

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 689 029**

51 Int. Cl.:

**C07D 279/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2010** **E 15176967 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018** **EP 2963024**

54 Título: **Hidratos de cloruro de metiltioninio cristalinos - Parte 2**

30 Prioridad:

**24.09.2009 US 245391 P**

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

**08.11.2018**

73 Titular/es:

**WISTA LABORATORIES LTD. (100.0%)  
25 Bukit Batok Crescent, The Elitist 06-13  
Singapore 658066, SG**

72 Inventor/es:

**HILFIKER, ROLF y  
RAGER, TIMO**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 689 029 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

Hidratos de cloruro de metiltioninio cristalinos - Parte 2

5 La presente invención se refiere a hidratos de cloruro de metiltioninio cristalino, en particular, la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato; a los procesos para la preparación de la Forma E; y, preferentemente, a composiciones farmacéuticas, que comprenden la forma E.

10 El cloruro de metiltioninio (MTC) [azul de metileno: cloruro de 3,7-bisdimetilaminofenazotinio,  $C_{16}H_{18}ClN_3S$ , 319,85 g/mol] se preparó por primera vez en 1876 (The Merck Index, 13ª edición, Merck & Co., Inc., 2001, entrada 6085). Se conocen varios métodos de síntesis y recientemente se han resumido en el documento WO 2006/032879. El documento WO 2006/032879 también establece una serie de aplicaciones del azul de metileno, que incluyen el uso como colorante médico, como indicador redox, un antiséptico, para el tratamiento y la prevención de cálculos renales, el tratamiento del melanoma, el paludismo, las infecciones virales y la enfermedad de Alzheimer. El MTC también se ha utilizado como agente oxidante y como antídoto en el caso de intoxicación por CO, nitrógeno y anilina.

20 Se sabe que el MTC existe en forma de hidratos. Por ejemplo, el catálogo Fluka indica en términos muy generales que el MTC puede contener hasta 22 % de agua [Fluka Catalogue 1997/1998, Fluka Chemie AG, 1997]. En la literatura se han formulado estructuras con de una a cinco moléculas de agua [J.O. Warwicker, J. Chem. Soc. (1955) 2531; G.F. Davidson, J. Textile Institute 38 (1947) T408-418]. La formación de un trihidrato aparentemente ha encontrado una aceptación generalizada [por ejemplo, The Merck Index, 13ª edición, Merck & Co., Inc., 2001, entrada 6085]. Sin embargo, esta afirmación ya se discutió hace más de 80 años y en su lugar se propuso la adsorción inespecífica de agua por el MTC [H. Wales, O. A. Nelson, J. Am. Chem. Soc. 45 (1923) 1657; C. M. Martin, J. W. G. Neuhaus, F. H. Reuter, Analyst 71 (1946) 29-31].

25 Hasta la fecha, el único hidrato que se ha caracterizado con detalle es un pentahidrato de MTC [J.O. Warwicker, J. Chem. Soc. (1955) 2531; H. E. Marr III, J. M. Stewart, M. F. Chiu, Acta Cryst. B29 (1973) 847]. Para este hidrato, incluso se dispone de datos de rayos X de un solo cristal. Consiste en columnas pi apiladas de cationes de metiltioninio que están dispuestos en planos perpendiculares al eje  $\alpha$  del cristal. Las moléculas de agua y los iones de cloruro se encuentran entre estas capas, de modo que los iones cloruro se concentran en planos casi perpendiculares a los planos del agua y paralelos al eje de las columnas. Los iones cloruro se coordinan con tres puentes de hidrógeno de 3/2 moléculas de agua.

35 Posiblemente, la misma estructura se atribuyó anteriormente a un tetrahidrato [W. H. Taylor, Z. Krist. 91 (1935) 450]. Una transición de fase entre el pentahidrato y se describió que se producía una segunda forma polimórfica cerca de 30 °C en suspensión acuosa [S.W. Bodman, S. P. Kodama, P. C. Pfeil, R. E. Stevens, J. Chem. Eng. Data 12 (1967) 500]. La segunda forma también se obtuvo mediante secado al vacío del pentahidrato a temperatura ambiente y su contenido de agua se indicó que sumaba hasta aproximadamente 1 mol / mol.

40 La forma en estado sólido de un compuesto es de gran importancia para aplicaciones farmacéuticas. Puede influir en la estabilidad química y física del propio compuesto y de sus formulaciones, puede tener un impacto sobre la farmacocinética y la biodisponibilidad. En el caso de los hidratos, la composición también influye sobre la dosificación correcta del ingrediente farmacéutico activo.

45 El cloruro de metiltioninio usado en las composiciones farmacéuticas se describe como un trihidrato (ficha técnica de seguridad de materiales USP para azul de metileno (número de catálogo 1428008), 2005), que se piensa que es cloruro de metiltioninio pentahidrato mezclado con otros componentes. La mezcla o los componentes de la mezcla son estables en condiciones diferentes, pueden convertirse en otras especies polimórficas o seudopolimórficas y, por tanto, cambiar su composición, por lo que la dosificación correcta es un problema y es posible que se considere que la estabilidad durante el almacenamiento sea insuficiente.

50 La presente invención proporciona formas polimórficas específicas de los hidratos de cloruro de metiltioninio, así como procesos seguros y reproducibles para su preparación. La presente invención también proporciona formas polimórficas específicas de los hidratos de cloruro de metiltioninio que son estables en condiciones definidas y que tienen una buena solubilidad y biodisponibilidad. La presente invención proporciona formas polimórficas específicas de hidratos de cloruro de metiltioninio que se pueden medir fácilmente para llegar a contenidos definidos en composiciones farmacéuticas con el fin de administrar cantidades exactas del compuesto activo.

55 En el presente documento se describe el MTC sustancialmente en la forma B cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato.

60 En algunos ejemplos, la forma B no es exactamente un dihidrato pero puede contener una pequeña cantidad de agua (por ejemplo, -0,2-0,3 equivalentes) en exceso del dihidrato. No obstante, por comodidad, en el presente documento se hace referencia al mismo como la forma B cristalina de cloruro de metiltioninio dihidrato.

65 La forma B cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo (longitud

## ES 2 689 029 T3

de onda 1,54180 Å) que contiene picos específicos en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 5,8, 11,2, 25,3, 26,8.

La forma B cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 15,6, 16,9, 20,3, 28,3.

5 La forma B cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato también se puede caracterizar por cualquier combinación de tres o más picos seleccionados de la lista de 8 picos anteriores, con preferencia por los picos en los ángulos bajos.

10 Un patrón XRD en polvo representativo de la forma B cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato se muestra en la Figura 1.

15 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la forma B es una forma termodinámicamente metaestable a temperatura ambiente sobre el intervalo completo de humedad relativa. Rayos X en polvo y la DSC indican el carácter cristalino de la forma B. La termogravimetría (TG, velocidad de calentamiento 10 °C/min) tienen como resultado pérdida de agua del 10,6 % o del 10,9 al 11,5 % entre la temperatura ambiente y 150 °C, correspondiente a un contenido de agua de aproximadamente 2, por ejemplo 2,2-2,3 moléculas de agua por molécula de azul de metileno. El análisis TG permite distinguir la forma B de las formas A y E.

20 La forma B también se puede caracterizar usando calorimetría diferencial de barrido (DSC). Cuando se somete a DSC, con una velocidad de calentamiento de 100 °C/min en un crisol de oro, la forma B tiene un pico de fusión en 186 °C con un hombro hacia una temperatura inferior. Cuando se somete a DSC, con una velocidad de calentamiento de 20 °C/min en un crisol de oro, la forma B exhibe un pequeño pico endotérmico cerca de 100 °C y un pico de fusión en 183 °C con un hombro hacia una temperatura inferior. Al pico de fusión le sigue inmediatamente la descomposición.

