

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 007**

51 Int. Cl.:

C07D 411/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.03.2002 E 08000264 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.02.2015 EP 1903041**

54 Título: **Formas polimórficas y otras formas cristalinas de cis-FTC**

30 Prioridad:

01.03.2001 US 272560 P

02.08.2001 US 309605 P

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

01.06.2015

73 Titular/es:

ABBVIE INC. (50.0%)
1 North Waukegan Road
North Chicago, IL 60064, US y
GILEAD SCIENCES, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

PHARES, KENNETH R.;
LAW, DEVALINE y
HU, YUERONG

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 537 007 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

Formas polimórficas y otras formas cristalinas de cis-FTC

5 CAMPO DE LA INVENCION

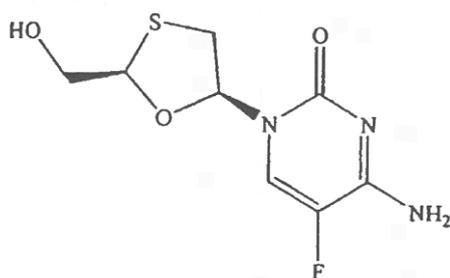
La presente invención se refiere a formas polimórficas de (-)-cis-FTC (4-amino-5-fluoro-1-(2-hidroxiometil)-1,3-oxatolano-5-il)-2(1H)-pirimidinona).

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El éxito de varios nucleósidos sintéticos tales como AZT, D4T, DDI y DDC en la inhibición de la replicación de VIH *in vivo* o *in vitro* condujo a los investigadores, al final de la década de los 80, a diseñar y analizar nucleósidos que sustituyen el átomo de carbono en la posición 3' del nucleósido con un heteroátomo. 15 Norbeck *et al.* revelaron que la (±)-1-[cis(2,4)-2-(hidroximetil)-4-dioxolanil]timina (designada como (±)-dioxalano-T) presenta una modesta actividad frente a VIH (EC50 de 20 µM en células ATH8) y no es tóxica para células control no infectadas a una concentración de 200 µM, Tetrahedron Letters 30 (46), 6246, (1989). La Publicación de Solicitud de Patente Europea No. 337.713 y la patente de EE.UU. No. 5.041.449, transferidas a BioChem Pharma, Inc., revelan 1,3-dioxolanos-sustituídos en 2-sustituídos en 4, racémicos, 20 que presentan actividad antiviral. Las solicitudes PCT publicadas con números PCT US91/09124 y PCT US93/08044 revelan β-D-1,3-dioxolanil nucleósidos aislados para el tratamiento de la infección por VIH. El documento WO 94/09793 revela el uso de β-D-1,3-dioxolanil nucleósidos para el tratamiento de la infección por VIH.

25 La patente EE.UU. No. 5.047.407 y la Publicación de Solicitud de Patente Europea No. 0 382 526, transferidas también a BioChem Pharma Inc., revelan que distintos nucleósidos de 1,3-oxatolano-sustituídos en 2-sustituídos en 5, racémicos, tienen actividad antiviral y describen específicamente de que la mezcla racémica de 2-hidroxiometil-5-(citosin-1-il)-1,3-oxatolano (designado en lo sucesivo como BCH-189) tiene aproximadamente la misma actividad frente a VIH que el AZT, con una toxicidad menor. El enantiómero (-) de 30 BCH-189 (Patente de EE.UU. No. 5.539.116, expedida a Liotta *et al.*), conocido como 3TC, actualmente se vende comercialmente en los EE.UU. para el tratamiento de VIH en seres humanos. Véase también el documento EP 513.200 B1.

35 También, se ha revelado que la (-)-cis-FTC (4-amino-5-fluoro-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatolano-5-il)-2-(1H)-pirimidinona (2R-cis) o el β-L-2-hidroxi-metil-5-(5-fluorocitosin-1-il)-1,3-oxatolano) tienen una potente actividad frente a VIH; véase Schinazi *et al.*, "Selective Inhibition of Human Immunodeficiency viruses by Racemates and Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-Oxathiolane-5-yl]Cytosine", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Noviembre 1992, páginas 2423-2431. Véanse también las Patentes de EE.UU. No. 5.814.639, 5.914.331, 5.210.085 y 5.204.466; y los documentos WO 91/11186 y WO 92/14743. La 40 estructura química de (-)-cis-FTC se muestra a continuación:

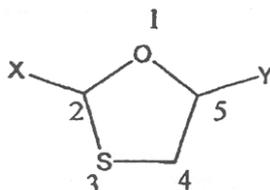


$C_8H_{10}FN_3O_3S$
Peso Molecular: 247,25

Debido a la importancia comercial de los nucleósidos de 1,3-oxatolano tales como FTC, se han descrito varios procedimientos para su producción en patentes y en la bibliografía científica. Los sustituyentes en los carbonos quirales (la base purina o pirimidina especificada (designada como sustituyente C5) y CH_2OH (referido como sustituyente C2)) de los nucleósidos de 1,3-oxatolano pueden estar en cis (en el mismo lado) o 45 trans (en lados opuestos) con respecto al sistema del anillo del oxatolano. Ambas racematos, cis y trans, están constituidos por un par de isómeros ópticos. Por ello, cada compuesto tiene cuatro isómeros ópticos individuales. Los cuatro isómeros ópticos están representados por las configuraciones siguientes (orientando el resto de oxatolano en un plano horizontal de forma que el resto -S-CH₂- este detrás): (1) cis (también designado como β), con ambos grupos "en la parte superior", que es la configuración L-cis que se presenta naturalmente; (2) cis, con ambos grupos "en la parte inferior", que es la configuración β-cis que se no 50 presenta naturalmente; (3) trans (también designada configuración α) con el sustituyente C2 "en la parte

superior” y el sustituyente C5 “en la parte inferior”; y (4) trans, con el sustituyente C2 “en la parte inferior” y el sustituyente C5 “en la parte superior”. Los dos enantiómeros cis juntos se designan como mezcla racémica de enantiómeros β , y los dos enantiómeros trans juntos se designan como mezcla racémica de enantiómeros α . En general, es bastante convencional la separación del par de isómeros ópticos racémicos cis del par de isómeros ópticos racémicos trans. Es significativamente más difícil la separación u obtención de otra forma de los enantiómeros individuales de la configuración cis. Para 3TC y FTC, la configuración estereoquímica deseada es el isómero β -L.

El esquema de numeración del anillo de 1,3-oxatiolano en FTC se muestra a continuación:



Rutas para condensar el anillo de 1,3-oxatiolano con una base protegida

La Patente de EE.UU. No. 5.204.466 revela un procedimiento para condensar un 1,3-oxatiolano con una base de pirimidina protegida usando cloruro de estaño como ácido de Lewis, lo que proporciona una selectividad del estereómero β virtualmente completa. Véase también Choi y *et al.*, “In Situ Complexation Directs the Stereochemistry of N-Glicosylation in the synthesis of Oxathiolanyl and Dioxolanyl Nucleoside Analogues”, J. Am. Chem. Soc. 1991, 213, 9377-9379. El uso de cloruro de estaño crea residuos y productos secundarios no deseables durante la reacción, que son difíciles de eliminar.

Varias patentes de EE.UU. revelan un procedimiento para la preparación de nucleósidos de 1,3-oxatiolano mediante la condensación de un producto intermedio de 1,3-oxatiolano, que tiene un éster quiral en la posición 2 del anillo, con una base protegida en presencia de un ácido de Lewis basado en silicio. Posteriormente, se debe reducir el éster en la posición 2 al correspondiente grupo hidroximetilo para generar el producto final. Véanse las Patentes de EE.UU. No. 5.663,320, 5.864.164, 5.693,787, 5.696.254, 5.744.596 y 5.756.706.

La Patente de EE.UU. No. 5.763.606 revela un procedimiento para producir predominantemente ácido cis-2-carboxílico o tiocarboxílico-nucleósidos de 1,3-oxatiolano que incluye el acoplamiento de una base de purina o pirimidina deseada, previamente sililada, con un producto intermedio bicíclico en presencia de un ácido de Lewis. La Patente de EE.UU. No. 5.272.151 describe un procedimiento para la preparación de nucleósidos de 1,3-dioxolano que incluye el hacer reaccionar un 2-O-protegido-5-O-acilado-1,3-dioxolano con una base de purina o pirimidina con un oxígeno o un nitrógeno protegido, en presencia de un catalizador de titanio.

Choi *et al.*, “In Situ Complexation Directs the Stereochemistry of N-Glicosylation in the synthesis of Oxathiolanyl and Dioxolanyl Nucleoside Analogues”, J. Am. Chem. Soc. 1991, 213, 9377-9379, describen que no se produce acoplamiento del 1,3-oxatiolano, con la base pirimidina protegida, con HgCl_2 , Et_2AlCl o $\text{TiCl}_2(\text{O-isopropilo})_2$ (véase nota 2 al pie de página). Choi *et al.* describen también que la reacción entre acetatos de 1,3-oxatiolano anoméricos con citosina sililada y virtualmente cualquier ácido de Lewis común, distinto de cloruro de estaño, da como resultado la formación de mezclas inseparables de anómeros N-glicosilados.

La Patente de EE.UU. No. 5.922.867 revela un procedimiento para la preparación de un nucleósido de dioxalano que incluye la glicosilación de una base purina o pirimidina con un oximetil-4-halo-1,3-dioxalano-protegido en 2.

Las Patentes de EE.UU. No. 5.914.331, 5.700.937, 5.827.727 y 5.892.025, entre otras, expedidas a Liotta *et al.*, describen el acoplamiento de los 1,3-oxatiolanos, revelados en esta descripción, con 5-fluorocitosina sililada, en presencia de SnCl_4 , para formar el isómero β (-) de FTC y, opcionalmente, la eliminación de los grupos protectores.

Rutas para proporcionar el nucleósido de 1,3-oxatiolano en la estereoconfiguración deseada

En las Patentes de EE.UU. No. 5.914.331, 5.700.937, 5.827.727 y 5.892.025, entre otras, expedidas a Liotta *et al.*, se describen procedimientos específicos para preparar FTC con la estereoconfiguración deseada, en una forma sustancialmente pura. En una forma de realización, el grupo C5'-hidroxilo de una mezcla de racematos del nucleósido se hace reaccionar con un compuesto acilo para formar ésteres C5', en

los que el nucleósido está en el extremo "carbinol" del éster. El enantiómero deseado se puede aislar mediante el tratamiento de la mezcla racémica con una enzima que hidroliza al enantiómero deseado (seguido por la extracción del hidrolizado polar con un disolvente polar) o por tratamiento con una enzima que hidroliza el enantiómero no deseado (seguido por la eliminación del enantiómero no deseado con un disolvente polar). Entre las enzimas que catalizan la hidrólisis de los nucleósidos de 1,3-oxatiolano pirimidina están incluidas la esterasa de hígado de cerdo, la lipasa pancreática porcina, la Amano PS-800 lipasa, la subtilisina y la α -quimotripsina.

Se puede usar citidina-desoxicitidina desaminasa para resolver mezclas racémicas de 2-hidroximetil-5-(citosin-1-il)-1,3-oxatiolano y sus derivados, que incluyen al 2-hidroximetil-5-(5-fluoro-citosin-1-il)-1,3-oxatiolano. La enzima cataliza la desaminación del resto de citosina a uridina. Uno de los enantiómeros de los nucleósidos de 1,3-oxatiolano es un sustrato preferido para la citidina-desoxicitidina desaminasa. El enantiómero que no se convierte en uridina (y, por tanto, es todavía básico) se extrae de la disolución con una disolución ácida. La citidina-desoxicitidina desaminasa se puede aislar a partir de hígado de rata o de hígado humano, o se puede expresar a partir de secuencias recombinantes en un sistema procariótico tal como *E. Coli*.

Se puede usar también cromatografía quiral para resolver los enantiómeros cis-FTC. Por ejemplo, La Patente de EE.UU. No. 5.892.025, expedida a Liotta *et al.*, revela un procedimiento para resolver una combinación de los enantiómeros de cis-FTC haciendo pasar cis-FTC a través de una columna quiral de β -ciclodextrina acetilada.

Caracterización Polimórfica

Se conoce como polimorfismo la capacidad de un compuesto para existir en diferentes estructuras cristalinas. Estas formas cristalinas distintas se conocen como "modificaciones polimórficas" o "polimorfos". Aunque los polimorfos tienen la misma composición química, se diferencian en el empaquetamiento y en la disposición geométrica y presentan diferentes propiedades físicas, tales como punto de fusión, forma, color, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad, disolución, y similares. Dependiendo de su relación temperatura-estabilidad, dos polimorfos podrían ser monotrópicos o enantiotrópicos. Para un sistema monotrópico, la estabilidad relativa entre las dos fases sólidas permanece inalterada a medida que cambia la temperatura. Contrastando con esto, en un sistema enantiotrópico existe una temperatura de transición a la que se invierte la estabilidad de las dos fases. (Theory and Origin of Polymorphism, en "Polymorphism in Pharmaceutical Solids", (1999) ISBN: 8247-0237).

