



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 265 437**

(51) Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61K 31/135 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **01957290 .8**

(86) Fecha de presentación : **27.07.2001**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1303306**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **23.04.2003**

(54)

Título: **Terapia de combinación antagonista epoxi-esteroidal de aldosterona y antagonista beta-adrenérgico para tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva.**

(30)

Prioridad: **27.07.2000 US 221365 P**

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2007

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2007

(73)

Titular/es: **Pharmacia Corporation**
800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone 04E
St. Louis, Missouri 63167, US

(72)

Inventor/es: **Alexander, John, C. y**
Schuh, Joseph, R.

(74)

Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

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

Terapia de combinación antagonista epoxi-esteroidal de aldosterona y antagonista beta-adrenérgico para tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva.

Campo de la invención

Se han descrito combinaciones de un antagonista epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona y un antagonista beta-adrenérgico para uso en el tratamiento de trastornos circulatorios, que incluyen enfermedades cardiovasculares tales como hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertrofia cardíaca, cirrosis y ascitis. Son particularmente interesantes las terapias que utilizan el compuesto antagonista del receptor de aldosterona esteroideal que contiene epóxido epoximexrenona en combinación con un compuesto antagonista beta-adrenérgico.

Antecedentes de la invención

La insuficiencia de miocardio (o cardíaca), tanto si es consecuencia de un infarto de miocardio previo, enfermedad cardíaca asociada con hipertensión, o cardiomiopatía primaria, es un problema sanitario muy importante de proporciones mundiales. La incidencia de la insuficiencia cardíaca sintomática ha aumentado continuamente a lo largo de las varias últimas décadas.

En términos clínicos, la insuficiencia cardíaca descompensada consiste en una constelación de signos y síntomas que procede de los órganos congestionados y tejidos hipoperfundidos que forman el síndrome de la insuficiencia cardíaca congestiva (CHF). La congestión está causada en gran parte por presión venosa incrementada y por excreción inadecuada de sodio (Na^+), con relación a la ingestión de Na^+ en la dieta, y está relacionada en un grado importante con los niveles circulantes de aldosterona (ALDO). Una retención anormal de Na^+ ocurre por la vía de las células tubulares epiteliales a lo largo de la nefrona, con inclusión de la porción última del túbulo distal y los conductos colectores corticales, en los cuales están presentes sitios del receptor ALDO.

ALDO es la hormona mineralocorticoide más potente del cuerpo. Como implica el término mineralocorticoide, esta hormona esteroideal tiene actividad reguladora de los minerales. La misma promueve la reabsorción de Na^+ no sólo en el riñón, sino también desde el tracto gastrointestinal inferior y las glándulas salivares y sudoríparas, cada una de las cuales representa tejidos clásicos sensibles a ALDO. ALDO regula la resorción de Na^+ y agua a expensas de la excreción de potasio (K^+) y magnesio (Mg^{2+}).

ALDO puede provocar también respuestas en células no epiteliales. Suscitado por una elevación crónica en el nivel plasmático de ALDO que es inadecuada con relación a la ingesta de Na^+ en la dieta, estas respuestas pueden tener consecuencias adversas sobre la estructura del sistema cardiovascular. Por consiguiente, ALDO puede contribuir a la naturaleza progresiva de la insuficiencia del miocardio por razones múltiples.

Factores múltiples regulan la síntesis y el metabolismo de ALDO, muchos de los cuales son operativos en el paciente con insuficiencia de miocardio. Estos incluyen factores tanto dependientes de renina como independientes de renina (tales como K^+ , ACTH) que promueven la síntesis de ALDO. El flujo hepático sanguíneo, por regular el aclaramiento de ALDO circulante, ayuda a determinar su concentración en plasma, un factor importante en la insuficiencia cardíaca caracterizado por reducción del gasto cardíaco y el flujo sanguíneo hepático.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) es uno de los mecanismos hormonales implicados en la regulación de la homeostasis presión/volumen y también en el desarrollo de la hipertensión. La activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona comienza con la secreción de renina por las células yuxtaglomerulares en el riñón y culmina en la formación de angiotensina II, la especie activa primaria de este sistema. Este octapéptido, angiotensina II, es un vasoconstrictor potente y produce también otros efectos fisiológicos tales como estimulación de la secreción de aldosterona, promoción de la retención de sodio y fluidos, inhibición de la secreción de renina, aumento de la actividad del sistema nervioso simpático, estimulación de la secreción de vasopresina, causando un efecto inotrópico cardíaco positivo y modulando otros sistemas hormonales.

Además de la aldosterona, los receptores beta-adrenérgicos juegan un papel importante en la insuficiencia cardíaca. Tanto en el tejido vascular como en el cardíaco, se produce contracción de las células musculares cuando las células son estimuladas por catecolaminas que están fijadas a los receptores adrenérgicos. En los tejidos periféricos, esto puede conducir a hipertensión sistémica. Los antagonistas beta-adrenérgicos bloquean este efecto y causan vasodilatación, presión sanguínea reducida (efecto anti-hipertensivo) y una reducción en la fuerza requerida para el bombeo de la sangre por el corazón. Sin embargo, los antagonistas beta-adrenérgicos pueden reducir también la fuerza de la contracción cardíaca (inotropía negativa) y por consiguiente a menudo no son el fármaco de elección para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.

Se conocen muchos fármacos bloqueantes del receptor de aldosterona. Por ejemplo, la espironolactona es un fármaco que actúa al nivel del receptor mineralocorticoide por inhibición competitiva de la fijación de aldosterona. Este compuesto esteroideal ha sido utilizado para bloquear el transporte de sodio dependiente de aldosterona en el túbulo distal del riñón a fin de reducir el edema y tratar la hipertensión esencial y el hiperaldosteronismo primario (F. Mantero *et al.*, *Clin. Sci. Mol. Med.*, 45 (Suppl. 1), 219s-224s (1973)]. La espironolactona se utiliza también comúnmente en

el tratamiento de otras enfermedades relacionadas con hiperaldosterona tales como cirrosis hepática e insuficiencia cardiaca congestiva [F.J. Saunders *et al.*, *Aldactone; Spironolactone: A Comprehensive Review*, Searle, Nueva York (1978)]. Se administraron dosis progresivamente crecientes de espironolactona desde 1 mg a 400 mg al día [es decir, 1 mg/día, 5 mg/día, 20 mg/día] a un paciente intolerante a la espironolactona para tratar ascitis relacionada con cirrosis [P.A. Greenberger *et al.*, *N. Eng. Reg. Allergy Proc.*, 7 (4), 343-345 (julio-agosto, 1986)]. Se ha reconocido que el desarrollo de la fibrosis de miocardio es sensible a los niveles circulantes tanto de angiotensina II como de aldosterona, y que el antagonista de aldosterona espironolactona previene la fibrosis de miocardio en modelos animales, ligando de este modo la aldosterona a una deposición excesiva de colágeno [D. Klug *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 71(3), 46A-54A (1993)]. Se ha demostrado que la espironolactona previene la fibrosis en modelos animales con indeferencia del desarrollo de hipertrofia del ventrículo izquierdo y de la presencia de hipertensión [C.G. Brilla *et al.*, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 25 (5), 563-575 (1993)]. La espironolactona a una dosis comprendida entre 25 mg y 100 mg diariamente se utiliza para tratar la hipocalcemia inducida por diuréticos, cuando los suplementos de potasio administrados por vía oral u otros regímenes de ahorro de potasio se consideran inadecuados [*Physicians' Desk Reference*, edición 46ª, p. 2153, Medical Economics Company Inc., Montvale, N.J. (1992)].

Otra serie de antagonistas del receptor de aldosterona de tipo esteroidal se ilustra por los derivados de espironolactona que contienen epóxido. Por ejemplo, la Patente U.S. No. 4.559.332 otorgada a Grob *et al.* describe derivados de espironolactona que contienen 9a, 11a-epóxido como antagonistas de aldosterona útiles como diuréticos. Estos esteroides 9a, 11a-epoxídicos han sido evaluados en cuanto a efectos endocrinos en comparación con la espironolactona [M. de Gasparo *et al.*, *J. Pharm. Exp. Ther.*, 240(2), 650-656 (1987)].

Sumario de la invención

Una terapia de combinación que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona y una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista beta-adrenérgico es útil para tratar trastornos circulatorios, con inclusión de trastornos cardiovasculares tales como hipertensión, insuficiencia cardiaca congestiva, cirrosis y ascitis.

Así, la presente invención proporciona una combinación que comprende una primera cantidad de eplerenona y una segunda cantidad de un antagonista beta-adrenérgico, en la cual dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico comprenden juntos una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico.

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende una primera cantidad de eplerenona y una segunda cantidad de un antagonista beta-adrenérgico, en la cual dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico comprenden juntos una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico.

La invención proporciona también el uso de una primera cantidad de eplerenona y una segunda cantidad de un antagonista beta-adrenérgico, en el cual dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico comprenden juntos una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico, para la preparación de un medicamento para tratamiento de un trastorno cardiovascular.

La expresión "antagonista beta-adrenérgico" tiene por objeto abarcar uno o más compuestos o agentes que tienen la capacidad de interactuar con y bloquear los receptores adrenérgicos localizados en diversos tejidos del cuerpo humano que están asociados con la mediación de una o más funciones o sucesos biológicos tales como los niveles de presión sanguínea o la contracción del músculo cardíaco.

La expresión "antagonista epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona" tiene por objeto abarcar uno o más agentes o compuestos caracterizados por un núcleo de tipo esteroidal y que tienen un resto epoxi unido al núcleo, fijándose dicho agente o compuesto al receptor de aldosterona, como inhibidor competitivo de la acción de aldosterona propiamente dicha en el sitio receptor, a fin de modular la actividad de aldosterona mediada por el receptor.

La expresión "terapia de combinación", en la definición del uso de un antagonista beta-adrenérgico y un antagonista epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona, tiene por objeto abarcar la administración de cada antagonista de una manera secuencial en un régimen que proporcionará efectos beneficiosos de la combinación de fármacos, y tiene por objeto abarcar la co-administración de los agentes antagonistas de una manera sustancialmente simultánea, por ejemplo en una sola cápsula que tiene una relación fija de ingredientes activos o en cápsulas múltiples separadas para cada agente antagonista.

La expresión "terapéuticamente eficaz" tiene por objeto cualificar la cantidad de cada agente antagonista para uso en la terapia de combinación que alcanzará la meta de reducción de la hipertensión con mejora en la suficiencia cardiaca por reducción o prevención, por ejemplo, de la progresión de la insuficiencia cardiaca congestiva.

Para una combinación de agente antagonista beta-adrenérgico y un agente antagonista de ALDO, los agentes deberían utilizarse en combinación en un intervalo de relaciones en peso que va desde aproximadamente 1 a 0,5 hasta aproximadamente 1 a 20 del agente antagonista beta-adrenérgico al agente antagonista del receptor de aldosterona. Un intervalo preferido de estos dos agentes (antagonista beta-adrenérgico a antagonista de ALDO) sería desde aproximadamente 1 a 1 a aproximadamente 1 a 15, mientras que un intervalo más preferido sería desde aproximadamente 1 a

1 a aproximadamente 1 a 5, dependiendo finalmente de la selección del antagonista beta-adrenérgico y el antagonista de ALDO.

Breve descripción de los dibujos

- 5 Fig. 1-A muestra espectros de difracción en polvo de rayos X de la eplerenona de Forma H.
- Fig. 1-B muestra espectros de difracción en polvo de rayos X de eplerenona de Forma L.
- 10 Fig. 1-C muestra espectros de difracción en polvo de rayos X del solvato de metil-etil-cetona de eplerenona.
- Fig. 2-A muestra un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de la Forma L no molida cristalizada directamente a partir de metil-etil-cetona.
- 15 Fig. 2-B muestra un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de la Forma L no molida preparada por desolvatación de un solvato obtenido por cristalización de una eplerenona de alta pureza a partir de metil-etil-cetona.
- Fig. 2-C muestra un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de la Forma L preparado por cristalización de un solvato a partir de una solución de eplerenona de alta pureza en metil-etil-cetona, desolvatación del solvato para dar la Forma L, y molienda de la Forma L resultante.
- 20 Fig. 2-D muestra un termograma de calorimetría de barrido diferencial (DSC) de la Forma H no molida preparada por desolvatación de un solvato obtenido por digestión de eplerenona de baja pureza a partir de disolventes apropiados.
- 25 Fig. 2-E muestra un termograma DSC para el solvato de metil-etil-cetona.
- Fig. 3-A muestra los espectros infrarrojos (reflectancia difusa, DRIFTS) de eplerenona Forma H.
- 30 Fig. 3-B muestra los espectros de infrarrojos (reflectancia difusa, DRIFTS) de eplerenona Forma L.
- Fig. 3-C muestra los espectros infrarrojos (reflectancia difusa, DRIFTS) del solvato de metil-etil-cetona de eplerenona.
- 35 Fig. 3-D muestra los espectros infrarrojos (reflectancia difusa, DRIFTS) de eplerenona en solución clorofórmica.
- Fig. 4 muestra los espectros ^{13}C NMR para la Forma H de eplerenona.
- Fig. 5 muestra los espectros ^{13}C NMR para la Forma L de eplerenona.
- 40 Figs. 6-A muestra el perfil del análisis termogravimétrico para el solvato de metil-etil-cetona.
- Fig. 7 muestra un espectro de difracción en polvo de rayos X de una forma cristalina de 7-metil-hidrógeno-4'',5'':9'',11''-diepoxi-17-hidroxi-3-oxo-17''-pregnano-7'',21-dicarboxilato, (-lactona aislada de metil-etil-cetona).
- 45 Fig. 8 muestra un espectro de difracción en polvo de rayos X de la forma cristalina de 7-metil-hidrógeno-11'',12''-epoxi-17-hidroxi-3-oxo-17''-pregna-4,9(11)-dieno-7'',21-dicarboxilato, (-lactona aislada de isopropanol).
- Fig. 9 muestra un espectro de difracción en polvo de rayos X de la forma cristalina de 7-metil-hidrógeno-17-hidroxi-3-oxo-17''-pregna-4,9(11)-dieno-7'',21-dicarboxilato, (-lactona aislada de n-butanol).
- 50 Fig. 10 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para la torta húmeda (solvato de metil-etil-cetona) obtenida de cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 3%, y (d) 5% de diepóxido.
- 55 Fig. 11 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para los sólidos secados obtenidos de cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 3%, y (d) 5% de diepóxido (a) sin trituración del solvato antes del secado, y (b) con trituración del solvato antes del secado.
- Fig. 12 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para los sólidos secados procedentes de la cristalización en metil-etil-cetona impurificada con 3% de diepóxido (a) sin trituración del solvato antes del secado, y (b) con trituración del solvato antes del secado.
- 60 Fig. 13 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para la torta húmeda (solvato de metil-etil-cetona) obtenida de cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 5%, y (d) 10% de 11,12-epóxido.
- 65 Fig. 14 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para los sólidos secados obtenidos a partir de cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 5%, y (d) 10% de 11,12-diepóxido.

Fig. 15 muestra un gráfico de cubo de pureza del producto, pureza del material de partida, velocidad de enfriamiento y temperatura de punto final basado en los datos consignados en la Tabla X-7A.

Fig. 16 muestra un gráfico semi-normal preparado utilizando el gráfico del cubo de Fig. 18 para determinar aquellas variables que tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la pureza del material final.

Fig. 17 es un gráfico de interacción basado en los resultados consignados en la Tabla X-7A que muestra la interacción entre pureza del material de partida y velocidad de enfriamiento sobre la pureza del material final.

Fig. 18 muestra un gráfico de cubo de la fracción en peso de Forma H, pureza del material de partida, velocidad de enfriamiento y temperatura de punto final basado en los datos consignados en la Tabla X-7A.

Fig. 19 muestra un gráfico semi-normal preparado utilizando el gráfico de cubo de Fig. 21 para determinar aquellas variables que tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la pureza del material final.

Fig. 20 es un gráfico de interacción basado en los resultados consignados en la Tabla X-7A que muestra la interacción entre la pureza del material de partida y la temperatura de punto final sobre la pureza del material final.

Fig. 21 muestra un espectro de difracción de rayos X de eplerenona amorfa.

Fig. 22 muestra un termograma DSC de eplerenona amorfa.

Fig. 23 muestra un estudio esquemático para una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

Fig. 24 muestra las características demográficas de la línea base para los pacientes en una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

Fig. 25 muestra parámetros de línea base para pacientes en una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

Fig. 26 muestra el cambio medio en la presión sanguínea al cabo de 8 semanas para pacientes en una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

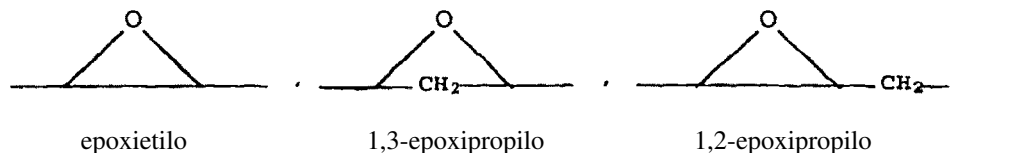
Fig. 27 muestra el cambio medio en la presión sanguínea bisemanal durante 8 semanas para los pacientes en una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

Fig. 28 muestra el cambio en los niveles de renina y aldosterona para los pacientes en una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

Fig. 29 muestra la incidencia de efectos adversos para los pacientes en una prueba clínica de terapia con BB + eplerenona.

Descripción detallada de la invención

Los compuestos antagonistas epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona es adecuados para uso en la terapia de combinación están constituidos por estos compuestos que tienen un núcleo esteroidal sustituido con un resto de tipo epóxido. El término resto de "tipo epóxido" tiene por objeto abarcar cualquier resto caracterizado por tener un átomo de oxígeno como puente entre dos átomos de carbono, ejemplos de los cuales incluyen los restos siguientes:



El término "esteroidal", tal como se utiliza en la expresión "epoxi-esteroidal", designa un núcleo proporcionado por un resto de ciclopentenofenantreno, que tiene los anillos convencionales "A", "B", "C" y "D". El resto de tipo epóxido puede estar unido al núcleo de ciclopentenofenantreno en cualesquiera posiciones susceptibles de unión o sustituibles, es decir, condensado a uno de los anillos del núcleo esteroidal o el resto puede estar sustituido en un miembro de anillo del sistema de anillos. La expresión "epoxi-esteroidal" tiene por objeto abarcar un núcleo esteroidal que tiene uno o una pluralidad de restos de tipo epóxido unidos al mismo.

Antagonistas del receptor de aldosterona epoxi-esteroidales adecuados para uso en terapia de combinación incluyen una familia de compuestos que tienen un resto epoxi condensado al anillo "C" del núcleo esteroidal. Son especialmente preferidos compuestos de 20-espiroxano caracterizados por la presencia de un resto epoxi sustituido en 9a,11a. La Tabla I siguiente describe una serie de compuestos 9a,11a-epoxi-esteroidales que pueden ser utilizados en la terapia de combinación. Estos epoxi-esteroides se pueden preparar por procedimientos descritos en la Patente U.S. No. 4.559.332 otorgada a Grob *et al.*, expedida el 17 de diciembre de 1985.

TABLA I: Antagonista del Receptor de Aldosterona

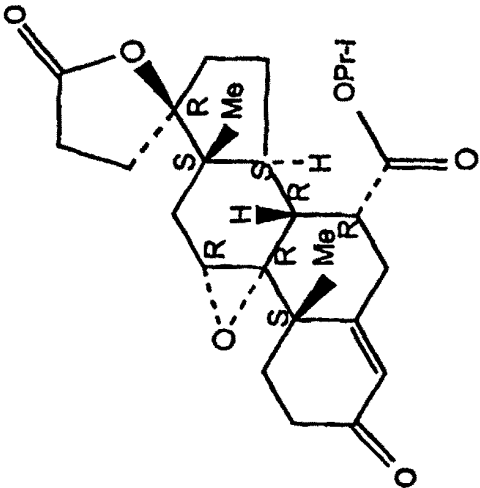
Compuesto #	Estructura	Nombre
11		Ácido pregn-4-eno-7,21-dicarboxílico, 9,11-epoxi-17-hidroxi-3-oxo-, γ-lactona, éster 1-metiletilico (7α,11α,17β)-

TABLA I: Antagonista del Receptor de Aldosterona

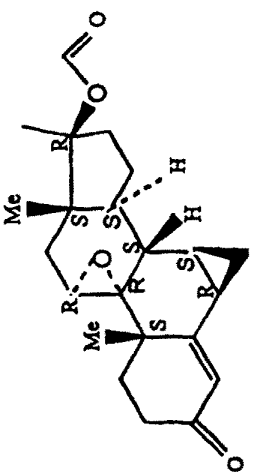
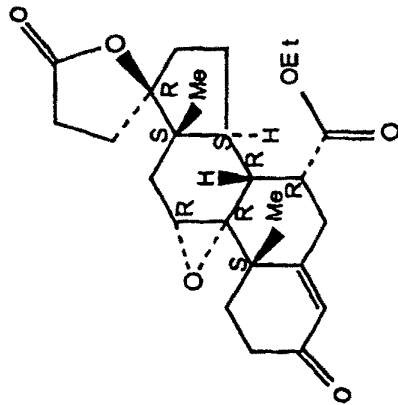
Compuesto #	Estructura	Nombre
9		Ácido 3'H-ciclopropa[6,7]-pregna-1,4,6-trieno-21-carboxílico, 9,11-epoxi-6,7-dihidro-17-hidroxi-3-oxo-, γ -lactona (6 β ,7 β ,11 α ,17 β)-
10		Ácido pregn-4-eno-7,21-dicarboxílico, 9,11-epoxi-17-hidroxi-3-oxo, γ -lactona, éster etílico, (7 α ,11 α ,17 β)-

TABLA I: Antagonista del Receptor de Aldosterona

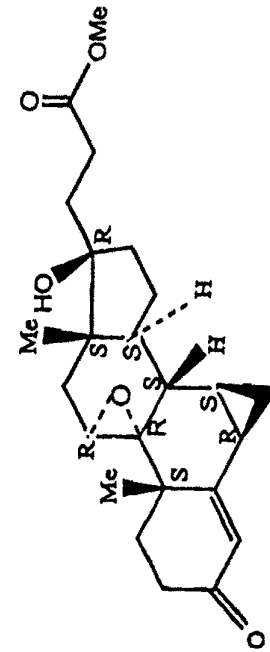
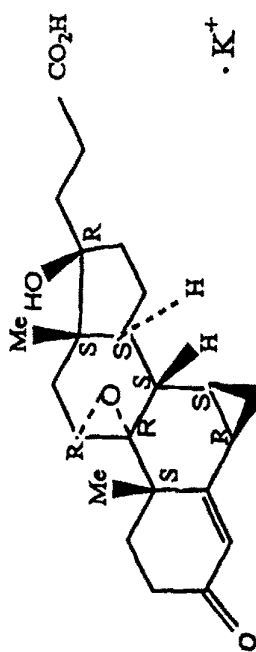
Compuesto #	Estructura	Nombre
7		Ácido 3'H-ciclopropa[6,7]-pregna-4,6-dieno-21-carboxí-líco, 9,11-epoxi-6,7-dihidro-17-hidroxi-3-oxo-, éster metílico, (6β,7β,11α,17β)-
8		Ácido 3'H-ciclopropa[6,7]-pregna-4,6-dieno-21-carboxí-líco, 9,11-epoxi-6,7-dihidro-17-hidroxi-3-oxo-, sal monopotásica (6β,7β,11α,17β)-

TABLA I: Antagonista del Receptor de aldosterona

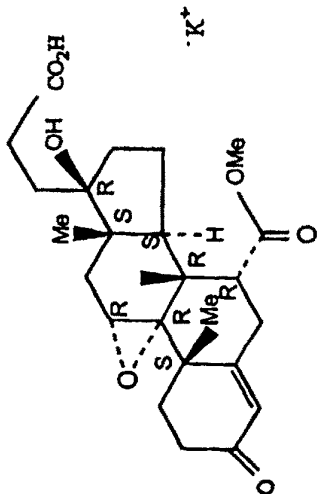
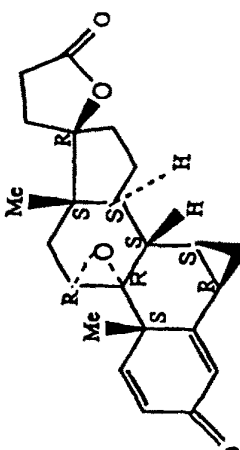
Compuesto #	Estructura	Nombre
5		Ácido pregn-4-eno-7,21-dicarboxílico, 9,11-epoxi-17-hidroxi-3-oxo-, éster 7-metiletilílico), sal monopotásica, (7 α , 11 α , 17 β) -
6		Ácido 3'H-ciclopropa[6,7]pregna-1,4,6-trieno-21-carboxílico, 9,11-epoxi-6,7-dihidro-17-hidroxi-3-oxo-, γ -lactona (6 β , 7 β , 11 α) -

TABLA I: Antagonista del Receptor de Aldosterona

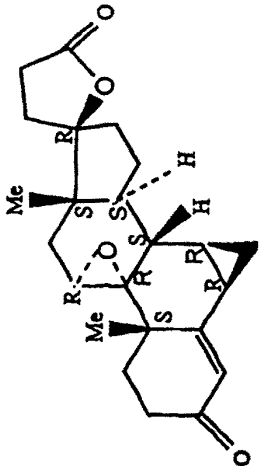
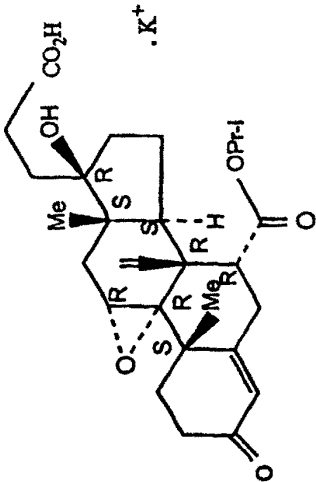
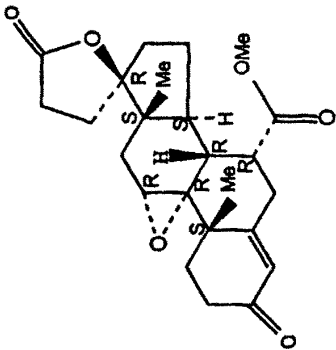
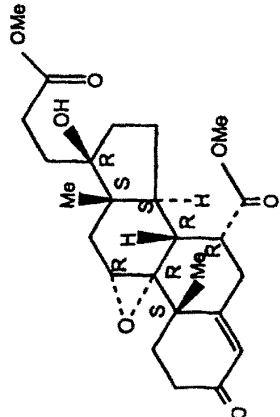
Compuesto #	Estructura	Nombre
3		Ácido 3'H,ciclopropa[6,7]pregna-4,6-dieno-21-carboxílico, 9,11-epoxi-6,7-dihidro-17-dihidroxi-3-oxo-, γ -lactona, (6 β ,7 β ,11 α ,17 β)-
4		Ácido pregn-4-eno-7,21-dicarboxílico, 9,11-epoxi-17-hidroxi-3-oxo-, éster 7-(1-metiletílico), sal monopotásica, (7 α ,11 α ,17 β)-

TABLA I: Antagonista del Receptor de Aldosterona

Compuesto #	Estructura	Nombre
1		Ácido pregn-4-eno-7,21-dicarboxílico, 9,11-epoxi-17-hidroxi-3-oxo-, γ -lactona, éster metílico), (7 α ,11 α ,17 β)-
2		Ácido pregn-4-eno-7,21-dicarboxílico, 9,11-epoxi-17-hidroxi-3-oxo-, éster dimetílico), (7 α ,11 α ,17 β)-

ES 2 265 437 T3

En otra realización, el antagonista del receptor de aldosterona es distinto de un antagonista epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona, tal como espironolactona. Tales compuestos antagonistas del receptor de aldosterona de tipo espirolactona exentos de epóxido se describen en el documento WO 96/40258, que se incorpora en esta memoria por referencia. Realizaciones correspondientes incluyen composiciones farmacéuticas, métodos de tratamiento y kits, en los cuales el antagonista del receptor de aldosterona es distinto de un antagonista epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona.

La Tabla 2 siguiente describe compuestos antagonistas beta-adrenérgicos que pueden utilizarse en la terapia de combinación. Cada documento de patente publicado enumerado en la Tabla 2 describe la preparación química del compuesto antagonista beta-adrenérgico asociado así como las propiedades biológicas de dicho compuesto. El contenido de cada uno de estos documentos de patente se incorpora en esta memoria por referencia.

TABLA 2

COMPUESTOS	NÚMEROS CAS PARA COMPUESTOS ESPECÍFICOS Y REPRESENTATIVOS	REFERENCIA
Ace 9369	102203-23-6	EP 53435, American Critical Care
acebutolol	37517-30-9 34381-68-5	3726919, Aventis
AMO-140		AMRAD Corp Ltd
amosulalol	85320-68-9 70958-86-0	136103, Yamanouchi
Arotinolol	68377-92-4 104766-23-6	3932400, Sumitomo
Atenolol	29122-68-7 73677-19-7	1285038, AstraZeneca
Befunolol	39552-01-7 39543-79-8	1380129, Kaken Pharmaceutical
Betaxolol	63659-18-7 63659-19-8	4252984, Sanofi- Synthelabo
Bevantolol	59170-23-9	3857891, Warner-

ES 2 265 437 T3

COMPUESTOS	NÚMEROS CAS PARA COMPUESTOS ESPECÍFICOS Y REPRESENTATIVOS	REFERENCIA
	42864-78-8	Lambert
bisoprolol	66722-44-9 104344-23-2	1532380, Merck KGaA
bopindolol	62658-63-3 82857-38-3	4340541, Novartis
bucumolol	58409-59-9 36556-75-9	1263204, Sankyo
bunitrolol	34915-68-9 23093-74-5 29876-08-2	3940489, Boehringer Ingelheim
butofilolol	64552-17-6 88606-96-6 58930-32-8	1501632, Sanofi- Synthelabo
capsinolol		Kaohsiung Medical College
carazolol	57775-29-8	2240599, Hoffmann- La Roche
carteolol	51781-21-6 51781-06-7	3910924, Otsuka
carvedilol	72956-09-3	4920, Hoffmann-La Roche
celiprolol	56980-93-9 57470-78-7	1441359, Aventis
cloranolol	39563-28-5 54247-25-5	4310549, Richter
CP-331684		Pfizer Inc
Diprafenona		Helopharm
Ersentilida	128264-20-0	Berlex Laboratories Inc
Esmolol	103598-03-4	4387103, DuPont
Esprolol		Selectus Pharmaceuticals Inc
FR-172516		Fujisawa Pharmaceutical Co Ltd
Indenolol	60607-68-3 68906-88-7 30190-87-5	1290343, Yamanouchi
ISV-208		InSite Vision Inc
L-653328		Merck & Co Inc
Labetalol	32780-64-6 36894-69-6	4012444, Glaxo Wellcome
Landiolol	133242-30-5	EP-00397031, Ono Pharmaceutical Co Ltd
levobunolol	47141-42-4	3641152, Warner-

ES 2 265 437 T3

COMPUESTOS	NÚMEROS CAS PARA COMPUESTOS ESPECÍFICOS Y REPRESENTATIVOS	REFERENCIA
	27912-14-7	Lambert
levomoprolol	77164-20-6 5741-22-0 27058-84-0	15418, AstraZeneca
LM-2616	165337-66-6	L M College of Pharmacy
mepindolol	23694-81-7 56396-94-2	469002, Schering AG
metipranolol	22664-55-7	1206148, Spofa
metoprolol	37350-58-6 56392-17-7	Alza
nadolol	42200-33-9	4346106, Bristol- Myers Squibb
nebivolol	118457-14-0	145067, Johnson & Johnson
nifenalol	7413-36-7	950682, Sanofi- Synthelabo
nipradilol	81486-22-8 86247-86-1	42299, Kowa
nipradilol	81486-22-8 86247-86-1	42299, Kowa
penbutolol	38363-32-5 38363-40-5	1215751, Aventis
Pharmaprojects No 5279		Selectus Pharmaceuticals
propranolol	525-66-6 3506-09-0	Elan
S-atenolol		Sepracor Inc
SB-226552		WO-09504047, SmithKline Beecham plc
sotalol	3930-20-9 959-24-0	Bristol-Myers Squibb
SR-58894A	132017-03-9	Sanofi-Synthelabo
SR-59230A	174689-38-4	Sanofi-Synthelabo
talinolol	57460-41-0	ArzneimittelDresden
tertatolol	33580-30-2 34784-64-0	1308191, Servier
tilisolol	85136-71-6 62774-96-3	1501149, Nisshin Flour Milling
timolol	26921-17-5 26839-75-8	1253709, Merck & Co
TZC-5665		Teikoku Hormone Manufacturing Co Ltd
UK-1745		653426, Kowa

COMPUESTOS	NÚMEROS CAS PARA COMPUESTOS ESPECÍFICOS Y REPRESENTATIVOS	REFERENCIA
viskenit	66848-46-2	Novartis
xamoterol	81801-12-9	GB 2002748, AstraZeneca
YM-430		Yamanouchi Pharmaceutical Co Ltd

En una realización, el antagonista beta-adrenérgico se selecciona del grupo constituido por acebutolol, alprenolol, amosulolol, arotinolol, atenolol, befunolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, bucumolol, bucindolol, bunitrolol, butofilolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, cloranolol, indenolol, labetalol, levoprolol, mepindolol, metipranolol, metoprolol, nadolol, nebivolol, nifenalol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, propranolol, sotalol, timolol, topol y viskenit.