25 La forma B también se puede caracterizar usando espectroscopia en el infrarrojo (ATR-IR) de reflexión total atenuada. Se encuentran señales IR características de la forma B en 1068, 877 y 839  $\text{cm}^{-1}$ .

30 La forma B cristalina se obtiene como polvo verdoso.

La forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato es soluble en metanol y ácido acético y posee una solubilidad baja a moderada en agua, ácido clorhídrico y otros disolventes orgánicos. Su solubilidad es similar a la de la forma A cloruro de metiltioninio pentahidrato.

35 En el presente documento se describe un proceso para la preparación de la forma B, que comprende el secado de la forma A sólida cloruro de metiltioninio pentahidrato a una temperatura elevada y baja humedad. Preferentemente, la temperatura es de al menos 40 °C, o incluso 50 °C, y puede ser inferior a 70 °C. En realizaciones preferidas, la temperatura es de aproximadamente 60 °C. La humedad es, preferentemente, inferior a 40 % de HR y es, más preferentemente, aproximadamente 35 % de HR o inferior. El secado deberá continuar durante un tiempo suficiente para alcanzar la conversión a la forma B.

40 En el presente documento también se describe un proceso para la preparación de la forma B cloruro de metiltioninio dihidrato cristalino, que comprende exponer la forma A cloruro de metiltioninio pentahidrato sólido a temperatura ambiente a un flujo de gas inerte que tiene una humedad relativa de 8 a 15 %.

45 La humedad relativa es, preferentemente, de 9 a 12 % a temperatura ambiente. Los ejemplos de gases inertes son aire, nitrógeno, helio, neón, argón y criptón, o mezclas de los mismos. La forma A cloruro de metiltioninio pentahidrato sólido está, preferentemente, en forma de un polvo cristalino que puede agitarse para acelerar la operación de secado. El tiempo de exposición depende de la cantidad de forma A cloruro de metiltioninio pentahidrato y puede variar desde horas a varias semanas.

Temperatura ambiente puede significar una temperatura de 15 a 30 °C y, preferentemente, de 20 a 25 °C.

55 Los presentes inventores también han descubierto que el cloruro de metiltioninio existe en al menos dos formas dihidrato cristalinas adicionales, en lo sucesivo denominadas en el presente documento formas C y D.

También se describe en el presente documento una forma C cristalina de cloruro de metiltioninio dihidrato.

60 La forma C cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que contiene picos específicos en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 8,1, 11,1, 17,6, 25,9, 27,2.

La forma C cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 16,2, 17,8, 24,4, 30,8, 31,3, 33,0.

65 La forma C cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón

de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 13,4, 18,4, 28,7, 29,5, 30,0, 34,1, 36,0, 36,7, 39,5, 42,7, 45,3, 48,0.

5 La forma C cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato también se puede caracterizar por cualquier combinación de cinco o más picos seleccionados de la lista de 23 picos anteriores, con preferencia por los picos en los ángulos bajos.

10 Un patrón XRD en polvo representativo de la forma C cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato se muestra en la Figura 2.

15 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la forma C es la forma termodinámicamente estable a temperatura ambiente y una humedad relativa de menos del 40 % y hasta aproximadamente 10 % o, posiblemente, incluso hasta 4 %. Este amplio intervalo de estabilidad termodinámica (en comparación con las formas B, D o E), que, además se amplía a temperaturas más altas, convierte a la forma C en la forma de elección para los procesos de preparación, almacenamiento o uso a temperaturas superiores a 25 °C. La difracción de rayos X de polvo y la DSC indican el carácter cristalino de la forma C. La termogravimetría (TG), con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, indica una pérdida de agua de aproximadamente 9,8 a 11,4 %, entre la temperatura ambiente y 150 °C correspondiente a un contenido de agua de aproximadamente 1,9 a 2,3 moléculas de agua por molécula de azul de metileno. En ejemplos preferidos, la termogravimetría con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, indicó una pérdida de agua de aproximadamente 9,8 a 10,7 %, entre la temperatura ambiente y 150 °C en dos etapas. La pérdida de agua total corresponde a un contenido de agua de casi exactamente dos moléculas de agua por molécula de azul de metileno. La presencia de dos etapas es característica del perfil de TG de la forma C. El análisis TG permite distinguir la forma C de las formas A y E.

25 La forma C también se puede caracterizar usando calorimetría diferencial de barrido (DSC). Cuando se somete a DSC, con una velocidad de calentamiento de 100 °C/min en un crisol de oro, la forma C tiene dos máximos endotérmicos a 151 °C y 183 °C.

30 La forma C también se puede caracterizar usando espectroscopia en el infrarrojo (ATR-IR) de reflexión total atenuada. Las señales IR características de la forma C se encuentran en 1497/1483 (pico doble), 1438, 1301 y 1060  $\text{cm}^{-1}$ .

La forma C cristalina se obtiene como un polvo verdoso con un brillo dorado.

35 También se describe en el presente documento un proceso para la preparación de la forma C mediante recristalización del cloruro de metiltioninio que contiene agua o hidratos específicos a partir de dimetilsulfóxido.

40 La forma C también se puede preparar mediante equilibrado en suspensión de las formas A o B u otras formas polimórficas en acetonitrilo o isopropanol en presencia de cantidades pequeñas de agua. Por tanto, también se describe en el presente documento un proceso para la preparación de la forma C cloruro de metiltioninio dihidrato, en la que un cloruro de metiltioninio que contiene agua o una mezcla de varios hidratos o un hidrato específico de cloruro de metiltioninio se suspende y agita a temperatura ambiente en un disolvente seleccionado del grupo que comprende isopropanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, terc-butanol, tetrahidrofurano, dioxano, acetona, 2-butanona acetonitrilo, o mezclas de los mismos, que contienen una pequeña cantidad de agua.

45 Los disolventes orgánicos seleccionados que incluyen mezclas de al menos dos disolventes poseen preferentemente una mala solubilidad para la forma C de MTC dihidrato a la temperatura de aislamiento de este producto cristalino, que normalmente es la temperatura ambiente o inferior. Se prefiere una solubilidad de menos de 20 g/l y, en particular, de menos de 2 g/l a temperatura ambiente. El disolvente es miscible en agua y su presión de vapor supera, preferentemente, la del agua.

50 La cantidad de hidratos en la suspensión puede ser de 1 a 70 %, preferentemente de 5 a 60 %, más preferentemente de 5 a 50 % y particularmente preferente de 10 a 40 % en peso, con respecto a la cantidad de disolvente. Temperatura ambiente puede significar una temperatura de 15 a 30 °C y, preferentemente, de 20 a 25 °C.

55 La cantidad pequeña de agua adecuada depende de la cantidad de agua ya proporcionada por los hidratos de cloruro de metiltioninio añadidos inicialmente, la concentración de cloruro de metiltioninio en la suspensión y la actividad del agua en el disolvente elegido como función del contenido de agua. Cuando se realiza a temperatura ambiente, el contenido de agua al final del proceso de transformación tiene que corresponder a una actividad del agua entre 0,04 y 0,4, preferentemente de 0,1 y 0,3 (correspondiente a de 4 a 40, respectivamente de 10 a 30 % de humedad relativa).

65 El tratamiento debería ser lo bastante largo para la conversión de las otras formas en la forma C. El tiempo de tratamiento depende principalmente de la cantidad de sólido en la suspensión y la composición del material de partida y puede ser de horas a varios días.

