(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 393 962**

(51) Int. Cl.:

C07H 19/20 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **09790117 .7**
(96) Fecha de presentación: **07.07.2009**
(97) Número de publicación de la solicitud: **2307435**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **13.04.2011**

(54) Título: **Sales de compuestos inhibidores del VIH.**

(30) Prioridad:

08.07.2008 US 78989

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:

03.01.2013

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:

03.01.2013

(73) Titular/es:

GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City, CA 94404, US

(72) Inventor/es:

GRAETZ, BENJAMIN, R. y
POLNIASZEK, RICHARD, P.

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 393 962 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

Sales de compuestos inhibidores del VIH

Campo de la invención

La invención se refiere en general a sales de compuestos con actividad antiviral y, más específicamente, con propiedades contra el VIH.

Antecedentes de la invención

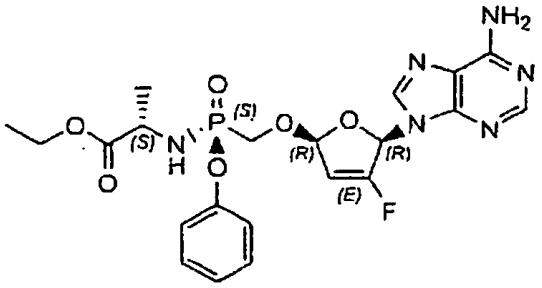
El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un retrovirus que puede conducir al síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA), una afección de los seres humanos en la que se debilita el sistema inmune, conduciendo a infecciones oportunistas que pueden ser mortales. Los inhibidores del VIH son útiles para tratar la infección por VIH en los mamíferos (p. ej., reducir y limitar el establecimiento y la progresión de la infección por VIH), así como en análisis de diagnóstico para el VIH. La utilidad de los inhibidores del VIH que se comercializan en la actualidad está limitada en cierto grado por la toxicidad y otros efectos secundarios. Así pues, existe una necesidad por nuevos agentes terapéuticos contra el VIH.

Una formulación farmacéutica de un agente terapéutico debe administrar reproducible y constantemente el agente terapéutico a un paciente en necesidad del mismo. Esta administración constante se puede conseguir, al menos parcialmente, mediante la incorporación de una forma del agente terapéutico en estado sólido soluble estable en la composición farmacéutica. Además, la síntesis de la forma del agente terapéutico en estado sólido deseada ha de ser técnica y económicamente viable, así como adecuada para una producción comercial a gran escala.

En los documentos WO 2006/015261 y WO 2006/110157, se describe el *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

Resumen de la invención

El *N*-[(*S*({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato es un inhibidor de la transcriptasa inversa que bloquea la replicación de los virus VIH *in vivo* e *in vitro* y tiene pocos efectos secundarios no deseados cuando se administra a seres humanos. La estructura del *N*-[(*S*)({[(2*R*,3*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se muestra en la Fórmula P:



(P)

El *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es un sólido amorfo de bajo punto de fusión que es difícil de aislar, purificar, almacenar durante un período prolongado y formularse en forma de una composición farmacéutica. El *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo también es una base débil que es capaz de formar sales con ácidos. Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona sales estables de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo que son más estables físicamente, y se aíslan y formulan más fácilmente que la forma de base libre del compuesto.

Las sales de la presente invención son útiles, por ejemplo, para tratar pacientes humanos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (cepas del VIH-1 o el VIH-2) que provoca el SIDA. Las sales de la presente invención también son útiles, por ejemplo, para preparar un medicamento destinado a tratar el VIH o un trastorno asociado con el VIH. Las sales de la presente invención también son útiles, por ejemplo, para inhibir la replicación de los virus del VIH *in vitro*, y se pueden usar, por tanto, en ensayos biológicos como compuestos control para identificar otros inhibidores de la transcriptasa inversa o para investigar el mecanismo de acción de la transcriptasa inversa del VIH y su inhibición.

Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención proporciona sales citrato, succinato y malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo. Se han

descrito procedimientos para elaborar las anteriores sales. En algunas realizaciones, las sales de la presente invención son anhidras, mientras que en otras realizaciones, las sales de la presente invención están al menos parcialmente hidratadas. En algunas realizaciones, las sales de la presente invención existen en formas cristalinas.

Así pues, la presente invención comprende sales citrato, succinato y malonato del compuesto de Fórmula P, así como sus hidratos. Los hidratos de la invención pueden estar en estado parcial (p. ej., hemi-hidratado) o completamente hidratado (p. ej., monohidratado). La presente invención también comprende las presentes sales en estado anhidro o esencialmente anhidro. De igual manera, las sales de la invención y sus hidratos comprenden los estados amorfo y cristalino, así como estados que comprenden características tanto amorfas como cristalinas. Como se usa en la presente memoria, “cristalino” significa un material que tiene una estructura molecular de orden de largo alcance. Por el contrario, los materiales “amorfos” no poseen un orden de largo alcance. Se entiende que los materiales cristalinos son, en general, más estables termodinámicamente que las formas amorfas de la misma sustancia. Así pues, sólo con algunas excepciones destacables, en general, en aplicaciones farmacéuticas, se prefiere el uso de materiales cristalinos. La medida del grado de cristalinidad de los compuestos de la invención se puede observar, por ejemplo, en lo puntiagudo de las bandas de absorción de CDB y DPRX (picos). Cuanto más puntiagudo es el pico, mayor es el grado de cristalinidad. Por el contrario, cuanto más ancho es el pico, menor es el grado de cristalinidad.

Como se describe de forma más completa en el Ejemplo 12 de la presente memoria, en realizaciones específicas, una sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil)-L-alaninato de etilo se caracteriza por bandas de absorción, obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X, a distancias espectrales d de 4,48; 3,12 y 6,05 ángstrom; una sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se caracteriza por bandas de absorción, obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X, a distancias d espectrales de 3,57; 4,80 y 4,99 ángstrom; y una sal malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il)oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se caracteriza por bandas de absorción, obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X, a distancias d espectrales de 4,99; 5,93 y 4,72 ángstrom. En otra realización específica, la presente invención proporciona una sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil)-L-alaninato de etilo que tiene un punto de fusión de 142ºC a 150ºC.

El *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es un profármaco de amidato que reacciona con y se descompone en disolventes próticos. La velocidad de la reacción depende del pH y de la temperatura. Por consiguiente, la formación de una sal estable entre el profármaco de amidato y el ácido cítrico, ácido succínico y/o ácido malónico, cada uno de los cuales contiene restos nucleófilos capaces de reaccionar con el profármaco (p. ej., reacción con el resto amidato del profármaco) es un resultado sorprendente e inesperado.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas, cada una de las cuales incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de la presente invención y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden incluir un agente terapéutico adicional, tal como un agente antiviral, antibacteriano, antifúngico o anticancerígeno. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en forma de formas de dosificación unitaria tales como comprimidos o cápsulas. Comúnmente, las formas de dosificación unitaria proporcionan una dosis diaria eficaz de una sal de la presente invención a un ser humano en necesidad de la misma. Las dosis diarias eficaces de las sales de la presente invención son típicamente de 1 mg a 100 mg, tal como de 10 mg a 30 mg.

Se revelan procedimientos para preparar las sales citrato, succinato y malonato de la presente invención. Así pues, por ejemplo, se revela un procedimiento para preparar una sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2R,5R)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo, procedimiento que incluye la etapa de poner en contacto aproximadamente un equivalente de base libre de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo en un disolvente adecuado (por ejemplo, acetonitrilo) con de aproximadamente un equivalente a aproximadamente 1,2 equivalentes de ácido cítrico a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 55ºC a aproximadamente 75ºC.

Se revela un procedimiento para preparar una sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo, procedimiento que incluye la etapa de poner en contacto aproximadamente un equivalente de base libre de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo en un disolvente adecuado (por ejemplo, 2-butanona) con de aproximadamente un equivalente a aproximadamente 1,2 equivalentes de ácido succínico a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 60ºC a aproximadamente 70ºC, formando la sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

Además, se revela un procedimiento para preparar una sal malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo, procedimiento que incluye la etapa de poner en contacto aproximadamente un equivalente de base libre de

N-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo en un disolvente adecuado (por ejemplo, 2-butanona) con de aproximadamente un equivalente a aproximadamente 1,2 equivalentes de ácido malónico a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 50ºC a aproximadamente 70ºC, formando la sal malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

Se revelan procedimientos para tratar o prevenir profilácticamente el SIDA, procedimientos que incluyen la etapa de administrar a un ser humano que padece SIDA una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de la invención o un hidrato de la misma.

Breve descripción de las figuras

La FIGURA 1 muestra una traza de calorimetría diferencial de barrido (CDB) característica para la sal malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

La FIGURA 2 muestra una traza de CDB característica para la sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

La FIGURA 3 muestra una traza de CDB característica para la sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

La FIGURA 4 muestra un patrón de difracción en polvo de rayos X (DPRX) característico para la sal malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

La FIGURA 5 muestra un patrón de difracción en polvo de rayos X (DPRX) característico para la sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

La FIGURA 6 muestra un patrón de difracción en polvo de rayos X (DPRX) característico para la sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

Descripción detallada de la realización ejemplar

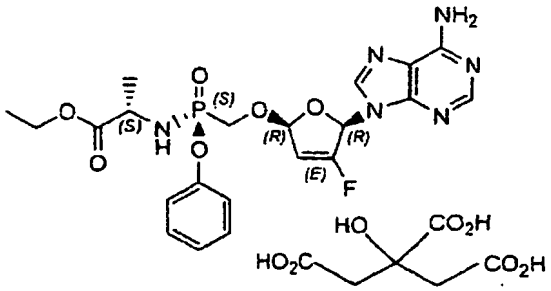
Cuando en la presente memoria se usan nombres comerciales, los solicitantes pretenden incluir de manera independiente el producto del nombre comercial y el/los ingrediente/s farmacéutico/s activo/s del producto del nombre comercial.

Sales de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

En un aspecto, la presente invención proporciona sales citrato, succinato y malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

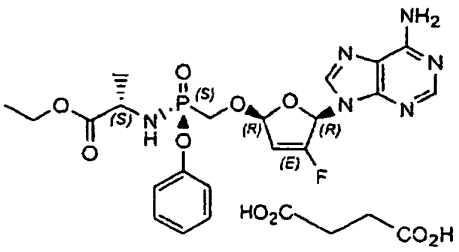
La sal citrato se muestra en la Fórmula I:

I



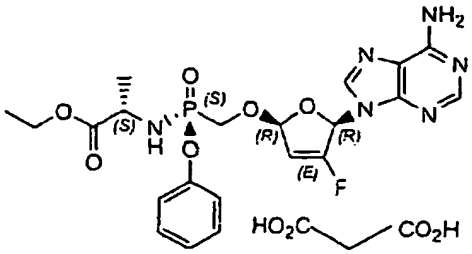
La sal succinato se muestra en la Fórmula II:

II



La sal malonato se muestra en la Fórmula III:

III



En el Ejemplo de referencia I de la presente memoria, se describe un procedimiento para sintetizar *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo. Los procedimientos para preparar las sales malonato, succinato y citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se describen en los Ejemplos 3, 4 y 5, respectivamente, de la presente memoria. En el Ejemplo 6 de la presente memoria, se describen algunas propiedades físicas de las sales anteriores, demostrando, por ejemplo, que cada una de estas sales es físicamente estable cuando se almacena a 40ºC y una humedad relativa del 75%.

Las sales citrato, succinato y malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo son útiles, por ejemplo, para inhibir la replicación del VIH *in vitro* e *in vivo*. A este respecto, como se explica con más detalle en el Ejemplo de referencia 8 de la presente memoria, el *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es un profármaco que se metaboliza en el cuerpo humano, produciendo un compuesto precursor que, a su vez, se fosforila en el cuerpo para producir el metabolito activo que inhibe la replicación del VIH. El Ejemplo de referencia 8 de la presente memoria muestra que el *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo provoca una mayor acumulación del metabolito activo en los glóbulos blancos, que son las células que albergan el virus del VIH, que la provocada por el compuesto precursor. Además, el Ejemplo de referencia 9 de la presente memoria presenta datos *in vitro* que muestran que el *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es un fármaco contra el VIH más potente que el compuesto precursor según lo medido en un ensayo *in vitro*. Además, el Ejemplo 10 de la presente memoria proporciona los datos que muestran que un comprimido que contiene la sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo proporciona este fármaco en el torrente sanguíneo de perros Beagle con una farmacocinética similar a una preparación líquida del fármaco administrado por vía oral. Por lo tanto, la sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es una composición física y químicamente estable de materia que se puede administrar oralmente a un sujeto vivo para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo, que es un agente contra el VIH más eficaz que el compuesto precursor.

