

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 025**

51 Int. Cl.:

C07H 19/06 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2010 E 10774734 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 2431376**

54 Título: **Nuevo cristal estable de monoclóhidrato 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina**

30 Prioridad:

15.05.2009 JP 2009118726

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

18.10.2013

73 Titular/es:

**DELTA-FLY PHARMA, INC. (100.0%)
37-2, Nishikino, Miyajima Kawauchi-cho
Tokushima-shi, Tokushima 771-0116, JP**

72 Inventor/es:

**WATANABE, SHOTARO y
HATAKEYAMA, TAKAHIRO**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 426 025 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

Nuevo cristal estable de monoclóhidrato 1-(2'-ciano-2'-desoxi-beta-D-arabinofuranosil)citosina

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos cristales estables de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-beta-D-arabinofuranosil)citosina, que son útiles como una medicina que muestra una excelente actividad antitumoral, y a una composición farmacéutica que contiene los mismos.

10

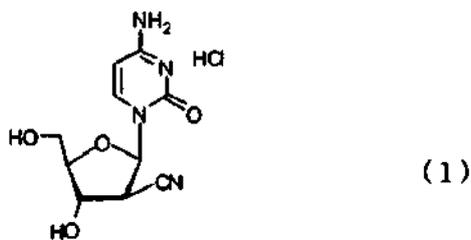
Antecedentes de la invención

En general, cuando un compuesto se usa como ingrediente activo eficaz de un producto farmacéutico, se requiere que el compuesto sea química y físicamente estable de modo que mantenga una calidad de forma estable, y/o se facilite la gestión de almacenamiento. Por lo tanto, el compuesto resultante está preferentemente en forma de un cristal estable y, habitualmente, existen numerosos ejemplos en los que se seleccionan cristales ultraestables como sustancias farmacológicas para productos farmacéuticos.

15

Sin embargo, el Documento de Patente 1, el Documento de No Patente 1, y el Documento de No Patente 2 describen que el monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-beta-D-arabinofuranosil)citosina, que es un derivado de nucleósido de pirimidina, representado por la siguiente fórmula (1):

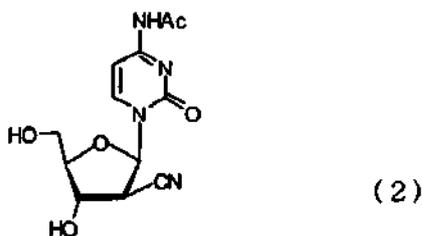
20



25 muestra efecto supresor *in vitro* de la proliferación de células tumorales humanas o de ratón, y también muestra una excelente actividad antitumoral *in vivo*.

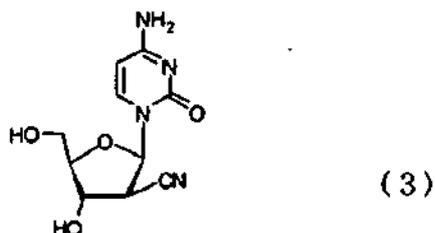
Se han presentado métodos para la producción del compuesto, por ejemplo, un método de disolución de la 1-(2'-ciano-2'-desoxi-beta-D-arabinofuranosil)-N⁴-acetilcitosina representada por la siguiente fórmula (2):

30



en una solución de ácido clorhídrico en metanol, permitiendo que el compuesto reaccione mientras se agita a temperatura ambiente y, después de completarse la reacción, cristalizando el producto a partir de etanol y éter (Documentos de No Patente 1 y 2); y un método de calentamiento a reflujo del compuesto representado por la fórmula (2) anterior en ácido acético para someter de ese modo al compuesto a una des-N-acetilación, obteniendo posteriormente la 1-(2'-ciano-2'-desoxi-beta-D-arabinofuranosil)citosina representada por la siguiente fórmula (3):

35



40

por cromatografía en columna sobre gel de sílice, disolviendo el compuesto en una solución de ácido clorhídrico en metanol, permitiendo que el compuesto reaccione mientras se agita a temperatura ambiente y, después de completarse la reacción, cristalizando el producto a partir de etanol y éter (Documento de Patente 1).

5 Se pensaba que el cristal que se obtiene mediante estos métodos era un 1/2 etanolato en el momento en el que se publicó el documento, y se consideró que el punto de fusión del cristal era de 175 °C a 176 °C (Documento de Patente 1 y Documentos de No Patente 1 y 2). Sin embargo, aparte de este punto de fusión, no se presentaron informes específicos con respecto al polimorfismo o a la estabilidad del cristal.

Documentos de Patente

10

Documento de Patente 1: JP-B-2559917 (JP-A-4-235182)

Documentos de No Patente

15

Documento de No Patente 1: Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 34, 2917 a 2919 (1991)

Documento de No Patente 2: Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 36, 4183 a 4189 (1993)

Sumario de la invención

20

Problema a resolver por la invención

El objetivo de la invención objeto es proporcionar cristales estables de un compuesto que es útil como agente antitumoral.

25

Medios para solucionar el problema

Los inventores de la invención objeto se dirigieron a la obtención de un cristal estable de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina, y en primer lugar intentaron obtener un cristal de 1/2 etanolato que tiene un punto de fusión de 175 °C a 176 °C mediante los métodos conocidos que se describen en el Documento de Patente 1 y los Documentos de No Patente 1 y 2. Sin embargo, inesperadamente, los inventores de la invención objeto no pudieron reproducir el cristal de 1/2 etanolato que tiene un punto de fusión de 175 °C a 176 °C que se describe en el documento (en lo sucesivo en el presente documento, también denominado "cristal del documento conocido") en un experimento que intentó reproducir los métodos conocidos que se han descrito anteriormente.

