



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 586**

51 Int. Cl.:
C07D 211/46 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61P 3/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07252109 .9**
96 Fecha de presentación : **23.05.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **1860101**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.11.2007**

54 Título: **Sal tartrato de isofagomina y métodos de uso.**

30 Prioridad: **24.05.2006 US 808020 P**
20.02.2007 US 890719 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.09.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.09.2011

73 Titular/es: **AMICUS THERAPEUTICS, Inc.**
6 Cedar Brook Drive
Cranbury, New Jersey 08512, US

72 Inventor/es: **Mugrage, Benjamin;**
Palling, David;
Sheth, Kamlesh A. y
Rybczynski, Philip J.

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 364 586 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

Sal tartrato de isofagomina y métodos de uso

5 Antecedentes de la invención

La enfermedad de Gaucher es un trastorno de almacenamiento de lisosomas que está asociado con la acumulación de glicoesfingolípidos (GSL) en las células, particularmente monocitos y macrófagos, de los individuos afligidos. Esta acumulación aberrante de GSL es resultado de una deficiencia genética (mutación) en el gen que codifica la enzima lisosómica β -glucosidasa ácida (glucocerebrosidasa; GCasa), la hidrolasa lisosómica que descompone la GSL glucosilceramida (GluCer). La mayoría de las mutaciones del gen de glucocerebrosidasa (Gba) hacen que la proteína GCasa se pliegue erróneamente en el retículo endoplásmico (ER). La GCasa plegada erróneamente es reconocida por el sistema de control de calidad del ER y degradada subsiguientemente en lugar de ser procesada y transportada al lisosoma.

La enfermedad de Gaucher es pan-étnica, con una frecuencia global de la enfermedad de aproximadamente 1 en 50.000-100.000 nacimientos. Ciertas poblaciones tienen una prevalencia mayor. En la población de los judíos Ashkenazi, por ejemplo, aproximadamente una de cada 15 personas son portadores de una mutación Gba. De acuerdo con la National Gaucher Foundation, aproximadamente 2500 americanos padecen la enfermedad de Gaucher.

La enfermedad de Gaucher es un trastorno autosómico recesivo y es la enfermedad más común de almacenamiento de lisosomas. La enfermedad se ha clasificado en tres tipos clínicos, dependiendo de la complicación neurológica y la gravedad de la enfermedad. El Tipo 1 es el más común y se caracteriza por ausencia de implicación neurológica. Los pacientes exhiben un amplio espectro de gravedad; algunos pueden permanecer asintomáticos a lo largo de toda su vida. La mayoría de los pacientes del Tipo 1 exhiben engrosamiento del bazo y el hígado, anomalías esqueléticas y lesiones óseas, así como reacciones inflamatorias prolongadas. Los niveles de glucocerebrósidos hepáticos se elevan desde 23 veces a 389 veces por encima de los niveles normales en los pacientes Gaucher de Tipo 1.

La enfermedad de Gaucher Tipo 2 es la forma más rara y más grave. Está asociada con una aparición temprana de enfermedad neurológica aguda. El rasgo característico de la enfermedad de Gaucher neuronopática es una anomalía de mirada horizontal fija. Los pacientes afligidos contraen encefalopatía progresiva y síntomas extrapiramidales tales como rigidez y movimientos semejantes al Parkinson (parkinsonismo). La mayoría de los pacientes de la enfermedad de Gaucher Tipo 2 mueren en la infancia temprana de apnea o aspiración debida a deterioro neurológico.

La enfermedad de Gaucher Tipo 3 tiene también implicación neurológica, aunque en menor grado que el Tipo 2. Estos pacientes presentan también los defectos de hepatoesplenomegalia y esqueléticos característicos del Tipo 1, así como síntomas del sistema nervioso central que incluyen mala coordinación de los movimientos (ataxia), ataques, parálisis de los músculos oftálmicos, epilepsia, y demencia). Los pacientes con enfermedad de Gaucher Tipo 3 pueden vivir hasta la edad adulta, pero pueden tener una duración de vida acortada. Se han consignado tres subclasificaciones del Tipo 3: Tipo 3a, que está asociado con hepatoesplenomegalia prominente y enfermedad de la médula ósea; Tipo 3b, que está asociado con síntomas sistémicos limitados; y Tipo 3c, que está asociado con hepatoesplenomegalia, opacidades corneales, ataxia y demencia progresivas, y calcificación de las válvulas cardíacas y la raíz aórtica.

Los métodos para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher incluyen terapia de reemplazamiento enzimático (ERT), trasplantes de médula ósea (BMT), terapia de reducción de sustrato (SRT), terapia génica, y tratamiento farmacológico con chaperonas. La isofagomina es un inhibidor potente de la β -glucosidasa (GCasa) ácida humana recombinante. Métodos farmacológicos de chaperonas para intensificación de las actividades de las enzimas mutantes en los trastornos de almacenamiento de lisosomas que utilizan inhibidores enzimáticos tales como isofagomina se describen en las Patentes U.S. del mismo propietario 6.916.829; 6.599.919; 3.589.964; 6.583.158 y 7.141.582, cada una de las cuales se incorpora en esta memoria por referencia en su totalidad. Por ejemplo, se ha demostrado que la adición de un inhibidor de GCasa a un medio de cultivo de fibroblastos conduce a una intensificación en la actividad de transporte y lisosómica de GCasa, indicando que dicho inhibidor puede presentar interés terapéutico en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher.

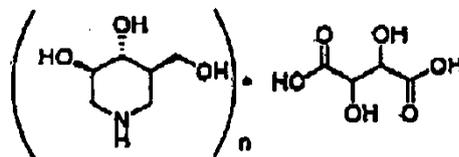
Se ha descubierto recientemente que existe un enlace entre las mutaciones en el gen Gba y la enfermedad de Parkinson. En un estudio, se encontró que un grupo de 17 pacientes con Parkinsonismo raro, de comienzo precoz, y resistente al tratamiento tenían al menos un alelo con una mutación Gba de sentido erróneo, incluyendo individuos homocigóticos y heterocigóticos para N370S, una mutación asociada típicamente con la enfermedad no-neuronopática Tipo 1 (Tayebi et al., Mol. Genet. Metab. 2003; 79: 104-109). En otro estudio, se evaluó una población de 99 judíos Ashkenazi con enfermedad de Parkinson idiopática se evaluaron respecto a seis mutaciones de Gba (N370S, L444P, 84GG, V394L y R496H). Treinta y un pacientes de Parkinson tenían uno o dos alelos Gba mutantes: 23 eran heterocigóticos para N1370S; 3 eran homocigóticos para W370S; 4 eran heterocigóticos para 84GG, y 1 era heterocigótico para R496H (Aharon-Perez et al., New Engl. J. Med. 2004; 351: 1972-77). La frecuencia de un alelo N370S mutante era 5 veces la existente entre 1573 individuos normales, y la de 84GG era 21 veces la de los

individuos normales. Entre los pacientes con enfermedad de Parkinson, los pacientes que llevaban una mutación Gba eran también más jóvenes que aquéllos que no eran portadores. Este estudio sugiere que la heterocigosidad para una mutación Gba puede predisponer a los judíos Ashkenazi a la enfermedad de Parkinson. Dado que se ha demostrado que la isofagomina atraviesa la barrera hematoencefálica en animales y aumenta la actividad tanto de la GCasa mutante como de la de tipo salvaje, la misma puede utilizarse para tratar tanto a los pacientes de Parkinson que tienen una mutación heterocigótica en GCasa, como a los que se encuentran en riesgo de contraer enfermedad de Parkinson debido a otros factores, pero que pueden beneficiarse de los niveles incrementados de GCasa de tipo salvaje.

Aunque el compuesto de isofagomina es un inhibidor potente y selectivo de la β -glucosidasa (GCasa) ácida humana recombinante, su uso en productos farmacéuticos tiene que hacer frente a varios retos. Por ejemplo, la sal hidrocloreuro de isofagomina (isofagomina.HCl) se describe en la Patente U.S. 5.844.102. Sin embargo, la isofagomina-HCl así como la base libre de isofagomina no se purifican fácilmente en gran escala y tienen propiedades deficientes en estado sólido para uso en procesos de fabricación y formulaciones farmacéuticas a escala industrial.

Sumario de la invención

En una realización, la presente invención proporciona una sal de ácido tartárico de isofagomina o tartrato de isofagomina, representada por la estructura química siguiente:



en donde n es 1 o 2. La invención proporciona también tartrato de isofagomina con alta pureza y en forma cristalina.

En otra realización, la invención proporciona una composición que contiene tartrato de isofagomina, preferiblemente al menos 50%, preferiblemente 90%, y aún más preferiblemente, 99%. La invención proporciona también una composición que contiene al menos 90% o más de tartrato de isofagomina en donde 90% del tartrato de isofagomina tiene un tamaño de partícula de 1200 μm .

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que contiene tartrato de isofagomina y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, la invención proporciona un método para la preparación de un tartrato de isofagomina. se proporciona también Un método para preparar un tartrato de isofagomina altamente purificado.

Todavía en otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher.

En otra realización, la invención proporciona la sal del ácido L-(+)-tartárico de isofagomina. La invención proporciona también un complejo de ácido tartárico e isofagomina.

En otra realización, la invención proporciona una forma cristalina de tartrato de isofagomina que tiene un patrón de difracción de rayos x en polvo que incluye cinco o más picos de los picos siguientes: (2 theta) $9,29 \pm 0,009$, $14,17 \pm 0,009$, $16,34 \pm 0,009$, $18,07 \pm 0,009$, $18,72 \pm 0,009$, $19,44 \pm 0,009$, $20,56 \pm 0,009$, $22,13 \pm 0,009$, $23,01 \pm 0,009$, $25,54 \pm 0,009$ y $27,12 \pm 0,009$. Más preferiblemente, el patrón de rayos x incluye los picos siguientes: (2 theta) $9,29$, $14,17$, $16,34$, $18,07$, $18,72$, $19,44$, $20,56$, $22,13$, $23,01$, $24,54$, y $27,12$. La forma cristalina puede tener un patrón de difracción de rayos x en polvo que es sustancialmente el mismo que el patrón que se muestra en Fig. 5, y 27.12. Aún más preferiblemente, la forma cristalina tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo que es sustancialmente el mismo que el patrón que se muestra en Fig. 5.

Breve descripción de los dibujos

Fig. 1 muestra un espectro de masas que utiliza ESI positiva para tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

Fig. 2 muestra un ^1H NMR en D_2O de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

Fig. 3 muestra un ^{13}C NMR en D_2O de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

Fig. 4 muestra un ^{13}C NMR espín-eco en D_2O de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

5 Fig. 5 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

Fig. 6 muestra un análisis termogravimétrico (TGA) de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

10 Fig. 7 muestra un espectro infrarrojo de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

15 Fig. 8A muestra un ^1H NMR (D_2O) de la sal L-(+)-tartrato de isofagomina (2:1) preparada de acuerdo con una realización de la presente invención.

Fig. 8B muestra un ^1H NMR (D_2O) de la sal D-(-)-tartrato de isofagomina (2:1) preparada de acuerdo con una realización de la presente invención.

20 Fig. 8C muestra un ^1H NMR (D_2O) de la sal D-(-)-tartrato de isofagomina (1:1) preparada de acuerdo con una realización de la presente invención.

Fig. 9 muestra los resultados de tartrato de IFG sobre la actividad de GCasa de individuos sanos.

25 Fig. 10 muestra el resultado de un análisis de distribución de tamaños de partícula de isofagomina preparada de acuerdo con una realización de la presente invención.

Descripción detallada

30 Los términos utilizados en esta memoria descriptiva tienen generalmente sus significados ordinarios en la técnica, dentro del contexto de esta invención y en el contexto específico en el que se utiliza cada término. Ciertos términos se exponen a continuación o en otro lugar en la memoria descriptiva para proporcionar orientación adicional al experto en la descripción de las composiciones y métodos de la invención, así como para la fabricación y uso de los mismos.

35 El término "enfermedad de Gaucher" incluye Tipo 1, Tipo 2 y Tipo 3 (con inclusión de 3a, 3b y 3c), así como compuestos intermedios y subgrupos de los mismos basados en manifestaciones fenotípicas.

40 Los términos "cantidad eficaz" y "eficaz en cantidad" se refieren a la cantidad que es suficiente para dar como resultado una respuesta terapéutica. Una respuesta terapéutica puede ser cualquier respuesta que un usuario (v.g., un médico de clínica) reconocerá como una respuesta eficaz a la terapia, con inclusión de mejoras en los síntomas anteriores y los marcadores clínicos sustitutos. Así, una respuesta terapéutica será generalmente una mejora de uno o más síntomas de la enfermedad de Gaucher, v.g. mejora de la neurodegeneración progresiva en los pacientes de Gaucher de los Tipos 2 y 3. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo de la formulación utilizada, el tipo de enfermedad de Gaucher y su gravedad, así como de la edad, peso, estado físico y la capacidad de respuesta del mamífero a tratar. Una respuesta terapéutica será también una mejora de uno o más síntomas de la enfermedad de Parkinson, u otras α -sinucleinopatías tales como la demencia de cuerpos de Lewy, para cuyo tratamiento se contempla el tartrato de isofagomina.

50 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que son fisiológicamente tolerables y no producen típicamente reacciones adversas a un nivel inaceptable cuando se administran a un humano. Preferiblemente, como se utiliza en esta memoria, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o del gobierno del estado o enumerada en la farmacopea de los EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en humanos.

55 El término "portador", aplicado a las composiciones farmacéuticas de la invención, hace referencia a un diluyente, excipiente, o vehículo con el cual se administra el tartrato de isofagomina. La elección del portador puede seleccionarse con relación a la ruta de administración propuesta y la práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como - o además del - portador cualesquiera aglomerantes, lubricantes, agentes de suspensión, agentes de recubrimiento, y agentes solubilizantes adecuados. Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua, soluciones salinas, soluciones acuosas de dextrosa, soluciones acuosas de glicerol, y aceites, con inclusión de los de origen petrolífero, animal, vegetal, o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, y aceite de sésamo. Portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Science" por E.W. Martin, edición 18^a. En una realización particularmente preferida de la presente invención, el portador es adecuado para liberación inmediata, v.g., liberación de la mayor parte o la tota-

lidad del ingrediente activo en un periodo de tiempo corto, tal como 60 minutos o menos, y que hace posible la absorción rápida del fármaco.

5 Un "portador farmacéuticamente aceptable" quiere decir un portador que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica, y no indeseable desde el punto de vista biológico ni desde ningún otro, e incluye un excipiente que es aceptable para uso farmacéutico. Un "portador farmacéuticamente aceptable" como se utiliza en la presente solicitud incluye tanto uno como más de uno de tales portadores.

10 La expresión "grupo protector de hidroxilo" hace referencia a cualquier grupo protector común para hidroxilo a fin de evitar reacciones no deseadas, tal como, pero sin carácter limitante, metoximetilo, 4-metoxibencilo, bencilo, dimetilsopropilsililo, trimetilsililo, y alquil-carbonilo.

15 El término "individuos" se refiere a mamíferos, preferiblemente humanos, animales domésticos, roedores o primates, y muy preferiblemente humanos.

20 Un "individuo en necesidad de tratamiento" es un individuo que ha contraído, o es propenso a contraer, la enfermedad de Gaucher o una α -sinucleinopatía tal como enfermedad de Parkinson. En una realización, el individuo es un miembro de la población de judíos Ashkenazi al que se ha diagnosticado o que ha sido identificado como individuo que presenta un riesgo incrementado de contraer enfermedad de Gaucher debido a mutaciones heredadas en el gen *Gba*. Sin embargo, el término "individuo" abarca cualquier persona en cualquier parte del mundo que haya contraído o que se encuentre en riesgo genético de contraer la enfermedad de Gaucher, o que se encuentre en riesgo de contraer una α -sinucleinopatía tal como enfermedad de Parkinson.