Composición farmacéutica

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas, también denominadas formulaciones farmacéuticas, que incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de una o más sales de la invención y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Aunque las sales de la invención se pueden administrar solas, comúnmente, es preferible administrarlas como composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan con vehículos y excipientes convencionales que se seleccionan de acuerdo con la práctica común. El/los vehículo/s debe/n ser "aceptable/s" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuos para el receptor de los mismos. Los comprimidos contienen dichos componentes en forma de excipientes, agentes de deslizamiento, cargas, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril, y cuando se destinan a una administración distinta de la administración oral son generalmente isotónicas. Todas las formulaciones contienen opcionalmente excipientes tales como los expuestos en “Handbook of Pharmaceutical Excipients (R. C. Rowe *et al.*, *Pharmaceutical Press*, V ed., 2006). Los excipientes incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA, hidratos de carbono tales como dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmetilcelulosa, ácido esteárico y similares. El pH de las formulaciones varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 11, pero habitualmente es de aproximadamente 7 a 10.

Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria (por ejemplo, comprimido) y se pueden preparar mediante cualquiera de los procedimientos ampliamente conocidos en la técnica farmacéutica. Las técnicas y formulaciones se encuentran en general en “Remington Pharmaceutical Sciences” (Mack Publishing Co., Easton, PA). Dichos procedimientos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniformemente y en profundidad el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en cualquier forma adecuada para el procedimiento de administración deseado. Cuando se usan oralmente, se pueden preparar, por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleaginosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas blandas o duras, jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a un uso oral se pueden preparar según cualquier procedimiento conocido en la técnica de la fabricación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes, incluyendo agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación de un gusto agradable. Los comprimidos que contienen el ingrediente activo mezclado con un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable que son adecuados para la fabricación de comprimidos son aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes tales como carbonato de calcio o de sodio, lactosa, lactosa monohidratada, croscarmelosa sódica, povidona, fosfato de calcio o sodio; agentes de granulación y desintegrantes tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes tales como celulosa, celulosa microcristalina, almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o se pueden recubrir mediante técnicas conocidas que incluyen la microencapsulación para retrasar la desintegración y la adsorción en el tracto gastrointestinal, y así proporcionar una acción sostenida durante un período de tiempo más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

Las formulaciones para un uso oral también se pueden presentar en forma de cápsulas de gelatina dura, en las que el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, fosfato de calcio o caolín, o en forma de cápsulas de gelatina blanda, en las que el ingrediente activo está mezclado con agua o un medio oleaginoso tal como aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas de las sales de la invención contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes pueden incluir un agente de suspensión tal como carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga, y agentes dispersantes o humectantes tales como un fosfatida de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de la condensación de un óxido de alquileno con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de la condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanol), un producto de la condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes tales como *p*-hidroxi-benzoato de etilo o *n*-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleaginosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal tal como de aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante tal como cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral de sabor agradable. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables de la invención adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican mediante aquéllos descritos anteriormente. También pueden estar presentes

otros excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleaginosa puede ser un aceite vegetal tal como aceite de oliva o aceite de cacahuete, un aceite mineral tal como parafina líquida, o una mezcla de éstos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural tales como goma arábiga y goma de tragacanto, fosfatidas naturales tales como lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol tales como monooleato de sorbitán, y productos de la condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de polioxietilensorbitán. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes tales como glicerol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante, un aromatizante o un agente colorante.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en forma de una preparación inyectable estéril tal como una suspensión inyectable estéril acuosa u oleaginosa. Esta suspensión se puede formular según la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados que han sido mencionados anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable tal como una solución en 1,3-butano-diol o prepararse como un polvo liofilizado. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, se pueden emplear aceites fijos estériles convencionalmente como medio disolvente o de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo blando, entre los que se incluyen los mono- o di-glicéridos. Además, en la preparación de inyectables, se pueden usar ácidos grasos tales como ácido oleico.

La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con el material vehículo para producir una forma de monodosis variará dependiendo, por ejemplo, del modo particular de administración. Por ejemplo, una formulación de liberación a lo largo del tiempo para una administración oral a seres humanos puede contener de aproximadamente 1 a 1.000 mg de material activo combinado con una cantidad apropiada y conveniente de material vehículo que puede variar de aproximadamente 5% a aproximadamente 95% de la composición total (peso:peso).

Las formulaciones adecuadas para la administración ocular incluyen gotas para los ojos en las que el ingrediente activo está disuelto o suspendido en un vehículo adecuado, especialmente, un disolvente acuoso para el ingrediente activo.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada tal como sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo en vehículos líquidos adecuados.

Las formulaciones para la administración rectal se pueden presentar en forma de supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

Las formulaciones adecuadas para la administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo de entre 0,1 y 500 micrómetros en incrementos de micrómetros tales como 0,5, 1, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administra por inhalación rápida a través del conducto nasal o por inhalación a través de la boca para que llegue a los sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleaginosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para la administración de aerosol o polvo seco se pueden preparar según procedimientos convencionales y se administrar con otros agentes terapéuticos tales como los compuestos usados hasta la fecha en el tratamiento o la profilaxis de afecciones asociadas con la actividad del VIH.

Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en pulverizado que contienen, además del ingrediente activo, vehículos tales como los conocidos en la técnica como apropiados.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

Las formulaciones se presentan en recipientes monodosis o de múltiples dosis, por ejemplo, en ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en condiciones de criodesecación (liofilización) que sólo requieren la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, de agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquéllas que contienen una dosis diaria o unidad de sub-dosis diaria o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo. Así pues, se puede proporcionar, por ejemplo, una dosis diaria de una sal de la presente invención en un solo comprimido o en múltiples comprimidos (por ejemplo, dos o tres comprimidos).

Debe entenderse que, además de los ingredientes mencionados en particular anteriormente, las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, aquéllos adecuados para una administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

Las formulaciones farmacéuticas que también se encuentran dentro del alcance de la invención proporcionan una liberación controlada del ingrediente activo para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad del ingrediente activo. Por consiguiente, la invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una o más sales de la invención formuladas para una liberación controlada o sostenida.

Una dosis eficaz de una sal de la presente invención depende, por ejemplo, de si la sal se está usando profilácticamente (comúnmente, se requiere una dosis más baja en comparación con el uso terapéutico de la misma sal), el procedimiento de administración y la formulación farmacéutica, y será determinada por el profesional clínico mediante estudios convencionales de escalado de dosis. Cabe esperar que una dosis eficaz sea de aproximadamente 0,0001 mg/kg de peso corporal al día a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día. Comúnmente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal al día. Más típicamente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal al día. Más comúnmente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 kg/mg de peso corporal al día. Por ejemplo, la dosis diaria para un ser humano adulto de aproximadamente 70 kg de peso corporal variará comúnmente de 1 mg a 1.000 mg, preferentemente, de entre 5 mg y 500 mg, y puede tomar la forma de una o múltiples dosis. A modo de ejemplo, la dosis de una sal de la presente invención en una formulación de dosis unitaria que se administra una vez al día puede ser de 1 mg a 100 mg, tal como, de 30 mg a 60 mg, tal como una dosis diaria de 30 mg o una dosis diaria de 60 mg.

Terapia de combinación

Cada una de las sales citrato, succinato y malonato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se puede emplear en combinación con otros agentes terapéuticos para el tratamiento o la profilaxis del SIDA y/o una o más enfermedades diversas presentes en un sujeto humano que padece SIDA (por ejemplo, infecciones bacterianas y/o fúngicas, otras infecciones virales tales como la hepatitis B o la hepatitis C, o cánceres tales como sarcoma de Kaposi). El/los agente/s terapéutico/s adicional/es se puede/n coformular con uno o más sales de la invención (por ejemplo, coformularse en un comprimido).

Los ejemplos de dichos agentes terapéuticos adicionales incluyen agentes que son eficaces para el tratamiento o la profilaxis de infecciones virales, parasitarias o bacterianas, o afecciones asociadas, o para el tratamiento de tumores o afecciones relacionadas, incluyendo 3'-azido-3'-desoxitimidina (zidovudina, AZT), 2'-desoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidroadenosina (D4A), 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidrotimidina (D4T), carbovir (2',3'-didesoxi-2',3'-dideshidroguanosina carbocíclica), 3'-azido-2',3'-didesoxiuridina, 5-fluorotimidina, (*E*)-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina (BVDU), 2-clorodesoxiadenosina, 2-desoxicoformicina, 5-fluorouracilo, 5-fluorouridina, 5-fluoro-2'-desoxiuridina, 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina, 6-azauridina, ácido 5-fluoroarótico, metotrexato, triacetiluridina, 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-1-β-arabinosil)-5-yodocitidina (FIAC), tetrahidro-imidazo(4,5,1-jk)-(1,4)-benzodiazepin-3(1*H*)-tiona (TIBO), 2'-GMP norcíclico, 6-metoxipurina-arabinósido (ara-M), 2'-*O*-valerato de 6-metoxipurina-arabinósido; citosina-arabinósido (ara-C), 2',3'-didesoxinucleósidos tales como 2',3'-didesoxicitidina (ddC), 2',3'-didesoxiadenosina (ddA) y 2',3'-didesoxinosina (dd1); nucleósidos acíclicos tales como aciclovir, penciclovir, famciclovir, ganciclovir, HPMPC, PMEA, pMEG, PMPA, PMPDAP, FPMPA, HPMPA, HPMPDAP, (2*R*,5*R*)-9-terrahidro-5-(fosfonometoxi)-2-furaniladenina, (2*R*,5*R*)-1-tetrahidro-5-(fosfonometoxi)-2-furaniltimidina; otros antivirales incluyendo ribavirina (adenina-arabinósido), 2-tio-6-azauridina, tubercidina, ácido aurintricarboxílico, 3-deazaneoplanocina, neoplanocina, rimantidina, adamantina y foscarnet (fosfonoformiato trisódico); agentes antibacterianos, incluyendo fluoroquinolonas bactericidas (ciprofloxacina, pefloxacina y similares); antibióticos bactericidas aminoglucósidos (estreptomicina, gentamicina, amicacina y similares); inhibidores de β-lactamasa (cefalosporinas, penicilinas y similares); otros bactiricidas, entre los que se incluyen tetraciclina, isoniazida, rifampina, cefoperazona, claitromicina y azitromicina; agentes antiparasitarios o antifúngicos, incluyendo pentamidina (1,5-bis(4'-aminofenoxi)pentano), 9-desazainosina, sulfametoxazol, sulfadiazina, quinapiramina, quinina, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, anfotericina B, 5-fluorocitosina, clotrimazol, hexadecilfosfocolina y nistatina; inhibidores de la excreción renal tales como probenecid; inhibidores del transporte de nucleósidos tales como dipiridamol, dilazep y nitrobenciltioinosina; inmunomoduladores tales como FK506, ciclosporina A, timosina α-1; citoquinas incluyendo TNF y TGF-β; interferones incluyendo IFN-α, IFN-β e IFN-γ; interleucinas incluyendo diversas interleucinas, factores estimulantes de colonias de macrófagos/granulocitos, incluyendo GM-CSF, G-CSF; M-CSF, antagonistas de citocinas incluyendo anticuerpos anti-TNF, anticuerpos anti-interleucina, receptores solubles de interleucina, inhibidores de la proteína quinasa C y similares.