En otra realización, el antagonista beta-adrenérgico se selecciona del grupo constituido por Acc 9369, AMO-140, betaxolol, capsinolol, carazolol, CP-331684, diprafenona, ersentilida, esmolol, esprolol, Fr-172516, ISV-208, L-653328, laniolol, levobunolol, LM-2616, nipradilol, Pharmaprojects No 5279, S-atenolol, SB-226552, SR-58894A, SR-59230A, talinolol, tertatolol, tilisolol, TZC-5665, UK-1745, xamoterol, y YM-430.

La terapia de combinación de la invención podría ser útil en el tratamiento de una diversidad de trastornos circulatorios, con inclusión de trastornos cardiovasculares, tales como hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, fibrosis de miocardio e hipertrofia cardíaca. La terapia de combinación podría ser útil también con terapias combinadas. Por ejemplo, la terapia de combinación puede utilizarse en combinación con otros fármacos, tales como un diurético, para ayudar al tratamiento de la hipertensión. La terapia de combinación podría ser útil también con terapias adjuntas que comprenden tres o más compuestos seleccionados de uno o más antagonistas beta-adrenérgicos en combinación con uno o más antagonistas del receptor de aldosterona.

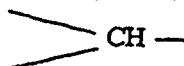
Estudios previos han demostrado que los antagonistas beta-adrenérgicos pueden utilizarse con éxito para tratar la hipertensión. En la insuficiencia cardíaca, este efecto reduce la carga de presión sobre el corazón bombeante, mejorando la eficiencia circulatoria. Sin embargo, este efecto sobre el miocardio da también como resultado una contracción reducida, que reduce la capacidad del corazón para bombear la sangre, contribuyendo así adicionalmente a la insuficiencia cardíaca. Como resultado de este y otros mecanismos, los antagonistas beta-adrenérgicos pueden tener efectos adversos sobre el corazón, empeorando los síntomas de los pacientes y conduciendo a una mortalidad incrementada. Este puede ser especialmente el caso cuando los pacientes sufren disfunción sistólica. Adicionalmente, el uso de antagonistas beta-adrenérgicos puede dar como resultado cambios metabólicos y activación de diversos factores neurohormonales.

Los niveles de aldosterona están elevados también en los pacientes con insuficiencia cardíaca. Además de los efectos patógenos de la aldosterona ya indicados, se ha encontrado también que la aldosterona inhibe la absorción y eliminación de catecolaminas en el miocardio. Esto da como resultado una estimulación adrenérgica cardíaca más alta, lo cual promueve el desarrollo de la insuficiencia cardíaca. El uso de un antagonista de aldosterona para tratar pacientes de este tipo, aumenta la tasa de absorción de catecolaminas, reduciendo la concentración cardíaca.

De acuerdo con ello, la coadministración del antagonista epoxi-esteroidal de aldosterona eplerenona mejora las consecuencias patógenas de un antagonista beta-adrenérgico por coacción de los dos compuestos activos.

Definiciones

El término "hidruro" designa un solo átomo de hidrógeno (H). Este grupo hidruro puede estar unido, por ejemplo, a un átomo de oxígeno para formar un grupo hidroxilo; o bien, como otro ejemplo, un grupo hidruro puede estar unido



a un átomo de carbono para formar un grupo CH_2 o bien, como otro ejemplo, dos átomos de hidruro pueden estar unidos a un átomo de carbono para formar un grupo $-\text{CH}_2-$. Donde se utiliza el término "alquilo", sea solo o dentro de otros términos tales como "haloalquilo" e "hidroxialquilo", el término "alquilo" abarca radicales lineales o ramificados que tienen uno a aproximadamente veinte átomos de carbono, o bien, preferiblemente, uno a aproximadamente doce átomos de carbono. Radicales alquilo más preferidos son radicales "alquilo inferior" que tienen uno a aproximadamente diez átomos de carbono. Son muy preferidos radicales alquilo inferior que tienen uno a aproximadamente cinco átomos de carbono. El término "cicloalquilo" abarca radicales cíclicos que tienen tres a aproximadamente diez átomos de carbono, preferiblemente tres a aproximadamente seis átomos de carbono, tales como ciclopropilo, ci-

clobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. El término “haloalquilo” abarca radicales en los cuales uno o cualquiera o más de los átomos de carbono de alquilo está sustituido con uno o más grupos halo, seleccionados preferiblemente de bromo, cloro y fluoro. Abarcados específicamente por el término “haloalquilo” se encuentran grupos monohaloalquilo, dihaloalquilo y polihaloalquilo. Un grupo monohaloalquilo, por ejemplo, puede tener un átomo de bromo, de cloro, o de flúor dentro del grupo. Los grupos dihaloalquilo y polihaloalquilo pueden estar sustituidos con dos o más grupos halo iguales, o pueden tener una combinación de grupos halo diferentes. Un grupo dihaloalquilo, por ejemplo, puede tener dos átomos de flúor, tal como los grupos difluorometilo y difluorobutilo, o dos átomos de cloro, tal como un grupo diclorometilo, o un átomo de flúor y un átomo de cloro, tal como un grupo fluoro-clorometilo. Ejemplos de un polihaloalquilo son trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, perfluoroetilo y grupos 2,2,3,3-tetrafluoropropilo.

El término “difluoroalquilo” abarca grupos alquilo que tienen dos átomos de flúor sustituidos en uno cualquiera o dos de los átomos de carbono del grupo alquilo. Los términos “alquilol” y “hidroxialquilo” abarcan grupos alquilo lineales o ramificados que tienen uno a aproximadamente diez átomos de carbono, uno cualquiera de los cuales puede estar sustituido con uno o más grupos hidroxilo. El término “alquenilo” abarca radicales lineales o ramificados que tienen dos a aproximadamente veinte átomos de carbono, preferiblemente tres a aproximadamente diez átomos de carbono, y que contienen al menos un enlace doble carbono-carbono, pudiendo tener dicho enlace doble carbono-carbono geometría *cis* o *trans* dentro del resto alquenilo. El término “alquinilo” abarca radicales lineales o ramificados que tienen dos a aproximadamente veinte átomos de carbono, preferiblemente dos a aproximadamente diez átomos de carbono, y que contienen al menos un enlace triple carbono-carbono. El término “cicloalquenilo” abarca radicales cíclicos que tienen tres a aproximadamente diez átomos de carbono que incluyen uno o más enlaces dobles que implican carbonos de anillos adyacentes. Los términos “alcoxi” y “alcoxialquilo” abarcan radicales lineales o ramificados que contienen oxi, cada uno de los cuales tiene porciones alquilo de uno a aproximadamente diez átomos de carbono, tales como grupo metoxi. El término “alcoxialquilo” abarca también radicales alquilo que tienen dos o más grupos alcoxi unidos al radical alquilo, a saber, para formar grupos monoalcoxialquilo y dialcoxialquilo. Los radicales “alcoxi” o “alcoxialquilo” pueden estar sustituidos adicionalmente con uno o más átomos halo, tales como fluoro, cloro o bromo, para proporcionar grupos haloalcoxi o haloalcoxialquilo. El término “alquiltio” abarca radicales que contienen un grupo alquilo lineal o ramificado, de uno a aproximadamente diez átomos de carbono unido a un átomo de azufre bivalente, tal como un grupo metiltio. Grupos arilo preferidos son los constituidos por uno, dos o tres anillos de benceno. El término “arilo” abarca radicales aromáticos tales como fenilo, naftilo y bifenilo. El término “aralquilo” abarca radicales alquilo sustituidos con arilo tales como bencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, feniletilo, fenilbutilo y difeniletilo. Los términos “bencilo” y “fenilmetilo” son intercambiables. Los términos “fenalquilo” y “fenilalquilo” son intercambiables. Un ejemplo de “fenalquilo” es “fenetilo”, que es intercambiable con “feniletilo”. Los términos “alquilarilo”, “alcoxiarilo” y “haloarilo” denotan, respectivamente, la sustitución de uno o más grupos “alquilo”, “alcoxi” y “halo”, respectivamente, sustituidos en un núcleo “arilo”, tal como un resto fenilo. Los términos “ariloxi” y “ariltio” denotan radicales proporcionados, respectivamente, por grupos arilo que tienen un átomo de oxígeno o azufre a través del cual el radical está unido a un núcleo, ejemplos de los cuales son fenoxi y feniltio. Los términos “sulfinilo” y “sulfonilo”, tanto si se utilizan solos como enlazados a otros términos, denotan, respectivamente, radicales bivalentes SO y SO₂. El término “aralcoxi”, solo o dentro de otro término, abarca un grupo arilo unido a un grupo alcoxi para formar, por ejemplo, benciloxi. El término “acilo”, tanto si se utiliza solo, como si se utiliza dentro de un término tal como aciloxi, denota un radical proporcionado por el residuo después de la eliminación de hidroxilo de un ácido orgánico, siendo ejemplos de dicho radical acetilo y benzoílo. “Alcanoílo inferior” es un ejemplo de una sub-clase de acilo más preferida. El término “amido” denota un radical constituido por un átomo de nitrógeno unido a un grupo carbonilo, pudiendo estar dicho radical sustituido adicionalmente de la manera descrita en esta memoria. El término “monoalquilaminocarbonilo” es intercambiable con “N-alquilamido”. El término “dialquilaminocarbonilo” es intercambiable con “N,N-dialquilamido”. El término “alquenilalquilo” denota un radical que tiene una insaturación de enlace doble entre dos carbonos, pudiendo estar constituido dicho radical por sólo dos carbonos o pudiendo estar sustituido adicionalmente con grupos alquilo que pueden contener opcionalmente insaturación adicional con enlaces dobles. El término “heteroarilo”, en los casos en que no se ha definido de otro modo anteriormente, abarca sistemas de anillos aromáticos que contienen uno o dos heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre en un sistema de anillos que tiene cinco o seis miembros de anillo, ejemplos de los cuales son tienilo, furanilo, piridinilo, tiazolilo, pirimidilo e isoxazolilo. Dicho heteroarilo puede estar unido como sustituyente a través de un átomo de carbono del sistema de anillos heteroarilo, o puede estar unido a través de un átomo de carbono de un resto sustituido en un átomo de carbono de un miembro de anillo heteroarilo, por ejemplo, a través del sustituyente metileno del resto imidazolmetilo. Asimismo, dicho heteroarilo puede estar unido a través de un átomo de nitrógeno del anillo con tal que la aromaticidad del resto heteroarilo se conserve después de la unión. Para cualquiera de los radicales definidos anteriormente, radicales preferidos son aquéllos que contienen de uno a aproximadamente diez átomos de carbono.

Ejemplos específicos de grupos alquilo son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, metilbutilo, dimetilbutilo y neopentilo. Grupos alquenilo y alquinilo típicos pueden tener un solo enlace insaturado, tal como un grupo alilo, o puede tener una pluralidad de enlaces insaturados, estando dicha pluralidad de enlaces o bien adyacentes, tales como las estructuras de tipo aleno, o en conjugación, o separados por varios carbonos saturados.

Se incluyen también en la combinación de la invención las formas isómeras de los compuestos antagonistas beta-adrenérgicos arriba descritos y los compuestos antagonistas epoxi-esteroidal del receptor de aldosterona es, con inclusión de diastereoisómeros, regioisómeros y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. El término “sales farmacéuticamente aceptables” abarca sales utilizadas comúnmente para formar sales de metal alcalino y formar sales de adición de ácidos libres o bases libres. La naturaleza de la sal no es crítica, con tal que la misma sea farmacéuticamente aceptable. Sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas se pueden preparar a partir de

un ácido inorgánico o de un ácido orgánico. Ejemplos de tales ácidos inorgánicos son los ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Ácidos orgánicos apropiados pueden seleccionarse de las clases de ácidos orgánicos carboxílicos y sulfónicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos y heterocíclicos, ejemplos de los cuales son los ácidos fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, p-hidroxibenzoico, salicílico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, pantoténico, bencenosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, mesílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algénico, b-hidroxibutírico, malónico, galactárico y galacturónico. Sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen sales metálicas producidas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc o sales orgánicas producidas a partir de N,N'-dibenciletilenodiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilenodiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaina. Todas estas sales se pueden preparar por medios convencionales a partir del compuesto correspondiente por reacción, por ejemplo, del ácido o base apropiado(a) con dicho compuesto.

15 *Mecanismo de Acción*

Sin pretender quedar ligados a un mecanismo específico de acción para la presente terapia de combinación, se supone que la administración de estos antagonistas del receptor de aldosterona y antagonistas beta-adrenérgicos seleccionados en combinación es eficaz debido a las respuestas simultáneas e interrelacionadas de tejidos y/u órganos a estas dos clases distintas de fármacos: regulación descendente marcada de los efectos genéticos estimulados por aldosterona en respuesta al antagonista de aldosterona e inhibición potente de la actividad beta-adrenérgica, en respuesta al antagonista beta-adrenérgico. Un ejemplo no limitante de un mecanismo interrelacionado podría ser una disminución en la rigidez vascular inducida por la aldosterona debida a efectos mecánicos, tales como fibrosis, combinada con los efectos vasodilatadores sobre la musculatura lisa vascular causados por el antagonismo beta-adrenérgico. Dicho efecto proporcionaría un beneficio cooperativo al uso terapéutico de un antagonista del receptor de aldosterona.

Ventajas de la Terapia de Combinación

Los antagonistas del receptor de aldosterona seleccionados y antagonistas beta-adrenérgicos de la presente invención actúan en combinación para proporcionar un beneficio más que aditivo. Por ejemplo, la administración de una combinación de un antagonista del receptor de aldosterona y un antagonista beta-adrenérgico puede dar como resultado la reducción casi simultánea de los efectos patógenos de factores de riesgo múltiples para aterosclerosis, tales como niveles altos de aldosterona, presión sanguínea elevada, disfunción endotelial, formación y ruptura de la placa, etc.

Los métodos de esta invención hacen posible también la profilaxis y/o el tratamiento eficaces de condiciones patológicas con efectos secundarios reducidos comparados con los métodos convencionales conocidos en la técnica. Por ejemplo, la administración de antagonistas beta-adrenérgicos puede dar como resultado efectos secundarios tales como, pero sin carácter limitante, hipotensión, fatigabilidad, insomnios, mareo o síncope, disnea, impotencia, broncoespasmo, braquicardia y bloqueo cardíaco. La reducción de las dosis del antagonista beta-adrenérgico en la presente terapia de combinación por debajo de las dosis monoterapéuticas convencionales minimizará, o incluso eliminará, el perfil del efecto secundario asociado con la presente terapia de combinación con relación a los perfiles de efectos secundarios asociados con, por ejemplo, la administración monoterapéutica de antagonistas beta-adrenérgicos. Los efectos secundarios asociados con los antagonistas beta-adrenérgicos son típicamente dependientes de la dosis y, por consiguiente, su incidencia aumenta a dosis mayores. De acuerdo con ello, dosis eficaces inferiores de antagonistas beta-adrenérgicos darán como resultado menos efectos secundarios que los observados con dosis mayores de los antagonistas beta-adrenérgicos en la monoterapia, o reducirán la severidad de dichos efectos secundarios. Adicionalmente, el uso de un antagonista de aldosterona puede proporcionar un beneficio directo en la prevención o el tratamiento de estos efectos secundarios.

Otros beneficios de la presente terapia de combinación incluyen, pero sin carácter limitante, el uso de un grupo seleccionado de antagonistas del receptor de aldosterona que proporcionan una aparición relativamente rápida del efecto terapéutico y una duración de acción relativamente larga. Por ejemplo, una dosis simple de uno de los antagonistas del receptor de aldosterona seleccionados puede mantenerse asociada con el receptor de aldosterona de una manera que puede proporcionar un bloqueo sostenido de la activación de receptores mineralocorticoides. Otro beneficio de la presente terapia de combinación incluye, pero sin carácter limitante, el uso del antagonista epoxi-esteroidal de aldosterona eplerenona, que actúa como antagonista de aldosterona altamente selectivo, con efectos secundarios reducidos que pueden ser causados por los antagonistas de aldosterona que exhiben fijación no selectiva a receptores no-mineralo-corticoides, tales como receptores de andrógenos o de progesterona.

Beneficios adicionales de la presente terapia de combinación incluyen, pero sin carácter limitante, el uso de un método para tratar individuos que pertenecen a uno o más grupos étnicos específicos que son particularmente sensibles a los regímenes terapéuticos expuestos. Así, por ejemplo, individuos de ascendencia africana o asiática pueden beneficiarse particularmente de la terapia de combinación de un antagonista de aldosterona y un antagonista beta-adrenérgico para tratar o prevenir un trastorno cardiovascular.

Evaluación biológica

La insuficiencia cardiaca congestiva humana (CHF) es una afección compleja iniciada usualmente por hipertensión vascular o un infarto de miocardio (MI). Con objeto de determinar la eficacia probable de una terapia e combinación para CHF, es importante determinar la potencia de los componentes en varios ensayos. De acuerdo con ello, en los Ensayos "A" y "B" puede determinarse la actividad del antagonista beta-adrenérgico. En los Ensayos "C" y "D" se describe un método para evaluar una terapia de combinación de la invención, a saber, un antagonista beta-adrenérgico y un antagonista del receptor de aldosterona epoxi-esteroidal. La eficacia de los fármacos individuales, eplerenona y un antagonista beta-adrenérgico, y de estos fármacos administrados juntos a diversas dosis, se evalúa en modelos de hipertensión y CHF en roedores utilizando alteraciones quirúrgicas para inducir hipertensión o un MI. Los métodos de tales ensayos se describen a continuación.

Adicionalmente, pueden utilizarse pruebas clínicas para evaluar la terapia antagonista de aldosterona en humanos. Numerosos ejemplos de tales ensayos terapéuticos han sido publicados, con inclusión de los expuestos en el estudio RALES 003 descrito en el American Journal of Cardiology 78, 902-907 (1996) o el estudio RALES 004 descrito en el New England Journal of Medicine 341, 709-717 (1999).

Ensayo A

20 *Respuesta in vitro de la Musculatura Lisa Vascular*

Aortas torácicas, extirpadas de ratas Sprague-Dawley macho (350-550 g), se diseccionan para dejarlas libres del tejido conectivo circundante, y se cortan en segmentos anulares de 2-3 mm de longitud cada uno. Los anillos de musculatura lisa se montan para registro isométrico de la tensión en un baño de órganos lleno con 10 ml de solución Krebs-Henseleit (K-H, pH 7,4). Esta solución de baño se mantiene a 37°C y se borbotea con 95% O₂/5 CO₂. Las tiras se estiran hasta una tensión de 2 g y se deja que alcancen el equilibrio. Los cambios isométricos de tensión se observan utilizando un transductor isométrico y se registran en un registrador potenciométrico. Se produce una precontracción por adición de una catecolamina o por cambio de la solución a K⁺ 30 mM. La contracción se mantiene durante 30 min, y la preparación se lava con solución Krebs-Henseleit. Después de 60 minutos, se induce contracción del mismo modo que se ha descrito arriba. Subsiguientemente se añade un compuesto de ensayo para obtener una curva concentración-respuesta. Tomando el valor de precontracción como 100%, la concentración del fármaco para la cual la contracción se relaja a 50% es el valor CI₅₀.

Ensayo B

35 *Respuesta in vivo del Ensayo de Presores Intragástricos*

Ratas Sprague-Dawley macho con un peso de 225-300 gramos se anestesian con metohexital (30 mg/kg, i.p.) y se implantaron catéteres en la arteria y la vena femorales. Los catéteres se introdujeron a través de un túnel subcutáneo con salida dorsal, en la parte posterior de la cabeza y entre las escápulas. Los catéteres se llenan con heparina (1000 unidades/ml de solución salina). Las ratas se devuelven a su jaula y acceso discrecional a comida equilibrada para ratas y agua *ad libitum*. Después de recuperación total de la cirugía (3-4 días), las ratas se colocan en recipientes Lucite y la línea arterial se conecta a un transductor de presión. Se registra la presión arterial en un polígrafo Gould (mmHg). Se administra epinefrina o norepinefrina como un bolus de 30 ng/kg a través del catéter venoso suministrado en un volumen de 50 µl con un lavado de 0,2 ml de solución salina. La respuesta presora en mmHg se mide por la diferencia entre la presión arterial pre-inyección y la presión máxima alcanzada. Se repite la inyección de catecolamina cada 10 minutos hasta que 3 inyecciones consecutivas proporcionan respuestas dentro de 4 mmHg unas de otras. Estas 3 respuestas se promedian luego y representan la respuesta de control a las catecolaminas. El compuesto de ensayo se suspende en metilcelulosa al 0,5% en agua y se administra mediante sonda esofágica. El volumen administrado es 2 ml/kg de peso corporal. Se administran inyecciones de catecolamina en bolus a los 30, 45, 60, 75, 120, 150, y 180 minutos después de la aplicación de la sonda esofágica. La respuesta presora al catecolamina se mide en cada momento. Las ratas se devuelven luego a su jaula para ensayos futuros. Se deja un mínimo de 3 días entre ensayos. Se calcula el porcentaje de inhibición para cada momento después de la aplicación de la sonda esofágica por la fórmula siguiente: [(Respuesta de Control - Respuesta en el Momento)/Respuesta de Control] x 100.

Ensayo "C"

Modelo de la Rata Hipertensa

Ratas macho se hacen hipertensas poniendo un clip de plata con una abertura de 240 micrómetros en la arteria renal izquierda, dejando el riñón contralateral intacto. Los controles falsos se someten al mismo procedimiento pero sin fijación del clip. Una semana antes de la cirugía, los animales que van a hacerse hipertensos se dividen en grupos separados y se inicia el tratamiento con el fármaco. A los diversos grupos de animales se administra vehículo, antagonista beta-adrenérgico solo, eplerenona sola, y combinaciones de antagonista beta-adrenérgico y eplerenona a diversas dosis:

ES 2 265 437 T3

	Combinación de			
	Antagonista Beta-adrenérgico (mg/Kg/día)	Eplerenoma (mg/Kg/día)	Antagonista Beta-adrenérgico (mg/Kg/día)	Eplerenoma (mg/Kg/día)
5	3	5	3	5
		20	3	20
		50	3	50
10		100	3	100
		200	3	200
	10	5	10	5
		20	10	20
15		50	10	50
		100	10	100
	30	200	10	200
		5	30	5
20		20	30	20
		50	30	50
		100	30	100
		200	30	200

Después de 12 a 24 semanas, se evalúan la presión sanguínea sistólica y diastólica, la presión diastólica final del ventrículo izquierdo, la relación dP/dt del ventrículo izquierdo, y la frecuencia cardiaca. Se extirpan los corazones, se pesan, se miden y se fijan en formalina. Se evalúa el contenido de colágeno de las secciones cardiacas utilizando análisis computerizado de imágenes de secciones teñidas con picrosirius. Sería de esperar que las ratas tratadas con una terapia de combinación de componentes antagonista beta-adrenérgico y eplerenona, en comparación con las ratas tratadas con cualquiera de los componentes solo, exhiban mejoras en la eficiencia cardiaca.

Ensayo "D"

Modelo de Infarto de Miocardio en la Rata

Se anestesian ratas macho y se exterioriza el corazón después de toracotomía del lado izquierdo. Se liga la arteria coronaria descendente anterior izquierda con una sutura. Se cierra el tórax y se deja que se recupere el animal. Los animales falsamente tratados tienen la sutura atravesada sin ligación. Una semana antes de la cirugía, los animales que van a sufrir el infarto se dividen en grupos separados y se inicia el tratamiento con el fármaco. A los diversos grupos de animales se administra vehículo, antagonista beta-adrenérgico solo, eplerenona sola, y combinaciones de antagonista beta-adrenérgico y eplerenona, diversas dosis, como sigue:

	Combinación de			
	Antagonista Beta-adrenérgico (mg/Kg/día)	Eplerenoma (mg/Kg/día)	Antagonista Beta-adrenérgico (mg/Kg/día)	Eplerenoma (mg/Kg/día)
45	3	5	3	5
50		20	3	20
		50	3	50
		100	3	100
		200	3	200
55	10	5	10	5
		20	10	20
		50	10	50
		100	10	100
60	30	200	10	200
		5	30	5
		20	30	20
		50	30	50
65		100	30	100
		200	30	200

ES 2 265 437 T3

Después de 6 semanas, se evalúan la presión sanguínea sistólica y diastólica, la presión diastólica final del ventrículo izquierdo, la relación dp/dt del ventrículo izquierdo, y la frecuencia cardíaca. Se extirpan los corazones, se pesan, se miden y se fijan en formalina. Se evalúa el contenido de colágeno de las secciones cardíacas utilizando análisis computerizado de imágenes de secciones teñidas con picrosirius. Sería de esperar que las ratas tratadas con una terapia de combinación de componentes antagonista beta-adrenérgico y eplerenona, en comparación con las ratas tratadas con cualquiera de los componentes solo, exhiban mejoras en la eficiencia cardíaca.

La administración del antagonista beta-adrenérgico y el antagonista del receptor de aldosterona puede tener lugar secuencialmente en formulaciones separadas, o puede realizarse por administración simultánea en una sola formulación o en formulaciones separadas. La administración puede realizarse por vía oral, o por inyecciones intravenosas, intramusculares o subcutáneas. La formulación puede tener la forma de un bolus, o representarse en forma de soluciones o suspensiones isotónicas estériles de inyección acuosas o no acuosas. Estas soluciones y suspensiones se pueden preparar a partir de polvos o gránulos estériles que tienen uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, o un aglutinante tal como gelatina o hidroxipropil-metil-celulosa, junto con uno o más de un lubricante, conservante, agente tensioactivo o dispersante.

Para administración oral, la combinación farmacéutica puede encontrarse en la forma de, por ejemplo, una tableta, cápsula, suspensión o líquido. La composición farmacéutica se realiza preferiblemente en la forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad particular del ingrediente activo. Ejemplo de tales unidades de dosificación son tabletas o cápsulas. Estas pueden contener ventajosamente una cantidad de cada ingrediente activo desde aproximadamente 1 a 250 mg, con preferencia desde aproximadamente 25 a 150 mg. Una dosis diaria adecuada para un mamífero puede variar ampliamente dependiendo del estado del paciente y otros factores. Sin embargo, puede ser apropiada una dosis de aproximadamente 0,01 a 30 mg/kg de peso corporal, en particular desde aproximadamente 1 a 15 mg/kg de peso corporal.

Los ingredientes activos pueden administrarse también por inyección como una composición en la cual, por ejemplo, se pueden utilizar solución salina, dextrosa o agua como vehículo adecuado. Una dosis diaria adecuada de cada componente activo es de aproximadamente 0,01 a 15 mg/kg de peso corporal inyectado al día en dosis múltiples dependiendo de la enfermedad que se esté tratando. Una dosis diaria preferida sería desde aproximadamente 1 a 10 mg/kg de peso corporal. Los compuestos indicados para terapia profiláctica se administrarán preferiblemente en una dosis diaria comprendida por regla general en un intervalo que va desde aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 15 mg por kilogramo de peso corporal al día. Una dosis más preferida estaría comprendida dentro de un intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 15 mg por kilogramo de peso corporal. Es muy preferida una dosis comprendida en un intervalo que va desde aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal al día. Una dosis adecuada puede administrarse en sub-dosis múltiples al día. Estas sub-dosis se pueden administrar en formas de dosificación unitarias. Típicamente, una dosis o sub-dosis puede contener desde aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg de compuesto activo por forma de dosificación unitaria. Una dosificación más preferida contendrá desde aproximadamente 2 mg a aproximadamente 50 mg de compuesto activo por forma de dosificación unitaria. Es muy preferida una forma de dosificación que contiene desde aproximadamente 3 mg a aproximadamente 25 mg de compuesto activo por dosis unitaria.

En terapia de combinación, el antagonista beta-adrenérgico puede estar presente en un intervalo de dosis, dependiendo del antagonista particular utilizado, la potencia inherente, la biodisponibilidad y la labilidad metabólica de la composición y de si se ha formulado para liberación inmediata o liberación prolongada. Ejemplos no limitantes de intervalos de la forma de dosificación para antagonistas beta-adrenérgicos específicos se enumeran a continuación:

Compuestos	Forma de dosificación	Intervalo de concentración
Carvedilol	Tableta/cápsula, oral	3,125-25mg
Metoprolol	Inyectable	1,0 mg/ml
Metoprolol	Tableta/cápsula, oral	25-200 mg
Bisoprolol	Tableta/cápsula, oral	2,5-10 mg
Propranolol	Inyectable	1 mg/ml
Propranolol	Tableta/cápsula, oral	10-160 mg
Esmolol	Inyectable	10-250 mg/ml

ES 2 265 437 T3

(Continuación)

Compuestos	Forma de dosificación	Intervalo de concentración
Acebutolol	Tableta/cápsula, oral	200-400 mg
Sotalol	Tableta/cápsula, oral	80-240 mg
Labetalol	Inyectable	5,0 mg/ml
Labetalol	Tableta/cápsula, oral	10-300 mg

En la terapia de combinación, el antagonista del receptor de aldosterona puede estar presente en una cantidad comprendida en un intervalo que va desde aproximadamente 5 mg a aproximadamente 400 mg, y el antagonista beta-adrenérgico puede estar presente en una cantidad comprendida en un intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 200 mg, que representa relaciones de antagonista de aldosterona a antagonista beta-adrenérgico comprendidas entre aproximadamente 400:1 y aproximadamente 1:40.

