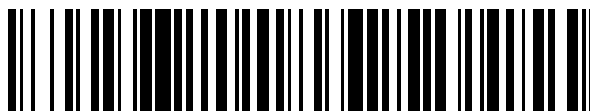


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 374**

51 Int. Cl.:

C07D 493/04 (2006.01)

A61K 31/357 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2011** **E 11776758 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.12.2014** **EP 2632926**

54 Título: **Forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III**

30 Prioridad:

29.10.2010 EP 10189373

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

09.02.2015

73 Titular/es:

**INDENA S.P.A. (100.0%)
Viale Ortles, 12
20139 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**CICERI, DANIELE;
GAMBINI, ANDREA;
RICOTTI, MAURIZIO y
SARDONE, NICOLA**

74 Agente/Representante:

MIR PLAJA, Mireia

ES 2 528 374 T3

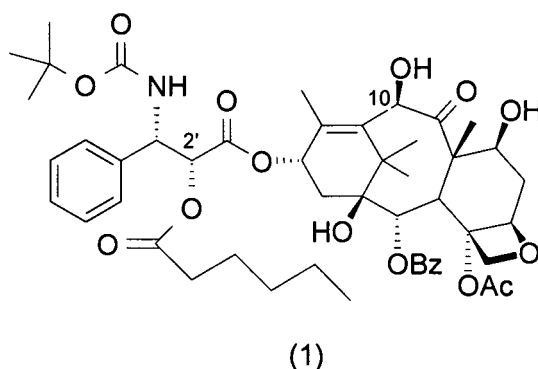
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere a una nueva forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III, llamada de aquí en adelante compuesto (1). El compuesto (1), anteriormente descrito en la US 2009/0130163 y en la WO 2009/126175, actúa inhibiendo la proliferación y migración celular. Dicho compuesto puede ser eficazmente incorporado en dispositivos médicos tales como stents, a fin de reducir la incidencia de cierre de los vasos post-angioplastia. El compuesto (1) puede también ser usado como medicamento contra tumores.



ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La US 2009/0130163 y la WO 2009/126175 describen varias posibles aplicaciones del compuesto (1) pero no dan a conocer ninguna de sus propiedades físicas. Probablemente debido a la presencia de la altamente flexible mitad pentil-carbonilo en posición 2'-O, el compuesto (1) no puede ser fácilmente cristalizado y por consiguiente es habitualmente preparado en forma amorfa. Sin embargo, esta forma presentaba problemas de estabilidad química durante los estudios de estabilidad según la normativa de la ICH, principalmente con respecto a una impureza derivada de la oxidación de la posición 10 del núcleo de bacatina. Puesto que los materiales cristalinos tienen una más baja energía libre de Gibbs en comparación con las formas amorfas, es de esperar para un material cristalino una más baja velocidad de descomposición y por consiguiente un mejor comportamiento durante los estudios de estabilidad. Así, es deseable encontrar una forma cristalina del compuesto (1) que sea química y termodinámicamente estable. Un método para preparar tal forma sólida de compuesto (1) de manera continua y constante es también un prerequisite para el desarrollo de un robusto proceso de fabricación.

EXPOSICION DE LA INVENCION

[0003] Se ha descubierto ahora que el compuesto (1) puede existir en forma cristalina. Así, según un primer aspecto, la presente invención aporta una forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III, la cual es la forma cristalina A de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III que tiene un difractograma XRPD (XRPD = difracción de rayos X en polvo) caracterizado por los picos siguientes: 6,1, 9,1, 10,1, 10,6, 11,7, 13,0, 18,5, 19,8 y 22,0 grados 2-theta $\pm 0,2^\circ$.

[0004] Como es sabido para el experto en la materia, se dispone de métodos de medición para verificar si un sólido está o no en forma cristalina. La cristalinidad puede ser detectada p. ej. por medio de técnicas de difracción tales como la difracción de rayos X en polvo o el análisis térmico diferencial (p. ej. para medir la temperatura de fusión y/o cristalización).

[0005] Según la presente invención, la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III es la Forma cristalina A. En consecuencia, el polimorfo llamado "Forma A" es objeto de la presente invención, junto con el proceso para producirlo.

[0006] Preferiblemente, la Forma cristalina A adicionalmente tiene los picos siguientes en el difractograma XRPD: 9,8, 14,0, 15,4, 16,4, 17,5, 17,8, 19,2, 20,6, 22,7, 24,1, 25,4, 27,0, 28,0, 30,2, 31,5, 31,7 y 34,6 grados 2-theta $\pm 0,2^\circ$.

