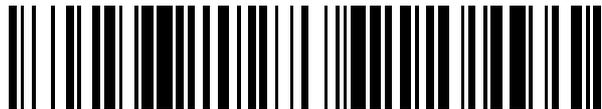


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 610 756**

51 Int. Cl.:

**C07H 19/06** (2006.01)

**A61K 31/7072** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

**C07H 19/073** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2003 PCT/US2003/024987**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.02.2004 WO04012687**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2003 E 03767281 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.11.2016 EP 1534727**

54 Título: **Formas cristalinas y amorfas de beta-L-2'-desoxitimidina**

30 Prioridad:

**06.08.2002 US 401318 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.05.2017**

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)  
Lichtstrasse, 35  
4056 Basel , CH**

72 Inventor/es:

**STORER, RICHARD y  
JONAITIS, DAVID**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 610 756 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

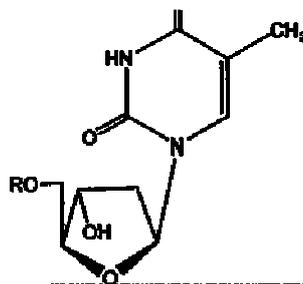
## Formas cristalinas y amorfas de beta-L-2'-desoxitimidina

## CAMPO DE LA INVENCIÓN:

5 La presente invención describe las formas cristalinas y amorfas de la beta-L-2'-desoxitimidina y sus mezclas, formas cristalinas prácticamente puras y 15 formas amorfas de beta-L-2'-desoxitimidina, los métodos analíticos para confirmar la presencia de pureza cristalina de beta-L-2'-desoxitimidina, sus composiciones farmacéuticas, 2- los usos de tales composiciones y los procesos para fabricar tales composiciones.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El nucleósido sintético beta-L-2'-desoxitimidina (L-dT) es conocido en la materia. Antonin Holy fue quien primero reveló la beta-L-2'-desoxitimidina y los métodos para prepararla en 1972 en "Nucleic Acid Components and Their Analogs. CLIII. Preparation of 2'-deoxy-L-Ribonucleosides of the Pyrimidine Series," Collect. Czech. Chem. Commun. (1972), 37(12), 4072-87. El compuesto se representa en la siguiente estructura química:



30 donde R es H.

Algunos autores han reportado una actividad antiviral de beta-L-2'-desoxitimidina contra el virus del herpes simple. Ver, p.ej., Iotti et al., WO 92/08727 y Spadari et al., J. Med. Chem. (1992), 35(22), 4214-20.

35 Más recientemente, Gilles Gosselin, Jean-Louis Imbach y Martin Bryant revelaron que el compuesto y sus derivados y análogos tienen propiedades útiles contra el virus de la hepatitis B. Ver WO 00/09531; PCT US01/17301 y PCT US01/19147; Patentes estadounidenses N° 6,395,716; 6,569,837; 6,444,652 y 6,566,344. La L-dT se encuentra actualmente en un desarrollo clínico avanzado a cargo de Idenix Pharmaceuticals, Inc. (Cambridge, Mass.).

40 Cada una de las referencias anteriores revela un proceso sintético para producir L-dT que se basa en la cristalización del compuesto a partir de etanol. Ninguna de las referencias revela la forma cristalina o física en particular de la L-dT obtenida o el contenido en agua de tal L-dT. Sin embargo, se ha reconocido que las formas cristalinas, amorfas, hidratadas y diversas formas físicas del mismo compuesto pueden variar sustancialmente en sus propiedades biológicas y en 45 su facilidad de procesamiento, fabricación y/o formulación farmacéutica. Además, algunas formas son inestables en ciertas condiciones ambientales y, por lo tanto, requieren condiciones especiales de almacenamiento y manipulación para mantenerlas, o deben evitarse absolutamente.

50 Dada la importancia comercial de la beta-L-2'-desoxitimidina, sería útil tener formas y fases adicionales de beta-L-2'-desoxitimidina que puedan presentar propiedades beneficiosas en la fabricación u otras aplicaciones. Por lo tanto, un objetivo de esta invención es proporcionar nuevas formas y fases de la beta-L-2'-desoxitimidina.

Es otro objetivo proporcionar nuevos métodos para la preparación y aislamiento de formas y fases de beta-L-2'-desoxitimidina.

55 Todavía otro objetivo de la invención es proporcionar usos terapéuticos de tales formas y fases de la beta-L-2'-desoxitimidina.

60 RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Como resultado de los estudios sobre la estructura cristalina y diversas formas físicas de la L-dT, los Solicitantes han hecho inesperadamente una serie de descubrimientos significativos. Específicamente, los Solicitantes han descubierto:

- 65 • formas estructurales de L-dT cristalina que pueden caracterizarse por su apariencia física;
- una forma amorfa de la L-dT; y

- mezclas de estas dos formas.

Estos descubrimientos dan lugar a la producción de una forma de L-dT que prácticamente carece de agua y que se puede mantener por un período, o vida útil, de al menos 1,2, 3,4, 5, 6, 7, 8, 9,10 11 o 12 meses o más, manteniendo el compuesto en condiciones apropiadas de baja humedad. Dado que los nucleósidos en general son compuestos polares solubles en agua y que la L-dT en particular contiene un anillo de pirimidinadiona y dos grupos hidroxil libres, no se podría predecir que la L-dT, cuando prácticamente carezca de agua de hidratación, se pueda mantener por un tiempo de vida útil prolongado.

Además, los Solicitantes han descubierto métodos para analizar la pureza de la L-dT cristalina y así ver el grado de contaminación por medio de la L-dT amorfa. Estos métodos analíticos incluyen técnicas difraccionales, vibracionales, térmicas y otras técnicas analíticas. Y en otros contextos, la invención incluye métodos para elaborar las formas anteriores de L-dT.

Estas formas de L-dT tienen propiedades ventajosas en la preparación de composiciones farmacéuticas y en el tratamiento de la hepatitis B. Las propiedades beneficiosas se pueden atribuir a estas diferentes formas físicas, incluida una mayor solubilidad, una biodisponibilidad mejorada, la facilidad del procesamiento químico y/o de la formulación farmacéutica.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIGURA 1 es un patrón de XRPD ("Difracción de rayos X en polvo") de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina y amorfa.

La FIGURA 2 es una representación gráfica del espectro Infrarrojo (IR) de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina y amorfa.

La FIGURA 3 es una representación gráfica del espectro Rama de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina y amorfa.

La FIGURA 4 es una representación gráfica de un TGA ("análisis termogravimétrico") de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina superpuesto en un termograma de DSC ("calorimetría diferencial de barrido") de la misma beta-L-2'-desoxitimidina cristalina, con una endoterma a 189.69 °C.

La FIGURA 5 muestra una forma gráfica los datos de sorción y desorción de humedad de la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina.

La FIGURA 6 es una representación gráfica de un TGA de beta-L-2'-desoxitimidina amorfa superpuesto en un termograma de DSC de la misma beta-L-2'-desoxitimidina amorfa, con una endoterma a 187.19 °C.

La FIGURA 7 muestra un termograma de DSC obtenido a partir de experimentos de ciclos de temperatura en beta-L-2'-desoxitimidina amorfa.

La FIGURA 8 muestra una forma gráfica los datos de sorción y desorción de humedad de la beta-L-2'-desoxitimidina amorfa.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

##### **L-dT anhidra no asociada con agua**

Un contexto principal de la presente invención deriva del descubrimiento de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina, y de los métodos para evitar la formación de formas hidratadas que podrían afectar la estabilidad del producto. Sorprendentemente, los inventores han descubierto que la L-dT, cristalizada a partir de etanol y luego mantenido en un ambiente del 45% o menos de humedad relativa, es prácticamente impermeable al agua. La L-dT cristalina resultante no es solvatada y no contiene agua adsorbida o absorbida. Tal como se muestra en las curvas de TG y DK de la Figura 4, cuando la L-dT se cristaliza y dada la importancia comercial de la beta-L-2'-desoxitimidina, sería útil tener formas y fases adicionales de beta-L-2'-desoxitimidina que puedan mostrar propiedades beneficiosas en la fabricación u otras aplicaciones. Por lo tanto, un objetivo de esta invención es proporcionar nuevas formas y fases de beta-L-2'-desoxitimidina. Otro objetivo es proporcionar nuevos métodos para la preparación y el aislamiento de formas y fases de beta-L-2'-desoxitimidina. Otro objetivo de la invención sigue siendo proporcionar usos le falta humedad, carece de agua de hidratación y asociación (de ahí la endoterma hasta que la sustancia se derrite a casi 189 °C). Como muestra la Figura 5, sin embargo, la L-dT cristalina se asociará con agua (por medio de adsorción, absorción o hidratación) mientras la humedad relativa supere en un 45% a 55% la humedad relativa.

El hecho de que la L-dT carezca de agua de hidratación o asociación incluso se pueda obtener es sorprendente en vista del hecho de que la L-dT se cristaliza con frecuencia a partir de etanol, que necesariamente contiene agua como impureza a niveles mayor de un 1, 2 o 3% de volumen, con frecuencia hasta en un 5, 7 o 10 por ciento de volumen. Estos descubrimientos dieron lugar a la invención de la L-dT prácticamente carente de agua por un período, o tiempo de vida útil, de al menos 1,2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,10 11 o 12 meses o más, manteniendo el compuesto en condiciones apropiadas de humedad. Debido a que los nucleósidos en general son compuestos polares solubles en agua y que la L-dT en particular contiene un anillo de pirimidinadiona y dos grupos hidroxil libres, dos carbonilos, una amina secundaria, una amina terciaria y un enlace éter interno, no se podría

predecir que la L-dT carente de agua de hidratación o asociación se pueda mantener por un tiempo de vida útil prolongado.

5 Por lo tanto, en un contexto, la invención proporciona L-dT cristalina prácticamente carente de agua de hidratación o asociación, por períodos que superan los 4, 6, 8, 10 o incluso 12 meses. En otro contexto, la invención proporciona un método para usar la L-dT cristalina prácticamente carente de agua al final del período. La L-dT se administra preferiblemente en un humano después de tal período. Entre los ambientes húmedos se incluyen ambientes en que la humedad relativa supera ampliamente en casi un 10%, 20%, 30%, 40% o 50%, pero preferiblemente no más de un 75%, 65% o 55%, la humedad relativa. Los períodos durante los cuales se puede exponer la L-dT a tales ambientes húmedos son mayores a 1,2, 3,4, 5, 6,7, 8,9,10,11 o incluso 12 meses, pero preferiblemente no mayores a 3, 2 o 1½ años. El término “ambiente húmedo” se refiere a las condiciones ambientales generales a las cuales se expone la L-dT o un contenedor de L-dT.

15 Esta forma cristalina no solvatada de beta-L-2'-desoxitimidina se prepara cristalizando la beta-L-2'-desoxitimidina a partir de una solución, optativamente filtrándola y secándola en ambiente que le falte humedad (es decir, menos de un 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% o 10% de humedad relativa). La sustancia se encuentra preferiblemente presente ante la ausencia sustancial de L-dT amorfa.

20 El término hidratado/a, cuando se usa aquí para describir un material, se refiere a que el peso del material aumenta por la asociación con agua, independientemente del mecanismo de asociación. Por lo tanto, el término incluye formas hidratadas del material, además del material en que se absorbe o adsorbe o el agua. Entre las posibles formas hidratadas se incluye el monohidrato, el dihidrato, el trihidrato y el tetrahidrato.

