

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 652 187**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
C07C 229/26 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
C07C 57/46 (2006.01)
C07C 57/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.04.2010 PCT/US2010/029708**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.10.2010 WO10115055**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2010 E 10759442 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 2413924**

54 Título: **Fenilacetato de l-ornitina y métodos para elaborar el mismo**

30 Prioridad:

03.04.2009 US 166676 P

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

31.01.2018

73 Titular/es:

**OCERA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
555 Twin Dolphin Drive, Suite 615
Redwood City, CA 94065, US**

72 Inventor/es:

**ANDERSON, KEITH;
BEHLING, JIM;
DOUGAN, CHRISTINE, HENDERSON;
WATT, STEPHEN, WILLIAM;
MANINI, PETER y
FIGINI, ATTILIA**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 652 187 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

Fenilacetato de L-ornitina y métodos para elaborar el mismo

5 **Antecedentes de la Invención**

La presente solicitud se refiere a los campos de química farmacéutica, bioquímica y medicina. En particular, se refiere a sales de fenilacetato de L-ornitina y métodos para elaborar y usar las mismas.

10 La hiperamonemia es una marca de la enfermedad hepática y se caracteriza por un exceso de amoníaco en la corriente sanguínea. La encefalopatía hepática es una consecuencia clínica primaria de hiperamonemia progresiva y es un síndrome neuropsiquiátrico complejo, el cual puede complicar la falla hepática crónica o aguda. Se caracteriza por cambios en el estado mental que incluyen un amplio intervalo de síntomas neuropsiquiátricos que varían de signos menores de función cerebral alterada que manifiesta síntomas psiquiátricos y/o neurológicos, aún coma
15 profundo. La acumulación de amoníaco no metabolizado se ha considerado como el factor principal involucrado en la patogénesis de encefalopatía hepática, pero mecanismos adicionales pueden estar asociados.

El monoclóhidrato de L-ornitina y otras sales de L-ornitina están disponibles para su uso en el tratamiento de hiperamonemia y encefalopatía hepática. Por ejemplo, la Publicación Estadounidense No. 2008/0119554 describe composiciones de L-ornitina y fenil acetato para el tratamiento de encefalopatía hepática. La L-ornitina se ha
20 preparado por métodos de conversión enzimática. Por ejemplo, las Patentes Estadounidenses Nos. 5,405,761 y 5,591,613 describen conversión enzimática de arginina para formar sales de L-ornitina. El fenil acetato de sodio está comercialmente disponible, y también disponible como una solución inyectable para el tratamiento de hiperamonemia aguda. La solución inyectable es comercializada como AMMONUL.

25 Aunque formas de sal pueden exhibir propiedades de degradación mejoradas, ciertas sales, particularmente sales de sodio o cloro, pueden ser indeseables cuando se tratan pacientes que tienen enfermedades asociadas con la enfermedad hepática, tal como encefalopatía hepática. Por ejemplo, una alta absorción de sodio puede ser peligrosa para pacientes cirróticos propensos a ascitos, sobrecarga de fluido y desequilibrio electrolítico. De manera similar,
30 ciertas sales son difíciles de administrar intravenosamente debido a una presión osmótica incrementada, es decir, la solución es hipertónica. Altas concentraciones de exceso de sal pueden requerir diluir grandes volúmenes de solución para administración intravenosa lo cual, a su vez, conduce a sobrecarga de fluido excesiva. Por consiguiente, existe una necesidad para la preparación de sales de fenil acetato y L-ornitina las cuales sean favorables para el tratamiento de encefalopatía hepática u otras condiciones en donde la sobrecarga de fluido y el
35 desequilibrio electrolítico son prevalentes.

MX PA03009902 se refiere a aminos y sales derivadas de los ácidos benzoico, fenilacético y fenilbutírico utilizando los aminoácidos arginina y ornitina. Los compuestos evitan el uso de sales de sodio. Los compuestos descritos en ella representan medicamentos útiles para el control de urea en trastornos congénitos del metabolismo del ciclo de urea o de cirrosis.

40 **Descripción de la Invención**

Algunas realizaciones descritas en la presente incluyen una composición que comprende una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina.

Composición que comprende una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina

La presente invención proporciona una composición que comprende una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina, donde dicha forma cristalina exhibe un patrón de difracción en polvo de rayos-X que comprende al menos tres picos característicos, en donde dichos picos característicos se selecciona del grupo que consiste de $6,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $13,9^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $14,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,1^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$ y $24,1^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$; y opcionalmente donde:

(i) dicha forma cristalina exhibe un análisis cristalográfico de rayos X de monocristal con parámetros de cristal aproximadamente iguales a los siguientes:

Dimensiones de celda unidad: $a=6,594(2) \text{ \AA}$, $b=6,5448(18) \text{ \AA}$, $c=31,632(8) \text{ \AA}$, $\alpha=90^{\circ}$, $\beta=91,12(3)^{\circ}$,
55 $\gamma=90^{\circ}$;

Sistema cristalino: monoclinico; y

Grupo espacial: $P2_1$; y/o

(ii) dicha forma cristalina está representado por la fórmula $[C_5H_{13}N_2O_2][C_8H_7O_2]$.

60 En algunas realizaciones, la forma cristalina exhibe un patrón de difracción en polvo de rayos-X que comprende picos característicos a $6,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $13,9^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $14,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,1^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$ and $24,1^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$.

En algunas realizaciones, la forma cristalina tiene un punto de fusión de 202° C . En algunas realizaciones, la forma cristalina exhibe un análisis cristalográfico de rayos-X de cristal único con parámetros de cristal aproximadamente

igual a los siguientes: dimensiones de unidad de célula: $a=6,594(2)$ Å, $b=6,5448(18)$ Å, $c=31,632(8)$ Å, $\alpha=90^\circ$, $\beta=91,12(3)^\circ$, $\gamma=90^\circ$; Sistema de cristal: Monoclínico; y Grupo de espacio: $P2_1$. En algunas realizaciones, la forma cristalina es representada por la fórmula $[C_5H_{13}N_2O_2][C_8H_7O_2]$.

5 Algunas realizaciones descritas en la presente tienen una composición que comprende: al menos aproximadamente 50% en peso de una forma cristalina de sal de fenilacetato de L-ornitina y al menos aproximadamente 0,01% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo.

10 En algunas realizaciones, la composición comprende al menos aproximadamente 0,10% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 5% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 1% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo.

15 En algunas realizaciones, la composición además comprende al menos 10 ppm de plata. En algunas realizaciones, comprende al menos 20 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición además comprende al menos 25 ppm de plata. En algunas realizaciones, comprende no más de 600 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 100 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 65 ppm de plata.

20 En algunas realizaciones, aproximadamente 50 mg/mL de la composición en agua es isotónica con fluidos corporales. En algunas realizaciones, la solución isotónica tiene una osmolaridad en el intervalo de aproximadamente 280 hasta aproximadamente 330 mOsm/kg.

25 En algunas realizaciones, la composición tiene una densidad en el intervalo de aproximadamente 1,1 hasta aproximadamente 1,3 kg/m³.

Proceso para producir fenilacetato de L-ornitina cristalino.

30 También se describe aquí un proceso para elaborar una sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende: intermezclar una sal de L-ornitina, una sal de benzoato y un solvente para formar una solución intermedia; intermezclar fenilacetato con la solución intermedia; y aislar una composición que comprende al menos 70% de fenilacetato de L-ornitina cristalina en peso.

35 En algunas realizaciones, el proceso comprende remover al menos una porción de una sal de la solución intermedia antes de intermezclar el fenil acetato, en donde la sal no es una sal de L-ornitina. En algunas realizaciones, el proceso comprende agregar ácido clorhídrico antes de remover al menos una porción de la sal.

40 En algunas realizaciones, intermezclar la L-ornitina, la sal de benzoato y el solvente comprende: dispersar la sal de L-ornitina en agua para formar una primera solución; dispersar la sal de benzoato en DMSO para formar una segunda solución; e intermezclar la primera solución y la segunda solución para formar la solución.

45 En algunas realizaciones, la composición comprende al menos aproximadamente 0,10% en peso de sal de benzoato. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 5% en peso de sal de benzoato. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 1% en peso de sal de benzoato.

En algunas realizaciones, la sal de L-ornitina es clorhidrato de L-ornitina. En algunas realizaciones, la sal de benzoato es benzoato de plata.

50 En algunas realizaciones, la composición comprende al menos 10 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende al menos 20 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende al menos 25 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 600 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 100 ppm de plata. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 65 ppm de plata.

55 En algunas realizaciones, el fenilacetato es en una sal de metal alcali. En algunas realizaciones, la sal de metal alcali es fenilacetato de sodio.

60 En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 100 ppm de sodio. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 20 ppm de sodio.

En algunas realizaciones, la L-ornitina está en una sal de haluro. En algunas realizaciones, la sal de haluro es clorhidrato de L-ornitina.

65 En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 0,1% en peso de cloruro. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de 0,01% en peso de cloruro.

Asimismo, se describe aquí una composición obtenida por cualquiera de los procesos descritos en la presente.

5 También se describe aquí un proceso para elaborar una sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende: incrementar el valor de pH de una solución que comprende una sal de L-ornitina al menos hasta que una sal intermediaria precipita, en donde la sal intermediaria no es una sal de L-ornitina; aislar la sal intermediaria de la solución; intermezclar ácido fenil acético con la solución; y aislar la sal de fenilacetato de L-ornitina de la solución.

10 En algunas realizaciones, el valor de pH se incrementa para al menos 8,0. En algunas realizaciones, el valor de pH se incrementa para al menos 9,0. En algunas realizaciones, incrementar el valor de pH comprende agregar un modificador de pH seleccionado del grupo que consiste de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, metóxido de sodio, t-butóxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de calcio, dibutilamina, triptamina, hidruro de sodio, hidruro de calcio, butilítio, bromuro de etilmagnesio o combinaciones de los mismos.

15 Sal de fenilacetato de L-ornitina para uso en el tratamiento de hiperamonemia.

La presente invención también se refiere a una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina de la invención como se ha descrito arriba para su uso en tratar o aliviar hiperamonemia en un sujeto.

20 En algunas realizaciones, la forma cristalina es administrada oralmente.

En algunas realizaciones, la forma cristalina se administra de 1 a 3 veces diariamente. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva está en el intervalo de aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 50 g.

25 En algunas realizaciones, el sujeto se identifica por tener encefalopatía hepática. En algunas realizaciones, el sujeto se identifica por tener hiperamonemia.

30 También se describe aquí un proceso para elaborar una sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende: intermezclar una sal de L-ornitina, fenil acetato de plata y un solvente para formar una solución, en donde la sal de L-ornitina es una sal de metal alcali; y aislar fenilacetato de L-ornitina de la solución.

35 Algunas realizaciones descritas en la presente incluyen una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina de la invención según se ha descrito arriba para uso en tratar o aliviar hiperamonemia en un sujeto, donde dicho método comprende administrar intravenosamente una cantidad terapéuticamente efectiva de una solución que comprende fenilacetato de L-ornitina, en donde la cantidad terapéuticamente efectiva comprende no más de 500 mL de la solución.

40 En algunas realizaciones, la solución comprende al menos aproximadamente 25 mg/mL de fenilacetato de L-ornitina. En algunas realizaciones, la solución comprende al menos aproximadamente 40 mg/mL de fenilacetato de L-ornitina. En algunas realizaciones, la solución comprende no más de 300 mg/mL. En algunas realizaciones, la solución es isotónica con fluido corporal.

45 También se describe aquí un método para comprimir fenilacetato de L-ornitina, el método comprende aplicar presión a una forma metastable de fenilacetato de L-ornitina para inducir un cambio de fase.

En algunas realizaciones, la forma metastable es amorfa. En algunas realizaciones, la forma metastable exhibe un patrón de difracción en polvo de rayos-X que comprende al menos un pico característico, en donde el pico característico se selecciona del grupo que consiste de aproximadamente 4,9°, 13,2°, 20,8° y 24,4° 2 θ .

50 En algunas realizaciones, la presión se aplica por un tiempo predeterminado. En algunas realizaciones, el tiempo predeterminado es aproximadamente 1 segundo o menos. En algunas realizaciones, la presión es al menos aproximadamente 500 psi (3447,3 Kpa).

55 En algunas realizaciones, el cambio de fase proporciona una composición que tiene una densidad en el intervalo de aproximadamente 1,1 hasta aproximadamente 1,3 kg/m³ después de aplicar la presión.

60 En algunas realizaciones, el cambio de fase proporciona una composición que exhibe un patrón de difracción en polvo de rayos-X que comprende al menos un pico característico, en donde el pico característico se selecciona del grupo que consiste de aproximadamente 6,0°, 13,9°, 14,8°, 17,1°, 17,8° y 24,1° 2 θ .

También se divulga aquí una composición obtenida aplicando presión a una forma metastable de fenilacetato de L-ornitina para inducir un cambio de fase.

Breve Descripción de las Figuras

La FIGURA 1 es un patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma I.

La FIGURA 2 muestra resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma I.

La FIGURA 3 muestra análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma I.

La FIGURA 4 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de la Forma I.

La FIGURA 5 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma I.

La FIGURA 6 es un patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma II.

La FIGURA 7 muestra resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma II.

La FIGURA 8 muestra análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma II.

La FIGURA 9 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de la Forma II.

La FIGURA 10 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma II.

La FIGURA 11 es un patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma III.

La FIGURA 12 muestra resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma III.

La FIGURA 13 muestra análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma III.

La FIGURA 14 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de la Forma III.

La FIGURA 15 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma III.

La FIGURA 16 es un patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma V.

La FIGURA 17 muestra resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma V.

La FIGURA 18 muestra análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma V.

La FIGURA 19 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de la Forma V.

La FIGURA 20 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma V.

La FIGURA 21 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de benzoato de L-ornitina.

La FIGURA 22 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de fenilacetato de L-ornitina.

Descripción Detallada de la Invención

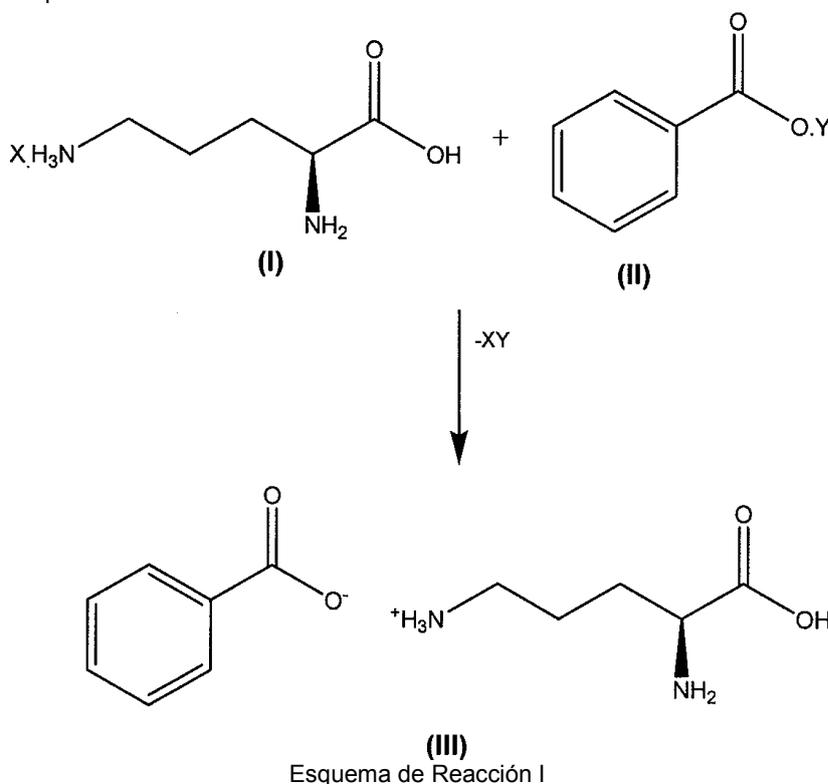
Descritos en la presente están métodos para elaborar sales de fenilacetato de L-ornitina, y en particular, formas cristalinas de la sal. Estos métodos permiten la producción a gran escala de formas farmacéuticamente aceptables de fenilacetato de L-ornitina usando procesos económicos. Sin embargo, las formas cristalinas de fenilacetato de L-ornitina, que incluyen Forma I, II, III y V también se describen. Las sales de fenilacetato de L-ornitina permiten administración intravenosa con carga de sodio concomitante insignificante, y por lo tanto minimizan la cantidad de fluido i.v. que se requiere.

La presente solicitud se refiere a una nueva forma cristalina de sales de fenilacetato de L-ornitina, así como también a métodos para usar las sales de fenilacetato de L-ornitina. La sal ventajosamente exhibe estabilidad a largo plazo sin cantidades significantes de sodio o cloruro. Como un resultado, el fenilacetato de L-ornitina se espera proporcione un perfil de seguridad mejorado comparado con otras sales de L-ornitina y fenilacetato. También, el fenilacetato de L-ornitina exhibe tonicidad inferior comparado con otras sales, y por lo tanto puede ser administrado intravenosamente a concentraciones superiores. Por consiguiente, el fenil acetato de L-ornitina se espera proporcione mejoramientos clínicos significantes para el tratamiento de encefalopatía hepática.

La presente solicitud se refiere a la Forma cristalina II de fenilacetato de L-ornitina. Otras formas cristalinas (ej. Formas I, II y IV) se discuten aquí también. La ocurrencia de diferentes formas de cristal (polimorfismo) es una propiedad de algunas moléculas y complejos moleculares. Complejos de sal, tales como fenilacetato de L-ornitina, pueden dar origen a una variedad de sólidos que tienen distintas propiedades físicas como punto de fusión, patrón de difracción de rayos-X, huella de impresión de absorción infrarroja y espectro de NMR. Las diferencias en las propiedades físicas de polimorfos resultan de la orientación e interacciones intermoleculares de moléculas adyacentes (complejos) en el sólido de volumen. Por consiguiente, polimorfos pueden ser distintos sólidos que portan el mismo ingrediente farmacéutico activo aun teniendo distintas propiedades fisicoquímicas ventajosas y/o desventajosas comparadas con otras formas en la familia polimorfa.

Método para Elaborar Sal de Fenilacetato de L-Ornitina

También se divulga aquí un método para elaborar una sal de fenilacetato de L-ornitina. El fenilacetato de L-ornitina puede ser producido, por ejemplo, a través de una sal intermediaria, tal como benzoato de L-ornitina. Como se muestra en el Esquema de reacción 1, una sal de L-ornitina de Fórmula I se puede hacer reaccionar con una sal de benzoato de Fórmula II para obtener el intermediario de benzoato de L-ornitina.



Esquema de Reacción I

Varias sales de L-ornitina se pueden usar en el compuesto de Fórmula I, y por lo tanto X en la Fórmula I puede ser cualquier ión capaz de formar una sal con L-ornitina distinta de ácido benzoico o ácido fenilacético. X puede ser un anión monoatómico, tal como, pero no limitado a, un haluro (por ejemplo, fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro). X también puede ser un anión poliatómico, tal como, pero no limitado a, acetato, aspartato, formiato, oxalato, bicarbonato, carbonato, bitrato, sulfato, nitrato, isonicotinato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fiimarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, glutamato, metansulfonato, etansulfonato, bencensulfonato, p-toluensulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)), fosfato y similares. En algunas realizaciones, X es un anión monovalente. En algunas realizaciones, X es cloruro.

De manera similar, la sal de benzoato de Fórmula II no está particularmente limitada, y por lo tanto Y en la Fórmula II puede ser cualquier ión apropiado capaz de formar una sal con ácido benzoico. En algunas realizaciones, Y puede ser un catión monoatómico, tal como un ión de metal alcali (por ejemplo, Li⁺, Na⁺, y K⁺) y otros iones monovalentes (por ejemplo, Ag⁺). Y puede ser también un catión poliatómico, tal como amonio, L-arginina, dietilamina, colina, etanolamina, 1H-imidazol, trolamina, y similares. En algunas realizaciones, Y es un ión inorgánico. En algunas realizaciones, Y es plata.

Muchas otras sales posibles de L-ornitina y ácido benzoico se pueden usar para los compuestos de Fórmulas I y II, respectivamente, y pueden ser fácilmente preparados por aquellos expertos en la técnica. Véase, por ejemplo,

Bigley L.D., et al., "Salt forms of drugs and absorption," In: Swarbrick J., Horlan J.C., eds. Encyclopedia of pharmaceutical technology, Vol. 12. New York: Marcel Dekker, Inc. pp. 452-499.

5 El intermediario de benzoato de L-ornitina (es decir, Fórmula III) puede ser preparado intermezclando soluciones que incluyen compuestos de Fórmulas I y II. Como un ejemplo, los compuestos de Fórmulas I y II pueden ser disueltos separadamente en agua y dimetilsulfóxido (DMSO), respectivamente. Las dos soluciones pueden entonces ser intermezcladas de manera que la L-ornitina y ácido benzoico reaccionan para formar la sal de Fórmula III. Alternativamente, los dos compuestos de sal pueden ser directamente disueltos en una solución única. En algunas realizaciones, L-ornitina y ácido benzoico son disueltos en solventes separados, y subsecuentemente intermezclados. En algunas realizaciones, L-ornitina es disuelta en una solución acuosa, el ácido benzoico es disuelto en un solvente orgánico, y las soluciones de L-ornitina y ácido benzoico son subsecuentemente intermezcladas.

15 Ejemplos no limitantes de solventes los cuales se pueden usar cuando se intermezclan las sales de L-ornitina y benzoato incluyen acetonitrilo, dimetilsulfóxido (DMSO), ciclohexano, etanol, acetona, ácido acético, 1-propanol, dimetilcarbonato, N-metil-2-pirrolidona (NMP), acetato de etilo (EtOAc), tolueno, alcohol isopropílico (IPA), diisopropil éter, nitrometano, agua, 1,4-dioxano, dietil éter, etilen glicol, acetato de metilo (MeOAc), metanol, 2-butanol, cumeno, etil formiato, acetato de isobutilo, 3- metil-1-butanol, anisol, y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la solución de benzoato de L-ornitina incluye agua. En algunas realizaciones, la solución de benzoato de L-ornitina incluye DMSO.

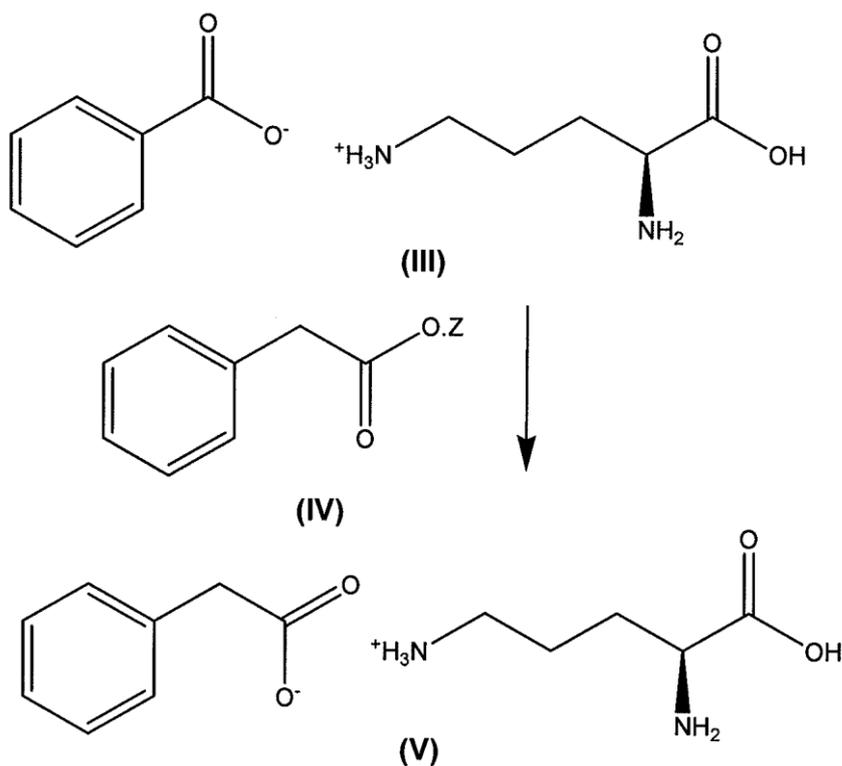
20 Después de intermezclar sales de benzoato y L-ornitina, los contraiones X e Y pueden formar un precipitado que puede ser removido de la solución intermezclada usando métodos conocidos, tales como filtración, centrifugación y similares. En algunas realizaciones, X es cloruro, Y es plata, y la reacción produce un precipitado que tiene AgCl. Aunque el Esquema de reacción 1 muestra los compuestos de Fórmulas I y II como sales, también está dentro del alcance de la presente solicitud premezclar la base libre de L-ornitina y ácido benzoico para formar el intermediario de benzoato de L-ornitina. Consecuentemente, formar y aislar el precipitado es opcional.

25 La cantidad relativa de sales de benzoato y L-ornitina que son intermezcladas no está limitada; sin embargo la relación molar de L-ornitina a ácido benzoico puede opcionalmente estar en el intervalo de aproximadamente 10:90 y 90:10. En algunas realizaciones, la relación molar de benzoato de L-ornitina puede estar en el intervalo de aproximadamente 30:70 y 70:30. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a benzoato puede estar en el intervalo de aproximadamente 40:60 y 60:40. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a benzoato es aproximadamente 1:1.

30 En modalidades donde X e Y son ambos iones inorgánicos (por ejemplo, X e Y son cloruro y plata, respectivamente), cantidades adicionales de sal que contiene X pueden ser agregadas para fomentar además la precipitación del contraión Y. Por ejemplo, si X es cloruro y Y es plata, la relación molar de clorhidrato de L-ornitina a benzoato de plata puede ser mayor de 1:1 de manera que un exceso de cloruro está presente con relación a la plata. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a ácido benzoico es mayor de aproximadamente 1:1. Sin embargo, la sal de cloruro adicional no se requiere para ser suministrada de una sal de L-ornitina (por ejemplo, clorhidrato de L-ornitina). Por ejemplo, soluciones dilutas de ácido clorhídrico pueden ser agregadas a la solución para remover además plata. Aunque no está particularmente limitado cuanta sal que contiene X adicional se agrega, es preferiblemente agregada antes de que el AgCl se aisle inicialmente.

35 Como se muestra en el Esquema de reacción 2, el benzoato de L-ornitina se puede hacer reaccionar con una sal de fenilacetato de Fórmula IV para formar el fenilacetato de L-ornitina. Por ejemplo, fenil acetato de sodio puede ser intermezclado con una solución de benzoato de L-ornitina para formar el fenilacetato de L-ornitina. Varias sales de fenil acetato se pueden usar, y por lo tanto Z en la Fórmula IV puede ser cualquier catión capaz de formar una sal con fenil acetato distinta de ácido benzoico o L-ornitina. En algunas realizaciones, Z puede ser un catión monoatómico, tal como un ión de metal alcali (por ejemplo, Li^+ , Na^+ , y K^+) y otros iones monovalentes (por ejemplo, Ag^+). Z puede ser también un catión poliatómico, tal como amonio, L-arginina, dietilamina, colina, etanolamina, 1H-imidazol, trolamina, y similares. En algunas realizaciones, Z es un ión inorgánico. En algunas realizaciones, Z es sodio.

40 La cantidad relativa de sales de fenil acetato y L-ornitina que son intermezcladas también no está limitada; sin embargo la relación molar de L-ornitina a fenil acetato puede opcionalmente estar en el intervalo de aproximadamente 10:90 y 90:10. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenil acetato puede estar en el intervalo de aproximadamente 30:70 y 70:30. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenil acetato puede estar en el intervalo de aproximadamente 40:60 y 60:40. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a ácido benzoico es aproximadamente 1:1.