Se han descrito varios compuestos que presentan polimorfismo. Como un ejemplo temprano, Gordon *et al.*, en la Patente de EE.UU. No. 4.476.248, revelaron y reivindicaron una nueva forma cristalina del fármaco ibuprofeno, así como un procedimiento para su producción. Se describió que la nueva forma cristalina mejoraba la capacidad de fabricación del ibuprofeno. También se ha descrito que una estructura más estrechamente relacionada con FTC, la 3TC((-)-cis-4-amino-1-(2-hidroximetil-1,3-oxatiolan-5-il)-(1H)-pirimidin-2-ona; lamivudina) existe en más de una forma cristalina. Jozwiakowski, M.J, Nguyen, N.T., Sisco, J.M., Spancake, C.W. "Solubility Behaviour of Lamivudine Crystal Forms in Recrystallization Solvents", *J. Pharm. Sci.*, 85, 2, páginas 193-199 (1996). Véase también la Patente de EE.UU. No. 5.905.082, expedida a Roberts *et al.*, el 18 de mayo de 1999, bajo el título "Crystalline Oxathiolane Derivatives", y su análogo de PCT, PCT/EP92/01213, que describe dos formas polimórficas de 3TC. Roberts *et al.*, revelan que un polimorfo se obtiene cuando se cristaliza 3TC en una disolución acuosa. Un segundo polimorfo se obtiene cuando se cristaliza 3TC en un medio no acuoso, o cuando la primera forma se funde y se deja enfriar, o cuando la primera forma se tritura o muele. Ambas formas polimórficas presentan bandas de absorción, temperaturas de fusión y energías cristalinas únicas.

El (-)-cis-FTC producido por los procedimientos descritos anteriormente, tiene una forma cristalina distinta, designada aquí como Forma I de (-)-cis-FTC. Las posición angulares (dos theta) de los picos característicos en un diagrama de difracción de rayos X de polvo de la Forma I de (-)-cis FTC, mostrado en la Figura 7, son: 14,1 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$, 19,9 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$, 20,2 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$, 20,6 \pm 0,1 $^{\circ}$, 21,0 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$, 22,4 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$, 28,5 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$, 29,5 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$ y 32,6 $^{\circ}$ \pm 0,1 $^{\circ}$.

Polimorfos adicionales y otras formas cristalinas de FTC podrían tener un valor comercial en su fabricación o en otras aplicaciones. Por tanto, un objetivo de esta invención es proporcionar nuevas formas polimórficas y otras formas cristalinas de FTC.

Otro objetivo es proporcionar nuevos procedimientos para la preparación y el aislamiento de las formas polimórficas y de otras formas cristalinas de FTC.

Todavía, otro objetivo de la invención es proporcionar usos terapéuticos de los polimorfos de FTC y de otras fases de FTC.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención está dirigida a una forma polimórfica de (-)-cis-FTC caracterizada por una transición de estado sólido a 96-112° C.

La presente invención se expone en la reivindicación independiente adjunta. Las sub-realizaciones de la presente invención se exponen en las reivindicaciones dependientes adjuntas

Las fases sólidas de (-)-cis-FTC, que se designan en la presente como (-)-FTC amorfo y las Formas II y III de (-)-cis-FTC) están previstas que se puedan distinguir de la Forma I (-)-cis-FTC por patrones de difracción de rayos X de polvo, propiedades térmicas y métodos de fabricación. También se proporciona una forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC (es decir, cis-FTC racémico), y una forma deshidratada del hidrato, y pueden ser de manera similar distinguidas de otras formas de cis-FTC por patrones de difracción de rayos X de polvo, propiedades térmicas y métodos de fabricación. Estas formas de FTC se pueden usar en la fabricación de otras formas de FTC, o en composiciones farmacéuticas. Los usos particularmente preferidos de estas formas son en el tratamiento del VIH o la hepatitis B.

La Forma II de (-)-cis-FTC se puede obtener fusionando la Forma I de (-)-cis-FTC y dejando que la fusión recristalice a una temperatura cercana al punto de fusión de la Forma I. La Forma III de (-)-cis-FTC se puede obtener por enfriamiento de la Forma II de (-)-cis-FTC por debajo de la temperatura de transición termodinámica de las Formas II y III. El (-)-cis-FTC amorfo se puede obtener por enfriamiento líquido rápido de (-)-cis-FTC. La forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC es un sesquihidrato, y se podría obtener disolviendo (±)-cis-FTC en agua y recristalizando FTC. La forma deshidratada del sesquihidrato se puede obtener eliminando el agua de hidratación del sesquihidrato.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es un típico termograma de DSC (calorimetría diferencial de barrido) de la Forma I de (-)-cis-FTC, con una endoterma a 151°C, obtenido calentando a una velocidad de 10°C/min.

La Figura 2 es un termograma de DSC de la Forma I de cis(-) FTC obtenido calentando a 1°C/min.

La Figura 3 es un termograma de DSC de la Forma I de cis(-) FTC obtenido calentando a 2°C/min.

La Figura 4 es un termograma de DSC de la Forma I de cis(-) FTC obtenido calentando a 5°C/min.

La Figura 5 es un termograma de DSC de las Formas II y III de (-)-cis-FTC.

La Figura 6 es un termograma de DSC que muestra que la transición de la Forma II a la III es reversible.

La Figura 7 es un diagrama de PXR (difracción de rayos X de polvo) de la Forma I de (-)-cis-FTC.

La Figura 8 es un diagrama de PXR (difracción de rayos X de polvo) de la Forma II de (-)-cis-FTC.

La Figura 9 es un diagrama de PXR de la Forma III de (-)-cis-FTC.

La Figura 10 es un diagrama de PXR del sesquihidrato de (±)-cis-FTC.

La Figura 11 es un diagrama de PXR de una forma deshidratada del sesquihidrato de cis-FTC racémico.

La Figura 12 es un termograma de DSC del sesquihidrato de (±)-cis-FTC y de (-)-cis-FTC.

La Figura 13 es un barrido por TGA (análisis termogravimétrico) del sesquihidrato de (±)-cis-FTC.

La Figura 14 es una relación entre la energía libre y la temperatura para tres polimorfos de (-)-cis-FTC (Formas I, II y III). Las fases estables se representan por una línea continua y las fases metaestables con una línea a puntos.

La Figura 15 es un termograma de DSC de (-)-cis-FTC amorfo obtenido fundiendo y congelando una muestra cristalina de (-)-cis-FTC. La velocidad final de calentamiento fue de 10°C/min.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Se proporcionan dos nuevas formas polimórficas de (-)-cis-FTC, la fase amorfa de (-)-cis-FTC, una nueva forma cristalina de (±)-cis-FTC hidratada y una forma del hidrato de (±)-cis-FTC deshidratada, en composiciones farmacéuticas. Las diferentes formas se pueden distinguir de otras fases de (-)-cis-FTC y (±)-cis-FTC por diagramas de difracción de rayos X, las propiedades térmicas y los procedimientos por los que se han generado. Estas formas de FTC, junto con la fase amorfa, se pueden usar como productos intermedios en la fabricación de FTC, o se pueden usar en composiciones farmacéuticas, como en la presente invención, y usarlas para el tratamiento de VIH o la hepatitis B.

Las dos formas polimórficas de (-)-cis-FTC usadas en esta invención se designan Formas II y III de (-)-cis-FTC y se caracterizan por los diagramas de difracción de rayos X de polvo, en las Figuras 8 y 9. Estas formas contrastarían con la Forma I de (-)-cis-FTC, que es la forma polimórfica de (-)-cis-FTC preparada por los procedimientos descritos en la sección de antecedentes de este documento. La forma I de (-)-cis-FTC se puede caracterizar por el diagrama de difracción de rayos X de polvo, mostrado en la Figura 7, o por los picos en los ángulos de difracción dados en la sección de antecedentes de este documento.

La forma hidratada de (\pm)-cis-FTC se caracteriza por los diagramas de difracción de rayos X de polvo, en la Figura 10. Esta forma contrastaría con el (\pm)-cis-FTC fabricado en la técnica anterior. Las propiedades térmicas de las distintas formas se resumen en la tabla siguiente:

Tipo de T de transición $T_{\text{transición}}^{\text{fase}}$	Temperatura aproximada (°C)	Intervalo de temperaturas (°C)
T_m^I	151	148-153
T_m^{II}	166	162-167
T_m^{III}	No se observó en esta investigación	No observado
T_{amorfog}	67	velocidad de calentamiento +/-3°C a 10°C/min
$T_t^{II,III}$	130 (calculado)	N/A
$T_t^{II,III}$	102	96-112
T_{hidrato}^d	>30	-
T_{racemato}^m	190	185-192

5 Así, la divulgación proporciona:

- a) dos polimorfos y una fase amorfa de (-)-cis-FTC, como se caracteriza por análisis de difracción de rayos X de polvo, propiedades físicas y métodos de fabricación;
- 10 b) una forma cristalina hidratada de (\pm)-cis-FTC, y la forma deshidratada del hidrato de (\pm)-cis-FTC, como se caracteriza por análisis de difracción de rayos X de polvo, propiedades físicas y métodos de fabricación;
- c) procesos para hacer las fases de (-)-cis-FTC y las formas cristalinas de (\pm)-cis-FTC;
- d) composiciones terapéuticas y/o farmacéuticas de las fases de (-)-cis-FTC y las formas cristalinas de (\pm)-cis-FTC, opcionalmente en presencia de un vehículo farmacéuticamente aceptable; y
- 15 e) nuevos usos terapéuticos para las fases de (-)-cis-FTC y las formas cristalinas de (\pm)-cis-FTC, especialmente en el tratamiento de enfermedades víricas como el VIH o la hepatitis B.

Forma II de (-)-cis-FTC

20 La Forma II de (-)-cis-FTC se observa cuando se funde la Forma (-)-cis-FTC y se deja recristalizar. Como todos los polimorfos, la Forma II se puede caracterizar mediante el diagrama de difracción de polvo que presenta cuando se somete a cristalografía de rayos X de polvo. Las posiciones angulares (dos theta) de los picos característicos del diagrama de difracción de rayos X de polvo de la Forma II de (-)-cis-FTC, mostrado en la Figura 8, son: $14,7^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $16,7^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $19,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,1^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,8^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $24,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$ y $25,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$.

La Forma II de (-)-cis-FTC se puede caracterizar también por su temperatura de fusión y/o por el calor de fusión: la Forma II de (-)-cis-FTC tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 166°C a presión atmosférica y, normalmente, presenta un calor de fusión en el intervalo de aproximadamente 15-19 kJ/mol. Se sabe que el calor de fusión puede variar dependiendo de las condiciones experimentales.

Alternativamente, la Forma II de (-)-cis-FTC se puede caracterizar por su comportamiento enantiotrópico y por el procedimiento por el que se fabrica. La Forma II de (-)-cis-FTC es enantiotrópica con los polimorfos de la Forma I y de la Forma III de (-)-cis-FTC, en el sentido de que hay una temperatura de transición por debajo y por encima de la cual se invierte el orden de estabilidad. Debido a este comportamiento enantiotrópico, la Forma II de (-)-cis-FTC se podría preparar a partir de la Forma I de (-)-cis-FTC o la Forma III de (-)-cis-FTC. En los ejemplos presentados en este documento, la Forma II de (-)-cis-FTC se obtuvo:

- (1) calentando (-)-cis-FTC (Forma I) por encima de su temperatura de fusión (aproximadamente 151°C para la Forma I) y manteniéndolo a esta elevada temperatura. Después de enfriar lentamente, el (-)-cis-FTC fundido recristalizó a la Forma II, y tomó la forma cristalina de la Forma 11, a temperaturas superiores a la temperatura de transición termodinámica entre las Formas II y III;
- 45 (2) calentando la Forma III de (-)-cis-FTC por encima de la temperatura termodinámica de transición de las Formas II y III, que oscila entre aproximadamente 96°C y aproximadamente 112°C (debido a que la Forma II es enantiotrópica con la Forma III de (-)-cis-FTC).

