

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 531**

51 Int. Cl.:

C07H 19/12 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2004** **E 10179540 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017** **EP 2258711**

54 Título: **Nuevas formas de 5-azacitidina**

30 Prioridad:

17.03.2003 US 390578

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

04.07.2017

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

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 621 531 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

Nuevas formas de 5-azacitidina

Campo de la invención

5 La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de la 5-azacitidina para usar en un método de tratamiento de síndromes mielodisplásicos, en donde la forma cristalina de la 5-azacitidina se caracteriza por los picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu) que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
6,566
11,983
13,089
15,138
17,446
20,762
21,049
22,776
24,363
25,743
26,305
28,741
31,393
32,806
33,043
33,536
36,371
39,157
41,643

10 y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

Además, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una fase mixta de formas de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, en donde la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que tiene los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
12,244
13,082
13,458
14,452
16,521
17,648
18,677

ES 2 621 531 T3

Ángulo 2θ (°)
19,093
20,231
21,353
22,309
23,070
23,909
26,641
26,813
27,158
29,309
29,609
30,384
32,074

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

5 La invención también está dirigida a una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde la forma cristalina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprenden picos que tienen los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
12,533
12,963
13,801
18,929
20,920
21,108
21,527
22,623
22,970
24,054
26,668
27,210
28,519
29,548
30,458
33,810
35,079
37,528

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende una 5-azacitidina sólida amorfa

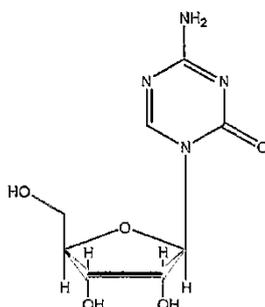
para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

Se describe en la presente memoria el aislamiento de formas cristalinas polimorfas y pseudopolimorfas de 5-azacitidina (también conocida como azacitidina y 4-amino-1-β-D-ribofuranosil-S-triazin-2(1H)-ona). La 5-azacitidina se puede usar en el tratamiento de enfermedades, incluyendo el tratamiento de síndromes mielodisplásicos (MDS).

Antecedentes de la invención

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 hay una molécula o moléculas de disolvente contenidas dentro de la red cristalina, el cristal resultante se llama un pseudopolimorfo o solvato. Si la o las moléculas de disolvente dentro de la estructura cristalina es una molécula de agua, entonces el pseudopolimorfo/solvato se llama un hidrato. Los sólidos polimorfos y pseudopolimorfos presentan diferentes propiedades físicas, incluyendo las debidas al empaquetamiento, y diferentes propiedades termodinámicas, espectroscópicas, interfaciales y mecánicas (véase, Brittain, *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, Marcel Dekker, New York, NY, 1999, pág. 1-2). Las formas polimorfas y pseudopolimorfas del principio activo (también conocido como el "principio activo farmacéutico" (API)), administradas solas o formuladas como un medicamento (conocido también como la forma farmacéutica final o acabada, o como la composición farmacéutica) son bien conocidas y pueden afectar, por ejemplo, a la solubilidad, estabilidad, fluidez, fracturabilidad y compresibilidad de los principios activos y a la seguridad y eficacia de los medicamentos (véase, p. ej., Knapman, *K Modem Drug Discoveries*, Marzo 2000: 53).

La 5-azacitidina (también conocida como azacitidina y 4-amino-1-β-D-ribofuranosil-1,3,5-triazin-2(1H)-ona; denominación del Nation Service Center NSC-102816; Número de registro CAS 320-67-2) se ha sometido a ensayos clínicos patrocinados por el NCI para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos (MDS). Véase Kornblith et al., *J. Clin. Oncol.* 20(10): 2441-2452 (2002), Gryn et al., *Leukemia Research* 26 (2.002), 893-897 y Silverman et al., *J. Clin. Oncol.* 20(10): 2429-2440 (2002). La 5-azacitidina se puede definir como que tiene la fórmula C₈H₁₂N₄O₅, un peso molecular de 244,20 y una estructura:



La forma polimorfa del principio activo 5-azacitidina y el medicamento no se han caracterizado nunca. Un objeto de la presente invención es caracterizar las formas polimorfas de la 5-azacitidina.

Resumen de la invención

La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de la 5-azacitidina para usar en un método de tratamiento de síndromes mielodisplásicos, en donde la forma cristalina de la 5-azacitidina se caracteriza por los picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu) que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2 θ :

Ángulo 2 θ (°)
6,566
11,983
13,089
15,138
17,446
20,762

ES 2 621 531 T3

Ángulo 2θ (°)
21,049
22,776
24,363
25,743
26,305
28,741
31,393
32,806
33,043
33,536
36,371
39,157
41,643

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

5 Además, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una fase mixta de formas de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, en donde la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que tiene los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
12,244
13,082
13,458
14,452
16,521
17,648
18,677
19,093
20,231
21,353
22,309
23,070
23,909
26,641
26,813
27,158
29,309
29,609
30,384
32,074

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

La invención también está dirigida a una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde la forma cristalina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprenden picos que tienen los siguientes ángulos 2θ :

5

Ángulo 2θ (°)
12,533
12,963
13,801
18,929
20,920
21,108
21,527
22,623
22,970
24,054
26,668
27,210
28,519
29,548
30,458
33,810
35,079
37,528

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

La invención también se refiere además a una composición farmacéutica que comprende una 5-azacitidina sólida amorfa para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

10

Se ha encontrado inesperadamente que la 5-azacitidina existe en al menos ocho formas cristalinas polimorfas y pseudopolimorfas diferentes (formas I-VIII), además de en una forma amorfa. La forma I es un polimorfo encontrado en muestras del principio activo 5-azacitidina retenidas de la técnica anterior. La forma II es un polimorfo encontrado en algunas de muestras del principio activo 5-azacitidina retenidas de la técnica anterior; en esas muestras, la forma II se encuentra siempre en una fase mixta con la forma I. La forma III es un hidrato y se forma cuando las muestras retenidas de la técnica anterior y las actuales de medicamento se reconstituyen con agua para formar una "suspensión" antes de la administración al paciente. La forma VI se encuentra en muestras retenidas de la técnica anterior del medicamento de 5-azacitidina, sustancialmente exenta de otros polimorfos, o en fase mixta con la forma I.

15

20

La descripción proporciona nuevas formas cristalinas denominadas forma IV, forma V, forma VII y forma VIII. Todas las formas I-VIII tienen patrones de difracción de rayos X de polvo (XRPD) característicos y se distinguen fácilmente entre sí usando la XRPD.

25

También se incluyen en la descripción métodos para sintetizar de forma consistente y reproducible el principio activo 5-azacitidina sustancialmente como forma IV, forma V o forma VIII. También se proporcionan métodos para sintetizar de forma consistente y reproducible una fase mixta de forma I/VII. La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden diferentes formas de 5-azacitidina junto con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 presenta el patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) de la 5-azacitidina, forma I, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

5 La figura 2 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, fase mixta de forma I y forma II, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

La figura 3 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, forma III, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

La figura 4 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, forma IV, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

10 La figura 5 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, forma V, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

La figura 6 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, forma VI, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

15 La figura 7 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, fase mixta de forma I y forma VII, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

La figura 8 presenta el patrón de XRPD de la 5-azacitidina, forma VIII, marcado con los ángulos 2θ más destacados (radiación $K\alpha$ de Cu).

Descripción detallada

20 La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprenden picos que tienen los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
6,566
11,983
13,089
15,138
17,446
20,762
21,049
22,776
24,363
25,743
26,305
28,741
31,393
32,806
33,043
33,536
36,371
39,157
41,643

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

También se refiere a la composición farmacéutica, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu) sustancialmente según la Figura 3; opcionalmente en donde la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ , distancias d e intensidades relativas:

5

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
6,566	13,450	32,9
11,983	7,380	52,5
13,089	6,758	71,0
15,138	5,848	38,9
17,446	5,079	48,2
20,762	4,275	10,8
21,049	4,147	34,8
22,776	3,901	89,5
24,363	3,651	13,7
25,743	3,458	22,8
26,305	3,385	39,9
28,741	3,104	100,0
31,393	2,847	22,5
32,806	2,728	11,8
33,043	2,709	10,1
33,536	2,670	15,1
36,371	2,468	11,0
39,157	2,299	19,3
41,643	2,167	12,1

Una realización de la invención es la composición farmacéutica antes mencionada, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina es un monohidrato preparado según un método que comprende:

10 poner en contacto una forma cristalina de 5-azacitidina con agua; y

aislar la forma cristalina de 5-azacitidina; opcionalmente en donde la forma cristalina de 5-azacitidina usada en la preparación de la forma cristalina de 5-azacitidina según las reivindicaciones 1 a 3 es la Forma I, Forma II, Forma IV, Forma V, Forma VI, Forma VII o Forma VIII de 5-azacitidina o una mezcla de dos o más de las mismas.

15 Además, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una fase mixta de formas de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, en donde la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que tiene los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
12,244
13,082
13,458
14,452
16,521

ES 2 621 531 T3

Ángulo 2θ (°)
17,648
18,677
19,093
20,231
21,353
22,309
23,070
23,909
26,641
26,813
27,158
29,309
29,609
30,384
32,074

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

5 La invención también se refiere a la composición farmacéutica, en la que la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente según la Figura 2; opcionalmente en donde la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación Kα de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ, distancias d e intensidades relativas:

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,244	7,223	34,8
13,082	6,762	37,0
13,458	6,574	29,2
14,452	6,124	25,4
16,521	5,361	19,0
17,648	5,022	12,1
18,677	4,747	12,7
19,093	4,645	41,3
20,231	4,386	42,1
21,353	4,158	15,5
22,309	3,982	35,1
23,070	3,852	100,0
23,909	3,719	18,9
26,641	3,343	18,2
26,813	3,322	12,6
27,158	3,281	46,0
29,309	3,045	27,3

ES 2 621 531 T3

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
29,609	3,015	12,7
30,384	2,939	10,5
32,074	2,788	12,0

La invención también se dirige a una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde la forma cristalina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprenden picos que tienen los siguientes ángulos 2θ :

5

Ángulo 2θ (°)
12,533
12,963
13,801
18,929
20,920
21,108
21,527
22,623
22,970
24,054
26,668
27,210
28,519
29,548
30,458
33,810
35,079
37,528

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

La invención también se dirige a la composición farmacéutica, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu) sustancialmente según la Figura 6; opcionalmente en donde la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ , distancias d e intensidades relativas:

10

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,533	7,057	10,1
12,963	6,824	10,2
13,801	6,411	100,0
18,929	4,6843	10,0
20,920	4,243	34,2

ES 2 621 531 T3

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
21,108	4,205	49,4
21,527	4,125	47,0
22,623	3,922	10,7
22,970	3,869	13,8
24,054	3,697	77,8
26,668	3,340	23,0
27,210	3,275	33,7
28,519	3,127	12,9
29,548	3,021	27,2
30,458	2,932	50,3
33,810	2,649	11,6
35,079	2,556	12,6
37,528	2,411	24,7

La invención también se refiere a la composición farmacéutica, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se prepara según un método que comprende:

liofilizar una disolución de 5-azacitidina y manitol; y

- 5 aislar el sólido liofilizado; opcionalmente en donde la disolución de 5-azacitidina y manitol comprende 5-azacitidina y manitol en una relación de aproximadamente 1:1 en peso.

Además, la invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un sólido amorfo de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos,

en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

- 10 También se refiere a esta composición farmacéutica, donde el sólido amorfo de 5-azacitidina se prepara mediante un método que comprende:

añadir una forma cristalina de 5-azacitidina, que se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu) que tiene los siguientes ángulos 2θ:

Ángulo 2θ (°)
12,182
13,024
14,399
16,470
18,627
19,049
20,182
21,329
23,033
23,872
26,863
27,135
29,277
29,591

Ángulo 2θ (°)
30,369
32,072

a un disolvente seleccionado del grupo que consiste en propilenglicol, polietilenglicol y DMSO;

permitir que se alcance el equilibrio, y

recuperar la 5-azacitidina del mismo.