30

Además, los inventores de la invención objeto llevaron a cabo con tenacidad el experimento para obtener el cristal de 1/2 etanolato que tiene un punto de fusión de 175 °C a 176 °C, mientras tomaban en consideración diversas condiciones generales para la producción del cristal (véase International Journal of Pharmaceutics, Vol. 60, 11 a 26 (1990), y similares). Sin embargo, los inventores finalmente no pudieron reproducir el cristal que se describe en el documento conocido.

35

En ese caso, se contempló que un cristal, que no se puede obtener incluso aunque se tomen en consideración diversas condiciones de producción, no se puede considerar como un cristal preferente que se pueda producir y suministrar de forma estable a escala industrial. La razón puede residir en que el cristal obtenido en aquel momento pudo ser un polimorfo cristalino. Cuando se confirma la presencia de un polimorfo cristalino en una sustancia farmacológica para productos farmacéuticos, habitualmente ya no es fácil producir de forma estable un cristal individual o un cristal de tipo mixto en el que se mantenga constante la proporción de contenido y, por lo tanto, se necesita una investigación exhaustiva

40

45

Sin embargo, se han publicado informes en el pasado, presentando que un cristal que se pudiera obtener repentinamente de forma convencional no se puede obtener mediante las técnicas de la técnica relacionada desde un cierto tiempo. Por ejemplo, en el caso de Ritonavir, un fármaco anti-virus de inmunodeficiencia humana (VIH), un documento presenta que debido a la aparición repentina de la Forma II (un cristal estable), ya no se puede obtener la Forma cristalina I obtenida tradicionalmente mediante el método de producción tradicional (Organic Process Research and Development, Vol. 4, 413 a 417 (2000)). También en el caso de un compuesto que se había desarrollado como sustancia antibiótica basada en cefem, un documento presenta que debido a la aparición repentina del cristal y (un cristal estable), ya no se puede obtener el cristal α obtenido tradicionalmente mediante el método de producción tradicional (Bunri Gijutsu (Separation Technology), Vol. 33, 379 a 385 (2003)). Incluso en el caso de un compuesto que se había desarrollado como inhibidor de la transcriptasa inversa del VIH-1, un documento presenta que debido a la aparición repentina de la Forma cristalina III (un cristal estable), ya no se puede obtener la Forma cristalina I obtenida tradicionalmente mediante el método de producción tradicional (Organic Process Research and Development, Vol. 9, 933 a 942 (2005)).

50

55

60

De acuerdo con estos descubrimientos, se contempla que los cristales de los documentos de la técnica anterior obtenibles en el momento pertinente no se pudieron obtener debido a que el cristal del documento de la técnica anterior era inferior al cristal de la invención objeto en términos de estabilidad. También se contempla que, incluso si el cristal del documento de la técnica anterior se hubiera generado temporalmente en el sistema de reacción, el cristal del documento de la técnica anterior habría variado a un cristal estable a través de una transición cristalina y, por lo tanto, no se podría obtener el cristal del documento de la técnica anterior.

65

Durante la investigación para la invención objeto, los inventores de la invención objeto descubrieron que, como se muestra en los Ejemplos que se describen posteriormente, se obtienen cristales que no contienen etanol y tienen un punto de fusión de 15 °C a 20 °C mayor que el punto de fusión de 175 °C a 176 °C del cristal conocido convencionalmente (en lo sucesivo en el presente documento, también denominados "cristales de la invención objeto"), y que dado que el punto de fusión de un cristal que tiene una excelente estabilidad (cristal estable) es generalmente mayor que el punto de fusión de un cristal inestable (cristal metaestable), los cristales de la invención objeto son cristales estables. Por lo tanto, los inventores han completado la invención objeto.

La presente invención se refiere a los siguientes artículos (1) a (4).

(1) Un cristal de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina que tiene picos característicos a 13,7°, 15,7°, 16,0°, 18,6°, 20,3°, y 22,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo, y que tiene un punto de fusión de 192 °C a 197 °C.

(2) Un cristal de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina que tiene picos característicos a 6,4°, 12,6°, 17,3°, y 21,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo, y que tiene un punto de fusión de 192 °C a 197 °C.

(3) Una composición farmacéutica que comprende el cristal de acuerdo con (1) o (2).

(4) Un agente antitumoral que comprende el cristal de acuerdo con (1) o (2).

La invención también proporciona métodos para la producción de los cristales anteriores.

Efecto de la invención

Dado que los cristales de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina de la invención objeto muestran excelente estabilidad física y/o estabilidad química, los cristales son excelentes en comparación con otras formas amorfas, otras formas cristalinas o similares de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina desde los puntos de vista de, por ejemplo, estabilidad de almacenamiento, pureza, facilidad de uso (menor higroscopicidad) y/o manejabilidad de producto, y desde el punto de vista de que los cristales tienen un excelente efecto antitumoral y por lo tanto son útiles como agentes antitumorales. Por lo tanto, los cristales de la invención objeto son útiles como una medicina.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un diagrama de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo I.

