

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2002.03.01	(73) Titular(es): ABBVIE INC. 1 NORTH WAUKEGAN ROAD NORTH CHICAGO, IL 60064 US GILEAD SCIENCES, INC. US
(30) Prioridade(s): 2001.03.01 US 272560 P 2001.08.02 US 309605 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2008.03.26	
(45) Data e BPI da concessão: 2015.02.18 120/2015	(72) Inventor(es): YUERONG HU US KENNETH R. PHARES US DEVALINE LAW US
	(74) Mandatário: LUÍSA MARIA FERREIRA GUERREIRO RUA RAUL PROENÇA, 3 2820-478 CHARNECA DA CAPARICA PT

(54) Epígrafe: **FORMAS POLIMÓRFICAS E OUTRAS FORMAS CRISTALINAS DE CIS-FTC**

(57) Resumo:

SÃO PROPORCIONADAS FORMAS SÓLIDAS DO (-)-CIS-FTC, QUE SÃO AQUI DESIGNADAS COMO (-)-CIS-FTC AMORFO E FORMAS II E III (-)-CIS-FTC QUE PODEM SER DISTINGUIDAS DA FORMA I (-)-CIS-FTC ATRAVÉS DE PADRÕES DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE PÓS, PROPRIEDADES TÉRMICAS E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO. UMA FORMA CRISTALINA HIDRATADA DE ()-CIS-FTC (I. E. RACÉMICO DO CIS-FTC) E UMA FORMA DESIDRATADA DO HIDRATO SÃO TAMBÉM PROPORCIONADAS, E PODEM SER, DE FORMA SEMELHANTE, DISTINGUIDAS DE OUTRAS FORMAS DE FTC ATRAVÉS DE PADRÕES DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE PÓS, PROPRIEDADES TÉRMICAS E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO. ESTAS FORMAS DE FTC PODEM SER UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE OUTRAS FORMAS DE FTC OU EM COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS. SÃO PARTICULARMENTE PREFERIDAS UTILIZAÇÕES DESTAS FORMAS NO TRATAMENTO DO HIV OU DA HEPATITE B.

RESUMO

FORMAS POLIMÓRFICAS E OUTRAS FORMAS CRISTALINAS DE CIS-FTC

São proporcionadas formas sólidas do (-)-cis-FTC, que são aqui designadas como (-)-cis-FTC amorfo e Formas II e III (-)-cis-FTC que podem ser distinguidas da Forma I (-)-cis-FTC através de padrões de difração de raios X de pós, propriedades térmicas e métodos de preparação. Uma forma cristalina hidratada de (\pm)-cis-FTC (*i. e.* racémico do cis-FTC) e uma forma desidratada do hidrato são também proporcionadas, e podem ser, de forma semelhante, distinguidas de outras formas de FTC através de padrões de difração de raios X de pós, propriedades térmicas e métodos de preparação. Estas formas de FTC podem ser utilizadas na produção de outras formas de FTC ou em composições farmacêuticas. São particularmente preferidas utilizações destas formas no tratamento do HIV ou da hepatite B.

DESCRIÇÃO

FORMAS POLIMÓRFICAS E OUTRAS FORMAS CRISTALINAS DE CIS-FTC

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a formas polimórficas de (-)-cis-FTC (4-amino-5-fluoro-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolan-5-il)-2(1H)-pirimidinona.

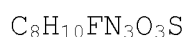
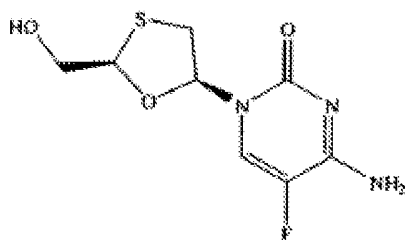
ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O sucesso de vários nucleósidos sintéticos tais como AZT, D4T, DDI e DDC em inibir a replicação do HIV *in vivo* ou *in vitro* levou os investigadores no final dos anos 80 a projetar e testar nucleósidos que substituíssem um heteroátomo pelo átomo de carbono na posição 3' do nucleósido. Norbeck, *et al.*, mostraram que a (±)-1-[cis-(2,4)-2-(hidroximetil)-4-dioxolanil]timina (referida como (±)-dioxolano-T) apresenta uma modesta atividade contra o HIV (EC₅₀ de 20 µM em células ATH8) e não é tóxico para células de controlo não infetadas a uma concentração de 200 µM. Tetrahedron Letters 30 (46), 6246, (1989). O Pedido de Publicação de Patente Europeia 337713 e a Patente US 5041449, atribuídos à BioChem Pharma, Inc., divulgam racémicos de 1,3-dioxolanos-2-substituído-4-substituído que exibem atividade antiviral. Os pedidos PCT publicados com os números PCT US91/09124 e PCT US93/08044 divulgam nucleósidos de β-D-1,3-dioxolanilo isolados para o tratamento da infeção por HIV. O documento WO 94/09793 divulga a utilização de nucleósidos de β-D-1,3-dioxolanilo isolados para o tratamento da infeção por HBV.

A Patente US 5047407 e o Pedido de Publicação de Patente Europeia 0382526, também atribuídos à BioChem Pharma, Inc., divulgam que um número de nucleósidos racémicos de 1,3-

oxatiolano-2-substituído-5-substituído apresentam atividade antiviral e, especificamente, anunciam que a mistura racêmica de 2-hidroximetil-5-(citosin-1-il)-1,3-oxatiolano (referida abaixo como BCH-189) apresenta, aproximadamente, a mesma atividade contra o HIV que o AZT, com menor toxicidade. O enantiômero (-)- da BCH-189 (Patente US 5539116 de Liotta, et al.), conhecido como 3TC, é agora vendido, comercialmente, nos Estados Unidos para o tratamento do HIV em humanos. Ver também o documento EP 513200 B1.

Foi também divulgado que a (2R-cis)(-)-(cis)-FTC(4-amino-5-fluoro-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolan-5-il)-2(1H)pirimidinona ou o β -L-2- hidroximetil-5-(5-fluorocitosin-1-il)-1,3-oxatiolano) apresentam poderosa atividade HIV. Ver Schinazi, et al., "Selective Inhibition of Human Immunodeficiency viruses by Racemates and Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-Oxathiolane-5-yl] Cytosine" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Novembro de 1992, páginas 2423-2431. Ver também as Patentes US 5814639; 5914331; 5210085; Patente US 5204466, documentos WO 91/11186, e WO 92/14743. A estrutura química do (-)-cis-FTC é apresentada abaixo:

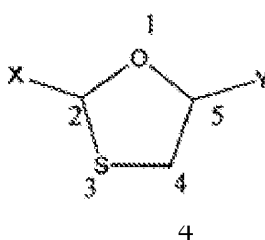


Peso Molecular: 247,25

Devido à importância comercial dos nucleósidos de 1,3-oxatiolano, tal como FTC, um número de processos para a sua

produção foi descrito em patentes e literatura científica. Os substituintes nos carbonos quirais (a purina especificada ou base pirimidina (referida como o substituinte C5)) e CH₂OH (referido como o substituinte C2) de nucleósidos de 1,3-oxatiolano podem ser tanto *cis* (do mesmo lado) como *trans* (em lados opostos) em relação aos sistemas de anéis oxatiolano. Ambos os racematos *cis* e *trans* consistem num par de isómeros óticos. Portanto, cada composto apresenta quatro isómeros óticos individuais. Os quatro isómeros óticos são representados pelas seguintes configurações (quando a unidade de oxatiolano é orientada num plano horizontal tal que a unidade -S-CH₂- esteja para trás): (1) *cis* (também referida como β), com ambos os grupos "para cima", a qual corresponde à ocorrência natural da configuração *L-cis*; (2) *cis*, com ambos os grupos "para baixo", a qual corresponde à ocorrência não natural da configuração β -*cis*; (3) *trans* (também referida como a configuração α) com o substituinte C2 "para cima" e o substituinte C5 "para baixo"; e (4) *trans* com o substituinte C2 "para baixo" e o substituinte C5 "para cima". Os dois enantiómeros *cis* em conjunto são referidos como uma mistura racémica de β -enantiómeros, e os dois enantiómeros *trans* são referidos como uma mistura racémica de α -enantiómeros. Em geral, é razoavelmente normal ser capaz de separar o par de isómeros óticos *cis*-racémicos do par de isómeros óticos *trans*-racémicos. É um desafio significativamente mais difícil separar ou obter de outra forma os enantiómeros individuais da configuração *cis*. Para o 3TC e FTC, a configuração estereoquímica desejada é o β -L-isómero.

O esquema de numeração para o anel 1,3-oxatiolano no FTC é dado abaixo.



Vias para condensar o anel 1,3-oxatiolano com uma base protegida

A Patente US 5204466 divulga um método para condensar um 1,3-oxatiolano com uma base pirimidina protegida utilizando cloreto de estanho como um ácido de Lewis, o qual proporciona uma β -estereosseletividade virtualmente completa. Ver também Choi, *et al.*, "In Situ Complexation Directs the Stereochemistry of N-Glycosylation in the synthesis of Oxathiolanyl and Dioxolanyl Nucleoside Analogues," *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 213, 9377-9379. A utilização de cloreto de estanho origina resíduos indesejáveis e produtos secundários durante a reação que são difíceis de remover.

Um número de patentes US divulga um processo para a preparação de nucleósidos de 1,3-oxatiolano através da condensação de um intermediário 1,3-oxatiolano que tem um éster quiral na posição 2 do anel, com uma base protegida na presença de um ácido de Lewis à base de silício. O éster na posição 2 deve então ser reduzido ao correspondente grupo hidroximetilo para fornecer o produto final. Ver as Patentes US 5663320; 5864164; 5693787; 5696254; 5744596; e 5756706.

A Patente US 5763606 divulga um processo para produzir, predominantemente, nucleósidos de 1,3-oxatiolano de ácido *cis*-2-carboxílico ou tiocarboxílico que inclui ligar, previamente, uma purina sililada ou uma base pirimidina desejável com um intermediário bicíclico na presença de um ácido de Lewis. A Patente US 5272151 descreve um processo para a preparação de nucleósidos de 1,3-dioxolano que inclui reagir um 1,3-dioxolano-5-O-acilado-2-O-protegido com uma base pirimidina ou purina protegida com oxigénio ou azoto na presença de um catalisador de titânio.

Choi, *et al.*, "In Situ Complexation Directs the Stereochemistry

of N-Glycosylation in the synthesis of Oxathiolanyl and Dioxolanyl Nucleoside Analogues," *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 9377-9379, relata que não ocorre nenhuma ligação do 1,3-oxatiolano com uma base pirimidina protegida com HgCl_2 , Et_2AlCl , ou $\text{TiCl}_2(\text{O-isopropil})_2$ (ver nota de rodapé 2). Choi também relata que a reação entre acetatos de 1,3-oxatiolano anoméricos e a citosina siliada e virtualmente qualquer ácido de Lewis comum, diferente do cloreto de estanho, resulta na formação de misturas inseparáveis de anômeros N-glicosilados.

A Patente US 5922867 divulga um método para preparar um nucleósido de dioxolano que inclui a glicosilação de uma base purina ou pirimidina com um oximetil-4-halo-1,3-dioxolano, 2-protégido.

As Patentes US 5914331, 5700937, 5827727, e 5892025, entre outras, de Liotta et al., descrevem a ligação de 1,3-oxatiolanos, ali divulgados, com 5-fluorocitosina siliada na presença de SnCl_4 para formar o isómero $\beta(-)$ do FTC; e, opcionalmente, remover os grupos protectores.

Vias para produzir o nucleósido de 1,3-oxatiolano na estereoconfiguração desejada

Métodos específicos para preparar FTC na estereoconfiguração desejada, numa forma substancialmente pura, são descritas nas Patentes US 5914331, 5700.937, 5827727, e 5892025 entre outras, de Liotta et al. Numa forma de realização preferida, o grupo C5'-hidroxilo de uma mistura de racematos de nucleósidos reage com um composto acilo para formar C5'-ésteres, nos quais o nucleósido está na extremidade "carbinol" do éster. O enantiómero desejado pode ser isolado por tratamento da mistura racémica com uma enzima que hidrolise o enantiómero desejado

(seguida por extracção do hidrolisado polar com um solvente polar) ou por tratamento com uma enzima que hidrolise o enantiómero indesejado (seguida por remoção do enantiómero indesejado com um solvente polar). Enzimas que catalisam a hidrólise dos nucleósidos de 1,3-oxatiolanopirimidina incluem esterase de fígado de porco, lipase pancreática suína, lipase Amano PS-800, subtilisina, e α -quimotripsina.

A citidina-desoxicitidina desaminase pode ser utilizada para separar misturas racémicas de 2-hidroximetil-5-(citosin-1-il)-1,3-oxatiolano e seus derivados, incluindo 2- hidroximetil-5-(5-fluoro-citosin-1-il)-1,3-oxatiolano. A enzima catalisa a desaminação da unidade de citosina a uma uridina. Um dos enantiómeros dos nucleósidos de 1,3-oxatiolano é um substracto preferido para a citidina-desoxicitidina desaminase. O enantiómero que não é convertido numa uridina (e consequentemente ainda é básico) é extraído da solução com uma solução ácida. A citidina-desoxicitidina desaminase pode ser isolada de fígado de rato ou fígado humano, ou expressa a partir de sequências recombinantes num sistema procariótico, tal como *E. coli*.