25 Como se usa aquí, el término “prácticamente puro/a”, cuando se usa en referencia a una forma física, fase o forma cristalina de beta-L-2'-desoxitimidina, se refiere a una fase o forma de beta-L-2'-desoxitimidina mayor a un 95% de pureza. Esto significa que la fase o forma de la beta-L-2'-desoxitimidina no contiene más de un 5% de algún otro compuesto y, en un contexto, no contiene más de un 5% de alguna otra fase o forma de beta-L-2'-desoxitimidina. En otros contextos, “prácticamente puro/a” incluye una fase o forma de beta-L-2'-desoxitimidina mayor a un 96% de pureza. Y en otro contexto, el término “prácticamente puro/a” incluye una fase o forma de beta-L-2'-desoxitimidina mayor a un 97%, 99%, 99.5% o 99.8% de pureza.

35 De forma similar, el término “prácticamente ante la ausencia de un segundo componente” o “prácticamente sin un segundo componente”, cuando se usa en referencia a una forma física, fase o forma cristalina de beta-L-2'-desoxitimidina, se refiere a una fase o forma cristalina de beta-L-2'-desoxitimidina que no contiene más de un 5% del segundo componente. Más preferiblemente, el término “sustancialmente ante la ausencia de un segundo componente” se refiere a una fase o forma de beta-L-2'-desoxitimidina que no contiene más de un 4% del componente, e incluso más preferiblemente no más de un 3%, 1%, 0.5% o 0.2% del segundo componente.

#### 40 Formas físicas de L-dT cristalinas caracterizadas por su apariencia física

En otro contexto principal, la invención proporciona beta-L-2'-desoxitimidina cristalina en diversas formas físicas. Las formas físicas preferidas se pueden obtener usando los métodos descritos más detalladamente en los Ejemplos del presente documento e incluyen:

- 45
- copos blancos;
  - acículas claras;
  - acículas blancas;
  - sólido blanco;
  - 50 • polvo blanco;
  - agujas;
  - fragmentos blancos;
  - fibras blancas; y
  - placas blancas.

55 Como se usa aquí, el término “copo” se define como una masa floculante de cristales generalmente en forma de un fragmento o una capa delgada aplanada. El término “acícula” se refiere a un material que incorpora dentro de sí mismo cristales finos en forma de aguja. Un “polvo” es una sustancia compuesta de partículas finas. “Agujas” se refiere a objetos puntiagudos delgados. Un “fragmento” se refiere a una pieza pequeña y gruesa que a menudo se forma de manera tosca o rugosa. Una “fibra” se refiere a una estructura o un objeto parecido a un hilo. Las “Placas” se refieren a fragmentos lisos, prácticamente planos y relativamente delgados de material. Un material “sólido” se refiere a una masa continua uniforme de material obtenido por la vaporización de un solvente.

65 Las diferentes propiedades físicas de estas formas físicas pueden dar lugar a numerosas propiedades beneficiosas inesperadas, incluida una mayor solubilidad, biodisponibilidad mejorada, facilidad de procesamiento químico y / o facilidad de formulación.

En un contexto preferido, una o más de las formas anteriores se encuentra presente en su orientación preferida. La orientación preferida es la tendencia de los cristales, normalmente placas o agujas, a alinearse con cierto grado de orden. En diversos contextos, las formas físicas anteriores se caracterizan más por los niveles de pureza. Por ejemplo, en un contexto, la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina prácticamente no contiene beta-L-2'-desoxitimidina amorfa.

Y otros contextos se relacionan con métodos para fabricar las formas físicas anteriores de beta-L-2'-desoxitimidina. Estos métodos generalmente requieren la disolución de la beta-L-2'-desoxitimidina en un solvente apropiado, seguido de la cristalización usando una de las distintas técnicas. Un solvente particularmente preferido es el etanol, y especialmente el etanol absoluto, aunque se pueden emplear otros solventes, incluida acetona, acetonitrilo, diclorometano, N,N-dimetilformamida, acetato de etilo, éter etílico, 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol, hexano, isopropanol, metanol, tetrahidrofurano, tolueno, 2,2,2-trifluoroetanol y agua, o mezclas de los solventes anteriores con agua.

A medida que se conocen numerosos métodos para cristalizar un soluto y se pueden emplear en la práctica de esta invención, los métodos particularmente preferidos de la recristalización incluyen:

- cristalizar dicha beta-L-2'-desoxitimidina disuelta a través de la evaporación rápida (es decir, evaporación en un contenedor abierto en condiciones ambientales);
- cristalizar dicha beta-L-2'-desoxitimidina disuelta a través de la evaporación lenta (es decir, evaporación en un contenedor prácticamente cerrado solo con agujeros pequeños para el escape de los vapores en condiciones ambientales);
- cristalizar dicha beta-L-2'-desoxitimidina a través del enfriamiento lento a partir de una temperatura elevada (preferiblemente unos 45 a 60 °C) en condiciones prácticamente ambientales (la disolución se realiza preferentemente a una temperatura elevada, seguida de una filtración rápida de la beta-L-2'-desoxitimidina disuelta antes del enfriamiento lento);
- cristalizar dicha beta-L-2'-desoxitimidina disuelta a través del enfriamiento rápido;
- cristalizar dicha beta-L-2'-desoxitimidina disuelta a través de métodos de lechada. Las condiciones ambientales en cualquier de los métodos de cristalización se pueden alterar en términos de temperatura (es decir, mayor a 10 °C, 20 °C o 30 °C de la temperatura ambiente) o humedad (es decir, menos de un 45%, 35% o 25% de la humedad relativa).

#### L-dT amorfa

También se reveló una forma amorfa e higroscópica de beta-L-2'-desoxitimidina que puede distinguirse de la beta-L-2'-desoxitimidina mediante espectroscopia Infrarroja y Raman, patrones de difracción de rayos X en polvo, propiedades térmicas y métodos de fabricación. La fase amorfa de la beta-L-2'-desoxitimidina muestra una higroscopicidad significativa y una solubilidad mejorada cuando se le compara con la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina, un hecho que podría generar una biodisponibilidad mejorada in vivo. Esta forma de beta-L-2'-desoxitimidina se puede usar en la fabricación de otras formas de beta-L-2'-desoxitimidina o en composiciones farmacéuticas. Los usos particularmente preferidos de esta forma son el tratamiento de la hepatitis B.

La forma amorfa e higroscópica de la beta-L-2'-desoxitimidina se caracteriza por el espectro IR y Raman en las Figuras 2 y 3, las curvas de TGA y DSC en la Figura 6, las características de los ciclos de temperatura de la DSC que se muestran en la Figura 7, los datos de sorción de humedad que se muestran en la Figura 8 y/o el patrón de difracción de rayos X en polvo en la Figura 1. Esta forma se debe contrastar con la beta-L-2'-desoxitimidina 25 cristalina, que se puede caracterizar mediante el espectro IR y Raman en las Figuras 2 y 3, las curvas de TGA y DSC en la Figura 4, los datos de sorción de humedad que se muestran en la Figura 5 y/o el patrón de difracción de rayos X en polvo que se muestra en la Figura 1. Las formas amorfas y cristalinas de beta-L-2'-desoxitimidina se caracterizan más detalladamente en los Ejemplos contenidos aquí.

De este modo, la invención proporciona, además:

- a) una fase amorfa e higroscópica de beta-L-2'-desoxitimidina, caracterizada por un análisis de difracción de rayos X en polvo, propiedades físicas y métodos de fabricación;
- b) procesos para elaborar una fase amorfa e higroscópica de beta-L-2'-desoxitimidina;
- c) composiciones terapéuticas y/o farmacéuticas de la fase amorfa e higroscópica de beta-L-2'-desoxitimidina, optativamente en presencia de un medio farmacéuticamente aceptable; y
- d) nuevos usos terapéuticos para la fase amorfa e higroscópica de beta-L-2'-desoxitimidina, especialmente en el tratamiento de enfermedades virales tales como la hepatitis B.

La beta-L-2'-desoxitimidina amorfa se obtiene cuando la beta-L-2'-desoxitimidina derretida se enfría rápidamente por debajo de los 40 o 50 °C. Se presenta un termograma de ciclos de temperaturas de DSC de la beta-L-2'-desoxitimidina amorfa en la Figura 7, el cual muestra que la temperatura de transición vítrea para esta fase es de unos 50 °C.

Se observan preferiblemente temperaturas y niveles de humedad bajos cuando se almacena la beta-L-2'-desoxitimidina amorfa. Por ejemplo, se prefiere almacenar la beta-L-2'-desoxitimidina amorfa a temperaturas por debajo de los 50,40, 30, 20,10 o 0 °C. Además, se prefiere almacenar la beta-L-2'-desoxitimidina amorfa a humedades relativas menores a un 25%, 20%, 15%, 10% o 5%.

En otro contexto, la invención proporciona beta-L-2'-desoxitimidina amorfa en forma prácticamente pura, es decir, ante la ausencia de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina. Y en otro contexto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende beta-L-2'-desoxitimidina amorfa, además de un medio farmacéuticamente aceptable.

#### Métodos analíticos para asegurar la pureza de la L-dT cristalina

En vista de los problemas de estabilidad relacionados a la beta-L-2'-desoxitimidina amorfa, es muy importante asegurar durante el proceso de fabricación que los lotes de L-dT cristalina no estén contaminados involuntariamente con la forma amorfa. De este modo, otros contextos de la presente invención se relacionan con métodos para detectar beta-L-2'-desoxitimidina cristalina contaminada con su forma amorfa y con métodos para fabricar beta-L-2'-desoxitimidina cristalina prácticamente sin beta-L-2'-desoxitimidina amorfa. Como se puede ver en una comparación de las Figuras 2 y 3, mediante espectrometría IR y Raman y las dos formas se pueden distinguir por el ensanchamiento de los picos que ocurre desde la forma cristalina hasta la amorfa. Los ensanchamientos de estos picos se observan entre 2200 a 2600, 1600 a 1800, 1000 a 1500, o 500 a 1000 cm<sup>-1</sup> en un espectro IR, y entre 2800 a 3200, 1600 a 1675, 1300 a 1500, o 700 a 900 en un espectro Raman.

Por lo tanto, en diversos contextos, la invención proporciona un método para detectar la contaminación amorfa de la beta-L-2'-desoxitimidina o para distinguir entre la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina y amorfa, lo que comprende:

- someter un material que contenga beta-L-2'-desoxitimidina a una espectrometría IR; y
- evaluar el ancho de los picos que se muestran entre 2200 a 2600, 1600 a 1800, 1000 a 1500, o 500 a 1000 cm<sup>-1</sup> en referencia a un espectro IR conocido para la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina.

En otros contextos, la invención proporciona un método para detectar la contaminación amorfa de la beta-L-2'-desoxitimidina o para distinguir entre la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina y amorfa, lo que comprende:

- someter un material que contenga beta-L-2'-desoxitimidina a una espectrometría Raman; y
- evaluar el ancho de los picos que se muestran entre 2800 a 3200, 1600 a 1675, 1300 a 1500, o 700 a 900 cm<sup>-1</sup> en referencia a un espectro Raman conocido para la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina.

