

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 295**

51 Int. Cl.:

C07C 303/24 (2006.01)

C07C 303/44 (2006.01)

G01N 33/78 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.04.2012 PCT/EP2012/056274**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2012 WO12136761**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2012 E 12712124 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2694471**

54 Título: **Proceso para la preparación de un derivado sulfatado de 3,5-yododo-O-[3-yodofenil]-L-tirosina**

30 Prioridad:

08.04.2011 US 201113083047
29.04.2011 IT MI20110713

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.12.2017

73 Titular/es:

BRACCO IMAGING S.P.A (100.0%)
Via Egidio Folli 50
20134 Milano, IT

72 Inventor/es:

ANELLI, PIER LUCIO;
ARGESE, MARIA;
BOI, VALERIA;
CAVALIERI, LIVIO;
GALIMBERTI, LAURA;
GAZZETTO, SONIA;
LATTUADA, LUCIANO;
MAISANO, FEDERICO;
RIVOLTA, GIOVANNI y
VELLA, FULVIA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 645 295 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

Proceso para la preparación de un derivado sulfatado de 3,5-diiodo-O-[3-yodofenil]-L-tirosina

CAMPO DE LA INVENCION

5 El campo de la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de derivados sulfatados de hormonas tiroideas o sales de los mismos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La hormona tiroidea tri-yodotironina (3,5-diiodo-O-[3-yodofenil]-L-tirosina o T3) es la hormona tiroidea metabólicamente más activa. Al igual que la tiroxina (T4), es fisiológicamente producida por la tiroides y almacenada junto con ella, bajo la forma de una tiroglobulina, un precursor de glucoproteína. En promedio, una molécula de tiroglobulina contiene tres o cuatro restos T4 y, como máximo, un resto T3. La producción de TSH activa la proteólisis de tiroglobulina mediante las enzimas catepsina D, B y L con la liberación de las hormonas tiroideas T3 y T4. Sin embargo, la generación de T3 no se limita a este mecanismo: en realidad, en los tejidos periféricos, la tiroxina se transforma en tri-yodotironina (el 80 % de la tri-yodotironina es producida periféricamente por la tiroxina y el 20 % se produce dentro de la glándula tiroidea).

15 La importancia de T3 es no solo la debida al hecho de ser la hormona tiroidea más activa. En realidad, a este respecto, se conocen diversas afecciones patológicas que se producen por su deficiencia. En particular, por ejemplo, en tejido nervioso durante el desarrollo embrionario y la infancia, la deficiencia de T3 da lugar a una reducción en el crecimiento de la corteza cerebral y cerebelosa, proliferación de axones, migración de células, mielinización, ramificación de dendritas y génesis de sinapsis. Como resultado de la deficiencia de T3 en las etapas iniciales de la vida, se observa un retraso en el desarrollo del sistema nervioso, seguido de un déficit cognitivo y motor, que puede producir un cuadro clínico denominado cretinismo. También se ha demostrado en adultos por PET cerebral que, cuando se reducen los niveles de tri-yodotironina, la circulación sanguínea dentro del cerebro y el metabolismo cerebral de la glucosa son más bajos. Estos datos pueden explicar el déficit psicomotor en los individuos hipotiroides.

25 Además de los efectos observados en el tejido nervioso, también son conocidos aquellos en el tejido óseo, donde la osificación endocondral es estimulada por tri-yodotironina, haciendo así el hueso linealmente más largo a través de la maduración de los centros de hueso de la epífisis. Aunque no es necesario después del nacimiento para el crecimiento lineal de hueso, la tri-yodotironina es esencial para el apropiado desarrollo de huesos del feto.

30 Además, los efectos de T3 en los tejidos de la epidermis han sido confirmados, donde la tri-yodotironina no solo toma parte en su maduración y de anejos cutáneos, sino también en la degradación de los mismos, promoviendo así la regeneración celular. Por tanto, tanto el exceso como la deficiencia de esta hormona pueden producir problemas dermatológicos.

35 Por tanto, la hormona tiroidea T3 puede considerarse definitivamente una hormona pleiotrópica, con efectos bien documentados, además de los anteriormente mencionadas, en el tejido sanguíneo, donde aumenta la producción de eritropoyetina y, por consiguiente, la hemopoyesis; en tejidos adiposos, donde promueve la maduración de pre-adipocitos a adipocitos, aumenta la lipólisis de ácidos grasos y finalmente también regula el metabolismo del colesterol.

40 El hipotiroidismo, muy frecuentemente generado por patologías autoinmunitarias, es bastante común: en realidad, la prevalencia en las personas italianas es aproximadamente del 1,5 % entre las mujeres y del 1 % entre los hombres. Se trata farmacológicamente de una forma satisfactoria mediante terapias de sustitución, basadas principalmente en levo-tiroxina sintética (T4), el fármaco de elección debido a la muy corta semivida de la forma más activa, es decir, T3, que, por este motivo, no puede ser rutinariamente usada.

45 Sin embargo, también la terapia con levo-tiroxina muestra algunas desventajas conectadas al hecho de que mientras que se restaura el eutiroidismo plasmático, el tisular no siempre lo hace. El estudio de alternativas farmacológicas, tales como las que pueden proponerse basándose en la actividad de T3 tiromimético descrita en el documento EP 1560575 B, podría representar una alternativa deseable a los presentes tratamientos de elección.

Sin embargo, hasta donde participa la T3S, parece que el principal obstáculo se representa por las dificultades encontradas por una síntesis a gran escala. En realidad, hasta ahora ha sido posible producir T3S solo a una escala de laboratorio.

50 A este respecto, se ha descrito la preparación de T3S a partir de T3 por medio de agentes de sulfatación, por ejemplo ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) o ácido clorosulfónico (CSA) en gran exceso, por ejemplo en el documento US2970165 y Biochim. Biophys. Acta, 33, 461 (1959), que describe la preparación de T3S a partir de T3 en forma sólida, por medio de la adición directa de ácido sulfúrico concentrado, a bajas temperaturas.

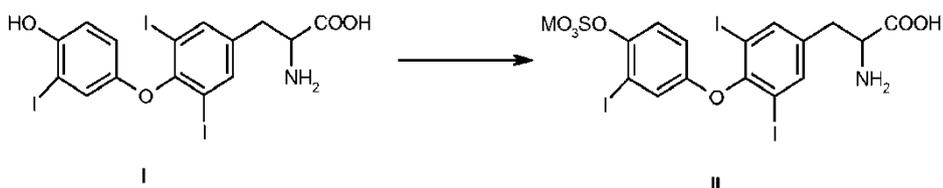
Endocrinology, Vol. 117, No. 1, 1-7 (1985) y Endocrinology, Vol. 117, No. 1, 8-12 (1985) prevén la síntesis de T3S a partir de T3 por medio de la adición con enfriamiento de una disolución de ácido clorosulfónico (CSA) en dimetilformamida, seguido de una etapa de purificación a través de Sephadex LH-20.