Los ejemplos de agentes terapéuticos o ingredientes activos adecuados que se pueden combinar con las sales de la invención y que tienen actividad contra el VIH, incluyen 1) inhibidores de la proteasa del VIH, por ejemplo, amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, ritonavir, lopinavir + ritonavir, nelfinavir, saquinavir, tipranavir, brecanavir, darunavir, TMC-126, TMC-114, mozenavir (DMP-450), JE-2147 (AG1776), AG1859, DG35, L-756423, RO0334649, KNI-272, DPC-681, DPC-684 y GW640385X, DG17.PPL-100; 2) un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa del VIH, por ejemplo, capravirina, emivirina, deloviridina, efavirenz, nevirapina, (+)calanolida A,

etravirina, GW5634, DPC-083, DPC-961, DPC-963, MIV-150 y TMC-120, TMC-278 (rilpivirina), efavirenz, BILR 355 BS, VRX 840773, UK-453,061, RDEA806; 3) un inhibidor nucleósido de la transcriptasa inversa del VIH, por ejemplo, zidovudina, emtricitabina, didanosina, estavudina, zalcitabina, lamivudina, abacavir, amdoxovir, elvucitabina, alovudina, MIV-210, racivir (-FTC), D-d4FC, emtricitabina, fosfazida, fozivudina tidoxil , fosalvudina tidoxil, apricitibina (AVX754), amdoxovir, KP-1461, abacavir + lamivudina, abacavir + lamivudina + zidovudina, zidovudina + lamivudina; 4) un inhibidor nucleótido de la transcriptasa inversa del VIH, por ejemplo, tenofovir, tenofovir disoproxil fumarato + emtricitabina, tenofovir disoproxil fumarato + emtricitabina + efavirenz y adefovir; 5) un inhibidor de la integrasa del VIH, por ejemplo, curcumina, derivados de curcumina, ácido chicórico, derivados de ácido chicórico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, derivados del ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido aurintricarboxílico, derivados de ácido aurintricarboxílico, fenetiléster ácido cafeico, derivados de fenetiléster de ácido cafeico, tirfostina, derivados de tifostina, quercetina, derivados de la quercetina, S-1360, zintevir (AR-177), L-870812 y L-870810, MK-0518 (raltegravir), BMS-707035, MIK-2048, BA-011, BMS-538158, GSK364735C; 6) un inhibidor de gp41, por ejemplo, enfuvirtida, sifuvirtida, FB006M, TRI-1144, SPC3, DES6, Locus gp41, CovX y REP 9; 7) un inhibidor de CXCR4, por ejemplo, AMD-070; 8) un inhibidor de la entrada, por ejemplo, SP01A, TNX-355; 9) un inhibidor de gp120, por ejemplo, BMS-488043 y BlockAide/CR; 10) un inhibidor de G6PD y NADH oxidasa, por ejemplo, inmunitina; 10) un inhibidor de CCR5, por ejemplo, aplaviroc, vicriviroc, INCB9471, PRO-140, INCB15050, P-232798, CCR5mAb004 y maraviroc; 11) un interferón, por ejemplo, rIFN-alfa 2b pegilado, rIFN-alfa 2a pegilado, rIFN-alfa 2b, IFN alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, IFN alfa consenso, infergen, rebif, locteron, AV1-005, PEG-infergen, IFN-beta pegilado, interferón alfa oral, ferón, reaferón, intermax alfa, r-IFN-beta, infergen + actimmune, IFN-omega con DUROS y albuferón; 12) análogos de ribavirina, por ejemplo, rebetol, copegus, levovirina, VX-497 y viramidina (taribavirina); 13) inhibidores de NS5a, por ejemplo, A-831 y A-689; 14) inhibidores de la polimerasa NS5b, por ejemplo, NM-283, valopicitabina, R1626, PSI-6130 (R1656), HIV-796, BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF-868554, GSK625433 y XTL-2125; 15) inhibidores de la proteasa NS3, por ejemplo, SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (Telaprevir), ITMN-191 y BILN-2065; 16) inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, por ejemplo, MX-3253 (celgosivir) y UT-231B; 17) hepatoprotectores, por ejemplo, IDN-6556, ME 3738, MitoQ y LB-84451; 18) inhibidores no nucleósidos del VIH, por ejemplo, derivados de bencimidazol, derivados de benzo-1,2,4-tiadiazina y derivados de fenilalanina; 19) otros fármacos para el tratamiento del VIH, por ejemplo, zadaxina, nitazoxanida (alinea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavituximab, oglufanide, PYN-17, KPE02003002, actilon (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975 (isatoribina), XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacina, EHC-18 y NIM811; 19) potenciadores farmacocinéticos, por ejemplo, BAS-100 y SPI452; 20) inhibidores de la ARNasa H, por ejemplo, ODN-93 y ODN-112; 21) otros agentes contra el VIH, por ejemplo, VGV-1, PA-457 (bevirimat), ampligen, HRG214, citolin, polimun, VGX-410, KD247, AMZ 0026, CYT 99007, A-221 VIH, BAY 50-4798, MDX010 (iplimumab), PBS119, ALG889 y PA-1050040.

De nuevo, a modo de ejemplo, la siguiente lista da a conocer ejemplos de antivirales contra el VIH, con sus correspondientes números de patente estadounidense, que se pueden combinar con las sales de la presente invención.

Ejemplos de antivirales contra el VIH y números de patente

Ziagen (Sulfato de abacavir, US 5.034.394)
Epzicom (Sulfato de abacavir/lamivudina, US 5.034.394)
Hepsera (Adefovir dipivoxil, US 4.724.233)
Agenerase (Amprenavir, US 5.646.180)
Reyataz (Sulfato de atazanavir, US 5.849.911)
Rescriptor (Mesilato de delavirdina, US 5.563.142)
Hivid (Didesoxicitidina; Zalcitabina, US 5.028.595)
Videx (Didesoxiinosina; Didanosina, US 4.861.759)
Sustiva (Efavirenz, US 5.519.021)
Emtriva (Emtricitabina, US 6.642.245)
Lexiva (Fosamprenavir cálcico, US 6.436.989)
Virudin; Triapten; Foscavir (Foscarnet sódico, US 6.476.009)
Crixivan (Sulfato de indinavir, US 5.413.999)
Epivir (Lamivudina, US 5.047.407)
Combivir (Lamivudina/Zidovudina, US 4.724.232)
Aluviran (Lopinavir)
Kaletra (Lopinavir/ritonavir, US 5.541.206)
Viracept (Mesilato de nelfinavir, US 5.484.926)
Viramuna (Nevirapina, US 5.366.972)
Norvir (Ritonavir, US 5.541.206)
Invirase; Fortovase (Mesilato de saquinavir, US 5.196.438)
Zerit (Estavudina, US 4.978.655)
Truvada (Tenofovir disoproxil fumarato/emtricitabina, US 5.210.085)
Aptivus (Tipranavir)
Retrovir (Zidovudina; Azidotimidina, US 4.724.232).

Procedimientos de inhibición del VIH

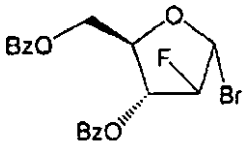
Se revelan procedimientos para tratar el Síndrome de InmunoDeficiencia Adquirida (SIDA), de modo que cada procedimiento incluye la etapa de administrar a un ser humano que padece SIDA una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de la invención, o un hidrato de una sal de la invención. El tratamiento del SIDA incluye la mejoría de al menos un síntoma del SIDA, y/o ralentizar o prevenir la progresión de la enfermedad. Lo común es administrar la cantidad terapéuticamente eficaz de la sal a un ser humano en forma de una composición farmacéutica, según lo descrito en el apartado titulado "Composiciones farmacéuticas". Comúnmente, la composición farmacéutica se administra por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimido. Los ejemplos de dosis diarias terapéuticamente eficaces de una o más sales de la invención, o sus hidratos, son de 1 mg a 100 mg, tal como de 10 mg a 30 mg. Las sales de la invención se pueden administrar diariamente, por ejemplo, en forma de uno o más comprimidos que incluyen una cantidad de sal que proporciona una cantidad eficaz, tal como 10 mg o 30 mg o 60 mg, de la base libre, cuando la sal se disocia en un medio acuoso dentro del cuerpo humano.

Vías de administración

Se administrarán una o más sales de la invención por cualquier vía apropiada para la afección por tratar. Las vías adecuadas incluyen la vía oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural) y similares. Se apreciará que la vía preferida puede variar, por ejemplo, con la afección del receptor. Una ventaja de las sales de la presente invención es que son biodisponibles oralmente y se pueden administrar oralmente.

Ejemplos y realizaciones ejemplares:

Ejemplo de referencia 1. Síntesis de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.



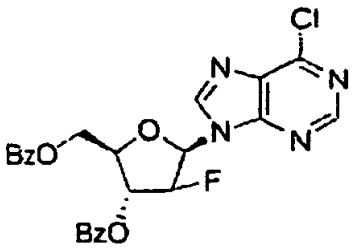
(2)

2-Desoxi-2-fluoro-3,5-di-*O*-benzoil-α-D-arabinofuranosilbromuro (2)

El Compuesto (2) se sintetizó según los esquemas sintéticos revelados en Tann *et al.*, JOC, 1985, Vol. 50, p. 3644 y Howell *et al.*, JOC, 1988, Vol. 53, p.85.

A una solución de 1,3,5-tri-*O*-benzoil-2-desoxi-2-fluoro-α-D-arabinofuranosa (1) (120 g, 258 mmol), comercialmente disponible en Davos o CMS chemicals, en CH_2Cl_2 (1 l) se añadió HBr al 33%/ácido acético (80 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h, se enfrió con agua con hielo y se neutralizó lentamente durante 1-2 h con $NaHCO_3$ (150 g/solución de 1,5 l).

Se separó la fase de CH_2Cl_2 y se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en acetato de etilo y se lavó con $NaHCO_3$ hasta que no quedó ácido presente. Se secó la fase orgánica sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró bajo una presión reducida, dando el producto 2 en forma de un aceite amarillo (~115 g).



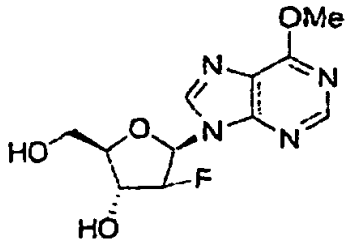
(3)

2-Desoxi-2-fluoro-3,5-di-*O*-benzoil-β-D-arabinofuranosil-9*H*-6-cloropurina (3)

El Compuesto (3) se sintetizó según los esquemas sintéticos revelados en Ma *et al, J. Med. Chem,* 1997, Vol. 40, p. 2750; Marquez *et al, J. Med. Chem*, 1990, Vol. 33, p. 978; Hildebrand *et al, J. Org. Chem*, 1992, Vol. 57, p. 1808 y Kazimierczuk *et al*, JACS, 1984, Vol. 106, p. 6379.

A una suspensión de NaH (14 g, 60%) en acetonitrilo (900 ml), se añadió 6-cloropurina (52,6 g) en 3 porciones. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió una solución de 2 (258 mmol) en acetonitrilo (300 ml) en gotas. Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 16 h. Se interrumpió la reacción con ácido

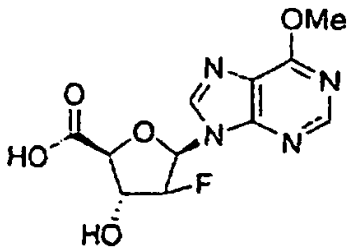
acético (3,5 ml), se filtró y se concentró bajo presión reducida. Se dividió el residuo entre CH_2Cl_2 y agua. Se secó la fase orgánica sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró. Se trató el residuo con CH_2Cl_2 y luego con EtOH (~1:2 total), precipitando el producto 3 deseado en forma de un sólido amarillento (83 g, 65% de 1).



(4)

2-Desoxi-2-fluoro-β-D-arabinofuranesil-6-metoxiadenina (4)

A una suspensión de 3 (83 g, 167 mmol) en metanol (1 l) a 0°C, se añadió NaOMe (25% en peso, 76 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h, y luego se interrumpió con ácido acético (~11 ml, pH = 7). Se concentró la mezcla bajo una presión reducida, y se dividió el residuo resultante entre hexano y agua (aproximadamente 500 ml de hexano y 300 ml de agua). Se separó la capa acuosa y volvió a mezclar la capa orgánica con agua una vez (aproximadamente 300 ml). Se combinaron las fracciones acuosas, y se concentraron bajo presión reducida hasta ~100 ml. Precipitó el producto 4, y se recogió mediante filtración (42 g, 88%).

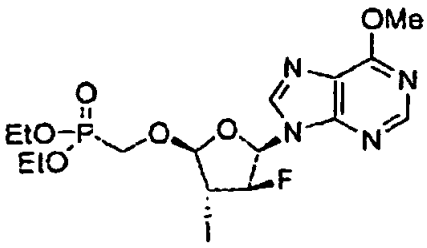


(5)

1-Desoxi-2-fluoro-5-carboxi-β-D-arabinofuranosil-6-metoxiadenina (5)

El Compuesto (5) se sintetizó según los esquemas sintéticos revelados en Moss *et al., J. Chem. Soc.*, 1963, p. 1149.

Se agitó una mezcla de Pt/C (10%, 15 g (20-30% equiv. molares) en forma de suspensión acuosa) y $NaHCO_3$ (1,5 g, 17,94 mmol) en H_2O (500 ml) a 65ºC bajo H_2 durante 0,5 h. Luego se dejó enfriar la mezcla de reacción, se colocó al vacío y se purgó con N_2 varias veces para eliminar completamente todo el H_2. Entonces se añadió el Compuesto 4 (5,1 g, 17,94 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 65ºC bajo O_2 (balón) hasta que la reacción se completó según CL-EM (comúnmente 24-72 h). Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se filtró. Se lavó bien el Pt/C con H_2O. Se concentraron los filtrados combinados hasta ~30 ml y se acidificó (pH 4) mediante la adición de HCl (4N) a 0ºC. Precipitó un sólido negro que se recogió mediante filtración. Se disolvió el producto crudo en una cantidad mínima de metanol y se filtró a través de un lecho corto de gel de sílice (eluyendo con metanol). Se concentró el filtrado y se cristalizó en agua, dando el Compuesto 5 (2,5 g) en forma de un sólido de color blanco roto.