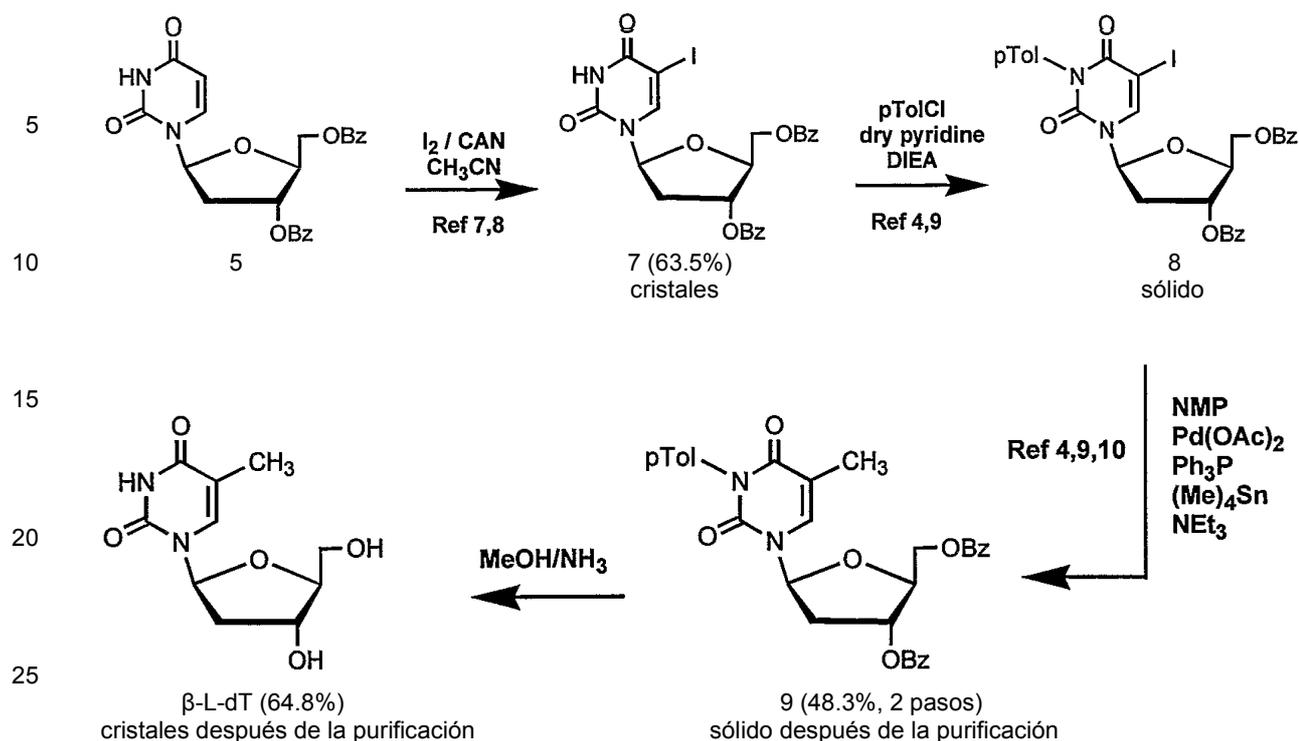
Y en otros contextos, la invención se relaciona con la fabricación de composiciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina prácticamente ante la ausencia de la forma amorfa. De este modo, la invención proporciona un método para fabricar formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina que comprende:

- cristalizar dos o más lotes de beta-L-2'-desoxitimidina a partir de seleccionar para un procesamiento adicional los lotes que no muestran un ancho significativo de los picos (es decir, un ancho consistente con la presencia de L-dT amorfa) entre 2200 a 2600, 1600 a 1800, 1000 a 1500, o 500 a 1000 cm<sup>-1</sup> a partir de un espectro IR conocido para la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina; y
- formular dichos lotes seleccionados en formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina.

En otro contexto, la invención proporciona un método para fabricar formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina que comprende:

- cristalizar dos o más lotes de beta-L-2'-desoxitimidina a partir de una solución;
- someter los lotes a una espectrometría Raman;
- seleccionar para un procesamiento adicional los lotes que no muestran un ancho significativo de los picos (es decir, un ancho consistente con la presencia de L-dT amorfa) entre 2800 a 3200, 1600 a 1675, 1300 a 1500, o 700 a 900 cm<sup>-1</sup> a partir de un espectro Raman conocido de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina; y
- formular dichos lotes seleccionados en formulaciones farmacéuticas de los ejemplos que no se incluyen en el campo de las reclamaciones se consideran ejemplos de referencia útiles para entender la invención.

#### Ejemplo 1: Síntesis química estereoselectiva de la beta-L-2'-desoxitimidina



### 3',5'-Di-O-benzoilo-2'-desoxi-5-yodo- $\beta$ -L-uridina (7)

Se revolvió una mezcla del compuesto 5 (105.8 g, 0.242 mol), yodo (76.8 g), CAN (66.4 g) y acetonitrilo (2550 ml) a 80 °C durante 3 horas y luego se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, dando lugar a la cristalización del compuesto 7 (86.6 g, 63.5%); m. p. 192 a 194 °C;  $^1H$  NMR (DMSO)  $\delta$  ppm .8.34 (s, 1H, NH), 8.2-7.2 (m, 11H, 2  $C_6H_5CO$ , H-6), 6.31 (q, 1H,  $H-1'$ ,  $J = 5.5$  Hz y  $J = 8.7$  Hz), 5.5 (m, 1H,  $H-3'$ ), 4.7 (m, 2H,  $H-5'$ ,  $H-5''$ ), 4.5 (m, 1H,  $H-4'$ ), 2.7 (m, 1H,  $H-2'$ ), 2.3 (m, 1H,  $H-2''$ ); FAB<0, (GT) m/e 561 (M-H)<sup>-</sup>, 237 (B)<sup>-</sup>; FAB>0 (GT) 563 (M+H)<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{20} + 39.05$  (c = 1.05 pulgadas de DMSO); UV (EtOH 95)  $\nu_{max}$  = 281 nm ( $\epsilon$  = 9000),  $\nu_{min}$  = 254 nm ( $\epsilon$  = 4000),  $\nu_{max}$  = 229 nm ( $\epsilon$  = 31000); Calculado analíticamente para  $C_{23}H_{19}IN_2O_7$ : C, 49.13H, 3.41N, 4.98I, 22.57. Encontrado: C, 49.31H, 3.53N, 5.05 I, 22.36.

### Reactivos:

Yodo: Fluka, 99.8%, ref. 57650

Nitrato de amonio cérico (CAN): Aldrich, >98.5%, ref. 21,547-3

### 3',5'-Di-O-benzoilo-2'-desoxi-3-N-toluilo- $\beta$ -L-timidina (9)

A una solución del compuesto 7 (86.6g, 0.154 mol) en piridina anhidra (1530 ml) que contenía N-etildisopropilamina (53.6 ml) se agregó en partes a 0 °C cloruro de p-toluilo (40.6 ml). Se revolvió la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, luego se agregó agua para detener la reacción y se extrajo la mezcla de reacción con cloruro de metileno. La fase orgánica se lavó con agua, se secó en sulfato de sodio y se evaporó hasta la sequedad para dar 3',5'-di-O-benzoilo-2'-desoxi-3-N-toluilo-5-yodo- $\beta$ -L-uridina (§) cruda que se puede usar para el siguiente paso sin una purificación adicional.

Se revolvió una solución de la mezcla cruda 8, acetato de paladio (3.44 g), trifetilfosfina (8.0 g) en N-metilpirrolidina (1375 ml) con trietilamina (4.3 ml) a temperatura ambiente durante 45 min. Luego, se agregó tetrametilina (42.4 ml) gota a gota a 0 °C bajo argón. Después de revolver a entre 100 a 110 °C durante toda la noche, se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo con éter dietílico. La solución orgánica se secó en sulfato de sodio y se concentró en una presión reducida. El residuo se purificó mediante una cromatografía en columna de gel de sílice [eluyente: gradiente gradual de acetato de etilo (0 a 10%) en tolueno] para darle al compuesto 9 como espuma (42.3 g, 48.3% para los 2 pasos).  $^1H$  NMR (DMSO)  $\delta$  ppm .8.3-7.2 (m, 15H, 2  $C_6H_5CO$ , 1  $CH_3C_6H_4CO$ , H-6), 6.29 (t, 1H,  $H-1'$ ,  $J = 7.0$  Hz), 5.7 (m, 1H,  $H-3'$ ), 4.7-4.5 (m, 3H,  $H-5'$ ,  $H-5''$ ,  $H-4'$ ), 2.7-2.6 (m, 2H,  $H-2'H-2''$ ); FAB<0, (GT) m/e 567 (M-H)<sup>-</sup>, 449 (M- $CH_3C_6H_4CO$ )<sup>-</sup>, 243 (B)<sup>-</sup>, 121 ( $C_6H_5COO$ )<sup>-</sup>; FAB>0 (GT) 1137 (2M+H)<sup>+</sup>, 569 (M+H)<sup>+</sup>, 325 (M-B)<sup>-</sup>, 245 (B+2H)<sup>+</sup>, 119 ( $CH_3C_6H_5CO$ )<sup>+</sup>.

### Reactivos:

Cloruro de *p*-Toluoilo, Aldrich, 98%, ref. 10,663-1  
 Diisopropiletilamina: Aldrich, >99.5%, ref. 38,764-9  
 N-metilpirrolidinona: Aldrich, >99%, ref. 44,377-8  
 Acetato de paladio: Aldrich, >99.98%, ref. 37,987-5  
 5 Trifenilfosfina: Fluka, >97%, ref. 93092  
 Tetrametiltina: Aldrich, >99%, ref. 14,647 -1

## 2'-Desoxi-β-L-timidina

10 Se revolvió una solución del compuesto 9 (42.3 g, 0.074 mol) en metanol saturado con amoníaco (1850 ml) a temperatura ambiente durante dos días. Después de la evaporación del solvente, el residuo se diluyó con agua y se lavó varias veces con acetato de etilo. La capa acuosa se separó, se evaporó en una presión reducida y el residuo se purificó mediante una cromatografía en columna de gel de sílice [eluyente: gradiente gradual de metanol (0 a 10%) en cloruro de metileno] para dar una 2'-desoxi-β-L-timidina pura (11.62 g, 64.8%) que se cristalizó a partir de etanol; m.p. 185-188 °C; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ ppm 11.3 (s, 1H, NH), 7.70 (s, 1H, H-6), 6.2 (pt, 1H, H-1'), 5.24 (d, 1H, OH-3', J=4.2 Hz), 5.08 (t, 1H, OH-5', J=5.1 Hz), 4.2 (m, 1H, H-3'), 3.7 (m, 1H, H-4'), 3.5-3.6 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.1-2.0 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 483 (2M-H)<sup>-</sup>, 349 (M+T-H)<sup>-</sup>, 241 (M-H)<sup>-</sup>, 125 (B)<sup>-</sup>; FAB>0 (GT) 243 (M+H)<sup>+</sup>, 127 (B+2H)<sup>+</sup>; <sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 13.0 (c = 1.0 pulgadas de DMSO); UV (pH 1)  $\nu_{\text{máx}}$ =267 nm ( $\epsilon$ =9700),  $\nu_{\text{mín}}$ =234 nm ( $\epsilon$ =2000).

