(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 686 882**

(51) Int. Cl.:

***C07C 319/28*** (2006.01)
***C07C 323/44*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2015** **PCT/EP2015/056658**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2015** **WO15144857**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2015** **E 15713860 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018** **EP 3122722**

(54) Título: **Forma amorfa de un derivado de tiocolchicina**

(30) Prioridad:

**27.03.2014 EP 14161945**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**22.10.2018**

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

**CABRI, WALTER;**
**PETERLONGO, FEDERICO;**
**CICERI, DANIELE y**
**GAMBINI, ANDREA**

(74) Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 686 882 T3**

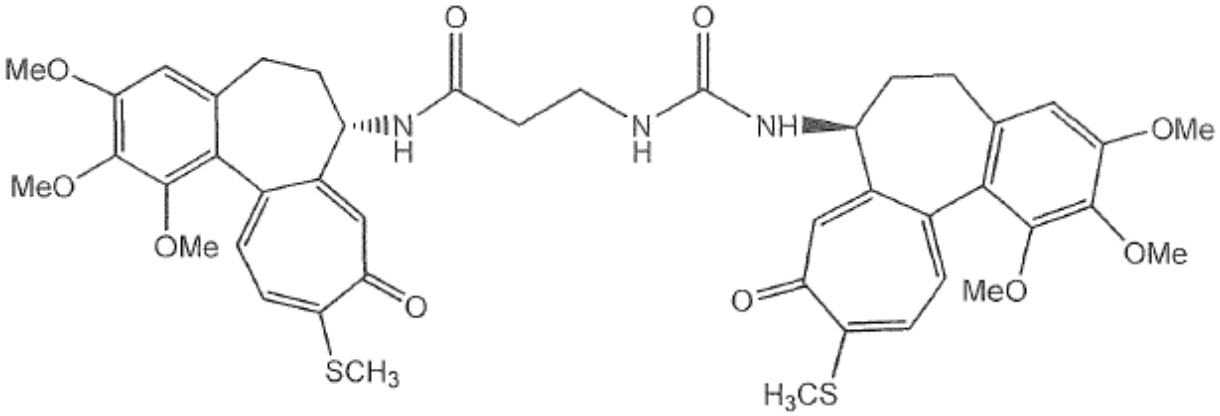
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Forma amorfa de un derivado de tiocolchicina

La presente invención se refiere a una forma amorfa de un derivado de tiocolchicina, IDN 5404, un procedimiento para su preparación y composiciones farmacéuticas de los mismos.

El IDN 5404 que tiene la siguiente fórmula (I) es un derivado N-desacetiltiocolchicinoide:

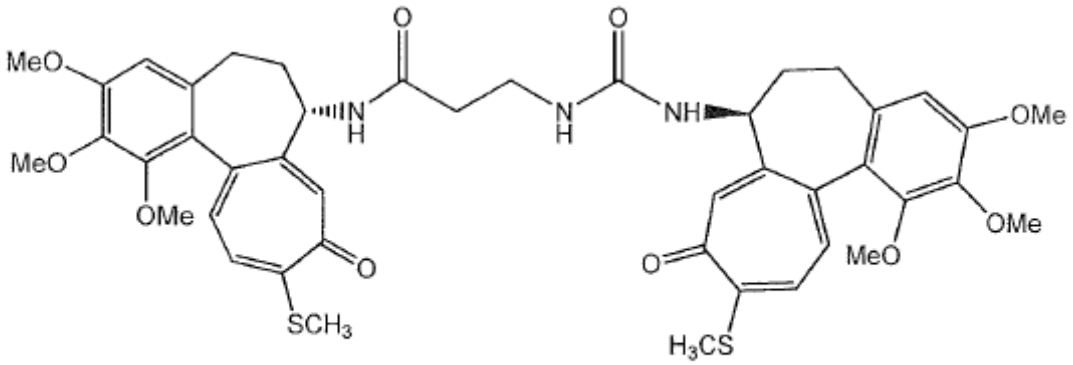



El IDN 5404 actúa como un agente de disrupción vascular, que es una clase de compuestos capaces de causar un rápido colapso y necrosis de las estructuras vasculares. Como las células endoteliales de los tumores son inmaduras, son mucho más sensibles a los efectos de los agentes disruptores vasculares que las células endoteliales del tejido normal. IDN 5404 es útil en el tratamiento de tumores sólidos, especialmente si se combina con otros agentes citotóxicos.

El IDN 5404 se describe en el documento EP 1263719. De acuerdo con el procedimiento informado en el ejemplo 2 del documento EP 1263719, el producto (Tiocol 54) se cristaliza primero en EtOAc (como solvato de EtOAc), luego se purifica por cromatografía en columna (eluyente: Acetato de etilo/hexano o alternativamente CH2Cl2/EtOH). La patente no informa la forma en que el producto finalmente se recupera de la solución y la forma del producto final. Habitualmente, los productos sometidos a purificación por cromatografía en columna se recuperan simplemente evaporando el solvente hasta la sequedad. En general, los materiales amorfos se producen mediante este procedimiento. Debido a la alta insolubilidad y tendencia a cocristalizarse con los solventes de IDN 5404, tras la concentración de los dos sistemas de elución informados, se obtuvo IDN 5404 ya sea como solvato de EtOAc o como solvato de EtOH en una forma cristalina.

La forma cristalina obtenida mediante este procedimiento puede contener residuos de solventes tóxicos usados durante el procedimiento de síntesis, tales como diclorometano y hexano, y tiene una solubilidad muy baja.

El objeto de la presente invención es un compuesto amorfo de fórmula (I):




(I)

que tiene el patrón XRPD mostrado en la figura 1.

El compuesto amorfo como se definió anteriormente caracterizado además por al menos una de las siguientes características:

- Perfil de DSC caracterizado por una transición vítrea que comienza a 186,9 °C y termina a 194,5 °C registrado con una velocidad de calentamiento lineal de 10 °C/min;

- Perfil TG/DTA caracterizado por una señal endotérmica entre 185,4 °C y 195,4 °C registrada con una velocidad de calentamiento lineal de 10 °C/min.