(6)

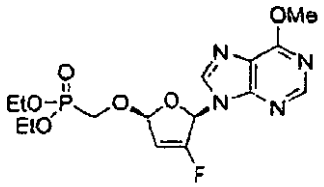
(2'*R*, 3'*S*, 4'*R*, 5'*R*)-6-Metoxi-9-[tetrahidro-4-yodo-3-fluoro-5-(dietoxifosfinil)metoxi-2-furanil]purina (6)

El Compuesto (6) se sintetizó según los esquemas sintéticos revelados en Zemlicka *et al.*, J. *Amer. Chem., Soc.*, 1972, Vol. 94, p. 3213.

A una solución de 5 (22 mg; 73,77 mmol) en DMF (400 ml), se añadieron DMF dineopentil acetal (150 ml, 538 mmol) y ácido metanosulfónico (9,5 ml; 146,6 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 80-93ºC (temperatura interna) durante 30 min, luego se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró bajo una presión reducida. Se dividió el residuo entre acetato de etilo y agua. Se separó la fase orgánica y se lavó con $NaHCO_3$ seguido de salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró bajo presión reducida. Se disolvieron el residuo y dietil(hidroximetil)fosfonato (33 ml, 225 mmol) en CH_2Cl_2 (250 ml) y se enfriaron hasta -40ºC. Se añadió una solución de monobromuro de yodo (30,5 g, 1,1 mmol) en CH_2Cl_2 (100 ml) en gotas. Se agitó la mezcla de -20ºC a -5ºC durante 6 h. Luego se detuvo la reacción con $NaHCO_3$ y $Na_2S_2O_3$. Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con CH_2Cl_2. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y concentraron bajo presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice, dando el producto 6 (6 g, 15,3%).

Procedimiento alternativo para la preparación de 6

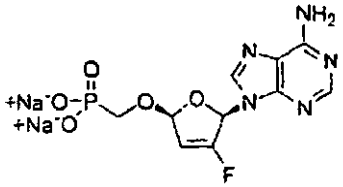
Se trató una solución de 5 (2,0 g, 6,7 mmol) en THF (45 ml) con trifenilfosfina (2,3 g, 8,7 mmol) bajo N_2. Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (1,8 g, 8,7 mmol) lentamente. Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 h y luego se concentró bajo presión reducida hasta la sequedad. Se disolvió el residuo en CH_2Cl_2 (20 ml), y luego se trató con dietil(hidroximetil)fosfonato (4,5 g, 27 mmol). Se enfrió la mezcla hasta -60ºC y luego se añadió una solución fría de monobromuro de yodo (2 g, 9,6 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml). Se calentó la mezcla de reacción hasta -10ºC y después se mantuvo a -10ºC durante 1 h. Se diluyó la mezcla de reacción con CH_2Cl_2, se lavó con $NaHCO_3$ acuoso saturado y luego con tiosulfato de sodio acuoso. Se separó la fase orgánica, se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró bajo presión reducida hasta la sequedad. Se purificó la mezcla de reacción mediante cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 25% en CH_2Cl_2, después se cambió a metanol al 3% en CH_3Cl_2), proporcionando el producto **6** (0,9 g, 33%).



(7)

(2'*R*, 5'*R*)-6-Metoxi-9-[3-fluoro-2,5-dihidro-5-(dietoxifosfinil)metoxi-2-furanil]purina (7)

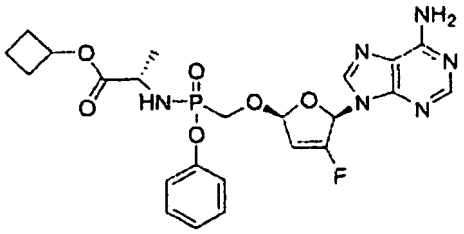
A una solución del Compuesto **6** (6 g, 11,3 mmol) en ácido acético (2,5 ml) y metanol (50 ml), se añadió NaClO (10-13%) (50 ml) en gotas. Después, se agitó la mezcla de reacción durante 0,5 h y se concentró bajo presión reducida. Se trató el residuo con acetato de etilo y luego se filtró para eliminar los sólidos. Se concentró el filtrado y se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice, dando el compuesto **7** (4 g; 88%).



(8)

Sal disodio de (2'*R*, 5'*R*)-9-(fluoro-2,5-dihidro-5-fosfonometoxi-2-furanil)adenina (8)

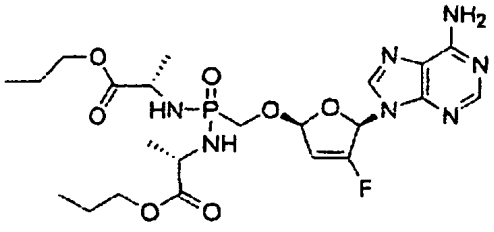
Se mezcló una solución del compuesto **7** (2,3 g, 5,7 mmol) en metanol (6 ml) con hidróxido de amonio (28-30%) (60 ml). Se agitó la mezcla resultante a 120ºC durante 4 h, se enfrió y luego se concentró bajo presión reducida. Se secó el residuo al vacío durante 12 h. Se disolvió el residuo en DMF (40 ml) y se añadió bromotrimetilsilano (3,5 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h y luego se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en $NaHCO_3$ (2,3 g en 100 ml de agua). Se evaporó la solución y se purificó el residuo sobre una columna C-18 (40 µm), eluyendo con agua. Se criodesecaron las fracciones acuosas, dando la sal disodio **8** (1,22 g, 57%).



(9)

Ejemplo de preparación del monoamidato (9)

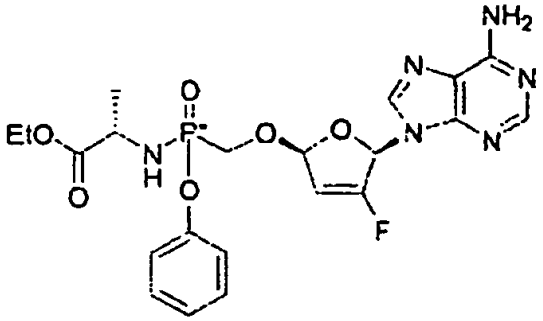
Se mezclaron sal disodio **8** (25 mg, 0,066 mmol), clorhidrato de (*S*)-Ala-*O*-ciclobutiléster (24 mg, 2 eq., 0,133 mmol) y fenol (31 mg, 0,333 mmol) en piridina anhidra (1 ml). Se añadió trietilamina (111 µl, 0,799 mmol) y se agitó la mezcla resultante a 60ºC bajo nitrógeno. En un matraz separado, se disolvieron 2'-aldritiol (122 mg, 0,466 mmol) y trifenilfosfina (103 mg, 0,466 mmol) en piridina anhidra (0,5 ml), y se agitó la solución amarilla resultante durante 15-20 min. Luego se añadió la solución a la solución de **8** en una porción. Se agitó la mezcla combinada a 60ºC bajo nitrógeno durante 16 h, dando una solución de color amarillo a marrón claro transparente. Después se concentró la mezcla bajo presión reducida. Se disolvió el aceite resultante en CH_2Cl_2 y se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente lineal de MeOH del 0 al 5% en CH_2Cl_2) dando un aceite. Se disolvió el aceite resultante en acetonitrilo y agua, y se purificó mediante CLAR preparativa (gradiente lineal, acetonitrilo al 5-95% en agua). Se combinaron las fracciones puras y se criodesecaron, dando monoamidato **9** en forma de polvo blanco.



(10)

Ejemplo de preparación de bis-amidato (10)

Se mezclaron sal disodio **8** (12 mg, 0,032 mmol), clorhidrato de (*S*)-Ala-*O*-*n*-Pr-éster (32 mg, 6 eq., 0,192 mmol) en piridina anhidra (1 ml). Se añadió trietilamina (53 µl, 0,384 mmol) y se agitó la mezcla resultante a 60ºC bajo nitrógeno. En un matraz separado, se disolvieron 2'-aldritiol (59 mg, 0,224 mmol) y trifenilfosfina (49 mg, 0,224 mmol) en piridina anhidra (0,5 ml) y se agitó la solución amarilla resultante durante 15-20 min. Luego se añadió la solución a la solución de **8** en una porción. Se agitó la mezcla combinada a 60ºC bajo nitrógeno durante 16 h, dando una solución de color amarillo a marrón claro transparente. Después se concentró la mezcla bajo presión reducida. Se disolvió el aceite resultante en CH_2Cl_2 y se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente lineal de MeOH del 0 al 5% en CH_2Cl_2), dando un aceite. Se disolvió el aceite resultante en acetonitrilo y agua, y se purificó mediante CLAR preparativa (gradiente lineal, acetonitrilo al 5-95% en agua). Se combinaron las fracciones puras y se criodesecaron, dando el bis-amidato en forma de polvo blanco.



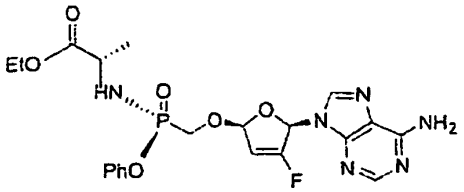
Ejemplo de preparación del monoamidato (11)

Se mezcló el Compuesto **8** (1,5 g, 4 mmol) con sal HCl de etil-alanin-éster (1,23 g, 8 mmol) y fenol (1,88 g, 20 mmol).

Se añadió piridina anhidra (35 ml) seguida de TEA (6,7 ml, 48 mmol). Se agitó la mezcla a 60ºC bajo nitrógeno durante 15-20 min. Se mezcló 2'-aldritiol (7,3 g) en un matraz separado con trifenilfosfina (6,2 g) en piridina anhidra (5 ml), y se agitó la mezcla resultante durante 10-15 min, dando una solución transparente de color amarillo claro. Luego se añadió la solución a la solución anterior y se agitó durante una noche a 60ºC. Se concentró la mezcla bajo presión reducida para eliminar la piridina. Se disolvió el residuo resultante en acetato de etilo y se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico (x 2) y luego con una solución saturada de cloruro sódico. Se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró bajo una presión reducida. Se disolvió el aceite resultante en diclorometano y se cargó sobre una columna CombiFlash seca, 40 g, eluyendo con un gradiente lineal de metanol al 0-5% en diclorometano durante 10 min y luego con metanol al 5% en diclorometano durante 7-10 min. Se combinaron las fracciones que contenían el producto deseado y se concentraron bajo presión reducida, dando una espuma. Se disolvió la espuma en acetonitrilo y se purificó mediante CLAR prep, dando **11** (0,95 g).

Se disolvió **11** (950 mg) en una pequeña cantidad de acetonitrilo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante una noche. Se recogió el sólido mediante filtración y se lavó con una cantidad pequeña de acetonitrilo. Se redujo el filtrado al vacío y luego se cargó sobre una columna Chiralpak AS-H equilibrada en Tampón A, etanol al 2% en acetonitrilo. El isómero A, **12**, se eluyó con tampón A a 10 ml/min durante 17 min., tras lo que se usó Tampón B, metanol al 50% en acetonitrilo, para eluir el isómero B, **13**, por separado de la columna en 8 min.

Se retiró todo el disolvente y luego se volvió a disolver por separado en acetonitrilo y agua. Las muestras se criodesecaron por separado (Masa: 348 mg). A continuación, se muestra el isómero 12:



(12)

Ejemplo 2. Rastreo de las formas salinas de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

Se rastrearon los siguientes ácidos para determinar si formaban las sales cristalinas adecuadas de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo: Ácidos minerales (HX, en los que X = halógeno; H_3PO_4); ácidos sulfónicos orgánicos (RSO_3H, en los que R = Me, Et, Ph, ácido (+)-alcanfor-10-sulfónico; ácido naftalen-2-sulfónico; ácido naftalen-1,5-disulfónico); ácidos monocarboxílicos (RCO_2H, en los que R = H, Me, Et, Ph, *trans*-PhCH=CH, Cl_2CH, $PhCONHCH_2$) y ácidos dicarboxílicos (malónico, succínico, fumárico, adípico, oxálico, maleico).

Se obtuvieron sólidos con tres de los ácidos anteriores cuando se mezclaron con *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo: ácido trifluoroacético, ácido malónico y ácido succínico. El ácido trifluoroacético no se considera farmacéuticamente aceptable.

El *N*-((S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es un profármaco de amidato que se descompone en disolventes próticos en condiciones ácidas o básicas. Por esta razón, los ácidos con restos potencialmente nucleófilos no se incluyeron en la serie inicial del rastreo. Posteriormente, se evaluaron el ácido cítrico, ácido glicólico, ácido (*S*)-(+)-láctico, ácido salicílico, ácido (*S*)-(-)-málico, ácido (*S*)-(+)-mandélico y ácido (*S*)-(+)-glutámico. El *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo formó inesperadamente una sal cristalina estable con el ácido cítrico. Esto no era de esperar, porque el ácido cítrico incluye un grupo hidroxilo que puede actuar como nucleófilo hacia el resto amidato del *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfi- noil]-L-alaninato de etilo, pudiendo entrar en reacción con el mismo, formándose un enlace covalente entre el *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo y el grupo hidroxilo del ácido cítrico en la expulsión bien del fenol o del etiléster de alanina.

