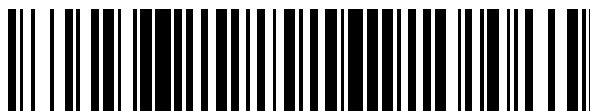


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 720 148**

51 Int. Cl.:

C07C 51/41 (2006.01)
C07C 227/18 (2006.01)
C07C 229/26 (2006.01)
C07C 57/46 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.10.2011** **PCT/US2011/054983**
87 Fecha y número de publicación internacional: **12.04.2012** **WO12048043**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2011** **E 11831546 (4)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019** **EP 2625162**

54 Título: **Métodos de fabricación de fenilacetato de L-ornitina**

30 Prioridad:

06.10.2010 US 390585 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
18.07.2019

73 Titular/es:

OCERA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
675 McDonnell Boulevard
Hazelwood, MO 63042, US

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 720 148 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

Métodos de fabricación de fenilacetato de L-ornitina

5 **Antecedentes****Campo**

10 La presente solicitud se refiere a los campos de la química farmacéutica y, en particular, se refiere a métodos de fabricación de sales de fenilacetato de L-ornitina.

Descripción

15 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 insuficiencia 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, o incluso coma profundo. La acumulación de amoníaco no metabolizado se ha considerado como el factor principal involucrado en la patogénesis de encefalopatía hepática, pero pueden haber asociados mecanismos adicionales.

25 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 de los EE.UU. n.º 2008/0119554 describe composiciones de L-ornitina y fenilacetato para el tratamiento de encefalopatía hepática. La L-ornitina se ha preparado mediante métodos de conversión enzimática. Por ejemplo, las Patentes de los EE.UU. n.º 5,405,761 y 5,591,613 describen conversión enzimática de arginina para formar sales de L-ornitina. El fenilacetato de sodio está disponible en el mercado, y también disponible como una solución inyectable para el tratamiento de hiperamonemia aguda. La solución inyectable se comercializa como AMMONUL.

30 Aunque formas de sal pueden exhibir propiedades de degradación mejoradas, el uso de determinadas sales, en particular, 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, determinadas sales son complicadas de administrar por vía intravenosa 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 la administración intravenosa lo cual, a su vez, conduce a sobrecarga de fluido excesiva. Por consiguiente, existe la necesidad de preparación de sales de fenilacetato y L-ornitina que sean favorables para su uso en el tratamiento de encefalopatía hepática u otras afecciones en donde la sobrecarga de fluido y el desequilibrio electrolítico son prevalentes.

40 El documento WO 2010/115055 desvela formas cristalinas de fenilacetato de L-ornitina y métodos de fabricación de las mismas. Las formas cristalinas se dice que son adecuadas para el tratamiento de sujetos con trastornos hepáticos, tal como encefalopatía hepática.

45 EL documento MX PA03009902 desvela aminos y sales derivadas de ácidos benzoico, fenilacético y fenilbutírico y aminoácidos arginina y ornitina. Se dice que los compuestos desvelados son adecuados para el control de urea en trastornos congénitos del metabolismo del ciclo de urea o de cirrosis.

Sumario

50 La invención proporciona un proceso de fabricación de fenilacetato de L-ornitina.

En un aspecto, el proceso comprende la preparación de una solución de sal de fenilacetato mezclando un ácido fenil acético y una base en un disolvente; intermezclar benzoato de L-ornitina con la solución de sal de fenilacetato; y aislar una composición que comprende fenilacetato de L-ornitina.

En un aspecto, el proceso comprende intermezclar una sal de L-ornitina, fenilacetato de plata y un disolvente para formar una solución, en donde preferentemente la sal de L-ornitina es una sal haluro; añadir ácido clorhídrico a la solución, y aislar una composición que comprende fenilacetato de L-ornitina de dicha solución.

60 Algunas realizaciones incluyen un proceso de fabricación de sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende intermezclar una sal de fenilacetato, benzoato de L-ornitina y un disolvente; y aislar una composición que comprende al menos el 70 % de fenilacetato de L-ornitina cristalino en peso.

65 En algunas realizaciones, el proceso incluye adicionalmente la formación de benzoato de L-ornitina intermezclando una sal de L-ornitina, una sal de benzoato y un segundo disolvente para formar una solución intermediaria.

En algunas realizaciones, el proceso incluye además retirar al menos una porción de una sal de dicha solución intermediaria antes de intermezclar la sal de fenilacetato, en donde dicha sal no es una sal de L-ornitina.

5 En algunas realizaciones, la sal retirada de la solución intermediaria comprende un anión derivado al menos en parte de la sal de L-ornitina y un catión derivado al menos en parte de la sal de benzoato.

En algunas realizaciones, la sal de L-ornitina es clorhidrato de L-ornitina y dicho anión es cloruro.

10 En algunas realizaciones, la sal de benzoato es benzoato de plata y el catión es un ión de plata.

En algunas realizaciones, el proceso comprende adicionalmente añadir ácido clorhídrico antes de retirar al menos una porción de la sal.

15 En algunas realizaciones, al menos aproximadamente un 90 % en peso de la sal se retira de la solución intermediaria.

En algunas realizaciones, el proceso comprende adicionalmente la formación de benzoato de L-ornitina intermezclando una sal de L-ornitina, una sal de benzoato para formar una solución intermediaria y aislar benzoato de L-ornitina de dicha solución intermediaria.

20 En algunas realizaciones, el proceso comprende además retirar al menos una porción de una sal de la solución intermediaria antes de aislar el benzoato de L-ornitina, en donde la sal no es una sal de L-ornitina.

En algunas realizaciones, el proceso comprende adicionalmente añadir ácido clorhídrico antes de retirar al menos una porción de la sal.

25 En algunas realizaciones, el aislamiento de benzoato de L-ornitina comprende cristalizar benzoato de L-ornitina de la solución intermediaria.

30 En algunas realizaciones, la sal de fenilacetato se dispersa en una solución que se intermezcla con benzoato de L-ornitina y el disolvente.

35 Algunas realizaciones incluyen un proceso de fabricación de sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende: preparar una solución de sal de fenilacetato mezclando un ácido fenil acético y una base adecuada en un segundo disolvente; intermezclar un benzoato de L-ornitina con la solución de sal de fenilacetato; y aislar una composición que comprende fenilacetato de L-ornitina.

En algunas realizaciones, la base adecuada se selecciona entre el grupo que consiste en un hidróxido de metal alcalino y un alcóxido de metal alcalino.

40 En algunas realizaciones, el proceso comprende adicionalmente la formación de benzoato de L-ornitina intermezclando una sal de L-ornitina, una sal de benzoato y un segundo disolvente para formar una solución intermediaria.

45 En algunas realizaciones, la composición comprende al menos aproximadamente el 0,10 % en peso de sal de benzoato.

En algunas realizaciones, la composición comprende no más del 5 % en peso de sal de benzoato.

En algunas realizaciones, la composición comprende no más del 3 % en peso de sal de benzoato.

50 En algunas realizaciones, la composición comprende no más del 1 % en peso de sal de benzoato.

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

55 En algunas realizaciones, la sal de benzoato es benzoato de plata.

En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente al menos 10 ppm de plata.

En algunas realizaciones, la composición comprende al menos 20 ppm de plata.

60 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.

65 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.

En algunas realizaciones, el fenilacetato es una sal de metal alcalino.

En algunas realizaciones, la sal de metal alcalino es fenilacetato de sodio.

5

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.

10

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

En algunas realizaciones, el haluro de L-ornitina es clorhidrato de L-ornitina.

15

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

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

20

También se describe un proceso de fabricación de sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende: aumentar el valor pH de una mezcla que comprende una sal de L-ornitina al menos hasta que una sal intermedia precipita, en donde dicha sal intermedia no es una sal de L-ornitina; aislar la sal intermedia de dicha mezcla; intermezclar ácido fenilacético con dicha mezcla; y aislar la sal de fenilacetato de L-ornitina de dicha solución.

En algunos aspectos, el valor pH se aumente a al menos 8,0.

25

En algunos aspectos, el valor pH se aumente a al menos 9,0.

30

En algunos aspectos, aumentar el valor pH comprende la adición de un modificador de pH seleccionado entre el grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de cesio, hidróxido de litio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio, hidróxido de bario, hidróxido de amonio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de bario, metóxido sódico, *t*-butóxido de potasio, dibutilamina, triptamina, hidruro de litio, hidruro sódico, hidruro de calcio, butillitio, bromuro de etil magnesio o combinaciones de los mismos.

35

En algunos aspectos, la sal intermedia comprende un anión derivado al menos en parte de la sal de L-ornitina.

En algunos aspectos, la sal intermedia comprende un catión derivado al menos en parte del modificador de pH.

40

En algunos aspectos, el modificador de pH se selecciona entre el grupo que consiste en hidróxido de sodio, metóxido sódico, hidróxido de calcio, carbonato de calcio e hidróxido de bario.

Los procesos de la invención pueden comprender intermezclar una sal de L-ornitina, una sal de fenilacetato y un disolvente para formar una solución, y aislar fenilacetato de L-ornitina de dicha solución.

45

En algunas realizaciones, la sal de L-ornitina es una sal haluro. En algunas realizaciones, la sal de haluro no es clorhidrato de L-ornitina.

En algunas realizaciones, la sal de fenilacetato es fenilacetato de plata.

50

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

Breve descripción de los dibujos

55

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

La FIGURA 2 muestra resultados de calorimetría de barrido 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 barrido diferencial para la Forma II.

60

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 barrido diferencial para la Forma III.

65

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 de rayos X en polvo de la Forma V.

La FIGURA 17 muestra resultados de calorimetría de barrido 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.

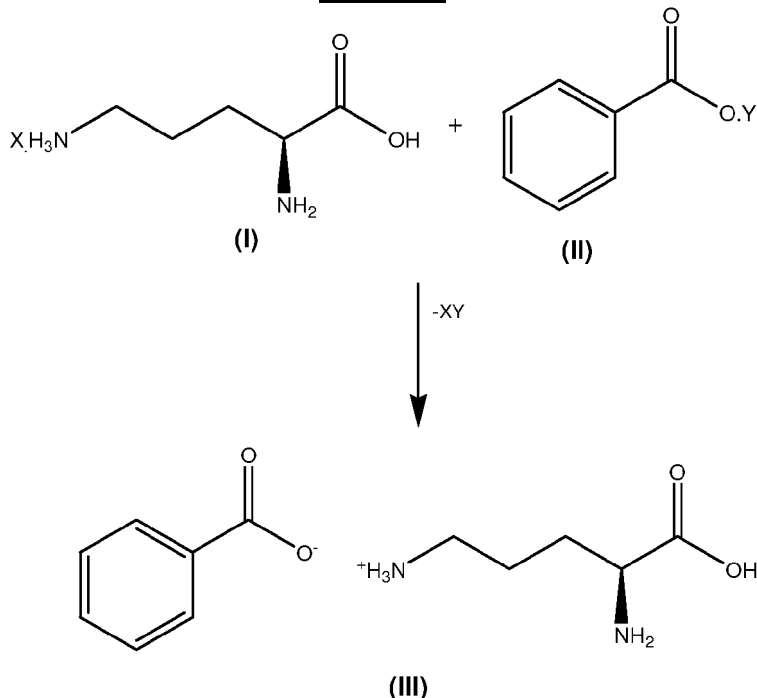
La FIGURA 21 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de una muestra de benzoato de L-ornitina.

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

Descripción detallada

Algunas realizaciones que se desvelan en el presente documento incluyen un método de fabricación de sal de fenilacetato de L-ornitina. El fenilacetato de L-ornitina puede producirse, por ejemplo, mediante una sal intermediaria, tal como benzoato de L-ornitina. Como se muestra en el Esquema 1, se puede hacer reaccionar una sal de L-ornitina de Fórmula 1 con una sal de benzoato de Fórmula II para obtener el intermediario de benzoato de L-ornitina.

Esquema 1



Se pueden usar diversas sales de L-ornitina 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 fenil acético. X puede ser un anión monoatómico, tal como, pero sin limitación, un haluro (por ejemplo, fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro). X también puede ser un anión poliatómico, tal como, pero sin limitación, acetato, aspartato, formiato, oxalato, bicarbonato, carbonato, sulfato, nitrato, isonicotinato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato, fosfato y similares. X puede ser un grupo orgánico o inorgánico. En algunas realizaciones, X es un ión monovalente. En algunas realizaciones, X es cloruro.

De manera similar, la sal de benzoato de Fórmula II no queda particularmente limitada y, por lo tanto, Y en Fórmula II puede ser cualquier ión adecuado capaz de formar una sal con ácido benzoico. En algunas realizaciones, Y puede ser un catión monoatómico, tal como un ion de metal alcalino (por ejemplo, Li^+ , Na^+ y K^+) y otros iones monovalentes (por ejemplo, Ag^+). Y también puede ser 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.

Se pueden usar muchas otras sales posibles de L-ornitina y ácido benzoico para los compuestos de Fórmulas I y II, respectivamente, y se pueden preparar fácilmente por un experto en la materia. Véase, por ejemplo, Bighley L.D., y col., "Salt forms of drugs and absorption," en: Swarbrick J., Horlan J.C., ed. Encyclopedia of pharmaceutical technology,

Vol. 12. Nueva York: Marcel Dekker, Inc. pp. 425-499.

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 por separado en agua y dimetilsulfóxido (DMSO), respectivamente. Las dos soluciones pueden entonces intermezclarse de manera que la L-ornitina y ácido benzoico reaccionan para formar la sal de Fórmula III. Alternativamente, los dos compuestos de sal pueden disolverse directamente en una solución única. En algunas realizaciones, L-ornitina y ácido benzoico se disuelven en disolventes separados y, posteriormente se intermezclan. En algunas realizaciones, se disuelve L-ornitina en una solución acuosa, el ácido benzoico se disuelve en un disolvente orgánico, y las soluciones de L-ornitina y ácido benzoico se intermezclan posteriormente.

Ejemplos no limitantes de disolventes que 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, dietiléter, etilenglicol, acetato de metilo (MeOAc), metanol, 2-butanol, cumeno, formiato de etilo, 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.

Después de intermezclar sales de benzoato y L-ornitina, los contraiones X e Y pueden formar un precipitado que puede retirarse de la solución intermezclada mediante el uso de 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 1 muestra los compuestos de Fórmulas I y II como sales, también está dentro del alcance de la presente solicitud intermezclar la base libre de L-ornitina y ácido benzoico para formar el intermediario de benzoato de L-ornitina. Como consecuencia, formar y aislar el precipitado es opcional.

La cantidad relativa de sales de benzoato y L-ornitina que se intermezclan 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.

En realizaciones donde X e Y son ambos iones inorgánicos (por ejemplo, X e Y son cloruro y plata, respectivamente), se pueden añadir cantidades adicionales de sal que contiene X pueden para fomentar adicionalmente la precipitación del contraión Y. Por ejemplo, si X es cloruro e Y es plata, la relación molar de clorhidrato de L-ornitina a benzoato de plata puede ser superior a 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 superior a aproximadamente 1:1. No obstante, la sal de cloruro adicional no se requiere que derive de una sal de L-ornitina (por ejemplo, clorhidrato de L-ornitina). Por ejemplo, soluciones diluidas de ácido clorhídrico pueden añadirse a la solución para retirar adicionalmente plata. Aunque no está particularmente limitado cuando se añade la sal que contiene X adicional, se añade preferentemente antes de que el AgCl se aisle inicialmente.

Como se muestra en el Esquema 2, el benzoato de L-ornitina se puede hacer reaccionar con una sal de fenilacetato de Fórmula IV para formar fenilacetato de L-ornitina. Por ejemplo, se puede intermezclar fenilacetato de sodio con una solución de benzoato de L-ornitina para formar fenilacetato de L-ornitina. Se pueden usar diversas sales de fenilacetato y, por lo tanto, Z en la Fórmula IV puede ser cualquier catión capaz de formar una sal con fenilacetato distinta de ácido benzoico o L-ornitina. En algunas realizaciones, Z puede ser un catión monoatómico, tal como un ion de metal alcalino (por ejemplo, Li⁺, Na⁺ y K⁺) y otros iones monovalentes (por ejemplo, Ag⁺). Z también puede ser 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.

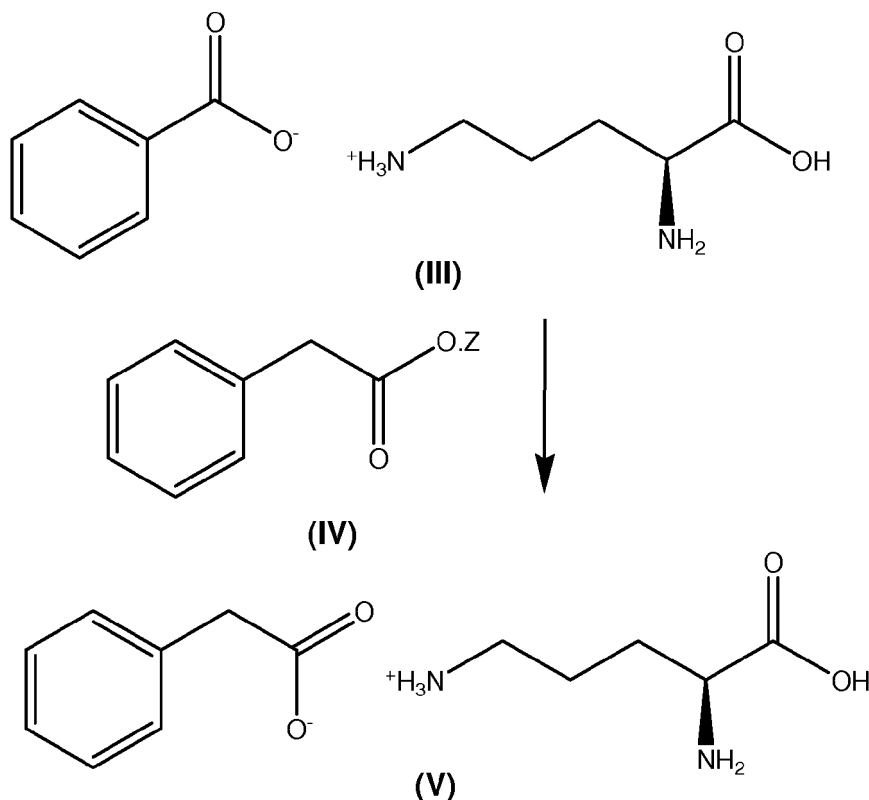
La sal de fenilacetato se prepara en solución mediante el uso de ácido fenil acético y una base adecuada. Esta solución puede intermezclarse con benzoato de L-ornitina para obtener fenilacetato de L-ornitina tal como se ha descrito anteriormente. Como ejemplo, se puede intermezclar ácido fenil acético con hidróxido de sodio en isopropanol para obtener una solución de fenilacetato de sodio. La solución de fenilacetato de sodio puede, a continuación, intermezclarse con una solución de benzoato de L-ornitina. Como alternativa, la sal de fenilacetato puede aislarse opcionalmente como un sólido antes de intermezclarse con benzoato de L-ornitina.