5 Hasta ahora, sin embargo, ninguno de los procesos del estado de la técnica puede ser aumentado de escala para la producción de gramos del producto final en una forma pura, principalmente debido a que los procedimientos de purificación informados necesitan volúmenes extremadamente altos.

10 Ventajosamente, ahora se ha encontrado que la reacción de sulfatación a partir de tri-yodotironina con ácido clorosulfónico (CSA) como agente de sulfatación, en presencia de DMAC, ofrece altas velocidades de conversión. Además, la purificación puede llevarse a cabo con volúmenes más pequeños que los informados en los procesos del estado de la técnica conocidos. Con el tiempo, el producto T3S puede purificarse hasta los niveles requeridos para su uso clínico tanto para la calidad como la cantidad necesarias (cientos de gramos), también en condiciones aplicables en una escala industrial.

SUMARIO DE LA INVENCION

15 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de una sal mono-catiónica de 3,5-diiodo-O-[3-yodo-4-(sulfooxi)fenil]-L-tirosina de fórmula II (T3S), a partir de 3,5-diiodo-O-(4-hidroxi-3-yodofenil)-L-tirosina de fórmula I o una sal de la misma, según el esquema:

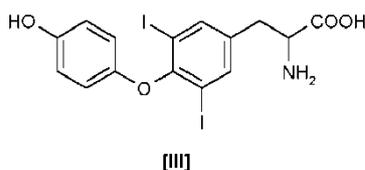


en el que M es un metal alcalino, preferentemente Na,

que comprende las etapas de:

- 20 a) sulfatación del compuesto de fórmula I o de las sales del mismo con ácido clorosulfónico (CSA) en presencia de dimetilacetamida (DMAC) como disolvente;
- b) salificación del derivado sulfatado obtenido en a) para dar el compuesto de fórmula II (T3S) añadiendo la mezcla de reacción obtenida en a) a una disolución acuosa de un sal inorgánica de metal alcalino, preferentemente un sodio mono-catiónico, incluso más preferentemente NaHCO₃.

25 Según una realización particularmente preferida, el compuesto de fórmula I (T3) se obtiene por medio de la yodación de un compuesto de fórmula III (T2):



con un agente de yodación, preferentemente con NaI y I₂, en presencia de una amina alifática, seleccionada preferentemente de mono-alquil (C₁-C₄)-aminas alifáticas lineales, entre las que se prefiere etilamina.

30 La adición del agente de yodación se lleva a cabo en presencia de un disolvente acuoso, preferentemente agua, a una temperatura preferentemente más baja de 25 °C. Preferentemente, el agente de yodación está presente a una relación molar comprendida entre 0,9 y 1,1 moles/mol de compuesto III (T2).

35 Así, el proceso para la preparación de T3S comprende la preparación de T3 por medio de la yodación de T2 en las condiciones anteriormente descritas y entonces su sulfatación con ácido clorosulfónico en dimetilacetamida, como mejor se describe en la descripción detallada.

40 Además, el principio activo, T3S, puede formularse en composiciones farmacéuticas, preferentemente sólidas, en las que T3S, en una forma de polvo, se mezcla con un agente de dilución y luego se añaden un agente de flujo, un agente lubricante, preferentemente dibehenato de glicerol, y un agente disgregante, preferentemente croscarmelosa o los derivados de la misma, a la mezcla, comprendiendo su tamizado y su mezcla adicional con la mezcla de dilución el principio activo.

Así, según este aspecto, el proceso comprende una etapa donde el diluyente, por ejemplo celulosa microcristalina, se añade en una o más fracciones, su mezcla, entonces la preparación de una mezcla que comprende un agente de

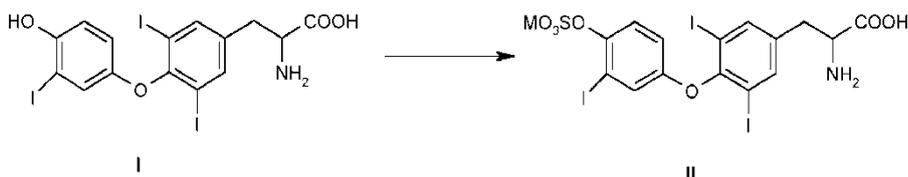
flujo, preferentemente dibehenato de glicerol, un agente lubricante, preferentemente estearato de magnesio o de cinc, sílice coloidal hidratada, dióxido de silicio coloidal y preferentemente también un agente disgregante, preferentemente croscarmelosa o los derivados de la misma; comprendiendo entonces su tamizado y su mezcla adicional con la mezcla el principio activo junto con el diluyente. Excipientes, estabilizadores y diluyentes adicionales (tales como, por ejemplo, carbonato cálcico) pueden entonces añadirse y mezclarse durante un tiempo variable.

Según un aspecto adicional, puede prepararse un comprimido por el proceso anteriormente descrito, que comprende T3S como principio activo en una cantidad comprendida de 1 a 1000 μg y que comprende los siguientes diluyentes, excipientes, deslizantes y lubricantes: carbonato cálcico, dibehenato de glicerol, sal de croscarmelosa sódica, sílice coloidal hidratada, estearato de magnesio, celulosa microcristalina. Cantidades para una única dosificación se dan en la tabla a continuación:

	Cantidad por comprimido
Carbonato cálcico	20-40 mg
Dibehenato de glicerol	2-15 mg
Sal de croscarmelosa sódica	1-10 mg
Sílice coloidal hidratada	0,1-5 mg
Estearato de magnesio	0,01-2 mg
Celulosa microcristalina	Al menos 30 mg

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Es objeto de la presente invención un proceso para la preparación de una forma sulfatada de la hormona tiroidea T3, 3,5-diyodo-O-[3-yodo-4-(sulfooxi)fenil]-L-tirosina (T3S), que tiene la fórmula II como una sal mono-catiónica, a partir de 3,5-diyodo-O-[4-hidroxi-3-yodofenil]-L-tirosina de fórmula I o a partir de un derivado salificado de la misma:



en la que M es un metal alcalino, preferentemente Na, que comprende las etapas de:

- sulfatación del compuesto de fórmula I (T3) con ácido clorosulfónico (CSA) en presencia de dimetilacetamida (DMAC) como disolvente,
- salificación del derivado sulfatado obtenido en a) para dar el compuesto de fórmula II. La salificación se obtiene generalmente por medio de la adición de la mezcla de reacción obtenida en a) a una disolución acuosa de una sal inorgánica de metal alcalino, preferentemente una sal de sodio, incluso más preferentemente Na_2CO_3 o NaHCO_3 .