- 5 Una realización de la invención se dirige a cada una de las composiciones farmacéuticas antes mencionadas, en donde la composición farmacéutica comprende además un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, o en donde la composición farmacéutica está preparada en forma de dosis única, opcionalmente en donde cada unidad de dosificación contiene de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg de la forma de 5-azacitidina, preferiblemente aproximadamente 100 mg de la forma 5-azacitidina.

10 Formas cristalinas I-VIII de la 5-azacitidina

Se ha descubierto que la 5-azacitidina existe en al menos ocho formas cristalinas polimorfas y pseudomorfas diferentes, y también en una forma amorfa.

Forma I

- 15 Se sintetizó una sola muestra del principio activo 5-azacitidina a partir de 5-azacitosina y 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa de acuerdo con el método de la técnica anterior proporcionado en el ejemplo 1. La última etapa de este método es una recristalización del producto de síntesis bruto en un sistema de codisolventes de DMSO/metanol. Específicamente, el producto de síntesis bruto se disuelve en DMSO (previamente calentado a aproximadamente 90°C), y después se añade metanol a la disolución de DMSO. La mezcla de codisolventes se equilibra a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristal de 5-azacitidina. El producto se recoge por filtración con vacío y se deja secar al aire.

- 20 El patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD; véase el ejemplo 5) de la 5-azacitidina resultante se muestra en la figura 1, junto con algunos de los valores de 2θ. La tabla 1 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para este material, que se designa como la forma I.

- 25 Tabla 1: Forma I de la 5-azacitidina - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación Kα de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia 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

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
32,072	2,788	13,4

El análisis térmico de la forma I indica que esta forma de 5-azacitidina es anhidra. Véase el ejemplo 6.

Forma II

5 Las muestras retenidas del principio activo usado previamente para la formulación del medicamento en las investigaciones del Grupo B de Cáncer y Leucemia (CALGB) patrocinadas por el NCI (ensayo en fase 2 8291 y ensayo en fase 3 9221) para el tratamiento del MDS (Investigational New Drug (IND) 7574), también se analizaron por XRPD. Las muestras de principio activo retenidas comprendían la forma I, o una fase mixta de forma I y otro polimorfo; la forma II. Véase el ejemplo 5.

10 El patrón de XRPD de polvo de la fase mixta de formas I y II se muestra en la figura 2 junto con algunos de los valores de 2θ. Los picos característicos de la forma II se observan a 2θ de 13,5, 17,6 y 22,3°. La tabla 2 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para esta fase mixta.

Tabla 2: 5-azacitidina, fase mixta de formas I y II - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación Kα de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,244	7,223	34,8
13,082	6,762	37,0
13,458*	6,574	29,2
14,452	6,124	25,4
16,521	5,361	19,0
17,648*	5,022	12,1
18,677	4,747	12,7
19,093	4,645	41,3
20,231	4,386	42,1
21,353	4,158	15,5
22,309*	3,982	35,1
23,070	3,852	100,0
23,909	3,719	18,9
26,641	3,343	18,2
26,813	3,322	12,6
27,158	3,281	46,0
29,309	3,045	27,3
29,609	3,015	12,7
30,384	2,939	10,5
32,074	2,788	12,0

15 Estos resultados indican que los procedimientos de síntesis de 5-azacitidina de la técnica anterior para el principio activo producen la forma I sustancialmente exenta de otras formas, o una fase mixta de forma I/II, es decir, un material sólido en el que la 5-azacitidina está presente en una fase mixta de tanto la forma I como la forma II.

El análisis térmico de la fase mixta de forma I/II se presenta en el ejemplo 6.

Forma III

20 Se encuentra una forma cristalina adicional de la 5-azacitidina, designada forma III, en suspensiones de 5-

azacitidina. Véase el ejemplo 8. Además, se ha encontrado que todas las formas de 5-azacitidina (incluyendo la 5-azacitidina en el medicamento de la técnica anterior) se convierten en la forma III en agua. Véase el ejemplo 8. Por lo tanto, la reconstitución del medicamento usado en los ensayos del NCI mencionados anteriormente habrían conducido a la formación de una disolución saturada (o "suspensión") en la que la 5-azacitidina sólida que quedaba era la forma III. El patrón de XRPD de polvo de la forma III se muestra en la figura 3 junto con algunos de los valores de 2θ . La tabla 3 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para este material cristalino. El patrón de XRPD de polvo de la forma III es claramente diferente del de todas las otras formas de la 5-azacitidina.

Tabla 3: 5-azacitidina, forma III - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación $K\alpha$ de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
6,566	13,450	32,9
11,983	7,380	52,5
13,089	6,758	71,0
15,138	5,848	38,9
17,446	5,079	48,2
20,762	4,275	10,8
21,049	4,147	34,8
22,776	3,901	89,5
24,363	3,651	13,7
25,743	3,458	22,8
26,305	3,385	39,9
28,741	3,104	100,0
31,393	2,847	22,5
32,806	2,728	11,8
33,043	2,709	10,1
33,536	2,670	15,1
36,371	2,468	11,0
39,157	2,299	19,3
41,643	2,167	12,1

El análisis térmico y la espectroscopía de RMN de protón (^1H) indican que la forma III es una forma pseudopolimorfa de la 5-azacitidina, específicamente un monohidrato. Véanse los ejemplos 6-7.

Forma IV

La forma IV es una forma cristalina de la 5-azacitidina. La forma IV se recuperó por recristalización lenta en un sistema de codisolventes de DMSO/tolueno (véase el ejemplo 2) o por recristalización rápida en el sistema de codisolventes de DMSO/cloroformo (véase el ejemplo 3). El patrón de XRPD de polvo de la forma IV se muestra en la figura 4 junto con algunos de los valores de 2θ . La tabla 4 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para este material cristalino. El patrón de XRPD de polvo de la forma IV es claramente diferente del de cualquier otra forma.

Tabla 4: 5-azacitidina, forma IV - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación $K\alpha$ de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
5,704	15,408	24,9
11,571	7,642	97,8

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,563	7,040	22,2
14,070	6,289	100,0
15,943	5,555	67,4
16,993	5,213	51,0
18,066	4,906	20,1
20,377	4,355	44,7
20,729	4,281	49,0
21,484	4,132	36,30
21,803	4,073	11,2
22,452	3,957	66,7
22,709	3,913	64,0
23,646	3,760	17,3
24,068	3,695	19,4
25,346	3,526	12,0
25,346	3,511	12,5
26,900	3,312	11,0
27,991	3,185	11,4
28,527	3,126	25,7
28,723	3,106	34,1
30,124	2,964	14,7
30,673	2,912	53,6
31,059	2,877	15,7
35,059	2,557	18,1
38,195	2,354	15,0
38,403	2,342	12,6

El análisis térmico de la forma IV se presenta en el ejemplo 6.

Forma V

5 La forma V es una forma cristalina de la 5-azacitidina. La forma V se recuperó por recristalización rápida de la 5-azacitidina en el sistema de codisolventes de DMSO/tolueno (véase el ejemplo 3). El patrón de XRPD de polvo de la forma V se muestra en la figura 5 junto con algunos de los valores de 2θ. La tabla 5 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para este material cristalino. El patrón de XRPD de polvo de la forma V es claramente diferente del de cualquier otra forma.

10 Tabla 5: 5-azacitidina, forma V - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación Kα de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
11,018	8,024	40,0
12,351	7,160	29,6
13,176	6,714	28,3
13,747	6,436	42,9
14,548	6,084	18,3
15,542	5,697	14,2
16,556	5,350	47,8
17,978	4,930	18,1
18,549	4,780	83,9
19,202	4,618	25,0
19,819	4,476	12,1
20,329	4,365	28,6
21,518	4,126	100,0
21,970	4,042	65,6
22,521	3,948	11,5
23,179	3,834	66,5
24,018	3,702	13,0
24,569	3,620	40,7
27,224	3,273	50,2
28,469	3,133	24,2
29,041	3,072	24,8
29,429	3,033	15,0
30,924	2,889	15,6
31,133	2,870	22,6
37,938	2,370	10,7

El análisis térmico indica que la forma V es un solvato. Véase el ejemplo 6.

Forma VI

- 5 El medicamento usado en la investigación del NCI mencionada antes se preparó típicamente por liofilización de una disolución de 5-azacitidina y manitol (1:1 p/p). El medicamento resultante comprendía 100 mg de 5-azacitidina y 100 mg de manitol como una torta liofilizada en un vial y se administró por inyección subcutánea como una suspensión acuosa ("suspensión"). El análisis de XRPD de las muestras retenidas del medicamento usado en la investigación del NCI, puso de manifiesto la existencia de otro polimorfo, la forma VI. Las muestras de medicamento retenidas
- 10 comprendían la forma VI sola, o una fase mixta de forma I/VI. La tabla 6 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para la forma VI.

Tabla 6: 5-azacitidina, forma VI - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación Kα de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,533	7,057	10,1
12,963	6,824	10,2
13,801	6,411	100,0

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
18,929	4,6843	10,0
20,920	4,243	34,2
21,108	4,205	49,4
21,527	4,125	47,0
22,623	3,922	10,7
22,970	3,869	13,8
24,054	3,697	77,8
26,668	3,340	23,0
27,210	3,275	33,7
28,519	3,127	12,9
29,548	3,021	27,2
30,458	2,932	50,3
33,810	2,649	11,6
35,079	2,556	12,6
37,528	2,411	24,7

El análisis térmico y la espectroscopía de RMN de protón (^1H) de la forma VI se presentan en los ejemplos 6-7.

Forma VII.

- 5 La forma VII es una forma cristalina de la 5-azacitidina. La forma VII se produjo por recristalización rápida en un sistema de codisolventes de DMSO/metanol (véase el ejemplo 3). La forma VII se aislaba siempre por este método de recristalización como una fase mixta con la forma I. El patrón de XRPD de polvo de la fase mixta de formas forma I y VII se muestra en la figura 7 junto con algunos de los valores de 2θ y los picos característicos de la forma VII indicados con asteriscos. La tabla 7 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para esta fase mixta. La forma VII presenta picos característicos a 2θ de 5,8, 11,5, 12,8, 22,4 y 26,6°
- 10 además de los picos presentados en el patrón de XRPD de polvo de la forma I. El patrón de XRPD de de la fase mixta de las formas I y VII es claramente diferente del de cualquier otra forma.

Tabla 7: 5-azacitidina, fase mixta de las formas I y VII - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación $K\alpha$ de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
5,779	15,281	14,7
11,537	7,664	8,3
12,208	7,244	28,0
12,759	6,932	21,7
13,048	6,780	34,4
14,418	6,138	22,5
16,489	5,372	21,6
18,649	4,754	13,5
19,101	4,643	34,7
20,200	4,392	34,4
20,769	4,273	10,5
21,355	4,157	11,7

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
22,365	3,972	29,9
23,049	3,856	100,0
23,884	3,723	23,1
26,628	3,345	13,3
27,145	3,282	52,9
29,296	3,046	26,2
29,582	3,017	11,3
32,078	2,788	12,9

El análisis térmico de la forma VII se presenta en el ejemplo 6.

Forma VIII

5 La forma VIII es una forma cristalina de la 5-azacitidina. La forma VIII se recuperó por recristalización de la forma I de la 5-azacitidina en un sistema de un solo disolvente N-metil-2-pirrolidona (NMP) (véase el ejemplo 4). El patrón de XRPD de polvo de la forma VIII se muestra en la figura 8 junto con algunos de los valores de 2θ. La tabla 8 proporciona los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas para este material. El patrón de XRPD para la forma VIII es claramente diferente del de cualquier otra forma.