La base para preparar sal de fenilacetato no está particularmente limitada y se seleccionará, en parte, basándose en la sal de fenilacetato deseada. Como ejemplo, se puede obtener fenilacetato de sodio añadiendo hidróxido de sodio o metóxido de sodio. La base puede ser una base orgánica o una base orgánica. En algunas realizaciones, la base es base es una base de metal alcalino. Por ejemplo, la base puede incluir hidróxido de litio, hidróxido sódico, e hidróxido potásico. En algunas realizaciones, la base es una sal de metal alcalinotérreo. Como ejemplo, la base puede incluir hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio e hidróxido de bario. En algunas realizaciones, la base es soluble en agua. Ejemplos no limitantes de bases incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de

magnesio, metóxido sódico, metóxido potásico, metóxido de calcio, metóxido de magnesio, *terc*-butóxido sódico, *terc*-butóxido potásico, *terc*-butóxido de calcio y *terc*-butóxido de magnesio.

La cantidad relativa de sal de L-ornitina y sal de fenilacetato que se intermezclan no está tampoco limitada; sin embargo, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato puede opcionalmente estar en el intervalo de aproximadamente 10:90 y 90:10. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato puede estar en el intervalo de aproximadamente 30:70 y 70:30. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato puede estar en el intervalo de aproximadamente 40:60 y 60:40. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato es aproximadamente 1:1.

Esquema 2



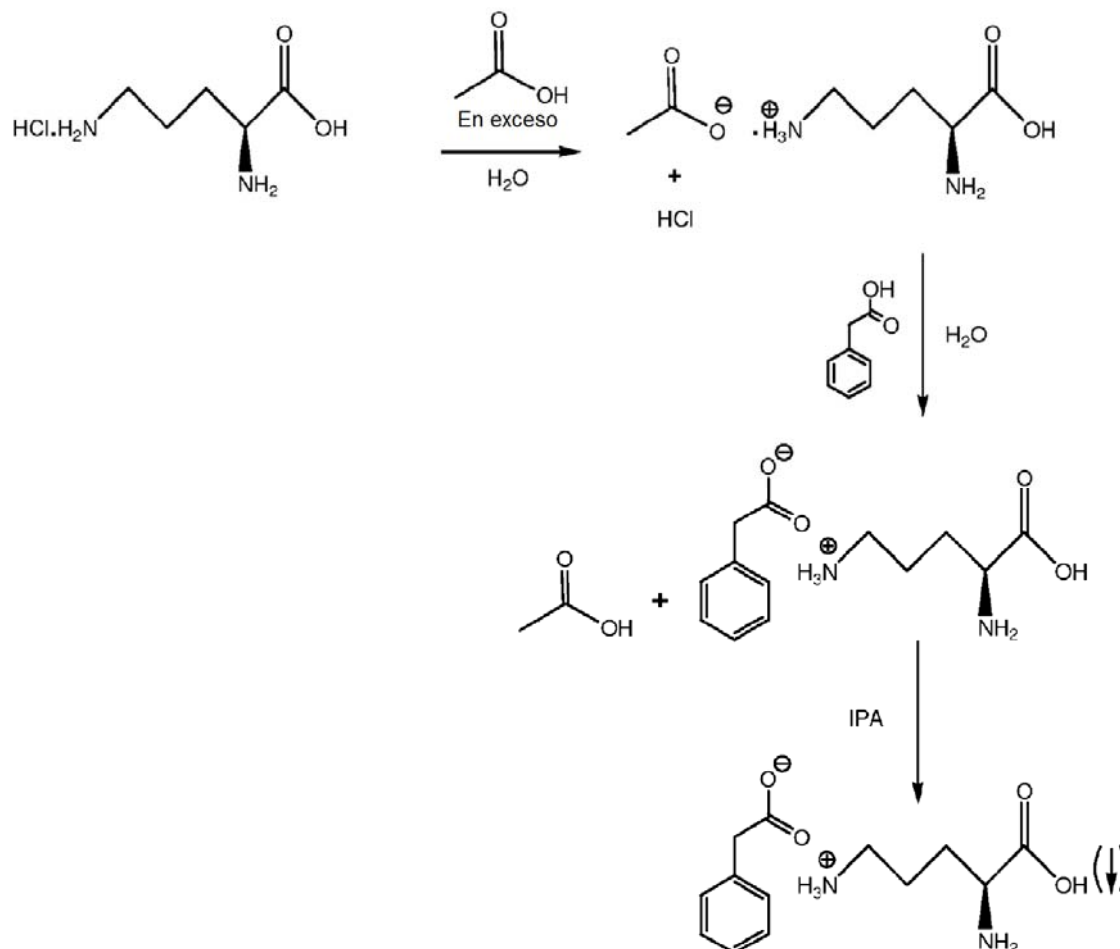
El fenilacetato de L-ornitina de Fórmula V puede entonces aislarse de la solución mediante el uso de técnicas conocidas. Por ejemplo, evaporando cualquier disolvente hasta que el fenilacetato de L-ornitina cristaliza, o alternativamente agregando un anti-disolvente miscible en la solución de fenilacetato de L-ornitina hasta que el fenilacetato de L-ornitina precipita de la solución. Otro medio posible para aislar el fenilacetato de L-ornitina es ajustar la temperatura de la solución (por ejemplo, reducir la temperatura) hasta que el fenilacetato de L-ornitina precipita.

El método de aislar el fenilacetato de L-ornitina afecta la forma cristalina que se obtiene. Las formas cristalinas se describen adicionalmente a continuación y también se desvelan en tres solicitudes relacionadas: (i) solicitud provisional de los EE.UU. n.º 61/166.676, presentada el 3 de abril de 2009; (ii) documento PCT/US2010/029708, presentado en inglés el 1 de abril de 2010; y (ii) solicitud de los EE.UU. n.º 12/753.763, presentada el 2 de abril de 2010.

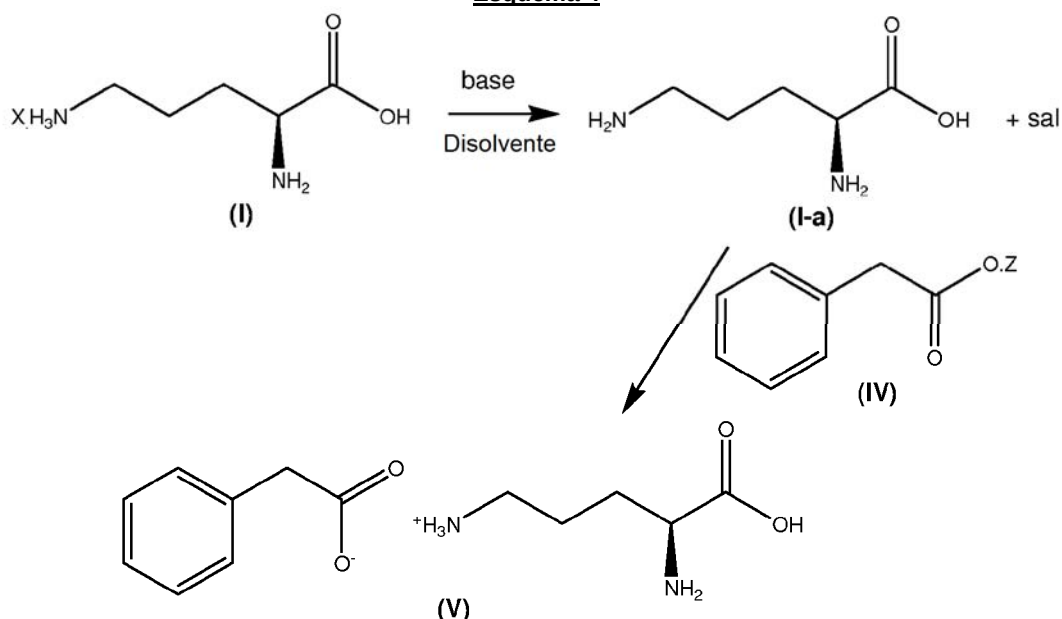
El fenilacetato de L-ornitina aislado puede someterse a diversos procesamientos adicionales, tales como secado y similares. En algunas realizaciones, el fenilacetato de L-ornitina puede intermezclarse posteriormente con una solución diluida de HCl para precipitar la plata residual. El fenilacetato de L-ornitina puede nuevamente aislarse de la solución usando métodos similares desvelados anteriormente.

Como podría apreciarse por un experto en la técnica, guiada por las enseñanzas de la presente solicitud, el fenilacetato de L-ornitina puede prepararse de manera similar usando una sal intermediaria distinta de benzoato de L-ornitina. Por tanto, por ejemplo, L-ornitina, o una sal del mismo (por ejemplo, clorhidrato de L-ornitina), pueden intermezclarse con una solución que tiene ácido acético. El acetato de L-ornitina puede entonces intermezclarse con una sal de ácido fenilacético (por ejemplo, fenilacetato de sodio), para obtener el fenilacetato de L-ornitina. El Esquema 3 ilustra un ejemplo de un proceso para formar fenilacetato de L-ornitina mediante el uso de acetato de L-ornitina como una sal intermediaria.

Se pueden usar otras sales además de benzoato y acetato. 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, sulfato, nitrato, isonicotinato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato) o fosfato. El ácido libre del intermediario es preferentemente 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 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 3

En un método divulgado, El fenilacetato de L-ornitina también puede prepararse sin formar una sal intermedia, tal como benzoato de L-ornitina. El Esquema 4 ilustra un proceso ejemplar para preparar el fenilacetato de L-ornitina sin una sal intermedia. Un modificador de pH puede añadirse a una solución de sal de L-ornitina (por ejemplo, como se ilustra en el Esquema 4 por el compuesto de Fórmula I), donde la sal no es una sal de L-ornitina. Como ejemplo, se puede añadir metóxido de sodio (NaOMe) 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 aislarse opcionalmente de la solución mediante el uso de técnicas conocidas, tales como filtración, centrifugación y similares. La base libre de L-ornitina (por ejemplo, como se ilustra en el Esquema 4 por el compuesto de Fórmula I-a) puede intermezclarse con ácido fenil acético, o una sal del mismo (por ejemplo, como se ilustra en el Esquema 4 por el compuesto de Fórmula IV), para obtener el fenilacetato de L-ornitina. El fenilacetato de L-ornitina de Fórmula V puede entonces aislarse como se describe anteriormente.

Esquema 4

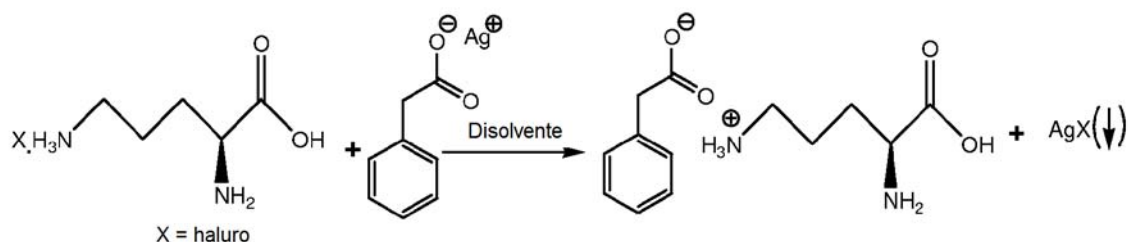
Un modificador de pH puede incluir un compuesto básico, o un precursor anhidro del mismo, y/o una base químicamente protegida. Ejemplos no limitantes de modificadores de pH incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de cesio, hidróxido de litio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio, hidróxido de bario, hidróxido de amonio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de bario, metóxido sódico, metóxido potásico, f-butóxido de sodio, f-butóxido de potasio, dibutilamina, triptamina, hidruro de litio, hidruro sódico, hidruro de calcio, butillitio, bromuro de etil magnesio y combinaciones de los mismos. Asimismo, la cantidad de modificador de pH a añadir no está particularmente limitada; sin embargo, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH puede opcionalmente estar en el intervalo de aproximadamente 10:90 y 90:10. En algunos aspectos, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH puede estar en el intervalo de aproximadamente 30:70 y 70:30. En algunos aspectos, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH puede estar en el intervalo de aproximadamente 40:60 y 60:40. En algunos aspectos, la relación molar de L-ornitina a modificador de pH es aproximadamente 1:1. El modificador de pH puede, en algunos aspectos añadirse para ajustar el valor de pH a al menos aproximadamente 8,0; al menos de aproximadamente 9,0; o al menos de aproximadamente 9,5.

La invención también proporciona un proceso para formar fenilacetato de L-ornitina que comprende hacer reaccionar una sal de haluro de L-ornitina con fenilacetato de plata (Esquema 5). Como ejemplo, se puede intermezclar clorhidrato de L-ornitina con fenilacetato de plata y un disolvente. AgCl puede entonces precipitar y se aísla opcionalmente de la solución. El fenilacetato de L-ornitina restante también se puede aislar mediante el uso de métodos conocidos. Este proceso puede completarse usando, en general, los mismos procedimientos y condiciones resumidas anteriormente.

La cantidad relativa de sal de L-ornitina y sal de fenilacetato que se intermezclan no está tampoco limitada; sin embargo, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato puede opcionalmente estar en el intervalo de aproximadamente 10:90 y 90:10. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato puede estar en el intervalo de aproximadamente 30:70 y 70:30. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato puede estar en el intervalo de aproximadamente 40:60 y 60:40. En algunas realizaciones, la relación molar de L-ornitina a fenilacetato es aproximadamente 1:1.

El fenilacetato de L-ornitina puede entonces aislarse de la solución mediante el uso de técnicas conocidas. Por ejemplo, evaporando cualquier disolvente hasta que el fenilacetato de L-ornitina cristaliza, o alternativamente agregando un anti-disolvente miscible en la solución de fenilacetato de L-ornitina hasta que el fenilacetato de L-ornitina precipita de la solución. Otro medio posible para aislar el fenilacetato de L-ornitina es ajustar la temperatura de la solución (por ejemplo, reducir la temperatura) hasta que el fenilacetato de L-ornitina precipita.

Esquema 5



Las composiciones obtenidas de acuerdo con los métodos desvelados en el presente documento pueden procesarse en diversas formas (por ejemplo, Forma cristalina 2, amorfo, etc.) como se trata adicionalmente a continuación. Las composiciones pueden formularse para diversas vías de administración. Las composiciones se pueden usar en el tratamiento o mejora de hiperamonemia o encefalopatía hepática.

Composiciones de fenilacetato de L-ornitina

También se desvelan en el presente documento composiciones de fenilacetato de L-ornitina. Las composiciones de la presente solicitud ventajosamente tienen cantidades inferiores de sales inorgánicas, en particular, sales de metal alcalino y/o sales de haluro y, por lo tanto, son particularmente adecuadas para su administración oral y/o intravenosa a pacientes con encefalopatía hepática. Paralelamente, estas composiciones pueden exhibir perfiles de estabilidad similares en comparación con otras sales (por ejemplo, mezclas de clorhidrato de L-ornitina y fenilacetato de sodio). Las composiciones pueden obtenerse mediante los procesos desvelados en la presente solicitud. Por ejemplo, cualquiera de los procesos desvelados usando benzoato de L-ornitina como un intermediario puede proporcionar las composiciones de la presente solicitud.

Las composiciones pueden incluir una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina (por ejemplo, Formas I, II, III y/o V desveladas en el presente documento).

La composición puede incluir al menos aproximadamente 20% en peso de una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina (preferentemente al menos aproximadamente 50% en peso, y más preferentemente, al menos aproximadamente 80% en peso). La composición puede consistir esencialmente en una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina.

La composición puede incluir una mezcla de al menos dos (por ejemplo, dos, tres o cuatro formas) de las Formas I, II, III y V.

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

También se desvelan en el presente documento formas amorfas de fenilacetato de L-ornitina. Se conocen en la técnica diversos métodos para preparar formas amorfas. Por ejemplo, una solución de fenilacetato de L-ornitina se puede secar bajo vacío mediante liofilización para obtener una composición amorfa. Véase P.C.T. Solicitud WO 2007/058634 para describir métodos de liofilización.

Es preferente 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 alcalinos (preferentemente no más de aproximadamente 20 ppm, y lo más preferentemente no más de aproximadamente 10 ppm). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 100 ppm de sodio (preferentemente no más de aproximadamente 20 ppm, y lo más preferentemente no más de aproximadamente 10 ppm). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 0,1% en peso de haluros (preferentemente no más de aproximadamente 0,01% en peso). En algunas realizaciones, la composición comprende no más de aproximadamente 0,1% en peso de cloruro (preferentemente no más de aproximadamente 0,01% en peso).

El contenido reducido de metales alcalinos y haluros proporciona una composición adecuada para preparar soluciones isotónicas concentradas. Como tales, estas composiciones pueden ser más fácilmente administradas por vía intravenosa en comparación con, por ejemplo, la administración de mezclas de clorhidrato de L-ornitina y fenilacetato de sodio.

Aproximadamente de 45 a aproximadamente 55 mg/mL de solución de fenilacetato de L-ornitina en agua (preferentemente 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).

- 5 Las composiciones también pueden incluir cantidades residuales del anión a partir de una sal intermediaria formada durante el proceso de elaboración de la composición de fenilacetato de L-ornitina. Por ejemplo, algunos de los procesos descritos en el presente documento 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 (preferentemente al menos aproximadamente 0,05% en peso, y más preferentemente 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 (preferentemente no más de aproximadamente 1% en peso, y más preferentemente 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 (preferentemente aproximadamente 0,1% hasta aproximadamente 1%), en donde la sal se selecciona de acetato, aspartato, formiato, oxalato, bicarbonato, carbonato, sulfato, nitrato, isonicotinato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato) o fosfato.
- 10
- 15
- 20 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 (preferentemente al menos aproximadamente 0,05% en peso, y más preferentemente aproximadamente 0,1% en peso). En algunas realizaciones, la composición incluye no más de aproximadamente 3% en peso de ácido acético o acetato (preferentemente no más de aproximadamente 1% en peso, y más preferentemente no más de aproximadamente 0,5% en peso).
- 25

Las composiciones también pueden incluir cantidades inferiores de plata. Procesos ejemplares descritos en el presente documento utilizan, por ejemplo, benzoato de plata, pero todavía proporcionan composiciones con cantidades sorprendentemente inferiores de plata. Por tanto, en algunas realizaciones, la composición incluye no más de aproximadamente 600 ppm de plata (preferentemente no más de aproximadamente 100 ppm, y más preferentemente 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

- 35 Las composiciones de fenilacetato de L-ornitina de la presente solicitud pueden también formularse para su administración a un sujeto (por ejemplo, un humano). El fenilacetato L-ornitina, y por consiguiente, las composiciones descritas en el presente documento, pueden formularse para su administración con un portador farmacéuticamente aceptable o diluyente. El fenilacetato de L-ornitina puede de este modo formularse 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. Normalmente, el fenilacetato de L-ornitina se formula para su administración oral, intravenosa, intragástrica, subcutánea, intravascular o intraperitoneal.
- 40
- 45 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, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de patata; lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o de calcio, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidones, goma arábiga, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona; agentes disgregantes, por ejemplo, almidón, ácido alginico, alginatos o glicolato sódico de almidón; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes, tal como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias no tóxicas y farmacológicamente inactivas usadas en formulaciones farmacéuticas. Dichos preparados farmacéuticos pueden fabricarse de maneras conocidas, por ejemplo, por medio de mezclado, granulación, formación de comprimidos, recubrimiento de azúcar o recubrimiento de película.
- 50
- 55 Las dispersiones líquidas para la 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.
- 60 Las suspensiones y emulsiones pueden contener como 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 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.
- 65 El medicamento puede consistir esencialmente en 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

fenilacetato. Adicionalmente, 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 de fenilacetato de L-ornitina descritas en el presente documento 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 alcalino).