En una terapia de combinación preferida, el antagonista del receptor de aldosterona puede estar presente en una cantidad comprendida en un intervalo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg, y el antagonista beta-adrenérgico puede estar presente en una cantidad comprendida en un intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 100 mg, lo que representa relaciones de antagonista de aldosterona a antagonista beta-adrenérgico comprendidas entre aproximadamente 40:1 y aproximadamente 1:10.

En una terapia de combinación más preferida, el antagonista del receptor de aldosterona puede estar presente en una cantidad comprendida en un intervalo de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 100 mg, y el antagonista beta-adrenérgico puede estar presente en una cantidad comprendida en un intervalo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 80 mg, lo que representa relaciones de antagonista de aldosterona a antagonista beta-adrenérgico comprendidas entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 1:4.

El régimen de dosificación para tratar una condición de enfermedad con la terapia de combinación de esta invención se selecciona de acuerdo con una diversidad de factores, que incluyen el tipo, la edad, el peso, el sexo y el estado médico del paciente, la gravedad de la enfermedad, la ruta de administración, y el compuesto particular empleado, y por consiguiente pueden variar ampliamente.

Para propósitos terapéuticos, los componentes activos de esta invención de terapia de combinación se combinan ordinariamente con uno o más adyuvantes apropiados para la ruta de administración indicada. Si se administran *per os*, los componentes pueden mezclarse con lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, alquil-ésteres de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de los ácidos fosfórico y sulfúrico, gelatina, goma arábiga, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y/o poli(alcohol vinílico), y convertirse luego en tabletas o en cápsulas para administración conveniente. Tales cápsulas o tabletas pueden contener una formulación de liberación controlada como puede ser proporcionada en una dispersión de compuesto activo en hidroxipropilmetil-celulosa. Las formulaciones para administración parenteral pueden encontrarse en la forma de soluciones o suspensiones de inyección isotónicas estériles acuosas o no acuosas. Estas soluciones y suspensiones se pueden preparar a partir de polvos o gránulos estériles que tienen uno o más de los vehículos o diluyentes mencionados para uso en las formulaciones para administración oral. Los componentes pueden disolverse en agua, polietilenglicol, propilen-glicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro de sodio, y/o diversos tampones. Otros adyuvantes y modos de administración son bien y ampliamente conocidos en la técnica farmacéutica.

La presente invención comprende adicionalmente kits que son adecuados para el uso en la realización de los métodos de tratamiento y/o profilaxis arriba descritos. En una realización, el kit contiene una primera forma de dosificación que comprende eplerenona y opcionalmente uno o más de los antagonistas epoxi-esteroidales de aldosterona identificados previamente y una segunda forma de dosificación que comprende un antagonista beta-adrenérgico identificado en la Tabla 2 en cantidades suficientes para realizar los métodos de la presente invención. Preferiblemente, la primera forma de dosificación y la segunda forma de dosificación comprenden juntas una cantidad terapéuticamente eficaz de los inhibidores.

Formas en Estado Sólido de Antagonistas Epoxi-Esteroidales de Aldosterona

Los métodos de la presente invención abarcan la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de eplerenona en cualquiera de sus formas de estado sólido, sea como una o más formas de estado sólido *per se* o en la forma de una composición farmacéutica que comprende una o más formas de eplerenona en estado sólido. Estas nuevas formas de estado sólido incluyen, pero sin carácter limitante, eplerenona cristalina solvatada, eplerenona cristalina no solvatada, y eplerenona amorfa.

ES 2 265 437 T3

En una realización, la eplerenona administrada de acuerdo con los métodos de la presente invención es una forma cristalina no solvatada de eplerenona que tiene el espectro de difracción en polvo de rayos X expuesto a continuación en la Tabla 1A (a la que se hace referencia en esta memoria como el “polimorfo de punto de ebullición más alto” o “Forma H”).

En otra realización, la eplerenona se administra en la forma de una composición farmacéutica en la cual la cantidad total de eplerenona contenida en la composición está presente como Forma H en fase pura.

En otra realización, la eplerenona se administra en la forma de una composición farmacéutica en la cual la cantidad total de eplerenona contenida en la composición está presente como Forma L en fase pura.

En otra realización, la eplerenona se administra en la forma de una composición farmacéutica en la cual la cantidad total de eplerenona contenida en la composición está presente como una eplerenona cristalina solvatada en fase pura.

En otra realización, la eplerenona se administra en la forma de una composición farmacéutica en la cual la cantidad total de eplerenona contenida en la composición está presente como eplerenona amorfa.

En otra realización, la eplerenona se administra en la forma de una composición farmacéutica en la cual la composición comprende una primera forma de eplerenona en estado sólido y una segunda forma de eplerenona en estado sólido, y las formas primera y segunda de eplerenona en estado sólido se seleccionan de Forma H, Forma L, eplerenona solvatada y eplerenona amorfa. En general, la relación en peso de dicha primera forma en estado sólido a dicha segunda forma en estado sólido es con preferencia al menos aproximadamente 1:9, con preferencia aproximadamente 1:1, de modo más preferible al menos aproximadamente 2:1, de modo más preferible al menos aproximadamente 5:1, y de modo todavía más preferible al menos aproximadamente 9:1.

En otra realización, la eplerenona se administra en la forma de una composición farmacéutica en la cual la composición comprende a la vez Forma H y Forma L. La relación de la cantidad de Forma L a Forma H en la composición está comprendida por regla general entre aproximadamente 1:20 y aproximadamente 20:1. En otras realizaciones, por ejemplo, esta relación está comprendida entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 1:10; aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:5, aproximadamente 2:1 a aproximadamente 1:2, o aproximadamente 1:1.

Aunque cada una de las realizaciones anteriores puede abarcar la administración de una forma de eplerenona en estado sólido en un intervalo extenso de tamaños de partícula de eplerenona, se ha descubierto que el acoplamiento de la selección de la forma de eplerenona en estado sólido con una reducción del tamaño de partícula de la eplerenona puede mejorar la biodisponibilidad de la eplerenona no formulada y las composiciones farmacéuticas que comprenden dicha forma de eplerenona en estado sólido.

En una realización de este tipo, el tamaño de partícula D_{90} de la eplerenona no formulada o la eplerenona utilizada como material de partida en la composición farmacéutica es por regla general menor que aproximadamente 400 micrómetros, de modo preferible menor que aproximadamente 200 micrómetros, de modo más preferible menor que aproximadamente 150 micrómetros, de modo todavía más preferible menor que aproximadamente 100 micrómetros, y de modo todavía más preferible menor que aproximadamente 90 micrómetros. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 40 micrómetros y aproximadamente 100 micrómetros. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 30 micrómetros y aproximadamente 50 micrómetros. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 50 micrómetros y aproximadamente 150 micrómetros. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 75 micrómetros y aproximadamente 125 micrómetros.

En otra realización de este tipo, el tamaño de partícula D_{90} de la eplerenona no formulada o la eplerenona utilizada como material de partida en la composición farmacéutica es por regla general menor que aproximadamente 15 micrómetros, con preferencia menor que aproximadamente 1 micrómetro, de modo más preferible menor que aproximadamente 800 nm, de modo todavía más preferible menor que aproximadamente 600 nm, y de modo todavía más preferible menor que aproximadamente 400 nm. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 1 micrómetro. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 800 nm. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 200 nm y aproximadamente 600 nm. En otra realización, el tamaño de partícula D_{90} está comprendido entre aproximadamente 400 nm y aproximadamente 800 nm.

Las formas de estado sólido de eplerenona que tienen un tamaño de partícula menor que aproximadamente 15 micrómetros se pueden preparar de acuerdo con métodos aplicables de reducción del tamaño de partícula conocidos en la técnica. Dichos métodos incluyen, pero sin carácter limitante, los descritos en las patentes U.S. 5.145.684, 5.318.767, 5.384.124 y 5.747.001. Las patentes U.S. 5.145.684, 5.318.767, 5.384.124 y 5.747.001 se incorporan expresamente por referencia como si se expusieran en toda su extensión detalladamente. De acuerdo con el método de la patente U.S. 5.145.684, por ejemplo, se preparan partículas de tamaño adecuado por dispersión de la eplerenona en un medio de dispersión líquido y trituración húmeda de la mezcla en presencia de medios de trituración para reducir las partí-

culas al tamaño deseado. Si es necesario o ventajoso, el tamaño de las partículas puede reducirse en presencia de un modificador de la superficie.

Definiciones

El término “amorfo”, tal como se aplica a la eplerenona hace referencia a un estado sólido en el cual las moléculas de eplerenona están presentes en una disposición desordenada y no forman una red o celda unitaria cristalina distinguible. Cuando se somete a difracción en polvo de granos X, la eplerenona amorfa no produce ningún pico cristalino característico.

Cuando se hace referencia en esta solicitud al “punto de ebullición” de una sustancia o solución, el término “punto de ebullición” significa el punto de ebullición de la sustancia o solución en las condiciones aplicables del proceso.

El término “forma cristalina” tal como se aplica a la eplerenona, hace referencia a una forma en estado sólido en la cual las moléculas de eplerenona están dispuestas formando una red cristalina distinguible (i) que comprende celdas unitarias distinguibles, y (ii) que produce picos de difracción cuando se somete a difracción de rayos X.

El término “cristalización”, tal como se utiliza a lo largo de esta solicitud, puede hacer referencia a cristalización y/o recristalización dependiendo de las circunstancias aplicables en lo que respecta a la preparación del material de partida eplerenona.

El término “digestión” significa un proceso en el cual un lodo de eplerenona sólida en un disolvente o mezcla de disolventes se calienta a la temperatura del punto de ebullición del disolvente o mezcla de disolventes en las soluciones aplicables del proceso.

El término “cristalización directa”, tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a la cristalización de eplerenona directamente a partir de un disolvente adecuado sin la formación y desolvatación de una forma intermedia de eplerenona cristalina solvatada en estado sólido.

El término “tamaño de partícula”, tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia al tamaño de partícula tal como se mide por métodos convencionales de medida de tamaño de partícula bien conocidos en la técnica, tales como dispersión de luz láser, fraccionamiento de flujo en campo de sedimentación, espectroscopia de correlación fotónica, o centrifugación en disco. El término “tamaño de partícula D_{90} ” significa el tamaño de partícula de al menos 90% de las partículas tal como se mide por dichas técnicas convencionales de medida del tamaño de partícula.

El término “pureza” significa la pureza química de la eplerenona de acuerdo con el ensayo HPLC convencional. Tal como se utiliza en esta memoria, “eplerenona de baja pureza” significa generalmente eplerenona que contiene una cantidad eficaz de un promotor del crecimiento de la Forma H y/o un inhibidor del crecimiento de la Forma L. Tal como se utiliza en esta memoria, “eplerenona de alta pureza” significa generalmente eplerenona que no contiene, o contiene menos de una cantidad eficaz de un promotor del crecimiento de la Forma H y/o un inhibidor del crecimiento de la Forma L.

El término “pureza de fase” significa la pureza en estado sólido de la eplerenona con relación a una forma cristalina o amorfa particular de la eplerenona tal como se determina por los métodos analíticos de espectroscopia infrarroja descritos en esta memoria.

El término “XPRD” significa difracción en polvo de rayos X.

El término “ T_m ” significa temperatura de fusión.

Caracterización de una Forma de Estado Sólido

1. Conformación Molecular

El análisis de cristales simples por rayos X indica que la conformación molecular de eplerenona difiere entre la Forma H y Forma L, particularmente con respecto a la orientación del grupo éster en la posición 7 del anillo de esteroide. La orientación del grupo éster puede definirse por el ángulo de torsión C8-C7-C23-O2.

En la red cristalina de la Forma H, la molécula de eplerenona adopta una conformación en la cual el grupo metoxi del éster está alineado aproximadamente con el enlace C-H en la posición 7 y el grupo carbonilo está posicionado aproximadamente sobre el centro del anillo B del esteroide. El ángulo de torsión C8-C7-C23-O2 es aproximadamente $-73,0^\circ$ en esta confirmación. En esta orientación, el átomo de oxígeno del carbonilo del grupo éster (O1) está en contacto estrecho con el átomo de oxígeno del anillo de 9,11-epóxido (O4). La distancia O1-O4 es aproximadamente 2,97 Å, que es justamente inferior a la distancia de contacto van der Waals de 3,0 Å (suponiendo radios de van der Waals de 1,5 Å para el oxígeno).

ES 2 265 437 T3

En la red cristalina de la Forma L, la molécula de eplerenona adopta una conformación en la cual el grupo éster está girado aproximadamente 150° con relación al de la Forma H y tiene un ángulo de torsión C8-C7-C23-O2 de aproximadamente +76,9°. En esta orientación, el grupo metoxi del éster está dirigido hacia el segmento 4,5-alqueno del anillo A del esteroide. En esta orientación, la distancia entre cualquier átomo de oxígeno del grupo éster (O1, O2) y el átomo de oxígeno del anillo de 9,11-epóxido está incrementada con relación a la distancia determinada para la Forma H. la distancia O2-O4 es aproximadamente 3,04 Å, cayendo exactamente por encima de la distancia de contacto de van der Waals. La distancia O1-O4 es aproximadamente 3,45 Å.

La molécula de eplerenona parece adoptar una conformación característica de la Forma L en las formas cristalinas analizadas por difracción de rayos X de cristales simples hasta la fecha.

2. Difracción en Polvo de Rayos X

Las diversas formas cristalinas de eplerenona se analizaron con un difractómetro de polvo Siemens D5000 o un Difractómetro Multipurpose Inel. Para el difractómetro de polvo Siemens D500, los datos brutos se midieron para valores 2θ de 2 a 50, con pasos de 0,020 y periodos de paso de 2 segundos. Para el Difractómetro Multipurpose Inel, las muestras se dispusieron en un contenedor de muestras de aluminio y los datos brutos se recogieron durante 30 minutos simultáneamente para todos los valores dos theta.

Las Tablas 3, 4 y 5 exponen los parámetros significativos de los picos principales en términos de valores e intensidades 2θ para formas cristalinas de eplerenona de Forma H (preparada por desolvatación del solvato de etanol obtenido por digestión de eplerenona de baja pureza), Forma L (preparada por desolvatación del solvato de metil-etil-cetona obtenido por recristalización de eplerenona de alta pureza), y solvato de metil-etil-cetona (preparado por conversión de lodo a baja temperatura de eplerenona de alta pureza en metil-etil-cetona), respectivamente (radiación de rayos X a una longitud de onda de 1,54056 Angstroms).

Desplazamientos menores en el posicionamiento de los picos pueden estar presentes en los espectros de difracción de la Forma H y la Forma L como resultado de imperfecciones en el espaciamiento de los planos de difracción del cristal debidas a la ruta de fabricación de la Forma H y la Forma L (a saber, la desolvatación de un solvato). Adicionalmente, la Forma H se aísla a partir de un solvato preparado por digestión de eplerenona bruta. Este método da como resultado una pureza química global menor (aproximadamente 90%) de la Forma H. Finalmente, se espera que las formas solvatadas de eplerenona exhiban cierto desplazamiento en el posicionamiento de los picos de difracción debido a la movilidad incrementada de las moléculas de disolvente dentro de los canales de disolvente en la red cristalina.

TABLA 3

Datos de la forma H

Ángulo 2-theta	Separación d, Angstrom	Intensidad	Intensidad %
6.994	12.628	1188	7.2
8.291	10.655	2137	13
10.012	8.827	577	3.5
11.264	7.849	1854	11.3
12.04	7.344	7707	46.8
14.115	6.269	3121	19
14.438	6.13	15935	96.8
15.524	5.703	637	3.9
16.169	5.477	1349	8.2
16.699	5.305	1663	10.1
16.94	5.23	1692	10.3

ES 2 265 437 T3

TABLA 3 (continuación)

Ángulo 2-theta	Separación d, Angstrom	Intensidad	Intensidad %
17.147	5.167	2139	13
17.66	5.018	6883	41.8
17.91	4.949	16455	100
18.379	4.823	3106	18.9
18.658	4.752	1216	7.4
19.799	4.48	1499	9.1
20.235	4.385	383	2.3
21.707	4.091	1267	7.7
21.8	4.073	1260	7.7
21.959	4.044	1279	7.8
22.461	3.955	4264	25.9
23.191	3.832	1026	6.2
23.879	3.723	1000	6.1
24.599	3.616	1688	10.3
25.837	3.445	931	5.7
26.034	3.42	686	4.2
26.868	3.316	912	5.5
27.093	3.288	1322	8
27.782	3.209	1236	7.5
28.34	3.147	1845	11.2
28.861	3.091	957	5.8
29.866	2.9892	745	4.5
30.627	2.9166	992	6
31.108	2.8726	1205	7.3
33.215	2.6951	1287	7.8
33.718	2.656	802	4.9
34.434	2.6024	914	5.6

ES 2 265 437 T3

TABLA 4

Datos de la Forma L

5	Ángulo 2-theta	Separación d, Angstrom	Intensidad Cps	Intensidad %
	7.992	11.054	11596	26.6
10	10.044	8.799	12048	27.6
	11.206	7.889	4929	11.3
	12.441	7.109	1747	4
15	12.752	6.936	4340	9.9
	13.257	6.673	2444	5.6
20	14.705	6.019	43646	100
	15.46	5.727	2670	6.1
	15.727	5.63	7982	18.3
25	16.016	5.529	3519	8.1
	17.671	5.015	8897	20.4
30	17.9	4.951	2873	6.6
	18.352	4.83	612	1.4
	18.703	4.74	689	1.6
35	19.524	4.543	1126	2.6
	20.103	4.413	3753	8.6
40	20.63	4.302	1451	3.3
	21.067	4.214	876	2
	21.675	4.097	2760	6.3
45	22.232	3.995	1951	4.5
	22.652	3.922	1657	3.8
50	23.624	3.763	827	1.9
	24.279	3.663	1242	2.8
	25.021	3.556	5144	11.8
55	25.485	3.492	1702	3.9
	25.707	3.463	2493	5.7
60	26.251	3.392	1371	3.1
	26.85	3.318	1970	4.5
65	27.319	3.262	1029	2.4

ES 2 265 437 T3

TABLA 4 (continuación)

5	Ángulo 2-theta	Separación d, Angstrom	Intensidad Cps	Intensidad %
	27.931	3.192	440	1
	27.969	3.187	440	1
10	28.937	3.083	1128	2.6
	29.703	3.005	1211	2.8
	30.173	2.9594	1506	3.5
15	30.584	2.9206	1602	3.7
	30.885	2.8928	1550	3.6
20	31.217	2.8628	1068	2.4
	31.605	2.8285	1038	2.4
	32.059	2.7895	1211	2.8
25	32.64	2.7412	684	1.6
	32.747	2.7324	758	1.7
30	33.46	2.6759	506	1.2
	34.194	2.6201	1085	2.5
35	34.545	2.5943	915	2.1

TABLA 5

Datos de Metil-etil-cetona

40	Ángulo 2-theta	Separación d, Angstrom	Intensidad cps	Intensidad %
	7.584	11.648	5629	32.6
	7.753	11.393	15929	92.3
	10.151	8.707	2877	16.7
50	11.31	7.817	701	4.1
	12.646	6.994	1027	5.9
55	13.193	6.705	15188	88
	13.556	6.526	14225	82.4
	14.074	6.287	1966	11.4
60	14.746	6.002	2759	16
	15.165	5.837	801	4.6
65	15.548	5.694	1896	11

ES 2 265 437 T3

TABLA 5 (continuación)

	Ángulo 2-theta	Separación d, Angstrom	Intensidad cps	Intensidad %
5	17.031	5.202	7980	46.2
	17.28	5.127	17267	100
10	17.706	5.005	6873	39.8
	18.555	4.778	545	3.2
	18.871	4.699	1112	6.4
15	19.766	4.488	1704	9.9
	20.158	4.401	1396	8.1
20	20.725	4.282	2644	15.3
	21.787	4.076	1127	6.5
	22.06	4.026	451	2.6
25	22.864	3.886	542	8.9
	23.412	3.796	14185	82.2
30	23.75	3.743	1154	6.7
	24.288	3.662	3063	17.7
	25.253	3.524	1318	7.6
35	25.503	3.49	1736	10.1
	25.761	3.455	1225	7.1
40	26.176	3.402	1346	7.8
	26.548	3.355	1098	6.4
	27.357	3.257	1944	11.3
45	27.605	3.229	2116	12.3
	27.9	3.195	858	5
50	28.378	3.142	583	3.4
	28.749	3.103	763	4.4
	29.3	3.046	1182	6.8
55	29.679	3.008	2606	15.1
	30.402	2.9377	2184	12.6
60	30.739	2.9063	648	3.8

65 Ejemplos gráficos de los espectros de difracción de rayos X para la Forma H, la Forma L, y las formas cristalinas de solvato de metil-etil-cetona de eplerenona se muestran en las Figs. 1-A, 1-B, y 1-C, respectivamente. La Forma H exhibe picos distinguibles a $7,0 \pm 0,2$, $8,3 \pm 0,2$, y $12,0 \pm 0,2$ grados dos theta. La Forma L muestra picos distinguibles a $8,0 \pm 0,2$, $12,4 \pm 0,2$, $12,8 \pm 0,2$, y $13,3 \pm 0,2$ grados dos theta. La forma cristalina solvatada de metil-etil-cetona exhibe picos distinguibles a $7,6 \pm 0,2$, $7,8 \pm 0,2$, y $13,6 \pm 0,2$ grados dos theta.

3. Temperatura de Fusión/Descomposición

Las temperaturas de fusión y/o descomposición de las formas cristalinas no solvatadas de eplerenona se determinaron utilizando un calorímetro de barrido diferencial TA Instruments 2920. Cada muestra (1-2 mg) se dispuso en una bandeja de aluminio cerrada o sin cerrar y se calentó a 10°C/minuto. Los intervalos de fusión/descomposición se definieron desde el inicio extrapolado hasta el máximo de la endoterminia de fusión/descomposición.

La fusión de las formas de cristales de eplerenona no solvatadas (Forma H y Forma L) estaba asociada con descomposición química y pérdida de disolvente atrapado de la red cristalina. La temperatura de fusión/descomposición se veía afectada también por la manipulación del sólido antes del análisis. Por ejemplo, la Forma L no molida (tamaño de partícula D_{90} aproximado del orden de 180-450 micrómetros) preparada por recristalización directa a partir de un disolvente apropiado o por desolvatación de un solvato obtenido por cristalización de eplerenona de alta pureza en un disolvente o mezcla de disolventes apropiado(a) tenía por regla general un intervalo de fusión de aproximadamente 237-242°C. La Forma L molida (tamaño de partícula aproximado D_{90} del orden de 80-100 micrómetros) (Forma L preparada por cristalización de un solvato a partir de una solución de eplerenona de alta pureza en un disolvente o mezcla de disolventes apropiado(a), desolvatación del solvato para producir la Forma L, y molienda de la Forma L resultante) tenía generalmente un intervalo de fusión/descomposición inferior y más amplio, de aproximadamente 223-234°C. La Forma H no molida (tamaño de partícula D_{90} aproximado del orden de 180-450 micrómetros) preparada por desolvatación de un solvato obtenido por digestión de eplerenona de baja pureza tenía por regla general un intervalo de fusión/descomposición más alto, de aproximadamente 247-251°C. Ejemplos de los termogramas DSC de (a) Forma L no molida cristalizada directamente a partir de metil-etil-cetona, (b) Forma L no molida preparada por desolvatación de un solvato obtenido por cristalización de una eplerenona de alta pureza a partir de metil-etil-cetona, (c) Forma L preparada por molienda de un solvato desolvatado obtenido por cristalización de eplerenona de alta pureza a partir de metil-etil-cetona y (d) Forma H no molida preparada por desolvatación de un solvato obtenido por digestión de eplerenona de baja pureza a partir de metil-etil-cetona se dan en las Figuras 2-A, 2-B, 2-C y 2-D, respectivamente.

Los termogramas DSC de formas solvatadas de eplerenona se determinaron utilizando un calorímetro de barrido diferencial Perkin Elmer Pyris 1. Cada muestra (1-10 mg) se puso en un bandeja de aluminio sin cerrar y se calentó a 10°C/minuto. Uno o más sucesos endotérmicos a temperaturas inferiores se asociaron con cambios de entalpía que ocurrían a medida que se perdía disolvente de la red cristalina del solvato. La endoterminia o endotermias de temperatura máximas se asociaron con la fusión/descomposición de la eplerenona de Forma L o en Forma H. un ejemplo del termograma DSC para la forma cristalina solvatada en metil-etil-cetona de eplerenona se muestra en Fig. 2-E.

4. Espectroscopia de Absorción Infrarroja

Los espectros de absorción infrarroja de las formas no solvatadas de eplerenona (Forma H y Forma L) se obtuvieron con un espectrómetro Nicolet DRIFT (transformada de Fourier infrarroja de reflectancia difusa) Magna System 550. Se utilizaron un sistema Spectra-Tech Collector y una copa de micromuestra. Las muestras (5%) se analizaron en bromuro de potasio y se realizaron barridos desde 400 a 4000 cm^{-1} . Los espectros de absorción en el infrarrojo de eplerenona en solución clorofórmica diluida (3%) o en las formas cristalinas solvatadas se obtuvieron con un espectrofotómetro Bio-Rad FTS-45. Las muestras de solución clorofórmica se analizaron utilizando una celda de solución de 0,2 mm de recorrido con placas de sal cloruro de sodio. Los espectros FTIR del solvato se recogieron utilizando un accesorio IBM micro-MIR (reflectancia interna múltiple). Las muestras se barrieron desde 400 a 4000 cm^{-1} . Ejemplos de los espectros de absorción infrarrojos de (a) Forma H, (b) Forma L, (c) el solvato de metil-etil-cetona, y (d) eplerenona en solución clorofórmica se muestran en las Figuras 3-A, 3-B, 3-C y 3-D, respectivamente.

La Tabla 6 presenta bandas de absorción ilustrativas para eplerenona en la Forma H, la Forma L, y las formas cristalinas del solvato de metil-etil-cetona. Se muestran también para comparación las bandas de absorción ilustrativas para eplerenona en solución clorofórmica. Se observaron diferencias entre la Forma H y la Forma L o el solvato de metil-etil-cetona, por ejemplo, en la región de carbonilo del espectro. La Forma H tiene una tensión de éster-carbonilo de aproximadamente 1739 cm^{-1} , mientras que la Forma L y el solvato de metil-etil-cetona tienen la tensión correspondiente a aproximadamente 1724 y 1722 cm^{-1} , respectivamente. La tensión de éster-carbonilo aparece a aproximadamente 1727 cm^{-1} en la eplerenona en solución clorofórmica. El cambio en la frecuencia de la tensión del éster-carbonilo entre la Forma H y la Forma L refleja el cambio en orientación del grupo éster entre las dos formas cristalinas. Adicionalmente, la tensión del éster de la cetona conjugada en el anillo A del esteroide se desplaza desde aproximadamente 1664-1667 cm^{-1} en la Forma H o el solvato de metil-etil-cetona hasta aproximadamente 1655 cm^{-1} en la Forma L. La tensión de carbonilo correspondiente aparece aproximadamente a 1665 cm^{-1} en solución diluida.

Otra diferencia entre la Forma H y la Forma L se observó en la región del codo C-H. La Forma H tiene una absorción a aproximadamente 1399 cm^{-1} que no se observa en la Forma L, el solvato de metil-etil-cetona, o la eplerenona en solución clorofórmica. La tensión a 1399 cm^{-1} ocurre en la región del cizallamiento CH_2 para los grupos metileno C2 y C21 adyacentes a grupos carbonilo.

ES 2 265 437 T3

TABLA 6

Región de Absorción	Forma H (cm ⁻¹)	Forma L (cm ⁻¹)	Solvato de Metil-Etil-Cetona (cm ⁻¹)	Eplerenona en Cloroformo (cm ⁻¹)
V C=O(lactona)	1773	1775	1767	1768
V C=O(éster)	1739	1724	1722	1727
V C=O(3 ceto)	1664	1655	1667	1665
V C=O(3,4 olefina)	1619	1619	1622	1623
δ_{as} CH ₃ δ CH ₂ , δ CH ₂ (α respecto a carbonilo)	1460, 1444, 1426	1467, 1438, 1422	1467, 1438, 1422	1464, 1438, 1422
carbonilo)		1399		
δ_s CH ₃	1380	1381	aprox. 1380	1378

5. Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros ¹³C NMR se obtuvieron para un campo de 31,94 MHz. Ejemplos de los espectros ¹³C NMR de la eplerenona de Forma H y Forma L se muestran en las Figs. 4 y 5, respectivamente. La eplerenona de Forma H analizada para obtener los datos reflejados en Fig. 4 no era una fase pura e incluía una pequeña cantidad de eplerenona de Forma L. La Forma H se distingue muy claramente por las resonancias del carbono que se observan alrededor de 64,8 ppm, 24,7 ppm y 19,2 ppm. La Forma L se distingue muy claramente por las resonancias del carbono situadas alrededor de 67,1 ppm y 16,0 ppm.

6. Termogravimetría

El análisis termogravimétrico de los solvatos se realizó utilizando un analizador termogravimétrico TA Instruments TGA 2950. Las muestras se pusieron en una bandeja de aluminio sin cerrar bajo purga de nitrógeno. La temperatura inicial era 25°C, aumentando la temperatura a una tasa de aproximadamente 10°C/minuto. Un ejemplo del perfil del análisis termogravimétrico para el solvato de metil-etil-cetona se muestra en Fig. 6-A.

7. Parámetros de la Celdilla Unitaria

Las Tablas 7, 8 y 9 siguientes resumen los parámetros de la celda unitaria determinados para la Forma H, la Forma L, y varias formas cristalinas solvatadas.

TABLA 7

Parámetro	Forma H	Forma L	Solvato de metil-etil-cetona
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Monoclínico	Ortorrómbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
A	21,22 Å	8,78 Å	23,53 Å
B	15,40 Å	11,14 Å	8,16 Å
C	6,34 Å	11,06 Å	13,08 Å
A	90°	90°	90°
B	90°	93,52°	90°
Γ	90°	90°	90°

ES 2 265 437 T3

TABLA 7 (continuación)

Parámetro	Forma H	Forma L	Solvato de metil-etil-cetona
Z	4	2	4
Volumen (A)	2071,3	1081,8	2511,4
p (calculado)	1,329 g/cm ³	1,275 g/cm ³	1,287 g/cm ³
R	0,0667	0,062	0,088

TABLA 8

Parámetro	Solvato de Acetona	Solvato de Tolueno	Solvato de Acetato de Butilo ¹
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Ortorrómbico	Ortorrómbico
Grupo espacial	P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁	P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁	P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁
a	23,31 Å	23,64 Å	23,07 Å
b	13,13 Å	13,46 Å	13,10 Å
c	8,28 Å	8,16 Å	8,24 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°
Z 4	4	4	
Volumen (A)	2533,7	2596,6	2490,0
p (calculado)	1,239 g/cm ³	1,296 g/cm ³	1,334 g/cm ³
R	0,058	0,089	0,093

¹ Las moléculas de solvato no se refinaron completamente debido al desorden de las moléculas de disolvente en los canales.