25 Como se utiliza en esta memoria, el término "intensificación" de la actividad de GCasa significa estabilización de una conformación de una proteína GCasa mutante en el ER de tal modo que la misma i) se pliega en una conformación que la permite salir del ER, dando como resultado niveles incrementados de GCasa en el ER, y/o ii) consigue su localización nativa en la célula, y/o iii) exhibe actividad catabólica frente al cerebrósido, su sustrato lipídico. Este término hace referencia también a la intensificación o la prolongación de la actividad de una proteína GCasa administrada exógenamente, es decir, por intensificación de la estabilidad y prolongación de la semi-vida de la GCasa in vivo, prolongando así su actividad.

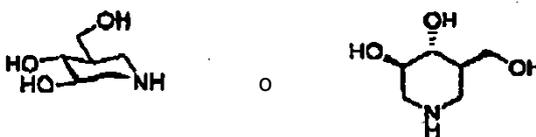
30 La expresión "sustancialmente puro", como se utiliza en esta memoria, significa que la sal de isofagomina contiene no más de aproximadamente 5% de otro compuesto. Con preferencia, la sal de isofagomina "sustancialmente pura" contiene aproximadamente 2% o menos de cualquier otro compuesto. De modo aún más preferible, la sal de isofagomina "sustancialmente pura" contiene aproximadamente 1% o menos de cualquier otro compuesto.

35 Los términos "alrededor de" y "aproximadamente" significarán por regla general un grado de error aceptable en la cantidad medida, dada la naturaleza o precisión de las medidas. Grados típicos ilustrativos de error están comprendidos dentro de 20% (%), con preferencia dentro de 10%, y más preferiblemente dentro de 5% de un valor o una gama de valores dados. Alternativamente, y en particular en los sistemas biológicos, los términos "alrededor de" y "aproximadamente" pueden significar valores que están dentro de un orden de magnitud, preferiblemente dentro de diez o cinco veces, y más preferiblemente dentro de dos veces de un valor dado. Las cantidades numéricas dadas en esta memoria son aproximadas a no ser que se indique otra cosa, lo que significa que el término "alrededor de" o "aproximadamente" puede inferirse cuando no se indica expresamente.

40 Como se utilizan en esta memoria, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen el plural a no ser que el contexto indiqué claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia "un" portador incluye uno o más portadores.

45 De acuerdo con la presente invención, se proporciona una forma específica de isofagomina, tartrato de isofagomina. El tartrato de isofagomina tiene muchas características mejoradas comparado con las formas de isofagomina descritas previamente. Por ejemplo, el tartrato de isofagomina es más fácilmente purificable, especialmente en disolventes tales como agua y/o etanol, y tiene mayor estabilidad que otras formas salinas de isofagomina conocidas. El tartrato de isofagomina es particularmente adecuado para producción en escala industrial, v.g., producción de más de un kilogramo del producto.

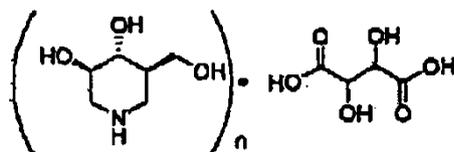
50 La isofagomina es (3*R*,4*R*,5*R*)-5-(hidroximetil)-3,4-piperidinadiol, teniendo la estructura química siguiente:



60 La misma tiene una fórmula molecular de $C_6H_{13}NO_3$ y un peso molecular de 147,17 g/mol; la síntesis de este compuesto se describe en las Patentes U.S. 5.844.102 concedida a Sierks et al. y 5.873.903 concedida a Lundgren et al.

La Patente 102 expone que los compuestos descritos en ella pueden combinarse con sales farmacéuticamente aceptables, con inclusión de sales de ácidos orgánicos carboxílicos tales como los ácidos acético, láctico, tartárico, málico, isetiónico, lactobiónico y succínico. No obstante, la única sal ilustrada en esta Patente (y en la bibliografía subsiguiente de la que es conocedora la solicitante) es la sal hidrocioruro. Como se describe en esta memoria, la sal hidrocioruro no es adecuada para producción industrial o para formulación en formas de dosificación.

El término "tartrato de isofagomina" utilizado en esta memoria significa una sal de ácido tartárico de isofagomina y puede representarse como sigue:



en donde n es 1 ó 2. El ácido tartárico podría tener diferentes formas estereoisómeras; ácido D-L-tartárico, o ácido DL- o *meso*-tartárico. La presente invención, así como los ejemplos, se describen principalmente con referencia al ácido L-(+)-tartárico como una realización preferida y a la sal de isofagomina del mismo. Sin embargo, debe considerarse que el término ácido tartárico abarca ambos isómeros D y L así como una mezcla DL y ácido *meso*-tartárico, y por consiguiente debe entenderse que el término tartrato de isofagomina incluye L-tartrato de mono- o di-isofagomina, D-tartrato de mono- o di-isofagomina, DL-tartrato de mono- o di-isofagomina y/o *meso*-tartrato de mono- o di-isofagomina. El ácido L-tartárico es ácido (2*R*,3*R*)-(+)-tartárico con enriquecimiento enantiomérico de 97% o mayor, y el ácido D-tartárico es (2*S*,3*S*)-(-)-tartárico con enriquecimiento enantiomérico de 97% o mayor. El ácido DL-tartárico es una mezcla de ácido D-tartárico y L-tartárico con enriquecimiento enantiomérico inferior a 97%.

El tartrato de isofagomina puede prepararse a partir de isofagomina base libre disuelta en alcohol, preferiblemente etanol, y tratada con los ácidos carboxílicos sustituidos, con inclusión de aminoácidos, ácidos di-carboxílicos, o ácido tartárico, con inclusión de ácidos diacil-tartáricos, en alcohol, preferiblemente etanol, con agitación a la temperatura ambiente. La sal del ácido precipita de la solución etanólica. La sal de ácido tartárico de isofagomina bruta se recoge por filtración. La solución de isofagomina puede pre-filtrarse para eliminar cualesquiera impurezas particuladas antes de añadir el ácido.

Después de la adición del ácido, la suspensión resultante puede enfriarse para precipitación completa de la sal.

En otra realización, la sal ácida de isofagomina de la presente invención puede prepararse por adición de un ácido carboxílico o ácido tartárico sustituido a una solución en la que se prepara isofagomina in situ sin aislamiento de la isofagomina.

Alternativamente, la sal ácida de isofagomina de la presente invención puede prepararse a partir de una sal de un ácido mineral de isofagomina tal como hidrocioruro de isofagomina. La conversión puede realizarse por generación de isofagomina y tratamiento subsiguiente de la base libre con un ácido carboxílico sustituido. Por ejemplo, la isofagomina base libre puede formarse por tratamiento con la sal hidrocioruro de una fuente básica tal como una base mineral, amoníaco gaseoso o soluciones acuosas de hidróxido de amonio, o por exposición de la misma a una resina básica sobre un soporte sólido o una columna de resina básica. Cuando se utiliza una resina básica, la columna de resina puede eluirse con agua, hidróxido de amonio acuoso o hidróxido de amonio en un alcohol tal como metanol, etanol, IPA, y análogos para proporcionar la isofagomina base libre, que puede convertirse en la sal ácida de isofagomina de la presente invención.

Dado que el ácido tartárico es un diácido, la conversión en la sal de ácido tartárico puede realizarse con una gama de ratios de ácido a base: 0,5 equivalentes molares hasta 1 equivalente molar de ácido tartárico con relación a la isofagomina base libre. El ácido tartárico puede ser racémico (la forma D o L) o una de las tres formas estereoisómeras, la forma L-(+), la forma D-(-), y la forma *meso*. Condiciones preferidas para la producción de la sal tartrato utilizan solución de hidróxido de amonio para generar la base libre, 9:1 etanol/hidróxido de amonio para eluir la base libre en una columna de gel de sílice, evaporación del disolvente y exceso de hidróxido de amonio, formación de la sal tartrato en agua/etanol, y cristalización a partir de agua/etanol.

La isofagomina y el ácido tartárico pueden combinarse en una gama de estequiometrías. Dado que el ácido tartárico es un diácido, ratios molares de 2:1 a 1:1 IFG/ácido tartárico proporcionan sales estables (véase el Ejemplo 3). La ratio preferida es 1:1. La gama de estequiometría es aplicable a todos los isómeros del ácido tartárico.

La sal ácida de isofagomina puede purificarse utilizando la mayoría de los métodos de purificación utilizados comúnmente, con preferencia recristalización. Por ejemplo, el tartrato de isofagomina bruto puede recristalizarse en agua con y sin ayuda de un co-disolvente prótico o aprótico, preferiblemente alcoholes tales como, por ejemplo, metanol, etanol, propanoles o butanoles. La re-cristalización puede conducirse eficazmente no sólo a pequeña esca-

la, sino también a escala industrial, v.g. cantidades inferiores al kilogramo. La Tabla 1 resume las purezas y rendimientos de varios ejemplos preparados y purificados de acuerdo con la presente invención.

Tabla 1

Muestra No.	Pureza (%)	Rendimiento (g)
1	>98	5
2	>98	15
3	96,8	55
4	84,5	45
5	95-9	40
6	87,4	71
7	94,6	45
8	95,6	343
9	95,8	851
10	99,8	14
11	98,1	134
12	97,6	128
13	99,0	72
14	99,3	116
15	99,5	57
16	98,0	1368

5

En una realización preferida, el tartrato de isofagomina bruto se disuelve en agua, y se añade una cantidad igual de etanol a la solución resultante para realizar la purificación del compuesto. Se añade luego etanol adicional (1 volumen) y se agita. Este procedimiento se repite para dos partes alícuotas adicionales de etanol, a fin de dar una ratio etanol/agua de aproximadamente 4:1. Aunque la mayor parte del tartrato de isofagomina cristalizará después de la adición del primer volumen de etanol, pueden utilizarse partes alícuotas adicionales para maximización del rendimiento. Después de la recristalización, se filtran y se lavan los sólidos. La purificación completa puede realizarse a la temperatura ambiente. El tartrato de isofagomina puede purificarse con este método hasta una pureza de aproximadamente 99% o más. Así, el tartrato de isofagomina de acuerdo con una realización de la presente invención tiene una pureza de 95% o mayor, preferiblemente 98% o mayor, o más preferiblemente aún, 99% o mayor.

10

15

El tartrato de isofagomina puede purificarse también utilizando otros disolventes o sistemas disolventes tales como 1:1 etanol/agua, 1:1 acetona/agua, 2:1 etanol/agua, 2:1 acetona/agua, o 3:1 etanol/agua. Puede utilizarse también carbón vegetal activado para eliminar cualesquiera impurezas coloreadas. Todos estos disolventes pueden proporcionar purezas de aproximadamente 95%, y la mayoría de ellos han proporcionado purezas mayores que 98%.

20

La facilidad de purificación del tartrato de isofagomina puede demostrarse por comparación de la purificación con la purificación de la sal HCl de isofagomina en una solución acuosa, que requiere liofilización. Los intentos de filtrar el hidrocloreto de isofagomina dieron como resultado una sustancia que tenía una coloración amarilla y la consistencia de la cola. Mientras tanto, el tartrato de isofagomina de acuerdo con la presente invención tiene características de polvo satisfactorias, v.g., tamaño de cristal, densidad y fluidez, que son adecuadas para un proceso farmacéutico de fabricación. Las Tablas 2 y 3 resumen las características del polvo de una muestra de tartrato de isofagomina preparada de acuerdo con la presente invención. El tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con la presente invención no es un polvo fino sino que contiene una proporción abundante de partículas de tamaño medio con densidad aparente del orden de 0,44 g/ml y un índice Carr de 15%, que posee por tanto alta fluidez y propiedad de manipulación fácil adecuada para un proceso farmacéutico de fabricación. El tartrato de isofagomina obtenido de acuerdo con el proceso de re-cristalización anterior exhibe también consistencia en su distribución de tamaños de partícula lote a lote, con un entorno con respecto a la línea base que cae entre 0,7 y 1,5, evitando así partículas de gran tamaño, que pueden ser perjudiciales para la dosificación exacta de la sal durante el proceso de formulación. La mayoría de los lotes proporcionaban más de 98%, o como mínimo 90%, de tartrato de isofagomina con un tamaño de partícula de aproximadamente 1200 µm o menor.

25

30

35

Tabla 2

Análisis de Tamizado	% Retenido
40	0,6
60	15,5
80	49,2
120	28,4
200	5,9
325	0,4
>325	0,0

5

Tabla 3

Densidad Aparente	0,44 g/ml
Densidad con Vibración	0,52 g/l
Índice de Carr	15 %
Entorno de variación respecto a la línea base para 11 lotes (entorno medio)	0,79 -1,53 (1,18)

10

Adicionalmente, el tartrato de isofagomina no es higroscópico, y la absorción de humedad por el mismo era sólo aproximadamente 0,08% después de exposición a 75% de humedad relativa durante ocho días. Los resultados del test de absorción de humedad de seis muestras diferentes de tartrato de isofagomina preparadas de acuerdo con la presente invención se resumen en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4. Estudios de absorción de humedad con solución saturada de NaBr

	0 horas	24 horas	48 horas	8 días
RH	60%	59 %	59%	59%
Temperatura (°C)	19,4	20,5	20,8	20,2
Muestra No.	Aumento de peso (%)			
1	NA	0,06	0,04	0,06
2	NA	0,00	0,02	0,07
3	NA	0,05	0,10	0,10
Aumento medio de peso (%)	NA	0,04	0,05	0,08

15

Tabla 5. Estudios de la absorción de humedad con solución saturada de NaCl

	0 horas	24 horas	48 horas	8 días
RH	72%	72%	71%	72%
Temperatura (°C)	19.5	20.5	20.8	20.2
Muestra No.	Aumento de peso (%)			
1	NA	0.02	0.05	0.10
2	NA	0.00	0.00	0.00
3	NA	0.08	0.8	0.15
Aumento medio de peso (%)	NA	0.04	0.05	0.08

El método para preparación de tartrato de isofagomina de la presente invención es por consiguiente adecuado para preparar una cantidad al por mayor de tartrato de isofagomina para composiciones farmacéuticas. La cantidad al por mayor de tartrato de isofagomina preparada de acuerdo con la intención puede prepararse como una forma ligeramente bruta que tiene una pureza de aproximadamente 80% dependiendo del propósito de la preparación. Sin embargo, el mismo podría prepararse también con tanta pureza como 90% o más, preferiblemente al menos 99% con el tamaño de partícula de aproximadamente 1200 μm o menor para el 90% del tartrato de isofagomina.

Puede utilizarse HPLC para determinar tanto la potencia de la sal ácida de isofagomina de la presente invención como la presencia de impurezas orgánicas. La detección por UV de baja longitud de onda es menos adecuada para el cálculo de la potencia frente a un estándar de referencia. Un experto en la técnica puede determinar las condiciones apropiadas para el análisis HPLC dependiendo de la concentración de la muestra, los tipos de columna, disolventes, etc. No obstante, se proporcionan las condiciones siguientes como ejemplo para tartrato de isofagomina: la fase móvil puede ser carbonato de amonio 10 mM (NH_4HCO_3)/acetonitrilo (CAN) 30/70 en modo isocrático a un caudal de 0,5 ml/min; la columna HPLC puede ser una columna Alltech Prevail Carbohydrate (4,6 x 150 mm, tamaño de partícula 5 μm) que opera a 50°C; la detección puede ajustarse a 210 nm con un tiempo de realización de 15 minutos; y las muestras de la sustancia fármaco pueden disolverse en la fase móvil con un volumen de inyección de 10 μl .

