(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 607 890**

(51) Int. CI.:

C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.08.2013 PCT/IB2013/056497**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **13.02.2014 WO14024164**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.08.2013 E 13777144 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2882753**

(54) Título: **Proceso para la preparación de pemetrexed y de sal de lisina del mismo**

(30) Prioridad:

08.08.2012 IT RM20120398

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.04.2017

(73) Titular/es:

BERLIN-CHEMIE AG (100.0%)
Glienicker Weg 125-127
12489 Berlin, DE

(72) Inventor/es:

BONACCORSI, FABRIZIO;
CALVANI, FEDERICO y
PASQUI, FRANCO

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

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

Proceso para la preparación de pemetrexed y de sal de lisina del mismo

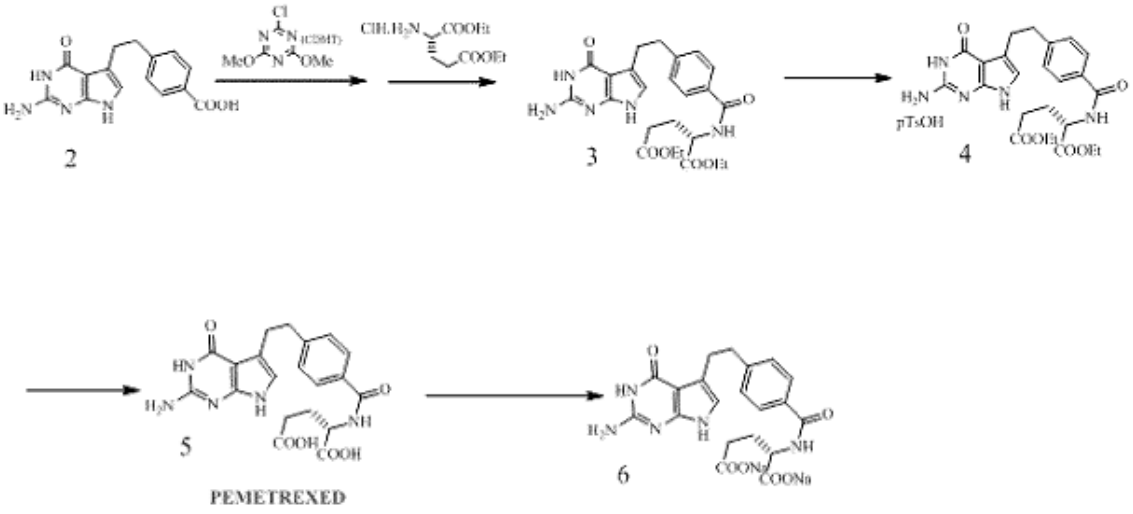
La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de pemetrexed y de sales del mismo, en particular una sal de lisina del mismo, a dicha sal como tal y a composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos.

Antecedentes de la invención

El pemetrexed normalmente se usa en preparaciones farmacéuticas en forma de sal disódica, de forma específica, la sal de heptahidrato disódico es el producto comercializado por Eli Lilly y Company con la marca comercial ALIMTA® y se describe en el documento EP1259513.

El pemetrexed se describió originalmente en el documento EP432677/US5344932. La síntesis que se muestra en la presente patente proporciona el 2-amino-7H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-4-ol como un a material de partida, el grupo amino de este derivado está protegido con cloruro de pivaloílo y el producto obtenido se transforma en dos etapas en el correspondiente derivado de 3-yodo. La reacción de acoplamiento posterior con N-(4-etinilbenzoil)-L-glutamato de dimetilo, proporciona un derivado biarilacetilénico que se convierte en pemetrexed por hidrogenación catalítica y posterior saponificación. Sin embargo, este procedimiento no es adecuado para su aplicación industrial.

El diácido de pemetrexed también se puede obtener siguiendo otros procedimientos de síntesis más recientes, entre estos los informados en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 5,416,211, en el documento EP 9916742 y en el documento 905128/WO CJ Barnett *et al.,* Org. Proc Res & Develop., 1999, 3, 184-188, usando síntesis industriales que requieren la preparación del compuesto intermedio de éster de dietilo de pemetrexed 3 (Esquema I):



Esquema I

En las referencias citadas, el éster de dietilo de pemetrexed 4 se prepara haciendo reaccionar el ácido 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoico, (2), con el L glutamato de clorhidrato de dietilo en presencia de un agente de condensación en N,N-dimetilformamida como disolvente. Este procedimiento no proporciona el aislamiento del éster de dietilo de pemetrexed (3): después del tratamiento de extracción con diclorometano, e intercambio de disolvente con etanol, el producto mencionado anteriormente se aísla y se purifica como una sal del ácido p-toluenosulfónico (4) que a continuación se convierte en pemetrexed (5) por hidrólisis básica y acidificación. El diácido de pemetrexed (5) se convierte en la correspondiente sal disódica por tratamiento con sosa acuosa.

Este proceso implica el uso de DMF (un disolvente con toxicidad elevada) como un disolvente de la reacción de acoplamiento y también, incluso permite obtener el pemetrexed con pureza elevada, consiste en una larga secuencia de operaciones para aislar y purificar la sal de diéster de pemetrexed (4) en particular, 3 operaciones de molienda y una cristalización con filtraciones relativas, reduciendo en consecuencia la eficacia del proceso.

Un aspecto negativo adicional del procedimiento del éster de pemetrexed (3) a través de la formación de sal del ácido p-toluenosulfónico está representado con la posible formación de ésteres por la reacción de ácido p-toluenosulfónico con alcoholes. Tales productos de ésteres p-toluensulfónicos se clasifican como agentes de alquilación genotóxicos y su contenido se debe reducir a valores muy bajos (Genotoxic and carcinogenic impurities in

drug substances and Products: Recommended Approaches, FDA Guidance for Industry, 2008; Guideline on the Limits of genotoxic Impurities, EMEA/CHMP 2006).

Sin embargo, el éster de dietilo de pemetrexed (3) se describe en la bibliografía como un compuesto sólido: en CJ Barnett *et al.,* Org. Proc Res & Develop., 1999, 3, 184-188, en la página 188, el compuesto 13 se muestra con un pf de 169-171 ºC; en E.C. Taylor y B. Liu, J. Org. Chem., 2003, 68, 9938-9947, en la página 9945 el compuesto 25a se muestra con un pf 84-86 ºC; en T. Miwa *et al.,* J. Org. Chem., 1993, 58, 1696-1701, en la página 1700, el compuesto 23a se muestra con un pf 131-133 ºC.

En el documento EP 2409978 se reivindica un nuevo proceso para preparar el diéster de pemetrexed (3) que permite eliminar el procedimiento de síntesis y purificación de (4). En particular, la reacción de acoplamiento entre el ácido (2) y el glutamato de dietilo se realiza en un disolvente orgánico aprótico, en particular en una mezcla de DMF y diclorometano; al final de la reacción, la mezcla se lava con una solución acuosa básica, la solución se concentra, se añade con un disolvente orgánico polar, preferentemente etanol y diéster de pemetrexed (3) se aísla por cristalización. Incluso en este proceso se usan disolventes con toxicidad elevada (DMF y diclorometano), y además el tratamiento de la mezcla de reacción después del acoplamiento implica de forma necesaria un volumen elevado de disolventes y numerosos lavados de la fase orgánica con soluciones acuosas para retirar la DMF presente, limitando en consecuencia la eficacia y la productividad del proceso. A continuación se obtiene la sal disódica de pemetrexed (6) por saponificación del éster (4).

La sal disódica de pemetrexed usada en formulaciones farmacéuticas se caracteriza por una baja estabilidad y muestra la formación de impurezas de degradación, tanto en el estado sólido como en solución, en particular relacionadas con los efectos de tipo oxidativo, que requieren condiciones adecuadas de manipulación y almacenamiento en una atmósfera controlada y excluye el uso de formulaciones líquidas listas para usar. Recientemente, en el documento WO 2012/015810, se ha informado de formulaciones acuosas de sales de pemetrexed con antioxidantes y agentes quelantes que tienen mayor estabilidad a largo plazo, pero sin embargo muestran un aumento de los productos de degradación hasta valores de un 1-5 %, que es una cantidad de impurezas no aceptable basándose en las directrices de ICH de productos farmacéuticos, si no están adecuadamente cualificados.

El alcance de la presente invención es superar los problemas presentes en el estado de la técnica y hacer referencia a la síntesis de pemetrexed y a la inestabilidad de la sal disódica del mismo.

Sumario de la invención

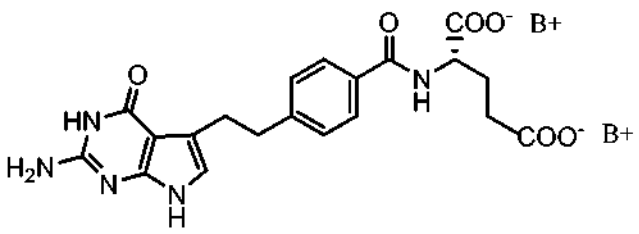
La presente invención se basa en el descubrimiento de que el uso de mezclas de agua-alcohol como un disolvente en la reacción de acoplamiento (acoplamiento) de la síntesis de pemetrexed permite la precipitación del compuesto intermedio de éster de dietilo directamente en la mezcla de reacción, sin la necesidad de DMF. El éster de dietilo de pemetrexed obtenido de este modo ya tiene una pureza elevada que permite su uso directamente en etapas posteriores de la síntesis de pemetrexed sin la necesidad de realizar etapas de salificación, purificación y/o lavados como se describe en el estado de la técnica de acuerdo con los métodos en los que se usa DMF.

Además, los inventores de la presente invención han observado que la sal de (di)lisina de pemetrexed es de forma sorprendente e inesperada más estable que la sal disódica ya conocida. Esta estabilidad más elevada de la sal de dilisina implica una ventaja técnica considerable ya que supera los problemas de inestabilidad del principio activo pemetrexed en las etapas de manipulación y almacenamiento.

Para los fines de la presente invención, la sal de dilisina de pemetrexed se puede denominar de forma genérica sal de lisina así como la sal disódica se puede denominar de forma genérica sal sódica.