[0007] En una realización preferida, la Forma cristalina A es un hidrato.

[0008] Preferiblemente, el hidrato de la Forma cristalina A tiene un contenido de agua de hasta un 4,0% en peso, y más preferiblemente de un 1,0% en peso a un 2,5% en peso.

[0009] En una realización preferida, el hidrato de la Forma cristalina A es un monohidrato.

5 **[0010]** En una realización preferida, la Forma cristalina A tiene un punto de fusión de $130 \pm 2^\circ\text{C}$, medido como la temperatura de pico mediante análisis térmico diferencial a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

[0011] En una realización preferida, la Forma A es una forma monohidratada que contiene aproximadamente un 2% de agua y/o se funde a aproximadamente 130°C .

10 **[0012]** En una realización preferida, la Forma A es un hidrato que contiene agua de cristalización que es liberada dentro de la gama de temperaturas de $70\text{-}120^\circ\text{C}$ según medición efectuada mediante análisis térmico diferencial a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$., en una cantidad de aproximadamente un 1,0 a un 1,5% en peso.

15 **[0013]** Preferiblemente, la Forma cristalina A tiene un espectro de FTIR-ATR (FTIR-ATR = espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier con reflexión total atenuada) que presenta frecuencias de absorción a 3444, 3265, 2971, 2940, 1732, 1697, 1367, 1240, 1157, 1063, 973, 756 y $704\text{ cm}^{-1} \pm 2\text{ cm}^{-1}$. Más preferiblemente, la Forma cristalina A adicionalmente tiene los picos siguientes en el espectro de FTIR-ATR: 3063, 2902, 2875, 1641, 1603, 1586, 1538, 1497, 1454, 1316, 1277, 1023, 946, 918, 884, 849, 802, 776, 644, 609 y $577\text{ cm}^{-1} \pm 2\text{ cm}^{-1}$.

20 **[0014]** Según un aspecto adicional, la presente invención aporta la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III como la anteriormente descrita para ser usada como medicamento.

25 **[0015]** Preferiblemente, la forma cristalina, y en particular la Forma cristalina A, puede ser usada como medicamento para inhibir la proliferación y migración celular, para reducir la incidencia de cierre de los vasos post-angioplastia, y/o para el tratamiento de tumores.

30 **[0016]** Según un aspecto adicional, la presente invención aporta un proceso para preparar la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III como la anteriormente descrita, el cual comprende el paso de agitar 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III en una mezcla de un solvente alcohólico con agua, en donde el tiempo de agitación es de al menos 2 horas, y preferiblemente de al menos 12 horas.

35 **[0017]** En una realización preferida, la 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III, que está preferiblemente en la forma amorfa, es disuelta al menos parcialmente en el solvente alcohólico, a continuación de lo cual se mezcla la solución alcohólica con agua y se agita la mezcla de solvente alcohólico y agua.

[0018] Preferiblemente, la mezcla es agitada a una temperatura situada dentro de la gama de temperaturas que va desde 0 hasta 45°C , y más preferiblemente a temperatura ambiente. Preferiblemente, el solvente alcohólico es metanol, etanol o una mezcla de los mismos.

40 **[0019]** Preferiblemente, la relación volumétrica de solvente alcohólico a agua es de entre 0,3 y 0,6.

45 **[0020]** La importancia de la forma cristalina del compuesto (1), y preferiblemente de la Forma A, radica primariamente en la estabilidad química del compuesto (1). En esta nueva forma se evita la oxidación de la posición 10 del núcleo de bacatina. La facilidad de aislamiento por medio de filtración o centrifugación es otra ventaja de la Forma A. Como ya se ha indicado anteriormente, según una realización preferida de la invención la preparación de la Forma A puede llevarse a cabo disolviendo compuesto (1) bruto (p. ej. en su forma amorfa) en una cantidad adecuada de solvente alcohólico, preferiblemente metanol o etanol, y añadiendo esta solución a una cantidad adecuada de agua. Ligar la mezcla resultante a temperatura variable, preferiblemente de $0\text{-}45^\circ\text{C}$, y con la máxima preferencia aproximadamente a temperatura ambiente, por espacio de al menos 12 horas conducirá a la Forma A. La típica relación volumétrica de solvente alcohólico y agua es de 0,3-0,6.