10 Tabla 8: 5-azacitidina, forma VIII - los ángulos 2θ más destacados, distancias d e intensidades relativas (radiación Kα de Cu).

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
6,599	13,384	2,9
10,660	8,292	2,2
12,600	7,020	23,4
13,358	6,623	2,6
15,849	5,587	2,0
17,275	5,129	4,2
20,243	4,383	5,8
20,851	4,257	7,8
21,770	4,079	74,4
22,649	3,923	32,1
25,554	3,483	100,0
25,740	3,458	7,8
29,293	3,046	3,8
32,148	2,782	8,8
35,074	2,556	7,4
38,306	2,348	2,5

5-Azacitidina amorfa

La 5-azacitidina amorfa se puede recuperar de disoluciones saturadas en equilibrio de 5-azacitidina en propilenglicol, polietilenglicol y DMSO. Véase el ejemplo 8.

15 Formulaciones farmacéuticas

Para la administración más eficaz del principio activo de la presente invención, se prefiere preparar una formulación

farmacéutica (también conocida como "medicamento") preferiblemente en forma de dosis unitaria, que comprende una o más de las formas de 5-azacitidina de la presente invención y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5 Dicha formulación farmacéutica puede incluir, sin estar limitada por las enseñanzas expuestas en la presente memoria, una forma sólida de la presente invención que se mezcla con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, se diluye mediante un excipiente o se encierra dentro de dicho vehículo que puede estar en forma de una cápsula, sobre, comprimido, comprimido bucal, pastilla, papel, u otro contenedor. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como un vehículo, soporte o medio para el o los polimorfos de 5-azacitidina. Por lo tanto, las formulaciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, 10 polvos, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, cápsulas (tales como, por ejemplo, cápsulas de gelatina blandas y duras), supositorios, disoluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

Los ejemplos de excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a almidones, goma arábica, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes tales como, por ejemplo, talco, estearato magnésico y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como hidroxibenzoatos de metilo y propilo; agentes edulcorantes; o agentes de sabor. También se pueden usar polioles, tampones y cargas inertes. Los ejemplos de polioles incluyen, pero no se limitan a: manitol, sorbitol, xilitol, sacarosa, maltosa, glucosa, lactosa, dextrosa y similares. Los tampones adecuados abarcan, pero no se limitan a fosfato, citrato, tartrato, succinato y similares. Otras cargas inertes que se pueden usar abarcan las que son conocidas en la técnica y son útiles en la 20 fabricación de diferentes formas farmacéuticas. Si se desea, las composiciones farmacéuticas sólidas pueden incluir otros componentes tales como agentes de carga y/o agentes de granulación, y similares. Las composiciones de la invención se puede formular para así proporcionar liberación rápida, sostenida, controlada o retardada del principio activo después de administrar al paciente usando procedimientos bien conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones de la invención, la(s) forma(s) de 5-azacitidina se puede(n) hacer en forma de unidades de dosificación para la administración oral. La(s) forma(s) de 5-azacitidina se puede mezclar con un vehículo sólido, pulverulento tal como, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, amilopectina, derivados de celulosa o gelatina, así como con un agente antifricción tal como por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio y ceras de polietilenglicol. Después la mezcla se comprime en comprimidos o se carga en cápsulas. Si se desean comprimidos, cápsulas o Pulvules recubiertos, dichos comprimidos, cápsulas o Pulvules se pueden recubrir con una disolución concentrada de azúcar, que puede contener goma arábica, gelatina, talco, dióxido de titanio, o con una laca disuelta en disolvente orgánico volátil o mezcla de disolventes. A este recubrimiento se le pueden añadir diferentes colorantes con el fin de distinguir entre comprimidos con diferentes compuestos activos o con diferentes cantidades del presente compuesto activo. 25

Se puede preparar cápsulas de gelatina blanda en las que las cápsulas contienen una mezcla de la(s) forma(s) de 5-azacitidina y aceite vegetal o materiales no acuosos, miscibles con agua tales como, por ejemplo, polietilenglicol y similares. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos o polvo del polimorfo de 5-azacitidina en combinación con un vehículo sólido, pulverulento, tal como, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón de patata, almidón de maíz, amilopectina, derivados de celulosa o gelatina. 30

Los comprimidos para uso oral se preparan típicamente de la siguiente forma, aunque se pueden usar otras técnicas. Las sustancias sólidas se trituran suavemente o tamizan a un tamaño de partículas deseado, y se homogeneiza y suspende un agente aglutinante en un disolvente adecuado. Se mezclan la(s) forma(s) de 5-azacitidina y agentes auxiliares con la disolución de agente aglutinante. La mezcla resultante se humedece para formar una suspensión uniforme. El humedecimiento típicamente hace que las partículas se agreguen ligeramente, y la masa resultante se comprime con cuidado a través de un tamiz de acero inoxidable que tiene un tamaño deseado. Las capas de la mezcla después se secan en unidades de secado controladas durante un periodo de tiempo predeterminado para lograr un tamaño de partículas y consistencia deseados. Los gránulos de la mezcla secos se tamizan con cuidado para eliminar cualquier polvo. A esta mezcla se añaden agentes disgregantes, antifricción y antiadherentes. Finalmente, la mezcla se comprime en comprimidos usando una máquina con los punzones y matrices adecuadas para obtener el tamaño de comprimido deseado. 40

En el caso de que las formulaciones anteriores sean para usar para la administración parenteral, dicha formulación típicamente comprende disoluciones para inyección acuosas y no acuosas, estériles, que comprenden una o más formas de 5-azacitidina, para las cuales las preparaciones son preferiblemente isotónicas con la sangre del receptor previsto. Estas preparaciones pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y soluto; que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto. Las suspensiones acuosas y no acuosas pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden estar presentes en envases de dosis unitarias o de múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados. Las disoluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente. 45

Las preparaciones líquidas para administración oral se preparan en forma de disoluciones, jarabes o suspensiones, conteniendo las dos últimas formas, por ejemplo, polimorfo(s) de 5-azacitidina, azúcar y una mezcla de etanol, agua, 60

glicerol y propilenglicol. Si se desea, dichas preparaciones líquidas contienen agentes colorantes, agentes de sabor y sacarina. También se pueden usar agentes espesantes tales como carboximetilcelulosa.

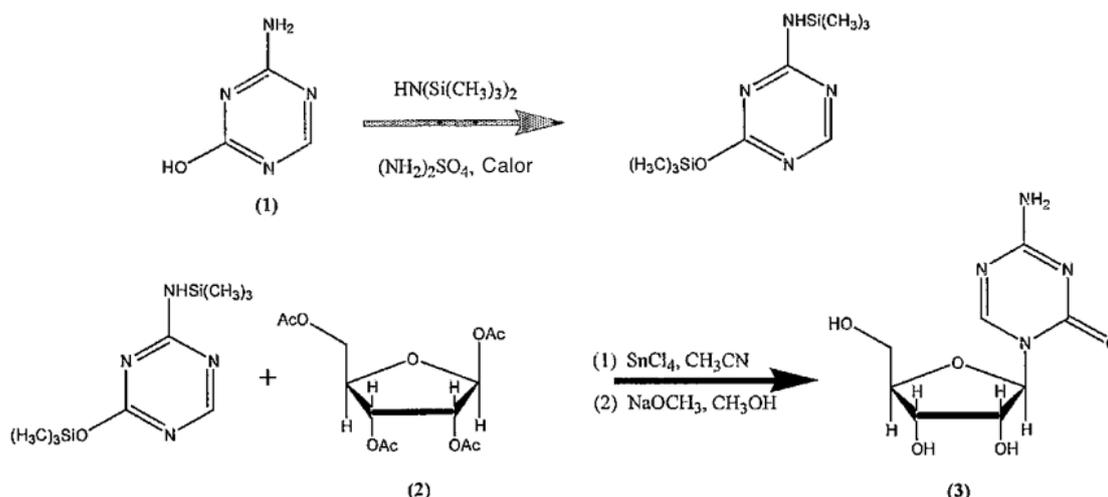
5 Como tales, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se preparan preferiblemente en una forma farmacéutica unitaria, conteniendo cada unidad de dosificación de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg, más habitualmente aproximadamente 100 mg de la forma o formas de 5-azacitidina. En forma líquida, la unidad de dosificación contiene de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg, más habitualmente aproximadamente 100 mg de la forma o formas de 5-azacitidina. La expresión "forma farmacéutica unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos/pacientes humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del polimorfo de 5-azacitidina calculada para producir el efecto terapéutico deseado, preferiblemente asociado con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los siguientes ejemplos se proporcionan solo con fines ilustrativos, y no deben considerarse como limitantes del alcance de las reivindicaciones de ninguna forma.

Ejemplos

15 Ejemplo 1: Procedimiento de la técnica anterior para la síntesis del principio activo 5-azacitidina

Usando 5-azacitosina (1) y 1,2,3,5-tetra-O-β-acetil-ribofuranosa (2) (RTA) disponibles en el comercio, se puede sintetizar la 5-azacitidina (3) de acuerdo con la siguiente ruta.



20 El producto de síntesis bruto se disuelve en DMSO (previamente calentado a aproximadamente 90°C) y después se añade metanol a la disolución de DMSO. La mezcla de codisolventes se equilibra a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristales de 5-azacitidina. El producto se recoge por filtración con vacío y se deja secar al aire.

Ejemplo 2: Recristalización lenta en DMSO/tolueno

25 Se usó dimetilsulfóxido (DMSO) como el disolvente principal para solubilizar la forma I de 5-azacitidina y se usó tolueno como el codisolvente como sigue. Se disolvieron aproximadamente 250 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de DMSO, previamente calentado a aproximadamente 90°C, en vasos de precipitados de 100 ml separados. Los sólidos se dejaron disolver hasta una disolución transparente. Se añadieron a la disolución 45 ml de tolueno, previamente calentado a aproximadamente 50°C, y la disolución resultante se mezcló. La disolución se cubrió y se dejó equilibrar en condiciones ambiente. El producto se recogió por filtración con vacío en forma de cristales blancos usando un embudo Büchner. El producto recogido se dejó secar al aire.

Ejemplo 3: Recristalización rápida en DMSO/metanol, DMSO/tolueno y DMSO/cloroformo

35 Se disolvieron aproximadamente 250 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de DMSO como el disolvente principal, previamente calentado a aproximadamente 90°C, en vasos de precipitados de 100 ml separados. Los sólidos se dejaron disolver hasta una disolución transparente. Se añadieron aproximadamente 45 ml del codisolvente seleccionado (metanol, tolueno o cloroformo), previamente calentado a aproximadamente 50°C, a la disolución y la disolución resultante se mezcló. La disolución se cubrió y se puso en un congelador para equilibrar a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristales. Se retiraron las disoluciones del congelador después de la formación de cristales.

El producto de las disoluciones de metanol y tolueno se recogió por filtración con vacío usando un embudo Büchner. El producto cristalino blanco resultante se dejó secar al aire.

5 El producto en cloroformo era demasiado fino para ser recogido por filtración con vacío. La mayor parte del disolvente se decantó con cuidado de la disolución de cloroformo y el disolvente de la suspensión resultante se dejó evaporar a temperatura ambiente hasta sequedad. La disolución de cloroformo se evaporó hasta un producto blanco. Obsérvese que la recristalización rápida usando el sistema de codisolvente de DMSO/metanol se ha usado típicamente para preparar el principio activo 5-azacitidina en la técnica anterior (véase la última etapa del procedimiento proporcionado en el ejemplo 1).