A cromatografia quiral também pode ser utilizada para separar enantiómeros cis-FTC. Por exemplo, a Patente US 5892025 de Liotta et al., divulga um método para separar uma combinação dos enantiómeros de cis-FTC passando o cis-FTC através de uma coluna quiral de β -ciclodextrina acetilada.

Caracterização Polimórfica

A capacidade de um composto existir em diferentes estruturas cristalinas é conhecida como polimorfismo. Estas diferentes formas cristalinas são conhecidas como "modificações polimórficas" ou "polimorfos". Embora os polimorfos tenham a

mesma composição química, eles diferem no empacotamento e arranjo geométrico, e apresentam diferentes propriedades físicas tais como, ponto de fusão, forma, cor, densidade, dureza, deformidade, estabilidade, dissolução e outras. Dependendo das suas relações temperatura-estabilidade, dois polimorfos podem ser monotrópicos ou enantiotrópicos. Para um sistema monotrópico, a estabilidade relativa entre as duas fases sólidas permanece invariável à medida que a temperatura varia. Pelo contrário, num sistema enantiotrópico existe uma temperatura de transição à qual a estabilidade das duas fases inverte. (Teoria e Origem do Polimorfismo em "Polymorphism in Pharmaceutical Solids" (1999) ISBN: 0-8247-0237).

Um número de compostos foi descrito como apresentando polimorfismo. Como um primeiro exemplo, Gordon *et al.*, na Pat. US 4476248, divulgaram e reivindicaram uma nova forma cristalina do fármaco ibuprofeno bem como um processo de o produzir. A nova forma cristalina foi apresentada para melhorar a produção do ibuprofeno. Uma estrutura mais intimamente relacionada com o FCT, 3TC ((-)-cis-4-amino-1-(2-hidroximetil-1,3-oxatiolan-5-il)-(1H)-pirimidina-2-ona; lamivudina), é também apresentada como existindo em mais do que uma forma cristalina. Jozwiakowski, M.J., Nguyen, N.T., Sisco, J.M., Spancake, C.W. "Solubility Behavior of Lamivudine Crystal Forms in Recrystallization Solvents", *J. Pharm. Sci.*, 85, 2, p. 193-199 (1996). Ver também Pat. US 5905082 de Roberts *et al.*, intitulada "Crystalline Oxathiolane Derivatives," publicada em 18 de Maio de 1999, e o seu PCT equivalente PCT/EP92/01213, descrevendo duas formas polimórficas de 3TC. Roberts *et al.*, revelam que um polimorfo é obtido quando 3TC é cristalizado a partir de uma solução aquosa. Um segundo polimorfo é obtido quando 3TC é cristalizado a partir de meios não aquosos, ou quando a primeira forma é fundida e deixada arrefecer, ou quando a primeira forma é triturada ou moída. Ambas as formas poliméricas apresentam

bandas únicas de absorção, temperaturas de fusão e energias cristalinas.

O (-)-cis-FTC produzido pelos métodos acima descritos apresenta uma forma cristalina distinta, referida aqui como Forma I (-)-cis-FTC. As posições angulares (dois teta) dos picos característicos de um espectro de difração de raios X de pós da Forma I (-)-cis-FTC, apresentadas na Figura 7, são: $14,1^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $19,9^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $20,2^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $20,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,0^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $22,4^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $28,5^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $29,5^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, e $32,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$.

Adicionalmente, polimorfos e outras formas cristalinas de FTC podem ter valor comercial na produção ou outras aplicações. É portanto um objetivo da presente invenção proporcionar novas formas polimórficas e outras formas cristalinas de FTC.

É um outro objetivo proporcionar novos métodos para a preparação e isolamento de formas polimórficas e outras formas cristalinas de FTC.

É ainda um outro objetivo da invenção proporcionar utilizações terapêuticas dos polimorfos FTC e outras fases de FTC.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a uma forma polimórfica de (-)-cis-FTC caracterizada por uma transição de estado sólido a $96-112^{\circ}\text{C}$.

A presente invenção é definida na reivindicação independente em anexo. Subformas de realização da presente invenção estão definidas nas reivindicações dependentes anexas.

São fornecidas fases sólidas de (-)-cis-FTC, que são designadas aqui como um amorfo (-)-FTC e Formas II e III (-)-cis-FTC) que

podem ser distinguidas a partir da Forma I (-)-cis-FTC por padrões de difração de raios X em pó, propriedades térmicas, e métodos de fabrico. A forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC (ou seja cis-FTC racémico), e uma forma desidratada do hidrato, são também fornecidas, e da mesma forma podem ser distinguidas de outras formas de cis-FTC através de padrões de difração de raios-X de pó, propriedades térmicas, e métodos de fabrico. Estas formas de FTC podem ser utilizadas no fabrico de outras formas de FTC, ou em composições farmacêuticas. Utilizações particularmente preferidas destas formas são no tratamento do HIV ou da hepatite B.

A Forma II (-)-cis-FTC pode ser obtida fundindo a Forma I (-)-cis-FTC e deixando o fundido recrystalizar a uma temperatura próxima do ponto de fusão da Forma I. A Forma III (-)-cis-FTC pode ser obtida arrefecendo a Forma II (-)-cis-FTC abaixo da temperatura de transição termodinâmica das formas II e III. O (-)-cis-FTC amorfo pode ser obtido arrefecendo rapidamente o líquido (-)-cis-FTC. A forma cristalina hidratada do (±)-cis-FTC é um sesqui-hidrato, e pode ser obtida dissolvendo o (±)-cis-FTC em água e recrystalizando o FTC. A forma desidratada do sesqui-hidrato pode ser obtida removendo as águas de hidratação do sesqui-hidrato.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A FIGURA 1 é um termograma típico de DSC ("calorimetria diferencial de varrimento") da Forma I (-)-cis-FTC, com uma endotérmica a 151°C, obtida por aquecimento a uma velocidade de 10°C/min.

A FIGURA 2 é um termograma de DSC da Forma I (-)-cis-FTC obtido por aquecimento a 1°C/min.

A FIGURA 3 é um termograma de DSC da Forma I (-)-cis-FTC obtido por aquecimento a 2°C/min.

A FIGURA 4 é um termograma de DSC da Forma I (-)-cis-FTC obtido por aquecimento a 5°C/min.

A FIGURA 5 é um termograma de DSC das Formas II e III (-)-cis-FTC.

A FIGURA 6 é um termograma de DSC mostrando que a transição da Forma II para III é reversível.

A FIGURA 7 é um padrão de PXRD ("Difração de Raios X de pós) da Forma I (-)-cis-FTC.

A FIGURA 8 é um padrão de PXRD da Forma II (-)-cis-FTC.

A FIGURA 9 é um padrão de PXRD da Forma III (-)-cis-FTC.

A FIGURA 10 é um padrão de PXRD do (±)-cis-FTC sesqui-hidrato.

A FIGURA 11 é um padrão de PXRD de uma forma desidratada do racêmico cis-FTC sesqui-hidrato.

A FIGURA 12 é um termograma de DSC do (±)-cis-FTC sesqui-hidrato e (-)-cis-FTC.

A FIGURA 13 é um varrimento de TGA ("análise termogravimétrica") do sesqui-hidrato de (±)-cis-FTC.

A FIGURA 14 é uma relação energia livre - temperatura para três polimorfos de (-)-cis-FTC (Formas I, II, e III). As fases estáveis são representadas por uma linha a cheio e as fases metastáveis por uma linha tracejada.

A FIGURA 15 é um termograma de DSC do amorfo (-)-cis-FTC obtido através de fusão e congelação de uma amostra cristalina de (-)-cis-FTC. A velocidade final de aquecimento foi de 10 °C/min.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Duas novas formas poliméricas de (-)-cis-FTC, a fase amorfa de (-)-cis-FTC, uma nova forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC, e uma forma desidratada do hidrato de (±)-cis-FTC são fornecidas em composições farmacêuticas. As diferentes formas podem ser distinguidas de outras fases de (-)-cis-FTC e (±)-cis-FTC através de padrões de difração de raios X, propriedades térmicas, e os métodos pelos quais são produzidas. Estas formas de FTC juntamente com a fase amorfa podem ser utilizadas como intermediários na produção de FCT, ou podem ser formuladas em composições farmacêuticas, como na presente invenção, e utilizadas para o tratamento do HIV ou da hepatite B.

As duas formas polimórficas de (-)-cis-FTC utilizadas nesta invenção são designadas por Formas II e III (-)-cis-FTC, e são caracterizadas através dos padrões de difração de raios X de pós das Figuras 8 e 9. Estas formas devem ser contrastadas com a Forma I (-)-cis-FTC, que é a forma polimórfica do (-)-cis-FTC preparada pelos métodos descritos na secção anterior deste documento. A Forma I (-)-cis-FTC pode ser caracterizada através do padrão de difração de raios X de pós apresentado na Figura 7, ou através dos picos nos ângulos de difração apresentados na secção anterior deste documento.

A forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC é caracterizada através dos padrões de difração de raios X de pós da Figura 10. Esta forma deve ser comparada com o (±)-cis-FTC produzido na técnica anterior. As propriedades térmicas das várias formas

estão sumariadas na tabela abaixo:

Tipo de transição $T_{\text{transição}}^{\text{fase}}$	Temperatura aproximada (°C)	Gama de Temperatura (°C)
T_m^I	151	148-153
T_m^{II}	166	162-167
T_m^{III}	Não observada nesta investigação	Não observada
T_g^{amorfo}	67	+/- 3°C a 10°C/min velocidade de aquecimento
$T_t^{I,II}$	130 (calculado)	N/A
$T_t^{II,III}$	102	96-112
T_d^{hidrato}	>30	—
T_m^{racemato}	190	185-192

Assim, a invenção proporciona:

- dois polimorfos e uma fase amorfa de (-)-cis-FTC, como caracterizado por análise de difração de raios X de pó, propriedades físicas e métodos de fabrico;
- uma forma cristalina hidratada de (±)-cis-FTC, e a forma desidratada de (±)-cis-FTC hidrato, tal como caracterizado por análise de difração de raios X de pó, propriedades físicas e métodos de fabrico;
- processos para a preparação de fases de (-)-cis-FTC e formas cristalinas de (±)-cis-FTC;
- composições terapêuticas e/ou farmacêuticas das fases de (-)-cis-FTC e formas cristalinas de (±)-cis-FTC, opcionalmente na presença de um transportador farmacêuticamente aceitável; e
- novas utilizações terapêuticas para as fases de (-)-cis-FTC e formas cristalinas de (±)-cis-FTC, especialmente no tratamento de doenças virais, tais como HIV e hepatite B.

Forma II (-)-cis-FTC

A Forma II (-)-cis-FTC é observada quando a Forma (-)-cis-FTC é fundida e deixada recristalizar. Como todos os polimorfos, a Forma II pode ser caracterizada pelo padrão de difração de pós que ela apresenta quando submetida a cristalografia de raios X de pós. As posições angulares (dois teta) dos picos característicos do padrão de difração de raios X de pós da Forma II (-)-cis-FTC, apresentados na FIG.8, são: $14,7^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $16,7^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $19,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,1^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,8^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $24,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, e $25,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$.

A Forma II (-)-cis-FTC também pode ser caracterizada pela sua temperatura de fusão e/ou calor de fusão. A Forma II (-)-cis-FTC tem uma temperatura de fusão de cerca de 166°C à pressão atmosférica e, tipicamente, apresenta um calor de fusão na gama de cerca de 15-19 kJ/mol. É sabido que o calor de fusão pode variar dependendo das condições experimentais.

Alternativamente, a Forma II (-)-cis-FTC pode ser caracterizada pelo seu comportamento enantiotrópico e pelo método pelo qual ela é produzida. A Forma II (-)-cis-FTC é enantiotrópica com as Formas polimórficas I e III do (-)-cis-FTC, no sentido em que existe uma temperatura de transição abaixo e acima da qual a ordem de estabilidade é invertida. Devido a este comportamento enantiotrópico, a Forma II (-)-cis-FTC pode ser preparada a partir tanto da Forma I (-)-cis-FTC como da Forma III (-)-cis-FTC. Nos exemplos apresentados neste documento, a Forma II (-)-cis-FTC foi obtida:

(1) Por aquecimento de (-)-cis-FTC (Forma I) acima da sua temperatura de fusão (cerca de 151°C para a Forma I), e mantendo-a a essa temperatura elevada. Sobre arrefecimento

lento, o (-)-cis-FTC fundido é recristalizado na Forma II, e assumida a forma cristalina da Forma II, a temperaturas superiores à temperatura de transição termodinâmica entre as Formas II e III.

