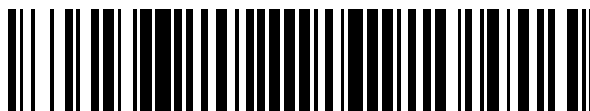


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 248**

51 Int. Cl.:

C07C 331/20 (2006.01)

C08B 37/16 (2006.01)

C08L 5/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.05.2013 PCT/GB2013/051458**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.12.2013 WO13179057**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.05.2013 E 13726846 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 2854861**

54 Título: **Procedimiento de síntesis del sulforafano**

30 Prioridad:

01.06.2012 US 201261654277 P

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

06.02.2018

73 Titular/es:

**PHARMAGRA LABS, INC. (100.0%)
158 McLean Road
Brevard, NC 28712, US**

72 Inventor/es:

**DAMIREDDI, SAHADEVA REDDY;
AKUE, KPAKPO AMBROISE;
NELSON, JARED K.;
FRISBEE, ALBERT ROGER y
NEWSOME, PETER WYATT**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 653 248 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

Procedimiento de síntesis del sulforafano

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de síntesis del sulforafano. La presente invención también se refiere a un procedimiento de síntesis de complejos estabilizados de sulforafano-ciclodextrina.

Antecedentes de la invención

10 Según the US National Cancer Institute, Se considera que el sulforafano es uno de los 40 agentes anticancerígenos más prometedores (Kelloff G.J, Crowell J.A, Steele V.E, Lubet R.A, Malone W.A, Boone C.W, Kopelovich L, Hawk E.T, Lieberman R, Lawrence J.A, Ali I, Viner J.L, Sigman C.C, J. Nutr, 2000,130, 467). También se sabe que posee propiedades antimicrobianas. Por lo tanto, el sulforafano atrajo el interés como agente potencial para el tratamiento y/o prevención del cáncer y las infecciones microbianas.

15 El sulforafano se encuentra en las verduras crucíferas como la col, el brócoli, los brotes de brócoli, las coles de Bruselas, la coliflor, los brotes de coliflor, col china, col rizada, col verde, rúcula, colinabo, mostaza, nabo, rábano rojo y berro de agua. En la planta, está presente en forma unida como la glucorafanina, un glucosinolato. En la naturaleza, el sulforafano a menudo se forma a partir de la glucorafanina después del daño de las células vegetales mediante una reacción enzimática.

Se conocen en la técnica diversos procedimientos de síntesis de producción de sulforafano. El sulforafano se sintetizó ya en 1948 por Schmid and Karrer (Schmid H. And Karrer, P.; Helvetica Chimica Acta. 1948; 31; 6: 1497-1505). La síntesis de Schmid da como resultado una mezcla racémica.

20 Diversos procedimientos de síntesis alternativos han sido informados por, por ejemplo, Vermeulen and colaboradores Vermeulen M, Zwanenburg B, Chittenden G.J.F, Verhagen H, Eur. J. Med. Chem, 2003, 38(78), 729-737), Conaway and co-workers ((Conaway C.C, Wang C.X, Pittman B, Yang Y.M, Schwartz J.E, Tian D, McIntee E.J, Hecht S.S, Chung F.L, Cancer Research, 2005, 65(18), 8548-8557), Kuhnert and co-workers (Kuhnert N and Lu Y, Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals 2004, 47(8), 501-507), Rajski and co-workers (Mays J. R and Rajski, S. R. Chem-BioChem, 2008, 9(5), 729-747 and WO2008/008954), Christopher and co-workers (Christopher A. D'Souza, Shantu Amin, Dhimant Desai, Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals, 2003, 46(9), 851-859), Takayuki and co-workers (Joon-Kwan M, Jun-Ran K, Young-Joon A and Takayuki S, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2010, 58 (11), 6672-6677), and Rabhi and co-workers (WO 2008015315 and US 0135618 A1), Cao and his co-workers (Tong Jian Ding, Ling Zhou, Xiao Ping Cao, Chinese Chemical Letters, 2006, 17(9), 1152-1154) and Chen and co-workers (Xin Chen, Zhengyi Li, Xiaoqiang Sun, Hongzhao Ma, Xiaoxin Chen, Jie Ren, Kun Hu, Synthesis, 2011, 24, 3991-3996 and CN 102249968).

35 Aunque el sulforafano se ha sintetizado por diversos procedimientos diferentes, la mayoría de los procedimientos informados adolecen de varios inconvenientes; tales como, por ejemplo, bajos rendimientos, el uso de reactivos peligrosos y potencialmente dañinos (tales como el tiosfogeno, que es un líquido altamente tóxico y volátil con un olor desagradable e irritante), el uso de solventes de clase I o II, los procedimientos de tratamiento/purificación laboriosos y subproductos no deseados (tales como el inseparable derivado disulfona/sulfonil de sulforafano). Por lo tanto, estos procedimientos no son apropiados para la síntesis eficiente a gran escala de sulforafano.

40 Por lo tanto, existe la necesidad de un procedimiento alternativo de síntesis del sulforafano que aborde uno o más de los inconvenientes mencionados anteriormente de los procedimientos de la técnica anterior. En particular, existe la necesidad de un procedimiento de síntesis que pueda implementarse a gran escala. Dicho procedimiento idealmente sería:

(i) eficiente, esto es, proporciona rendimientos comercialmente viables de sulforafano con buenos niveles de pureza y utiliza un pequeño número de etapas de síntesis;

(ii) rentable, esto es, que utiliza reactantes y condiciones de reacción de bajo coste;

45 (iii) ambientalmente aceptable y seguro de implementar, esto es, no usa reactivos o solventes excesivamente tóxicos.

Un problema adicional y significativo asociado con el sulforafano es su inestabilidad inherente. El sulforafano existe en forma de un aceite inestable que se degrada rápidamente en condiciones normales. Esto hace que el sulforafano sea excepcionalmente difícil de fabricar y distribuir.

50 Por lo tanto, también existe la necesidad de un procedimiento de síntesis del sulforafano que sea fácilmente susceptible a etapas de procesamiento posteriores para proporcionar una forma más estable del sulforafano que se produce.

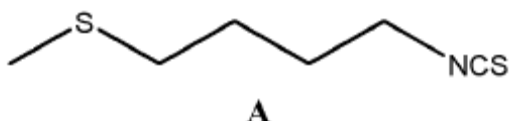
Un enfoque particularmente eficaz para estabilizar el sulforafano implica la formación de complejos de sulforafano-ciclodextrina. A este respecto, el documento US 7,879,822B2 describe la preparación de complejos de sulforafano-ciclodextrina que tienen buena estabilidad.

5 Por lo tanto, un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un procedimiento fácil que permite que el sulforafano que sintetiza se estabilice fácilmente mediante la formación de un complejo de sulforafano-ciclodextrina.