Ejemplo 4: Recristalización rápida en el sistema del disolvente único N-metil-2-pirrolidona (NMP)

10 Se disolvieron aproximadamente 500 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de NMP, previamente calentada a aproximadamente 90°C, en vasos de precipitados de 50 ml separados. Los sólidos se dejaron disolver hasta una disolución transparente. La disolución se cubrió y se puso en un congelador para equilibrar a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristales. Se retiraron las disoluciones del congelador después de la formación de cristales, se equilibraron a temperatura ambiente. El producto se recogió por filtración con vacío usando un embudo Büchner. El producto recogido se dejó secar al aire.

Ejemplo 5: Difracción de rayos X de polvo de 5-azacitidina

20 Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo de cada muestra en un difractor Scintag XDS 2000 o un Scintag X2 θ/θ que trabaja con radiación de cobre a 45 kV y 40 mA usando un detector de silicio enfriado KeveX Psi Peltier o un detector de estado sólido enfriado Thermo ARL Peltier. Se usaron rendijas de la fuente de 2 o 4 mm y rendijas del detector de 0,5 o 0,3 mm para la recogida de datos. El material recristalizado se molió con cuidado usando un mortero y mano de mortero de ágata durante aproximadamente 1 min. Las muestras se pusieron en un soporte de muestra de acero inoxidable o silicio y se nivelaron usando un portaobjetos de vidrio. Los patrones de difracción de polvo de las muestras se obtuvieron en 2θ de 2 a 42° a 1°/minuto. La calibración del difractor X₂ se verifica anualmente usando un patrón de polvo de silicio. Los ficheros de datos originales se convirtieron a formato ASCII, se transfirieron a un ordenador compatible IBM y se presentaron en Origin® 6.1 para Windows.

25 La XRPD de una sola muestra de 5-azacitidina producida de acuerdo con el método del ejemplo 1 puso de manifiesto que esta muestra consistía en la forma I de la 5-azacitidina.

30 Las muestras de principio activo retenidas para el NCI también se analizaron. Estas muestras se sintetizaron todas y recristalaron previamente de acuerdo con el método del ejemplo 1 y se almacenaron a 5°C desde la producción. La XRPD puso de manifiesto que algunas de las muestras retenidas están compuestas solo de la forma I, mientras que otras muestras retenidas contienen una fase mixta de forma I y un polimorfo diferente, denominado forma II.

La XRPD de las muestras de principio activo retenidas para el NCI pusieron de manifiesto la existencia de la forma VI en algunas muestras. En esas muestras, la forma VI estaba presente como una fase mixta con la forma I.

35 La XRPD de la 5-azacitidina recristalizada obtenida en el ejemplo 2 puso de manifiesto que la recristalización lenta en el sistema de DMSO/tolueno producía la forma IV. La XRPD de la 5-azacitidina recristalizada obtenida en el ejemplo 3 puso de manifiesto que la recristalización rápida en un sistema de DMSO/cloroformo producía la forma IV, la recristalización rápida en un sistema de DMSO/tolueno producía la forma V y la recristalización rápida en un sistema de DMSO/metanol producía la fase mixta de forma I/forma VII. La XRPD de la 5-azacitidina recristalizada obtenida en el ejemplo 4 puso de manifiesto que el sistema de disolvente N-metil-2-pirrolidona producía la forma VIII.

Ejemplo 6: Análisis térmico de la 5-azacitidina

40 Las mediciones de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para cada muestra se recogieron usando un sistema de DSC Perkin Elmer Pyris 1 equipado con una unidad de refrigeración Intracooler 2P. El DSC Pyris 1 se purgó con nitrógeno. La calibración se realizó antes del análisis usando un patrón de indio a una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto. Se molió cada muestra con cuidado en un mortero y mano de mortero de ágata. Se cerraron herméticamente aproximadamente 1-3 mg de la muestra individualmente en un crisol de aluminio universal de 30 μ l Perkin Elmer con agujeros en la tapa. Las muestras se calentaron de 25°C a 250°C o 350°C a 10°C/minuto.

45 Las mediciones del análisis termogravimétrico (TGA) para cada muestra se recogieron usando un aparato Perkin Elmer TGA 7 purgado con nitrógeno a aproximadamente 20 cc/minuto. Se usaron un peso de referencia de 100 mg y níquel metal para verificar el equilibrio y calibraciones de temperatura, respectivamente. Las muestras se calentaron de 25°C a 250°C o 300°C a 10°C/minuto.

50 Las mediciones del punto de fusión (PF) con capilar se hicieron usando un aparato de punto de fusión Electrothermal 9300. Se usó una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto a partir de temperaturas de punto de ajuste descritas en las descripciones individuales. Los puntos de fusión visuales se dan como una media de determinaciones por triplicado.

Los resultados son los siguientes:

Forma I

La TGA mostró una pérdida de peso de 0,23% entre la temperatura ambiente y 150°C, lo que indica que es anhidra. La DSC presentaba un solo suceso con un inicio a 227,0°C.

- 5 La determinación de punto de fusión con capilar se llevó a cabo por triplicado en una muestra de la forma I de 5-azacitidina. Se observó visualmente que la muestra se descomponía sin fundir a aproximadamente 215°C usando una velocidad de calentamiento de 10°C y una temperatura de inicio de 200°C. Por lo tanto, el suceso de la DSC es resultado de la descomposición de la 5-azacitidina.

Fase mixta de forma I/II

- 10 El TGA de la fase mixta de forma I/II mostró una pérdida de peso de 1,16% entre la temperatura ambiente y 150°C. El análisis de DSC presentaba un solo suceso con un inicio a 229,8°C. La descomposición de la fase mixta estaba de acuerdo con la observada para la forma I de la 5-azacitidina.

Forma III

- 15 El TGA mostró una pérdida de peso entre 6,56% y 8,44% cuando la temperatura se elevó de temperatura ambiente a 150°C. La pérdida está cerca de la cantidad teórica de humedad, 6,9%, que tendría la 5-azacitidina monohidrato. El análisis de DSC presentaba una endoterma, que está en el intervalo asociado con la pérdida de disolvente, y un suceso a mayor temperatura. La endoterma presentaba una temperatura de inicio en el intervalo de 86,4-89,2°C, temperaturas máximas en el intervalo de 95,8-97,0°C y valores de ΔH en el intervalo de 73,1-100,5 J/g. El suceso de mayor temperatura tenía temperaturas de inicio en el intervalo de 229,1-232,1°C y estaba de acuerdo con la descomposición observada para la forma I de 5-azacitidina.
- 20

- La forma III de 5-azacitidina se calentó a 105°C durante 4 horas en un intento de deshidratar el material. El material no cambió su aspecto físico durante el calentamiento. El TGA se usó para medir el contenido de agua de la forma III antes y después de secado. La cantidad inicial de humedad presente en la forma III era 6,31% y era <0,1% después de secado. El patrón de XRPD de polvo para la forma III deshidratada se corresponde con el de la forma I. Por lo tanto la forma III se deshidrata a la forma I.
- 25

Forma IV

El TGA mostró una pérdida de peso de 21,80% entre la temperatura ambiente y 150°C, lo cual no se corresponde con el contenido de disolvente para ninguno de los solvatos sencillos. No se sabe si la forma IV cristalina es un polimorfo o un pseudopolimorfo.

- 30 El análisis de DSC presentaba dos endotermas y un suceso a mayor temperatura. Las dos endotermas están en el intervalo que está asociado con la pérdida de disolvente. La primera endoterma presentaba una temperatura de inicio de 87,6°C, una temperatura máxima de 90,1°C y valor de ΔH de 98,3 J/g. La segunda endoterma presentaba una temperatura de inicio de 136,0°C, una temperatura máxima de 139,0°C y valor de ΔH de 81,8 J/g. El suceso de mayor temperatura tenía una temperatura de inicio de 230,6°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.
- 35

Forma V

- El TGA mostró una pérdida de peso de 21,45% entre la temperatura ambiente y 150°C, lo cual no se corresponde con el contenido de disolvente para ninguno de los solvatos sencillos. El análisis de DSC presentaba dos endotermas asociadas, una endoterma individual y un suceso de mayor temperatura. Las tres endotermas están en el intervalo que está asociado con la pérdida de disolvente. Las dos endotermas asociadas presentan temperaturas de inicio de 66,6 y 68,0°C. La endoterma individual presentaba una temperatura de inicio de 88,7°C, una temperatura máxima de 121,5°C y un valor de ΔH de 180,3 J/g. El suceso de temperatura mayor tenía una temperatura de inicio de 230,7°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.
- 40

Forma VI

- El TGA mostró una pérdida de peso de 1,10% entre la temperatura ambiente y 150°C. El análisis de DSC presentaba una endoterma pequeña, una exoterma y un suceso de mayor temperatura. La endoterma pequeña presentaba una temperatura de inicio de 57,8°C, una temperatura máxima de 77,0°C y un valor de ΔH de 55,7 J/g. La exoterma presentaba una temperatura de inicio de 149,3°C, una temperatura máxima de 157,1°C y un valor de ΔH de -17,9 J/g. El suceso de temperatura mayor tenía una temperatura de inicio de 234,7°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.
- 50

Forma VII

5 El TGA mostró una pérdida de peso de 2,45% entre la temperatura ambiente y 150°C. El análisis de DSC presentaba una endoterma menor y un suceso de mayor temperatura. La endoterma menor tenía una temperatura de inicio de 63,3°C, una temperatura máxima de 68,3°C y un valor de ΔH de 17,1 J/g. El suceso de mayor temperatura tenía una temperatura de inicio de 227,2°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.

Ejemplo 7: Análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) de la forma III y forma VI

10 Se sabe que la 5-azacitidina es lábil en agua. Puesto que la forma III se encuentra en disoluciones saturadas en equilibrio y la forma VI se produce por la liofilización de la disolución de 5-azacitidina, era interesante examinar la pureza de estas formas de 5-azacitidina usando RMN. Los espectros de RMN de protón (1H) de la forma III y forma VI estaban ambos de acuerdo con la estructura de 5-azacitidina en todos los detalles esenciales.

Ejemplo 8: Conversión de la forma polimorfa de la 5-azacitidina

15 Se añadió la forma I de 5-azacitidina a diferentes disolventes en suficientes cantidades para formar una suspensión y la suspensión se dejó equilibrar durante un periodo de tiempo. Se recuperó el material sólido que estaba presente en la suspensión, se secó y se analizó usando XRPD (de acuerdo con el protocolo de XRPD incluido en el ejemplo 5) con el objetivo de detectar nuevos polimorfos y pseudopolimorfos durante la transición al estado disuelto. Las muestras equilibradas durante 19 horas en disolución salina, dextrosa al 5%, tween 80 al 5%, octanol saturado con agua, etanol/agua (50/50) y agua sola, dieron como resultado una forma claramente diferente de la 5-azacitidina, designada forma III (véase más adelante). Las muestras equilibradas durante 19 horas en acetona, metiletilcetona y etanol dieron materiales identificados como la forma I. Las muestras equilibradas durante 19 horas en propilenglicol, polietilenglicol y DMSO dieron materiales amorfos. Los resultados se resumen en la tabla 9.