El compuesto amorfo de la presente invención se puede obtener mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

(a) disolver el compuesto en bruto de fórmula (I) en DMSO;

(b) eliminar los posibles solventes residuales procedentes del procedimiento de síntesis calentando la solución a 65 °C al vacío;

(c) precipitar el compuesto amorfo de fórmula (I) añadiendo gota a gota la solución obtenida en la etapa b) a agua a 20-25 °C bajo agitación.

En la etapa a) de 1l a 8l de DMSO se usan preferiblemente para 1Kg de IDN 5404.

En la etapa c) se usan preferiblemente de 8l a 64l de agua para 1Kg de IDN 5404.

El compuesto amorfo de fórmula (I) como se definió anteriormente es más soluble en agua que otras formas cristalinas y es química y físicamente estable. Estas propiedades permiten preparar formas sólidas que contienen el compuesto según la invención.

Además, el compuesto obtenido mediante el procedimiento descrito anteriormente está desprovisto de cualquier solvente tóxico usado durante el procedimiento de síntesis tal como diclorometano y hexano.

El único solvente residual presente en el material amorfo es DMSO que es un solvente de clase 3 (baja toxicidad).

La forma amorfa definida anteriormente no es una forma solvatada de modo diferente a las formas cristalinas identificadas por cribado polimórfico que son todas formas solvatadas.

La forma amorfa de IDN 5404 tiene propiedades ventajosas en la preparación de composiciones farmacéuticas tales como mayor solubilidad, biodisponibilidad mejorada, facilidad de procesamiento químico y/o facilidad de formulación farmacéutica.

Otro objeto de la presente invención es, por lo tanto, una composición farmacéutica que comprende el compuesto amorfo de fórmula (I) como se definió anteriormente y un diluyente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

El diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable se selecciona con respecto a la vía de administración deseada y la práctica farmacéutica estándar. Las formulaciones farmacéuticas de la invención se administran preferiblemente por vía oral o parenteral.

El término "parenteral" como se usa en este documento, incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, inyección intramuscular o técnicas de infusión.

La forma amorfa de la presente invención se puede formular en formas de dosificación convencionales tales como, por ejemplo, comprimidos, píldoras, suspensiones, emulsiones, gránulos, cápsulas y preparaciones de inyección.

Las formas de dosificación preferidas para los compuestos de la invención son preparaciones inyectables. El compuesto de fórmula (I) como se definió anteriormente se puede usar, solo o en combinación con un agente citotóxico para el tratamiento de tumores sólidos.

**Ejemplo 1**

Se disolvió IDN 5404 en bruto (1 kg) en DMSO (8 l). La solución se calentó a 65 ºC y se mantuvo al vacío durante 2 horas para eliminar completamente los solventes procedentes del procedimiento de síntesis. La solución se añadió gota a gota a agua (64 l) a 20-25 °C bajo agitación, produciendo la precipitación de IDN 5404 como un sólido amorfo. El material resultante se filtró y se secó al vacío para proporcionar un rendimiento cuantitativo de IDN 5404.

Caracterización de la forma amorfa:

Difracción de rayos X en polvo (X-RPD)

Se registró el patrón de X-RPD en un difractómetro Bruker D2-Phaser. El generador de rayos X se hizo funcionar a 30 kV y 10 mA, usando la línea CuK$\alpha$ como fuente de radiación. La muestra se empaquetó en una hendidura apropiada y la longitud irradiada fue de 10 mm. Los datos se recogieron entre 2 y 50 grados 2-theta con un tamaño de paso de 0,02 grados 2-theta y un tiempo de conteo por paso de 3 segundos. El patrón de difracción de rayos X en polvo de amorfo (figura 1) muestra la ausencia de picos de difracción y un amplio ruido típico de una muestra amorfa.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis se realizó usando un sistema Mettler DSC1. El flujo de calor se registró de 30 a 300 °C con velocidad de calentamiento lineal (10 °C/min) bajo un flujo de nitrógeno de 50 ml/min. Se usaron aproximadamente 5 mg de polvo para la medición, en un crisol de aluminio cerrado (volumen de 40 $\mu$l) con un orificio.

El perfil de DSC (figura 2) se caracteriza por una señal endotérmica amplia con un máximo a aproximadamente 100 °C debido a la liberación de humedad, y una transición vítrea que comienza a 186,9 °C y termina a 194,5 °C.

Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR)

El espectro de infrarrojos se registró en el modo de reflectancia total atenuada (ATR) usando el espectrómetro de transformada de Fourier Perkin Elmer Spectrum One, equipado con el accesorio Specac ATR Golden Gate. El espectro es el resultado de la adquisición y transformación de 16 exploraciones coañadidas en la región espectral de 4000-550 $cm^{-1}$ a una re.

El espectro FTIR-ATR se muestra en la figura 3 (el rango espectral de 4000-550 $cm^{-1}$). Muestra las frecuencias de absorción en 3286, 2936, 2836, 1669, 1606, 1535, 1484, 1403, 1347, 1320, 1283, 1235, 1194, 1135, 1093, 1019, 983, 922, 841, 795, 777, 575 $cm^{-1}$ ± 2 $cm^{-1}$.

Termogravimetría (TG) y Análisis térmico diferencial (DTA)

El análisis se realizó usando un sistema simultáneo Seiko TG/DTA7200 usando bandejas de aluminio abiertas (volumen de 40 $\mu$l). Las señales TG/DT se registraron de 30 a 300 °C con velocidad de calentamiento lineal (10 °C/min) bajo un flujo de nitrógeno de 200 ml/min. Se usaron aproximadamente 10 mg de polvo para la medición.

El perfil TG/DTA (figura 4) se caracteriza por un amplio pico endotérmico con un máximo a aproximadamente 60 °C debido a la liberación de humedad residual (pérdida de peso a 100 °C = 1,55 %), y una señal endotérmica entre 185,4 °C y 195,4 °C atribuible a una transición vítrea, seguida inmediatamente por una degradación exotérmica.

**Ejemplo 2 (comparativo)**

El IDN 5404 en bruto (500 mg) se purificó por cromatografía instantánea usando como eluyente AcOEt-Hexano 7: 3. Las fracciones que contienen IDN 5404 se combinaron y el solvente se eliminó hasta sequedad. Se obtuvo IDN 5404 (310 mg) como un sólido de color amarillo cristalino con las siguientes características.

El producto se analizó mediante GC para determinar los solventes orgánicos residuales: el contenido de AcOEt es 11,1 % (22 ppm de hexano), luego se supuso que el producto podría ser un solvato de AcOEt.