Resumen de la invención

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento de preparación de un complejo de sulforafano y ciclodextrina o un complejo de sulforafano y un derivado de hidroxialquil ciclodextrina, comprendiendo el procedimiento:

10 (i) hacer reaccionar, en un solvente acuoso, un compuesto de fórmula A:



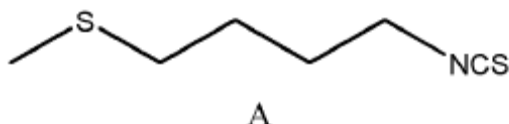
con un agente oxidante y en presencia de un catalizador para formar sulforafano; y

15 (ii) mezclar el sulforafano de la etapa (i) con ciclodextrina o un derivado de hidroxialquil ciclodextrina en un solvente acuoso para formar un precipitado del complejo sulforafano-ciclodextrina o el complejo derivado de sulforafano-hidroxialquil ciclodextrina;

en el que el solvente acuoso es agua y el catalizador se selecciona de una ciclodextrina, un derivado de hidroxialquil ciclodextrina, tierra de Fuller y ácidos orgánicos o inorgánicos y en la que el agente oxidante es peróxido de hidrógeno o un perácido orgánico miscible o soluble en agua, o una mezcla de los mismos.

Según un primer aspecto, se describe un procedimiento de síntesis del sulforafano, comprendiendo el procedimiento:

20 hacer reaccionar, en un solvente acuoso, un compuesto de fórmula A:



con un agente oxidante en presencia de un catalizador.

25 El procedimiento de la presente invención posee una serie de ventajas sobre los procedimientos convencionales de la técnica anterior de producción de sulforafano. En primer lugar, el procedimiento es eficiente y proporciona altos rendimientos del producto final de sulforafano deseado sin una producción significativa del derivado de sulfonilo (Erysolin) como subproducto. En segundo lugar, la reacción puede proceder bajo condiciones suaves y acuosas. El uso de un solvente acuoso, tal como agua, es particularmente ventajoso porque evita el uso de solventes caros y/o potencialmente peligrosos. También permite el uso de agentes oxidantes menos peligrosos, tal como el peróxido de hidrógeno. Además, el uso de un solvente acuoso hace que la reacción sea idealmente adecuada para la formación in situ rápida y eficaz de complejos de sulforafano-ciclodextrina estabilizados (simplemente mezclando el producto final de sulforafano con una solución acuosa de ciclodextrina para formar el complejo).

El procedimiento de la presente invención también es apropiado para la fabricación a gran escala del sulforafano.

En otro aspecto, se describe el sulforafano formado mediante, obtenible mediante, obtenido mediante, u obtenido directamente mediante, un procedimiento como se define en este documento.

35 En otro aspecto más, se describe un complejo de sulforafano-ciclodextrina formado mediante, obtenible mediante, obtenido mediante, u obtenido directamente mediante, un procedimiento como se define en este documento.

En otro aspecto, se describe un complejo de sulforafano-ciclodextrina como se define en este documento para uso en el tratamiento y/o prevención de infecciones microbianas y/o cáncer.

En otro aspecto, se describe una composición farmacéutica que comprende un complejo de sulforafano-ciclodextrina como se define en este documento y uno o más excipientes farmacéuticos adicionales.

Descripción detallada de la invención

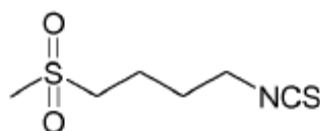
Definiciones

- 5 A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos utilizados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones tienen los siguientes significados que se detallan a continuación.

10 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad del compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad o afección referida en este documento, es suficiente para realizar tal tratamiento para la enfermedad o afección. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo de la forma del compuesto (por ejemplo, la forma de la sal), la enfermedad o afección de que se trate y su gravedad, así como la edad, peso, etc., del sujeto a tratar.

El término "individuo" se usa en el presente documento para significar un mamífero de sangre caliente. De este modo, el compuesto de la presente invención se puede usar para aplicaciones humanas y/o veterinarias. En una realización particular, el sujeto es un ser humano.

- 15 El término Erysolin se usa en este documento para referirse a un compuesto que tiene la estructura que se muestra a continuación:



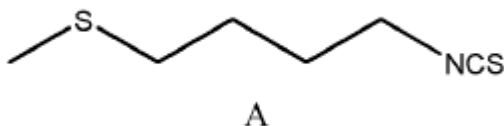
Erysolin

El procedimiento de producción de sulforafano

- 20 Se apreciará que, en la descripción de los procedimientos de síntesis descritos en este documento, todas las condiciones de reacción propuestas, que incluyen la elección del solvente acuoso, la atmósfera de reacción, la temperatura de reacción, la duración del experimento y cualquier procedimiento de tratamiento empleado se puede seleccionar por un experto en el arte. Un experto en el arte de la síntesis orgánica también entenderá que la funcionalidad presente en diversas partes de la molécula debe ser compatible con los reactivos y las condiciones de reacción usadas.

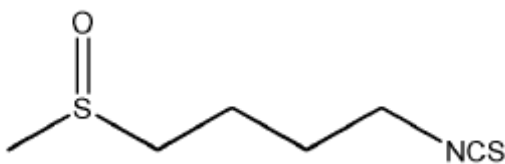
- 25 Como se indicó anteriormente, la presente invención proporciona un procedimiento de síntesis del sulforafano, comprendiendo el procedimiento:

hacer reaccionar, en un solvente acuoso, un compuesto de fórmula A:



con un agente oxidante en presencia de un catalizador.

- 30 El compuesto de sulforafano resultante tiene la estructura que se muestra a continuación:



El sulforafano se puede recoger y almacenar apropiadamente para su uso posterior o, más preferiblemente, se puede mezclar directamente o in situ con ciclodextrina para formar un complejo estabilizado de sulforafano-ciclodextrina como

se define adicionalmente en este documento. Esto evita la necesidad de purificaciones laboriosas del producto final de sulforafano.

El solvente es agua.

5 De manera apropiada, el solvente acuoso se desgasifica antes de la reacción. Se puede usar cualquier procedimiento apropiado conocido en la técnica para desgasificar el solvente acuoso. Por ejemplo, el solvente se puede desgasificar burbujeando el solvente con un gas inerte (tal como nitrógeno o argón), sometiendo a reflujo el solvente, o usando procedimientos de desgasificación al vacío o ultrasónico.

10 El agente oxidante se puede seleccionar entre peróxido de hidrógeno o perácidos orgánicos miscibles o solubles en agua, tales como ácido meta-cloroperoxibenzoico (mCPBA). En una realización, el agente oxidante es peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno es particularmente apropiado porque reacciona en la metodología de la presente invención para formar sulforafano y agua como productos finales (esto es, no se forman subproductos no deseados).

15 De manera adecuada, el agente oxidante está presente en una cantidad suficiente para oxidar todo el compuesto de fórmula A en sulforafano. Por lo general, será necesario aproximadamente un equivalente molar (con relación al compuesto de fórmula A) del agente oxidante, aunque es posible usar un ligero exceso del agente oxidante si las condiciones se controlan para prevenir o limitar la formación del subproducto sulfonilo. Por ejemplo, en algunos casos, se pueden usar de 1 a 2 equivalentes molares de agente oxidante (con relación al compuesto de fórmula A), más adecuadamente se usan de 1 a 1.5 equivalentes molares de agente oxidante, y aún más adecuadamente se utiliza de 1 a 1.1 equivalentes molares de agente oxidante.

La reacción también tiene lugar en presencia de un catalizador apropiado.

20 El catalizador debe ser activo en el entorno acuoso y puede ser homogéneo o heterogéneo. Los catalizadores apropiados son catalizadores ácidos tales como ciclodextrina y/o tierra de Fuller, y ácidos orgánicos o inorgánicos, tales como, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido fórmico, ácido acético y/o ácido sulfúrico.