Formulaciones intravenosas también pueden en general incluir dosificaciones de fenilacetato de L-ornitina en el intervalo de aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 100 g (preferentemente aproximadamente 1 g hasta aproximadamente 50 g). En algunas realizaciones, la formulación intravenosa está sustancialmente libre de sales y haluros de metal alcalino (por ejemplo, no contiene más cantidades indicadoras de sales y haluros de metal alcalino).

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 preferentemente aproximadamente 40 hasta aproximadamente 60 mg/mL).

La composición, o medicamento que contiene la composición, puede colocarse opcionalmente 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 diversos tipos de envases sellados en la técnica. Por ejemplo, la Patente de los EE.UU. número 5.560.490, desvela un envase sellado ejemplar para medicamentos.

Formas Cristalinas de Fenilacetato de L-ornitina

También se describen en el presente documento 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 el presente documento.

Forma I

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

Por tanto, por ejemplo, la Forma I cristalina puede, en general, obtenerse cristalizando el fenilacetato de L-ornitina bajo condiciones controladas. Como 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 sin limitación, ciclohexanona, 1-propanol, dimetilcarbonato, N-metilpirrolidina (NMP), dietiléter, 2-butanol, cumeno, formiato de etilo, acetato de isobutilo, 3-nitil-1-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 caracterizó usando diversas técnicas que 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 mediante difracción en polvo de rayos-X (XRPD). 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 . Por tanto, 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° y 24,4° 2 θ .

Como se entiende bien en la técnica, debido a la variabilidad experimental cuando se miden los patrones de difracción de rayos X en diferentes instrumentos, se asume que las posiciones de los picos son iguales si los dos valores theta (2 θ) concuerdan dentro de 0,2° (es decir, $\pm 0,2^\circ$). Por ejemplo, la Farmacopea de Estados Unidos establece que si el ajuste angular de los 10 picos de difracción más fuertes concuerda dentro de $\pm 0,2^\circ$ con el de un material de referencia, y las intensidades relativas de los picos no varían en más del 20%, la identidad se confirma. Por consiguiente, se asume que las posiciones de los picos dentro de 0,2° de las posiciones citadas en el presente documento son idénticas.

La FIGURA 2 muestra resultados obtenidos por calorimetría de barrido 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 mediante 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 observarse mediante ensayos de TGA. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina se caracteriza por calorimetría de barrido 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 fenilacetato), 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. Paralelamente, 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 % de HR 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 se resumen 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 se puede representar mediante la fórmula C₁₅H₂₈N₂O₆. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina puede representarse mediante la fórmula [C₅H₁₃N₂O₂][C₈H₇O₂]EtOH.H₂O. 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.

TABLA 1 - Datos cristalográficos de la Forma I recopilados a -20 °C

Fórmula empírica	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
Peso de Fórmula	332,39
Sistema de cristal	Monoclinico
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(12) Å ³
Número de reflejos	1516 (2,5° < θ < 28°)
Densidad (calculada)	1,277 mg/cm ³

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][C ₈ H ₇ O ₂] EtOH.H ₂ O
Peso de Fórmula	332,39
Sistema de cristal	Monoclinico
Grupo de espacio	P2 ₁
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	876,7(3) Å ³
Número de reflejos	1477 (2,5° < θ < 18°)
Densidad (calculada)	1,259 mg/cm ³

Forma II

Las condiciones precisas para formar la Forma II cristalina pueden determinarse empíricamente y es solamente posible para proporcionar un número de métodos que se han encontrado por ser adecuados en la práctica.

Por tanto, por ejemplo, la Forma II cristalina puede separarse mediante cristalización con condiciones controladas. La

Forma II cristalina puede prepararse mediante, por ejemplo, evaporación de 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), dimetilsulfóxido (DMSO), acetato de etilo (EtOAc), acetonitrilo (MeCN), acetato de metilo (MeOAc), nitrometano, *tert*-butil metil éter (TBME), tetrahidrofurano y tolueno.

Otros disolventes pueden proporcionar una mezcla de la Forma I y II, tal como, pero sin limitación, 1,4 dioxano, 1-butanol, ciclohexano, IPA, THF, MEK, MeOAc y agua.

La Forma II también se puede obtener precipitando el fenilacetato de L-ornitina a partir de una solución orgánica saturada agregando un anti-disolvente para el fenilacetato de L-ornitina, tal 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 disolventes adecuados para la solución orgánica saturada incluyen ciclohexanona, 1-propanol, carbonato de dimetilo, N-metilpirrolidinona (NMP), diisopropil éter, dietiléter, etilenglicol, dimetilformamida (DMF), 2-butanol, cumeno, acetato de isobutilo, 3-metil-1-butanol, y anisol. Como alternativa, los mismos disolventes listados (por ejemplo, ciclohexanona) pueden usarse para formar una solución de fenilacetato de L-ornitina, y la Forma II puede precipitarse agregando etanol a condiciones ambientales. Como otro ejemplo, la Forma II puede también obtenerse formando una suspensión de fenilacetato de L-ornitina con los disolventes orgánicos enumerados y someter a ciclos la temperatura entre 25° y 40° C cada 4 horas durante aproximadamente 18 ciclos (o 72 horas).

Por consiguiente, en el contexto del proceso 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 aislarse agregando IPA, o evaporando el disolvente orgánico, para proporcionar la Forma II.

La FIGURA 6 muestra la estructura cristalina de la Forma II como se determina por XRPD. 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° 2 θ . Por tanto, 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 barrido 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 por encima 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 disolvente residual. El punto de fusión de aproximadamente 202° C podría también ser observados por ensayos 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% de HR no produjo un cambio de fase observable. De hecho, la Forma II fue estable durante 14 días cuando se expuso a temperaturas elevadas, variando pH, luz UV u oxígeno. Por consiguiente, la Forma II se considera estable.

La FIGURA 9 muestra integrales de resonancia magnética nuclear (RMN) 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 fenilacetato), 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. Paralelamente, 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 de 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 durante 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. Estos resultados demuestran que la Forma II es anhidrida y, por lo tanto, estructuralmente distinta de la Forma I. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina se puede representar mediante la fórmula C₁₃H₂₀N₂O₄. En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina puede representarse mediante 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 monoclinico; 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	Monoclinico
Grupo de espacio	P2 ₁

Fórmula empírica	$C_{13}H_{20}N_2O_4$ o $[C_5H_{13}N_2O_2][C_8H_7O_2]$
Dimensiones de unidad de célula	$a = 6,594(2) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 6,5448(18) \text{ \AA}$ $\beta = 91,12(3)^\circ$ $c = 31,632(8) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
Volumen	$1364,9(7) \text{ \AA}^3$
Número de reflejos	3890 ($3^\circ < \theta < 20,5^\circ$)
Densidad (calculada)	$1,306 \text{ mg/cm}^3$

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

Fórmula empírica	$C_{15}H_{28}N_2O_6$ o $[C_5H_{13}N_2O_2][C_8H_7O_2]$
Peso de Fórmula	332,39
Sistema de cristal	Monoclínico
Grupo de espacio	$P2_1$
Dimensiones de unidad de célula	$a = 5,3652(4) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 7,7136(6) \text{ \AA}$ $\beta = 94,986(6)^\circ$ $c = 20,9602(18) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
Volumen	$864,16(12) \text{ \AA}^3$
Número de reflejos	1516 ($2,5^\circ < \theta < 28^\circ$)
Densidad (calculada)	$1,277 \text{ mg/cm}^3$

Forma III

5

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

10

Por tanto, por ejemplo, la Forma III 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 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. Adicionalmente, 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 .

15

Por consiguiente, en el contexto del proceso para elaborar el fenilacetato de L-ornitina descrito anteriormente, el proceso puede proporcionar la Forma III utilizando disolventes y métodos de aislamiento particulares. Por ejemplo, el fenilacetato de L-ornitina puede formarse dentro de una mezcla de acetona y agua y, posteriormente, colocarse en un ambiente enfriado de aproximadamente -21°C para proporcionar la Forma III.

20

La FIGURA II muestra la estructura cristalina de la Forma III como se determina por XRPD. 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 $24,8^\circ$ 2θ . Por tanto, 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 $24,8^\circ$ 2θ .

25

La FIGURA 12 muestra resultados obtenidos por calorimetría de barrido diferencial (DSC) para la Forma III. Estos resultados indican un punto de fusión de aproximadamente 203°C , que 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 II 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, caracterizarse como anhidra. El punto de fusión de aproximadamente 203°C podría también ser observado por ensayos 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 barrido diferencial ya que tiene un endoterma a aproximadamente 40°C . En algunas realizaciones, una forma cristalina de fenilacetato de L-ornitina es anhidra.

30

35

Al día 7 de estudio de estabilidad de la Forma III a $40^\circ \text{C}/75\%$ de HR se 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, durante periodos de 7 o 10 días. Por consiguiente, la Forma III es muy probablemente metastable, pero más estable que la Forma I.

40

La FIGURA 14 muestra integrales de resonancia magnética nuclear (RMN) 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 (CH_2 unidad de fenilacetato), 3,15 (CH_2 adyacente a NH_2) y 1,9 (unidades alifáticas CH_2) 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. Paralelamente, la FIGURA 15 muestra resultados de adsorción de vapor

45

dinámico (DVS) para la Forma III, y muestra una absorción de agua de aproximadamente 2,0 % en peso. Los resultados de XRPD después de análisis de DVS (no mostrado) confirman que la Forma II no transiciona a un polimorfo diferente. La Forma III, por lo tanto, exhibe mayor absorción de agua en comparación con las Formas 1 y 11; sin embargo, la Forma III todavía se caracteriza 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 determinarse empíricamente y es solamente posible para proporcionar un número de métodos que se han encontrado por ser adecuados en la práctica.

Por tanto, 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 disolvente.

La Forma V también se forma de soluciones saturadas de fenilacetato de L-ornitina que tienen diisopropil éter como un disolvente. Por ejemplo, una solución saturada que tiene una relación de disolvente de aproximadamente 1 a 2 de diisopropil éter e 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. 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° 2 θ . Por tanto, 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° 2 θ .

La FIGURA 17 muestra resultados obtenidos por calorimetría de barrido 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, caracterizarse como anhidra. El punto de fusión de aproximadamente 196 °C podría también ser observado por ensayos 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 barrido 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) 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 fenilacetato), 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. Paralelamente, 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 no cambió. La Forma V, por lo tanto, se caracteriza como no higroscópica, pero no estable sobre un amplio intervalo de humedad.

Al día 7 de estudio de estabilidad de la Forma V a 40 °C/75 % de HR se indica que una transformación a la Forma II ocurre bajo estas condiciones; sin embargo, la composición química no cambió. Por consiguiente, la Forma V es muy probablemente metastable.

EJEMPLOS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

Algunas realizaciones adicionales se divulgan con detalle adicional en los siguientes ejemplos, que no tienen por objeto limitar en modo alguno el alcance de las reivindicaciones. Los ejemplos que queden fuera del alcance de las reivindicaciones se proporcionan solo con fines de referencia.

Ejemplo 1: Proceso en lotes a pequeña escala 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, por separado, se disolvieron aproximadamente 11,4 g de benzoato de plata en 57 ml de DMSO. Posteriormente, se agregó la solución de benzoato de plata a la solución de HCl de L-ornitina. Combinando las dos mezclas dio como resultado una precipitación exotérmica, inmediata de un sólido blanco cremoso (AgCl). El sólido se removió por filtración a vacío y se retuvo el filtrado (benzoato de L-ornitina en solución). Se agregó 200 ml de IPA al 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 mediante filtración al 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 fenilacetato de sodio en 22 ml de H₂O. Posteriormente, se agregó la solución de fenil acetato de sodio a la solución de benzoato de L-ornitina y se dejó agitando durante aproximadamente 10 minutos. Se agregó aproximadamente 240 ml de IPA (8:2 IPA:H₂O) y la solución se agitó durante 30 minutos antes del enfriamiento a 4 °C. Un sólido cristalino precipitó después de aproximadamente 3 horas a 4 °C (fenilacetato de L-ornitina). El precipitado se aisló por filtración al vacío y se lavó con 48-144 ml de IPA. Rendimiento: 57 %.

Ejemplo 2: Proceso en lotes a gran escala para producir fenilacetato de L-ornitina

Se prepararon dos lotes separados de fenilacetato de L-ornitina del siguiente modo:

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 retirar 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, el filtrado se lavó con 75 kg adicionales de agua. La masa de reacción se colocó en un tanque distinto después de la filtración para evitar la contaminación con cloruro de plata residual. La masa de reacción después se calentó a 35 ± 2 °C y se agregaron 80 kg de fenilacetato de sodio. En este punto, la masa de reacción se agitó a 35 ± 2 °C durante al menos 30 minutos.

Para precipitar el producto final, se agregó 353 kg de IPA a la masa de reacción. La masa de reacción después se enfrió a 0 ± 3 °C dentro de las 6 horas, se agitó durante 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 durante aproximadamente 6,5 hasta 8 horas para proporcionar aproximadamente 75 kg de fenilacetato de L-ornitina. Rendimiento: 63,25 %. La TABLA 5 resume las mediciones con respecto al producto final.

TABLA 5 - Resultados analíticos del proceso en lotes a gran escala

Ensayo	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 3: Preparación de solución de fenilacetato de sodio *in situ*

Se disolvió ácido fenil acético (PAA) en una solución de isopropanol. Se agregó aproximadamente 1 equivalente molar a la solución y se agitó. La solución obtenida se agregó a gotas a una solución que tenía aproximadamente 1 equivalente molar de benzoato de L-ornitina. Se precipitó fenilacetato de L-ornitina a partir de esta solución usando, en general, los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 2. Rendimiento: 53,5 %. Se caracterizó polvo de color blanco y se resumió en la TABLA 6 con el título "Ensayo A."

Ejemplo 4: Relaciones de agua/disolvente de IPA para aislar fenilacetato de L-ornitina

Se realizaron varios estudios para considerar el efecto de la composición de disolvente en el rendimiento y pureza del producto. Los ensayos se realizaron usando un protocolo similar a los Ejemplos 2 y 3 y que se detallan en la TABLA 6.

Los ensayos A, B y D incluyen diversas relaciones de agua/IPA y demuestran que el rendimiento se puede mejorar aumentando la cantidad relativa de IPA. El ensayo D cristalizó el producto cuando se intermezcló con el IPA, mientras que los Ensayos A y B incluyen enfriamiento de la solución para obtener el producto. Además, El Ensayo F demuestra que la reducción del volumen de la masa de reacción también puede facilitar la precipitación del producto final.

Los Ensayos C, E y G incluyen una etapa de destilación para retirar agua de la masa de reacción antes de añadir IPA. El rendimiento de los Ensayos C, E y G fueron del 70,0 %, 51,2 % y 68,0 %, respectivamente.

TABLA 6 - Resultados experimentales de relación de agua/IPA

	Descripción del ensayo	Relación de agua/IPA	Condiciones de precipitación	Rendimiento (%)	Descripción del producto
ENSAYO A	relación de disolvente para precipitación de producto final similar a los Ejemplos 2, 3	41:59	durante enfriamiento a 0 °C	53,5 %	polvo de color blanco
ENSAYO B		46:54		50,5 %	polvo de color blanco
ENSAYO C	destilación introducida antes de dosificación de IPA	Desconocido	durante destilación	70,0 %	un polvo de color blanquecino
ENSAYO D	relación de IPA aumentada para mejorar rendimiento	30:70	durante dosificación de IPA	61,2 %	polvo de color blanco
ENSAYO E	destilación introducida antes de la adición de IPA para concentrar masa	Desconocido	durante dosificación de IPA	51,2 %	polvo de color blanco
ENSAYO F	volumen de agua/IPA reducido para facilitar precipitación de producto	46:54	durante dosificación de IPA	51,5 %	polvo de color blanco
	Descripción del ensayo	Relación de agua/IPA	Condiciones de precipitación	Rendimiento (%)	Descripción del producto
ENSAYO G	relación de agua reducida y destilación introducida después de filtración	35:65	durante dosificación de PAA	68,0 %	polvo de color blanco

Ejemplo 5: Reducción de contenido de plata en fenilacetato de L-ornitina

El Lote 2 del Ejemplo 2 exhibió altas cantidades de plata (157 ppm) y, por consiguiente, se sometieron a ensayo procedimientos para reducir el contenido de plata. Se completaron nueve ensayos; cada uno incluyendo, en general, la disolución de aproximadamente 20 g de fenilacetato de L-ornitina del Lote 2 en 1,9 partes de agua y, a continuación, agregando 10,8 partes de IPA. Se aisló una forma cristalina a 0 °C mediante filtración.

Para cuatro ensayos, se agregaron 8,0 mg u 80 mg de depuradores de metal pesado SMOPEX 102 o SMOPEX 112 a la solución acuosa y se agitó durante 2 horas. Los depuradores no redujeron el contenido de plata por debajo de 126 ppm. En aún otro ensayo, se sometió a precipitación el fenilacetato de L-ornitina en una solución de IPA, en lugar de cristalizarse; sin embargo, este ensayo tampoco redujo el contenido de plata por debajo de 144 ppm.

Los últimos tres ensayos incluyeron agregar HCl diluido a la solución para precipitar la cantidad restante de plata como AgCl. El precipitado después se retiró mediante filtración. 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 consiguiente, la adición de HCl fue eficaz en la reducción de la cantidad de plata residual.

Ejemplo 6: Proceso de preparación de fenilacetato de L-ornitina a partir de base libre de L-ornitina usando una base alcóxida de metal alcalino

Como un procedimiento general, se suspendió clorhidrato de L-ornitina en un disolvente. Posteriormente, la masa de reacción se calentó y se agregó una base, metóxido sódico. Se formó NaCl y se retiró del sistema mediante 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, lavó y secó. Se proporciona un resumen de los ensayos para este proceso en la TABLA 7.

TABLA 7 - Ensayos de proceso

Ensayo	Base	Equiv. de base	Disolvente
1	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	MeOH
2	NaOMe 21 % en MeOH	0,95 equiv.	IPA
3	NaOMe 21 % en EtOH	1,0 equiv.	EtOH
4	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	MeOH
5	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	MeOH w/IPA para precipitación
6	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	Acetonitrilo
7	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	Agua/IPA

Ensayo	Base	Equiv. de base	Disolvente
8	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	Agua/IPA
9	NaOMe 21 % en MeOH	1,0 equiv.	<i>n</i> -butanol

Se encontró que el fenilacetato de L-ornitina resultante exhibía altas cantidades de cloruro (al menos aproximadamente 1 % en peso) e incluía supuestamente cantidades similares de sodio. Los rendimientos fueron aproximadamente del 50 % para los Ensayos 2, 4 y 5.