El análisis de TG/DTA y XRPD se realizó en las mismas condiciones que en el ejemplo 1.

El perfil TG/DTA de IDN5404 (solvato AcOEt) se representa en la figura 5.

El análisis muestra un perfil de DT caracterizado por dos picos endotérmicos intensos y no resueltos por completo, con un inicio a aproximadamente 208 ºC y dos máximos respectivamente a 221,3 ºC y 231,2 ºC.

Estos picos, atribuibles a la liberación del solvente de cristalización seguido de fusión, están asociados a una pérdida de peso del 5,94 % de 200 °C a 240 °C.

El perfil de TG muestra también una pérdida progresiva de peso de aproximadamente 3,1 % de 30 a 200 ºC, seguida de una fuerte pérdida de peso en coincidencia del primer pico endotérmico.

La pérdida total de peso de 30 °C a 240 °C es del 9,0 %.

El difractograma de XRPD de IDN5404 (solvato de AcOEt) se representa en la figura 6.

El difractograma se caracteriza por picos de difracción intensos y un perfil de pico agudo que indica alta cristalinidad; el patrón XRPD muestra reflejos distintivos, expresados como valores de grados 2-theta, en: 5,6 - 10,2 - 10,5 - 11,1 - 13,3 - 14,4 - 14,7 - 17,5 - 17,9 - 18,5 - 18,9 - 19,4 - 20,0 - 20,8 - 21,6 - 22,2 - 22,4 - 22,6 - 23,4 - 25,2 - 25,5 -25,9 - 26,7 - 27,8 - 28,5 - 29,1 - 29,7 - 30,8 - 31,2 - 32,1.

**Ejemplo 3 (comparativo)**

El IDN 5404 en bruto (500 mg) se purificó por cromatografía instantánea usando como eluyente CH2Cl2-EtOH 95: 5. Las fracciones que contienen IDN 5404 se combinaron y el solvente se eliminó hasta sequedad. Se obtuvo IDN 5404 (315 mg) como un sólido de color amarillo cristalino con las siguientes características:

El producto se analizó mediante GC para determinar los solventes orgánicos residuales: el contenido de EtOH es del 10,7 % (269 ppm de CH2Cl2), luego se supuso que el producto podría ser un solvato de EtOH.

El análisis de TG/DTA y XRPD se realizó en las mismas condiciones que en el ejemplo 1.

El perfil TG/DTA de IDN5404 (solvato de EtOH) se representa en la figura 7.

El análisis muestra un perfil DT caracterizado por un pico endotérmico que comienza a aproximadamente 198 °C y máximo a 210,6 °C.

Este pico, atribuible a la fusión con la liberación del solvente de cristalización, está asociado a una pérdida de peso del 5,34 % desde 195 °C a 230 °C.

El perfil TG muestra también una pérdida progresiva de peso de aproximadamente 6,7 % desde 30 a 195 ºC.

La pérdida total de peso desde 30 °C a 230 °C es del 12,1 %.

El difractograma de XRPD de IDN5404 (solvato de EtOH) se representa en la figura 8.

El difractograma se caracteriza por picos de difracción intensos y un perfil de pico agudo que indica alta cristalinidad; el patrón XRPD muestra reflejos distintivos, expresados como valores de grados 2-theta, en: 6,3 - 10,4 - 10,6 - 11,2 - 12,5 - 13,3 - 14,4 - 14,8 - 16,9 - 17,8 - 18,8 - 19,3 - 19,7 - 20,3 - 20,9 - 21,8 - 22,5 - 23,0 - 23,3 - 24,9 - 25,5 - 26,0 - 27,1 - 27,9 - 28,9 - 29,4 - 29,7 - 32,2.

Datos de estabilidad

Se ha encontrado que la forma amorfa del compuesto (I) es químicamente estable a 25 ± 2 °C/60 ± 5 % de humedad relativa durante al menos tres años y a 40 ± 2 °C/75 ± 5 % de humedad relativa durante al menos 6 meses, ya que ninguna impureza se ha desviado de su valor inicial To. Los análisis se realizaron por HPLC.

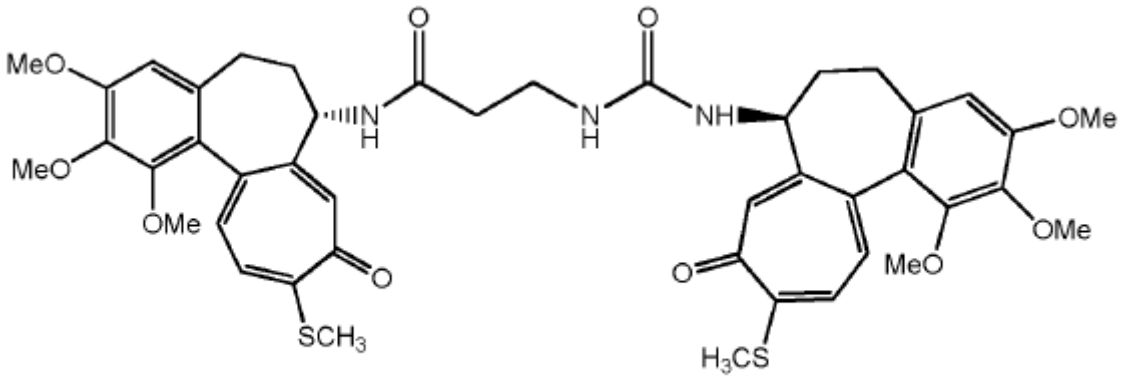
La forma amorfa del compuesto (I) también se ha encontrado físicamente estable a 25 ± 2 °C/60 ± 5 % de humedad relativa durante al menos tres años y a 40 ± 2 °C/75 ± 5 de humedad relativa durante al menos 6 meses, ya que mantuvo los rasgos característicos reportados en la figura 1-4.

El IDN 5404 cristalino obtenido en el ejemplo 2 muestra una variación en la composición química del 7 % después de un mes a 40 ± 2 °C/75 ± 5 % de humedad relativa.

El IDN 5404 cristalino obtenido en el ejemplo 3 muestra una variación en la composición química del 4,1 % después de un mes a 40 ± 2 °C/75 ± 5 % de humedad relativa.