25 En una realización particular, el catalizador es ciclodextrina. Se puede usar cualquier ciclodextrina apropiada como catalizador. Por ejemplo, la ciclodextrina se puede seleccionar de una o más de W6 (alfa) ciclodextrina (una molécula de anillo de seis azúcares), W7 (beta) ciclodextrina (una molécula de anillo de siete azúcares), W8 (gamma) ciclodextrina (una molécula de anillo de ocho azúcares), derivados de hidroxialquilo de los mismos (tales como hidroxipropil ciclodextrina) y mezclas de los mismos. Otras ciclodextrinas conocidas en la técnica también se consideran útiles en el procedimiento de síntesis.

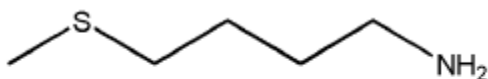
En una realización de la invención, la ciclodextrina usada como catalizador es alfa-ciclodextrina.

30 La cantidad de catalizador requerida variará dependiendo de la naturaleza del agente oxidante, catalizador y las condiciones de reacción usadas. Adecuadamente, están presentes 0.0001 a 1.0 equivalentes molares de catalizador (con relación al compuesto de fórmula A) y, más adecuadamente, están presentes 0.005 a 0.2 equivalentes molares de catalizador, y aún más adecuadamente, están presentes 0.005 a 0.05 equivalentes molares de catalizador.

35 En realizaciones de la invención donde el agente oxidante es peróxido de hidrógeno, el peróxido de hidrógeno se adiciona adecuadamente a la mezcla de reacción lentamente y la temperatura de la mezcla de reacción se mantiene a 15°C o menos o, más preferiblemente, a 10°C o menos. Adecuadamente, la temperatura se controla durante la adición del peróxido de hidrógeno y la velocidad de adición se ajusta para asegurar que la temperatura permanezca dentro de los límites deseados.

40 En una realización de la invención, el agente oxidante es peróxido de hidrógeno, el solvente es agua, y el catalizador se selecciona de ciclodextrina, tierra de Fuller y ácidos tales como ácido ascórbico, ácido fórmico, ácido acético y/o ácido sulfúrico. En una realización particular de la invención, el agente oxidante es peróxido de hidrógeno, el solvente es agua, y el catalizador es ciclodextrina, particularmente α -ciclodextrina. En tales realizaciones, el compuesto de fórmula A y el catalizador se pueden disolver en agua y enfriarse a menos de 15°C o, más preferiblemente, a menos de 10°C (por ejemplo, entre 1 y 2 °C) y la solución acuosa de peróxido de hidrógeno luego se puede adicionar a la solución enfriada de una manera controlada de modo que la temperatura no exceda 15 °C, o, más preferiblemente, 10 °C. La reacción se puede agitar luego y dejar que transcurra durante un tiempo apropiado, por ejemplo, entre 1 y 48 horas. El producto de sulforafano luego se puede recoger o utilizar en etapas posteriores del procedimiento.

50 El material de partida, esto es, el compuesto de fórmula A, se puede obtener comercialmente (se puede obtener de diversos proveedores ya sea como producto natural o sintético) y/o prepararse mediante técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, el compuesto de fórmula A se puede preparar como un intermedio a partir de un compuesto de fórmula B mostrado a continuación

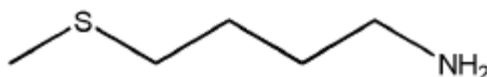


B

5

por procedimientos descritos por Vermeulen and co-workers (Eur. J. Med. Chem, 2003, 38(78), 729-737), D'Souza and coworkers (Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals, 2003, 46(9), 851-859), Cao and his co-workers (Chinese Chemical Letters, 2006, 17(9), 1152-1154) y Chen and co-workers (Synthesis, 2011, 24, 3991-3996 and CN 102249968).

En una realización de la presente invención, el compuesto de fórmula A se prepara haciendo reaccionar un compuesto de fórmula B



B

10

con disulfuro de carbono en un solvente apropiado (por ejemplo, THF) y en presencia de una base apropiada (tal como Et₃N) y un agente oxidante apropiado (tal como peróxido de hidrógeno).

En una realización particular, el solvente es THF, la base es trietilamina y el agente oxidante es peróxido de hidrógeno.

15

En una realización adicional, el compuesto de fórmula B y la base (por ejemplo, trietilamina) se disuelven en un solvente (por ejemplo, THF) a baja temperatura (por ejemplo, por debajo de 25 °C, más preferentemente por debajo de 0 °C y, aún más preferiblemente, por debajo de -10 °C). El disulfuro de carbono luego se adiciona a la mezcla de reacción. Adecuadamente, la temperatura se controla mientras se adiciona el disulfuro de carbono (por ejemplo, se mantiene por debajo de 25 °C, o más preferiblemente por debajo de 5 °C y, aún más preferiblemente, por debajo de 0 °C). Se puede adicionar disulfuro de carbono a una velocidad controlada con el fin de mantener baja la temperatura de la mezcla de reacción (por ejemplo, se puede adicionar gota a gota durante un período de, por ejemplo, 0.5 a 4 horas). La mezcla de reacción se puede calentar luego (por ejemplo, a entre 5 y 25 °C, y más preferiblemente a entre 5 y 20 °C) y luego se adiciona el agente oxidante (por ejemplo, peróxido de hidrógeno).

20

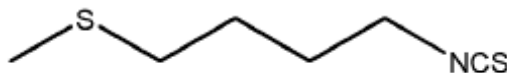
El producto en bruto resultante del compuesto de fórmula A se puede recoger, lavar y purificar (por ejemplo, por destilación) para dar un compuesto puro de fórmula A, usando técnicas bien conocidas en la técnica.

El procedimiento de producción de complejos de sulforafano-ciclodextrina

25

También se describe en este documento un procedimiento de preparación de un complejo de sulforafano y ciclodextrina, comprendiendo el procedimiento:

(i) hacer reaccionar, en un solvente acuoso, un compuesto de fórmula A:



A

con un agente oxidante en presencia de un catalizador para formar el sulforafano; y

30

(ii) mezclar la solución acuosa de sulforafano de la etapa (i) con una solución acuosa de ciclodextrina en un solvente acuoso para formar un precipitado del complejo sulforafano-ciclodextrina.

35

La etapa (i) de la reacción es el procedimiento de síntesis del sulforafano definido anteriormente. Una ventaja particular de usar un solvente acuoso en la etapa (i) es que una vez que se completa la reacción, permite la simple adición de una solución acuosa de ciclodextrina a la mezcla de reacción para formar un complejo estabilizado de sulforafano-ciclodextrina. Por lo tanto, el presente procedimiento proporciona un medio simple, efectivo y rápido mediante el cual se puede estabilizar el sulforafano.

Los complejos de sulforafano-ciclodextrina se describen en el documento US 7,879,822B2.

El procedimiento de la presente invención comprende adecuadamente una etapa adicional de recoger el precipitado del complejo de sulforafano-ciclodextrina y luego opcionalmente lavar y secar el precipitado. El precipitado se puede recoger mediante técnicas bien conocidas en la técnica, tales como mediante filtración.

5 Las condiciones de reacción apropiadas para formar un complejo de sulforafano-ciclodextrina en soluciones acuosas se conocen en la técnica del documento US 7,879,822 B2.

En algunas realizaciones, la pureza del complejo resultante se puede incrementar adicionalmente por recristalización.