### Reactivo:

25 Amoníaco metanólico: anteriormente saturado a -5 °C, tapado herméticamente y mantenido en un congelador.

### Ejemplo 2: Caracterización de formas físicas de L-dT

## MÉTODOS EXPERIMENTALES

### Estudios de cristalización

35 Se trató una muestra pesada de L-dT (normalmente 20 a 30mg) con partes alícuotas del solvente de prueba. Los solventes eran reactivos o de calidad CLAR. Las partes alícuotas eran normalmente de 100μL o 500μL. Entre las adiciones, se sometió la mezcla a ultrasonidos. Cuando se disolvieron los sólidos, según lo evaluado a través de la inspección visual, se filtró la solución, luego se dejó en un frasco abierto en condiciones ambientales (evaporación rápida). Se repitió el procedimiento y se dejó la solución resultante en condiciones ambientales en un frasco con papel de aluminio con pequeños agujeros (evaporación lenta). También se generaron muestras filtrando una solución caliente de L-dT en un antisolvente frío (precipitación fría).

40 Se estimaron las solubilidades de estos experimentos según el solvente total usado para dar una solución. Nótese que las solubilidades reales pueden ser mayores que las calculadas debido al uso de partes alícuotas solventes demasiado grandes o a un ritmo lento de disolución. Si la disolución no ocurriera durante el experimento, la solubilidad se expresa como "menor que". Si el sólido es disuelto antes de que se agregue la parte alícuota de solvente a la solubilidad, se clasifica como "mayor que".

45 También se disolvió el sólido en un solvente de prueba a una temperatura elevada (45 o 60 °C). La solución resultante se filtró rápidamente en un frasco mantenido en la misma placa calefactora. Se apagó la fuente de calor y se dejó enfriar la placa calefactora y el frasco a temperatura ambiente (enfriamiento lento). Luego se dejó el frasco a temperatura ambiente durante toda la noche. Se observó la presencia o ausencia de sólidos no disueltos; si no había sólidos presentes o si una parte del sólido se consideraba demasiado pequeña para el análisis de XRPD, se pondría el frasco en un refrigerador durante toda la noche. Nuevamente se observó la presencia o ausencia de sólidos no disueltos y, si había ninguno, se pondría el frasco en un congelador durante toda la noche. Se retiraron los sólidos mediante filtración y se dejó que se secaran al aire.

55 Se llevaron a cabo experimentos de lechada elaborando soluciones saturadas con exceso de sólido. Se agitaron los semilíquidos a temperatura ambiente. Los sólidos insolubles se recuperaron mediante filtración. También se realizaron cristalizaciones usando una adición antisolvente. Se disolvió el sólido en un solvente y se filtró en un antisolvente a 0 °C o -78 °C. Si no se formaban sólidos inmediatamente, se dejarían las muestras en condiciones ambientales y/ se retiraría el solvente mediante evaporación rotatoria. Se retiraron los sólidos formados mediante filtración y se secaron al aire. Los experimentos de difusión de vapor implicaron poner una solución saturada de L-dT en un frasco. Se puso el frasco en otro frasco más grande que contenía un antisolvente y que luego se selló y mantuvo a temperatura ambiente. También se generaron muestras enfriando una L-dT derretida a temperatura ambiente y liofilización usando agua.

65 Todas las muestras generadas según lo descrito anteriormente se secaron al aire y fueron analizadas por difracción de rayos X en polvo (XRPD).

### Difracción de rayos X en polvo

Se realizaron análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) usando un difractómetro de rayos X en polvo Shimadzu XRD-6000 que emplea radiación Cu K $\alpha$ . El instrumento está equipado con un tubo de rayos X de enfoque fino. El voltaje y el amperaje del tubo se ajustaron en 40 kV y 40 mA, respectivamente. Se ajustó la divergencia y las ranuras de dispersión a 1° y la ranura receptora se ajustó en 0.15 mm. La radiación difractada fue detectada por un detector de centelleo NaI. Se usó un barrido continuo theta-dos theta a 3°/mín. (0.4 seg./paso 0.02°) de 2.5 a 40 2 $\theta$ . Se analizó un estándar de sílice para verificar la alineación instrumental. Se recopilaron y analizaron datos usando un difractómetro XRD-6000 v. 4.1. Se prepararon muestras para el análisis poniéndolas en un portamuestras de sílice o de aluminio con una inserción de sílice.

Se reportan posiciones de picos características del patrón de difracción de rayos X en polvo en las formas cristalinas en cuando a las posiciones angulares (dos theta) dentro de una variabilidad permitida de más o menos 0.1°. Esta variabilidad permitida está específica en la US Pharmacopeia, páginas 1843 y 1844 (1995). La variabilidad de más o menos 0.1° tiene por objeto usarla cuando se comparen dos patrones de difracción de rayos X en polvo. En la práctica, si se asigna un pico del patrón de difracción de un patrón a un rango de posiciones angulares (dos theta) que es una posición de picos medida de más o menos 0.1° y se asigna un pico del patrón de difracción de otro patrón a un rango de posiciones angulares (dos theta) que es la posición de picos medida de más o menos 0.1° y si esos rangos de posiciones de picos se superponen, entonces se considera que los dos picos tienen la misma posición angular (dos theta). Por ejemplo, si se determina que un pico del patrón de difracción de un patrón tiene una posición de picos de 5.20°, para fines comparativos, la variabilidad permitida deja que se asigne el pico a una posición en el rango de 5.10° a 5.30°. Si se determina que un pico de comparación del otro patrón de difracción tiene una posición de picos de 5.35°, para fines comparativos, la variabilidad permitida deja que se asigne el pico a una posición en el rango de 5.25° a 5.45°. Debido a que hay una superposición entre los rangos de las posiciones de picos, se considera que los dos picos comparados tienen la misma posición angular (dos theta).

### Análisis térmico

Se realizaron análisis termogravimétricos (TG) usando un analizador termogravimétrico 10 2050 o 2950 de TA Instruments. Se puso cada muestra en un platillo de muestra de aluminio y se insertaron en el horno TG. Primero se equilibraron las muestras a 25 °C, luego se calentaron en nitrógeno a una proporción de 10 °C/min., hasta una temperatura final de 350 °C. Se usó níquel y Alumel™ como estándares de calibración.

Se realizó una calorimetría diferencial de barrido (DSC) usando un calorímetro diferencial de barrido 2920 de TA Instruments. Se puso la muestra en un platillo de DSC de aluminio y se registró el peso con precisión. Se cubrió el platillo con una tapa y se dejó liso. Se equilibró cada muestra a 25 °C y se calentaron en una purga de nitrógeno a una proporción de 10 °C/min., hasta una temperatura final de 350 °C. Para los estudios de temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) del material amorfo, se calentó la muestra a una proporción de 20 °C/min., hasta 90 °C y se mantuvo así durante 3 minutos. Luego se dejó enfriar y equilibrar la muestra a 0 °C. Nuevamente se calentó la muestra a una proporción de 20 °C/min., hasta 90 °C, se mantuvo así durante 3 minutos y luego se enfrió a 0 °C. Luego se calentó la muestra a 20 °C/min. hasta una temperatura final de 225 °C. Se usó indio como estándar de calibración.

Se realizó una microscopia en platina caliente usando una platina caliente Linkam (modelo FTIR 600) montada en un microscopio Leica DMLP equipado con una cámara Sony DXC- 970MD 3CCD para recopilar imágenes. Se usó un objetivo 10x con polarizadores cruzados para ver muestras. Se pusieron las muestras en un cubreobjetos de vidrio. Luego se puso un cubreobjetos sobre la muestra. Se observó cada muestra visualmente mientras se calentaba la platina. Se tomaron imágenes usando la platina Linksys versión 2.27 (Linkam). Se calibró la platina caliente usando estándares de punto de fusión USP.

### Espectroscopia

Se adquirieron espectros infrarrojos en un espectrofotómetro infrarrojo transformado (FT-IR) de Fourier Magna-IR 560® /o 860® (Thermo Nicolet) equipado con una fuente IR media/lejana Ever-Glo, un divisor de haz de bromuro de potasio (KBr) y un detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS). Se usó un accesorio de reflectancia difusa (the Collector™, Thermo Spectra-Tech) para el muestreo. Cada espectro representa 256 barridos coagregados recopilados a una resolución espectral de 4 cm<sup>-1</sup>. La preparación de muestras consistió en poner la muestra en una taza de 3 mm de diámetro y nivelar el material con un portaobjetos de vidrio esmerilado. Se adquirió un conjunto de datos de antecedentes con un espejo de alineación. Se adquirió un espectro Log 1/R (R = reflectancia) tomando una proporción de estos dos conjuntos de datos comparados. Se realizó una calibración de longitud de onda usando poliestireno.

Se adquirió el espectro FT-Raman en un espectrómetro FT-Raman 960 (Thermo Nicolet). Este espectrómetro usa una longitud de onda de 1064 nm. Se usó una potencia láser de 0.5 W de Nd:YVO<sub>4</sub> para irradiar la muestra. Se midieron los espectros Raman con un detector de arseniuro de galio indio (InGaAs). Se

prepararon las muestras para su análisis poniendo el material en un tubo de vidrio y posicionando el tubo en un portamuestras recubierto de oro en el accesorio. Se recopiló un total de 256 barridos de muestras de 100 a 3600 cm<sup>-1</sup> a una resolución espectral de 4 cm<sup>-1</sup>, usando apodización Happ-Genzel. Se realizó una calibración de longitud de onda usando sulfuro y ciclohexano.

5

### **Sorción/desorción de humedad**

Se recolectaron datos de sorción/desorción de humedad en un Analizador de sorción de vapor VTI SGA-100. Se recopilaron datos de sorción y desorción en un rango de un 5% a 95% de humedad relativa (RH) a intervalos de un 10% de RH en una purga de nitrógeno. No se secaron las muestras antes del análisis. Los criterios de equilibrio usados para el análisis fueron inferiores al 0.0100% del cambio de peso en 5 minutos, con un tiempo de equilibrio máximo de 3 horas si no se cumpliera el criterio de peso. No se corrigieron los datos del contenido de humedad inicial de las muestras. Se usó NaCl y PVP como estándares de calibración.

10

## **RESULTADOS**

### **Solubilidades aproximadas**

Las solubilidades aproximadas de la L-dT en distintos solventes a temperatura ambiente se determinaron durante la pantalla cristalina y se resumieron en la 10 Tabla 1. Se descubrió que la L-dT es más soluble en 1:1 THF:agua (127 mg/mL), seguido de N,N-dimetilformamida (72 mg/mL), 1:1 metanol:agua (58 mg/mL), 4:1 acetona:agua (51 mg/mL), agua (32 mg/mL), 1,1,1,3,3,3- hexafluoro-2-propanol (22 mg/mL), metanol (11 mg/mL), 2,2,2-trifluoroetanol (8 mg/mL) y EtOH (>4 mg/mL). La L-dT es moderadamente soluble en acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, éter dietílico, isopropanol, cloruro de metileno y tolueno

20

### **Estudios de cristalización**

También se llevaron a cabo estudios de cristalización para generar distintas formas sólidas de L-dT. La técnica implicó la generación de L-dT sólida en una variedad de condiciones y la caracterización de las muestras resultantes mediante XRPD. Los experimentos realizados se resumen en las Tablas 2 y 3. Se descubrió un patrón de XRPD cristalina distinta, L-dT denominada cristalina y una forma amorfa. Se generó un material amorfo enfriando el material derretido en un mostrador frío o por liofilización a partir de una solución acuosa. Varias de las muestras generadas mostraron una orientación preferida. La orientación preferida puede afectar las intensidades de los picos, pero no las posiciones de estos, en los patrones de XRPD. Las siguientes secciones resumen la caracterización de los materiales cristalinos y amorfos.