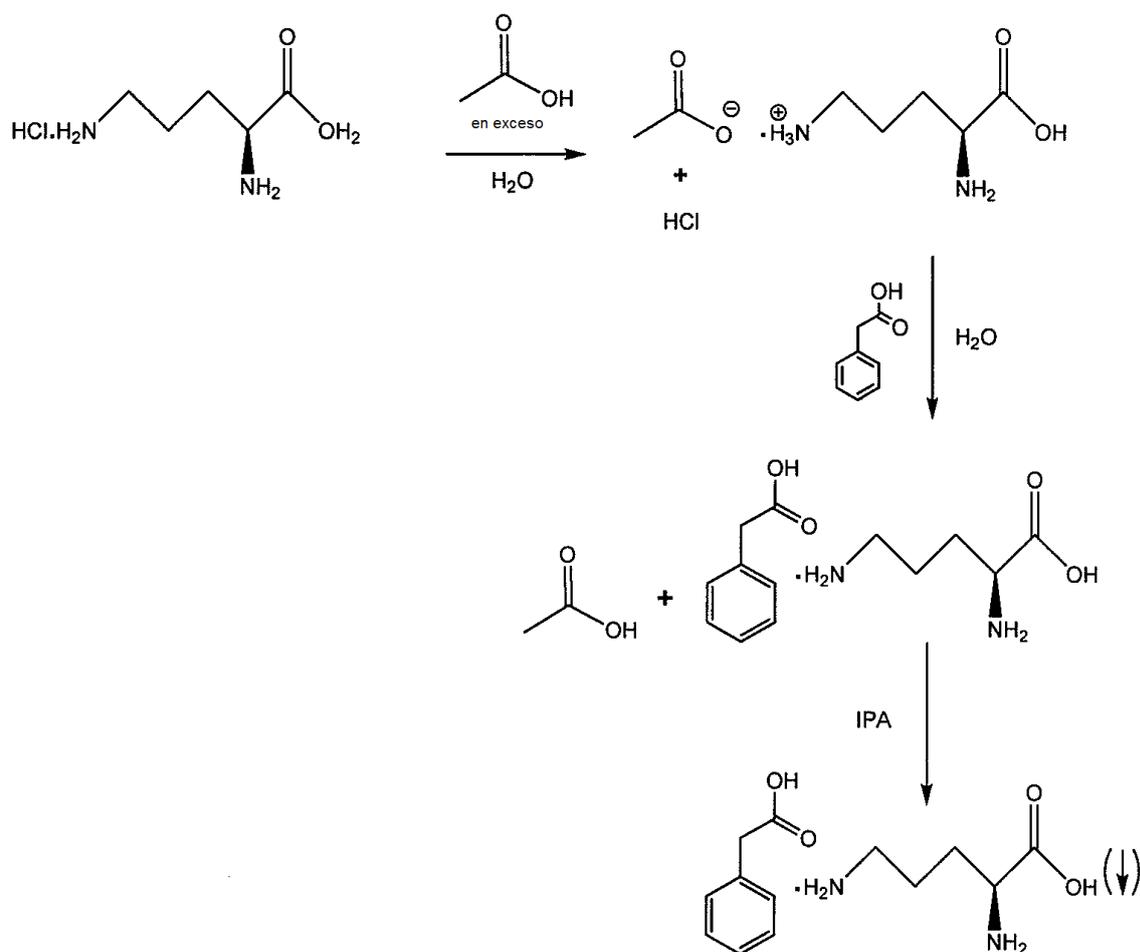


Esquema de Reacción 2

5 El fenilacetato de L-ornitina de Fórmula V puede entonces ser aislado de la solución usando técnicas conocidas. Por ejemplo, evaporando cualquier solvente hasta que el fenilacetato de L-ornitina cristaliza, o alternativamente agregando un anti-solvente miscible en la solución de fenilacetato de L-ornitina hasta que el fenilacetato de L-ornitina precipita de la solución. Otros medios posibles para aislar el fenilacetato de L-ornitina son ajustar la temperatura de la solución (por ejemplo, reducir la temperatura) hasta que el fenilacetato de L-ornitina precipita. Como se discutirá en detalle adicional en una sección posterior, el método de aislar el fenilacetato de L-ornitina afecta la forma cristalina que se obtiene.

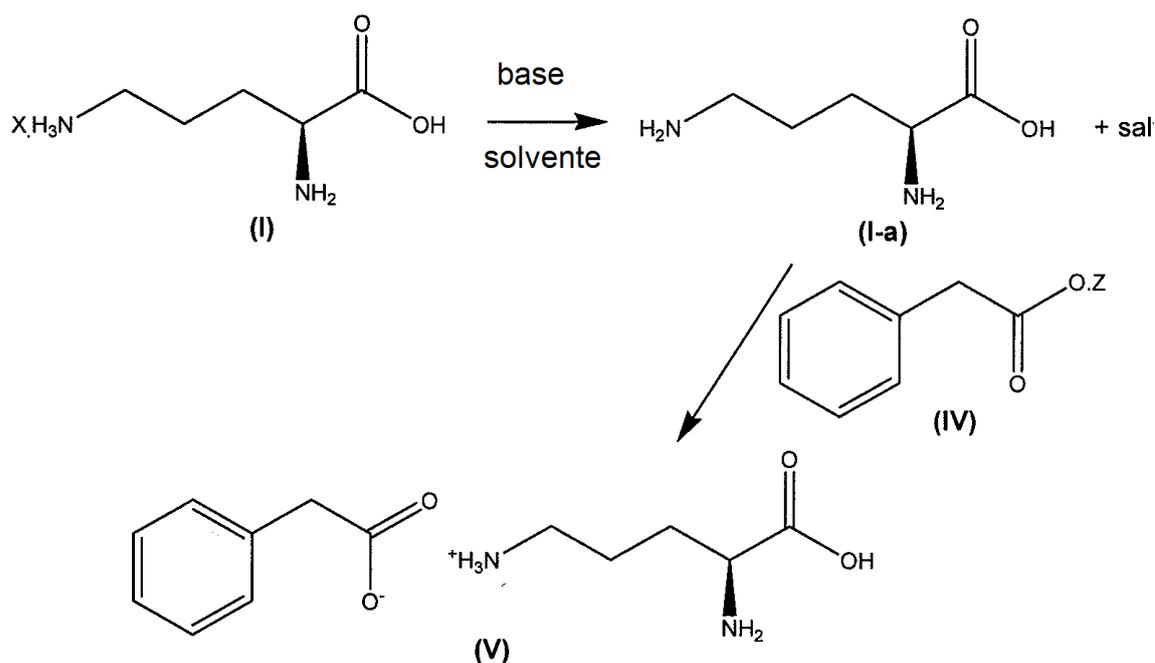
15 El fenilacetato de L-ornitina aislado puede ser sometido a varios procesamientos adicionales, tales como secado y similares. En algunas realizaciones, el fenilacetato de L-ornitina puede ser subsecuentemente intermezclado con una solución diluta de HCl para precipitar la plata residual. El fenilacetato de L-ornitina puede nuevamente ser aislado de la solución usando métodos similares descritos anteriormente.

20 Como podría apreciarse por una persona ordinaria, guiada por las enseñanzas de la presente solicitud, el fenilacetato de L-ornitina puede ser de manera similar preparado usando una sal intermedia distinta de benzoato de L-ornitina. De este modo, por ejemplo, L-ornitina, o una sal del mismo (por ejemplo, clorhidrato de L-ornitina), pueden ser intermezclados con una solución que tiene ácido acético. El acetato de L-ornitina puede entonces ser intermezclado con ácido fenil acético, o una sal del mismo (por ejemplo, fenil acetato de sodio), para obtener el fenilacetato de L-ornitina. El Esquema de reacción 4 ilustra un proceso ejemplar para formar el fenilacetato de L-ornitina usando acetato de L-ornitina como una sal intermedia. En algunas realizaciones, la sal intermedia puede ser una sal farmacéuticamente aceptable de L-ornitina. Por ejemplo, la sal intermedia de L-ornitina puede ser un acetato, aspartato, formiato, oxalato, bicarbonato, carbonato, bitrato, sulfato, nitrato, isonicotinato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metansulfonato, etansulfonato, bencensulfonato, p-toluensulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato) o fosfato. El ácido libre del intermediario es preferiblemente un ácido más débil con relación al ácido fenil acético. En algunas realizaciones, el intermediario es una sal de L-ornitina con un componente anión que exhibe un valor pK_a que es superior que el valor de pK_a del ácido fenil acético. Como un ejemplo, para acetato de L-ornitina, ácido acético y ácido fenil acético exhiben valores de pK_a de aproximadamente 4,76 y 4,28, respectivamente.



Esquema de Reacción 3

- 5 El fenilacetato de L-ornitina también puede ser preparado, en algunas realizaciones, sin formar una sal intermedia, tal como benzoato de L-ornitina. El Esquema de reacción 4 ilustra un proceso ejemplar para preparar el fenilacetato de L-ornitina sin una sal intermedia. Un modificador de pH puede ser agregado a una solución de sal de L-ornitina (por ejemplo, como se ilustra en el Esquema de reacción 4 por el compuesto de Fórmula I) hasta que una sal precipita de la solución, en donde la sal no es una sal de L-ornitina. Como un ejemplo, metóxido de sodio (NaOMe)
- 10 puede ser agregado a una solución de clorhidrato de L-ornitina hasta que el cloruro de sodio precipita de la solución para dejar una base libre de L-ornitina. El precipitado puede ser opcionalmente aislado de la solución usando técnicas conocidas, tales como filtración, centrifugación y similares. La base libre de L-ornitina (por ejemplo, como se ilustra en el Esquema de reacción 4 por el compuesto de Fórmula I-a) puede ser intermezclada con ácido fenil acético, o una sal del mismo (por ejemplo, como se ilustra en el Esquema de reacción 4 por el compuesto de Fórmula IV), para obtener el fenilacetato de L-ornitina. El fenilacetato de L-ornitina de Fórmula V puede entonces ser
- 15 aislado como se describe previamente.



Esquema de reacción 4

5 Un modificador de pH puede incluir un compuesto básico, o un precursor anhídrido del mismo, y/o una base químicamente protegida. Ejemplos no limitantes de modificadores de pH incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, metóxido de sodio, t-butoxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de calcio, dibutilamina, triptamina, hidruro de sodio, hidruro de calcio, butilitio, bromuro de etilmagnesio y combinaciones de los mismos. También, la cantidad de modificador de pH a ser agregada no está particularmente limitada; sin embargo la relación molar de L-ornitina a modificador de pH puede estar opcionalmente en el intervalo de aproximadamente 10:90 y 90:10. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH puede estar en el intervalo de aproximadamente 30:70 y 70:30. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH puede estar en el intervalo de aproximadamente 40:60 y 60:40. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH es aproximadamente 1:1. El modificador de pH puede, en algunas realizaciones ser agregado para ajustar el valor de pH a al menos aproximadamente 8,0; al menos aproximadamente 9,0; o al menos aproximadamente 9,5.

20 Otro proceso para formar el fenilacetato de L-ornitina, en algunas realizaciones, incluye hacer reaccionar una sal de metal álcali de L-ornitina con una sal de fenil acetato. Como un ejemplo, clorhidrato de L-ornitina puede ser intermezclado con fenil acetato de plata y un solvente. AgCl puede entonces precipitar y es opcionalmente aislado de la solución. El fenilacetato de L-ornitina restante también puede ser aislado usando métodos conocidos. Este proceso puede ser completado usando en generar los mismos procedimientos y condiciones resumidas anteriormente. Por ejemplo, las cantidades molares relativas de L-ornitina a fenil acetato pueden ser 10:90 a 90:10; 30:70 a 70:30; 40:60 a 60:40; o aproximadamente 1:1. También, el fenilacetato de L-ornitina puede ser aislado evaporando el solvente, agregando un anti-solvente, y/o reduciendo la temperatura.

25 Composiciones de fenilacetato de L-ornitina

30 También descritas en la presente están composiciones de fenilacetato de L-ornitina. Las composiciones de la presente solicitud ventajosamente tienen cantidades inferiores de sales inorgánicas, particularmente sales de metal álcali y/o sales de haluro, y por lo tanto son particularmente adecuadas para administración oral y/o intravenosa a pacientes con encefalopatía hepática. Mientras tanto, estas composiciones pueden exhibir perfiles de estabilidad similares comparados con otras sales (por ejemplo, mezclas de clorhidrato de L-ornitina y fenil acetato de sodio). Las composiciones pueden, en algunas realizaciones, obtenerse por los procesos descritos en la presente solicitud. Por ejemplo, cualquiera de los procesos descritos usando benzoato de L-ornitina como un intermediario puede proporcionar las composiciones de la presente solicitud.

40 Las composiciones aquí descritas pueden incluir una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina (por ejemplo, Formas I, II, III y/o V descritas en la presente). En algunas realizaciones, la composición puede incluir al menos aproximadamente 20% en peso de una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina (preferiblemente al menos aproximadamente 50% en peso, y más preferiblemente al menos aproximadamente 80% en peso). En algunas

realizaciones, la composición consiste esencialmente de una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina. En algunas realizaciones, la composición incluye una mezcla de al menos dos (por ejemplo, dos, tres o cuatro formas) de las Formas I, II, III, y V.

5 Las composiciones de la invención incluyen la Forma II. Por ejemplo, las composiciones pueden incluir al menos aproximadamente 20%; al menos aproximadamente 50%; al menos aproximadamente 90%; al menos aproximadamente 95%; o al menos aproximadamente 99% de la Forma II. De manera similar, las composiciones también pueden incluir, por ejemplo, Formas I, III o V. Las composiciones pueden incluir opcionalmente al menos aproximadamente 20%; al menos aproximadamente 50%; al menos aproximadamente 90%; al menos aproximadamente 95%; o al menos aproximadamente 99% de las Formas I, II, III y/o V.

También se divulga aquí las formas amorfas de fenilacetato de L-ornitina. Se conocen en la técnica varios métodos para preparar formas amorfas. Por ejemplo, una solución de fenilacetato de L-ornitina se puede secar bajo vacío por liofilización para obtener una composición amorfa. Véase WO 2007/058634 para describir métodos de liofilización.

15 Se prefiere que la composición tenga cantidades inferiores (si las hay) de iones o sales de alquilo y halógeno, en particular sodio y cloro. En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 100 ppm de metales alcalis (preferiblemente no más de aproximadamente 20 ppm, y muy preferiblemente no más de aproximadamente 10 ppm). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 100 ppm de sodio (preferiblemente no más de aproximadamente 20 ppm, y muy preferiblemente no más de aproximadamente 10 ppm). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 0,1% en peso de haluros (preferiblemente no más de aproximadamente 0,01% en peso). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 0,1% en peso de cloruro (preferiblemente no más de aproximadamente 0,01% en peso).

25 El contenido reducido de metales alcalis y haluros proporciona una composición adecuada para preparar soluciones isotónicas concentradas. Como tal, estas composiciones pueden ser más fácilmente administradas intravenosamente comparadas con, por ejemplo, administrar mezclas de clorhidrato de L-ornitina y fenil acetato de sodio. En algunas realizaciones, aproximadamente 45 hasta aproximadamente 55 mg/mL de solución de fenilacetato de L-ornitina en agua (preferiblemente aproximadamente 50 mg/mL) es isotónica con fluidos corporales (por ejemplo, la solución exhibe una osmolaridad en el intervalo de aproximadamente 280 hasta aproximadamente 330 mOsm/kg).

35 Las composiciones también pueden incluir cantidades residuales del anión a partir de una sal intermediaria formada durante el proceso de elaborar la composición de fenilacetato de L-ornitina. Por ejemplo, algunos de los procesos descritos en la presente proporcionan composiciones que tienen ácido benzoico o una sal del mismo. En algunas realizaciones, la composición comprende al menos aproximadamente 0,01% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo (preferiblemente al menos aproximadamente 0,05% en peso, y más preferiblemente aproximadamente 0,1% en peso). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 3% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo (preferiblemente no más de aproximadamente 1% en peso, y más preferiblemente no más de aproximadamente 0,5% en peso). En algunas realizaciones, la composición incluye una sal, o un ácido de la misma, en el intervalo de aproximadamente 0,01% hasta aproximadamente 3% en peso (preferiblemente aproximadamente 0,1% hasta aproximadamente 1%), en donde la sal se selecciona de acetato, aspartato, formiato, oxalato, bicarbonato, carbonato, bitrato, sulfato, nitrato, isonicotinato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metansulfonato, etansulfonato, bencensulfonato, p-toluensulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato) o fosfato).

50 De manera similar, una composición preparada usando un intermediario de acetato puede tener cantidades residuales de ácido acético o acetato. En algunas realizaciones, la composición incluye al menos aproximadamente 0,01% en peso de ácido acético o acetato (preferiblemente al menos aproximadamente 0,05% en peso, y más preferiblemente aproximadamente 0,1% en peso). En algunas realizaciones, la composición incluye no más de aproximadamente 3% en peso de ácido acético o acetato (preferiblemente no más de aproximadamente 1% en peso, y más preferiblemente no más de aproximadamente 0,5% en peso).

55 Las composiciones también pueden incluir cantidades inferiores de plata. Procesos ejemplares descritos en la presente utilizan, por ejemplo, benzoato de plata, pero todavía proporcionan composiciones con cantidades sorprendentemente inferiores de plata. De este modo, en algunas realizaciones, la composición incluye no más de aproximadamente 600 ppm de plata (preferiblemente no más de aproximadamente 100 ppm, y más preferiblemente no más de aproximadamente 65 ppm). En algunas realizaciones, la composición incluye al menos aproximadamente 10 ppm de plata (alternativamente al menos aproximadamente 20 o 25 ppm de plata).

Composiciones Farmacéuticas

65 Las composiciones de fenilacetato de L-ornitina de la presente solicitud pueden ser también formuladas para

administración a un sujeto (por ejemplo, un humano). El fenilacetato L-ornitina, y por consiguiente las composiciones descritas en la presente, pueden ser formulados para administración con un portador farmacéuticamente aceptable o diluyente. El fenilacetato de L-ornitina puede de este modo ser formulado como un medicamento con un portador(es) y/o excipiente(s) farmacéuticamente aceptables estándares como es rutina en la técnica farmacéutica. La naturaleza exacta de la formulación dependerá de varios factores que incluyen la ruta deseada de administración. Típicamente, el fenilacetato de L-ornitina es formulado para administración oral, intravenosa, intragástrica, subcutánea, intravascular o intraperitoneal.

El portador o diluyente farmacéutico puede ser, por ejemplo, agua o una solución isotónica, tal como 5% de dextrosa en agua o salina normal. Formas orales sólidas pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de papa; lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio, y/o polietilen glicoles; agentes enlazantes, por ejemplo, almidones, goma arábiga, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona; agentes desagregantes, por ejemplo, almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato almidón de sodio; mezclas efervescentes, colorantes; endulzantes; agentes humectantes, tales como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias farmacológicamente inactivas y no tóxicas usadas en formulaciones farmacéuticas. Tales preparaciones farmacéuticas pueden ser manufacturadas en maneras conocidas, por ejemplo, por medio de procesos de mezclado, granulación, tableteado, recubrimiento de azúcar o recubrimiento de película.

Las dispersiones líquidas para administración oral pueden ser jarabes, emulsiones o suspensiones. Los jarabes pueden contener como portadores, por ejemplo, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y/o sorbitol.

Las suspensiones y emulsiones pueden contener un portador, por ejemplo una goma natural, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, o alcohol polivinílico. Las suspensiones o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el fenilacetato de L-ornitina, un portador farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, por ejemplo, propilenglicol, y si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína.

El medicamento puede consistir esencialmente de fenilacetato de L-ornitina y un portador farmacéuticamente aceptable. Tal medicamento por lo tanto no contiene sustancialmente otros aminoácidos en adición a L-ornitina y fenil acetato. Además, tal medicamento contiene cantidades insustanciales de otras sales en adición al fenilacetato de L-ornitina.

Formulaciones orales pueden en general incluir dosificaciones de fenilacetato de L-ornitina en el intervalo de aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 100 g. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la formulación oral incluye las composiciones e fenilacetato de L-ornitina descritas en la presente en el intervalo de aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 50 g. En algunas realizaciones, la formulación oral está sustancialmente libre de sales y haluros de metal alcali (por ejemplo, no contiene más cantidades indicadoras de sales y haluros de metal alcali).

Formulaciones intravenosas también pueden en general incluir dosificaciones de fenilacetato de L-ornitina en el intervalo de aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 100 g (preferiblemente aproximadamente 1 g hasta aproximadamente 50 g). En algunas realizaciones, la formulación intravenosa está sustancialmente libre de sales y haluros de metal alcali (por ejemplo, no contiene más cantidades indicadoras de sales y haluros de metal alcali). En algunas realizaciones, la formulación intravenosa tiene una concentración de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 300 mg/mL de fenilacetato de L-ornitina (preferiblemente aproximadamente 25 hasta aproximadamente 200 mg/mL, y más preferiblemente aproximadamente 40 hasta aproximadamente 60 mg/mL).

La composición, o medicamento que contiene la composición, puede ser opcionalmente colocado en envases sellados. El envase sellado puede reducir o prevenir la humedad y/o aire ambiental de entrar en contacto con la composición o medicamento. En algunas realizaciones, el envase incluye un sello hermético. En algunas realizaciones, el envase es sellado bajo vacío o con un gas inerte (por ejemplo, argón) dentro del envase sellado. Por consiguiente, el envase puede inhibir o reducir la velocidad de degradación para la composición o medicamento almacenado dentro del envase. Se conocen varios tipos de envases sellados en la técnica. Por ejemplo, la Patente Estadounidense Número 5,560,490, está con ello incorporada por referencia en su totalidad, describe un envase sellado ejemplar para medicamentos.

Composiciones con Densidad Mejorada

Los solicitantes han encontrado sorprendentemente que las composiciones con mayor densidad se pueden obtener aplicando suficiente presión a composiciones que tienen la Forma I (descrita abajo) para inducir una transición a la Forma II (descrita abajo). Por ejemplo, aplicando 3 toneladas de fuerza por 90 minutos a las Formas I y II proporcionando densidades de $1,197 \text{ kg/m}^3$ y $1,001 \text{ kg/m}^3$, respectivamente. De manera sorprendente, la Forma I es convertida a la Forma II bajo estas condiciones; por lo tanto la mayor densidad parece ser explicada por las diferentes formas cristalinas como el material de partida.

Por consiguiente, descritos en la presente están métodos para incrementar la densidad de la composición de fenilacetato de L-ornitina que tiene la Forma I aplicando presión a la composición suficiente para inducir una transición a la Forma II. La cantidad apropiada de fuerza o presión para inducir el cambio de fase puede variar con la cantidad de tiempo que la fuerza o presión se aplica. De este modo, una persona de habilidad ordinaria, guiada por las enseñanzas de la presente solicitud, puede determinar cantidades apropiadas de presión y tiempo para inducir el cambio de fase. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente 1 ton de fuerza se aplica (preferiblemente al menos aproximadamente 2 toneladas, y más preferiblemente aproximadamente 3 toneladas). En algunas realizaciones, al menos aproximadamente 500 psi (3447,3 KPa) de presión se aplica (preferiblemente al menos aproximadamente 1000 psi (6894,7 KPa), y más preferiblemente al menos aproximadamente 2000 psi(13789,5 KPa)).

La cantidad de tiempo para aplicar la presión no está particularmente limitada, y como se discute anteriormente, variará dependiendo de la cantidad de tiempo. Por ejemplo, cuando se aplican grandes fuerzas (por ejemplo, 10 toneladas) a un punzón de tamaño de tableta, el tiempo puede ser aproximadamente 1 segundo o menos. En algunas realizaciones, el tiempo para aplicar presión es un tiempo predeterminado. El tiempo puede ser, por ejemplo, aproximadamente 0,1 segundos; aproximadamente 1 segundo; al menos aproximadamente 1 minuto; al menos aproximadamente 5 minutos; o al menos aproximadamente 20 minutos.

En algunas realizaciones aquí descritas, la composición incluye al menos aproximadamente 10% en peso de la Forma I. En algunas realizaciones, la composición incluye al menos aproximadamente 30% en peso de la Forma I.

Sin ser ligado por cualquier teoría particular, los Solicitantes creen que la mayor densidad puede resultar, al menos en parte, del componente solvato de etanol presente en la Forma I. Aplicar presión al solvato puede facilitar formar una estructura más densa con algunos defectos (por ejemplo, límites de grano). Consecuentemente, en algunas realizaciones, métodos para incrementar la densidad de una composición de fenilacetato de L-ornitina que tiene componentes solvatos incluye aplicar presión a la composición suficiente para inducir una transición a la Forma II. En algunas realizaciones, la presión es al menos aproximadamente 500 psi(3447,3 KPa) (preferiblemente al menos aproximadamente 1000 psi (6894,7 KPa), y más preferiblemente al menos aproximadamente 2000 psi(13789,5 KPa)). En algunas realizaciones, el tiempo para aplicar presión es un tiempo predeterminado. En algunas realizaciones, la composición incluye al menos aproximadamente 10% de la forma de solvato (preferiblemente al menos aproximadamente 30%, y más preferiblemente al menos aproximadamente 50%).

Las composiciones de fenilacetato de L-ornitina descritas en la presente pueden por lo tanto tener densidades superiores comparadas con las composiciones obtenidas mediante, por ejemplo, precipitar una forma cristalina. En algunas realizaciones, la composición tiene una densidad de al menos aproximadamente 1,1 kg/m³ (preferiblemente al menos aproximadamente 1,15 kg/m³, y más preferiblemente al menos aproximadamente 1,18 kg/m³). En algunas realizaciones, la composición tiene una densidad de no más de aproximadamente 1,3 kg/m³ (preferiblemente no más de aproximadamente 1,25 kg/m³, y más preferiblemente no más de aproximadamente 1,22 kg/m³). En algunas realizaciones, la composición tiene una densidad de aproximadamente 1,2 kg/m³.

Formas Cristalinas de Fenilacetato de L-ornitina

También descritas en la presente están formas cristalinas de fenilacetato de L-ornitina, y en particular, Forma I, Forma II, Forma III, y Forma V cristalinas. El fenilacetato de L-ornitina puede, en algunas realizaciones, obtenerse usando los procesos descritos anteriormente y después cristalizados usando cualquiera de los métodos descritos en la presente.

Forma I

Las condiciones precisas para formar la Forma I cristalina pueden ser empíricamente determinadas y es solamente posible para dar un número de métodos los cuales se han encontrado por ser adecuados en la práctica.

De este modo, por ejemplo, la Forma I cristalina puede en general obtenerse cristalizando el fenilacetato de L-ornitina bajo condiciones controladas. Como un ejemplo, se precipita el fenilacetato de L-ornitina de una solución saturada agregando etanol a temperaturas reducidas (por ejemplo, 4° o -21° C). Solventes ejemplares para la solución que proporcionan la Forma I cristalina después de agregar etanol incluyen, pero no se limitan a, ciclohexanona, 1- propanol, dimetilcarbonato, N-metilpirrolidina (NMP), dietil éter, 2-butanol, cumeno, etil formiato, acetato de isobutilo, 3-netil-l-butanol, y anisol.

Por consiguiente, en el contexto del proceso para elaborar el fenilacetato de L-ornitina descrito anteriormente, el proceso puede proporcionar la Forma I utilizando métodos de aislamiento particulares. Por ejemplo, el fenilacetato de L-ornitina puede ser aislado agregando etanoles a temperatura reducida para proporcionar la Forma I.

La Forma I cristalina se caracteriza usando varias técnicas las cuales se describen en más detalle en la sección de métodos experimentales. La FIGURA 1 muestra la estructura cristalina de la Forma I como se determina por

difracción en polvo de rayos-X (XRPD). La Forma I, la cual se puede obtener por los métodos descritos anteriormente, exhibe picos característicos hasta aproximadamente 4,9°, 13,2°, 17,4°, 20,8° y 24,4° 2 θ . De este modo, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina tiene uno o más picos característicos (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro o cinco picos característicos) seleccionados de aproximadamente 4,9°, 13,2°, 17,4°, 20,8°, 24,4° 2 θ .

Como es bien entendido en la técnica, debido a la variabilidad experimental cuando los patrones de difracción de rayos-X son medidos en diferentes instrumentos, las posiciones pico son asumidas por ser iguales si los valores dos teta (2 θ) se agregan dentro de 0,2° (es decir, \pm 0,2°). Por ejemplo, la Farmacopea Estadounidense declara que si el ajuste angular de los 10 picos de difracción más fuerte se agrega dentro de \pm 0,2° con aquel de un material de referencia, y las intensidades relativas de los picos no varían por más de 20%, se confirma la identidad. Por consiguiente, posiciones pico dentro de 0,2° de las posiciones mencionadas en la presente se asumen por ser idénticas.