(2) Aquecendo a Forma III (-)-cis-FTC acima da temperatura termodinâmica de transição para as Formas II e III, que varia de cerca de 96°C a cerca de 112°C (porque a Forma II é enantiotrópica com a Forma III (-)-cis-FTC).

Assim, pode ser obtida a Forma II (-)-cis-FTC quando a Forma I (-)-cis-FTC é fundida e a temperatura da fusão é mantida abaixo da temperatura de fusão da Forma II mas superior à temperatura termodinâmica de transição entre as Formas II e III. Particularmente, não é observada uma transição semelhante a partir da Forma II quando a Forma II é aquecida acima do seu ponto de fusão (cerca de 166 °C) e deixada arrefecer lentamente. De um modo preferido, a Forma II recristaliza, simplesmente, na Forma II. Contudo, a Forma II não deve cristalizar a partir da mesma fusão se ela foi arrefecida bruscamente; de um modo preferido, deve resultar uma fase amorfa.

Portanto, numa forma de realização a invenção proporciona a Forma II (-)-cis-FTC, de preferência numa forma substancialmente pura, como caracterizada por qualquer um dos métodos anteriores. Numa outra forma de realização a invenção proporciona a Forma II (-)-cis-FTC, substancialmente na ausência da Forma I (-)-cis-FTC. Em ainda outra forma de realização a invenção proporciona a Forma II (-)-cis-FTC, substancialmente na ausência da Forma III (-)-cis-FTC. A invenção também proporciona uma composição farmacêutica que compreende a Forma II (-)-cis-FTC, que compreende ainda um transportador farmacêuticamente aceitável.

Forma III (-)-cis-FTC

Dado que a Forma II (-)-cis-FTC sofre uma transição de estado sólido para a Forma III (-)-cis-FTC, esta forma é obtida a partir da Forma D (-)-cis-FTC quando a temperatura da Forma II (-)-cis-FTC desce abaixo da temperatura de transição, a qual varia de cerca de 96°C a cerca de 112°C. A Forma III (-)-cis-FTC é um outro polimorfo do (-)-cis-FTC, e pode ser caracterizado através do padrão de difração de pós que ele apresenta quando submetido a cristalografia de raios X de pós. As posições angulares (dois teta) dos picos característicos do padrão de difração de raios X de pós da Forma III (-)-cis-FTC, apresentado na FIG. 9, são: 14,5° ± 0,1°, 16,7° ± 0,1°, 19,6° ± 0,1°, 20,4° ± 0,1°, 21,4° ± 0,1°, 21,7° ± 0,1°, 25,2° ± 0,1°, e 26,2° ± 0,1°.

A Forma III (-)-cis-FTC também pode ser caracterizada pelos métodos da sua produção. Dado o comportamento das Formas III enantiotrópicas com a Forma II, a Forma III (-)-cis-FTC pode ser preparada a partir da Forma II (-)-cis-FTC arrefecendo a Forma II (-)-cis-FTC abaixo da temperatura de transição do estado sólido para as Formas II e III, e provocando assim uma transição de estado sólido a partir da Forma II (-)-cis-FTC. Claro, a Forma III (-)-cis-FTC também pode ser preparada diretamente a partir da Forma I (-)-cis-FTC, com a Forma II como um intermediário, fundindo a Forma I e arrefecendo lentamente o fundido abaixo da temperatura de transição do estado sólido para as Formas II e III. Devido a esta estabilidade abaixo da sua temperatura de transição de estado sólido, a Forma III (-)-cis-FTC também pode ser caracterizada pela gama de temperatura acima da qual ela apresenta uma transição de estado sólido, mas é caracterizada, de uma forma preferida, na parte inferior desta gama (*i. e.* cerca de 96°C à pressão atmosférica).

Portanto, numa forma de realização a invenção proporciona a Forma III (-)-cis-FTC, de preferência numa forma substancialmente pura. Numa outra forma de realização a invenção proporciona a Forma III (-)-cis-FTC, substancialmente na ausência da Forma I (-)-cis-FTC. Numa outra forma de realização a invenção proporciona a Forma III (-)-cis-FTC, substancialmente na ausência da Forma II (-)-cis-FTC. A invenção também proporciona uma composição farmacêutica que compreende a Forma III -(-)cis-FTC, que compreende ainda um transportador farmaceuticamente aceitável.

(±)-cis-FTC sesqui-hidrato

O (±)-cis-FTC sesqui-hidrato é uma forma cristalina do racêmico cis-FTC que é obtido quando o (±)-cis-FTC é dissolvido em água e recristalizado. Particularmente, o hidrato apenas resulta do racemato do cis-FTC, e não resulta do (-)-cis-FTC puro. O (±)-cis-FTC sesqui-hidrato pode ser caracterizado através do padrão de difração de pós que ele apresenta quando submetido a cristalografia de raios X de pós. As posições angulares (dois teta) dos picos característicos no espectro de difração de raios X de pós do (±)-cis-FTC sesqui-hidrato, apresentado na FIG. 10, são: $11,5^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $13,4^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $19,1^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $20,3^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $20,8^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,5^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $21,9^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, e $30,9^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$.

As análises de TGA confirmam um sesqui-hidrato de (±)-cis-FTC. O sesqui-hidrato começa a perder a sua água de hidratação, por evaporação, a cerca de 30°C , à pressão atmosférica.

O (±)-cis-FTC sesqui-hidrato pode também ser caracterizado por um dos métodos para a sua preparação. O (±)-cis-FTC sesqui-hidrato é, de uma forma preferida, preparado dissolvendo, simplesmente, o (±)-cis FTC em água, e recristalizando o FTC

dissolvido a uma forma cristalina hidratada. Durante a dissolução pode ser utilizado aquecimento para aumentar a quantidade de FTC que é dissolvido. O (\pm)-FTC pode estar presente numa mistura racêmica pura do cis-FTC, ou como uma impureza de uma composição que compreende principalmente (+)-cis-FTC ou (-)-cis-FTC. Quando presente como uma impureza, o (\pm)-FTC compreende, de uma forma preferida, pelo menos, cerca de 4% em peso da composição de (+)-cis-FTC ou (-)-cis-FTC (*i. e.* se presente como uma impureza de (-)-cis-FTC, o FTC compreende, de uma forma preferida, pelo menos 2% em peso do enantiómero (+), e, se presente como uma impureza de (+)-cis-FTC, o FTC compreende, de uma forma preferida, pelo menos 2% em peso do enantiómero (-)).

Um termograma de DSC do (\pm)-cis-FTC é apresentado na Figura 12. O FTC recristalizado é um sesqui-hidrato, como mostrado por análises de DSC, TGA, e PXRD.

Portanto, a presente invenção proporciona (\pm)-cis-FTC sesqui-hidrato, de preferência numa forma substancialmente pura. A divulgação também fornece (\pm)-cis-FTC sesqui-hidrato, substancialmente na ausência da Forma I (-)-cis-FTC, ou substancialmente na ausência de outras formas cristalinas hidratadas e desidratados de racêmicos cis-FTC, (-)-cis-FTC, ou (+)-cis-FTC. É também proporcionada na presente descrição uma composição farmacêutica que compreende (\pm)-cis-FTC sesqui-hidrato, que compreende ainda um transportador farmaceuticamente aceitável.

Durante a evaporação das águas de hidratação do (\pm)-cis-FTC sesqui-hidrato, forma-se uma forma cristalina desidratada do racémico cis-FTC. O racémico cis-FTC assim obtido pode ser caracterizado através do padrão de difração de pós que ele apresenta quando submetido a cristalografia de raios X de pós.

As posições angulares (dois teta) dos picos característicos no espectro de difração de raios X do racémico cis-FTC desidratado, apresentado na FIG. 11, são: $12,3^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $14,0^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $20,7^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $22,6^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, $23,3^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$, e $25,5^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$. O racémico cis-FTC desidratado apresenta uma temperatura de fusão de cerca de 190°C , à pressão atmosférica, e um calor de fusão de cerca de 23 kJ/mol .

O termograma de DSC na Figura 12 é do (\pm) -cis-FTC sesquihidrato. Como confirmado por análise de TGA, a grande endotérmica a cerca de 80°C resultou do (\pm) -cis-FTC sesquihidrato perdendo a sua água de hidratação. A segunda endotérmica a 190°C representa a fusão do racémico cis-FTC desidratado.

Assim, a invenção proporciona (\pm) -cis-FTC desidratado. A divulgação também fornece (\pm) -cis-FTC desidratado substancialmente na ausência da Forma I $(-)$ -cis-FTC, ou substancialmente na ausência de outras formas cristalinas hidratadas e desidratadas de cis-FTC racêmicas, $(-)$ -cis-FTC, ou $(+)$ -cis-FTC. Também é fornecida uma composição farmacêutica que compreende (\pm) -cis-FTC desidratado, que compreende ainda um transportador farmaceuticamente aceitável.

(\pm) -cis-FTC amorfo

Uma forma amorfa do $(-)$ -cis-FTC é obtida quando o $(-)$ -cis-FTC fundido é arrefecido rapidamente abaixo de cerca de 40 ou 50°C , não passando assim, por qualquer transição para as Formas II ou III $(-)$ -cis-FTC. Um termograma de DSC do $(-)$ -cis-FTC amorfo é apresentado na Figura 15, o qual mostra que a temperatura de transição vítrea para esta fase é de 67°C .

Por conseguinte, a invenção também proporciona $(-)$ -cis-FTC

amorfo, de preferência numa forma substancialmente pura. A divulgação também fornece (-)-cis-FTC amorfo substancialmente na ausência das Formas I, II e/ou III (-)- cis-FTC. Também é fornecida uma composição farmacêutica que compreende (-)-cis-FTC amorfo, que compreende ainda um transportador farmacêuticamente aceitável.

Definições

Como utilizado aqui, o termo "substancialmente pura", quando utilizado em relação a uma fase ou forma cristalina de FTC, refere-se a uma fase ou forma cristalina de FTC que é mais do que cerca de 95% pura. Isto significa que a forma polimórfica ou hidratada do FTC não contém mais do que cerca de 5% de qualquer outro composto e, numa forma de realização, não contém mais do que cerca de 5% de quaisquer outras fases ou formas cristalinas de FTC (quer racémica, (-), (+), cis, ou trans). Noutras formas de realização, o termo "substancialmente pura" refere-se a uma fase ou forma cristalina de FTC que é mais do que cerca de 96% pura. Ainda numa outra forma de realização o termo "substancialmente pura" refere-se a uma fase ou forma cristalina de FTC que é mais do que cerca de 97% ou 99% pura.

De um modo semelhante, o termo "substancialmente na ausência de um segundo componente", quando utilizado em relação a uma fase ou forma cristalina de FTC, refere-se a uma fase ou forma cristalina de FTC que não contém mais do que cerca de 5% do segundo componente. De uma forma mais preferida, o termo "substancialmente na ausência de um segundo componente" refere-se a uma fase ou forma cristalina de FTC que não contém mais do que cerca de 4% do segundo componente e, de uma forma ainda mais preferida, não mais do que cerca de 3% ou 1% do segundo componente.

As posições de picos padrão característicos da difração de raios X de pós são apresentadas para formas cristalinas em termos das posições angulares (dois teta) dentro de uma variação aceitável de mais ou menos $0,1^\circ$. Esta variação aceitável é especificada na Farmacopeia U.S., páginas 1843-1844 (1995). A variação de mais ou menos $0,1^\circ$ é desejável que seja utilizada quando se comparam dois padrões de difração de raios X de pós. Na prática, se a um pico padrão de difração de um padrão é atribuída uma gama de posições angulares (dois teta) que é uma medida da posição do pico mais ou menos $0,1^\circ$ e um pico padrão de difração do outro padrão é atribuído a uma gama de posições angulares (dois teta) que é a medida da posição do pico mais ou menos $0,1^\circ$ e se aquelas gamas de posições de picos se sobrepõem, então considera-se que os dois picos têm a mesma posição angular (dois teta). Por exemplo, se é determinado que um pico padrão de difração de um padrão tem uma posição do pico de $5,20^\circ$, para fins comparativos, a variação admissível permite que seja atribuída ao pico uma posição na gama de $5,10^\circ$ - $5,30^\circ$. Se um pico de comparação do outro padrão de difração é determinado como tendo uma posição do pico de $5,35^\circ$, para fins comparativos a variação admissível permite que seja atribuída ao pico uma posição na gama de $5,25^\circ$ - $5,45^\circ$. Por existir sobreposição entre as duas gamas de posições dos picos, ao serem comparados os dois picos são considerados como tendo a mesma posição angular (dois teta).

Ao longo desta descrição a palavra "compreendem", ou variações tais como "compreende" ou "compreendendo", serão entendidas como implicando a inclusão de um elemento estabelecido, totalidade ou parte, ou grupos de elementos, totalidade ou partes, mas não a exclusão de qualquer outro elemento, total ou parcial, ou grupo de elementos, totais ou parciais.