Por lo tanto, los objetos de la presente solicitud son:

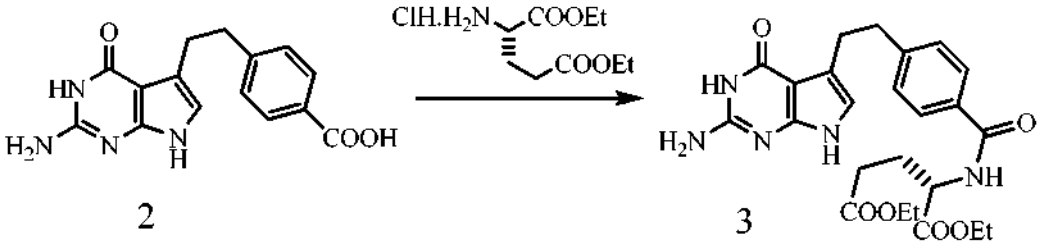
- un proceso para la preparación de una sal de pemetrexed de fórmula general I



(I)

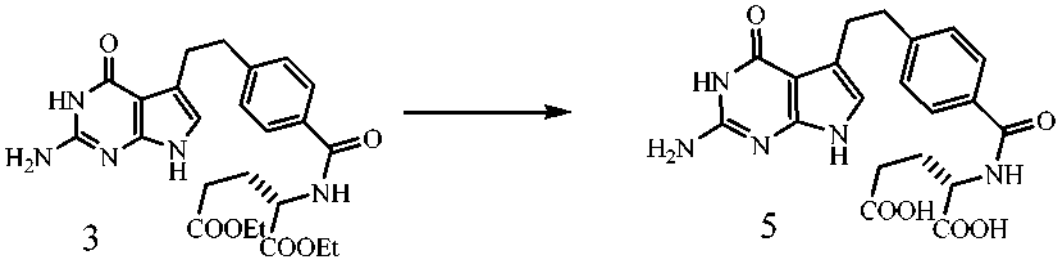
en la que B^+ es un catión adecuado, preferentemente Na^+ o lisina protonada, que comprende las siguientes etapas:

a) hacer reaccionar el ácido 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoico (2) con el clorhidrato de L-glutamato de dietilo en presencia de un reactivo de acoplamiento para obtener el éster de dietilo de pemetrexed (3)



2 3

b) hidrolizar el éster de dietilo de pemetrexed (3) a ácido de pemetrexed (5)



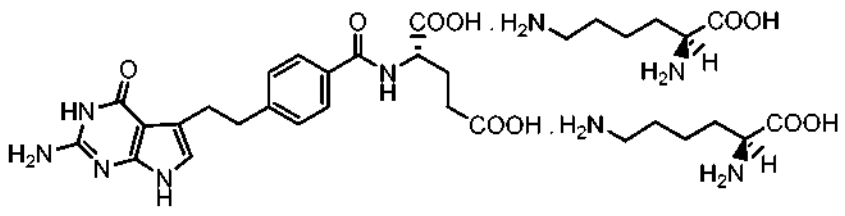
3 5

c) salificar con una base seleccionada entre NaOH o lisina para obtener la correspondiente sal de pemetrexed

caracterizado por que en la etapa a):

1) el ácido (2) se convierte previamente *in situ* en el correspondiente carboxilato sódico o carboxilato de morfolina que se puede aislar o hacer reaccionar directamente;
2) el disolvente de reacción usado consiste en una mezcla hidroalcohólica de disolventes en la que el alcohol se selecciona entre el grupo: metanol, etanol, isopropanol, n-propanol;
3) el compuesto intermedio de éster de dietilo de pemetrexed (3) precipita directamente de la mezcla de reacción con una pureza > 98 %.

Un objeto adicional de la presente invención es una sal de (di)lisina del ácido-N-[4-[2-(2-amino-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico (pemetrexed) de fórmula (1)



(1)

en una forma anhidra o hidratada, preferentemente en su forma cristalina definida por el espectro de rayos x de difracción que se muestra en la Figura VII.

Los objetos adicionales de la solicitud son el compuesto de acuerdo con la fórmula (1) mencionada anteriormente para su uso como un medicamento, preferentemente como agente antitumoral;
un proceso para la síntesis del compuesto de fórmula (1) que comprende una etapa de salificación de diácido de pemetrexed (5) con la base de lisina base;

- una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con la fórmula (1) y/o una forma cristalina del mismo como se ha indicado anteriormente y al menos un excipiente farmacológicamente aceptable.

Figuras

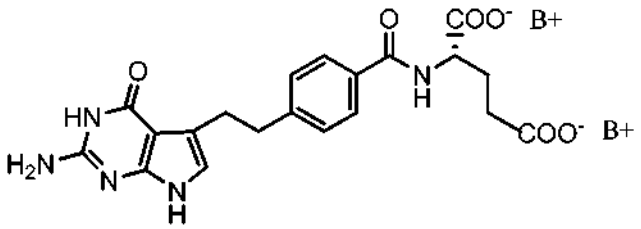
La Figura 1 muestra el espectro de difracción de rayos x del éster de dietilo de pemetrexed precipitado a partir de isopropanol/agua.
La Figura II muestra el espectro de difracción de rayos x del éster de dietilo de pemetrexed precipitado a partir de etanol/agua/acetona.
La Figura III el perfil de DSC (calorimetría de barrido diferencial) del éster de dietilo de pemetrexed precipitado a partir de etanol/agua/acetona.
La Figura IV muestra el espectro de difracción de rayos x del éster de dietilo de pemetrexed cristalizado a partir de 2-metil tetrahidrofurano / etanol.
La Figura V muestra el espectro de difracción de rayos x del éster de dietilo de pemetrexed cristalizado a partir de etanol/metil etil cetona.
La Figura VI el perfil de DSC (calorimetría de barrido diferencial) del éster de dietilo de pemetrexed cristalizado a partir de etanol/metil etil cetona.
La Figura VII muestra el espectro de difracción de rayos x de la sal de lisina de pemetrexed.
La Figura VIII muestra los datos de la difracción de rayos x de la sal de lisina de pemetrexed.
La Figura IX muestra el perfil de DSC (calorimetría de barrido diferencial) de la sal de lisina.

Descripción detallada de la invención

La presente invención consiste en los siguientes aspectos, que se describen en detalle a continuación.

Proceso de síntesis

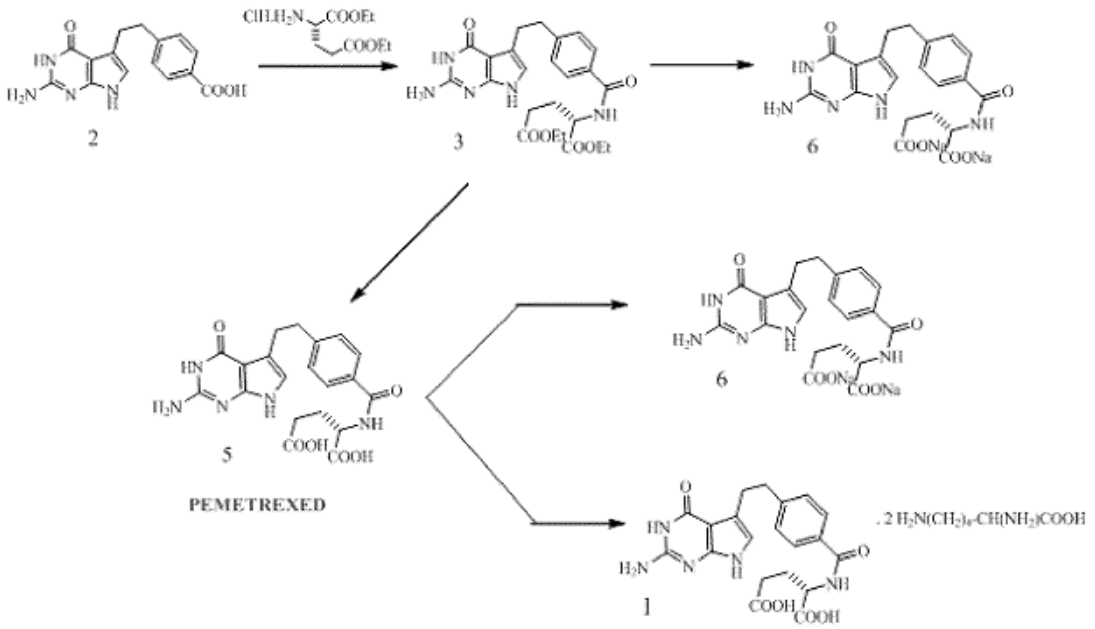
El proceso de síntesis objeto de la presente descripción es un proceso para la preparación de una sal de pemetrexed, de fórmula general I



(I)

en la que B^+ es un catión adecuado, seleccionado preferentemente entre Na^+ o lisina protonada.

Esta sal se obtiene con un nuevo proceso de síntesis de aplicabilidad industrial (esquema II) que permite obtener fácilmente el compuesto intermedio de síntesis (3), el diéster de etilo de pemetrexed, en estado sólido evitando el uso de DMF.



Esquema II

En particular, el uso de mezclas hidroalcohólicas (preferentemente de isopropanol/agua) como disolvente de la reacción de acoplamiento (acoplamiento) da como resultado la precipitación del compuesto intermedio (3) de la mezcla de reacción. El diéster de pemetrexed (3) obtenido después de filtración ya tiene una pureza elevada (≥ 98 %) que permite su uso directo en etapas posteriores sin purificación adicional.

El diéster de pemetrexed (3) preparado de este modo se puede convertir directamente en la sal de pemetrexed deseada, por ejemplo la sal disódica de dilisina o, sin la necesidad de aislar el pemetrexed en forma de ácido libre es esencial cuando se prepara la sal del éster de pemetrexed con ácido p-tolueno sulfónico, como se describe en el estado de la técnica. La formación directa de la sal de pemetrexed sin la necesidad de aislar el pemetrexed en forma de ácido representa una ventaja adicional del proceso de preparación objeto de la presente invención.

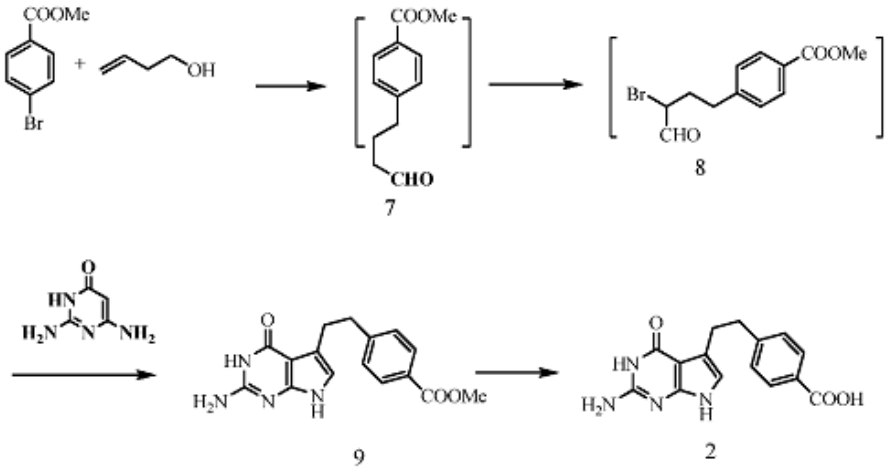
Las sales de pemetrexed farmacéuticamente aceptables que se pueden obtener con el proceso objeto de la presente invención son, en particular, pero no se limitan a, la sal disódica y la sal de (di)lisina.

Estas sales pueden estar ya sea en forma anhidra o en forma de hidrato. Preferentemente, dicha sal comprende un porcentaje de agua comprendido en el intervalo de un 0-22 % en peso. Por ejemplo, se debería considerar que el compuesto en el mercado, Alimta®, corresponde al pemetrexed disódico heptahidratado y contiene un porcentaje de agua igual a un 21 % en peso, y otras sal de pemetrexed bien conocida en la literatura, el pemetrexed disódico hemipentahidratado tiene en su lugar un porcentaje de agua igual a un 8,7 % en peso.

