículas se agreguen ligeramente, y la masa resultante se prensa con suavidad a través de un tamiz de acero inoxidable que tiene un tamaño deseado. Las capas de la mezcla se secan a continuación en unidades de secado controladas durante un período de tiempo predeterminado para conseguir un tamaño de partículas y una consistencia deseados. Los gránulos de la mezcla secada se tamizan con suavidad para separar el polvo presente. A esta mezcla, se añaden agentes de disgregación, antifricción y antiadherentes. Finalmente, la mezcla se prensa en forma de comprimidos usando una máquina con los punzones y troqueles apropiados para obtener el tamaño de comprimido deseado.

En el caso de que las formulaciones anteriores sean para su uso para administración parenteral, dicha formulación comprende de forma típica soluciones para inyección acuosas y no acuosas estériles que comprenden uno o más

polimorfos de 5-azacitidina para los cuales las preparaciones son preferiblemente isotónicas con la sangre del receptor deseado. Estas preparaciones pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos; que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado. Las suspensiones acuosas y no acuosas pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden estar presentes en recipientes monodosis y multidosis, por ejemplo, en ampollas y viales herméticamente cerrados. Se pueden preparar soluciones y suspensiones para inyección extemporánea a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente.

Se preparan preparaciones líquidas para administración oral en forma de soluciones, jarabes o suspensiones, conteniendo las dos últimas, por ejemplo, polimorfo(s) de 5-azacitidina, azúcar y una mezcla de etanol, agua, glicerol y propilenglicol. Si se desea, tales preparaciones líquidas contienen colorantes, aromatizantes y sacarina. También se pueden usar agentes espesantes tales como carboximetilcelulosa.

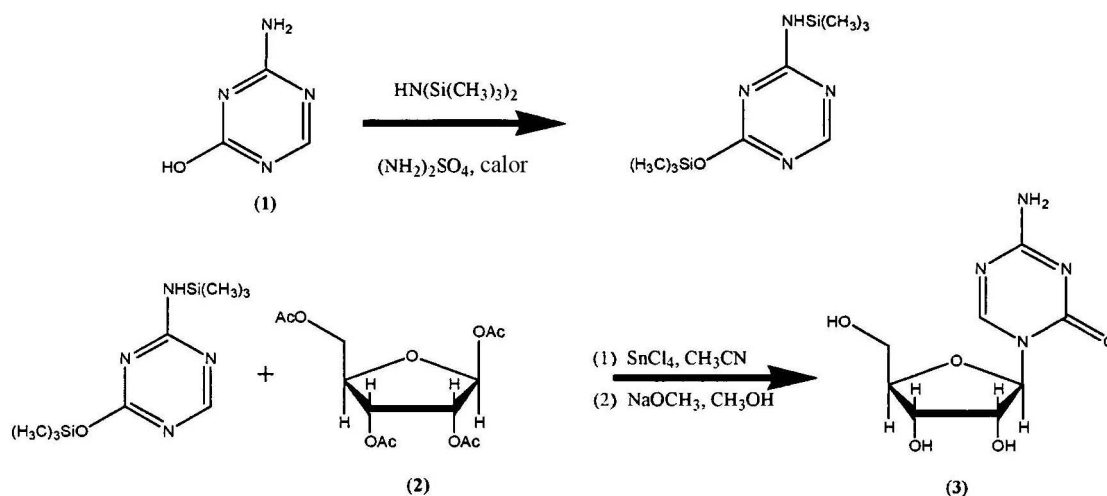
Como tales, las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento se preparan preferiblemente en una forma de monodosis, conteniendo cada monodosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg, más normalmente aproximadamente 100 mg del(de los) polimorfo(s) de 5-azacitidina. En forma líquida, la monodosis contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 200 mg, más normalmente aproximadamente 100 mg del(de los) polimorfo(s) de 5-azacitidina. El término "forma de monodosis" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos/pacientes humanos u otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de polimorfo de 5-azacitidina calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con, preferiblemente, al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 Ejemplos

Ejemplo 1 (comparativo)

Procedimiento de la técnica anterior para la síntesis y recristalización de sustancia farmacológica 5-azacitidina

Se puede sintetizar 5-azacitidina usando 5-azacitosina y 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa (RTA) disponibles de forma comercial de acuerdo con la siguiente ruta:



25

El producto de síntesis bruto se disuelve en DMSO (precalentado hasta aproximadamente 90 °C), y a continuación se añade metanol a la solución de DMSO. La mezcla de co-disolvente se equilibra a aproximadamente -20 °C para permitir la formación de cristales de 5-azacitidina. El producto se recoge por filtración a vacío y se deja secar al aire.

Ejemplo 2

30 Forma I de 5-azacitidina: Recristalización lenta de 5-azacitidina en sistemas de co-disolvente

Se disolvieron aproximadamente 250 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de dimetil sulfóxido (DMSO), precalentado hasta aproximadamente 90 °C, en vasos de precipitados separados de 100 ml. Se dejó que se disolvieran los sólidos hasta una solución transparente. Se añadieron a la solución aproximadamente 45 ml de etanol, alcohol isopropílico, acetonitrilo o metiletil cetona como co-disolvente, precalentado hasta aproximadamente 50 °C, y la solución resultante se mezcló. La solución se cubrió y se dejó equilibrar en condiciones ambientales. El producto se recogió por filtración a vacío usando un embudo de Buchner.