La FIGURA 2 muestra resultados obtenidos por calorimetría de exploración diferencial (DSC) para la Forma I. Estos resultados indican un endoterma a 35° C, el cual está posiblemente asociado con una desolvatación y/o deshidratación a la Forma II. Una segunda transición hasta aproximadamente 203° C indica el punto de fusión para el cristal. Para explorar la existencia posible de una transición de desolvatación y/o degradación, la Forma I se analizó por análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos (TG/DTA), los cuales se muestran en la FIGURA 3. La Forma I exhibe una pérdida de 11,28% en peso a aproximadamente 35° C, y por lo tanto estos resultados además sugieren que la Forma I exhibe una transición de desolvatación y/o deshidratación a aproximadamente 35° C. El punto de fusión de aproximadamente 203° C también podría ser observado por pruebas de TGA. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina se caracteriza por calorimetría de exploración diferencial ya que tiene un endoterma a aproximadamente 35° C. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe una pérdida de peso de aproximadamente 11% a aproximadamente 35° C, como se determina por TGA. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe un punto de fusión de aproximadamente 203° C.

La FIGURA 4 muestra integrales de resonancia magnética nuclear (NMR) y cambios químicos para la Forma I. Las integrales confirman la presencia de fenilacetato de L-ornitina: 7,5 (CH aromático), 3,8 (CH adyacente a NH₂), 3,6 (CH₂ unidad de fenil acetato), 3,15 (CH₂ adyacente a NH₂) y 1,9 (unidades alifáticas CH₂) ppm (integrales: 5:1:2:2:4 protones; 1,2, 0,25, 0,5, 0,5, 1,0). No se observaron protones amina y protones hidroxilo debido al intercambio de protón en tanto el zwitterión como el sitio de formación de sal. Mientras tanto, la FIGURA 5 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico (DVS) para la Forma I, y muestra una absorción de agua de aproximadamente 0,2% en peso. Los resultados de XRPD después de análisis de DVA (no mostrado) confirman que la Forma I no transiciona a un polimorfo diferente. La Forma I puede por lo tanto ser caracterizada como no higroscópica y estable durante un amplio intervalo de humedad.

Al día 7 de estudio de estabilidad de la Forma I a 40°C/75%RH se indica que una transformación a la Forma II ocurre bajo estas condiciones. La Forma I también se convierte a la Forma II a temperaturas elevadas (por ejemplo, 80° o 120° C), con o sin aplicar un vacío, después de 7 o 14 días. Por consiguiente, la Forma I es metastable.

También se usó difracción de rayos-X de cristal único (SXRD) para determinar la estructura de la Forma I a -20° y -123° C, y los resultados son resumidos en las TABLAS 1 y 2. Los resultados confirman que la Forma I es un solvato que tiene moléculas de agua y etanol dentro de la unidad de célula. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina puede ser representada por la fórmula C₁₅H₂₈N₂O₆. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina puede ser representada por la fórmula [CsHnN₂O₂][C₈H₇O₂]EtOH₁H₂O. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe un análisis cristalográfico de rayos-X de cristal único con parámetros de cristal aproximadamente igual a los siguientes: dimensiones de unidad de célula de a=5,3652(4) Å, b=7,7136(6) Å, c=20,9602(18) Å, α =90°, β =94,986(6)°, γ =90°; un sistema de cristal monoclinico, y un grupo de espacio P2₁.

| | |
|--|--|
| <u>Fórmula empírica</u> | C ₁₅ H ₂₈ N ₂ O ₆ o [C ₅ H ₁₃ N ₂ O ₂][C ₈ H ₇ O ₂]EtOH.H ₂ O |
| <u>Peso de Fórmula</u> | 332,39 |
| <u>Sistema de cristal</u> | monoclinico |
| <u>Grupo de espacio</u> | P2 ₁ |
| <u>Dimensiones de unidad de célula</u> | a=5,3652(4) Å, α =90°, b=7,7136(6) Å, β =94,986(6)°, c=20,9602(18) Å, γ =90 |
| <u>Volumen</u> | 864,16(12)Å ³ |
| <u>Número de reflexiones</u> | 1516 (2,5°< θ <28°) |
| <u>Densidad (calculada)</u> | 1,277 mg/cm ³ |

5

TABLA 2 - Datos Cristalográficos de la Forma I Recolectados a -123°C

| | |
|---------------------------------|--|
| Fórmula empírica | C ₁₅ H ₂₈ N ₂ O ₆ o [C ₅ H ₁₃ N ₂ O ₂] ₂ [C ₈ H ₇ O ₂] ₂ EtOH.H ₂ O |
| Peso de Fórmula | 332,39 |
| Sistema de cristal | monoclínico |
| Grupo de espacio | P21 |
| Dimensiones de unidad de célula | a=5,3840(9) Å, α=90°, b=7,7460(12) Å, β=95,050(12)°, c=21,104(4) Å, γ=90° |
| Volumen | 864,16(3) Å ³ |
| Número de reflexiones | 1477 (2,5° < θ < 18°) |
| Densidad (calculada) | 1,259 mg/cm ³ |

10

15

20

25

Forma II

30

Las condiciones precisas para formar la Forma I cristalina pueden ser empíricamente determinadas y es solamente posible para dar un número de métodos los cuales se han encontrado por ser adecuados en la práctica.

35

De este modo, por ejemplo, la Forma I cristalina puede ser preparada por cristalización bajo condiciones controladas. La Forma I cristalina puede ser preparada mediante, por ejemplo, evaporar una solución orgánica saturada de fenilacetato de L-ornitina. Ejemplos no limitantes de soluciones orgánicas que se pueden usar para obtener la Forma II incluyen etanol, acetona, benzonitrilo, diclorometano (DCM), dimetil sulfóxido (DMSO), acetato de etilo (EtOAc), acetonitrilo (MeCN), acetato de metilo (MeOAc), nitrometano, terc-butil metil éter (TBME), tetrahidrofurano, y tolueno. Otros solventes pueden proporcionar una mezcla de la Forma I y II, tal como, pero no limitado a, 1,4 dioxano, 1-butanol, ciclohexano, IPA, THF, MEK, MeOAc y agua.

40

45

La Forma II también se puede obtener precipitando el fenilacetato de L-ornitina a partir de una solución orgánica saturada agregando un anti-solvente para el fenilacetato de L-ornitina, como IPA. La Forma II puede ser precipitada sobre un intervalo amplio de temperaturas (por ejemplo, temperatura ambiente, 4° C, y -21° C). Ejemplos no limitantes de solventes adecuados para la solución orgánica saturada incluyen ciclohexanona, 1-propanol, dimetil carbonato, N-metilpirrolidona (NMP), diisopropil éter, dietil éter, etilen glicol, dimetilformamida (DMF), 2-butanol, cumeno, acetato de isobutilo, 3-metil-1-butanol, y anisol. Alternativamente, los mismos solventes listados (por ejemplo, ciclohexanona) pueden ser usados para formar una solución de fenilacetato de L-ornitina, y la Forma II puede ser precipitada agregando etanol a condiciones ambientales. Como otro ejemplo, la Forma II puede ser también obtenida formando una suspensión de fenilacetato de L-ornitina con los solventes orgánicos listados y someter a ciclos la temperatura entre 25° y 40° C cada 4 horas por aproximadamente 18 ciclos (o 72 horas).

50

55

Por consiguiente, en el contexto de los procesos para elaborar el fenilacetato de L-ornitina descrito anteriormente, el proceso puede proporcionar la Forma II utilizando métodos de aislamiento particulares. Por ejemplo, el fenilacetato de L-ornitina puede ser aislado agregando IPA, o evaporando el solvente orgánico, para proporcionar la Forma II.

60

La FIGURA 6 muestra la estructura cristalina de la Forma II como se determina por XRPD. La Forma II, la cual se puede obtener por los métodos descritos anteriormente, exhibe picos característicos hasta aproximadamente 6,0°, 13,9°, 14,8°, 17,1°, 17,8° y 24,1° 2θ. De este modo, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina tiene uno o más picos característicos (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis picos característicos) seleccionados de aproximadamente 6,0°, 13,9°, 14,8°, 17,1°, 17,8° y 24,12° θ.

La FIGURA 7 muestra resultados obtenidos por calorimetría de exploración diferencial (DSC) para la Forma II. Estos resultados indican un punto de fusión de aproximadamente 202° C, el cual es aproximadamente el mismo como el punto de fusión para la Forma I. Esto sugiere que la Forma I transiciona a la Forma II después del calentamiento

arriba de aproximadamente 35° C. La Forma II también se analizó usando TG/DTA, como se muestra en la FIGURA 8, y exhibe una pérdida de peso de aproximadamente 9,7% asociada con el solvente residual. El punto de fusión de aproximadamente 202° C podría también ser observado por pruebas TGA. Por consiguiente, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe un punto de fusión de aproximadamente 202° C.

Un estudio de estabilidad al día 7 de la Forma II a 40°C/75%RH falla para producir un cambio de fase observable. En efecto, la Forma II fue estable durante 14 días cuando se expone a temperaturas elevadas, variando pH, luz UV u oxígeno. Por consiguiente, la Forma II es considerada estable.

La FIGURA 9 muestra integrales de resonancia magnética nuclear (NMR) y cambios químicos para la Forma II. Las integrales confirman la presencia de fenilacetato de L-ornitina: 7,5 (CH aromático), 3,8 (CH adyacente a NH₂), 3,6 (CH₂ unidad de fenil acetato), 3,15 (CH₂ adyacente a NH₂) y 1,9 (unidades alifáticas CH₂) ppm (integrales: 5: 1:2:2:4 protones; 7,0, 1,4, 2,9, 3,0, 5,9). No se observaron protones amina y protones hidroxilo debido al intercambio de protón en tanto el zwitterión como el sitio de formación de sal. Mientras tanto, La FIGURA 10 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico (DVS) para la Forma II, y muestra una absorción de agua de aproximadamente 0,3% en peso. Los resultados de XRPD después del análisis de DVA (no mostrado) confirman que la Forma II no transiciona a un polimorfo diferente. La Forma II puede por lo tanto ser caracterizada como no higroscópica y estable sobre un amplio intervalo de humedad.

También se usó difracción de rayos-X de cristal único (SXRD) para determinar la estructura de la Forma II a 23° y -123° C, y los resultados se resumen en las TABLAS 3 y 4. Los resultados demuestran que la Forma II es anhidra y por lo tanto estructuralmente diferente de la Forma I. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina puede ser representada por la fórmula C₁₃H₂₀N₂O₄. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina puede ser representada por la fórmula [C₅H₁₃N₂O₂][C₈H₇O₂]. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe un análisis cristalográfico de rayos-X de cristal único con parámetros de cristal aproximadamente igual a los siguientes: dimensiones de unidad de célula de a = 6,594(2) Å, α = 90°, b = 6,5448(18) Å, β = 91,12(3)°, c = 31,632(8) Å, γ = 90°; un sistema de cristal monocíclico; y un grupo de espacio P2₁.

TABLA 3 - Datos Cristalográficos de la Forma II Recolectados a -23°C

| | |
|---------------------------------|--|
| Fórmula empírica | C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₄ o [C ₅ H ₁₃ N ₂ O ₂][C ₈ H ₇ O ₂] |
| Peso de Fórmula | 268,31 |
| Sistema de cristal | monoclínico |
| Grupo de espacio | P2 ₁ |
| Dimensiones de unidad de célula | a = 6,594(2) Å, α = 90°, b = 6,5448(18) Å, β = 91,12(3)°, c = 31,632(8) Å, γ = 90° |
| Volumen | 1364,97(7)Å ³ |
| Número de reflexiones | 3890 (3° < θ < 20,5°) |
| Densidad (calculada) | 1,306 mg/cm ³ |

TABLA 4 - Datos Cristalográficos de la Forma II Recolectados a -123°C

| | |
|---------------------------------|--|
| Fórmula empírica | C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₄ o [C ₅ H ₁₃ N ₂ O ₂][C ₈ H ₇ O ₂] |
| Peso de Fórmula | 332,39 |
| Sistema de cristal | monoclínico |
| Grupo de espacio | P2 ₁ |
| Dimensiones de unidad de célula | a=5,3652(4) Å, α=90°, b=7,7136(6) Å, β=94,986(6)°, c=20,9602(18) Å, γ=90 |
| Volumen | 864,16(3)Å ³ |
| Número de reflexiones | 1516 (2,5° < θ < 28°) |
| Densidad (calculada) | 1,277 mg/cm ³ |

Forma III

Las condiciones precisas para formar la Forma III cristalina pueden ser empíricamente determinadas y es solamente posible para dar un número de métodos los cuales se han encontrado por ser adecuados en la práctica.

De este modo, por ejemplo, la Forma III se puede obtener colocando una solución saturada de fenilacetato de L-ornitina en ambiente de temperatura enfriada de aproximadamente -21°C , donde la solución es una mezcla de acetona y agua (por ejemplo, volumen de partes iguales de acetona y agua). Como otro ejemplo, agregar IPA a una solución saturada de fenilacetato de L-ornitina en 2-butanol puede proporcionar la Forma III cuando se completa a condiciones ambientales. Además, la Forma III se puede obtener, por ejemplo, agregando IPA a una solución saturada de fenilacetato de L-ornitina en isobutil acetato cuando se completa a temperaturas reducidas de aproximadamente -21°C .

Por consiguiente, en el contexto de los procesos para elaborar el fenilacetato de L-ornitina descrito anteriormente, el proceso puede proporcionar la Forma III utilizando solventes particulares y métodos de aislamiento. Por ejemplo, el fenilacetato de L-ornitina puede ser formado dentro de una mezcla de acetona y agua, y subsecuentemente colocado en un ambiente enfriado de aproximadamente -21°C para proporcionar la Forma III.

La FIGURA 11 muestra la estructura cristalina de la Forma III como se determina por XRPD. La Forma III, la cual se puede obtener por los métodos descritos anteriormente, exhibe picos característicos hasta aproximadamente $5,8^{\circ}$, $14,1^{\circ}$, $18,6^{\circ}$, $19,4^{\circ}$, $22,3^{\circ}$ y $24,8^{\circ} 2\theta$. De este modo, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina tiene uno o más picos característicos (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis picos característicos) seleccionados de aproximadamente $5,8^{\circ}$, $14,1^{\circ}$, $18,6^{\circ}$, $19,4^{\circ}$, $22,3^{\circ}$ y $24,8^{\circ} 2\theta$.

La FIGURA 12 muestra resultados obtenidos por calorimetría de exploración diferencial (DSC) para la Forma III. Estos resultados indican un punto de fusión de aproximadamente 203°C , el cual es aproximadamente el mismo como el punto de fusión para la Forma I y Forma II. Adicionalmente, la Forma III exhibe un endoterma a aproximadamente 40°C . La Forma III también se analizó usando TG/DTA, como se muestra en la FIGURA 13, y no exhibe pérdida de peso significativa antes del punto de fusión. La Forma III puede por lo tanto ser caracterizada como anhidra. El punto de fusión de aproximadamente 203°C podría también ser observado por pruebas TGA. Por consiguiente, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe un punto de fusión de aproximadamente 203°C . En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina se caracteriza por calorimetría de exploración diferencial ya que tiene un endoterma a aproximadamente 40°C . En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina es anhidra.

Un estudio de estabilidad al día 7 de la Forma III a $40^{\circ}\text{C}/75\%\text{RH}$ indica que una transformación a la Forma II ocurre bajo estas condiciones. Por el contrario, la Forma II es estable a temperaturas elevadas, con o sin vacío, por periodos de 7 o 10 días. Por consiguiente, la Forma III es muy probablemente metastable, pero más estable que la Forma I.

La FIGURA 14 muestra integrales de resonancia magnética nuclear (NMR) y cambios químicos para la Forma III. Las integrales confirman la presencia de fenilacetato de L-ornitina: 7,5 (CH aromático), 3,8 (CH adyacente a NH_2), 3,6 (CH₂ unidad de fenil acetato), 3,15 (CH₂ adyacente a NH_2) y 1,9 (unidades alifáticas CH₂) ppm (integrales: 5:1:2:2:4 protones; 4,2, 0,8, 1,7, 1,7, 3,0). No se observaron protones amina y protones hidroxilo debido al intercambio de protón en tanto el zwitterión como el sitio de formación de sal. Mientras tanto, La FIGURA 15 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico (DVS) para la Forma III, y muestra una absorción de agua de aproximadamente 2,0% en peso. Los resultados de XRPD después del análisis de DVS (no mostrado) confirman que la Forma III no transiciona a un polimorfo diferente. La Forma III por lo tanto exhibe mayor absorción de agua comparada con las Formas I y II; sin embargo la Forma III es todavía caracterizada como no higroscópica y estable sobre un amplio intervalo de humedad a temperatura ambiente.

Forma V

Las condiciones precisas para formar la Forma V cristalina pueden ser empíricamente determinadas y es solamente posible para dar un número de métodos los cuales se han encontrado por ser adecuados en la práctica.

De este modo, por ejemplo, la Forma V se puede obtener colocando una solución saturada de fenilacetato de L-ornitina en un ambiente de temperatura enfriada de aproximadamente -21°C , donde la solución es ciclohexanona. Como otro ejemplo, la misma solución saturada puede proporcionar la Forma V cuando se evapora el solvente.

La Forma V también se forma de soluciones saturadas de fenilacetato de L-ornitina que tienen diisopropil éter como un solvente. Por ejemplo, una solución saturada que tiene una relación de solvente de aproximadamente 1 a 2 de diisopropil éter y IPA proporcionará la Forma V cuando se coloca en un ambiente de temperatura enfriado de

aproximadamente 4° C. De manera similar, una solución que tiene solamente el solvente diisopropil éter puede proporcionar la Forma V cuando se coloca en un ambiente de temperatura elevada de aproximadamente -21° C.

La FIGURA 16 muestra la estructura cristalina de la Forma V como se determina por XRPD. La Forma V, la cual se puede obtener por los métodos descritos anteriormente, exhibe picos característicos hasta aproximadamente 13,7°, 17,4°, 19,8°, 20,6° y 23,7° 2θ. De este modo, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina tiene uno o más picos característicos (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, o cinco picos característicos) seleccionados de aproximadamente 13,7°, 17,4°, 19,8°, 20,6° y 23,7° 2θ.

La FIGURA 17 muestra resultados obtenidos por calorimetría de exploración diferencial (DSC) para la Forma V. Estos resultados indican un punto de fusión de aproximadamente 196° C, el cual está por debajo del punto de fusión de otras formas. La Forma V también exhibe un endoterma a aproximadamente 174° C. La Forma V también se analizó usando análisis térmico gravimétrico (TGA), como se muestra en la FIGURA 18, y no exhibe pérdida de peso significativa antes del punto de fusión. La Forma V puede por lo tanto ser caracterizada como anhidra. El punto de fusión de aproximadamente 196° C podría también ser observado por pruebas TGA. Por consiguiente, en algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina exhibe un punto de fusión de aproximadamente 196° C. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina se caracteriza por calorimetría de exploración diferencial ya que tiene un endoterma a aproximadamente 174° C. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina es anhidra.

La FIGURA 19 muestra integrales de resonancia magnética nuclear (NMR) integrales y cambios químicos para la Forma V. Las integrales confirman la presencia de fenilacetato de L-ornitina: 7,5 (CH aromático), 3,8 (CH adyacente a NH₂), 3,6 (CH₂ unidad de fenil acetato), 3,15 (CH₂ adyacente a NH₂) y 1,9 (unidades alifáticas CH₂) ppm (integrales: 5: 1 :2:2:4 protones; 4,2, 0,8, 1,7, 1,7, 3,0). No se observaron protones amina y protones hidroxilo debido al intercambio de protón en tanto el zwitterión como el sitio de formación de sal. Mientras tanto, La FIGURA 19 muestra resultados de adsorción de vapor dinámico (DVS) para la Forma V, y muestra una absorción de agua de aproximadamente 0,75% en peso. Los resultados de XRPD después del análisis de DVS (no mostrado) sugieren que la Forma V transiciona a la Forma II, pero la composición química está sin cambio. La Forma V es por lo tanto caracterizada como no higroscópica, pero no estable sobre un amplio intervalo de humedad.

Un estudio de estabilidad al día 7 de la Forma V a 40°C/75%RH indica que la transformación a la Forma II ocurre bajo estas condiciones; sin embargo la composición química está sin cambio. Por consiguiente, la Forma V es muy probablemente metastable.

Métodos para Tratar Descompensación Hepática o Encefalopatía hepática

El fenilacetato de L-ornitina, y por consiguiente cualquiera de las composiciones de fenilacetato de L-ornitina descritas en la presente, puede ser administrado a un sujeto para tratar o aliviar el comienzo de descompensación hepática o encefalopatía hepática. El fenilacetato de L-ornitina puede de este modo ser administrado para mejorar la condición de un sujeto, por ejemplo un sujeto que sufre de enfermedad hepática crónica después de un evento precipitante. Como otro ejemplo, el fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para combatir o retardar el comienzo de descompensación hepática o encefalopatía hepática.

El Fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado en combinación a un sujeto para tratamiento de encefalopatía hepática. El fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para mejorar la condición de un paciente que sufre de encefalopatía hepática. El fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para aliviar los síntomas asociados con encefalopatía hepática. El fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para combatir encefalopatía hepática. El fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para prevenir o reducir la probabilidad de un episodio encefalopático hepático inicial en una persona en riesgo de episodios encefalopáticos hepáticos. El fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para disminuir la severidad de un episodio ecefalopático hepático inicial en una persona en riesgo de episodios encefalopáticos hepáticos. El fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado para retardar un episodio ecefalopático hepático inicial en una persona en riesgo de episodios encefalopáticos hepáticos.

El desarrollo de descompensación hepática y encefalopatía hepática involucra comúnmente "eventos precipitantes" (o "ataques agudos"). Tales eventos precipitantes incluyen sangrado gastrointestinal, infección (sepsia), trombosis de vena portal y deshidratación. El comienzo de tal ataque agudo es probablemente para conducir a hospitalización. El paciente puede sufrir de uno de estos ataques agudos o una combinación de estos ataques agudos.

Un sujeto quien ha tenido o es sospechoso de que tiene un ataque agudo se trata de conformidad con la invención con el fenilacetato de L-ornitina para prevenir o reducir la probabilidad de progreso del hígado al estado descompensado. Consecuentemente, el fenilacetato de L-ornitina puede prevenir o reducir la probabilidad de las consecuencias médicas de descompensación hepática tal como encefalopatía hepática. El fenilacetato de L-ornitina se puede usar para preservar la función hepática. El uso de fenil acetato de L-ornitina puede de este modo

extender la vida de un paciente con enfermedad hepática. En una modalidad, las consecuencias metabólicas de un sangrado gastrointestinal tal como hiperamonemia, hiposoleucemia y síntesis de proteína reducida en el periodo post-sangrado son prevenidas.

5 Típicamente, el tratamiento de sujetos puede comenzar tan pronto como sea posible después del comienzo o el comienzo sospechoso de un evento precipitante (ataque agudo). Preferiblemente, el tratamiento del sujeto comienza previo a ataques agudos repetidos. Más preferiblemente, el tratamiento del sujeto comienza después del primer ataque agudo. De este modo, en algunas realizaciones, el sujeto tratado con el fenilacetato de L-ornitina se identifica por tener el comienzo o el comienzo sospechoso de un evento precipitante (ataque agudo).

10 El tratamiento se da típicamente prontamente después del inicio de un ataque agudo. El tratamiento puede comenzar después de que se ha detectado el(los) síntoma(s) de un ataque agudo o ataque agudo sospechoso por ejemplo, por un médico tal como un especialista, un paramédico o una enfermera. El tratamiento puede comenzar después de la hospitalización del sujeto. El tratamiento puede de este modo comenzar dentro de 6 horas, dentro de 3 horas, dentro de 2 horas o dentro de 1 hora después que se ha detectado el(los) síntoma(s) de un ataque agudo o ataque agudo sospechoso. El tratamiento del sujeto puede por lo tanto comenzar de 1 a 48 horas, por ejemplo de 1 a 36 horas o de 1 a 24 horas después que se ha detectado el(los) síntoma(s) de un ataque agudo o ataque agudo sospechoso.

15 El tratamiento puede ocurrir por hasta 8 semanas, por ejemplo hasta 6 semanas, hasta 4 semanas o hasta 2 semanas después que se ha detectado el(los) síntoma(s) de un ataque agudo o ataque agudo sospechoso. El tratamiento puede por lo tanto ocurrir por hasta 48 horas, por ejemplo por hasta 36 horas o por hasta 24 horas después que se ha detectado el(los) síntoma(s) de un ataque agudo o ataque agudo sospechoso. Típicamente, el tratamiento ocurre con el tiempo cuando la recuperación del evento precipitante agudo es evidente.

20 También se puede usar fenilacetato de L-ornitina para tratar o aliviar hiperamonemia. De este modo, el fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado a pacientes identificados porque ya tienen niveles en exceso de amoníaco en la sangre, o pacientes que exhiben síntomas de exceso de amoníaco en la sangre. El fenilacetato de L-ornitina puede ser también administrado para reducir el riesgo de hiperamonemia. En algunas realizaciones, el fenilacetato de L-ornitina puede ser administrado diariamente, por un periodo indefinido de tiempo. Por ejemplo, las dosificaciones diarias pueden ser administradas por la vida del paciente, o hasta que un especialista determina si el paciente no exhibe más un riesgo de hiperamonemia. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente efectiva del fenilacetato de L-ornitina se administra para reducir el riesgo de hiperamonemia. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente efectiva de fenilacetato de L-ornitina es administrada oralmente para la profilaxis de hiperamonemia.

25 Una cantidad terapéuticamente efectiva del fenilacetato de L-ornitina se administra al sujeto. Como será fácilmente aparente para un experto en la técnica, la dosificación *in vivo* útil para ser administrada y el modo particular de administración variarán dependiendo de la edad, peso, la severidad de la afección y especies de mamíferos tratadas, los compuestos particulares empleados, y el uso específico para el cual estos compuestos son empleados. (Véase por ejemplo, Fingl et al. 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", con referencia particular a Ch. 1, p. 1). La determinación de niveles de dosificación efectivos, que son los niveles de dosificación necesarios para lograr el resultado deseado, pueden ser realizados por un experto en la técnica usando métodos farmacológicos de rutina. Típicamente, aplicaciones clínicas humanas de productos son comenzadas a niveles de dosificación inferior, con niveles de dosificación siendo incrementados hasta que se logra el efecto deseado. Alternativamente, estudios *in vitro* aceptables pueden ser usados para establecer dosis útiles y rutas de administración de las composiciones identificadas por los presentes métodos usando métodos farmacológicos establecidos.

30 Una dosis típica de fenilacetato de L-ornitina puede ser desde aproximadamente 0,02 hasta aproximadamente 1,25 g/kg de peso corporal (preferiblemente desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 0,6 g/kg de peso corporal). Una dosificación puede por lo tanto ser desde aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 50 g (preferiblemente aproximadamente 5 g hasta aproximadamente 40 g, y más preferiblemente aproximadamente 10 g hasta aproximadamente 30 g).

35 Una dosis diaria única puede ser administrada. Alternativamente, dosis múltiples, por ejemplo dos, tres, cuatro o cinco dosis pueden ser administradas. Tales dosis múltiples pueden ser administradas durante un periodo de un mes o dos semanas o una semana. En algunas realizaciones, una dosis única o dosis múltiples tal como dos, tres, cuatro o cinco dosis pueden ser administradas diariamente.

EJEMPLOS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

40 Se describen modalidades adicionales en detalle adicional en los siguientes ejemplos. Realizaciones que caen fuera del ámbito de las reivindicaciones se incluyen para fines de referencia.