10 Se puede usar cualquier ciclodextrina apropiada, para formar un complejo con el sulforafano. En realizaciones en las que el catalizador en la etapa (i) es ciclodextrina, entonces la ciclodextrina usada para formar un complejo en la etapa (ii) puede ser la misma o diferente a la ciclodextrina usada como catalizador en la etapa (i). A modo de ejemplo, la ciclodextrina para uso en los procedimientos de la presente invención se puede seleccionar de una o más de W6 (alfa ciclodextrina (una molécula de anillo de seis azúcares), W7 (beta) ciclodextrina (una molécula de anillo de siete azúcares), W8 (gamma) ciclodextrina (una molécula de anillo de ocho azúcares), derivados de hidroxipropilo de los mismos (tales como hidroxipropil ciclodextrina) y mezclas de los mismos. Otras ciclodextrinas conocidas en la técnica también se consideran útiles en los procedimientos presentes.

15 En una realización de la invención, la ciclodextrina usada para formar un complejo con el sulforafano en la etapa (ii) es alfa-ciclodextrina.

20 Antes de mezclar con el sulforafano obtenido de la etapa (i), la ciclodextrina usada en la etapa (ii) del presente procedimiento se puede disolver en un solvente acuoso, tal como agua. La disolución/dispersión de ciclodextrina en el solvente se puede realizar por cualquier procedimiento conocido en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la ciclodextrina se puede disolver total o parcialmente en un solvente acuoso colocando la ciclodextrina en el solvente y calentando la mezcla. En realizaciones adicionales, la sonicación se puede usar para disolver ya sea total o parcialmente la ciclodextrina en el solvente. En realizaciones adicionales, se pueden utilizar múltiples procedimientos de disolución para alcanzar el nivel de disolución deseado por el usuario, por ejemplo, usando sonicación en relación con el calentamiento del solvente.

25 Una vez que el sulforafano y la ciclodextrina se han adicionado juntos en la etapa (ii) del procedimiento, y están listos para mezclarse, se puede utilizar cualquier procedimiento de mezcla. Por ejemplo, los componentes se pueden mezclar mediante agitación, sonicación, agitación u otros procedimientos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, se pueden utilizar más de un procedimiento de mezcla juntos.

30 La duración de la mezcla puede variar en función de los procedimientos particulares de mezclado utilizados. Por ejemplo, si se utiliza agitación o sonicación, el sulforafano y la ciclodextrina se pueden mezclar durante aproximadamente 2 horas a aproximadamente 48 horas. En otras realizaciones, el sulforafano y la ciclodextrina se pueden mezclar mediante un agitador o sonicación durante aproximadamente 6 horas a aproximadamente 15 horas.

35 Como se discutió anteriormente, se pueden utilizar múltiples procedimientos de mezcla para mezclar el sulforafano y la ciclodextrina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la sonicación se puede utilizar en conexión con la agitación. En tales realizaciones, la sonicación se puede usar durante un período de tiempo de aproximadamente 0.01 horas a aproximadamente 1.5 horas, durante la mezcla con un agitador durante aproximadamente 2 horas a aproximadamente 48 horas.

40 La mezcla inicial del sulforafano y la ciclodextrina a temperatura ambiente, por ejemplo, entre 15 °C y 25 °C. Sin embargo, en una realización particular, después de que se hayan mezclado el sulforafano y la ciclodextrina, la mezcla se enfría para estabilizar el precipitado formado. El sulforafano particular y la ciclodextrina utilizados pueden dictar la duración y la gravedad del enfriamiento requerido. Por ejemplo, la mezcla se puede enfriar a una temperatura dentro del intervalo de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 20 °C, más adecuadamente entre -8 °C a 10 °C, incluso más adecuadamente entre -5 °C a 4 °C. La duración del enfriamiento puede variar y puede ser, por ejemplo, desde aproximadamente 0.1 horas a aproximadamente 24 horas.

45 En una realización particular, la mezcla se puede enfriar a una temperatura desde aproximadamente -5 °C a aproximadamente 2 °C, opcionalmente durante un período de tiempo de aproximadamente 0.5 horas a aproximadamente 4 horas. El precipitado luego se puede filtrar para obtener un complejo de sulforafano-ciclodextrina de mayor pureza.

50 Adecuadamente, la relación molar de sulforafano a ciclodextrina en el complejo resultante está dentro del intervalo de 0.4: 1 a 1: 1; adecuadamente 0.8: 1 a 1: 1; y más adecuadamente 0.9: 1 a 1: 1, 0.95: 1 a 1: 1 o 0.98: 1 a 1: 1.

En realizaciones adicionales, el complejo resultante se puede recristalizar para obtener un complejo con un nivel de pureza incluso mayor del sulforafano. En tales realizaciones, se puede utilizar cualquier procedimiento de recristalización conocido en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la recristalización se puede realizar enfriando la mezcla resultante, disolviendo la mezcla resultante en un segundo solvente, a través de una reacción

química, cambiando el pH de la mezcla o evaporando el solvente. Las especificaciones del usuario pueden dictar los procedimientos particulares utilizados.

5 En algunas realizaciones, el procedimiento de recristalización puede incluir la disolución de las partículas sólidas formadas en un solvente. Tal disolución se puede completar mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la disolución se puede completar mediante sonicación. La sonicación se puede completar a una temperatura elevada, esto es, desde aproximadamente 50 °C a aproximadamente 100 °C, y puede continuarse hasta que no queden partículas sólidas. Adicionalmente, se puede utilizar cualquier solvente conocido en la técnica, incluidos los indicados anteriormente que pueden ser útiles en relación con la disolución de ciclodextrina.

10 Después de que la disolución se haya completado sustancialmente, la mezcla se puede mantener a temperatura ambiente para permitir que los sólidos se precipiten de la solución. Dependiendo de los materiales utilizados, el tiempo en que la mezcla se mantiene a temperatura ambiente puede variar. Por ejemplo, si se utiliza sulforafano, la mayoría de los sólidos se pueden precipitar fuera de la solución dentro de una hora de haberse mantenido a temperatura ambiente. En otras realizaciones, la solución puede tomar más de o menos de una hora para permitir que los sólidos del complejo precipiten de la solución.

15 Como se discutió anteriormente, los sólidos luego se pueden enfriar para ayudar a la formación y estabilización del complejo. El complejo particular utilizado puede dictar la cantidad de enfriamiento necesaria. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la mezcla se puede enfriar en un dispositivo de enfriamiento, tal como, por ejemplo, un refrigerador, que se mantiene a una temperatura desde aproximadamente -10 °C a aproximadamente 20 °C, opcionalmente durante un tiempo desde aproximadamente 0.1 horas a aproximadamente 2 horas. En otras realizaciones, la mezcla se puede
20 enfriar en un dispositivo de enfriamiento que se mantiene a una temperatura desde aproximadamente 2 °C a aproximadamente 6 °C durante un tiempo entre aproximadamente 0.5 horas a 1 hora. Después de que el complejo ha cristalizado suficientemente, luego se puede filtrar para producir un complejo de sulforafano-ciclodextrina de una pureza incluso mayor.

Composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento

25 En otro aspecto, se describe un procedimiento para proporcionar tratamientos anticancerosos y/o antimicrobianos a un sujeto que necesita dicho tratamiento. El procedimiento incluye administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento los complejos de sulforafanociclodextrina de mayor pureza definidos en este documento en una cantidad terapéuticamente eficaz.