Puede utilizarse un detector de aerosoles cargado (CAD) para la detección de impurezas. Las muestras pueden analizarse también utilizando detección evaporativa de dispersión de la luz (ELSD) y detección UV. El detector CAD utiliza tecnología evaporativa para desolvatar los analitos en presencia de gas portador N_2 . Una chispa coronal imparte una carga al gas N_2 , que transfiere la carga a los analitos. Los analitos se detectan a medida que transfieren su carga a un electrómetro y se miden en forma de corriente. Cuando se utiliza el detector CAD, la fase móvil puede ajustarse a acetato de amonio 5 mM/CAN 50/50 en modo isocrático a un caudal de 1,0 ml/min con una columna HPLC Primesep 100 (4,6 x 150 mm, tamaño de partícula 5 μm) que opera a 25°C. Las muestras de la sustancia fármaco se preparan en la fase móvil, y puede utilizarse un volumen de inyección de 10 μl . El tiempo de ejecución para este método es aproximadamente 70 minutos. Las impurezas se determinan utilizando una secuencia de inyección alta/baja donde la muestra se cuantifica contra el estándar de referencia al 1% de la concentración nominal de la muestra.

La identificación de la sal ácida de isofagomina de la presente invención puede realizarse utilizando FT-IR y confirmarse ulteriormente por ^1H NMR y ^{13}C NMR. Las figuras 2-5 muestran los espectros ^1H , ^{13}C NMR, e IR de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención. Los disolventes residuales pueden monitorizarse por cromatografía del espacio gaseoso de cabeza (GC). El agua, el residuo de ignición, y los metales pesados se monitorizan por técnicas estándar rápidas. El paladio se monitoriza por espectroscopia ICP, dado que es el catalizador utilizado en el paso de hidrogenación final.

La figura 6 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de tartrato de isofagomina preparado de acuerdo con una realización de la presente invención. El patrón se obtuvo utilizando un difractómetro Bruker D8 Advance, y el análisis se realizó desde 2 a 45° 2-theta utilizando las condiciones siguientes:

Rendija de divergencia	0,6 mm	Rendija anti-dispersión	0,6 mm
Rendija de recepción	0,1 mm	Rendija del detector	0,6 mm
Tamaño de escalón	0,02°	Tiempo de escalón	5 segundos

Aunque un difractograma de rayos X en polvo es útil para identificar una forma sólida particular de un compuesto, es decir, formas polimórficas, sus valores 2-theta, así como su intensidad y sus distancias d pueden variar debido a las variaciones causadas durante la preparación de la muestra o la obtención del patrón. Asimismo, es posible cierto margen de error en la alineación de 2-theta y las distancias d. Los valores 2-theta tienen una variación de $\pm 0,009$. Así pues, un método preferido de comparación de los patrones de difracción de rayos x en polvo a fin de identificar una forma cristalina particular consiste en superponer el patrón de difracción de rayos X en polvo de la forma desconocida sobre el patrón de difracción de rayos x de una forma conocida y comparar sus picos característicos. No obstante, los valores 2-theta, las distancias d, la intensidad y el porcentaje de intensidad de la Figura 6 se resumen en la Tabla 6. En la determinación de la existencia de la forma cristalina de la presente invención en una composición, puede compararse cinco o más picos distintivos o los identificados en la tabla 6. Los picos más distintivos incluyen 9,29, 14,17, 16,34, 18,07, 18,72, 19,44, 20,56, 22,13, 23,01, 24,54, y 27,12.

Tabla 6

Ángulo (2-Theta °)	Valor d (Å)	Intensidad (Cuentas)	% Intensidad (%)
9,29	9,5093	131	23,3
14,17	6,24684	129	22,8
16,34	5,42037	155	27,6
18,07	4,90414	330	58,5
18,72	4,73704	563	100
19,44	4,56252	165	29,3
20,56	4,31573	212	37,5
22,13	4,01417	338	60
23,01	3,86164	111	19,8
24,54	3,62444	210	37,2
27,57	3,23301	276	49

5 La sal ácida de isofagomina de la presente invención puede administrarse en una forma adecuada para cualquier ruta de administración, con inclusión, v.g., de la ruta oral en forma de tabletas, cápsulas o líquido o, en solución acuosa estéril para inyección. La misma puede administrarse por vía oral en la forma de tabletas, cápsulas, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, geles, jarabes, enjuagues bucales, o en forma de un polvo seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su utilización, opcionalmente con agentes saborizantes y colorantes para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, prolongada, pulsada o controlada. Pueden utilizarse también composiciones sólidas tales como tabletas, cápsulas, rótulas, pastillas, píldoras, bolos, pastas, gránulos, balas, o preparaciones de pre-mezcla. Pueden prepararse composiciones sólidas y líquidas para uso oral de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Tales composiciones pueden contener también uno o más vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables, que pueden encontrarse en forma sólida o líquida. En una realización específica, el tartrato de isofagomina se administra como una cápsula llena de polvo. Cuando el compuesto se formula para administración oral, las tabletas o cápsulas pueden prepararse por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como aglomerantes (v.g., almidón de maíz pre-gelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil-metilcelulosa); cargas (v.g., lactosa, celulosa microcristalina o fosfato de calcio); lubricantes (v.g., estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (v.g., almidón de patata o almidón-glicolato de sodio); o agentes humectantes (v.g., lauril- sulfato de sodio). Las tabletas pueden estar recubiertas por métodos bien conocidos en la técnica.

25 Los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen también celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico, y glicina. Desintegrantes tales como almidón (preferiblemente almidón de maíz, de patata o de tapioca), almidón-glicolato de sodio, croscarmelosa sódica y ciertos silicatos complejos, así como aglomerantes de granulación tales como polivinilpirrolidona, hidroxipropil-etilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, gelatina, y goma arábiga. Adicionalmente, pueden incluirse agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.

30 Pueden emplearse también composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina. Excipientes preferidos a este respecto incluyen lactosa, almidón, una celulosa, azúcar de leche, o polietilen-glicoles de peso molecular alto. Para suspensiones acuosas y/o elixires, el agente puede combinarse con diversos agentes emulsionantes y/o agentes de suspensión y con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol y glicerina, y combinaciones de los mismos.

35 Las preparaciones líquidas para administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado (por ejemplo, etanol o un poliol tal como glicerol, propilenglicol, y polietilen-glicol, y análogos, mixturas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales) antes de su utilización. Tales preparaciones líquidas pueden prepararse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (v.g., agua, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa, o grasas hidrogenadas comestibles); agentes emulsionantes (v.g., lecitina o goma arábiga); vehículos no acuosos (v.g., aceite de almendras, ésteres aceitosos, alcohol etílico, o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (v.g., p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo, o ácido sórbico). Las preparaciones para administración oral pueden formularse convenientemente para proporcionar una liberación controlada o prolongada de la sal ácida de isofagomina de la presente mención.

La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, por el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y por el uso de agentes tensioactivos. La prevención de la acción de los micro-organismos puede lograrse por diversos agentes anti-bacterianos y anti-fúngicos, por ejemplo, parabenes, clorobutanol, fenol, alcohol bencílico, ácido sórbico y análogos. En muchos casos, será razonable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse por el uso en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo monoestearato de aluminio, y gelatina.

Las formulaciones farmacéuticas de tartrato de isofagomina adecuadas para uso parenteral/inyectable (por ejemplo, por inyección o infusión intravenosa de bolus o por vía intramuscular, subcutánea o intratecal) incluyen generalmente soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El tartrato de isofagomina puede presentarse en formas de dosis unitarias, en ampollas, u otros envases de dosis unitarias, o en envases multi-dosis, en caso necesario con un conservante añadido. Las composiciones para inyección pueden encontrarse en la forma de suspensiones, soluciones o emulsiones, en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizadores, solubilizantes, y/o agentes dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede encontrarse en la forma de polvo estéril para reconstitución con un vehículo adecuado, v.g., agua estéril y exenta de pirógenos, antes de su utilización. En todos los casos, la forma tiene que ser estéril y debe ser fluida en tal grado que exista susceptibilidad fácil de aplicación mediante jeringuilla. La misma tiene que ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. La preparación de formulaciones parenterales adecuadas en condiciones estériles se realiza fácilmente por métodos farmacéuticos estándar bien conocidos por los expertos en la técnica.

Las soluciones estériles inyectables se preparan por incorporación de tartrato de isofagomina en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes arriba enumerados, en caso requerido, seguido por filtración o esterilización terminal. Generalmente, las dispersiones se preparan por incorporación de los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los arriba enumerados. En el caso de polvos estériles para preparación de soluciones estériles inyectables, los métodos de preparación preferidos son secado a vacío y la técnica de liofilización que proporcionan un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de la solución previamente filtrada en condiciones estériles del mismo.

Pueden proporcionarse en la composición farmacéutica conservantes, estabilizadores, colorantes, e incluso agentes saborizantes. Ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido ascórbico, y ésteres del ácido p-hidroxibenzoico. También pueden utilizarse antioxidantes y agentes de suspensión.

Vehículos adicionales farmacéuticamente aceptables que pueden incluirse en la formulación son tampones tales como tampón citrato, tampón fosfato, tampón acetato, y tampón bicarbonato, aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico, fosfolípidos, proteínas, tales como sero-albúmina, colágeno, y gelatina; sales como EDTA o ECTA, y cloruro de sodio; liposomas; polivinilpirrolidona; azúcares tales como dextrano, manitol, sorbitol, y glicerol; propilenglicol y polietilenglicol (v.g., PEG-4000, PEG-6000); glicerol, glicina, u otros aminoácidos y lípidos. Sistemas tampón para uso con las formulaciones incluyen tampones citrato, bicarbonato y fosfato. El tampón fosfato es una realización preferida.

Las formulaciones pueden contener también un detergente no iónico. Detergentes no iónicos preferidos incluyen Polisorbato 20, Polisorbato 80, Triton X-100, Triton X-114, Nonidet P-40, octil- α -glucosido, octil- β -glucosido, Brij 35, Pluronic, y Tween 20.

Las rutas para administración (suministro) incluyen, pero sin carácter limitante, una o más de ruta oral (v.g., en forma de tableta, cápsula, o como solución ingerible), tópica, mucosal (v.g. como pulverización nasal o aerosol para inhalación), nasal, parenteral (v.g., por una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutánea, oftálmica (con inclusión de las rutas intravítrea o intracameral), transdérmica, rectal, bucal, epidural y sublingual.

La administración de las formulaciones parenterales arriba descritas de tartrato de isofagomina puede realizarse por inyecciones periódicas de un bolus de la preparación, o las mismas pueden administrarse por administración intravenosa o intraperitoneal desde un depósito que es externo (v.g. una bolsa i.v.) o interno (v.g. un implante bioerosionable). Véanse, v.g., las Patentes U.S. Núms. 4.007.957 y 5.798.113, incorporadas ambas en esta memoria por referencia. Se describen métodos y aparatos de suministro intrapulmonar, por ejemplo, en las Patentes U.S. Núms. 5.654.007, 5.780.014 y 5.814.607, incorporadas cada una de ellas en esta memoria por referencia. Otros sistemas útiles de suministro parenteral incluyen partículas de copolímeros etileno-acetato de vinilo, bombas osmóticas, sistemas implantables de infusión, suministro mediante bomba, suministro de células encapsuladas, suministro de liposomas, inyección suministrada mediante aguja, inyección sin aguja, nebulizador, aerosolizador, electroporación, y parche transdérmico. Dispositivos de inyección sin aguja se describen en las Patentes U.S. Núms. 5.879.327,

5.520.639, 5.846.233 y 5.704.911, cuyas memorias descriptivas se incorporan aquí por referencia. Cualquiera de las formulaciones arriba descritas puede administrarse utilizando estos métodos.

5 Adicionalmente, una diversidad de dispositivos diseñados para conveniencia del paciente, tales como plumas de inyección rellenables, y dispositivos de inyección sin aguja pueden utilizarse con las formulaciones de la presente invención como se expone en esta memoria.

10 Típicamente, un médico determinará la dosificación real que sea la más adecuada para un paciente individual y proporcionará una cantidad terapéuticamente eficaz al individuo. El nivel específico de dosis y la frecuencia de dosificación para cualquier individuo particular pueden modificarse y dependerán de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto, el tipo de enfermedad de Gaucher a tratar, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo, la dieta, el modo y tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad de la enfermedad, y el individuo sometido a terapia. Para administración oral y parenteral, el nivel diario de dosificación del agente puede administrarse en dosis simples o divididas. Preferiblemente, la cantidad o dosis eficaz de la sal ácida de isofagomina de la presente invención es suficiente para aumentar el nivel de expresión de la glucocerebrosidasa mutante, v.g., hasta aproximadamente 3-5%, con preferencia aproximadamente 10% y de modo más preferible aproximadamente 30% del nivel encontrado en las células normales, es decir, células de un individuo que no sufre enfermedad de Gaucher y/o puede mejorar o prevenir un déficit clínicamente significativo de actividad de GCasa en el individuo.

15 La cantidad eficaz puede determinarse a menudo por experimentación de rutina, pero se espera que sea una cantidad que dé como resultado niveles en suero comprendidos entre 0,01 y 100 μM , con preferencia entre 0,01 y 10 μM , muy preferiblemente entre 0,05 y 2 μM . Se espera que la dosis eficaz de tartrato de isofagomina esté comprendida entre 0,5 y 1000 mg/kg de peso corporal por día, preferiblemente entre 0,5 y 100, muy preferiblemente entre 1 y 50 mg/kg de peso corporal al día. En una realización específica, la dosis está comprendida entre aproximadamente 1 y 600 mg/día, más específicamente 5-300 mg/día, y más específicamente, 10-150 mg/día. Se contempla también dosificación no diaria. Otros regímenes de dosificación contemplados para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher utilizando tartrato de isofagomina se describen en la solicitud de Patente provisional U.S. 60/914.288, presentada el 27 abril 2007, que se incorpora en esta melancolía por referencia en su totalidad.

20 La monitorización terapéutica de la presente invención es aplicable también después del tratamiento de los pacientes con una combinación de tartrato de isofagomina y otra terapia tal como ERT o terapia génica. Dicha terapia de combinación se describe en las publicaciones de solicitud de Patente U.S. del mismo propietario números 2004/0180419 y 2004/0219132, las dos cuales se incorporan en esta memoria por referencia en su totalidad.

25 Cuando se utiliza la sal ácida de isofagomina de la presente invención en combinación con un segundo agente terapéutico, la dosis de cada compuesto puede diferir de empleada cuando el compuesto se utiliza solo. Dosis apropiadas serán apreciadas fácilmente por los expertos en la técnica. Se apreciará que la cantidad de un compuesto de la invención requerida para uso en el tratamiento variará con la naturaleza de la afección que se esté tratando y la edad y el estado del paciente, y estará finalmente a discreción del médico que tenga a su cargo el tratamiento.

30 Cuando la administración es secuencial, el compuesto de la invención o el segundo agente terapéutico puede administrarse en primer lugar. Cuando la administración es simultánea, la combinación puede administrarse sea en la misma composición o en composiciones farmacéuticas diferentes.

35 Cuando se combinan en la misma formulación, se apreciará que los dos compuestos tienen que ser estables y compatibles uno con otro y con los restantes componentes de la formulación. Cuando se formulan por separado, los mismos pueden proporcionarse en cualquier formulación conveniente, como se conoce para dichos compuestos en la técnica.