EXEMPLOS

Materiais e Métodos

O (-)-cis FTC, material de partida para todos os testes, exceto se for especificado de outra forma, foi obtido combinando e tratando dois conjuntos de (-)-cis-FTC como se segue. Um balão foi carregado com 1109 gramas de (-)-cis-FTC e 2750 mL de acetato de etilo. Esta mistura foi agitada à temperatura ambiente durante duas horas, filtrada e lavada com 550 mL de acetato de etilo. A massa filtrada foi seca num forno de vácuo durante a noite a 50°C e a cerca de 2 mm Hg. Todos os solventes eram de pureza HPLC e utilizados como recebidos. Uma análise HPLC do (-)-cis-FTC inicial indicava uma pureza de 98,8%.

Calorimetria de Varrimento Diferencial (DSC): As experiências de DSC foram realizadas utilizando um dos seguintes equipamentos:

Os estudos de DSC foram realizados utilizando um DSC 2920 da TA Instruments (com arrefecimento). Amostras de, aproximadamente, 5 mg foram colocadas em recipientes de alumínio fechados. A célula de DSC era purgada com azoto a 30 mL/min. A velocidade de aquecimento era de 10°C/min, exceto se de outra forma referido. As calibrações de temperatura e fluxo de aquecimento foram realizadas com um padrão de índio nas mesmas condições experimentais.

As medições DSC foram realizadas num Mettler DSC30, (Mettler Instruments, Highstown, NJ), equipado com um analisador de dados (STAR^e, Mettler Instrument). As amostras (cerca de 2-5 mg) foram seladas em recipientes padrão de alumínio de 40 µL com um único buraco perfurado na tampa. Um recipiente vazio do tipo do da amostra foi utilizado como referência. As amostras foram varridas de 1-10°C/min com uma purga de azoto seco a 50 mL/min.

O DSC foi calibrado para fluxo de aquecimento e temperatura.

Análise Termogravimétrica (TGA): Os estudos de TGA foram realizados num aparelho TGA 2950 da TA Instruments. Amostras de aproximadamente 5 mg foram colocadas em recipientes de platina abertos e a amostra foi exposta a uma velocidade de aquecimento de 10°C/min.

PXRD de Temperatura Variável: O difractor (XDS 2000, Scintag, Sunnyvale, CA) era composto por um gerador de 4 kW (voltagem 45 kV e corrente 40 mA) com um tubo anódico de Cu, um detector de Ge arrefecido com azoto líquido (GLP-10195/07-S, EG&G ORTEC, Oak Ridge, TN), analisador de dados (MicroVax 3100, Digital Equipment Corporation, Ontário, Canadá), patamar de aquecimento (Scintag) e controlador de temperatura (Microstar, Research Inc., Minneapolis, MN). As amostras foram colocadas num suporte de amostras numa camada fina, e varridas a uma velocidade de 1° por minuto sem movimento de rotação.

Microscopia de Placa Quente (HSM): Microscopia de luz polarizada foi realizada utilizando um microscópio Olympus BX60 equipado com uma placa quente Mettler-Toledo FP82HT. Uma camada fina de amostra foi colocada numa lâmina e aquecida a 10°C/min. Os resultados térmicos foram capturados através do software ImagePro®

Método de Recristalização: Cerca de 5 gramas de (-)-cis-FTC foram colocados num balão de fundo redondo e aquecidas numa gama de temperatura de 155 a 160°C durante 30 minutos com agitação. A amostra foi arrefecida no balão até à temperatura ambiente nas condições ambiente.

Equilíbrio de Solubilidade: Valores de equilíbrio de solubilidade foram obtidos utilizando um excesso de sólido num

balão de agitação tapado com uma rolha num banho de água com temperatura controlada a 25°C durante 52 horas. O material sólido residual foi identificado *postequilibrium* por microscopia de placa quente e PXRD. O sobrenadante foi filtrado através de filtros de membrana de 0,45 µm antes da diluição para análise por HPLC.

Moagem: O (-)-cis-FTC foi moído num moinho Fitzpatrick a alta velocidade (4000 RPM), esmagado seguindo para uma peneira com uma banda 000. O fármaco foi passado através do filtro uma vez e foi recolhido num saco de plástico.

Formação do Hidrato: Uma solução sobressaturada (0,5 g/mL) da Forma I foi preparada a 50°C. Esta solução foi depois arrefecida até à temperatura ambiente com agitação durante cerca de 2 horas. O precipitado sólido foi filtrado a vácuo e seco ao ar. Este sólido foi analisado por HPLC, DSC, PXRD e TGA. Estas análises revelaram que o sólido era um sesqui-hidrato de (±)-cis-FTC.

Cristalização: O (-)-cis-FTC foi dissolvido num dos seguintes solventes: metanol, acetato de etilo, água, tetra-hidrofurano, e acetona. Cada suspensão foi fervida durante cerca de 15 minutos e imediatamente filtrada através de um filtro de nylon de 0,45 µm. O sobrenadante foi agitado à temperatura ambiente até à cristalização. No ponto de cristalização, as suspensões foram filtradas para recolher a massa filtrada. A massa filtrada foi colocada num prato de vidro, coberta com uma toalha de papel livre de linho e colocada numa capota em condições ambiente durante 2 dias.

Exemplo 1: Caracterização por DSC das Formas I e II (-)-cis-FTC

Resultados térmicos da Forma I (-)-cis-FTC polimórfica foram observados a velocidades de aquecimento de 10, 1, 2, e 5 °C/min. Estes termogramas DSC são apresentados nas Figuras 1, 2, 3, e 4, respetivamente. Os tamanhos das amostras foram de 6,8400 mg, 5,290 mg, 5,0430 mg ou 5,1500 mg, respetivamente.

A endotérmica a 151°C corresponde à temperatura de fusão da Forma I (-)-cis-FTC. Esta endotérmica estava presente em todas as velocidades de aquecimento estudadas. O calor de fusão associado com a fusão desta fase é 25 kJ/mol. Esta fusão é seguida por recristalização a um sólido de fusão mais elevada, Forma II. A presença da endotérmica de alta temperatura (162°C) estava dependente da velocidade de aquecimento. Especificamente, à medida que a velocidade de aquecimento decresce, aumenta a probabilidade de que a endotérmica de alta temperatura possa aparecer. Além disso, o valor do calor de fusão aumentou para a endotérmica de alta temperatura à medida que a velocidade de aquecimento diminuía. Estas observações são consistentes com o facto de, que a velocidades de aquecimento menores, o líquido recristaliza numa extensão maior. Esta endotérmica dependente da velocidade de aquecimento indica que a Forma I pode sofrer recristalização após fusão a 151°C, e que a forma cristalina resultante funde a cerca de 162°C. A fase que funde a 162°C foi designada "(-)-cis-FTC Forma II".

Exemplo 2: Caracterização DSC das Formas II e III (-)-cis-FTC

Resultados térmicos para a Forma I (-)-cis-FTC em consequência da fusão e subsequente arrefecimento até à temperatura ambiente foram observados por DSC. Uma amostra de 5,5500 mg de Forma I (-)-cis-FTC foi aquecida a 160°C, que é imediatamente abaixo da temperatura de fusão para a Forma I, e depois novamente

arrefecida a 25°C. Quando reauecida no DSC, utilizando uma velocidade de aquecimento de 10°C/min, a endotérmica a 151 °C para a Forma I (-)-cis-FTC não estava presente. Contudo, apareceram endotérmicas a 102°C e 162°C, como mostrado na Figura 5. A endotérmica a 102°C era uma transição de estado sólido da Forma III (-)-cis-FTC para a Forma II (-)-cis-FTC como mostrado na Figura 6. Os dados PXRD (Figuras 7 e 9) recolhidos acima e abaixo da transição a 102°C confirmaram a interpretação DSC. A endotérmica a 162°C era a fusão da Forma II (-)-cis-FTC. HPLC confirmou que não havia alteração na energia associada a estes resultados térmicos.

Exemplo 3: Caracterização por DSC do (-)-cis-FTC amorfo

Foram aquecidas, no DSC, até 180°C a 5°C/min, 7,315 mg da Forma I FTC. Depois a amostra foi interrompida por arrefecimento a -20°C/min até -20 °C. Esta amostra quando reauecida a 10°C/min apresentou uma alteração na linha de base associada com a transição vítrea a ~ 67°C. Esta alteração na linha de base ocorreu tanto no ciclo de aquecimento como de arrefecimento confirmando que era devida à transição vítrea. Um termograma de DSC do (-)-cis-FTC é apresentado na Figura 15.

Exemplo 4: Observações por HSM das Formas I, II, e III (-)-cis-FTC

A atribuição das Formas I, II, e III baseada em resultados térmicos observados durante a análise DSC foi consistente com as observações por HSM. Ao microscópio, o material da Forma I apareceu como chapas à temperatura ambiente. Por aquecimento até 160 °C a 10 °C/min, a Forma I fundiu dando um líquido límpido. Ao arrefecer este líquido, cristalizaram agulhas aciculares a partir do fundido, as quais eram de aparência mais escura comparadas com a Forma I. Ao reauecer, estas agulhas sofreram uma variação na birrefringência iniciando a

cerca de 102°C e terminando a cerca de 115°C. As agulhas eventualmente fundiram a 166°C.

Exemplo 5: Efeito da moagem na forma cristalina

Foram preparados dois conjuntos da Forma I (-)-cis-FTC moída: um por trituração manual num almofariz e moído durante 5 minutos, outro por moagem num moinho Fitzpatrick. Embora sem medida quantitativa, a microscopia de luz revelou que o tamanho das partículas do (-)-cis-FTC triturado apareceu como o menor seguido por aquele que foi obtido utilizando o moinho de Fitzpatrick e depois o (-)-cis-FTC não moído. O termograma de DSC da amostra moída através do moinho de Fitzpatrick e do (-)-cis-FTC não moído tinha apenas uma endotérmica a 151°C. O (-)-cis-FTC triturado tinha duas endotérmicas a 151°C e 162°C. O espectro PXRD do (-)-cis-FTC triturado, à temperatura ambiente, foi o mesmo que o padrão para a Forma I, que indicou que a conversão da Forma I para a II ocorreu durante a experiência DSC. Tomados em conjunto, estes dados indicam que a moagem, de acordo com as condições descritas, não afeta a forma cristalina do (-)-cis-FTC quando iniciado com o Forma I.

Exemplo 6: Efeito do aquecimento na forma cristalina

O padrão de PXRD para a Forma III a 25°C e 95°C, é apresentado na Figura 9. Contudo, um padrão de PXRD desta amostra obtido a 120°C era diferente do padrão obtido a 95°C. A variação do padrão de PXRD acima desta gama de temperatura era consistente com a endotérmica obtida a cerca de 120°C por análise do termograma de DSC (Figura 6), e confirma que a endotérmica a 102°C era causada por uma transição de estado sólido ou alteração na estrutura cristalina.

O padrão de PXRD obtido a 120°C era o mesmo que o obtido a 160°C. Contudo, uma vez arrefecida a amostra novamente até 25°C, o padrão de PXRD era o mesmo da Forma III (-)-cis-FTC. A forma cristalina que existe acima de 102°C e funde a 162°C foi identificada como a Forma II. O padrão de PXRD para o material da Forma I não variou até à temperatura de fusão de 151°C.

Exemplo 7: Análise de Estabilidade Termodinâmica

Os dados de fusão para as Formas I, II e III, (-)-cis-FTC, estão sumariados na Tabela I. Com base nestes dados foi estabelecida a relação termodinâmica entre as Formas I e II. Estas formas estão enantiotropicamente relacionadas e a temperatura de transição calculada é de 130°C.

Tabela I: Dados de Temperatura de Transição para quatro formas cristalinas de (-)-cis-FTC.

Forma	Temperatura de Transição (°C)	Calor de Fusão (kJ/mol)
I	151	25
II	166	18
III*	102	---
Racémico cis-FTC	186	22,8

* A Forma III não sofre fusão mas antes transição de estado sólido a cerca de 112°C, por conseguinte não é conhecido o calor de fusão.

A relação de estabilidade termodinâmica entre estas formas está graficamente representada na Figura 14.

Exemplo 8: Solubilidade

É evidente da Figura 14 que abaixo de 130°C, a Forma I é a fase mais estável. Além disso, abaixo de 130°C, a Forma I é a fase

menos solúvel. A solubilidade de equilíbrio para a Forma I em água a 25°C foi de 0,482 M (119 mg/mL). Compostos com valores de solubilidade superiores a 100 mg/mL são considerados altamente solúveis e a Forma I (-)-cis-FTC cai nesta categoria. As outras formas de (-)-cis-FTC aqui descritas devem apresentar solubilidades superiores à da Forma I.

Exemplo 9: Estudos de Cristalização

O material de partida (-)-cis-FTC para todos os estudos de cristalização foi a Forma I (-)-cis-FTC como determinado por PXRD. A Forma I (-)-cis-FTC foi recristalizada a partir de soluções de água, metanol, tetra-hidrofurano, acetato de etilo, e acetona. Todas as amostras das experiências de cristalização foram analisadas por PXRD e DSC. Os (-)-cis-FTC cristalizados a partir de acetato de etilo e acetona apresentavam endotérmicas a 151°C e 162°C, e padrões PXRD idênticos ao espectro da Forma I (-)-cis-FTC.