Tras la conversión en la forma C, el sólido se puede aislar. El aislamiento del sólido se lleva a cabo mediante filtración. Tras el aislamiento, el disolvente se puede eliminar de la forma C. La eliminación del disolvente se puede llevar a cabo al vacío y a una temperatura inferior a 100 °C, preferentemente inferior a 50 °C, y, lo más preferentemente, cerca de la temperatura ambiente. Como alternativa, un flujo de gas con una humedad relativa, que corresponde al intervalo de estabilidad del hidrato, puede pasarse sobre la muestra para secado.

En el presente documento se describe la forma D cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato.

La forma D cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que contiene picos específicos en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 7,0, 8,5, 12,0, 14,4, 25,3, 25,7, 27,5.

La forma D cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 6,0, 10,4, 20,9, 21,1, 21,7, 22,3, 23,7, 24,5, 26,9, 28,5, 29,0, 30,4, 31,8.

La forma D cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 9,8, 16,3, 17,1, 18,1, 34,9, 41,5, 46,5.

La forma D cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato también se puede caracterizar por cualquier combinación de cinco o más picos seleccionados de la lista de 27 picos anteriores, con preferencia por los picos en los ángulos bajos.

Un patrón XRD en polvo representativo de la forma D cristalina del cloruro de metiltioninio dihidrato se muestra en la Figura 3.

Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la forma D es termodinámicamente metaestable a temperatura ambiente Y sobre el intervalo completo de humedad relativa. La difracción de rayos X de polvo y la DSC indican el carácter cristalino de la forma D. La termogravimetría (TG, velocidad de calentamiento 10 °C/min) tienen como resultado pérdida de agua del 9,3 a 11,2 entre la temperatura ambiente y 150 °C, correspondiente a un contenido de agua de aproximadamente 1,9 a 2,3 moléculas de agua por molécula de azul de metileno. El análisis TG permite distinguir la forma D de las formas A y E.

La forma D también se puede caracterizar usando calorimetría diferencial de barrido (DSC). Cuando se somete a DSC, con una velocidad de calentamiento de 100 °C/min en un crisol de oro, la forma D tiene dos picos máximos endotérmicos a 164 °C y 185 °C y se observa una etapa a nivel basal cerca de 63 °C.

La forma D también se puede caracterizar usando espectroscopia en el infrarrojo (ATR-IR) de reflexión total atenuada. Se encuentran señales IR características de la forma D en 1181, 1140, 1066, 951 y 831  $\text{cm}^{-1}$ .

La forma D cristalina se obtiene como un polvo de color gris a violeta.

La forma D pura se puede preparar mediante procesos de precipitación, tales como la adición de una solución en un buen disolvente a un gran exceso de un no disolvente. De acuerdo con lo anterior, se describe en el presente documento un proceso para la preparación de la forma D cloruro de metiltioninio dihidrato, que comprende disolver la forma A cloruro de metiltioninio pentahidrato en metanol y combinar la solución con éter de t-butil-metilo, bien añadiendo éter de t-butil-metilo a la solución metanólica o añadiendo la solución metanólica a éter de t-butil-metilo.

En el presente documento también se describe un proceso para la preparación de la forma D cloruro de metiltioninio dihidrato esencialmente puro que comprende disolver la forma A cloruro de metiltioninio pentahidrato en ácido acético y combinar la solución con tolueno, bien añadiendo tolueno a la solución de ácido acético o añadiendo la solución de ácido acético a tolueno.

La concentración de la forma A en la solución de metanol o ácido acético puede variar de 1 a 30 % en peso y, preferentemente, de 5 a 20 % en peso, basado en la cantidad de metanol o ácido acético. La cantidad de éter de t-butil-metilo o tolueno puede ser igual al volumen de metanol o ácido acético pero, preferentemente, supera este volumen en al menos un factor de 5, más preferentemente en un factor de 10.

Tras la precipitación de la forma D en cualquiera de los dos métodos anteriores, el sólido se puede aislar mediante filtración. Tras el aislamiento, el disolvente se puede eliminar de la forma D. El disolvente se elimina mediante secado al vacío o en un flujo de gas inerte, de modo que la humedad relativa del aire en todas las etapas del proceso es inferior a 50 % y, preferentemente, inferior a 40 %.

Los presentes inventores también han descubierto que el azul de metileno forma un monohidrato cristalino.

Un aspecto de la presente invención es la forma E cristalina del cloruro de metiltioninio monohidrato.

La forma E cristalina del cloruro de metiltioninio monohidrato tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que contiene picos específicos en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 9,0, 12,5, 14,1, 14,4, 18,1, 23,2, 24,1, 26,0.

- 5 La forma E cristalina del cloruro de metiltioninio monohidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 24,5, 27,2.

10 La forma E cristalina del cloruro de metiltioninio monohidrato puede tener los siguientes picos adicionales en un patrón de difracción de rayos X de polvo en los siguientes valores de  $2\theta$  ( $\pm 0,1^\circ$ ): 21,8, 22,1, 28,4, 29,6, 32,0, 39,3, 41,7, 47,1

15 La forma E cristalina del cloruro de metiltioninio monohidrato también se puede caracterizar por cualquier combinación de cinco o más picos seleccionados de la lista de 18 picos anteriores, con preferencia por los picos en los ángulos bajos.

Un patrón XRD en polvo representativo de la forma E cristalina del cloruro de metiltioninio monohidrato se muestra en la Figura 4.

20 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la forma E es termodinámicamente estable a temperatura ambiente a una humedad relativa de menos de aproximadamente 10 % o menos de aproximadamente 4 % y de hasta aproximadamente 2 %. La difracción de rayos X de polvo indica el carácter cristalino de la forma E. La termogravimetría (TG, velocidad de calentamiento 10 °C/min) tienen como resultado pérdida de agua del 5,1 % a 5,4 % entre la temperatura ambiente y 110 °C, correspondiente a un contenido de agua de una molécula de agua por molécula de azul de metileno. La TG se puede usar para distinguir la forma E de las formas A, B, C y D.

25 La forma E también se puede caracterizar usando calorimetría diferencial de barrido (DSC). Cuando se somete a DSC, con una velocidad de calentamiento de 100 °C/min en un crisol de oro, la forma E no muestra calentamiento térmico hasta la temperatura de descomposición cerca de 220 °C.

30 La forma E también se puede caracterizar usando espectroscopia en el infrarrojo (ATR-IR) de reflexión total atenuada. Se encuentran señales IR características de la forma E en 1350, 1323, 1242, 1218, 1175, 1134, y 1035  $\text{cm}^{-1}$ .

35 La forma E cristalina se obtiene como un polvo de color ocre.

40 La forma E pura se puede preparar mediante equilibrado en suspensión del cloruro de metiltioninio que contiene agua o las formas A, B, C o D, o mezclas de las mismas en condiciones secas en un disolvente. Los disolventes adecuados incluyen los usados en el equilibrio de suspensión para la preparación de la forma C cloruro de metiltioninio dihidrato, es decir isopropanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-metil-2-butanol, tetrahidrofurano, dioxano, acetona, 2-butanona y acetonitrilo. De acuerdo con lo anterior, otro aspecto de la presente invención es un proceso para la preparación de la forma E cristalina de cloruro de metiltioninio monohidrato, en la que el cloruro de metiltioninio que contiene agua o una mezcla de varios hidratos o un hidrato específico de cloruro de metiltioninio se suspende y agita a temperatura ambiente en un disolvente seco, preferentemente isopropanol.