Difracción en Polvo de Rayos X (XRPD)

- 5 Se llevó a cabo el análisis XRPD en un Bruker D8 advance o Seimens D5000, se exploraron las muestras entre 4° y 50° 2 θ . En modalidades que usan el dispositivo Bruker D8, aproximadamente 5 mg de una muestra fue suavemente comprimida en el soporte de muestra de placa de 96 cavidades única de tierra negra cero XRPD. La muestra después se cargó en un Difractómetro Bruker D8-Discover en forma de transmisión y analizada usando las siguientes condiciones experimentales.

| | |
|--------------------------------------|-------------------------|
| Operador | D8-Discover |
| Origen de Datos en Bruto | BRUKER-binary V3 (.RAW) |
| Ejes de Exploración | Gonio |
| Posiciones de Partida [°2 θ] | 4,0000 |
| Posición Final [°2 θ] | 49,9800 |
| Tamaño de Etapa [°2 θ] | 0,0200 |
| Tiempo de Etapa de Exploración[s] | 39,1393 |
| Tipo de Exploración | Continuo |
| Desfase [°2 θ] | 0,0000 |
| Tipo de ranura de divergencia | Fija |
| Tamaño de Ranura de Divergencia | 2,0000 |

ES 2 652 187 T3

| | |
|-------------------------------------|--------------|
| Longitud de espécimen [mm] | 10,00 |
| Tamaño de Ranura de recepción[mm] | 0,1000 |
| Temperatura de medición [°C] | 25,00 |
| Material de Ánodo | Cu |
| K-Alfa1 [Å] | 1,54060 |
| K-Alfa2 [Å] | 1,54443 |
| K-Beta [Å] | 1,39225 |
| Proporción K-A2/K-A1 | 0,50000 |
| Ajustes del Generador | 40 mA, 40 kV |
| Tipo de Difractómetro | Desconocido |
| Número de Difractómetro | 0 |
| Radio Geniómetro [mm] | 250,00 |
| Enfoque de Dist.-Ranura Diverg [mm] | 91,00 |
| Monocromador de Haz Incidental | No |
| Rotación | No |

5 En algunas realizaciones usando el dispositivo Seimens D5000, aproximadamente 5 mg de la muestra fue suavemente comprimida en un portaobjetos de vidrio que contiene una capa delgada de grasa de soporte. La muestra después se cargó en un Difractómetro Seimens D50000 que corre en forma de reflexión y se analiza, mientras gira, usando las siguientes condiciones experimentales.

10

| | |
|---------------------------|--------------------------|
| Origen de Datos en Bruto | Siemens-binary V2 (.RAW) |
| Posición de Partida [°2θ] | 3,0000 |
| Posición Final [°2θ] | 50,000 |

| | |
|---|-------------------|
| Tamaño de Etapa [$^{\circ}2\theta$] | 0,0200 |
| Tiempo de Etapa de Exploración[s] | 0,8 |
| Tipo de Exploración | Continuo |
| Desfase [$^{\circ}2\theta$] | 0,0000 |
| Tipo de ranura de divergencia | Fija |
| Tamaño de Ranura de Divergencia | 1,0000 |
| Longitud de espécimen [mm] | Variado |
| Tamaño de Ranura de recepción[mm] | 0,2000 |
| Temperatura de medición [$^{\circ}C$] | 20,00 |
| Material de Ánodo | Cu |
| K-Alfa1 [Å] | 1,54060 |
| K-Alfa2 [Å] | 1,54443 |
| K-Beta [Å] | 1,39225 |
| Proporción K-A2/K-A1 | 0,50000 (nominal) |
| Ajustes del Generador | 40 mA, 40 kV |
| Tipo de Difractómetro | d5000 |
| Número de Difractómetro | 0 |
| Radio Geniómetro [mm] | 217,50 |
| Monocromador de Haz Incidental | No |
| Monocromador de Haz de Difracción | (Grafito) |
| Rotación | Si |

Difracción de Rayos X de Cristal Único (SXRD)

- 5 Todas las mediciones se llevaron a cabo usando un Difractómetro Buker Smart Apex que opera con radiación Mo-K α . A menos que se especifique de otra forma los datos se obtuvieron en imágenes 60 ω -explorador 10 s recolectadas en tres ajustes separados de 2θ y φ .

Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC)

- 10 Se pesaron aproximadamente 5 mg de la muestra en una charola DSC de aluminio y se selló con una tapa de aluminio perforado (no herméticamente). La charola de muestra entonces se cargó en un Seiko DSC6200 (equipado con un enfriador), se enfrió, y se mantuvo a 25 $^{\circ}C$. Una vez que se obtuvo la respuesta de flujo al estable, la muestra y la referencia después se calentaron hasta aproximadamente 250 $^{\circ}C$ a una velocidad de exploración de 10 $^{\circ}C$ /min y

la respuesta de flujo al calor resultante se monitoreó. Antes del análisis, el instrumento fue a la temperatura y se calibró el flujo de calor usando una referencia de Indio estándar. Se llevó a cabo en análisis de muestra por el software de medición Muse en donde las temperaturas de eventos térmicos son citados como la temperatura de inicio, se midió de conformidad con las especificaciones del fabricante.

5

Análisis Gravimétrico/Diferencial Térmico Termogravimétrico (TG/DTA)

Se pesaron aproximadamente 5 mg de la muestra en una charola de aluminio y se cargó en un analizador término termogravimétrico/diferencial térmico simultáneamente (DTA) y se mantuvo a temperatura ambiente. Las muestras después se calentaron a una velocidad de 10°C/min a partir de 25°C hasta 300°C durante lo cual se monitoreó el tiempo de carga en el peso de muestra junto con cualquier evento térmico (DTA). Se usó nitrógeno como el gas de purga, a una velocidad de flujo de 20 cm³/min. Antes del experimento el instrumento se pesó y se calibró la temperatura usando un peso de referencia de 100 mg y una referencia estándar de Indio, respectivamente.

10

Adsorción de Vapor Dinámica (DVS)

Se colocaron aproximadamente 10 mg de muestra en una charola de balanza de adsorción de vapor de malla de alambre y se cargó en una balanza de adsorción de vapor dinámica DVS-1 proporcionada por Scientific and Medical Systems (SMS). La muestra después se secó manteniendo un 0% de humedad ambiental hasta que no se registró cambio de peso adicional. La muestra entonces se sometió a un perfil incrementado de 0-90% de humedad relativa (RH) a 10% de incrementos, manteniendo la muestra en cada etapa hasta que se ha logrado un peso estable (99,5% de finalización de la etapa). Después de la finalización del ciclo de adsorción, la muestra después se secó usando el mismo procedimiento. El cambio en peso durante los ciclos adsorción/desorción entonces se trazaron, permitiendo que la naturaleza higroscópica de la muestra sea determinada.

20

25

Resonancia Magnética Nuclear ¹H (NMR)

Se realizó la ¹H NMR en un Bruker AC200. Se realizó una NMR en cada muestra en d-H₂O y cada muestra se preparó a aproximadamente 5 mg de concentración. Se proporcionaron los espectros de NMR para benzoato de L-ornitina y fenilacetato de L-ornitina en las FIGURAS 21 y 22, respectivamente.

30

Aproximaciones de Solubilidad

Se colocaron, aproximadamente porciones de 25 mg de la muestra en viales, se agregaron 5 incrementos de volumen del solvente apropiado. Entre cada adición, la mezcla se verificó para disolución y si no hay disolución aparente, la mezcla se calienta a 50°C, y se verifica nuevamente. El procedimiento se continuó hasta que se observó disolución o cuando se han agregado 100 volúmenes del solvente.

35

Determinaciones de Solubilidad por HPLC

40

Se prepararon suspensiones de cada solvente y las muestras se agitaron por aproximadamente 48 horas a 25°C. Cada muestra entonces se extrajo a través de un filtro, y lo filtrado se transfirió a un vial de HPLC para análisis. A partir de los datos, se determinó la solubilidad de fenilacetato de L-ornitina para cada solvente.

45

Experimentos de Ciclización de Temperatura

Usando la información reunida de las aproximaciones de solubilidad, se prepararon suspensiones de la muestra en 24 sistemas de solvente seleccionado. Las suspensiones están a temperatura de ciclización de 40°C o 25°C en ciclos de 4 horas por un periodo de 72 horas. Los sólidos se verificaron visualmente para cualquiera de los signos obvios de degradación (es decir, cambios de color) y después, si no se ha degradado, se aíslan por filtración. Los sólidos después se dejaron secar a condiciones ambientales por aproximadamente 24 horas antes del análisis.

50

Experimentos de Enfriamiento Forzoso

Se realizaron experimentos de enfriamiento forzado colocando soluciones saturadas de la muestra, en los 24 sistemas de solvente seleccionado, en ambientes de 4°C y -21°C por aproximadamente 48 horas. Se recuperó cualquier material sólido y los sólidos se dejaron secar en condiciones ambientales por aproximadamente 24 horas antes del análisis.

55

Experimentos de Evaporación

60

Se condujeron experimentos de evaporación permitiendo a las soluciones saturadas de la muestra evaporarse libremente en condiciones ambientales. El material sólido entonces se recuperó después que el material se ha evaporado a sequedad y se analizó.

65

Experimentos de Adición de Anti-solvente

Se condujeron experimentos de adición anti-solvente agregando anti-solvente a las soluciones saturadas de la muestra. La adición se continuó hasta que no existe precipitación adicional u las muestras se ajustaron a varias temperaturas por 24 horas: elevada, ambiente, 4°C o -21°C. Lo sólido después se aisló y se secó en condiciones ambientales por aproximadamente 24 horas antes del análisis.

Microscopio de Luz Polarizada (PLM)

Se determinó la presencia de cristalinidad (birrefringencia) usando un microscopio óptico polarizado Leica Leitz DMRB equipado con una cámara de alta resolución Leica y software de captura de imagen (Firecam V.0). Todas las imágenes se registraron usando un objetivo 10x, a menos que se declare de otra forma.

Análisis de Plata

Todos los análisis de plata se llevaron a cabo en un ICP-MS Agilent 7500ce.

Proporciones de Disolución Intrínsecas

Se comprimió aproximadamente 100 mg de cada forma en discos colocando el material en un troquel (diámetro 12 mm) y se comprime el troquel bajo 5 toneladas de presión en una prensa hidráulica por aproximadamente 2 minutos. El instrumento de disolución, Sotax AT7 configura a EP2 y USP2 en las cuales se usan paletas para agitar la mezcla. Cada forma se probó bajo las siguientes condiciones de pH; 1,0, 4,5 y 6,7, en la forma de disco estacionario (es decir, los discos se agregan al tiempo = 0 segundos y se dejan hundirse al fondo del medio). Se extrajeron alícuotas de 1 cm³ del medio de las ollas de disolución en los tiempos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 120 segundos y se prueban para concentraciones de API por HPLC. Se trazaron curvas de disolución y a partir de los primeros 6 o 7 puntos en las curvas, se calcularon las curvas de proporción de disolución. Todas las pruebas se llevaron a cabo a 37°C y una velocidad de paleta de 150 rpm.

Detalles del Instrumento UV HPLC

| | |
|-------------------------|---------------------------------|
| Instrumento: | Agilent 1200 |
| Columna: | Gemini C18, 5 µm, 150,0 x 4,6mm |
| Temperatura de columna: | 40°C |
| Fase Móvil A: | Amortiguador de Fosfato |
| Fase Móvil B: | Acetonitrilo |
| Elución: | Gradiente |
| λ: | 210 nm |
| Volumen de inyección: | 10 µl |
| Velocidad de Flujo: | 1 ml/min |

Cromatografía de Capa Delgada (TLC)

Se aplicó una mancha pequeña de solución que contiene la muestra a una placa, a aproximadamente un centímetro de la base. La placa después se sumergió en el tanque de TLC (contenedor sellado) que contiene mezcla de solvente metanol:acetato de etilo (95:5). El solvente se movió hacia la placa por acción de capilaridad y cubrió la mezcla de muestra, la cual se disolvió y se llevó hasta la placa por la mezcla de solvente. Se señaló el número de manchas y se calcularon los valores R_f para cada mancha.

Infrarrojo (IR)

Se llevó a cabo la espectroscopia infrarroja en un espectrómetro Bruker ALPHA P. Se colocó suficiente material en el centro de la placa del espectrómetro y se obtuvieron los espectros usando los siguientes parámetros

| | |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Resolución: | 4 cm ⁻¹ |
| Tiempo de Exploración Fondo: | 16 exploraciones |
| Tiempo de Exploración de Muestra: | 16 exploraciones |
| Recolección de Datos: | 4000 hasta 400 cm ⁻¹ |
| Espectro de Resultado: | Transmitancia |
| Software: | OPUS versión 6 |

Estudios de Estabilidades; pH 1, 4, 7, 10 y 14 Ambientales

Se prepararon suspensiones (solución supersaturada: se agregaron aproximadamente 250 µl de solución de pH y sólido hasta que no se observó más disolución y ca. 100 mg de sólido) para cada forma en una variedad de pH

ambientales; 1, 4, 7, 10 y 13,2. Las suspensiones se agitaron constantemente por un periodo de 14 días y se tomaron medidas en los puntos de tiempo 7 y 14 días. Se prepararon amortiguadores apropiados para cada pH y se detalla adicionalmente abajo.

5 Se preparó un amortiguador que tiene un valor de pH 1 disolviendo 372,75 mg de cloruro de potasio en 25 ml de agua desionizada para dar una solución 0,2M. Subsecuentemente, se agregó 67 ml de ácido clorhídrico 0,2 M (este se preparó de una solución 5 M; se agregó 10 ml a 40 ml de agua desionizada dando una solución 1 M la cual se diluyó adicionalmente; se agregó 20 ml a 80 ml de agua desionizada dando la solución 0,2 M requerida) para lograr el pH deseada.

10 Se preparó un amortiguador que tiene un valor pH de 4 disolviendo 1,02 g de ftalato hidrógeno de potasio en 50 ml de agua desionizada para dar una solución 0,1 M.

15 Se preparó un amortiguador que contiene un valor pH de 7 disolviendo 680,00 mg de fosfato de potasio monobásico en 50 ml de agua desionizada para dar una solución 0,1 M. Subsecuentemente, se agregó 29,1 ml de hidróxido de sodio 0,1 (este se preparó de una solución 1 M; se agregó 5 ml a 45 ml de agua desionizada dando la solución a 0,1 M requerida) para lograr el pH deseado.

20 Se preparó un amortiguador que tiene un valor pH de 10 disolviendo 210,00 mg de bicarbonato de sodio en 50 ml de agua desionizada para dar una solución 0,05 M. Subsecuentemente, se agregó 10,7 ml de hidróxido de sodio 0,1 M (este se preparó de una solución 1 M; se agregó 5 ml a 45 ml de agua desionizada dando la solución a 0,1 M requerida) para lograr el pH deseado.

25 Un amortiguador que tiene un valor pH de 13,2 disolviendo 372,75 mg de cloruro de potasio en 25 ml de agua desionizada para dar una solución 0,2 M. Subsecuentemente, se agregó 66 ml de hidróxido de sodio 0,2 M (este se preparó de una solución 1 M; se agregó 20 ml a 80 ml de agua desionizada dando la solución a 0,2 M requerida) tomando el pH a 13. Entonces se agregó por goteo hidróxido de sodio 1 M para lograr el pH deseado.

30 Ejemplo 1: Precipitación de Formas Cristalinas

Se sometieron soluciones estándar de fenilacetato de L-ornitina a ciclización de temperatura, enfriamiento forzado, evaporación o adición de anti-solvente como se describió anteriormente. Lo precipitado se analizó por PLM y XRPD para determinar la forma cristalina (si la hay). Los resultados se resumieron en la TABLA 5.

35 Se identificaron seis únicas formas cristalinas de los estudios de precipitación, Formas I-VI. Sin embargo, las Formas IV y VI se obtuvieron de soluciones de ácido acético, y los resultados NMR confirmaron estas formas por ser acetato de L-ornitina. Mientras tanto, las Pruebas 540-611 utilizan muestras de fenilacetato de L-ornitina originalmente aislado por la adición de anti-solvente de etanol. Muchos de estos ejemplos producen la Forma I, la cual es un solvato de etanol, y por lo tanto se cree que estas muestras originalmente incluyen etanol residual.

40 Consecuentemente, la Forma I no puede ser reproducida por ciertas condiciones si la muestra original no incluye etanol residual.

TABLA 5 - Ejemplos de Preparación de Formas Cristalinas

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|---------------------------|------------|
| 1 | Temp. de Ciclización | ciclohexanona | Forma II |
| 2 | Enfriamiento Controlado (4°C) | ciclohexanona | No Sólido |
| 3 | Enfriamiento Controlado(-21°C) | ciclohexanona | Forma V |
| 4 | Evaporación | ciclohexanona | Forma V |
| 5 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | ciclohexanona | No Sólido |
| 6 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | ciclohexanona | Forma II |
| 7 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | ciclohexanona | Forma II |
| 8 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | ciclohexanona | Forma II |
| 9 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | ciclohexanona | Forma II |
| 10 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | ciclohexanona | Forma I |
| 11 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | ciclohexanona | Forma I |
| 12 | Temp. de Ciclización | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 13 | Enfriamiento Controlado (4°C) | Etanol/acetona (50:50) | No Sólido |
| 14 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | Etanol/acetona (50:50) | Forma III |
| 15 | Evaporación | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 16 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 17 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 18 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 19 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 20 | Adición de Anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | Etanol/acetona (50:50) | Forma II |
| 21 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | Etanol/acetona (50:50) | Forma I |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------------|------------|
| 22 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | Etanol/acetona (50:50) | Forma I |
| 23 | Temp. de Ciclización | Ácido acético | Forma IV |
| 24 | Enfriamiento Controlado (4°C) | Ácido acético | No Sólido |
| 25 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | Ácido acético | No Sólido |
| 26 | Evaporación | Ácido acético | Forma II |
| 27 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | Ácido acético | Forma VI |
| 28 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | Ácido acético | Forma IV |
| 29 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | Ácido acético | Forma IV |
| 30 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | Ácido acético | Forma IV |
| 31 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | Ácido acético | Forma IV |
| 32 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | Ácido acético | Forma IV |
| 33 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | Ácido acético | Forma IV |
| 34 | Temp. de Ciclización | 1-propanol | Forma II |
| 35 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 1-propanol | Forma II |
| 36 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | 1-propanol | Forma II |
| 37 | Evaporación | 1-propanol | Forma II |
| 38 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 1-propanol | Forma II |
| 39 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 1 -propanol | Forma II |
| 40 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | 1-propanol | Forma II |
| 41 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | 1-propanol | Forma II |
| 42 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 1-propanol | Forma II |
| 43 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 1-propanol | Forma I/II |
| 44 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 1-propanol | Forma I |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-------------------------|------------|
| 45 | Temp. de Ciclización | dimetilcarbonato | Forma II |
| 46 | Enfriamiento Controlado (4°C) | dimetilcarbonato | No Sólido |
| 47 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | dimetilcarbonato | Forma II |
| 48 | Evaporación | dimetilcarbonato | Forma II |
| 49 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | dimetilcarbonato | Forma II |
| 50 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | dimetilcarbonato | Forma II |
| 51 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | dimetilcarbonato | Forma II |
| 52 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | dimetilcarbonato | Forma II |
| 53 | Adición de Anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | dimetilcarbonato | Forma II |
| 54 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | dimetilcarbonato | Forma I |
| 55 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | dimetilcarbonato | Forma II |
| 56 | Temp. de Ciclización | NMP | Forma II |
| 57 | Enfriamiento Controlado (4°C) | NMP | Forma II |
| 58 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | NMP | Forma II |
| 59 | Evaporación | NMP | Forma II |
| 60 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | NMP | Forma II |
| 61 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | NMP | Forma II |
| 62 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | NMP | Forma II |
| 63 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | NMP | Forma II |
| 64 | Adición de Anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | NMP | Forma II |
| 65 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | NMP | Forma I/II |
| 66 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | NMP | Forma II |
| 67 | Temp. de Ciclización | EtOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-------------------------------|------------|
| 68 | Enfriamiento Controlado (4°C) | EtOAc/ciclohexano (1:2) | No Sólido |
| 69 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | EtOAc/ciclohexano (1:2) | No Sólido |
| 70 | Evaporación | EtOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |
| 71 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |
| 72 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |
| 73 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |
| 74 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |
| 75 | Adición de Anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma II |
| 76 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma I |
| 77 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | etOAc/ciclohexano (1:2) | Forma I/II |
| 78 | Temp. de Ciclización | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 79 | Enfriamiento Controlado (4°C) | etOAc/tolueno (1:2) | No Sólido |
| 80 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 81 | Evaporación | etOAc/tolueno(1:2) | Forma II |
| 82 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 83 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 84 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 85 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 86 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 87 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | etOAc/tolueno (1:2) | Forma I |
| 88 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | etOAc/tolueno (1:2) | Forma II |
| 89 | Temp. de Ciclización | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-------------------------------|------------|
| 90 | Enfriamiento Controlado (4°C) | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma V |
| 91 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 92 | Evaporación | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 93 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 94 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 95 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 96 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 97 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma II |
| 98 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma I |
| 99 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | IPA/éter diisopropílico (1:2) | Forma I/II |
| 100 | Temp. de Ciclización | DIPE | Forma II |
| 101 | Enfriamiento Controlado (4°C) | DIPE | No Sólido |
| 102 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | DIPE | Forma V |
| 103 | Evaporación | DIPE | Forma II |
| 104 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | DIPE | Forma II |
| 105 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | DIPE | Forma II |
| 106 | Anti-Solvente (IPA) Adición (4°C) | DIPE | Forma II |
| 107 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | DIPE | Forma II |
| 108 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | DIPE | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------------|------------|
| 109 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | DIPE | Forma I |
| 110 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | DIPE | Forma II |
| 111 | Temp. de Ciclización | nitrometano/agua (20%) | No Sólido |
| 112 | Enfriamiento Controlado (4°C) | nitrometano/agua (20%) | No Sólido |
| 113 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | nitrometano/agua (20%) | No Sólido |
| 114 | Evaporación | nitrometano/agua (20%) | Forma II |
| 115 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | nitrometano/agua (20%) | No Sólido |
| 116 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | nitrometano/agua (20%) | Forma II |
| 117 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | nitrometano/agua (20%) | Forma II |
| 118 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | nitrometano/agua (20%) | Forma II |
| 119 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | nitrometano/agua (20%) | Forma II |
| 120 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | nitrometano/agua (20%) | Forma I |
| 121 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | nitrometano/agua (20%) | Forma I/II |
| 122 | Temp. de Ciclización | acetona/agua (20%) | No Sólido |
| 123 | Enfriamiento Controlado (4°C) | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 124 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 125 | Evaporación | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 126 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 127 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 128 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 129 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 130 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 131 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | acetona/agua (20%) | Forma I |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------------|------------|
| 132 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | acetona/agua (20%) | Forma II |
| 133 | Temp. de Ciclización | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 134 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 135 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | 1,4 dioxano/agua (20%) | No Sólido |
| 136 | Evaporación | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 137 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 138 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 139 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 140 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 141 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 142 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma I |
| 143 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 1,4 dioxano/agua (20%) | Forma II |
| 144 | Temp. de Ciclización | éter dietílico | Forma II |
| 145 | Enfriamiento Controlado (4°C) | éter dietílico | No Sólido |
| 146 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | éter dietílico | No Sólido |
| 147 | Evaporación | éter dietílico | Forma II |
| 148 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | éter dietílico | Forma II |
| 149 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | éter dietílico | Forma II |
| 150 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | éter dietílico | Forma II |
| 151 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | éter dietílico | Forma II |
| 152 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | éter dietílico | Forma II |
| 153 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | éter dietílico | Forma I |

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------|------------|
| 154 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | éter dietílico | Forma I/II |
| 155 | Temp. de Ciclización | etilen glicol | Forma II |
| 156 | Enfriamiento Controlado (4°C) | etilen glicol | No Sólido |
| 157 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | etilen glicol | No Sólido |
| 158 | Evaporación | etilen glicol | No Sólido |
| 159 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | etilen glicol | Forma II |
| 160 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | etilen glicol | Forma II |
| 161 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | etilen glicol | Forma II |
| 162 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | etilen glicol | Forma II |
| 163 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | etilen glicol | Forma II |
| 164 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | etilen glicol | Forma II |
| 165 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21°C) | etilen glicol | Forma II |
| 166 | Temp. de Ciclización | meOAc/agua | No Sólido |
| 167 | Enfriamiento Controlado (4°C) | meOAc/agua (20%) | No Sólido |
| 168 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | meOAc/agua (20%) | No Sólido |
| 169 | Evaporación | meOAc/agua | Forma II |
| 170 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | meOAc/agua (20%) | Forma II |
| 171 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | meOAc/agua (20%) | Forma II |
| 172 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | meOAc/agua (20%) | Forma II |
| 173 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | meOAc/agua (20%) | Forma II |
| 174 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | meOAc/agua (20%) | Forma II |
| 175 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | meOAc/agua (20%) | Forma I/II |
| 176 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | meOAc/agua (20%) | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-------------------------|------------|
| 177 | Temp. de Ciclización | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 178 | Enfriamiento Controlado (4°C) | meOH/acetona (50:50) | No Sólido |
| 179 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | meOH/acetona (50:50) | No Sólido |
| 180 | Evaporación | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 181 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 182 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 183 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 184 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 185 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | meOH/acetona (50:50) | Forma II |
| 186 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | meOH/acetona (50:50) | Forma I |
| 187 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | meOH/acetona (50:50) | Forma I/II |
| 188 | Temp. de Ciclización | DMF | Forma II |
| 189 | Enfriamiento Controlado (4°C) | DMF | Forma II |
| 190 | Enfriamiento Controlado(-21°C) | DMF | Forma II |
| 191 | Evaporación | DMF | Forma II |
| 192 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | DMF | Forma II |
| 193 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | DMF | Forma II |
| 194 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | DMF | Forma II |
| 195 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | DMF | Forma II |
| 196 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | DMF | Forma II |
| 197 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | DMF | Forma I/II |
| 198 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | DMF | Forma II |
| 199 | Temp. de Ciclización | 2-butanol | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-------------------|------------|
| 200 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 2-butanol | No Sólido |
| 201 | Enfriamiento Controlado(-21°C) | 2-butanol | No Sólido |
| 202 | Evaporación | 2-butanol | Forma II |
| 203 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 2-butanol | Forma III |
| 204 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 2-butanol | Forma II |
| 205 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | 2-butanol | Forma II |
| 206 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | 2-butanol | Forma II |
| 207 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 2-butanol | Forma II |
| 208 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 2-butanol | Forma I/II |
| 209 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 2-butanol | Forma I/II |
| 210 | Temp. de Ciclización | cumeno | Forma II |
| 211 | Enfriamiento Controlado (4°C) | cumeno | No Sólido |
| 212 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | cumeno | No Sólido |
| 213 | Evaporación | cumeno | Forma II |
| 214 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | cumeno | Forma II |
| 215 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | cumeno | Forma II |
| 216 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | cumeno | Forma II |
| 217 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | cumeno | Forma II |
| 218 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | cumeno | Forma II |
| 219 | Adición de Anti-solvente (Etanol) (4°C) | cumeno | Forma II |
| 220 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | cumeno | Forma I/II |
| 221 | Temp. de Ciclización | formiato de etilo | Forma II |
| 222 | Enfriamiento Controlado (4°C) | formiato de etilo | No Sólido |
| 223 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | formiato de etilo | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|----------------------|------------|
| 224 | Evaporación | formiato de etilo | Forma II |
| 225 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | formiato de etilo | Forma II |
| 226 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | formiato de etilo | Forma II |
| 227 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | formiato de etilo | Forma II |
| 228 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | formiato de etilo | Forma II |
| 229 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | formiato de etilo | Forma II |
| 230 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | formiato de etilo | Forma I |
| 231 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | formiato de etilo | Forma I/II |
| 232 | Temp. de Ciclización | acetato de isobutilo | Forma II |
| 233 | Enfriamiento Controlado (4°C) | acetato de isobutilo | No Sólido |
| 234 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | acetato de isobutilo | Forma II |
| 235 | Evaporación | acetato de isobutilo | No Sólido |
| 236 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | acetato de isobutilo | Forma II |
| 237 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | acetato de isobutilo | Forma II |
| 238 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | acetato de isobutilo | Forma II |
| 239 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | acetato de isobutilo | Forma III |
| 240 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | acetato de isobutilo | Forma II |
| 241 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | acetato de isobutilo | Forma II |
| 242 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | acetato de isobutilo | Forma I/II |
| 243 | Temp. de Ciclización | 3-metil-1-butanol | Forma II |
| 244 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 3-metil-1-butanol | No Sólido |
| 245 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | 3-metil-1-butanol | No Sólido |
| 246 | Evaporación | 3-metil-1-butanol | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|---------------------------------|-------------|
| 247 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 3-metil-1-butanol | Forma II |
| 248 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 3-metil-1-butanol | Forma II |
| 249 | Adición de Anti-Solvente (IPA) (4°C) | 3-metil-1-butanol | Forma II |
| 250 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | 3-metil-1-butanol | Forma II |
| 251 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 3-metil-1-butanol | Forma II |
| 252 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 3-metil-1-butanol | Forma I/II |
| 253 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 3-metil-1-butanol | Forma I/II |
| 254 | Temp. de Ciclización | anisol | Forma II |
| 255 | Enfriamiento Controlado (4°C) | anisol | No Sólido |
| 256 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | anisol | Forma II |
| 257 | Evaporación | anisol | Forma II |
| 258 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | anisol | Forma II |
| 259 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | anisol | Forma II |
| 260 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | anisol | Forma II |
| 261 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | anisol | Forma II/IV |
| 262 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | anisol | Forma II |
| 263 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | anisol | Forma II |
| 264 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | anisol | Forma I |
| 265 | Temp. de Ciclización | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 266 | Enfriamiento Controlado (4°C) | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | No Sólido |
| 267 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | No Sólido |
| 268 | Evaporación | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|---------------------------------|------------|
| 269 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 270 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 271 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 272 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 273 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 274 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma II |
| 275 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21°C) | IPA/acetato de isopropilo (1:2) | Forma I |
| 276 | Temp. de Ciclización | EtOH: H2O al 1% | Forma II |
| 277 | Enfriamiento Controlado (4°C) | EtOH: H2O al 1% | No Sólido |
| 278 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | EtOH:H2O al 1% | No Sólido |
| 279 | Evaporación | EtOH: H2O al 1% | No Sólido |
| 280 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | EtOH: H2O al 1% | No Sólido |
| 281 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | EtOH:H2O al 1% | No Sólido |
| 282 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | EtOH:H2O al 1% | No Sólido |
| 283 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | EtOH:H2O al 1% | No Sólido |
| 284 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | EtOH:H2O al 1% | No Sólido |
| 285 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | EtOH: H2O al 1% | No Sólido |
| 286 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21°C) | EtOH:H2O al 1% | No Sólido |
| 287 | Temp. de Ciclización | EtOH: H2O al 3% | Forma II |
| 288 | Enfriamiento Controlado (4°C) | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 289 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 290 | Evaporación | EtOH:H2O al 3% | No Sólido |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-----------------|------------|
| 291 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 292 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 293 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | EtOH:H2O al 3% | No Sólido |
| 294 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 295 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 296 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 297 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | EtOH: H2O al 3% | No Sólido |
| 298 | Temp. de Ciclización | EtOH: H2O al | Forma II |
| 299 | Enfriamiento Controlado (4°C) | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 300 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 301 | Evaporación | EtOH: H2O al | Forma II |
| 302 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | EtOH:H2O al 5% | No Sólido |
| 303 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | EtOH: H2O al 5% | Forma II |
| 304 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 305 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 306 | Adición de Anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 307 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 308 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | EtOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 309 | Temp. de Ciclización | IPA: H2O al 1% | Forma II |
| 310 | Enfriamiento Controlado (4°C) | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 311 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 312 | Evaporación | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 313 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | IPA: H2O al 1% | No Sólido |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|----------------|------------|
| 314 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 315 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 316 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 317 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 318 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 319 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | IPA: H2O al 1% | No Sólido |
| 320 | Temp. de Ciclización | IPA: H2O al 3% | Forma II |
| 321 | Enfriamiento Controlado (4°C) | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 322 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 323 | Evaporación | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 324 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 325 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 326 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 327 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 328 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 329 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 330 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | IPA: H2O al 3% | No Sólido |
| 331 | Temp. de Ciclización | IPA: H2O al 5% | Forma II |
| 332 | Enfriamiento Controlado (4°C) | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 333 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 334 | Evaporación | IPA: H2O al 5% | Forma II |
| 335 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 336 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 337 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | IPA: H2O al 5% | No Sólido |