Foi preparada uma solução sobressaturada (0,5 g/mL) da Forma I, a 50°C. Esta solução foi depois arrefecida à temperatura ambiente com agitação durante cerca de 2 horas. O precipitado sólido foi filtrado a vácuo e seco ao ar. Este sólido foi analisado por HPLC, DSC, PXRD e TGA. Esta análise revelou que o sólido era um sesqui-hidrato do (±)-cis-FTC. A solubilidade de equilíbrio do sesqui-hidrato a 25°C é 0,34 M (93 mg/mL). O termograma de DSC do hidrato é apresentado na Figura 12. A grande endotérmica a baixas temperaturas era devida à perda de água de hidratação do (±)-cis-FTC sesqui-hidrato, o que foi confirmado por TGA (Figura 13). A endotérmica a 190°C era devida à fusão do hidrato desidratado. O hidrato desidratado foi subsequentemente atribuído a uma única temperatura de fusão de cerca de 190°C, Figura 12. Um padrão único de PXRD foi também

recolhido para o hidrato desidratado. (Ver Figura 11)

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

Seres humanos sofrendo de HIV e HBV podem ser tratados administrando ao doente uma quantidade eficaz dos vários compostos da presente invenção (*i. e.* Formas II e III (-)-cis-FTC, o racémico cis-FTC sesqui-hidrato e a forma desidratada do racémico cis-FTC sesqui-hidrato) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável na presença de um veículo farmaceuticamente aceitável ou de um diluente. Os materiais ativos são adequadamente formulados para administração oral, na forma líquida ou sólida.

Uma dose preferida do composto para HIV ou HBV estará na gama de cerca de 1 a 75 mg/kg, de uma forma preferida 1 a 50 ou 20 mg/kg, de peso corporal por dia, mais geralmente 0,1 a cerca de 100 mg por quilograma de peso corporal do recetor por dia. A gama de dosagem eficaz dos sais farmaceuticamente aceitáveis e pro-fármacos pode ser calculada com base no peso do nucleósido precursor a ser distribuído. Se o sal apresentar atividade por si próprio, a dosagem eficaz pode ser estimada, como acima, utilizando o peso do sal, ou por outros meios conhecidos pelos especialistas na técnica.

O composto é convenientemente administrado em qualquer forma unitária de dosagem, incluindo mas não se limitando a uma contendo 7 a 3000 mg, de uma forma preferida de 70 a 1400 mg do ingrediente ativo por forma unitária de dosagem. Uma dosagem oral de 50-1000 mg é geralmente conveniente.

Idealmente o ingrediente ativo deve ser administrado para atingir picos de concentração do composto ativo no plasma de

cerca de 0,2 a 70 μM , de uma forma preferida de cerca de 1,0 a 10 μM . Isto pode ser alcançado, por exemplo, pela injeção intravenosa de uma solução 0,1 a 5%, de ingrediente ativo, opcionalmente em solução salina, ou administrada como um bolus do ingrediente ativo.

A concentração do composto ativo na composição do fármaco dependerá da absorção, inativação, e velocidades de excreção do fármaco bem como de outros fatores conhecidos dos especialistas na técnica. Deve ser tido em conta que os valores de dosagem também irão variar com a severidade das condições a serem aliviadas. Deve ainda ser entendido que para qualquer sujeito particular, regimes de dosagem específicos devem ser ajustados ao longo do tempo de acordo com as necessidades individuais e o julgamento profissional da pessoa administrante ou que supervisione a administração das composições, e que as gamas de concentração aqui explicitadas são apenas exemplificativas e não têm a intenção de limitar o âmbito ou prática da composição reivindicada. O ingrediente ativo pode ser administrado de uma só vez, ou pode ser dividido num número de pequenas doses a serem administradas em intervalos de tempo variáveis.

Um modo preferido de administração do composto ativo é o oral. Composições orais incluirão, geralmente, um diluente inerte ou um veículo comestível. Eles podem estar incluídos em cápsulas de gelatina ou compactados em comprimidos. Com o objetivo da administração terapêutica oral, o composto ativo pode ser incorporado com excipientes e utilizado na forma de comprimidos, pastilhas, ou cápsulas. Agentes estabilizantes farmacologicamente compatíveis, e/ou materiais adjuvantes podem ser incluídos como partes da composição.

Os comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas e semelhantes podem conter quaisquer dos seguintes ingredientes, ou compostos de

natureza semelhante: um estabilizante, tal como celulose microcristalina, goma tragacanto ou gelatina; um excipiente, tal como amido ou lactose, um agente de desintegração, tal como o ácido algínico, Primogel, ou amido de milho; um lubrificante, tal como estearato de magnésio ou Sterotes; um deslizante, tal como dióxido de sílica coloidal; um agente adoçante, tal como sucrose ou sacarina; ou um agente aromatizante, tal como hortelã-pimenta, salicilato de metilo, ou aromatizante de laranja. Quando a forma de dosagem unitária é uma cápsula, ela pode conter, adicionalmente ao material do tipo descrito acima, um veículo líquido, tal como um óleo gordo. Além disso, formas de dosagem unitária podem conter vários outros materiais que modificam a forma física da dosagem unitária, por exemplo, revestimentos de açúcar, goma-laca, ou outros agentes entéricos.

O composto pode ser administrado como um componente de um elixir, suspensão, xarope, bolacha, pastilha elástica ou semelhante. Um xarope pode conter, para além dos compostos ativos, sucrose como um agente adoçante e certos conservantes, tintas e corantes e aromatizantes.

O composto ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, também podem ser misturados com outros materiais ativos que não diminuam a ação desejada, ou com materiais que completem a ação desejada, tais como antibióticos, antifúngicos, anti-inflamatórios, ou outros antivirais, incluindo outros compostos de nucleósidos. As soluções ou suspensões utilizadas para aplicação parentérica, intradérmica, subcutânea ou tópica podem incluir os seguintes componentes: um diluente estéril tal como água para injeção, solução salina, óleos fixos, polietileno glicóis, glicerina, propileno glicol ou outros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tais como álcool benzílico ou metil-parabenos; antioxidantes tais como ácido ascórbico ou

bissulfito de sódio; agentes quelantes tais como o ácido etilenodiaminotetracético; tampões tais como acetatos, citratos ou fosfatos e agentes para o ajustamento da tonicidade tais como cloreto de sódio ou dextrose. A preparação parentérica pode ser encerrada em ampolas, seringas descartáveis ou frascos de doses múltiplas feitos de vidro ou plástico.

Se administrado intravenosamente, os veículos preferidos são solução salina fisiológica ou solução salina tamponada com fosfato (PBS).

Numa forma de realização preferida, os compostos ativos são preparados com veículos que protegerão o composto contra eliminação rápida do corpo, tais como uma formulação de libertação controlada, incluindo implantes e sistemas de distribuição micro-encapsulados. Podem ser utilizados polímeros biocompatíveis, biodegradáveis, tais como acetato etilenovinílico, poli-anidridos, ácido poliglicólico, colagénio, poli-orto-ésteres, e ácido poliláctico. Métodos para a preparação de tais formulações serão evidentes para os especialistas na técnica. Os materiais também podem ser obtidos comercialmente da Alza Corporation.

Suspensões lipossomáticas (incluindo lipossomas que servem de alvo a células infetadas com anticorpos monoclonais a antígenos virais) também são preferidas como veículos farmacêuticamente aceitáveis. Estes podem ser preparados de acordo com métodos conhecidos pelos especialistas na técnica, por exemplo, como descrito na Patente US 4522811. Por exemplo, formulações lipossômicas podem ser preparadas dissolvendo lípido(s) apropriados (tais como, estearoilfosfatidiletanolamina, estearoilfosfatidilcolina, aracadoilfosfatidilcolina, e colesterol) num solvente inorgânico que é depois evaporado, deixando atrás uma fina película de lípido seco na superfície do recipiente. Uma solução aquosa do composto ativo ou dos seus

derivados monofosfato, difosfato, e/ou trifosfato é então introduzida no recipiente. O recipiente é depois agitado à mão para libertar o material lipídico das paredes do recipiente e para dispersar agregados de lípidos, formando a suspensão lipossomática.

Será óbvio para os especialistas na técnica que várias modificações e variações podem ser feitas na presente invenção sem se afastar do âmbito da invenção. Outras formas de realização da invenção serão evidentes para os especialistas na técnica considerando a especificação e prática da invenção aqui apresentadas. Pretende-se que a especificação e exemplos sejam considerados apenas como exemplificativos, com um verdadeiro âmbito da invenção sendo indicado pelas reivindicações seguintes.

REIVINDICAÇÕES

1. Forma polimórfica de (-)-cis-FTC caracterizada por uma transição de estado sólido a 96-112°C.
2. Forma polimórfica de (-)- cis-FTC de acordo com a reivindicação 1, o qual é ainda caracterizado por um ponto de fusão de 162-167°C.
3. Forma polimórfica de (-)- cis-FTC de qualquer uma das reivindicações 1 ou 2, que é mais do que 95% pura.
4. Forma polimórfica de (-)cis-FTC de acordo com a reivindicação 1, preparada por um método compreendendo:
 - a) aquecimento da Forma I (-)- cis-FTC para mais de 151°C;
 - b) manutenção de (-)-cis-FTC a esta temperatura elevada; e
 - c) arrefecer lentamente o (-)-cis-FTC fundido para obter (-)-cis-FTC cristalina polimórfica.
5. Forma polimórfica de (-)-cis-FTC de acordo com a reivindicação 4, em que a (-)-cis-FTC cristalina polimórfica é caracterizada por um ponto de fusão de 162-167°C.
6. Forma polimórfica de (-)-cis-FTC de acordo com a reivindicação 4, em que a Forma I (-)-cis-FTC é caracterizada por um ponto de fusão de 148-153°C.
7. Forma polimórfica de (-)-cis-FTC de acordo com a reivindicação 4 ou reivindicação 6, em que o passo (a) compreende o aquecimento da Forma I (-)-cis-FTC acima de 160°C; e o passo (c) compreende o arrefecimento da (-)-cis-FTC para 25°C.

8. Forma polimórfica de (-)-cis-FTC de acordo com a reivindicação 1, em que a temperatura de transição de estado sólido é de 102°C.