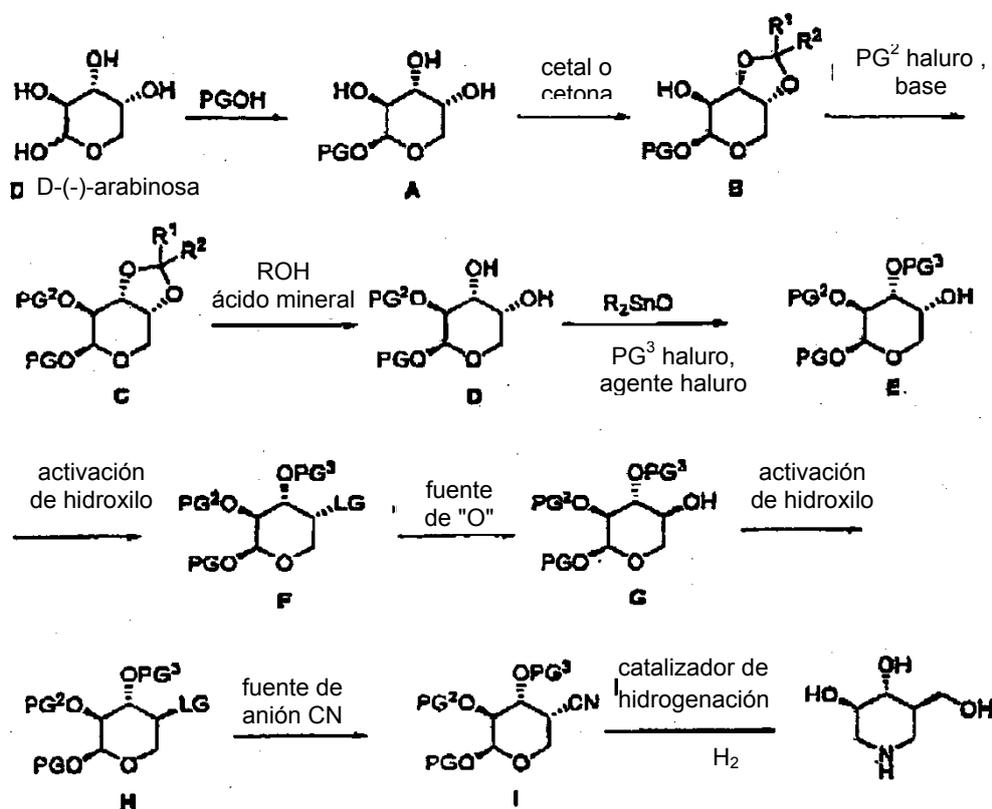
40 La isofagomina puede sintetizarse a partir de D-arabinosa a través de compuestos intermedios consignados previamente en la bibliografía por Danishefski et al. en Tetrahedron Letters, 1990; 31 (16), 2229. Sin embargo, los pasos de síntesis consignados previamente para los compuestos intermedios no son económicos para síntesis en gran escala. El proceso descrito en esta memoria permite la producción fiable y predecible de dichos compuestos intermedios (y un compuesto intermedio nuevo) y el producto final en escala industrial y con alta pureza. Esto es debido a que todos los compuestos intermedios se aíslan por cristalización, haciendo el proceso aplicable para producción en gran escala.

45 Cuando se combinan en la misma formulación, se apreciará que los dos compuestos tienen que ser estables y compatibles uno con otro y con los restantes componentes de la formulación. Cuando se formulan por separado, los mismos pueden proporcionarse en cualquier formulación conveniente, como se conoce para dichos compuestos en la técnica.

50 La isofagomina puede sintetizarse a partir de D-arabinosa a través de compuestos intermedios consignados previamente en la bibliografía por Danishefski et al. en Tetrahedron Letters, 1990; 31 (16), 2229. Sin embargo, los pasos de síntesis consignados previamente para los compuestos intermedios no son económicos para síntesis en gran escala. El proceso descrito en esta memoria permite la producción fiable y predecible de dichos compuestos intermedios (y un compuesto intermedio nuevo) y el producto final en escala industrial y con alta pureza. Esto es debido a que todos los compuestos intermedios se aíslan por cristalización, haciendo el proceso aplicable para producción en gran escala.

55 La isofagomina puede sintetizarse también por la ruta de síntesis que se muestra en el esquema I.

60



Esquema I. PG es un grupo protector; LG es un grupo lábil

5 La D-arabinosa puede convertirse en el glicosido protegido correspondiente (A) utilizando un alcohol apropiado con o sin disolvente (reacción en estado puro), y un agente de activación. Por ejemplo, la gama de alcoholes puede incluir alcohol bencílico, o alcoholes bencílicos sustituidos tales como alcohol metoxibencílico, alcohol clorobencílico, metanol, etanol, isopropanol, alcohol ciclohexilmetílico, y análogos en un disolvente tal como cloruro de metileno, cloroformo, THF, dioxano, DMF, DMA, o NMP, con un agente de activación tal como HCl, HBr, H₂SO₄, o algún otro

10 ácido mineral, o cloruro de acetilo, cloruro de propionilo, u otro cloruro de ácido de un ácido carboxílico. La reacción puede realizarse a temperaturas que van desde la temperatura ambiente hasta aproximadamente 100°C, durante tiempos comprendidos entre 2 y 48 horas. Para esta invención, los alcoholes preferidos son alcohol bencílico o alcoholes bencílicos sustituidos, siendo más preferido el alcohol bencílico. Disolventes preferidos incluyen dioxano, THF, o reacción en estado puro, y es más preferida la reacción en estado puro. Agentes de activación preferidos incluyen cloruro de acetilo y H₂SO₄, y es más preferido el cloruro de acetilo. El producto puro puede aislarse fácilmente por precipitación con un disolvente no polar. El disolvente y la temperatura preferidos para este producto son metil-t-butil-éter a la temperatura ambiente.

20 El glicosido de fórmula general A obtenido puede protegerse ulteriormente como un acetónido en los grupos hidroxilo de las posiciones 3 y 4 por conversión de (A) en cetal (B) con una cetona o un dimetilcetal, o enoléter del mismo, en presencia de un ácido, con o sin (neto) un co-disolvente polar. Por ejemplo, cetonas alifáticas o aromáticas tales como acetona, 2-butanona, benzofenona, ciclohexanona, o acetofenona o sus dialquilcetales correspondientes, pueden reaccionar con un diol vecinal en presencia de un ácido tal como H₂SO₄, ácido p-toluenosulfónico, ácido canfosulfónico, o triflato de TMS. Co-disolventes incluyen cloruro de metileno, DMSO, DMF, DMA, y MMP. En algunos casos, la cetona puede ser también el disolvente, tal como acetona. Las temperaturas de reacción pueden variar desde la temperatura ambiente hasta 100°C. Para esta reacción, las condiciones preferidas son acetona y 2,2-dimetoxipropano con ácido p-toluenosulfónico a 40°C. El producto puro puede aislarse fácilmente por cristalización con un sistema de dos componentes que incluye un componente polar y un componente no polar. Condiciones preferidas para esta purificación son acetato de etilo y heptano.

30 El acetónido (B) puede protegerse ulteriormente como un éter en el grupo 2-hidroxilo por conversión en el alcóxido correspondiente seguida por reacción subsiguiente con un agente alquilante para proporcionar un compuesto de fórmula general (C). La protección previamente consignada utilizaba bromuro de bencilo, más costoso, y óxido de plata, caro. La formación del alcóxido se realiza fácilmente con una base fuerte tal como un hidruro alcalino en un disolvente aprótico polar tal como dialquil-éteres o THF, DMF, DMA, NMP o DMSO correspondientes a PG₂. Los agentes alquilantes incluyen cloruro de bencilo o bencilo sustituido. Las temperaturas de reacción pueden variar desde -20°C a 20°C. Para esta reacción, las condiciones preferidas son hidruro de sodio en DMF para generar el

alcóxido a 0°C hasta 10°C, seguido por alquilación con cloruro de bencilo. El producto puro puede aislarse fácilmente por precipitación con agua y un lavado no polar a fin de eliminar el exceso de agua. El disolvente no polar preferido para esta purificación es heptano.

5 La eliminación del acetónido en el compuesto de fórmula general C para proporcionar un diol de fórmula general (D) se realiza con un ácido mineral diluido tal como HCl, HBr o H₂SO₄ en un alcohol tal como metanol, etanol o isopropanol, a la temperatura ambiente. Para esta reacción, las condiciones preferidas son HCl en metanol a la temperatura ambiente. El producto puro (D) puede aislarse fácilmente por precipitación con agua y un lavado no polar a fin de eliminar el exceso de agua. El disolvente no polar preferido para esta purificación es heptano.

10 Para modificación a la molécula diana se requiere la protección adicional del diol. La eterificación selectiva del 3-hidroxilo (E) puede realizarse utilizando un método direccionado por estaño en un disolvente azeotrópico que contiene agua a temperaturas de reflujo seguido por eterificación a temperaturas moderadas. Los éteres de estaño pueden formarse utilizando óxidos de dialquil- o aril-estaño (IV) tales como óxido de difenil-, dimetil-, dibutil-, diisobutil-, o dioctil-estaño en disolventes apróticos tales como benceno, tolueno, o xileno. La alquilación subsiguiente puede realizarse con haluros de alquilo o alquilarilo tales como bromuro de bencilo o cloruro de bencilo. La reacción puede acelerarse por el uso de agentes tales como CsF o cloruro de tetraetilamonio, y las temperaturas de reacción pueden variar desde la temperatura ambiente hasta 100°C. Para esta invención, el método preferido utiliza óxido de dibutilestaño en tolueno y cloruro de bencilo en presencia de cloruro de tetrabutilamonio. La purificación puede realizarse fácilmente por reacción del reactivo de estaño con agua. El producto final puede obtenerse por cristalización a partir de un sistema de dos disolventes. Los disolventes de cristalización preferidos para esta reacción son etanol y heptano.

25 El derivado de arabinosa intermedio triprotegido puede convertirse directamente en el derivado de xilosa correspondiente (G) por un sistema activado (F). Si bien se utiliza comúnmente la inversión de Mitsunobu para invertir las configuraciones de los alcoholes, y ha sido consignado para esta transformación específica, dichas condiciones son costosas en escala de fabricación. Una ruta alternativa implica la activación del hidroxilo de arabinosa en un sistema discreto y activado aislable (G) seguido por desplazamiento con inversión utilizando una fuente de oxígeno económica. La activación puede realizarse con ésteres tales como p-toluenomalonato, metanosulfonato, trifluorometanosulfonato, y análogos, formados a partir del anhídrido o cloruro de sulfonilo correspondiente en presencia de una base orgánica tal como piridina, colidina, base de Hunig, trietilamina, en un disolvente no polar tal como cloruro de metileno, cloroformo, o tolueno a temperaturas que van desde -20°C a la temperatura ambiente. El desplazamiento con inversión de la configuración puede realizarse con nucleófilos oxigenados, preferiblemente nitritos de metal alcalino o alcalinotérreo en disolventes utilizados comúnmente para este tipo de reacción, v.g., cloruro de metileno, acetona, 35 THF, DMF, DMA, NMP, y análogos a temperaturas de 0°C a 40°C. Las condiciones preferidas utilizan anhídrido trifluorometanosulfónico y piridina en cloruro de metileno a -10°C, seguido por aislamiento del triflato sin necesidad de purificación. Condiciones preferidas para desplazamiento del triflato son nitritos de sodio o potasio en DMF a la temperatura ambiente. El producto purificado puede obtenerse fácilmente por cristalización a partir de un sistema de dos disolventes utilizando un componente polar y un componente no polar. Los disolventes de cristalización preferidos para esta reacción son isopropanol y heptano.

45 El derivado triprotegido de xilosa de fórmula general (H) puede convertirse en el nitrilo (I) con inversión de la configuración por medio de un sistema activado. Análogamente al método arriba descrito, la ruta implica activación del hidroxilo de xilosa para dar un sistema activado aislable discreto (H) seguido por desplazamiento por una fuente que contiene grupo ciano. La activación puede realizarse una vez más con ésteres de alquil- o aril-sulfonatos, preferiblemente p-toluenosulfonato, metanosulfonato, trifluorometanosulfonato, y análogos formados a partir del anhídrido o cloruro de sulfonilo correspondiente en presencia de una base orgánica suave, tal como piridina, colidina, base de Hunig, trietilamina y análogas en un disolvente no polar tal como cloruro de metileno, cloroformo o tolueno a temperaturas desde -20°C a la temperatura ambiente. El desplazamiento con inversión de la configuración puede realizarse preferiblemente con reactivos tales como cianuros de metal alcalino o alcalinotérreo, o cianuros de tetraetilamonio en disolventes polares apróticos tales como THF, DMF, DMA, NMP, DMSO, y análogos a temperaturas de 0°C a 40°C. Condiciones preferidas utilizan anhídrido trifluorometanosulfónico y piridina en cloruro de metileno a -10°C. Las condiciones preferidas para el desplazamiento del triflato son cianuro de tetraetilamonio en THF a la temperatura ambiente. El producto purificado puede obtenerse por extracción seguida por cristalización a partir de un disolvente alcohólico. El disolvente preferido es etanol.

60 La conversión del nitrilo intermedio en hidrocloreto de isofagomina puede realizarse en un solo paso dependiendo de la elección de los grupos protectores. La reducción del nitrilo, la desprotección triple, el cierre del anillo, y la hidrogenación de la imina cíclica pueden realizarse en un solo paso en condiciones de hidrogenación, para proporcionar isofagomina con rendimiento alto. La hidrogenación catalítica puede llevarse a cabo con una diversidad de catalizadores comunes utilizados para dicha hidrogenación, con inclusión de Pd/C, Pd(OH)₂/C, PtO, catalizador Degussa o una combinación de catalizadores con cargas de 1% a 20%, a una presión de hidrógeno gaseoso comprendida entre 14 psi y 100 psi (96,5-689,5 kPa), en disolventes polares próticos o apróticos, preferiblemente alcoholes tales como metanol, etanol, isopropanol, o ésteres, o ácido acético. La hidrogenación se lleva a cabo en presencia de un ácido tal como HCl, HBr, HClO₄, H₃PO₄, H₂SO₄, ácido acético, ácido trifluoroacético, o ácido tartárico. La hidrogenación puede realizarse durante períodos de tiempo cortos o prolongados sin riesgo alguno de descomposición del produc-

to. Las condiciones preferidas consisten en ejecutar la reacción con una mezcla de Pd/C y Pd(OH)₂/C con cargas de 5% a 20% a presiones de 40 psi a 100 psi (275,8-689,5 kPa) en un disolvente alcohólico con HCl. Condiciones más preferidas son 10% de carga de Pd/C y 10% de carga de Pd(OH)₂/C a 80 psi (... kPa) de hidrógeno gaseoso en etanol con HCl. Esta sal hidrocloreto puede convertirse en la sal de ácido de isofagomina de la presente invención.

5 Otro método de síntesis mejorado para preparación de isofagomina y tartrato de isofagomina ha sido desarrollado recientemente y ha sido presentada una solicitud de Patente separada para el mismo. El nuevo método utiliza D-(-)-arabinosa o L-(-)-xilosa pasando por un dicetal intermedio.

10 Para ilustrar adicionalmente la presente invención, se presentan a continuación los ejemplos siguientes. El uso de tales ejemplos es únicamente ilustrativo y no limita en modo alguno el alcance y significado de la invención o de cualquier término ilustrado. Análogamente, la invención no se limita a ninguna de las realizaciones particulares preferidas descritas en esta memoria. De hecho, muchas modificaciones y variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica después de la lectura de esta memoria descriptiva.

15 Ejemplo Comparativo A: Purificación de la isofagomina base libre:

Se cromatógrafió isofagomina base libre utilizando una columna de resina Amberlite CG50 (NH₄⁺; 2,5 cm DI x 100,0 cm L, volumen 450 ml). La columna se lavó con solución 0,5 N de NH₄OH (3 veces, 1200 ml), y a continuación con agua desionizada (5 veces, 2250 ml). La isofagomina bruta (1,0 g) se disolvió en 4,0 ml de agua y se cargó en la columna. La columna se eluyó con NH₄OH 0,1 N/agua (1,36:1). Se recogieron fracciones de 10 ml.

20 Se realizó la TLC de las diferentes fracciones (gel de sílice, isopropanol: agua:NH₄OH (7:2:1) y la detección se realizó por pulverización de imino-azúcar y ninhidrina. Las fracciones cuyo resultado de test fue positivo con las pulverizaciones de iminoazúcar se analizaron para determinar la pureza, se combinaron luego y se liofilizaron durante 72 horas.

Ejemplo Comparativo B: Purificación de isofagomina-HCl

30 Se disolvió isofagomina base libre (30 mg) en MeOH (5 ml) y HCl 4 N (0,5 ml) en isopropanol y acetona (4,0 ml). La muestra se guardó refrigerada durante una noche y se filtró. Se observaron cristales en la solución. Sin embargo, una vez filtrado, el producto era una sustancia amarilla que tenía una consistencia semejante a cola.