Así, se puede obtener la Forma II de (-)-cis-FTC cuando se funde la Forma I de (-)-cis-FTC y la temperatura del material fundido se mantiene por debajo de la temperatura de fusión de la Forma II pero por encima de la temperatura termodinámica de transición entre las Formas II y III. Notablemente, no se observa una transición similar a partir de la Forma II cuando se calienta la Forma 11 por encima de su punto de fusión

(aproximadamente 166°C) y se deja enfriar lentamente. De alguna forma, la Forma II recristaliza, simplemente, a la Forma II. Sin embargo, la Forma II no recristalizaría a partir del mismo material fundido si se dejara de enfriar; en lugar de esto, resultaría una fase amorfa.

5 Por lo tanto en una realización la divulgación proporciona la Forma II de (-)-cis-FTC, preferiblemente en forma sustancialmente pura, como se caracteriza por cualquiera de los métodos anteriores. En otra realización, la divulgación proporciona la Forma II de (-)-cis-FTC sustancialmente en ausencia de la Forma I de (-)-cis-FTC. En todavía otra realización, la divulgación proporciona la Forma II de (-)-cis-FTC sustancialmente en ausencia de la Forma III de (-)-cis-FTC. La divulgación también proporciona una
10 composición farmacéutica que comprende la Forma II de (-)-cis-FTC, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Forma III de (-)-cis-FTC

15 Debido a que la Forma II de (-)-cis-FTC sufre una transición en estado sólido a la Forma III de (-)-cis-FTC, esta forma se obtiene a partir de la Forma D de (-)-cis-FTC cuando la temperatura de la Forma II de (-)-cis-FTC cae por debajo de la temperatura de transición, que oscila de aproximadamente 96°C a aproximadamente 112°C. La Forma III de (-)-cis-FTC es otro polimorfo de (-)-cis-FTC y se puede caracterizar mediante el diagrama de difracción de polvo que presenta cuando se somete a cristalografía de rayos X de
20 polvo. Las posiciones angulares (dos theta) de los picos característicos en el diagrama de difracción de rayos X de polvo de la Forma III de (-)-cis-FTC, mostrado en la Figura 9, son los siguientes: 14,5°±0,1°, 16,7°±0,1°, 19,6°±0,1°, 20,4°±0,1°, 21,4°±0,1°, 21,7°±0,1°, 25,2°±0,1° y 26,2°±0,1°.

25 La Forma III de (-)-cis-FTC se puede caracterizar también por los procedimientos para su fabricación. Debido al comportamiento enantiotrópico de la Forma III con la Forma II, la Forma III de (-)-cis-FTC se puede preparar a partir de la Forma II de (-)-cis-FTC, enfriando la Forma II de (-)-cis-FTC por debajo de la temperatura de transición en estado sólido de las Formas II y III, y provocando, por tanto, una transición en estado sólido a partir de la Forma II de (-)-cis-FTC. Se da por supuesto que la Forma III de (-)-cis-FTC también se puede preparar directamente a partir de la Forma I de (-)-cis-FTC, con la Forma II como producto
30 intermedio, fundiendo la Forma I y enfriando lentamente el material fundido a una temperatura inferior a la temperatura de transición en estado sólido para las Formas II y III. Debido a esta estabilidad por debajo de su temperatura de transición en estado sólido, la Forma III de (-)-cis-FTC se puede caracterizar también por el intervalo de temperaturas en el que presenta una transición en estado sólido, pero se caracteriza, preferentemente, en el extremo inferior de este intervalo (esto es, aproximadamente 96°C a presión
35 atmosférica).

40 Por lo tanto en una realización la divulgación proporciona la Forma III de (-)-cis-FTC, preferiblemente en forma sustancialmente pura. En otra realización, la divulgación proporciona la Forma III de (-)-cis-FTC sustancialmente en ausencia de la Forma I de (-)-cis-FTC. En otra realización, la divulgación proporciona la Forma III de (-)-cis-FTC sustancialmente en ausencia de la Forma II de (-)-cis-FTC. La divulgación también proporciona una composición farmacéutica que comprende la Forma III de (-)-cis-FTC, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Sesquihidrato de (±)-cis-FTC

45 El sesquihidrato de (±)-cis-FTC es una forma cristalina de cis-FTC racémico que se obtiene cuando se disuelve (±)-cis-FTC en agua y se recristaliza. Notablemente, el hidrato sólo se produce a partir del racemato de cis-FTC y no se produce a partir de (-)-cis-FTC puro. El sesquihidrato de (±)-cis-FTC se puede caracterizar mediante el diagrama de difracción de polvo que presenta cuando se somete a cristalografía de
50 difracción de rayos X de polvo. Las posiciones angulares (dos theta) de los picos característicos en el diagrama de difracción de rayos X de polvo del sesquihidrato de (±)-cis-FTC, mostrado en la Figura 10, son: 11,5°±0,1°, 13,4°±0,1°, 19,1°±0,1°, 20,3°±0,1°, 20,8°±0,1°, 21,5°±0,1°, 21,9°±0,1° y 30,9°±0,1°.

55 Los análisis por TGA confirman un sesquihidrato de (±)-cis-FTC. El sesquihidrato comienza a perder su agua de hidratación por evaporación a aproximadamente 30°C a presión atmosférica.

60 El sesquihidrato de (±)-cis-FTC se puede caracterizar también por uno de los procedimientos para su preparación. Preferentemente, el sesquihidrato de (±)-cis-FTC se prepara, simplemente, disolviendo (±)-cis-FTC en agua y recristalizando el FTC disuelto a una forma cristalina hidratada. Se puede emplear calor durante la disolución para aumentar la cantidad de FTC que se disuelve. El (±)-cis-FTC puede estar presente en una mezcla racémica pura de cis-FTC, o como una impureza de una composición que mayoritariamente comprende (±)-cis-FTC o (-)-cis-FTC. Cuando está presente como una impureza, el (±)-cis-FTC comprende, preferentemente, al menos, aproximadamente el 4% en peso de la composición de (+)-cis-FTC o de (-)-cis-FTC (esto es, si está presente como una impureza de (-)-cis-FTC, el FTC comprende, preferentemente, al
65 menos el 2% en peso del enantiómero (+) y, si está presente como una impureza de (+)-cis-FTC, el FTC

comprende, preferentemente, al menos el 2% en peso del enantiómero (-).

En la Figura 12 se muestra un termograma de DSC de (\pm)-cis-FTC. El FTC recristalizado es un sesquihidrato, como muestran los análisis por DSC, TGA y PXRD.

Por lo tanto, la presente divulgación proporciona el sesquihidrato de (\pm)-cis-FTC, preferiblemente en forma sustancialmente pura. La divulgación también proporciona sesquihidrato de (\pm)-cis-FTC sustancialmente en ausencia de la Forma I de (-)-cis-FTC, o sustancialmente en ausencia de otras formas cristalinas hidratadas y deshidratadas de cis-FTC, (-)-cis-FTC o (+)-cis-FTC racémicos. También se proporciona en la presente divulgación una composición farmacéutica que comprende sesquihidrato de (\pm)-cis-FTC, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Después de la evaporación del agua de hidratación del sesquihidrato de (\pm)-cis-FTC, se genera una forma cristalina deshidratada de cis-FTC racémico. El cis-FTC racémico obtenido de esta forma, se puede caracterizar mediante el diagrama de difracción de polvo que presenta cuando se somete a cristalografía de rayos X de polvo. Las posiciones angulares (dos theta) de los picos característicos del diagrama de difracción de rayos X de polvo del cis-FTC racémico deshidratado, mostrado en la Figura 11, son: $12,3^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$, $14,0^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$, $20,7^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$, $22,6^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$, $23,3^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$ y $25,5^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$. El cis-FTC racémico deshidratado tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 190°C a presión atmosférica, y un calor de fusión de aproximadamente 23 kJ/mol .

El termograma de DSC de la Figura 12 corresponde al sesquihidrato de (\pm)-cis-FTC. Como se confirmó mediante el análisis por TGA, la endoterma grande, a aproximadamente 80°C , se debía a que el sesquihidrato de (\pm)-cis-FTC estaba perdiendo su agua de hidratación. La segunda endoterma, a 190°C , corresponde a la fusión del cis-FTC racémico deshidratado.

Por lo tanto la divulgación proporciona (\pm)-cis-FTC deshidratado. La divulgación también proporciona el (\pm)-cis-FTC deshidratado sustancialmente en ausencia de la Forma I (-)-cis-FTC o sustancialmente en ausencia de otras formas cristalinas hidratadas y deshidratadas de cis-FTC, (-)-cis-FTC o (+)-cis-FTC racémicos. También se proporciona una composición farmacéutica que comprende (\pm)-cis-FTC deshidratado, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

(-)-cis-FTC amorfo

Se obtiene una forma amorfa de (-)-cis-FTC cuando el (-)-cis-FTC fundido se enfría rápidamente a una temperatura inferior a aproximadamente $40\text{-}50^{\circ}\text{C}$, evitando de esta forma cualquier transición a las Formas II o III de (-)-cis-FTC. En la Figura 15 se presenta un termograma de DSC de (-)-cis-FTC amorfo, que muestra que la temperatura de transición vítrea de esta fase es de 67°C .

Por lo tanto, la divulgación también proporciona un (-)-cis-FTC amorfo, preferiblemente en forma sustancialmente pura. La divulgación también proporciona (-)-cis-FTC amorfo sustancialmente en ausencia de las formas I, II y/o III de (-)-cis-FTC. También se proporciona una composición farmacéutica que comprende (-)-cis-FTC amorfo, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Definiciones

Como se usa en este documento, el término "sustancialmente puro", cuando se usa en relación a una fase o forma cristalina de FTC, se refiere a una fase o forma cristalina de FTC que tiene una pureza superior a aproximadamente el 95%. Esto significa que la forma polimórfica o hidratada de FTC no contiene más de aproximadamente el 5% de cualquier otro compuesto y, en una forma de realización, no contiene más de aproximadamente el 5% de cualquier otra fase o forma cristalina de FTC (sea racémica, (-), (\pm), cis o trans). En otras formas de realización, el término "sustancialmente puro" se refiere a una fase o forma cristalina de FTC que tiene una pureza superior a aproximadamente el 96%. Todavía, en otra forma de realización, el término "sustancialmente puro" se refiere a una fase o forma cristalina de FTC que tiene una pureza superior a aproximadamente el 97% o el 99%.

De forma similar, el término "sustancialmente en ausencia de un segundo componente", cuando se usa en relación a una fase o forma cristalina de FTC, se refiere a una fase o forma cristalina de FTC que no contiene más de aproximadamente el 5% del segundo componente. Más preferentemente, el término "sustancialmente en ausencia de un segundo componente", se refiere a una fase o forma cristalina de FTC que no contiene más de aproximadamente el 4% del segundo componente e, incluso más preferentemente, no más de aproximadamente el 3% o el 1% del segundo componente.

Las posiciones características de los picos en los diagramas de difracción de rayos X de polvo se presentan, para las formas cristalinas, en términos de posiciones angulares (dos theta), dentro de una

variabilidad permisible de, más o menos 0,1°. La “US Pharmacopeia, págs. 1843-1844 (1955)” especifica esta variabilidad permisible. Se pretende que la variabilidad de, más o menos 0,1°, se use cuando se comparan dos diagramas de difracción de rayos X de polvo. En la práctica, si a un pico del diagrama de difracción de un diagrama se le asigna un intervalo de posiciones angulares (dos theta), que es una posición del pico medida, más o menos 0,1°, y a un pico del diagrama de difracción de otro diagrama se le asigna un intervalo de posiciones angulares (dos theta), que es la posición del pico medida, más o menos 0,1°, y si esos intervalos de las posiciones de los picos solapan, se considera que los dos picos tienen la misma posición angular (dos theta). Por ejemplo, si se determina que un pico del diagrama de difracción de un diagrama tiene una posición del pico de 5,20°, para propósitos comparativos, la variabilidad permisible admite la asignación del pico a una posición en el intervalo de 5,10°-5,30°. Si se determina que un pico de comparación de otro diagrama de difracción tiene una posición del pico de 5,35°, para propósitos comparativos, la variabilidad permisible admite asignar al pico una posición en el intervalo de 5,25°-5,45°. Debido a que hay un solapamiento entre los dos intervalos de posiciones de los picos, se considera que los dos picos, que se están comparando, tienen la misma posición angular (dos theta).