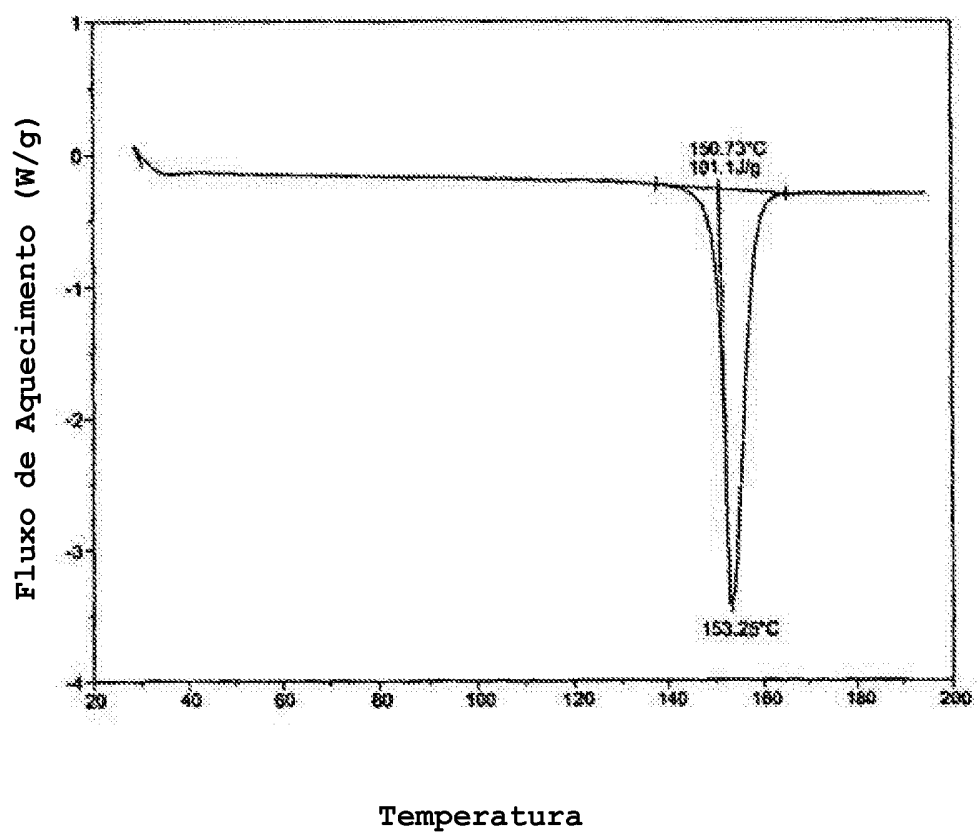


FIG. 1

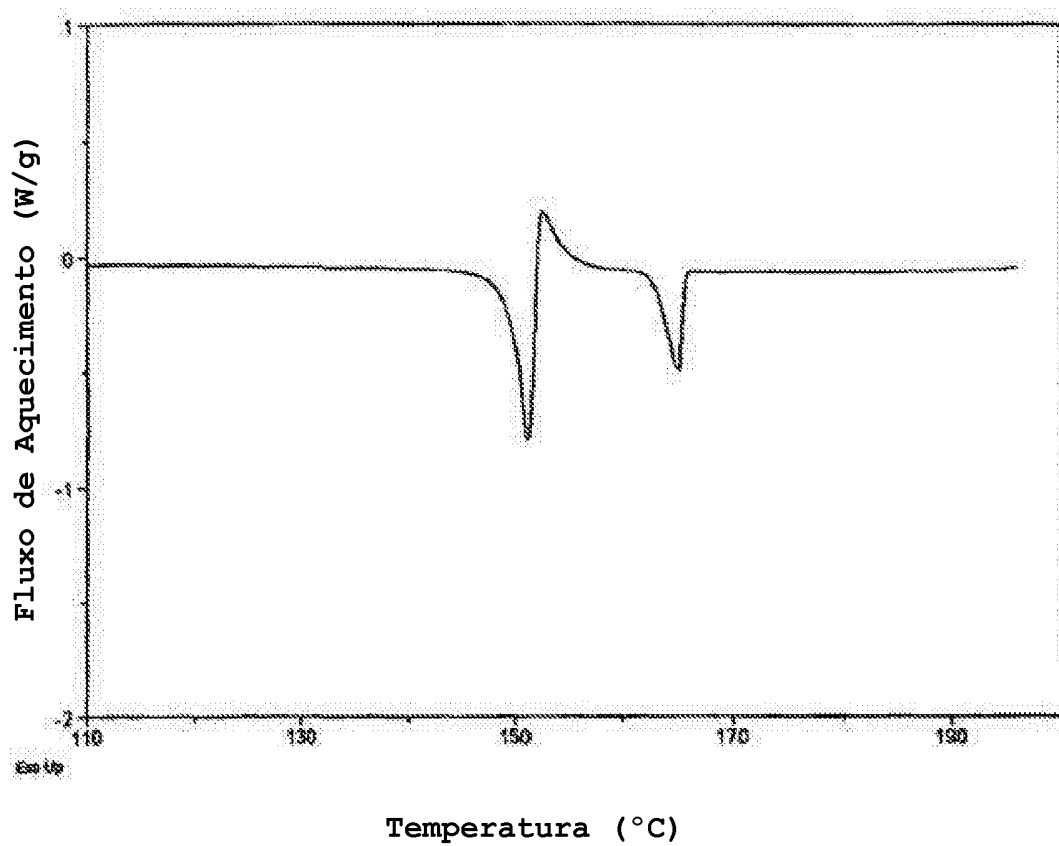


FIG. 2

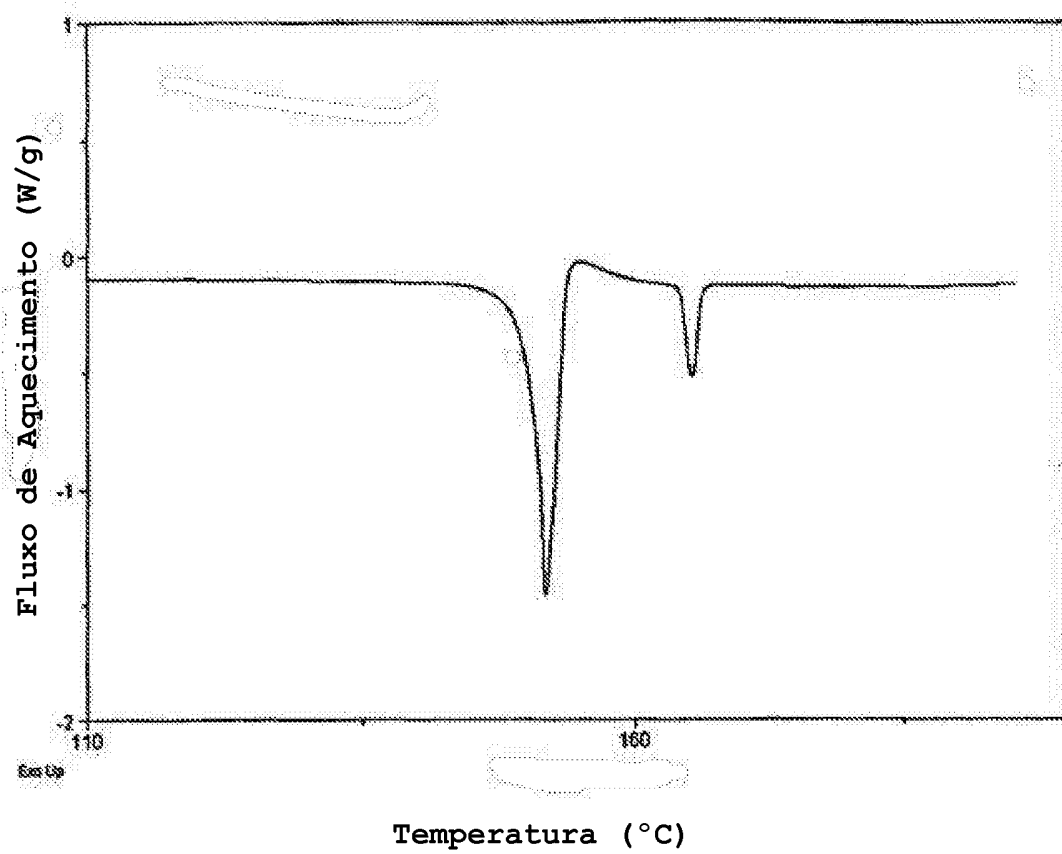


FIG. 3

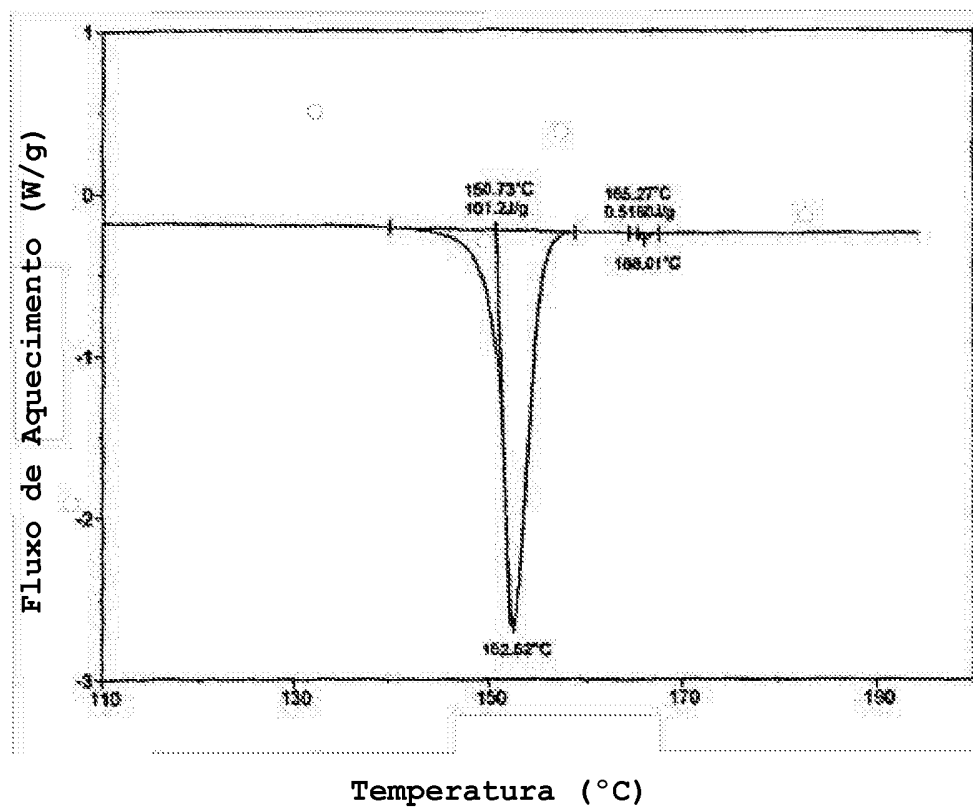


FIG. 4

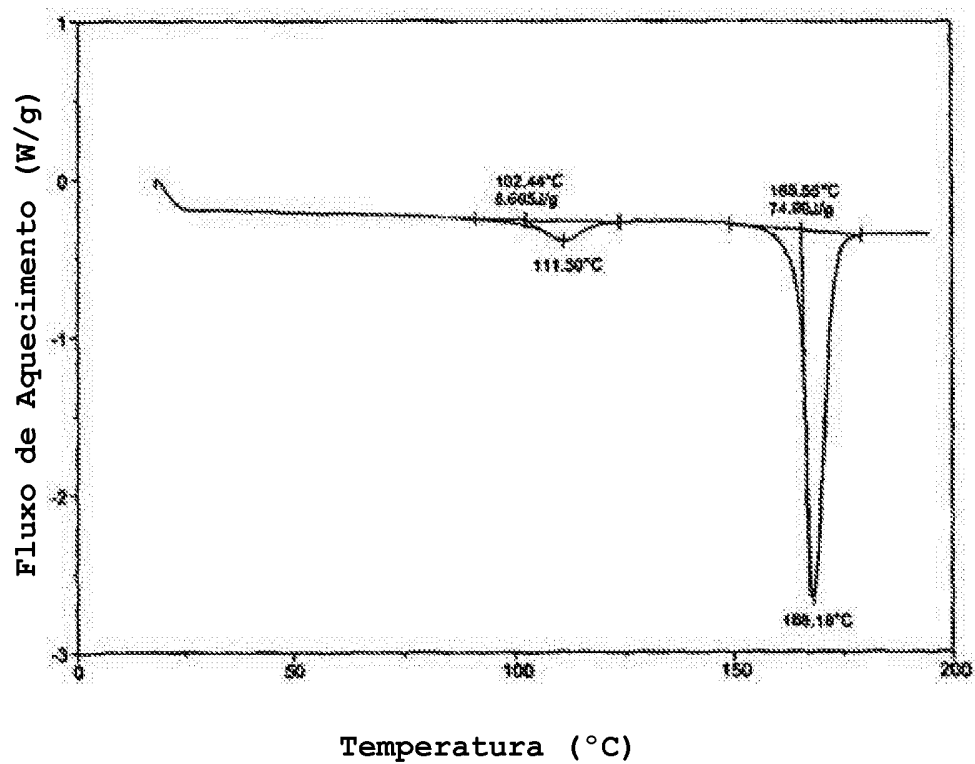