CARACTERIZACIÓN

55 **[0021]** La difracción de rayos X en polvo (XRPD), la termogravimetría y el análisis térmico diferencial (TG/DTA) y la espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) permiten diferenciar la Forma A de la fase amorfa del compuesto (1).

DIFRACCIÓN DE RAYOS X EN POLVO (XRPD)

60 **[0022]** Los espectros de difracción de rayos X en polvo se tomaron en un Difractómetro Philips PW1800. El generador de rayos X se hizo funcionar a 45 kV y 35 mA, usando la línea de Cu K α como fuente de radiación. La muestra fue cargada sobre una adecuada rendija y la longitud irradiada fue de 10 mm. Se recogieron los datos entre 2 y 65 grados 2-theta con un tamaño de escalón de $0,02$ grados 2-theta.

TERMOGRAVIMETRÍA Y ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL (TG/DTA)

[0023] Los análisis fueron llevados a cabo usando un sistema simultáneo Seiko TG/DTA6200 usando recipientes de aluminio abiertos (de 40 µl de volumen). Las señales de TG/DT fueron registradas desde 30 hasta 300°C con velocidad de calentamiento lineal (10°C/min.) bajo un flujo de nitrógeno de 200 ml/min. Se usaron para cada medición aproximadamente 10 mg de polvo.

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

[0024] Los espectros de infrarrojos fueron registrados con técnica de ATR usando un espectrómetro por transformada de Fourier Perkin Elmer Spectrum One. Los espectros fueron el resultado de la adquisición y transformación de 16 barridos coañadidos en la región espectral de 4000-550 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹.

AMORFA

[0025] El espectro de difracción de rayos X en polvo de la Amorfa (Fig. 1, gama angular de $2 \leq 2\theta \leq 40^\circ$) presenta una ausencia de picos de difracción y un amplio ruido típico de una muestra amorfa.

[0026] El análisis TG/DT de la Amorfa (Fig. 2) presenta un perfil DT caracterizado por una transición vítrea a aproximadamente 123°C. En el perfil TG, una pérdida de peso de aproximadamente un 1,0% desde 30 hasta 120°C debido a la liberación de humedad residual va seguida de una masiva pérdida de peso que tiene lugar a los 200°C debido a una reacción degradativa.

[0027] El espectro de FTIR-ATR de la Amorfa se muestra en las Figuras 3a (la gama espectral de 4000-2500 cm⁻¹) y 3b (la gama espectral de 1900-550 cm⁻¹). Dicho espectro presenta frecuencias de absorción a 3443, 2959, 2935, 1707, 1946, 1453, 1367, 1242, 1159, 1068, 1024, 982, 776 y 708 cm⁻¹ ± 2 cm⁻¹.

FORMA A

[0028] Se trata a continuación sobre las realizaciones preferidas de Forma cristalina A haciendo referencia a las mediciones por XRPD, TG/DT y FTIR-ATR que se muestran en las Figuras 4 a 6b.

[0029] En el espectro de difracción de rayos X en polvo de la Forma A (Fig. 4, gama angular de $2 \leq 2\theta \leq 40^\circ$) presenta una estructura cristalina con útiles reflexiones distintivas a aproximadamente 6,1, 9,1, 9,8, 10,1, 10,6, 11,7, 13,0, 14,0, 15,4, 16,4, 17,5, 17,8, 18,5, 19,2, 19,8, 20,6, 22,0, 22,7, 24,1, 25,4, 27,0, 28,0, 30,2, 31,5, 31,7 y 34,6 grados 2-theta.

[0030] En una realización preferida, la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III tiene un espectro de difracción de rayos X en polvo que está en sustancia de acuerdo con la Figura 4.

[0031] El análisis TG/DT de la Forma A (Fig. 5) presenta un perfil DT caracterizado por una débil señal endotérmica por debajo de 70°C debido a la liberación de humedad residual, asociada a una pérdida de peso (en el perfil TG) de aproximadamente un 2,5%; un pico endotérmico con máximo a aproximadamente 82°C debido a la liberación de agua de cristalización, asociado a una pérdida de peso (en el perfil TG) de aproximadamente un 1,2% desde 70 hasta 120°C (coherente con un producto hidrato); y un pico de fusión con inicio a aproximadamente 123°C y máximo a aproximadamente 130°C. En el perfil TG, la primera pérdida progresiva de peso va seguida de una pérdida masiva que tiene lugar a los 180°C debido a una reacción degradativa.

[0032] En una realización preferida, la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III tiene un perfil de análisis térmico diferencial que está en sustancia de acuerdo con la Figura 5.