30 Un primer componente del procedimiento de tratamiento es el complejo de sulforafano-ciclodextrina preparado de acuerdo con los procedimientos definidos en este documento. Los componentes que son útiles en la presente invención pueden ser de cualquier pureza o grado, siempre que la preparación sea de una calidad y estabilidad apropiadas para uso farmacéutico y no afecte a la actividad o seguridad fisiológica de la preparación resultante.

35 El procedimiento puede incluir además la administración de otros componentes farmacéuticamente aceptables. El término "farmacéuticamente aceptable" se usa adjetivamente en este documento para indicar que el nombre modificado es apropiado para uso en un producto farmacéutico.

40 Cuando el complejo de sulforafano-ciclodextrina creado por los presentes procedimientos se suministra junto con un portador farmacéuticamente aceptable o un excipiente farmacéuticamente aceptable, cuyos términos se pueden usar indistintamente en este documento, se puede formar una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante cualquiera de las técnicas bien conocidas de farmacia, por ejemplo, mezclando los componentes.

Una composición farmacéutica descrita se refiere a una composición apropiada para la prevención o el tratamiento de los trastornos descritos en este documento.

45 Los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables se eligen de modo que se minimicen los efectos secundarios del(de los) compuesto(s) farmacéutico(s) y el rendimiento del(de los) compuesto(s) no se cancele ni se inhiba hasta tal punto que el tratamiento sea ineficaz. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, solución salina fisiológica, solución de Ringer, solución de fosfato o reguladora, solución salina reguladora y otros portadores conocidos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas también pueden incluir estabilizantes, antioxidantes, colorantes y diluyentes.

50 El portador debe ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no ser perjudicial para el receptor. El portador puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y se puede formular con el(los) compuesto(s) como una composición de dosis unitaria, por ejemplo, un comprimido, que puede contener de aproximadamente 0.01% a aproximadamente 95% en peso del(los) compuesto(s) activo(s)

El portador farmacéuticamente aceptable también se puede seleccionar sobre la base de la ruta de administración deseada del(de los) compuesto(s). La vía de administración deseada puede ser una o más de administración oral,

enteral, parenteral, inyectable, bucal y tópica. Por ejemplo, en una realización, el portador es apropiado para administración oral. En algunos aspectos, la composición incluye un portador o agente adicional que es apropiado para promover la administración del(de los) compuesto(s) al tracto gastrointestinal o intestinal.

5 En particular, las composiciones farmacéuticas descritas, o las composiciones en las que están incluidas, se pueden administrar por vía oral, por ejemplo, como comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, trociscos, comprimidos para deshacer en la boca, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral se pueden preparar según cualquier procedimiento conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, 10 agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente aceptables y agradables al paladar. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son apropiados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; 15 agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la adsorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionan una acción sostenida durante un período más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

20 Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en las que los ingredientes activos se mezclan con un diluyente sólido inerte, tal como por ejemplo carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que están presentes los ingredientes activos o mezclados con agua o un medio de aceite, tal como por ejemplo aceite de maní, parafina líquida, cualquiera de una variedad de extractos de hierbas, leche o aceite de oliva.

25 Se pueden producir suspensiones acuosas que contienen los materiales activos en mezcla con excipientes apropiados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen agentes de suspensión, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes pueden ser fosfátidos de origen natural, tales como por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, tales como por 30 ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, tales como por ejemplo, heptadecaetilenoicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol, tal como por ejemplo monooleato de polioxietileno sorbitol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como por ejemplo monooleato de polioxietileno sorbitan.

35 Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, tales como, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, o uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa, glicerol, sorbitol o sacarina.

Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los ingredientes activos en un ácido graso omega-3, un 40 aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, tal como, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico.

Se pueden adicionar agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral agradable al paladar. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

45 Los polvos y gránulos dispersables apropiados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión apropiados se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

50 Los jarabes y elixires que contienen el complejo de sulforafano-ciclodextrina se pueden formular con agentes edulcorantes, tales como, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante y/o agentes aromatizantes y colorantes. Las formas de dosificación líquida para la administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y/o elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica, tales como agua. Tales composiciones 55 también pueden comprender coadyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y/o de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y/o perfumantes.

5 Las composiciones farmacéuticas apropiadas para administración oral se pueden presentar en unidades discretas que contienen cada una cantidad predeterminada de al menos un compuesto terapéutico útil en la presente invención; como polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión de aceite en agua o agua en aceite. Como se indica, tales composiciones se pueden preparar mediante cualquier procedimiento de farmacia apropiado, que puede incluir la etapa de poner en asociación el(los) compuesto(s) activo(s) y el portador (que puede constituir uno o más ingredientes accesorios). En general, las composiciones se preparan mezclando el compuesto activo con un portador sólido líquido o finamente dividido, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

10 Por ejemplo, un comprimido se puede preparar comprimiendo o moldeando un polvo o gránulos del compuesto, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos de compresión se pueden preparar comprimiendo, en una máquina apropiada, el compuesto en una forma de flujo libre, tal como un polvo o gránulos opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte y/o agente(s) con actividad de superficie/dispersante(s). Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando, en una máquina apropiada, el compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

15 La administración oral de las combinaciones de la presente invención puede incluir formulaciones, como es bien sabido en la técnica, para proporcionar la administración prolongada o sostenida del fármaco al tracto gastrointestinal y/o intestinal por cualquier número de mecanismos. Estos incluyen, pero no se limitan a, liberación sensible al pH de la forma de dosificación basada en el pH cambiante del intestino delgado, erosión lenta de un comprimido o cápsula, retención en el estómago basada en las propiedades físicas de la formulación, bioadhesión de la forma de dosificación al revestimiento de la mucosa del tracto intestinal, o la liberación enzimática del fármaco activo a partir de la forma de dosificación. Para algunos de los compuestos terapéuticos útiles en los procedimientos, combinaciones y composiciones de la presente invención, el efecto deseado es extender el período de tiempo durante el cual la molécula de fármaco activa se administra al sitio de acción mediante la manipulación de la forma de dosificación. De este modo, las formulaciones de liberación controlada recubiertas entéricamente y recubiertas entéricamente están dentro del alcance de la presente invención. Los recubrimientos entéricos apropiados incluyen ftalato de acetato de celulosa, ftalato de poli (acetato de vinilo), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y polímeros aniónicos de ácido metacrílico y éster metílico de ácido metacrílico.

25 En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica puede incluir comprimidos que pueden estar sin recubrir o se pueden recubrir mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción retardada durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

30 En realizaciones adicionales, las composiciones creadas por el presente procedimiento se pueden administrar por vía parenteral, tal como, por ejemplo, por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal o mediante técnicas de infusión, en forma de suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, tal como, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluidos mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 se pueden usar en la preparación de inyectables

35 Las composiciones farmacéuticas apropiadas para administración parenteral pueden comprender preparaciones acuosas estériles de un compuesto de la presente invención. Estas preparaciones se pueden administrar por vía intravenosa, aunque la administración también se puede realizar por inyección subcutánea, intramuscular o intradérmica o por infusión. Tales preparaciones se pueden preparar mezclando el compuesto con agua y haciendo que la solución resultante sea estéril e isotónica con la sangre. Las composiciones inyectables según la invención generalmente contendrán de 0.01 a 10% p/p de un compuesto descrito en este documento.