45 La cantidad de hidratos en la suspensión puede ser de 1 a 70 %, preferentemente de 5 a 60 %, más preferentemente de 5 a 50 % y particularmente preferente de 10 a 40 % en peso, con respecto a la cantidad de no disolvente. Temperatura ambiente puede significar una temperatura de 15 a 35 °C y, preferentemente, de 20 a 35 °C. Se puede aplicar un ciclo de temperatura de 20 a 35 °C en, por ejemplo, 30 minutos, para facilitar la eliminación de agua. Isopropanol seco significa un contenido de agua de menos de 1 % en peso en isopropanol, preferentemente de menos de 0,1 % en peso.

50 El tiempo de tratamiento debería ser suficiente para permitir la conversión a la forma E. El tiempo de tratamiento depende principalmente de la cantidad de sólido en la suspensión y puede ser de horas a varias semanas. Tras un tiempo de equilibrado adecuado, es posible que se tenga que eliminar el disolvente y sustituirse por nuevo disolvente seco con el fin de mantener bajo el contenido de agua.

55 Tras la formación de la forma E, se puede aislar el sólido. El aislamiento del sólido se lleva a cabo mediante filtración. Tras el aislamiento del sólido, el disolvente se puede eliminar de la forma E. La eliminación del disolvente se puede llevar a cabo al vacío y a una temperatura inferior a 100 °C, preferentemente inferior a 50 °C, y, lo más preferentemente, cerca de la temperatura ambiente. Como alternativa, un flujo de gas con una humedad relativa, que corresponde al intervalo de estabilidad del hidrato, puede pasarse sobre la muestra para secado.

#### Pureza

65 En cada uno de los aspectos anteriores, el cloruro de metiltioninio está, preferentemente, sustancialmente en la forma descrita. "Sustancialmente en la forma descrita" significa que al menos el 50 % en peso del cloruro de

metiltioninio está en la forma descrita, preferentemente al menos el 70 % en peso, el 80 % o el 90 % en peso. En algunas realizaciones, al menos el 95 % en peso, el 99 % en peso o incluso el 99,5 % o más en peso pueden estar en la forma cristalina descrita.

5 En cada uno de los aspectos anteriores, el cloruro de metiltioninio está, preferentemente, sustancialmente libre de disolvente. La expresión "sustancialmente libre de disolvente", como se usa en el presente documento, se refiere a la forma que solo tiene cantidades insignificantes de cualquier disolvente, por ejemplo una forma con un total de 0,5 % en peso o menos de cualquier disolvente. La cantidad total de cualquier disolvente puede ser de 0,25 %, 0,1 %, 0,05 % o 0,025 % en peso o menos.

10 Composiciones

En el presente documento también se describen composiciones que comprenden la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento.

En un ejemplo, la composición comprende adicionalmente un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 Métodos de inactivación de patógenos

También se describe el uso de la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, en un método de inactivación de un patógeno en una muestra (por ejemplo, una muestra de sangre o plasma), comprendiendo el método introducir el compuesto en la muestra y exponiendo la muestra a la luz.

Métodos de tratamiento médico

30 También se describe en el presente documento una forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento (por ejemplo, de un estado de enfermedad) del cuerpo humano o animal mediante terapia.

35 También se describe en el presente documento el uso de una forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un estado de enfermedad.

También se describe en el presente documento el uso de una forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, en el tratamiento de un estado de enfermedad.

40 También se describe en el presente documento un método de tratamiento de un estado de enfermedad en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio, como se describe en el presente documento.

45 Estados de enfermedad

En un ejemplo, el estado de enfermedad es tauopatía.

50 Una "tauopatía" es una afección en la que la proteína tau (y la función o procesamiento aberrantes de la misma) desempeña un papel. La enfermedad de Alzheimer es un ejemplo de una tauopatía. La patogenia de los trastornos neurodegenerativos, tales como la enfermedad de Pick y la parálisis supranuclear progresiva (PSP), parece correlacionarse con una acumulación de agregados patológicos de tau truncada en el giro dentado y las células piramidales estrelladas de la neocorteza, respectivamente. Otras demencias incluyen la demencia frontotemporal (DFT); el parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (DFTP-17); el complejo desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA); la degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), el síndrome de Guam-ALS; la degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL); la degeneración cortico-basal (DCB) y otras (véase, por ejemplo, Wischik, C. M., Theuring, F. & Harrington, C. R. (2000) The molecular basis of tau protein pathology in Alzheimer's disease and related neurodegenerative dementias. En Neurobiology of Alzheimer's Disease (Eds. D. Dawbarn & S. J. Allen) Oxford University Press, Oxford, 103-206, especialmente la Tabla 5,1 en su interior). Cada una de estas enfermedades, que se caracterizan principal o parcialmente por una agregación anormal de tau, se denomina en el presente documento "tauopatía".

En un ejemplo, el estado de enfermedad es la enfermedad de Alzheimer (EA).

65 En un ejemplo, el estado de enfermedad es cáncer de piel.

En un ejemplo, el estado de enfermedad es melanoma.

En un ejemplo, el estado de enfermedad es viral, bacteriana o protozoaria.

- 5 En un ejemplo, el estado de enfermedad protozoaria es paludismo. En esta realización, el tratamiento puede estar en combinación con otro agente antimicrobiano, por ejemplo en combinación con cloroquina o atovacuona.

En un ejemplo, el estado de enfermedad viral está causado por la hepatitis C, el VIH o el virus del Nilo occidental.

## 10 Tratamiento

El término "tratamiento", como se usa en el presente documento en el contexto de tratamiento de una afección, se refiere, en general, a tratamiento y terapia, sea de un ser humano o de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en las que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo la inhibición de la progresión de la afección, e incluye reducción de la velocidad de la progresión, detención en la velocidad de la progresión, regresión de la afección, mejora de la afección y cura de la afección. También se incluye el tratamiento como una medida profiláctica (es decir, profilaxis, prevención).

- 20 Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto activo o material, composición o dosis que comprende un compuesto activo que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, acorde con una proporción beneficios/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen terapéutico deseado.

- 25 El término "tratamiento" incluye tratamientos y terapias de combinación, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, de forma secuencial o simultánea.

Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en la inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como en la terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia y terapia génica.

30

## Vías de administración

- 35 La forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, o una composición farmacéutica que lo contiene, se puede administrar a un sujeto/paciente por cualquier vía de administración conveniente, ya sea sistémicamente/periféricamente o tópicamente (es decir, en el sitio de acción deseado).

- 40 Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, oral (por ejemplo, por ingestión); bucal; sublingual; transdérmica (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, apósito etc.); transmucosa (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, apósito etc.); intranasal (por ejemplo, mediante pulverizador nasal); ocular (por ejemplo, mediante gotas para los ojos); pulmonar (por ejemplo, por inhalación o terapia de insuflación usando, por ejemplo, un aerosol, por ejemplo, a través de la boca o la nariz); rectal (por ejemplo, mediante supositorio o enema); vaginal (por ejemplo, mediante pesario); parenteral, por ejemplo, mediante inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoidea e intraesternal (incluyendo, por ejemplo, inyección intracatéter en el cerebro); mediante implante de un depósito o reservorio, por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular.

## 50 El sujeto/paciente

- El sujeto/paciente puede ser un animal, mamífero, un mamífero con placenta, un marsupial (por ejemplo, un canguro, un wombat), un monotrema (por ejemplo, ornitorrinco), un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ejemplo, un ratón), un lagomorfo (por ejemplo, un conejo), un ave (por ejemplo, un pájaro), un canino (por ejemplo, un perro), un felino (por ejemplo, un gato), un equino (por ejemplo, un caballo), un porcino (por ejemplo, un cerdo), un ovino (por ejemplo, una oveja), un bovino (por ejemplo, una vaca), un primate, un simio (por ejemplo, un mono o gorila), un mono (por ejemplo, un tití, babuino), un simio (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano.