El proceso para la preparación de la sal de fórmula 1, de acuerdo con la presente invención comprende, en particular, las siguientes etapas:

a) hacer reaccionar el ácido 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrol(2,3-d) pirimidin-5-il)etil)benzoico (2) con el clorhidrato de L-glutamato de dietilo en presencia de un reactivo de acoplamiento para obtener el éster de dietilo de pemetrexed (3);
b) hidrolizar el éster de dietilo de pemetrexed (3) a ácido de pemetrexed (5)
c) salificar con una base seleccionada entre NaOH o lisina para obtener la correspondiente sal de pemetrexed.

Para la síntesis del ácido 4-(2-(2-amino-4 ,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoico, (2) en la bibliografía se informan numerosos procedimientos de síntesis entre los que los inventores pueden mencionar los documentos EP432677, EP 905 128, US 5.416.211, EP 2301909, CJ Barnett *et al.,* Org. Proc Res & Dev., 1999, 3, 184-188. En general el ácido 2 se puede preparar de forma conveniente siguiendo el procedimiento de síntesis general que se describe en el siguiente Esquema III:



Esquema III

En el documento EP 905 128 (Ejemplo 1, p 10), el aldehído en bruto 7 (rendimiento de un 87 %) no se aíslan y purifica, pero la solución orgánica que contiene al aldehído 7 obtenido se filtra sobre una resina para el Pd elemental todavía presente, y el disolvente orgánico por evaporación hasta sequedad. El aldehído en bruto 7 obtenido de este modo se purifica a continuación con bisulfito sódico y con la formación del correspondiente derivado de sal sódica del ácido sulfónico (derivado también conocido como 'compuesto de Bertagnini') en forma de un sólido cristalino (documento EP905128, Ejemplo 2, página 11).

En el documento EP 2301909 se informa en su lugar que no es necesario purificar el aldehído en bruto 7 por medio del derivado de sal sódica del ácido sulfónico, pero podrías es suficiente una extracción con disolvente orgánico (preferentemente una mezcla de disolventes) de la mezcla de reacción, una decoloración sobre gel de sílice y la posterior evaporación hasta sequedad del disolvente orgánico para obtener un aldehído (7) ya con una pureza de un 96 % adecuado para las etapas de síntesis posteriores.

Los inventores han encontrado ahora que en su lugar es suficiente operar como se describe en el documento EP905128, ejemplo 1, para obtener una solución en acetato de etilo del aldehído en bruto 7, que se puede usar e directamente en la etapa de bromación posterior, sin necesidad alguna de purificación del derivado de sal sódica del ácido sulfónico, como se espera a partir del documento EP905128, o extracción, aislamiento y decoloración, como se espera a partir del documento EP2301909.

El aldehído en bruto (7) se transforma en el correspondiente bromaldehído que a su vez se hace reaccionar directamente con 2,4-diamino-6-hidroxipirimidina, obteniendo de ese modo el 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoato de metilo (9) (documento EP905128, ejemplo 4, página 11).

La saponificación del éster (9) y la posterior acidificación de la mezcla de reacción conduce al ácido carboxílico (2) (documento EP905128, ejemplo 5, página 11) que tiene una pureza adecuada para la preparación de pemetrexed disódico para usos farmacéuticos.

El proceso de síntesis de pemetrexed objeto de la presente solicitud se caracteriza principalmente por el hecho de que el disolvente usado en la etapa de síntesis a) del Esquema I está formado por una mezcla disolventes de de agua y etanol en la que el alcohol se selecciona entre el grupo metanol, etanol, isopropanol, n-propanol. Preferentemente, la mezcla de disolvente está representada por isopropanol/agua o agua/etanol. En particular, el agua y alcohol isopropílico o alcohol etílico están en una proporción en v/v comprendida entre 3/1 y 1/3, preferentemente entre 6/4 y 4/6. La cantidad de la mezcla de disolvente usada está entre 5 y 25 volúmenes con respecto al precursor de ácido (2) y preferentemente entre 10 y 20 volúmenes, con el término "volumen" haciendo referencia a la proporción de disolvente/soluto expresada en ml de disolvente /g de precursor.

En las condiciones de reacción en la etapa de síntesis a), el compuesto intermedio de éster de dietilo de pemetrexed (3) precipita directamente de la mezcla de reacción con una pureza > 98 % y posiblemente se puede usar directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Además, en la etapa de síntesis a), el ácido (2) se convierte previamente *in situ* en el carboxilato sódico correspondiente que se puede aislar (documento US2008/0146799, ejemplo 5, p 13) o se puede hacer reaccionar directamente. Como alternativa, siempre en la etapa de síntesis a), el ácido 2 se puede convertir *in situ* en el

carboxilato de morfolinio correspondiente que a continuación se hace reaccionar directamente. La salificación *in situ* se puede realizar de acuerdo con los métodos habituales que son conocidos por la persona experta.

El reactivo de acoplamiento se selecciona entre CDMT (2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina), EDC (1-etil-3(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, DMTMM (cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina) y más preferentemente CDMT (2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina).

La reacción se produce a una temperatura entre 0 ºC y 60 ºC, preferentemente entre 15 y 50 ºC.

La precipitación completa del éster de dietilo de pemetrexed (3) se obtiene por adición adicional, a la mezcla de reacción, de 5-35 volúmenes, preferentemente 10-25 volúmenes, de agua o una mezcla de agua/acetona en una proporción que comprende de 2/1 a 1/1.

La suspensión obtenida se prevé mantener con agitación a temperaturas entre 0 ºC y 5 ºC, preferentemente entre 5 ºC y 30 ºC, durante un periodo de tiempo entre 1 y 24 horas, preferentemente entre 5 y 12 horas.

El diéster de pemetrexed (3) obtenido de este modo, después de filtración y lavado con una mezcla hidroalcohólica de disolventes, se puede secar posteriormente al vacío a aproximadamente 50 ºC hasta un peso constante. Este producto en bruto presenta una pureza elevada por HPLC > 98 % y, para los fines de la presente invención, se puede usar directamente sin purificaciones adicionales en la siguiente reacción de hidrólisis para el ácido libre.

A continuación, la conversión diéster de pemetrexed (3) en ácido (5) se puede realizar de acuerdo con el proceso ya descrito en el documento de patente de Estados Unidos n.º 5.416.211 o en el documento EP 905128 por hidrólisis en solución acuosa en presencia de una base. A continuación, el pemetrexed se aísla después de acidificación, por precipitación a partir de mezclas de agua-alcohol.

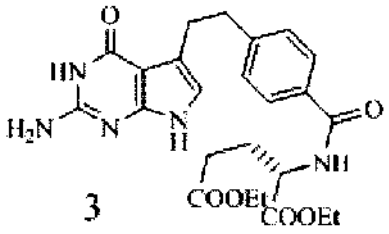
La temperatura de reacción está entre 0 y 40 ºC, preferentemente entre 10 y 30 ºC.

En la formación de la sal de pemetrexed, el ácido (5) se salifica con una base adecuada, seleccionada preferentemente entre NaOH o lisina para obtener la correspondiente sal de pemetrexed.

El proceso que se describe en el presente documento también se usa para preparar la sal disódica de pemetrexed se puede obtener a partir del precursor diácido (5), por ejemplo, por tratamiento con hidróxido sódico en solución acuosa hasta pH 8 y precipitación con un disolvente miscible en agua por analogía con lo que se informa en el documento EP 905 128.

Como alternativa, la pureza elevada del diéster de pemetrexed (3) permite obtener la sal disódica en una sola etapa directamente por hidrólisis básica en una solución hidroalcohólica de (3) y precipitación de la sal disódica mediante la adición de un disolvente miscible en agua.

El diéster de pemetrexed de fórmula 3



3

obtenido de acuerdo con el proceso que se ha descrito anteriormente tiene una forma predominantemente amorfa cuyo grado de cristalinidad puede variar dependiendo de los lotes de reacción (Figura 1).

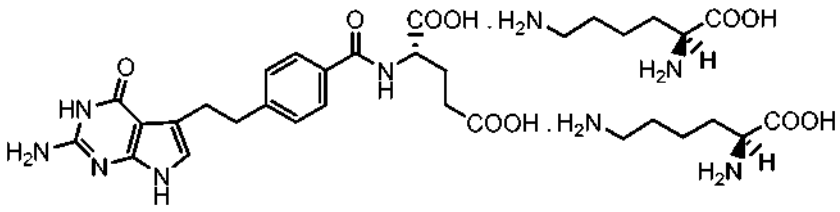
El diéster de pemetrexed en bruto se puede usar sin purificación adicional en reacciones posteriores o se puede purificar adicionalmente, por ejemplo, para una mejor caracterización, por cristalización usando una serie de disolventes seleccionados entre acetonitrilo, acetato de etilo / etanol, 2-metil tetrahidrofurano/etanol, metil etil cetona/etanol, isopropanol/agua, proporcionando un éster de dietilo de pemetrexed (3) con una pureza > 99,5 %, como se muestra por HPLC.

En particular, los autores de la presente invención han observado que usando 2-metil tetrahidrofurano/etanol como la mezcla de cristalización, se obtiene un sólido cristalino del diéster de pemetrexed (3) que presenta un espectro de difracción de rayos X que se muestra en la Figura IV, mientras que usando etanol/metil etil cetona como la mezcla de cristalización, se obtiene un sólido cristalino del diéster de pemetrexed (3) que presenta un espectro de difracción

de rayos X que se muestra en la Figura V.

Sal de Lisina de Pemetrexed.

Un objeto de la presente invención también es el compuesto de sal de lisina del ácido N-[4-[2-(2-amino-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-5-il)etil] benzoil]-L-glutámico (pemetrexed) de fórmula (1)



(1)

en forma anhidra o hidratada.

Preferentemente, esta sal tiene un porcentaje de agua comprendido en el intervalo de un 0-22 % en peso.

Además, la sal de lisina se puede obtener como un sólido cristalino y se caracteriza por un espectro de difracción de rayos X que se muestra en la Figura VII, y se resume en la Figura VIII.

La sal de lisina también se caracteriza por un perfil de DSC (calorimetría de barrido diferencial) que se muestra en la Figura IX, en el que tiene un punto de fusión a 230 ºC seguido de descomposición. El análisis termogravimétrico (TGA) muestra una pérdida de peso de un 3,8 %.

La sal de lisina de pemetrexed objeto de la presente solicitud se caracteriza por una estabilidad significativamente más elevada en comparación con la sal disódica como se muestra en las tablas que siguen a continuación.