Se entenderá que, a lo largo de esta especificación, la palabra “comprenden” o variaciones tales como “comprende” o “que comprende” implican la inclusión de un elemento determinado, completo o etapa, o de un grupo de elementos determinados, completos o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro elemento determinado, completo o etapa, o de cualquier otro grupo de elementos determinados, completos o etapas.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

Los materiales de partida de (-)-cis-FTC para todos los análisis, a menos que se especifique de otra forma, se obtuvieron por combinación y tratamiento de dos lotes de (-)-cis-FTC como sigue. Se cargó un matraz con 1109 g de (-)-cis-FTC y 2750 ml de acetato de etilo. Esta suspensión se agitó a temperatura ambiente durante dos horas, se filtró y se lavó con 550 ml de acetato de etilo. La torta de filtración se secó en horno de vacío, durante toda la noche, a 50°C y a una presión de aproximadamente 0,27 KPa (2 mm de Hg). Todos los disolventes fueron de calidad para HPLC y se usaron en las condiciones de recepción. Un ensayo de HPLC del (-)-cis-FTC de partida indicó una pureza del 98,8%.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC): Los experimentos de DSC se realizaron usando uno de los instrumentos siguientes:

Se realizaron estudios de DSC usando un dispositivo TA Instruments DSC 2920 (con sistema de refrigeración). Se colocaron muestras de aproximadamente 5 mg en bandejas de aluminio selladas. La celda de DSC se purgó con 30 ml/min de nitrógeno. La velocidad de calentamiento fue de 10°C/min, a no ser que se indique lo contrario. Las calibraciones de temperatura y flujo térmico se realizaron con un patrón de indio en las mismas condiciones experimentales.

Las medidas de DSC se hicieron en un dispositivo Mettler DCS30 (Mettler Instrument, Highstown, NJ) equipado con un analizador de datos (STAR^e, Mettler Instrument). Las muestras (de aproximadamente 2-5 mg) se sellaron en bandejas de aluminio de 40 µl estándar, con un único agujero practicado en la tapa. Como referencia se usó una bandeja vacía del tipo de la muestra. Se realizó un barrido de las muestras a 1-10°C/min, con una purga de 50 ml/min de nitrógeno seco. El DSC se calibró para el flujo de calor y la temperatura.

Análisis termogravimétrico (TGA): Los estudios de TGA se realizaron con un aparato TA Instruments TGA 2950. Se colocaron muestras de aproximadamente 5 mg en bandejas de platino abiertas y la muestra se expuso a una tasa de calentamiento de 10°C/min.

PXRD a temperatura variable: El difractómetro (XDS 2000, Scintag, Sunnyvale, CA) constaba de un generador de 4 kW (voltaje 45 kV y corriente de 40 mA) con un tubo de ánodo de cobre, un detector de Ge enfriado con nitrógeno líquido (GLP-10195/07-S, EG&G ORTEC, Oak Ridge, TN), un analizador de datos (MicroVax 3100, Digital Equipment Corporation, Ontario, Canada), una platina térmica (Scintag) y controlador de temperatura (Microstar, Research Inc., Minneapolis, MN). Las muestras se colocaron en un soporte de muestras formando una capa delgada y el barrido se realizó a una velocidad de 1° por minuto sin giro.

Microscopía en platina térmica (HSM): La microscopía con luz polarizada se realizó usando un microscopio Olympus BX60 equipado con una platina térmica Mettler-Toledo FP82HT. Se colocó una capa delgada de muestra sobre un portaobjetos y se calentó a 10°C/min. Los eventos térmicos se captaron con el software ImagePro®.

Procedimiento de recristalización: Se colocaron aproximadamente 5 g de (-)-cis-FTC en un matraz de fondo redondo y se calentaron en el intervalo de temperaturas de 155°C a 160°C, durante 30 min, con

agitación. La muestra se enfrió en el matraz a temperatura ambiente, en condiciones ambientales.

Solubilidad en equilibrio: Los valores de solubilidad en equilibrio se obtuvieron usando un exceso de sólido en un matraz tapado que se agitó en un baño de agua con control de la temperatura, a 25°C, durante 52 h. El material sólido residual se identificó, después de haber equilibrado la muestra, mediante microscopía en platina térmica y PXRD. El material sobrenadante se filtró a través de filtros de membrana de 0,45 μm antes de su dilución para el análisis por HPLC.

Molienda: Se molió (-)-cis-FTC en un molino Fitzpatrick a alta velocidad (4000 rpm), con avance de martillos, con un tamiz de banda 000. El fármaco se hizo pasar una vez a través del filtro y se recogió en una bolsa de plástico.

Formación de hidrato: Se preparó una solución sobresaturada (0,5 g/ml) de la Forma I a 50°C. Esta solución se enfrió posteriormente a temperatura ambiente, con agitación, durante aproximadamente 2 h. El sólido precipitado se filtró mediante vacío y se secó al aire. Este sólido se analizó mediante HPLC, DSC, PXRD y TGA. Estos análisis revelaron que el sólido era un sesquihidrato de (\pm)-cis-TFC.

Cristalización: Se disolvió (-)-cis-FTC en uno de los disolventes siguientes: metanol, acetato de etilo, agua, tetrahidrofurano y acetona. Cada suspensión se hirvió durante aproximadamente 15 minutos e inmediatamente se filtró a través de un filtro de nailon de 0,45 μm . El material sobrenadante se agitó a temperatura ambiente hasta que cristalizó. En el punto de cristalización, se filtraron las suspensiones y se recogieron las tortas de filtración. La torta de filtración se colocó en un disco de vidrio, se cubrió con una toalla de papel sin hilachas y se colocó en una campana en condiciones ambientales, durante 2 días.

Ejemplo 1: Caracterización por DSC de las Formas I y II de (-)-cis-FTC

Se observaron los eventos térmicos del polimorfo Forma I de (-)-cis-FTC a velocidades de calentamiento de 10, 1, 2, y 5°C/min. Estos termogramas se muestran en las Figs. 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Los tamaños de las muestras fueron de 6,8400 mg, 5,290 mg, 5,0430 mg o 5,1500 mg, respectivamente.

La endoterma a 151°C corresponde a la temperatura de fusión de la Forma I de (-)-cis-FTC. Esta endoterma se presentó a todas las velocidades de calentamiento estudiadas. El calor de fusión asociado con la fusión de esta fase es de 25 kJ/mol. Esta fusión va seguida de recristalización a un sólido con una temperatura de fusión más alta, la Forma II. La presencia de la endoterma a alta temperatura (162°C) dependía de la velocidad de calentamiento. Específicamente, a medida que disminuía la velocidad de calentamiento, aumentaba la probabilidad de que apareciera la endoterma a alta temperatura. También, el valor del calor de fusión aumentó para la endoterma a alta temperatura, a medida que disminuía la velocidad de calentamiento. Estas observaciones son consistentes con el hecho de que, a velocidades de calentamiento más lentas, el líquido recristaliza en mayor proporción. Esta endoterma dependiente de la velocidad de calentamiento indicó que la Forma I podría sufrir recristalización después de su fusión a 151°C y que la forma cristalina resultante se funde a aproximadamente 162°C. La fase que se funde a 162°C se designó "Forma II de (-)-cis-FTC".

Ejemplo 2: Caracterización por DSC de las Formas II y III de (-)-cis-FTC

Los eventos térmicos de la Forma I de (-)-cis-FTC, tras su fusión y enfriamiento posterior a temperatura ambiente, se observaron por DSC. Se calentó una muestra de 5,5500 mg de la Forma I de (-)-cis-FTC a 160°C, temperatura que está justo por encima de la temperatura de fusión de la Forma I, y, posteriormente, se enfrió de nuevo a 25°C. Cuando se volvió a calentar en el dispositivo de DSC usando una velocidad de calentamiento de 10°C/min, no se observó la endoterma a 151°C de la Forma I de (-)-cis-FTC. Sin embargo, aparecieron endotermas a 102°C y 162°C, como se muestra en la Figura 5. La endoterma a 102°C correspondía a una transición en estado sólido de la Forma III de (-)-cis-FTC a la Forma II de (-)-cis-FTC, como se muestra en la Figura 6. Los datos de PXRD (Figuras 7 y 9), recogidos por encima y por debajo de la transición a 102°C, confirmaron la interpretación de la DSC. La endoterma a 162°C correspondía a la fusión de la Forma II de (-)-cis-FTC. Se confirmó mediante HPLC que no hubo cambio en la potencia asociada con estos eventos térmicos.

Ejemplo 3: Caracterización por DSC de (-)-cis-FTC amorfo

Una muestra de 7,315 mg de la Forma I de FTC se calentó a 180°C, a una velocidad de 5°C/min, en el dispositivo de DSC. Posteriormente, la muestra se enfrió a -20°C, a una velocidad de -20°C/min. Esta muestra, cuando se volvió a calentar a la velocidad de 10°C/min, mostró un desplazamiento en la línea basal asociado con la transición vítrea a aproximadamente 67°C. Este desplazamiento en la línea basal ocurrió, tanto durante el ciclo de calentamiento, como en el de enfriamiento, lo que confirmó que se debía a la

transición vítrea. La Figura 15 contiene un termograma de DSC de (-)-cis-FTC amorfo.

Ejemplo 4: Observaciones con HSM de las formas I, II y III de (-)-cis-FTC

5 La asignación de las Formas I, II y III basándose en los eventos térmicos observados durante el análisis por DSC fue consistente con las observaciones con HSM. Bajo el microscopio, el material de la Forma I aparecía como placas, a temperatura ambiente. Después de calentar a 160°C, a una velocidad de 10°C/min, la Forma I se fundió a un líquido claro. Tras enfriar este líquido, cristalizaron agujas aciculares a partir del material fundido, que tenían una apariencia más oscura que la Forma I. Al volver a calentar, estas
10 agujas experimentaron un cambio en la birrefringencia, que comenzaba a aproximadamente 102°C y finalizaba a aproximadamente 115°C. Eventualmente, las agujas se fundían a 166°C.

Ejemplo 5: Efecto de la molienda sobre la forma cristalina

15 Se prepararon dos lotes de la Forma I de (-)-cis-FTC molida: uno por trituración manual en un mortero con maza durante 5 minutos y otro por molienda en un molino Fitzpatrick. Aunque no se midió cuantitativamente, el microscopio óptico reveló que el tamaño de partícula del (-)-cis-FTC triturado aparecía como el más pequeño, seguido por el obtenido utilizando el molino Fitzpatrick y posteriormente por el (-)-cis-FTC no molido. Los termogramas de DSC de la muestra molida con el molino Fitzpatrick y del (-)-cis-FTC no molido, tenían sólo una endoterma a 151°C. El (-)-cis-FTC triturado tenía dos endotermas, a 151°C y 162°C. El diagrama de PXRD del (-)-cis-FTC triturado a temperatura ambiente, era igual que el diagrama de la Forma I, lo que indicaba que se producía conversión de la Forma I a la Forma II durante el experimento de DSC. Estos datos en conjunto indican que la molienda, de acuerdo con las condiciones descritas, no afecta a la forma cristalina de (-)-cis-FTC cuando se parte de la Forma I.
20

Ejemplo 6: Efecto del calor sobre la forma cristalina

25 En la Figura 9 se muestran los diagramas de PXRD para la Forma III a 25°C y a 95°C. Sin embargo, un diagrama de PXRD de esta muestra, adquirido a 120°C, fue diferente del diagrama adquirido a 95°C. El cambio en el diagrama de PXRD a lo largo de este intervalo de temperaturas fue consistente con la endoterma obtenida a aproximadamente 102°C mediante el análisis del termograma de DSC (Figura 6), y confirma que la endoterma a 102°C estaba provocada por una transición en estado sólido o un cambio de estructura cristalina.
30

35 El diagrama de PXRD, medido a 120°C fue el mismo que el obtenido a 160°C. Sin embargo, después de enfriar de nuevo la muestra a 25°C, el diagrama de PXRD fue el mismo que el de la Forma III de (-)-cis-FTC. La forma cristalina que existe por encima de 102°C y que se funde a 162°C se identificó como la Forma II. El diagrama de PXRD del material de Forma I no cambió hasta la temperatura de fusión de 151°C.
40

Ejemplo 7: Análisis de la estabilidad termodinámica

45 Los datos de fusión de las Formas I, II y III de (-)-cis-FTC se resumen en la Tabla I. En base a estos datos, se estableció la relación termodinámica entre las Formas I y II. Estas formas están relacionadas enantiotrópicamente y la temperatura de transición calculada es de 130°C.

Tabla I: Datos de la temperatura de transición para cuatro formas cristalinas de (-)-cis-FTC

Forma	Temperatura de transición (°C)	Calor de fusión (kJ/mol)
I	151	25
II	166	18
III*	102	-
cis-FTC racémico	186	22,8

*La Forma III no sufre fusión sino una transición en estado sólido a aproximadamente 112°C, por tanto, no se conoce el calor de fusión.