Tabla 9: Resultados del análisis de difracción de rayos X de polvo para muestras de solubilidad: asignación de forma (radiación K de Cu)

Disolvente	Asignación del patrón de XRPD
Disolución salina	Forma III
Dextrosa al 5%	Forma III
Acetona	Forma I
Propilenglicol	Amorfo
Polietilenglicol	Amorfo
Metiletilcetona	Forma I
Tween 80 al 5%	Forma III
DMSO	Amorfo
Octanol saturado con agua	Forma III
Alcohol etílico	Forma I
EtOH/agua DI 50/50	Forma III
Agua DI	Forma III

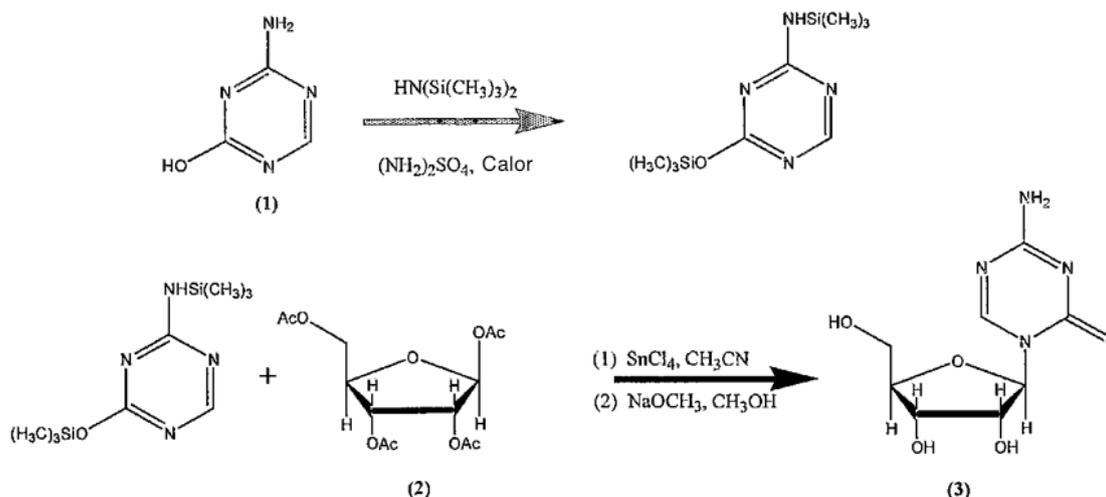
25 También se estudió la conversión de otras formas de 5-azacitidina. Específicamente, se pesaron una fase mixta de forma I/II, forma VI (el medicamento liofilizado usado en los ensayos de fármaco del NCI de la técnica anterior), una fase mixta de forma I/VI y una fase mixta de forma I/VII en vasos de precipitados de vidrio pequeños individuales, y se añadió agua mediante pipeta a cada vaso de precipitados. El tamaño de la muestra y el volumen de agua estaban ajustados para mantener una relación aproximada de 25 mg/ml. La suspensión resultante se dejó equilibrar durante 15 minutos. Después de equilibrado, la muestra se filtró y el material sólidos se secó y se analizó usando XRPD. En cada caso, se observó la forma III de 5-azacitidina. Los resultados indican que todas las formas de la 5-azacitidina se convierten en la forma III durante la transición al estado disuelto en agua. Por lo tanto, cuando se administraba una suspensión de 5-azacitidina ("suspensión") a pacientes en la investigación del NCI mencionada antes, los pacientes recibían tanto 5-azacitidina en disolución como forma III de 5-azacitidina.

Ejemplos

35 Ejemplo 1: Procedimiento de la técnica anterior para la síntesis del principio activo 5-azacitidina

Usando 5-azacitosina (1) y 1,2,3,5-tetra-O- β -acetil-ribofuranosa (2) (RTA) comercialmente disponibles, se puede

5 sintetizar la 5-azacitidina (3) de acuerdo con la siguiente ruta.



El producto de síntesis bruto se disuelve en DMSO (previamente calentado a aproximadamente 90°C) y después se añade metanol a la disolución de DMSO. La mezcla de codisolventes se equilibra a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristales de 5-azacitidina. El producto se recoge por filtración con vacío y se deja secar al aire.

Ejemplo 2: Recristalización lenta en DMSO/tolueno

Se usó dimetilsulfóxido (DMSO) como el disolvente principal para solubilizar la forma I de 5-azacitidina y se usó tolueno como el codisolvente como sigue. Se disolvieron aproximadamente 250 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de DMSO, previamente calentado a aproximadamente 90°C, en vasos de precipitados de 100 ml separados. Los sólidos se dejaron disolver hasta una disolución transparente. Se añadieron a la disolución 45 ml de tolueno, previamente calentado a aproximadamente 50°C, y la disolución resultante se mezcló. La disolución se cubrió y se dejó equilibrar en condiciones ambiente. El producto se recogió por filtración con vacío en forma de cristales blancos usando un embudo Büchner. El producto recogido se dejó secar al aire.

Ejemplo 3: Recristalización rápida en DMSO/metanol, DMSO/tolueno y DMSO/cloroformo

Se disolvieron aproximadamente 250 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de DMSO como el disolvente principal, previamente calentado a aproximadamente 90°C, en vasos de precipitados de 100 ml separados. Los sólidos se dejaron disolver hasta una disolución transparente. Se añadieron aproximadamente 45 ml del codisolvente seleccionado (metanol, tolueno o cloroformo), previamente calentado a aproximadamente 50°C, a la disolución y la disolución resultante se mezcló. La disolución se cubrió y se puso en un congelador para equilibrar a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristales. Se retiraron las disoluciones del congelador después de la formación de cristales.

El producto de las disoluciones de metanol y tolueno se recogió por filtración con vacío usando un embudo Büchner. El producto cristalino blanco resultante se dejó secar al aire.

El producto en cloroformo era demasiado fino para ser recogido por filtración con vacío. La mayor parte del disolvente se decantó con cuidado de la disolución de cloroformo y el disolvente de la suspensión resultante se dejó evaporar a temperatura ambiente hasta sequedad. La disolución de cloroformo se evaporó hasta un producto blanco. Obsérvese que la recristalización rápida usando el sistema de codisolvente de DMSO/metanol se ha usado típicamente para preparar el principio activo 5-azacitidina en la técnica anterior (véase la última etapa del procedimiento proporcionado en el ejemplo 1).

Ejemplo 4: Recristalización rápida en el sistema del disolvente único N-metil-2-pirrolidona (NMP)

Se disolvieron aproximadamente 500 mg de 5-azacitidina con aproximadamente 5 ml de NMP, previamente calentada a aproximadamente 90°C, en vasos de precipitados de 50 ml separados. Los sólidos se dejaron disolver hasta una disolución transparente. La disolución se cubrió y se puso en un congelador para equilibrar a aproximadamente -20°C para permitir la formación de cristales. Se retiraron las disoluciones del congelador después de la formación de cristales, se equilibraron a temperatura ambiente. El producto se recogió por filtración con vacío usando un embudo Büchner. El producto recogido se dejó secar al aire.

Ejemplo 5: Difracción de rayos X de polvo de 5-azacitidina

- Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo de cada muestra en un difractor Scintag XDS 2000 o un Scintag X2 θ/θ que trabaja con radiación de cobre a 45 kV y 40 mA usando un detector de silicio enfriado KeveX Psi Peltier o un detector de estado sólido enfriado Thermo ARL Peltier. Se usaron rendijas de la fuente de 2 o 4 mm y rendijas del detector de 0,5 o 0,3 mm para la recogida de datos. El material recristalizado se molió con cuidado usando un mortero y mano de mortero de ágata durante aproximadamente 1 min. Las muestras se pusieron en un soporte de muestra de acero inoxidable o silicio y se nivelaron usando un portaobjetos de vidrio. Los patrones de difracción de polvo de las muestras se obtuvieron en 2θ de 2 a 42° a 1°/minuto. La calibración del difractor X₂ se verifica anualmente usando un patrón de polvo de silicio. Los ficheros de datos originales se convirtieron a formato ASCII, se transfirieron a un ordenador compatible IBM y se presentaron en Origin® 6.1 para Windows.
- La XRPD de una sola muestra de 5-azacitidina producida de acuerdo con el método del ejemplo 1 puso de manifiesto que esta muestra consistía en la forma I de la 5-azacitidina.
- Las muestras de principio activo retenidas para el NCI también se analizaron. Estas muestras se sintetizaron todas y recristalaron previamente de acuerdo con el método del ejemplo 1 y se almacenaron a 5°C desde la producción. La XRPD puso de manifiesto que algunas de las muestras retenidas están compuestas solo de la forma I, mientras que otras muestras retenidas contienen una fase mixta de forma I y un polimorfo diferente, denominado forma II.
- La XRPD de las muestras de principio activo retenidas para el NCI pusieron de manifiesto la existencia de la forma VI en algunas muestras. En esas muestras, la forma VI estaba presente como una fase mixta con la forma I.
- La XRPD de la 5-azacitidina recristalizada obtenida en el ejemplo 2 puso de manifiesto que la recristalización lenta en el sistema de DMSO/tolueno producía la forma IV. La XRPD de la 5-azacitidina recristalizada obtenida en el ejemplo 3 puso de manifiesto que la recristalización rápida en un sistema de DMSO/cloroformo producía la forma IV, la recristalización rápida en un sistema de DMSO/tolueno producía la forma V y la recristalización rápida en un sistema de DMSO/metanol producía la fase mixta de forma I/forma VII. La XRPD de la 5-azacitidina recristalizada obtenida en el ejemplo 4 puso de manifiesto que el sistema de disolvente N-metil-2-pirrolidona producía la forma VIII.

Ejemplo 6: Análisis térmico de la 5-azacitidina

- Las mediciones de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para cada muestra se recogieron usando un sistema de DSC Perkin Elmer Pyris 1 equipado con una unidad de refrigeración Intracooler 2P. El DSC Pyris 1 se purgó con nitrógeno. La calibración se realizó antes del análisis usando un patrón de indio a una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto. Se molió cada muestra con cuidado en un mortero y mano de mortero de ágata. Se cerraron herméticamente aproximadamente 1-3 mg de la muestra individualmente en un crisol de aluminio universal de 30 μ l Perkin Elmer con agujeros en la tapa. Las muestras se calentaron de 25°C a 250°C o 350°C a 10°C/minuto.
- Las mediciones del análisis termogravimétrico (TGA) para cada muestra se recogieron usando un aparato Perkin Elmer TGA 7 purgado con nitrógeno a aproximadamente 20 cc/minuto. Se usaron un peso de referencia de 100 mg y níquel metal para verificar el equilibrio y calibraciones de temperatura, respectivamente. Las muestras se calentaron de 25°C a 250°C o 300°C a 10°C/minuto.
- Las mediciones del punto de fusión (PF) con capilar se hicieron usando un aparato de punto de fusión Electrothermal 9300. Se usó una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto a partir de temperaturas de punto de ajuste descritas en las descripciones individuales. Los puntos de fusión visuales se dan como una media de determinaciones por triplicado.
- Los resultados son los siguientes:
- Forma I**
- La TGA mostró una pérdida de peso de 0,23% entre la temperatura ambiente y 150°C, lo que indica que es anhidra. La DSC presentaba un solo suceso con un inicio a 227,0°C.
- La determinación de punto de fusión con capilar se llevó a cabo por triplicado en una muestra de la forma I de 5-azacitidina. Se observó visualmente que la muestra se descomponía sin fundir a aproximadamente 215°C usando una velocidad de calentamiento de 10°C y una temperatura de inicio de 200°C. Por lo tanto, el suceso de la DSC es resultado de la descomposición de la 5-azacitidina.
- Fase mixta de forma I/II**
- El TGA de la fase mixta de forma I/II mostró una pérdida de peso de 1,16% entre la temperatura ambiente y 150°C. El análisis de DSC presentaba un solo suceso con un inicio a 229,8°C. La descomposición de la fase mixta estaba de acuerdo con la observada para la forma I de la 5-azacitidina.
- Forma III**
- El TGA mostró una pérdida de peso entre 6,56% y 8,44% cuando la temperatura se elevó de temperatura ambiente a 150°C. La pérdida está cerca de la cantidad teórica de humedad, 6,9%, que tendría la 5-azacitidina monohidrato.