35

Ejemplo 3

Forma I de 5-azacitidina: Recristalización rápida de 5-azacitidina en sistemas de co-disolvente

- 5 Se disolvieron aproximadamente 250 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de DMSO, precalentado hasta aproximadamente 90 °C, en vasos de precipitados separados de 100 ml. Se dejó que se disolvieran los sólidos hasta una solución transparente. Se añadieron a la solución aproximadamente 45 ml de alcohol isopropílico o acetonitrilo como co-disolvente, precalentado hasta aproximadamente 50 °C, y la solución resultante se mezcló. La solución se cubrió y se colocó en un congelador para que se equilibrara a aproximadamente -20 °C para permitir la formación de los cristales. Las soluciones se retiraron del congelador después de la formación de los cristales. El producto se recogió por filtración a vacío usando un embudo de Buchner.

Ejemplo 410 Difracción de polvo de rayos X de 5-azacitidina recristalizada

- 15 Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo (XRPD) para cada muestra en un difractómetro Scintag XDS 2000 o Scintag X₂ θ/θ que operaba con radiación de cobre a 45 kV y 40 mA usando un detector de silicio refrigerado Kevex Psi Peltier o un detector de estado sólido refrigerado Thermo ARL Peltier. Para la obtención de datos se usaron rendijas de fuente de 2 o 4 mm y rendijas de detector de 0,5 o 0,3 mm. El material recristalizado se molió suavemente durante aproximadamente 1 minuto usando un motero y una mano de ágata. Las muestras se colocaron en portamuestras de acero inoxidable o de silicio y se nivelaron usando un porta de microscopio de vidrio. Los patrones de difracción de polvo de las muestras se obtuvieron desde 2 a 42° 2 θ a 1°/minuto. La calibración del difractómetro X₂ se verificó usando un patrón de polvo de silicio.

- 20 El XRPD llevado a cabo de acuerdo con este método reveló que la Forma I de 5-azacitidina se aisló en el Ejemplo 2 por recristalización lenta usando etanol, alcohol isopropílico, acetonitrilo o metiletil cetona como co-disolvente y, en el Ejemplo 3 por recristalización rápida usando alcohol isopropílico o acetonitrilo como co-disolvente. Los resultados indican que la Forma I de 5-azacitidina se puede recuperar de forma fiable en sistemas de disolvente de DMSO/alcohol isopropílico y DMSO/acetonitrilo sin controlar la velocidad de recristalización.

REIVINDICACIONES

1. Un método para aislar una forma cristalina de 5-azacitidina que comprende las etapas de recrystalizar 5-azacitidina en una mezcla disolvente que comprende dimetil sulfóxido y al menos un co-disolvente del grupo que consiste en etanol, 2-propanol (alcohol isopropílico), acetonitrilo y metiletil cetona, enfriando dicha mezcla disolvente desde una temperatura seleccionada para permitir que dicha 5-azacitidina se disuelva totalmente hasta temperatura ambiente; y
5 aislar la 5-azacitidina recrystalizada.
2. El método según la reivindicación 1, que comprende las etapas de:
- (i) preparar una solución que comprende 5-azacitidina y dimetil sulfóxido;
- (ii) añadir al menos un co-disolvente seleccionado del grupo que consiste en etanol, 2-propanol, acetonitrilo y metiletil cetona a la solución de 5-azacitidina y enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente; y
10 (iii) aislar la 5-azacitidina recrystalizada.
3. Un método para aislar una forma cristalina de 5-azacitidina que comprende las etapas de recrystalizar 5-azacitidina en una mezcla disolvente que comprende dimetil sulfóxido y al menos un co-disolvente seleccionado del grupo que consiste en 2-propanol (alcohol isopropílico) y acetonitrilo, enfriando dicha mezcla disolvente desde una temperatura seleccionada para permitir que dicha 5-azacitidina se disuelva totalmente hasta $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$; y
15 aislar la 5-azacitidina recrystalizada.
4. El método según la reivindicación 3, que comprende las etapas de:
- (i) preparar una solución que comprende 5-azacitidina y dimetil sulfóxido;
- (ii) añadir al menos un co-disolvente seleccionado del grupo que consiste en 2-propanol y acetonitrilo a la solución de 5-azacitidina y enfriar la mezcla hasta $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$; y
20 (iii) aislar la 5-azacitidina recrystalizada.
5. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que dicho co-disolvente es 2-propanol.
6. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que dicho co-disolvente es acetonitrilo,
7. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que dicho co-disolvente es etanol.
- 25 8. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que dicho co-disolvente es metiletil cetona.
9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la forma cristalina de 5-azacitidina está caracterizada por picos observados usando Difracción de Rayos X de polvo a 12,182, 13,024, 14,399, 16,470, 19,049, 20,182, 23,033, 23,872, 27,135 y 29,277 $^{\circ}2\theta$.
- 30 10. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la forma cristalina de 5-azacitidina está caracterizada por los siguientes ángulos 2θ y separaciones d

Ángulo 2θ ($^{\circ}$)	Separación d (Å)
12,182	7,260
13,024	6,792
14,399	6,146
16,470	5,378
19,049	4,655
20,182	4,396
23,033	3,858
23,872	3,724
27,135	3,284
29,277	3,048