[0033] El espectro de FTIR-ATR de la Forma A se muestra en las Figuras 6a (la gama espectral de 4000-2500 cm⁻¹) y 6b (la gama espectral de 1900-550 cm⁻¹). Dicho espectro presenta frecuencias de absorción a 3444, 3265, 3063, 2971, 2940, 2902, 2875, 1732, 1697, 1641, 1603, 1586, 1538, 1497, 1454, 1367, 1316, 1277, 1240, 1157, 1063, 1023, 973, 946, 918, 884, 849, 802, 776, 756, 704, 644, 609 y 577 cm⁻¹.

[0034] En una realización preferida, la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III tiene un espectro de FTIR-ATR que está en sustancia de acuerdo con las Figuras 6a y 6b.

[0035] Se ilustra la presente invención mediante los ejemplos siguientes, que no pretenden limitar el alcance efectivo de las reivindicaciones:

EJEMPLO 1

Preparación de la Forma cristalina A

[0036] Compuesto amorfo (1) (10 g) (preparado como se describe en la WO 2009/126175, ejemplo 2) fue disuelto en etanol (70 ml) a temperatura ambiente. La solución fue añadida a lo largo de 1 hora a agua purificada (140 ml) y la lechada resultante fue agitada a temperatura ambiente por espacio de 16 horas. El sólido blanco fue separado por filtración, lavado con una solución al 33% de etanol en agua y secado bajo vacío a 40°C por espacio de 16 horas, con lo cual se obtuvo el compuesto (1) que tenía los característicos espectros de XRPD, TG/DTA e IR que se muestran en las Figuras 4, 5 y 6 respectivamente.

EJEMPLO 2

[0037] Datos de estabilidad a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y a una humedad relativa de un $60 \pm 5\%$ de la forma amorfa y la Forma A del compuesto (1). El empaquetado fue el mismo para ambas formas sólidas (vial de vidrio ámbar + bolsa de polietileno + bolsa multicapa de PET/aluminio/PE sellada al vacío).

Forma amorfa del compuesto (1)			
Determinaciones	T=0	3 meses	6 meses
Análisis por HPLC (%) del compuesto (1) con referencia a la base anhidra y exenta de solvente	99,7%	99,0%	98,9%
Identificación por IR	Cumple con las Figs. 3A-3B	Cumple	Cumple
Rotación óptica específica ($^\circ$) (c=1 etanol, a 20°C)	-46,0	-46,3	-46,0
Impureza potencial-HPLC (% del área)			
10-deshidrocompuesto (1)	0,29%	0,36%	0,53%

Forma A del compuesto (1)			
Determinaciones	T=0	3 meses	6 meses
Análisis por HPLC (%) del compuesto (1) con referencia a la base anhidra y exenta de solvente	99,0%	99,0%	99,1%
Identificación por IR	Cumple con las Figs. 6A-6B	Cumple	Cumple
Rotación óptica específica ($^\circ$) (c=1 etanol, a 20°C)	-46,2	-46,3	-46,3
Impureza potencial-HPLC (% del área)			
10-deshidrocompuesto (1)	0,29%	0,29%	0,29%