55 La relación de estabilidad termodinámica entre estas formas se representa gráficamente en la Figura 14.

Ejemplo 8: Solubilidad

60 Es evidente en la Figura 14 que, por debajo de 130°C, la Forma I es la fase más estable. Por tanto, por debajo de 130°C, la Forma I es la fase menos soluble. La solubilidad de equilibrio de la Forma I en agua, a 25°C, fue de 0,482 M (119 mg/ml). Los compuestos que tienen valores de solubilidad mayores de 100 mg/ml se consideran altamente solubles y la Forma I de (-)-cis-FTC se incluye en esta categoría. Las otras formas de (-)-cis-FTC descritas en este documento, tendrían una solubilidad mayor que la Forma I.
65

Ejemplo 9: Estudios de cristalización

El material de partida (-)-cis-FTC para todos los estudios de cristalización fue la Forma I de (-)-cis-FTC, determinada por PXRD. La Forma I de (-)-cis-FTC se recrystalizó a partir de soluciones de agua, metanol, tetrahidrofurano, acetato de etilo y acetona. Todas las muestras de los experimentos de recrystalización se analizaron mediante PRDX y DSC. El (-)-cis-FTC cristalizado en acetato de etilo y acetona presentó endotermas a 151°C y 162°C, y diagramas de PXRD idénticos al diagrama de la Forma I de (-)-cis-FTC.

Se preparó una solución sobresaturada (0,5 g/ml) de la Forma I, a 50°C. Posteriormente, esta solución se enfrió a temperatura ambiente, con agitación, durante aproximadamente 2 horas. El sólido precipitado se filtró mediante vacío y se secó al aire. Este sólido se analizó por HPLC, DSC, PXRD y TGA. Estos análisis revelaron que el sólido era un sesquihidrato de (-)-cis-FTC. La solubilidad de equilibrio del sesquihidrato, a 25°C, es de 0,34 M (03 mg/ml). El termograma de DSC del hidrato se muestra en la Figura 12. La endoterma grande a bajas temperaturas se debió a la pérdida del agua de hidratación del sesquihidrato de (±)-cis-FTC, lo que se confirmó mediante TGA (Figura 13). La endoterma a 190°C se debió a la fusión del hidrato deshidratado. Posteriormente, al hidrato deshidratado se le asignó una temperatura individual de fusión de aproximadamente 190°C, Figura 12. También se obtuvo un diagrama de PXRD único para el hidrato deshidratado. (Véase la Figura 11).

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Las personas que padecen VIH y VHB se pueden tratar mediante la administración al paciente de una cantidad efectiva de distintos compuestos de la presente divulgación (esto es, las Formas II y III de (-)-cis-FTC, el sesquihidrato de cis-FTC racémico y la forma deshidratada del sesquihidrato de cis-FTC racémico), o una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable, en presencia de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los materiales activos están formulados adecuadamente para la administración oral, en forma líquida o sólida.

Una dosis preferida del compuesto para VIH o VHB estará en el intervalo de aproximadamente 1 a 75 mg/kg, preferentemente de 1 a 50 ó 20 mg/kg de peso corporal por día, más generalmente, de 0,1 a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día. El intervalo de dosificación efectivo de las sales y profármacos farmacéuticamente aceptables se puede calcular en base al peso del nucleósido parental a que se va a suministrar. Si la sal presenta actividad por sí misma, la dosificación efectiva se puede estimar como antes usando el peso de la sal, o por otros medios conocidos por los expertos en la técnica.

El compuesto se administra convenientemente en cualquier forma de dosificación adecuada, que incluye, pero no se limita a, una que contenga de 7 a 3000 mg, preferentemente de 70 a 1400 mg de ingrediente activo por forma de unidad de dosificación. Generalmente, es conveniente una dosificación oral de 50-1000 mg.

Idealmente, para conseguir un pico de concentraciones en plasma, el compuesto activo se debería administrar a una concentración de aproximadamente 0,2 a 70 µM, preferentemente de aproximadamente 1,0 a 10 µM. Esto se podría conseguir, por ejemplo, por inyección intravenosa de una solución del 1% al 5% de ingrediente activo, opcionalmente en solución salina, o por administración como un bolus del ingrediente activo.

La concentración del compuesto activo en la composición del fármaco dependerá de las tasas de absorción, inactivación y excreción del fármaco, así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica. Se debe tener en cuenta que los valores de dosificación variarán también con la gravedad de la afección que se quiere aliviar. Se debe entender, además, que para cualquier individuo determinado, los regímenes de dosificación específica se deberían ajustar a lo largo del tiempo según las necesidades individuales y el criterio profesional de la persona que administra, o supervisa la administración, de las composiciones, y que los intervalos de concentración establecidos en este documento son sólo ejemplares y no pretenden limitar el alcance o práctica de la composición reivindicada. El ingrediente activo se podría administrar de una vez, o se podría dividir en varias dosis menores para su administración en intervalos de tiempo variables.

Un modo de administración preferido del compuesto activo es por vía oral. Generalmente, las composiciones orales incluirán un diluyente inerte o un vehículo comestible. Podrían estar contenidas en cápsulas de gelatina o estar como comprimidos. Para el propósito de administración terapéutica oral, el ingrediente activo se puede incorporar con excipientes y usarse en forma de comprimidos, pastillas o cápsulas. Como parte de la composición se pueden incluir agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles y/o materiales adyuvantes.

Los comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas y similares, pueden contener cualquiera de los ingredientes, o compuestos de naturaleza similar, siguientes: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa; un agente de desintegración tal como ácido alginico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un agente de deslizamiento tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja. Cuando la forma de la unidad de dosificación es una cápsula, ésta puede contener, además del material del tipo indicado, un vehículo líquido tal como un aceite graso. Además, las formas de unidad de dosificación pueden contener otros materiales distintos que modifiquen la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, revestimientos de azúcar, goma laca u otros agentes entéricos.

El compuesto se puede administrar como componente de un elixir, una suspensión, un jarabe, una oblea, un chicle o similares. Un jarabe podría contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y ciertos conservantes, tintes y colorantes y aromatizantes.

El compuesto o un profármaco o sales farmacéuticamente aceptables del mismo se pueden mezclar también con otros materiales activos que no impiden la acción deseada, o con materiales que suplementan la acción deseada, como antibióticos, antifúngicos, antiinflamatorios u otros agentes antivirales, que incluyen a otros compuestos nucleósidos. Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica subcutánea o tópica pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes como ácido etilendiaminotetraacético; tampones como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad como cloruro sódico o dextrosa. La preparación parenteral puede estar incluida en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

Si se administra de forma intravenosa, los vehículos preferidos son solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS).

En una realización preferida, los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biocompatibles, biodegradables como etilenvinilacetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. los procedimientos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también se pueden obtener comercialmente de Alza Corporation.

También se prefieren como vehículos farmacéuticos, las suspensiones liposomales (que incluyen los liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales frente a antígenos virales). Estas se podrían preparar según procedimientos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, los descritos en la Patente de EE.UU. No. 4.522.811 (que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad). Por ejemplo, las formulaciones de liposomas se podrían preparar disolviendo un lípido (o lípidos) apropiado (tales como estearoil fosfatidil etanolamina, estearoil fosfatidil colina, aracadoil fosfatidil colina y colesterol) en un disolvente inorgánico que posteriormente se evapora, dejando una película delgada de lípido seco sobre la superficie del recipiente. Posteriormente, se introduce en el recipiente una solución acuosa del compuesto activo o de sus derivados monofosfato, difosfato y/o trifosfato. Posteriormente, el recipiente se agita con un movimiento circular manual para liberar el material lipídico de las paredes del recipiente y dispersar los agregados de lípido, formándose así una suspensión liposomal.

Será evidente para los expertos en la técnica que se pueden realizar distintas modificaciones y variaciones en la presente invención sin alejarse del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones añadidas. Se pretende que la memoria descriptiva y los ejemplos se consideren únicamente como ejemplares, indicándose el verdadero alcance de la invención en las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Una forma polimórfica de (-)-cis-FTC **caracterizada por** una transición de estado sólido a 96-112° C.
- 5 2. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de la reivindicación 1, que está además **caracterizada por** un punto de fusión de 162-167° C.
3. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, que tiene una pureza superior al 95%.
- 10 4. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de la reivindicación 1, preparada por un procedimiento que comprende:
 - a) calentar la Forma I de (-)-cis-FTC por encima de 151° C;
 - b) mantener el (-)-cis-FTC a esa temperatura elevada; y
 - 15 c) enfriar despacio el (-)-cis-FTC derretido para obtener (-)-cis-FTC cristalino polimórfico.
5. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de la reivindicación 4, en donde el (-)-cis-FTC cristalino polimórfico está **caracterizado por** un punto de fusión de 162-167° C.
- 20 6. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de la reivindicación 4, en donde la Forma I de (-)-cis-FTC está **caracterizada por** un punto de fusión de 148-153° C.
7. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de la reivindicación 4 o la reivindicación 6, en donde el paso (a) comprende calentar la Forma I de (-)-cis-FTC por encima de 160° C, y el paso (c) comprende enfriar el (-)-cis-FTC a 25° C.
- 25 8. La forma polimórfica de (-)-cis-FTC de la reivindicación 1, en donde la temperatura de transición de estado sólido es 102° C