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|----------------|------------|
| 338 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 339 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 340 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 341 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | IPA: H2O al 5% | No Sólido |
| 342 | Temp. de Ciclización | ACN: H2O al 1% | Forma II |
| 343 | Enfriamiento Controlado (4°C) | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 344 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 345 | Evaporación | ACN:H2O al 1% | Forma II |
| 346 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 347 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 348 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 349 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | ACN: H2O al 1% | No Sólido |
| 350 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 351 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | ACN:H2O al 1% | No Sólido |
| 352 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | ACN: H2O al 1% | No Sólido |
| 353 | Temp. de Ciclización | ACN: H2O al 6% | Forma II |
| 354 | Enfriamiento Controlado (4°C) | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 355 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 356 | Evaporación | ACN: H2O al 6% | Forma II |
| 357 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 358 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 359 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 360 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 361 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | ACN: H2O al 6% | No Sólido |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-----------------|------------|
| 362 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 363 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | ACN: H2O al 6% | No Sólido |
| 364 | Temp. de Ciclización | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 365 | Enfriamiento Controlado (4°C) | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 366 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 367 | Evaporación | ACN: H2O al 12% | Forma II |
| 368 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 369 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | ACN: H2O al 12% | Forma II |
| 370 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 371 | Anti-Solvente (IPA) Adición (-21°C) | ACN: H2O al 12% | Forma II |
| 372 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 373 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 374 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | ACN: H2O al 12% | No Sólido |
| 375 | Temp. de Ciclización | DMF: H2O al 5% | Forma II |
| 376 | Enfriamiento Controlado (4°C) | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 377 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 378 | Evaporación | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 379 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 380 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 381 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 382 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 383 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 384 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | DMF: H2O al 5% | No Sólido |

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------------|------------|
| 385 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | DMF: H2O al 5% | No Sólido |
| 386 | Temp. de Ciclización | DMF: H2O al 15% | Forma II |
| 387 | Enfriamiento Controlado (4°C) | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 388 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 389 | Evaporación | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 390 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 391 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 392 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 393 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 394 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 395 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 396 | Adición de Anti-Solvente (Etanol) (-21°C) | DMF: H2O al 15% | No Sólido |
| 397 | Temp. de Ciclización | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 398 | Enfriamiento Controlado (4°C) | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 399 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 400 | Evaporación | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 401 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 402 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 403 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 404 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 405 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 406 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | DMF: H2O al 30% | No Sólido |
| 407 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | DMF: H2O al 30% | Forma II |
| 408 | Temp. de Ciclización | 1,4-dioxano: H2O al 1% | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------------|------------|
| 409 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 410 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 411 | Evaporación | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 412 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 413 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 414 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 415 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 416 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 417 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 418 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 1,4-dioxano: H2O al 1% | No Sólido |
| 419 | Temp. de Ciclización | 1,4-dioxano: H2O al 3% | Forma II |
| 420 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 421 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 422 | Evaporación | 1,4-dioxano: H2O al 3% | Forma II |
| 423 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 424 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 425 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 426 | Adición de Anti-Solvente (IPA)(-21°C) | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 427 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 428 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |
| 429 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 1,4-dioxano: H2O al 3% | No Sólido |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-------------------------|------------|
| 430 | Temp. de Ciclización | 1,4-dioxano: H2O al 10% | Forma II |
| 431 | Enfriamiento Controlado (4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 432 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 433 | Evaporación | 1,4-dioxano: H2O al 10% | Forma II |
| 434 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 435 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 436 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 437 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 438 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 439 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 440 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | 1,4-dioxano: H2O al 10% | No Sólido |
| 441 | Temp. de Ciclización | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 442 | Enfriamiento Controlado (4°C) | MeOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 443 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | MeOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 444 | Evaporación | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 445 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 446 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 447 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 448 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 449 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | MeOH: H2O al 5% | No Sólido |
| 450 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | MeOH: H2O al 5% | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|------------------|------------|
| 451 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | MeOH: H2O al 5% | Forma II |
| 452 | Temp. de Ciclización | MeOH: H2O al | No Sólido |
| 453 | Enfriamiento Controlado (4°C) | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 454 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 455 | Evaporación | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 456 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 457 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 458 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 459 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 460 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 461 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | MeOH: H2O al 20% | Forma II |
| 462 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21°C) | MeOH: H2O al 20% | Forma I/II |
| 463 | Temp. de Ciclización | MeOH: H2O al | Forma II |
| 464 | Enfriamiento Controlado (4°C) | MeOH: H2O al 50% | Forma II |
| 465 | Enfriamiento Controlado(-21°C) | MeOH: H2O al 50% | Forma II |
| 466 | Evaporación | MeOH: H2O al | No Sólido |
| 467 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | MeOH: H2O al 50% | Forma II |
| 468 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | MeOH: H2O al 50% | No Sólido |
| 469 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | MeOH: H2O al 50% | Forma II |
| 470 | Anti-Solvente (IPA) Adición (-21°C) | MeOH: H2O al 50% | No Sólido |
| 471 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | MeOH: H2O al 50% | Forma II |
| 472 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | MeOH: H2O al 50% | Forma I |
| 473 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | MeOH: H2O al 50% | Forma I/II |
| 474 | Temp. de Ciclización | THF: H2O al 1% | Forma II |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|----------------|------------|
| 475 | Enfriamiento Controlado (4°C) | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 476 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 477 | Evaporación | THF: H2O al 1% | Forma II |
| 478 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 479 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 480 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 481 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 482 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 483 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 484 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21°C) | THF: H2O al 1% | No Sólido |
| 485 | Temp. de Ciclización | THF: H2O al 3% | Forma II |
| 486 | Enfriamiento Controlado (4°C) | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 487 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 488 | Evaporación | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 489 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 490 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | THF: H2O al 3% | Forma II |
| 491 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 492 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 493 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 494 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 495 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | THF: H2O al 3% | No Sólido |
| 496 | Temp. de Ciclización | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 497 | Enfriamiento Controlado (4°C) | THF: H2O al 5% | No Sólido |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-----------------------|------------|
| 498 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 499 | Evaporación | THF: H2O al 5% | Forma II |
| 500 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 501 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 502 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | THF: H2O al 5% | Forma II |
| 503 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 504 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 505 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 506 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | THF: H2O al 5% | No Sólido |
| 507 | Temp. de Ciclización | butan-1-ol: H2O al 1% | Forma II |
| 508 | Enfriamiento Controlado (4°C) | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 509 | Enfriamiento Controlado (-21°C) | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 510 | Evaporación | butan-1-ol: H2O al 1% | Forma II |
| 511 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 512 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 513 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 514 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 515 | Adición de Anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 516 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 517 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | butan-1-ol: H2O al 1% | No Sólido |
| 518 | Temp. de Ciclización | butan-1-ol:H2O al 3% | Forma II |
| 519 | Enfriamiento Controlado (4°C) | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |

ES 2 652 187 T3

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|--|-----------------------|------------|
| 520 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | butan-1-ol:H2O al 3% | No Sólido |
| 521 | Evaporación | butan-1-ol: H2O al 3% | Forma II |
| 522 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |
| 523 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |
| 524 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |
| 525 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |
| 526 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |
| 527 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | butan-1-ol: H2O al 3% | No Sólido |
| 528 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21 °C) | butan-1-ol:H2O al 3% | No Sólido |
| 529 | Temp. de Ciclización | butan-1-ol: H2O al 5% | Forma II |
| 530 | Enfriamiento Controlado (4°C) | butan-1-ol: H2O al 5% | No Sólido |
| 531 | Enfriamiento Controlado (-21 °C) | butan-1-ol: H2O al 5% | No Sólido |
| 532 | Evaporación | butan-1-ol:H2O al 5% | Forma II |
| 533 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Elevada | butan-1-ol:H2O al 5% | No Sólido |
| 534 | Adición de Anti-solvente (IPA) a Temperatura Ambiente | butan-1-ol: H2O al 5% | Forma II |
| 535 | Adición de Anti-solvente (IPA) (4°C) | butan-1-ol:H2O al 5% | No Sólido |
| 536 | Adición de Anti-solvente (IPA) (-21°C) | butan-1-ol: H2O al 5% | No Sólido |
| 537 | Adición de anti-solvente (Etanol) a Temperatura Ambiente | butan-1-ol: H2O al 5% | No Sólido |
| 538 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(4°C) | butan-1-ol: H2O al 5% | No Sólido |
| 539 | Adición de Anti-solvente (Etanol)(-21°C) | butan-1-ol: H2O al 5% | No Sólido |
| 540 | Temp. de Ciclización | 1,4-dioxano | Forma I |
| 541 | Evaporación | 1,4-dioxano | Forma I/II |
| 542 | Anti-Solvente Adición | 1,4-dioxano | No Sólido |
| 543 | Temp. de Ciclización | 1-butanol | Forma I |

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|---|---------------|---------------------|
| 544 | Evaporación | 1-butanol | Forma I/II |
| 545 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | 1-butanol | Forma III |
| 546 | Temp. de Ciclización | Etanol | Forma I |
| 547 | Evaporación | Etanol | Forma II |
| 548 | Adición de Anti-Solvente (Hexano)(4°C) | Etanol | Forma I |
| 549 | Temp. de Ciclización | acetona | Forma I |
| 550 | Evaporación | acetona | Forma II |
| 551 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | acetona | Forma III |
| 552 | Temp. de Ciclización | benzoniitrilo | Forma I |
| 553 | Evaporación | benzoniitrilo | Forma II |
| 554 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | benzoniitrilo | Forma II |
| 555 | Temp. de Ciclización | ciclohexano | Forma I |
| 556 | Evaporación | ciclohexano | Forma II |
| 557 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | ciclohexano | No Sólido |
| 558 | Temp. de Ciclización | DCM | Forma I |
| 559 | Evaporación | DCM | Forma II |
| 560 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | DCM | Forma III |
| 561 | Temp. de Ciclización | DMSO | Forma I |
| 562 | Evaporación | DMSO | Forma II/II |
| 563 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | DMSO | No Sólido/No Sólido |
| 564 | Temp. de Ciclización | EtOAc | Forma I |
| 565 | Evaporación | EtOAc | Forma II |
| 566 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | EtOAc | Forma III |
| 567 | Temp. de Ciclización | Heptano | Forma I |
| 568 | Evaporación | Heptano | Forma I/II |
| 569 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | Heptano | No Sólido/No Sólido |
| 570 | Temp. de Ciclización | IPA | Forma I |
| 571 | Evaporación | IPA | Forma I/II |
| 572 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | IPA | No Sólido |
| 573 | Temp. de Ciclización | IPA:Agua(1%) | Forma I |
| 574 | Evaporación | IPA:Agua(1%) | Forma II |
| 575 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | IPA:Agua(1%) | No Sólido/No Sólido |
| 576 | Temp. de Ciclización | MeCN | Forma I |
| 577 | Evaporación | MeCN | Forma II |

| Prueba | Método de Cristalización | Solvente | Resultados |
|--------|---|---------------|-------------|
| 578 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | MeCN | Forma I/III |
| 579 | Temp. de Ciclización | MeCN:Agua(1%) | Forma I |
| 580 | Evaporación | MeCN:Agua(1%) | Forma I/II |
| 581 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | MeCN:Agua(1%) | No Sólido |
| 582 | Temp. de Ciclización | MEK | Forma I |
| 583 | Evaporación | MEK | Forma I/II |
| 584 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | MEK | Forma III |
| 585 | Temp. de Ciclización | MeOAc | Forma I |
| 586 | Evaporación | MeOAc | Forma II |
| 587 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | MeOAc | Forma III |
| 588 | Temp. de Ciclización | MeOH | Forma I |
| 589 | Evaporación | MeOH | Forma I/II |
| 590 | Adición Anti-Solvente (Hexano)(4°C) | MeOH | Forma III |
| 591 | Temp. de Ciclización | MIBK | Forma I |
| 592 | Evaporación | MIBK | Forma II |
| 593 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | MIBK | No Sólido |
| 594 | Temp. de Ciclización | Nitrometano | Forma I |
| 595 | Evaporación | Nitrometano | Forma II |
| 596 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | Nitrometano | Forma I |
| 597 | Temp. de Ciclización | TBME | Forma I |
| 598 | Evaporación | TBME | Forma II |
| 599 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | TBME | Forma I |
| 600 | Temp. de Ciclización | THF | Forma I |
| 601 | Evaporación | THF | Forma II |
| 602 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | THF | Forma I/III |
| 603 | Temp. de Ciclización | THF:agua(1%) | Forma I |
| 604 | Evaporación | THF:agua(1%) | Forma I/II |
| 605 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | THF:agua(1%) | No Sólido |
| 606 | Temp. de Ciclización | tolueno | Forma I |
| 607 | Evaporación | tolueno | Forma II |
| 608 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | tolueno | Forma III |
| 609 | Temp. de Ciclización | agua | No Sólido |
| 610 | Evaporación | agua | Forma I/II |
| 611 | Adición de Anti-solvente (Hexano) (4°C) | agua | Forma III |

Ejemplo 2 Estudios de Disolución Intrínseca

Se midieron las proporciones de disoluciones intrínsecas para las Formas I, II y III en condiciones de pH de 1,0, 4,5 y 6,7. Los resultados se reproducen abajo en la TABLA 6. En cada caso, se logró la disolución completa en menos de

5

3 minutos. Sorprendentemente, se observó una dependencia de pH para la Forma II; con la proporción de disolución intrínseca incrementada con el pH. En contraste, las Formas I y III parecen disolverse a proporciones independientes del pH.

5 TABLA 6 - Proporciones de Disolución Intrínseca Calculadas ($\text{mg}/\text{cm}^3/\text{s}$)

| | | | |
|-----------|------|------|------|
| | 1,0 | 4,5 | 6,7 |
| Forma I | 0,41 | 0,44 | 0,37 |
| Forma II | 0,26 | 0,34 | 0,62 |
| Forma III | 0,49 | 0,44 | 0,45 |

Ejemplo 3: Estudios de Solubilidad

10 La solubilidad de fenilacetato de L-ornitina fue aproximadamente de conformidad con los métodos descritos anteriormente. Se probaron 24 sistemas de solventes: 1,4 dioxano, 1-butanol, etanol, acetona, benzonitrilo, ciclohexano, DCM, DMSO, EtOAc, Heptano, IPA, IPA (H_2O al 1%), MeCN, MeCn (H_2O al 1%), MEK, MeOAc, metanol, MIBK, Nitrometano, THF, THF (H_2O al 1%), Tolueno y agua. El fenilacetato de L-ornitina exhibió una solubilidad en agua, mientras que fenilacetato de L-ornitina fue sustancialmente insoluble en los sistemas de
15 solvente restantes.

También se prepararon suspensiones de fenilacetato de L-ornitina en agua y la suspensión se filtró. La concentración filtrada se analizó por HPLC, y los resultados mostraron la solubilidad de fenilacetato de L-ornitina ser
20 aproximadamente 1,072 mg/ml.

Las determinaciones de HPLC de solubilidad también se completaron para cinco solventes: etanol, acetona, metanol, DMSO e IPA. Estos resultados se resumieron en la TABLA 7.

TABLA 7 - Determinaciones de Solubilidad de HPLC

| Solvente | Solubilidad (mg/ml) | Área del Pico | Comentarios |
|----------|---------------------|---------------|---|
| EtOH | < 0.0033 | N/A | Pico pequeño |
| Acetona | 0 | 0 | Contenido API más allá del límite inferior de cuantificación (LLOQ) |
| MeOH | 0.0033 | 1906.75 | Pico resuelto |
| DMSO | > 0.0033 | N/A | Carga en pico DMSO |
| IPA | 0 | 0 | Contenido API más allá del LLOQ |

25 Estos resultados indican que tanto la acetona como IPA son adecuados como anti-solventes para precipitar fenilacetato de L-ornitina. En contraste, los solventes con solubilidad medible son menos favorables para precipitar formas cristalinas de fenilacetato de L-ornitina.

30 Finalmente, se determinó la solubilidad de fenilacetato de L-ornitina en varias mezclas de IPA y agua usando HPLC. Los resultados se muestran en la TABLA 8.

TABLA 8 - Determinaciones de Solubilidad por HPLC (IPA/Agua)

| % de IPA | Área del Pico | Solubilidad (mg/ml) |
|----------|---------------|---------------------|
| 100 | 0 | 0 |
| 90 | 295 | 0,0054 |
| 80 | 2634 | 0,0455 |
| 70 | 8340 | 0,1433 |

35 Ejemplo 4: Proceso de Lote a Escala Pequeña para Producir FenilAcetato de L-ornitina

Se disolvieron aproximadamente 8,4 g (0,049 moles) de HCl de L-ornitina en 42 ml de H₂O y, separadamente, se disolvieron aproximadamente 11,4 g de benzoato de plata en 57 ml de DMSO. Subsecuentemente, se agregó la solución de benzoato de plata a la solución de HCl de L-ornitina. Combinando las dos mezclas resultó en una precipitación exotérmica, inmediata de un sólido blanco cremoso (AgCl). Lo sólido se removió por filtración a vacío y se retuvo lo filtrado (benzoato de L-ornitina en solución). Se agregó 200 ml de IPA a lo filtrado y la mezcla se enfrió a 4°C. Un sólido cristalino precipitó después de aproximadamente 3 horas (benzoato de L-ornitina) el cual se aisló por filtración a vacío. Rendimiento: 60%.

Se disolvió 7,6 g (0,03 moles) del benzoato de L-ornitina en 38 ml de H₂O y se disolvió aproximadamente 4,4 g de fenil acetato de sodio en 22 ml de H₂O. Subsecuentemente, se agregó la solución de fenil acetato de sodio a la solución de benzoato de L-ornitina y se dejó agitando por aproximadamente 10 minutos. Se agregó aproximadamente 240 ml de IPA (8:2 IPA:H₂O) y la solución se agitó por 30 minutos antes del enfriamiento a 4°C. Un sólido cristalino precipitó después de aproximadamente 3 horas a 4°C (fenilacetato de L-ornitina). Lo precipitado se aisló por filtración a vacío y se lavó con 48-144 ml de IPA. Rendimiento: 57%.

Ejemplo 5: Proceso de Lote a Gran Escala para Producir FenilAcetato de L-Ornitina

Se prepararon dos lotes separados de fenilacetato de L-ornitina como sigue:

Se disolvió aproximadamente 75 kg de monoclóhidrato de L-ornitina en 227 kg de agua. Se agregó a la solución resultante 102 kg de benzoato de plata disuelto en 266 kg de DMSO a temperatura ambiente dentro de las 2 horas. Inicialmente, se observó una exotermia fuerte y el cloruro de plata precipitó. El receptor que contiene la solución después se lavó con 14 kg de DMSO que se agregó a la masa de reacción. Para remover el cloruro de plata formado, la masa de reacción se filtró sobre un filtro de lentes preparados con 10 kg de Celite y un filtro GAF de 1 mm. Después de la filtración, lo filtrado se lavó con 75 kg adicionales de agua. La masa de reacción después se calentó a 35 ± 2°C y se agregaron 80 kg de fenil acetato de sodio. En este punto, la masa de reacción se agitó a 35 ± 2°C por al menos 30 minutos.

Para precipitar el API final, se agregó 353 kg de alcohol isopropílico a la masa de reacción. La masa de reacción después se enfrió a 0 ± 3°C dentro de las 6 horas, se agitó por 1 hora y después el producto se aisló en una centrifugadora.

Se obtuvo aproximadamente 86 kg del producto húmedo terminado. El producto entonces se secó a 40 ± 5°C por aproximadamente 6,5 hasta 8 horas para proporcionar aproximadamente 75 kg de fenilacetato de L-ornitina. Rendimiento: 63,25. La TABLA 9 resume las mediciones que se refieren al producto final.

TABLA 9 - Resultados Analíticos para Proceso de Lote a Gran Escala

| Prueba | Lote 1 | Lote 2 |
|-------------------|----------|----------|
| Pureza | 98,80% | 98,74% |
| Benzoato | 0,17% | 0,14% |
| Plata | 28 ppm | 157 ppm |
| Cloruro | 0,006% | 0,005% |
| Sodio | 7 ppm | 26 ppm |
| Impurezas totales | 0,17% | 0,14% |
| Forma física | Forma II | Forma II |

Ejemplo 6: Reducción de Contenido de Plata en FenilAcetato de L-Ornitina

Se probaron el Lote 2 del Ejemplo 5 que exhibió altas cantidades de plata (157 ppm) y por consiguientes procedimientos para reducir el contenido de plata. Se completaron nueve ensayos; cada uno generalmente que incluye disolver aproximadamente 20 g de fenilacetato de L-ornitina del Lote 2 en 1,9 partes de agua, y entonces subsecuentemente agregar 10,8 partes de IPA. Se aisló una forma cristalina a 0°C por filtración.

Para cuatro ensayos, se agregaron 8,0 mg de depuradores de metal pesado SMOPEX 102 o SMOPEX 112 a la solución acuosa y se agitó por 2 horas. Los depuradores fallaron a reducir el contenido de plata por debajo de 126 ppm. Mientras tanto, a otro ensayo se aplicó las condiciones generales descritas anteriormente y redujo el contenido de plata a 179 ppm. En aún otro ensayo, se sometió a suspensión fenilacetato de L-ornitina en una solución de IPA, antes que se cristalizara; sin embargo este ensayo también falló para reducir el contenido de plata por debajo de 144 ppm.

5 Los últimos tres ensayos incluyeron agregar HCl diluido a la solución para precipitar la cantidad restante de plata como AgCl. Lo precipitado después se removió por filtración anterior. Los tres ensayos incluyeron agregar: (1) 1,0 g de HCl al 0,33% a 20°C; (2) 1,0 g de HCl al 0,33% a 30°C; y (3) 0,1 g de HCl al 3,3% a 20°C. Los tres ensayos redujeron el contenido de plata a 30 ppm, 42 ppm y 33 ppm, respectivamente, y cada ensayo proporcionó más del 90% de fenilacetato de L-ornitina. Por lo tanto, la adición de HCl fue efectiva en la reducción de la cantidad de plata residual.

10 Ejemplo 7: Proceso para Preparar FenilAcetato de L-ornitina sin una Sal Intermediaria

15 Como un procedimiento general, se suspendió clorhidrato de L-ornitina en un solvente. Después de que la masa de reacción se calentó y se agregó un metóxido de sodio, base. Se formó NaCl y se removió del sistema por filtración. La masa de reacción se enfrió y se agregó un equivalente molar de ácido fenil acético a la masa de reacción para formar fenilacetato de L-ornitina. El producto final se aisló, se lavó y se secó. Se proporciona un sumario del ensayo para este proceso en la TABLA 10.

TABLA 10 - Proceso de Ensayos

| Ensayo | Base | Eq. de Base | Solvente |
|--------|----------------|-------------|--------------------------------|
| 1 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | MeOH |
| 2 | NaOMe21%enMeOH | 0,95 eq. | IPA |
| 3 | NaOMe21%enEtOH | 1,0 eq. | EtOH |
| 4 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | MeOH |
| 5 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | MeOH p/ IPA para precipitación |
| 6 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | Acetonitrilo |
| 7 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | Agua/IPA |
| 8 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | Agua/IPA |
| 9 | NaOMe21%enMeOH | 1,0 eq. | n-butanol |

20 El fenilacetato de L-ornitina resultante se encontró que exhibió grandes cantidades de cloruro (al menos aproximadamente 1% en peso), y presumiblemente incluye cantidades similares de sodio. Los rendimientos son aproximadamente 50% para los Ensayos 2, 4 y 5.

25 Ejemplo 8: Estudios de Estabilidad Térmica de las Formas I, II y III

Se almacenaron muestras de las Formas I, II y III a temperaturas incrementadas y condiciones designadas como se resumió en la TABLA 11. Se aplicó vacío 600 psi (4136,8 Kpa) para lograr la presión reducida. Se probaron las composiciones finales por XRPD, NMR, IR y HPLC para determinar cualquier cambio del material.

30 Más notablemente, la Forma III no fue de transición a la Forma II bajo vacío a 120°C, pero más bien exhibió mayor degradación química comparada a las Formas I y II bajo estas condiciones. Mientras tanto, la Forma III se convierte a la Forma II y exhibió degradación química sustancial a 120°C sin vacío.

35 La Forma I se convirtió a la Forma II en todos los ensayos, pero más interesantemente, la Forma I exhibió degradación química sustancial a 120°C sin vacío. Así, la conversión de la Forma I no exhibió la misma estabilidad química como la Forma II, lo cual es sorprendente considerando el material ya convertido a la Forma II.

40 La Forma II fue estable y no se degrada químicamente en todos los ensayos. Así, la Forma II es más estable. Mientras tanto, la Forma III es más estable que la Forma I, pero ambas formas exhibieron degradación química sustancial a 120°C sin vacío.