Ejemplo 7: Proceso para preparar fenilacetato de L-ornitina sin una sal intermedia

Se realizaron estudios adicionales usando, en general, el mismo procedimiento que en Ejemplo 6. Los resultados se muestran en la TABLA 8:

TABLA 8 - Ensayos de proceso adicionales

	Ensayo I	Ensayo II	Ensayo III	Ensayo IV
Ensayo	1 equiv. de MeONa en 10,6	1 equiv. de MeONa en 10,6	1 equiv. de MeONa en 15	0,5 equiv. de Ca(OH) ₂ en
descripción	p de MeOH	p de <i>i</i> -PrOH	p de <i>i</i> -PrOH	10,6 p de EtOH
Rendimiento	47,2 %	41,9 %	57,6 %	40,2 %
Descripción	polvo de color blanco	polvo de color blanco	un polvo de color blanquecino	polvo de color blanco

Ejemplo 8: Proceso de preparación de fenilacetato de L-ornitina a partir de base libre de L-ornitina usando una base de carbonato

Se suspendió 1 parte de clorhidrato de L-ornitina en aproximadamente 10,6 partes de etanol. Posteriormente, se calentó la masa de reacción (suspensión) a aproximadamente 50 °C y se agregó aproximadamente 1 parte de carbonato de calcio. La masa de reacción se agitó durante aproximadamente 2 horas. La base de L-ornitina libre se aisló mediante filtración para obtener un polvo, mientras que el CaCl₂ permaneció en la solución. Se disolvió el polvo filtrado en agua y se filtró para retirar el carbonato de calcio no reaccionado. Se intermezcló aproximadamente 1 parte de ácido fenil acético en moles en isopropanol con la solución de L-ornitina acuosa. El producto final precipitó a partir de la solución y se aisló, lavó y secó. Rendimiento: 44,5 %.

Ejemplo 9: Proceso de preparación de fenilacetato de L-ornitina a partir de base libre de L-ornitina usando una base inorgánica

Se suspendió 1 parte de clorhidrato de L-ornitina en aproximadamente 10,6 partes de etanol. Posteriormente, se calentó la masa de reacción (suspensión) a aproximadamente 50 °C y se agregó aproximadamente 0,5 partes de hidróxido de calcio. La masa de reacción se agitó durante aproximadamente 1,5 horas. La base de L-ornitina libre se aisló mediante filtración y se lavó con etanol. El sólido filtrado se disolvió en agua y se agregó a gotas ácido fenil acético (1,0 equivalente) en isopropanol a la solución de L-ornitina acuosa a temperatura ambiente. Después de al menos 30 minutos con agitación a temperatura ambiente, se agregó IPA para precipitar el producto final. El producto final se aisló, lavó y secó. Rendimiento: 43,95 %.

Como alternativa, se preparó también base libre de L-ornitina en una solución acuosa. Se disolvió 1 parte de clorhidrato de L-ornitina en aproximadamente 4,1 partes de agua. Posteriormente, se agregó aproximadamente 0,5 partes de hidróxido de calcio en moles a la solución y se agitó durante aproximadamente 30 minutos. La base de L-ornitina libre no se aisló entonces mediante filtración. A continuación, se intermezcló aproximadamente 1 parte de ácido fenil acético en isopropanol con la solución de L-ornitina acuosa. El producto final precipitado a partir de la solución se aisló, lavó y secó. Rendimiento: >100 %.

Ejemplo 10: Proceso de preparación de fenilacetato de L-ornitina a partir de base libre de L-ornitina usando hidróxido de bario

A 1,0 equivalente de clorhidrato de L-ornitina en una solución acuosa se añadieron 2,7 equivalentes molares de hidróxido de bario. Posteriormente, la masa de reacción se sometió a reflujo durante 2 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. Se agregó ácido sulfúrico (6n) lentamente para acidificar la masa de reacción resultante hasta que el pH fue de aproximadamente 1,5. El sulfato de bario insoluble formado se filtró a través usando un filtro de 0,2 µm. El filtrado se concentró, a continuación, mediante destilación y se neutralizó a pH 7-7,5 añadiendo una solución de hidróxido de bario. La sal de sulfato de bario formada se retiró de nuevo. Por último, se agregó una solución de ácido fenil acético (1,13 equivalentes) con hidróxido de sodio en IPA a 35 °C a la solución resultante a 35 °C. Se agregó IPA y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C para precipitar el producto final. El producto final se aisló mediante filtración, lavó con una mezcla de agua e IPA y se secó. Rendimiento: 37,2 %.

Ejemplo 11: Proceso para preparar fenilacetato de L-ornitina median un intermediario de acetato

Se disuelven 25 mg de clorhidrato de L-ornitina en 5 vol de H₂O y, a continuación, se añade ácido acético en exceso (aproximadamente 5 vol) para formar una suspensión. Se somete la suspensión a ciclado de temperatura entre 25 °C y 40 °C cada 4 horas durante aproximadamente 3 días. Se añade 1 equivalente de ácido fenil acético (con respecto a L-ornitina) y se agita durante aproximadamente 4-6 horas (posiblemente calor). Se usa OPA como anti-disolvente, se añade suficiente para obtener una relación de 70:30 (IPA:H₂O). Se aísla mediante filtración al vacío y se seca durante aproximadamente 4-8 horas a 80 °C para retirar cualquier ácido acético residual.

Ejemplo 12: Proceso para preparar fenilacetato de L-ornitina a partir de sal de L-ornitina de haluro y sal de fenilacetato

Se disuelve monoclóridato de L-ornitina en agua a una concentración de 300 - 350 g/Kg (~3 volúmenes de agua). Se agrega a la solución resultante 1 equivalente molar de fenilacetato de plata en 2,5 volúmenes de DMSO (0,4 g/g) a temperatura ambiente dentro de las 2 horas. El receptor que contiene la solución después se lava con DMSO y se agrega a la masa de reacción. El cloruro de plata formado puede filtrarse a través de la masa de reacción sobre un filtro de lentes preparado con Celite y un filtro GAF. Tras la filtración, el filtrado se lavó con un volumen adicional de agua.

Para precipitar el producto final, Se añade IPA a la masa de reacción a un intervalo de concentración final del 65-95 % de IPA. La masa de reacción después se enfría a 0 ± 3 °C dentro de las 6 horas, se agitó durante 1 hora y después el producto se aisló en una centrifugadora.

El producto en húmedo aislado se redisuelve en una solución de HCl diluida acuosa (0,33 %) que representa entre 1-3,5 equivalentes molares de HCl. La masa de reacción se filtra sobre un filtro de lentes preparado con Celite y filtro GAF para retirar el cloruro de plata formado. Tras la filtración, el filtrado se lavó con un volumen adicional de agua.

Para precipitar el producto final, se añade IPA de nuevo a la masa de reacción a un intervalo de concentración final del 60-80 % de IPA. La masa de reacción después se enfría a 0 ± 3 °C dentro de las 6 horas, se agitó durante 1 hora y después el producto se aísla en una centrifugadora. El producto final se seca, a continuación, a 40 ± 5 °C durante aproximadamente 6,5 hasta 8 horas para proporcionar fenilacetato de L-ornitina cristalino.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso de fabricación de sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende:
 - 5 preparar una solución de sal de fenilacetato mezclando un ácido fenil acético y una base en un disolvente; intermezclar benzoato de L-ornitina con la solución de sal de fenilacetato; y aislar una composición que comprende fenilacetato de L-ornitina.
 2. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende al menos el 70 % de fenilacetato de L-ornitina cristalino en peso.
 3. El proceso de la reivindicación 1 o 2, que comprende adicionalmente la formación de benzoato de L-ornitina, en donde la formación de benzoato de L-ornitina comprende intermezclar una sal de L-ornitina, una sal de benzoato y un segundo disolvente para formar una solución intermedia.
 - 15 4. El proceso de la reivindicación 3, que comprende adicionalmente retirar al menos una porción de una sal de dicha solución intermedia antes de intermezclar con la sal de fenilacetato, en donde dicha sal retirada no es una sal de L-ornitina; preferentemente, en donde dicha sal retirada comprende un anión derivado al menos en parte de la sal de L-ornitina y un catión derivado al menos en parte de la sal de benzoato, por ejemplo, la sal de L-ornitina es clorhidrato de L-ornitina y dicho anión es cloruro; y/o la sal de benzoato es benzoato de plata y el catión es un ión de plata; y/o en donde al menos aproximadamente el 90 % en peso de dicha sal retirada se retira.
 5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el proceso comprende adicionalmente añadir ácido clorhídrico antes de dicha retirada de al menos una porción de la sal.
 - 25 6. El proceso de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente la formación de benzoato de L-ornitina, en donde la formación de benzoato de L-ornitina comprende:
 - 30 intermezclar una sal de L-ornitina, una sal de benzoato y un segundo disolvente para formar una solución intermedia; y aislar benzoato de L-ornitina de dicha solución intermedia; y preferentemente, comprendiendo adicionalmente retirar al menos una porción de una sal de dicha solución intermedia antes de aislar el benzoato de L-ornitina, en donde dicha sal retirada no es una sal de L-ornitina y en donde opcionalmente se agrega ácido clorhídrico antes de dicha retirada de al menos una porción de la sal; y/o cristalizar benzoato de L-ornitina de dicha solución intermedia.
 - 35 7. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la base se selecciona entre el grupo que consiste en un hidróxido de metal alcalino y un alcóxido de metal alcalino.
 8. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-7, en donde la sal de L-ornitina es clorhidrato de L-ornitina y/o la sal de benzoato es benzoato de plata; y/o
 - 40 (a) dicha composición comprende al menos aproximadamente el 0,10 % en peso de sal de benzoato; y/o
 - (b) dicha composición comprende no más del 5 % en peso de sal de benzoato, preferentemente, no más del 3 % en peso de sal de benzoato, más preferentemente, no más del 1 % en peso de sal de benzoato; y/o
 - 45 (c) dicha composición comprende adicionalmente al menos 10 ppm de plata, preferentemente al menos 20 ppm de plata, más preferentemente, al menos 25 ppm de plata; y/o
 - (d) dicha composición comprende no más de 600 ppm de plata, preferentemente, no más de 100 ppm de plata, más preferentemente, no más de 65 ppm de plata.
 - 50 9. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la sal de fenilacetato es una sal de metal alcalino, preferentemente, la sal de metal alcalino es fenilacetato de sodio; y preferentemente, dicha composición comprende no más de 100 ppm de sodio y, más preferentemente no más de 20 ppm de sodio; y/o la composición comprende no más del 0,1 % en peso de cloruro, preferentemente, no más del 0,01 % en peso de cloruro.
 - 55 10. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la composición comprende una forma cristalina que exhibe un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico característico, en donde dicho pico característico se selecciona de entre el grupo que consiste en aproximadamente 6,0°, 13,9°, 14,8°, 17,1°, 17,8° y 24,1° 2 θ .
 - 60 11. Un proceso de fabricación de sal de fenilacetato de L-ornitina que comprende:
 - intermezclar una sal de L-ornitina, fenilacetato de plata y un disolvente para formar una solución, preferentemente la sal de L-ornitina es una sal haluro;
 - añadir ácido clorhídrico a la solución; y
 - 65 aislar una composición que comprende fenilacetato de L-ornitina de dicha solución.
 12. El proceso de la reivindicación 11, en donde la sal de L-ornitina es clorhidrato de L-ornitina.

13. El proceso de la reivindicación 11 o 12, que comprende adicionalmente la preparación del fenilacetato mezclando un ácido fenil acético y una base en un disolvente.

- 5 14. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 11-13, en donde dicha composición comprende adicionalmente (a) al menos 10 ppm de plata, preferentemente, al menos 20 ppm de plata o preferentemente al menos 25 ppm de plata; y/o (b) dicha composición comprende no más de 600 ppm de plata, preferentemente, no más de 100 ppm de plata o, preferentemente, no más de 65 ppm de plata; y/o (c) dicha composición comprende no más de 100 ppm de sodio, preferentemente, no más de 20 ppm de sodio; y/o (d) la composición comprende no más del 0,1 % en peso de cloruro, preferentemente, no más del 0,01 % en peso de cloruro.
- 10

15. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en donde la composición comprende una forma cristalina que exhibe un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico característico, en donde dicho pico característico se selecciona de entre el grupo que consiste en aproximadamente 6,0°, 13,9°, 14,8°, 17,1°, 17,8° y 24,1° 2 θ .
- 15

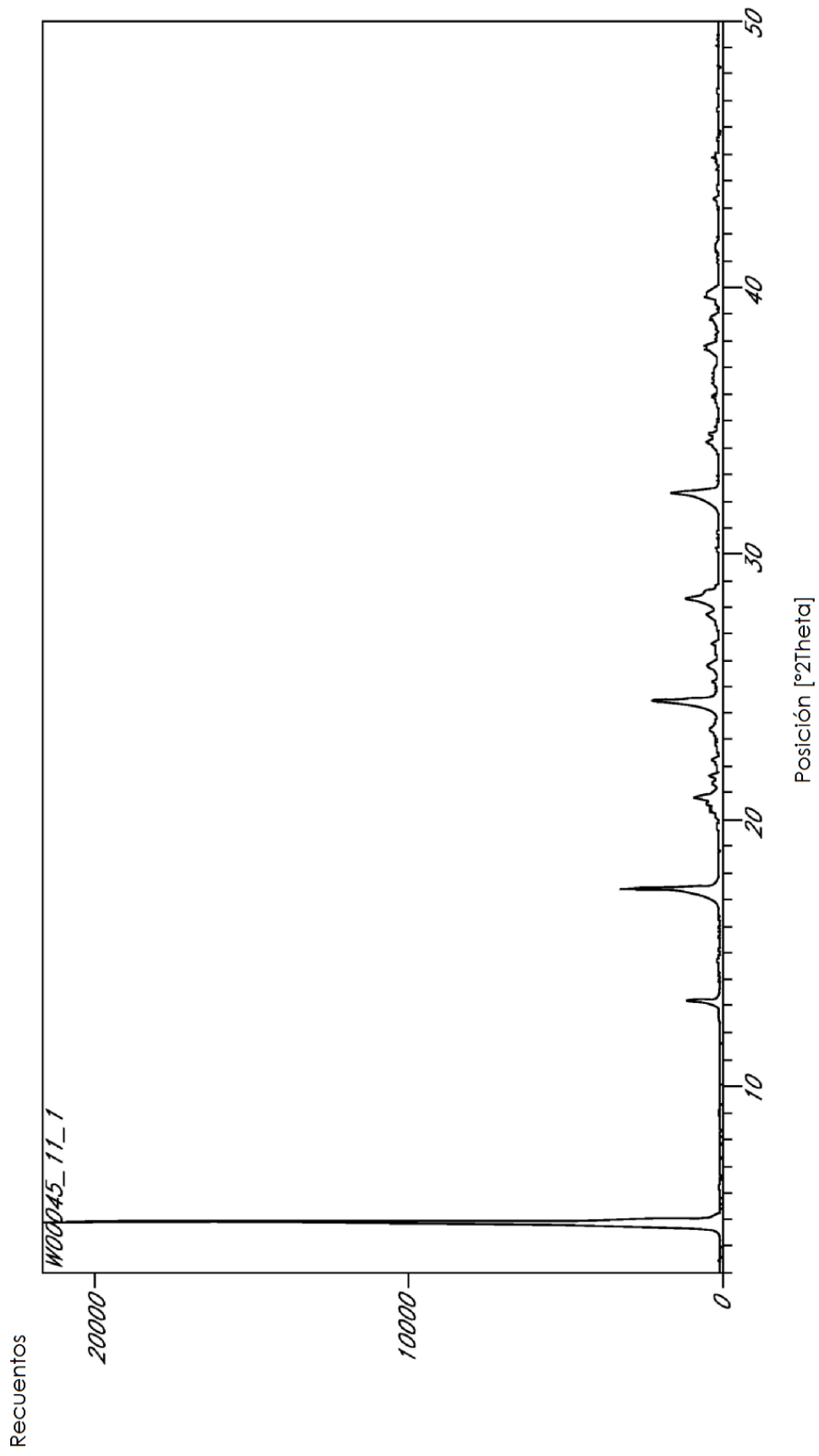
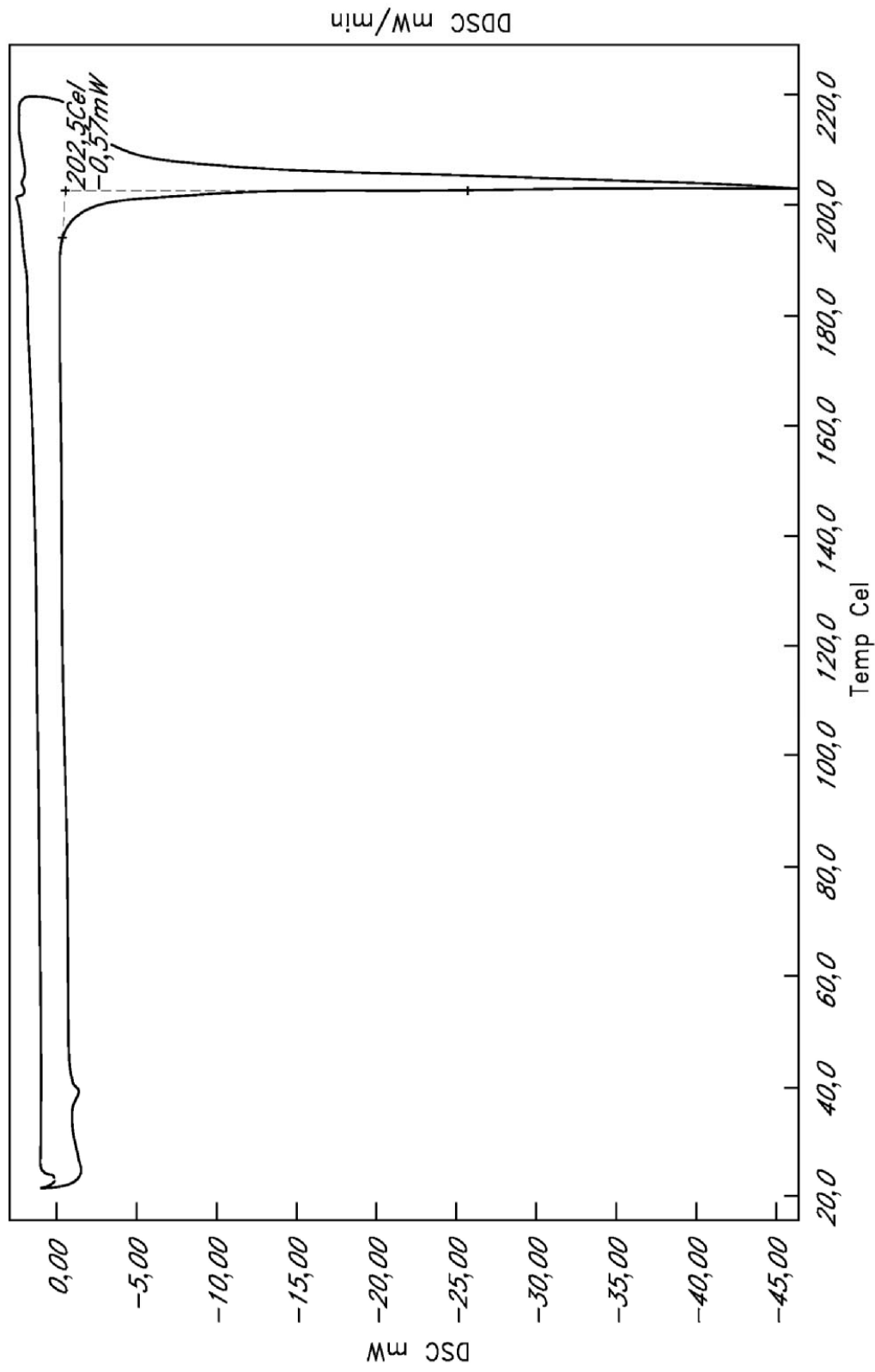