El análisis de DSC presentaba una endoterma, que está en el intervalo asociado con la pérdida de disolvente, y un suceso a mayor temperatura. La endoterma presentaba una temperatura de inicio en el intervalo de 86,4-89,2°C, temperaturas máximas en el intervalo de 95,8-97,0°C y valores de ΔH en el intervalo de 73,1-100,5 J/g. El suceso de mayor temperatura tenía temperaturas de inicio en el intervalo de 229,1-232,1°C y estaba de acuerdo con la descomposición observada para la forma I de 5-azacitidina.

La forma III de 5-azacitidina se calentó a 105°C durante 4 horas en un intento de deshidratar el material. El material no cambió su aspecto físico durante el calentamiento. El TGA se usó para medir el contenido de agua de la forma III antes y después de secado. La cantidad inicial de humedad presente en la forma III era 6,31% y era <0,1% después de secado. El patrón de XRPD de polvo para la forma III deshidratada se corresponde con el de la forma I. Por lo tanto la forma III se deshidrata a la forma I.

Forma IV

El TGA mostró una pérdida de peso de 21,80% entre la temperatura ambiente y 150°C, lo cual no se corresponde con el contenido de disolvente para ninguno de los solvatos sencillos. No se sabe si la forma IV cristalina es un polimorfo o un pseudopolimorfo.

El análisis de DSC presentaba dos endotermas y un suceso a mayor temperatura. Las dos endotermas están en el intervalo que está asociado con la pérdida de disolvente. La primera endoterma presentaba una temperatura de inicio de 87,6°C, una temperatura máxima de 90,1°C y valor de ΔH de 98,3 J/g. La segunda endoterma presentaba una temperatura de inicio de 136,0°C, una temperatura máxima de 139,0°C y valor de ΔH de 81,8 J/g. El suceso de mayor temperatura tenía una temperatura de inicio de 230,6°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.

Forma V

El TGA mostró una pérdida de peso de 21,45% entre la temperatura ambiente y 150°C, lo cual no se corresponde con el contenido de disolvente para ninguno de los solvatos sencillos. El análisis de DSC presentaba dos endotermas asociadas, una endoterma individual y un suceso de mayor temperatura. Las tres endotermas están en el intervalo que está asociado con la pérdida de disolvente. Las dos endotermas asociadas presentan temperaturas de inicio de 66,6 y 68,0°C. La endoterma individual presentaba una temperatura de inicio de 88,7°C, una temperatura máxima de 121,5°C y un valor de ΔH de 180,3 J/g. El suceso de temperatura mayor tenía una temperatura de inicio de 230,7°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.

Forma VI

El TGA mostró una pérdida de peso de 1,10% entre la temperatura ambiente y 150°C. El análisis de DSC presentaba una endoterma pequeña, una exoterma y un suceso de mayor temperatura. La endoterma pequeña presentaba una temperatura de inicio de 57,8°C, una temperatura máxima de 77,0°C y un valor de ΔH de 55,7 J/g. La exoterma presentaba una temperatura de inicio de 149,3°C, una temperatura máxima de 157,1°C y un valor de ΔH de -17,9 J/g. El suceso de temperatura mayor tenía una temperatura de inicio de 234,7°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.

Forma VII

El TGA mostró una pérdida de peso de 2,45% entre la temperatura ambiente y 150°C. El análisis de DSC presentaba una endoterma menor y un suceso de mayor temperatura. La endoterma menor tenía una temperatura de inicio de 63,3°C, una temperatura máxima de 68,3°C y un valor de ΔH de 17,1 J/g. El suceso de mayor temperatura tenía una temperatura de inicio de 227,2°C y estaba de acuerdo con la descomposición que se observaba para la forma I de 5-azacitidina.

Ejemplo 7: Análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) de la forma III y forma VI

Se sabe que la 5-azacitidina es lábil en agua. Puesto que la forma III se encuentra en disoluciones saturadas en equilibrio y la forma VI se produce por la liofilización de la disolución de 5-azacitidina, era interesante examinar la pureza de estas formas de 5-azacitidina usando RMN. Los espectros de RMN de protón (1H) de la forma III y forma VI estaban ambos de acuerdo con la estructura de 5-azacitidina en todos los detalles esenciales.

Ejemplo 8: Conversión de la forma polimorfa de la 5-azacitidina

Se añadió la forma I de 5-azacitidina a diferentes disolventes en suficientes cantidades para formar una suspensión y la suspensión se dejó equilibrar durante un periodo de tiempo. Se recuperó el material sólido que estaba presente en la suspensión, se secó y se analizó usando XRPD (de acuerdo con el protocolo de XRPD incluido en el ejemplo 5) con el objetivo de detectar nuevos polimorfos y pseudopolimorfos durante la transición al estado disuelto. Las muestras equilibradas durante 19 horas en disolución salina, dextrosa al 5%, tween 80 al 5%, octanol saturado con agua, etanol/agua (50/50) y agua sola, dieron como resultado una forma claramente diferente de la 5-azacitidina,

designada forma III (véase más adelante). Las muestras equilibradas durante 19 horas en acetona, metiletilcetona y etanol dieron materiales identificados como la forma I. Las muestras equilibradas durante 19 horas en propilenglicol, polietilenglicol y DMSO dieron materiales amorfos. Los resultados se resumen en la tabla 9.

Disolvente	Asignación del patrón de XRPD
Disolución salina	Forma III
Dextrosa al 5%	Forma III
Acetona	Forma I
Propilenglicol	Amorfo
Polietilenglicol	Amorfo
Metiletilcetona	Forma I
Tween 80 al 5%	Forma III
DMSO	Amorfo
Octanol saturado con agua	Forma III
Alcohol etílico	Forma I
EtOH/agua DI 50/50	Forma III
Agua DI	Forma III

Tabla 9: Resultados del análisis de difracción de rayos X de polvo para muestras de solubilidad: asignación de forma (radiación K de Cu)

5

10

15

También se estudió la conversión de otras formas de 5-azacitidina. Específicamente, se pesaron una fase mixta de forma I/II, forma VI (el medicamento liofilizado usado en los ensayos de fármaco del NCI de la técnica anterior), una fase mixta de forma I/VI y una fase mixta de forma I/VII en vasos de precipitados de vidrio pequeños individuales, y se añadió agua mediante pipeta a cada vaso de precipitados. El tamaño de la muestra y el volumen de agua estaban ajustados para mantener una relación aproximada de 25 mg/ml. La suspensión resultante se dejó equilibrar durante 15 minutos. Después de equilibrado, la muestra se filtró y el material sólidos se secó y se analizó usando XRPD. En cada caso, se observó la forma III de 5-azacitidina. Los resultados indican que todas las formas de la 5-azacitidina se convierten en la forma III durante la transición al estado disuelto en agua. Por lo tanto, cuando se administraba una suspensión de 5-azacitidina ("suspensión") a pacientes en la investigación del NCI mencionada antes, los pacientes recibían tanto 5-azacitidina en disolución como forma III de 5-azacitidina.

Realizaciones preferidas:

1. Forma IV de 5-azacitidina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo obtenido por irradiación con rayos X K α de Cu que presenta picos principales con espaciados interplanares en:

d(Å)
15,408
7,642
7,040
6,289
5,555
5,213
4,906
4,355
4,281
4,132
4,073
3,957
3,913

ES 2 621 531 T3

d(Å)
3,760
3,695
3,526
3,511
3,312
3,185
3,126
3,106
2,964
2,912
2,877
2,557
2,354
2,342.

2. Una composición farmacéutica que comprende la forma de 5-azacitidina del punto 1 y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 3. La Forma V de 5-azacitidina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo obtenido por irradiación con rayos X K α de Cu que presenta picos principales con espaciados interplanares en:

d(Å)
8.024
7,160
6,714
6,436
6,084
5,697
5,350
4,930
4,780
4,618
4,476
4,365
4,126
4,042
3,948
3,834
3,702
3,620
3,273
3,133
3,072

ES 2 621 531 T3

d(Å)
3,033
2,889
2,870
2,370

4. Una composición farmacéutica que comprende la forma de 5-azacitidina del punto 3 y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 La Forma VII de 5-azacitidina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo obtenido por irradiación con rayos X $K\alpha$ de Cu que incluye picos de difracción a 2θ de 5,8; 11,5; 12,8; 22,4 y 26,6°.

6. Una composición farmacéutica que comprende la forma de 5-azacitidina del punto 5 y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. La Forma VIII de 5-azacitidina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvo obtenido por irradiación con rayos X $K\alpha$ de Cu que presenta picos principales con espaciados interplanares en:

d(Å)
13,384
8,292
7,020
6,623
5,587
5,129
4,383
4,257
4,079
3,923
3,483
3,458
3,046
2,782
2,556
2,348

10 8. Una composición farmacéutica que comprende la forma de 5-azacitidina del punto 7 y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

9. Un método para preparar la Forma IV de 5-azacitidina sustancialmente exenta de otras formas, comprendiendo el método:

15 cristalizar la 5-azacitidina a partir de una mezcla de disolventes que comprende dimetilsulfóxido y cloroformo enfriando dicha disolución desde una temperatura seleccionada para permitir que dicha 5-azacitidina se disuelva completamente hasta aproximadamente -20°C; y
 aislar dichos cristales.

20 10. Un método para preparar la Forma IV de 5-azacitidina sustancialmente exenta de otras formas, comprendiendo el método:

cristalizar la 5-azacitidina a partir de una mezcla de disolventes que comprende dimetilsulfóxido y tolueno enfriando dicha disolución desde una temperatura seleccionada para permitir que dicha 5-azacitidina se

disuelva completamente hasta aproximadamente temperatura ambiente; y

aislar dichos cristales.

11. Un método para preparar la Forma V de 5-azacitidina sustancialmente exenta de otras formas, comprendiendo el método:

5 cristalizar la 5-azacitidina a partir de una mezcla de disolventes que comprende dimetilsulfóxido y tolueno enfriando dicha disolución desde una temperatura seleccionada para permitir que dicha 5-azacitidina se disuelva completamente hasta aproximadamente -20°C; y

aislar dichos cristales.

10 12. Un método para preparar una fase mixta de la Forma I de 5-azacitidina y de la Forma VII de 5-azacitidina sustancialmente exenta de otras formas, comprendiendo el método:

cristalizar la 5-azacitidina a partir de una mezcla de disolventes que comprende dimetilsulfóxido y metanol enfriando dicha disolución desde una temperatura seleccionada para permitir que dicha 5-azacitidina se disuelva completamente hasta aproximadamente -20°C; y

aislar dichos cristales.

15 13. Un método para preparar la Forma VIII de 5-azacitidina sustancialmente exenta de otras formas, que comprende cristalizar la 5-azacitidina a partir de N-metil-2-pirrolidona y aislar dichos cristales.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de la 5-azacitidina para usar en un método de tratamiento de síndromes mielodisplásicos, en donde la forma cristalina de la 5-azacitidina se caracteriza por los picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ :

Ángulo 2θ (°)
6,566
11,983
13,089
15,138
17,446
20,762
21,049
22,776
24,363
25,743
26,305
28,741
31,393
32,806
33,043
33,536
36,371
39,157
41,643

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

2. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 1, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu) sustancialmente según la Figura 3.
- 10 3. La composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar según la reivindicación 1 ó 2, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación $K\alpha$ de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ , distancias d e intensidades relativas:

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
6,566	13,450	32,9
11,983	7,380	52,5
13,089	6,758	71,0
15,138	5,848	38,9
17,446	5,079	48,2
20,762	4,275	10,8
21,049	4,147	34,8
22,776	3,901	89,5
24,363	3,651	13,7

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
25,743	3,458	22,8
26,305	3,385	39,9
28,741	3,104	100,0
31,393	2,847	22,5
32,806	2,728	11,8
33,043	2,709	10,1
33,536	2,670	15,1
36,371	2,468	11,0
39,157	2,299	19,3
41,643	2,167	12,1

4. La composición farmacéutica para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina es un monohidrato preparado según un método que comprende:

- poner en contacto una forma cristalina de 5-azacitidina con agua; y

5 - aislar la forma cristalina de 5-azacitidina.

5. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 4, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina usada en la preparación de la forma cristalina de 5-azacitidina según las reivindicaciones 1 a 3 es la Forma I, Forma II, Forma IV, Forma V, Forma VI, Forma VII o Forma VIII de 5-azacitidina o una mezcla de dos o más de las mismas.

10 6. Una composición farmacéutica que comprende una fase mixta de formas de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, en donde la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación Kα de Cu), que tiene los siguientes ángulos 2θ:

Ángulo 2θ (°)
12,244
13,082
13,458
14,452
16,521
17,648
18,677
19,093
20,231
21,353
22,309
23,070
23,909
26,641
26,813
27,158
29,309
29,609
30,384

Ángulo 2θ (°)
32,074

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

5 7. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 6, en la que la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente según la Figura 2.

8. La composición farmacéutica para usar según las reivindicaciones 6 ó 7, en donde la fase mixta de formas de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ, distancias d e intensidades relativas:

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,244	7,223	348
13,082	6,762	37,0
13,458	6,574	29,2
14,452	6,124	25,4
16,521	5,361	19,0
17,648	5,022	12,1
18,677	4,747	12,7
19,093	4,645	41,3
20,231	4,386	42,1
21,353	4,158	15,5
22,309	3,982	35,1
23,070	3,852	100,0
23,909	3,719	18,9
26,641	3,343	18,2
26,813	3,322	12,6
27,158	3,281	46,0
29,309	3,045	27,3
29,609	3,015	12,7
30,384	2,939	10,5
32,074	2,788	12,0

10 9. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, donde la forma cristalina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu), que comprenden picos que tienen los siguientes ángulos 2θ:

Ángulo 2θ (°)
12,533
12,963
13,801
18,929
20,920
21,108

Ángulo 2θ (°)
21,527
22,623
22,970
24,054
26,668
27,210
28,519
29,548
30,458
33,810
35,079
37,528

y en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

10. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 9, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu) sustancialmente según la Figura 6.

- 5 11. La composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de 5-azacitidina para usar según la reivindicación 9 ó 10, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu), que comprende picos que tienen los siguientes ángulos 2θ, distancias d e intensidades relativas:

Ángulo 2θ (°)	distancia d (Å)	Intensidad relativa
12,533	7,057	10,1
12,963	6,824	10,2
13,801	6,411	100,0
18,929	4,6843	10,0
20,920	4,243	34,2
21,108	4,205	49,4
21,527	4,125	47,0
22,623	3,922	10,7
22,970	3,869	13,8
24,054	3,697	77,8
26,668	3,340	23,0
27,210	3,275	33,7
28,519	3,127	12,9
29,548	3,021	27,2
30,458	2,932	50,3
33,810	2,649	11,6
35,079	2,556	12,6
37,528	2,411	24,7

- 10 12. La composición farmacéutica para usar según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en la que la forma cristalina de 5-azacitidina se prepara según un método que comprende:

liofilizar una disolución de 5-azacitidina y manitol; y
aislar el sólido liofilizado.

13. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 12, en la que la disolución de 5-azacitidina y manitol comprende 5-azacitidina y manitol en una relación de aproximadamente 1:1 en peso.

5 14. Una composición farmacéutica que comprende un sólido amorfo de 5-azacitidina para usar en un método para tratar síndromes mielodisplásicos, en donde el método comprende la administración oral de la composición farmacéutica.

15. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 14, en la que el sólido amorfo de 5-azacitidina se prepara mediante un método que comprende:

10 añadir una forma cristalina de 5-azacitidina, que se caracteriza por picos observados usando difracción de rayos X de polvo (radiación K α de Cu) que tiene los siguientes ángulos 2 θ :

Ángulo 2 θ (°)
12,182
13,024
14,399
16,470
18,627
19,049
20,182
21,329
23,033
23,872
26,863
27,135
29,277
29,591
30,369
32,072

a un disolvente seleccionado del grupo que consiste en propilenglicol, polietilenglicol y DMSO;

permitir que se alcance el equilibrio, y

15 recuperar la 5-azacitidina del mismo.

16. La composición farmacéutica para usar según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición farmacéutica comprende además un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, o en donde la composición farmacéutica está preparada en forma de dosis única.

20 17. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 16, en la que cada unidad de dosificación contiene de 5 mg a 200 mg de la forma de 5-azacitidina, preferiblemente 100 mg de la forma de 5-azacitidina.

Figura 1. Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, forma I, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

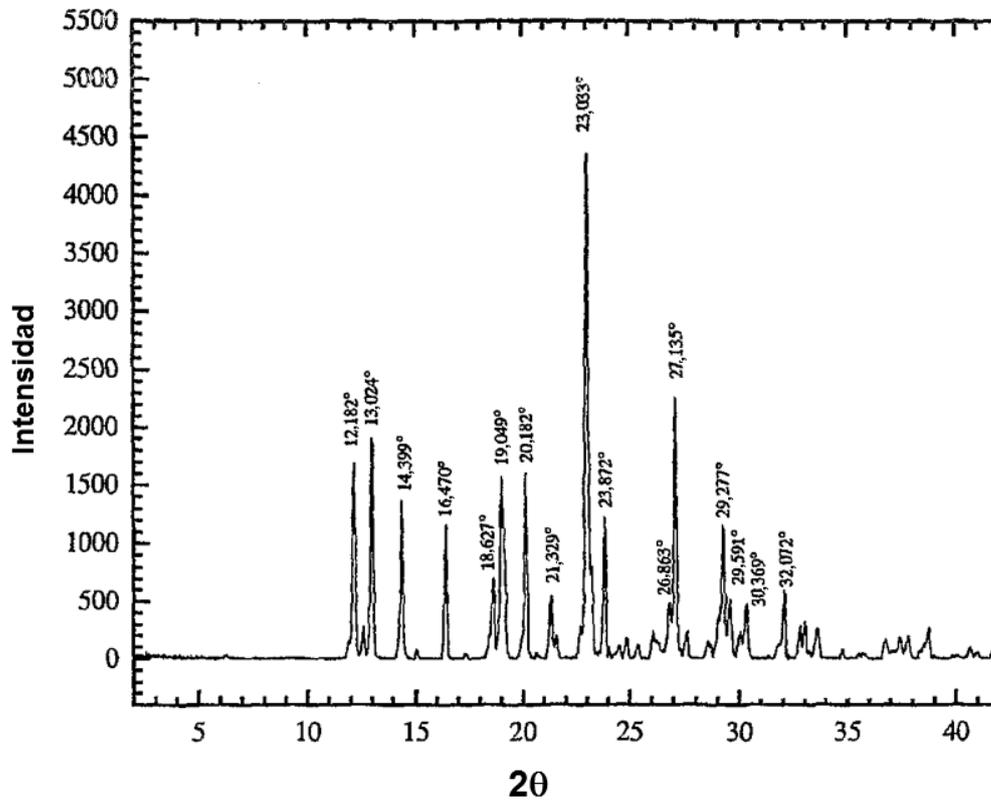


Figura 2 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, fase mixta de formas I y II, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

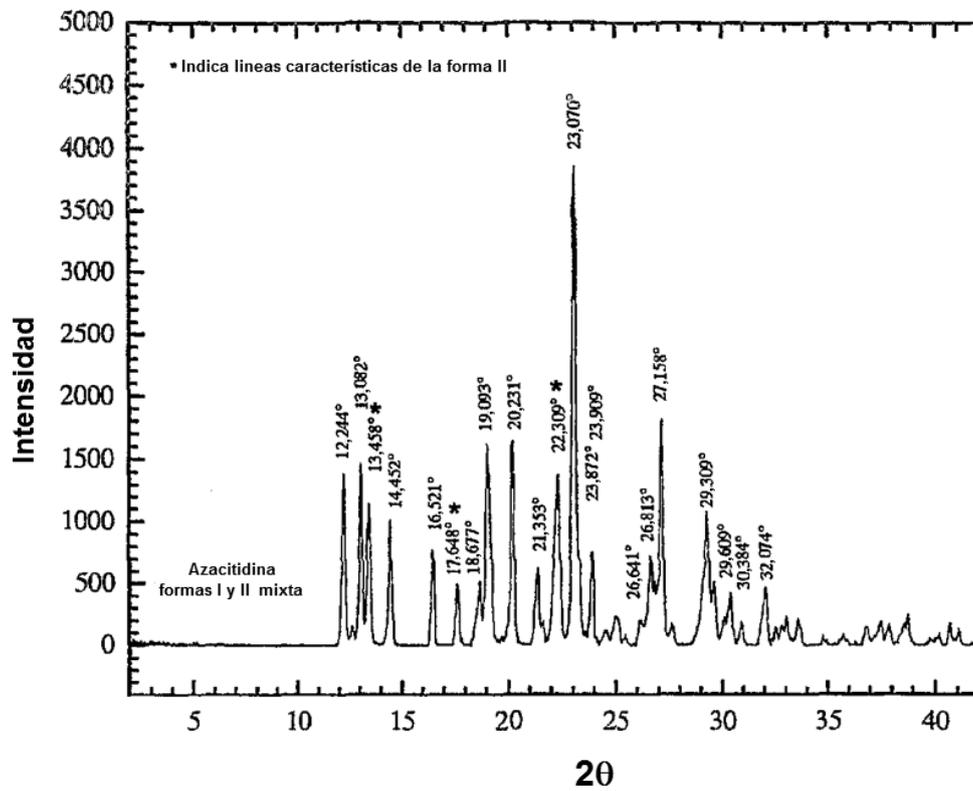


Figura 3 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, forma III, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

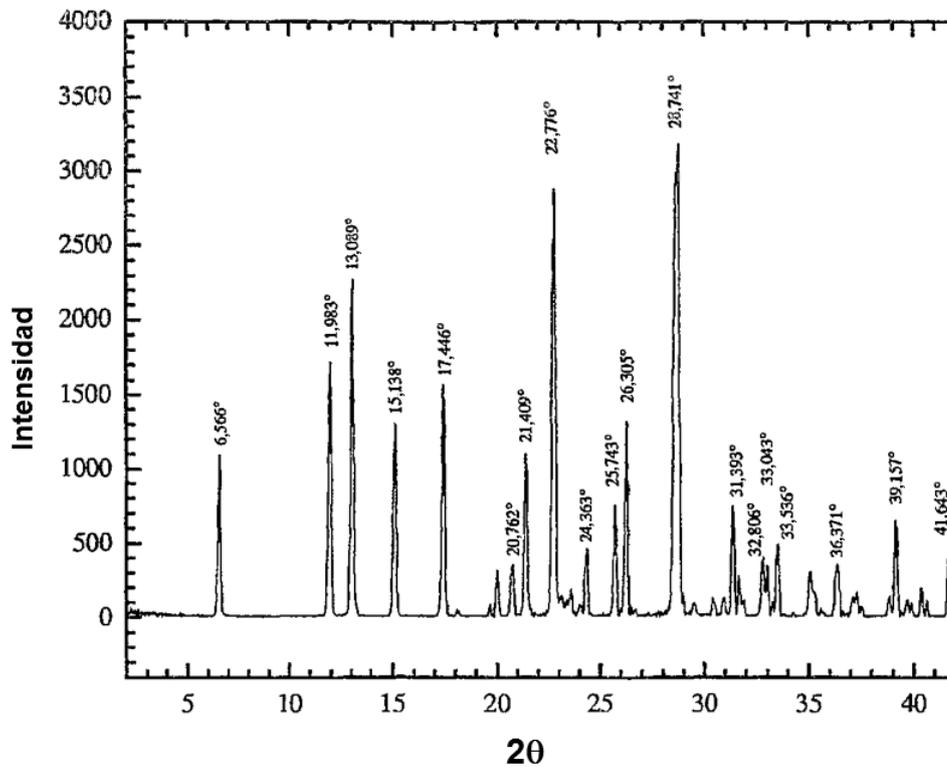


Figura 4 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, forma IV, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