TABLA 9

Parámetro	Solvato de Acetato de Isobutilo ¹	Solvato de Isopropanol ¹	Solvato de Etanol ¹
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Ortorrómbico	Ortorrómbico
Grupo espacial	P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁	P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁	P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁
a	23,19 Å	23,15 Å	23,51 Å
b	12,95 Å	12,73 Å	13,11 Å
c	8,25 Å	8,25 Å 8,27 Å	
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°

ES 2 265 437 T3

TABLA 9 (continuación)

Parámetro	Solvato de Acetato de Isobutilo ¹	Solvato de Isopropanol ¹	Solvato de Etanol ¹
Z	4	4	4
Volumen (A)	2476,4	2433,2	2548,6
p (calculado)	1,337 g/cm ³	1,296 g/cm ³	1,234 g/cm ³
R	0,098	0,152	0,067

¹ Las moléculas de solvato no se refinaron completamente debido al desorden de las moléculas de disolvente en los canales.

Información adicional sobre formas cristalinas solvatadas seleccionadas de eplerenona se presenta en la Tabla 10 siguiente. Los datos de la celda unitaria consignados en la Tabla 7 anterior para el solvato de metil-etil-cetona son también representativos de los parámetros de la celda unitaria para muchos de estos solvatos cristalinos de eplerenona adicionales. La mayoría de los solvatos cristalinos de eplerenona ensayados son sustancialmente isoestructurales unos a otros. Si bien puede existir cierto desplazamiento poco importante en los picos de difracción en polvo de rayos X de una forma cristalina solvatada a la siguiente debido al tamaño de la molécula del disolvente incorporada, los espectros de difracción globales son sustancialmente iguales y los parámetros de la celda unitaria y las posiciones moleculares son sustancialmente idénticos para la mayoría de los solvatos ensayados.

TABLA 10

Disolvente	Estequiometría (Disolvente; Eplerenona)	Isoestructural respecto al Solvato de Metil-Etil-Cetona?	Temperatura de Desolvatación ¹ (°C)
Metil-Etil-Cetona	1:1	N/A	89
2-Pentanona	---	---	---
Ácido acético	1:2	Sí	203
Acetona	1:1	Sí	117
Acetato de Butilo	1:2	Sí	108
Cloroformo	-	Sí	125
Etanol	1:1	Sí	166
Isobutanol	-	-	-
Acetato de Isobutilo	1:2	Sí	112
Isopropanol	1:1	Sí	121
Acetato de Metilo	1:1	Sí	103
Propionato de Etilo	1:1	Sí	122
n-Butanol	1:1	Sí	103
n-Octanol	-	Sí	116
n-Propanol	1:1	Sí	129
Acetato de propilo	1:1	Sí	130
Propilenglicol	---	Sí	188

TABLA 10 (continuación)

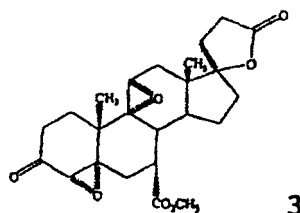
Disolvente	Estequiometría (Disolvente; Eplerenona)	Isoestructural respecto al Solvato de Metil-Etil-Cetona?	Temperatura de Desolvatación ¹ (°C)
t-Butanol	---	---	---
Tetrahidrofurano	1:1	Sí	136
Tolueno	1:1	Sí	83
Acetato de t-Butilo	---	Sí	109

¹ Definida como la temperatura de desolvatación extrapolada a partir del paso de pérdida de peso del disolvente final tal como se determina por análisis termogravimétrico a una tasa de calentamiento de 10°C/minuto bajo purga de nitrógeno. Sin embargo, las temperaturas de desolvatación pueden verse afectadas por el método de fabricación del solvato. Los diferentes métodos pueden producir números diferentes de sitios de formación de núcleos capaces de iniciar la desolvatación en el solvato a temperaturas inferiores.

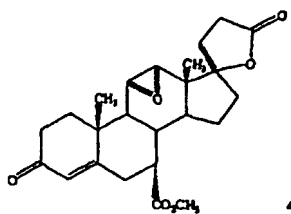
La celda unitaria del solvato está compuesta de cuatro moléculas de eplerenona. La estequiometría de las moléculas de eplerenona y las moléculas de disolvente en la celda unitaria se consigna también en la Tabla 10 anterior para cierto número de solvatos. La celda unitaria de la Forma H está compuesta de cuatro moléculas de eplerenona. La celda unitaria de la Forma L está compuesta de dos moléculas de eplerenona. Las celdas unitarias del solvato se convierten durante la desolvatación en celdas unitarias de Forma H y/o Forma L cuando las moléculas de eplerenona experimentan traslación y rotación para llenar los espacios dejados por las moléculas de disolvente. La Tabla 10 consigna también las temperaturas de desolvatación para cierto número de solvatos diferentes.

8. Propiedades Cristalinas de las Moléculas de Impureza

Las impurezas seleccionadas en eplerenona pueden inducir la formación Forma H durante la desolvatación del solvato. En particular, se evaluó el efecto de las dos moléculas de impureza siguientes: 7-metil-hidrógeno-4 α ,5 α :9 α ,11 α -diepoxi-17-hidroxi-3-oxo-17 α -pregnano-7 α ,21-dicarboxilato, γ -lactona 3 (“el diepóxido”); y 7-metil-hidrógeno-11 α ,12 α -epoxi-17-hidroxi-3-oxo-17 α ,pregn-4-eno-7 α ,21-dicarboxilato, γ -lactona 4 (“el 11,12-epóxido”).



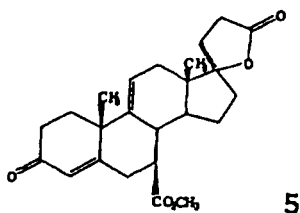
3



4

El efecto de estas moléculas de impureza sobre la forma cristalina de eplerenona resultante de la desolvatación se describe con mayor detalle en los ejemplos de esta solicitud.

Dada la semejanza en la estructura de los cristales simples de 7-metil-hidrógeno-17-hidroxi-3-oxo-17 α -pregna-4,9(11)-dieno-7 α ,21-dicarboxilato, γ -lactona 5 (la “9,11-olefina”) y la Forma H, se supone que la 9,11-olefina puede inducir también la formación Forma H durante la desolvatación del solvato.



5

El diepóxido, la 11,12-olefina y la 9,11-olefina se pueden preparar como se expone, por ejemplo, en los Ejemplos 47C, 47B y 37H de Ng *et al.*, documento WO98/25948, respectivamente.

Se aisló una sola forma cristalina para cada compuesto de impureza. Los espectros de difracción en polvo de rayos X representativos para las formas cristalinas aisladas para el diepóxido, el 11,12-epóxido y la 9,11-olefina se dan en las Figs. 9, 10 y 11, respectivamente. El espectro de difracción en polvo de rayos X de cada molécula de impureza es similar al espectro de difracción en polvo de rayos X de la Forma H, lo que sugiere que la Forma H y los tres compuestos de impureza tienen estructuras de cristales simples similares.

Los cristales simples de cada compuesto de impurezas se aislaron también y se sometieron a determinación de la estructura por rayos X para verificar que estos 3 compuestos adoptan estructuras de cristal simple similares a las de la Forma H. Se aislaron cristales simples del di-epóxido a partir de metil-etil-cetona. Los cristales simples del 11,12-epóxido se aislaron a partir de isopropanol. Los cristales simples de la 9,11-olefina se aislaron a partir de n-butanol. Los datos de la estructura cristalina determinados para la forma cristalina de cada compuesto de impurezas se dan en la Tabla 11. El sistema cristalino resultante y los parámetros de celda eran sustancialmente iguales para las formas cristalinas de la Forma H, el diepóxido, el 11,12-epóxido, y la 9,11-olefina.

TABLA 11

Parámetro	Forma H	Diepóxido	11,12-Epóxido	9,11-Olefina
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Ortorrómbico	Ortorrómbico	Ortorrómbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
A	21,22 Å	21,328 Å	20,90 Å	20,90 Å
B	15,40 Å	16,16 Å	15,55 Å	15,74 Å
C	6,34 Å	6,15 Å	6,38 Å	6,29 Å
A	90°	90°	90°	90°
B	90°	90°	90°	90°
Γ	90°	90°	90°	90°
Z				
Volumen (Å ³)	2071,3	2119,0	2073,2	2069,3
P (calculado)	1,329 g/cm ³	1,349 g/cm ³	1,328 g/cm ³	1,279 g/cm ³
R	0,0667	0,0762	0,0865	0,0764

Los cuatro compuestos consignados en la Tabla 11 cristalizan en el mismo grupo espacial y tienen parámetros de celda similares (es decir, son isoestructurales). Se supone que el diepóxido, el 11,12-epóxido y la 9,11-olefina adoptan una conformación de Forma H. La facilidad relativa de aislamiento de un empaquetamiento Forma H (directamente a partir de la solución) para cada compuesto de impureza, indica que la red de la Forma H es un modo de empaquetamiento estable para esta serie de compuestos estructuralmente similares.

Preparación de la Eplerenona

El material de partida eplerenona utilizado para preparar las nuevas formas cristalinas de la presente invención se puede preparar utilizando los métodos expuestos en Ng *et al.*, documento WO97/21720; y Ng *et al.*, documento WO98/35948, particularmente el esquema 1 expuesto en los documentos WO97/21720 y WO98/25948.

*Preparación de las Formas Cristalinas**1. Preparación de la Forma Cristalina Solvatada*

5 Las formas cristalinas solvatadas de eplerenona se pueden preparar por cristalización de eplerenona a partir de un disolvente adecuado o una mezcla de disolventes adecuados. Un disolvente o mezcla de disolventes adecuado(a) comprende generalmente un disolvente orgánico o una mezcla de disolventes orgánicos que solubiliza la eplerenona junto con cualesquiera impurezas a una temperatura elevada, pero al enfriarse cristaliza preferencialmente el solvato. La solubilidad de la eplerenona en tales disolventes o mezclas de disolventes es por lo general aproximadamente 5
10 a aproximadamente 200 mg/ml a la temperatura ambiente. El disolvente o las mezclas de disolventes se seleccionan preferiblemente de los disolventes utilizados previamente en el proceso para preparar el *material de partida eplerenona*, en particular aquellos disolventes que serían farmacéuticamente aceptables si estuvieran contenidos en la composición farmacéutica final que comprende la forma cristalina de eplerenona. Por ejemplo, un sistema disolvente que comprende cloruro de metileno que produce un solvato que contiene cloruro de metileno no es deseable por lo
15 general.

Cada disolvente utilizado preferiblemente es un disolvente farmacéuticamente aceptable, en particular un disolvente de Clase 2 o Clase 3 como se define en "Impurities: Guideline for Residual Disolventes", International Conference On Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Recomendado para Adopción en el Paso 4 del Proceso ICH en fecha 17 de Julio de 1997 por el Comité ICH Steering). De modo todavía
20 más preferible, el disolvente o la mezcla de disolventes se selecciona del grupo constituido por metil-etil-cetona, 1-propanol, 2-pentanona, ácido acético, acetona, acetato de butilo, cloroformo, etanol, isobutanol, acetato de isobutilo, acetato de metilo, propionato de etilo, n-butanol, n-octanol, isopropanol, acetato de propilo, propilen-glicol, t-butanol, tetrahidrofurano, tolueno, metanol y acetato de t-butilo. De modo todavía más preferible, el disolvente se selecciona del grupo constituido por metil-etil-cetona y etanol.
25

Para preparar la forma cristalina solvatada de eplerenona, se solubiliza una cantidad del material de partida eplerenona en un volumen del disolvente y se enfría hasta que se forman cristales. La temperatura del disolvente a la cual se
30 añade la eplerenona al disolvente se seleccionará generalmente sobre la base de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, esta temperatura del disolvente es por lo general al menos aproximadamente 25°C, con preferencia desde aproximadamente 30°C hasta el punto de ebullición del disolvente, y de modo más preferible desde aproximadamente 25°C por debajo del punto de ebullición del disolvente hasta el punto de ebullición del disolvente.

35 Alternativamente, puede añadirse disolvente caliente a la eplerenona y la mezcla puede enfriarse hasta que se forman cristales. La temperatura del disolvente en el momento en que se añade el mismo a la eplerenona se seleccionará por regla general basándose en la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la temperatura del disolvente es por lo general al menos 25°C, con preferencia desde aproximadamente 50°C hasta el punto de ebullición del disolvente, y de modo más preferible desde
40 aproximadamente 15°C por debajo del punto de ebullición del disolvente hasta el punto de ebullición del disolvente.

La cantidad del material de partida eplerenona mezclado con un volumen dado de disolvente dependerá asimismo de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Típicamente, la cantidad de eplerenona añadida al disolvente no se disolverá por completo en dicho volumen del disolvente a la temperatura ambiente. Para la mayoría
45 de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la cantidad de material de partida eplerenona mezclada con un volumen dado de disolvente es por lo general al menos aproximadamente 1,5 a aproximadamente 4,0 veces, con preferencia aproximadamente 2,0 a aproximadamente 3,5 veces, y de modo más preferible aproximadamente 2,5 veces, la cantidad de eplerenona que se disolverá en dicho volumen de disolvente a la temperatura ambiente.

50 Después que el material de partida eplerenona se ha solubilizado por completo en el disolvente, la solución se enfría por lo general lentamente para cristalizar la forma cristalina solvatada de eplerenona. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la solución se enfría a una tasa más lenta que aproximadamente 20°C/minuto, con preferencia a una tasa de aproximadamente 10°C/minuto o más lenta, de modo más preferible a una tasa de aproximadamente 5°C/minuto o más lenta, y de modo todavía más preferible a una tasa de aproximadamente
55 1°C/minuto o más lenta.

La temperatura de punto final a la cual se recoge la forma cristalina solvatada dependerá de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la temperatura de punto final es por lo general menor que aproximadamente 25°C, con preferencia menor que aproximadamente 5°C, y de modo más preferible menor que aproximadamente -5°C. La disminución de la temperatura de
60 punto final favorece por lo general la formación de la forma cristalina solvatada.

Alternativamente, pueden utilizarse otras técnicas para preparar el solvato. Ejemplos de dichas técnicas incluyen, pero sin carácter limitante, (i) disolución del material de partida eplerenona en un disolvente y adición de un co-
65 disolvente para favorecer la cristalización de la forma cristalina del solvato, (ii) crecimiento del solvato por difusión de vapores, (iii) aislamiento del solvato por evaporación, por ejemplo evaporación rotativa, y (iv) conversión del lodo.

Los cristales de la forma cristalina solvatada preparados como se ha descrito arriba se pueden separar del disolvente por cualquier medio convencional adecuado tal como filtración o centrifugación. La agitación incrementada del sistema disolvente durante la cristalización da generalmente como resultado tamaños de partícula más pequeños de los cristales.

2. Preparación de la Forma L a Partir del Solvato

La eplerenona de Forma L se puede preparar directamente a partir de la forma cristalina solvatada por desolvatación. La desolvatación puede realizarse por cualquier medio de desolvatación adecuado tal como, pero sin carácter limitante, calentamiento del solvato, reducción de la presión ambiente que rodea el solvato, o combinaciones de los mismos. Si el solvato se calienta para eliminar el disolvente, por ejemplo en un horno, la temperatura del solvato durante este proceso no excede típicamente de la temperatura de transición enantiotrópica para la Forma H y la Forma L. Esta temperatura no excede con preferencia de aproximadamente 150°C.

La presión de desolvatación y el tiempo de desolvatación no son rigurosamente críticos. La presión de desolvatación es con preferencia aproximadamente una atmósfera o menos. A medida que se reduce la presión de desolvatación, sin embargo, la temperatura a la cual puede realizarse la desolvatación y/o el tiempo de desolvatación se reducen análogamente. En particular para solvatos que tengan temperaturas de desolvatación más altas, el secado a vacío permitirá el uso de temperaturas de secado más bajas. El tiempo de desolvatación precisa ser sólo suficiente para permitir que la desolvatación, y por consiguiente la formación de la Forma L, alcance su culminación.

Para asegurar la preparación de un producto que comprende sustancialmente en su totalidad Forma L, el material de partida eplerenona es típicamente una eplerenona de alta pureza, con preferencia eplerenona sustancialmente pura. El material de partida eplerenona utilizado para preparar la eplerenona de Forma L es por lo general al menos 90% puro, preferiblemente al menos 95% puro, y más preferiblemente al menos 99% puro. Como se expone con mayor detalle en otro lugar de esta solicitud, ciertas impurezas contenidas en el material de partida eplerenona pueden afectar desfavorablemente al rendimiento y el contenido de Forma L del producto obtenido por el proceso.

El producto eplerenona cristalizado preparado de esta manera a partir de un material de partida eplerenona de alta pureza comprende por regla general al menos 10% de Forma L, preferiblemente al menos 50% de Forma L, más preferiblemente al menos 75% de Forma L, todavía más preferiblemente al menos 90% de Forma L, de modo aún más preferible al menos aproximadamente 95% de Forma L, y de modo todavía más preferible sustancialmente Forma L de fase pura.

3. Preparación Forma H a Partir del Solvato

Un producto que comprende Forma H se puede preparar sustancialmente de la misma manera que se ha expuesto anteriormente para la preparación de la Forma L por (i) utilización de un material de partida eplerenona de baja pureza en lugar de un material de partida eplerenona de alta pureza, (ii) siembra del sistema disolvente con cristales de la Forma H de fase pura, o (iii) una combinación de (i) y (ii).

A. Uso de Impurezas Como Promotores e Inhibidores del Crecimiento

La presencia y cantidad de impurezas seleccionadas en el material de partida eplerenona, en lugar de la cantidad total de todas las impurezas en el material de partida eplerenona, afectarán al potencial para la formación de cristales de la Forma H durante la desolvatación del solvato. La impureza seleccionada es generalmente un promotor de crecimiento de la Forma H o inhibidor del crecimiento de la Forma L. La misma puede estar contenida en el material de partida eplerenona, contenida en el disolvente o la mezcla de disolventes antes de la adición del material de partida eplerenona, y/o añadida al disolvente o mezcla de disolventes después de la adición del material de partida eplerenona. Bonafede *et al.*, "Selective Nucleation and Growth of an Organic Polymorph by Ledge-Directed Epitaxy on a Molecular Crystal Substrate", *J. Amer. Chem. Soc.*, Vol. 117, No. 30 (2 de Agosto de 1995) expone el uso de promotores del crecimiento e inhibidores del crecimiento en sistemas polimórficos y se incorpora por referencia en esta memoria. Para la presente invención, la impureza comprende generalmente un compuesto que tiene una estructura de cristal simple sustancialmente idéntica a la estructura del cristal simple de la Forma H. La impureza es preferiblemente un compuesto que tiene un espectro de difracción en polvo de rayos X sustancialmente idéntico al espectro de difracción en polvo de rayos X de la Forma H, y de modo más preferible se selecciona del grupo constituido por el diepóxido, el 11,12-epóxido, la 9,11-olefina y combinaciones de los mismos.

La cantidad de impureza necesaria para preparar los cristales de la Forma H puede depender típicamente, en parte, del disolvente o mezcla de disolventes y de la solubilidad de la impureza con relación a la eplerenona. En la cristalización de la Forma H a partir de un disolvente metil-etil-cetona, por ejemplo, la relación en peso de diepóxido a material de partida eplerenona de baja pureza es por lo general al menos aproximadamente 1:100, con preferencia al menos aproximadamente 3:100, de modo más preferible entre aproximadamente 3:100 y aproximadamente 1:5, y de modo todavía más preferible entre aproximadamente 3:100 y aproximadamente 1:10. El 11,12-epóxido tiene una solubilidad mayor en metil-etil-cetona que el diepóxido y requiere por lo general una mayor cantidad del 11,12-epóxido necesaria generalmente para preparar los cristales de la Forma H. Cuando la impureza comprende el 11,12-epóxido, la relación en peso del diepóxido al material de partida eplerenona de baja pureza es por lo general al menos aproximadamente 1:5, de modo más preferible al menos aproximadamente 3:25 y de modo todavía más preferible

está comprendida entre aproximadamente 3:25 y aproximadamente 1:5. Cuando se utilizan a la vez las impurezas de diepóxido y 11,12-epóxido en la preparación de los cristales de la Forma H, la relación en peso de cada impureza al material de partida eplerenona puede ser menor que la relación correspondiente cuando solamente se utiliza dicha impureza en la preparación de los cristales de la Forma H.

Se obtiene por lo general una mezcla Forma H y Forma L cuando se desolvata un solvato que comprende la impureza seleccionada. La fracción en *peso de Forma H* en el producto resultante de la desolvatación inicial del solvato es por lo general menor que aproximadamente 50%. El tratamiento ulterior de este producto por cristalización o digestión, como se expone más adelante, aumentará generalmente la fracción en *peso de Forma L* en el producto.

B. Siembra

Los cristales de la Forma H se pueden preparar también por siembra del sistema disolvente con cristales de la Forma H en fase pura (o un promotor del crecimiento de la Forma H y/o inhibidor del crecimiento de la Forma L como se ha expuesto con anterioridad) antes de la cristalización de la eplerenona. El material de partida eplerenona puede ser una eplerenona de baja pureza o una eplerenona de alta pureza. Cuando se desolvata el solvato resultante preparado a partir de cualquier material de partida, la fracción en *peso de Forma H* en el producto es por lo general al menos aproximadamente 70% y puede ser tan alta como aproximadamente 100%.

La relación en peso de los cristales de siembra de Forma H añadidos al sistema disolvente al material de partida eplerenona añadido al sistema disolvente es por lo general al menos aproximadamente 0,75:100, con preferencia entre aproximadamente 0,75:100 y aproximadamente 1:20, y de modo más preferible entre aproximadamente 1:100 y aproximadamente 1:50. Los cristales de siembra de Forma H se pueden preparar por cualquiera de los métodos expuestos en esta solicitud para la preparación de cristales de la Forma H, en particular la preparación de cristales de la Forma H por digestión como se expone más adelante.

Los cristales de siembra de Forma H se pueden añadir de una vez, en adiciones múltiples o de modo sustancialmente continuo a lo largo de cierto periodo de tiempo. La adición de los cristales de siembra de Forma H, sin embargo, se completa por lo general antes que la eplerenona comience a cristalizar de la solución, es decir, la siembra se completa antes de alcanzarse el punto de enturbiamiento (el extremo inferior de la zona metaestable). La siembra se realiza típicamente cuando la temperatura de la solución está comprendida entre aproximadamente 0,5°C por encima del punto de enturbiamiento y aproximadamente 10°C por encima del punto de enturbiamiento, de modo preferible entre aproximadamente 2°C y aproximadamente 3°C por encima del punto de enturbiamiento. A medida que aumenta la temperatura por encima del punto de enturbiamiento a la que se añaden los cristales, aumenta por lo general la cantidad de siembra necesaria para la cristalización de cristales de la Forma H.

La siembra se realiza preferiblemente no sólo por encima del punto de enturbiamiento, sino dentro de la zona metaestable. Tanto el punto de enturbiamiento como la zona metaestable dependen de la solubilidad y concentración de la eplerenona en el disolvente o mezcla de disolventes. Para una dilución de 12 volúmenes de metil-etil-cetona, por ejemplo, el extremo superior de la zona metaestable está comprendido por lo general entre aproximadamente 70°C y aproximadamente 73°C, y el extremo inferior de la zona metaestable (es decir, el punto de enturbiamiento) está comprendido entre aproximadamente 57°C y 63°C. Para una concentración de 8 volúmenes de metil-etil-cetona, la zona metaestable es aún más estrecha, dado que la solución está sobresaturada. A esta concentración, el punto de enturbiamiento de la solución se encuentra a aproximadamente 75°C hasta aproximadamente 76°C. Dado que el punto de ebullición de la metil-etil-cetona es aproximadamente 80°C en las condiciones del ambiente, la siembra para esta solución se realiza por lo general entre aproximadamente 76,5°C y el punto de ebullición.

Un ejemplo ilustrativo y no limitante de siembra con Forma H se expone más adelante en el Ejemplo 7.

El producto eplerenona cristalizado obtenido utilizando un promotor del crecimiento de la Forma H o inhibidor del crecimiento de la Forma L, y/o siembra de Forma H comprende por lo general al menos 2% de Forma H, preferiblemente al menos 5% de Forma H, más preferiblemente al menos 7% de Forma H y de modo todavía más preferible al menos aproximadamente 10% de Forma H. El producto eplerenona cristalizada remanente es por lo general Forma L.

C. Forma H Preparada por Trituración de Eplerenona

En otra alternativa adicional, se ha descubierto que una pequeña cantidad de Forma H se puede preparar por trituración adecuada de eplerenona. Se han observado concentraciones Forma H en eplerenona triturada tan altas como aproximadamente 3%.

4. Preparación Forma L a Partir del Solvato Preparado a Partir de Eplerenona de Baja Pureza

Como se ha expuesto anteriormente, la cristalización de eplerenona de baja pureza para formar un solvato seguida por desolvatación del solvato produce generalmente un producto que comprende a la vez Forma H y Forma L. Un producto que tenga un contenido mayor Forma L se puede preparar a partir de eplerenona de baja pureza sustancialmente de la misma manera que la expuesta anteriormente para la preparación Forma H por siembra del sistema disolvente con cristales de Forma L de fase pura, o por utilización de un promotor del crecimiento de la Forma L y/o inhibidor del crecimiento de la Forma H. El protocolo de siembra y la relación en peso de la cantidad de cristales de siembra de

ES 2 265 437 T3

Forma L añadidos al sistema disolvente a la cantidad del material de partida eplerenona añadida al sistema disolvente son generalmente similares a las relaciones expuestas previamente con anterioridad para la preparación de eplerenona de Forma H por siembra con cristales de la Forma H de fase pura.

5 El producto eplerenona cristalizado preparado de esta manera comprende por lo general al menos 10% de Forma L, con preferencia al menos 50% de Forma L, de modo más preferible al menos 75% de Forma L, más preferiblemente al menos 90% de Forma L, de modo todavía más preferible al menos aproximadamente 95% de Forma L, y de modo todavía más preferible sustancialmente Forma L de fase pura.

10 Los protocolos de siembra descritos en esta sección y en la sección anterior con relación a la preparación de la eplerenona de Forma H pueden permitir también un control mejorado del tamaño de partícula de la eplerenona cristalizada.

5. *Cristalización Forma L Directamente a Partir de Solución*

15 Puede prepararse también eplerenona de Forma L por la cristalización directa de eplerenona a partir de un disolvente o mezcla de disolventes adecuado(a) sin la formación de un solvato intermedio y la necesidad concomitante de desolvatación. Típicamente, (i) el disolvente tiene un tamaño molecular que es incompatible con el espacio de canales disponible en la red cristalina del solvato, (ii) la eplerenona y cualesquiera impurezas son solubles en el disolvente a temperaturas elevadas, y (iii) después del enfriamiento, se produce como resultado la cristalización de la eplerenona de Forma L no solvatada. La solubilidad de la eplerenona en el disolvente o la mezcla de disolventes es por lo general aproximadamente 5 a aproximadamente 200 mg/ml a la temperatura ambiente. El disolvente o la mezcla de disolventes comprende preferiblemente uno o más disolventes seleccionados del grupo constituido por metanol, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetonitrilo, nitrobenzono, agua y etil-benceno.

25 Para cristalizar eplerenona de Forma L directamente a partir de la solución, una cantidad del material de partida eplerenona se solubiliza en un volumen de disolvente y se enfría hasta que se forman cristales. La temperatura del disolvente a la cual se añade la eplerenona al disolvente se seleccionará por lo general sobre la base de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, esta temperatura del disolvente es por lo general al menos aproximadamente 25°C, con preferencia desde aproximadamente 30°C hasta el punto de ebullición del disolvente, y de modo más preferible desde aproximadamente 25°C por debajo del punto de ebullición del disolvente hasta el punto de ebullición del disolvente.

35 Alternativamente, puede añadirse disolvente caliente a la eplerenona y la mezcla puede enfriarse hasta que se forman cristales. La temperatura del disolvente en el momento en que se añade el mismo a la eplerenona se seleccionará por regla general basándose en la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la temperatura del disolvente es por lo general al menos 25°C, con preferencia desde aproximadamente 50°C hasta el punto de ebullición del disolvente, y de modo más preferible desde aproximadamente 15°C por debajo del punto de ebullición del disolvente hasta el punto de ebullición del disolvente.

40 La cantidad del material de partida eplerenona mezclada con un volumen dado de disolvente dependerá asimismo de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Típicamente, la cantidad de eplerenona añadida al disolvente no se disolverá por completo en dicho volumen de disolvente a la temperatura ambiente. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la cantidad de material de partida eplerenona mezclada con un volumen dado de disolvente es por lo general al menos aproximadamente 1,5 a 4,0 veces, con preferencia aproximadamente 2,0 a aproximadamente 3,5 veces, y de modo más preferible aproximadamente 2,5 veces, la cantidad de eplerenona que se disolverá en dicho volumen de disolvente a la temperatura ambiente.

50 Para asegurar la preparación de un producto que comprende Forma L sustancialmente en fase pura, el material de partida eplerenona es generalmente una eplerenona de alta pureza. El material de partida eplerenona es preferiblemente al menos 65% puro, más preferiblemente al menos 90% puro, de modo todavía más preferible al menos 98% puro, y de modo todavía más preferible al menos 99% puro.

55 Después que el material de partida eplerenona se ha disuelto por completo en el disolvente, la solución se enfría por lo general lentamente para cristalizar la forma cristalina solvatada de eplerenona. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la solución se enfría a una tasa más lenta que aproximadamente 1°C/minuto, con preferencia a una tasa de aproximadamente 0,2°C/minuto o más lenta, y de modo más preferible a una tasa comprendida entre aproximadamente 5°C/minuto y aproximadamente 0,1°C/minuto.

60 La temperatura de punto final a la que se recogen los cristales de la Forma L dependerá de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la temperatura de punto final es por lo general menor que aproximadamente 25°C, con preferencia menor que aproximadamente 5°C, y de modo más preferible menor que aproximadamente -5°C.

65 Alternativamente, pueden utilizarse otras técnicas para preparar los cristales de la Forma L. Ejemplos de tales técnicas incluyen, pero sin carácter limitante, (i) disolución del material de partida eplerenona en un disolvente y adición de un co-disolvente para favorecer la cristalización de eplerenona de Forma L, (ii) crecimiento por difusión de

vapores de eplerenona de Forma L, (iii) aislamiento de eplerenona de Forma L por evaporación, tal como evaporación rotativa, y (iv) conversión de lodo.

Los cristales de la forma cristalina solvatada preparados como se ha descrito arriba se pueden separar del disolvente por cualquier medio convencional adecuado, por ejemplo por filtración o centrifugación.

Adicionalmente, la eplerenona de Forma L se puede preparar también por digestión (como se describe más adelante) de un lodo de eplerenona de alta pureza en metil-etil-cetona y filtración de la eplerenona digerida a la temperatura de ebullición del lodo.

6. Preparación Forma H Directamente a Partir de la Solución

Se supone que si la cristalización se realiza por encima de la temperatura de transición enantiotrópica (T_1) para la Forma H y la Forma L, particularmente si están presentes promotores del crecimiento de la Forma H o inhibidores del crecimiento de la Forma L, o si el disolvente se siembra con cristales de la Forma H en fase pura, debería cristalizar directamente la Forma H de la solución, dado que la Forma H es más estable a estas temperaturas más altas. El sistema disolvente utilizado comprende preferiblemente un disolvente de alto punto de ebullición, tal como nitrobenceno. Promotores de crecimiento de la Forma H adecuados podrían incluir, pero sin carácter limitante, el diepóxido y la 11,12-olefina.