Con el fin de la presente invención, por T3S se indica el compuesto de fórmula II que comprende o bien la forma sulfatada de tri-yodotironina o bien las sales mono-catiónicas de la misma (compuesto de Fórmula II).

La etapa a) se lleva a cabo añadiendo CSA a una suspensión de T3 en DMAC con enfriamiento, mientras que se mantiene la disolución con agitación vigorosa.

La temperatura se mantiene a valores más bajos de aproximadamente 10 °C, más preferentemente comprendidos entre -10 °C y 8 °C, más preferentemente entre -8 °C y 6 °C, incluso más preferentemente entre -5 °C y 5 °C.

La adición de CSA a la suspensión se hace lentamente, preferentemente en un periodo de tiempo comprendido de 30 a 60 min dependiendo de la cantidad de los reactivos empleados y preferentemente bajo una atmósfera inerte, por ejemplo bajo una atmósfera de nitrógeno o argón.

Según una realización preferida, la relación molar entre CSA y T3 es mayor que 4, preferentemente comprendida de 4,5 a 10, incluso más preferentemente comprendida de 7 a 9. Incluso más preferentemente comprendida de 7,5 a 8,5 moles de CSA/mol de T3. La concentración de T3 en DMAC, expresada como moles de T3/l de DMAC, comprende de 0,06 a 0,15 mol/l, más preferentemente de 0,12 a 0,14 mol/l. De esto resulta que la relación entre CSA y disolvente puede estar comprendida de 0,35 a 1,28 moles de CSA/l de DMAC, preferentemente de

aproximadamente 0,8 a 1,15 mol/l, incluso más preferentemente de aproximadamente 0,96 a 1,1 moles de CSA/l de DMAC.

Después de añadir CSA, la mezcla se dejó reaccionar durante un periodo de tiempo no superior a 4-5 horas, generalmente sin enfriamiento, dejando que la temperatura alcanzara la temperatura ambiente (20-25 °C).

- 5 La sulfatación se completa generalmente, bajo las condiciones descritas, cuando más del 85 %, preferentemente más del 90 %, incluso más preferentemente más del 95 % de T3 se ha convertido en T3S.

10 Según una realización particularmente preferida, la etapa a) del proceso prevé la adición de CSA a una disolución de T3 en DMAC a una concentración de 0,12-0,14 moles de T3/l de DMAC, con una relación preferida de aproximadamente 8 moles de CSA por mol de T3, a una temperatura comprendida de aproximadamente -5 °C a aproximadamente 5 °C, en un periodo de tiempo de 30-40 min. Al final de la adición, el enfriamiento se detiene generalmente y la temperatura se deja aumentar hasta temperatura ambiente (comprendida de aproximadamente 15 a 25 °C), durante no más de 4-5 horas, preferentemente no más de 2-3 horas.

15 La mezcla de sulfatación se añade entonces según la etapa de salificación b), a una disolución acuosa de una sal alcalina inorgánica, preferentemente mono-catiónica, en la que Na es el catión particularmente preferido, en una cantidad tal como para neutralizar el ácido clorosulfónico presente.

20 La salificación se lleva a cabo preferentemente con una disolución acuosa de carbonato sódico (Na₂CO₃) o hidrogenocarbonato de sodio (NaHCO₃), en cantidades en función de la cantidad de ácido clorosulfónico usada en la etapa anterior, y al menos suficientes para neutralizar el pH de la disolución resultante. En general, cuando se usa Na₂CO₃, es suficiente una cantidad de aproximadamente 1,5 moles por mol de CSA. Según esta realización, la concentración de la disolución de Na₂CO₃ es aproximadamente 0,7 mol/l de disolución. Bajo tales condiciones se obtiene un pH de disolución después de la extinción comprendido entre 6,5 y 7,5.

Según esta realización, la sal mono-catiónica correspondiente del compuesto T3S obtenido tiene la fórmula II, en la que M es preferentemente Na.

25 La adición de la mezcla de reacción según la etapa b) se lleva a cabo en un periodo de tiempo que es variable, normalmente comprendido de 1 h y 3 h, mientras que se mantiene una temperatura más baja de 30 °C.

30 El compuesto T3S de fórmula II, obtenido en disolución como una sal mono-catiónica según la etapa b) anteriormente descrita, se purifica por cromatografía, en según una etapa c) adicional. La cromatografía va previamente y opcionalmente precedida de precipitación y/o filtración, por ejemplo gravimétrica o a vacío, de la mezcla de reacción obtenida en b), con el objetivo de reducir parte de las sales inorgánicas que se forman como subproductos.

La cromatografía (c) se lleva a cabo en una resina adsorbente de tipo polímero, una matriz polimérica aromática macrorreticular. Ejemplos de resinas preferidas son XAD™ Amberlites™, incluso más preferentemente Amberlite™ XAD™ 1600.

35 Como es muy conocido, antes de su uso, la resina se activa por medio de procedimientos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, lavados con agua, acetona o similares (para una referencia general, véase Rohm y Haas en "Laboratory Column Procedures and Testing of Amberlite and Duolite Polymeric Adsorbents", sección "Preparation of Resins"). Según el proceso de la invención, la resina se activa preferentemente con el disolvente seleccionado para la siguiente elución (es decir, acetona o una mezcla de agua/acetona).

40 T3S se eluye de la resina por una mezcla de disolventes de elución con un gradiente decreciente de polaridad, a partir de la mezcla que tiene polaridad más alta. Según una realización preferida, dicha mezcla de elución es al principio agua, seguido de diluciones sucesivas con un disolvente orgánico polar adecuado, en relaciones recíprocas adecuadas.

45 Mezclas de elución preferidas se representan por agua/acetonitrilo y agua/acetona en relaciones comprendidas de 1:0 a 0,7:0,3. Preferentemente, la mezcla de elución se representa por una mezcla de agua y acetona en una relación comprendida de 1:0 a 0,85:0,15 y la tasa de elución a través de la columna está generalmente comprendida de 0,9 a 1,1 volúmenes de columna/h.

50 Las fracciones eluidas de la columna y que contienen el producto final con un nivel de pureza superior al 95 %, más preferentemente superior al 96 %, 98 %, 99 % (medido por métodos analíticos muy conocidos en la técnica, tales como por ejemplo detección UV y analizado por análisis de HPLC), se recogen juntas y el principio activo puede aislarse evaporando el disolvente, es decir, a vacío por liofilización o por otros métodos conocidos.

Sin embargo, según una realización preferida, las fracciones eluidas se concentran, por ejemplo, por evaporación parcial a vacío hasta una concentración de aproximadamente 10 g/kg de disolución.