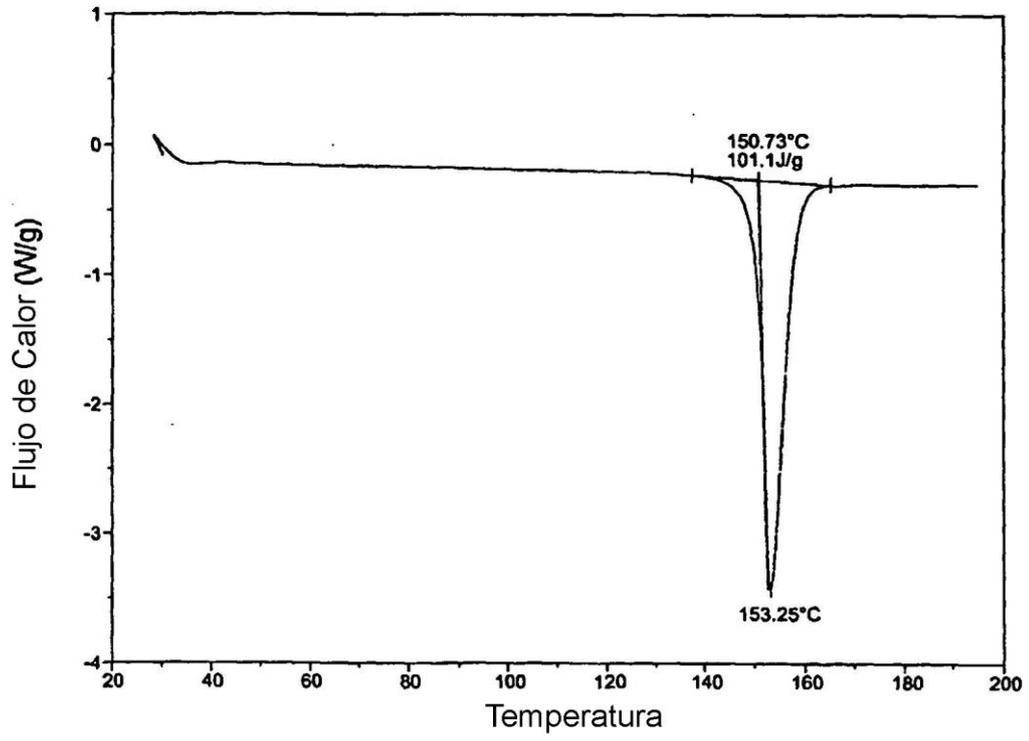


Fig. 1

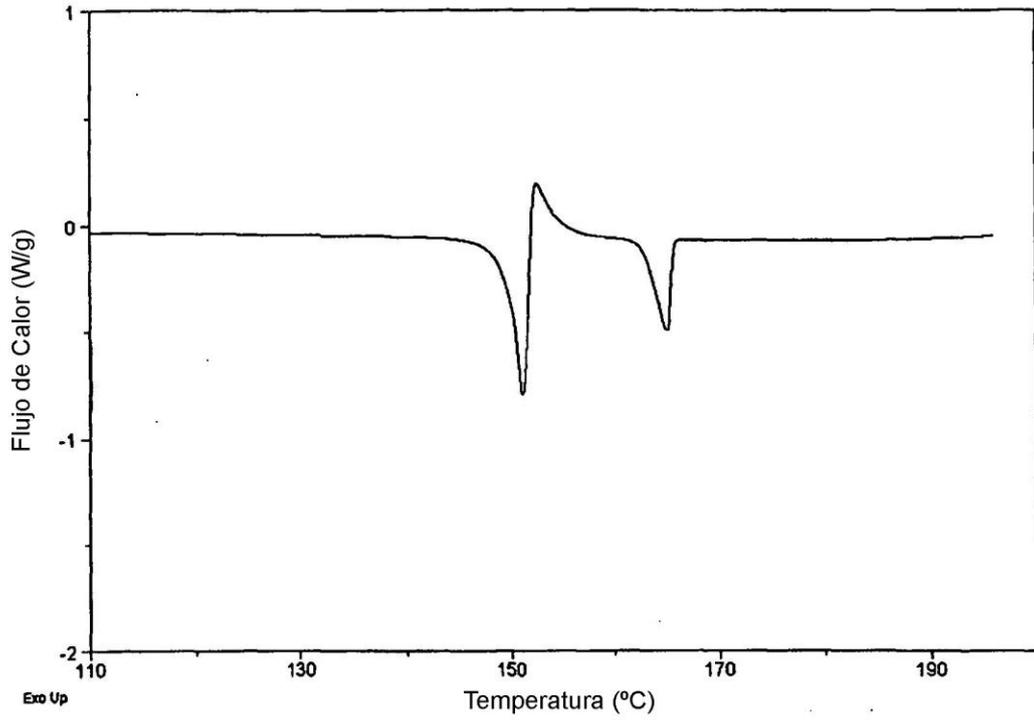


Fig. 2

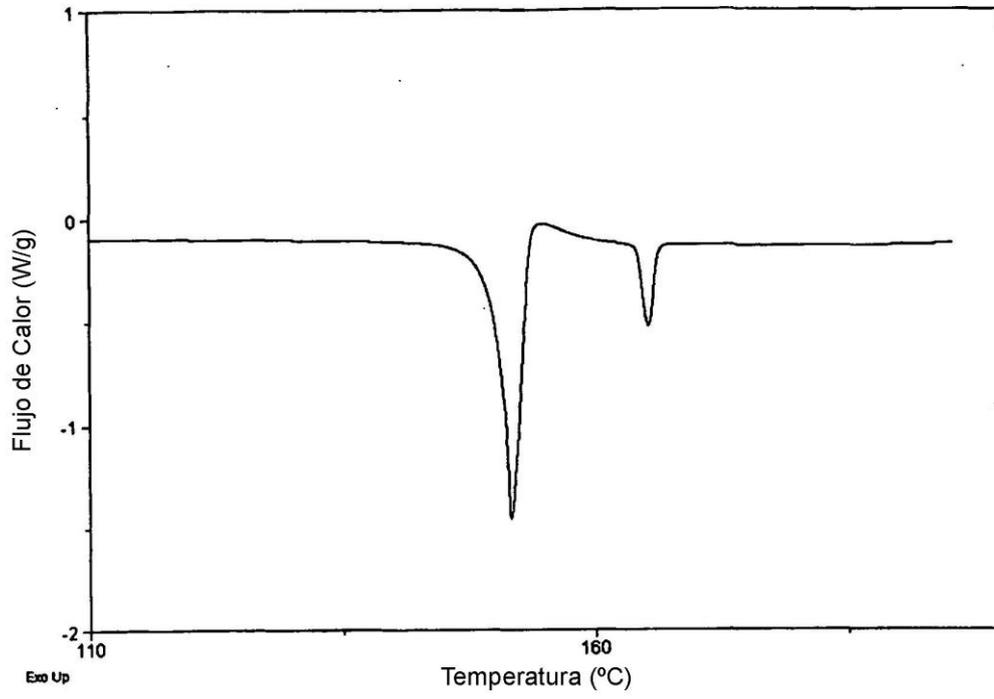


Fig. 3

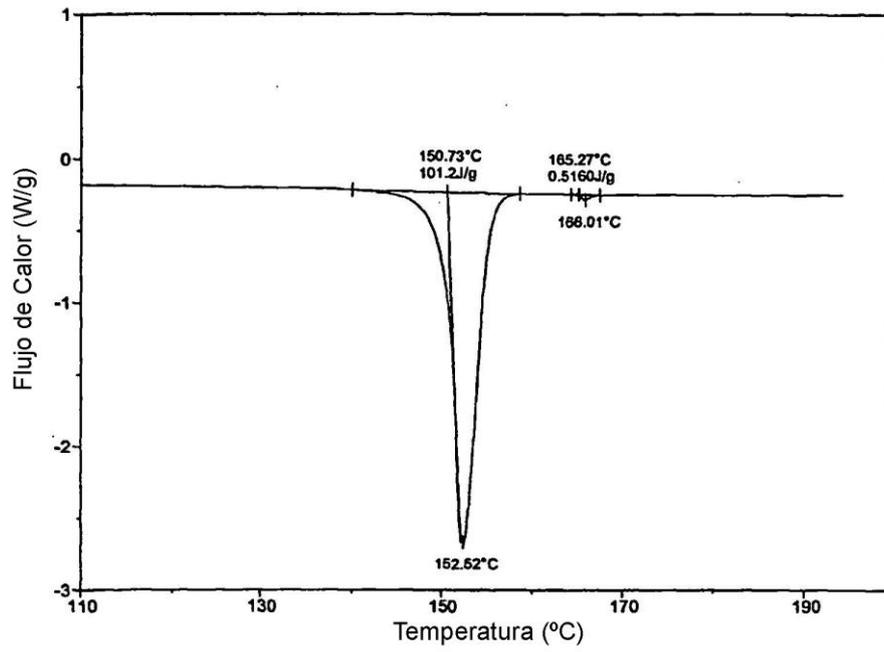


Fig. 4

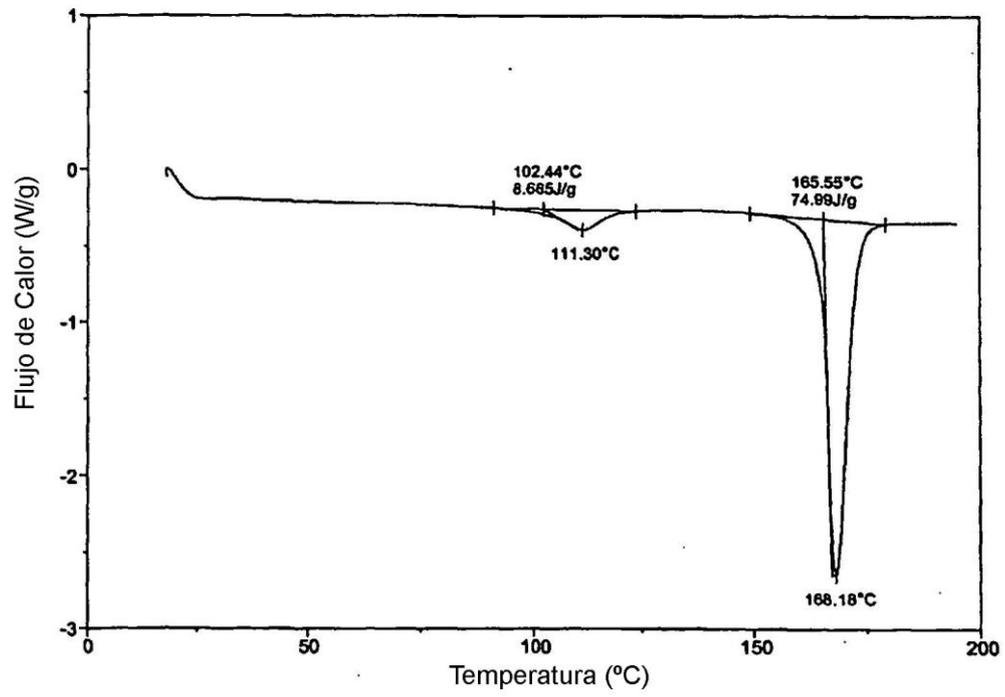


Fig. 5