Ejemplo 3. Síntesis de la sal malonato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

Se disolvió la forma de base libre del *N*-[(S)({((2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo en 2-butanona caliente (15 partes) y se añadió ácido malónico (0,26 partes), formando una solución con agitación. Se añadió heptano (5 partes) a la solución que se enfrió lentamente hasta aproximadamente 5ºC, se recogió y se aclaró con 2-butanona/heptano frío. Por consiguiente, la sal malonato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se produjo con un

rendimiento del aproximadamente 80%.

El espectro de RMN de la sal malonato tenía las siguientes características: RMN de ^{1}H (400 MHz, CLOROFORMO-d) ppm = 8,27 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,32 -7,20 (m, 3H), 7,15 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 6,78 (m, 1H), 5,88 (sa, 1H), 5,78 (s, 1H), 4,17 (m, 2H), 4,15-4,07 (m, 3H), 3,85 (dd, J = 8,0; 8,0, 1H), 3,38 (s, N), 1,31 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 1,23 (t, J = 7,0 Hz, 3H).
RMN de ^{31}P (162 MHz, CLOROFORMO-d) ppm = 20,64 (s)
RMN de ^{19}F (376 MHz, ACETONITRILO-d3) ppm = -135,19 (s)

Ejemplo 4. Síntesis de la sal succinato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran- 2-il]oxi} metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

Se disolvió la forma de base libre de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-*S*-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo en 2-butanona caliente (15 partes), y se añadió ácido succínico (0,28 partes), formando una solución con agitación. Se enfrió lentamente la solución hasta aproximadamente 5ºC, se recogió y se aclaró con 2-butanona fría, produciendo así la sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidro-furan-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo a un rendimiento del 80%.

El espectro de RMN de la sal succinato tenía las siguientes características: RMN de ^{1}H (400 MHz, ACETONITRILO-d3) ppm = 8,26 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,29 (dd, J = 7,6; 7,6 Hz, 2H), 7,16 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 6,78 (m, 1H), 6,17 (sa, 1H), 5,89 (m, 2 H), 4,12-3,95 (multipletes solapados, 6H), 2,53 (s, 4H), 1,34 (d, J= 6,8, 3H), 1,18 (t, J = 7,2, 3H).
RMN de ^{31}P (162 MHz, Acetonitrilo-d3) ppm = 21,60 (s)
RMN de ^{19}F (376 MHz, Acetonitrilo-d3) ppm = -135,19 (s)

Ejemplo 5. Síntesis de la sal citrato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo.

Se disolvió la forma de base libre de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo (aproximadamente, 30 g) en acetonitrilo caliente (16 partes), y se añadió ácido cítrico (0,38 partes) con agitación. Se enfrió lentamente la solución resultante hasta aproximadamente 5ºC, se recogió y se aclaró con acetonitrilo frío, y se secó, proporcionando así la sal citrato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-3-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo con un rendimiento del aproximadamente 84%.

El espectro de RMN de la sal citrato tenía las siguientes características: RMN de ^{1}H (400 MHz ,DMSO-d6) ppm = 8,20 (s, 2H), 7,45 (2H, sa), 7,29 (dd, J = 7,6; 7,6 Hz, 2H), 7,13 (dd, J = 7,2 Hz, J = 7,2 Hz, 1H), 7,12 (dd, J = 8,0 Hz, J = 8,0 Hz, 2H), 6,86 (d J = 3,4 Hz, 1H), 6,14 (s, 1H), 5,97 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 5,78 (dd, J = 12,2; 10,4 Hz, 1H), 4,05 (m, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,98 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 2,76 (d, J = 15,6 Hz, 2H), 2,66 (d, J = 15,6 Hz, 2H), 1,16 (d, J = 7,2 Hz, 1H).
RMN de ^{31}P (162 MHz, DMSO-d6) ppm = 22,29 (s).
RMN de ^{19}F (376 MHz, ACETONITRILO-d3) ppm = -133,88 (s).
EMAR: *m/z*: 507,1561; Calcd. para $C_{21}H_{24}FN_6O_6P$: 507,1557.
Anal. Calcd. para $C_{21}H_{24}FN_6O_6P$: C: 46,42; H: 4,62; N: 12,03, P: 4,43; F: 2,72; encontrado: C: 45,83; H: 4,74; N: 11,81; P: 4,45; 35 F: 2,80.

Ejemplo 6. Propiedades fisicoquímicas de las sales de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi} metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

Se prepararon lotes representativos de las sales malonato, succinato y citrato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo. Se determinaron los puntos de fusión de estas sales y sirvieron como una medida aproximada de la estabilidad, indicando un punto de fusión más alto un nivel superior de estabilidad. Como se muestra en la Tabla 1, la sal citrato tenía el punto de fusión más alto. Además, en la Tabla 1, se muestra el calor de fusión ($\Delta H_{tfusión}$) de cada una de las tres sales. La sal citrato resultó tener el calor de fusión más elevado, lo que indicaba un grado de cristalinidad en estado sólido mayor al de las otras dos sales.

Tabla 1. Temperaturas de fusión y calor de fusión de las sales succinato, malonato y citrato de *N*-[(S)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

Sal	**Peso molecular**	**$^{\Delta H}$(fusión) J/g**	**T_m (ºC)**
Sal succinato	624,52	58,85	138,06
Sal malonato	610,49	66,10	120,13
Sal citrato	698,56	127,59	149,76

La forma de base libre de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi} metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es amorfa, higroscópica y químicamente inestable cuando se almacena en un espacio abierto a 40ºC y una humedad relativa del 75% (HR). Como se muestra en la Tabla 2, las correspondientes sales succinato, malonato y citrato no resultaron ser higroscópicas a temperatura ambiente al exponerlas a una humedad relativa del 92% durante varios días.

Tabla 2. Higroscopicidad en estado sólido de las formas salinas de *N*-[(S)({[2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo a temperatura ambiente

Sal	**Tiempo (días)**	**20-25ºC/HR del 92%**
Sal succinato	0	0,01
	13	0,010
Sal malonato	0	0,02
	13	0,12
Sal citrato	0	0,01
	25	0,02

La estabilidad química en estado sólido de la base libre de las sales succinato, malonato y citrato de *N*-[(S)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se examinó en condiciones de espacio abierto a 40ºC y humedad relativa del 75%. Como se muestra en la Tabla 3, la sal citrato muestra una estabilidad química superior a la de las sales succinato y malonato.

Tabla 3. Estabilidad en estado sólido de la forma de base libre de *N*-[(*S*)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5- dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo y las sales succinato, citrato, malonato correspondientes a 40ºC/humedad relativa del 75% en un espacio abierto

Forma	**Tiempo (días)**	**Base libre (%)**	**Otras impurezas (%)**
Base libre	0	99,01	0,99
	7	82,95	17,05
	14	66,89	33,11
	22	55,90	44,10
Sal succinato	0	98,95	1,05
	9	95,15	4,85
	16	92,47	7,53
	22	90,43	9,57
	30	85,92	14,08

(continuación)

Forma	Tiempo (días)	Base libre (%)	Otras impurezas (%)
Sal malonato	0	97,82	2,18
	9	94,66	5,34
	16	92,97	7,03
	30	93,48	6,52
	30	85,84	14,16
Sal citrato	0	98,00	2,00
	4	97,27	2,73
	12	97,20	2,80
	17	95,86	4,14
	27	94,59	5,41

Ejemplo 7. Composición de comprimidos que proporcionan un equivalente de 10 mg y 30 mg de base libre de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

Se formuló la sal citrato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuron-2-il]oxi}metil) fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo en comprimidos de 10 mg y 30 mg usando el procedimiento de compactación con rodillos. Primero se mezclaron el ingrediente activo, lactosa anhidra, celulosa microcristalina y croscarmelosa sódica, luego se lubricó la mezcla con un tercio de la cantidad total de estearato de magnesio, luego se compactó con un rodillo, tras lo que se trituró. Se lubricaron los gránulos resultantes con el resto de la cantidad de estearato de magnesio y se presionaron en comprimidos.

La Tabla 4 muestra la composición de comprimidos que incluyen la sal citrato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuron-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo y que proporcionan bien 10 mg o 30 mg de la forma de base libre del compuesto cuando la sal citrato se disocia en un medio acuoso.

Tabla 4

Componentes	**% p/p**	**Fórmula por unidad de comprimido (mg/unidad)**		**Referencia compendial**	**Función**
		10 mg	**30 mg**		
Sal citrato	13,79[4]	13,79[a.h]	4 1,37[a.c]	RCI	Ingrediente activo
Lactosa anhidra[d]	66,00	66,00	198,00	FN	Diluyente/Carga
Celulosa microcristalina	15,21	15,21	45,63	FN	Aglutinante/Carga
Croscarmelosa sódica	3,50	3,50	10,50	FN	Desintegrante
Estearato de magnesio	1,50	1,50	4,50	FN	Lubricante
Total	100,00	100,00	300,00		

a Equivale al 10% de 2/2 de la forma de base libre del compuesto. El peso de la sustancia farmacológica real se ajustará para que corresponda con la pureza de la sustancia farmacológica.
b Equivale a 10 mg de la forma de base libre del compuesto.
c Equivale a 30 mg e la forma de base libre del compuesto.
d La cantidad de la sustancia farmacológica ajustada se restará de la cantidad de lactosa anhidra.
c La abreviatura FN significa Formulario Nacional y la abreviatura HSE significa Referencia Compendial Interna que es la norma interna usada en Gilead Sciences.

Ejemplo de referencia 8. Comparación de la carga de linfocitos del metabolito activo tras la administración a linfocitos de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuron-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo (profármaco) o compuesto precursor.

El *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuron-2-il]oxi}metil) fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo es un profármaco que se hidroliza en el cuerpo humano produciendo un producto de hidrólisis que, en lo sucesivo, se denominará "el compuesto precursor". El compuesto precursor se fosforila en el cuerpo humano, produciendo un producto fosforilado biológicamente activo (en lo sucesivo, "el metabolito activo") que inhibe la actividad de la enzima transcriptasa inversa.

Para caracterizar el metabolismo intracelular del profármaco y del compuesto precursor, se trataron los linfocitos bien con profármaco 1µM o compuesto precursor 100µM durante 2, 6 y 24 horas. Se aislaron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de capas leucocitarias humanas (Stanford Blood Bank, Palo Alto, CA), mediante centrifugación en Ficoll Paque Plus (GE Healthcare, Piscataway, NJ) según el procedimiento del fabricante. Las CMSP aisladas de 3 a 4 donantes independientes se mantuvieron en medio RPMI-1640 con suero bovino fetal al 20% y antibióticos (estado quiescente) o se activaron en presencia de interleucina 2 (20 unidades/ml, Roche Biochemicals, Indianápolis, IN) y fitohemaglutinina PHA-P (1 µg/ml, Sigma) durante 3 a 4 días antes de iniciar los experimentos.

Se obtuvieron linfocitos T CCRF-CEM transformados humanos de la Colección Americana de Cultivos Tipo (Manassas, VA) y se cultivaron en medio RPMI-1640 complementado con SBF al 10% y antibióticos. Se recogió una alícuota de células (2-3 x 10^6 células) en cada punto temporal, se contaron, se sedimentaron mediante centrifugación, se volvieron a suspender en 0,5 ml del medio de tratamiento original y se dispusieron en capas sobre 0,5 ml de aceite Nyosil M25. Se centrifugaron las muestras en un microcentrifugador durante 20 segundos a una velocidad máxima (aproximadamente 800 x g). Se retiró la capa superior del medio y se lavó la capa oleaginosa dos veces con 0,8 ml de solución salina tamponada con fosfato. Se retiraron cuidadosamente el tampón de lavado y la capa oleaginosa, se volvieron a suspender los nódulos celulares en 0,5 ml de metanol al 70% y se incubaron durante una noche a -70ºC para facilitar la lisis celular. Se centrifugaron los lisados celulares, se recogieron los sobrenadantes, se secaron al vacío y se volvieron a suspender en 10 µl de acetato de tetrabutilamonio que contenía el difosfato de ácido [5-(6-amino-purin-9-il)-2,5-dihidro-furan-2-iloximetil]-fosfónico (el análogo no fluorado del metabolito activo) como patrón interno.