35 Este isofagomina-HCl bruto se purificó utilizando una cromatografía de intercambio iónico, eluyendo con agua y amoníaco.

Las fracciones de la columna de intercambio iónico se concentraron por liofilización para dar un material semi-sólido gomoso.

40 **EJEMPLO 1: Síntesis de Tartrato de IFG a Partir de D-(-)-Arabinosa**

Las reacciones se monitorizaron por TLC y se visualizaron con H₂SO₄ al 5%/metanol, con solución de ácido fosfomolibdico, o con luz UV a 254 nm.

45 Paso 1: D-arabinosa (50 kg, 330,04 moles) y alcohol bencílico (132,2 kg, 4,33 equivalentes) se agitaron y calentaron a 35°C. Se añadió cloruro de acetilo (10,9 kg, 0,42 equivalentes), manteniendo la temperatura por debajo de 45°C, y se agitó luego a 50°C durante una noche. La mezcla se enfrió a 20°C y se diluyó con MTBE (600 kg). La mezcla se agitó durante 0,5-5 horas. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con MTBE (2 x 40 kg). El material se secó en un secador de filtro. Se obtuvo 2-bencil-D-arabinosa como un sólido blanquecino, 70,9 kg (88,6%). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 7,32 (m, 5H), 4,76 (s, 1H), 4,66 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,59 (m, 3H), 4,45 (d, J = 12 Hz, 1H), 3,70 (m, 4H), 3,47(dd, J=12,3 Hz, 1H).

50 Paso 2: Se mezcló 2-bencil-D-arabinosa (73,5 kg, 305,92 moles) con acetona (522 kg). Se añadió 2,2-dimetoxipropano (26,6 kg, 1,9 equivalentes) en una sola porción, seguido por ácido p-tolueno-sulfónico monohidratado (39,3 g, 0,0007 equivalentes). La mezcla se agitó a 40°C durante 18 horas. Una vez completada la reacción, se añadió trietilamina (193 ml, 0,0046 equivalentes). Se eliminaron los disolventes a 30°C a presión reducida hasta que se obtuvo un aceite espeso. El residuo se co-evaporó con acetato de etilo (2 x 20 kg). Se añadió acetato de etilo (19,2 kg) para formar una solución. Se añadió heptano (145,8 kg) en una sola porción a la solución y se enfrió a -10°C hasta 0°C durante una noche. Se recogieron los sólidos por filtración y se lavaron con heptano (2 x 51,5 kg). El material se secó en un secador de filtro con una purga de nitrógeno. Se obtuvo el derivado acetónico (3aR, 6R, 7S, 7aS)-6-(benciloxi)-2,2-dimetiltetrahidro-3aH-[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-7-ol como un sólido blanquecino, 70,4 kg (82%), pf, 58-59°C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,34 (m, 5H), 4,92 (d, J = 4 Hz, 1H), 4,79 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,54 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,20 (m, 2H), 4,00 (dd, J = 13, 3 Hz, 1H), 3,92 (dd, J = 13,2 Hz, 1H), 3,80 (m, 1H), 2,24 (d, J = 7 Hz, 1H), 1,52 (s, 3H), 1,35 (9, 3H).

65

Paso 3: El derivado acetónido (78,2 kg, 278,97 moles) se mezcló con DMF (295 kg, 3,77 kg/kg de material de partida) y se enfrió a 5°C. Se añadió hidruro de sodio (13,4 kg, 1,2 equivalentes) al reactor en 3 a 4 porciones, manteniendo la mixtura de reacción por debajo de 10°C, y se agitó luego durante 1,5 horas. A una temperatura de 2°C, se añadió cloruro de bencilo (45,9 kg, 1,3 equivalentes) durante un período de una hora. La reacción se agitó a 10°C hasta 15°C durante 12 horas. Una vez completada la reacción, se enfrió la mixtura a 2°C y se añadió agua (20 kg) durante una hora. Se añadió una carga adicional de agua (570 kg) a lo largo de 4 horas. La mixtura se agitó a esta temperatura durante 10 h. El producto se recogió por centrifugación y filtración, y se lavó con agua (2 x 10 kg) y heptano (2 x 15 kg) y se secó por centrifugación durante una noche. Se obtuvo el derivado dibencilico (3aR,6R,7S,7aR)-6,7-bis(benciloxi)-2,2-dimetiltetrahydro-3aH-[1,3]dioxolo[4,5-c]pirano como un sólido blanco, 74,0 kg (71,6%).

Paso 4: El derivado dibencilico (37,6 kg, 101,50 moles) se añadió a metanol, AR (259 kg, 8,7 kg/kg de material de partida) y se enfrió el contenido a 15°C. Se añadió una solución 2,5N de HCl (76,2 kg, 1,8 equivalentes) durante 1 h. Se añadió agua adicional (20 kg) y la mixtura se agitó durante 121 horas a 15°C. Se añadió agua (1035 kg, 4 x vol metanol, AR) al reactor, y se agitó durante al menos 0,5 h. El producto se filtró sobre una centrífuga y se lavó con agua (2 x 10 kg) y heptano (2 x 15 kg) después de lo cual se secó por centrifugación durante una noche. Se obtuvo el diol (3R, 4R, 5S, 6R)-5,6-bis(benciloxi)tetrahydro-2H-piran-3,4-diol como un sólido blanco, 31,5 kg (94%).

Paso 5: El derivado diol (37,5 kg, 113,51 moles) se mezcló con tolueno (207,6 kg, 5,5 kg/kg de diol) y óxido de dibutilestaño (31,1 kg, 1,1 equivalentes). El reactor estaba equipado con un aparato Dean-Stark y el contenido del reactor se calentó a reflujo (aproximadamente 110°C) hasta que ya no se recogió agua para eliminación (8-12 h). El contenido del reactor se enfrió a 35°C y se añadió cloruro de tetrabutilamonio (18,3 kg, 0,5 equivalentes) en una sola porción. Se añadió cloruro de bencilo (15,8 kg, 1,1 equivalentes) a una tasa que mantuvo la temperatura por debajo de 40°C, y se continuó agitando 35°C durante 12 horas. La adición y agitación durante 12 horas se repitieron diariamente durante 4 días hasta que se completó la reacción. Después que la reacción fue completa, la mixtura se enfrió a 25°C, se añadió agua (150 kg) en una sola porción, y el contenido se agitó durante una noche. La mixtura de reacción se filtró a través de un lecho de Celita (1 kg/kg de diol) y el lecho se lavó con tolueno (10 kg). Se dejó sedimentar el filtrado (1 h) y se separaron las capas. Se repitieron la adición de agua, agitación, filtración, y separación. Las capas acuosas se combinaron y se extrajeron con acetato de etilo (25 kg) y se separaron las capas. Las capas orgánicas se combinaron y concentraron a vacío a 45°C hasta un volumen agitable mínimo. Se añadió heptano (102,6 kg). La mixtura se agitó durante 20 minutos, se enfrió a 0°C, y se agitó durante 8-12 h. Se recogieron los sólidos por filtración y se lavaron con heptano (10 kg). Los sólidos brutos se disolvieron en 6:1 heptano/etanol 200 proof (7 kg/kg de sólido bruto) a 35°C, se enfriaron a -5°C hasta 10°C y se agitaron durante una noche. Se redujeron los sólidos por filtración y se lavaron con heptano (10 kg). La pureza del producto se monitorizó por TLC. Típicamente, se requirieron 2 o más recristalizaciones para eliminar las impurezas. El derivado tribencilico purificado se secó en un horno de vacío a 30°C. Se obtuvo (3R,4R,5S,6R)-4,5,6-tris(benciloxi)tetrahydro-2H-piran-3-ol como un sólido blanco, 17,5 kg (37%), p.f. 59-60°C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (m, 15H), 4,89 (d, J = 4 Hz, 1H), 4,82 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,71 (m, 3H), 4,57 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,01 (br s, 1H), 3,95 (dd, J = 10, 3 Hz, 1H), 3,83 (m, 2H), 3,71 (dd, J = 12,2 Hz, 1H), 2,56 (br s, 1H).

Paso 6: El derivado de tribencilarabinosa (12,0 kg, 28,54 moles) se mezcló con cloruro de metileno (79,2 kg, 6,6 kg/kg de material de partida) y piridina (11,3 kg, 5 equivalentes) y se enfrió a -10°C. Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (10,1 kg, 125 equivalentes) a una tasa que mantenía la temperatura por debajo de 0°C. La mixtura de reacción se agitó a -10°C a 0°C hasta que se consumió el material de partida. Una vez completado el proceso, la mixtura de reacción se lavó con solución de HCl al 7,5% (3 x 68 kg, 17 equivalentes) y agua (48 kg). Durante los lavados, la temperatura de la mixtura de reacción se mantuvo por debajo de 5°C. La mixtura se ajustó a pH ≥6 por lavado con solución de NaHCO₃ al 7,5% (55,0 kg). Se añadió trietilamina (0,4 kg, 0,3 kg/kg de material de partida) y la fase orgánica se secó con K₂CO₃ anhídrido (1,2 kg, 0,1 equivalentes). La mixtura se filtró y se concentró a sequedad a vacío a 20°C hasta 35°C para dar (3S,4R,5S,6R)-4,5,6-tris(benciloxi)tetrahydro-2H-piran-3-ol. El triflato se utilizó sin purificación. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,31 - 7,16 (m, 15H), 5,12 (br s, 1H), 4,83 (d, J = 4 Hz, 1H), 4,76 (d, J = 11 Hz, 1H), 4,64 (m, 2H), 4,50 (d, J = 9 Hz, 1H), 4,46 (d, J = 8 Hz, 1H), 3,97 (dd, J = 10, 3 Hz, 1H), 3,86 (d, J = 14 Hz, 1H), 3,77-3,72 (m, 2H).

Paso 7: El triflato se disolvió en DMF (36,2 kilogramos, 3,02 kg/kg de material de partida) y se enfrió a 10°C. Se añadió nitrito de sodio (5,9 kg, 3,0 equivalentes), y la temperatura de la solución aumentó por exotermia hasta 30°C, después de lo cual se enfrió la mixtura de reacción a 15°C hasta 25°C y se agitó durante 12-16 h. La mixtura se enfrió a 5°C, y se añadió agua (152 kg, 4,2 kg/kg DMF) a una tasa que mantenía la temperatura por debajo de 15°C. La mixtura resultante se agitó a 10°C durante 2 horas. Se filtraron los sólidos y se lavaron con agua (2 x 12 kg). Los sólidos filtrados se disolvieron en acetato de etilo (21,6 kg, 1,8 kg/kg de material de partida). La solución se lavó con salmuera (15,5 kg), se secó con MgSO₄ (2,5 kg), se filtró, y el filtrado se concentró a sequedad a vacío a 35°C. Se añadió isopropanol (9,5 kg) y se calentó a 75°C para disolver el producto bruto. Se añadió heptano (24,6 kg) a la solución y la mixtura se enfrió a 15°C hasta 25°C. La mixtura se enfrió ulteriormente a 0°C y se agitó durante una noche. Se filtraron los sólidos y se lavaron con heptano (2 x 8,2 kg). El material se secó en un horno de vacío. Se obtuvo (3S,4R,6S,6R)-4,5,6-TRS(benciloxi)tetrahydro-2H-piran-3-ol como un sólido amarillo, 5,3 kg (44%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,37 (m, 15H), 4,96 (d, J = 11 Hz, 1H), 4,80 (m, 2H), 4,68 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,61 (m, 2H), 4,53 (d, J = 12 Hz, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,67 (m, 3H), 3:50 (dd, J = 9,3 Hz, 1H), 2,42 (br s, 1H).

Paso 8: El derivado de tribencilxilosa (10,4 kg, 24,73 moles) se mezcló con cloruro de metileno (68,6 kg, 6,6 kg/kg de material de partida) y piridina (9,8 kg, 5 equivalentes) y se enfrió a -10°C. Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (8,7 kg, 1,25 equivalentes) a una tasa que mantenía la temperatura por debajo de 0°C. La mixtura de reacción se agitó de -10°C a 0°C hasta que se consumió el material de partida. Una vez completado el procedimiento, la mixtura de reacción se lavó con solución de HCl al 7,5% (3 x 58,9 kg, 17 equivalentes) y agua (41,6 kg). Durante los lavados, la temperatura de la mixtura de reacción se mantuvo por debajo de 5°C. Se ajustó la mixtura pH \geq 6 por lavado con solución saturada de NaHCO₃ (44,6 kg). Se añadió trietilamina (0,4 kg, 0,3 kg/kg de material de partida) y la fase orgánica se secó con K₂CO₃ anhidro (1,2 kg, 0,1 equivalentes). La mixtura se filtró y se concentró hasta sequedad a vacío a 20 hasta 35°C. NMR?

Paso 9: Se disolvió el triflato en THF (29 kg, 2,8 kg/kg de material de partida) y se enfrió a 10°C. Se añadió cianuro de tetraetilamonio (4,6 kg, 12 equivalentes) y la temperatura de la reacción aumentó por exotermia, después de lo cual se enfrió la mixtura de reacción a 20°C y se agitó durante 12 horas. Se añadió acetato de etilo (21,8 kg) y la fase orgánica se lavó con solución de NaCl al 10% (3 x 14,3 kg). Las capas acuosas combinadas se extrajeron con acetato de etilo (21,8 kg). Las capas orgánicas se combinaron, secaron con MgSO₄ (2 kg), se filtraron, y se concentraron hasta sequedad. Se añadió etanol (200 proof, 3,23 kg/kg de material de partida) y se calentó a 70°C para disolver el producto bruto. La solución se enfrió a 20°C, se enfrió luego adicionalmente a 5°C y se agitó durante una noche. Los sólidos se filtraron y se lavaron con heptano (2 x 10,4 kg). Se repitió la cristalización a partir de etanol 200 proof (7 ml/g de sólidos). Se filtraron los sólidos y se lavaron con heptano (2 x 10,4 kg). El material se secó en un horno de vacío. Se obtuvo (3R,4S,5S,6S)-4,5,6-tris(benciloxi)tetrahidro-2H-pirano-3-carbonitrilo como un sólido pardo claro, 6,3 kg (59%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,31 (m, 15H), 4,90 (d, J = 3 Hz, 1H), 4,81 - 4,73 (complejo, 3H), 4,70 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,62 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 12 Hz, 1H), 3,99 (dd, J = 9, 5 Hz, 1H), 3,91 (dd, J = 12, 3 Hz, 1H), 3,82 - 3,74 (señales superpuestas, 2H), 3,13 m, 1 H).

Paso 10: El derivado nitrilo (2,5 kg, 5,8 moles) se disolvió en etanol absoluto (138,1 kg) y se calentó a 35°C hasta que se obtuvo una solución clara. Se añadió paladio humedecido sobre carbono (250 g; 10% p/p), seguido por hidróxido de paladio (250 g; 20% p/p) y ácido clorhídrico (0,6 l). La solución se purgó dos veces con nitrógeno y una sola vez con hidrógeno. La solución se presurizó hasta 80 psi (551,6 kPa) con hidrógeno, se agitó y se calentó a 35°C durante 72 horas, represurizando en caso necesario. La mixtura se filtró y se concentró a vacío a 30°C hasta 35°C. El hidrocloreto de isofagomina bruto se mezcló con NH₄OH acuoso (3 l). La solución se filtró y se purificó en una columna de gel de sílice (aprox. 20 kg) utilizando un sistema disolvente 9:1 EtOH/NH₄OH acuoso. El producto se concentró a vacío a 35°C hasta 40°C. La isofagomina base libre se disolvió en etanol absoluto (7,7 ml/g de residuo) y se filtró. Se disolvió ácido L-(+)-tartárico (1185 g, 1 g/g de residuo) en etanol absoluto (7,7 ml/g de residuo), se filtró, y se añadió lentamente a la solución de isofagomina en etanol. Esta solución se agitó durante 45 minutos, se filtró, y se lavó con etanol (2,5 l, 1 ml/g de material de partida). El producto se secó hasta peso constante en un horno de vacío a 44°C. Se obtuvo tartrato de isofagomina como un sólido blanco, 1,2 kg (pureza 97,5%). ¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 4,40 (s, 2H), 3,70 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H), 3,66 - 3,58 (m, 2H), 3,38 (m, 3H), 2,83 (t, J' = 13 Hz, 1H), 2,79 (t, J = 13 Hz, 1H), 1,88 - 1,77 (m, 1H).