FIG. 1 Patrón de difracción en polvo de rayos X de la forma I



Resultados de la calorimetría de barrido digital para la Forma I

FIG. 2

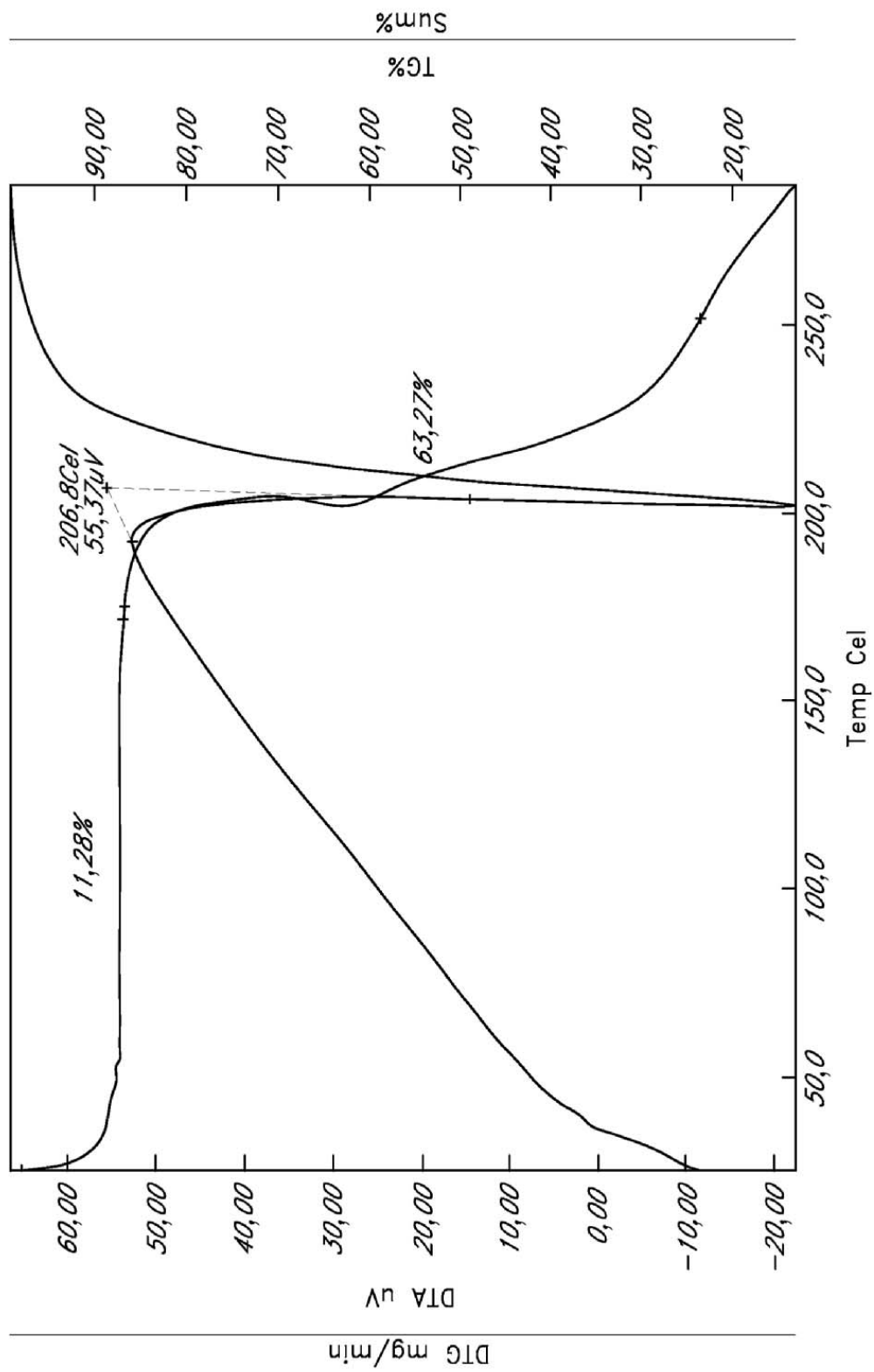
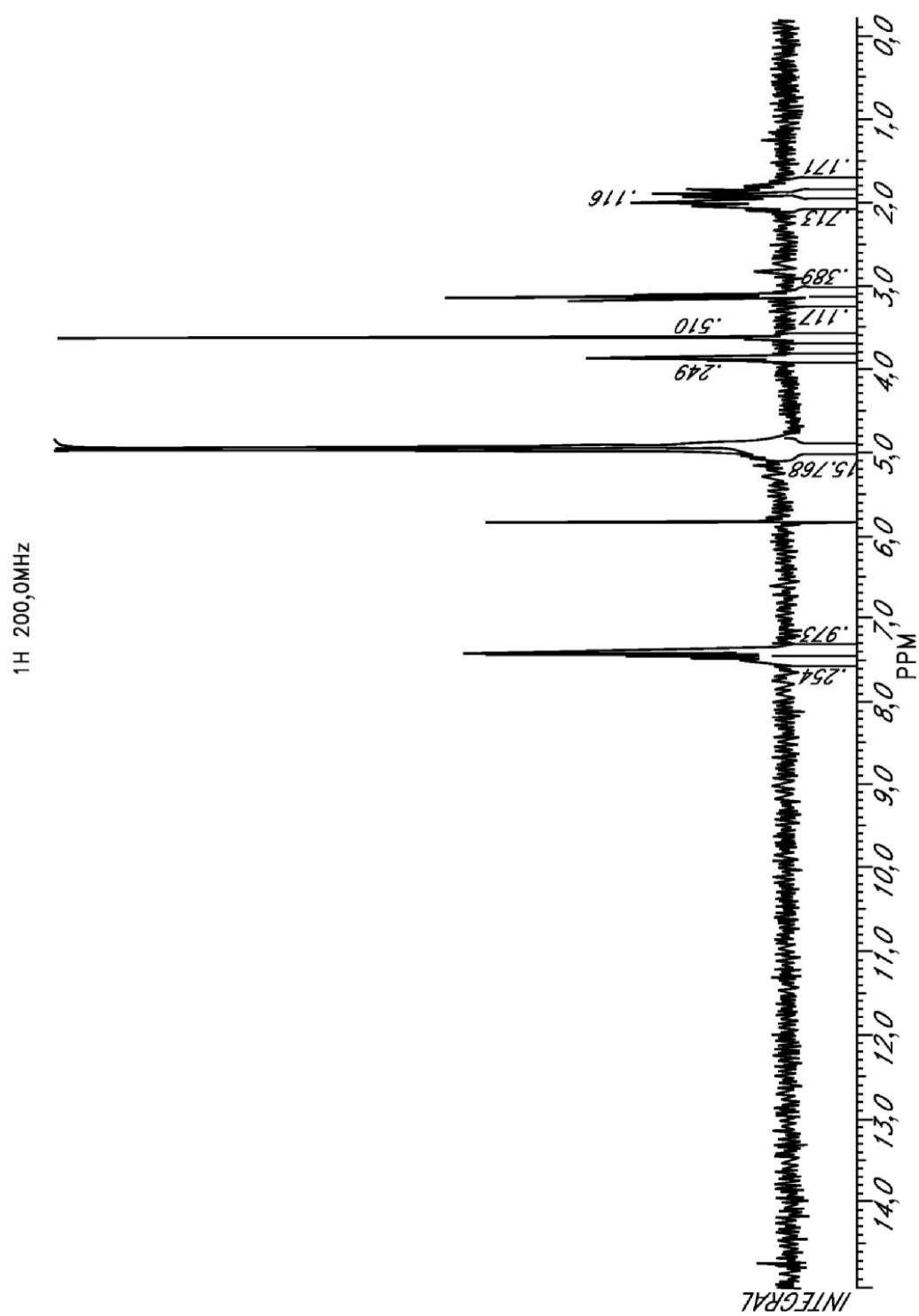


FIG. 3

Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma I



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

FIG. 4

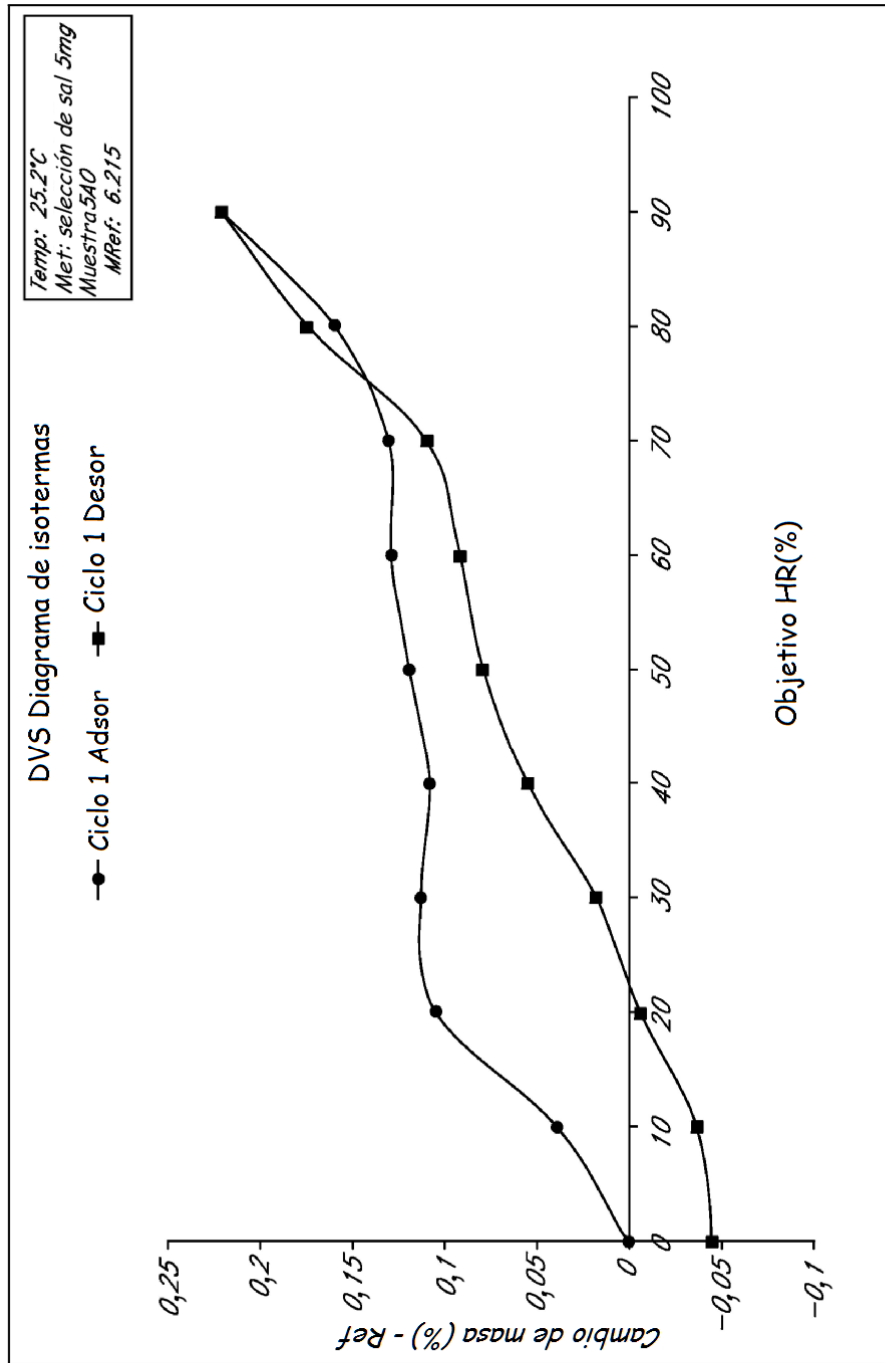
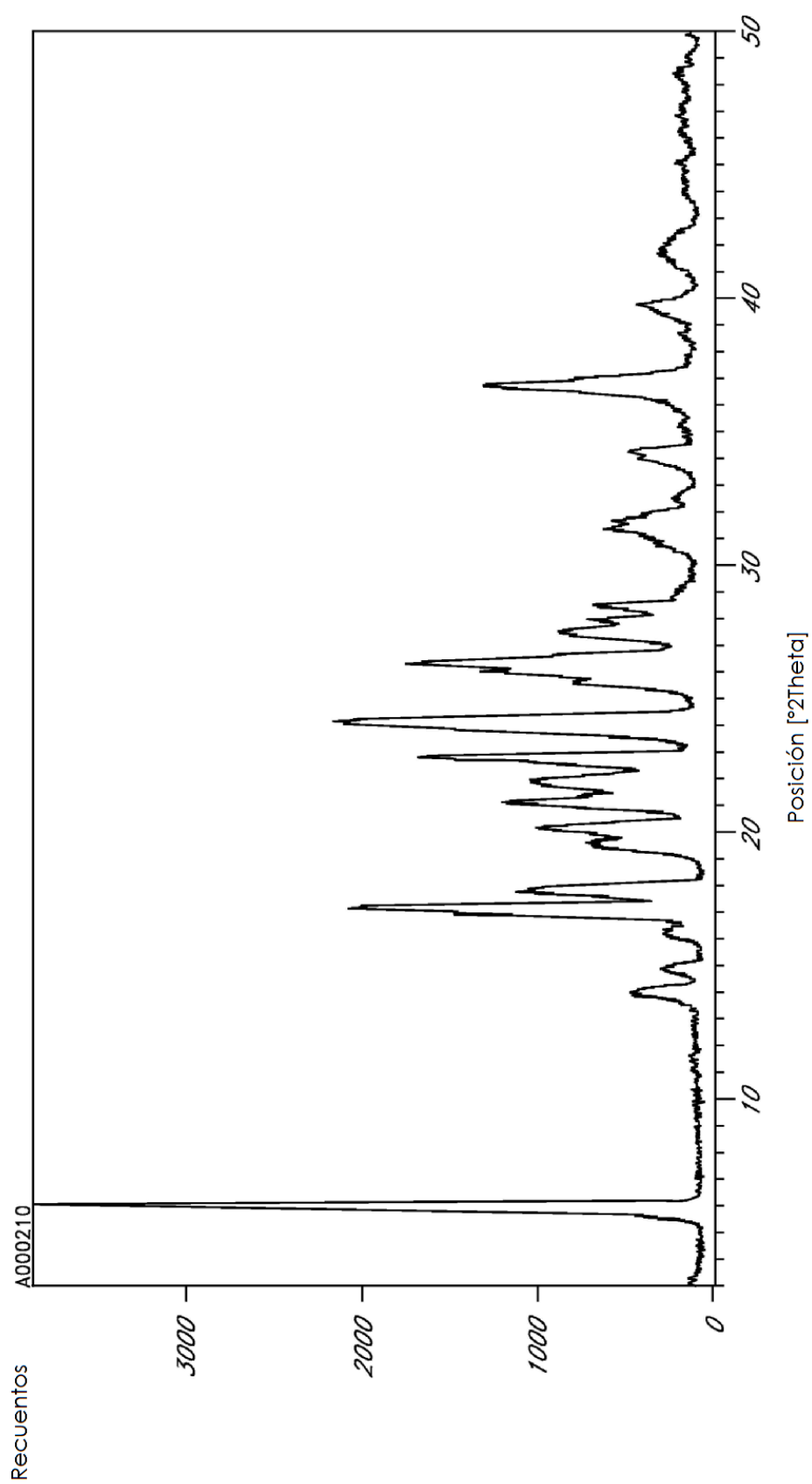