A esta concentración, el pH de la disolución se ajusta a valores inferiores a 6,5, preferentemente comprendidos de 5,5 a 6,5, añadiendo un disolución diluida de ácido inorgánico fuerte, preferentemente un ácido seleccionado entre

ácido sulfúrico y ácido clorhídrico, siendo el ácido clorhídrico particularmente preferido, y utilizado en forma diluida a una concentración comprendida de 0,9 a 1,1 N.

5 La disolución se concentra adicionalmente aproximadamente 10-15 veces y la T3S puede aislarse como un sólido, por ejemplo, por liofilización, secado por pulverización o, preferentemente, tratarse con un disolvente orgánico, preferentemente de un tipo polar que va a aislarse en forma sólida y luego opcionalmente adicionalmente micronizarse.

10 Así, según esta realización preferida, el compuesto de fórmula II se aísla en una forma sólida mediante tratamiento con un disolvente seleccionado del grupo que consiste en: acetona, acetonitrilo y alcoholes C₁-C₄. Sin embargo, pueden emplearse otros disolventes, que están seleccionados de entre: alcanos aromáticos, éteres, disolventes clorados, ésteres, dimetilformamida, nitrometano, sulfóxido de dimetilo, 2-metoxietanol, o mezclas de los mismos, que permiten obtener una sal en forma sólida, y aislable.

15 Así, en detalle, después de la cromatografía y concentración de las fracciones que contienen T3S hasta una concentración de aproximadamente 10 g/kg de disolución, ajuste del pH a valores más bajos que 6,5, preferentemente comprendidos de 5,5 a 6,5, y adicionalmente evaporación hasta una concentración del compuesto de fórmula II comprendida de 170 a 500 g/kg de suspensión o gel, la disolución concentrada se trata con un disolvente orgánico. Preferentemente, dicho disolvente es un disolvente orgánico polar seleccionado de entre: acetona, alcoholes inferiores, tales como, por ejemplo, etanol, propanol, isopropanol, y similares, y acetonitrilo, siendo la acetona particularmente preferida.

20 La adición de acetona a la disolución concentrada de T3S se produce a una temperatura comprendida de 20 a 25 °C, dejando preferentemente la mezcla con agitación durante 1-3 h a una temperatura comprendida de 0 a 25 °C, con el fin de dejar que la forma sólida de la sal de T3S mono-catiónica precipite completamente.

La adición del disolvente a la suspensión se produce según proporciones conocidas: cuando se usa acetona, se añade en una cantidad comprendida entre 1-11 g de acetona/g de T3S, a una temperatura comprendida de 20-25 °C.

25 El derivado mono-catiónico de fórmula II, o más preferentemente la sal de sodio del mismo, se obtiene así en forma sólida después de la separación de la fase líquida de la sólida, por ejemplo por filtración, con una pureza por HPLC superior al 95 %, más preferentemente superior al 96 %, 98 % o incluso >99 %.

Así, en su conjunto, el proceso según la invención permite obtener el aislamiento del producto final (T3S) con altos rendimientos (rendimiento global: ≥60 %) y con un alto nivel de pureza (HPLC >99 %).

30 En realidad, ventajosamente, con los procesos del estado de la técnica, ya en la mezcla de sulfatación a) en presencia de DMAc la cantidad de subproductos es inferior al 10 %, generalmente inferior al 7 %.

El alto porcentaje de conversión en la reacción de sulfatación y la posterior salificación permiten entonces obtener un producto en forma pura por una etapa cromatográfica industrialmente aplicable y con volúmenes limitados.

35 T3S se separa eficientemente de los otros subproductos y tiene alta pureza (>99 %) incluso cuando se prepara en cientos de gramos, convirtiendo así el uso de este derivado de tri-yodotironina en práctica clínica posible.

Con el fin de preparar formulaciones para uso clínico, T3S, en forma sólida y con una pureza de hasta el 99 %, se microniza preferentemente adicionalmente, por ejemplo bajo presión de nitrógeno, para reducir el tamaño de partícula.

40 Particularmente se prefiere un tamaño de partícula más pequeño de 25 μm (al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % de las partículas con dimensiones inferiores a 25 μm), que resulta estable durante al menos un mes cuando se somete a ensayos de estabilidad acelerada en una cámara climática.

Por tanto, según un aspecto preferido de la invención, el proceso comprende la micronización del sólido T3S en una forma pura, dando partículas del tamaño anteriormente definido y el uso de las mismas para preparar formulaciones sólidas, para administración por vía oral.

45 Según este aspecto, después de la micronización, T3S se formula junto con componentes adicionales adecuados en mezcla en polvos, opcionalmente también bajo forma granular o microgranular, preferentemente formulado como comprimidos o píldoras obtenidos mediante compresión directa de la mezcla en polvo.

50 La formulación T3S en forma sólida, o más preferentemente en comprimidos, se proporciona añadiendo, al principio activo micronizado (o principios cuando esté preferentemente en combinación con levo-tiroxina), en primer lugar una parte de la cantidad del diluyente final necesario, preferentemente el 30, 40, o preferentemente al menos el 50 % del diluyente, y mezclarlos para dar la mezcla a).

El diluyente preferido es celulosa o los derivados de la misma, por ejemplo celulosa microcristalina. Otros agentes de dilución adecuados son caolín, almidón o sales inorgánicas alcalinas tales como carbonato de magnesio o cálcico. Particularmente se prefiere carbonato cálcico, más preferentemente en asociación con celulosa microcristalina.

- 5 La mezcla a) se mezcla entonces con una mezcla b) que comprende componentes adicionales, en general: un agente deslizando, un agente lubricante y un agente disgregante, comprendiendo su tamizado y su mezcla sucesiva con la mezcla a) el principio activo.

Entre los agentes disgregantes, particularmente se prefiere croscarmelosa o sus derivados. Otros agentes útiles para este fin son crospovidona, polimetacrilatos, maltodextrinas, glicolato sódico de almidón, almidón pregelatinizado, alginato de sodio.

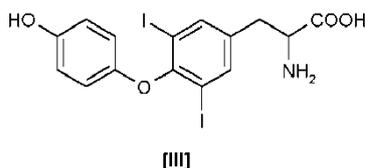
- 10 Entre agentes deslizando, particularmente se prefiere dibehenato de glicerol. Otros deslizando utilizables son: fosfato de calcio tribásico, talco, almidón o derivados del mismo.

- 15 Entre los agentes lubricantes se prefieren particularmente estearato de magnesio o de cinc, sílice coloidal hidratada, dióxido de silicio coloidal. Excipientes, estabilizadores y diluyentes adicionales (tales como, por ejemplo, carbonato cálcico) pueden ser sucesivamente añadidos y mezclados durante un tiempo variable. La mezcla final se mide entonces y los comprimidos se preparan preferentemente por compresión directa.