La Figura 2 es un diagrama de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo II.

La Figura 3 es un diagrama de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo III.

Descripción detallada de la invención

Los cristales de la invención objeto, en particular tres tipos de cristales, tales como un cristal de tipo I, un cristal de tipo II y un cristal de tipo III, se pueden obtener respectivamente como cristales individuales mediante cristalización o recristalización a partir de una solución que contiene el monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina representado por la fórmula (1) anterior (en lo sucesivo en el presente documento, también denominado "compuesto (1)").

Además, el compuesto (1) puede no estar en forma cristalina, y el compuesto (1) también puede estar en forma cristalina. Si el compuesto (1) está en forma cristalina, por ejemplo, se puede separar el cristal de tipo I usando el cristal de tipo II como material de partida, o se puede separar el cristal de tipo I usando el cristal de tipo III como material de partida.

El monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina (compuesto (1)) que se usa en la invención objeto se puede obtener mediante un método de síntesis química orgánica usando la 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)-N⁴-acetilcitosina representada por la fórmula (2) anterior (en lo sucesivo en el presente documento, también denominada "compuesto (2)"), o la 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina representada por la fórmula (3) anterior (en lo sucesivo en el presente documento, también denominada "compuesto (3)") como material de partida. Por ejemplo, el compuesto (1) se puede obtener sometiendo al compuesto (2) a des-N-acetilación y adición de ácido clorhídrico, o sometiendo al compuesto (3) a la adición de ácido clorhídrico.

Ejemplos más específicos del método para la obtención del compuesto (1) incluyen, por ejemplo, un método de tratamiento del compuesto (2) con un ácido para obtener el compuesto (3), y someter este compuesto a la adición de ácido clorhídrico para obtener el compuesto (1); un método que somete al compuesto (2) a un tratamiento ácido y a la adición de ácido clorhídrico en una etapa usando una solución de ácido clorhídrico-metanol, y obtiene de este modo el compuesto (1).

Entre estas, desde los puntos de vista de la mejora de la eficacia de operación o del rendimiento, es preferente llevar a cabo el tratamiento ácido y la adición de ácido clorhídrico en una etapa, y las condiciones de reacción en este caso son preferentemente el uso de 1 a 20 ml de una solución de ácido clorhídrico-metanol del 0,5 % al 3 % con respecto

a 100 mg del compuesto (2), y agitar la mezcla de aproximadamente 10 °C a 40 °C (preferentemente, a temperatura ambiente) de 0,5 a 3 horas (preferentemente 1 ± 0,25 horas).

5 Los compuestos (2) y (3) se pueden producir mediante los métodos de producción que se describen en el Documento de Patente 1 y los Documentos de No Patente 1 y 2 mencionados anteriormente.

Además, ejemplos del ácido que se usa en el tratamiento ácido incluyen ácidos inorgánicos, tales como ácido sulfúrico y ácido clorhídrico; y ácidos orgánicos tales como ácido acético y ácido trifluoroacético. Estos ácidos se pueden usar solos o como mezclas de dos o más clases.

10 El método de deposición de los cristales de la invención objeto no se limita de forma particular, incluyendo, por ejemplo, un método de disolución del compuesto (1) en un disolvente que disuelve el compuesto (1) con calentamiento (en lo sucesivo en el presente documento, también denominado "disolvente de disolución"), permitir que la solución en la que se disuelve el compuesto (1) repose o enfriar la solución con medios de refrigeración, y depositar de ese modo el cristal; un método de deposición del cristal a partir de la solución en la que se disuelve el
15 compuesto (1) (en lo sucesivo en el presente documento, también denominada "solución de disolución"), usando un disolvente que tiene baja solubilidad para el compuesto (1) (en lo sucesivo en el presente documento, también denominado "disolvente de baja solubilidad"). Entre estos, es preferente el método de deposición del cristal a partir de la solución de disolución usando un disolvente de baja solubilidad. Un ejemplo de este método puede ser, por ejemplo, un método de adición de la solución de disolución a un disolvente de baja solubilidad enfriado previamente, y depositando de ese modo el cristal.
20

El disolvente que se usa en el proceso de deposición del cristal no se limita de forma particular, incluyendo tal disolvente, por ejemplo, agua; alcoholes tales como metanol, etanol, e isopropanol; cetonas tales como acetona y metil etil cetona; éteres tales como éter dietílico, éter diisopropílico, y t-butil metil éter. Estos disolventes se pueden
25 usar solos o como mezclas de disolventes plurales.

El disolvente de disolución es preferentemente un disolvente que es capaz de disolver el compuesto (1) con calentamiento y, específicamente, son más preferentes los alcoholes desde el punto de vista de estabilidad. Entre estos, es preferente un alcohol que tenga de 1 a 5 átomos de carbono, particularmente etanol. Habitualmente, la
30 temperatura del disolvente de disolución cuando se calienta es preferentemente de 0 °C al punto de ebullición del disolvente, y más preferentemente de 20 °C a 40 °C. La concentración del compuesto (1) no se limita de forma particular, siendo preferentemente de un 0,25 a un 0,6 % (p/v) en la solución disuelta.

El disolvente de baja solubilidad es preferentemente un disolvente que es capaz de depositar el cristal cuando se añade el disolvente a la solución en la que se disuelve el compuesto (1), y a continuación se deja que la mezcla repose o se enfríe. Específicamente, son preferentes los éteres desde el punto de vista de la estabilidad y, entre estos, es particularmente preferente el éter dietílico.