TABLA 11 - Ensayos de Estabilidad Térmica

ES 2 652 187 T3

| Ensayo | Inicial | Temperatura | Condición | Periodo | Resultados |
|--------|----------|-------------|-----------|---------|--------------------------|
| 1 | Forma I | 80° C | no vacío | 7 días | Forma II, no degradación |
| 2 | Forma I | 80° C | vacío | 7 días | Forma II, no degradación |
| 3 | Forma I | 80° C | no vacío | 14 días | Forma II, no degradación |
| 4 | Forma I | 80° C | vacío | 14 días | Forma II, no degradación |
| 5 | Forma II | 80° C | no vacío | 7 días | Forma II, no degradación |

| Ensayo | Inicial | Temperatura | Condición | Periodo | Resultados |
|--------|-----------|-------------|-----------|---------|---------------------------|
| 6 | Forma II | 80° C | vacío | 7 días | Forma II, no degradación |
| 7 | Forma II | 80° C | no vacío | 14 días | Forma II, no degradación |
| 8 | Forma II | 80° C | vacío | 14 días | Forma II, no degradación |
| 5 | Forma III | 80° C | no vacío | 7 días | Forma III, no degradación |
| 5 | Forma III | 80° C | no vacío | 14 días | Forma III, no degradación |
| 6 | Forma I | 120° C | no vacío | 7 días | Forma II (>96% API) |
| 7 | Forma I | 120° C | vacío | 7 días | Forma II (>99.9% API) |
| 8 | Forma I | 120° C | no vacío | 14 días | Forma II (37% API) |
| 9 | Forma I | 120° C | vacío | 14 días | Forma II (>96% API) |
| 8 | Forma II | 120° C | no vacío | 7 días | Forma II (98.6% API) |
| 9 | Forma II | 120° C | vacío | 7 días | Forma II (98.7% API) |
| 10 | Forma II | 120° C | no vacío | 14 días | Forma II (>95% API) |
| 11 | Forma II | 120° C | vacío | 14 días | Forma II (>95% API) |
| 10 | Forma III | 120° C | no vacío | 7 días | Forma II (<30% API) |
| 11 | Forma III | 120° C | vacío | 7 días | Forma III (>95% API) |
| 12 | Forma III | 120° C | no vacío | 14 días | Forma II (<30% API) |
| 14 | Forma III | 120° C | vacío | 14 días | Forma III (88.8% API) |

5 Se resumieron los resultados HPLC para los ensayos que exhibieron degradación química (por ejemplo, Ensayo 10

de la TABLA 11) en la TABLA 12. Cada material degradado exhibió picos comunes en tiempos de retención relativos (RRT) de 1,9, 2,2, 2,4 y 2,7, lo cual sugiere una trayectoria de degradación común para diferentes formas.

5

TABLA 12 - Resultados de HPLC para Muestras de Degradación

| HPLC ID | Muestra ID | Forma Probada | Prueba de estabilidad | Punto de tiempo (día) | Tiempo de retención de Pico principal (min) | | Pico(s) de Degradación/Impureza | |
|---------|--------------|---------------|--------------------------------|-----------------------|---|-------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | | | Tiempo de retención (min) | % de Área de Pico | Tiempo de retención (min) | % de Área de pico |
| 39 | W00045/4 5/3 | III | 120°C presión ambiental | 7 | 2.857 | 35.786 | 6.763 | 6.103 |
| | | | | | | | 7.582 | 45.161 |
| 42 | W00045/4 5/6 | III | 120°C bajo vacío (ca. 600 psi) | 7 | 2.787 | 88.885 | 7.598 | 9.389 |
| 51 | W00045/4 5/1 | I | 120°C presión ambiental | 14 | 3.499 | 37.826 | 6.766 | 3.948 |
| | | | | | | | 7.569 | 42.525 |
| | | | | | | | 9.707 | 3.628 |
| 53 | W00045/4 5/3 | III | 120°C presión ambiental | 14 | 3.476 | 30.394 | 6.763 | 5.975 |
| | | | | | | | 7.583 | 56.459 |
| 56 | W00045/4 5/6 | III | 120°C bajo vacío (ca. 600 psi) | 14 | 3.400 | 87.389 | 7.555 | 11.500 |

10

Ejemplo 9: Estudios de Estabilidad de Oxígeno de Formas I, II y III

15 Se almacenaron las muestras de las Formas I, II y III en ambientes de oxígeno del 100% por 7 o 14 días y se analizan por NMR e IR. Los resultados establecen que las Formas I y II no muestran signos de degradación después de 14 días. Únicamente los resultados IR se completaron para la Forma III en a los 7 días, y estos resultados confirman que no existe degradación significativa. Los resultados de TLC para todas las muestras indicaron una mancha única con valores Rf similares.

20 Ejemplo 10: Estudios de Solubilidad de Formas I, II y III

25 Se expusieron las muestras de Formas I, II y III a radiación ultravioleta (UV) por 7 o 14 días. Una Lámpara UV universal CAMAG aplicó radiación a las muestras con ajuste de 254 mμ. Los resultados NMR e IR no mostraron degradación de Formas I y II después de 14 días. Similarmente, la Forma III no exhibió degradación después de 7 días como se determinó por NMR e IR. Los resultados TLC para todas las muestras indicaron una mancha única con valores Rf similares.

Ejemplo 11: Estudios de Estabilidad de pH de Formas I, II y III

30 Se formaron una suspensión de Formas I, II y III con agua y el valor de pH se ajustó a ya sea 1,0, 4,0, 7,0, 10,0 y 13,2. Las suspensiones se almacenaron por 7 o 14 días, y subsecuentemente se removieron los sólidos por filtración. La Forma I se convirtió a la Forma II en todas las muestras. Los resultados NMR e IR mostraron que las Formas I y II no se degradan después de 14 días en los pH variados, y similarmente los resultados de HPLC mostraron aproximadamente 98% de pureza o mayor de estas muestras. La Forma III también no exhibió degradación después de 7 días de conformidad con los resultados NMR e IR. Las pruebas de HPLC mostraron aproximadamente 95% de pureza o mayor; sin embargo los resultados IR mostraron que la Forma III se convirtió a la

35

Forma II durante la prueba de 7 días. Los resultados de TLC para todas las muestras indicaron una mancha única con valores Rf similares.

Ejemplo 12: Estudios de Compresión de Formas I, II y III

5

Las muestras de las Formas I, II y III se sometieron a 3 toneladas de fuerza usando una Prensa Hidráulica Moore por aproximadamente 90 minutos. La masa, diámetro y espesor de la tableta resultante se midieron para determinar la densidad. Las tabletas también se analizaron por NMR e IR. La Forma I pasó a una composición de Forma II con una densidad de 1,197 kg/m³. La Forma II no exhibió una transición y tiene una densidad final de 1,001 kg/m³. Finalmente, la Forma III no exhibió una transición y tiene una densidad final de 1,078 kg/m³.

10

Ejemplo 13: Proceso para Producir FenilAcetato de L-ornitina por medio de un Intermediario de Acetato

Se disolvió 25 mg de HCl de L-ornitina en 5 volúmenes de H₂O, y después se agregó exceso de ácido acético (aproximadamente 5 volúmenes) para formar una suspensión. La suspensión se sometió a temperatura de ciclización aproximadamente 25°C y 40°C cada 4 horas por aproximadamente 3 días. Se agregó 1 equivalente de ácido fenilacético (con respecto a L-ornitina) y se agitó por aproximadamente 4-6 horas (posiblemente caliente). Se usó IPA como un anti-solvente, se agregó lo suficiente para obtener una proporción de 70:30 (IPA:H₂O). Se aisló por filtración a vacío y se secó por aproximadamente 4-8 horas a 80°C para remover cualquier residuo de ácido acético.

15

20

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

25

30

35

40

45

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina, donde dicha forma cristalina exhibe un patrón de difracción en polvo de rayos-X que comprende al menos tres picos característicos, en donde los picos característicos se seleccionan del grupo que consiste de $6,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $13,9^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $14,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $17,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $17,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ y $24,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ ; y opcionalmente donde:
- 10 (i) dicha forma cristalina exhibe un análisis cristalográfico de rayos X de monocristal con parámetros de cristal aproximadamente iguales a los siguientes:
Dimensiones de celda unidad: $a=6,594(2)$ Å, $b=6,5448(18)$ Å, $c=31,632(8)$ Å, $\alpha=90^{\circ}$, $\beta=91,12(3)^{\circ}$, $\gamma=90^{\circ}$;
Sistema cristalino: monoclinico; y
Grupo espacial: $P2_1$; y/o
- (ii) dicha forma cristalina está representado por la fórmula $[C_6H_{13}N_2O_2][C_8H_7O_2]$.
- 15 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 donde dicha forma cristalina exhibe un patrón de difracción en polvo de rayos-X que comprende los picos característicos a $6,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $13,9^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $14,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $17,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ , $17,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ y $24,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ 2θ .
- 20 3. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 donde dicha forma cristalina tiene un punto de fusión de 202°C .
4. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3 que comprende:
al menos aproximadamente 50% en peso de una forma cristalina de sal de fenilacetato de L-ornitina; y
al menos aproximadamente 0,01% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo.
- 25 5. Composición de acuerdo con la reivindicación 4 donde la composición comprende
- (i) al menos aproximadamente 0,10% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo;
y/o
- 30 (ii) no más de 5% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo, o no más de 1% en peso de ácido benzoico o una sal del mismo.
6. Composición de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, donde dicha composición además comprende:
- (i) al menos 10 ppm de plata, o al menos 20 ppm de plata, o al menos 25 ppm de plata;
y/o
- 35 (ii) no más de 600 ppm de plata, o no más de 100 ppm de plata, o no más de 65 ppm de plata.
7. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde 50 mg/mL de dicha composición en agua es isotónica con fluidos corporales.
- 40 8. Composición de acuerdo con la reivindicación 7 donde la solución isotónica tiene una osmolaridad en el intervalo de aproximadamente 280 hasta aproximadamente 330 mOsm/kg.
9. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso en el tratamiento o alivio de hiperamonemia en un sujeto.
- 45 10. Composición de acuerdo con la reivindicación 9 donde el sujeto tiene encefalopatía hepática o hiperamonemia.

50

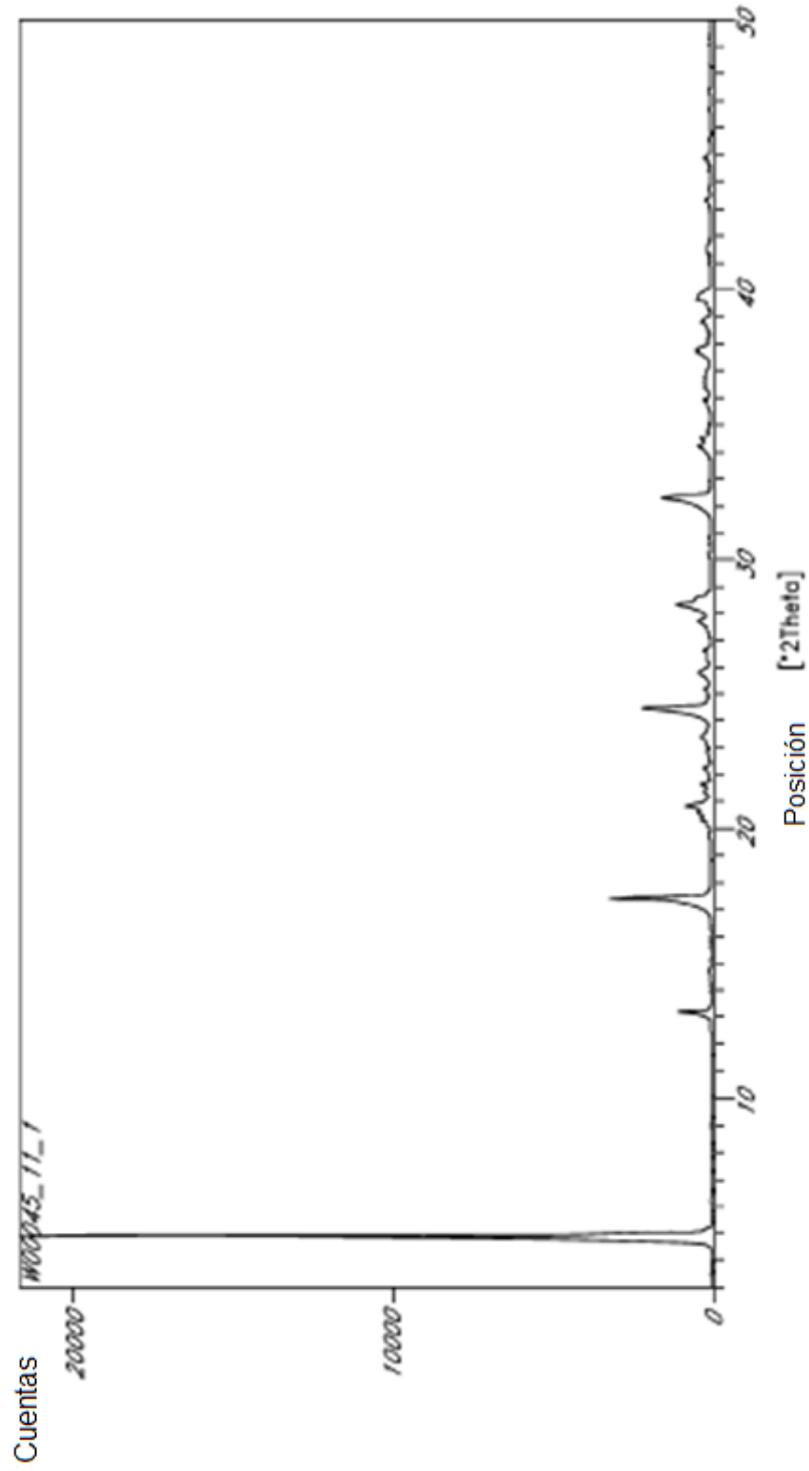


FIG. 1 Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la forma I

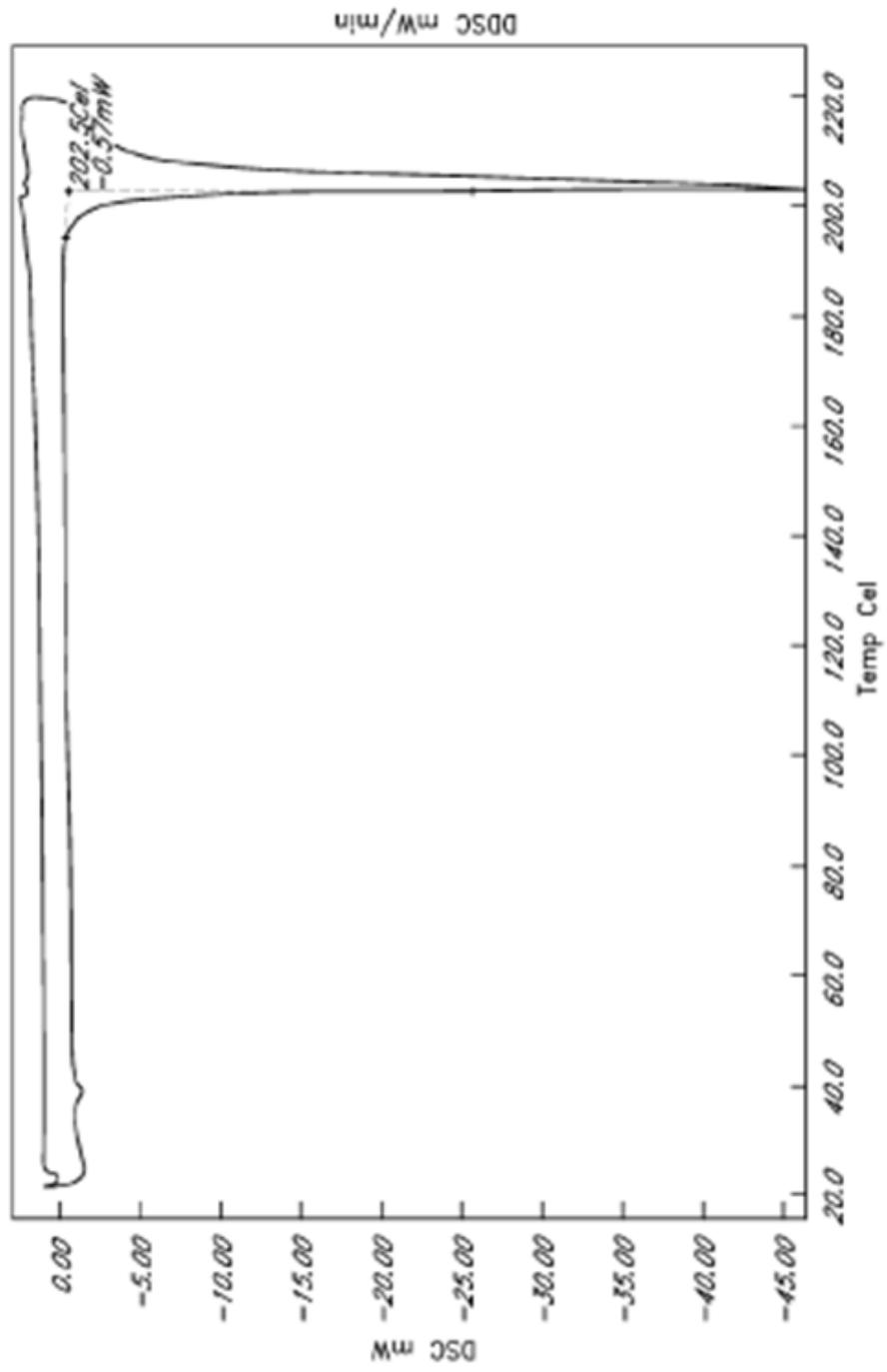


FIG. 2 Resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma I

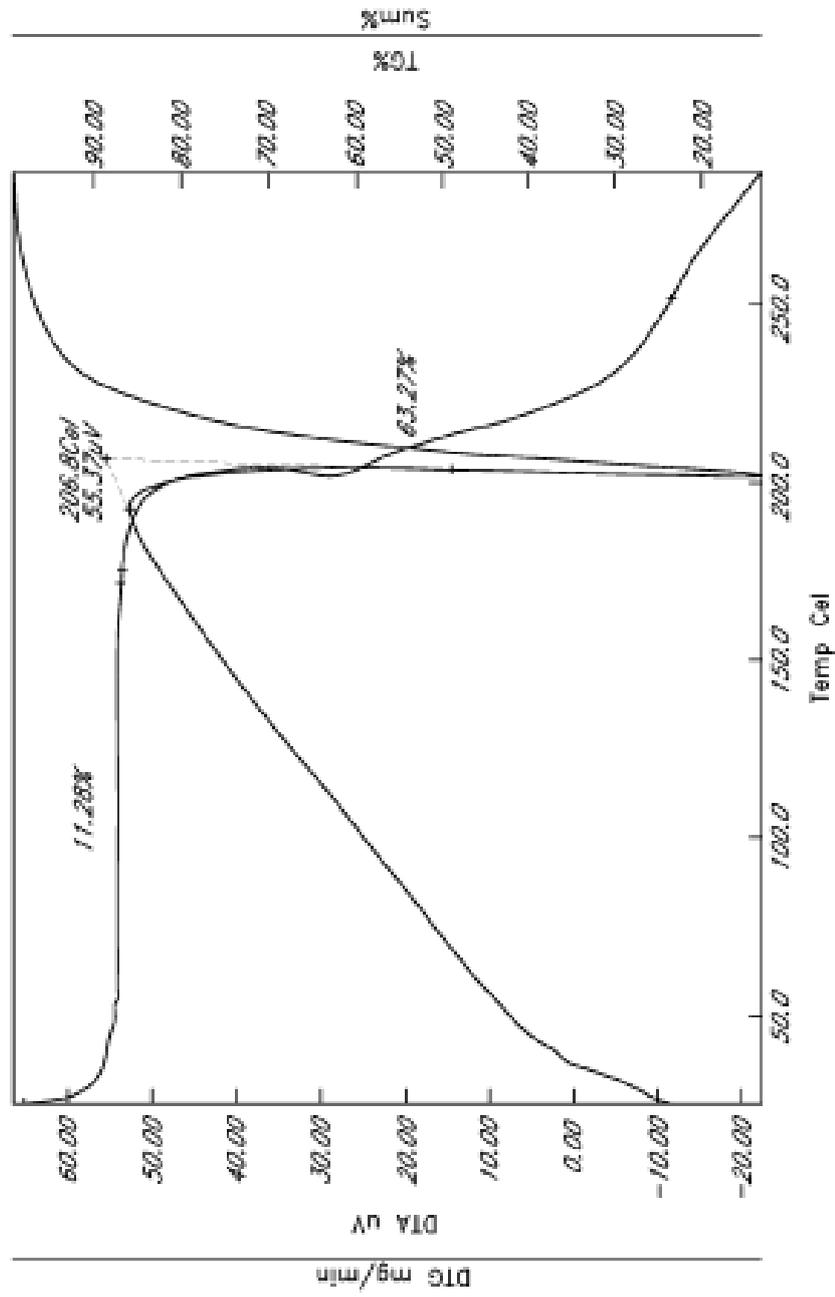


FIG. 3 Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma I

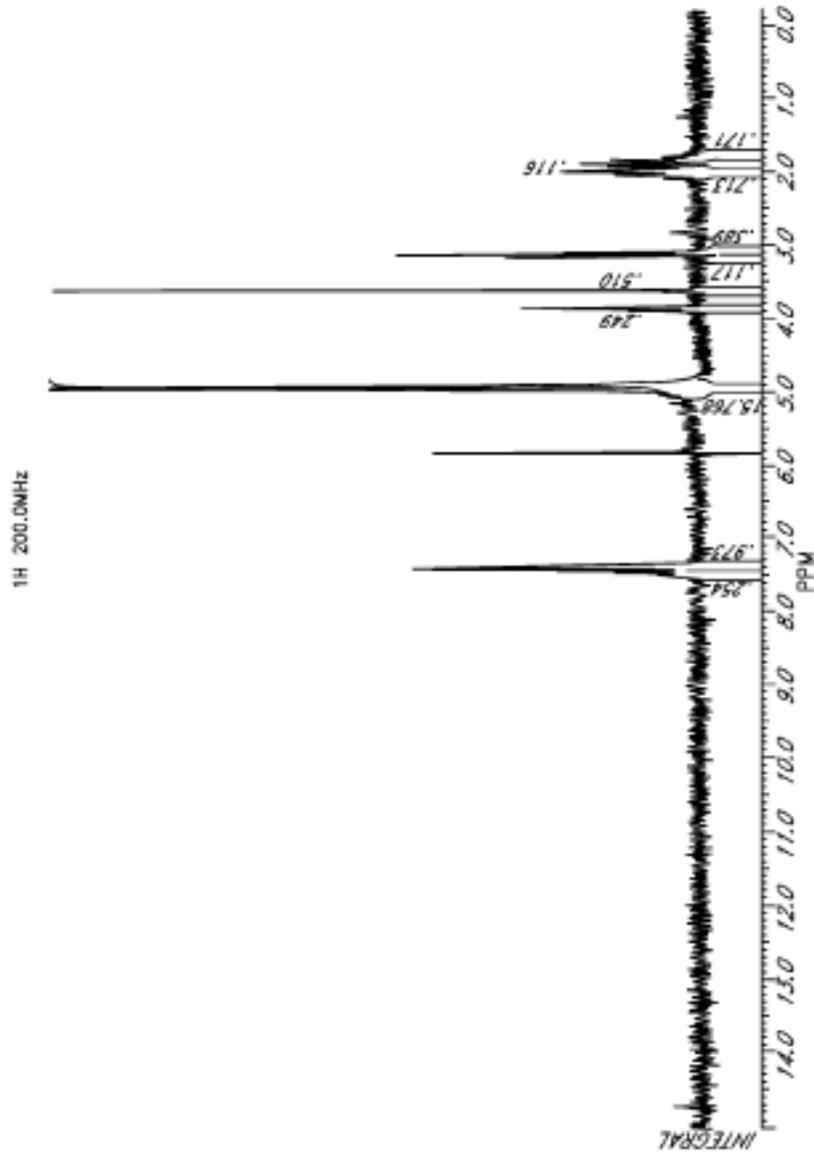


FIG. 4 Espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de la Forma I

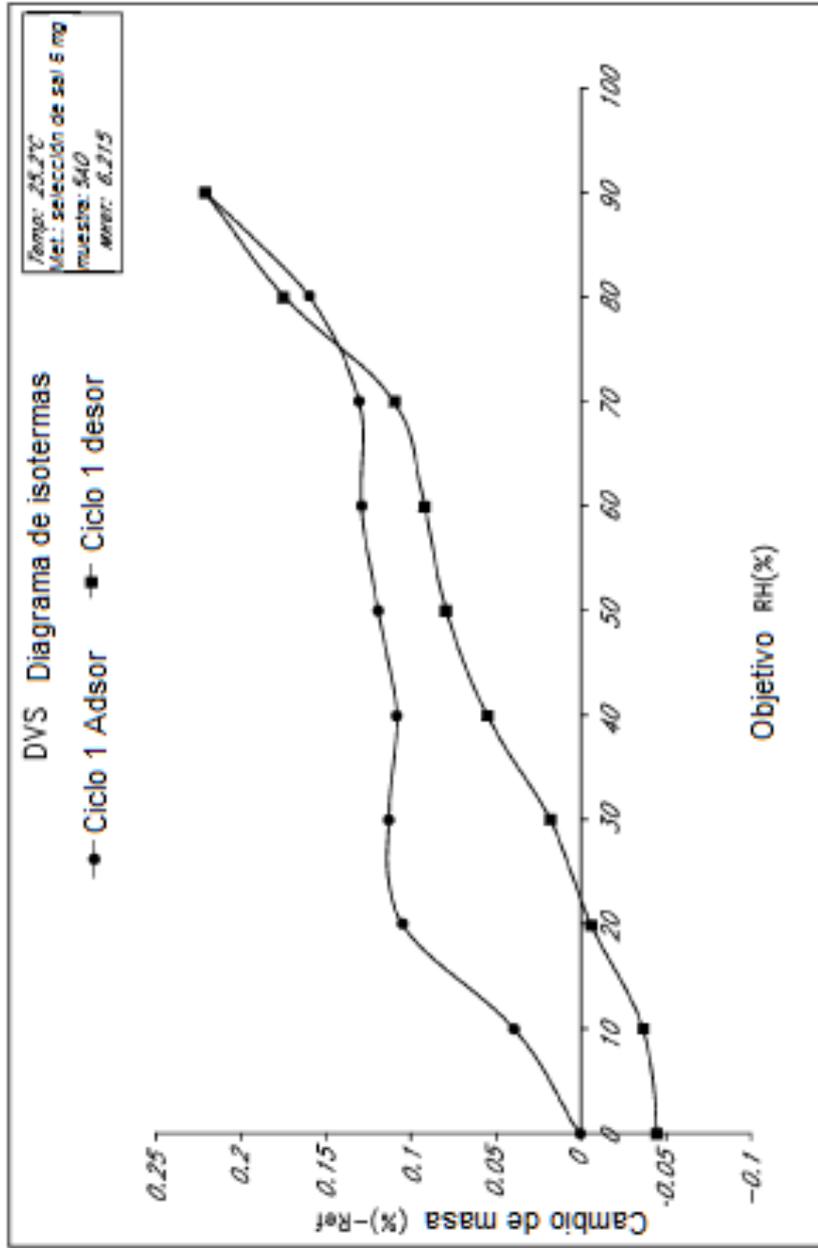
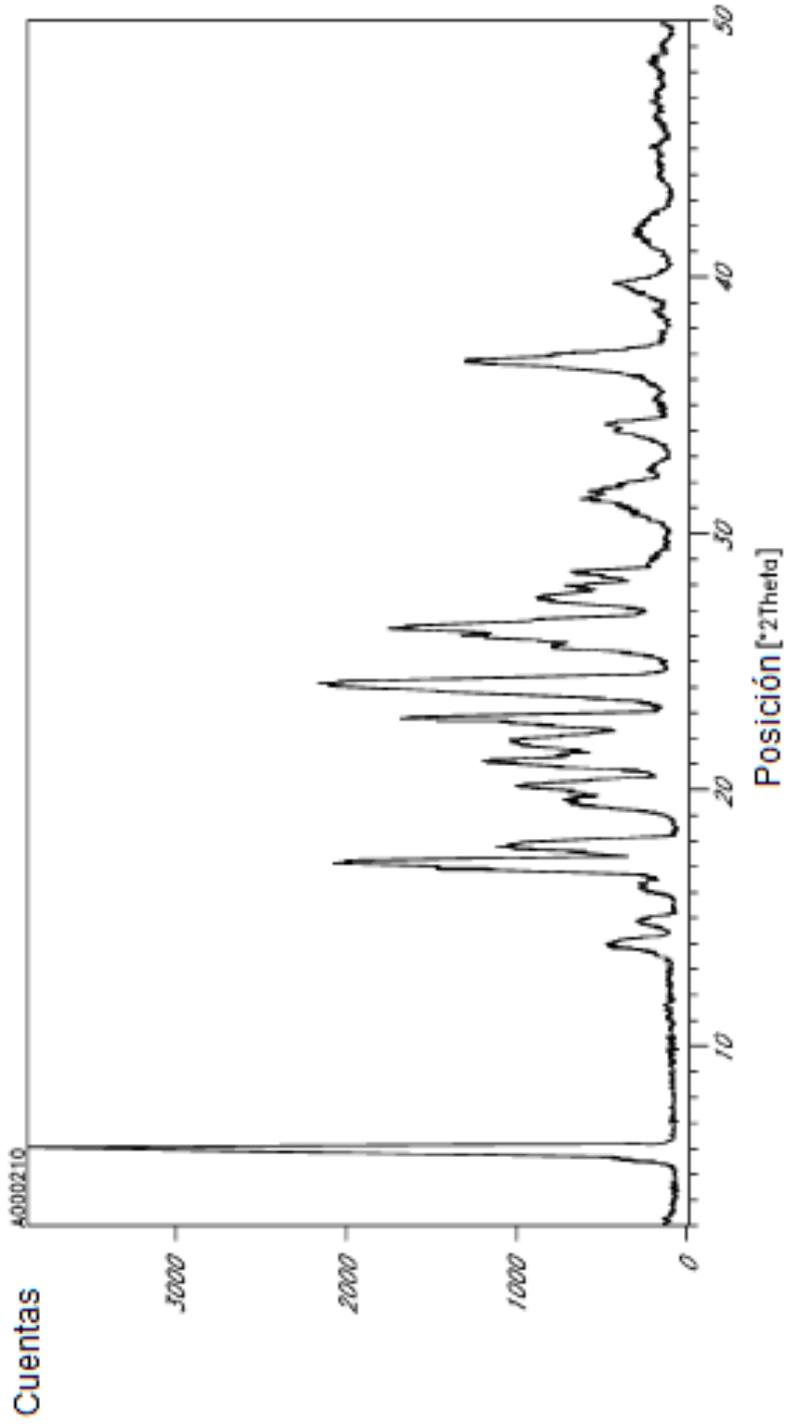