- 20 T3S está presente en las unidades de dosificación sólidas en cantidades comprendidas de 1 a 1000 µg, más preferentemente de 2,5 a 500 µg, incluso más preferentemente de 5 a 250 µg, como el único principio activo, o en combinación con otros principios activos, preferentemente T4 (levo-tiroxina). Según esta realización, T4 está presente en cantidades comprendidas de 1 a 800 µg, o de 5-400 µg, más preferentemente de 10-200 µg. Por consiguiente, entonces, en el proceso de preparación de comprimidos que comprenden tanto T3 como T4 como principios activos, éstos se mezclan con el (los) diluyente(s) preferido(s) en mezcla a) y se mezclan además con los otros componentes, a su vez pre-mezclados, como se ha descrito anteriormente.

En el proceso según la invención, todos los reactivos que incluyen T3 (compuesto de fórmula I) están comercialmente disponibles.

- 25 Sin embargo, según una realización particularmente preferida, T3 se prepara por yodación de un compuesto de fórmula III (3,5-diyodo-tironina, Levoditi, o T2):



- 30 con un agente de yodación, preferentemente NaI e I₂, en presencia de una amina alifática, seleccionada preferentemente de entre las mono-alquil (C₁-C₄)-aminas alifáticas lineales, de entre las que la preferida es etilamina. T2 se prepara preferentemente como se ha descrito.

La adición del agente de yodación se lleva a cabo en presencia de un disolvente acuoso, preferentemente agua, a una temperatura preferentemente más baja de 25 °C.

Preferentemente, el agente de yodación está presente a una relación molar comprendida de 0,9 a 1,1 moles/mol de compuesto III (T2).

- 35 Después de la yodación, se aísla T3, preferentemente por filtración, como sal de sodio, luego se convierte en la forma de ácido por re-suspensión en agua y acidificación con un ácido, preferentemente ácido acético o ácido sulfúrico.

La forma de ácido se aísla, preferentemente por filtración, otra vez se resuspende en agua para eliminar las sales y se filtra.

- 40 T3, como sólido húmedo, se suspende en N,N-dimetilacetamida, la suspensión se seca y se somete a la reacción de sulfatación.

- 45 Según una realización preferida, la relación molar entre CSA y T3 es mayor que 4, preferentemente comprendida de 4,5 a 10, incluso más preferentemente comprendida de 7 a 9. Incluso más preferentemente comprendida de 7,5 a 8,5 moles de CSA/mol de T3. La concentración de T3 en DMAC, expresada como moles de T3/l de DMAC, comprende de 0,10 a 0,15 mol/l, más preferentemente de 0,12 a 0,14 mol/l. De esto resulta que la relación entre CSA y el disolvente puede estar comprendida de 0,58 a 1,28 moles de CSA/l de DMAC, preferentemente de 0,89 a 1,15 mol/l, incluso más preferentemente de 0,96 a 1,09 moles de CSA/l de DMAC.

Después de añadir CSA, la mezcla se dejó reaccionar durante un periodo de tiempo no superior a 4-5 horas, generalmente sin enfriamiento, permitiendo que la temperatura aumentara hasta temperatura ambiente.

La sulfatación se completa generalmente, en las condiciones descritas, cuando más del 85 %, preferentemente más del 90 %, incluso más preferentemente más del 95 %, de T3 se ha convertido en T3S.

- 5 Según una realización particularmente preferida, la etapa a) del proceso prevé la adición de CSA a una disolución de T3 en DMAC a una concentración de 0,12-0,14 moles de T3/l de DMAC, con una relación preferida de aproximadamente 8 moles de CSA por mol de T3, a una temperatura comprendida de aproximadamente -5 °C a aproximadamente 10 °C, en un periodo de tiempo de 30-40 min. Al final de la adición, el enfriamiento se detiene generalmente y la temperatura se deja aumentar hasta temperatura ambiente (comprendida de aproximadamente 15 a 25 °C), durante no más de 4-5 horas, preferentemente no más de 2-3 horas.

La mezcla de sulfatación se añade entonces según la etapa de salificación b), a una disolución acuosa de una sal alcalina inorgánica, preferentemente di-catiónica, en la que Na es un catión particularmente preferido, en una cantidad tal como para neutralizar el presente ácido clorosulfónico.

- 15 La salificación se lleva a cabo preferentemente con una disolución acuosa de Na₂CO₃ o NaHCO₃, en cantidades en función de la cantidad de ácido clorosulfónico usado, al menos suficientes para neutralizar el pH de la disolución resultante. En general, cuando se usa Na₂CO₃, una cantidad de sal de al menos 1,5 moles por mol de CSA es suficiente. Cuando, según un aspecto particularmente preferido, la sal de metal alcalino inorgánica es Na₂CO₃, su concentración final es al menos 0,7 mol/l de disolución. En tales condiciones, después de la extinción, se obtiene un pH de la disolución comprendido de 6,5 a 7,5.

- 20 Según esta realización, la sal mono-catiónica correspondiente del compuesto T3S obtenido tiene la fórmula II, en la que M es preferentemente Na.

La adición de la mezcla de reacción según la etapa b) se lleva a cabo en un periodo de tiempo que es variable, normalmente comprendido de 1 h a 3 h, mientras que se mantiene una temperatura inferior a 30 °C.

- 25 El compuesto T3S de fórmula II se obtuvo en disolución como una sal mono-catiónica según las etapas b) y c) como se describieron anteriormente.

El proceso según la invención describe por primera vez, según el mejor conocimiento del solicitante, la preparación de T₃S a partir de o bien T3 o bien T2, a una pureza de al menos el 95 %, más preferentemente de al menos el 96 %, 98 % o >99 %, para uso clínico.

- 30 La invención se describe ahora por los siguientes ejemplos que son solo explicativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

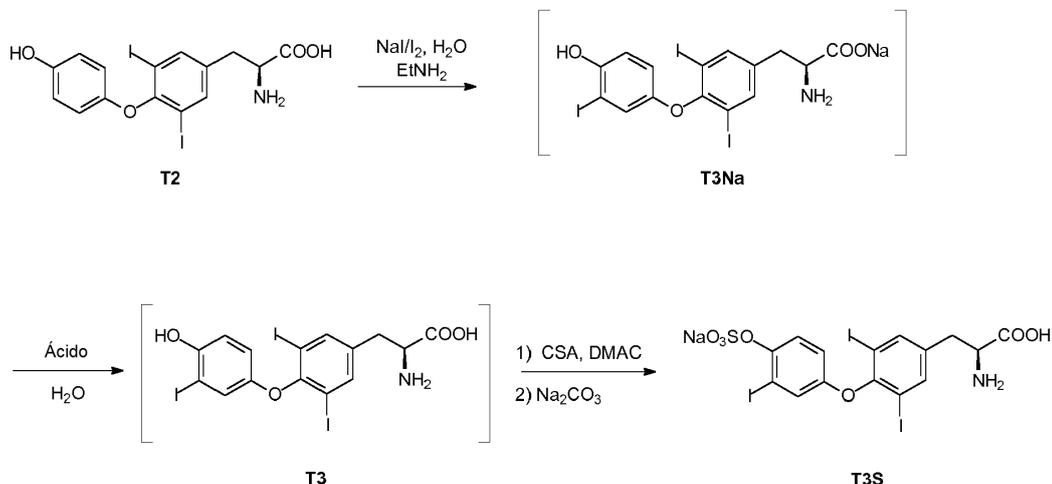
Ejemplo 1. Preparación de T₃S en DMAC

Todas las cantidades de los materiales de partida se expresan con referencia a 100 g de T3.