7. Digestión de Eplerenona con un Disolvente

Las formas cristalinas solvatadas, Forma H y Forma L de eplerenona se pueden preparar también por digestión de un material de partida eplerenona en un disolvente o mezcla de disolventes adecuado(a). En el proceso de digestión, un lodo de eplerenona se calienta hasta el punto de ebullición del disolvente o la mezcla de disolventes. Por ejemplo, una cantidad de material de partida eplerenona se combina con un volumen de disolvente o mezcla de disolventes, se calienta a reflujo, y se separa el destilado mientras se añade una cantidad adicional del disolvente simultáneamente con la eliminación del destilado. Alternativamente, el destilado puede condensarse y reciclarse sin la adición de más disolvente durante el proceso de digestión. Típicamente, una vez que se ha separado o condensado el volumen original de disolvente y se ha reciclado, el lodo se enfría y se forman cristales solvatados. Los cristales solvatados pueden separarse del disolvente por cualquier medio convencional adecuado tal como por filtración o centrifugación. La desolvatación del solvato como se ha descrito previamente produce eplerenona de Forma H o Forma L dependiendo de la presencia o ausencia de las impurezas seleccionadas en los cristales solvatados.

Un disolvente o mezcla de disolventes adecuado(a) comprende por lo general uno o más de los disolventes descritos previamente en esta memoria. El disolvente puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo constituido por metil-etil-cetona y etanol.

La cantidad del material de partida eplerenona añadida al disolvente utilizado en el proceso de digestión es por lo general suficiente para mantener un lodo (es decir, la eplerenona en el disolvente o mezcla de disolventes no está disuelta completamente) a la temperatura del punto de ebullición del disolvente o mezcla de disolventes. Valores ilustrativos incluyen, pero sin carácter limitante, aproximadamente un gramo de eplerenona para cuatro ml de metil-etil-cetona y aproximadamente un gramo de eplerenona para ocho ml de etanol.

La solución se enfría por lo general lentamente una vez que se ha completado la reposición del disolvente para cristalizar la forma de cristalización solvatada de eplerenona. Para los disolventes ensayados, por ejemplo, la solución se enfría a una tasa más lenta que aproximadamente 20°C/minuto, con preferencia aproximadamente 10°C/minuto o más lenta, de modo más preferible aproximadamente 5°C/minuto o más lenta, y de modo todavía más preferible aproximadamente 1°C/minuto o más lenta.

La temperatura de punto final a la cual se recoge la forma cristalina solvatada dependerá de la curva de solubilidad del disolvente o la mezcla de disolventes. Para la mayoría de los disolventes descritos en esta memoria, por ejemplo, la temperatura de punto final es por lo general menor que aproximadamente 25°C, con preferencia menor que aproximadamente 5°C, y de modo más preferible menor que aproximadamente -5°C.

Si se desea un producto que comprenda fundamental o exclusivamente Forma L, se digiere típicamente un material de partida eplerenona de alta pureza. El material de partida eplerenona de alta pureza es preferiblemente al menos 98% puro, más preferiblemente al menos 99% puro, y de modo todavía más preferible al menos 99,5% puro. El producto eplerenona digerido preparado de esta manera comprende generalmente al menos 10% de Forma L, preferiblemente al menos 50% de Forma L, de modo más preferible al menos 75% de Forma L, de modo más preferible al menos 90% de Forma L, de modo todavía más preferible al menos aproximadamente 95% de Forma L, y de modo todavía más preferible sustancialmente Forma L de fase pura.

Si se desea un producto que comprenda fundamental o exclusivamente Forma H, se digiere típicamente un material de partida eplerenona de baja pureza. El material de partida eplerenona de baja pureza contiene por lo general sólo tanto promotor de crecimiento de la Forma H y/o inhibidor del crecimiento de la Forma L como sea necesario para producir Forma H. Preferiblemente, el material de partida eplerenona de baja pureza es al menos 65% puro, más preferiblemente al menos 75% puro, y todavía más preferiblemente al menos 80% puro. El producto eplerenona digerido preparado de

ES 2 265 437 T3

esta manera comprende por lo general al menos 10% de Forma H, preferiblemente al menos 50% de Forma H, más preferible al menos 75% de Forma H, más preferible al menos 90% de Forma H, de modo todavía más preferible al menos aproximadamente 95% de Forma H, y de modo todavía más preferible sustancialmente Forma H de fase pura.

8. Preparación de Eplerenona Amorfa

Puede prepararse eplerenona amorfa en pequeñas cantidades por desmenuzamiento adecuado de eplerenona sólida, por ejemplo por trituración, molienda y/o micronización. Puede prepararse eplerenona amorfa de fase pura, por ejemplo, por liofilización de una solución de eplerenona, particularmente una solución acuosa de eplerenona. Estos procesos se ilustran en los Ejemplos 13 y 14 más adelante.

Ejemplos prácticos

Los ejemplos siguientes contienen descripciones detalladas de los métodos de preparación de las diversas formas de eplerenona en estado sólido descritas en esta solicitud. Estas descripciones detalladas caen dentro del alcance, y sirven para ilustrar la invención. Estas descripciones detalladas se presentan únicamente para propósitos ilustrativos, y no tienen por objeto constituir una limitación del alcance de la invención. Todas las partes se expresan en peso y las temperaturas están en grados centígrados a no ser que se indique otra cosa. El material de partida eplerenona utilizado en cada uno de los ejemplos siguientes se preparó de acuerdo con el esquema 1 expuesto en Ng *et al.*, documento WO98/25948.

Ejemplo 1

Preparación de (a) solvato de metil-etil-cetona a partir del material de partida eplerenona de alta pureza y (b) eplerenona cristalina Forma L a partir del solvato resultante

A. Preparación del Solvato de Metil-Etil-Cetona

Se disolvió eplerenona de alta pureza (437 mg; pureza mayor que 99% con menos de 0,2% de diepóxido y 11,12-epóxido presente) en 10 ml de metil-etil-cetona por calentamiento a ebullición sobre un plato caliente agitación magnética a 900 rpm. La solución resultante se dejó enfriar a la temperatura ambiente con agitación magnética continua. Una vez a la temperatura ambiente, la solución se transfirió a un baño mantenido a 1°C, con mantenimiento de la agitación durante 1 hora. Después de 1 hora, el solvato de metil-etil-cetona sólido se recogió por filtración a vacío.

B. Preparación de eplerenona cristalina Forma L

El solvato de metil-etil-cetona sólido preparado en el Paso A anterior se secó en una estufa a 100°C durante 4 horas a la presión ambiente. Se determinó que el sólido secado era Forma L pura por análisis DSC y XPRD.

Ejemplo 2

Preparación de solvatos adicionales a partir de material de partida eplerenona de alta pureza

Se prepararon formas cristalinas solvatadas adicionales por reemplazamiento de la metil-etil-cetona con uno de los disolventes siguientes: n-propanol, 2-pentanona, ácido acético, acetona, acetato de butilo, cloroformo, etanol, isobutanol, acetato de isobutilo, isopropanol, acetato de metilo, propionato de etilo, n-butanol, n-octanol, acetato de propilo, propilen-glicol, t-butanol, tetrahidrofurano, tolueno y realización de la cristalización sustancialmente como se ha descrito arriba en el Paso A del Ejemplo 1. Se formó eplerenona de Forma L a partir de cada uno de los solvatos sustancialmente como se describe en el Paso B del Ejemplo 1.

Ejemplo 3

Preparación de Solvato de Metil-Etil-Cetona por Crecimiento con Difusión de Vapores

Se disolvió eplerenona (400 mg; pureza mayor que 99,9%) en 20 ml de metil-etil-cetona por calentamiento en un plato caliente para formar una solución stock. Se transfirió una cantidad de 8 ml de la solución stock a un primer vial de centelleo de 20 ml y se diluyó a 10 ml con metil-etil-cetona (80%). Se transfirió una cantidad de 10 ml de la solución stock a un segundo vial de centelleo de 20 ml y se diluyó a 10 ml con metil-etil-cetona (40%). Los 2 ml finales de la solución stock se diluyeron a 10 ml con metil-etil-cetona (20%). Los cuatro viales que contenían las diluciones se transfirieron a un vaso de desecador que contenía una pequeña cantidad de hexano como anti-disolvente. El vaso del desecador se cerró herméticamente y se dejó que se difundiera el vapor de hexano en las soluciones de metil-etil-cetona. Los cristales de solvato de metil-etil-cetona crecían en la muestra de la dilución al 80% al día siguiente.

ES 2 265 437 T3

Ejemplo 4

Preparación de Solvato de Metil-Etil-Cetona Por Evaporación Rotativa

Se pesan aproximadamente 400 mg de eplerenona (pureza mayor que 99,9%) en un matraz de 250 ml con fondo redondo. Se añade disolvente (150 ml) al matraz y, en caso necesario, se calienta suavemente la solución hasta que se disuelve el sólido. La solución clara resultante se introduce en un evaporador rotativo Buchi con una temperatura de baño de aproximadamente 85°C y el disolvente se separa a vacío. La separación del disolvente se interrumpe cuando quedan aproximadamente 10 ml de disolvente en el matraz de fondo redondo. Los sólidos resultantes se analizan por métodos apropiados (XPRD, DSC, TGA, microscopía, etc.) para determinación de la forma.

Ejemplo 5

Conversión de Lodo

Se añadieron aproximadamente 150 mg de eplerenona de Forma L y 150 mg de eplerenona de Forma H a 5 ml de acetato de etilo. La suspensión resultante se dejó en agitación a 300 rpm (agitación magnética) durante una noche. Al día siguiente, se recogió una muestra del sólido por filtración. El análisis de la muestra por XPRD indicó que la muestra estaba compuesta enteramente por eplerenona de Forma L.

Ejemplo 6

Preparación de (a) Solvato a Partir de Material de Partida de Eplerenona de Baja Pureza y (b) Eplerenona Cristalina de Forma H a Partir del Solvato Resultante

Se prepararon muestras que contenían cantidades variables de la impureza 7-metil-hidrógeno-4 α ,5 α :9 α ,11 α -diepoxi-17-hidroxi-3-oxo-17 α -pregnano-7 α ,21-dicarboxilato, lactona γ (el “diepóxido”) o la impureza 7-metil-hidrógeno-11 α ,12 α -epoxi-17-hidroxi-3-oxo-17 α -pregn-4-eno-7 α ,21-dicarboxilato, lactona γ (el “11,12-epóxido”) por adición de la cantidad deseada de la impureza a un vial de centelleo de 7 ml junto con una cantidad de eplerenona suficiente para proporcionar una masa de muestra total de 100 mg. El porcentaje en peso del diepóxido o del 11,12-epóxido en cada muestra se da en las Tablas X-6A y X-6B, respectivamente. Se añadió un agitador magnético de micro-pulga a cada vial de centelleo junto con 1 ml de metil-etil-cetona. Los viales se taparon sin apretar y el sólido se disolvió por calentamiento a reflujo sobre un plato caliente con agitación magnética. Una vez que se disolvieron los sólidos, se dejaron enfriar las soluciones a la temperatura ambiente en el plato caliente. Se mantuvo la agitación magnética durante el periodo de enfriamiento. Después que las soluciones alcanzaron la temperatura ambiente, se recogieron los sólidos por filtración a vacío y se analizaron inmediatamente por difracción en polvo de rayos X (XPRD). Se pusieron luego los sólidos en una estufa a 100°C y se secaron durante una hora a la presión ambiente. Los sólidos secados se analizaron por XPRD para contenido de Forma H por observación del área del pico de difracción de la Forma H a aproximadamente 12,1 grados dos theta. Todos los espectros de difracción XPRD se registraron utilizando un Difractómetro Inel Multipurpose.

TABLA X-6A

Porcentaje en Peso de Diepóxido	Peso de Eplerenona (mg)	Peso de Diepóxido (mg)
0%	100,44	-
1%	99,08	1,24
2%	98,09	2,24
3%	97,08	3,04
5%	95,09	5,04

TABLA X-6B

Porcentaje en Peso de 11,12-Epóxido	Peso de Eplerenona (mg)	Peso de 11,12 Epóxido (mg)
0%	101,38	0
1%	99,23	1,10
5%	94, 97	5,36
10%	90,13	10,86

A. Resultados de Diepóxido

La Fig. 13 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para la torta húmeda (solvato de metil-etil-cetona) obtenidos a partir de las cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% y (d) 5% de diepóxido. Las intensidades de los picos se han normalizado para facilidad de comparación. No está presente en los espectros de difracción pico alguno característico de la Forma H o del diepóxido. Los espectros son característicos del solvato de metil-etil-cetona de la eplerenona.

La Fig. 14 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para los sólidos secados obtenidos a partir de las cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% y (d) 5% de diepóxido. Las intensidades de los picos se han normalizado para facilidad de comparación. No se detectó Forma H alguna para las muestras secadas correspondientes a las cristalizaciones en metil-etil-cetona realizadas a niveles de impurificación de 0 y 1%. Se detectó Forma H en las muestras secadas correspondientes a las cristalizaciones en metil-etil-cetona realizadas para niveles de impurificación de 3 y 5%. El área para el pico de difracción de la Forma H a aproximadamente 12,1 grados dos theta y el contenido estimado Forma H para cada muestra se dan a continuación en la Tabla X-6C.

TABLA X-6C

Porcentaje en Peso de Diepóxido en la Mezcla de Eplerenona de Partida	Porcentaje en Peso de Diepóxido en los Cristales Resultantes (HPLC)	Área 12° del Pico de la Forma H Dos Theta	Porcentaje en Peso Estimado de Forma H
0%	---	Ninguno Detectado	Ninguno Detectado
1%	0,29	Ninguno Detectado	Ninguno Detectado
3%	0,58	1168	10
5%	1,05	4175	30

Los resultados consignados en la Tabla X-6C confirman que la presencia del diepóxido afecta a la formación Forma H durante la desolvatación. Estos resultados indican que el diepóxido es eficaz para inducir la formación de eplerenona de Forma H cuando el mismo se incorpora en y/o se adsorbe en los cristales del solvato de metil-etil-cetona.

Se repitió el experimento de impurificación con 3% de diepóxido para analizar el impacto de la ruta de preparación sobre la cantidad de Forma H formada durante la desolvatación. En este experimento, el solvato de metil-etil-cetona obtenido a partir de la cristalización impurificada se dividió en dos porciones. La primera porción se dejó sin tratar, mientras que la segunda porción se trituró ligeramente en un mortero con mano para inducir un nivel mayor de defectos en el cristal. Las dos porciones se secaron ambas a 100°C durante una hora a la presión ambiente. Los sólidos secados se analizaron por XPRD. Los espectros XPRD se dan en Fig. 15 para los sólidos secados a partir de la cristalización en metil-etil-cetona con 3% de impurificación de diepóxido (a) sin trituración del solvato antes del secado, y (b) con trituración del solvato antes del secado. Los espectros XPRD indicaban una mayor cantidad de Forma H en la muestra triturada con relación a la muestra sin triturar. Estos resultados sugieren que las condiciones en las cuales se aísla y se manipula el solvato de metil-etil-cetona pueden afectar a la forma cristalina que resulta de la desolvatación.

B. Resultados de 11,12-Epóxido

La Fig. 16 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para la torta húmeda (solvato de metil-etil-cetona) obtenida a partir de las cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% y (d) 10% de 11,12-epóxido. Las intensidades de los picos se han normalizado para facilidad de comparación. No está presente pico alguno característico Forma H o del 11,12-epóxido en los espectros de difracción. Los espectros son característicos del solvato de metil-etil-cetona de la eplerenona.

La Fig. 17 muestra los espectros de difracción en polvo de rayos X para los sólidos secados obtenidos a partir de las cristalizaciones en metil-etil-cetona impurificada con (a) 0%, (b) 1%, (c) 5%, (d) 10% de 11,12-epóxido. Las intensidades de los picos se han normalizado para facilidad de comparación. No se detectó Forma H alguna para las muestras secadas correspondientes a las cristalizaciones en metil-etil-cetona realizadas a niveles de impurificación de 0, 1% y 5%. Se detectó la Forma H en las muestras secadas correspondientes a la cristalización en metil-etil-cetona realizada a un nivel de impurificación de 10%. El área para el pico de difracción de la Forma H a 12,1 grados dos theta y el contenido estimado Forma H para cada muestra se dan en la Tabla X-6D.

ES 2 265 437 T3

TABLA X-6D

5	Porcentaje en Peso de 11,12-Epóxido en la Mezcla de Eplerenona de Partida	Porcentaje en Peso de 11,12-Epóxido en los Cristales Resultantes (HPLC)	Área 12° del Pico de la Forma H Dos Theta	Porcentaje en Peso Estimado de Forma H
10	0%	No Disponible	Ninguno Detectado	Ninguno Detectado
	1%	No Disponible	Ninguno Detectado	Ninguno Detectado
	5%	No Disponible	Ninguno Detectado	Ninguno Detectado
15	10%	No Disponible	1541	10-15%

Los resultados consignados en la Tabla X-6D confirman que la presencia del 11,12-epóxido afecta a la formación de la Forma H durante la desolvatación. El porcentaje de impureza en la cristalización en metil-etil-cetona requerido para inducir la formación de eplerenona de Forma H parece ser mayor para el 11,12-epóxido que para el diepóxido.

Ejemplo 7

Efecto de la Cristalización y el Secado Sobre la Forma Final de los Cristales

Se realizaron los cuatro experimentos siguientes de análisis del efecto de la cristalización y el secado sobre la forma final de los cristales: (i) cristalización de eplerenona en metil-etil-cetona (diseño estadístico del experimento 2^3+3), (ii) cristalización del residuo de las aguas madres de baja calidad, (iii) cristalización de eplerenona de alta pureza con siembra de Forma H, y (iv) cristalización de eplerenona de baja pureza con siembra de Forma L. Las variables en el diseño de los experimentos incluyeron la velocidad de enfriamiento, el nivel de pureza del material de partida, y la temperatura de punto final de la cristalización. Para los propósitos de este ejemplo, se definió la eplerenona de alta pureza como eplerenona molida ultrapura (el análisis HPLC demostró que este material tenía una pureza de 100,8%) y la eplerenona de baja pureza se definió como eplerenona de pureza 89%. Para preparar la eplerenona de baja pureza, se analizaron las aguas madres retiradas del proceso para la preparación de eplerenona y se mezclaron para dar un material que contenía 61,1% de eplerenona, 12,8 de diepóxido y 7,6% de 11,12-epóxido. Este material se mezcló luego con una cantidad suficiente de eplerenona de alta pureza para dar la eplerenona de 89%.

A. Cristalización en Metil-Etil-Cetona

En el experimento de cristalización en metil-etil-cetona, todas las operaciones se realizaron utilizando 60 g de eplerenona de alta pureza. El punto final alto se definió como 45°C y el punto final bajo se definió como 5°C. La velocidad de enfriamiento alta se definió como enfriamiento a 3°C/minuto y la velocidad de enfriamiento baja se definió como enfriamiento a 0,1°C/minuto. Los puntos centrales eran enfriamiento a 1,5°C/minuto, eplerenona de pureza 94,5%, y un punto final de 25°C.

Después que se tomó una lectura de ruido de fondo con el FTIR, se cargaron 250 ml de metil-etil-cetona en un reactor Mettler RC-1 MP10 de 1 l y se agitó a 100 rpm. Después de varios barridos, se cargó eplerenona en el reactor seguido por 470 ml adicionales de metil-etil-cetona. Se aumentó la agitación a 500 rpm para suspender los sólidos y se elevó la temperatura del lote a 80°C. La temperatura del lote se mantuvo a 80°C para asegurar la disolución de la eplerenona. Eran visibles generalmente manchas negras o blancas en la solución transparente resultante. La temperatura del lote se enfrió luego en rampa a la velocidad deseada hasta el punto final deseado, en cuyo valor se mantuvo durante una hora antes de desplazarla a un matraz de transferencia y filtrarla. El reactor de vacío, el matraz de transferencia y la torta se lavaron luego con 120 ml de metil-etil-cetona. Una vez que el lavado se hizo pasar a través de la torta, se interrumpió el proceso. Aproximadamente 10 gramos de cada torta húmeda se secaron en una estufa de vacío en condiciones nominales de 75°C con una purga ligera de nitrógeno. Para los experimentos “alto, alto, alto” y “bajo, bajo, bajo” descritos más adelante, se realizó secado en lecho fluido en condiciones altas y bajas. El secado en lecho fluido alto se definió como 100°C con un ajuste de la soplante de “4”, mientras que el secado en lecho fluido bajo se definió como 40°C con un ajuste de la soplante de “1”.

B. Cristalización del Residuo de Aguas Madre de Baja Calidad

En la cristalización del experimento con el residuo de aguas madres de baja calidad, se cargaron 60 g del material de 61,1% de pureza y 720 ml de metil-etil-cetona directamente en un reactor Mettler RC-1 MP10 de 1 litro. El material de 61,1% de pureza no se mezcló con eplerenona de alta pureza antes de ser cargado en el reactor. La mezcla resultante se calentó a 80°C y era un lodo opaco a dicha temperatura. La cristalización continuó y la mezcla se filtró a 45°C en condiciones de enfriamiento rápido.

ES 2 265 437 T3

C. Siembra de Forma H

En el experimento de siembra de Forma H, se cargaron 60 g de eplerenona pura (100,8%) y 720 ml de metil-etil-cetona en un reactor Mettler RC-1 MP10 de 1 litro. La mezcla se calentó a 80°C y se enfrió luego a 25°C a una velocidad de 1,5°C/minuto. Cuando la solución se hubo enfriado a 62°C, se sembró la misma con 3 g de cristales de la Forma H de fase pura para iniciar la cristalización. Los cristales de siembra de Forma H se prepararon por el proceso de digestión descrito en el Ejemplo 9 más adelante.

D. Siembra Forma L

En el experimento de siembra de Forma L, se cargaron 66,6 g de eplerenona de 89,3% (preparada por mezcla de 48,3 g de eplerenona de 100% con 18,3 g de eplerenona de 61,1%) y 720 ml de metil-etil-cetona en un reactor Mettler RC-1 MP10 de 1 litro. La mezcla se calentó a 80°C y se enfrió luego a 25°C a una velocidad de 1,5°C/minuto. Cuando la solución se hubo enfriado a 63°C, se sembró la misma con 3 g de cristales de la Forma L de fase pura para iniciar la cristalización. Los cristales de siembra de Forma L se prepararon por el proceso de cristalización y desolvatación descrito en el Ejemplo 1 anteriormente.

Los resultados de los experimentos se consignan en la Tabla X-7A. En el experimento de cristalización n+1, se detectó la Forma H únicamente en los experimentos que emplearon eplerenona de baja pureza, en los que el producto contenía el diepóxido. Se observaron también niveles elevados del diepóxido en el producto final con velocidades de enfriamiento mayores.

La cristalización del experimento del residuo de aguas madres de baja calidad proporcionó material de baja calidad que parecía ser una mezcla del diepóxido y la Forma H cuando se analizó por difracción en polvo de rayos X.

El experimento de siembra de Forma H (en el caso en que se sembró eplerenona de alta pureza con Forma H) proporcionó un producto que era 77% de Forma H basado en el análisis por difracción en polvo de rayos X, pero enteramente Forma H basado en DSC. El modelo de difracción en polvo de rayos X, sin embargo, no se había ensayado para linealidad más allá de aproximadamente 15% de Forma H. Este experimento fue el único de los cuatro experimentos de este ejemplo en los que se creó Forma H en ausencia del diepóxido.

El experimento de siembra de Forma L (en el que se sembró eplerenona de baja pureza con Forma L) proporcionó un producto que era enteramente Forma L.

Los datos obtenidos para el secado alto en lecho fluido de eplerenona parecían corresponder a los datos obtenidos para el secado en estufa de vacío. Los secados bajos en lecho fluido proporcionaron resultados que diferían de los obtenidos para los secados en estufa de vacío.

TABLA X-7a

Velocidad de Enfriamiento ¹	Punto Final de Enfriamiento ²	Nivel de Impurezas ³	Temperatura de Formación de Núcleos (°C)	Porcentaje en Peso de 11,12-Epóxido ⁴	Porcentaje en Peso de Diepóxido ⁴	Pureza del Cristal Desolvatado	Rendimiento en Porcentaje	Porcentaje en Peso de Forma H (XPRD)
+	+	–	57,0	ND	ND	100,3	66,1	ND
+	–	–	54,9	ND	ND	100,3	98,1	ND
–	+	–	60,9	ND	ND	100,3		ND
–	–	–	63,4	ND	ND	100,5	79,3	ND
+	+	++	N/A	4,8	36,6	43,3	27	100 ⁵
+	+	+	52,2	0,49	0,88	98,3	62	29
+	–	+	53,3	0,56	1,0	98,1	87	9
0	0	0	59,0	0,1	0,36	99,4	75	5
-	+	+	63,3	0,20	0,44	99,4	36	31
-	-	+	61,4	0,18	0,40	99,5	87	ND
0	0	0	60,6	0,18	0,36	99,5	79,2	ND

ES 2 265 437 T3

TABLA X-7a (continuación)

Velocidad de Enfriamiento ¹	Punto Final de Enfriamiento ²	Nivel de Impurezas ³	Temperatura de Formación de Núcleos (°C)	Porcentaje en Peso de 11,12-Epóxido ⁴	Porcentaje en Peso de Diepóxido ⁴	Pureza del Cristal Desolvado	Rendimiento en Porcentaje	Porcentaje en Peso de Forma H (XPRD)
0	0	0	55,9	0,38	0,80	98,6	80,5	< 3%
0	0	100,8% de eplerenona sembrada con Forma H		0,03	ND	100,4	82,2	77/100 ⁶
0	0	89,3% de eplerenona sembrada con Forma L		0,33	0,50	97,5	80,2	ND

¹ Velocidad de Enfriamiento: (+) = 3°C/min; (0) = 1,5°C/min; y (-) = 0,1°C/min.

² Punto Final de Enfriamiento: (+) = 45°C; (0) = 25°C; y (-) = 5°C.

³ Nivel de Impurezas: (+) = material de partida eplerenona 89,3% de pureza; (++) = material de partida eplerenona de 61,1% de pureza; (0) = material de partida eplerenona de 100,8% de pureza; y (-) = material de partida eplerenona de 94,5% de pureza.

⁴ Porcentaje en peso después del secado del solvato en una estufa de vacío a 75°C.

⁵ Parece ser una mezcla Forma H y diepóxido cuando se analiza por XPRD.

⁶ Parece ser 77% de Forma H cuando se analiza por XPRD y 100% de Forma H cuando se analiza por DSC.

A. Pureza de los Materiales

Un gráfico de cubo de pureza del producto, pureza del material de partida, velocidad de enfriamiento y temperatura de punto final basado en los datos consignados en la Tabla X-7A se muestra en Fig. 18. El gráfico de cubo sugiere que el uso de un material de mayor pureza al comienzo de la cristalización proporcionará un producto de mayor pureza. La temperatura de punto final de la cristalización no parece afectar en gran medida a la pureza del producto. En cambio, la velocidad de enfriamiento parece tener cierto efecto, resultando un producto ligeramente menos puro de una velocidad de enfriamiento más rápida. De hecho, el nivel de diepóxido era por lo general mayor con velocidades de enfriamiento más rápidas.

La Fig. 19 muestra un gráfico semi-normal que se preparó utilizando los resultados del gráfico de cubo para determinar qué variables, en su caso, tenían un efecto estadísticamente significativo sobre la pureza del producto. La pureza del material de partida tenía el efecto máximo estadísticamente significativo sobre la pureza del producto, aunque la velocidad de enfriamiento y la interacción entre la velocidad de enfriamiento y la pureza del material de partida se observaron también como efectos estadísticamente significativos.

La Fig. 20 es un gráfico de interacción basado en estos resultados y que muestra la interacción entre la pureza del material de partida y la velocidad de enfriamiento sobre la pureza del producto. Con la eplerenona de alta pureza (material de partida eplerenona de 100,8%) la velocidad de enfriamiento parece tener poco o ningún efecto sobre la pureza final. En cambio, con la eplerenona de baja pureza (material de partida eplerenona de 89,3%), la pureza del producto disminuye a medida que aumenta la velocidad de enfriamiento. Este resultado sugiere que más impurezas cristalizan en las cristalizaciones de eplerenona conducidas a velocidades de enfriamiento mayores.

B. Contenido Forma H

Un gráfico de cubo de fracción en peso de Forma H, pureza del producto material de partida, velocidad de enfriamiento y temperatura de punto final basado en los datos consignados en la Tabla X-7A se muestra en la Fig. 21. El gráfico de cubo sugiere que el uso de una eplerenona de mayor pureza al comienzo de la cristalización proporcionará una menor cantidad de Forma H. La temperatura de punto final de la cristalización parece tener también efecto sobre la forma del producto final. La velocidad de enfriamiento no parece afectar en gran medida a la formación Forma H, aunque algo Forma H puede resultar del enfriamiento más rápido a la temperatura de punto final baja en presencia de impurezas.

La Fig. 22 muestra un gráfico semi-normal que se preparó utilizando los resultados del gráfico de cubo para determinar qué variables, en su caso, tenían un efecto estadísticamente significativo sobre la cantidad de Forma H en el material final. La pureza del material de partida, la temperatura de punto final de la cristalización y la interacción entre las dos variables se apreciaron como efectos estadísticamente significativos.

ES 2 265 437 T3

La Fig. 23 es un gráfico de interacción basado en estos resultados y que muestra la interacción entre la pureza del material de partida y la temperatura de punto final sobre el contenido final de Forma H. Con la eplerenona de alta pureza (material de partida eplerenona de 100,8%), la temperatura de punto final parece tener poco efecto sobre el contenido de Forma H. No se obtuvo cantidad alguna de Forma H en ningún caso con eplerenona pura. En cambio, con material de partida eplerenona de baja pureza (material de partida eplerenona de 89,3%), estaba presente Forma H en ambos casos, con cantidad significativamente mayor de Forma H para temperaturas de punto final más altas.

La Tabla X-7B consigna la fracción en peso de Forma H medida en materiales secados utilizando un lecho fluido (LAB-LINE/P.R.L. Hi-Speed Fluid Bed Dryer, Lab-Line Instruments, Inc.) o una estufa de vacío (Baxter Scientific Products Vacuum Drying Oven, modelo DP-32). Se observó un contenido similar Forma H para materiales comparables secados en el secador de lecho fluido alto o en la estufa de vacío. Se observó una diferencia, sin embargo, para materiales comparables secados en el lecho fluido bajo con relación a la estufa de vacío.

TABLA X-7B

15

20

25

30

Velocidad de Enfriamiento	Punto Final	Nivel de Impurezas	Tipo de Secado	Porcentaje en Peso de Forma H
Alta	Alto	Alto	Estufa de Vacío	29%
Alta	Alto	Alto	Lecho Fluido Alto	25%
Alta	Alto	Alto	Lecho Fluido Bajo	4,7%
Baja	Bajo	Bajo	Estufa de Vacío	ND
Baja	Bajo	Bajo	Lecho Fluido Alto	ND
Baja	Bajo	Bajo	Lecho Fluido Bajo	5,5%

Ejemplo 8

35 *Cristalización de una mezcla Forma H y Forma L a partir de metil-etil-cetona para preparar un solvato, y (b) desolvatación del solvato para preparar Forma L*

Se combinó eplerenona de Forma H (10 g) con 80 ml de metil-etil-cetona. La mezcla se calentó a reflujo (79°C) y se agitó a esta temperatura durante aproximadamente 30 minutos. El lodo resultante se enfrió luego con un protocolo gradual de punto de retención por mantenimiento del lodo a 65°C, 50°C, 35°C y 25°C durante aproximadamente 90 minutos a cada temperatura. El lodo se filtró y se lavó con aproximadamente 10 ml de metil-etil-cetona. El sólido aislado se secó inicialmente en el filtro y luego en una estufa de vacío a 40-50°C. El secado se completó en la estufa de vacío a 90-100°C. El sólido desolvatado se obtuvo con una recuperación de 82%. Los análisis XPRD, MIR y DSC confirmaron que el sólido tenía una estructura cristalina Forma L.