FIG. 5

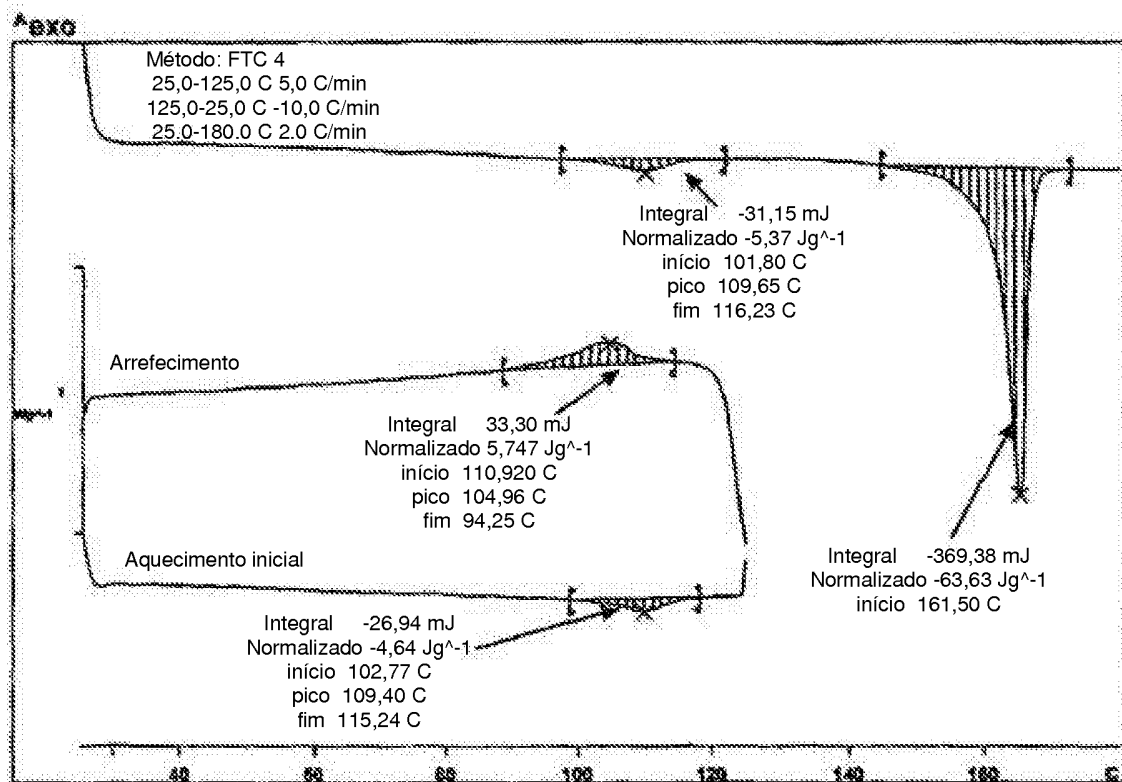


FIG. 6

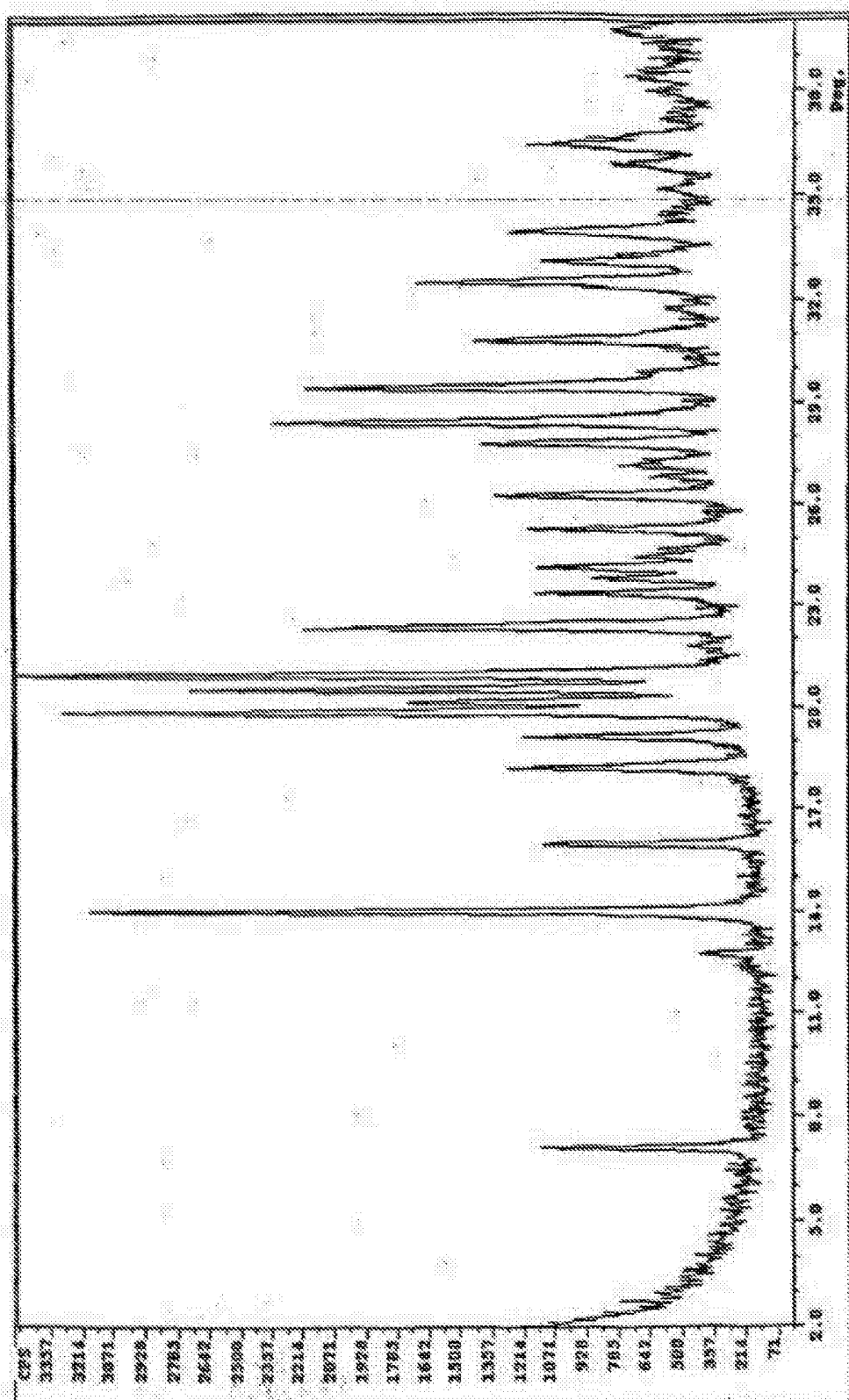


FIG. 7

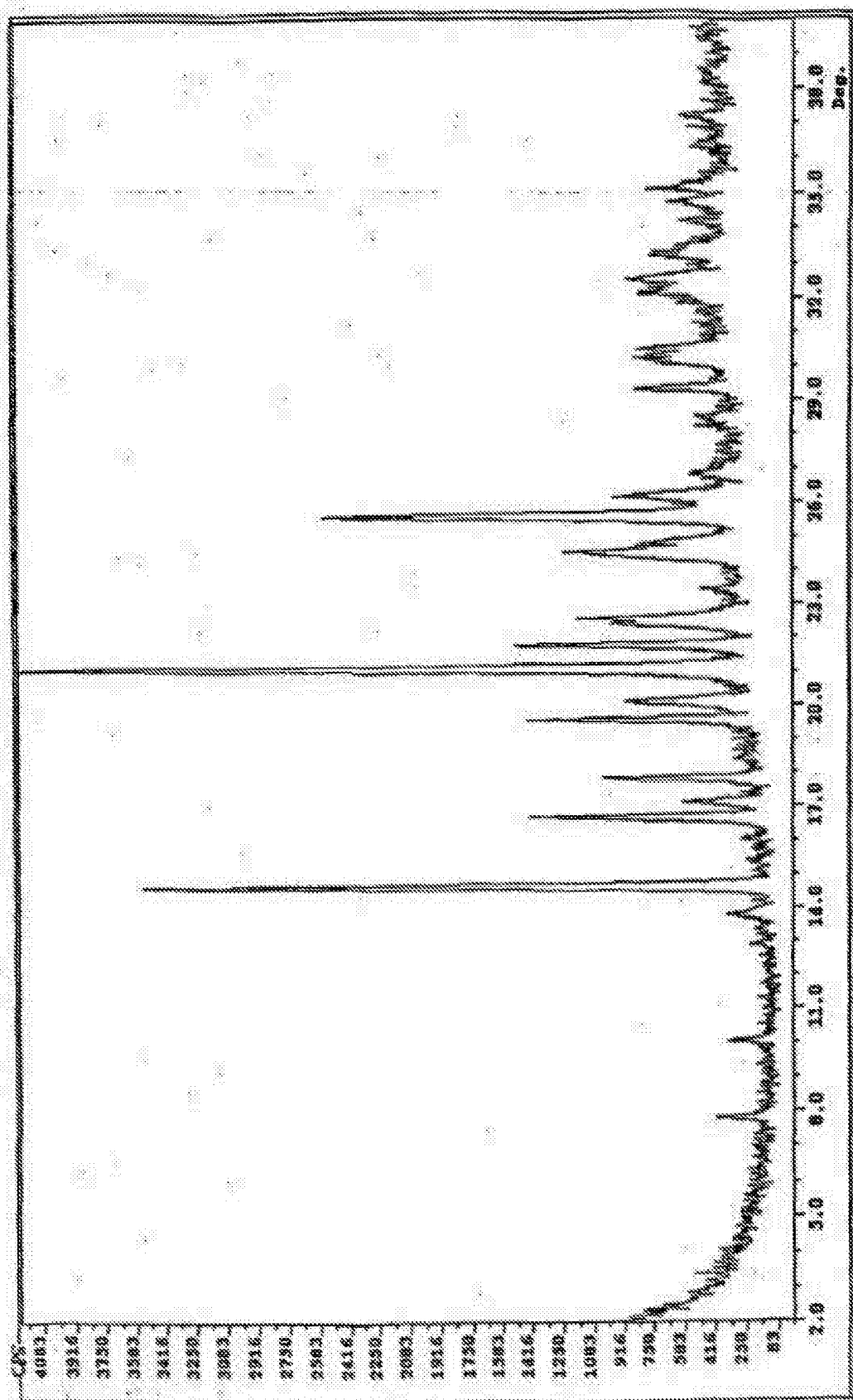


FIG. 8

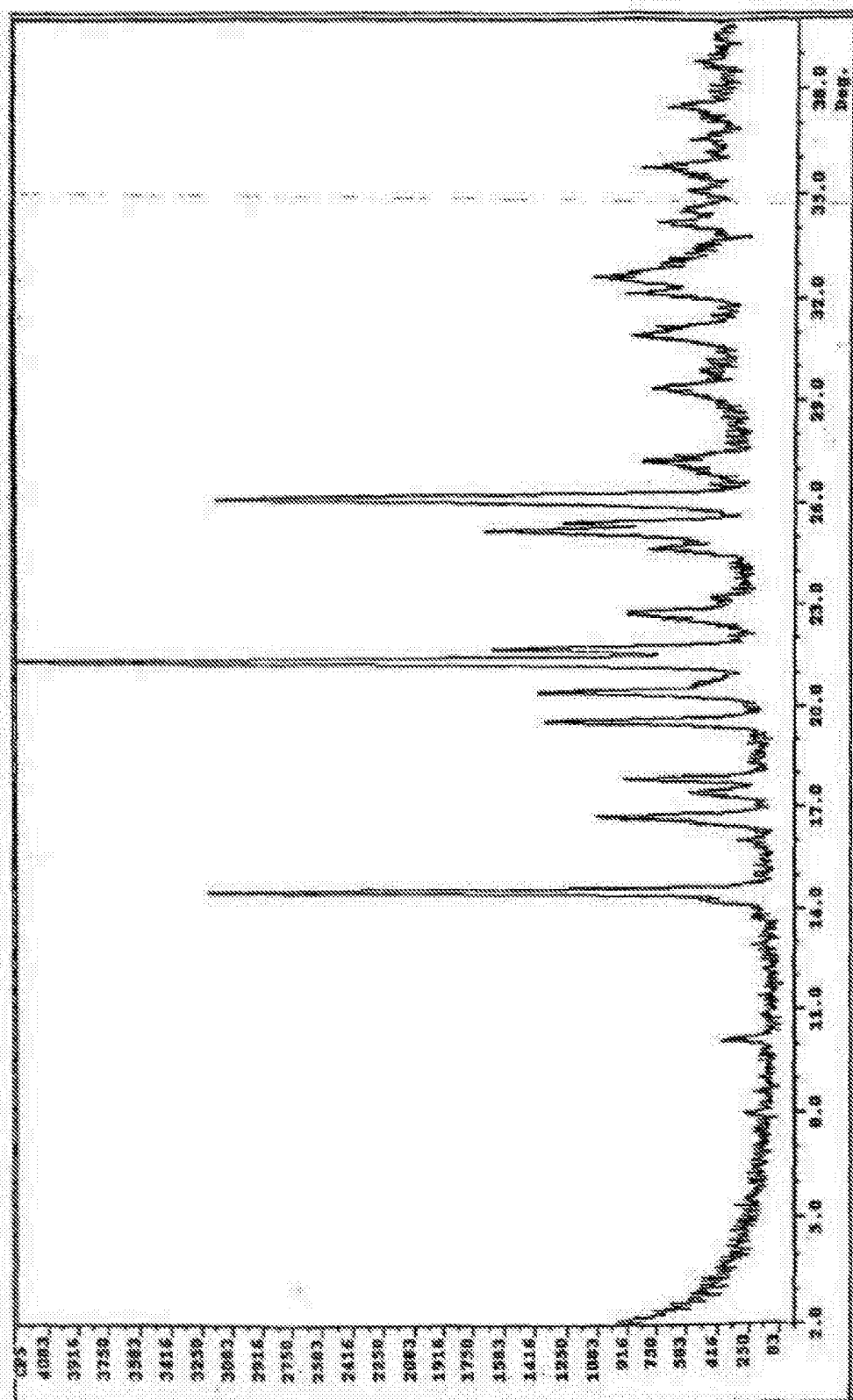


FIG. 9

FIG. 10