- 35 Se suspendió 3,5-diiodo-O-(4-hidroxí-3-yodofenil)-L-tirosina (100 g; 0,154 moles) en DMAC (2,0 l) bajo una atmósfera de nitrógeno y se agitó vigorosamente con el fin de evitar la precipitación del sólido. Después de enfriarse hasta -5 °C, se añadió gota a gota CSA (142,2 g; 1,229 moles) en 40 min mientras que la temperatura se mantenía entre -5 ÷ 5 °C. Al final de la adición, se detuvo el enfriamiento y la mezcla de reacción se dejó con agitación durante aproximadamente 4 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota en 1,5 h, en una disolución acuosa con agitación de bicarbonato sódico (335,5 g; 3,994 moles en agua, 4,5 l). Al final de la adición, a partir de la disolución así obtenida se observó con tiempo la precipitación de un sólido cristalino como una mezcla de sales inorgánicas. Un sólido tal se separó por filtración, entonces la disolución obtenida se purificó en Amberlite™ XAD™ 1600 por medio de elución con mezclas de agua/acetona que tienen polaridad decreciente recogiendo el eluato en fracciones. Las fracciones que contenían el producto que tenía un nivel de pureza apropiado se evaporaron a vacío hasta una concentración de 10 g/kg. El pH de tal suspensión se ajustó a 6,2 con HCl 1N. La suspensión se concentró adicionalmente hasta una relación de aproximadamente 1:3 de sólido y agua residual. Tal residuo se trató con acetona con enfriamiento durante 2 h, luego se separó por filtración y se lavó con acetona. El producto se secó a 40 °C a vacío. Se obtuvieron 74 g de T₃S como un sólido blanco. Rendimiento en base anhidra: 62 %.

Ejemplo 2. Preparación de T₃S a partir T₂ (Levoditi)

La reacción esquemática se presenta continuación:



Todas las cantidades de materiales de partida se expresan para 1 kg de Levoditi.

- 5 Se cargaron yodo (aprox. 0,48 kg, fuente: SQM), NaI (aprox. 0,65 kg, fuente: Ajay - SQM) y agua en un reactor a 18-22 °C y se agitó hasta disolución completa. La mezcla de yodación resultante se mantuvo con agitación a temperatura ambiente hasta uso.
Se cargaron Levoditi obtenido a partir de L-tirosina según el proceso descrito en: Chalmers, J. R. et al. A. J. Chem. Soc. 1949, 3424-3433), NaI (aprox. 0,32 kg) y agua en otro reactor y se añadió 70 % de monoetilamina.
- 10 La mezcla de yodación se añadió a la mezcla de reacción.
La suspensión obtenida se agitó durante al menos 6 h a 18-22 °C, luego se enfrió a 0 °C en 1 h, se agitó durante 3-4 h y se filtró. La torta se lavó con agua.
El sólido húmedo se suspendió en agua y se añadió ácido acético a la mezcla y se agitó. La suspensión se filtró y la torta se lavó con agua.
- 15 El sólido húmedo se resuspendió en agua, se agitó, se filtró y se lavó con agua.
La torta se suspendió entonces en DMAC (aprox. 12,15 kg) y la suspensión se secó destilando a vacío.
La suspensión se enfrió a 5-10 °C y, en atmósfera de nitrógeno, se añadió lentamente CSA (aprox. 1,54 kg) y la temperatura se mantuvo por debajo de 15 °C.
- 20 La disolución se calentó a 18-22 °C en 1 h y se mantuvo durante otra hora, entonces se añadió a un reactor que contenía una disolución de Na₂CO₃ (aprox. 2,27 kg) en agua (aprox. 29,02 kg), previamente preparada, manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C.
La disolución se purificó en una columna de Amberlite XAD 1600 (12,5 l) por elución de agua (87,5 l) y mezclas de agua/acetona (125 l) con polaridad decreciente a partir de 95:5 a 70:30. Se recogieron las fracciones con alta pureza por HPLC y se destilaron a vacío hasta que se logró la composición deseada (aprox. 0,04 kg de T₃S/l de suspensión).
- 25 La suspensión se enfrió a 40 °C y se añadió etanol (aprox. 5,22 kg), obteniéndose una disolución.
La mezcla se enfrió a 0 °C en 2 h, causando la precipitación, se agitó durante otra hora y entonces se filtró. La torta se lavó con mezcla de etanol/agua a temperatura ambiente.
El sólido húmedo se secó a aproximadamente 40 °C a vacío.
- 30 Se obtuvieron 0,98 kg de sal de sodio de sulfato de T₃ puro (% de área de HPLC > 99 %) como un sólido blanco.
Rendimiento global a partir de T₂ (en base anhidra): 68,5 %.

Ejemplo 3. Preparación de comprimidos de T₃S

Se pre-mezcló el principio activo, también en combinación con diferentes cantidades de levo-tiroxina, durante quince minutos con 50 % del contenido de la celulosa microcristalina.

- 5 A esta pre-mezcla se añadieron los siguientes componentes en este orden: dibehenato de glicerol, sílice coloidal hidratada, croscarmelosa sódica, estearato de magnesio y carbonato cálcico (previamente tamizado a través de un tamiz de luz / malla limpia de 0,6 mm), junto con el 50 % restante de la celulosa microcristalina, mezclando durante 20 minutos adicionales.

La uniformidad de la distribución del principio activo en la mezcla se comprobó muestreando a partir de seis puntos de la mezcladora; la prueba mostró que el principio activo (o los principios activos) se distribuían uniformemente dentro de la mezcla, también en el caso de la formulación con levo-tiroxina.

- 10 Entonces se comprimió la mezcla de polvos por medio de una prensa rotatoria de comprimidos equipada con un punzón plano redondo y los comprimidos se sometieron a pruebas para friabilidad, tiempos de disgregación y la distribución de principio o principios activos.