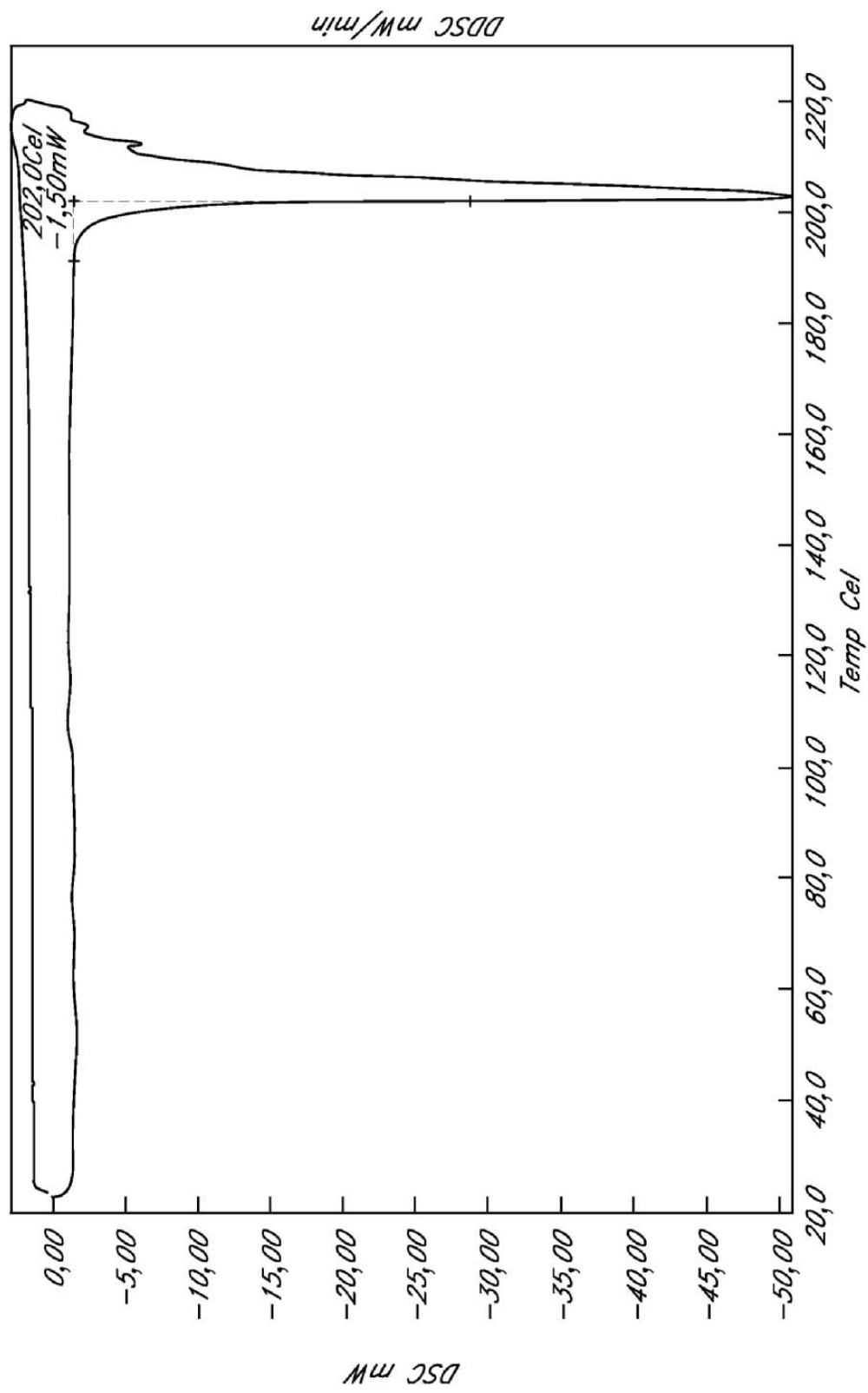
FIG. 5

Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma I



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

FIG. 6



Resultados de calorimetría de exploración digital para la Forma II

FIG. 7

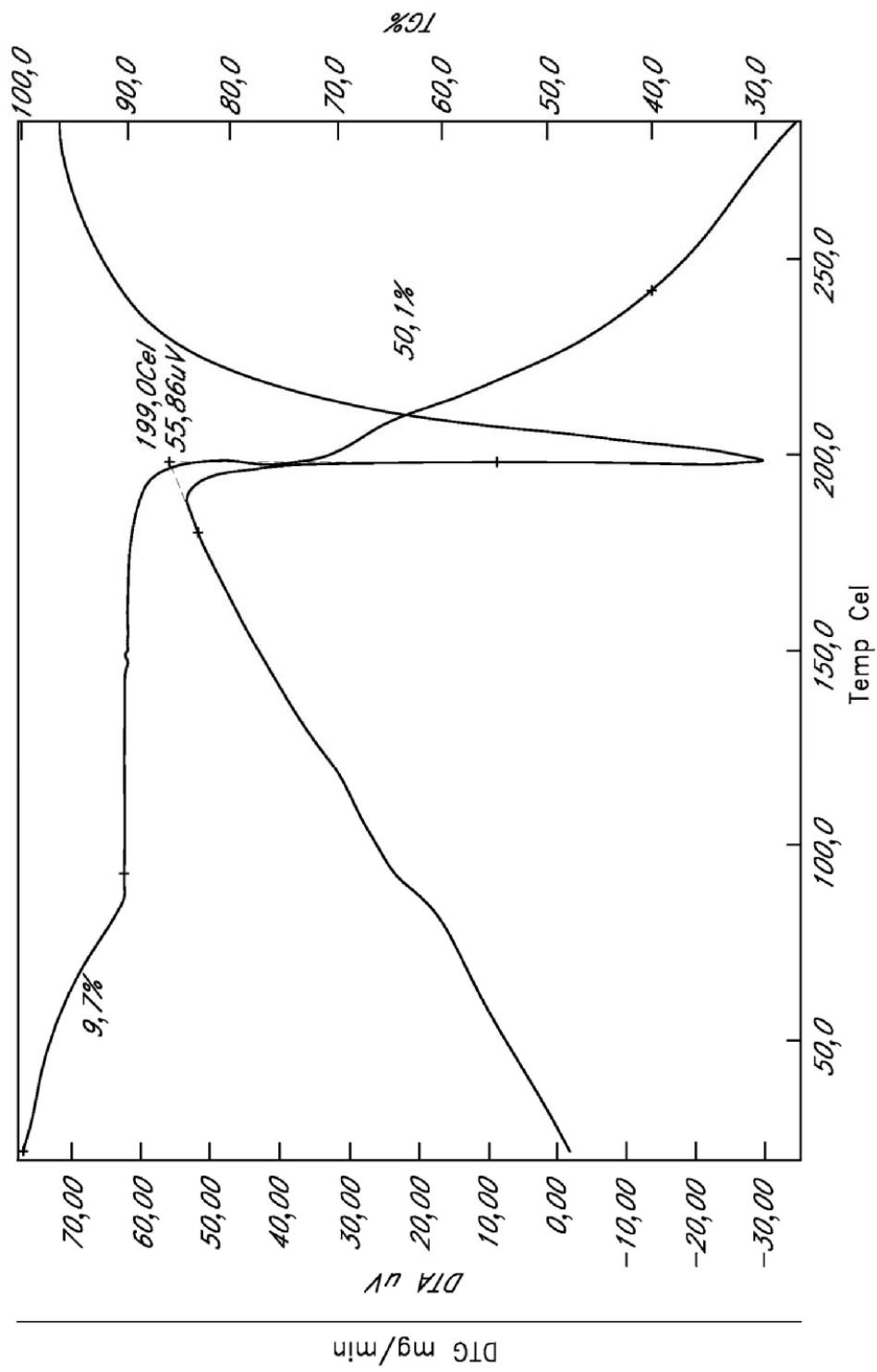


FIG. 8 Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma II

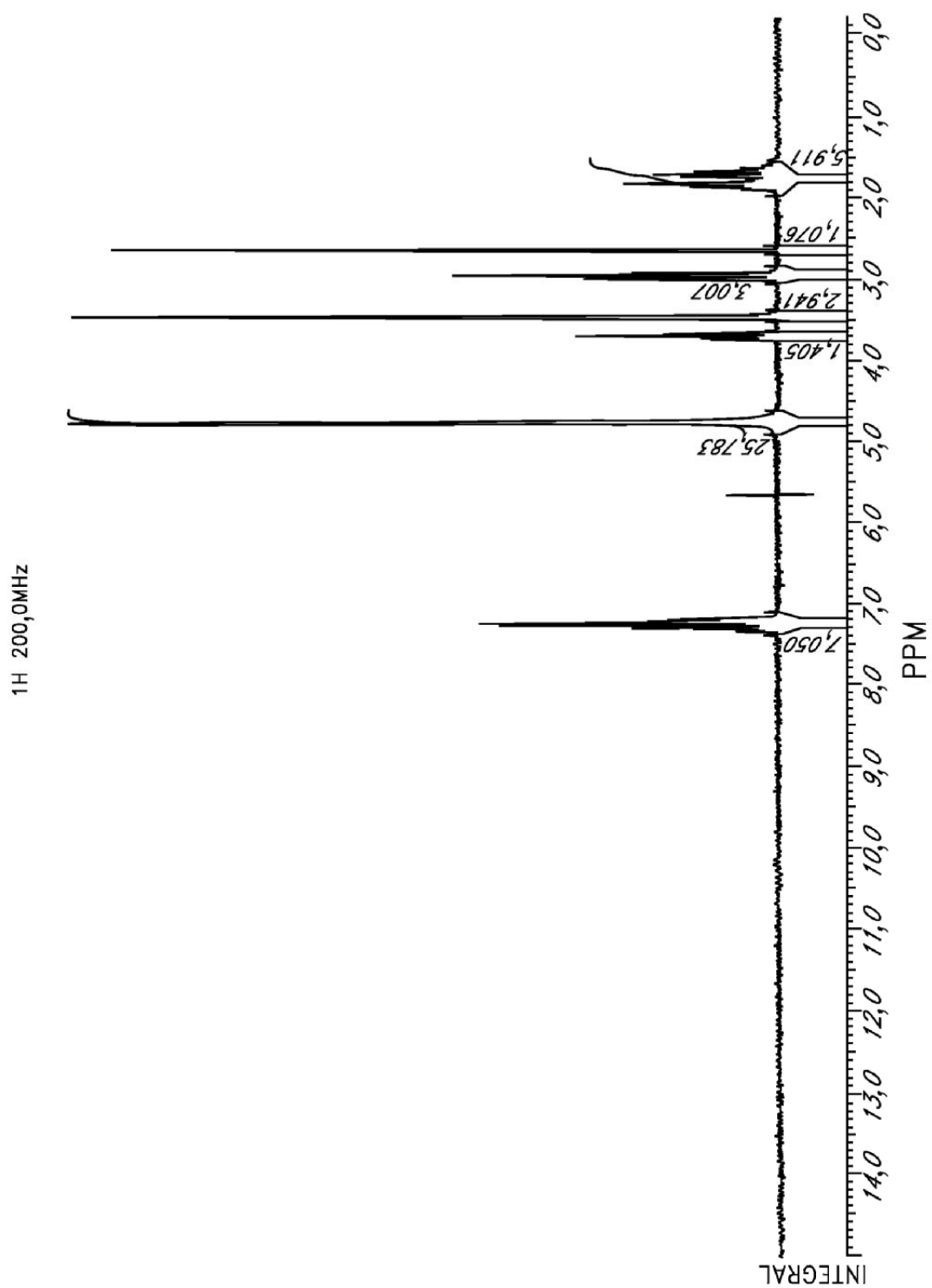


FIG. 9
Espectro de resonancia magnética nuclear ^1H de la Forma II

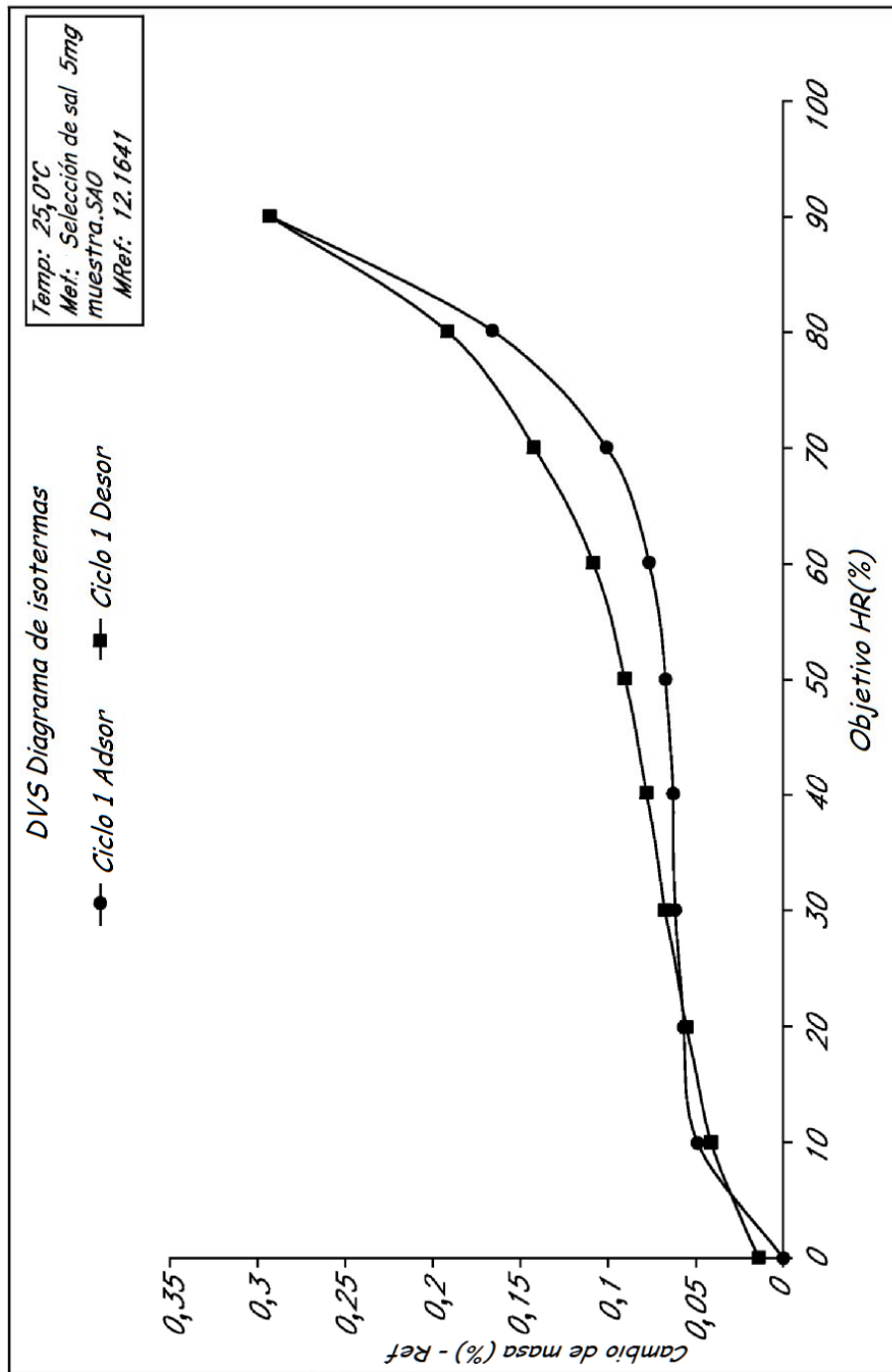
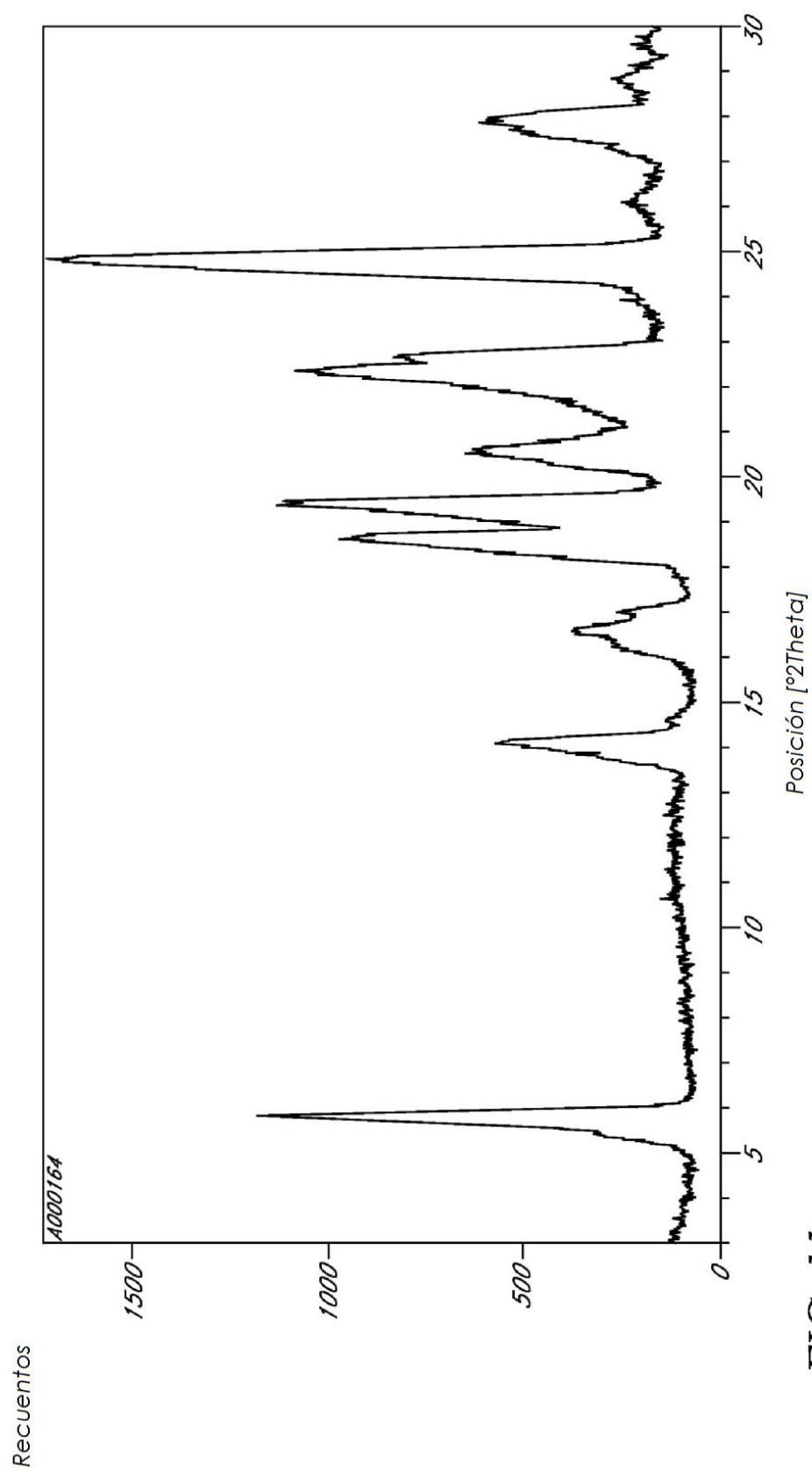