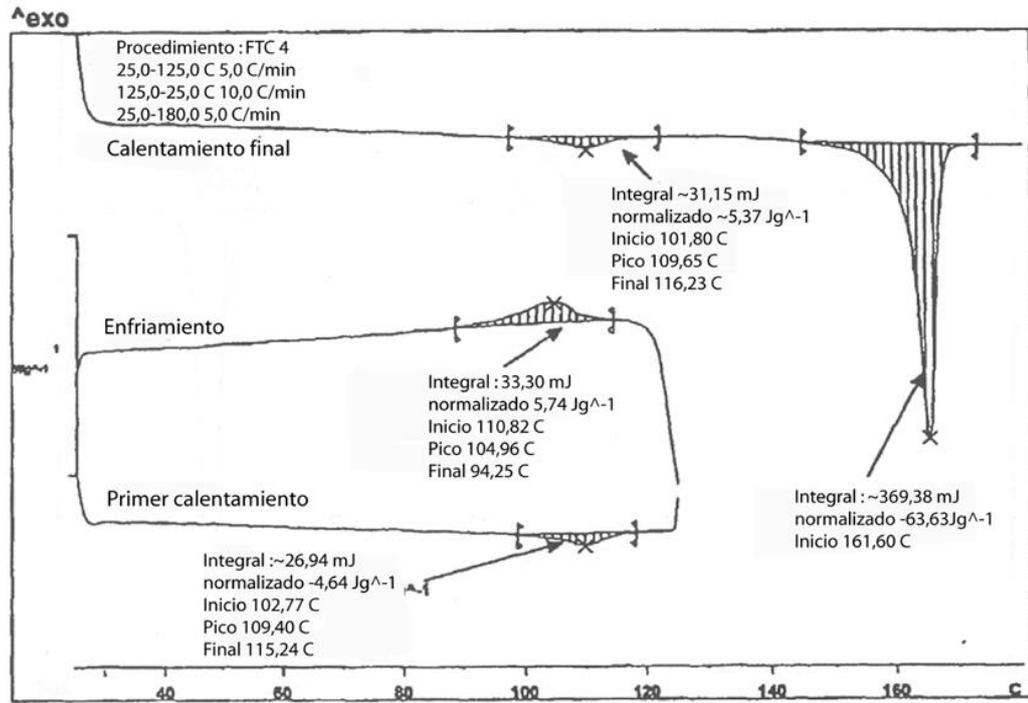


Fig.6

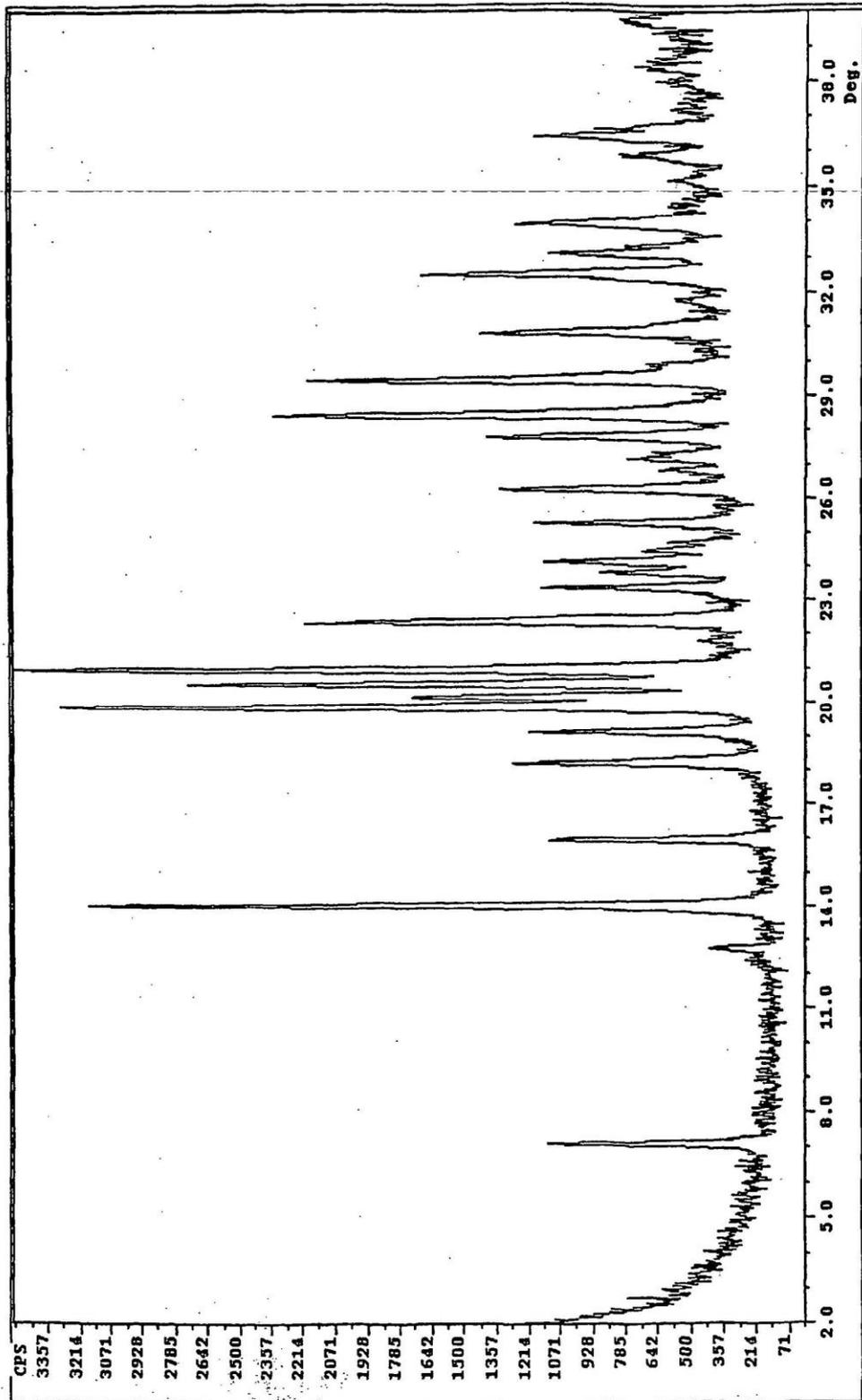


Fig. 7

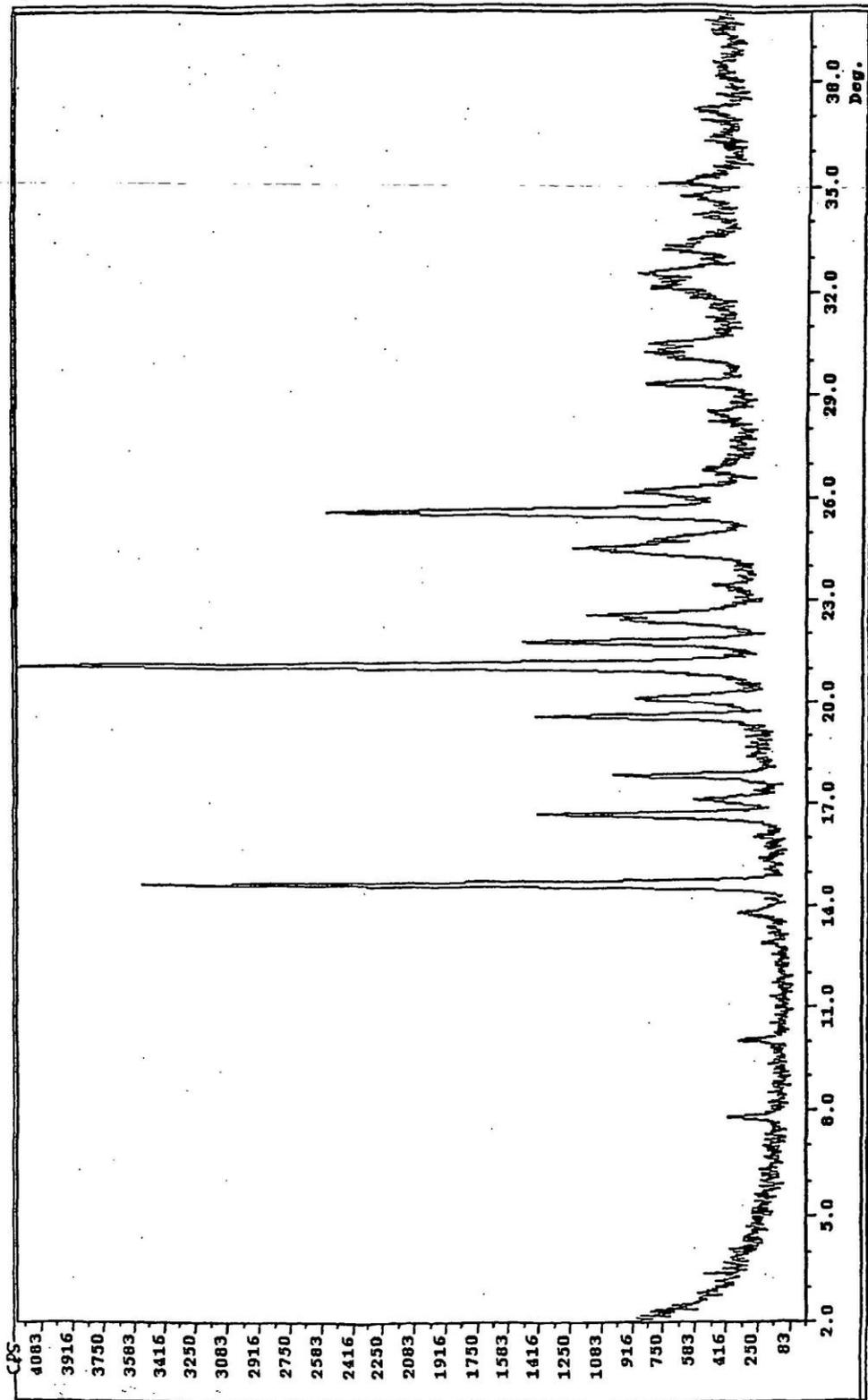


Fig. 8

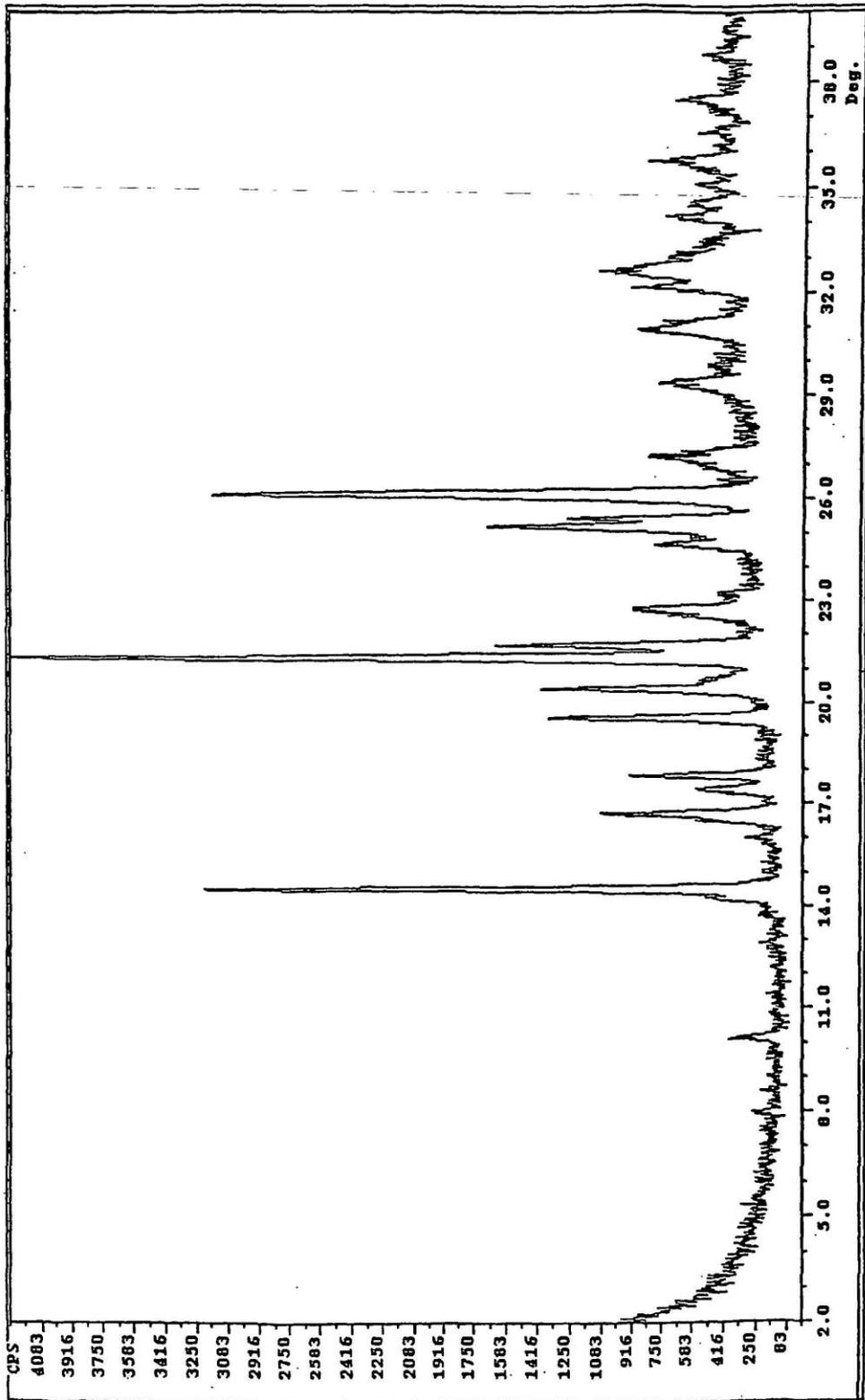


Fig. 9

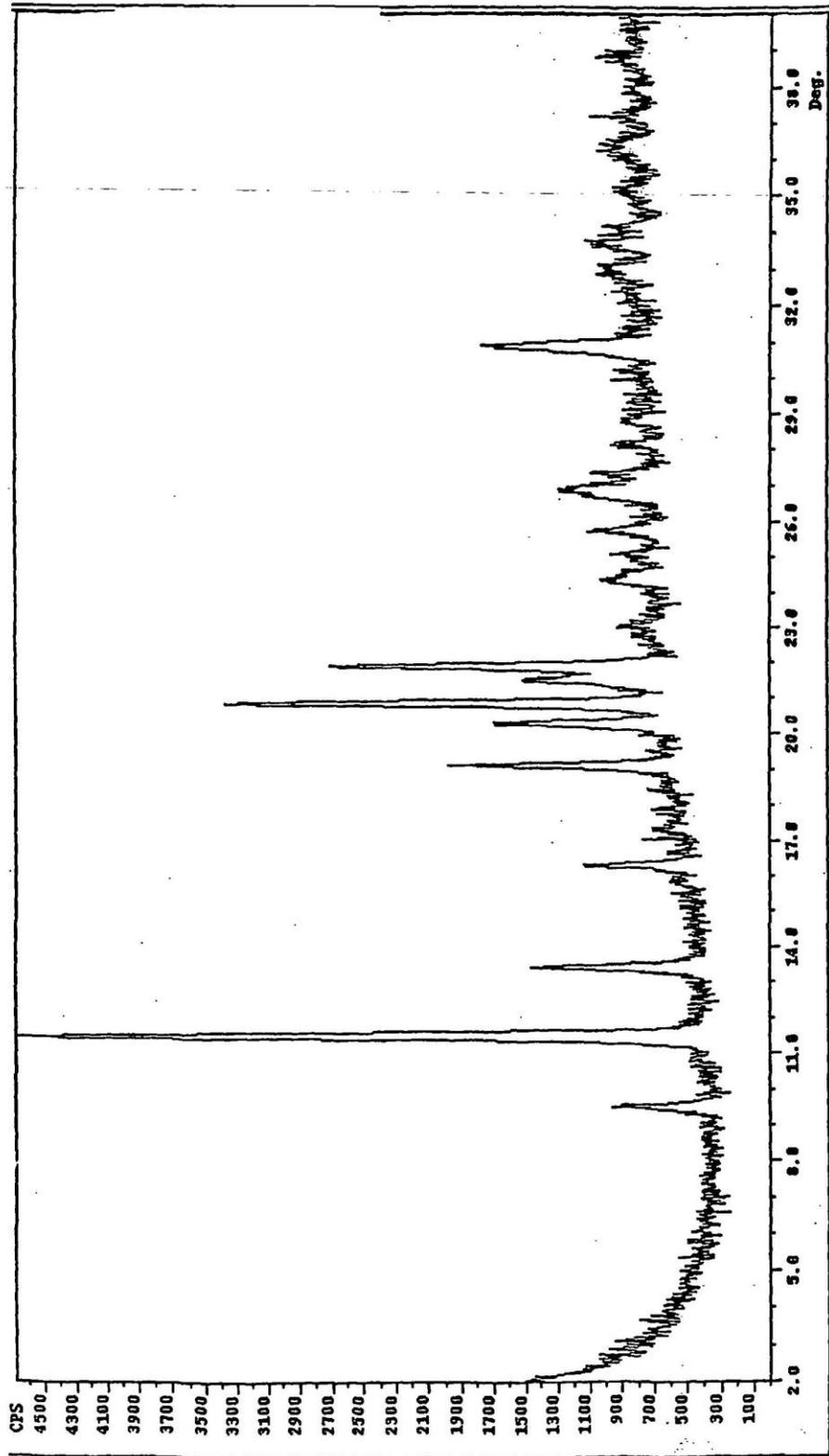


Fig 10