45

Ejemplo 9

Digestión de Material de Partida Eplerenona de Baja Pureza con un Disolvente para Preparar Forma H

50 *A. Digestión con Disolvente Etanol*

Se combinó eplerenona de baja pureza (24,6 g; 64% en peso de pureza por HPLC) con 126 ml de etanol 3A. El lodo se calentó a reflujo y se separó el destilado. Se añadieron simultáneamente 126 ml adicionales de etanol 3A a medida que se separaban 126 ml de disolvente por destilación atmosférica. Una vez completada la renovación del disolvente, la mezcla se enfrió a 25°C y se agitó durante una hora. Se filtró el sólido y se lavó con etanol 3A. El sólido se secó al aire para dar el solvato de etanol. El solvato se secó ulteriormente en una estufa de vacío a 90-100°C durante 6 horas para obtener 14,9 g de eplerenona de Forma H.

55

B. Digestión con Disolvente Metil-Etil-Cetona

60

En un proceso de digestión alternativo, se digirió 1 gramo de eplerenona de baja pureza (pureza aproximada 65%) en 4 ml de metil-etil-cetona durante 2 horas. Después de las 2 horas, se dejó enfriar la mezcla a la temperatura ambiente. Una vez enfriado, se recogió el sólido por filtración a vacío y se determinó que era el solvato de metil-etil-cetona por análisis XPRD. Se secó el sólido a 100°C durante 30 a 60 minutos. Se determinó que los sólidos secados eran Forma H pura por XPRD.

65

Ejemplo 10

Digestión del Material de Partida Eplerenona de Alta Pureza con un Disolvente Para Preparar Forma L

5 A. Digestión con Disolvente Etanol

Se digirió eplerenona de alta pureza (1 gramo) en 8 ml de etanol durante aproximadamente 2 horas. Se dejó enfriar luego la solución a la temperatura ambiente y se recogieron los sólidos por filtración a vacío. El análisis de los sólidos por XPRD inmediatamente después de la filtración indicó que los sólidos eran un solvato (presumiblemente el solvato de etanol). Los sólidos se secaron subsiguientemente a 100°C a la presión atmosférica durante 30 minutos. El sólido secado se analizó por XPRD y se determinó que era predominantemente Forma L (no se detectó cantidad alguna en Forma H).

15 B. Digestión con Disolvente Metil-Etil-Cetona

Se digirió eplerenona de alta pureza (1 gramo) en 4 ml de metil-etil-cetona durante 2 horas. Después de las 2 horas, se dejó enfriar la solución a la temperatura ambiente y los sólidos se recogieron por filtración a vacío. El sólido se analizó inmediatamente por XPRD y se determinó que era un solvato de eplerenona (presumiblemente el solvato de metil-etil-cetona). El solvato se secó subsiguientemente a 100°C a la presión ambiente durante 30 a 60 minutos. Los sólidos secados se analizaron por XPRD y se determinó que eran fundamentalmente Forma L sin pico de difracción alguno para Forma H presente.

Ejemplo 11

25 Cristalización Forma L Directamente a Partir de la Solución

Procedimiento A

Se disolvió eplerenona (2,5 g) en acetato de etilo por calentamiento a 75°C. Una vez que se disolvió la eplerenona, la solución se mantuvo a 75°C durante 30 minutos para asegurar la disolución completa. La solución se enfrió luego a 1°C/min hasta 13°C. Una vez a 13°C, se dejó el lodo en agitación durante 2 horas a 750 rpm con un agitador suspendido. Los cristales se recogieron por filtración a vacío y se secaron en una estufa de vacío a 40°C durante una hora. El espectro XPRD y el termograma de DSC del sólido eran característicos de la eplerenona de Forma L. El análisis termogravimétrico (TGA) del sólido indicó la ausencia total de pérdida de peso del sólido hasta 200°C.

35 Procedimiento B

En un procedimiento alternativo, se disolvieron 2 g de eplerenona en 350 ml de acetonitrilo/agua 15/85% por calentamiento en un plato caliente con agitación magnética. Una vez que se disolvió la eplerenona, se dejó enfriar la solución a la temperatura ambiente durante una noche con agitación magnética. El sólido resultante se recogió por filtración a vacío. Los cristales eran birrefringentes y tenían un hábito cristalino triangular, semejante a placas. El sólido tenía un análisis XPRD y DSC característico de eplerenona de Forma L. El TGA indicaba la ausencia total de pérdida de peso hasta 200°C.

45 Procedimiento C

En un procedimiento alternativo, se pusieron 640 mg de eplerenona en un matraz de 50 ml con 20 ml de etilbenceno. El lodo resultante se calentó a 116°C y se convirtió en una solución clara. La solución clara se enfrió a 25°C durante 30 minutos. La formación de núcleos comenzó a 84°C durante el periodo de enfriamiento. Los sólidos resultantes se filtraron de la solución y se secaron al aire para dar 530 mg de sólidos (recuperación, 83%). La microscopía con platina caliente y la XPRD confirmaron que los sólidos eran cristales de la Forma L.

Procedimiento D

En un procedimiento alternativo, se añadieron 1,55 g de eplerenona a 2,0 ml de nitrobenceno y se calentaron a 200°C. El lodo resultante se agitó durante una noche a 200°C. La solución se dejó enfriar a la temperatura ambiente (convección natural del aire) al día siguiente y se aisló el sólido. Se determinó que el sólido era eplerenona de Forma L por XPRD y microscopía con luz polarizada.

60 Procedimiento E

En un procedimiento alternativo, se añadieron 5,0 g de eplerenona (pureza mayor que 99%) a 82 g de metanol (104 ml). Bajo acción de agitación (210 rpm), se calentó la solución a 60°C y se mantuvo a dicha temperatura durante 20 minutos para asegurar la disolución completa. La solución se enfrió luego a -5°C a una velocidad de 0,16°C/minuto con agitación. Los cristales se recogieron por filtración y se secaron en una estufa de vacío a 40°C durante 20 horas. Se determinó que los sólidos secados eran eplerenona de Forma L pura por análisis DSC y XPRD.

ES 2 265 437 T3

Procedimiento F

5 En un procedimiento alternativo, se añadieron 6,0 g de eplerenona (solvato de etanol que contenía 9% de etanol y tenía una pureza corregida de 95,2%) a 82 g de metanol (104 ml). Bajo acción de agitación (210 rpm), la solución se calentó a 60°C y se mantuvo a dicha temperatura durante 20 minutos para asegurar la disolución completa. La solución se enfrió luego a 50°C a una velocidad de 0,14°C/minuto y se mantuvo después a dicha temperatura durante aproximadamente 2,5 horas. La solución se enfrió luego a -5°C a una velocidad de 0,13°C/minuto con agitación. Los cristales se recogieron por filtración y se secaron en una estufa de vacío a 40°C durante 16 horas. Se determinó que los sólidos secados eran eplerenona de Forma L pura por análisis DSC y XPRD.

10 Ejemplo 12

Cristalización Forma L Directamente a Partir de la Solución

15 Se añadieron 150,5 mg del diepóxido y 2,85 g de eplerenona a 1,5 ml de nitrobenzeno. La mezcla se agitó magnéticamente a 200°C durante varias horas. Se dejó enfriar luego el lodo a la temperatura ambiente por convección natural del aire. La muestra se secó y se analizó por microscopía con luz polarizada y XPRD. La XPRD indicó que la muestra era una mezcla Forma H y Forma L. Los cristales eran translúcidos por microscopía, indicando que no se había producido desolvatación (y conversión en Forma H o Forma L).

20 Ejemplo 13

Preparación de Eplerenona Amorfa Por Desmenuzamiento

25 Se llenó aproximadamente la mitad de un envase de acero Wig-L-Bug con aproximadamente 60 g de eplerenona (pureza mayor que 99,9%). Se pusieron una bola y una tapa de acero sobre el recipiente de la muestra y se agitó durante 30 segundos con el aparato Wig-L-Bug. La eplerenona se separó por rascado de la superficie del recipiente Wig-L-Bug y el recipiente se agitó durante 30 segundos adicionales. El sólido resultante se analizó por XPRD y DSC y se determinó que era una mezcla de eplerenona amorfa y eplerenona cristalina Forma L.

30 Ejemplo 14

Preparación de Producto Amorfo Por Liofilización

35 Aproximadamente 100 mg de eplerenona bruta se pesaron en un vaso de precipitados que contenía 400 ml de agua. La solución se calentó ligeramente durante 5 minutos, y se trató luego por ultrasonidos, después de lo cual se calentó con agitación durante 5 minutos más. Aproximadamente 350 ml de la solución de eplerenona se pasaron por filtración a un matraz de 1000 ml con fondo redondo, que contenía 50 ml de agua HPLC. La solución se congeló súbitamente en un baño de hielo seco/acetona en un período de tiempo de 1 a 2 minutos. El matraz se conectó a un liofilizador Labconco Freezone 4.5, y se secó durante una noche. Los sólidos contenidos en el matraz se transfirieron a una pequeña botella de color pardo. Una pequeña parte alícuota se observó bajo microscopía con luz polarizada a 10X, Optivar 1.25X en aceite Cargille (1,404) y se observó que era al menos en un 95% eplerenona amorfa. Las Figuras 24 y 25 muestran el espectro XPRD y el termograma DSC obtenidos para la eplerenona amorfa. El pico observado a 39 grados dos theta en la Figura 24 es atribuible al recipiente de aluminio de la muestra.

45

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

ES 2 265 437 T3

Ejemplo 15

Composición Polimórfica de Eplerenona

- 5 Se preparan tabletas que contienen dosis de 25 mg, 50 mg, 100 mg y 200 mg de eplerenona de Forma L, y tienen la composición siguiente:

10	Ingrediente	Peso % de la Tableta
	Eplerenona en Forma L	29,41
	Eplerenona en Forma H	No Detectada
15	Lactosa monohidratada (#310, NF)	42,00
	Celulosa microcristalina (NF, Avicel PH101)	18,09
20	Croscarmelosa sódica (NF, Ac-Di-Sol)	5,00
	Hidroxipropil-metilcelulosa (#2910, USP, Pharmacoat 603)	3,00
	Lauril-sulfato de sodio (NF)	1,00
25	Talco (USP)	1,00
	Estearato de magnesio (NF)	0,50
30	Total	100,00

Ejemplo 16

Composición Polimórfica de Eplerenona

- 35 Se preparan cápsulas (cápsula de gelatina dura, #0) que contienen una dosis de 100 mg de eplerenona y tienen la composición siguiente:

40	Ingrediente	Cantidad (mg)
45	Eplerenona en Forma L	90,0
	Eplerenona en Forma H	10,0
	Lactosa, hidratada, NF	231,4
50	Celulosa microcristalina NF	45,4
	Talco, USP	10,0
55	Croscarmelosa sódica, NF	8,0
	Lauril-sulfato de sodio, NF	2,0
	Dióxido de sílice coloidal, NF	2,0
60	Estearato de magnesio, NF	1,2
65	Peso total de relleno de la cápsula	400,0

ES 2 265 437 T3

Ejemplo 17

Composición Polimórfica de Eplerenona

- 5 Se preparan cápsulas (cápsula de gelatina dura, tamaño #0) que contienen una dosis de 200 mg de eplerenona y tienen la composición siguiente:

	Ingrediente	Cantidad (mg)
10	Eplerenona en Forma L	190,0
	Eplerenona en Forma H	10,0
15	Lactosa, hidratada, NF	147,8
	Celulosa microcristalina NF	29,0
	Talco, USP	10,0
20	Croscarmelosa sódica, NF	8,0
	Lauril-sulfato de sodio, NF	2,0
25	Dióxido de silicio coloidal, NF	2,0
	Estearato de magnesio, NF	1,2
30	Peso total de relleno de la cápsula	400,0

Ejemplo 18

Preparación de Eplerenona Molida

- 35 Se disgrega primeramente solvato de metil-etil-cetona secado haciendo pasar el solvato a través de un tamiz de malla 20 en un equipo Fitzmill. El sólido disgregado se muele luego con husillos utilizando un molino de husillos con disco de espárragos Alpine Hosakawa que opera bajo nitrógeno líquido enfriando a una velocidad de alimentación de aproximadamente 250 kilogramos/hora. La molienda con husillos produce eplerenona molida con un tamaño D_{90} de
- 40 aproximadamente 65-100 micrómetros.

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende una primera cantidad de eplerenona y una segunda cantidad de un antagonista beta-adrenérgico, en la cual dichos eplerenona y antagonista beta-adrenérgico comprenden juntos una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico.

2. La combinación de la reivindicación 1, en la cual dicho antagonista beta-adrenérgico se selecciona del grupo constituido por acebutolol, alprenolol, amosulalol, arotinolol, atenolol, befunolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, bucumolol, bucindolol, bunitrolol, butofilolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, cloranolol, indenolol, labetalol, levoprolol, mepindolol, metipranolol, metoprolol, nadolol, nebivolol, nifenalol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, propranolol, sotalol, timolol, toprol, y viskenit.

3. La combinación de la reivindicación 1, en la cual dicho antagonista beta-adrenérgico se selecciona del grupo constituido por Acc 9369, AMO-140, betaxolol, capsinolol, carazolol, CP-331684, diprafenona, ersentilida, esmolol, esprolol, Fr-172516, ISV-208, L-653328, laniolol, levobunolol, LM-2616, nipradilol, Pharmaprojects No 5279, S-atanolol, SB-226552, SR-58894A, SR-59230A, talinolol, tertatolol, tilisolol, TZC-5665, UK-1745, xamoterol y YM-430.

4. La combinación de las reivindicaciones 2 y 3, **caracterizada** adicionalmente porque dicho antagonista beta-adrenérgico y dicha eplerenona están presentes en dicha combinación en un intervalo de relaciones en peso que va desde aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:20 de dicho antagonista beta-adrenérgico a dicho antagonista del receptor de aldosterona.

5. La combinación de la reivindicación 4, en la cual dicho intervalo de relaciones en peso es de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 1:15.

6. La combinación de la reivindicación 5, en la cual dicho intervalo de relaciones en peso es de aproximadamente 1:10.

7. Una composición farmacéutica que comprende una primera cantidad de eplerenona y una segunda cantidad de un antagonista beta-adrenérgico, en la cual dichos eplerenona y antagonista beta-adrenérgico comprenden juntos una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico.

8. Uso de una primera cantidad de eplerenona y una segunda cantidad de un antagonista beta-adrenérgico, en el cual dichos eplerenona y antagonista beta-adrenérgico comprenden juntos una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha eplerenona y dicho antagonista beta-adrenérgico, para la preparación de un medicamento para tratar un trastorno cardiovascular.

9. El uso de la reivindicación 8, en el cual dicho trastorno cardiovascular se selecciona del grupo constituido por hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis y ascitis.

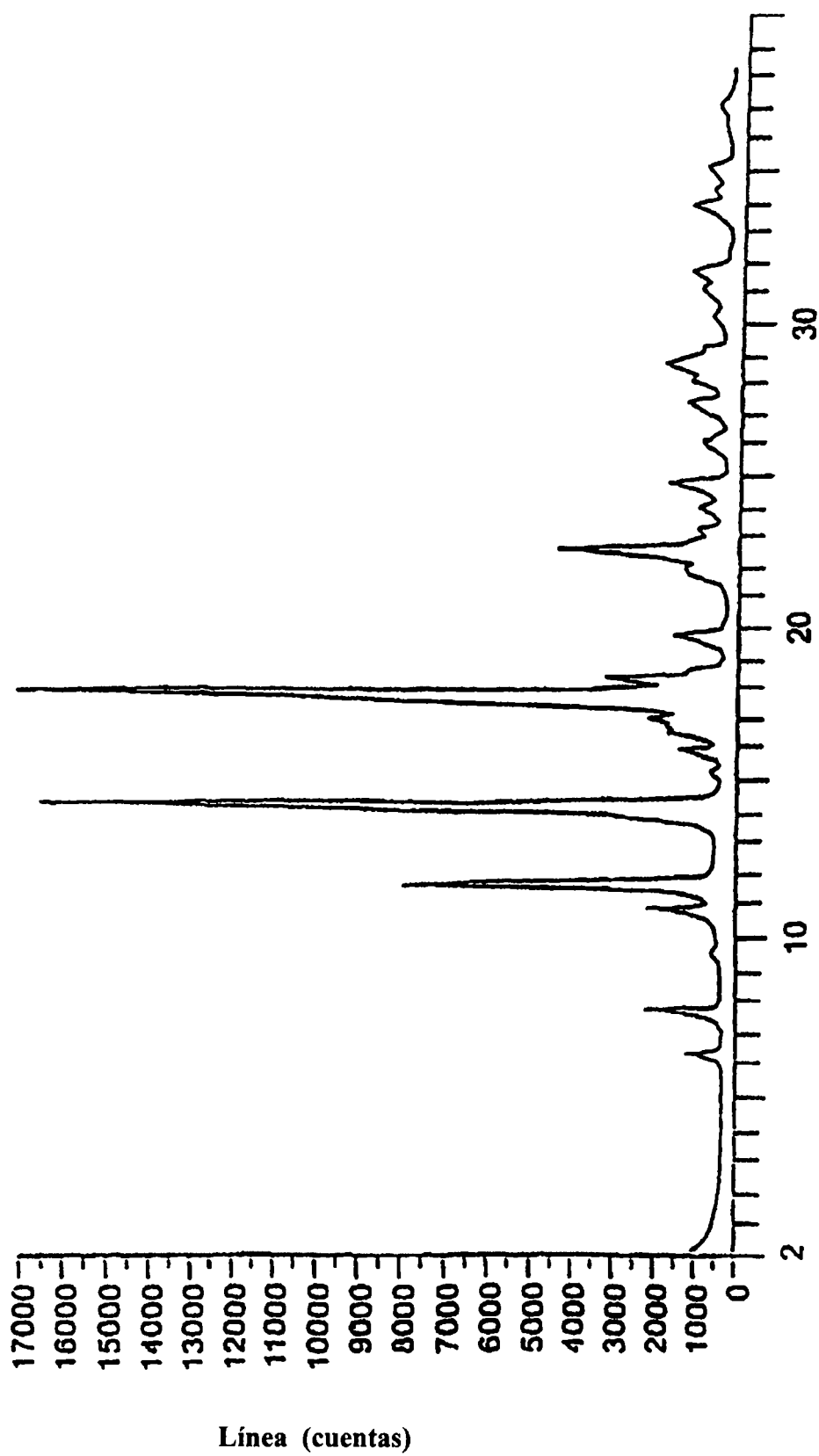


Fig. 1-A

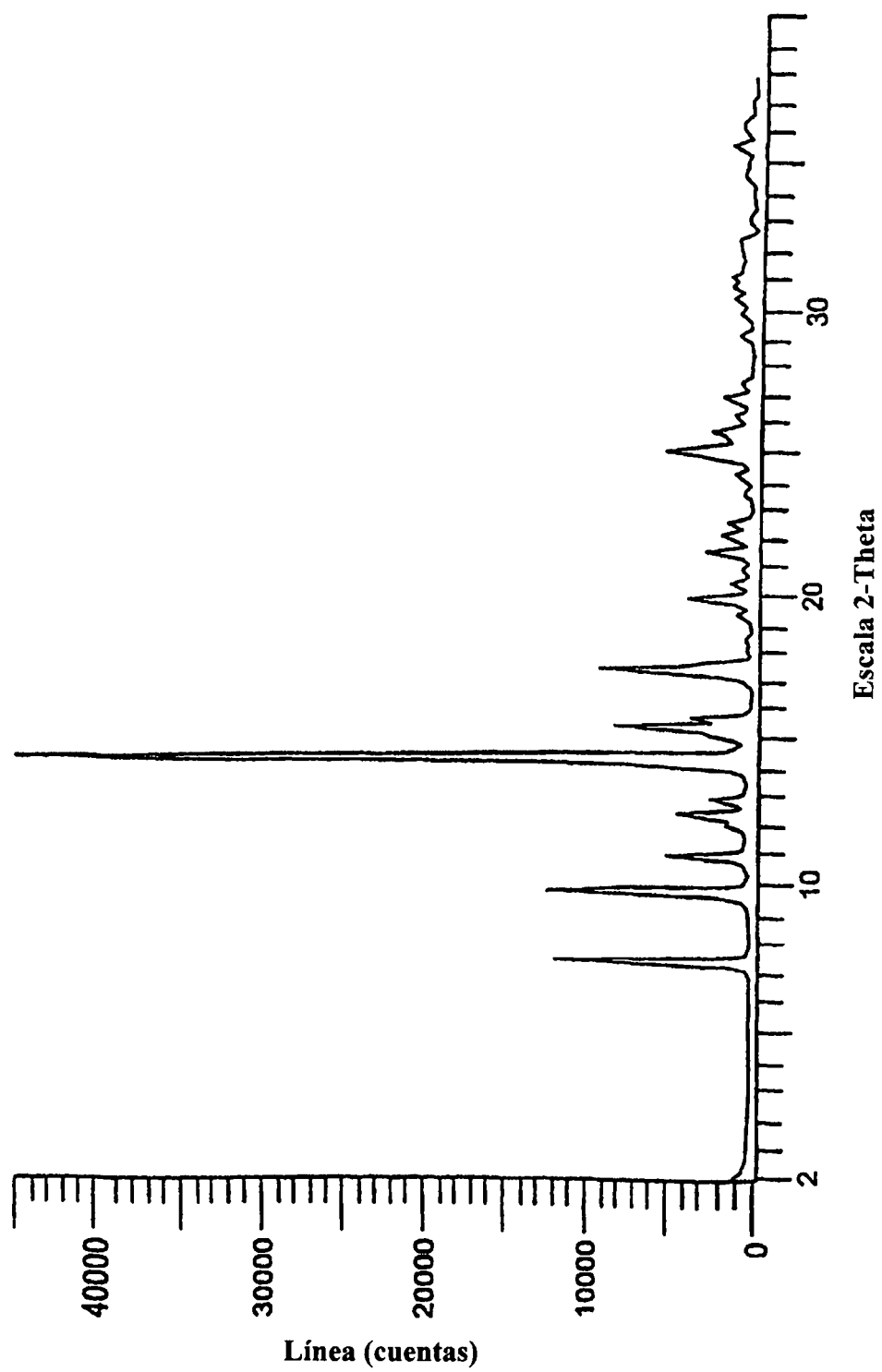


Fig. 1-B

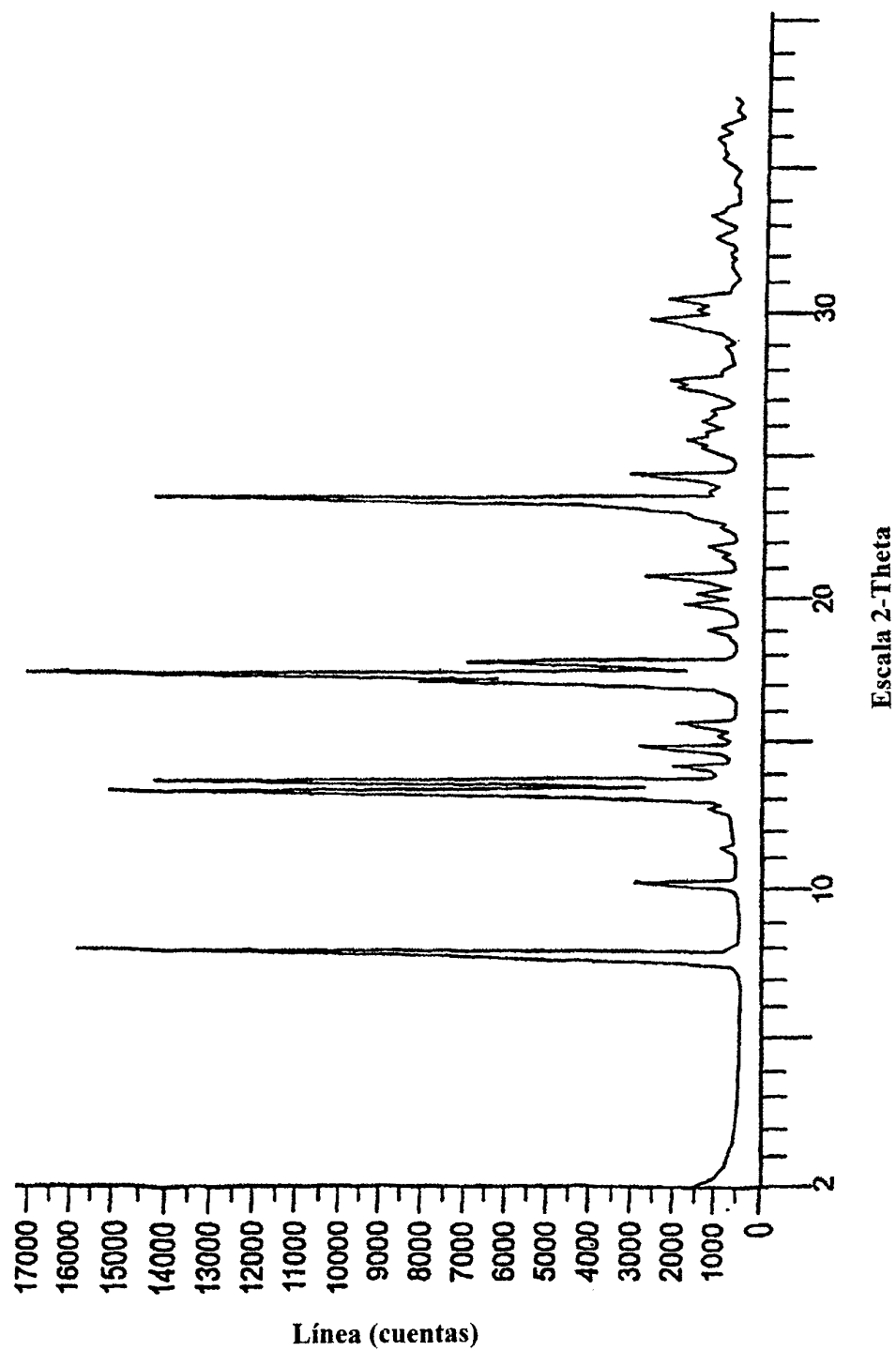


Fig. 1-C

Tamaño: 0,6360 mg
 Método: 10 grad C/min amb hasta 300
 Comentario: BANDEJA CERRADA

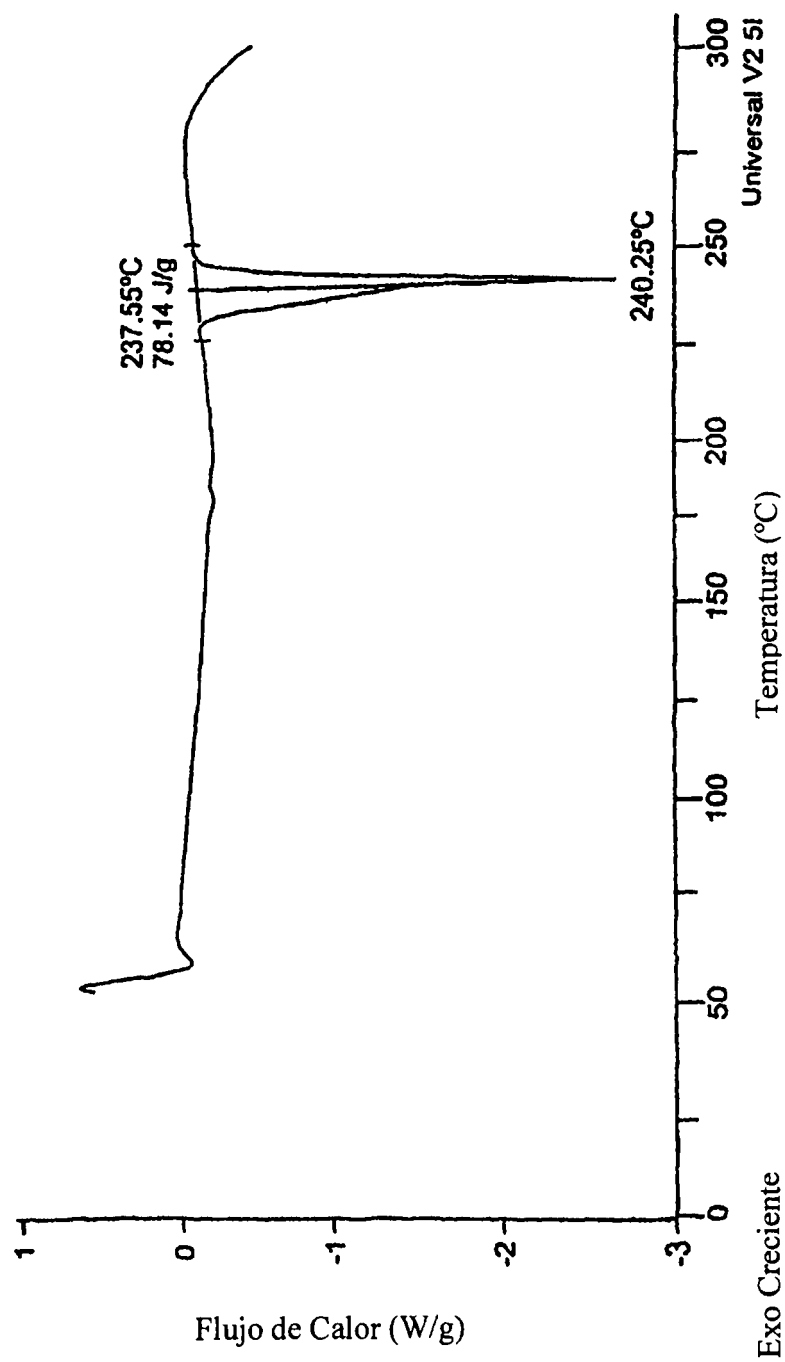


Fig. 2-A

Tamaño: 1,7840 mg
Método: 10 grad C/min amb hasta 300
Comentario: BANDEJA CERRADA