**REIVINDICACIONES**

1. Compuesto amorfo de fórmula (I):




(I)

que tiene el patrón XRPD mostrado en la figura 1.

2. El compuesto amorfo según la reivindicación 1, que tiene un perfil de DSC **caracterizado por** una transición vítrea que comienza a 186,9 ºC y termina a 194,5 ºC registrado con una velocidad de calentamiento lineal de 10 ºC/min.

3. El compuesto amorfo según la reivindicación 1, que tiene un perfil TG/DTA **caracterizado por** una señal endotérmica entre 185,4 °C y 195,4 °C registrada con una velocidad de calentamiento lineal de 10 °C/min.

4. Un procedimiento de preparación del compuesto amorfo de fórmula (I), como se define en la reivindicación 1, que comprende las etapas de:

(a) disolver el compuesto en bruto de fórmula (I) en DMSO;

(b) eliminar los posibles solventes residuales procedentes del procedimiento de síntesis calentando la solución a 65 °C al vacío;

(c) precipitar el compuesto amorfo de fórmula (I) añadiendo gota a gota la solución obtenida en la etapa b) a agua a 20-25 °C.

5. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto amorfo de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

6. La composición farmacéutica según la reivindicación 5, para administración parenteral u oral.

7. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en forma de preparación inyectable.

8. El compuesto amorfo de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para su uso en el tratamiento de tumores sólidos.

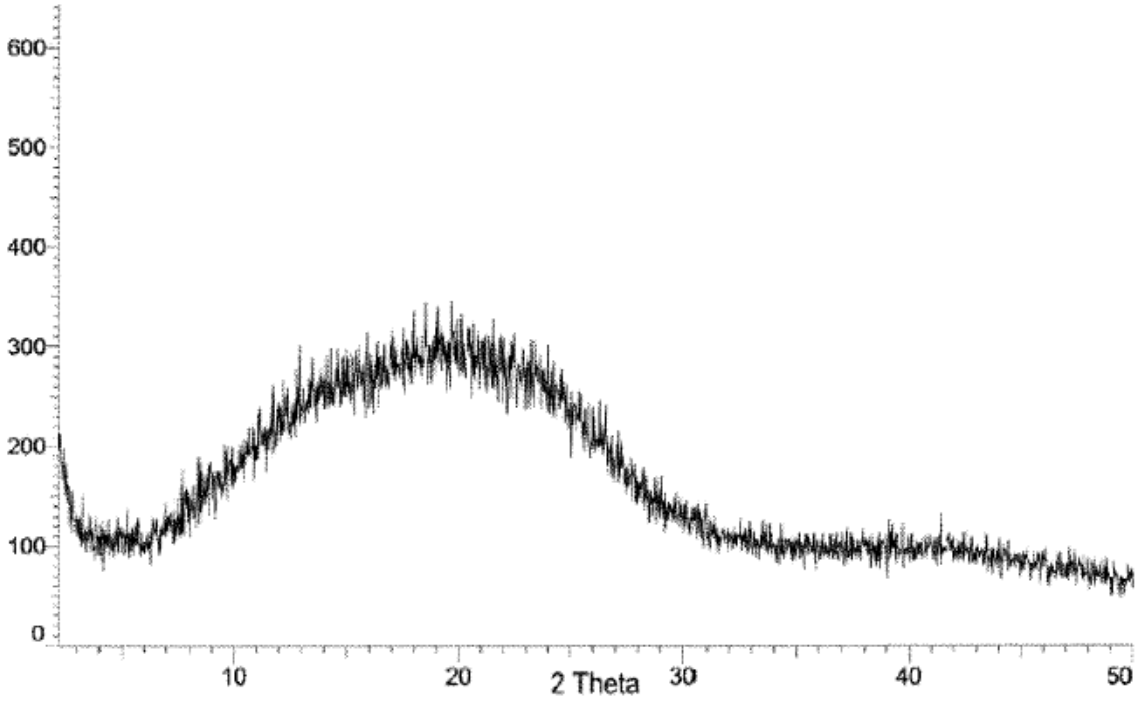



FIG. 1

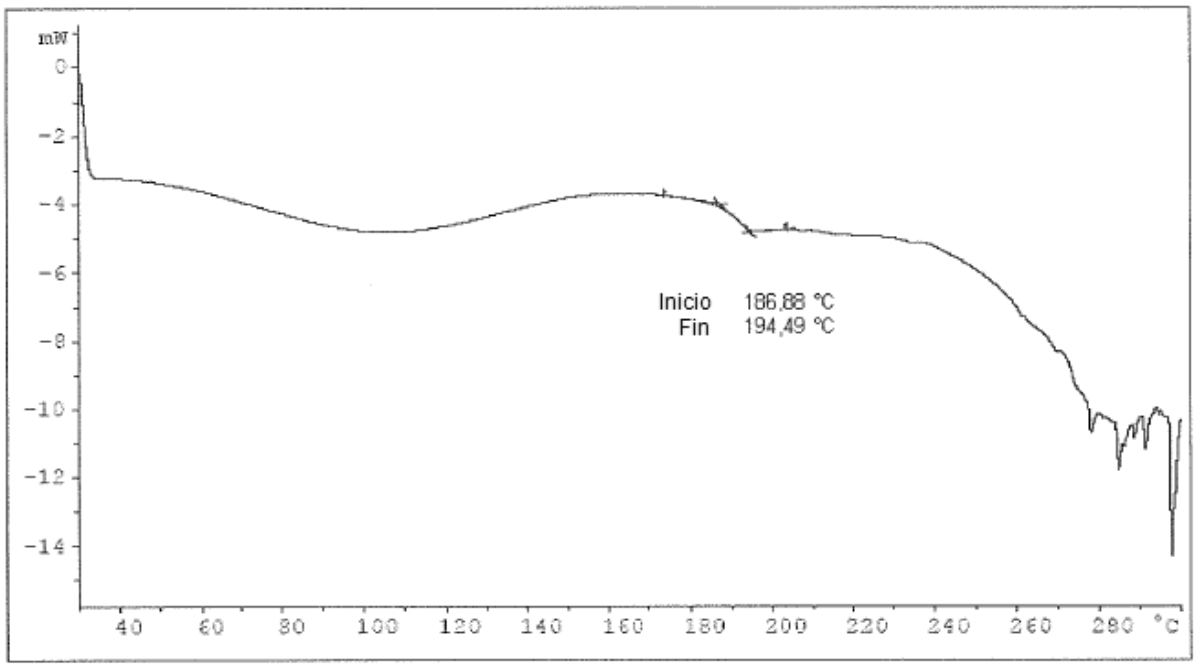

mW
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
Inicio 186,88 °C
Fin 194,49 °C
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
°C