- Además, el sujeto/paciente puede estar en cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo un feto.

60

Preferentemente, el sujeto/paciente es un ser humano.

## Formulaciones

- 65 Aunque es posible usar (por ejemplo administrar) la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato sola, se suele preferir presentarla como una composición o formulación.

En un ejemplo, la composición es una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación, preparación, medicamento) que comprende la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 En un ejemplo, la composición es una composición farmacéutica que comprende al menos la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, junto con uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, vehículos, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes de enmascaramiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes farmacéuticamente aceptables.

15 En un ejemplo, la composición comprende además otros agentes activos, por ejemplo otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Los vehículos, diluyentes, excipientes etc. adecuados se pueden encontrar en textos farmacéuticos convencionales. Véase, por ejemplo, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2ª Edición (eds. M. Ash e I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New Cork, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20ª edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª edición, 1994.

25 También se describen en el presente documento procedimientos de fabricar una composición farmacéutica que comprende mezclar la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato radiomarcadas con [<sup>14</sup>C], como se define en el presente documento, junto con uno o más de los otros ingredientes farmacéuticamente aceptable bien conocidos para los expertos en la técnica, por ejemplo vehículos, diluyentes, excipientes etc. Si se formula como unidades pequeñas (por ejemplo, comprimidos etc.), cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosis) del compuesto activo.

30 Como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a compuestos, ingredientes, materiales, composiciones, formas de dosificación etc., que son, dentro del alcance del firme juicio médico, adecuados para usar en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, seres humanos sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una razonable proporción de beneficios/riesgos. Cada vehículo, diluyente, excipiente etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

35 Las formulaciones pueden prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia. Dichos procedimientos incluyen la etapa de llevar el compuesto activo en asociación con un vehículo, que constituye uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan poniendo en contacto de forma uniforme y estrecha el compuesto activo con vehículos (por ejemplo, vehículos líquidos, vehículo sólido finamente dividido etc.) y, después, en caso necesario, dando forma al producto.

La formulación puede prepararse para proporcionar liberación lenta; liberación inmediata, retardada, programada o sostenida; o una combinación de los mismos.

45 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección) incluyen líquidos acuosos o no acuosos, isotónicos, apirógenos, estériles (por ejemplo, soluciones, suspensiones) en los que el ingrediente activo se disuelve, suspende o, por el contrario, proporciona (por ejemplo, en un liposoma u otra micropartícula). Dichos líquidos pueden además contener otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre (u otros fluido corporal relevante) del receptor objetivo. Los ejemplos de excipientes incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares. Los ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para usar en dichas formulaciones incluyen cloruro sódico, inyección, solución de Ringer o inyección de Ringer lactato. Normalmente, la concentración del ingrediente activo en el líquido es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 µg/ml, por ejemplo de

50 aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitaria o de multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solo la adición del transportador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

#### 60 Ejemplos de formulaciones preferidas

También se describe en el presente documento una unidad de dosificación (por ejemplo, un comprimido o cápsula farmacéutica) que comprende de 20 a 300 mg de la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato, como se describe en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un ejemplo, la unidad de dosificación es un comprimido.

En un ejemplo, la unidad de dosificación es una cápsula.

5 En un ejemplo, la cantidad es de 20 a 200 mg.

En un ejemplo, la cantidad es de aproximadamente 20 mg.

10 En un ejemplo, la cantidad es de aproximadamente 60 mg.

En un ejemplo, la cantidad es de aproximadamente 100 mg.

En un ejemplo, la cantidad es de aproximadamente 150 mg.

15 En un ejemplo, la cantidad es de aproximadamente 200 mg.

En una realización, el vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable es o comprende uno o ambos de un glicérido (por ejemplo, Gelucire 44/14 ®; glicéridos de lauroil macrogol-32 PhEur, USP) y dióxido de silicio coloidal (por ejemplo, 2 % Aerosil 200 ®; dióxido de silicio coloidal PhEur, USP).

20 Dosificación

Un experto en la técnica apreciará que las dosificaciones adecuadas de la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato y las composiciones que comprenden de la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato pueden variar de un paciente a otro. En general, la determinación de la dosificación óptima implicará el equilibrio del nivel del beneficio terapéutico contra cualquier riesgo o efecto secundario perjudicial. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de diversos factores incluyendo, entre otros, la actividad del compuesto concreto, la vía de administración, el momento de la administración, la tasa de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, la gravedad de la afección y la especie, el sexo, la edad, el peso, la afección, el estado de salud general y el historial médico previo del paciente. La cantidad del compuesto y la vía de administración serán, en última instancia, a criterio del médico, veterinario o clínico, aunque, en general, la dosis se seleccionará para obtener concentraciones locales en el sitio de acción que ejerzan el efecto deseado sin producir muchos daños o efectos secundarios perjudiciales.

La administración se puede efectuar en una dosis, de forma continua o intermitente (por ejemplo, en dosis divididas a intervalos adecuados) a lo largo del ciclo de tratamiento. Los procedimientos de determinar el medio y la dosis de administración más eficaces son bien conocidos para los expertos en la técnica y variará con la formulación usada para terapia, el objetivo de la terapia, la(s) célula(s) diana que se estén tratando y el sujeto que se esté tratando. Se pueden llevar a cabo administraciones únicas o múltiples siendo los niveles y el patrón de dosis seleccionados por el médico, veterinario o clínico encargado del tratamiento.

En general, una dosis adecuada la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato está en el intervalo de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 25 mg (más normalmente de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto al día.

En un ejemplo, la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 100 mg, 3 veces al día.

En un ejemplo, la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 150 mg, 2 veces al día.

En un ejemplo, la forma B, C o D de cloruro de metiltioninio dihidrato o la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 200 mg, 2 veces al día.

60 **Breve descripción de las figuras**

La Figura 1 es un patrón de difracción en polvo de rayos X característico de la forma B cristalina que contiene agua de cloruro de metiltioninio;

65 La Figura 2 es un patrón de difracción en polvo de rayos X característico de la forma C cristalina dihidrato de cloruro de metiltioninio;

La Figura 3 es un patrón de difracción en polvo de rayos X característico de la forma D cristalina dihidrato de

cloruro de metiltioninio;

La Figura 4 es un patrón de difracción en polvo de rayos X característico de la forma E cristalina monohidrato de cloruro de metiltioninio;

5 Los ejemplos siguientes ilustran la presente invención sin limitar el alcance descrito.

Sección experimental:

10 Difracción de rayos X de polvo (PXRD): La PXRD se realizó en un difractómetro de rayos X de polvo Bruker D8 Advance usando radiación de CuK $\alpha$ . Se calculan los espacios D a partir de los valores  $2\theta$  usando la longitud de onda de 1,54180 Å. Generalmente, los valores  $2\theta$  están dentro de un error de  $\pm 0,1-0,2^\circ$ . El error experimental en los valores del espaciado d es, por tanto, dependiente de la localización del pico.

15 Calorimetría de barrido diferencial (DSC): Perkin Elmer DSC 7, mediciones realizadas en un platillo para muestras de oro sellado herméticamente en condiciones ambientales. Se usó una velocidad de calentamiento de 20K/min o 100 K/min. Todos los puntos de fusión indicados en el presente documento se determinan a partir de las temperaturas máximas de las mediciones en la DSC.