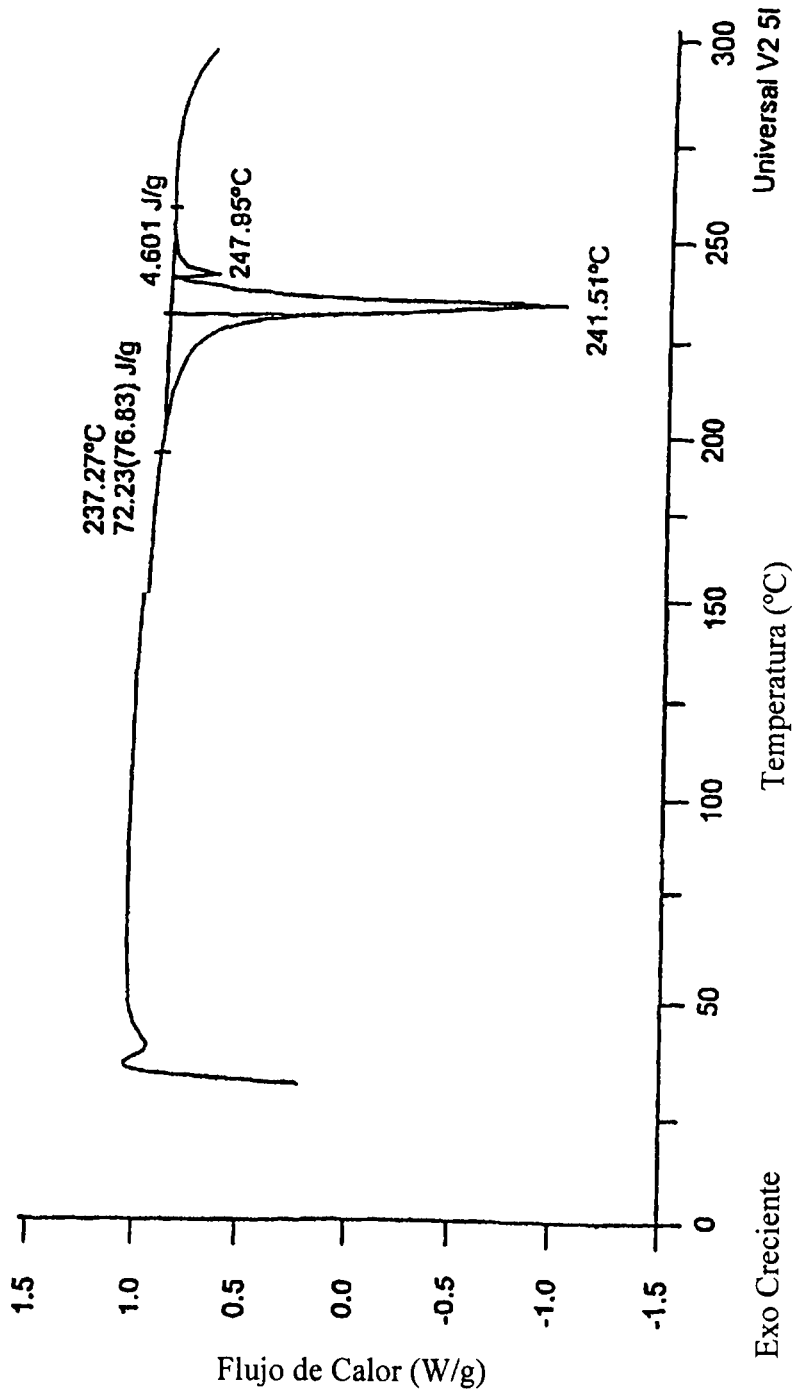


Fig. 2-B

Tamaño: 1,4230 mg
 Método: 10 grad C/min amb hasta 300
 Comentario: BANDEJA CERRADA

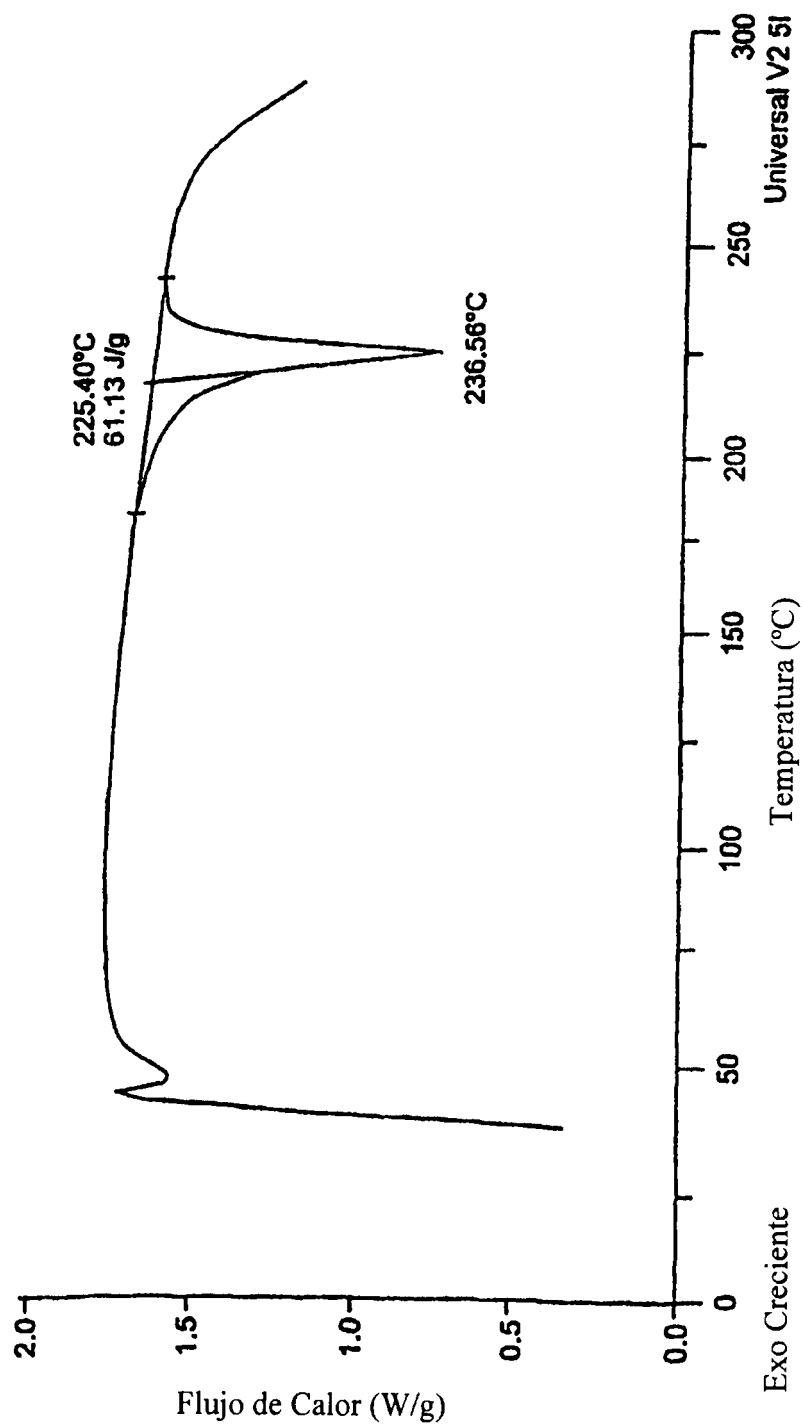


Fig. 2-C

Tamaño: 1,0400 mg
 Método: 10 grad C/min amb hasta 300
 Comentario: BANDEJA CERRADA