25

30

### **Caracterización de la forma cristalina**

El patrón de XRPD del material inicial recibido para la pantalla de cristalización se muestra en la Figura 1 y se denominó representativa de la L-dT cristalina. Casi todas las cristalizaciones realizadas durante el transcurso de la pantalla generaron un material de L-dT cristalina. Los espectros IR y Raman para la L-dT cristalina se muestran en las Figuras 2 y 3, respectivamente.

35

40

Los datos térmicos para la L-dT cristalina se muestran en la Figura 4 y se clasifican en la Tabla 4. La curva de TG muestra una pérdida mínima de peso hasta los 175 °C, indicando un material no solvatado. La curva de DSC muestra una endoterma a 190 °C. Los datos de sorción de humedad para la L-dT cristalina se muestran en la Figura 5 y se clasifican en la Tabla 5. El material sube una cantidad relativamente menor de peso hasta en un 45% de RH, pero a partir de este punto el material sube de peso hasta un total de un 1.1% al 95% de RH. Todo este peso se pierde al bajar la humedad relativa a un 5% de RH.

45

### **Caracterización de la forma amorfa**

Se preparó un material amorfo enfriando el material derretido a temperatura ambiente o por liofilización a partir de soluciones acuosas. Los espectros IR y Raman de la forma amorfa se muestran en las Figuras 2 y 3, respectivamente. El espectro IR para el material amorfo se diferencia del material cristalino en que los picos del material amorfo son más anchos y varían en forma entre 1500 a 1900 cm<sup>-1</sup>. Los picos en el espectro Raman del material amorfo también son más anchos que los que se observan para el material cristalino; sin embargo, el espectro Raman del material amorfo muestra variaciones significativas de los picos de 2800 a 3200, 1600 a 1675, 1300 a 1500 y 700 a 900 cm<sup>-1</sup>.

50

55

Los datos amorfos para el material amorfo se muestran en la Figura 6. La curva de TG muestra una pérdida de peso de un 0.5% hasta los 175 °C. El material muestra un evento exotérmico a casi 135 °C, que probablemente sea una cristalización, seguido de una endoterma de fusión a casi 187 °C. Un experimento de ciclos de temperatura de DSC, que se muestra en la Figura 7, demuestra que la temperatura de transición vítrea para el material amorfo es de ~50 °C.

60

65

5 Los datos de sorción de humedad para la L-dT amorfa se muestran en la Figura 8. El material pierde ~0.4% de su peso en el equilibrio a casi un 5% de RH y sube ~2.3% hasta casi un 55% de RH. A partir de este punto, el material pierde parte de este peso y sigue subiendo de peso por encima de un 85% de RH. El material pierde casi todo su peso al bajar la humedad relativa de casi un 95% de RH 10 a casi un 5% de RH. El patrón de XRPD del material después del experimento coincide con el de la L-dT cristalina. Es probable que la repentina pérdida de peso por encima de un 55% de RH sea indicativa de una recristalización y la consiguiente pérdida de agua.

**Tabla 1. Solubilidades aproximadas de la L-dT cristalina**

<b>Solvente</b>	<b>Solubilidad (mg/mL)<sup>a</sup></b>
acetona	<4
acetona: agua (4:1)	51
acetonitrilo (ACN)	<4
diclorometano	<3
TV, TV-dimetilformamida (DMF)	72
etanol (EtOH)	>3.6'
acetato de etilo (EtOAc)	<4
éter etílico	<3
1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol	22
hexano	<4
isopropanol (IPA)	<3
metanol (MeOH)	11
MeOH:agua (1:1)	58
tetrahidrofurano (THF)	4
THF:agua (1:1)	127
tolueno	<4
2,2,2-trifluoroetanol	8
agua	32

<sup>a</sup>Las solubilidades se calculan según el solvente total usado para dar una solución; las solubilidades reales pueden ser mayores debido al volumen de las partes de solvente utilizadas o a un ritmo lento de disolución. Si no se obtuviera una solución clara, los 20 valores para las solubilidades se clasifican como "menor que". Si el sólido es disuelto antes de que se agregue la parte alícuota de solvente a la solubilidad, se clasifica como "mayor que". Los valores se redondean al mg/mL más cercano.  
\*después de 2 horas, se disolvió todo el sólido.

Tabla 2. Pantalla de cristalización de L-dT

Solvente	Condiciones <sup>a</sup>	Hábito	Resultados de XRPD <sup>b</sup>
acetona	lechada	acículas blancas pequeñas	cristalina
acetona	1 día de lechada (50°C)	agujas	cristalina
acetona:agua (4:1)	FE	desconocido	cristalina
	1 día de lechada (50°C)	agujas	cristalina
acetonitrilo	lechada	acículas blancas pequeñas	cristalina
	1 día de lechada (50°C)	agujas	cristalina
diclorometano	lechada	acículas blancas pequeñas	cristalina
éter dietílico	lechada	acículas blancas pequeñas	cristalina
N,N-dimetilformamida (DMF)	FE	fragmentos blancos	cristalina
	SE	agujas blancas, fragmentos	cristalina (PO)
	SC (60 °C)	no sólido	-
etanol	FE	copos blancos, fragmentos	cristalina
	SE	acículas claras	cristalina
	SC (60° C)	Sólido blanco desconocido	cristalina
	CC	sólido blanco	cristalina
	1 día de lechada (50°C)	agujas	cristalina
acetato de etilo	lechada	placas blancas pequeñas	cristalina
hexafluorisoropropanol	FE	copos blancos pequeños	cristalina
	SE	copos blancos	cristalina
	SC (60 °C)	no sólido	-
	evaporación rotatoria	sólido blanco	cristalina
hexanos	lechada	acículas blancas pequeñas	cristalina
isopropanol	lechada	polvo blanco	cristalina
	1 día de lechada (50°C)	agujas	cristalina
metanol	FE	agujas blancas	cristalina
	SE	agujas blancas, copos	cristalina
	SC (60°C)	fragmentos blancos	cristalina
	CC	sólido blanco	cristalina
	evaporación rotatoria	sólido blanco	cristalina
MeOH:agua (1:1)	FE	agujas	cristalina
	1 día de lechada (50°C) CC congelador	no sólidos no sólidos	
tolueno	lechada	polvo blanco	cristalina
tetrahidrofurano	FE	cúmulos de fibras blancas	cristalina

Solvente	Condiciones <sup>a</sup>	Hábito	Resultados de XRPD <sup>b</sup>
(THF)	SE	acículas blancas	cristalina (PO)
	SC (60 °C)	agujas blancas	cristalina
	CC	sólido blanco	cristalina
	evaporación rotatoria	sólido blanco	cristalina
THF: Agua (1:1)	FE	agujas	cristalina
	1 día de lechada (50°C) CC congelador	no sólidos no sólidos	-
2,2,2-trifluoroetanol	FE	agujas blancas, copos	cristalina
	SE	agujas blancas	cristalina
	SC (60 °C)	no sólido	-
	evaporación rotatoria	sólido blanco	cristalina
agua	FE	sólido blanco	cristalina
	SE	acículas claras	cristalina
	SC (60 °C)	no sólido	-
	1 día de lechada (50°C)	agujas	cristalina
	congelado en seco	sólido blanco	cristalina
	congelado en seco	sólido blanco esponjoso	amorfa
	congelado en seco	-	cristalina
	fusión/enfriamiento	sólido claro	amorfa
	fusión/enfriamiento	sólido claro	cristalina + amorfa
	fusión/enfriamiento	sólido claro	amorfa
	fusión/enfriamiento	sólido claro	amorfa
	fusión/enfriamiento	sólido claro	amorfa

FE = evaporación rápida; SE = evaporación lenta; SC = enfriamiento lento, CC = enfriamiento rápido  
 bPO = orientación preferida; LC = cristalinidad baja; SS = muestra pequeña; IS = muestra insuficiente

**Tabla 3. Cristalizaciones de precipitación fría**

Solvente	Antisolvente	Hábito	Resultados de XRPD
N,N-dimetilformamida	acetona	no sólido	-
	tolueno	sólido blanco	cristalina
etanol	acetona	no sólido	-
	acetato de etilo	sólido blanco	cristalina
metanol	acetona	no sólido	-
	diclorometano	sólido blanco	cristalina
	éter dietílico	sólido blanco	cristalina
tetrahidrofurano	acetona	no sólido	-
	éter dietílico	sólido blanco	cristalina
	hexanos	sólido blanco	cristalina
agua	acetona	no sólido	-
	acetonitrilo	no sólido	-
	isopropanol	no sólido	-

\* sólido disuelto en solvente a 60 °C, filtrado en caliente en un frasco con antisolvente frío (enfriado en lechada con hielo seco/acetona). Ninguno arrojó un sólido inmediatamente, el sólido se formó después de que las muestras habían estado en el congelador por varios días.

**Tabla 4. Datos térmicos para formas de L-dT**

Forma	Resultados de DSC (°C) <sup>a</sup>	Resultados de TG <sup>b</sup>
cristalina	endo 190	<0.1
amorfa	transición ~44, exo 135, endo 187	0.5
amorfa	Tg ~50	-

<sup>a</sup>temperatura máxima reportada; endo = endoterma; exo = exoterma; Tg = transición vítrea

<sup>b</sup>porcentaje de sustancias volátiles medidas a 175 °C

**Tabla 5. Resumen de datos de sorción/desorción de humedad para formas sólidas de L-dT cristalinas**

Lote N°	Resultados de equilibrio de	Resultados de XRPD
1	<0.1% pérdida de peso a un 5% de RH 1.1% aumento de peso a un 95% de RH 1.1% pérdida de un 95 a 5% de RH	cristalina
2	-0.4% pérdida de peso a un 5% de RH 2.8% aumento de peso a un 95% de RH 2.7% pérdida de un 95 a 5% de RH	cristalina

### **COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS**

Las personas que sufren enfermedades virales tales como el VHB pueden ser tratadas administrándoles una cantidad efectiva de las formas del compuesto de la presente invención o un profármaco o su sal farmacéuticamente aceptable en presencia de un medio o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los materiales activos se pueden administrar mediante una vía apropiada, por ejemplo, oral, parenteral o intravenosa, en forma líquida o sólida.

Una dosis preferida del compuesto para el VHB estará en el rango de 1 a 75 mg/kg, preferiblemente 1 a 50 o 20 mg/kg, de peso corporal al día, en términos más generales, 0.1 a casi 100 mg por kilogramo de peso corporal del receptor al día. El rango de dosis efectiva de las sales y los profármacos farmacéuticamente aceptables se puede calcular según el peso del nucleósido principal que se suministrará. Si la sal o el profármaco muestra una actividad, la dosis efectiva se puede estimar según lo anterior usando el peso de la sal o el profármaco o por otros medios 10 conocidos para los expertos en la materia.