REIVINDICACIONES

- 5 1. Forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III que es la Forma cristalina A que tiene un difractograma XRPD **caracterizado por** los picos siguientes: 6,1, 9,1, 10,1, 10,6, 11,7, 13,0, 18,5, 19,8 y 22,0 grados 2-theta $\pm 0,2^\circ$.
- 10 2. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según la reivindicación 1, que tiene adicionalmente los picos siguientes en el difractograma XRPD: 9,8, 14,0, 15,4, 16,4, 17,5, 17,8, 19,2, 20,6, 22,7, 24,1, 25,4, 27,0, 28,0, 30,2, 31,5, 31,7 y 34,6 grados 2-theta $\pm 0,2^\circ$.
- 15 3. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según una de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la Forma cristalina A es un hidrato.
- 20 4. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según la reivindicación 3, en donde el hidrato de la Forma cristalina A tiene un contenido de agua de hasta un 4,0% en peso.
- 25 5. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según la reivindicación 3 o 4, en donde el hidrato de la Forma cristalina A es un monohidrato.
- 30 6. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la Forma cristalina A tiene un punto de fusión de $130 \pm 2^\circ\text{C}$, medido como la temperatura de pico mediante análisis térmico diferencial a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.
- 35 7. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la Forma cristalina A tiene un espectro de FTIR-ATR que presenta frecuencias de absorción a 3444, 3265, 2971, 2940, 1732, 1697, 1367, 1240, 1157, 1063, 973, 756 y $704\text{ cm}^{-1} \pm 2\text{ cm}^{-1}$.
- 40 8. La forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según una de las reivindicaciones 1 a 7 destinada a ser usada como medicamento.
- 45 9. Proceso para preparar la forma cristalina de 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III según una de las reivindicaciones 1 a 8, el cual comprende el paso de agitar 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III en una mezcla de un solvente alcohólico con agua, y en donde el tiempo de agitación es de al menos 2 horas.
10. Proceso según la reivindicación 9, en donde la 13-[(N-terbutoxicarbonil)-2'-O-hexanoil-3-fenilisoserinil]-10-desacetilbacatina III, que está preferiblemente en forma amorfa, es disuelta al menos parcialmente en el solvente alcohólico, a continuación de lo cual se mezcla la solución alcohólica con agua y se agita la mezcla de solvente alcohólico y agua.
11. Proceso según la reivindicación 9 o 10, en donde la mezcla es agitada a una temperatura situada dentro de la gama de temperaturas que va desde 0 hasta 45°C .
12. Proceso según una de las reivindicaciones 9 a 11, en donde el solvente alcohólico es metanol, etanol o una mezcla de los mismos; y/o en donde la relación volumétrica de solvente alcohólico y agua es de entre 0,3 y 0,6.