Cuando se añade la solución de disolución, la temperatura del disolvente de baja solubilidad es preferentemente de -40 °C al punto de ebullición del disolvente, más preferente de -20 °C a 20 °C, e incluso más preferentemente de 0 °C
40 a 10 °C. Por otra parte, la temperatura de la solución de disolución, cuando se añade la solución de disolución al disolvente de baja solubilidad, es preferentemente de -20 °C al punto de ebullición del disolvente, más preferentemente de -5 °C a 45 °C, e incluso más preferentemente de 0 °C a 40 °C.

La cantidad de uso del disolvente de baja solubilidad es preferentemente de 0 a 1 parte en volumen con respecto a 1 parte en volumen de la solución de disolución.
45

La temperatura en el momento de la deposición es, de forma habitual, preferentemente de -50 °C a 30 °C, más preferentemente de -40 °C a 20 °C, e incluso más preferentemente de -30 °C a 10 °C. En este caso, la solución de disolución o una solución mixta de la solución de disolución y el disolvente de baja solubilidad se pueden enfriar con medios de refrigeración. Por ejemplo, se puede llevar a cabo la adición gota a gota de la solución de disolución a un
50 recipiente enfriado; o enfriar la solución de disolución o la solución mixta. En la deposición, se puede dejar que la solución repose, o se puede agitar.

El cristal depositado se puede aislar y purificar a partir de la solución de disolución o de la solución mixta, por ejemplo, mediante técnicas de separación y purificación conocidas tales como filtración, lavado con un disolvente orgánico, y secado a presión reducida. Ejemplos de disolventes orgánicos que se usan en el proceso de lavado incluyen los disolventes de baja solubilidad mencionados anteriormente y, entre estos, se usan con preferencia los éteres que se han descrito anteriormente.
55

De este modo, se pueden producir los cristales de la invención objeto, particularmente el cristal de tipo I, el cristal de tipo II, y el cristal de tipo III.
60

Por ejemplo, como método para la obtención del cristal de tipo I, es preferente obtener el cristal de tipo I por disolución con calentamiento del compuesto (1) en etanol, y a continuación añadir gota a gota esta solución a éter dietílico que se ha enfriado a 0 ± 5 °C con agitación de la mezcla.

Como método para la obtención del cristal de tipo II, es preferente obtener el cristal de tipo II por disolución con calentamiento del compuesto (1) o del cristal de tipo I en etanol, enfriando posteriormente esta solución a 40 ± 5 °C, y añadiendo a continuación gota a gota el éter dietílico a la solución mientras se agita la mezcla.
65

Además, como método para la obtención del cristal de tipo III, es preferente obtener el cristal de tipo III por disolución con calentamiento del compuesto (1) o del cristal de tipo I en etanol, y a continuación añadir gota a gota esta solución sobre una placa que se ha enfriado a 0 ± 5 °C.

5 El punto de fusión de los cristales de tipo I a III del compuesto (1) obtenidos como se ha descrito anteriormente es de 192 °C a 197 °C y, como se muestra en los diagramas de difracción de rayos X de polvo de las Figuras 1 a 3, los cristales se distinguen por los siguientes picos de difracción característicos.

Es decir, como se muestra en la Figura 1, el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo I exhibe picos característicos a aproximadamente 13,7°, 15,7°, 16,0°, 18,6°, 20,3° y 22,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo.

10 Como se muestra en la Figura 2, el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo II exhibe picos característicos a aproximadamente 6,4°, 12,6°, 17,3°, y 21,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo.

15 Además, como se muestra en la Figura 3, el patrón de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo III exhibe picos característicos a aproximadamente 14,2°, 16,4°, 17,0°, 18,0° y 20,2° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo.

Los cristales de la invención objeto muestran alta estabilidad de almacenamiento, son ventajosos en términos de calidad de gestión, y también poseen una excelente facilidad de uso. En particular, como se muestra en los Ejemplos que se describen posteriormente, incluso si el cristal de tipo I se almacena durante un período de tiempo prolongado en condiciones de alta temperatura y alta humedad, apenas se detecta contenido de análogos totales, y apenas se observa cambio de forma cristalina. Además, dado que el cristal de tipo II o el cristal de tipo III se convierten en el cristal de tipo I cuando se calienta el cristal de tipo II o el cristal de tipo III de aproximadamente 70 °C a 90 °C durante varias horas y se almacena de aproximadamente 30 °C a 50 °C durante un período de tiempo prolongado (un mes) y con una humedad relativa del 75 % o superior, el cristal de tipo I tiene una estabilidad superior en comparación con el cristal de tipo II o el cristal de tipo III.

20 Como resulta obvio a partir de las descripciones del Documento de Patente 1, dado que el compuesto (1) muestra una fuerte actividad antitumoral, se puede usar una composición farmacéutica que contenga los cristales de la invención objeto particularmente como agente antitumoral, y se pueden usar para la fabricación de la misma.

30 La pureza de los cristales de la invención objeto, particularmente de los cristales de tipo I, de tipo II y de tipo III en las formas cristalinas respectivas del mismo, es preferentemente básicamente un 95 % o superior, más preferentemente básicamente un 98 % o superior, e incluso más preferentemente básicamente un 99 % o superior.