20 Termogravimetría (TG): Perkin Elmer TGS 2. Crisol de aluminio (abierto), atmósfera de N $_2$ , velocidad de calentamiento 10 °C min $^{-1}$ , intervalo 25-350 °C.

25 Mediciones termogravimétricas con detección IR (TG-FTIR): Netzsch Thermo-Microbalance TG 209 acoplado a un espectrómetro Bruker FTIR Vector 22 (platinillos para muestras con agujeros, atmósfera de nitrógeno, velocidad de calentamiento 10 K/min).

**Forma A hidrato**

30 La forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato se puede obtener mediante recristalización del producto preparado de acuerdo con el documento WO 2006/032879 a partir de ácido clorhídrico 0,1 M y secando el vacío a aproximadamente 6.000 Pa y temperatura ambiente (véase el ejemplo 17). Como comparación, en la tabla 1 se proporcionan los valores d (Å) para la forma A.

Tabla 1: Distancias interplanares d para la forma A cristalina

Ángulo [ $2\theta$ ]	Distancia interplanar d [Å]	Intensidad (cualitativa)
5,7	15,5	mf
9,2	9,6	mf
9,6	9,2	mf
10,8	8,2	f
11,3	7,8	m
18,7	4,75	mf
19,3	4,60	f
20,4	4,35	m
21,7	4,10	m
21,9	4,06	m
24,6	3,62	m
25,6	3,48	mf
26,0	3,43	f
26,2	3,40	mf
26,4	3,38	mf
27,3	3,27	f
28,0	3,19	f
28,4	3,14	f
29,2	3,06	m

35 Las abreviaturas entre paréntesis significan: (mf)= intensidad muy fuerte; (f)= intensidad fuerte; (m)= intensidad media; y (d)= intensidad débil.

Las señales IR características de la forma A en ATR-IR se encuentran en 1491, 1421, 1356, 1225/1215 (pico doble), 1177 y 1151 cm $^{-1}$ .

40

**A) Preparación de la forma B polimorfa**

Ejemplo A1:

45 150 mg de cloruro de metiltioninio pentahidrato cristalino se calientan hasta 60 °C durante 5 días a una HR del

35 %. La termogravimetría en el producto muestra una pérdida de peso de 10,6 % hasta una temperatura de 150 °C, que corresponde a la presencia de dos equivalentes de agua. El PXRD reveló una muestra cristalina. El patrón de difracción de rayos X de polvo se muestra en la Figura 1 y los picos característicos en  $2\theta$  con los correspondientes valores de espacios de en A se proporcionan en la tabla 2. La DSC (-50 °C a 210 °C, 100 °C/min, crisol de oro) reveló un pico de fusión a 186 °C con un hombro hacia la temperatura inferior.

5

Tabla 2: Distancias interplanares d para la forma B hidrato

Ángulo [ $2\theta$ ]	Distancia interplanar d [Å]	Intensidad (cualitativa)
5,8	15,2	F
9,2	9,6	D
11,2	7,9	M
15,6	5,68	D
16,9	5,25	D
20,6	4,31	D
25,3	3,52	M
26,8	3,33	M
28,3	3,15	D

Ejemplo A2:

10

1 g de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato cristalina en polvo, contaminada con una cantidad pequeña de la forma B, se almacenó a temperatura ambiente durante 3 semanas en agitación con un agitador magnético pequeño bajo un flujo de nitrógeno humidificado que tiene una humedad relativa de aproximadamente un 9 %. La deshidratación se completa tras 3 semanas y da cuantitativamente la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino verdoso. El PXRD corresponde al del ejemplo A1.

15

Ejemplo A3:

2 g de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato cristalina en polvo, contaminada con una cantidad pequeña de la forma B, se almacenaron a temperatura ambiente durante 4 semanas en agitación con un agitador magnético pequeño bajo un flujo de nitrógeno humidificado que tiene una HR de aproximadamente 14 %. La deshidratación es completa tras 3 semanas y da cuantitativamente la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino verdoso. El PXRD corresponde al del ejemplo A1.

20

**B) Preparación de la forma C polimorfa**

25

Ejemplo B1:

Una mezcla de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato y la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato (170 mg) se suspendió en 2 ml de acetonitrilo y se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. El sólido se filtró y se secó al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se obtuvieron 110 mg de la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino verdoso.

30

El PXRD reveló una muestra cristalina. El patrón de difracción de rayos X de polvo se muestra en la figura 2 y los picos característicos en  $2\theta$  con los correspondientes espacios d en A se proporcionan en la tabla 3. El TG-FITR reveló una pérdida de masa de aproximadamente 11,4 % en dos etapas entre la temperatura ambiente y 150 °C, que corresponde a un contenido de agua de 2,2 equivalentes, que es ligeramente más de lo esperado para el dihidrato. La DSC (-50 °C a 210 °C, 100 °C/min, crisol de oro) reveló dos picos endotérmicos a 151 °C y 183 °C.

35

Tabla 3: Distancias interplanares d para la forma C hidrato

Ángulo [ $2\theta$ ]	Distancia interplanar d [Å]	Intensidad (cualitativa)
8,1	10,9	mf
11,1	8,0	f
13,4	6,6	d
16,2	5,47	m
17,6	5,04	f
17,8	4,98	m
18,4	4,82	d
24,4	3,65	m
25,9	3,44	mf
27,2	3,28	mf
28,7	3,11	d
29,5	3,03	d
30,0	2,98	d

40

30,8	2,90	m
31,3	2,86	m
33,0	2,71	m
34,1	2,63	d
36,0	2,49	d
36,7	2,45	d
39,5	2,28	d
42,7	2,12	d
45,3	2,00	d
48,0	1,90	d

Ejemplo B2:

5 Se disolvieron 175 mg de una mezcla de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato y la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato a aproximadamente 100 °C en 3 ml de dimetilsulfóxido (DMSO). La solución se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y se almacenó durante la noche en un refrigerador. La mezcla sólida fría se dejó calentar hasta la temperatura ambiente de modo que el DMSO se funde. El sólido restante se filtró y se secó al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente. Esto da 135 mg de la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato verdosa. El PXRD corresponde al del ejemplo B1.

10

Ejemplo B3:

15 2 g de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato se suspendieron en 10 ml de acetonitrilo y se agitaron a temperatura ambiente durante 6 días. El sólido se filtró y se secó al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 15 minutos. Este procedimiento se repitió dos veces. Se obtuvo la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino verdoso. El PXRD corresponde al del ejemplo B1. La termogravimetría reveló una pérdida de masa de 9,8 % en dos etapas entre la temperatura ambiente y 150 °C. La pérdida de masa total corresponde casi exactamente a un contenido de agua de 2 equivalentes.

Ejemplo B4:

25 100 mg de una mezcla que comprende la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato, la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato, la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato y la forma D de cloruro de metiltioninio dihidrato se suspendieron en 2 ml de isopropanol que contiene 20 µl de agua (correspondiente a una humedad relativa de aproximadamente 12 %). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 6 días. El sólido se filtra y se seca al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 5 minutos. Esto dio la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato pura como un polvo cristalino verdoso. El PXRD corresponde al del ejemplo B1.

Ejemplo B5:

30 100 mg de una mezcla que comprende la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato, la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato, la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato y la forma D de cloruro de metiltioninio dihidrato se suspendieron en 2 ml de isopropanol que contiene 50 µl de agua (HR de aproximadamente 28 %). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 6 días. El sólido se filtró y se secó al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 5 minutos. Esto dio la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato pura como un polvo cristalino verdoso. El PXRD corresponde al del ejemplo B1.