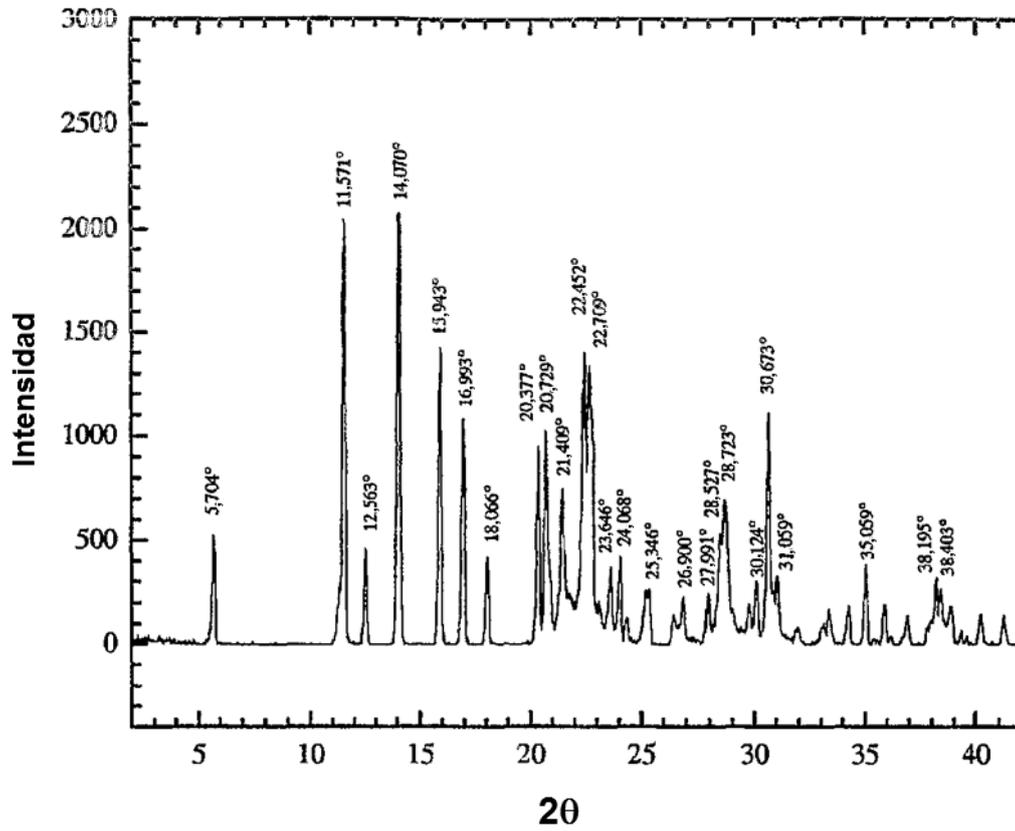


Figura 5 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, forma V, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

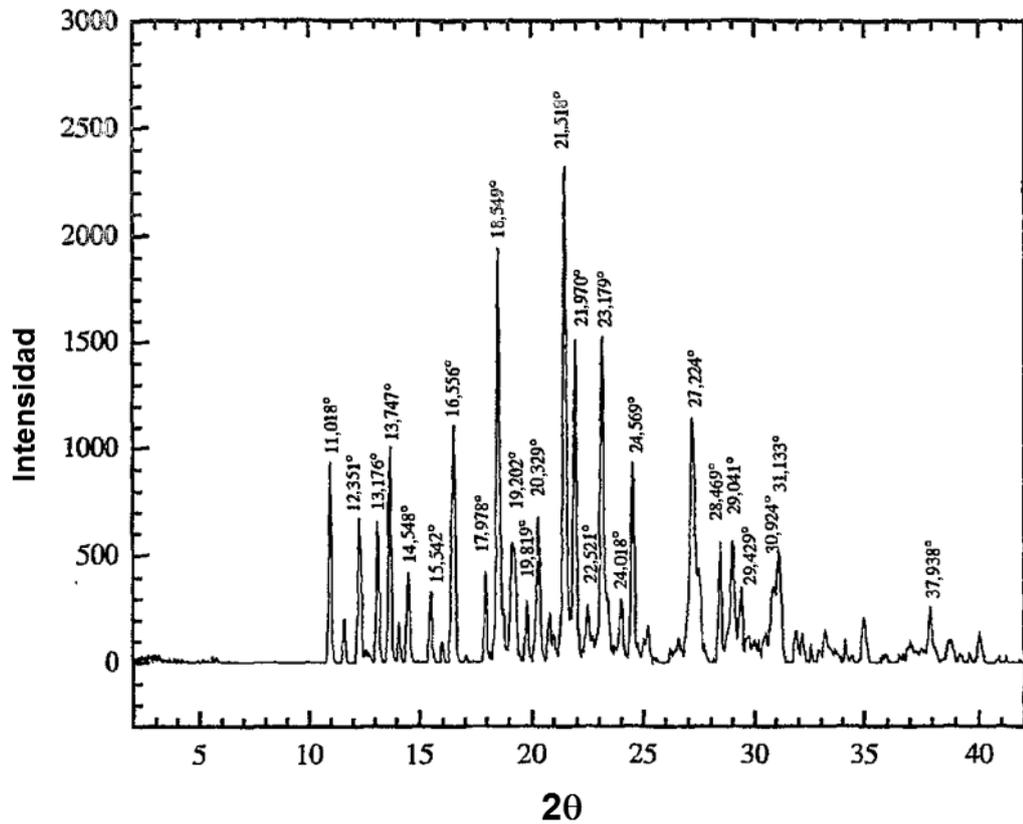


Figura 6 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, forma VI, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

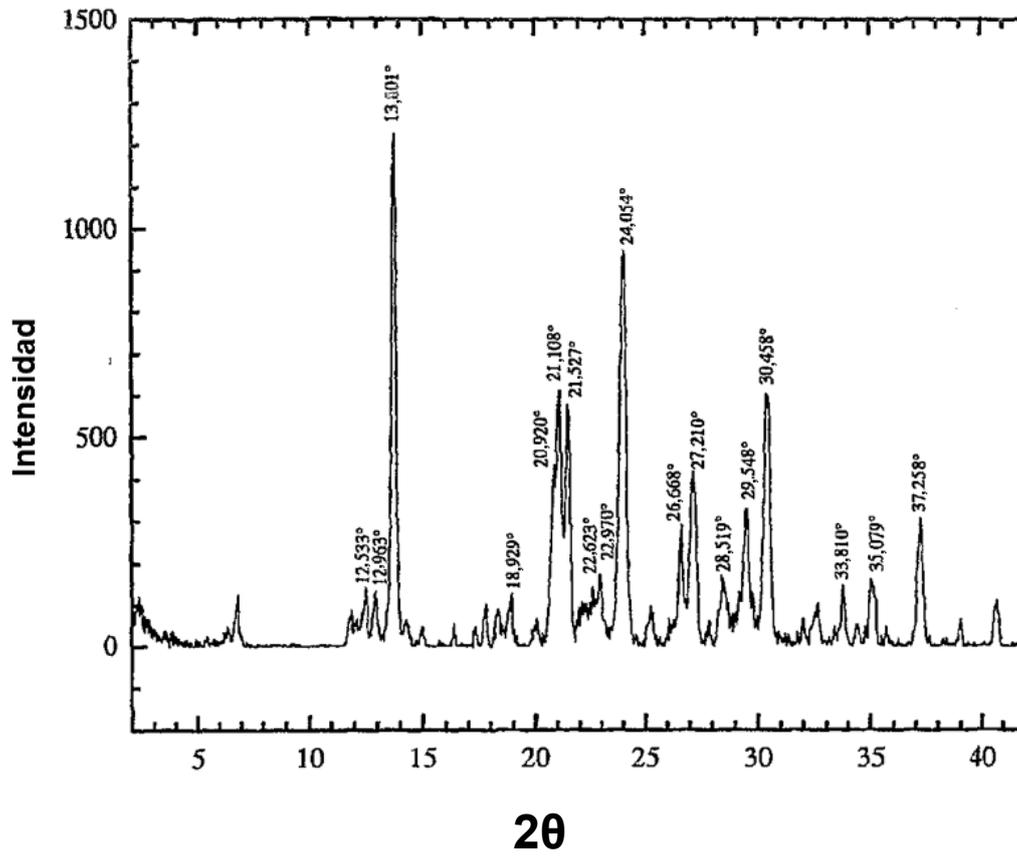


Figura 7 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, fase mixta de formas I y VII, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

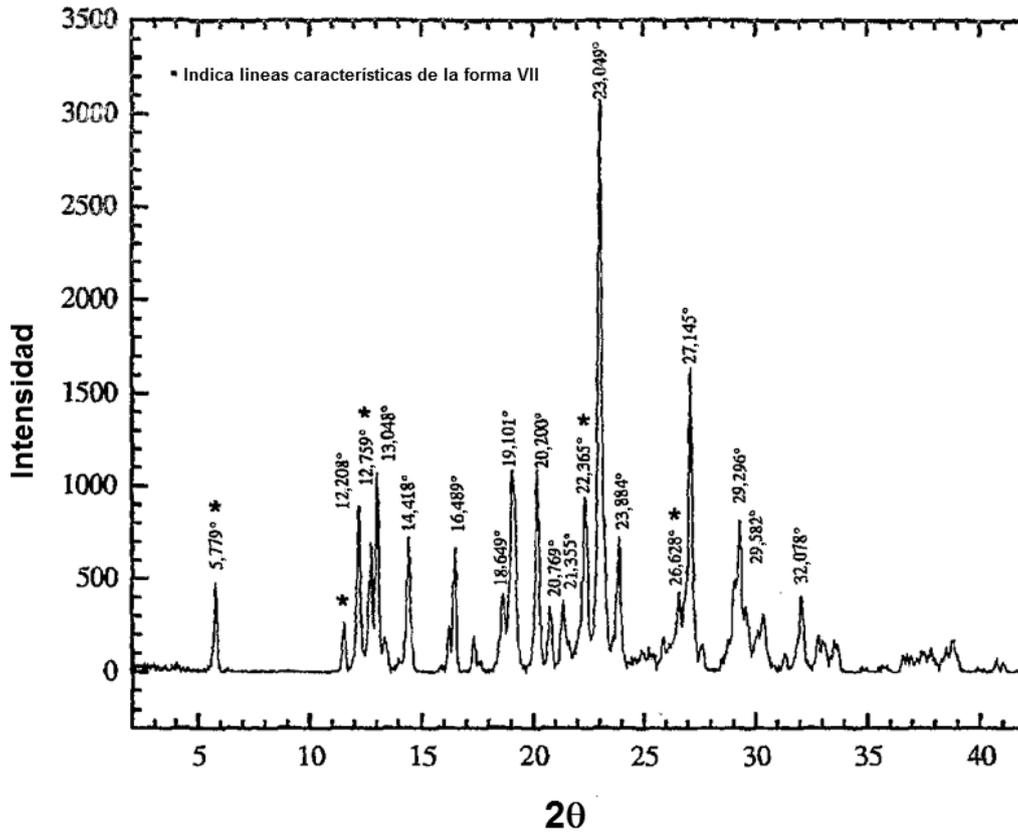


Figura 8 Patrón de difracción de rayos X de polvo de azacitidina, forma VIII, marcado con los ángulos 2θ más destacados (Radiación $K\alpha$ de Cu)