El compuesto se administra de oportunamente en cualquier forma de dosificación adecuada, incluidas, entre otras, una que contenga 7 a 3000 mg, preferiblemente 70 a 1400 mg del ingrediente activo por unidad en la forma de dosificación. Una dosis oral de 50 a 1000 mg es normalmente oportuna.

Lo ideal es que el ingrediente activo se deba administrar para alcanzar concentraciones plasmáticas máximas del compuesto activo de 0.2 a 70 µM, preferiblemente de 1.0 a 10 µM. Esto se puede alcanzar, por ejemplo, mediante la inyección intravenosa de una solución de 0.1 a 5% del ingrediente activo, optativamente en solución salina, o administrada como un bolo del ingrediente activo.

La concentración del compuesto activo en la composición del fármaco dependerá de los rangos de absorción, inactivación y eliminación del fármaco, así como de otros factores conocidos para los expertos en la materia. Cabe señalar que los valores de las dosis también variarán con la intensidad de la condición que se desee aliviar. Se tiene que entender también que, para cualquier paciente en particular, los tratamientos de dosis específicas deben ajustarse con el tiempo de acuerdo a la necesidad de la persona y al criterio profesional de quien administre o supervise la administración de las composiciones, y que los rangos de concentración establecidos en el presente documento sirven únicamente de ejemplo y no tienen por objeto limitar el campo o uso de la composición declarada. El ingrediente activo se puede administrar de una vez o se puede dividir en una serie de 30 dosis menores para administrarlas a distintos intervalos de tiempo.

Un modo preferido de administración del compuesto activo es vía oral. Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un medio comestible. Pueden incluirse en cápsulas de gelatina o comprimirse en tabletas. Para fines de administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar

con excipientes y usar en forma de tabletas, trociscos o cápsulas. Se pueden incluir agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles y/o materiales adyuvantes como parte de la composición.

Las tabletas, pastillas, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente como almidón o lactosa, un agente desintegrador como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante como estearato de magnesio o Sterotes; un deslizante como dióxido de sílice coloidal; un agente edulcorante como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante como menta, salicilato de metilo o saborizante de naranja. Cuando la forma de unidad de dosificación es una cápsula, puede contener, además del material del tipo descrito anteriormente, un medio líquido como aceite graso. Además, las formas de unidad de dosificación pueden contener distintos materiales que modifiquen la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, coberturas de azúcar, goma laca u otros agentes entéricos.

El compuesto se puede administrar como componente de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, goma de mascar o similares. Un jarabe puede contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y ciertos conservantes, colorantes y saborizantes.

El compuesto o un profármaco o sus sales farmacéuticamente aceptables también se pueden mezclar con otros materiales activos que no alteren la acción deseada o con materiales que complementen la acción deseada, como antibióticos, antifúngicos, antiinflamatorios u otros antivirales, incluidos otros compuestos nucleósidos. Las soluciones o suspensiones para la aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril como agua para preparaciones inyectables, una solución salina, aceites fijos, glicoles de polietileno, glicerina, glicol propileno u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfato de sodio; agentes quelatantes como ácido etilendiaminotetraacético; amortiguadores como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de tonicidad como cloruro de sodio o dextrosa. La preparación parental se puede incluir en ampollas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

Si se administra vía intravenosa, los medios preferidos son soluciones salinas fisiológicas o soluciones salinas amortiguadoras de fosfato (PBS).

En un contexto preferido, los compuestos activos se preparan con medios que protegen el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, como una formulación de liberación controlada, incluidos implantes y sistemas de liberación microencapsulada. Se pueden usar polímeros biodegradables biocompatibles, como acetato de vinilo etileno, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la materia. Estos materiales también se pueden obtener en el comercio a través de Alza Corporation.

Las suspensiones liposómicas (incluidos los liposomas destinados a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) también se prefieren como medios farmacéuticamente aceptables. Se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos para los expertos en la materia, por ejemplo, según lo descrito en la Patente estadounidense N° 4,522,811. Por ejemplo, las formulaciones de liposómicas se pueden preparar disolviendo lípidos apropiados (como estearoil fosfatidil etanolamina, estearoil fosfatidil colina, aracadoil fosfatidil colina y colesterol) en un solvente inorgánico que luego se evapora, dejando atrás una película delgada de lípido seco sobre la superficie del contenedor. Una solución acuosa del compuesto activo o sus derivados de monofosfato, difosfato y/o trifosfato se introduce después en el contenedor. Luego se remueve a mano el contenedor para liberar material lipídico de los costados del contenedor y dispersar los agregados lipídicos, formando así la suspensión liposómica.

El objetivo es que la especificación y los ejemplos sirvan únicamente de ejemplo, en que se indique un verdadero campo de la invención a través de las siguientes reivindicaciones.

**Reivindicaciones**

1. Un proceso de fabricación de formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina con una endoterma de 190 °C y menos de 0.1 por ciento de sustancias volátiles medidas a 175 °C que comprende:

- 5
- (a) cristalizar dos o más lotes de beta-L-2'-desoxitimidina a partir de una solución;
  - (b) medir la espectrometría IR de los lotes;
  - (c) seleccionar para un procesamiento adicional los lotes que no muestran un ancho de los picos consistente con la presencia de L-dT amorfa entre 2200 a 2600, 1600 a 1800, 1000 a 1500, o 500 a 1000cm<sup>-1</sup> a partir de un espectro IR conocido para la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina;
  - 10 y
  - (d) formular dichos lotes seleccionados en formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina.

2. Un proceso de fabricación de formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina cristalina con una endoterma de 190 °C y menos de 0.1 por ciento de sustancias volátiles medidas a 175 °C que comprende:

- 15
- (a) cristalizar dos o más lotes de beta-L-2'-desoxitimidina a partir de la solución;
  - (b) medir la espectrometría Raman de los lotes;
  - (c) seleccionar para un procesamiento adicional los lotes que no muestran un ancho de los picos consistente con la presencia de L-dT amorfa entre 2800 a 3200, 1600 a 1675, 1300 a 1500, o 700 a 900 cm<sup>-1</sup> a partir de un espectro Raman conocido para la beta-L-2'-desoxitimidina cristalina;
  - 20 y
  - (d) formular dichos lotes seleccionados en formulaciones farmacéuticas de beta-L-2'-desoxitimidina.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Figura 1. Patrones de XRPD de L-dT cristalininas y amorfas