35 Los cristales de la invención objeto se pueden procesar, después de pulverizarse o sin pulverizarse, en diversas formas de agentes antitumorales, por ejemplo, preparaciones orales tales como comprimidos, cápsulas, gránulos, gránulos finos, polvos, y jarabes; preparaciones parenterales tales como preparaciones inyectables intravenosas, preparaciones inyectables subcutáneas, preparaciones inyectables intramusculares, y supositorios. Los cristales de la invención objeto se van a administrar por vía intravenosa, y la forma de dosificación es preferentemente una preparación inyectable. Tal preparación inyectable se usa deseablemente en forma de una preparación inyectable sólida, tal como una preparación inyectable liofilizada o una preparación inyectable en polvo, que se puede usar por disolución en el momento de uso.

40 El agente antitumoral se puede producir mediante un método de preparación conocido y usado habitualmente por los expertos habituales en la materia, usando un vehículo farmacéuticamente aceptable. En este caso, también se pueden usar en combinación otros agentes antitumorales, por ejemplo, 5-FU, una formulación tegafur-uracilo, una formulación tegafur-gimeracilo-oteracilo de potasio, doxorubicina, epirubicina, clorhidrato de irinotecán, etopósido, docetaxel, paclitaxel, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, krestin, lentinan, picibanil.

50 La cantidad de dosificación de los cristales de la invención objeto en el caso de que se usen como agente antitumoral puede variar dependiendo, por ejemplo, de los síntomas del paciente al que se aplica el agente antitumoral, y de la forma de dosificación; sin embargo, en general, es preferente administrar el agente antitumoral una vez o varias veces al día en una cantidad de 2,0 a 4,0 mg/m² en términos de los cristales de la invención objeto.

Ejemplos

55 En lo sucesivo en el presente documento, el método de producción de la invención objeto se describe específicamente por medio de Ejemplos y Ejemplos de Referencia.

Ejemplo de Referencia 1

60 Síntesis de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)-N⁴-acetilcitosina

65 Se añadieron una solución 1 M en THF (2 ml) de fluoruro de tetrabutilamonio y 0,06 ml (1 mmol) de ácido acético a una solución en THF (5 ml) de N⁴-acetil-2'-ciano-2'-desoxi-3',5'-O-(1,1,3,3-tetraisopropil disiloxano-1,3-diil)-1-β-D-arabinofuranosilcitosina (537 mg, 1 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Después de la agitación, la mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (11 g) usando etanol-cloroformo al 8 % como disolvente de desarrollo. El residuo concentrado de la fracción objetivo se lavó con hexano-éter dietílico, y se obtuvieron de ese modo 259 mg (rendimiento: 88 %) del compuesto del título en forma de un cristal de color blanco.

5

Ejemplo 1

Síntesis de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina

10 Se disolvió 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)-N⁴-acetilcitosina (100 mg, 0,34 mmol) en ácido clorhídrico-metanol al 1 % (7,5 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) durante una hora. El líquido de reacción se concentró, y se vertió etanol (10 ml) a este concentrado. La mezcla se co-evaporó, y se obtuvieron de ese modo 34 mg del compuesto del título (rendimiento: 35 %).

Punto de fusión: 192 °C

15 Análisis elemental:

Valor calculado (como C₁₀H₁₃CIN₄O₄): C, 41,60; H, 4,54; N, 19,41

Valor hallado: C, 41,45; H, 4,52; N, 19,41

20 Ejemplo 2

Preparación del cristal de tipo I de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina

25 El monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina (200 mg) obtenido en el Ejemplo 1 se calentó a reflujo en etanol (34 ml) y se disolvió en el mismo. La solución se añadió gota a gota a éter dietílico (34 ml) que se había enfriado a 0 °C. La mezcla se agitó durante 2 horas, y a continuación se recogió un precipitado por filtración y se secó a presión reducida a 35 °C. Se obtuvieron de ese modo 123 mg (rendimiento: 62 %) del compuesto del título en forma de cristal de tipo I.

Punto de fusión (punto de descomposición): 192 °C a 197 °C

30 Análisis elemental:

Valor calculado (como C₁₀H₁₃CIN₄O₄): C, 41,60; H, 4,54; N, 19,41

Valor hallado: C, 41,64; H, 4,51; N, 19,28

35 La Figura 1 muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo I obtenido en el presente documento. Los picos característicos se reconocieron a aproximadamente 13,7°, 15,7°, 16,0°, 18,6°, 20,3° y 22,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo.

Los datos de difracción de rayos X de polvo se obtuvieron por irradiación del cristal con un rayo CuK α (1,541 Å) usando un aparato de difracción de rayos X (nombre comercial: PW3050, fabricado por Koninklijke Philips Electronics N.V.), y para la detección de los ángulos se usó un goniómetro vertical.

40 Ejemplo 3

Preparación del cristal de tipo II de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina

45 El cristal de tipo I de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina (200 mg) se calentó a reflujo en etanol (34 ml) y se disolvió en el mismo, y la solución se enfrió a 40 °C. Posteriormente, el etanol (34 ml) en el que se disolvió este compuesto se vertió, por adición gota a gota, en éter dietílico (34 ml) que estaba en estado de reflujo (recipiente de reacción calentado a 40 °C). La mezcla se agitó durante una hora mientras estaba a reflujo, y a continuación se recogió un precipitado generado en éter dietílico por filtración y se secó a presión reducida a 35 °C. Se obtuvieron de ese modo 119 mg (rendimiento: 60 %) del compuesto del título en forma de cristal de tipo II.