FIG. 2

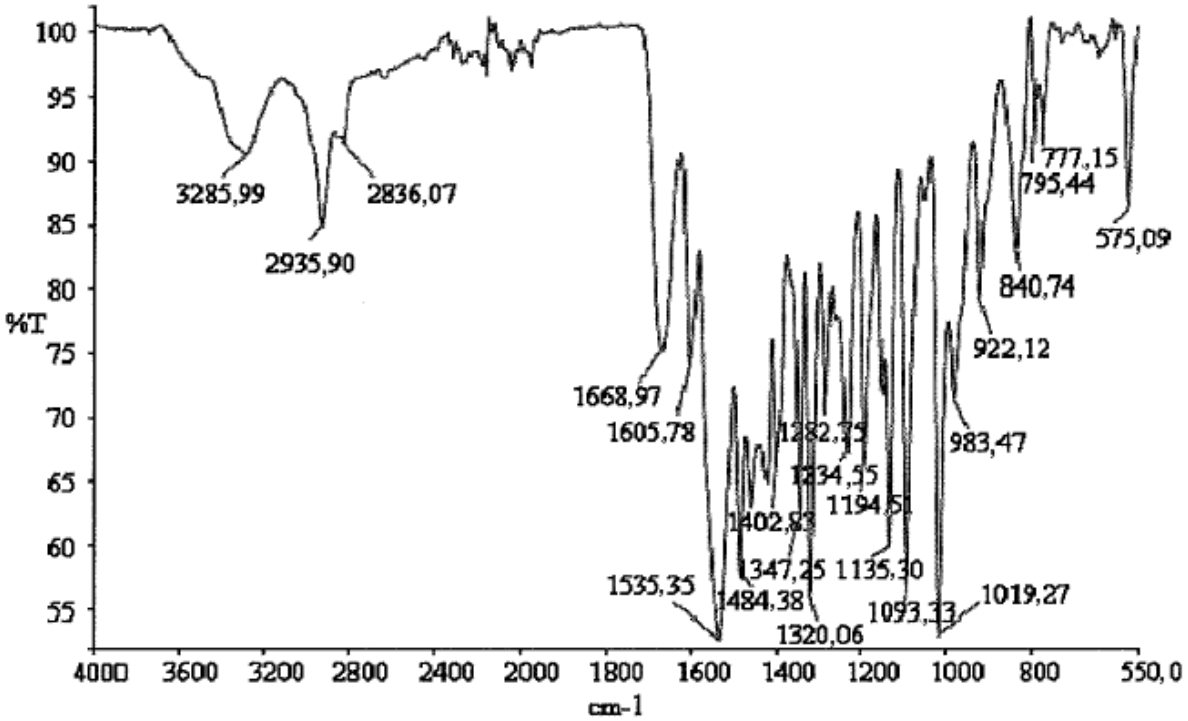

100
95
90
85
80
%T
75
70
65
60
55
3285,99
2935,90
2836,07
1668,97
1605,78
1535,35
1484,38
1402,83
1347,25
1320,06
1282,75
1234,55
1194,51
1135,30
1093,33
1019,27
983,47
922,12
840,74
795,44
777,15
575,09
4000
3600
3200
2800
2400
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
550,0
cm-1