Se usó una cromatografía en fase líquida de alta resolución de apareamiento iónico transitorio acoplada a una espectrometría de masas en tándem con ionización positiva de electroaspersión (CL-EM-EM) para cuantificar los nucleótidos intracelulares. Los procedimientos fueron una adaptación de los descritos para el análogo nucleotídico de fosfonato acíclico adefovir, sus metabolitos fosforilados y nucleótidos naturales (Vela, J. E. *et al.* "Simultaneous quantitation of the nucleotide analog adefovir, its phosphorilated anabolites and 2'-desoxiadenosine triphosphate by ion-pairing LC/MS/MS". Journal of Chromatography, *B Anal.Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 848, 2007, pp 335-343). Se generaron curvas patrón y muestras de control de calidad para todos los analitos usando extractos de células sin tratar. Las curvas patrón de siete puntos variaban en general de 0,03 a 20 pmol/millón de células y tenían una linealidad en exceso de r^2 igual a 0,99 para todos los analitos. Los límites inferiores para las cuantificaciones de todos los analitos variaban de 0,05 a 0,1 pmol/millón de células. Se procesaron muestras de control de calidad de baja y alta concentración (comúnmente, de 0,2 y 10 pmol/millón de células, respectivamente) con cada analito al principio y final de cada serie analítica para garantizar la exactitud y la precisión en ± 20%.

Se incubó el compuesto precursor a una concentración 100 veces superior (100µM) que el profármaco (1µM) para facilitar la exactitud del análisis de la acumulación intracelular mucho menor de metabolitos observada tras la incubación de linfocitos con el compuesto precursor. Como se muestra en la Tabla 5, el profármaco indujo un aumento de los niveles de metabolito activo de 76, 290 y 140 veces mayor que el compuesto precursor tras la incubación con CEM-CCRF, CMSP quiescentes y CMSP activadas, respectivamente. Los niveles de metabolito activo se normalizaron en base a la concentración extracelular tras incubaciones con profármaco 1µM o con compuesto precursor 100µM.

Tabla 5

	Concentración de metabolito activo normalizado en base a la dosis ((pmol/millón)/concentración de medio 1µM)		
	CEM-CCRF	CMSP quiescentes	CMSP activadas
Compuesto precursor	0,087 ± 0,014	0,012 ± 0,004	0,045 ± 0,004
Profármaco	6,57 ± 1,00	3,52 ± 0,96	6,45 ± 1,64
Los valores representan la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes realizados por duplicado			

Ejemplo de referencia 9. Comparación de la actividad contra el VIH del profármaco y el compuesto precursor

El término "profármaco" y la expresión "compuesto precursor" tienen los significados expuestos en el Ejemplo 8.

Se mantuvieron células MT-2 en medio RPMI-1640 complementado con antibióticos y suero bovino fetal al 10% (SBF). Se infectaron las células MT-2 con IIIB de VIH-1 a una multiplicidad de infección (MdI) de 0,01 y se añadieron a placas de 96 pocillos con diluciones en serie de los compuestos analizados a una densidad de 20.000 células/pocillo. Tras una incubación de 5 días, se determinó el efecto citopático inducido por el virus usando un ensayo de viabilidad celular CellTiter-GloTM (Promega, Madison, WI) y se expresó como un porcentaje de la señal de las muestras con una replicación viral completamente inhibida tras la sustracción de la señal del control sin tratar. Se determinó la concentración de cada fármaco que inhibió el efecto citopático inducido por el virus en un 50% (CE_{50}) mediante una regresión no lineal. Se determinó la actividad contra mutantes resistentes a NRTI en paralelo con virus control de tipo natural, y se calculó el nivel de cambio en CE_{50}.

Se aislaron células mononucleares de sangre periférica humanas (CMSP) de capas leucocitarias de donantes mediante centrifugación en Ficoll Paque Plus y se activaron durante 4-5 días en el medio RPMI-1640 con SBF al 20%, antibióticos, interleucina-2 (20 unidades/ml) y fitohemaglutinina PHA-P (1 µg/ml). Se infectaron CMSP activadas con BaL del VIH-1 durante 3 horas, se lavaron, se sembraron en placas de 96 pocillos (250.000 células/pocillo) y se incubaron con diluciones en serie de compuestos analizados durante 5 días, momento en el que se recogieron los sobrenadantes celulares y se determinó la producción de virus usando un ELISA p24 del VIH-1 comercial (Beckman Coulter, Miami, FL). La concentración de cada fármaco que inhibió la producción de antígeno p24 se determinó en un 50% (CE_{50}) mediante un análisis de regresión.

Se analizó el efecto de la adición de prorrestos en la actividad contra el VIH en MT-2 y CMSP estimuladas infectadas con el VIH-1. Como se muestra en la Tabla 6, el profármaco fue 71 y 2.300 veces más potente que el compuesto precursor en MT-2 y CMSP activadas, respectivamente.

Tabla 6. Actividad contra el VIH-1 del profármaco y del compuesto precursor en una línea celular derivada de linfocitos y células linfoides primarias

	CE_{50} (µM)	
	MT-2	CMSP
Compuesto precursor	10,6 ± 2,4	8,5 ± 7,7
Profármaco	0,15 ± 0,04	0,003 ± 0,0001
Los valores representan la media ± la desviación estándar de al menos dos experimentos dependientes realizados por triplicado.		

Ejemplo 10. Biodisponibilidad oral de la sal citrato de *N*-[(S)({[(2*R*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuron-2-il]oxi}metil) fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo tras su administración en forma de comprimido a perros Beagle

El grupo de dosificación consistía en 3 perros Beagle macho no preinmunes. Se mantuvieron los animales en ayunas durante la noche anterior a la administración de la dosis y hasta 4 h después de la dosis. Los perros recibieron un solo comprimido que contenía 41,38 mg de la sal citrato del profármaco (que proporcionaba 30 mg del profármaco por comprimido). El comprimido consistía en el 13,79% de la sal citrato del profármaco, lactosa anhidra al 66%, celulosa microcristalina al 15,21%, croscamelosa sódica al 3,5% y estearato de magnesio al 1,5% en peso. Se extrajeron muestras de plasma antes de la dosificación (0 h) y a las 0,083; 0,25; 0,50; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 12; 24 h. Se recogieron las muestras sanguíneas en tubos Vacutainer™ que contenían EDTA-K_3. Se centrifugaron las muestras sanguíneas a 4ºC para separar el plasma. Primero se diluyó una alícuota de 100 µl de cada muestra plasmática con 300 µl de acetonitrilo al 80%/agua que contenía patrón interno 200nM. Tras la centrifugación del precipitado proteico, se retiraron 100 µl del sobrenadante y se usaron para el análisis. Se prepararon curvas patrón y muestras de control de calidad en plasma canino de animales que no habían recibido el profármaco. Se analizaron las muestras mediante una cromatografía en fase líquida parcialmente validada acoplada a un procedimiento de espectrometría de masas de triple cuadrupolo.

La administración de la sal citrato de del profármaco en forma de comprimido produjo una rápida absorción del profármaco y del compuesto precursor derivado del profármaco. Como se resume en la Tabla 7, se observó la exposición del plasma al profármaco y al compuesto precursor tras la administración. La biodisponibilidad oral del profármaco intacto fue del 11,4%. Estos resultados no fueron notablemente diferentes de los observados tras la administración oral del profármaco en una formulación en solución, lo que ilustra la eficacia de los comprimidos que contenían la sal citrato de del profármaco para administrar el profármaco y sus metabolitos en la circulación sistémica.

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos medios en plasma para el profármaco y el compuesto precursor tras la administración oral de la formulación de la sal citrato del profármaco en comprimidos a una dosis media de 3,05 mg/kg

equivalentes (Media, n = 3)

Valor		
Parámetro	Profármaco	Compuesto precursor
T_{max} (h)	0,58	2,33
C_{max} (nM)	1,560	959
ABC_{0-4} (nM●h)	587	7,600
$ABC_{0,8}$ (nM●h)	608	9,630
$t_{1/2}$ (h)	0,289	11,7
% F[a]	11,4	Sin determinar
[a] Calculado en base a la ABC_{0-1} media en plasma de 818 nM●h observada tras una infusión intravenosa de 30 minutos de 0,5 mg/kg de GS-9131 a perros Beagle.		

Tabla 11. Calorimetría Diferencial de barrido (CDB) de las sales citrato, malonato y succinato de *N*-[(S)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

La calorimetría diferencial de barrido mide con exactitud las temperaturas y el flujo de calor asociados con las transiciones térmicas en un material. Las trazas de la CDB de las sales de *N*-[(*S*)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo de la invención se generaron con un instrumento TA (New Castle. DE) DSC 2010 a una velocidad de rastreo de 5ºC min^{-1}. La Figura 1 muestra la traza de CDB característica para la sal malonato de *N*-[(S)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo. El termograma de la CDB describió una única reacción endotérmica correspondiente al punto de fusión (120,43ºC, ΔH_f = 73,72 J/g) seguida de una única reacción exotérmica correspondiente a la descomposición de la sal malonato.

La Figura 2 muestra la traza de CDB característica de la sal succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo. El termograma de CDB de la sal succinato de GS-9131 reveló una única reacción endotérmica correspondiente al punto de fusión (137,44ºC, ΔH_f = 66,18 J/g) seguida de una única reacción exotérmica correspondiente a la descomposición de la sal.

La Figura 3 muestra la traza de CDB característica de la sal citrato de *N*-[(*S*)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo. El termograma de CDB de la sal citrato describió una única reacción endotérmica correspondiente al punto de fusión (149,41ºC, ΔH_f = 85,72 J/g) seguida de una única reacción exotérmica correspondiente a la descomposición de la sal citrato.

La sal citrato tiene un calor de fusión significativamente superior al de las sales malonato y succinato, lo que indica un mayor grado de cristalinidad en estado sólido.

Tabla 12. Análisis de difracción de rayos X (DRX) de las sales citrato, malonato y succinato de *N*-[(*S*)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo

Los patrones de difracción en polvo de rayos X (DPRX) de las sales de la invención de *N*-[(*S*)({[(2*R*, 5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-4-fluoro-2,5-dihidrofuran-2-il]oxi}metil)fenoxifosfinoil]-L-alaninato de etilo se generaron usando dos procedimientos. En el primer procedimiento, se usó un instrumento XRD 6000 de Shimadzu con los siguientes atributos: Tubo de rayos X de Cu, 2,2 KW, FN (foco normal); grafito curvado monocromador; vertical del goniómetro, radio de 185 mm; ranuras de divergencia: 0,5º, 1,0º, 0,05 mm; ranuras Soller: 0,05°, 1°, 2°; ranuras receptoras: 0,15 mm, 0,3 mm; detector de centelleo (NaI) HV 500-1200.

En el segundo procedimiento, se usó un instrumento XRD 6000 de Shimadzu con los siguientes atributos: Tubo de rayos X de Cu: 35 kv; corriente: 40 ma; escaneo continuo, monocromador, ranura de divergencia: 1º; ranura Soller: 1º; ranura receptora: 0,3 mm. Los datos de DPRX para las sales malonato y succinato se obtuvieron mediante el procedimiento 1. Los datos de DPRX para la sal citrato se obtuvieron mediante el procedimiento 2.

Se entiende que las desviaciones experimentales pueden cambiar ligeramente la información de las bandas (picos) de abosorción de la DPRX. Así pues, las cifras publicadas en la presente patente procedentes de los patrones de DPRX de las sales de la invención serán iguales o esencialmente iguales a las cifras que se producirán tras repetir las pruebas. “Esencialmente iguales”, en el presente contexto, significa que se tienen en cuenta la posición del pico típico y la variabilidad de la intensidad (como serían normalmente para cualquier técnica analítica). Por ejemplo, cualquier

experto en la técnica apreciará que las posiciones de los picos mostrarán cierta variabilidad entre aparatos. Por ejemplo, las posiciones de los picos Theta 2 se desvían comúnmente tanto como 0,1 grados. Además, el experto en la técnica apreciará que las intensidades relativas de los picos también mostrarán variabilidad debida al grado de cristalinidad, a la orientación preferida, a la superficie de la muestra preparada y a otros factores conocidos en la técnica. Así pues, las intensidades relativas de los picos han de tomarse únicamente como una medida cualitativa.

La Figura 4 muestra el patrón de DPRX característico para la sal malonato. Los picos principales y característicos que definen esta forma cristalina de la sal malonato se muestran en las Tablas 8A y 8B.

Tabla 8A

Picos de DRXP de la sal malonato				
Picos más potentes	Theta 2 (grados)	d(A)	FWHM (grados)	Int. integrada
1	17,76	4,9912	0,3190	16049
2	14,92	5,9342	0,3023	14513
3	18,80	4,7163	0,6572	21597

Tabla 8B

••• Procedimiento básico de datos•••

Nombre del grupo :

Nombre de los datos : 34984 B

Nombre del archivo : 349848. PKP.