50 La Figura 2 muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo II obtenido en el presente documento. Este cristal de tipo II se analizó usando un aparato de difracción de rayos X de polvo de la misma forma que se ha descrito anteriormente, y se reconocieron picos característicos a aproximadamente 6,4°, 12,6°, 17,3°, y 21,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo.

Punto de fusión (punto de descomposición): 192 °C a 196 °C

55 Análisis elemental:

Valor calculado (como C₁₀H₁₃CIN₄O₄): C, 41,60; H, 4,54; N, 19,41

Valor hallado: C, 41,48; H, 4,57; N, 19,14

Ejemplo 4

60

Preparación del cristal de tipo III de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina

65 El cristal de tipo I de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina (200 mg) se calentó a reflujo en etanol (34 ml) y se disolvió en el mismo, y la solución obtenida de ese modo se añadió gota a gota lentamente a un recipiente que se había enfriado a 0 °C. La solución se agitó durante 2 horas, y a continuación se

recogió un precipitado por filtración y se secó a presión reducida a 35 °C. Se obtuvieron de ese modo 66 mg (rendimiento: 33 %) del compuesto del título en forma de cristal de tipo III.

La Figura 3 muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvo del cristal de tipo III obtenido en el presente documento. Este cristal de tipo III se analizó usando un aparato de difracción de rayos X de polvo de la misma forma que se ha descrito anteriormente, y se reconocieron picos característicos a aproximadamente 14,2°, 16,4°, 17,0°, 18,0°, y 20,2° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo.

Punto de fusión: 195 °C

Análisis elemental:

Valor calculado (como C₁₀H₁₃ClN₄O₄): C, 41,60; H, 4,54; N, 19,41

Valor hallado: C, 41,59; H, 4,42; N, 19,29

Ejemplo 5

Ensayo de estabilidad

Se esparcieron uniformemente polvos de cristal de tipo I y de tipo II, respectivamente, en una placa de Petri de vidrio, y se usó como tapa papel de aluminio (o una película de resina transparente, con el fin de almacenar en condiciones de exposición lumínica) en las que se habían perforado apropiadamente agujeros de ventilación, para preparar las muestras de ensayo. Estas muestras se almacenaron respectivamente durante 30 días en cuatro clases de condiciones tales como [60 °C], [40 °C/humedad relativa (HR) 75 %], [25 °C/humedad relativa (HR) 60 %, exposición lumínica 2000 lux-h], y [25 °C/humedad relativa (HR) 60 %, luz ensombrecida], y a continuación las muestras se ensayaron usando cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y difracción de rayos X de polvo (XRD).

Para la difracción de rayos X de polvo (XRD), el análisis se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente.

Para el análisis por HPLC, se disolvieron 22,9 mg de la muestra en 10 ml de ácido clorhídrico 0,01 mol/l, y a continuación se midió el contenido de análogos en el cristal en las siguientes condiciones.

Columna: Synergi Hydro-RP 80A Phenomenex (φ 4,6 mm x 25 cm, 4 μ m); temperatura 25 °C

Fase móvil: se disuelven 2,05 g de dihidrogenofosfato potásico en 3000 ml de agua, y se añade ácido fosfórico a la solución para ajustar el pH a 3,0. La fase móvil se prepara por adición de 60 ml de metanol a 2940 ml del líquido de solución.

Caudal: Aproximadamente 1,0 ml/min

Detector: Medidor de absorción ultravioleta (longitud de onda de la medición: 254 nm)

Muestra patrón: monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi- β -D-arabinofuranosil)citosina

El término "análogos totales" se refiere a las sustancias detectadas distintas al monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi- β -D-arabinofuranosil)citosina, y el término "análogos totales (%)" se refiere a la proporción de contenido de análogos totales con respecto a la muestra patrón.

Los resultados de este ensayo de estabilidad se muestran en la Tabla 1.

El cristal de tipo I y el cristal de tipo II se sometieron ambos al ensayo de estabilidad en diversas condiciones (en condiciones de humidificación y exposición). Como resultado, no se reconoció aumento en los análogos totales como se presenta en la Tabla 1, y se descubrió que los cristales eran formas cristalinas altamente estables.

Además, el cristal de tipo II se convirtió en el cristal de tipo I después de 30 días en las condiciones de 40 °C/humedad relativa (RH) del 75 %, y el punto de fusión y el diagrama de difracción de rayos X de polvo fueron consistentes con los obtenidos en el Ejemplo 1. Además, el cristal de tipo III se convirtió en el cristal de tipo I cuando se calentó a 80 °C durante dos horas, y el punto de fusión y el diagrama de difracción de rayos X fueron consistentes con los obtenidos en el Ejemplo 1.

A partir de estos resultados, se descubrió que el punto de fusión de los cristales de tipo I a III era de 192 °C a 197 °C y poseían una excelente estabilidad. En particular, se descubrió que el cristal de tipo I mostraba una estabilidad superior en comparación con el cristal de tipo II o el cristal de tipo III.