EJEMPLO 2: Recristalización del tartrato de isofagomina

Se disolvió tartrato de isofagomina (1767 g) en agua (1,767 l) a la temperatura ambiente. Se añadió EtOH absoluto (1,767 l) y se agitó durante más de 30 minutos. Se añadió gota a gota una parte alícuota adicional de EtOH absoluto (1,767 l) en corriente lenta y se agitó durante 30 minutos. Se repitió dos veces este proceso (con inclusión de los 30 minutos de agitación) para obtener una solución de 4:1 EtOH/agua. Los sólidos se filtraron y se lavaron con EtOH/agua (4:1) y se secaron en un horno de vacío a 43°C durante una noche hasta peso constante (es decir, pérdida de peso neta < 1% de después de re-secado durante 2 horas más). El rendimiento de la recristalización fue 91%. Se encontró que la muestra tenía 13% de impurezas basadas en HPLC. Los espectros NMR del producto recristalizado se muestran en FIG. 3 y FIG. 4, p.f. 168-169°C.

EJEMPLO 3: Síntesis de las sales Tartrato de Isofagomina

Sal L-(+)-Tartrato de Isofagomina (2:1)

Se añadió una solución de ácido L-(+)-tartárico (102 mg, 0,679 milimoles) en agua desionizada (1,0 ml) a la solución de isofagomina (200 mg, 2,0 equivalentes) disuelta en agua desionizada (2,0 ml) a la temperatura ambiente. La solución se agitó durante 10 min y se liofilizó durante una noche. El residuo se secó ulteriormente a vacío a 45°C durante tres días para proporcionar la sal deseada (275,6 mg, 91%), p.f. 92-93°C, ¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 4,22 (s, 2H), 3,71 (dd, J = 12, 3,6 Hz, 1H), 3,67 - 3,59 (m, 2H), 3,44 - 3,37 (m, 3H), 2,85 (t, J = 12 Hz, 1H), 2,75 (t, J = 12 Hz, 1H), 1,85 (m, 1H) (FIG.8A).

Sal D-(-)-Tartrato de Isofagomina (2:1)

Una solución de ácido D-(-)-tartárico (102 mg, 0,679 mmoles) en agua desionizada (1,0 ml) se añadió a la solución de isofagomina (200 mg, 2,0 equivalentes) disuelta en agua desionizada (2,0 ml) a la temperatura ambiente. La

solución se agitó durante 10 min y se liofilizó durante una noche. El residuo se secó ulteriormente a vacío a 45°C durante tres días para proporcionar la sal deseada (287,2 mg, 95%), p.f. 94-95°, ¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 4,22 (s, 2H), 3,71 (dd, J = 12, 3,6 Hz, 1H), 3,67 - 3,59 (m, 2H), 3,44 - 3,36 (m, 3H), 2,85 (t, J = 12Hz, 1H), 2,75 (t, J = 12 Hz, 1H), 1,84 (m, III) (FIG, 8B).

5

Sal D-(-)-Tartrato de Isofagomina (1:1)

10

Una solución de ácido D-(-)-tartárico (204 mg, 1,359 mmoles) en agua desionizada (2,0 ml) se añadió a la solución de isofagomina (200 mg, 2,0 equivalentes) disuelta en agua desionizada (2,0 ml) a la temperatura ambiente. La solución se agitó durante 10 min y se liofilizó durante una noche. El residuo se secó ulteriormente a vacío a 45°C durante tres días para proporcionar la sal deseada (396,9 mg, 98%), p.f. 73-74°C, ¹H NMR (300 MHz, D₁O): δ 4,41 (s, 2H), 3,71 (dd, J = 12, 3,3 Hz, 1H), 3,66 - 3,59 (m, 2H), 3,44 - 3,36 (m, 3H), 2,84 (t, J = 12 Hz, 1H), 2,75 (t, J = 12 Hz, 1 H), 1,84 (m, 1H) (FIG, 8C).

15 **EJEMPLO 4: Formulaciones de cápsulas de tartrato de isofagomina**

	Cápsula de 10 mg, Prototipo 1			Cápsula de 100 mg, Prototipo 2		
	% p/p	mg/cápsula	g/lote	% p/p	mg/cápsula	g/lote
Tartrato de isofagomina	5,50	10,00	15,00	50,00	100,00	40,00
Avicel PH102® (celulosa microcristalina)	94,00	170,79	256,19	49,50	99,00	39,60
Estearato de magnesio	0,050	0,091	1,36	0,50	1,00	0,040
Total	100,00	181,70	272,55	100,00	200,00	80,00
vainas de cápsula blancas opacas, tamaño tbd	1500 cápsulas (tamaño estimado de la vaina = 2 ó 3)			400 cápsulas (tamaño estimado de la vaina = 2 ó 3)		
	10 mg Cápsula de, Prototipo 3			100 mg Cápsula de, Prototipo 4		
	% p/p	mg/cápsula	g/lote	% p/p	mg/cápsula	g/lote
Tartrato de isofagomina	4,35	10,00	15,00	40,00	100,00	40,00
Emcompress® (fosfato de calcio dibásico)	47,43	109,08*	163,62	29,60	74,00	29,60
Avicel PH102® (celulosa microcristalina)	47,43	109,08	163,62	29,60	74,00	29,60
Cab-O-Sil® (dióxido de silicio coloidal (de combustión))	0,30	0,69	1,04	0,30	0,75	0,30
Estearato de magnesio	0,50	1,15	1,73	0,050	1,25	0,050
Total	100,00	230,00	345,00	100,00	250,00	100,00
vainas de cápsula blancas opacas, tamaño tbd	1500 cápsulas (tamaño estimado de la vaina = 2 ó 3)			400 cápsulas (tamaño estimado de la vaina = 2 ó 3)		

20

EJEMPLO 5: Intensificación Intracelular de la Actividad de GCasa en Fibroblastos de Gaucher

Pacientes

25

Se investigó la intensificación intracelular de la actividad de tartrato de L-(+)-isofagomina con fibroblastos establecidos procedentes de pacientes de Gaucher. Para evaluar los efectos de IFG sobre los niveles de GCasa mutante, se realizó un estudio de respuesta ex vivo con macrófagos y EBV, linfoblastos transformados derivados de leucocitos periféricos de 40 pacientes.

El estudio incluía 21 varones con enfermedad de Gaucher Tipo 1, un varón con enfermedad de Gaucher Tipo 3, y 18 mujeres con enfermedad de Gaucher Tipo 1. Los pacientes estaban comprendidos en edades de 7 a 83 años, y

38 de los 40 pacientes estaban sometidos a terapia de reemplazamiento de enzimas (ERT). Se extrajeron con éxito macrófagos de 34 de los 40 pacientes, 32 de los cuales demostraron una intensificación dependiente de la dosis en los niveles de GCasa (valor medio = 2,8 veces) cuando se trataron con tartrato de IFG (5 días). Se encontraron resultados similares para líneas de células linfoblastos derivadas de 5 pacientes adicionales. La IFG intensificaba significativamente los niveles de GCasa en las células de pacientes con genotipos diferentes que incluían N370S/N370S (11), N370S/L444P (8), N370S/84ínsG (11), N370S/RI63X, N370S/Y212H, L444P/del 136T, L444P/F216Y, L444P/L174F, G202R/R463C, y X79N/complejo B exón 9/10 (tipo III GD). La intensificación máxima de GCasa en los macrófagos se alcanzó a aproximadamente 30 μ M de IFG.

10 **EJEMPLO 6: Estudios en Fase I de la Seguridad, Farmacocinética y Farmacodinámica de Tartrato de Isofagomina, una Nueva Chaperona Farmacológica para el tratamiento de la Enfermedad de Gaucher**

15 El tartrato de isofagomina es una chaperona farmacológica en desarrollo para el tratamiento del trastorno de almacenamiento de lisosomas enfermedad de Gaucher. Utilizando modelos basados en células y modelos animales, los autores de la invención han demostrado que la isofagomina aumenta los niveles celulares de glucocerebrosidasa (GCasa), la enzima deficiente en la enfermedad de Gaucher. Se realizaron estudios clínicos aleatorizados doble-ciego en Fase I en 72 voluntarios sanos (39 varones, 33 mujeres). Se administró por vía oral tartrato de isofagomina como una solución acuosa. En un primer estudio en humanos con dosis ascendente simple, se administraron dosis de 8, 25, 75, 150 (2 grupos), y 300 mg (6 activos, 2 placebos en cada grupo). En un estudio con dosis ascendentes múltiples, se administraron dosis de 25,75 y 22,5 mg diariamente durante 7 días (6 activos, 2 placebos en cada grupo). En ambos estudios, el tartrato de isofagomina era generalmente bien tolerado a todas las dosis y los sucesos adversos emergentes debidos al tratamiento en ambos estudios eran en su mayoría moderados. No se produjo ningún suceso adverso grave.

25 El tartrato de isofagomina exhibía exposición sistémica satisfactoria por vía oral. En el estudio de dosis simple, los valores en plasma AUC y C_{max} estaban correlacionados linealmente con la dosis administrada. Los niveles medios en plasma alcanzaron su valor pico al cabo de 3,4 horas (SEM: 0,6 horas) y la semi-vida de eliminación en plasma era 14 horas (SEM = 2 horas). En el estudio de dosis múltiples, después de 7 días de administración oral, se encontró que el comportamiento farmacocinético era lineal con la dosis, sin acumulación inesperada alguna de isofagomina. Los valores Tmax y los valores de semi-vida eran similares a los observados en el estudio de dosis simple.

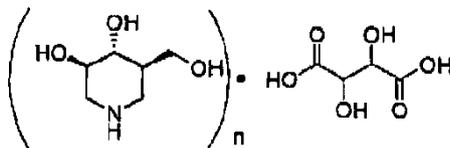
35 En el estudio de dosis múltiples, se midió la actividad de GCasa en los glóbulos blancos aislados de la sangre los días 1, 3, 5 y 7 durante la administración de tartrato de isofagomina, y los días 9, 14 y 21 durante el periodo de lavado posterior al tratamiento. En todos los individuos que recibieron tartrato de isofagomina se registró una intensificación notable en los niveles de GCasa durante el periodo de tratamiento, seguido por una disminución durante la eliminación del fármaco y un regreso a niveles próximos a la línea base hacia el día 21 (FIG. 9). La intensificación en el nivel de enzima guardaba relación con la dosis, alcanzando aproximadamente 3,5 veces por encima de los niveles de la línea base. Estos resultados para la seguridad, la farmacocinética y los efectos farmacodinámicos preliminares en voluntarios sanos respaldan la evaluación ulterior del tartrato de isofagomina para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher.

40 Adicionalmente, debe entenderse que todos los valores son aproximados, y se proporcionan para descripción.

REIVINDICACIONES

1. Sal de ácido tartárico de isofagomina (tartrato de isofagomina) con la estructura química representativa siguiente:

5



en donde n es 1 ó 2.

- 10 2. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde la pureza es al menos 50%.
3. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde la pureza es al menos 95%.
- 15 4. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde la pureza es al menos 98%.
5. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde la pureza es al menos 99%.
6. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde n = 1.
- 20 7. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde n = 2.
8. Tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde el tartrato de isofagomina es la sal del ácido L-(+)-tartárico de isofagomina y n = 1.
- 25 9. Una composición que comprende tartrato de isofagomina de la reivindicación 1, en donde la composición contiene al menos 50% en peso de tartrato de isofagomina.
10. La composición de la reivindicación 8, en donde la composición contiene al menos 90% en peso de tartrato de isofagomina.
- 30 11. La composición de la reivindicación 10, en donde 90% o más del tartrato de isofagomina tiene un tamaño de partícula de 1200 μm o menos.
12. La composición de la reivindicación 8, en donde la composición contiene al menos 99% en peso de tartrato de isofagomina.
- 35 13. Un método para la preparación de tartrato de isofagomina que comprende:
- 40 (a) hacer reaccionar isofagomina base libre o su forma ionizada y ácido tartárico en un disolvente; y
- (b) aislar el tartrato de isofagomina.
14. El método de la reivindicación 13, en donde el ácido tartárico es ácido L-(+)-tartárico.
- 45 15. El método de la reivindicación 13, en donde se forma al menos un kilogramo de tartrato de isofagomina.
16. El método de la reivindicación 13, en donde el disolvente es alcohol acuoso.
17. El método de la reivindicación 13, en donde el alcohol se selecciona de metanol, etanol, propanoles, butanoles o mezclas de los mismos.
- 50 18. El método de la reivindicación 13, en donde el alcohol es etanol.
19. El método de la reivindicación 13, en donde el paso de tratamiento incluye recristalización.
- 55 20. El método de la reivindicación 19, en donde 90% o más del tartrato de isofagomina tiene un tamaño de partícula de 1200 μm o menos.

21. El método de la reivindicación 19, en donde la recristalización se realiza en agua con ayuda de un disolvente secundario.
- 5 22. El método de la reivindicación 19, en donde el disolvente secundario es un disolvente prótico.
23. El método de la reivindicación 19, en donde el disolvente prótico es un alcohol.
- 10 24. Un método para preparar tartrato de isofagomina de alta pureza en escala industrial, comprendiendo el método:
- (a) hacer reaccionar aproximadamente 1 kg de isofagomina base libre o su forma ionizada y ácido tartárico en un disolvente;
- 15 (b) obtener un tartrato de isofagomina bruto;
- (c) recristalizar el tartrato de isofagomina bruto utilizando una solución acuosa; y
- 20 (d) aislar el tartrato de isofagomina de alta pureza.
- 25 25. El método de la reivindicación 24 en donde la solución acuosa es agua.
26. El método de la reivindicación 24, en donde la solución acuosa es una mixtura de agua y un alcohol en donde el agua y el alcohol se utilizan al mismo tiempo o con un intervalo.
- 25 27. El método de la reivindicación 24, en donde la alta pureza es al menos 84% de pureza en peso.
28. El método de la reivindicación 24, en donde la alta pureza es al menos 98% de pureza en peso.
- 30 29. El método de la reivindicación 24, en donde la alta pureza es al menos 99% de pureza en peso.
30. El método de la reivindicación 24, en donde 90% o más del tartrato de isofagomina de alta pureza tiene un tamaño de partícula de 1200 μm o menos.
- 35 31. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de tartrato de isofagomina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
32. La composición farmacéutica de la reivindicación 31 en donde la cantidad farmacéuticamente eficaz está comprendida entre aproximadamente 5 y 300 mg por dosis.
- 40 33. La composición farmacéutica de la reivindicación 31 en donde la cantidad farmacéuticamente eficaz está comprendida entre aproximadamente 10 y 100 mg por dosis.
34. La composición farmacéutica de la reivindicación 31 en donde el excipiente farmacéuticamente aceptable es celulosa microcristalina, estearato de magnesio, o fosfato de calcio dibásico.
- 45 35. La composición farmacéutica de la reivindicación 31 en donde el tartrato de isofagomina se encuentra en forma cristalina.
- 50 36. Tartrato de isofagomina cristalino, que tiene un patrón de difracción de rayos x en polvo que incluye los picos siguientes: (2 theta) 9,29, 14,17, 16,34, 18,07, 18,72, 19,44, 20,56, 22,13, 23,01, 24,54, y 27,12.
37. Uso de una cantidad eficaz de tartrato de isofagomina, para la fabricación de un medicamento para tratamiento de la enfermedad de Gaucher.
- 55 38. El uso de la reivindicación 37, en donde el tartrato de isofagomina contiene no más de 5% de otro compuesto.
39. El uso de la reivindicación 37, en donde el medicamento comprende además una enzima glucocerebrosidasa funcional.
- 60

40. El uso de la reivindicación 37, en donde la cantidad eficaz del tartrato de isofagomina es aproximadamente 10-100 mg por dosis.
- 5 41. Una sal farmacéuticamente aceptable de ácido tartárico de isofagomina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la sal farmacéuticamente aceptable se recristaliza fácilmente en escala de 1 kg o más utilizando una solución acuosa.
- 10 42. Tartrato de isofagomina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher.