Tabla 1: Resultados de pureza por HPLC (% de área) para la sal disódica de hemipentahidrato de pemetrexed almacenada a 25 ºC ± 5 ºC y 40 ºC ± 5 ºC (humedad no controlada)

		25 ºC ± 5 ºC			40 ºC ± 5 ºC		
		Meses			Meses		
Sustancias relacionadas (R_R)	0	1	3	6	1	3	6
0,19	n.r.	n.r.	n.r.	0,04	n.r.	0,50	0,40
0,26	n.r.	n.r.	n.r.	0,31	n.r.	0,17	0,98
Pemetrexed	99,78	99,71	99,78	99,47	99,66	99,00	98,00
1,15	n.r.	n.r.	0,02	n.r.	0,03	0,11	0,10
Otras (máx)	0,06	0,07	0,07	0,06	0,05	0,06	0,20

Tabla 2: Resultados de pureza por HPLC (% de área) para la sal de lisina de pemetrexed almacenada a 25 ºC ± 5 ºC y 40 ºC ± 5 ºC (humedad no controlada)

		25 ºC ± 5 ºC			40 ºC ± 5 ºC		
		Meses			Meses		
Sustancias relacionadas (R_R)	0	1	3	6	1	3	6
0,19	n.r.	n.r.	0,07	0,05	n.r.	0,14	0,08
0,26	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.

		25 ºC ± 5 ºC			40 ºC ± 5 ºC		
		Meses			Meses		
Sustancias relacionadas (R_R)	0	1	3	6	1	3	6
0,44	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,06
Pemetrexed	99,83	99,82	99,74	99,72	99,79	99,61	99,58
1,15	0,04	0,04	0,07	0,04	0,04	0,09	0,08
Otras (máx)	0,04	0,05	0,04	0,08	0,04	0,05	0,08

Tabla 3: Resultados de pureza por HPLC (% de área) para la sal disódica de hemipentahidrato de pemetrexed, y sal de lisina almacenadas a 100 ºC (humedad no controlada)

	Sal disódica de hemipentahidrato de pemetrexed		Sal disódica de heptahidrato de pemetrexed		Sal de lisina de pemetrexed	
	días		días		días	
Sustancias relacionadas (R_R)	0	6	0	6	0	6
0,19	n.r.	0,38	n.r.	1,01	0,07	0,13
0,26	n.r.	2,08	n.r.	0,46	n.r.	n.r.
0,44	n.r.	0,06	n.r.	0,12	0,09	0,22
Pemetrexed	99,88	96,72	99,95	97,36	99,67	99,41
1,15	n.r.	0,54	n.r.	0,55	0,11	0,10
Otras (máx)	0,06	0,06	n.r.	0,30	n.r.	n.r.

La sal disódica de pemetrexed muestra una degradación significativa en condiciones aceleradas a 40 ºC, y la formación de 3 poetas principales en tiempos de retención relativos de 0,19, 0,26 y 1,15 ya se observó después de 3 meses. En las mismas condiciones, la sal de lisina está prácticamente sin alterar.

Un estudio de las condiciones de tensión de 100 ºC durante 6 días muestra un aumento notable de las impurezas en los tiempos de retención de 0,19, 0,26 y 1,15 y ambos en el caso de la sal disódica de hemipentahidrato (0,4 % - 2 %) y en la sal disódica de heptahidrato disponible en el mercado (0,4-1 %).

Los productos de degradación principales se identificaron por HPLC/MS y parece que estas estructuras se pueden atribuir a la oxidación del producto. Un patrón similar de impurezas se obtiene por tratamiento de la sal disódica de pemetrexed en solución acuosa en presencia de agentes oxidantes tales como peróxido de hidrógeno al 10 %.

Para la confirmación adicional d es la degradación de tipo oxidativo, una muestra de sal disódica envasada en una atmósfera controlada en atmósfera de nitrógeno, en condiciones de tensión de 100 ºC durante 6 días muestra una reducción notable en el contenido de impurezas.

La sal de lisina también es mucho más estable en condiciones de tensión de 100 ºC durante 6 días y las mismas impurezas no superan el valor de un 0,2 %.

Por lo tanto, estos datos demuestran cómo la sal de de lisina de pametrexed es significativamente más estable que la correspondiente sal disódica y por lo tanto se puede usar de forma ventajosa como una sal del principio activo, pemetrexed, ya que es menos propensa a la degradación/descomposición causada por el estrés oxidativo.

La sal de lisina de pemetrexed, también como su forma cristalina definida por el espectro de difracción de rayos X de la Figura VII, se puede usar de forma ventajosa como un medicamento y preferentemente, al igual que la sal

disódica de pemetrexed, como fármaco antitumoral.

La sal de lisina de pemetrexed se puede obtener en general a través de un pasaje de salificación del diácido de pemetrexed (5) con la lisina de base. En particular, en una realización del método, la sal de fórmula I se puede obtener por adición, a una solución acuosa de ácido de pemetrexed (5), de 2 a 4 equivalentes de hidrato de lisina, preferentemente 3 equivalentes. Posteriormente, la sal de lisina formada se hace precipitar de la mezcla de reacción mediante la adición de un disolvente miscible en agua tal como acetona, etanol, metanol o isopropanol, preferentemente etanol.

Los volúmenes de agua están entre 3 y 8 con respecto al ácido precursor y preferentemente 5 volúmenes, los volúmenes del disolvente orgánico están entre 18 y 48 volúmenes en comparación con el ácido precursor, preferentemente 30 volúmenes, con el término "volumen" haciendo referencia a la proporción del disolvente/soluto en ml de disolvente/g de precursor.

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención son composiciones/formulaciones que comprenden la sal de lisina de pemetrexed de fórmula I o su forma cristalina definida por el espectro de la Figura 3 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichas composiciones están destinadas principalmente para su uso como agente antitumoral.

Las composiciones que se describen en el presente documento se administran preferentemente por vía oral, parenteral o intravenosa y, en cualquier caso, de acuerdo con todas las vías de administración conocidas por los expertos en la materia y adecuadas para alcanzar el sitio diana de interés farmacológico.

Las composiciones para administración oral pueden tomar la forma de soluciones o suspensiones líquidas o polvos. Las composiciones se pueden presentar en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración.

Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéuticamente adecuado. Las formas de dosificación unitaria habituales incluyen píldoras, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de las composiciones sólidas y viales o jeringas en el caso de las composiciones líquidas.

En tales formas sólidas, el principio o principios activos se mezclan con al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable inerte y los aditivos habituales.

Las composiciones para uso parenteral pueden ser, por ejemplo, soluciones, suspensiones acuosas u oleosas o emulsiones y se pueden formular de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión, agentes humectantes y agentes de suspensión adecuados.

También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos tales como agentes antimicrobianos, antioxidantes, quelantes y gases inertes (Mack (1982) Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª Edición).

Los componentes comprendidos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención también se pueden liofilizar para su almacenamiento y se pueden reconstituir en un vehículo adecuado antes de su uso.

Un ejemplo habitual de una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención se puede representar de este modo:

Sal disódica o de lisina de pemetrexed:	25 mg/ml (como ácido de pemetrexed)
Manitol:	25 mg/ml
HCl	hasta pH = 7,0 - 7,4
NaOH	hasta pH = 7,0 - 7,4
Agua	c.s.

Una cantidad de solución que contrarresta la cantidad deseada de medicamento se distribuye en viales y se liofiliza

Ejemplos

Las siguientes son realizaciones no limitantes de la presente invención.

EJEMPLO 1

Preparación de 4-(4-oxobutil)benzoato de metilo, (4-(4-carbometoxifenil)butanal), compuesto (7) del Esquema III.

Se añaden 13,0 g de acetato de litio deshidratado, 14,7 g de cloruro de litio y 17,1 g de cloruro de tetra butil amonio a una solución de 25,0 g de p-bromo benzoato de metilo en 285 ml de DMF. Se burbujea de nitrógeno en la mezcla y a continuación se añaden 12 ml de 3-buten-1-ol y 0,52 g de Acetato de Paladio. Se permite que la mezcla, calentada a 75 ºC, reaccione hasta la conversión completa del p-bromo benzoato de metilo (control de HPLC).

Después de enfriar a temperatura ambiente, a la mezcla de reacción se añaden 285 ml de agua y 285 ml de acetato de etilo. Después de la separación de las fases, la fase acuosa se extrae con acetato de etilo (2 x 143 ml), las fases orgánicas combinadas se lavan con NaCl al 3 % (3 x 285 ml) y con agua (2 x 285 ml). El producto (7) se obtiene en solución de acetato de etilo con un rendimiento igual a aproximadamente 85 % y se usa como tal, sin aislamiento o purificación adicional, en la siguiente reacción.

EJEMPLO 2

Preparación de (RS)-4-(3-bromo-4-oxobutil) benzoato de metilo, compuesto (8) del Esquema III.

125 ml de la solución en acetato de etilo del Ejemplo 1, que contiene 3 g de (7), se concentran al vacío a aproximadamente 22 ml. La solución resultante se enfría a 0 ºC y se añade con 0,126 ml de HBr al 33 % en AcOH y 0,97 ml de bromo. Después de 1 hora de agitación a 0 ºC, se añade metabisulfito sódico al 2 % (21 ml) a la mezcla de reacción, la fase orgánica separada se lava con bicarbonato sódico saturado (21 ml) y con NaCl al 3 % (21 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida, el residuo se solubiliza en 46 ml de acetonitrilo y la solución resultante se usa directamente en la siguiente etapa.

EJEMPLO 3

Preparación de 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoato de metilo, compuesto (9) del Esquema III.

Se añaden 46 ml de agua, 6,2 g de 2,4-diamin-6-hidroxipirimidina y 2,72 g de acetato sódico a la solución de derivado de bromo (8) en acetonitrilo del Ejemplo 2. La mezcla se agita a 40 ºC durante aproximadamente 3,5 horas, se enfría a temperatura ambiente y se filtra. El sólido se lava con 35 ml de acetonitrilo/agua a 1/1 y se seca al vacío a 50 ºC. Se obtuvieron 3,4 g de (9) en forma de un sólido de color rosa claro (rendimiento combinado con respecto a (7) igual a un 69 %).

EJEMPLO 4

Preparación de ácido 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d) pirimidin-5-il)etil)benzoico, compuesto (2) del Esquema I.

Una suspensión de 14,0 g de (9) del ejemplo 3 en 162 ml de NaOH 2 M se calentó a 40 ºC durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con 170 ml de acetona y el pH se ajusta a aproximadamente 4,4 con HCl 6 N. La suspensión obtenida se filtra y se lava en el filtro con 60 ml de acetona / agua 1/1 y con 60 ml de Acetona. El sólido se seca al vacío a 50 ºC para obtener 13,58 g del producto (2) en forma de un sólido de color blanquecino (rendimiento cuantitativo).

EJEMPLO 5

Preparación de sal sódica del ácido 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoico, sal sódica del compuesto (2) del Esquema I

Se añade NaOH 2 M (pH a aproximadamente 13) hasta disolución completa a una suspensión de 10,0 g de compuesto (2) del ejemplo 4 en 60 ml de agua. A continuación, el pH se ajusta a 9 con HCl 1 M obteniendo de este modo una precipitación abundante del producto. Después de 1 hora de agitación a temperatura ambiente, filtración y secado al vacío a 50 ºC, se obtuvo la sal sódica de (2) en forma de un sólido de color blanco.