40 Los ingredientes activos también se pueden administrar mediante inyección como una composición en la que, por ejemplo, se puede usar solución salina, dextrosa o agua como un portador apropiado. Una dosis diaria apropiada de cada compuesto terapéutico activo es aquella que alcanza relativamente el mismo nivel de suero sanguíneo que el producido por administración oral como se describió anteriormente.

45 También se describe la administración bucal o "sublingual", que incluye comprimidos para deshacer en la boca o una goma masticable que comprende los compuestos expuestos en este documento. Los compuestos se pueden depositar en una base aromatizada y goma arábiga o tragacanto o los compuestos se pueden depositar en pastillas que comprenden los compuestos en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

50 Las composiciones farmacéuticas también son apropiadas para la aplicación tópica sobre la piel y pueden tomar la forma de ungüentos, cremas, lociones, pastas, geles, aerosoles, polvos, gelatinas, colirios, soluciones, suspensiones, aerosoles o aceites. Se pueden usar portadores e incluyen vaselina (por ejemplo, Vaseline®), lanolina, polietilenglicoles, alcoholes y combinaciones de dos o más de los mismos. El compuesto o compuestos activos generalmente están

presentes a una concentración de 0.01 a 50% p/p de la composición, tal como, por ejemplo, desde aproximadamente 0.01 a aproximadamente 2%.

También se pueden incluir cantidades seguras y eficaces de agentes de isotonicidad, que incluyen sales, tales como cloruro de sodio y/o agentes de isotonicidad no electrolíticos tales como sorbitol y manitol.

- 5 La solubilidad de los componentes de las composiciones se puede mejorar mediante un agente tensioactivo u otro cosolvente apropiado en la composición. Tales cosolventes incluyen polisorbato 20, 60 y 80, surfactantes de polioxietileno/polioxipropileno (por ejemplo, Pluronic F-68, F-84 y P-103, disponible en BASF®), ciclodextrina u otros agentes conocidos para los expertos en el arte. Tales cosolventes se pueden emplear a niveles desde aproximadamente 0.01% a aproximadamente 2% en peso.
- 10 Los excipientes y portadores farmacéuticamente aceptables abarcan todos los anteriores y similares. Las formulaciones eficaces y los procedimientos de administración son bien conocidos en la técnica y se describen en libros de texto estándar. Véase, por ejemplo, Gennaro, A. R., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, (Lippincott, Williams and Wilkins), 2000; Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman, et al., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; y Kibbe, et al., Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (3rd Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

20 En el procedimiento, un sujeto que necesita tratamiento y/o prevención de los trastornos descritos en este documento y/o condiciones relacionadas se puede tratar con una cantidad del sulforafano purificado de la presente invención, en el que la cantidad de los componentes individuales proporciona una dosificación o cantidad que es suficiente para constituir un tratamiento o una cantidad eficaz de prevención.

La cantidad eficaz de complejo de sulforafano-ciclodextrina purificado, por supuesto, depende de una serie de factores, tales como el compuesto específico elegido, el uso para el que está destinado, el modo de administración, el huésped que se va a tratar y la condición clínica del receptor.

25 Se considera que un síntoma carcinogénico, tumorogénico o antibacteriano, mejora o se supera si se logra algún beneficio, sin importar cuán leve sea.

Las dosificaciones para las composiciones y procedimientos proporcionados en este documento se pueden determinar y ajustar basándose en la eficacia demostrada al proporcionar un resultado quimioprotector o quimiopreventivo. Además, un experto en el arte sabrá cómo medir y cuantificar la presencia o ausencia de síntomas de carcinogénesis o tumorigénesis.

30 Las dosificaciones para las composiciones son aquellas que son eficaces para proporcionar un efecto quimioprotector, quimiopreventivo y/o antibacteriano.

Los expertos en la materia apreciarán que las dosificaciones también se pueden determinar con orientación de Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition (1996), Appendix II, pp. 1707-1711.

Ejemplos

35 La invención se ilustrará ahora en los siguientes ejemplos.

Materiales y procedimientos generales

Los espectros de ¹H y ¹³C RMN se registraron en un espectrómetro Oxford de 400 MHz usando TMS como patrón interno y los desplazamientos químicos se reportaron en ppm.

40 La espectrometría de masas por ionización por electroaspersión (ESI-MS) se realizó en un Micromass Platform LCZ conectado al módulo de separaciones Waters 2695 y al detector de conjunto de fotodiodos Water 996. La espectrometría GC-MS se realizó en una serie Agilent 7820A/5975 MSD.

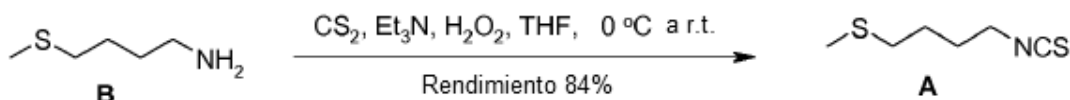
La HPLC se realizó en un módulo HP 1050, columna: Phenomenex Gemini C18, 5 μ, 110 Å, 250 x 4.6 mm. Tiempo de ejecución total: 40 min. MeCN en H₂O + 0.1% de TFA. Flujo: 1.5 ml/min. Detector: 244 nm (VWD).

Se realizó un análisis de Karl Fischer (contenido de H₂O) en un KF coulometer 831 equipado con Ti stand 703.

45 Todas las reacciones se llevaron a cabo en una atmósfera de nitrógeno seco y los rendimientos informados son rendimientos de aislados. Todos los reactivos químicos se compraron de fuentes comerciales y se utilizaron tal como se recibieron.

Preparación de materiales de partida

Preparación de 1-isotiocianato-4-metilbutano (fórmula A)



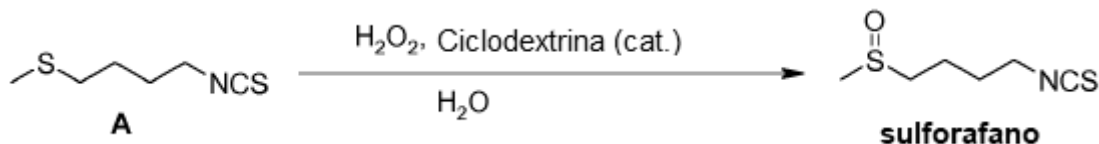
5 Un matraz de fondo redondo de múltiples bocas de 50 l equipado con un agitador superior, una sonda de temperatura y un embudo de adición de 1 l y un flujo positivo de N₂ se enfrió a -10 °C en baño de MeOH/hielo y se cargó con THF (EMD, grado reactivo, 15.0 l). Se adicionaron 1-amino-4-metilbutano (fórmula B; 1.5 kg, 12.6 moles, 1.0 equiv) y trietilamina (1.75 l, 1.0 equiv), y la solución se agitó adicionalmente hasta que se hubo enfriado por debajo de -10 °C. Se
10 adicionó disulfuro de carbono (755 ml, 1.0 equiv.) gota a gota durante 2 horas mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de -3 °C (la temperatura del baño era -20 °C), después de lo cual la solución de color verde amarillenta se calentó a 11 °C. Se adicionó peróxido de hidrógeno (35% ac., 1224 ml, 1.0 equiv.) lentamente durante 2.5 horas mientras se mantenía la temperatura interna entre 11 a 18 °C (la temperatura del baño era 0 °C), lo que produjo una suspensión de color naranja-rojo oscuro con remolinos de partículas amarillas.