[Tabla 11]

Temperatura de almacenamiento	Análogos totales (%)					Cambio de forma cristalina a partir del valor inicial	
	Forma cristalina	Período de almacenamiento					
		Inicial	10 días	18 días	30 días		
60 °C	I	0,07	0,06	0,07	0,07	0,00	Sin cambio
	II	0,06	0,06	0,07	0,07	0,01	Sin cambio
40 °C/75 % HR	I	0,07	0,07	0,06	0,05	-0,02	Sin cambio
	II	0,06	0,06	0,08	0,16	0,10	Cambio (II → I)

ES 2 426 025 T3

Temperatura de almacenamiento	Análogos totales (%)						Cambio de forma cristalina a partir del valor inicial
	Forma cristalina	Período de almacenamiento				Cantidad de aumento a partir del valor inicial	
		Inicial	10 días	18 días	30 días		
25 °C/60 % HR/ 2000 lx	I	0,07	0,09	0,09	0,13	0,06	Sin cambio
	II	0,06	0,15	0,23	0,38	0,32	Sin cambio
25 °C/60 % HR/luz ensombrecida	I	0,07	0,07	0,06	0,07	0,00	Sin cambio
	II	0,06	0,06	0,07	0,09	0,03	Sin cambio

REIVINDICACIONES

- 5 1. Cristal de tipo I de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina que tiene picos característicos a 13,7°, 15,7°, 16,0°, 18,6°, 20,3°, y 22,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo, y que tiene un punto de fusión de 192 °C a 197 °C.
2. El cristal de tipo I de acuerdo con la reivindicación 1 que no contiene etanol.
- 10 3. Cristal de tipo II de monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina que tiene picos característicos a 6,4°, 12,6°, 17,3°, y 21,7° como ángulos de difracción ($2\theta \pm 0,1^\circ$) medidos mediante difracción de rayos X de polvo, y que tiene un punto de fusión de 192 °C a 196 °C.
4. El cristal de tipo II de acuerdo con la reivindicación 3 que no contiene etanol.
- 15 5. Composición farmacéutica que comprende el cristal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
6. Agente antitumoral que comprende el cristal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 20 7. Método para la producción de un cristal de tipo I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende las etapas de disolver con calentamiento monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina en etanol, y a continuación añadir gota a gota esta solución en éter dietílico que se ha enfriado a 0 ± 5 °C mientras se agita la mezcla, para obtener el cristal de tipo I.
- 25 8. Método para la producción de un cristal de tipo II de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, que comprende las etapas de disolver con calentamiento monoclóhidrato de 1-(2'-ciano-2'-desoxi-β-D-arabinofuranosil)citosina o cristal de tipo I en etanol, enfriar posteriormente esta solución a 40 ± 5 °C, y a continuación añadir gota a gota éter dietílico a la solución mientras se agita la mezcla, para obtener el cristal de tipo II.