FIG. 5 Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma I



Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma II

FIG. 6

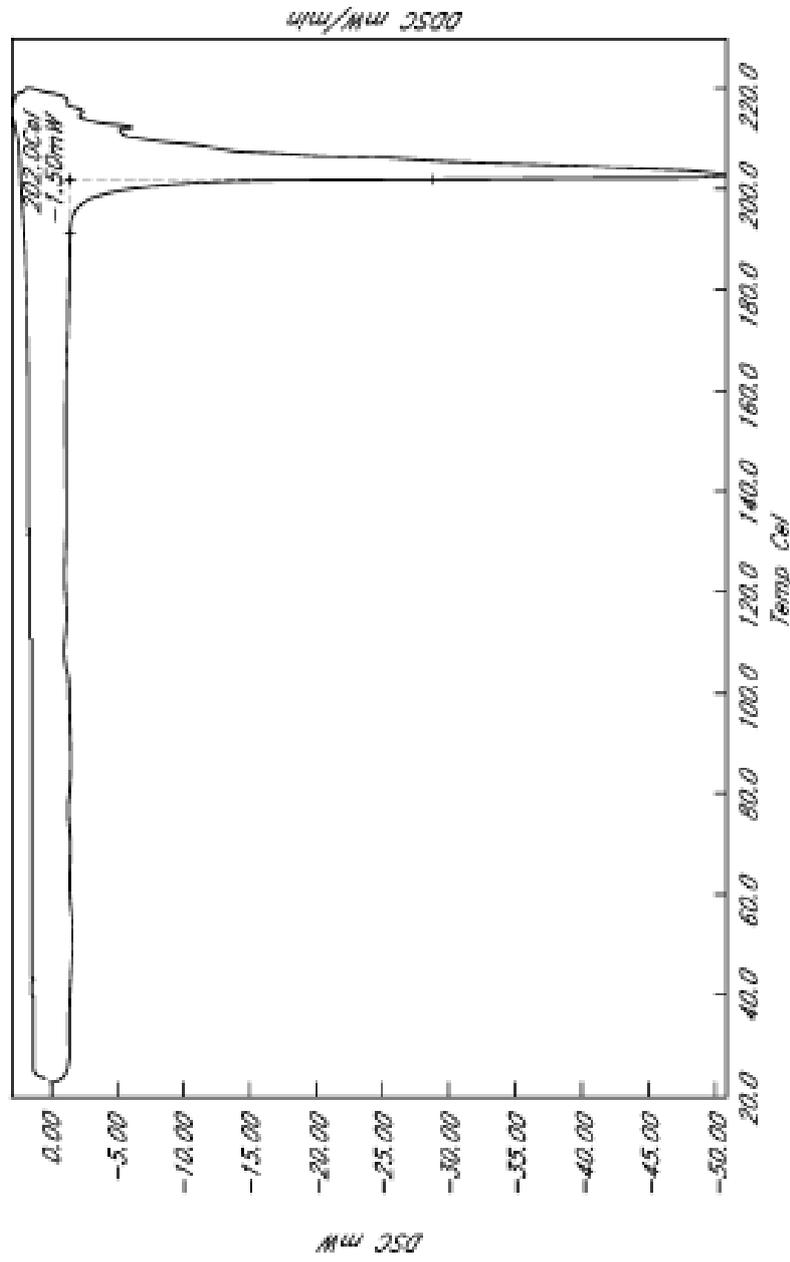


FIG. 7 Resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma II

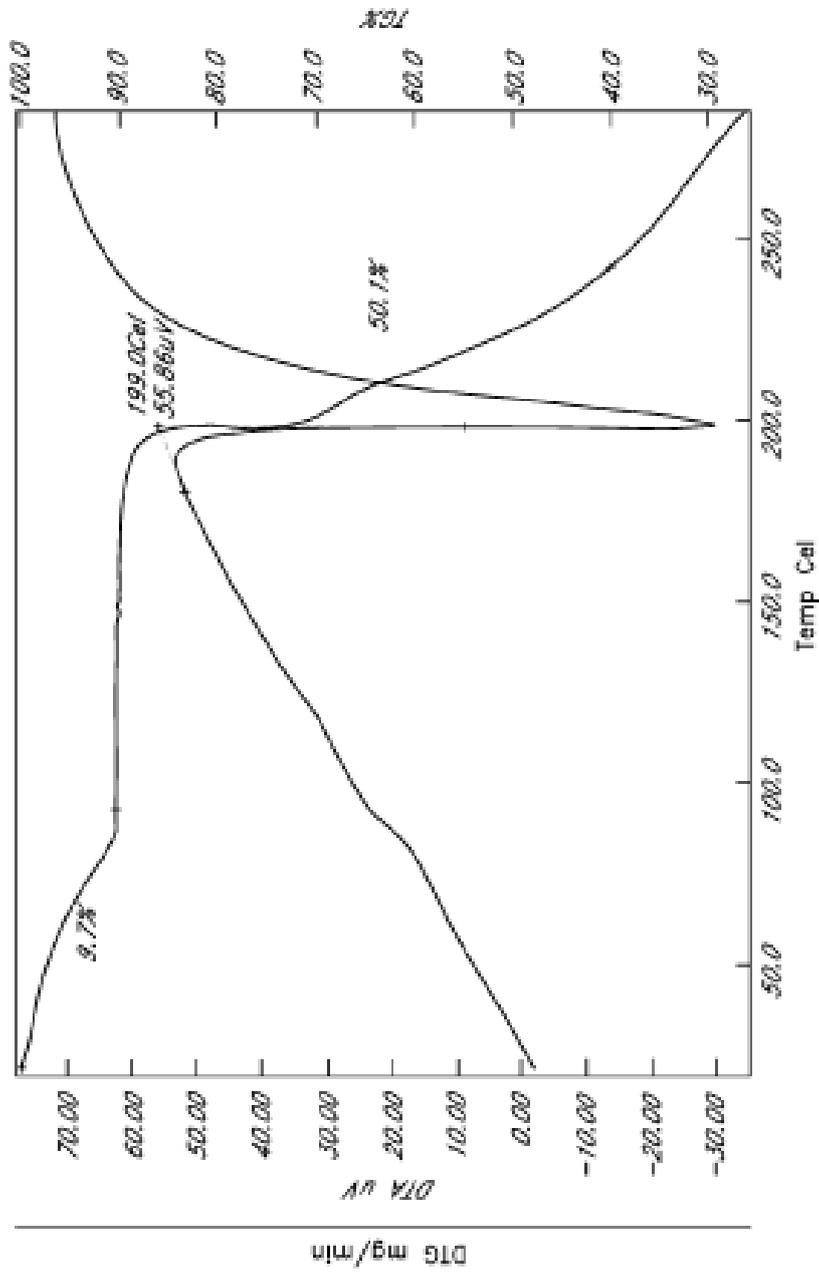


FIG. 8 Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos/termogravimétricos de la Forma II