EJEMPLO 6

Preparación de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil) benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

Se añaden 36 ml de NaOH 1 M, 60 ml de agua y 64 ml de isopropanol a 10,72 g de ácido (2) del Ejemplo 4 a temperatura ambiente. Después de 60 minutos de agitación a temperatura ambiente, se añaden 5,93 ml de N-metil morfolina (NMM), 64 ml de isopropanol y 9,47 g de 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT) a la mezcla. La mezcla se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos y a continuación se añade con 2,18 ml de NMM y 4,74 g de clorhidrato de L-glutamato de dietilo. Después de 40 minutos, se realiza una adición adicional de 2,18 ml de NMM y 4,74 g de clorhidrato de L-glutamato de dietilo. Después de 6 horas de reacción, se añaden 192 ml de agua a la mezcla, la suspensión obtenida de este modo se mantiene en agitación durante una noche, se

filtra y el sólido se lava con agua (3 x 30 ml) y se seca al vacío a 50 ºC. Se obtienen 15,76 g de éster de dietilo de pemetrexed (3) en forma de un sólido de color crema (rendimiento de un 90,7 %).

Datos analíticos: pureza de un 98,9 % por HPLC.

El producto tiene el espectro de difracción de rayos X que se muestra en la Figura 1 y corresponde a un producto parcialmente amorfo.

Dependiendo de los diferentes lotes de reacción, se obtienen compuestos en menor grado de cristalinidad.

EJEMPLO 7

Preparación de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

Se añaden 10,00 g de ácido (2) del ejemplo 4 a temperatura ambiente a 90 ml de etanol, 40 ml de agua y 8,83 g de 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT).

Una mezcla que consiste en 21,1 g de NaOH, 20 ml de agua y 10,3 ml de N-metil morfolina se añadió en primer lugar a la suspensión obtenida y a continuación 10,45 g de clorhidrato de L-glutamato de dietilo.

La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 40 ºC durante 3 horas y se filtra en un lecho que consiste en 0,48 g de carbón activo y 0,48 g de Celite. Después de lavar el filtro con 20 ml de una mezcla de etanol/agua a 3/2, el filtrado se calienta a 40 ºC y se añade a 49 ml de agua y 55 ml de Acetona.

A continuación, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y después de enfriar a 0 ºC durante 1 hora, la suspensión obtenida se filtra, el sólido se lava con 80 ml de una mezcla de agua/acetona a 3/1 y con 80 ml de Acetona. A continuación, el sólido se seca al vacío a 50 ºC. Se obtienen 14,25 g de éster de dietilo de pemetrexed (3) en forma de un sólido de color crema (rendimiento de un 93,5 %).

pf (Placa caliente): 171 ºC (con un lote diferente se obtuvo un p.f. de 138 ºC)
Espectro de difracción de rayos X: se muestra en la Figura II
DSC se muestra en la Figura III

EJEMPLO 8

Preparación de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

Se añaden 10,0 g de ácido (2) del ejemplo 4 a temperatura ambiente a 40 ml de isopropanol y 60 ml de NaOH 0,50 M. Después de 10 minutos de agitación a temperatura ambiente, se añaden 25 ml de isopropanol, 5,15 ml de N-metilmorfolina (NMM), 8,83 g de CDMT y de nuevo 25 ml de isopropanol a la mezcla. Después de 5 minutos, se añaden 4,80 ml de N-Metilmorfolina seguido de 10,45 g de H-Glu $(OEt)_2$.HCl.

A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 40 ºC durante 1 hora, a continuación se añaden 30 ml de agua. La solución se enfría a temperatura ambiente y a continuación se añade con 180 ml de agua y se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La suspensión se filtra, se lava con agua/iPrOH = 3/1 (3 x 30 ml), agua (3 x 40 ml) y el sólido se seca al vacío a 50 ºC. Se obtienen 14,52 g de éster de dietilo de pemetrexed (3) en forma de un sólido de color crema (rendimiento de un 89,1 %).

Datos analíticos: pureza de un 98,4 % por HPLC.

EJEMPLO 9

Preparación de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

Se añaden 10,0 g de ácido (2) del ejemplo 4 a temperatura ambiente a 40 ml de isopropanol y 60 ml de NaOH 0,50 M. Después de 10 minutos de agitación a temperatura ambiente, se añaden 25 ml de isopropanol, 5,15 ml de N-metilmorfolina (NMM), 8,83 g de CDMT y de nuevo 25 ml de isopropanol a la mezcla. Después de 5 minutos se añaden 4,80 ml de N-Metilmorfolina seguido de 10,45 g de H-Glu $(OEt)_2$.HCl.

A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 40 ºC durante 1 hora, a continuación se añaden 80 ml de agua y 80 ml de acetona. La solución se enfría a temperatura ambiente y a continuación se mantiene a 0 ºC durante 2 horas. La suspensión se filtra, se lava con agua/acetona = 3/1 (40 ml), agua (3 x 40 ml) y acetona (2 x 20 ml) y el sólido se seca al vacío a 50 ºC. Se obtienen 13,90 g de éster de dietilo de pemetrexed (3) en forma de un sólido de

color crema (rendimiento de un 85,7 %).

Datos analíticos: pureza de un 98,5 % por HPLC.

EJEMPLO 10

Preparación de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

Se añaden 10,0 g de ácido (2) del ejemplo 4 a temperatura ambiente a 60 ml de isopropanol, 60 ml de agua y 13,65 ml de NMM. La mezcla se calienta a 40 ºC y después de 40 minutos se añaden 8,83 g de CDMT, 30 ml de isopropanol, 10:45 g de H-Glu $(OEt)_2$.HCl. La mezcla de reacción se calienta a 40 ºC durante 2 horas, a continuación se añaden 80 ml de agua y 50 ml de Acetona. La mezcla se enfría a temperatura ambiente y a continuación se mantiene durante 2 horas a 0 ºC. La suspensión se filtra, se lava con agua/acetona = 3/1 (40 ml), agua (3 x 40 ml) y acetona (2 x 20 ml) y el sólido se seca al vacío a 50 ºC. Se obtienen 13,58 g de éster de dietilo de pemetrexed (3) en forma de un sólido de color crema (rendimiento de un 83,8 %).

Datos analíticos: pureza de un 98,7 % por HPLC.

EJEMPLO 11

Trituración/cristalización con 2-metil tetrahidrofurano/etanol absoluto a 10/1 de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

10,36 g del éster de dietilo de pemetrexed en bruto (3) se trituran / cristalizan a reflujo débil en 62 ml de una mezcla de 2-Me THF / etanol absoluto a 10/1. La solución se enfría lentamente a temperatura ambiente y se mantiene a 0 ºC durante 5 horas. A continuación, la suspensión se filtra y el sólido se lava suspensión con 10 ml de 2-Me THF enfriado a 0 ºC. Después de secar al vacío a 40 ºC, se obtuvieron 11,8 g del producto 3 en forma de un sólido de color crema (rendimiento de un 78,3 %).

Datos analíticos: pureza de un 99,9 % por HPLC.
Espectro de difracción de rayos X: se muestra en la Figura IV.

EJEMPLO 12

La cristalización con Metil etil cetona/Etanol al 96 % a 9/2 de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (3) del Esquema I.

Se disuelven 14,00 g del éster de dietilo de pemetrexed en bruto (3) con agitación a reflujo débil con 182 ml de la mezcla de Metil etil cetona/EtOH al 96 % a 9/2. La solución obtenida se deja enfriar a temperatura ambiente, la suspensión se enfría a 0 ºC durante 2 horas, se filtra y el sólido se lava con 84 ml de metil etil cetona. Después de secar al vacío a 50 ºC, se obtuvieron 13,24 g del producto 3 en forma de un sólido de color crema (rendimiento de un 94,5 %).

Análisis: pureza de un 99,83 % por HPLC
p.f. (Placa caliente): 175 ºC (el pf varía ligeramente dependiendo del lote)
Espectro de difracción de rayos X: se muestra en la Figura V
SDC se muestra en la Figura VI.

Un compuesto análogo se puede obtener por cristalización en los siguientes disolventes: etanol, acetato de etilo/etanol, acetonitrilo.

EJEMPLO 13 (ejemplo de referencia)

Preparación de p-toluenosulfonato de N-(4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrolo(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoil-L-glutamato de dietilo, compuesto (4) del Esquema I.

Se suspenden 11,4 g del producto (3) del Ejemplo 5 en 142 ml de etanol absoluto. La mezcla se calienta a 50 ºC y la solución obtenida de este modo se añade a una solución de 11,2 g de ácido p-toluenosulfónico monohidratado ($pTsOH.H_2O$) en 142 ml de etanol absoluto. La suspensión obtenida se calienta a 80 ºC durante 2 horas, a continuación se enfría a temperatura ambiente y se filtra. El sólido húmedo se tritura a reflujo durante 1 hora con 242 ml de etanol absoluto.

La suspensión se filtra y el sólido se seca al vacío a 50 ºC. El producto de color rosa claro se calienta a reflujo en 65 ml de DMSO y 260 ml de etanol absoluto durante 1,5 horas. Después de enfriar a 10 ºC, la suspensión se filtra y el sólido húmedo se tritura a 5 ºC con 250 ml de etanol absoluto durante 30'. El sólido se seca al vacío a 50 ºC para

dar 12,2 g de un sólido de color rosa claro (rendimiento de un 79 %).

Datos analíticos: pureza de un 99,2 % por HPLC.

EJEMPLO 14

Preparación de pemetrexed, compuesto (5)

Una suspensión de 9,60 g del producto (3) obtenida en el Ejemplo 6 (o como alternativa uno de los Ejemplos 7-12) en 62 ml de NaOH 1 M se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. Después de la adición de 75 ml de etanol, la solución se acidifica a pH 3 con HCl 4 M y la mezcla se calienta a 70-75 ºC durante aproximadamente 20'. La suspensión obtenida se enfría a temperatura ambiente y se filtra. El sólido húmedo se tritura con 93 ml de etanol/agua a 1/1 a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la filtración, el sólido se seca al vacío a 50 ºC para dar 6,15 g de un sólido de color blanquecino (rendimiento de un 98 %).

Datos analíticos: pureza de un 99,8 % por HPLC.

EJEMPLO 15

Preparación de sal disódica de hemipentahidrato de pemetrexed, compuesto (6).

A una suspensión de 7,0 g de Pemetrexed 5 en 38 ml de agua, se añade NaOH 1 M hasta un pH de aproximadamente 8 (intervalo de pH de 7,5 a 8,5). La solución se calienta a 70 ºC y se añade a 398 ml de etanol. La suspensión se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtra y el sólido se seca a 50 ºC.

Se obtienen 7,4 g de hemipentahidrato disódico de pemetrexed en forma de un sólido de color blanco (rendimiento de un 88 %).

Datos analíticos: pureza de un 99,8 % por HPLC.

EJEMPLO 16

Preparación de sal disódica de hemipentahidrato de pemetrexed, compuesto (6)

A una suspensión de 10,0 g de éster de pemetrexed (3), tal como se obtiene en el Ejemplo 6 (o como alternativa uno de los Ejemplos 7-12), se añaden 100 ml de NaOH 1 M y la mezcla se agita a temperatura ambiente hasta la disolución completa del sólido. Después de la adición de 60 ml de etanol, una solución de HCl 1 M se añade lentamente hasta un pH de aproximadamente 8 (intervalo de pH de 7,5 a 8,5). La mezcla se calienta a 55 ºC y se añade a 160 ml de etanol. La suspensión se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtra y el sólido se seca a 50 ºC.