- 15 Los resultados de las pruebas realizadas en el proceso de mezcla y compresión confirmaron la reproducibilidad de ambos de ellos, para dosificaciones de T₃S comprendidas de 25 a 200 µg. Además, mostraron que los comprimidos así obtenidos tenían parámetros correspondientes a los requisitos proporcionados por la Farmacopea Europea oficial (VI Ed.).

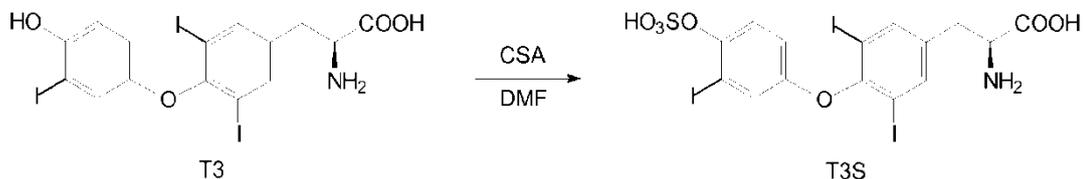
Composición de comprimidos

Sal de Na de T ₃ S	20,6 µg (corresp. a 20 µg de T ₃ S)
Carbonato cálcico	30 mg
Dibehenato de glicerol	5 mg
Sal de croscarmelosa sódica	3,5 mg
Sílice coloidal hidratada	2 mg
Estearato de magnesio	0,5 mg
Celulosa microcristalina	Hasta 110 mg

- 20 Los comprimidos preparados como se describió antes se usaron en ensayos clínicos de fase I en individuos tiroidectomizados, que muestran que pueden usarse como terapia de reemplazo de la hormona tiroidea (véase el documento US 2011/0245342).

En realidad, se mostró que T₃S se absorbía (cruzando la barrera gastrointestinal), se encontró en suero después de la administración por vía oral y se convirtió en T₃ clínicamente activo de un modo relacionado con la dosis. Los niveles de T₃ en suero fueron todavía detectables 48 h después de la administración de dosis única.

- 25 **Ejemplo comparativo: Síntesis de T₃S en DMF y ensayos de elución.**



La reacción se llevó a cabo según el esquema anterior, en DMF. Brevemente: se disolvió T₃ (40 mg) en etanol amoniacal.

Esta disolución se evaporó bajo una corriente de nitrógeno.

- 30 Al residuo, se añadieron 2 ml de una disolución caliente de ácido clorosulfónico (obtenido mezclando 2,5 ml de ácido clorosulfónico al 99 % y 8 ml de N,N-DMF). Posteriormente, se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente con agitación y la reacción continuó durante la noche.

La mezcla se diluyó con agua (5 ml) y luego se eluyó sobre una columna de Sephadex LH-20 (5 ml), obteniéndose la fracción A. La elución continuó con HCl 0,1 N (5 ml), obteniéndose la fracción B.

ES 2 645 295 T3

Estas fracciones volvieron a cargarse en la columna y se purificaron por elución en serie de HCl 0,1 N (aprox. 4 ml), agua y etanol absoluto.

Sin embargo, se usaron cinco cantidades diferentes de agua y etanol absoluto para la purificación. Los rendimientos de T3S y las purezas obtenidas por estas cinco condiciones han sido resumidos en la Tabla B.

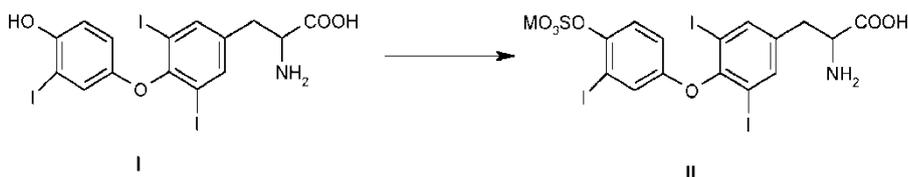
5 **Tabla B: Ensayos de purificación**

Ensayo	H ₂ O	EtOH abs.	Sulfato de T3 de fracciones acuosas			Sulfato de T3 de fracciones alcohólicas		
	(ml)	(ml)	Cantidad (mg)	Pureza ^(a) (%)	Rendimiento (%)	Cantidad (mg)	Pureza ^{(a)(b)} (%)	Rendimiento ^(c) (%)
1	5	10	1,0	100	2,2	35	80	62,3
2	50	100	2,5	100	5,6	30	80	53,4
3	125	125	8,0	100	17,8	30	75	50,1
4	No registrado	100	No registrado	No registrado	-	30	75	50,1
5	40	10	No registrado	No registrado	-	10	50	11,1
		20	No registrado	No registrado	-	20	70	31,2
^(a) Pureza por RMN ¹ H.								
^(b) De los análisis, el producto es una mezcla de T3S y T3.								
^(c) Los rendimientos se calculan en el contenido de sulfato de T3.								

La Tabla B muestra que cuando la síntesis se lleva a cabo en las condiciones descritas anteriormente y se usa DMF como disolvente, puede lograrse alta conversión, pero el rendimiento global es bastante bajo.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de una forma sulfatada de una hormona tiroidea que tiene la fórmula II (T₃S) según la siguiente reacción:



5 en la que:

M es un metal alcalino, preferentemente Na;

que comprende las etapas de:

- a) sulfatación de un compuesto de fórmula I con ácido clorosulfónico (CSA) en presencia de dimetilacetamida (DMAC);
 - 10 b) salificación para dar un compuesto de fórmula II, en una disolución acuosa de una sal inorgánica de metal alcalino;
 - c) purificación del compuesto de fórmula II por cromatografía sobre matriz polimérica aromática macrorreticular y elución con una mezcla de polaridad decreciente de agua y un disolvente orgánico.
2. El proceso según la reivindicación 1, en el que dicha sal inorgánica es una sal de sodio.
- 15 3. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que la relación molar entre CSA y el compuesto de fórmula I comprende de 4 a 10, preferentemente comprende de 7 a 9.
4. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que en la etapa a) la concentración del compuesto de fórmula I en DMAC comprende de 0,060 a 0,090 mol/l de DMAC.
- 20 5. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la reacción de sulfatación en la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura inferior a 10 °C, preferentemente comprendida de -10 °C a 8 °C.
6. El proceso según la reivindicación 5, en el que la sulfatación en la etapa a) se deja producir durante al menos 2 horas.
7. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la salificación según la etapa b) se lleva a cabo en una disolución acuosa de NaHCO₃.
- 25 8. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que dicha etapa c) va opcionalmente precedida por una etapa de filtración.
9. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que dicha mezcla de polaridad decreciente es una mezcla de agua y un disolvente polar en una relación comprendida de 1,0:0 a 0,7:0,3.
- 30 10. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 8-9, en el que después de la elución, la disolución se concentra hasta al menos 10 g del compuesto de fórmula II/kg, y la disolución se lleva a valores de pH comprendidos de 5,5 a 6,5.
11. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el compuesto de fórmula II se obtiene como un sólido después del tratamiento con un disolvente polar orgánico.
- 35 12. El proceso según la reivindicación 11, en el que dicho disolvente orgánico polar está seleccionado de: acetona, etanol, isopropanol y acetonitrilo.
13. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 11-12, en el que el compuesto de fórmula II en la forma sólida se microniza adicionalmente.
- 40 14. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 11-13, que comprende además mezclar el sólido y/o la forma micronizada del compuesto de fórmula II, opcionalmente en combinación con levo-tiroxina (T₄), con al menos un diluyente seleccionado del grupo que consiste en: celulosa o un derivado de la misma, caolín, almidón y sales alcalinas inorgánicas seleccionadas de: carbonato cálcico y de magnesio.
15. El proceso según la reivindicación 14, en el que la mezcla del compuesto de fórmula II y el diluyente, en la que el diluyente es celulosa microcristalina, se mezcla además con al menos un agente deslizante seleccionado del grupo