Nombre de la muestra : N.º de lote 2587-168-17

Comentario : Sales USP <941>

N.º de µ más potente

	n.º de pico	3 picos Theta 2 (grados)	d(A)	1/I1	FMHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
1	13	17,7561	4,99119	100	0,31900	947	16049
2	12	14,3168	5,53423	92	0,30230	867	24513
3	15	18,8000	4,71634	80	0,65720	758	21597

Lista de datos de picos µ:

n.º de pico	Theta 2 (grados)	d(A)	1/I1	FWHM (grados)	Intensidad (Recuentos)	Int. integrada (Recuentos)
1	4,7340	18,65124	1	0,16140	9	69
2	5,9215	14,91331	11	0,26490	100	1723
3	7,0000	12,61783	3	0,20660	29	563
4	7,6504	11,69922	25	0,44910	279	6489
5	9,1500	9,65724	8	0,42000	76	1779
6	10,5600	8,37073	4	0,18660	34	468

(continuación)

n.º de pico	Theta 2 (grados)	d(A)	1/I1	FWHM (grados)	Intensidad (Recuentos)	Int. integrada (Recuentos)
7	11,0208	8,02175	34	0,29110	323	4468
8	11,1600	7,92200	30	0,56800	287	7708
9	12,6400	6,99756	16	0,35600	147	2545
10	12,8400	6,88901	20	0,27840	191	2234
11	14,5200	6,09549	9	0,16800	87	1282
12	14,9168	5,93423	92	0,30230	867	14513
13	17,7561	4,99119	100	0,31900	947	16049
14	18,3000	4,84405	73	0,40260	692	12656
15	18,8000	4,71634	80	0,65720	758	21597
16	19,2077	4,61714	41	0,36220	387	6608
11	19,5800	4,53018	63	0,34720	593	11731
18	20,0200	4,43159	14	0,15560	130	1783
19	20,7824	4,27071	24	0,54170	223	6510
20	22,0122	4,03499	26	0,47750	250	6040
21	22,4800	3,95190	22	0,45260	211	4333
22	23,3273	3,81023	18	0,29470	171	2718
23	24,1490	3,68242	24	0,51800	232	6302
24	25,3900	3,50653	44	0,43120	413	14100
25	25,8930	3,43822	44	0,27980	419	5539
26	26,2380	3,39378	24	0,79670	227	8510
27	26,8200	3,32144	40	0,61720	383	13675
28	27,3087	3,26310	14	0,49680	130	3097
29	27,7600	3,21107	18	0,42180	175	4241
30	28,8185	3,08501	27	0,54570	258	5924
31	29,3200	3,04367	11	0,30660	104	2021
32	30,3600	2,94173	13	0,65340	119	4194
33	31,1400	2,86980	17	0,56000	159	4356
34	32,0000	2,79461	3	0,14140	25	165
35	32,8233	2,72637	10	0,39330	95	1976
36	33,8725	2,64428	7	0,55500	64	1859

La Figura 5 muestra el patrón de DPRX característico para la sal succinato. Los picos principales y característicos que definen esta forma cristalina de la sal succinato se muestran en las Tablas 9A y 9B.

Tabla 9A

Picos de DRXP de la sal succinato				
Picos más potentes	Theta 2 (grados)	d(A)	FWHM (grados)	Int. integrada
1	24,91	3,5716	1,1300	409,91
2	18,46	4,8024	3,7340	166,39
3	17,76	4,9901	3,4162	9106

Tabla 9B

••• Procedimiento básico de datos•••

Nombre del grupo :

Nombre de los datos : 34984A

Nombre del archivo : 34364A. PKR.

Nombre de la muestra : N.º de lote 2587-168-27

Comentario : Sales USP <941>

3 picos más potentes

n.º #	n.º de pico	Theta 2 (grados)	d(A)	1/II	FMHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
1	10	24,9100	3,57161	100	1,13000	590	40991
2	7	18,4600	9,80243	81	0,73400	480	16639
3	6	17,7600	4,99010	79	0,41620	464	9106

Lista de datos de picos #

n.º de pico	Theta 2(grados)	d(A)	I/I I	FWHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
1	6,0033	14,71029	7	0,64670	43	1492
2	9,4308	9,37032	12	1,24830	69	4432
3	11,7717	7,51169	33	1,08060	195	11923
4	14,7400	6,00500	10	0,60000	60	4288
5	16,0720	5,51020	9	0,55380	56	1470
6	17,7600	4,99010	79	0,41620	464	9106
7	18,4600	4,80243	62	0,73400	480	16639
8	20,4772	4,33367	57	0,87020	337	13869
9	21,4293	4,14323	43	0,40730	252	4832
10	24,9100	3,57161	100	1,13000	590	40991
11	26,1400	3,40628	36	2,92000	212	21498

(continuación)

n.º de pico	Theta 2(grados)	d(A)	I/I I	FWHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
12	27,9400	1,19079	15	1,47000	66	8157
13	29,7800	2,99769	9	0,31340	53	779
14	30,9200	2,88972	7	1,28000	40	3619
15	33,2233	2,69446	9	1,09670	49	2527

La Figura 6 muestra el patrón de DPRX característico para la sal citrato. Los picos principales y característicos que definen esta forma cristalina de la sal citrato se muestran en las Tablas 10A y 10B.

Tabla 10A

Picos de DRXP de la sal citrato				
Picos más potentes	Theta 2 (grados)	d(A)	FWHM (grados)	Int. integrada
1	19,81	4,4784	0,2635	14837
2	28,63	3,1155	0,3312	13074
3	14,64	6,0465	0,2473	10572

Tabla 10B

••• Procedimiento básico de datos•••

Nombre del grupo :

Nombre de los datos : 25614A

Nombre del archivo : 35614A_PKR

Nombre de la muestra : N.º de lote 2782-78-32

Comentario : USP <941>

3 picos # más potentes

n.º	n.º de pico	Theta 2 (grados)	d(A)	1/It	FMHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
1	21	19,7858	4,48352	100	0,26810	1443	20538
2	3U	23,9400	3,72944	55	0,33400	793	14567
3	35	26,5965	3,34884	51	0,31810	734	11131

Lista de datos de picos #

n.º de pico	Theta 2 (grados)	d(A)	I/It	FWHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
1	6,7400	13,10398	3	0,16360	47	456
2	6,9496	12,70922	6	0,21930	87	864
3	8,2200	10,74765	6	0,23320	81	1414
4	8,4436	10,46352	18	0,22630	253	2802
5	9,0566	9,75662	6	0,22460	89	1279
6	11,0600	7,95341	4	0,18000	62	762
7	11,2871	7,83306	16	0,23720	238	2770
8	11,8800	7,44345	4	0,19560	52	603
9	12,0508	7,33833	8	0,25030	11,4	1167
10	13,1691	6,71758	16	0,22170	229	3085
11	13,9959	6,32255	29	0,23910	358	5182
12	146151	6,05604	33	0,26400	470	7221
13	15,4624	5,72604	25	0,30010	356	5658
14	15,8200	5,59740	3	0,18800	49	832
15	16,9600	5,22364	26	0,27100	277	5496
16	17,3474	5,10185	46	0,26120	668	9289
17	18,0000	4,92411	19	0,19920	271	3037
18	18,2200	4,86514	31	0,20420	465	5224
19	18,7154	4,73746	4	0,21420	51	606
20	19,2200	4,61421	10	0,19200	146	2871
21	19,7858	4,46252	100	0,26810	1443	20538
22	20,0800	4,41849	38	0,19360	546	6060
23	20,9315	4,32233	32	0,32250	455	7724
24	21,1200	4,20320	8	0,25500	114	1667
25	21,4000	4,14883	16	0,26760	235	3054
26	21,6913	4,05682	10	0,26260	141	2250
27	22,8001	3,89713	13	0,30110	161	2641
28	23,2200	3,82760	3	0,19760	50	746
29	23,3691	3,60351	6	0,16040	83	625
30	23,8400	3,72944	55	0,33400	793	14567
31	24,1000	3,67776	26	0,12300	390	4146
32	25,0296	3,55482	8	0,32290	119	2002
33	25,6031	3,47648	7	0,22090	102	1365
34	26,2800	3,36845	26	0,30180	379	5591

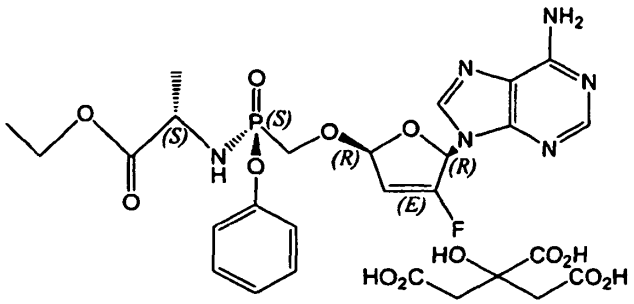
(continuación)

n.º de pico	Theta 2 (grados)	d(A)	I/It	FWHM (grados)	Intensidad (recuentos)	Int. integrada (recuentos)
35	26,5965	3,34884	51	0,31810	734	11131
36	27,4848	3,24259	6	0,20170	63	1222
37	28,1600	3,16636	4	0,09340	58	441
38	28,5989	3,11875	46	0,33280	668	12909
39	29,0464	3,07151	9	0,23960	127	1440
40	29,5600	3,01950	20	0,48340	290	6624
41	29,8800	2,98789	16	0,14600	235	2012
42	30,4400	2,93419	3	0,09340	44	274
43	30,7800	2090254	11	0,10020	255	737
44	31,0600	2,67703	16	0,19060	233	3504
45	31,3400	2,85195	4	0,18000	55	802
46	31,5800	2,83082	4	0,12960	54	357
47	31,8602	2,80656	12	0,36550	172	2804
48	32,2200	2,77603	4	0,095880	55	482
49	23,0800	2,70580	2	0,09060	50	366
50	33,2668	2,69103	5	0,12920	65	453
51	33,5521	2,66571	7	0,36840	108	2006
52	24,3755	2,60673	6	0,15550	63	1053

REIVINDICACIONES

1. Una sal citrato de fórmula I o un hidrato de la misma:

(I)



2. La sal o el hidrato de la reivindicación 1 **caracterizados por** ser cristalinos.

3. La sal de la reivindicación 2 **caracterizada por** bandas de absorción a distancias espectrales d obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X iguales o esencialmente iguales a 4,48; 3,12 y 6,05 ángstrom.

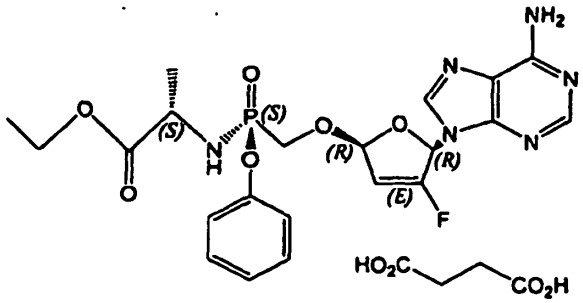
4. La sal de la reivindicación 2 **caracterizada por** bandas de absorción en ángulo de difracción Theta 2 obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X iguales o esencialmente iguales a 19,81; 28,63 y 14,64 grados.

5. El hidrato de la reivindicación 2 **caracterizado por** estar parcial o completamente hidratado.

6. La sal de la reivindicación 2 **caracterizada por** ser anhidra o esencialmente anhidra.

7. Una sal succinato de fórmula II o un hidrato de la misma:

(II)



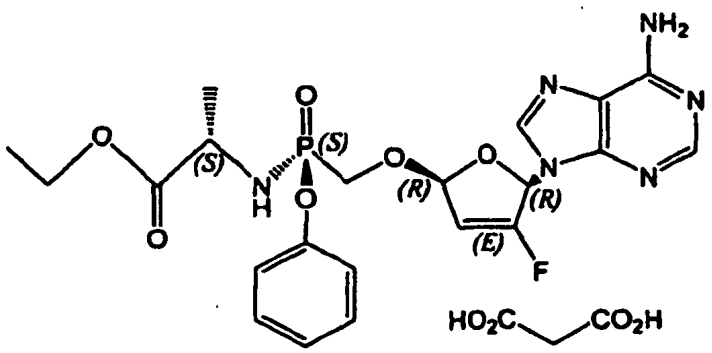
8. La sal o el hidrato de la reivindicación 17 **caracterizados por** ser cristalinos.

9. La sal de la reivindicación 8 **caracterizada por** bandas de absorción a distancias espectrales d obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X iguales o esencialmente iguales a 3,57; 4,80 y 4,99 ángstrom.

10. La sal de la reivindicación 8 **caracterizada por** bandas de absorción en ángulo de difracción Theta 2 obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X iguales o esencialmente iguales a 24,91; 18,46 y 17,76 grados.

11. Una sal malonato de fórmula III o un hidrato de la misma:

(III)



12. La sal o el hidrato de la reivindicación 11 **caracterizados por** ser cristalinos.

13. La sal de la reivindicación 12 **caracterizada por** bandas de absorción a distancias espectrales d obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X iguales o esencialmente iguales a 4,99; 5,93 y 4,72 ángstrom.