Se obtienen 9,6 g de hemipentahidrato disódico de Pemetrexed en forma de un sólido de color blanco (rendimiento de un 90 %). Datos analíticos: pureza de un 99,8 % por HPLC.

EJEMPLO 17

Preparación de sal de lisina de pemetrexed, compuesto (1)

Se añaden 8,8 g de Pemetrexed (5) a una solución de 9 g de hidrato de lisina en 41 ml de agua. La solución se calienta a 70 ºC y se añade a 249 ml de etanol. La suspensión se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtra y el sólido se seca a 50 ºC.

Se obtienen 13,8 g de sal de lisina de pemetrexed en forma de un sólido de color blanco. (Rendimiento de un 93 %).

Datos analíticos: pureza de un 99,93 % por HPLC, contenido de lisina (HPLC): 39,5 %
Pérdida de peso (TGA): 3,8 %
Espectro de difracción de rayos X: se muestra en la Figura VII y VIII
DSC, se muestra en la Fig IX: p.f. 230 ºC (desc.)

RMN ^{1}H (D_2O): δ 1,46 (m, 2H), 1,52 (m, 2H), 1,73 (m, 4H), 1,92 (m, 4H), 2,9 (m, 1 H), 2,22 (m, 1 H), 2,37 (m, 2H), 2,81 (s, 4H), 3,03 (t, 4H), 3,78 (t, 2H), 4:37 (dd, 1H), 6,34 (s, 1H), 7,19 (d, 2H), 7,68 (d, 2H).

RMN ^{13}C (D_2O): δ 24,2, 29,2, 29,6, 31,2, 32,7, 37,1, 38,2, 41,8, 57,3, 58,8, 101,5, 118,3, 120,9, 129,8, 131,3, 133,4, 149,5, 153,5, 154,8, 163,9, 172,8, 177,4, 181,8, 185,0.

EJEMPLO 18

Estudios de estabilidad de la sal de sal disódica de (di)lisina de pemetrexed.

Los estudios de estabilidad a 25 ºC ± 5 ºC, 45 ºC ± 5 ºC y 100 ºC se realizaron en las sales de los mismos obtenidas de acuerdo con el procedimiento que se informa en los Ejemplos 15, 16, 17 y, para comparación, en la sal sódica de heptahidrato preparada de acuerdo con el procedimiento del documento EP 1259513.

Las muestras se envasan en recipientes de vidrio en aire o como alternativa en una atmósfera controlada.

La pureza de las muestras de término a intervalos de tiempo variables (1, 3, 6 meses para las muestras almacenadas a 25 ºC ± 5 ºC y 45 ºC ± 5 ºC, 6 días para las muestras almacenadas a 100 ºC) por análisis de HPLC usando el procedimiento que sigue a continuación:

Aparato de cromatografía líquida a alta presión con un detector de UV con longitud de onda variable, Agilent 1100 o equivalente.
Columna: Sunfire C18, 3,5 µm, 100 x 4,6 mm
Condiciones de funcionamiento:

Fase móvil A: H_3PO_4 al 0,1 %
Fase móvil B = CH_3CN

Elución en gradiente; t = 0, A/B a 88/12, t = 10 min, A/B a 88/12, t = 30 min, A/B a 30/7
Caudal: 1,5 ml/min Detector: λ = 230 nm, volumen de inyección: 20 l, T: 35 ºC Blanco: Agua.

EJEMPLO 19

Preparación de una composición farmacéutica con la sal de lisina de pemetrexed.

En un reactor adecuado en una atmósfera inerte, se cargan pemetrexed disódico (6), manitol y agua (agua para inyección-WFI) para tener una solución que consiste en 25 mg/ml de ácido de pemetrexed, 25 mg/ml de manitol. El pH de la solución obtenida se ajusta a 7,2 ± 0,6 con NaOH 0,1 N o HCl 0,1 N. A continuación, la solución se filtra dos veces en un filtro de 0,22 µm, se añade a los viales, en la cantidad requerida y se liofiliza.

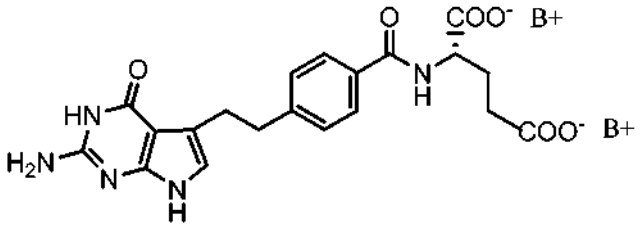
EJEMPLO 20

Preparación de una composición farmacéutica con la sal de lisina de pemetrexed.

En un reactor adecuado en una atmósfera inerte, se cargan la sal de lisina de pemetrexed (1), manitol y agua (agua para inyección-WFI) para tener una solución que consiste en 25 mg/ml de ácido de pemetrexed, 25 mg/ml de manitol. El pH de la solución obtenida se ajusta a 7,2 ± 0,6 con NaOH 0,1 N o HCl 0,1 N. A continuación, la solución se filtra dos veces en un filtro de 0,22 µm, se añade a los viales, en la cantidad requerida y se liofiliza.

REIVINDICACIONES

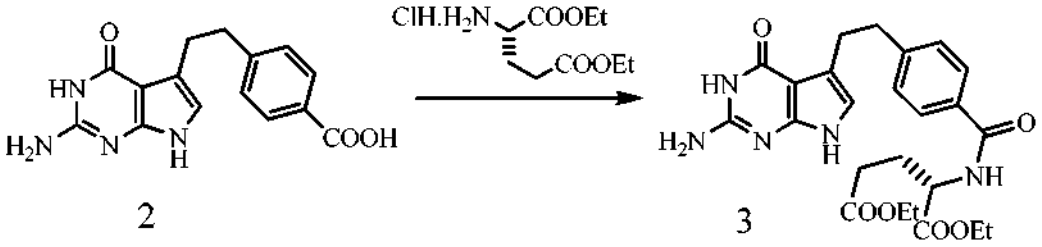
1. Un proceso para la preparación de una sal de pemetrexed que tiene la fórmula general I



(I)

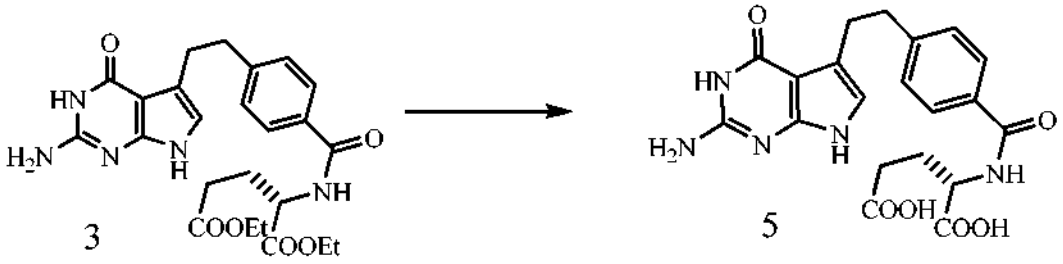
en la que B^+ representa Na^+ o lisina protonada
que comprende las siguientes etapas:

a) hacer reaccionar ácido 4-(2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-3H-pirrol(2,3-d)pirimidin-5-il)etil)benzoico (2) con el clorhidrato de L glutamato de dietilo en presencia de un reactivo de acoplamiento para obtener el éster de dietilo de pemetrexed (3)



2 3

b) hidrolizar el éster de dietilo de pemetrexed (3) a ácido de pemetrexed (5)



3 5

c) salificar con una base seleccionada entre NaOH o lisina para obtener la correspondiente sal de pemetrexed

caracterizado por que en la etapa a):

i) el ácido (2) se convierte previamente *in situ* en el correspondiente carboxilato sódico o carboxilato de morfolina que se puede aislar o hacer reaccionar directamente;
ii) el disolvente de reacción usado consiste en una mezcla hidroalcohólica de disolventes en la que el alcohol se selecciona entre el grupo: metanol, etanol, isopropanol, n-propanol;
iii) el compuesto intermedio de éster de dietilo de pemetrexed (3) precipita directamente de la mezcla de reacción con una pureza > 98 %.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha mezcla hidroalcohólica de disolventes está representada por agua mezclada con alcohol isopropílico o alcohol etílico.

3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que los componentes de dicha mezcla de agua/alcohol isopropílico o alcohol etílico en la etapa a) están en una proporción de 3/1 a 1/3 entre sí.

4. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el reactivo de acoplamiento en la etapa a) se selecciona entre el grupo: CDMT (2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina), EDC (1-etil-3(3-dimetilaminopropilo)carbodiimida y DMTMM (cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolina), preferentemente CDMT.

5. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la reacción en la etapa a) se realiza a una temperatura entre 0 ºC y 50 ºC o entre 15 ºC y 50 ºC.

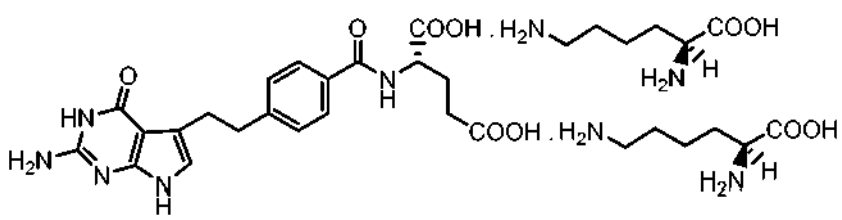
6. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la sal de lisina se obtiene por adición al ácido de pemetrexed (5) de una solución acuosa que contiene de 2 a 4 equivalentes de hidrato de lisina, preferentemente 3 equivalentes.

7. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que en la etapa c) la sal de lisina formada en solución se precipita por la adición de un disolvente orgánico miscible con agua seleccionado entre el grupo: acetona, etanol, metanol o isopropanol, preferentemente etanol.

8. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en el que, como una alternativa a las etapas de síntesis b) y c), es posible obtener la sal disódica de pemetrexed por hidrólisis directa del diéster (3) sin aislamiento del compuesto intermedio de ácido de pemetrexed (5).

9. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el éster de dietilo de pemetrexed (3) se usa directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10. Un compuesto de fórmula (1), sal de (di)lisina ácido N-[4-[2-(2-amino-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico (pemetrexed)



(1)

en una forma anhidra o hidratada.

11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, que tiene un porcentaje de agua comprendido en el intervalo de aproximadamente 0-22 % en peso.

12. Un proceso para la síntesis del compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende una etapa de salificación de pemetrexed (5) con lisina protonada de acuerdo con la reivindicación 1,

13. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10-11, para su uso como un medicamento.

14. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 10-11 para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado por que se usa como medicamento contra el cáncer.

15. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 11 y al menos un excipiente farmacológicamente aceptable.

16. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15 para su uso como composición contra el cáncer.