15 Tratamiento: después de agitar durante la noche, se controló una alícuota mediante GC (75 °C → 200 a 15 °/min, luego 40 °/min a 300, retención de 2 min: 7.73 min) y luego la mezcla se transfirió a una estación de trabajo de 50 l, usando una manguera equipada con un cabezal de filtro. La mezcla se diluyó con 4.5 l de acetato de etilo, y luego se lavó con HCl al 10% (6 l), agua (6 l) y salmuera (7.5 l). La capa orgánica recogida se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío para producir ~ 2 kg de aceite de color rojo oscuro.

20 Destilación: el aceite de color rojo se transfirió a un matraz de fondo redondo de 2 l (3 lotes) y se conectó al Kugelrohr. El aparato se colocó a alto vacío (~ 40-67 Pa (0.3-0.5 torr)), y el baño de aire se calentó a 85 °C. El precursor (principalmente acetato de etilo y subproducto desconocido de rastreo) se descartó. Después de cambiar el receptor, la temperatura del baño aumentó a 115 °C. Material de color amarillo pálido destilado a 100-110 °C, e inmediatamente congelado al contacto con el baño de hielo seco/acetona. Después de las destilaciones (tres lotes) se obtuvieron 1.7 Kg (84% de rendimiento) de material al 98% de pureza por HPLC y > 99% de pureza por GC.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz); δ 1.7-1.85(m, 4H), 2.2 (s, 3H), 2.55 (t, 2H), 3.56 (t, 2H)

Ejemplo 1 - Preparación del sulforafano (1-isotiocianato-4-metilsulfonilbutano)



25 Se montó un matraz de fondo redondo de múltiples bocas de 5 l equipado con un agitador superior, una sonda de temperatura y un embudo de adición de 500 ml con un flujo positivo de N₂. Se disolvió α-ciclodextrina (30 g, 0.03 moles, 0.01 equivalentes) en 1 l de agua destilada y se desgasificó durante 30 minutos mediante purga con nitrógeno. A la solución anterior se le adicionaron 501 g (3.1 moles, 1 equivalente) de 1-isotiocianato-4-metilbutano (Fórmula A) y se desgasificó de nuevo a 0 °C, durante 30 minutos. A esta mezcla de reacción bifásica se le adicionaron 305 ml de H₂O₂ (3.1 moles, 1 equivalente, 35% ac.) lentamente mientras se mantenía la temperatura entre 0-2 °C [NOTA: el peróxido se dejó caer a una velocidad suficientemente baja para que la temperatura no aumentara por encima de 10 °C]. Una vez
30 que se completó la adición, la mezcla de reacción se agitó a la temperatura del baño de hielo durante aproximadamente 8 horas y luego se dejó lentamente alcanzar la temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró para eliminar los sólidos insolubles de color amarillo claro y luego el filtrado se mantuvo en el refrigerador durante ~ 1 h. En base a la HPLC analítica, el sulforafano en bruto era ~ 95% puro.
35

Este material se usó para la etapa de formación de complejos (Ejemplo 2) sin ningún tratamiento/purificación adicional.

Resumen de tres repeticiones-

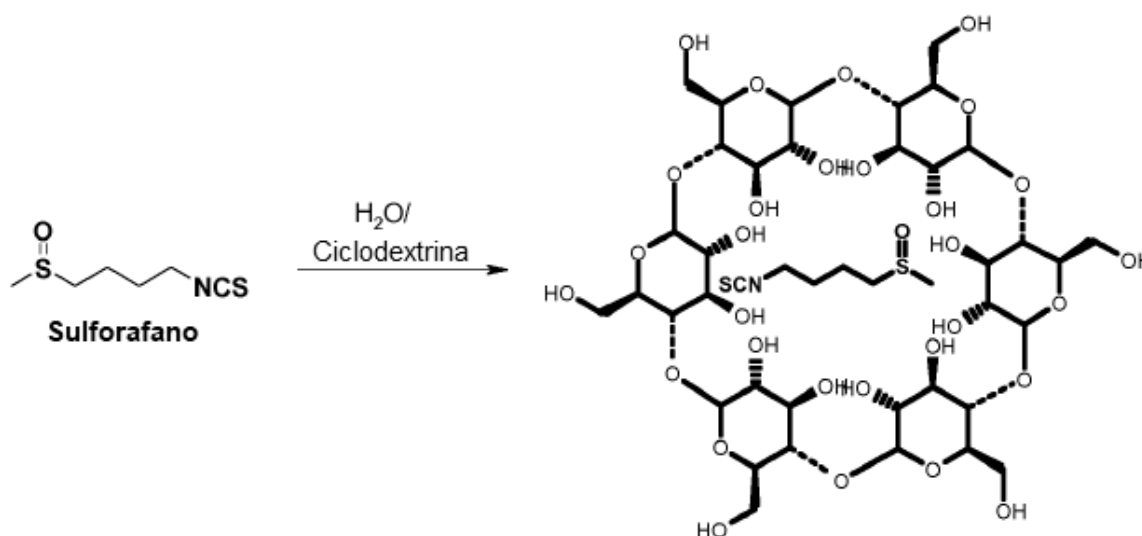
Lote	Tamaño de la reacción	Pureza por HPLC (en bruto)	Observaciones
1	501g	95%	se adicionó H ₂ O ₂ a <2 °C
2	500g	95.6%	se adicionó H ₂ O ₂ a <4 °C
3	500g	95.4%	se adicionó H ₂ O ₂ a <2 °C

Los tres lotes se realizaron a la misma escala de reacción y las reacciones se llevaron a cabo de manera similar en términos de tiempo de reacción y pureza del producto.

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz); δ 1.90 (m, 4H), 2.58 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 3.60 (t, 2H).

5 ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz); δ 130.2, 53.4, 44.5, 38.5, 29.5, 20.1

Ejemplo 2 - Preparación del complejo sulforafano-ciclodextrina



10 Se disolvió α -ciclodextrina (Wacker CAVAMAX W6 grado alimenticio, 3015 g, 3.1 moles, 1 equivalente) en agua destilada (8 l) calentando hasta 55 °C en atmósfera de nitrógeno. La solución homogénea se enfrió a ~ 25 °C, usando un baño de agua con hielo y luego se desgasificó durante -20 min purgando con nitrógeno. Después de la desgasificación, se convirtió en una solución brumosa. La solución acuosa de sulforafano se retiró del refrigerador (véase la etapa anterior) y luego se adicionó a la solución de α -ciclodextrina brumosa anterior de una vez. En esta etapa, la temperatura de reacción era ~18 °C, y se continuó agitando a temperatura ambiente durante la noche (~16 h).

15 La mezcla de reacción heterogénea se enfrió a 1-2 °C, usando un baño de hielo-metanol y se agitó durante 3 horas a esa temperatura. El sólido de color blanco precipitado se filtró y se secó durante la noche a alto vacío a temperatura ambiente cubriendo el embudo de filtración con una lámina de látex. La torta de filtración de color blanco se transfirió a un matraz de evaporador rotatorio de 10 l y se secó adicionalmente a temperatura ambiente bajo alto vacío para proporcionar 2.802 g de complejo (98.7% de pureza por HPLC, 78.5% de rendimiento).