FIG. 10 *Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma II*

**FIG. 11**

Patrón de difracción en polvo de rayos X de la Forma III

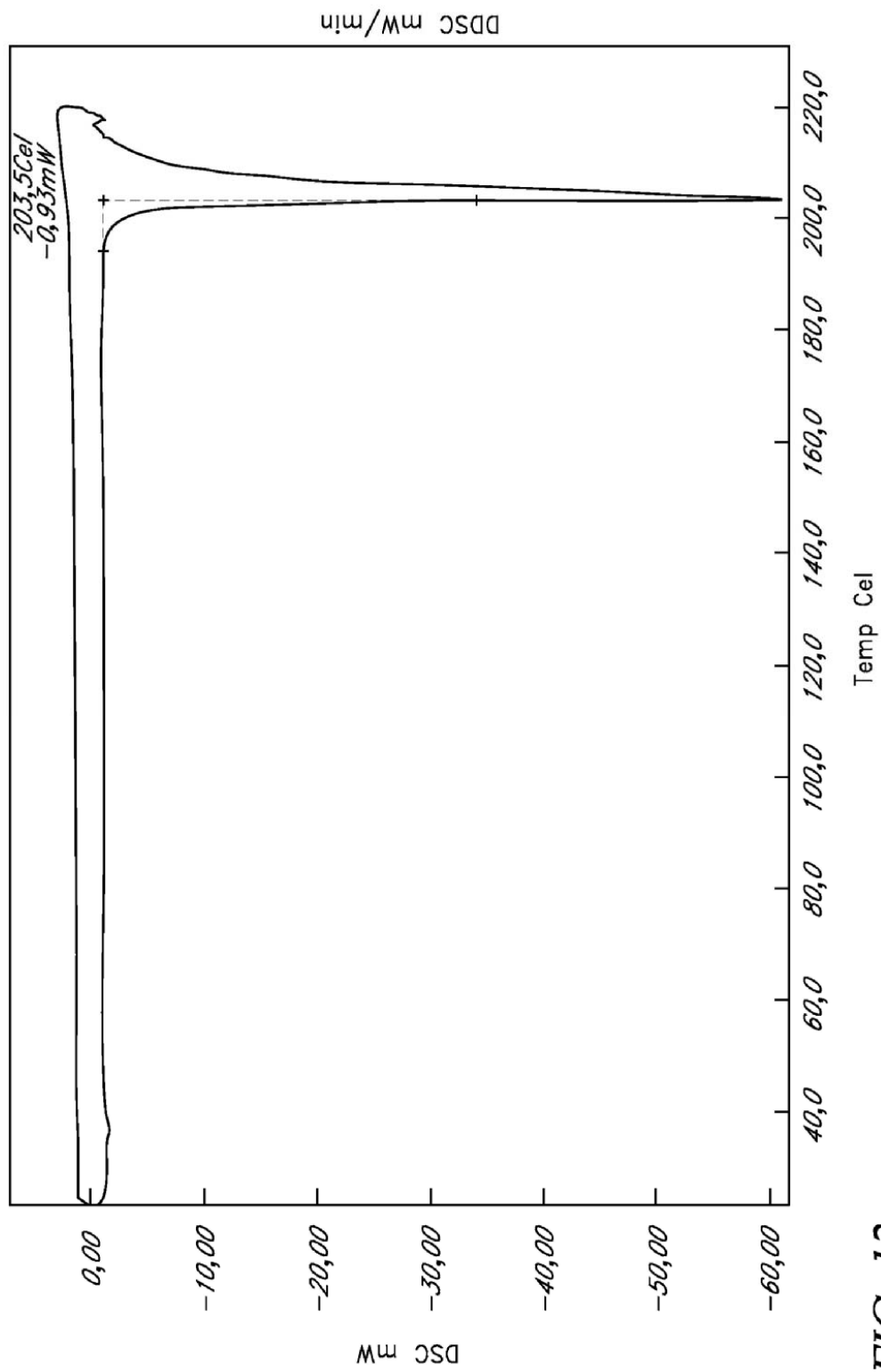


FIG. 12
Resultados de calorimetría de barrido digital para la Forma III

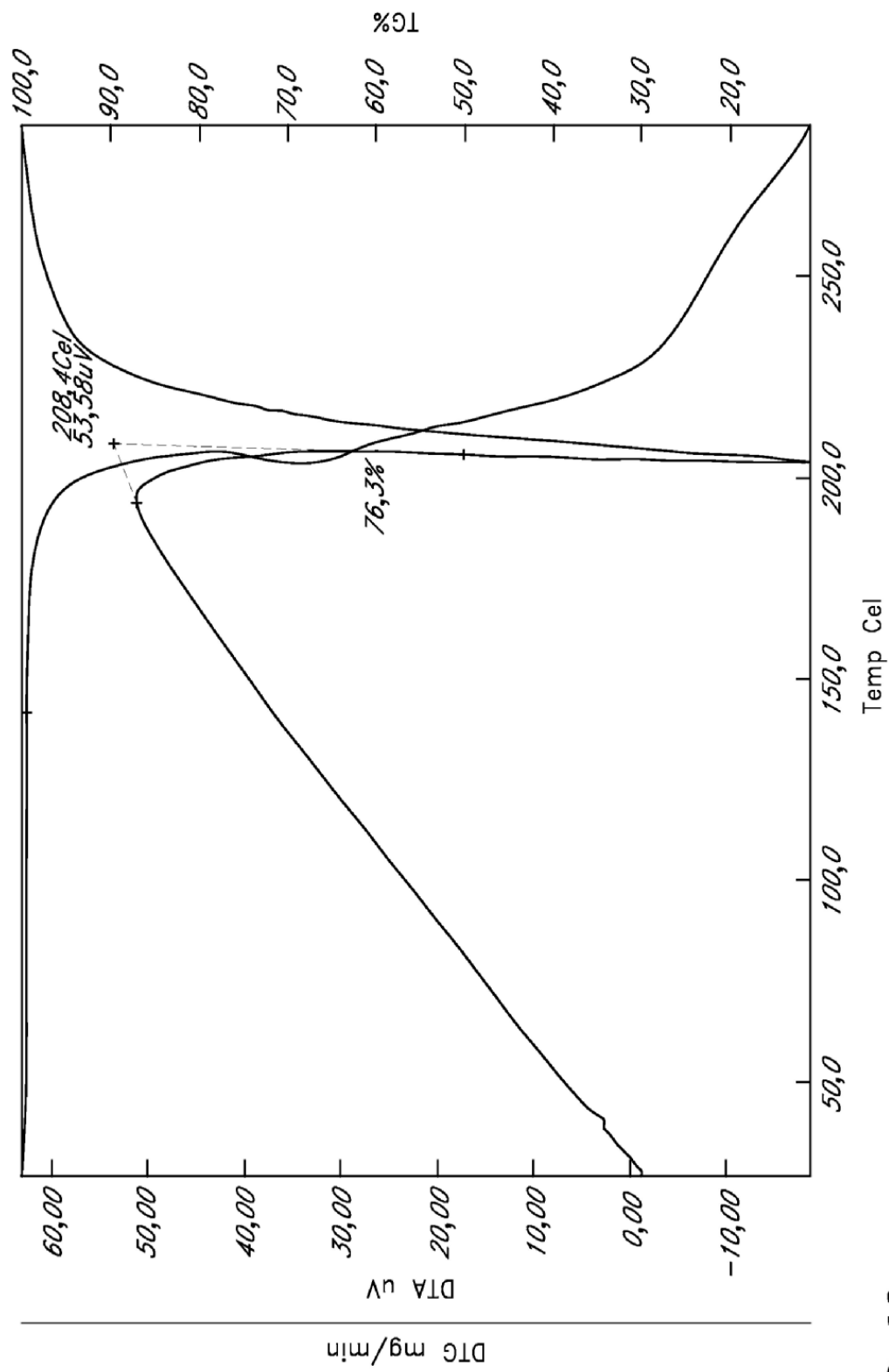


FIG. 13

Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma III

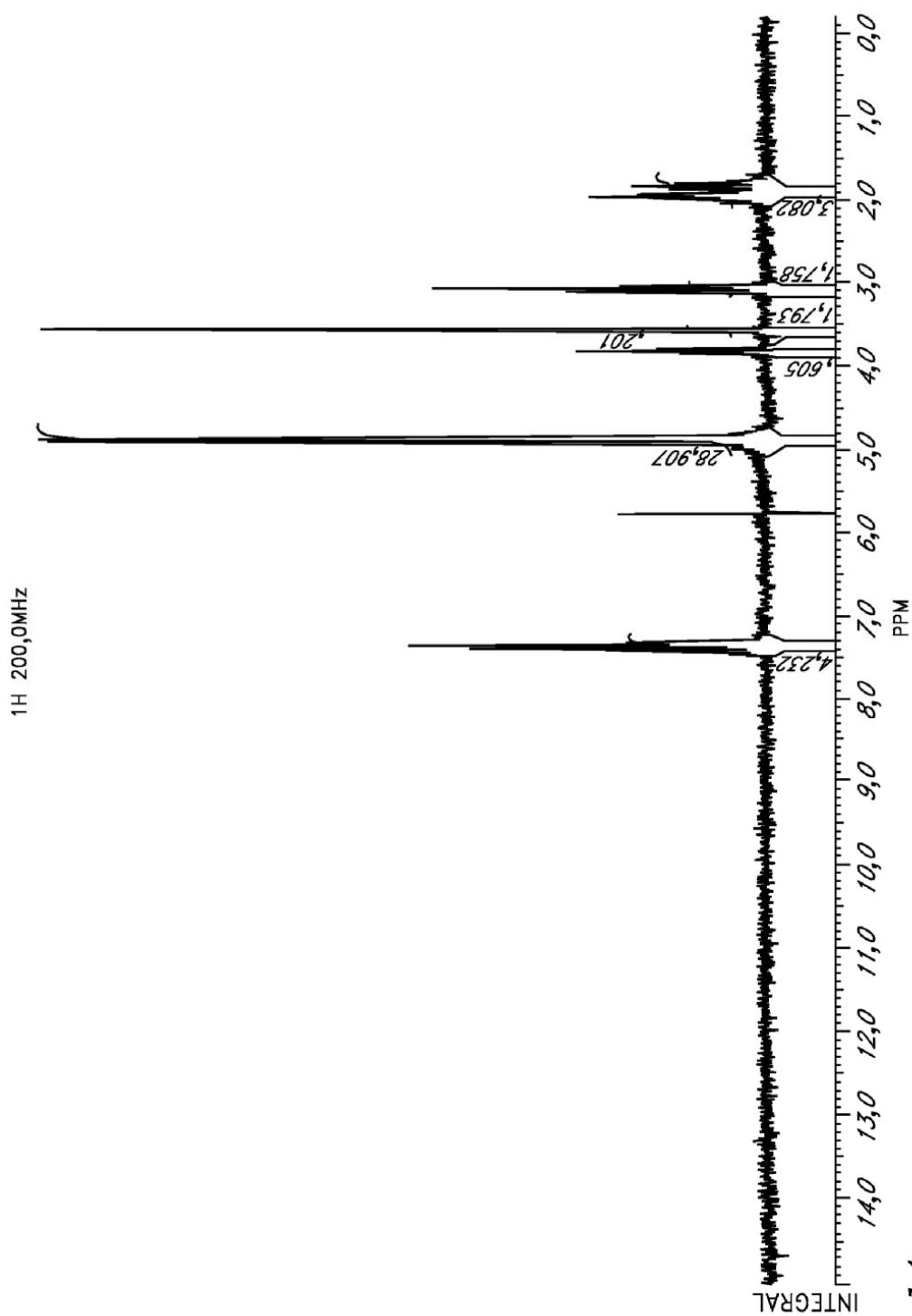
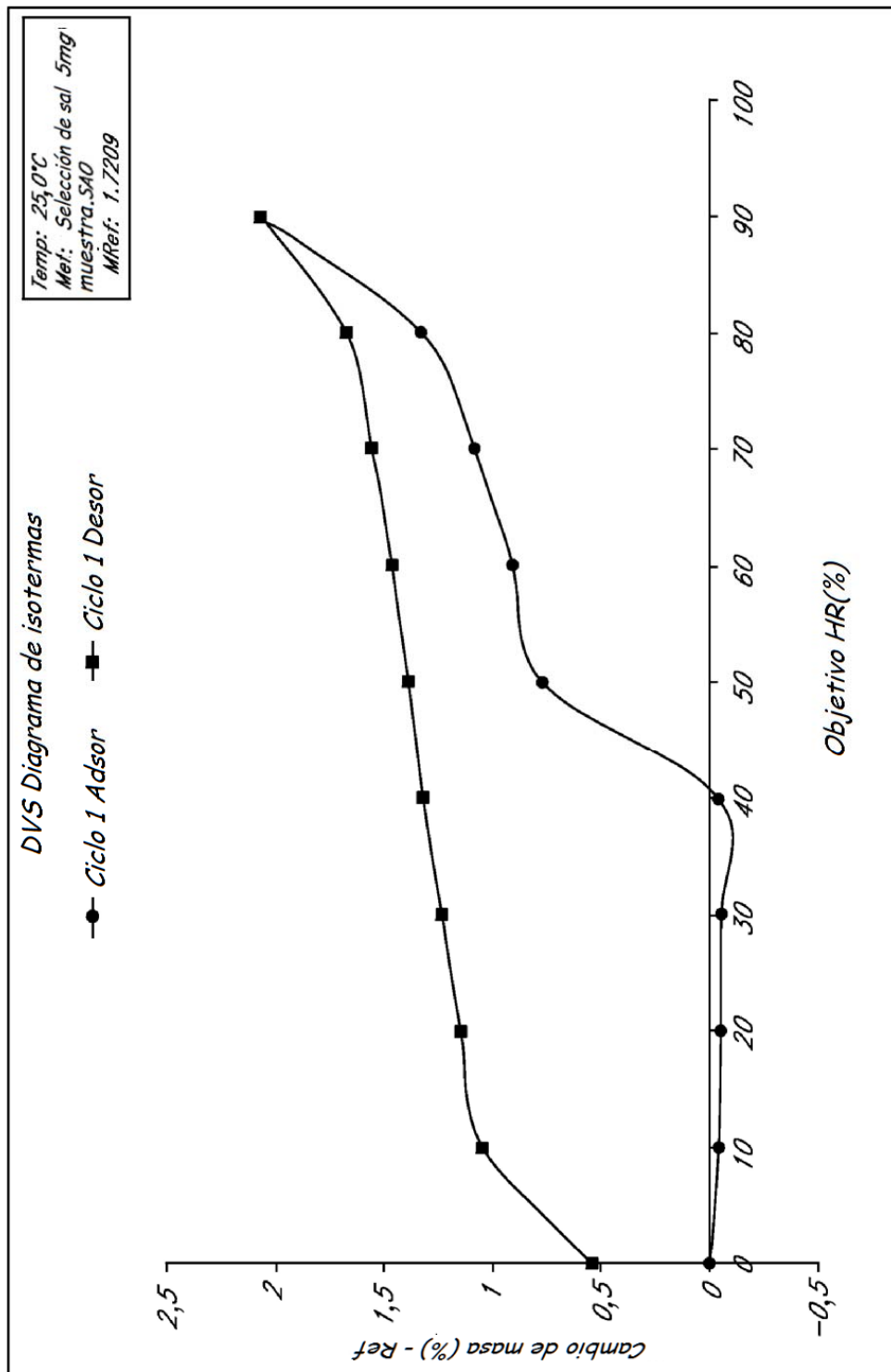