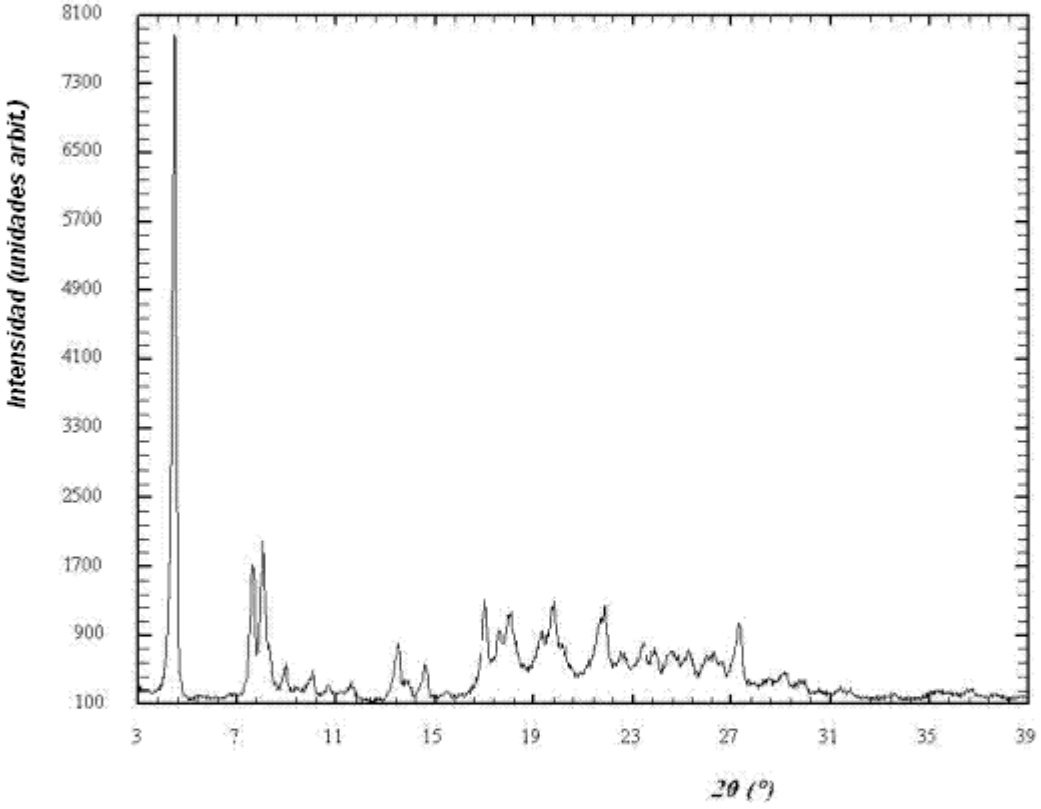

Intensidad (unidades arbit.)
8100
7300
6500
5700
4900
4100
3300
2500
1700
900
100
3
7
11
15
19
23
27
31
35
39
2θ (°)

Fig. 1

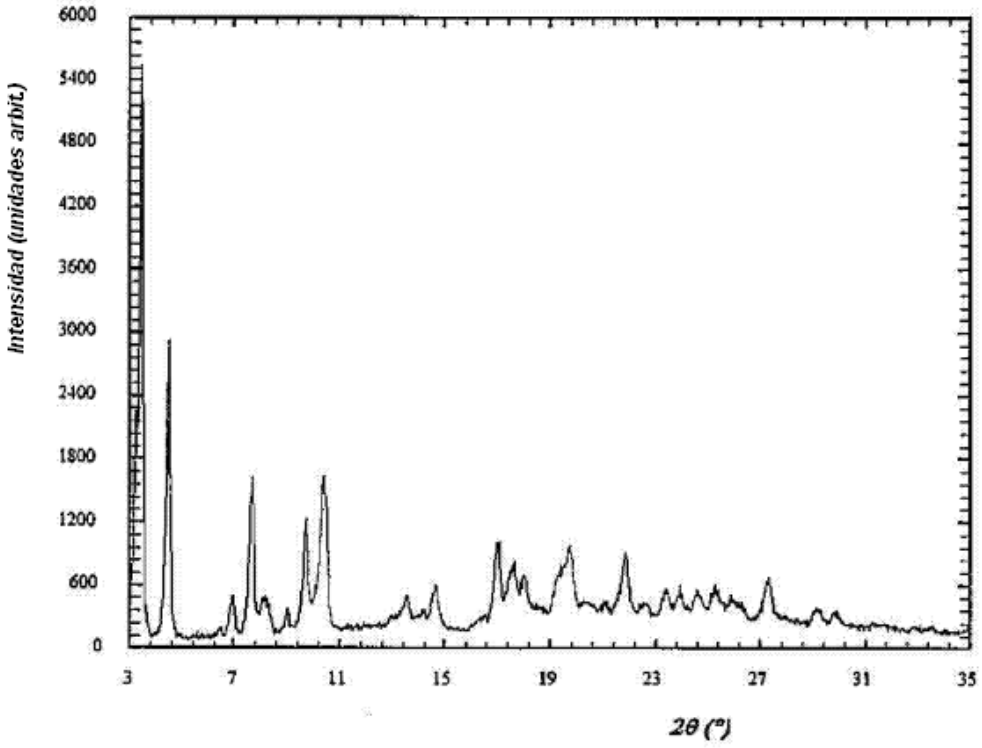

Intensidad (unidades arbit.)
6000
5400
4800
4200
3600
3000
2400
1800
1200
600
0
3
7
11
15
19
23
27
31
35
2θ (°)

Fig. 2

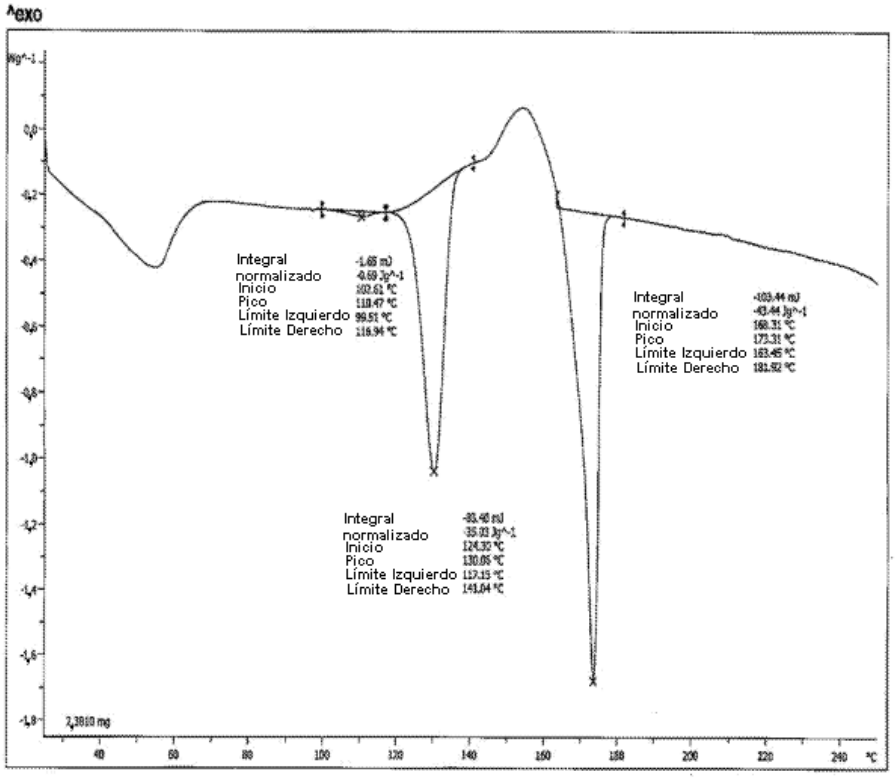

^exo
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
°C

Fig. 3

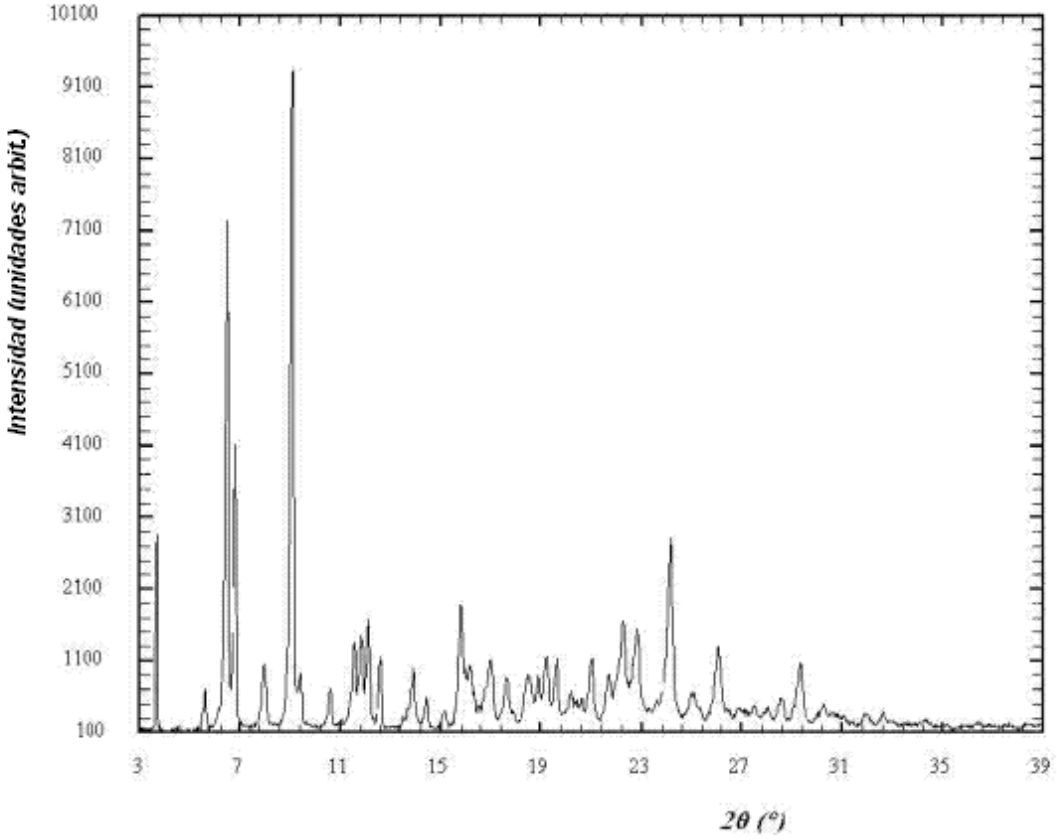

Intensidad (unidades arbit.)
10100
9100
8100
7100
6100
5100
4100
3100
2100
1100
100
3
7
11
15
19
23
27
31
35
39
2θ (°)