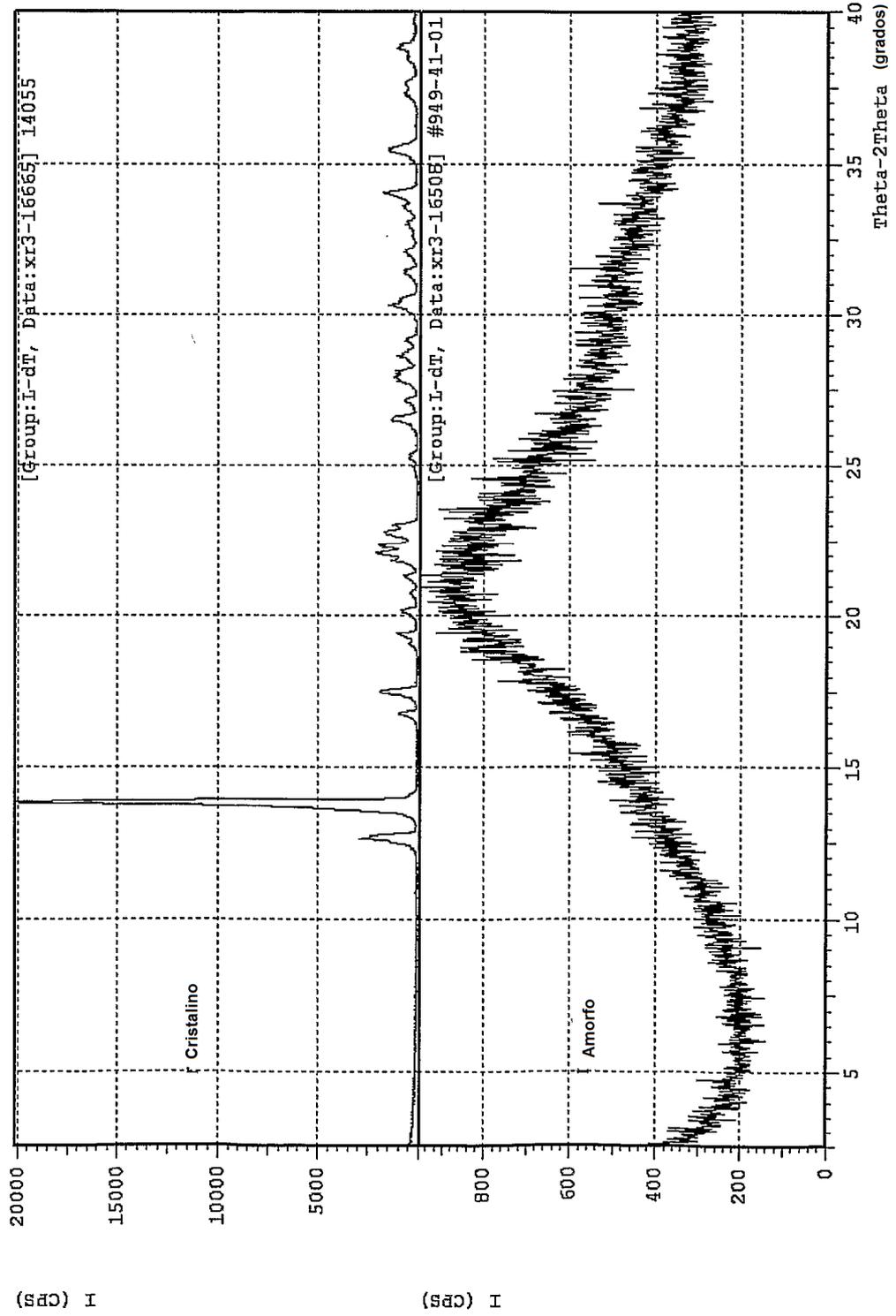


Figura 2. Espectro IR para L-dT cristalinas y amorfas

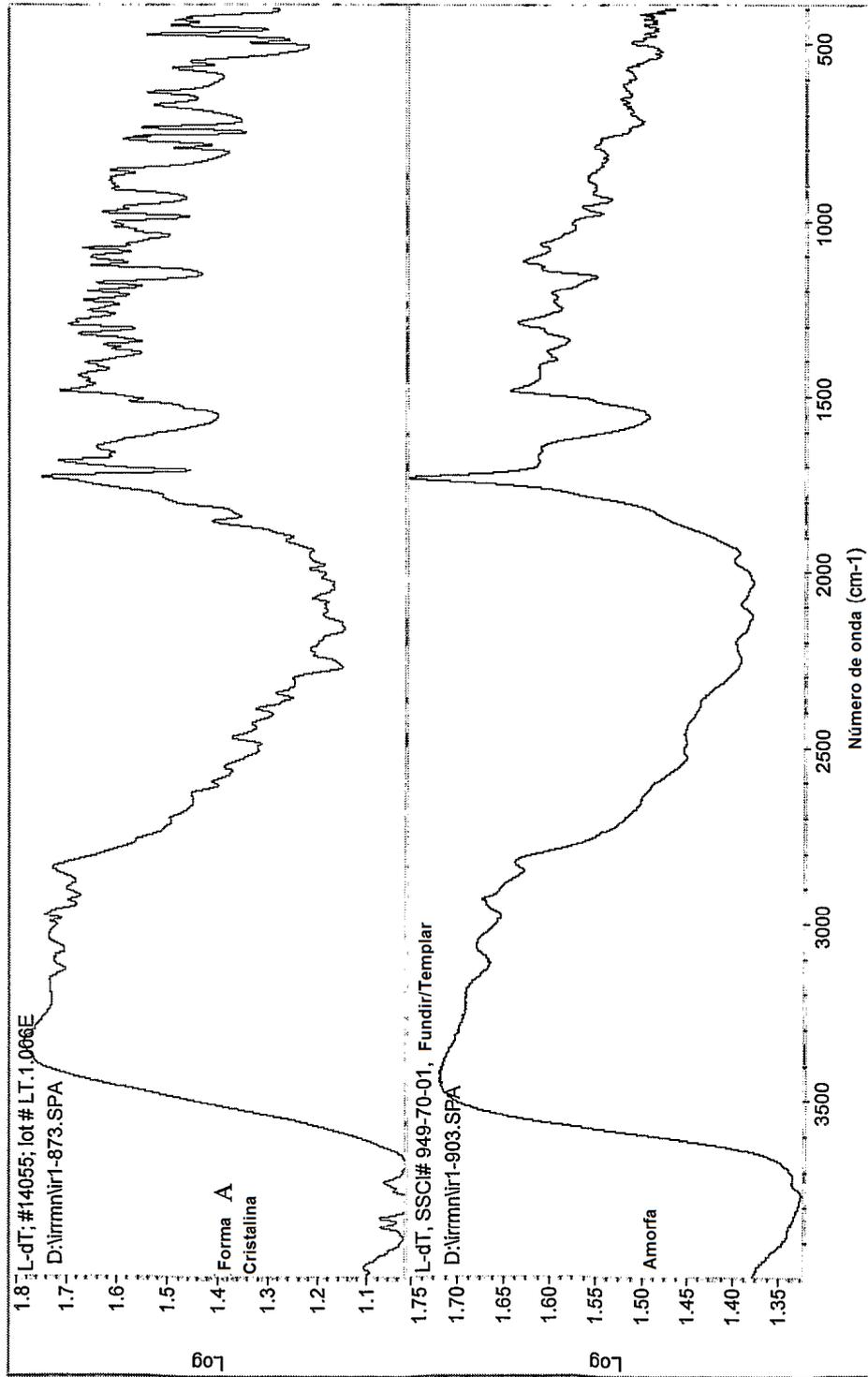


Figura 3. Espectro Raman para L-dT cristalinas y amorfas

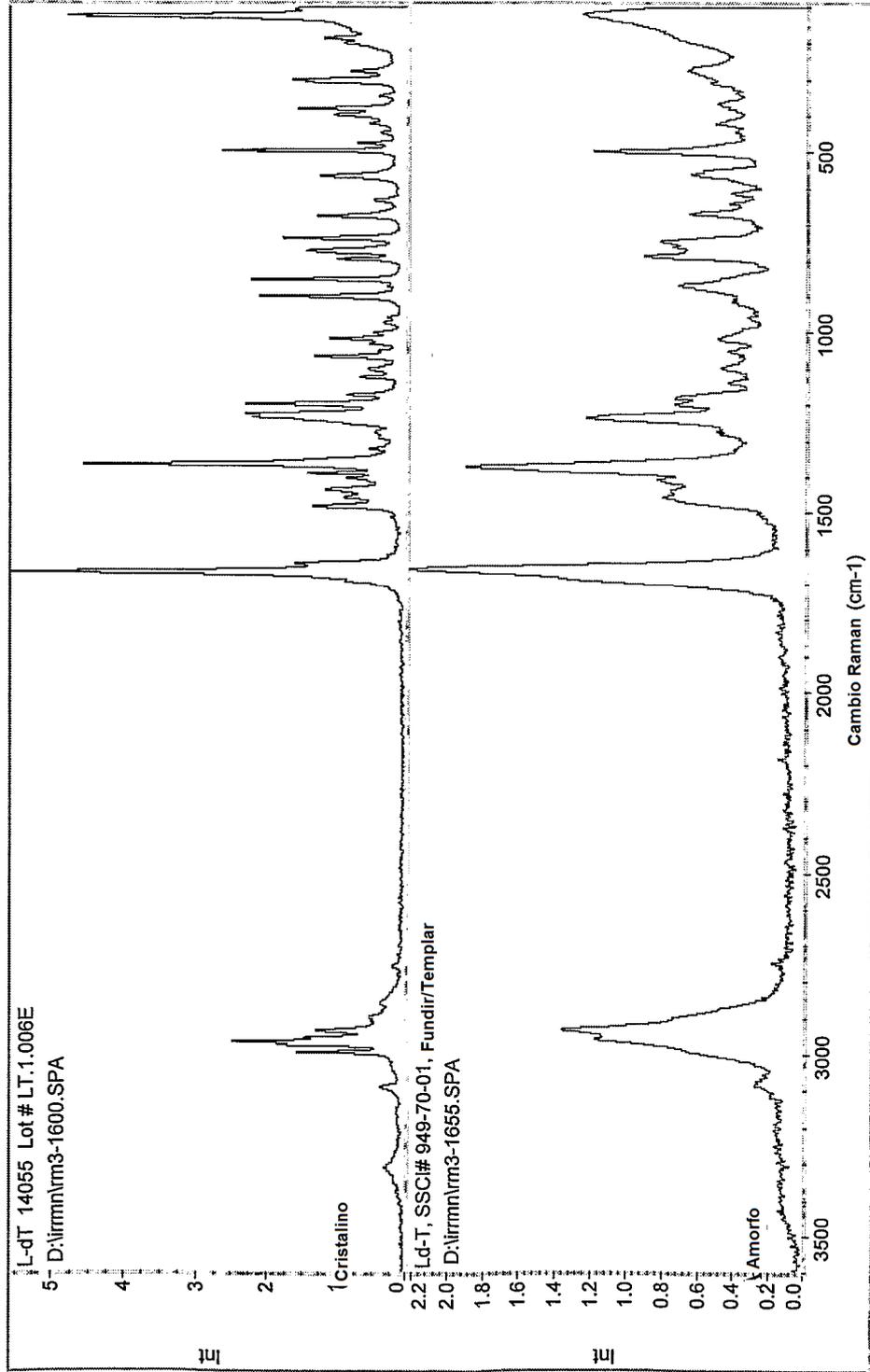


Figura 4. Curvas de TG y DSC para L-dT cristalina

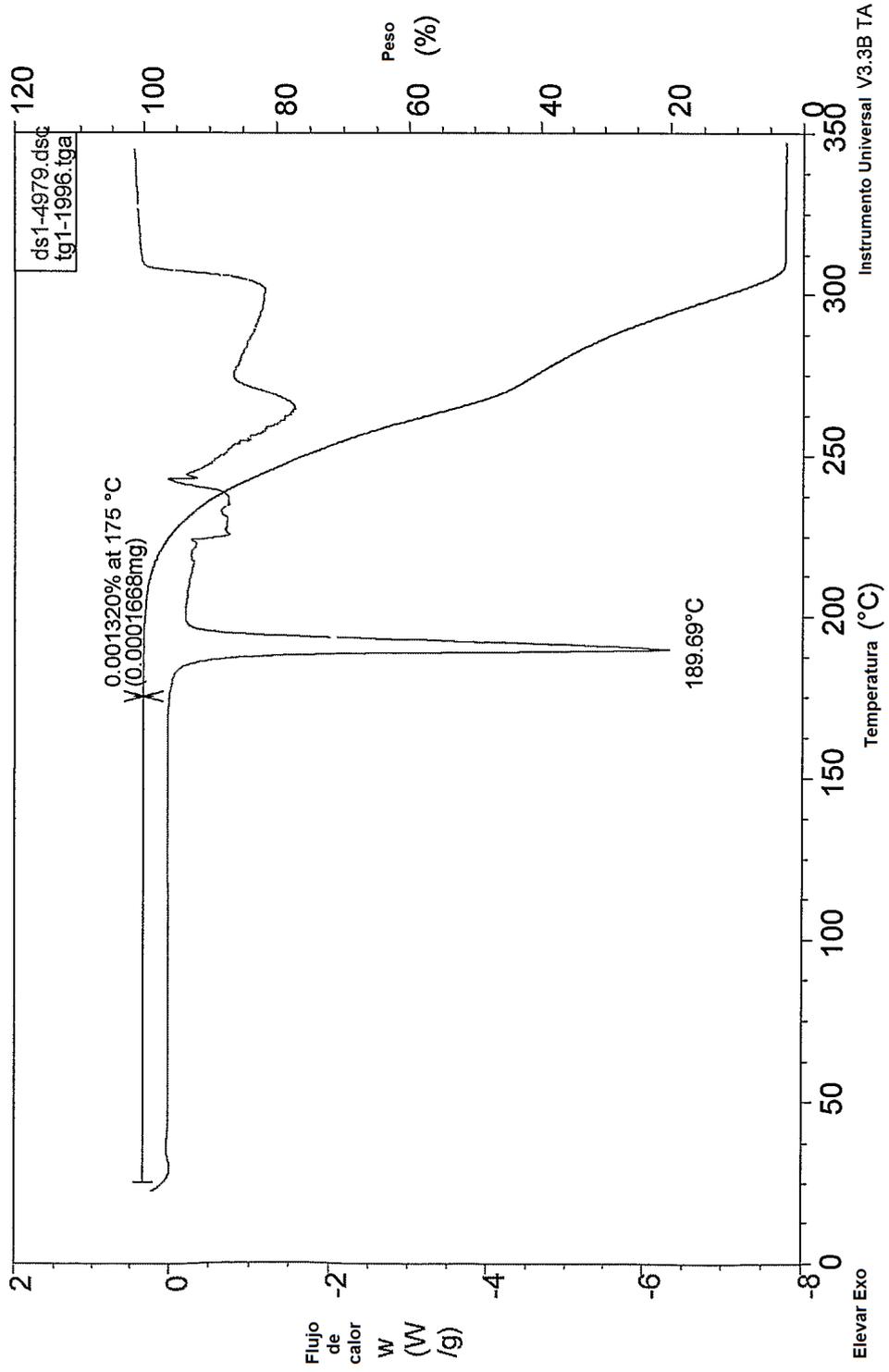