14. La sal de la reivindicación 12 **caracterizada por** bandas de absorción en ángulo de difracción Theta 2 obtenidas de un patrón de difracción en polvo de rayos X iguales o esencialmente iguales a 17,76; 14,92 y 18,80 grados.

15. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la sal o el hidrato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14 y un vehículo ó excipiente farmacéuticamente aceptable.

16. La composición farmacéutica de la reivindicación 15 que comprende además un agente terapéutico adicional.

17. La composición farmacéutica de la reivindicación 16, en la que el agente terapéutico adicional tiene actividad contra el VIH.

18. Una sal o un hidrato de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14 para su uso en el tratamiento o la prevención profiláctica de una infección por VIH.

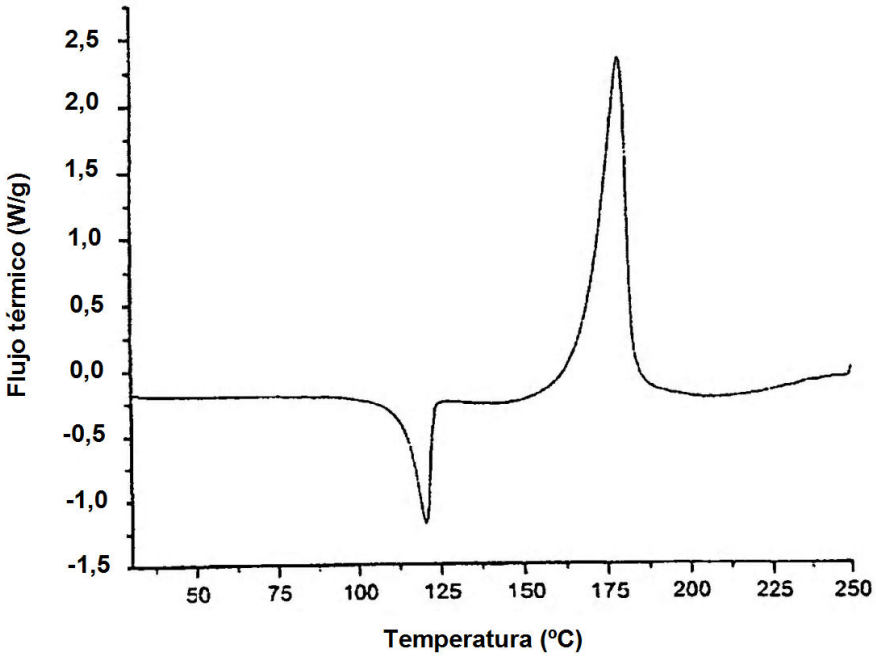

Flujo térmico (W/g)
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
50
75
100
125
150
175
200
225
250
Temperatura (ºC)

Figura 1/6

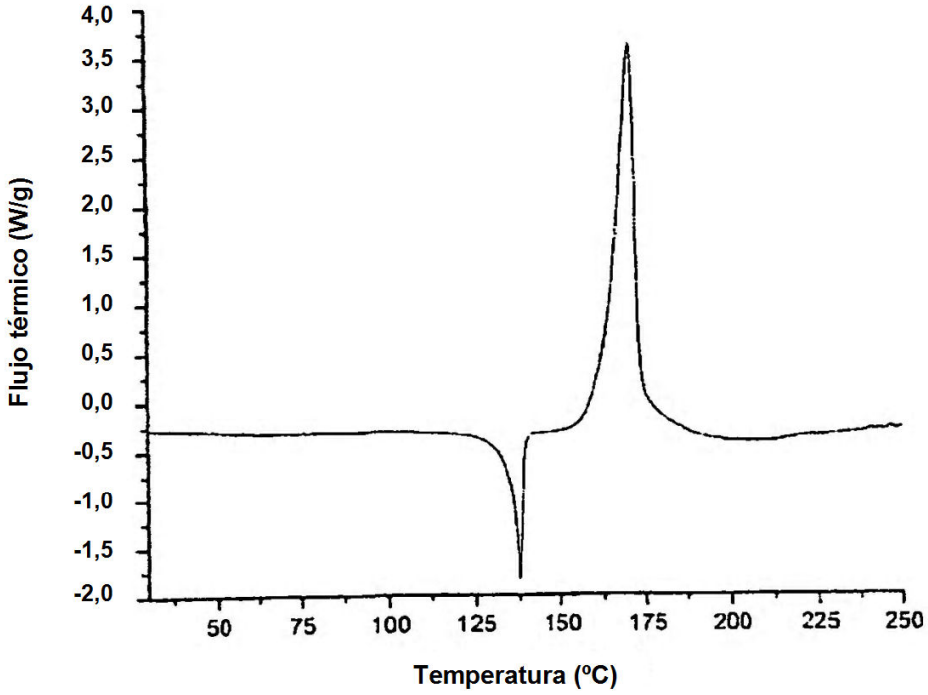

Flujo térmico (W/g)
4,0
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
50
75
100
125
150
175
200
225
250
Temperatura (ºC)

Figura 2/6

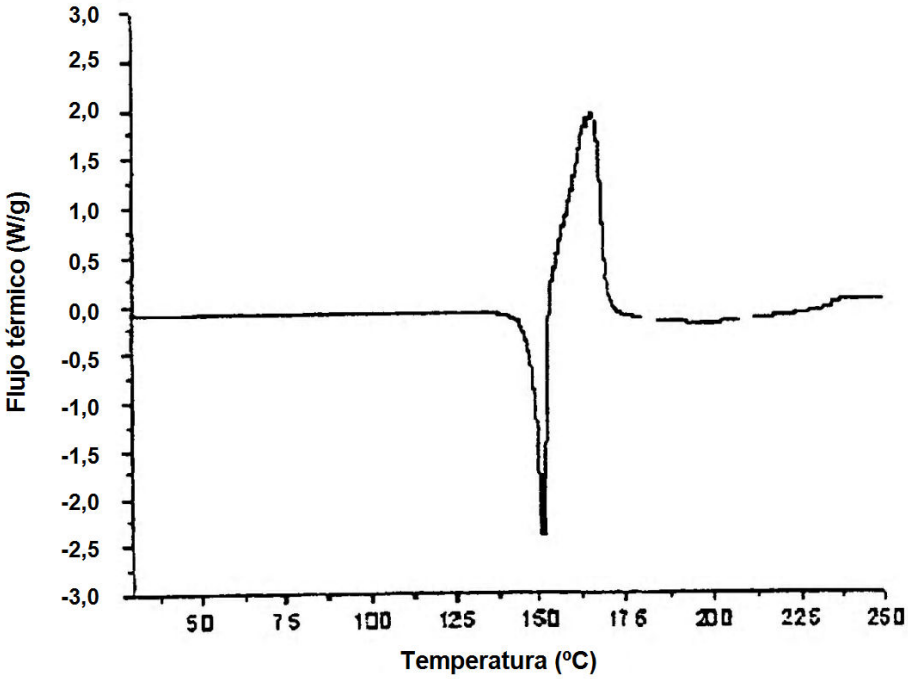

3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
-2,5
-3,0
Flujo térmico (W/g)
50
75
100
125
150
175
200
225
250
Temperatura (ºC)

Figura 3/6

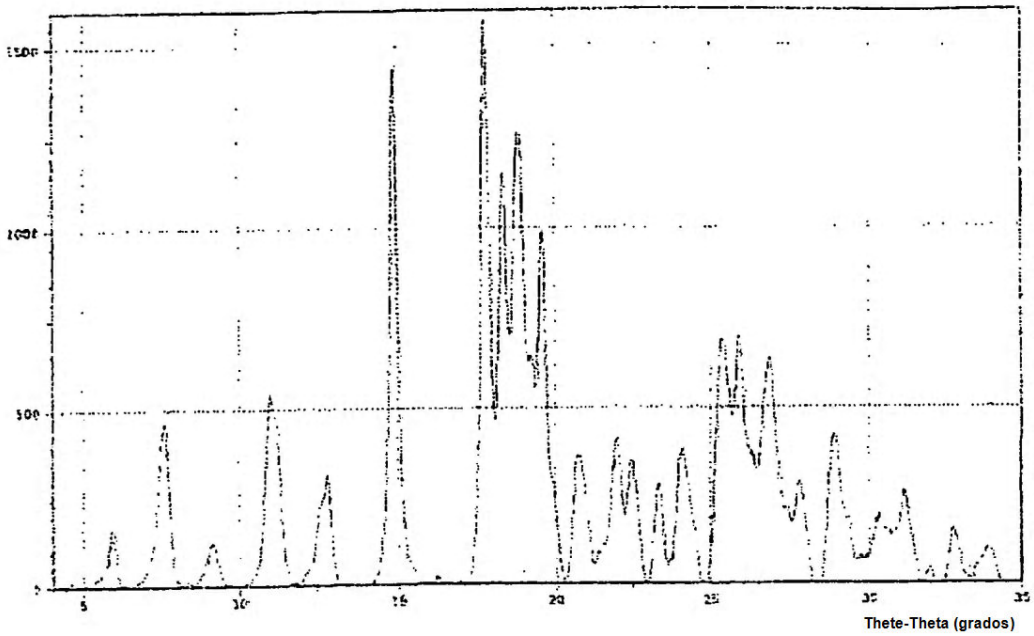


Figura 4/6

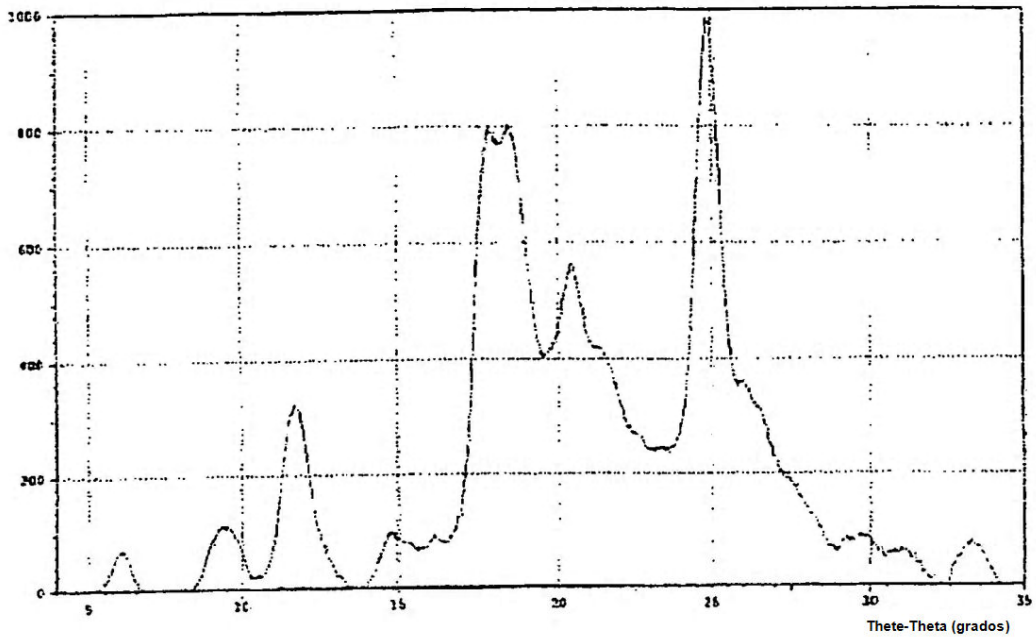


Figura 5/6

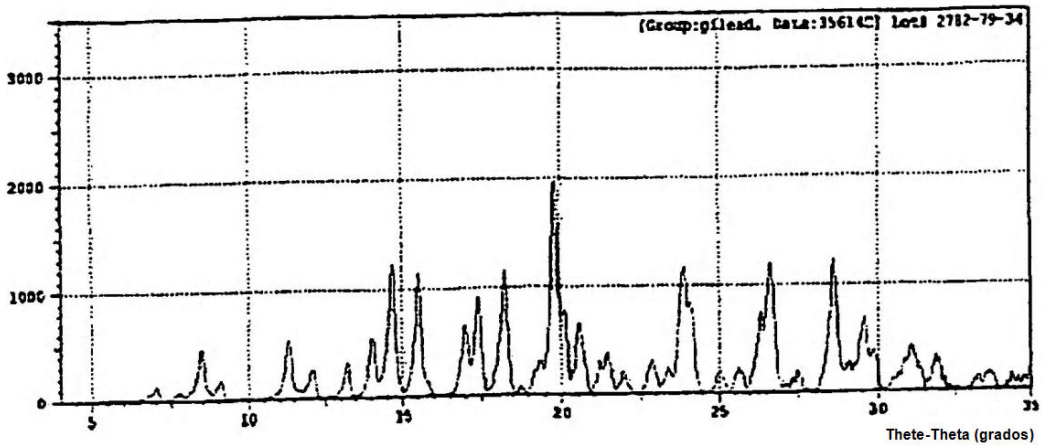


Figura 6/6