35

40 100 mg del producto en polvo se prensaron hasta formar un comprimido a una presión de 1 a/0,5 cm<sup>2</sup>. La forma C se retuvo en el comprimido. El PXRD corresponde al del ejemplo B1.

40

Ejemplo B6:

45 500 mg de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato se suspendieron en 10 ml de isopropanol y se agitaron durante 2 semanas. El sólido se filtró y se secó al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 5 minutos. Esto dio la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino verdoso. El PXRD corresponde al del ejemplo B1.

**C) Preparación de la forma D hidrato**Ejemplo C1:

50 100 mg de la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato se disolvieron en 2 ml de ácido acético puro. La solución se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,2 µm y se añadió a 10 ml de tolueno. En un breve periodo de tiempo se forma un precipitado pegajoso. El sólido se filtró aproximadamente 3 minutos después de la precipitación, se lavó con tolueno y se secó al vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 15 minutos. Esto da 70 mg de la forma D

55

de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino de color gris a violeta.

El PXRD reveló una muestra cristalina. El patrón de difracción de rayos X de polvo se muestra en la figura 3 y los picos característicos en  $2\theta$  con los correspondientes espacios  $d$  en Å se proporcionan en la tabla 4. El TG-FITR reveló una pérdida de masa de aproximadamente 9,3 % y el análisis TG-FTIR reveló una pérdida de masa de aproximadamente 11,0 % entre la temperatura ambiente y 150 °C, que corresponde a un contenido de agua de 2,2 equivalentes, que es ligeramente más de lo esperado para el dihidrato. La DSC (-50 °C a 210 °C, 100 °C/min, crisol de oro) reveló dos picos endotérmicos a 164 °C y 185 °C.

10

Tabla 3: Distancias interplanares  $d$  para la forma D polimorfa

Ángulo [ $2\theta$ ]	Distancia interplanar $d$ [Å]	Intensidad (cualitativa)
6,0	14,7	m
7,0	12,6	f
8,5	10,4	f
9,8	9,0	d
10,4	8,5	m
12,0	7,4	f
14,4	6,2	f
16,3	5,44	d
17,1	5,19	d
18,1	4,90	d
20,9	4,25	m
21,1	4,21	m
21,7	4,10	m
22,3	3,99	m
23,7	3,75	m
24,5	3,63	m
25,3	3,52	f
25,7	3,47	f
26,9	3,31	m
27,5	3,24	mf
28,5	3,13	m
29,0	3,08	m
30,4	2,94	m
31,8	2,81	m
34,9	2,57	d
41,5	2,18	d
46,5	1,95	d

#### Ejemplo C2:

118 mg de la forma B de cloruro de metiltioninio pentahidrato se disolvieron en 2 ml de ácido acético puro. La solución se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,2  $\mu\text{m}$  y se añadió a 10 ml de tolueno. En un breve periodo de tiempo se forma un precipitado pegajoso. El sólido se filtró aproximadamente 3 minutos después de la precipitación, se lavó con tolueno y se secó a temperatura ambiente durante 60 minutos. Esto dio la forma D de cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino de color gris a violeta. El PXRD corresponde al del ejemplo C1.

#### Ejemplo C3:

1 g de la forma B de cloruro de metiltioninio pentahidrato se disolvieron en 10 ml de metanol. La solución se filtra a través de un filtro de jeringa de 0,2  $\mu\text{m}$  y se añade sin agitación hasta 100 ml de éter de t-butil-metiléter (tBME). En un breve periodo de tiempo se forma un precipitado. El sólido se filtró aproximadamente 3 minutos después de la precipitación, se lavó con tBME y se secó en un flujo de nitrógeno durante 1 hora. Esto da 850 mg de la forma D cloruro de metiltioninio dihidrato como un polvo cristalino de color gris a violeta. El PXRD corresponde al del ejemplo C1.

### **D) Preparación de la forma E hidrato**

#### Ejemplo D1:

80 mg de una mezcla que comprende la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato, la forma B de cloruro de metiltioninio dihidrato, la forma C de cloruro de metiltioninio dihidrato y la forma D de cloruro de metiltioninio dihidrato se suspendieron en 2 ml de isopropanol seco que contiene menos de 0,1 % en peso de agua. La suspensión se agitó a temperatura ciclando entre 25 °C y 35 °C durante 1 semana. El sólido se filtró y se secó al

vacío a 100 Pa y a temperatura ambiente durante 5 minutos. Esto dio la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato como un polvo cristalino ocre.

5 El PXRD reveló una muestra cristalina. El patrón de difracción de rayos X de polvo se muestra en la figura 4 y los picos característicos en  $2\theta$  con los correspondientes espacios d en Å se proporcionan en la tabla 5. El TG-FITR reveló una pérdida de masa de aproximadamente 5,1 % entre la temperatura ambiente y 125 °C, que corresponde a un contenido de agua de 1 equivalente. La DSC (-50 °C a 210 °C, 100 °C/min, crisol de oro) reveló ausencia de acontecimientos térmicos hasta la temperatura de descomposición de aproximadamente 200 °C.

10

Tabla 3: Distancias interplanares d para la forma E polimorfa

Ángulo [ $2\theta$ ]	Distancia interplanar d [Å]	Intensidad (cualitativa)
9,0	9,8	mf
12,5	7,1	f
14,1	6,3	f
14,4	6,2	f
18,1	4,90	f
21,8	4,08	d
22,1	4,02	d
23,2	3,83	mf
24,5	3,63	m
25,1	3,55	f
26,0	3,43	mf
27,2	3,28	m
28,4	3,14	d
29,6	3,02	d
32,0	2,80	d
39,6	2,28	d
41,7	2,17	d
47,1	1,93	d

#### Ejemplo D2:

15 1 g de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato se suspendieron en 20 ml de isopropanol seco y se agitaron a temperatura ambiente durante 3 días. El sólido se filtró, se resuspendió en 10 ml de isopropanol seco y se agitó durante otros 9 días. El sólido se filtró de nuevo. Cuando se convierte en libre de disolvente, la torta del filtro se volvió de un color ocre. El isopropanol residual se elimina en un flujo de nitrógeno seco durante 2 horas. Esto da 700 mg de la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato como un polvo cristalino ocre. El PXRD corresponde al del ejemplo D1.

20

#### Ejemplo D3:

25 1 g de la forma A de cloruro de metiltioninio pentahidrato se suspendieron en 10 ml de isopropanol seco y se agitaron a temperatura ambiente durante 1 día. El sólido se filtró, de nuevo se resuspendió en 10 ml de isopropanol seco y se agitó durante 3 días. La filtración, la resuspensión y la agitación se repitieron una vez de nuevo. El sólido se vuelve de color ocre. Por último, el sólido ocre se filtró y el isopropanol residual se elimina en un flujo de nitrógeno durante 2 horas. Esto da 650 mg de la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato como un polvo cristalino ocre. El PXRD corresponde al del ejemplo D1.

30

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Cloruro de metiltioninio cristalino monohidrato como la forma E, que tiene los siguientes picos característicos en un patrón de difracción de rayos X de polvo (usando CuKa como la fuente de radiación, a una longitud de onda de 1,54180 Å):

Pico	Valores $2\theta$ ( $\pm 0,1^\circ$ )
1	9,0
2	12,5
3	14,1
4	14,4
5	18,1
6	23,2
7	24,1
8	26,0

- 10 2. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene los siguientes picos característicos en un patrón de difracción de rayos X de polvo (usando CuKa como la fuente de radiación, a una longitud de onda de 1,54180 Å):

Pico	Valores $2\theta$ ( $\pm 0,1^\circ$ )
1	9,0
2	12,5
3	14,1
4	14,4
5	18,1
6	23,2
7	24,1
8	26,0
9	24,5
10	27,2

o que no muestra ningún evento térmico hasta la temperatura de descomposición de 220 °C cuando se calienta a una velocidad de 100 °C por minuto en la calorimetría de barrido diferencial.