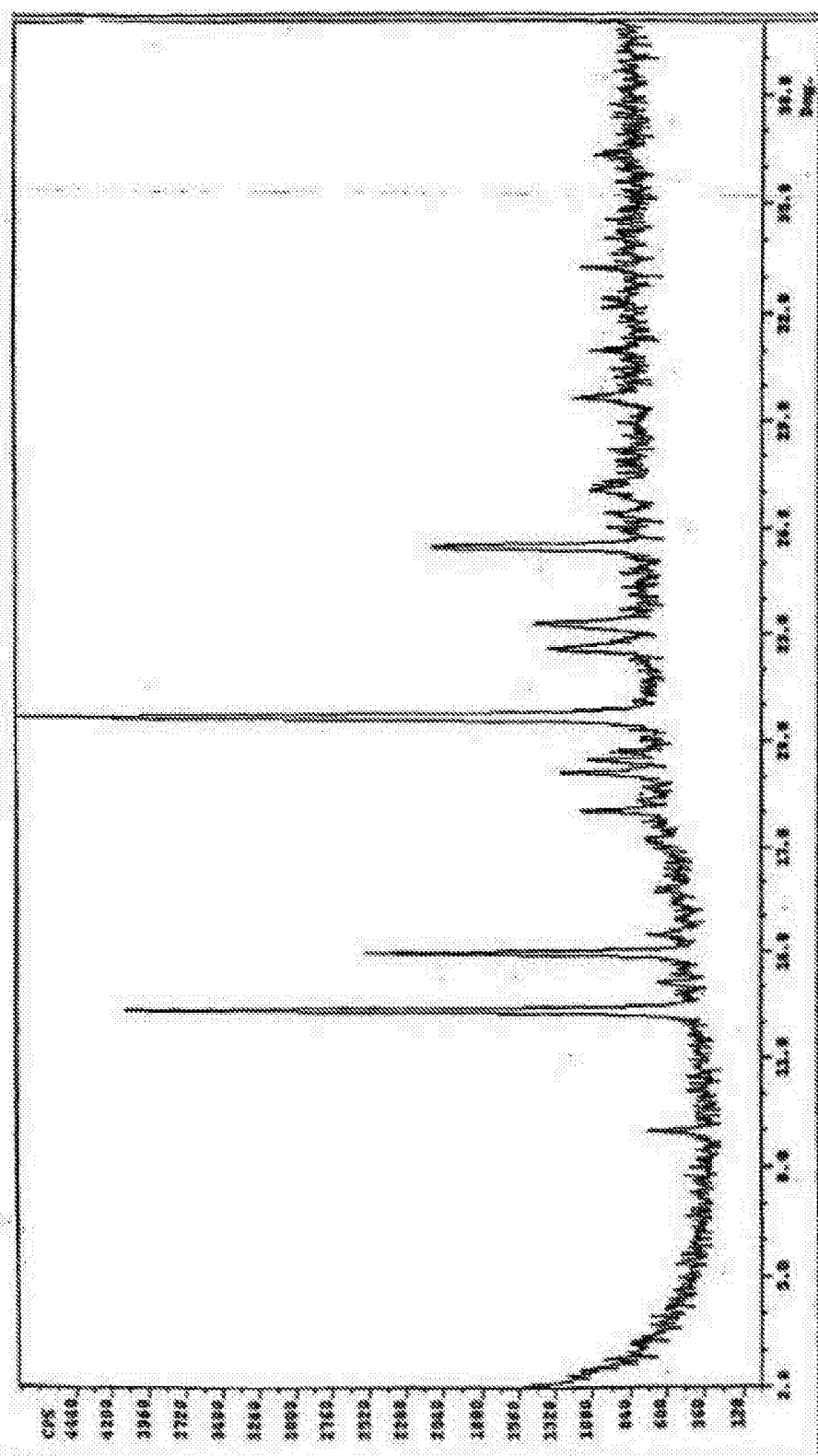


FIG. 11

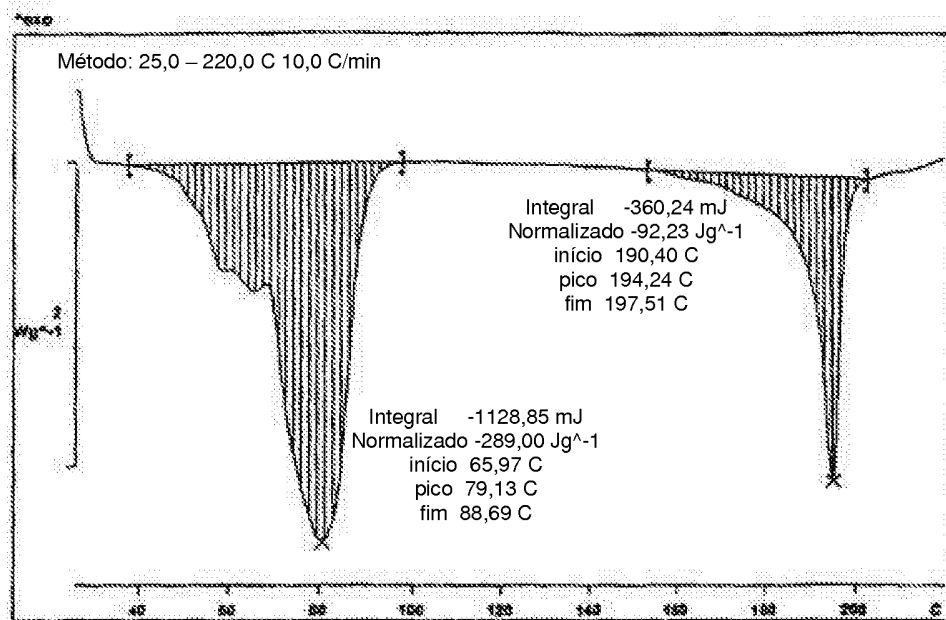


FIG.12

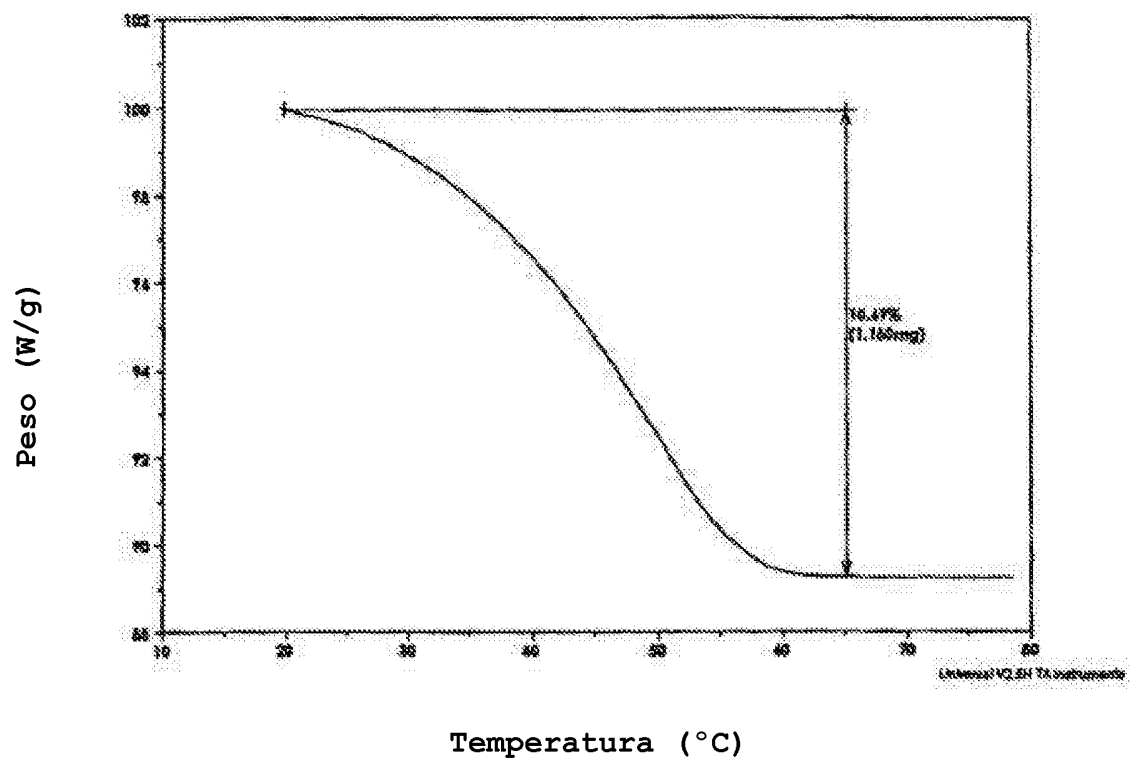


FIG.13

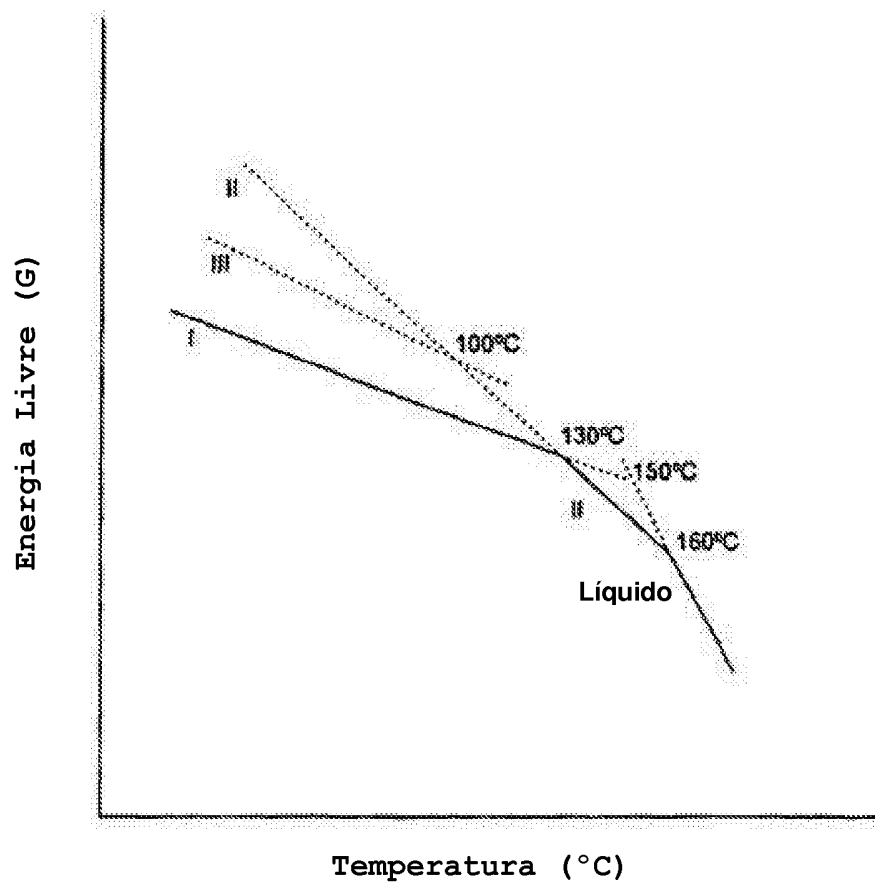


FIG.14

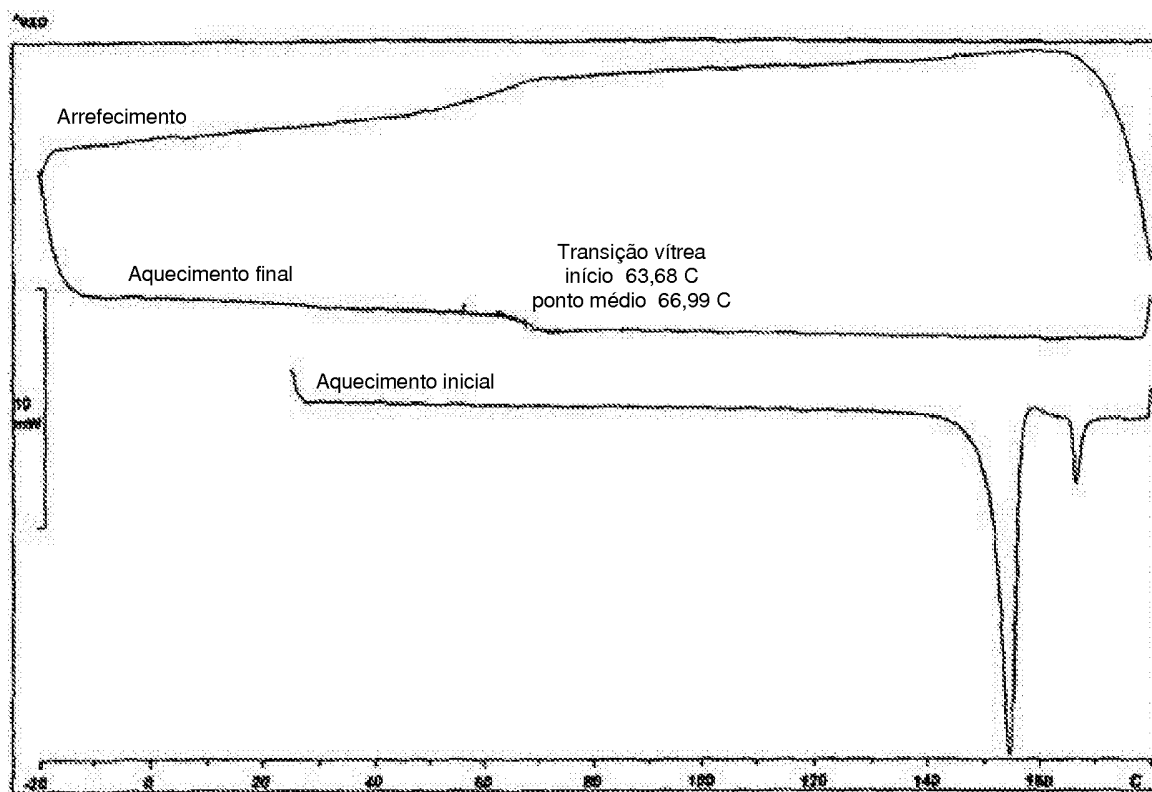


FIG.15