5 que consiste en: dibehenato de glicerol, fosfato de calcio tribásico, talco, almidón y derivados del mismo, al menos un disgregante seleccionado del grupo que consiste en: croscarmelosa o derivados de la misma, crospovidona, poli(acrilatos de metilo), maltodextrina, glicolato sódico de almidón, almidón pregelatinizado, alginato de sodio, y opcionalmente, un agente lubricante seleccionado del grupo que consiste en: estearato de magnesio, estearato de cinc, sílice coloidal hidratada y dióxido de silicio coloidal, y entonces se formula en comprimidos por compresión directa de la mezcla.

16. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en el que el reactivo de fórmula I se obtiene por yodación de una 3',5 di-yodotironina (T2) con un agente de yodación, preferentemente una mezcla que comprende I_2/NaI , en un medio acuoso y en presencia de una amina alifática.

10

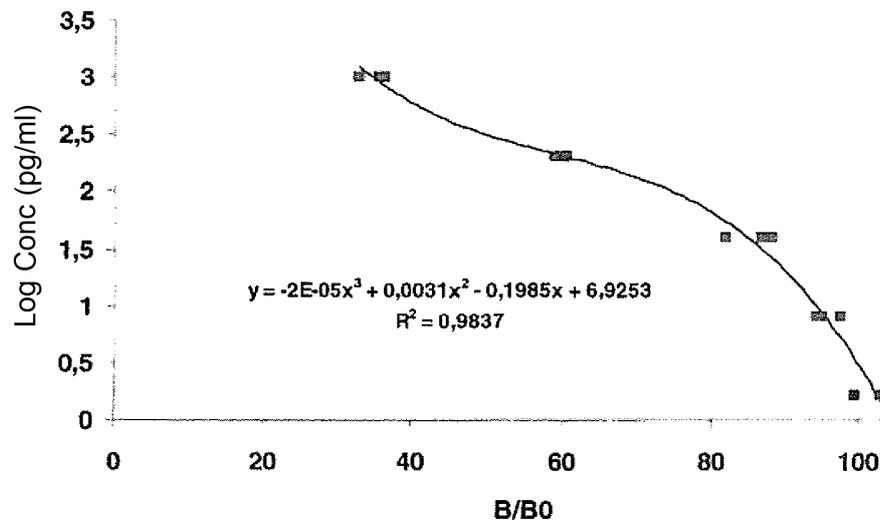


Figura 1 Panel a)

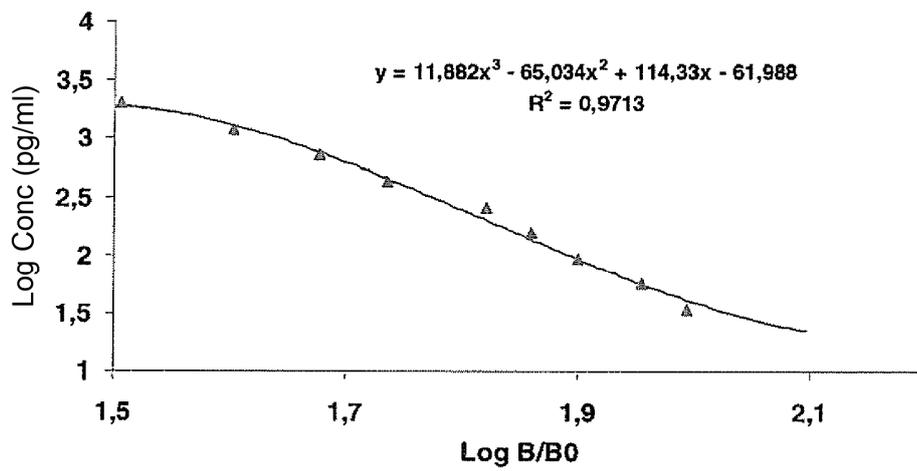


Figura 1 Panel b)

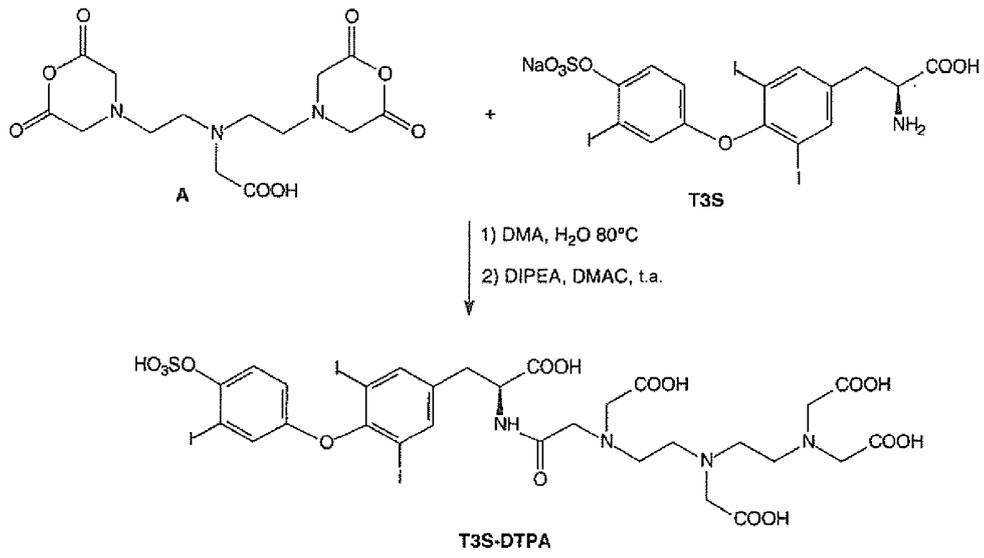


Figura 2