Fig. 1

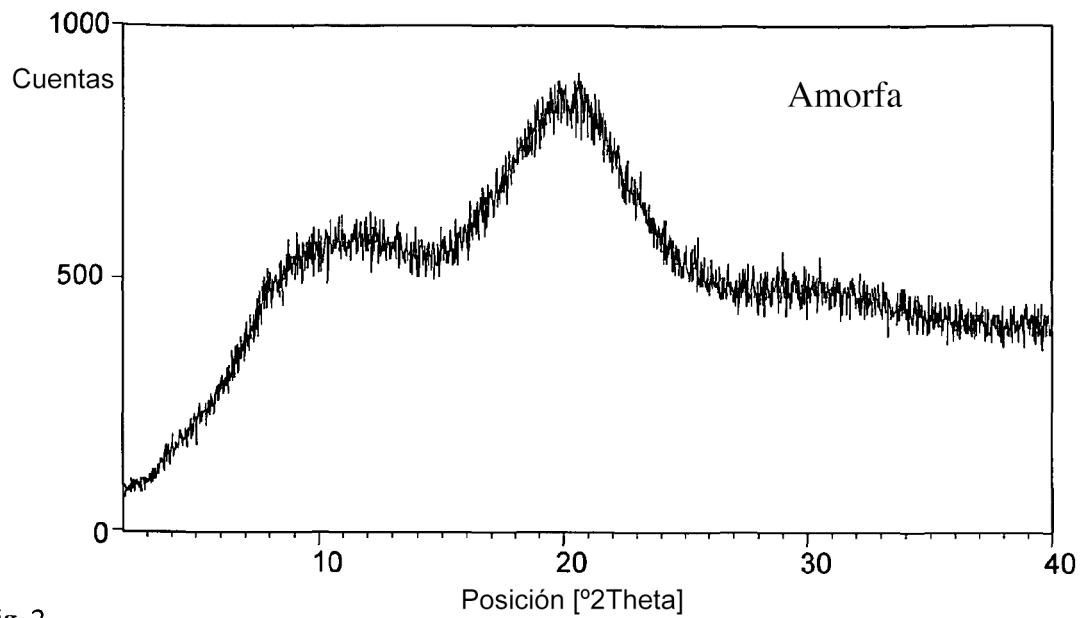


Fig. 2

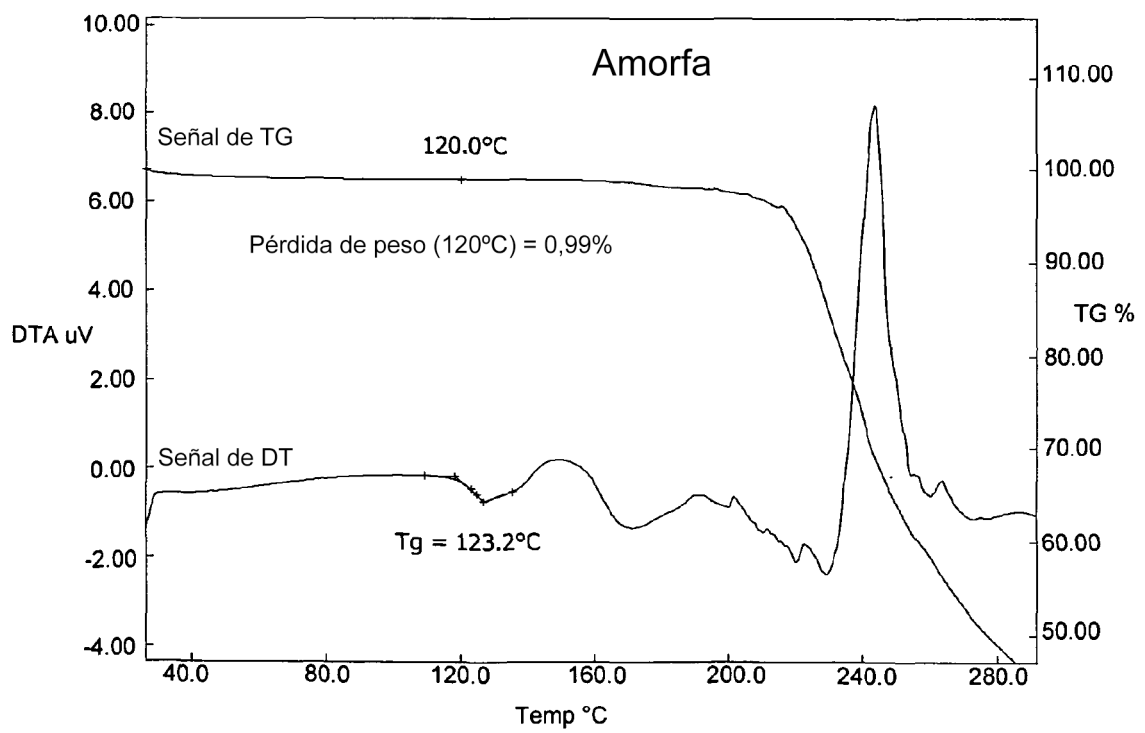


Fig. 3a