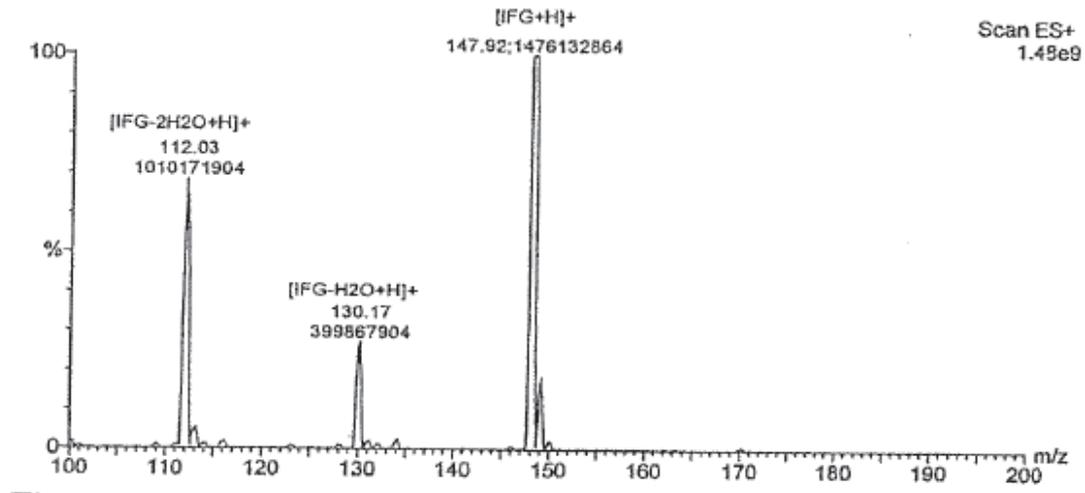


Fig. 1

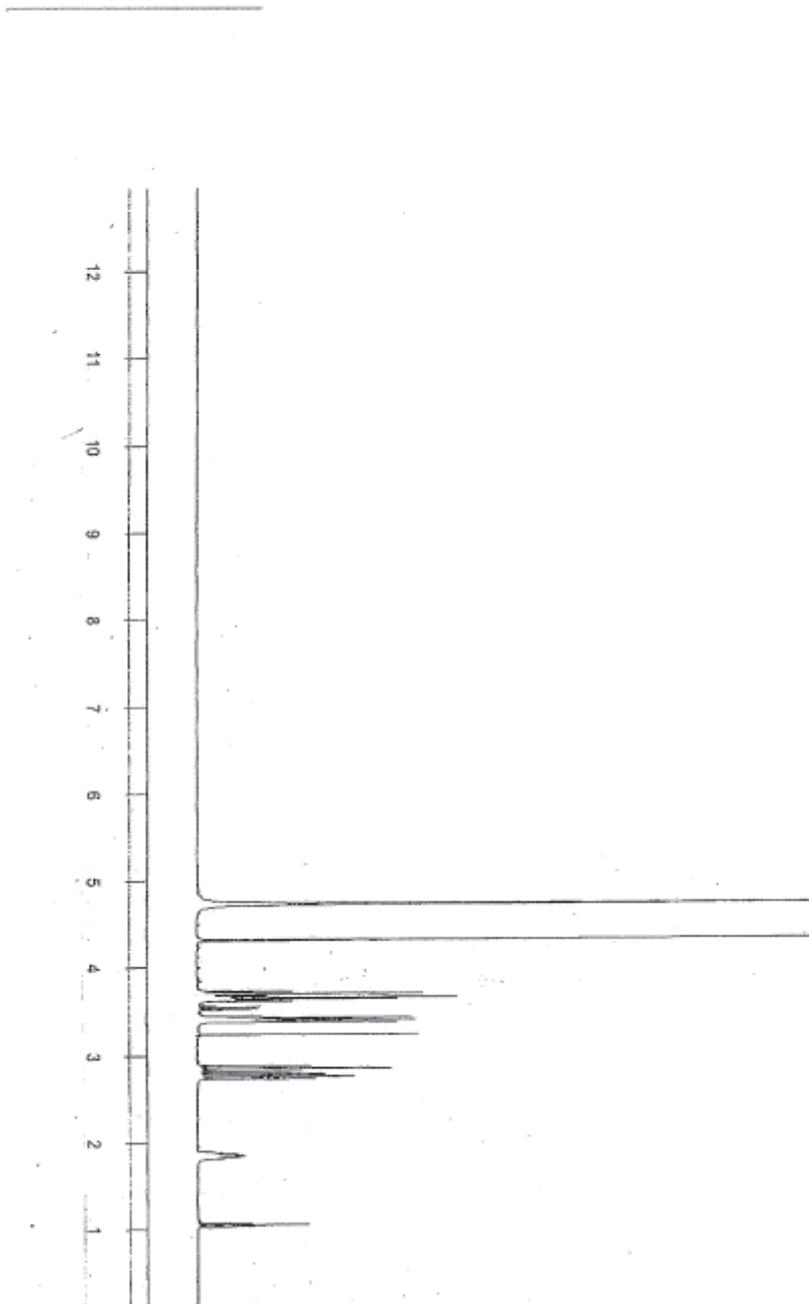


Fig. 2

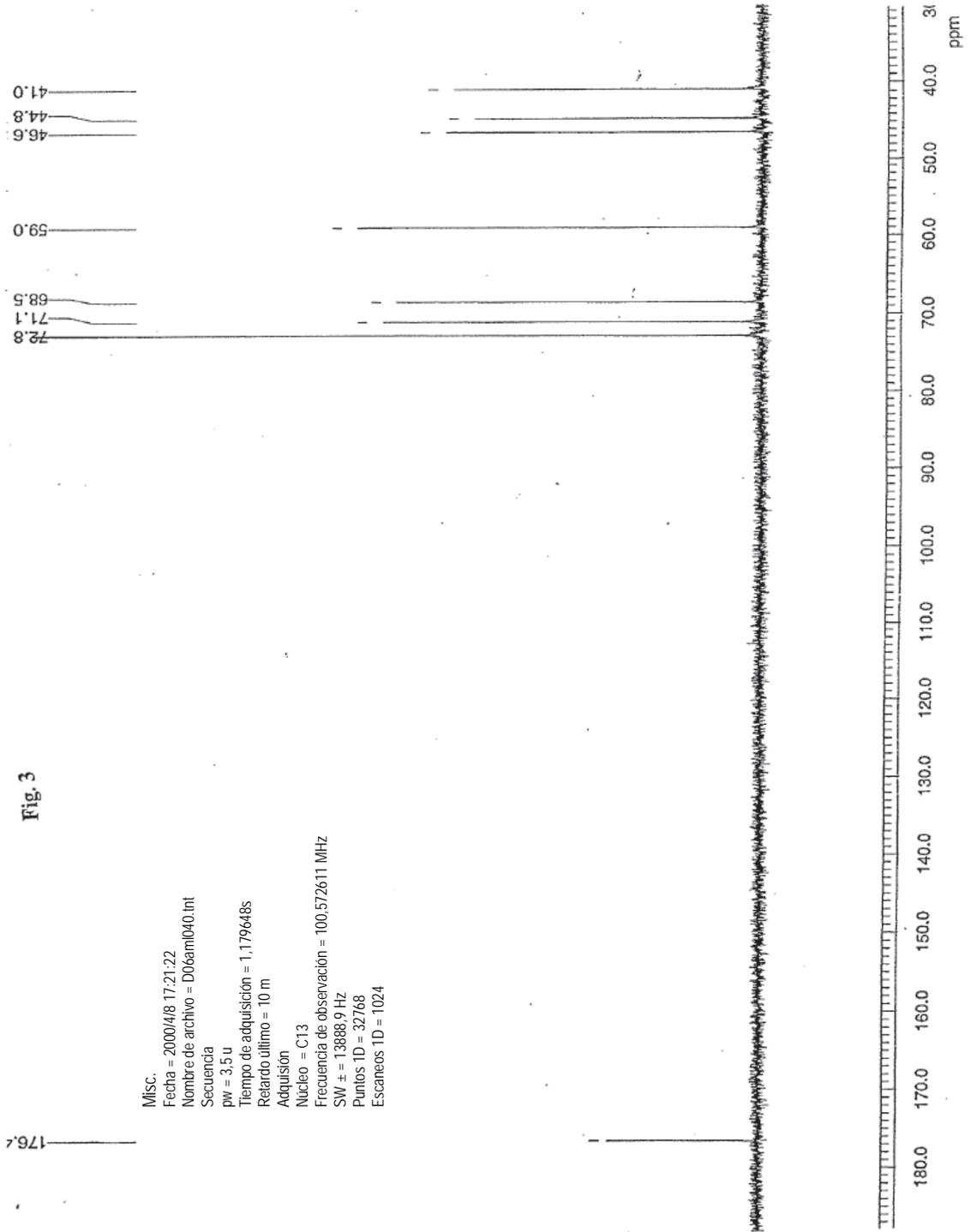
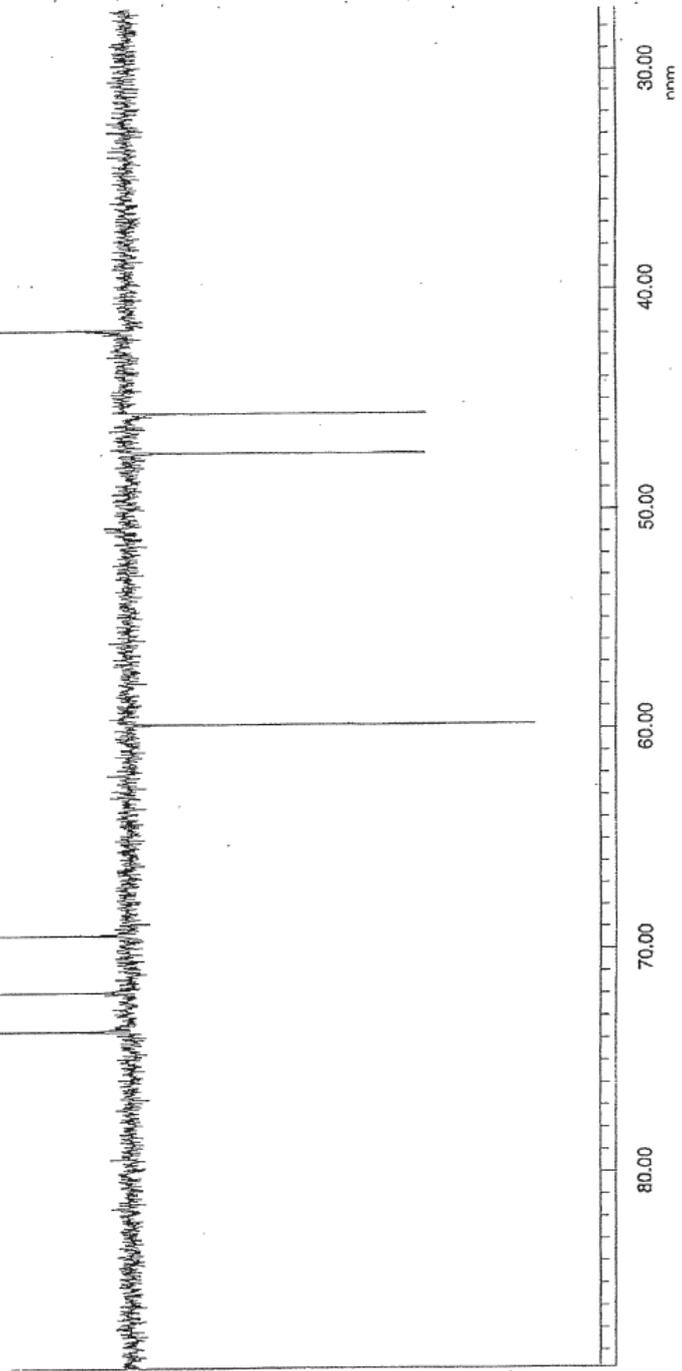


Fig. 3

Misc.
Fecha = 2000/4/8 17:21:22
Nombre de archivo = D06am1040.tnt
Secuencia
pw = 3,5 u
Tiempo de adquisición = 1,179648s
Retardo último = 10 m
Adquisición
Núcleo = C13
Frecuencia de observación = 100,572611 MHz
SW ± = 13888,9 Hz
Puntos 1D = 32768
Escaneos 1D = 1024

Fig. 4

Misc.
Fecha = 2000/4/8 17:42:06
Nombre de archivo = D06am1041.tnt
Secuencia
pw = 3.5 u
Tiempo de adquisición = 1,261668s
Retardo último = 2,5 s
Adquisición
Núcleo = C13
Frecuencia de observación = 100.572611 MHz
SW ± = 12987.0 Hz
Puntos 1D = 32768
Escaneos 1D = 128