Fig. 4

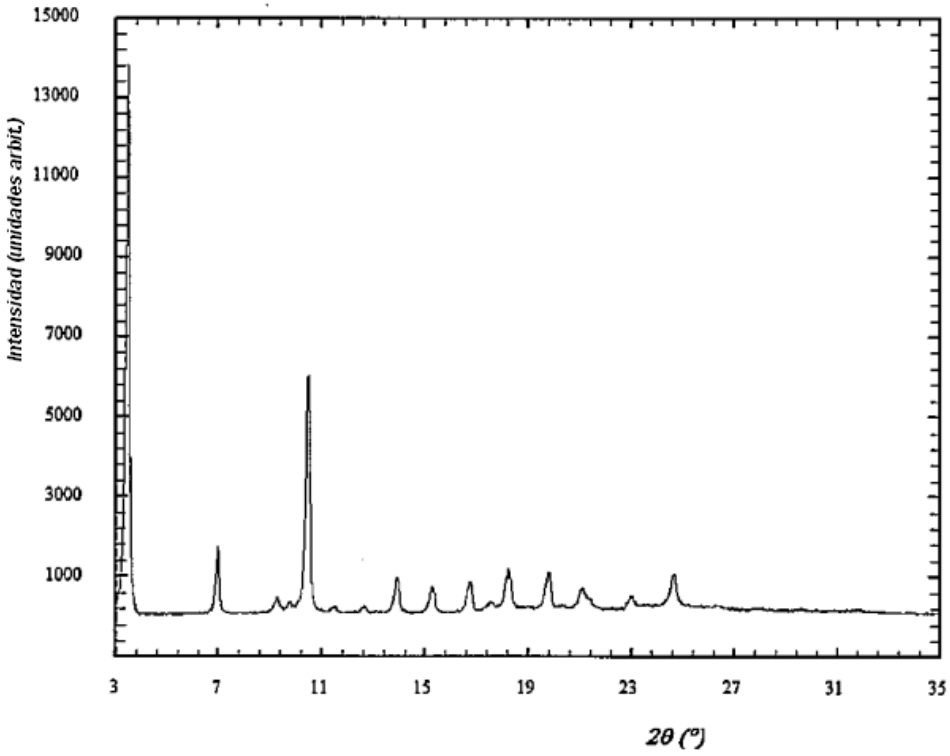

15000
13000
11000
9000
7000
5000
3000
1000
Intensidad (unidades arbit.)
3
7
11
15
19
23
27
31
35
2θ (°)

Fig. 5

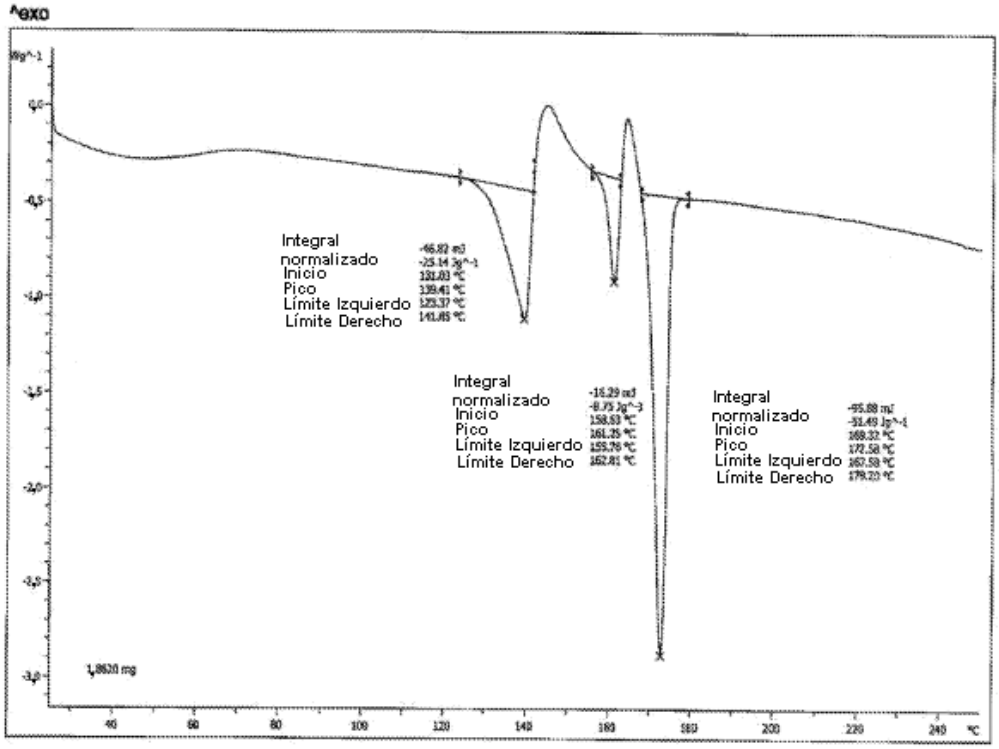

^exo
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
1,8620 mg
°C

Fig. 6

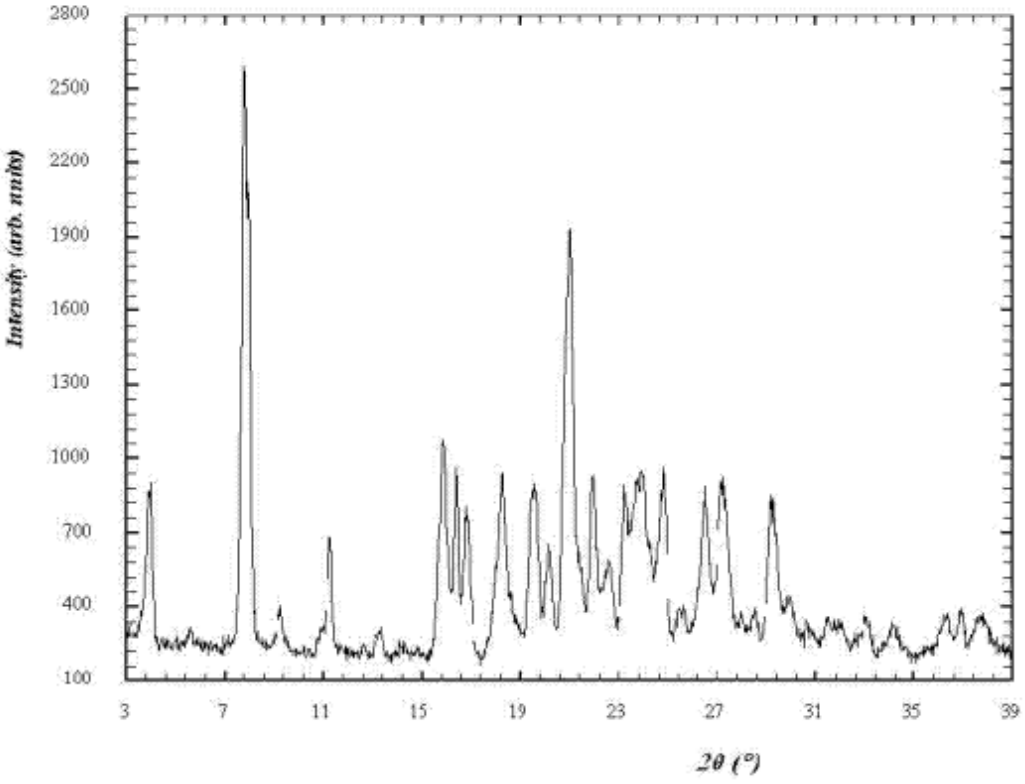

Intensity (arb. units)
2800
2500
2200
1900
1600
1300
1000
700
400
100
3
7
11
15
19
23
27
31
35
39
2θ (°)

Fig. 7

2	Int. Rel. (%)
3,96	32
5,62	8
7,81	100
7,98	79
9,26	15
10,96	12
11,28	26
12,62	9
13,33	12
15,87	41
16,39	36
16,80	29
18,25	36
19,56	32
20,15	25
21,01	75
21,95	35
22,60	22
23,23	33
23,74	35
23,94	36
24,78	37
25,46	15
25,64	15
26,45	32
27,19	34
27,99	14
28,51	13
29,24	31
29,87	17
30,30	13
31,48	13
31,97	13
33,01	13
34,11	12
36,29	14
36,90	15
37,73	14

Fig. 8

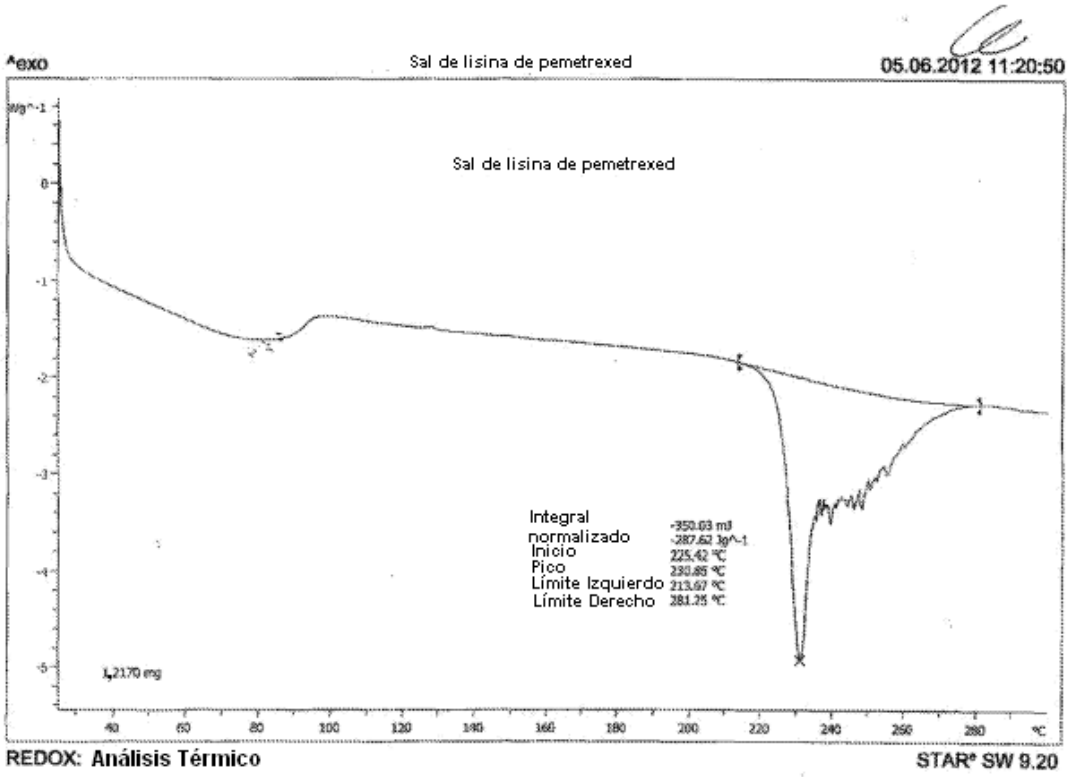

^exo
Sal de lisina de pemetrexed
05.06.2012 11:20:50
W/g^-1
Sal de lisina de pemetrexed
Integral
normalizado
Inicio
Pico
Límite Izquierdo
Límite Derecho
-350.03 mJ
-287.62 Jg^-1
225.42 °C
230.85 °C
213.67 °C
281.25 °C
1,2170 mg
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
°C
REDOX: Análisis Térmico
STAR° SW 9.20

Fig. 9