FIG. 3

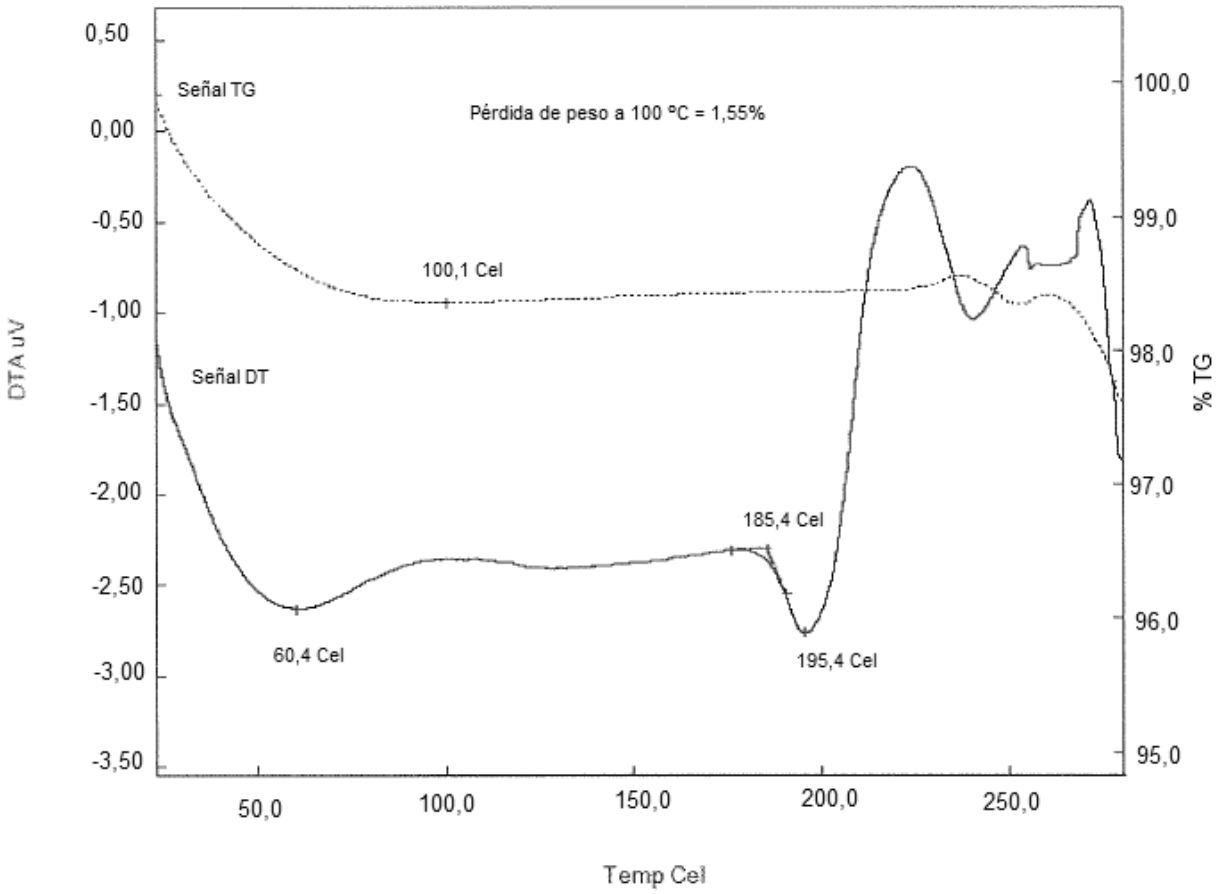

0,50
0,00
-0,50
-1,00
-1,50
-2,00
-2,50
-3,00
-3,50
DTA uV
Señal TG
Pérdida de peso a 100 °C = 1,55%
100,1 Cel
Señal DT
185,4 Cel
60,4 Cel
195,4 Cel
100,0
99,0
98,0
97,0
96,0
95,0
% TG
50,0
100,0
150,0
200,0
250,0
Temp Cel

FIG. 4

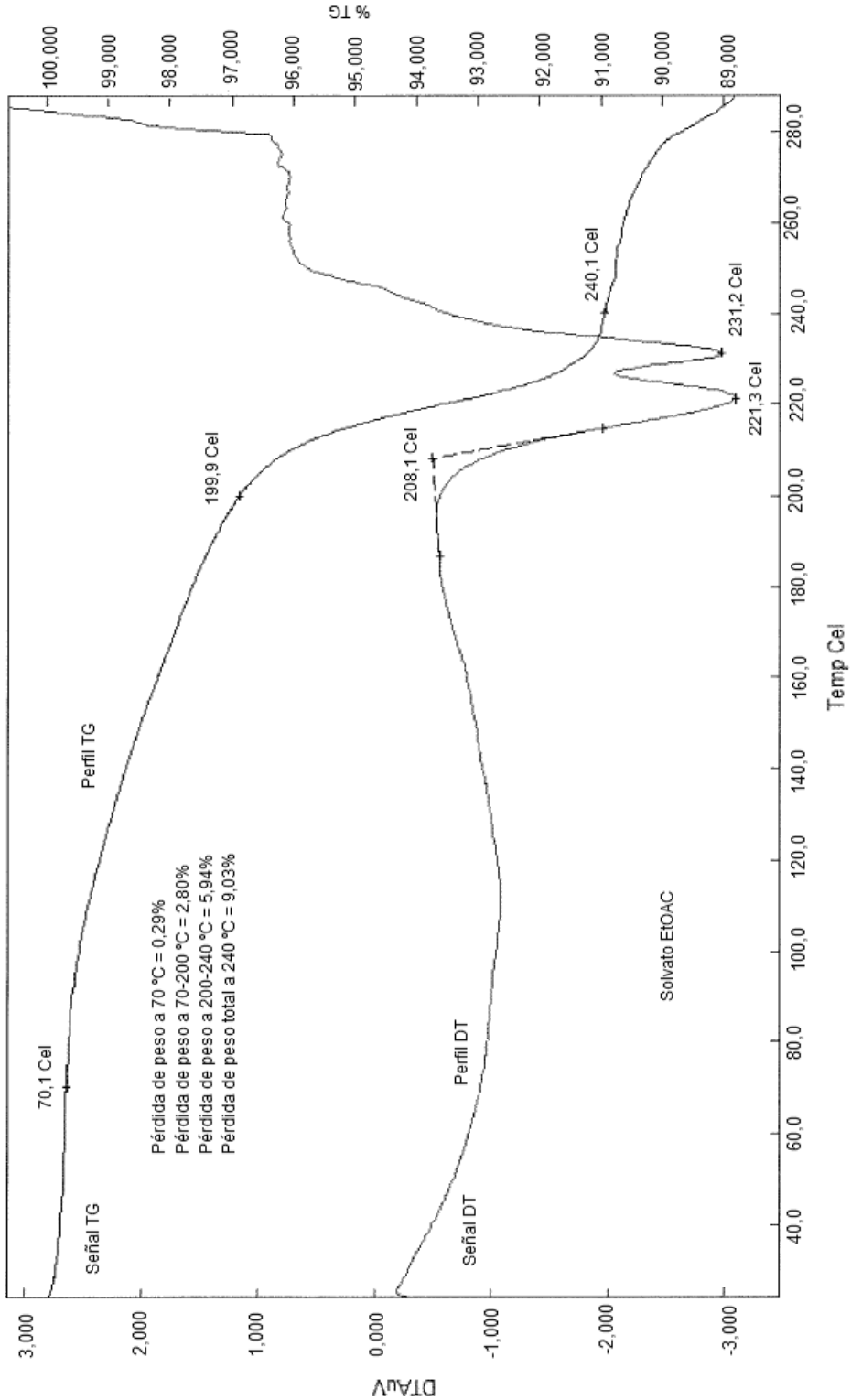

% TG
100,000
99,000
98,000
97,000
96,000
95,000
94,000
93,000
92,000
91,000
90,000
89,000
DTA uV
3,000
2,000
1,000
0,000
-1,000
-2,000
-3,000
Temp Cel
40,0
60,0
80,0
100,0
120,0
140,0
160,0
180,0
200,0
220,0
240,0
260,0
280,0
Señal TG
Perfil TG
70,1 Cel
199,9 Cel
Pérdida de peso a 70 ºC = 0,29%
Pérdida de peso a 70-200 ºC = 2,80%
Pérdida de peso a 200-240 ºC = 5,94%
Pérdida de peso total a 240 ºC = 9,03%
Señal DT
Perfil DT
208,1 Cel
Solvato EtOAC
221,3 Cel
231,2 Cel
240,1 Cel