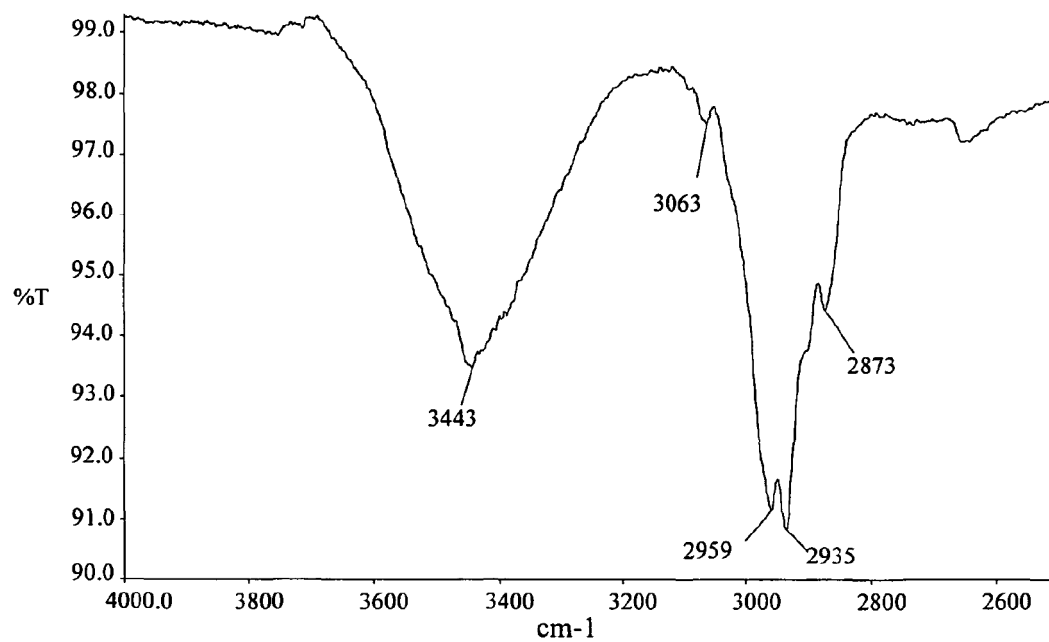


Fig. 3b

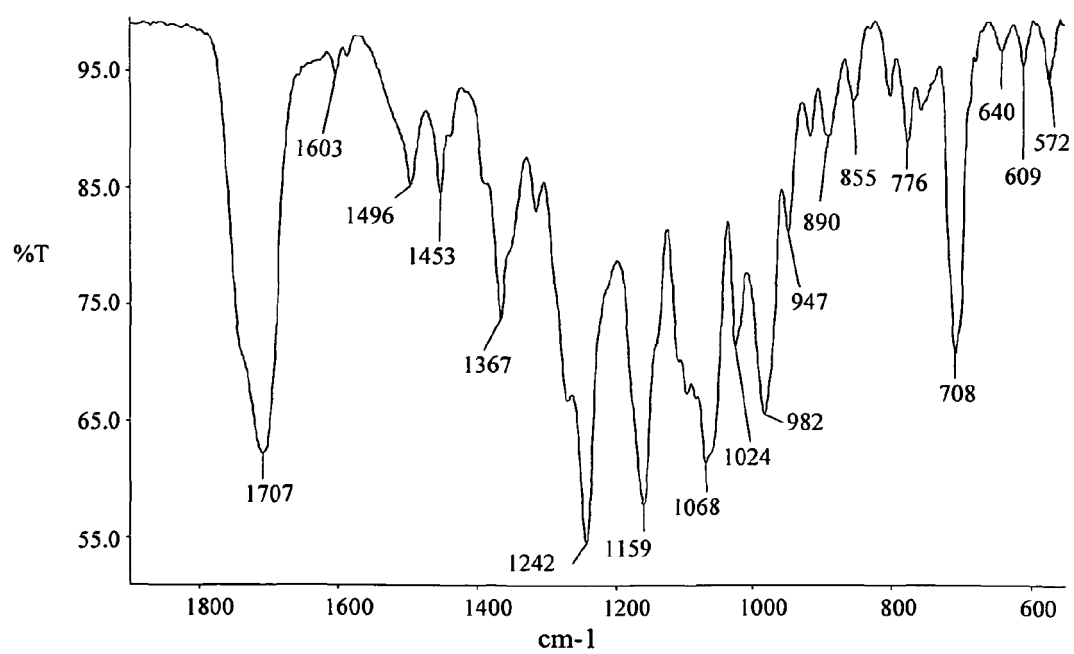


Fig. 4

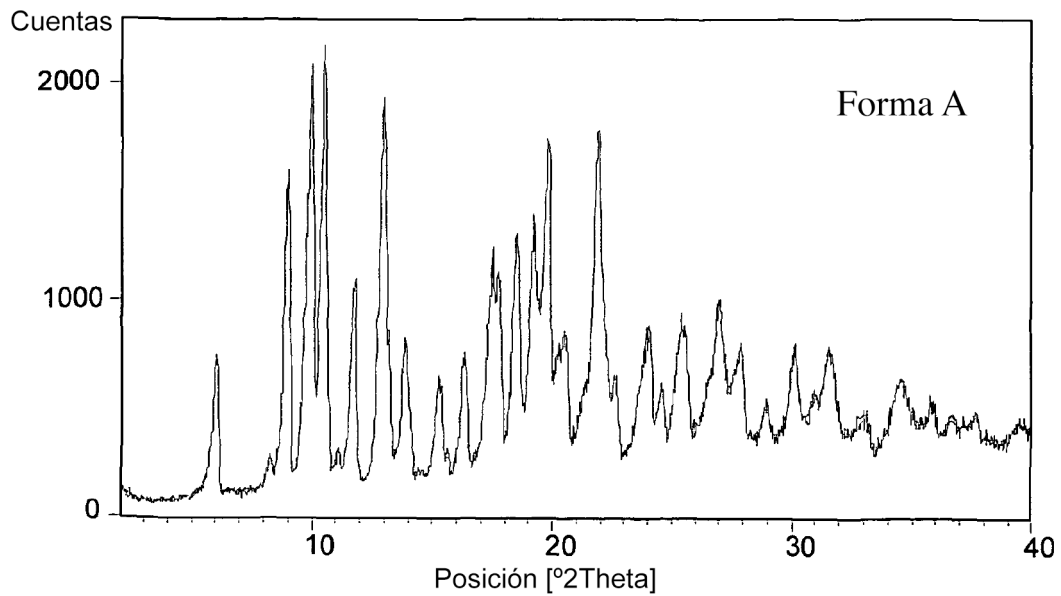