- 15 3. Un proceso para la preparación del cloruro de metiltioninio monohidrato en forma E de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que:  
se suspende y se agita cloruro de metiltioninio que contiene agua, o una mezcla de varios hidratos o un hidrato específico de cloruro de metilamonio, a temperatura ambiente en un disolvente seco, preferentemente isopropanol para generar la forma E; después, se aísla el sólido por filtración; y se elimina del sólido el disolvente residual ya sea secando al vacío o purgando con gas seco.
- 20
4. Una composición farmacéutica que comprende la forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 y, opcionalmente, un vehículo, un excipiente o un diluyente farmacéuticamente aceptables.
- 25
5. La forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.
- 30
6. La forma E de cloruro de metiltioninio monohidrato de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para su uso en un método de tratamiento de un estado de enfermedad, por ejemplo en el tratamiento de una tauopatía, enfermedad de Alzheimer (EA), cáncer de piel, melanoma, hepatitis C, VIH o virus del Nilo occidental.

Figura 1

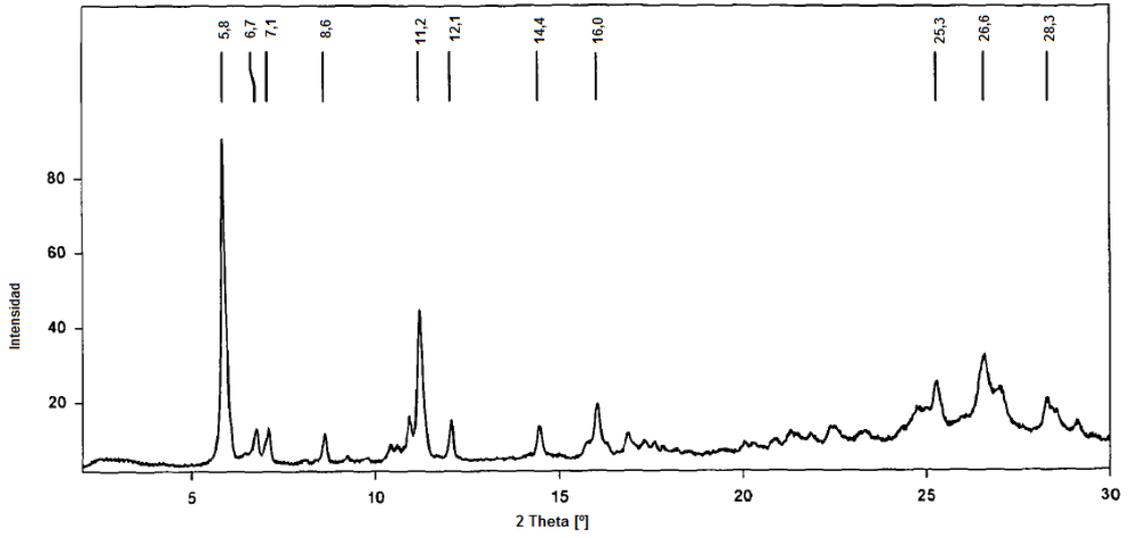


Figura 2

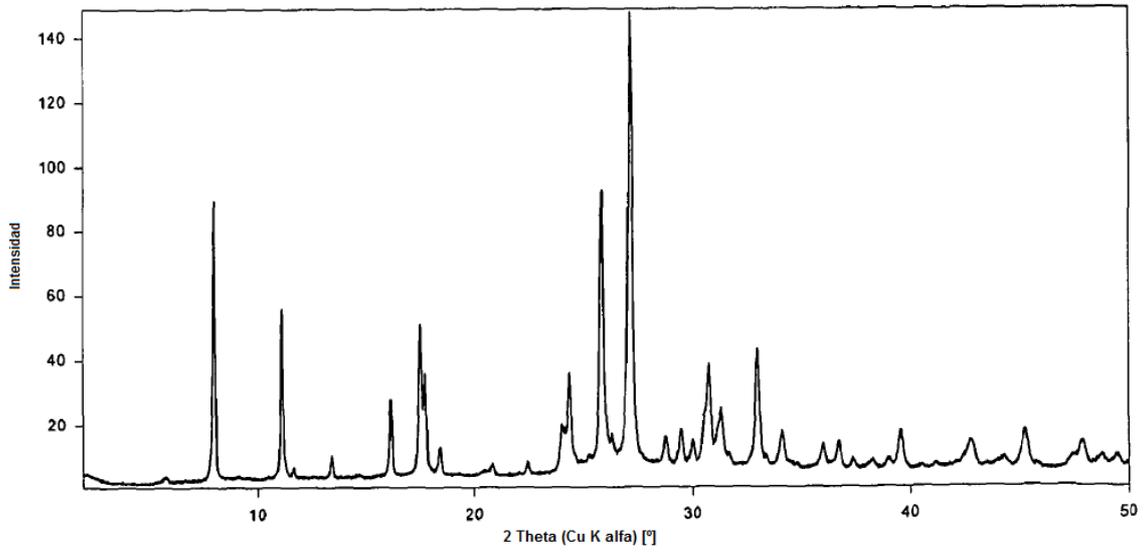


Figura 3

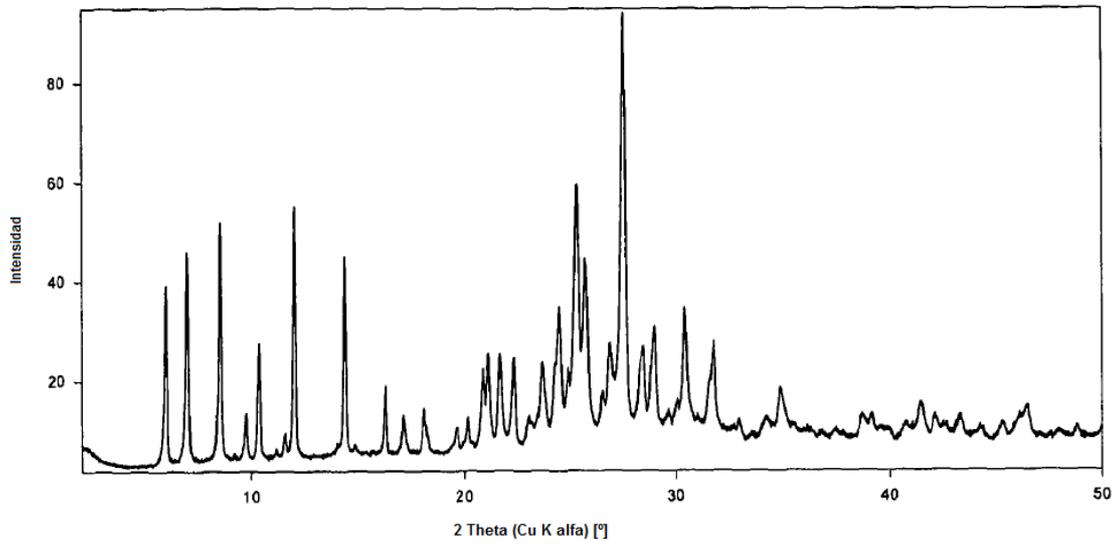


Figura 4