FIG. 1

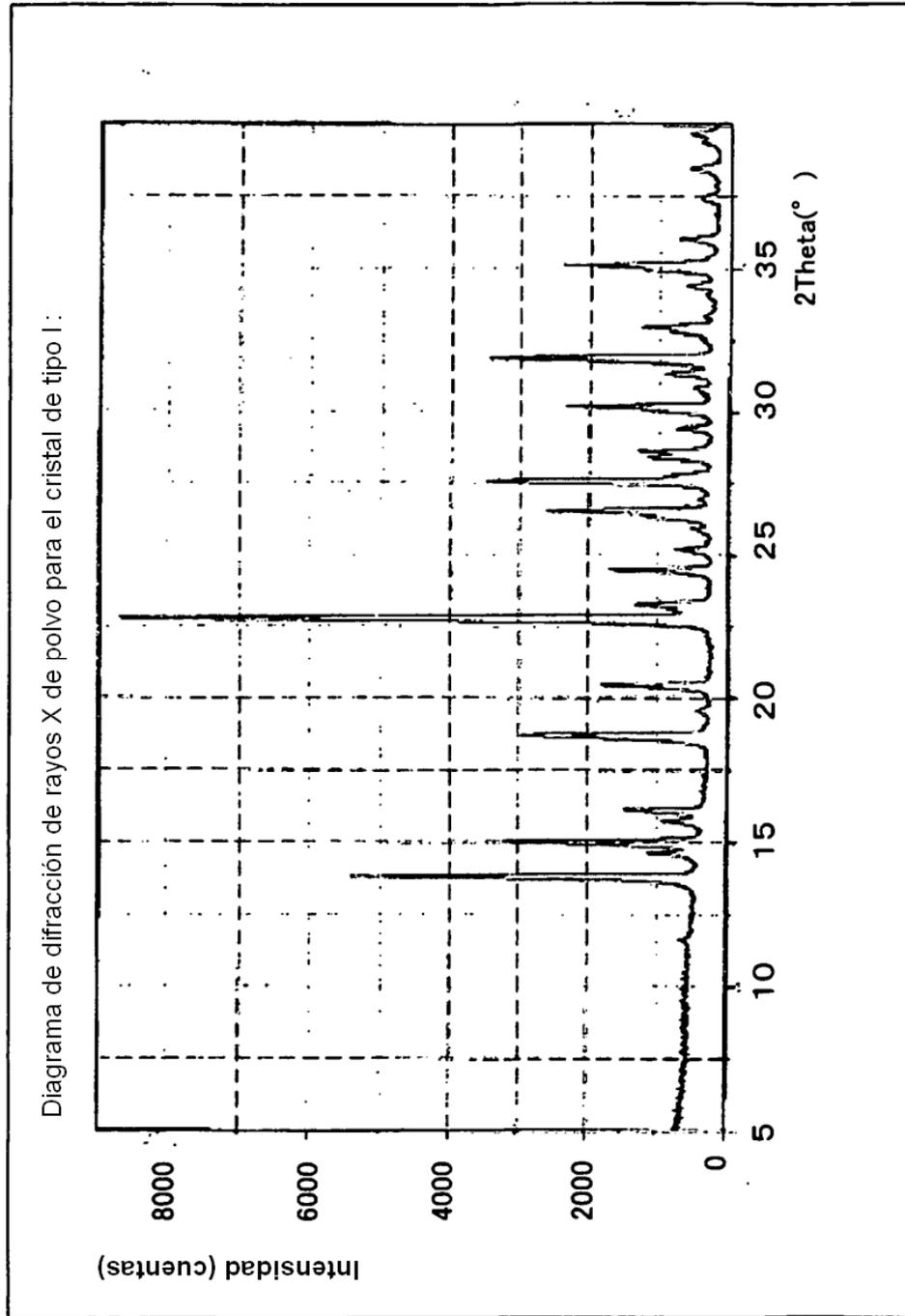


FIG. 2

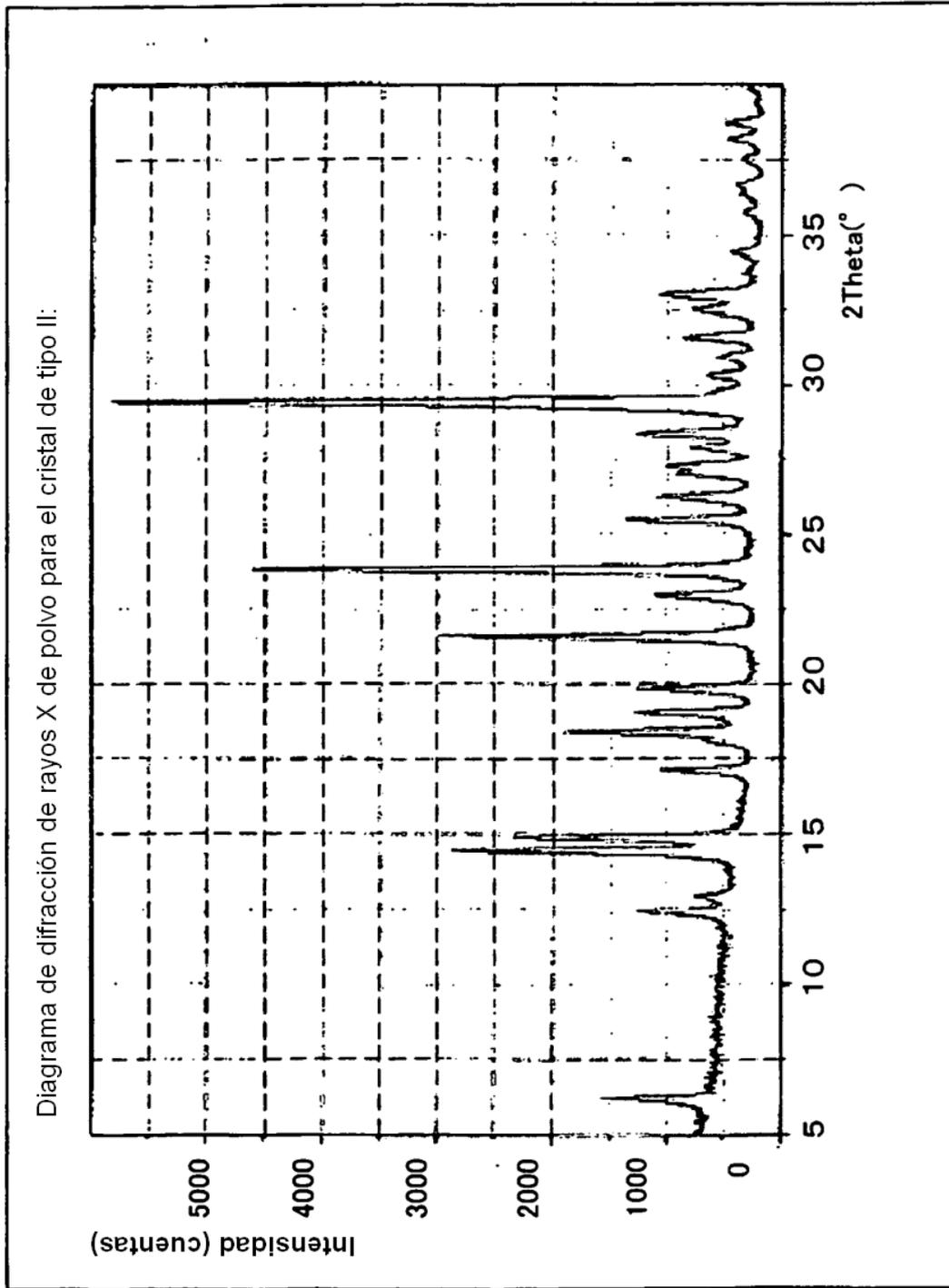


FIG. 3