Resumen de tres repeticiones-

Lote	Tamaño de la reacción**	Pureza por HPLC	Rendimiento*
1	550.8g	98.5%	78.5%
2	549.7g	98.6%	76.9%
3	549.7g	98.7%	73.2%

* rendimiento total en las dos últimas etapas, ** basado en la conversión del 100% en la etapa anterior.

20

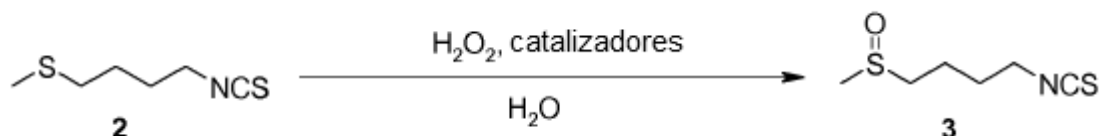
Los tres lotes se llevaron a cabo a casi la misma escala y las reacciones procedieron de manera similar en términos de tiempo de reacción, rendimiento, pureza del producto y carga porcentual de sulforafano en α -ciclodextrina.

^1H RMN (D_2O , 400 MHz); δ 1.99 (br, 4H), 2.73 (s, 3H), 2.98 (br, 2H), 3.60 (m, 12H), 3.70 (br, 2H), 3.92(m, 24H), 5.11 (d, 6H).

^{13}C RMN (D_2O , 100 MHz); δ 130.05, 101.82, 81.40, 74.05, 71.98, 71.84, 60.34, 52.02, 44.94, 37.03, 29.29, 20.08.

5 Ejemplo 3 -Preparación del sulforafano (1-isotiocianato-4-metilsulfenilbutano) con diferentes catalizadores y condiciones de reacción

Procedimiento general:



10 Se montó un matraz de fondo redondo de múltiples bocas equipado con un agitador superior, una sonda de temperatura y un embudo de adición con un flujo positivo de N_2 . Se disolvió catalizador ácido (0.001 a 0.01 equivalentes) en solvente (agua, acetonitrilo, acetona, etc.) y se desgasificó durante 30 minutos mediante purga con nitrógeno. A la solución anterior se le adicionó 1 equivalente de material de partida de tioéter (2) y se desgasificó de nuevo a 0-5 °C durante 30 minutos. A esta mezcla de reacción bifásica se le adicionó 1 equivalente de agente oxidante (H_2O_2 , m-CBPA, etc.) lentamente mientras se mantenía la temperatura entre 0-10 °C. Una vez que se completó la adición, la mezcla de reacción se agitó a la temperatura del baño de hielo durante aproximadamente 8-24 horas y luego se dejó lentamente alcanzar la temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró para eliminar los sólidos insolubles y luego el filtrado se mantuvo en el refrigerador o se usó inmediatamente en la siguiente etapa. En base a la HPLC analítica, el sulforafano en bruto era $\geq 95\%$ puro. Este material se usó para la etapa de formación de complejos sin ninguna purificación adicional.

20 La oxidación del compuesto 2 en sulforafano en diversos solventes y/o en presencia de diferentes catalizadores/ácidos se muestra en la tabla a continuación, junto con las condiciones de reacción.

Condiciones de reacción	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, Acetona, 0°C a RT	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, Acetonitrilo 0°C a RT	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, 0.1eq α -CD 0°C a RT	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, 0.01eq α -CD, 0°C a RT	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, 1.0eq α -CD, 0°C a RT	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ 0.05eq AcOH 0°C a RT	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ 0.1% de Tierra de Fuller
Pureza por HPLC	95.6% (3.1% SM)	96.8% (0.7%SM)	96% (1% SM)	98% (0.5% SM)	77% (21%SM)	98.8% (0.06%SM)	98% (0.06%SM)
Rendimiento	No aislado	No aislado	No aislado	82% *	No aislado	No aislado	No aislado
Pureza final	---	---	---	98%	---	---	---

* Rendimiento aislado.

En base a los resultados anteriores, todos los catalizadores enumerados produjeron resultados similares, pero se prefiere la ciclodextrina ya que se usa en la siguiente etapa de formación de complejos para estabilizar el sulforafano.

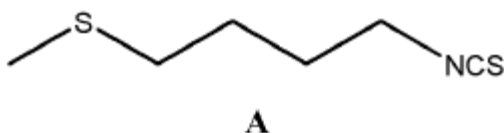
Solo se detectaron las trazas de la impureza de sulfonilo (Erysolin) por HPLC.

25

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de un complejo de sulforafano y ciclodextrina o un complejo de sulforafano y un derivado de hidroxialquil ciclodextrina, comprendiendo el procedimiento:

(i) hacer reaccionar, en un solvente acuoso, un compuesto de fórmula A:



5

con un agente oxidante y en presencia de un catalizador para formar sulforafano; y

(ii) mezclar el sulforafano de la etapa (i) con ciclodextrina o un derivado de hidroxialquil ciclodextrina en un solvente acuoso para formar un precipitado del complejo sulforafano-ciclodextrina o el complejo derivado de sulforafano-hidroxialquil ciclodextrina;

10 en el que el solvente acuoso es agua y el catalizador se selecciona de una ciclodextrina, un derivado de hidroxialquil ciclodextrina, tierra de Fuller, y ácidos orgánicos o inorgánicos y en el que el agente oxidante es peróxido de hidrógeno o un perácido orgánico miscible o soluble en agua, o una mezcla de los mismos

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agente oxidante es peróxido de hidrógeno.

15 3. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el catalizador se selecciona de ciclodextrina y ácidos orgánicos o inorgánicos, tales como ácido ascórbico, ácido fórmico, ácido acético y/o ácido sulfúrico.

4. Un procedimiento según la reivindicación 3, en el que el catalizador es una ciclodextrina.

5. Un procedimiento según la reivindicación 4, en el que el catalizador es alfa-ciclodextrina.

20 6. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que están presentes 0.0001 a 1.0 equivalentes molares de catalizador (con relación al compuesto de fórmula A).

7. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa (i) la temperatura de la reacción se mantiene a una temperatura de 25°C o menos o 15°C o menos cuando el agente oxidante se adiciona a la mezcla de reacción.

25 8. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la ciclodextrina usada en la etapa (ii) se selecciona de una o más de W6 (alfa) ciclodextrina (una molécula de anillo de seis azúcares), W7 (beta) ciclodextrina (una molécula de anillo de siete azúcares), W8 (gamma) ciclodextrina (una molécula de anillo de ocho azúcares), derivados de hidroxialquilo de los mismos y mezclas de los mismos.

9. Un procedimiento según la reivindicación 8, en el que la ciclodextrina usada en la etapa (ii) es alfa-ciclodextrina.

30 10. Un procedimiento según la reivindicación 9, en el que la mezcla se enfría a una temperatura dentro del intervalo de -8 °C a 10 °C.

11. Un procedimiento según la reivindicación 9, en el que la mezcla se enfría a una temperatura dentro del intervalo de -5 °C a 4 °C.

12. Un procedimiento según la reivindicación 9, en el que la relación molar de sulforafano a ciclodextrina en el complejo resultante está dentro del intervalo de 0.4:1 a 1:1.

35 13. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el proceso comprende una etapa adicional de recristalización del complejo resultante.