Fig. 5

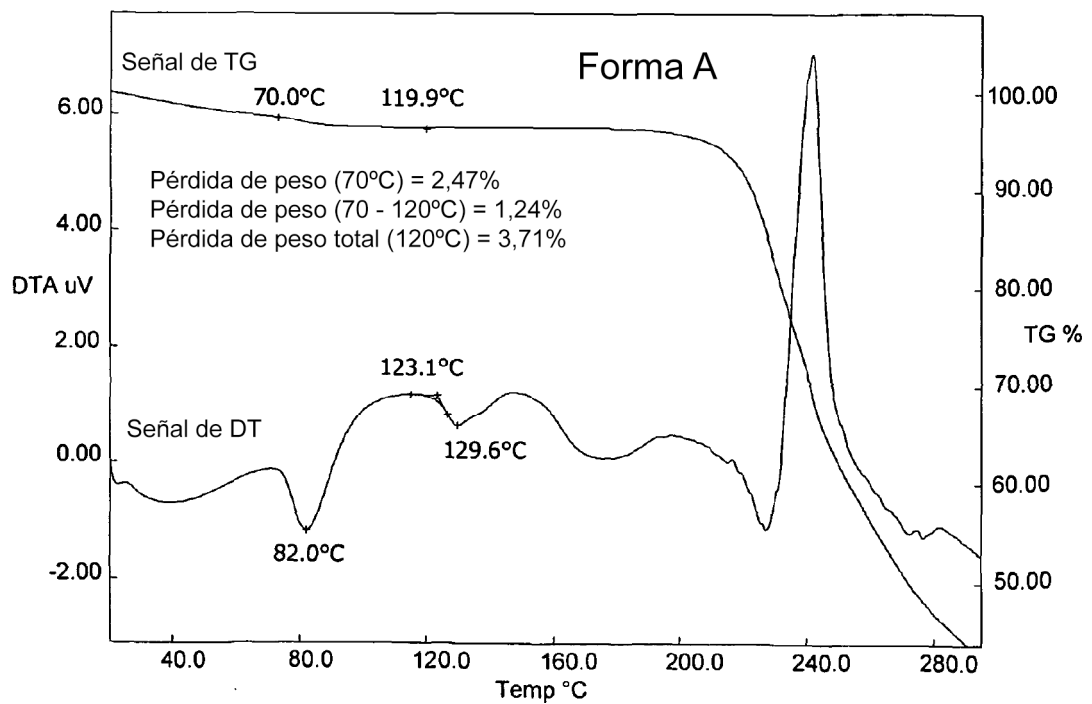


Fig. 6a

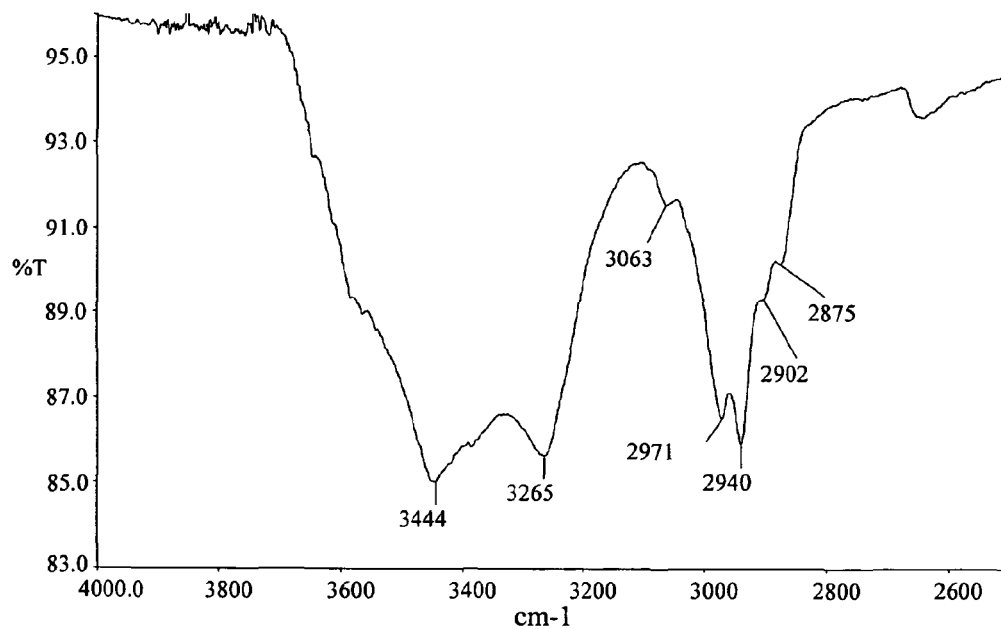


Fig. 6b