FIG. 14 Espectro de resonancia magnética nuclear ^1H obtenido de la Forma III



Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma III

FIG. 15

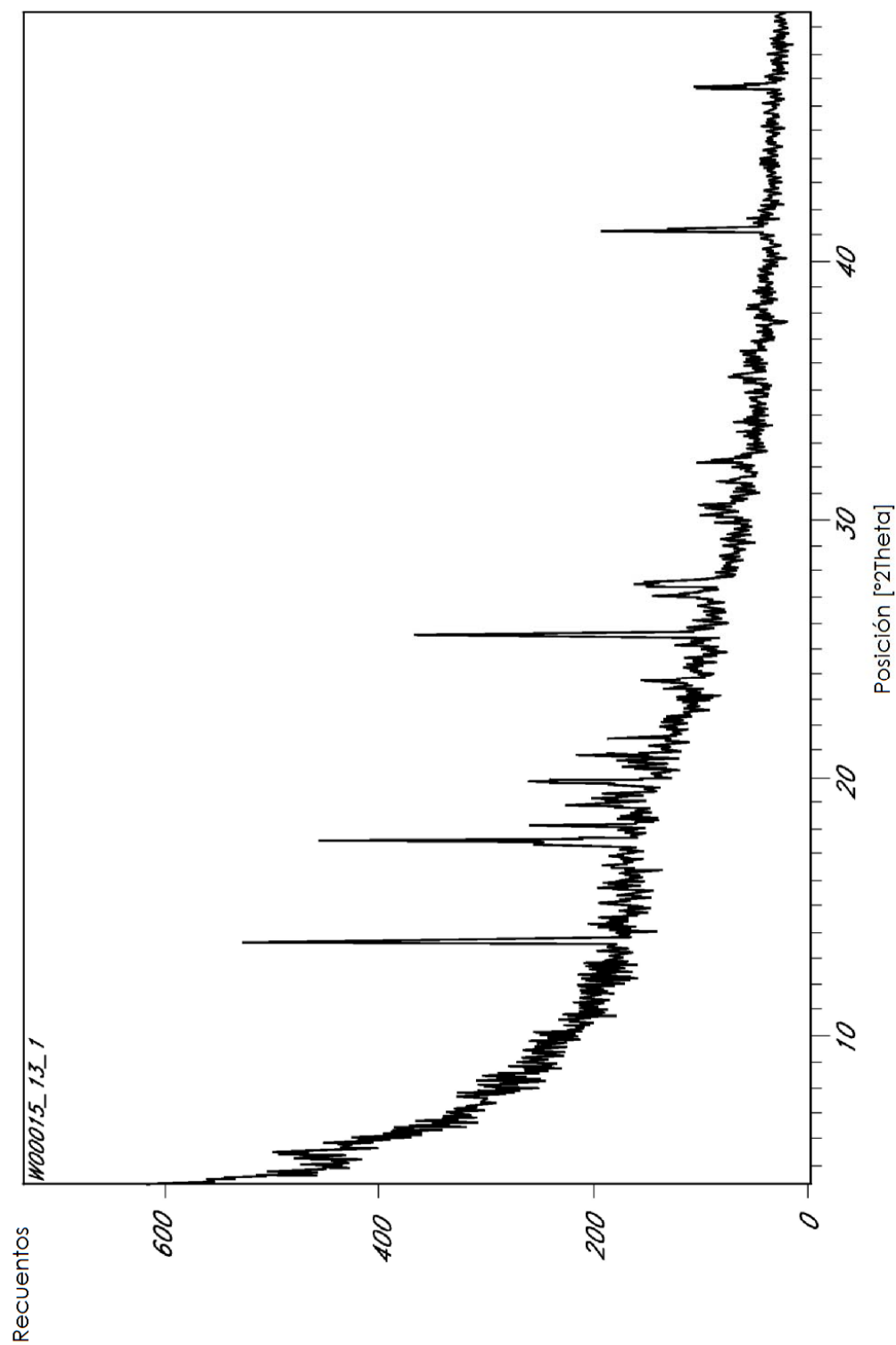


FIG. 16 Patrón de difracción en polvo de rayos X de la Forma V

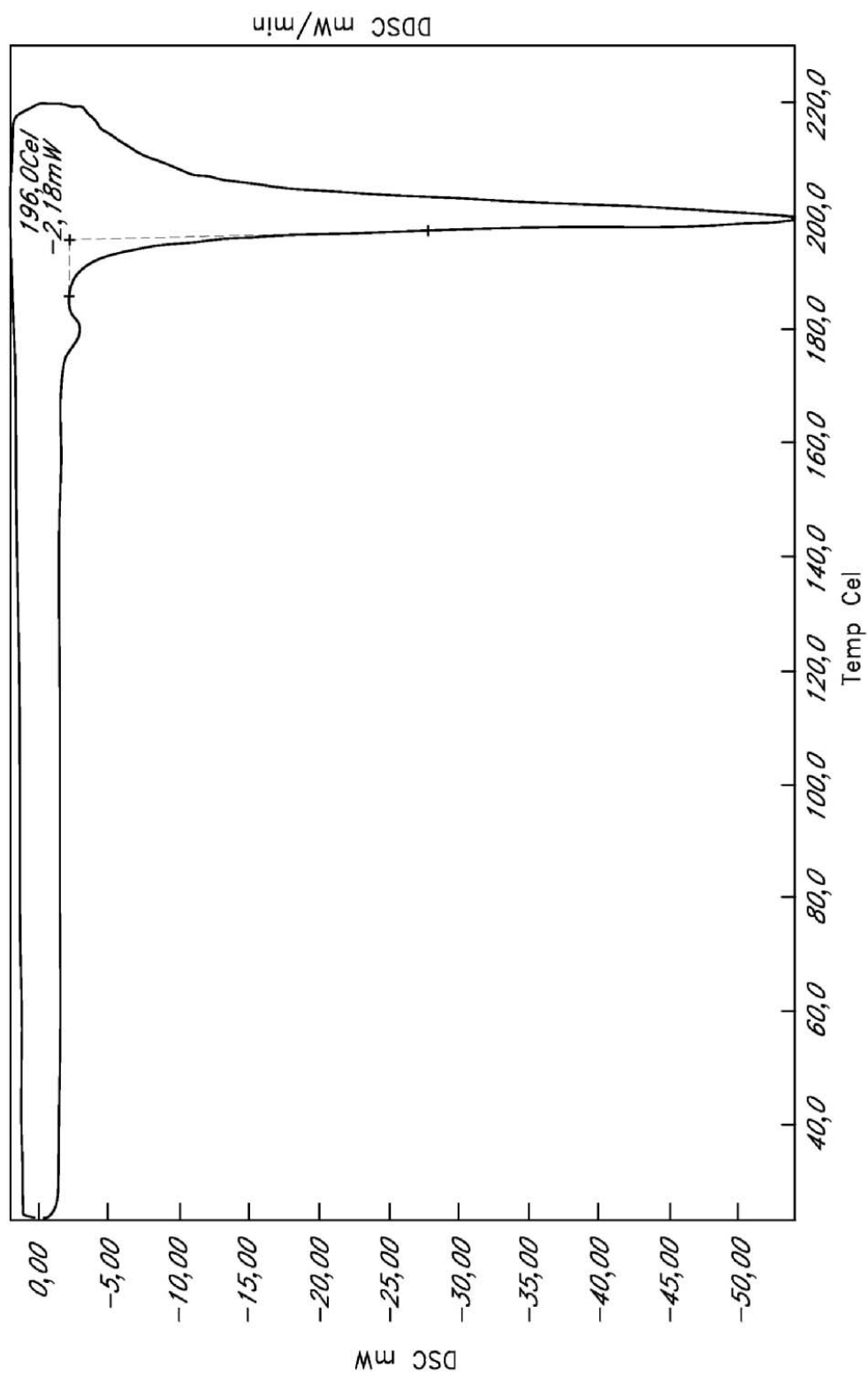


FIG. 17 Resultados de calorimetría de barrido digital para la Forma V

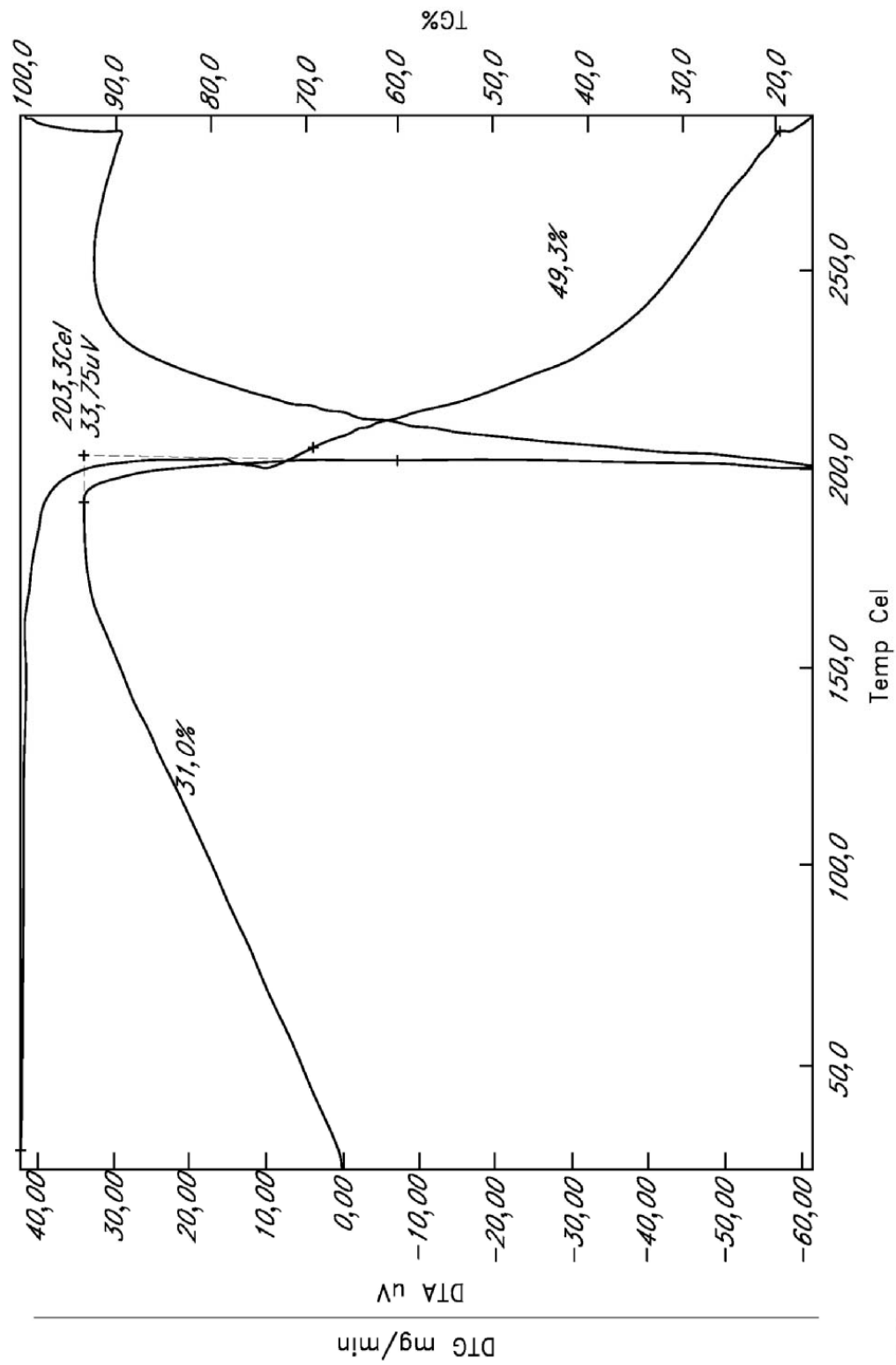


FIG. 18

Análisis térmicos diferenciales/gravimétricos termogravimétricos de la Forma V

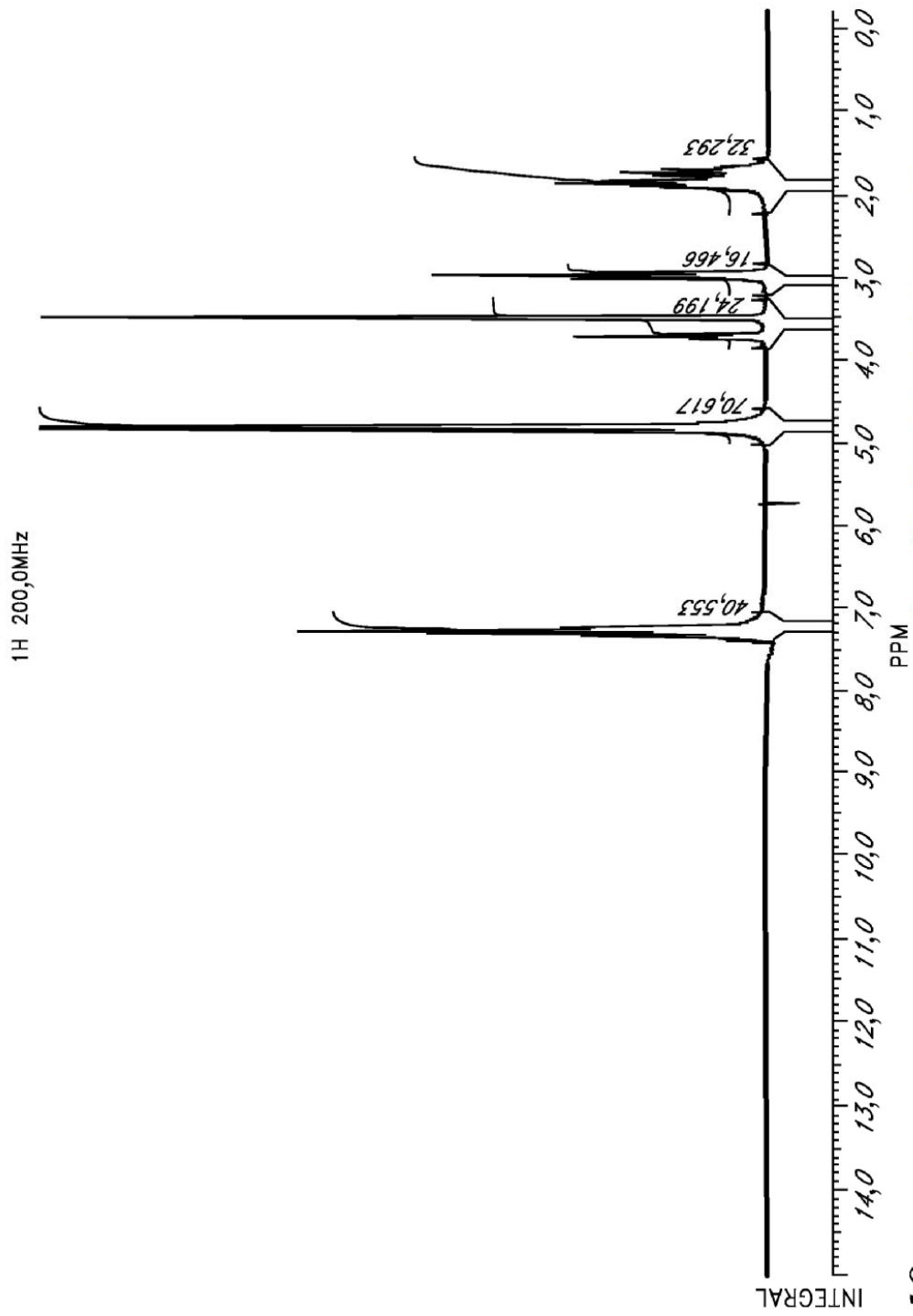
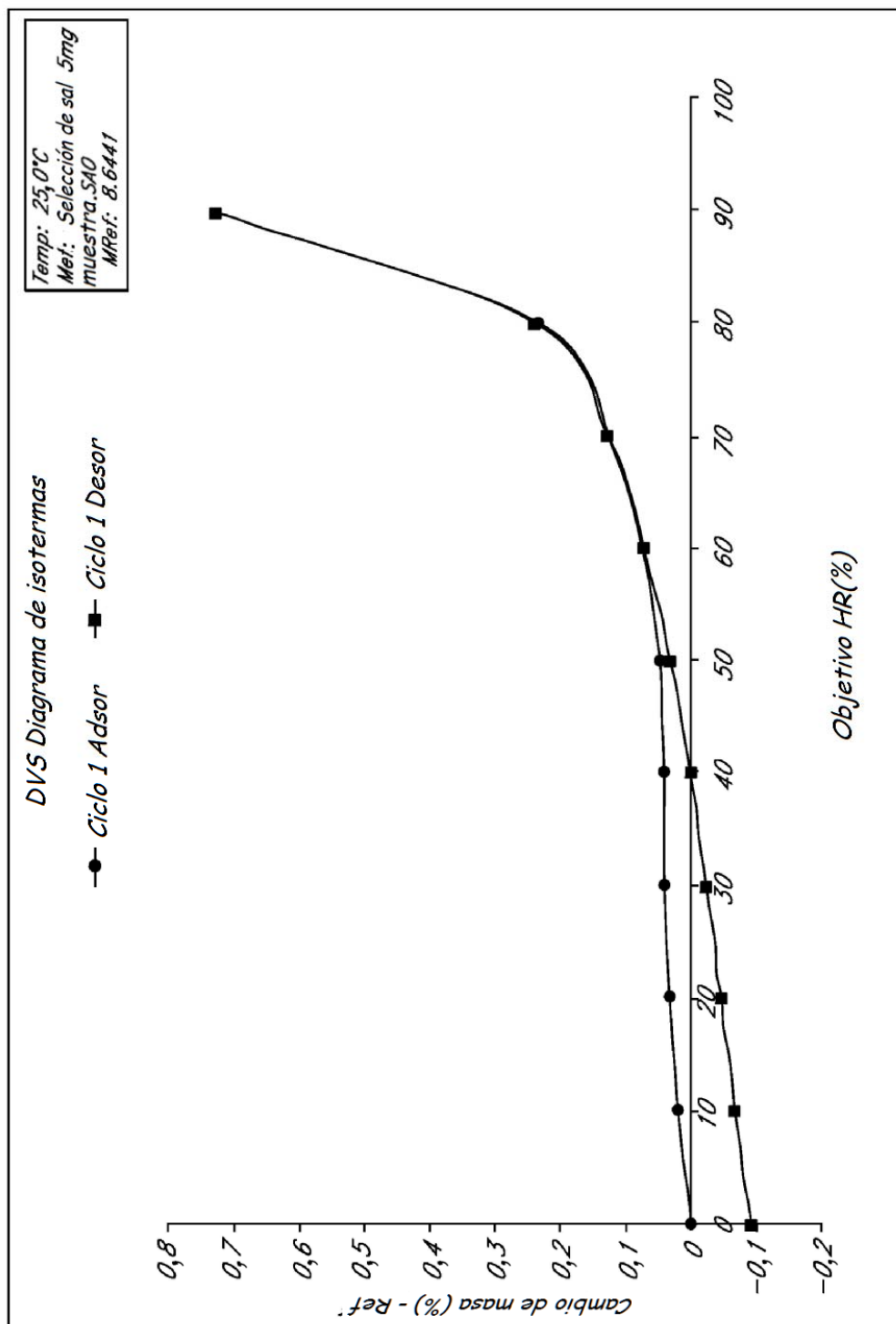
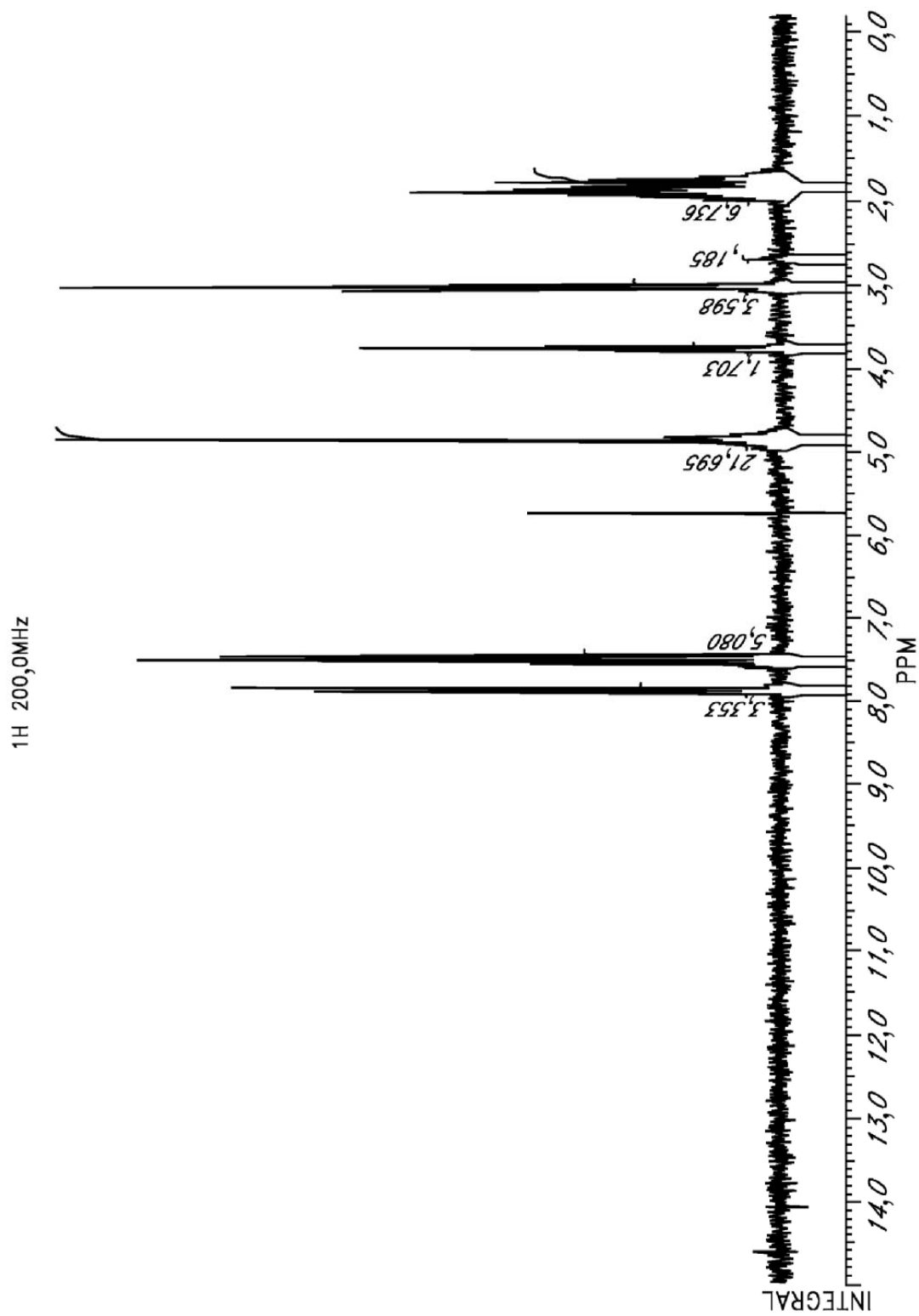


FIG. 19 Espectro de resonancia magnética ^1H obtenido de la Forma V



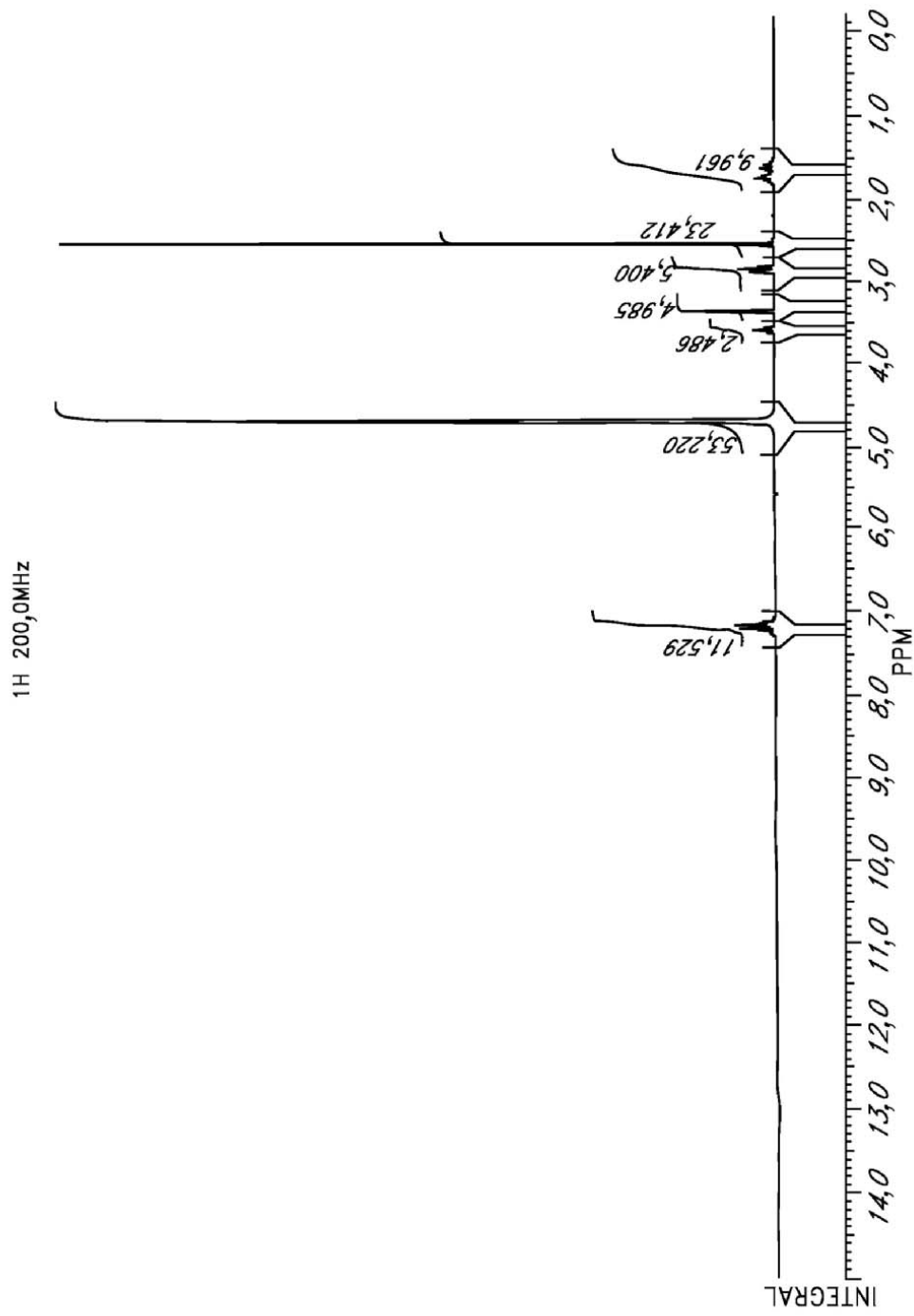
Resultados de adsorción de vapor dinámico para la Forma V

FIG. 20



Espectro ^1H representativo de benzoato de L-ornitina

FIG. 21



Espectro ¹H de fenilacetato de L-ornitina

FIG. 22