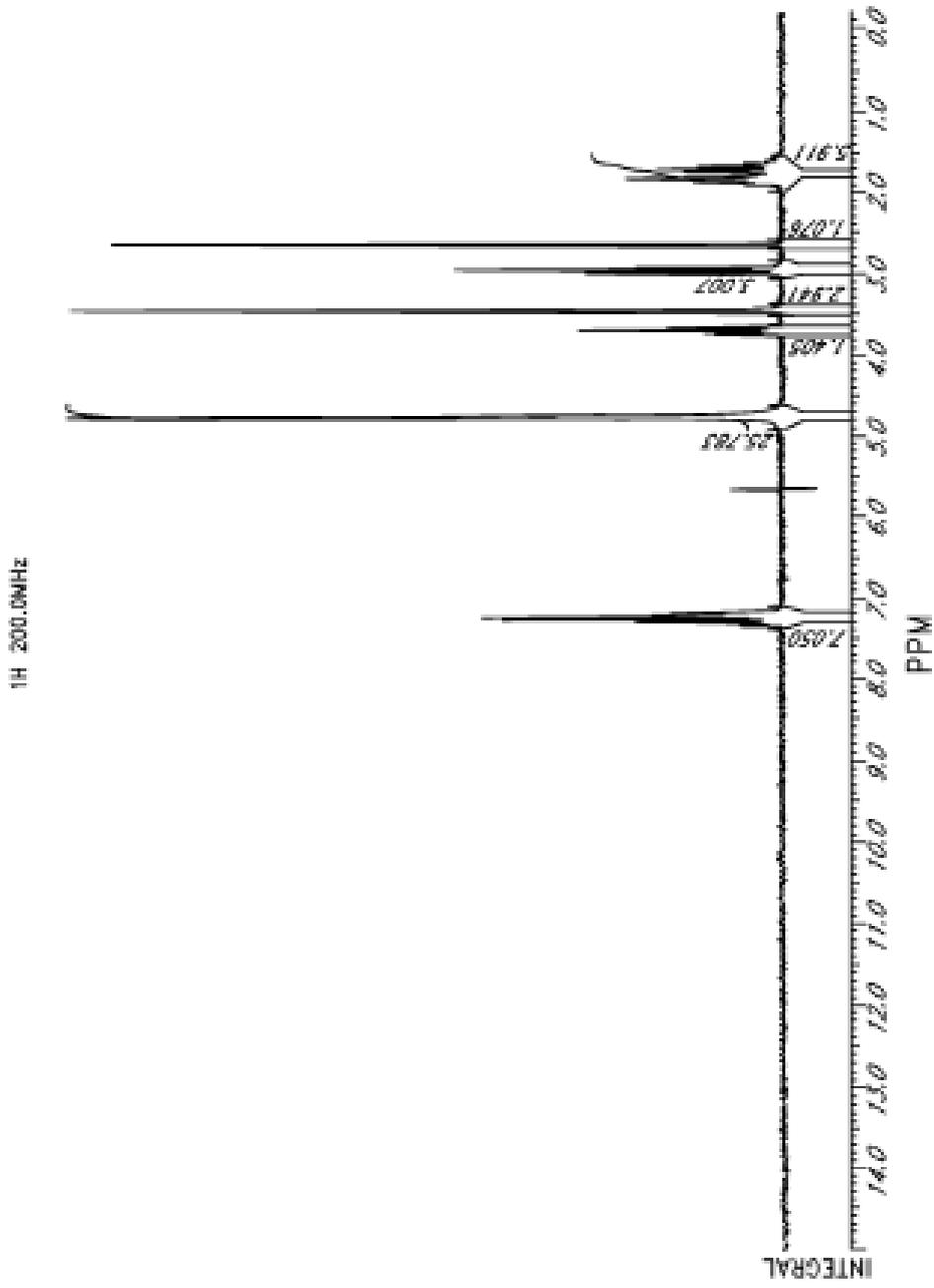


FIG. 9 Espectro de resonancia magnética nuclear ¹H de la Forma II

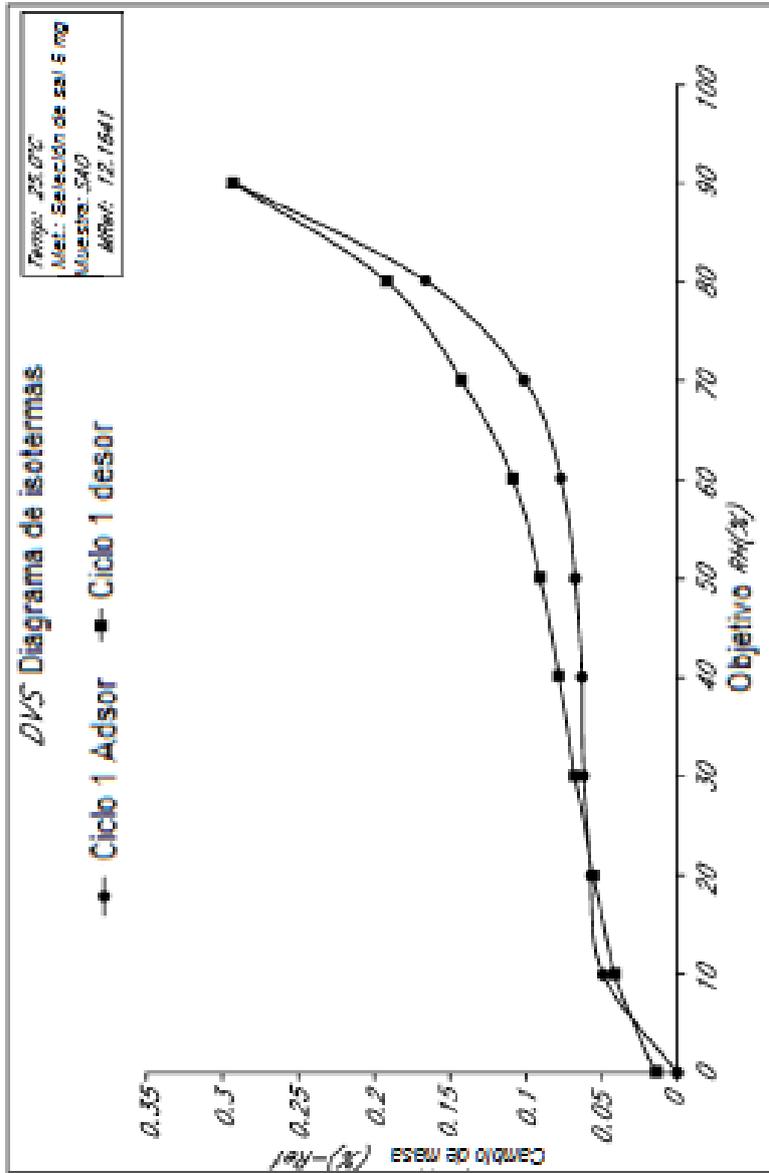


FIG. 10 Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma II

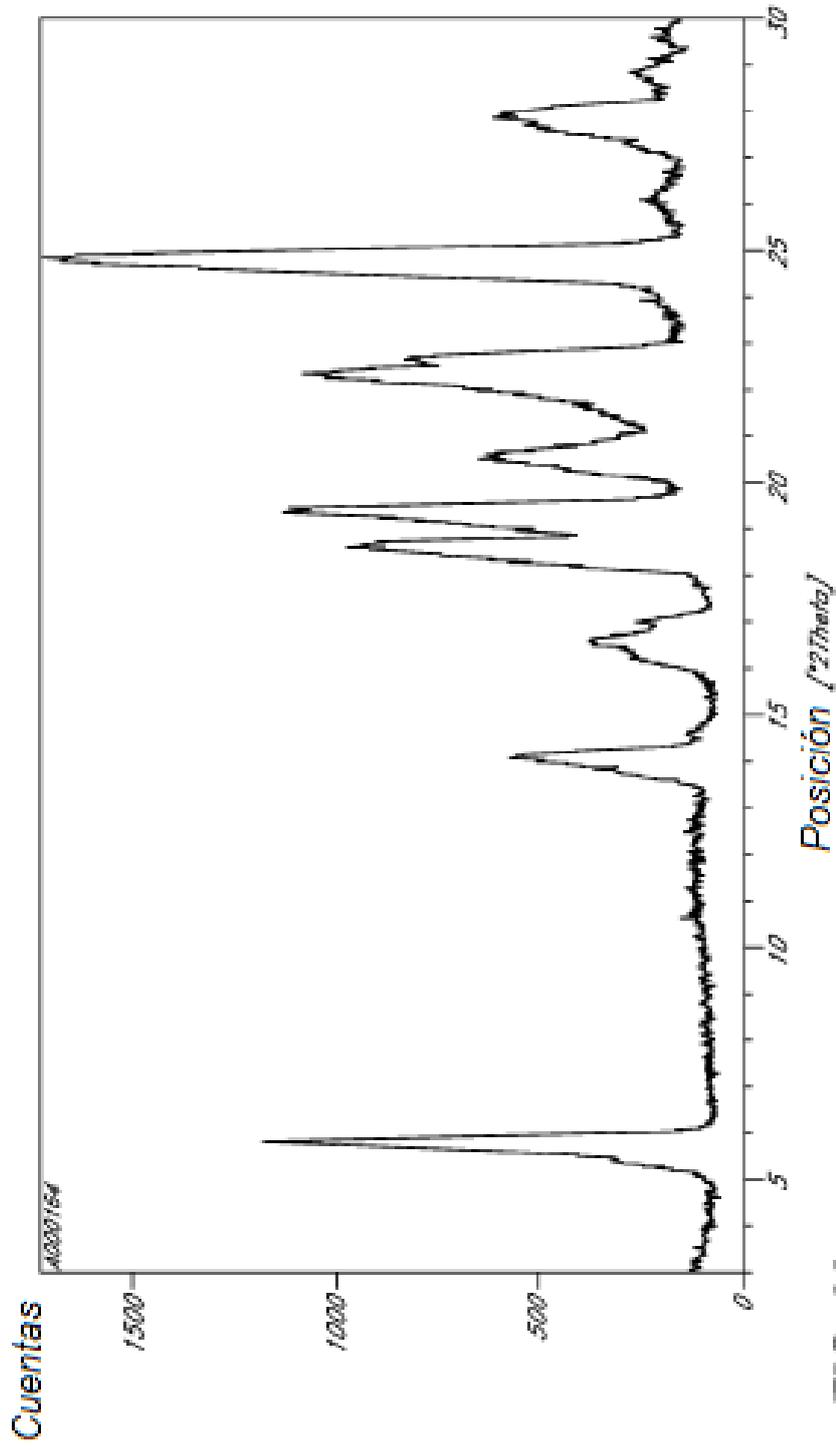


FIG. 11
Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma III

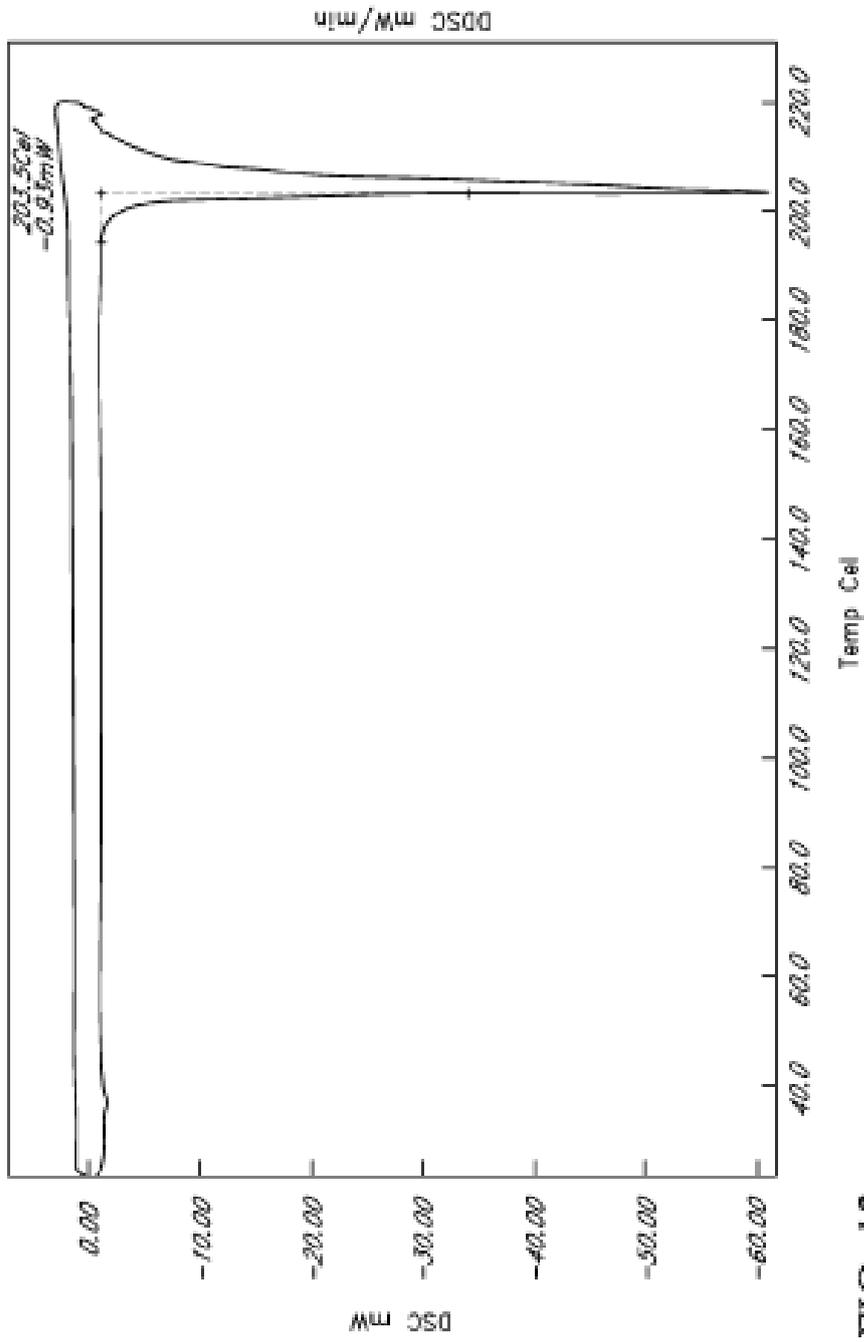


FIG. 12
Resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma III

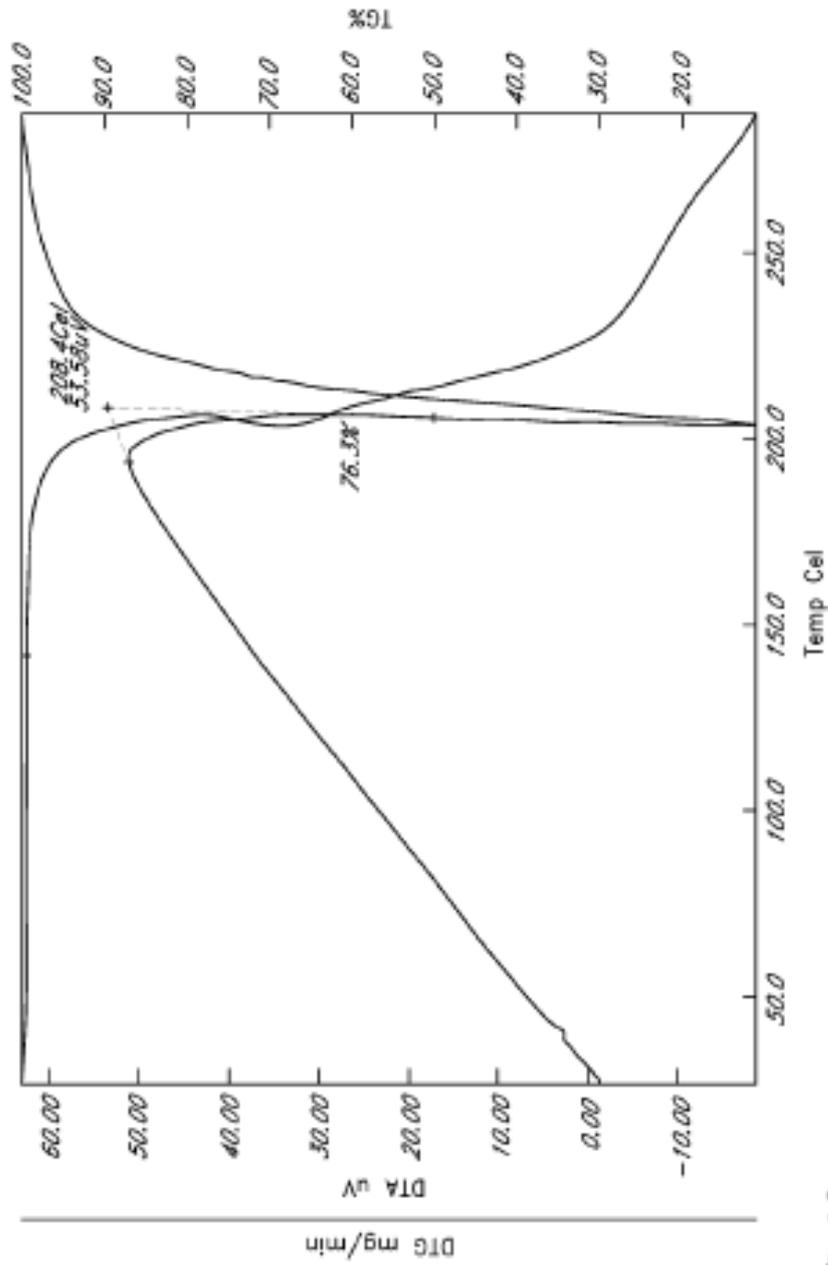


FIG. 13 Análisis diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma III

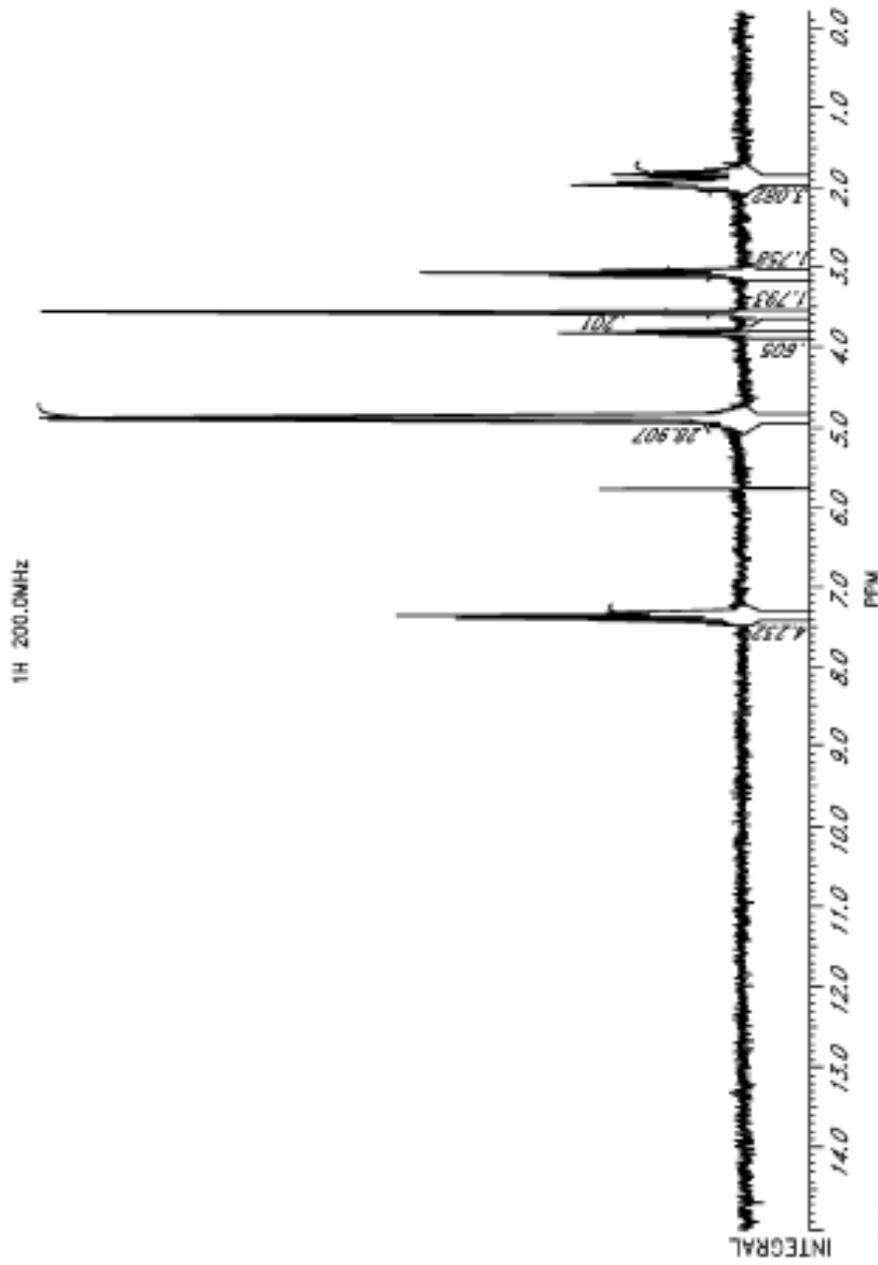
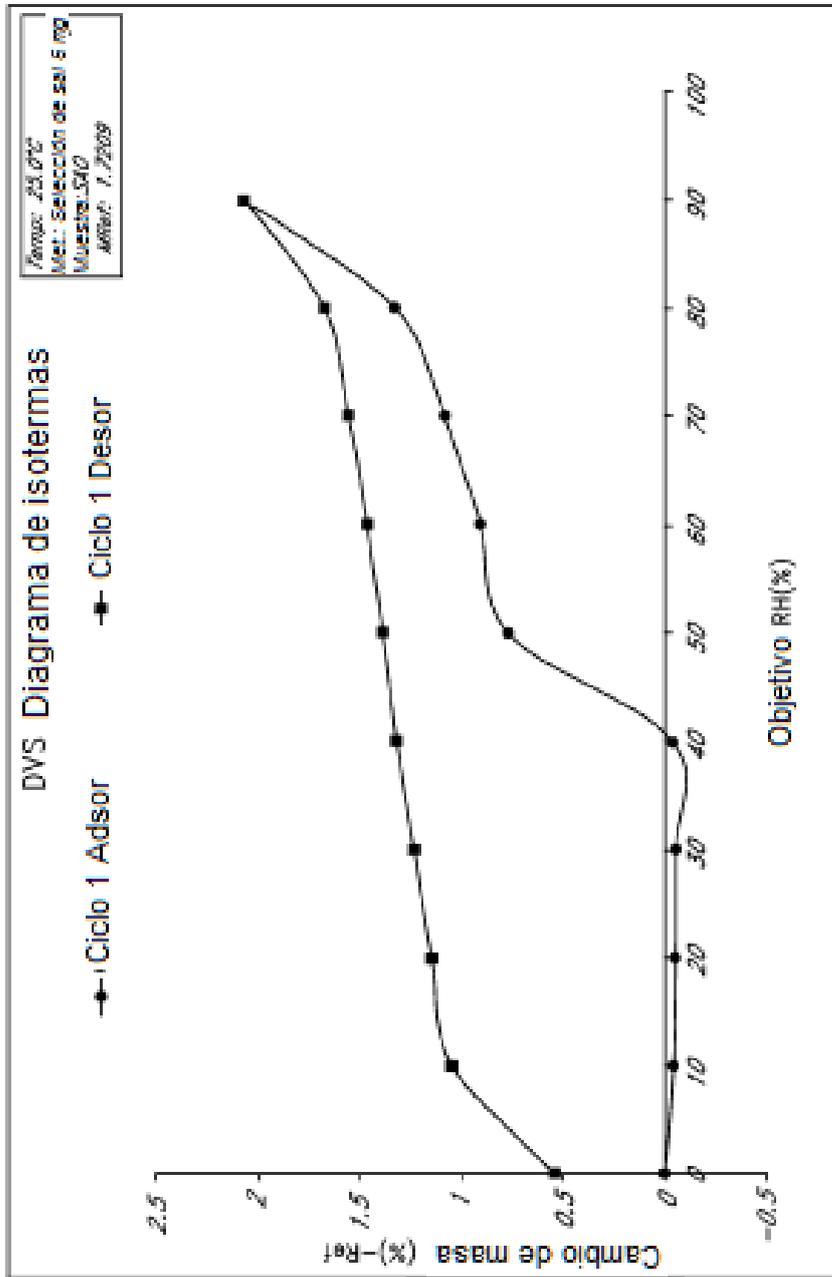


FIG. 14 Espectro de resonancia magnética nuclear ¹H obtenido de la Forma III



Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma III

FIG. 15

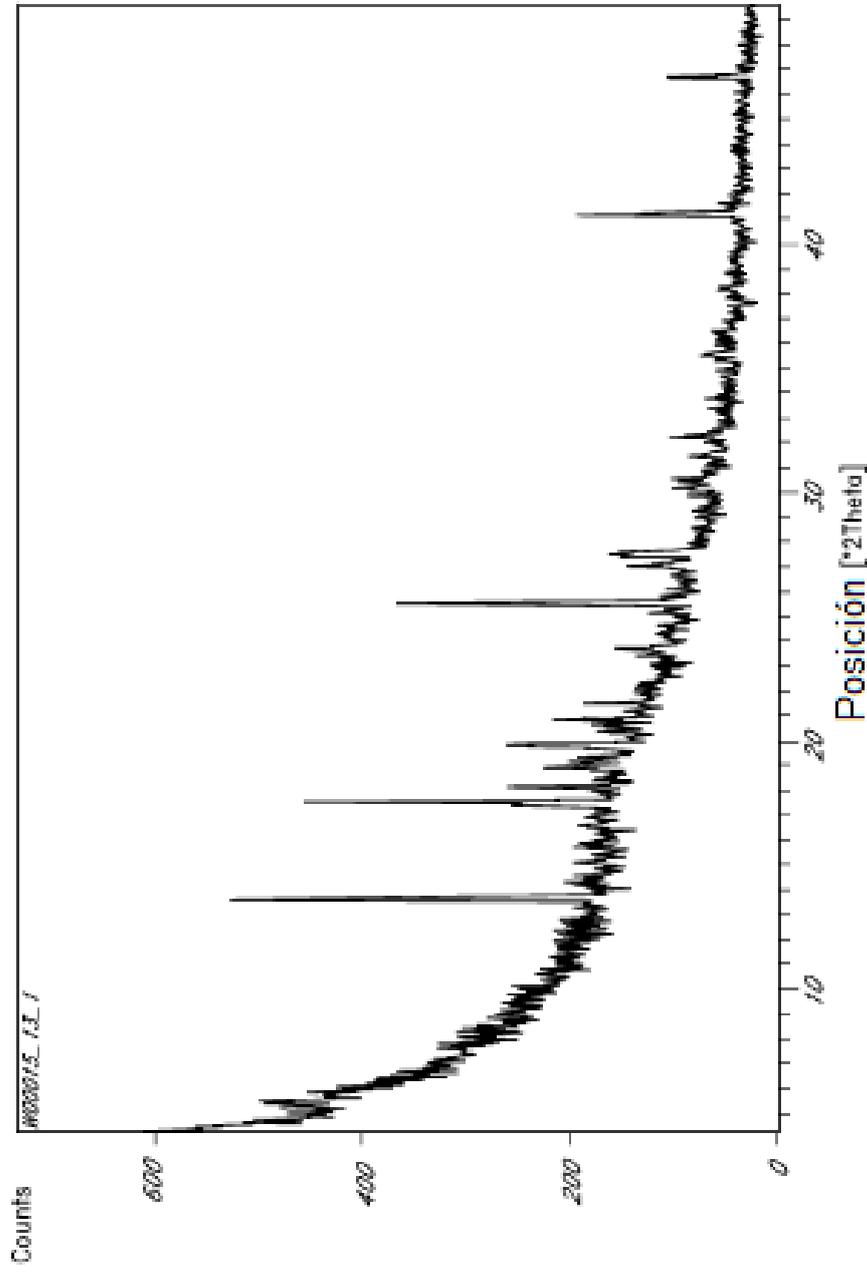


FIG. 16 Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la Forma V

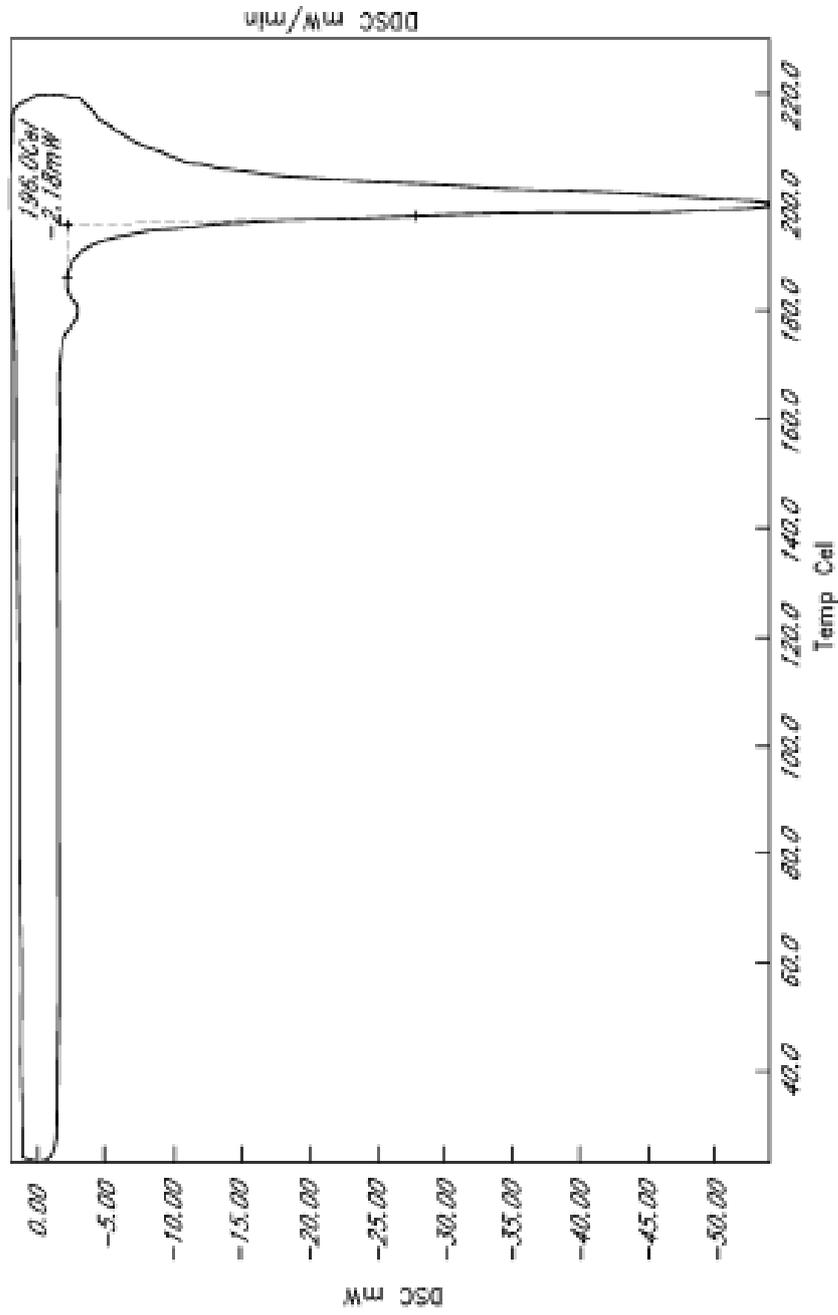


FIG. 17 Resultados de calorimetría de exploración diferencial para la Forma V

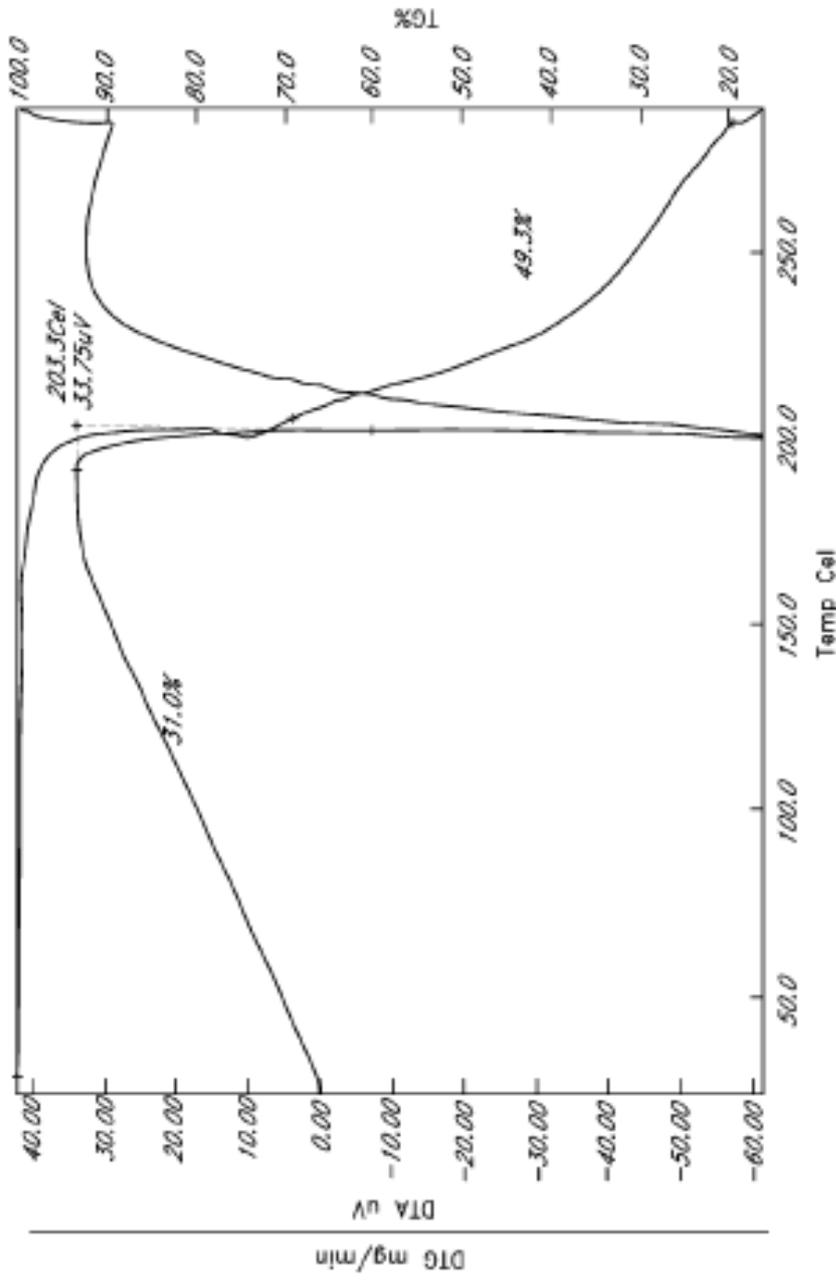


FIG. 18

Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma V.

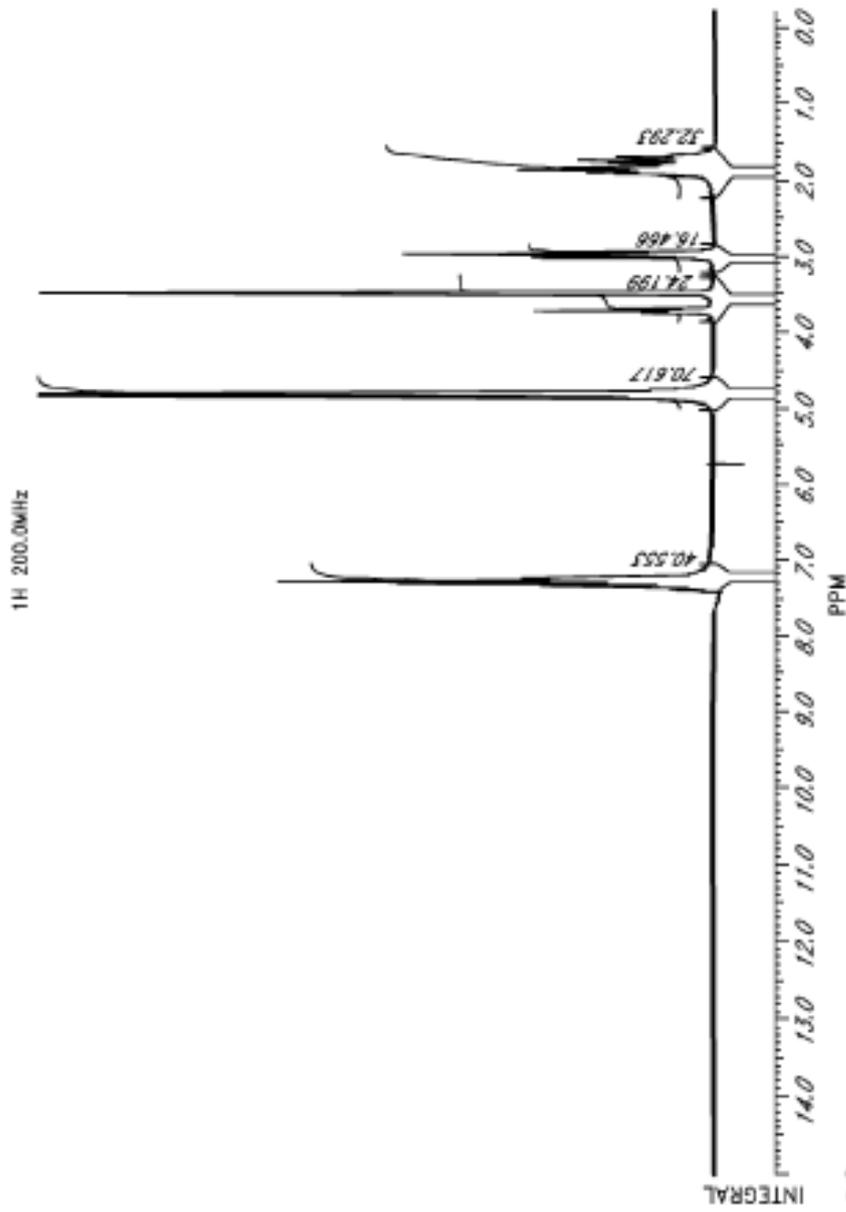


FIG. 19 Espectro de resonancia magnética nuclear ¹H obtenido de la Forma V

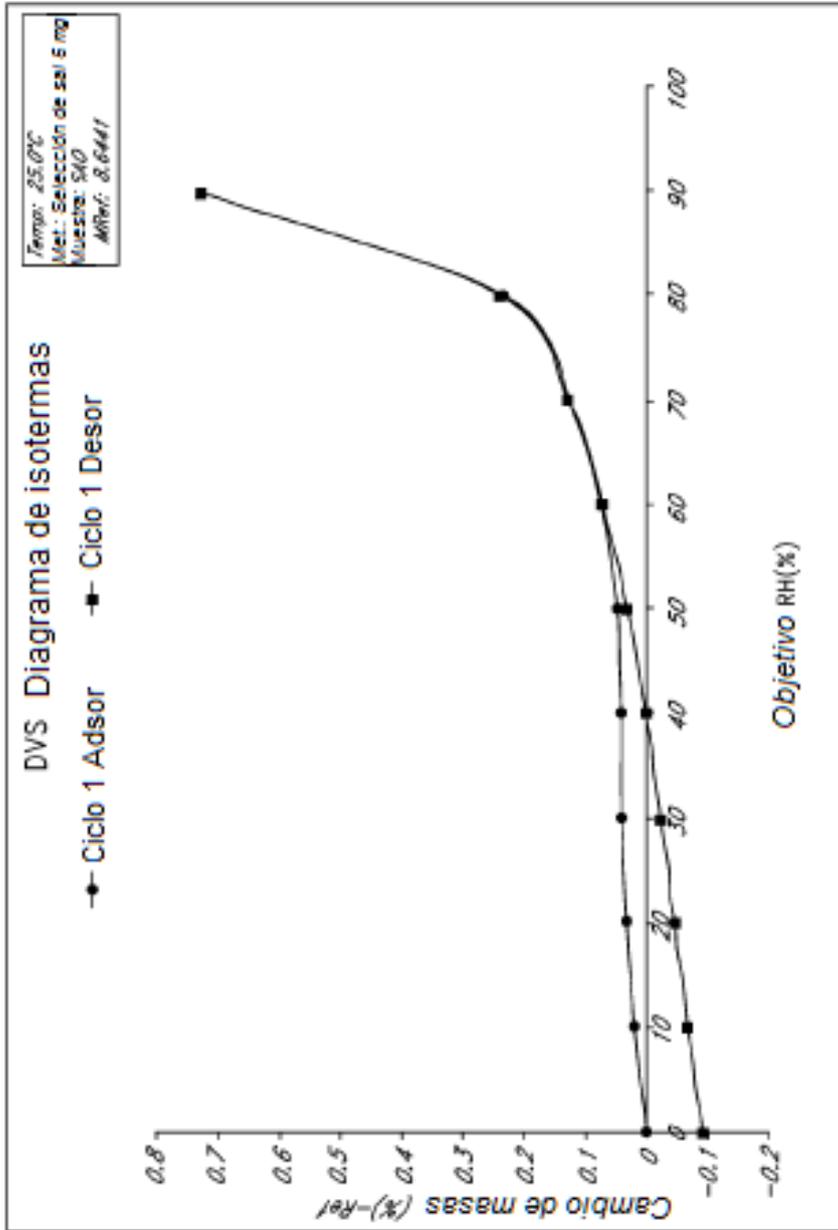


FIG. 20 Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma V

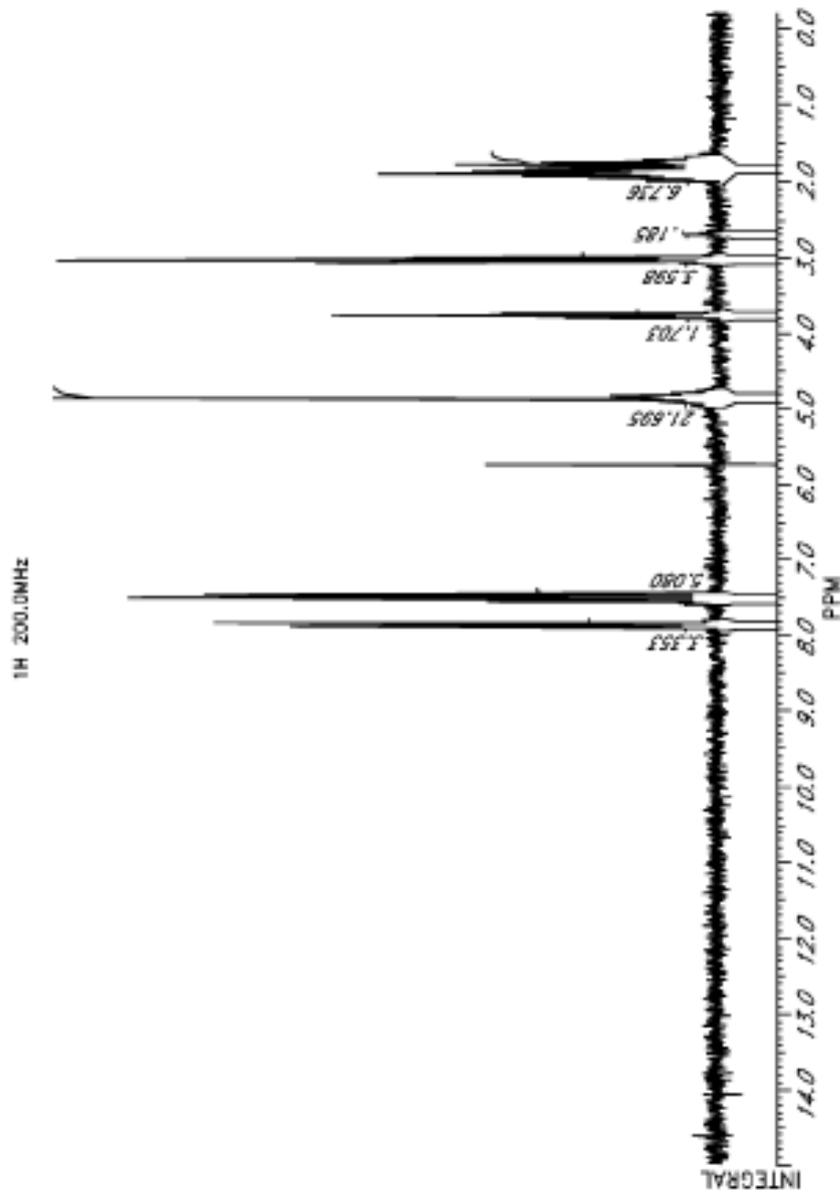


FIG. 21 Espectro ^1H representativa de benzoato de L-ornitina.

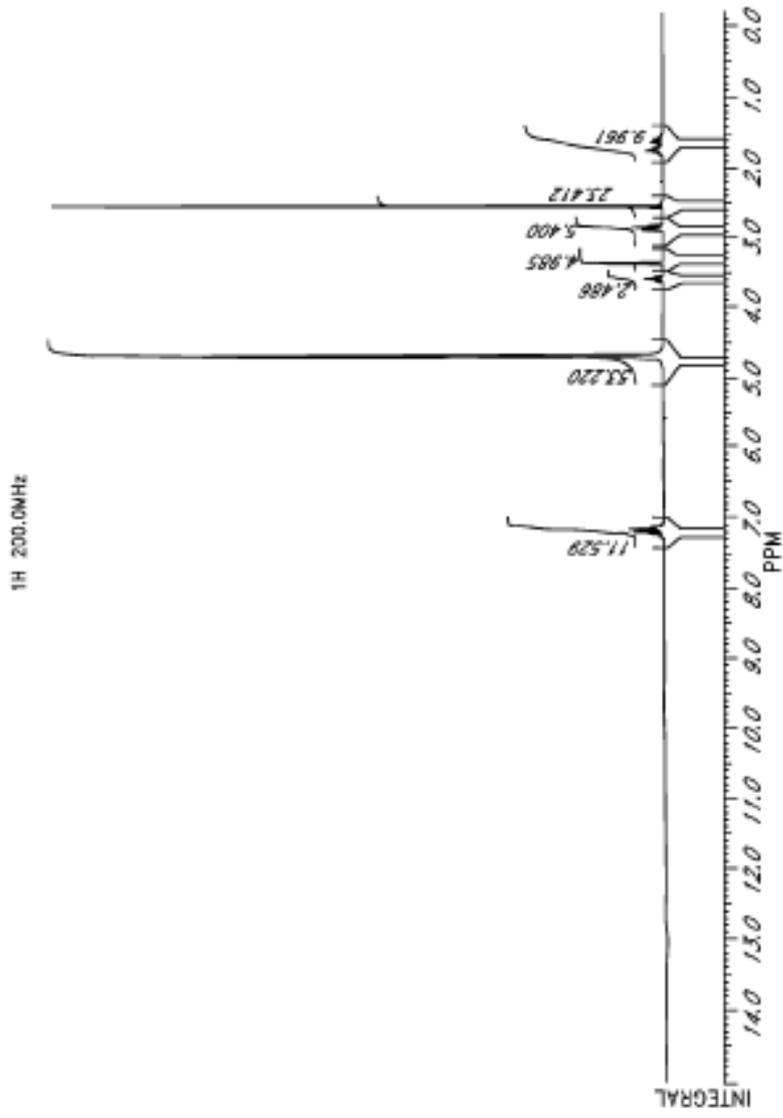


FIG. 22 Espectro ¹H representativo de fenil-acetato de L-ornitina