FIG. 5

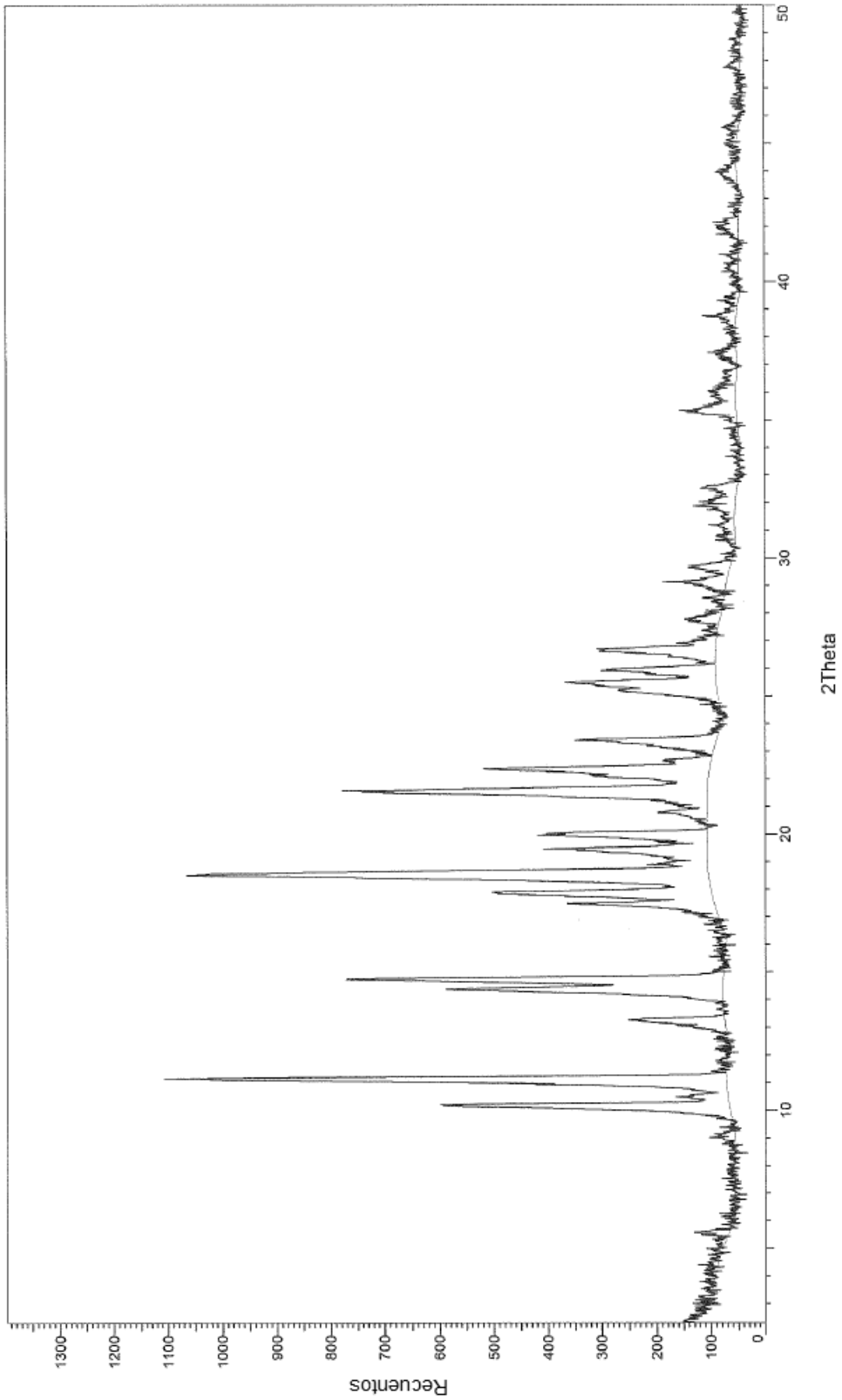

Recuentos
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
10
20
30
40
50
2Theta