Figura 5. Datos de sorción de humedad para L-dT cristalina

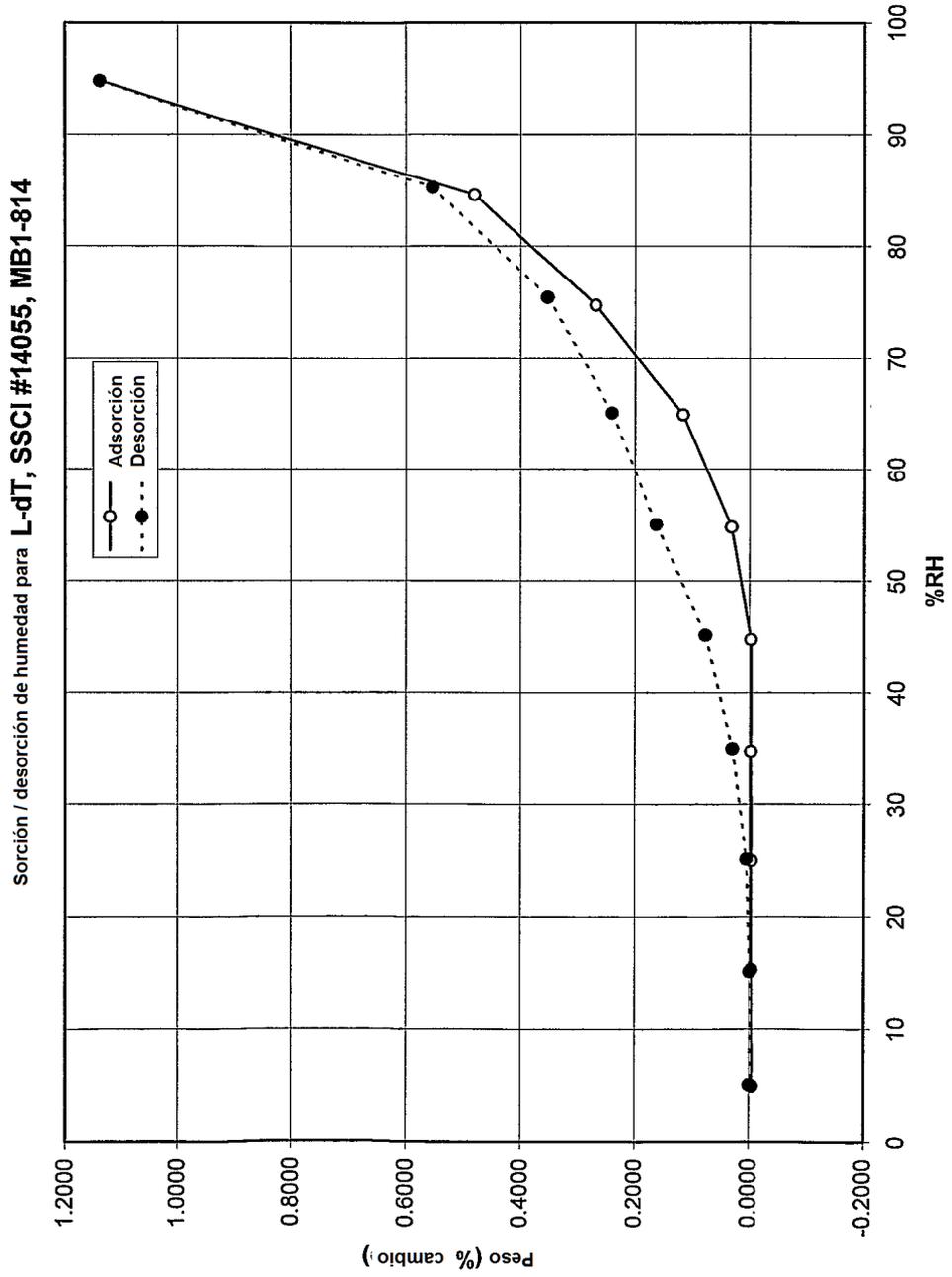


Figura 6. Curvas de TG (arriba) y DSC (abajo) para L-dT amorfa

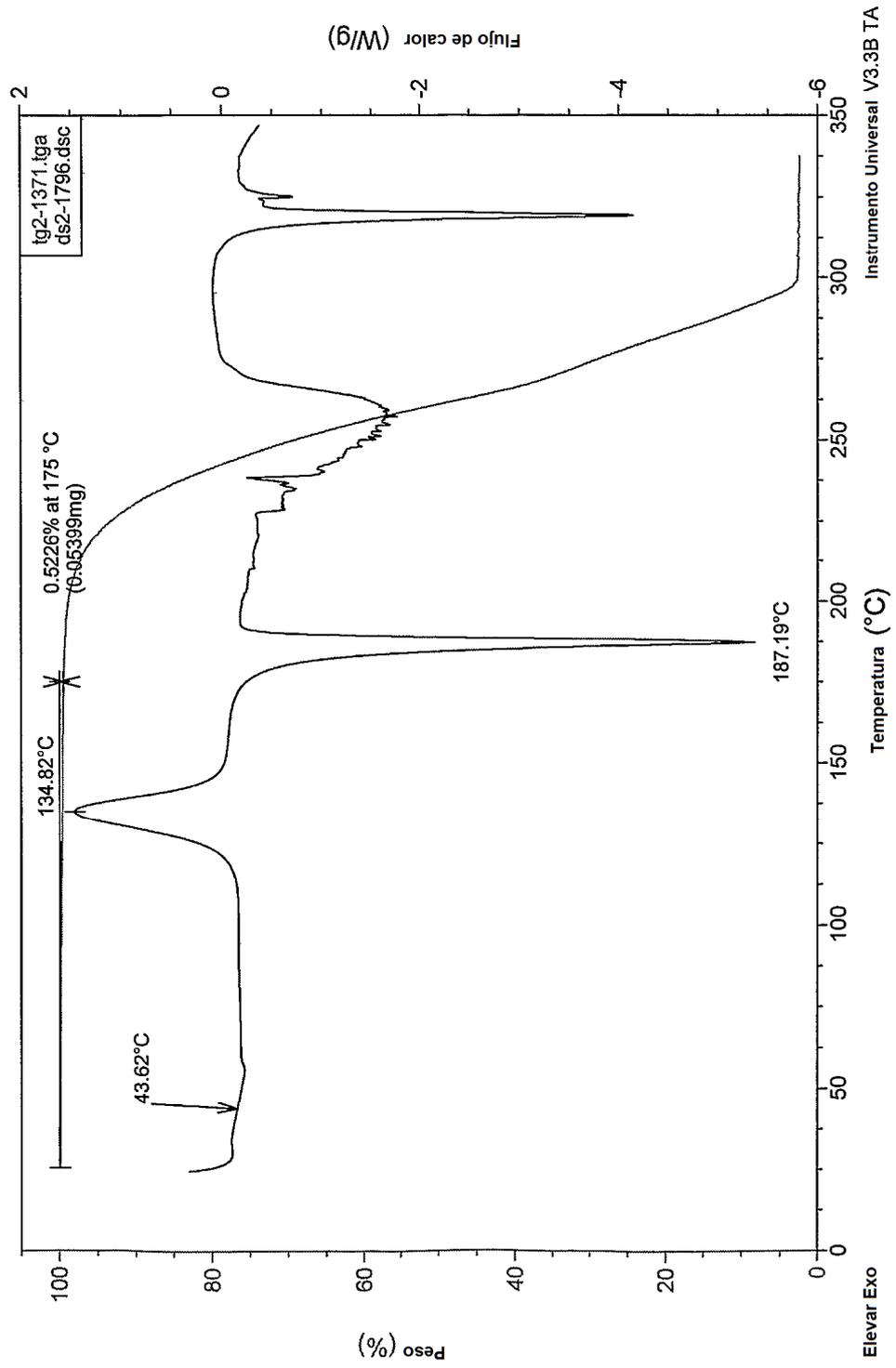


Figura 7. Experimentos de ciclos de temperatura de DSC en L-dT amorfa

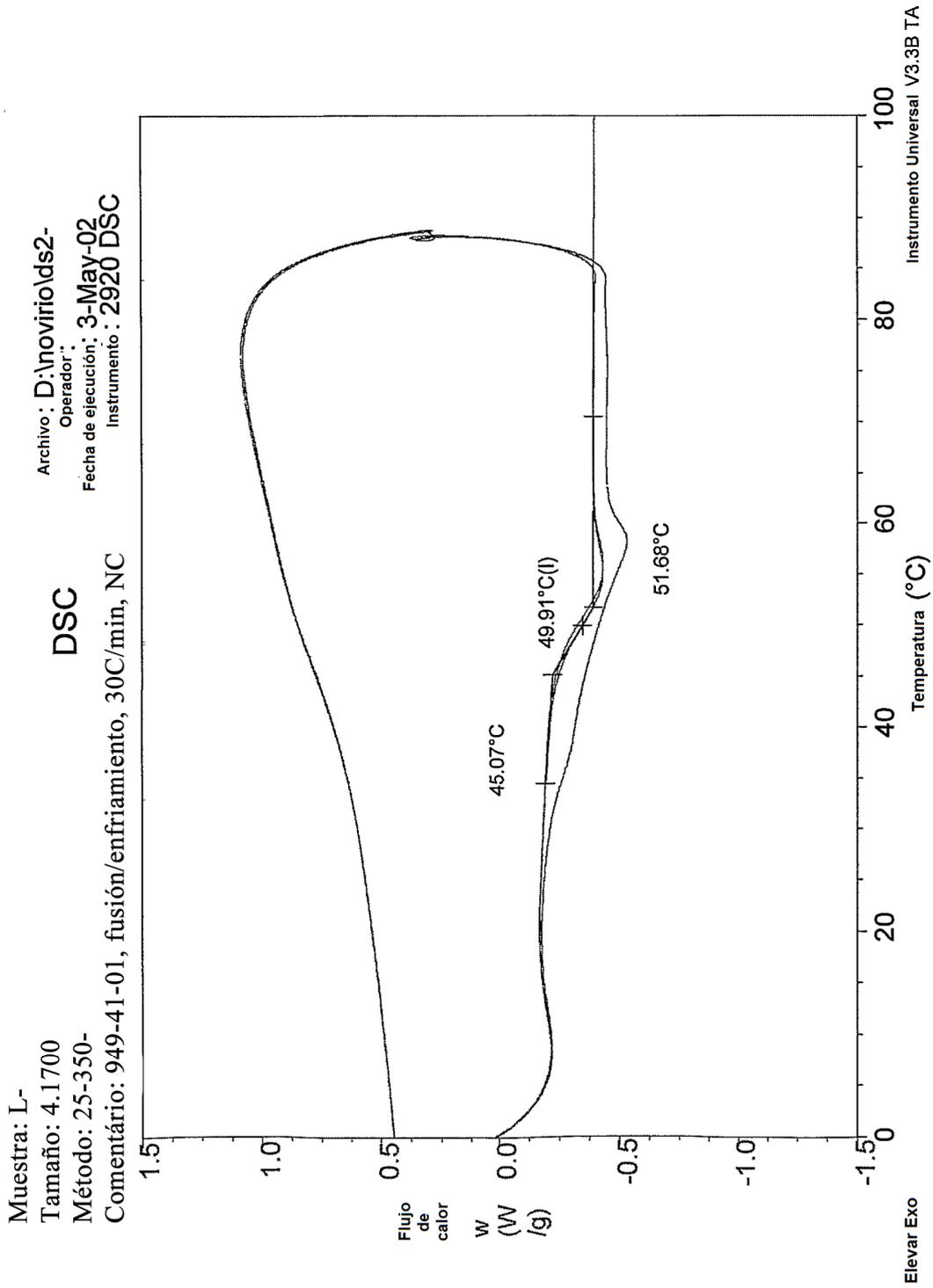


Figura 8. Curvas de sorción/desorción de humedad para L-dT