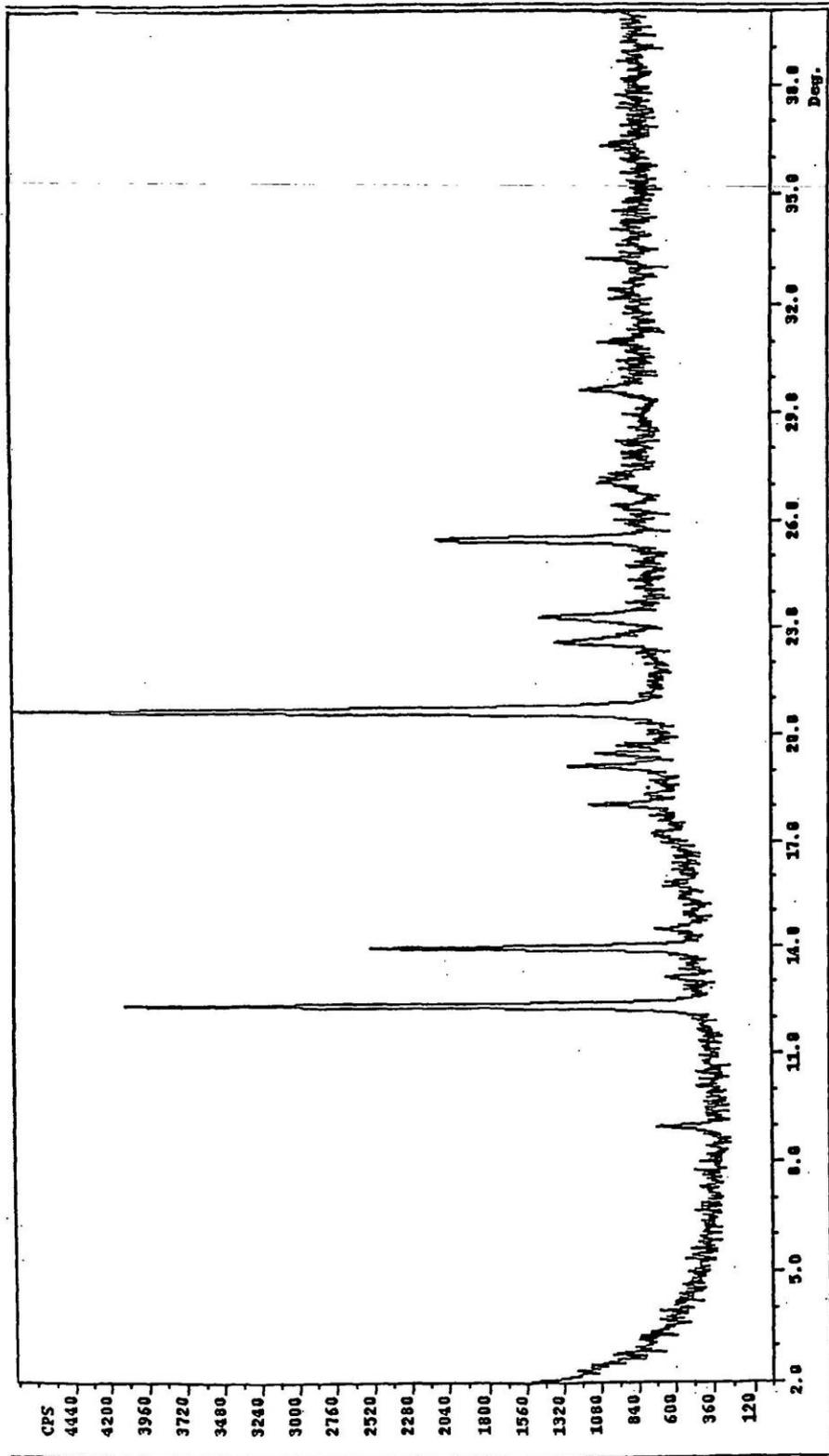


Fig. 11

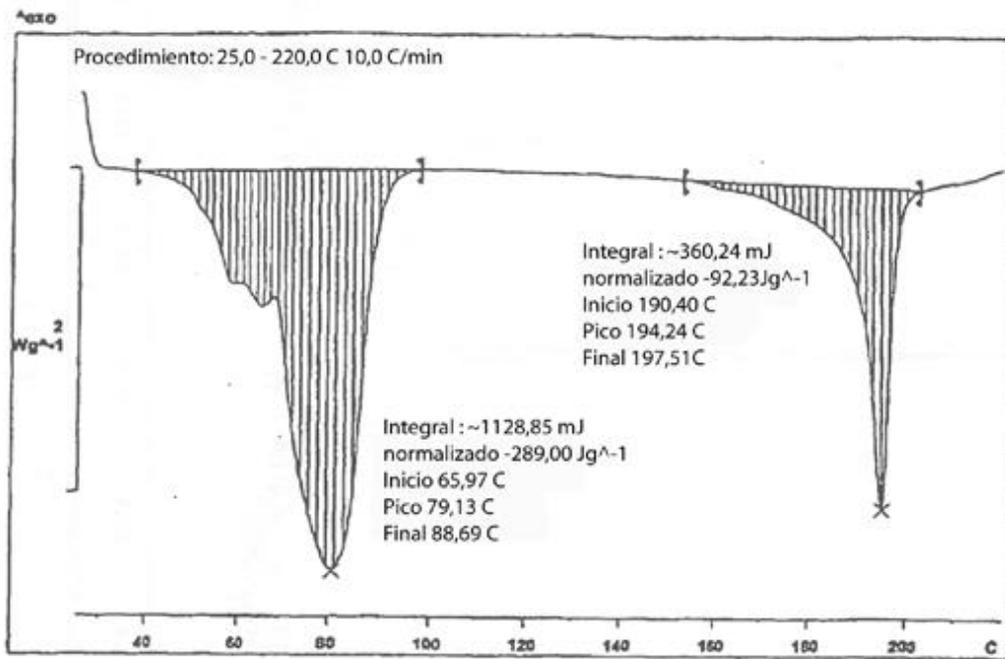


Fig. 12

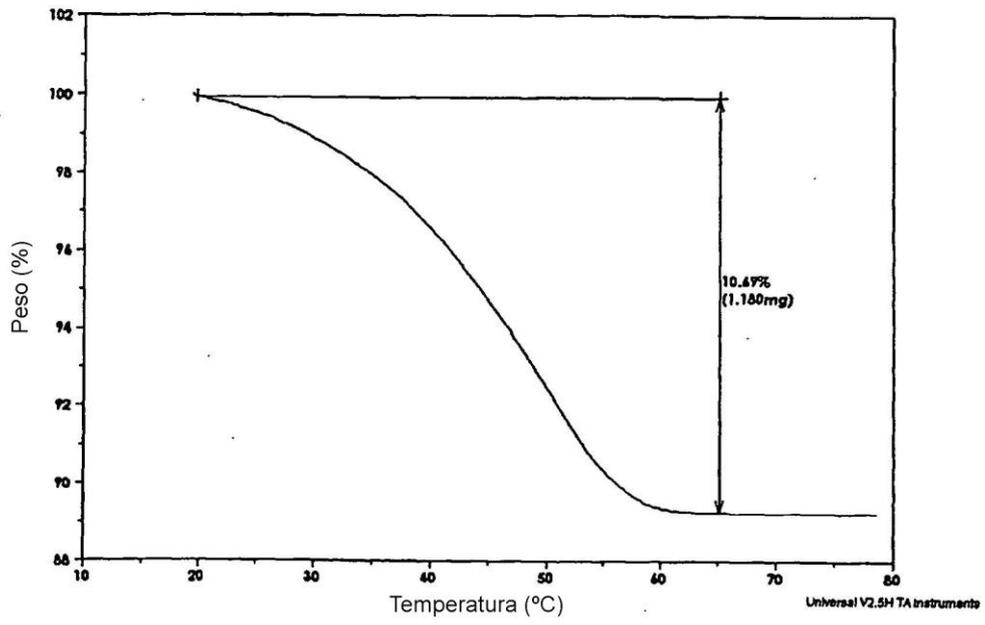


Fig. 13

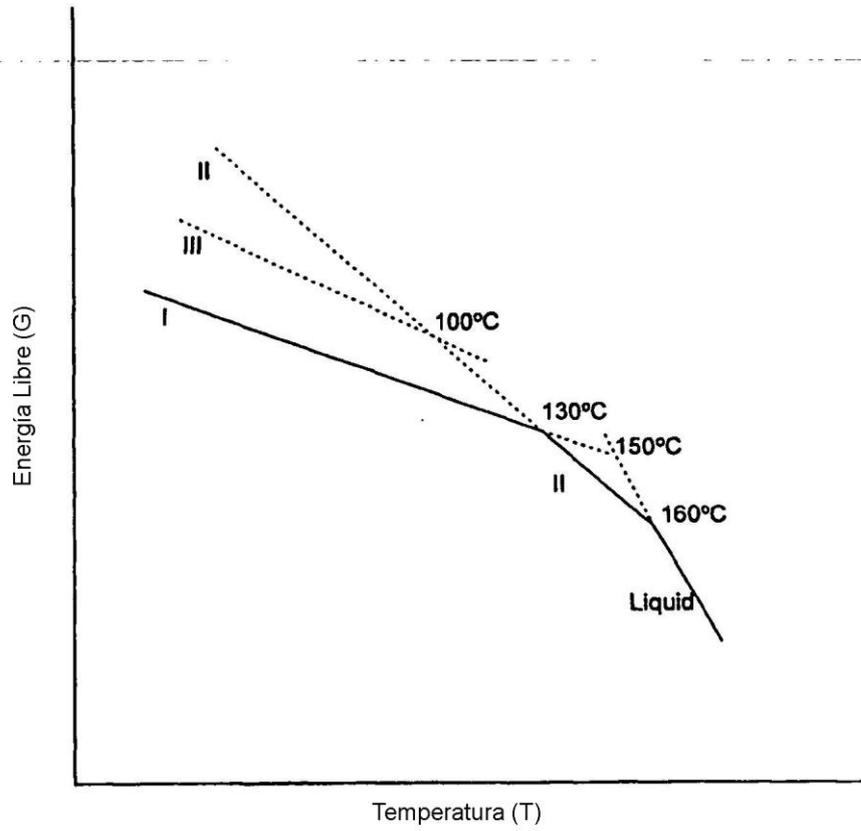


Fig. 14

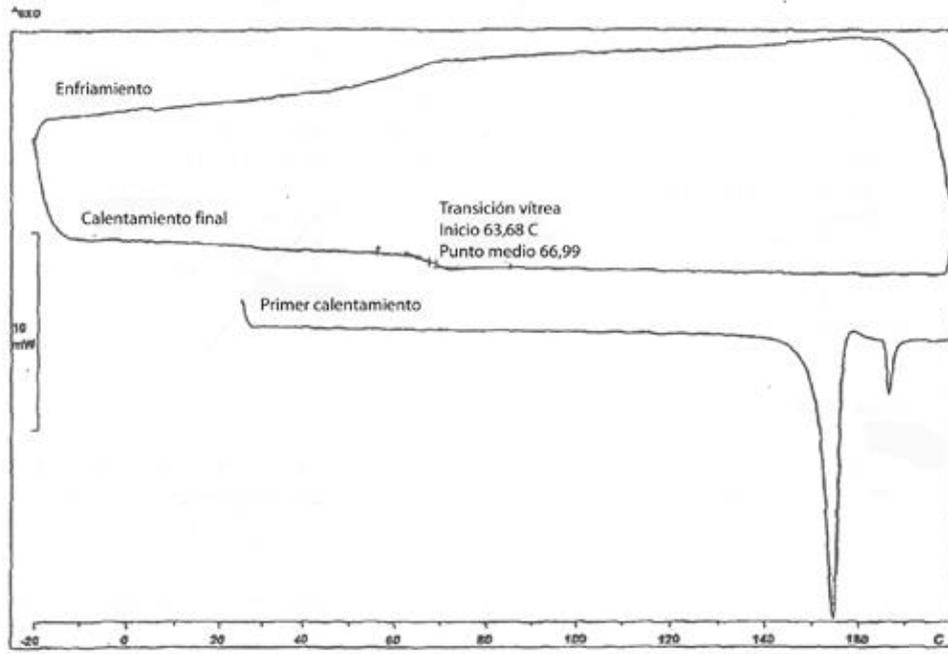


Fig. 15