FIG. 6

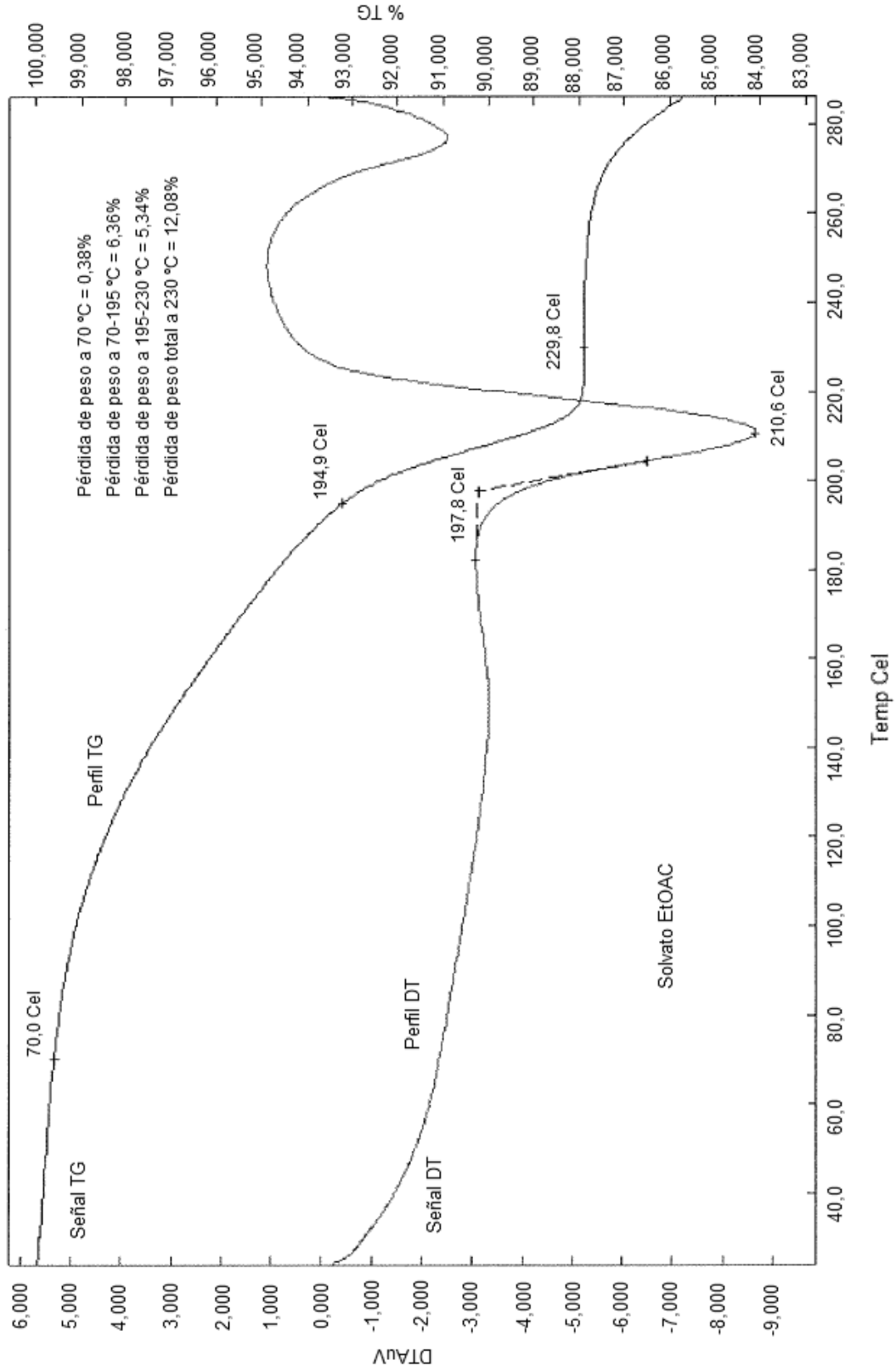

% TG
100,000
99,000
98,000
97,000
96,000
95,000
94,000
93,000
92,000
91,000
90,000
89,000
88,000
87,000
86,000
85,000
84,000
83,000
Pérdida de peso a 70 °C = 0,38%
Pérdida de peso a 70-195 °C = 6,36%
Pérdida de peso a 195-230 °C = 5,34%
Pérdida de peso total a 230 °C = 12,08%
229,8 Cel
210,6 Cel
194,9 Cel
197,8 Cel
Perfil TG
70,0 Cel
Señal TG
Perfil DT
Señal DT
Solvato EtOAC
DTA uV
6,000
5,000
4,000
3,000
2,000
1,000
0,000
-1,000
-2,000
-3,000
-4,000
-5,000
-6,000
-7,000
-8,000
-9,000
40,0
60,0
80,0
100,0
120,0
140,0
160,0
180,0
200,0
220,0
240,0
260,0
280,0
Temp Cel

FIG. 7

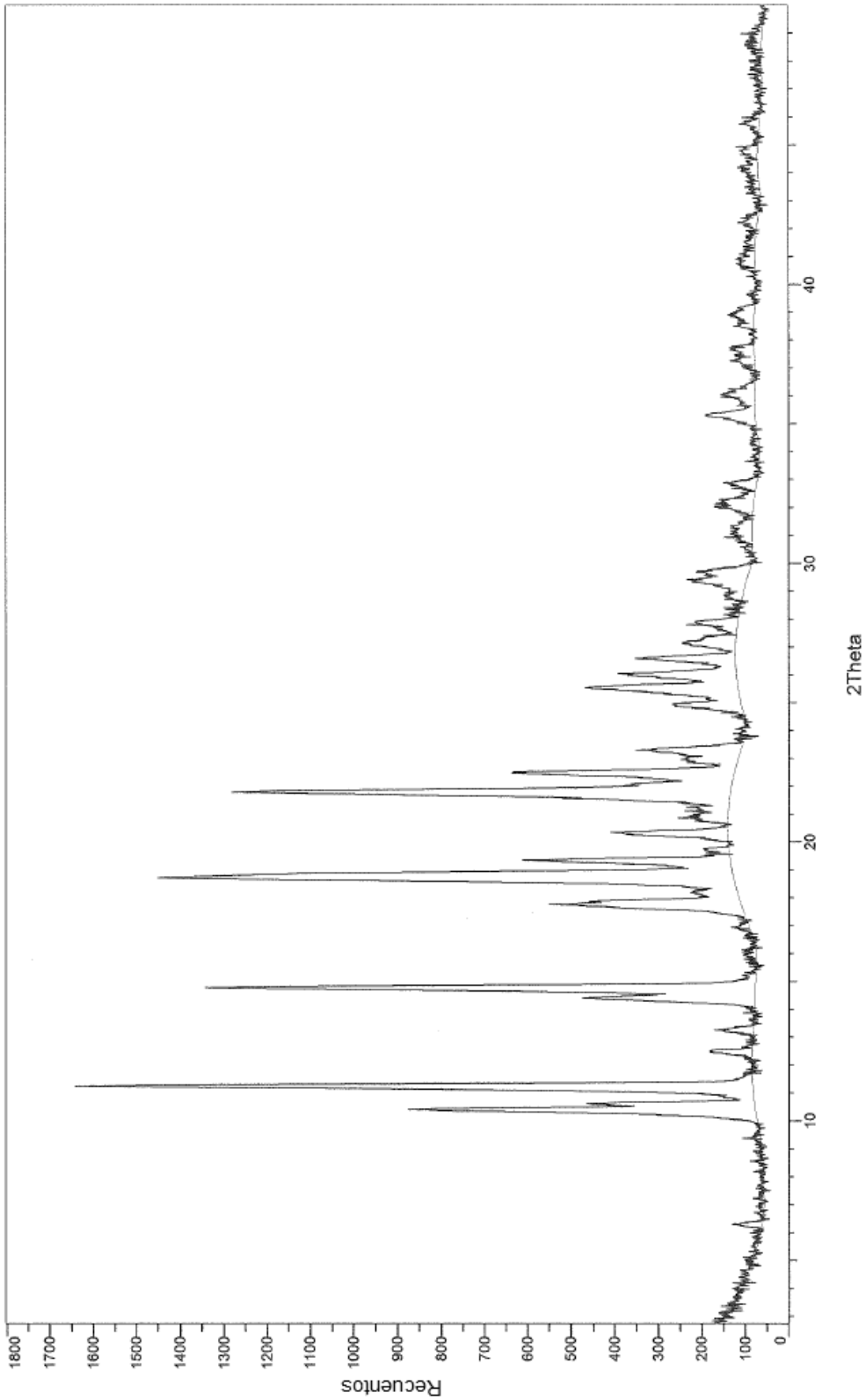

Recuentos
1800
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
10
20
30
40
2Theta

FIG. 8