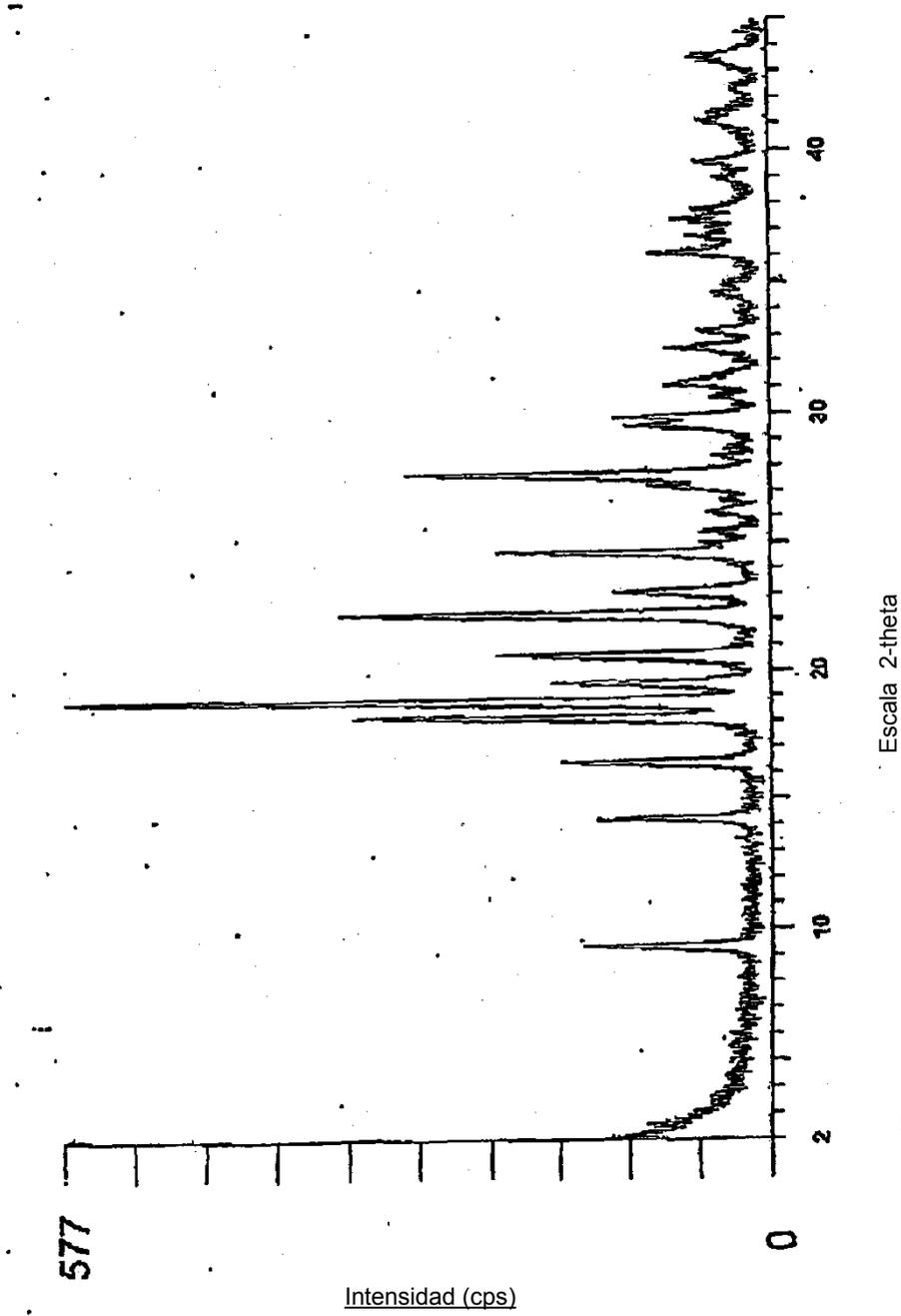
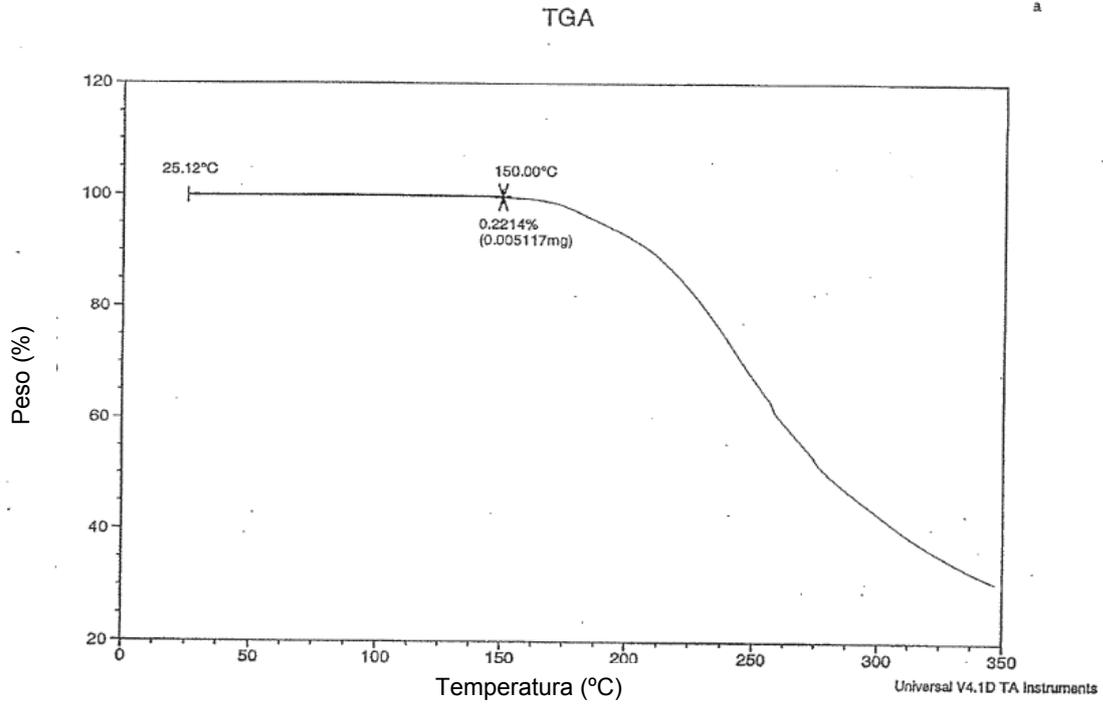


Fig. 5



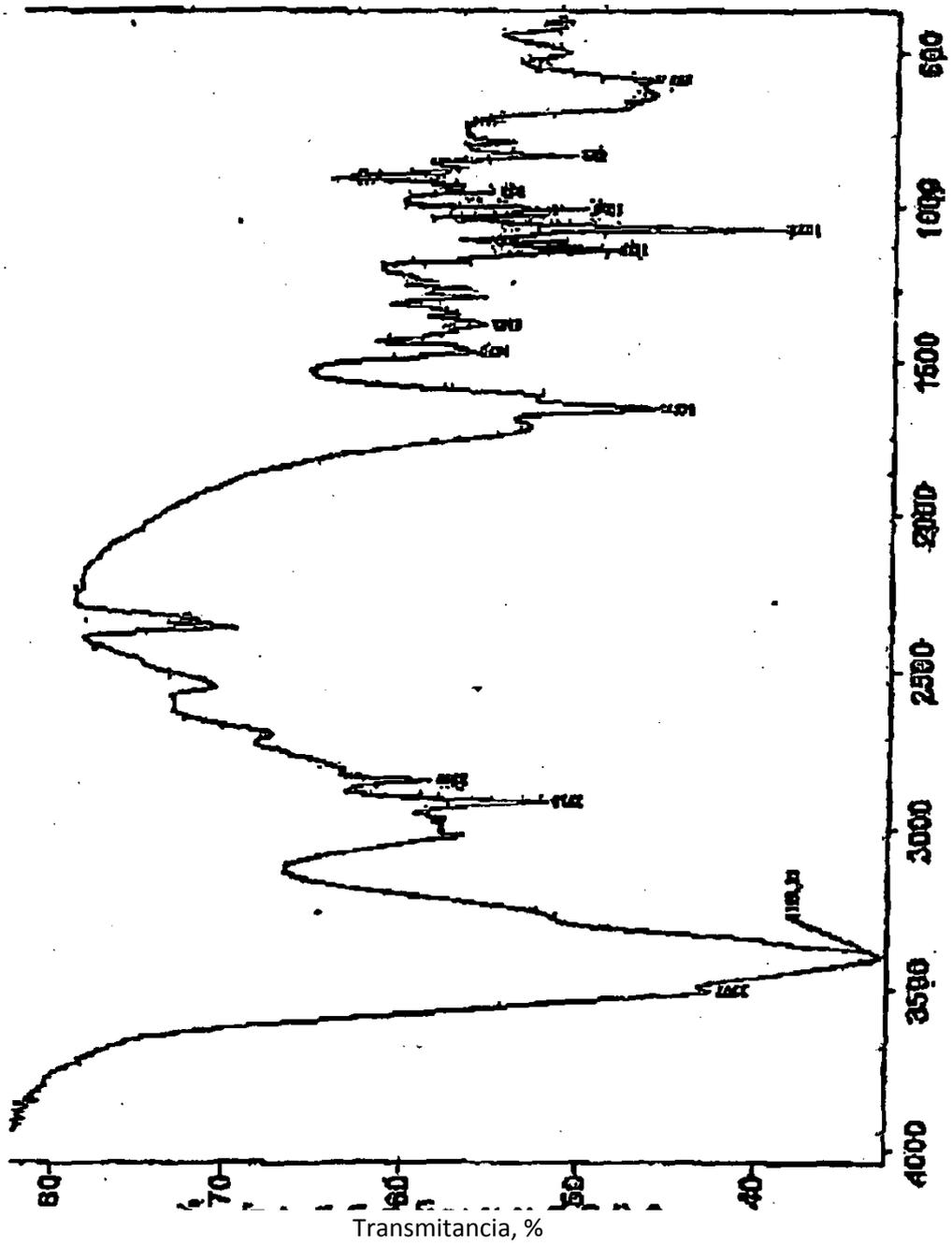
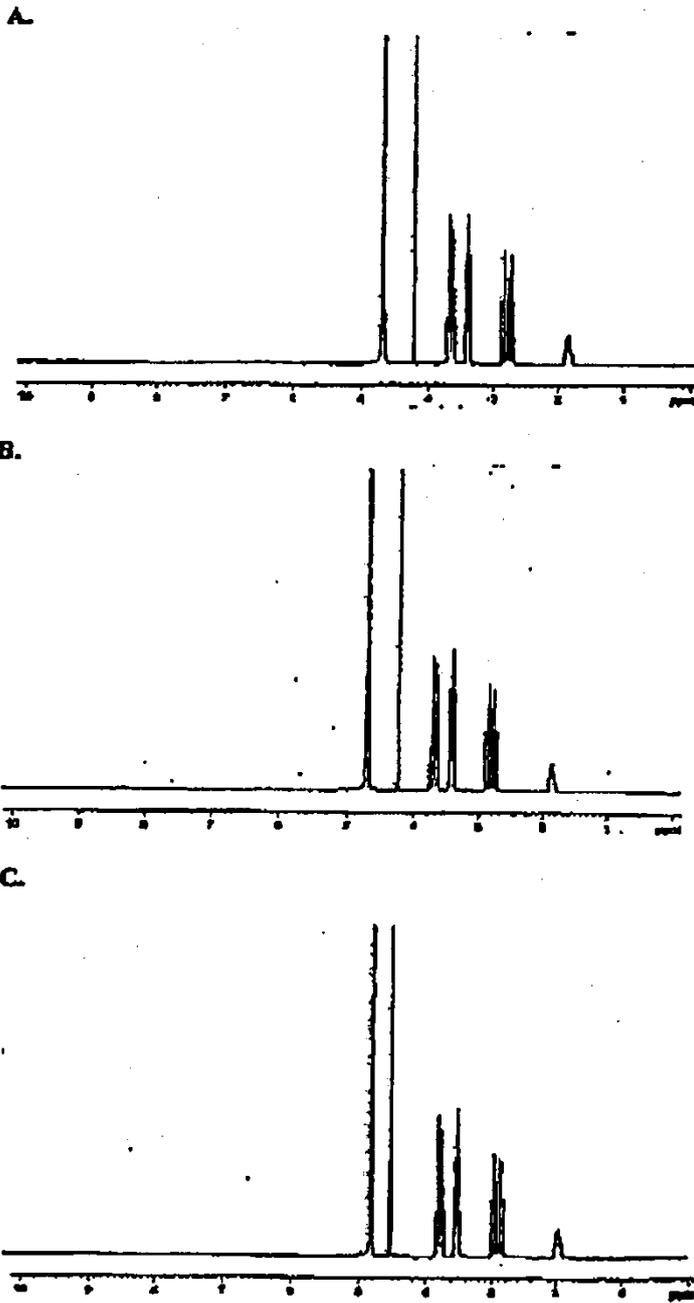
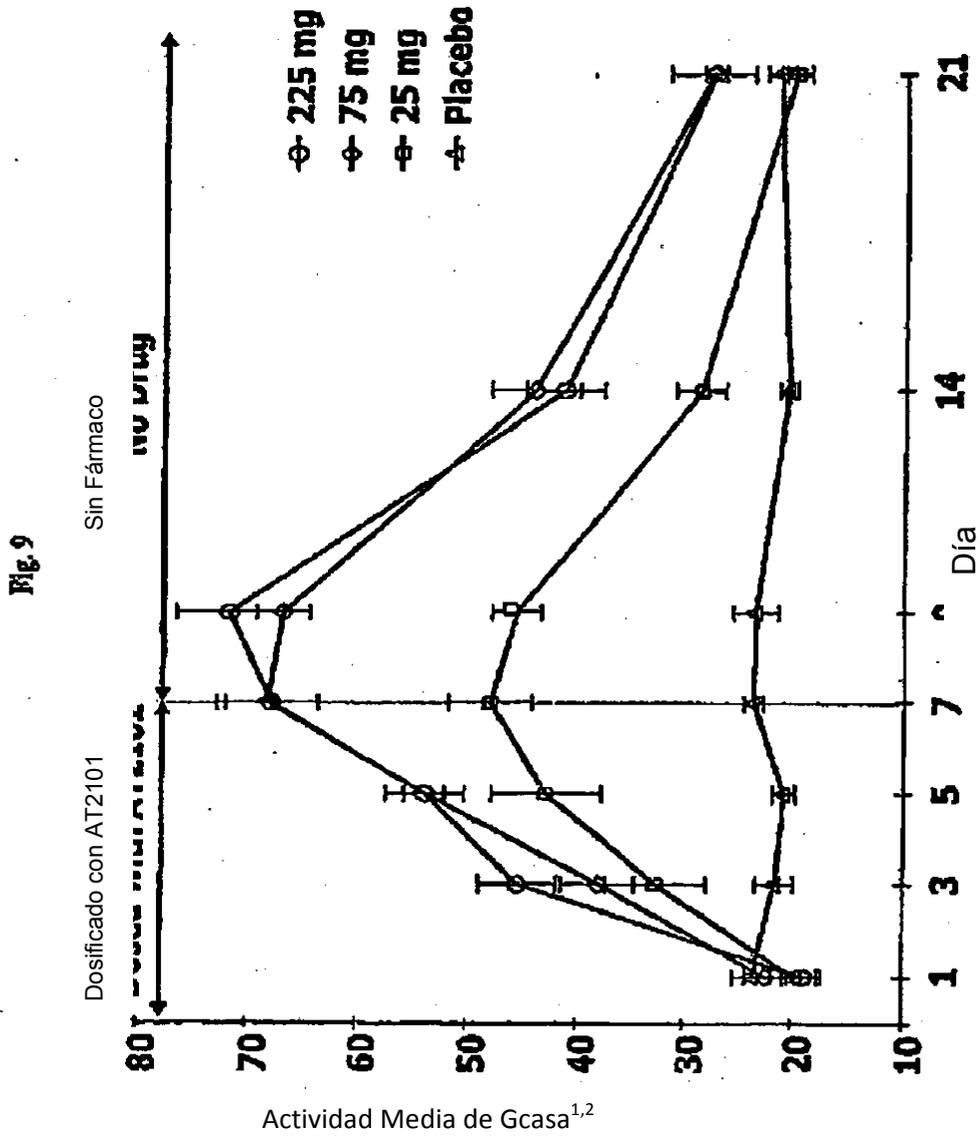


Fig. 7

Fig. 5





1. Unidades en nmoles de proteína 4MU/mg por hora
2. Valores consignados con error estándar

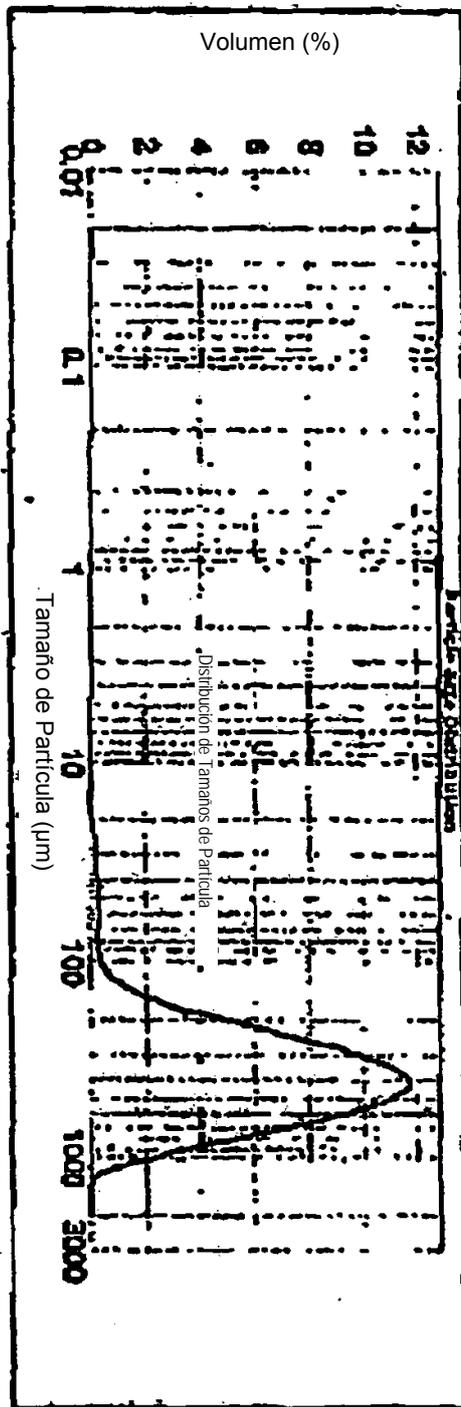


Fig. 10