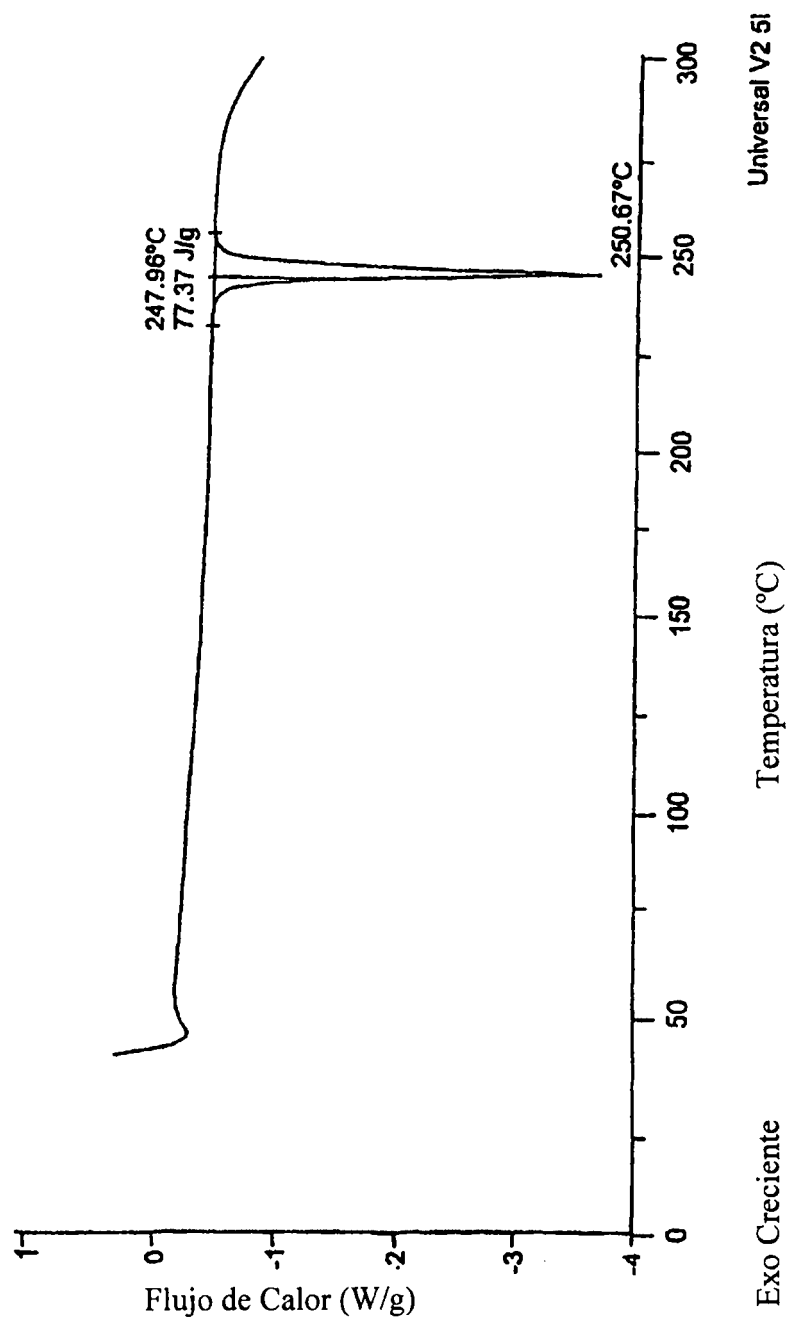


Fig. 2-D

Peso de muestra: **13.100 mg**

Comentario: Solvato de alcohol n-propílico 1
bandeja abierta

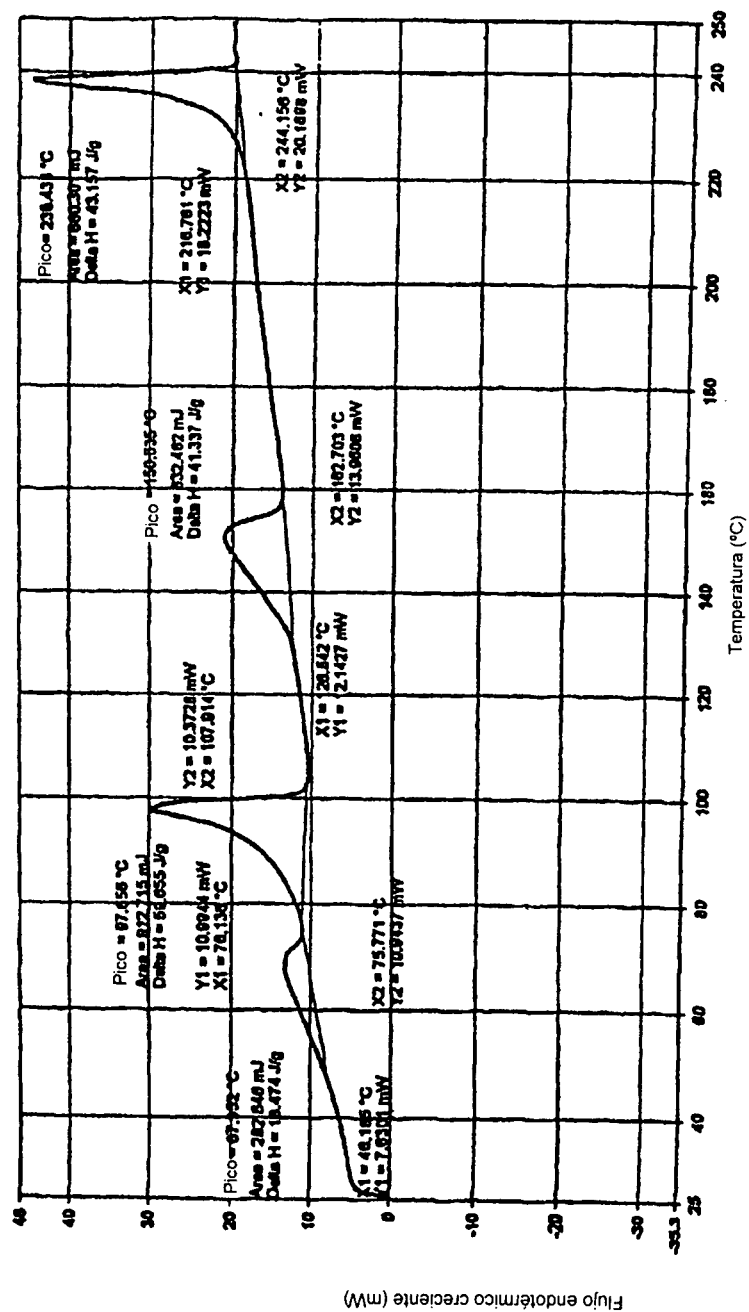


Fig. 2-E

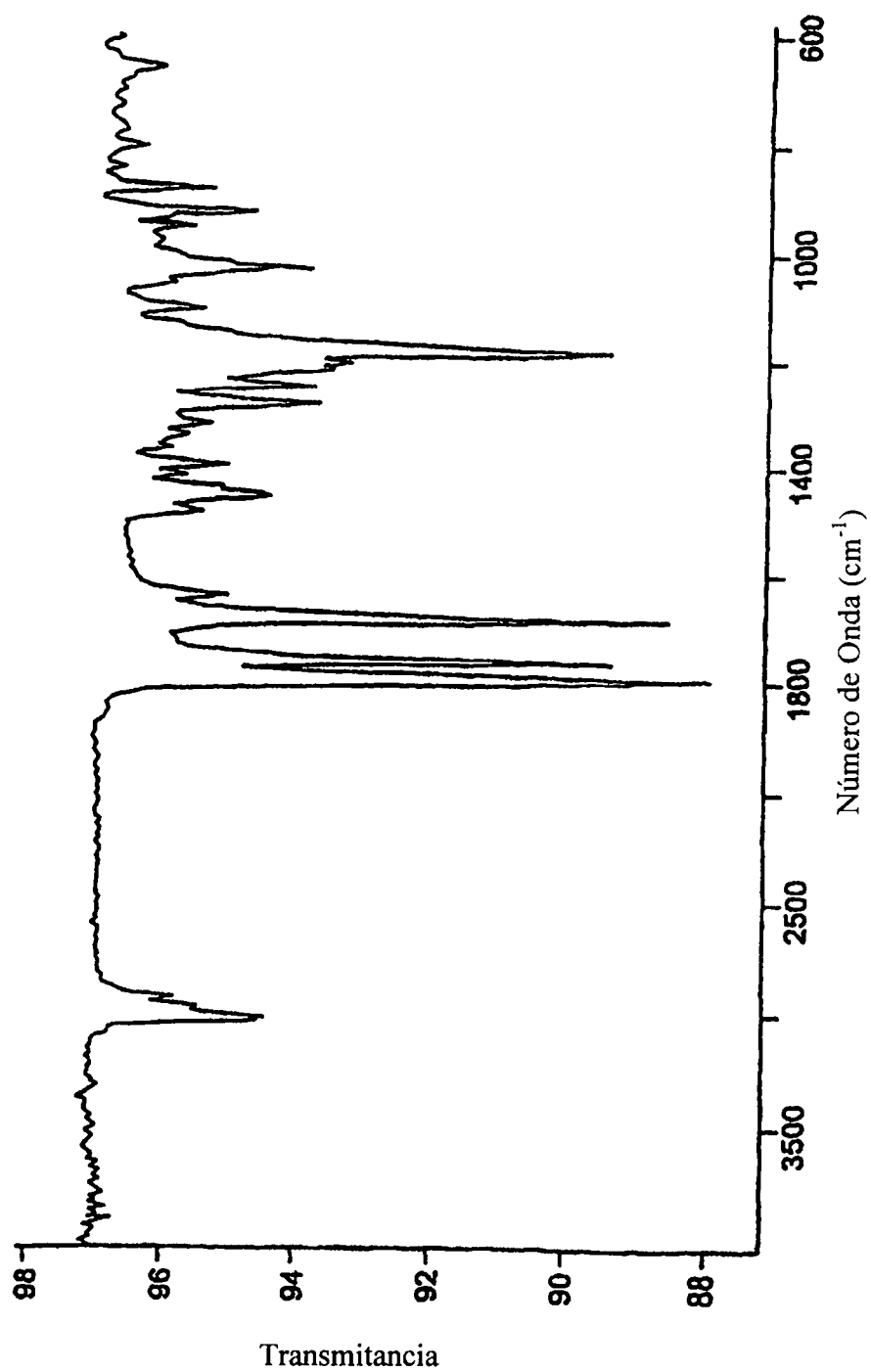


Fig. 3-A

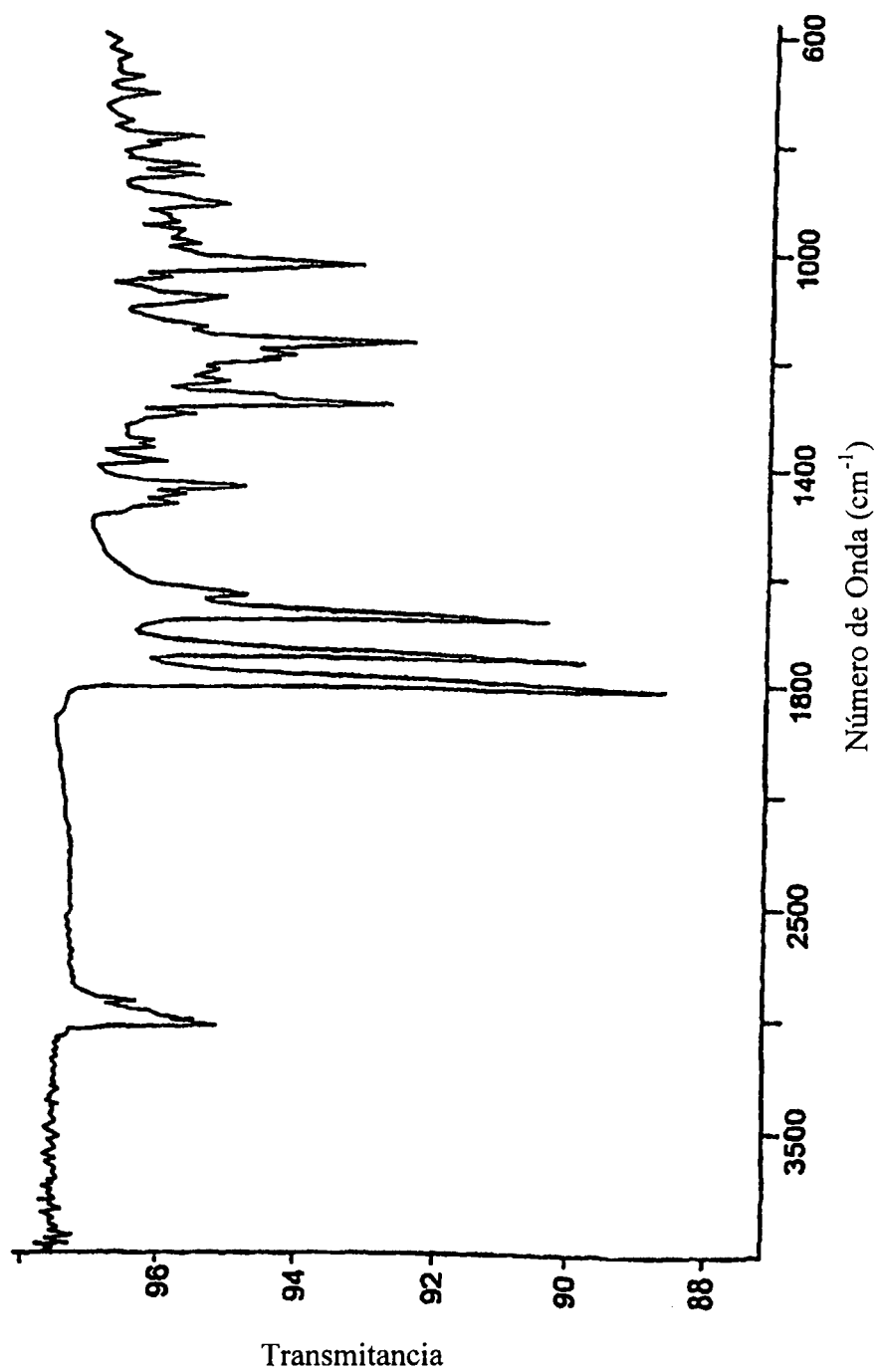


Fig. 3-B

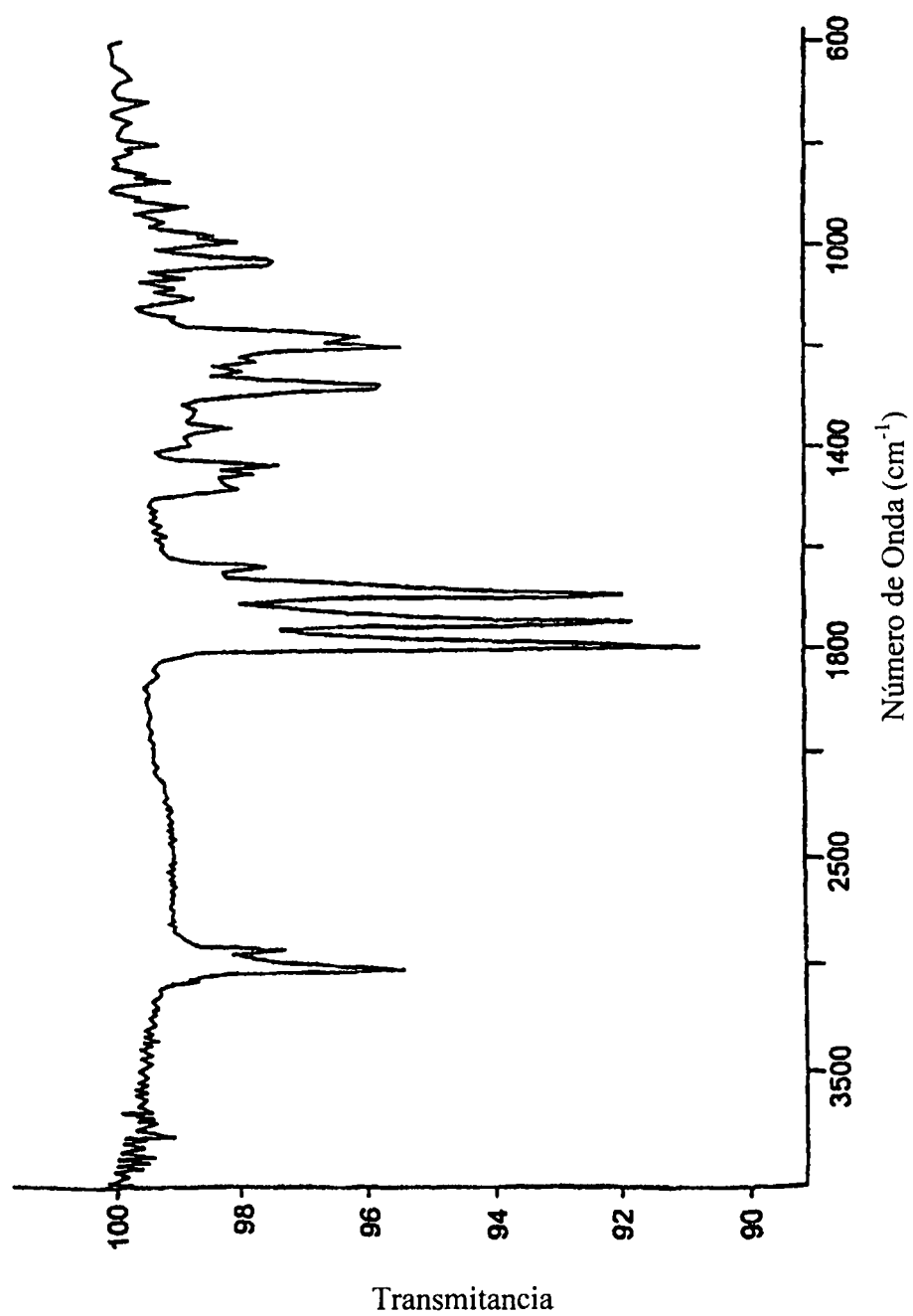


Fig. 3-C

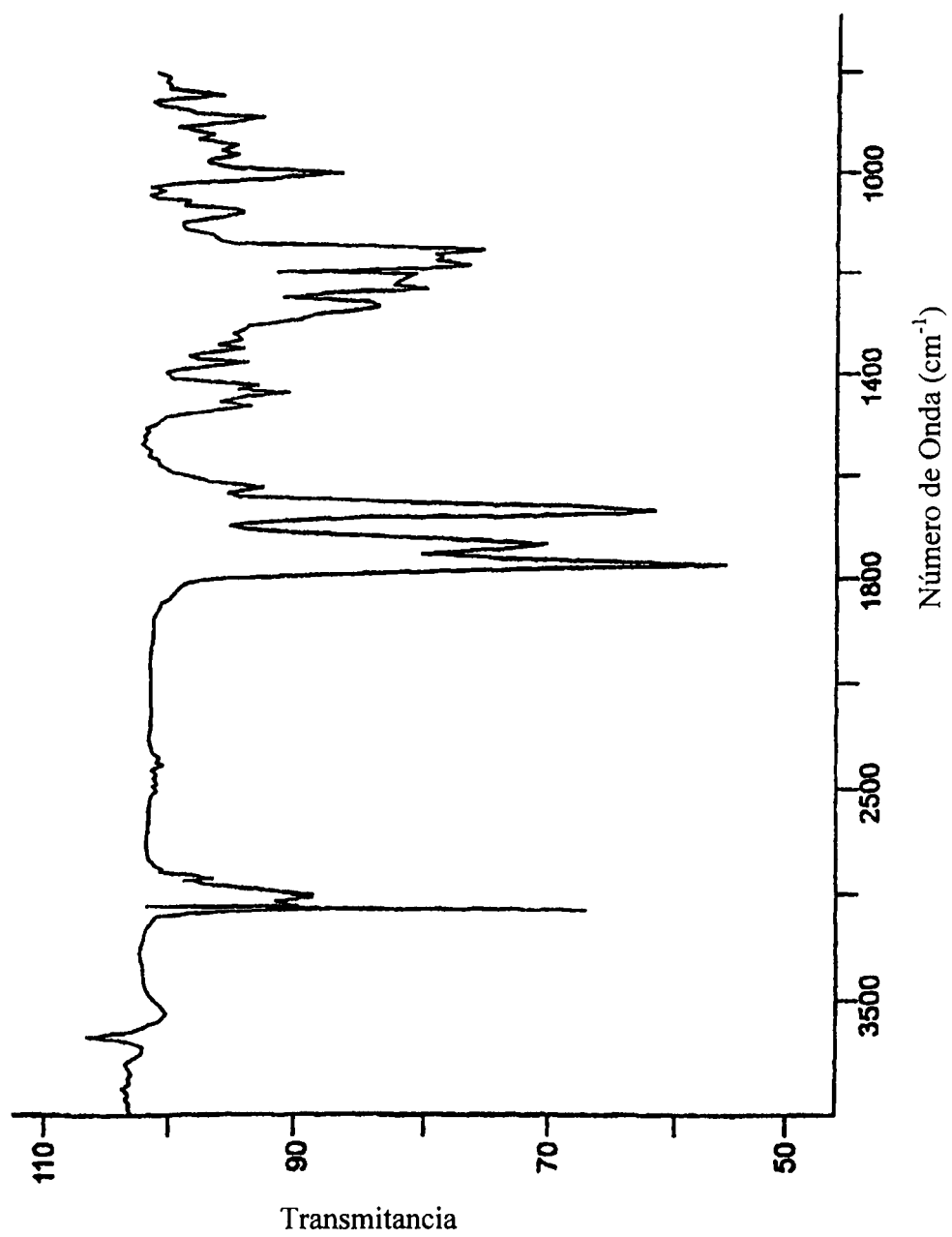


Fig. 3-D

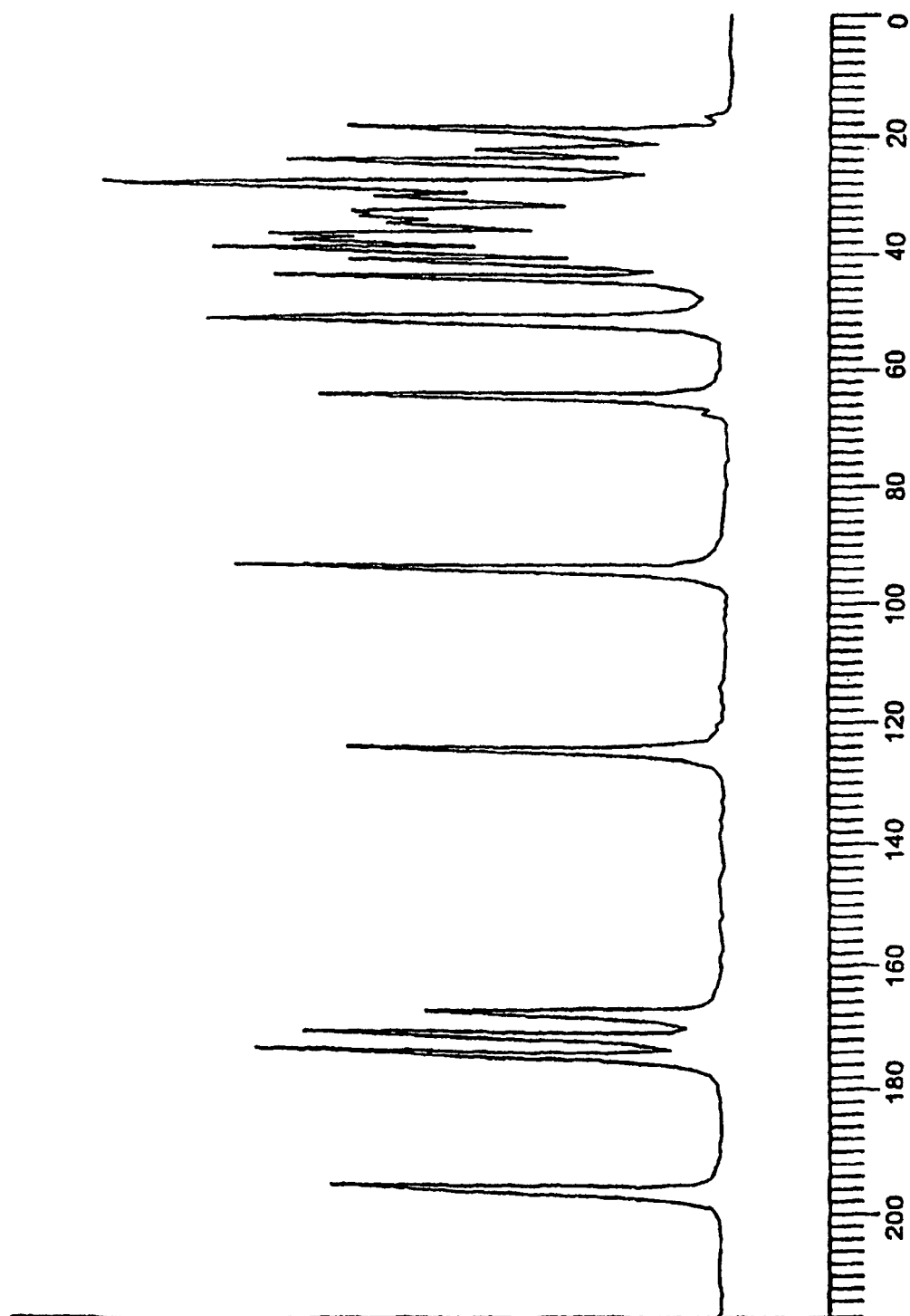


Fig. 4

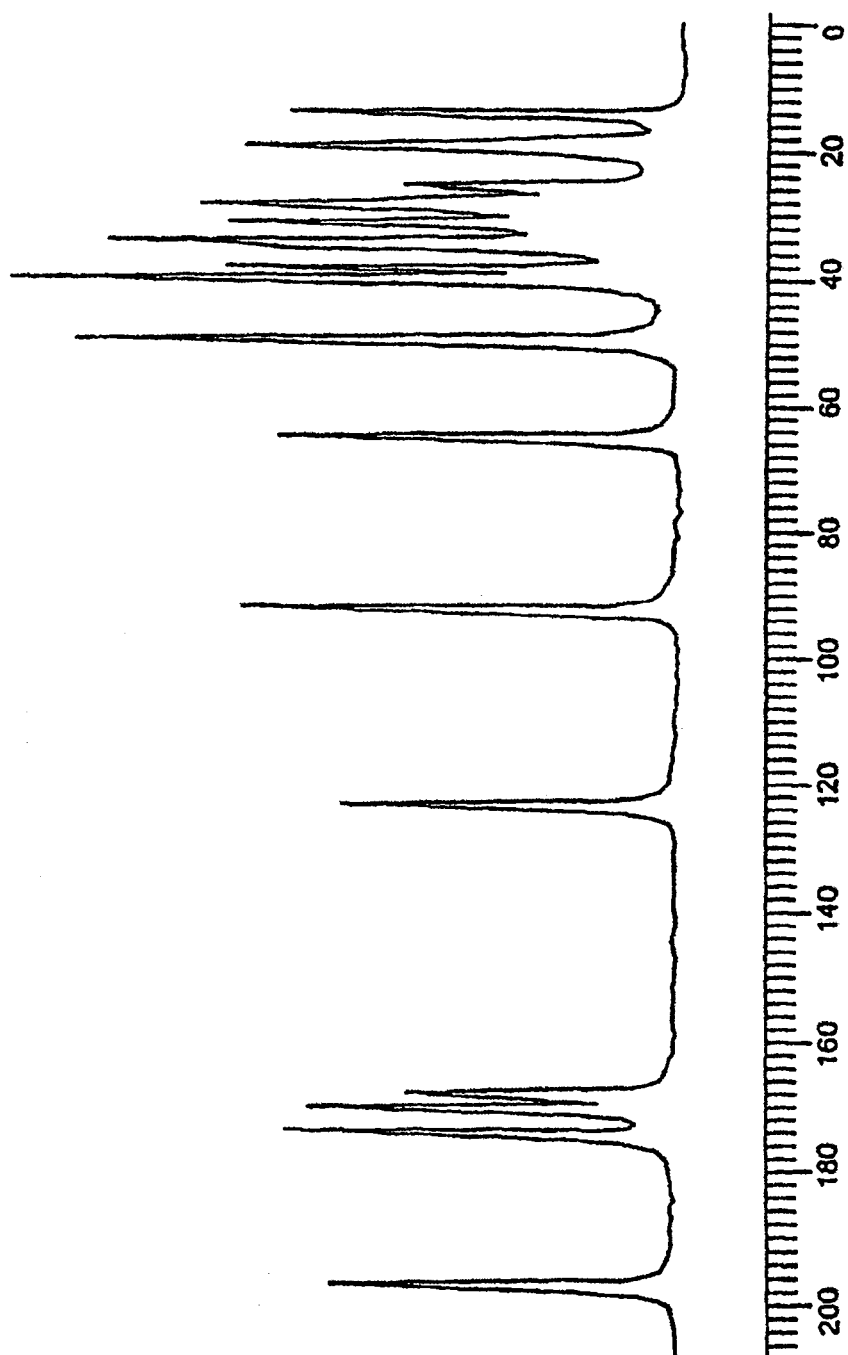


Fig. 5

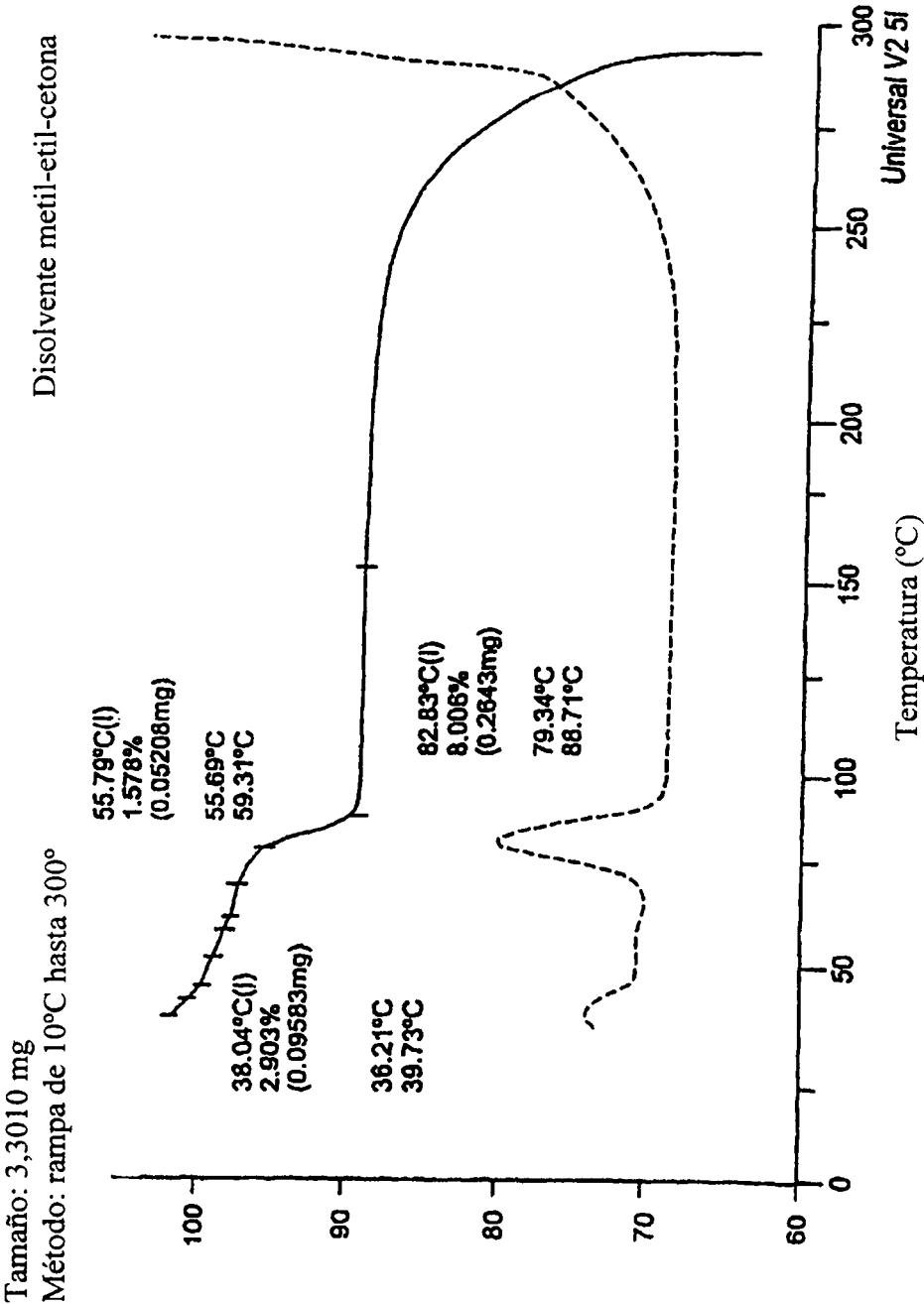


Fig. 6-A

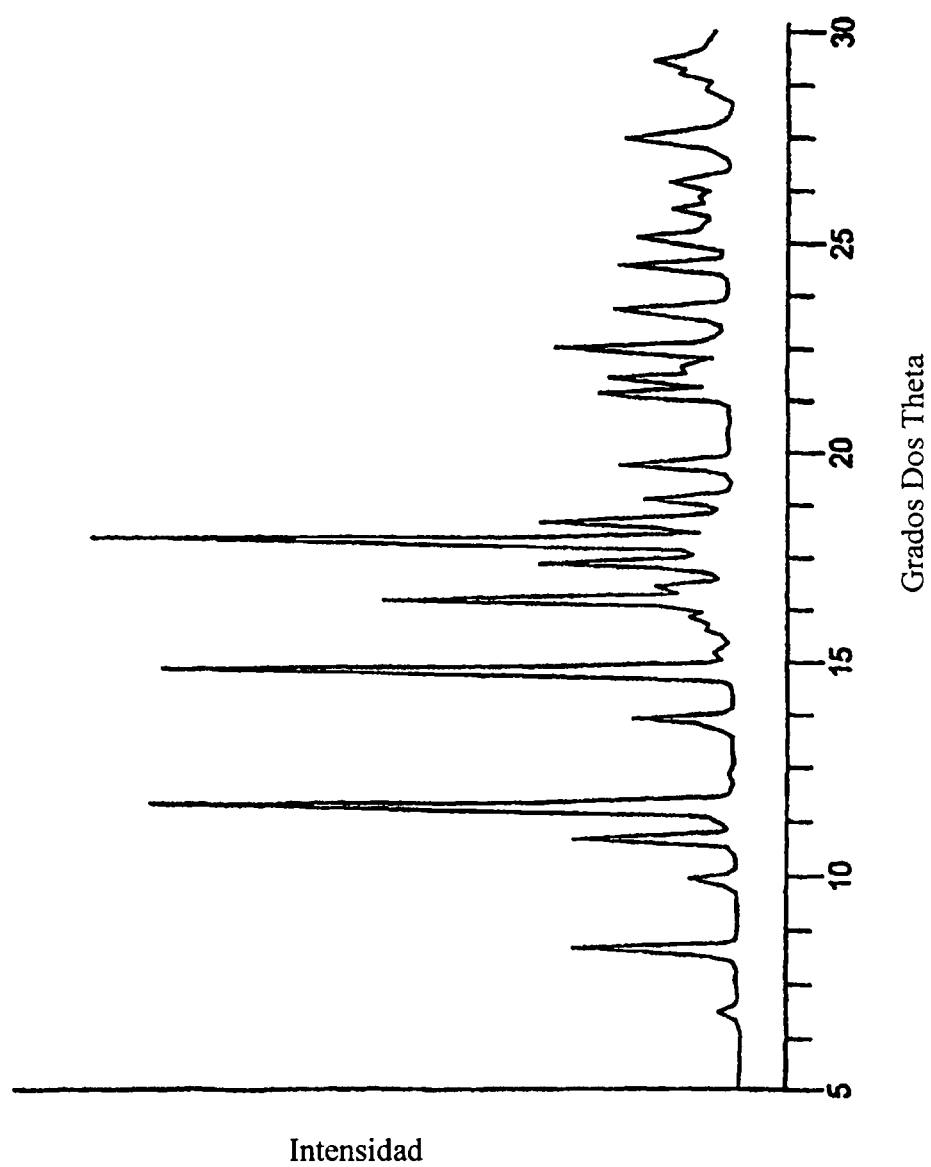


Fig. 7

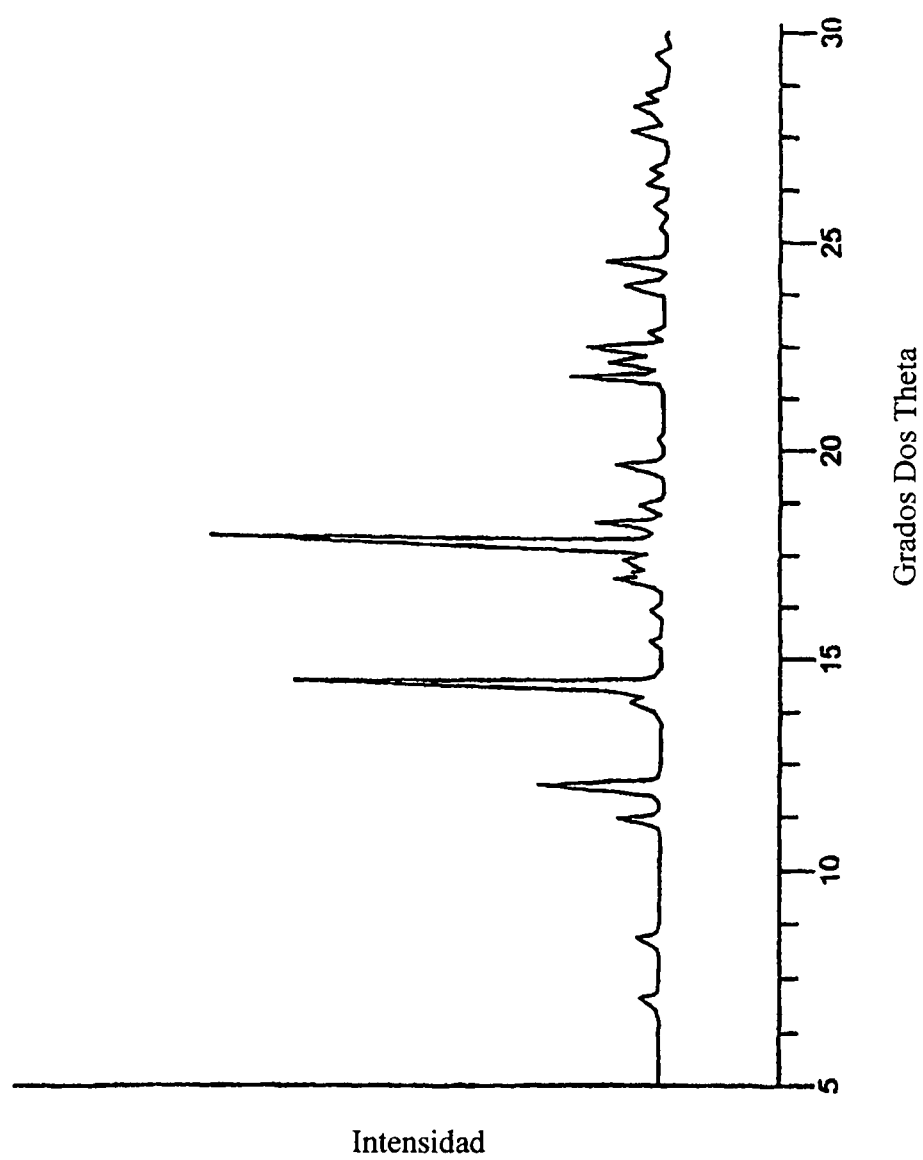


Fig. 8

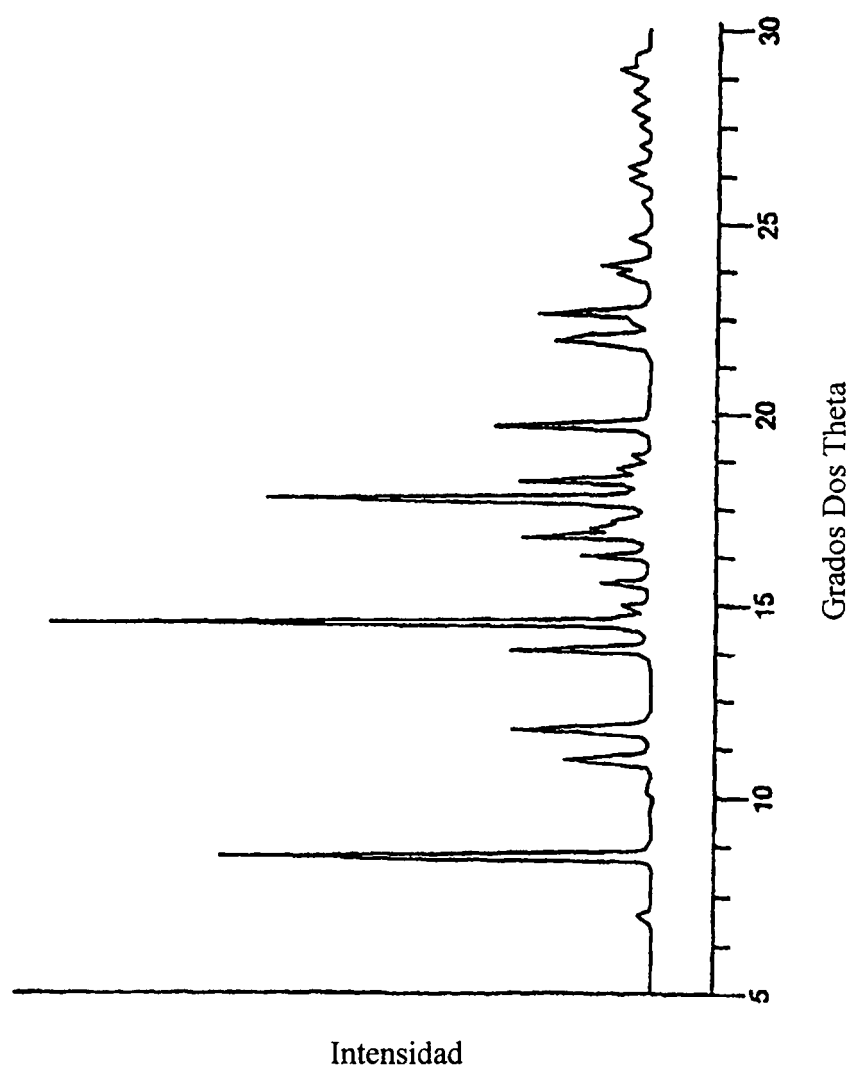


Fig. 9

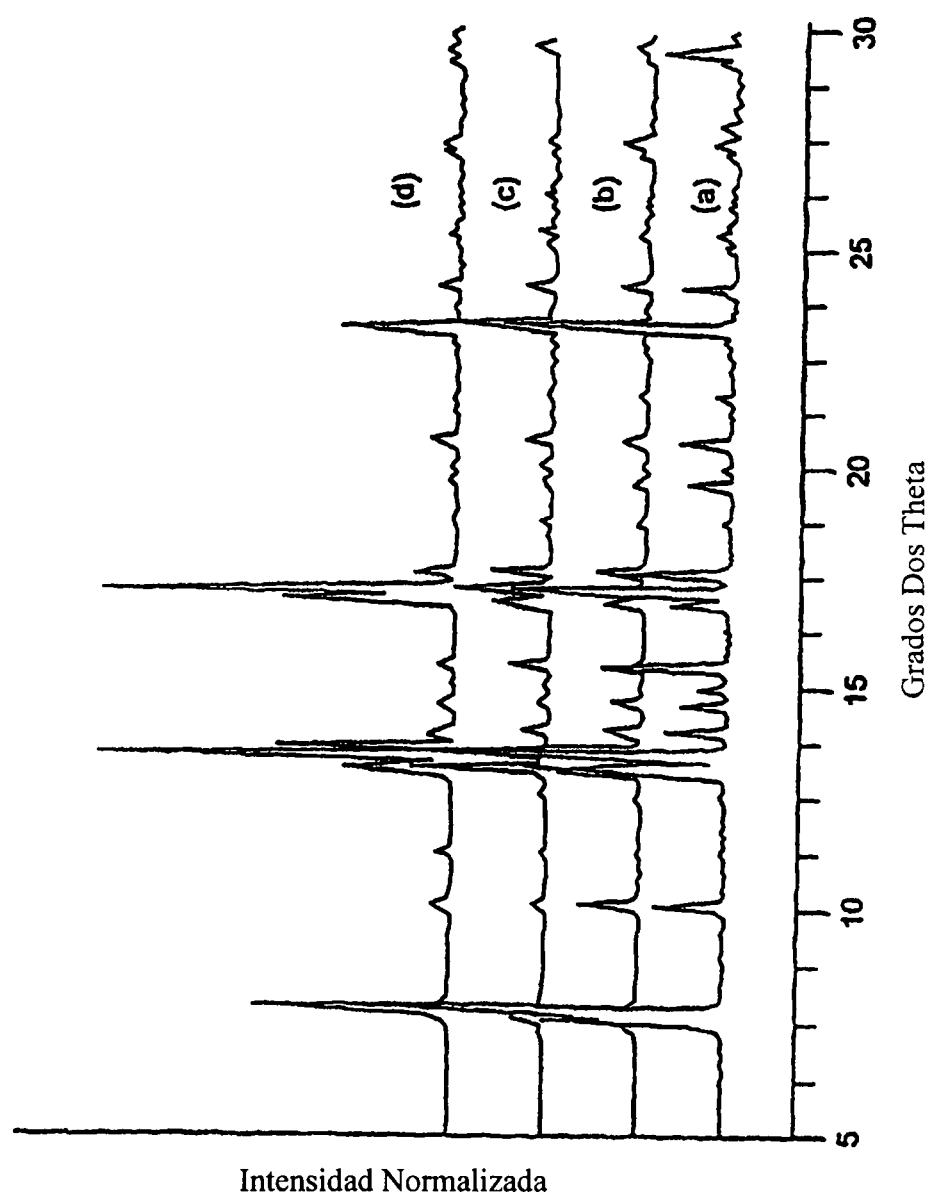


Fig. 10

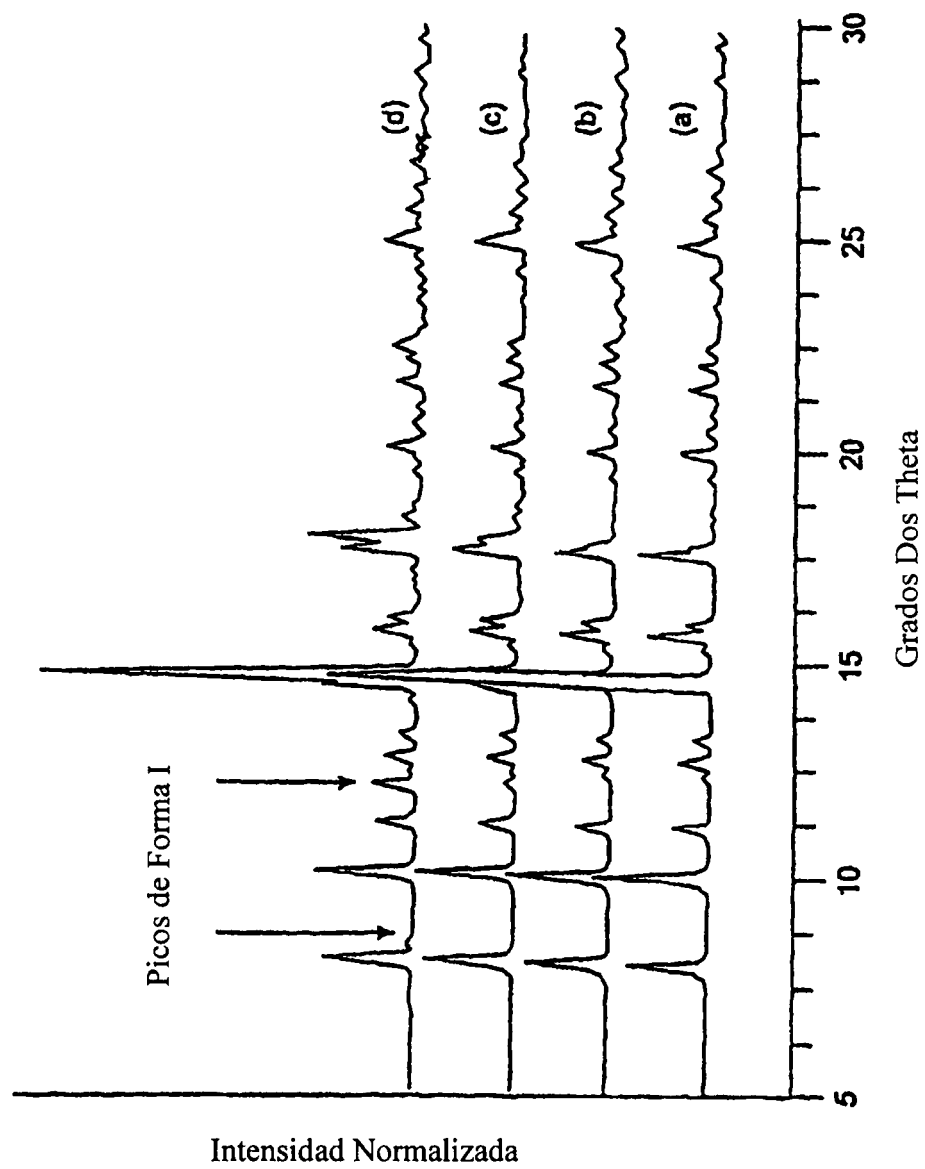


Fig. 11

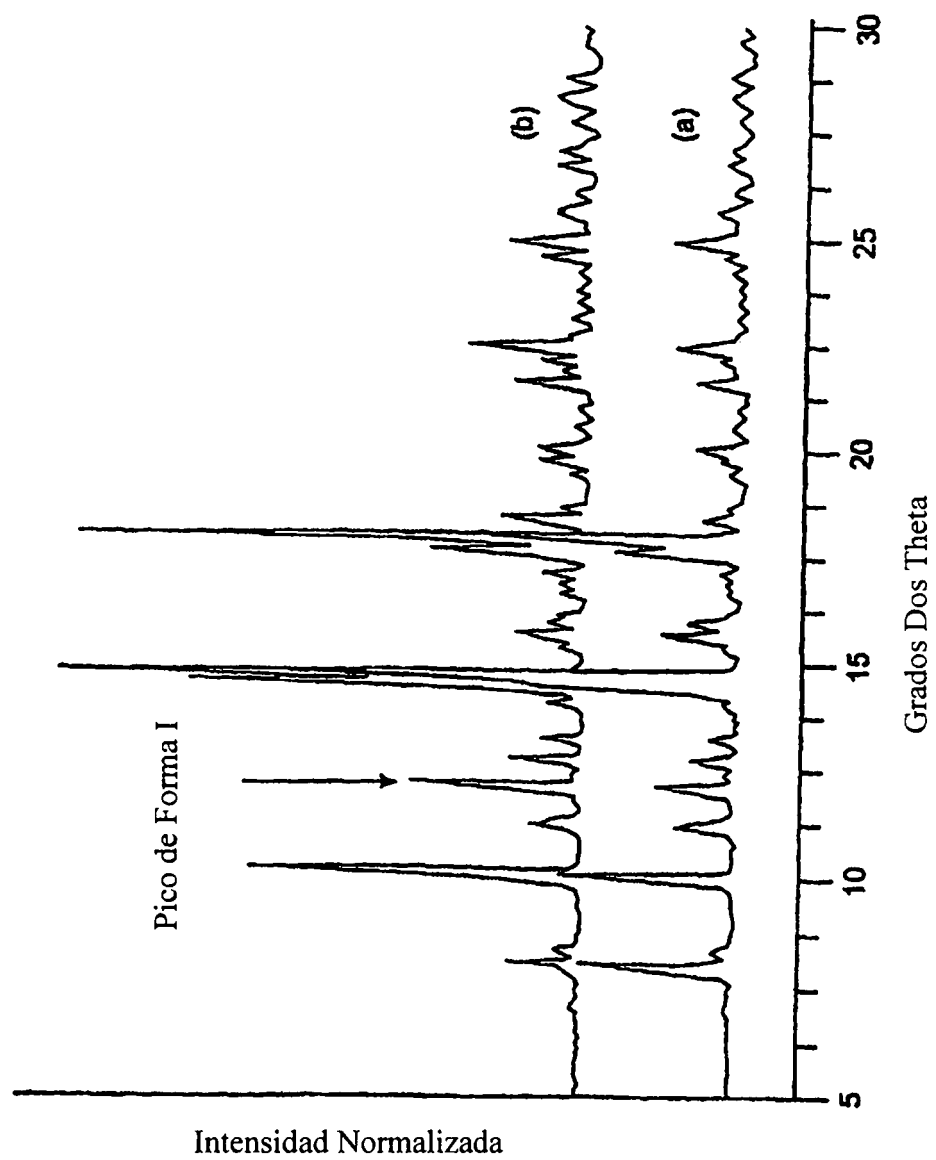


Fig. 12

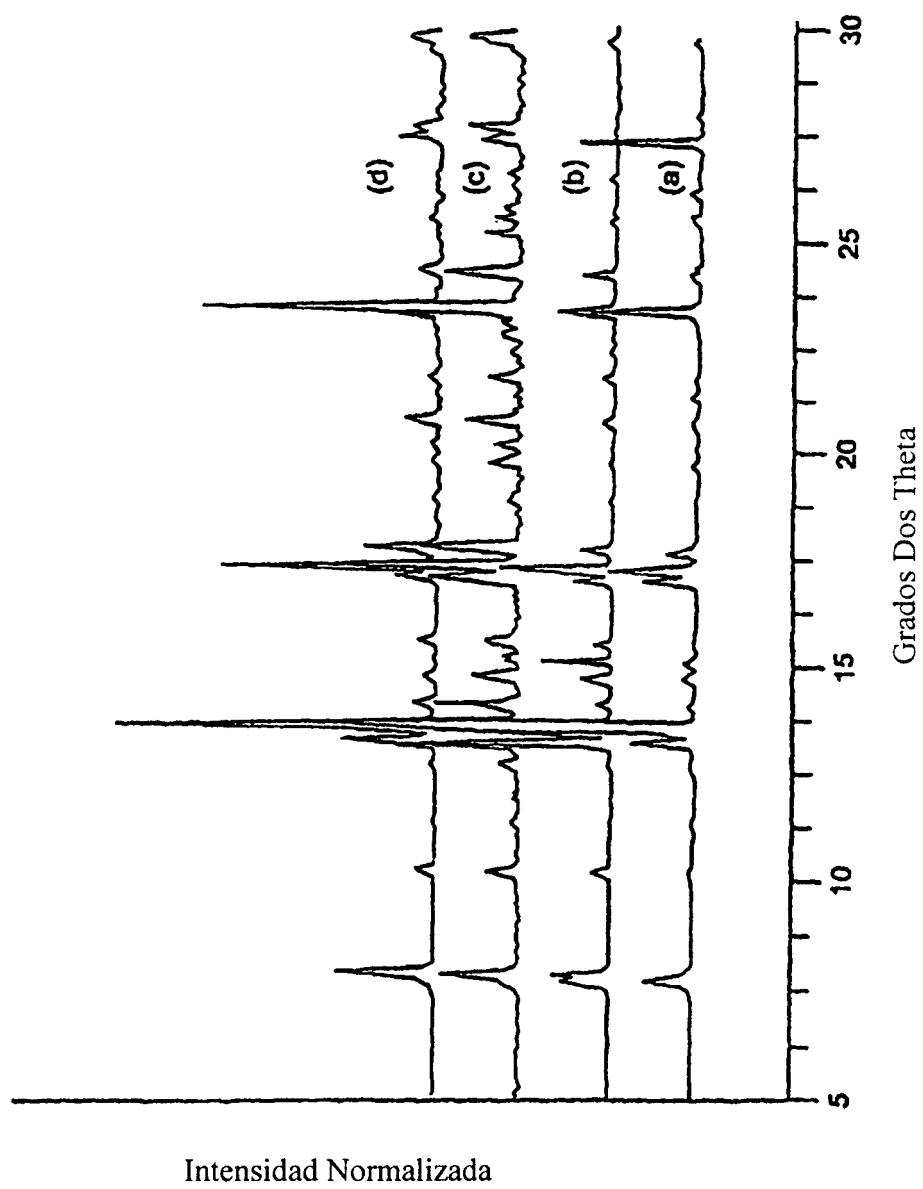


Fig. 13

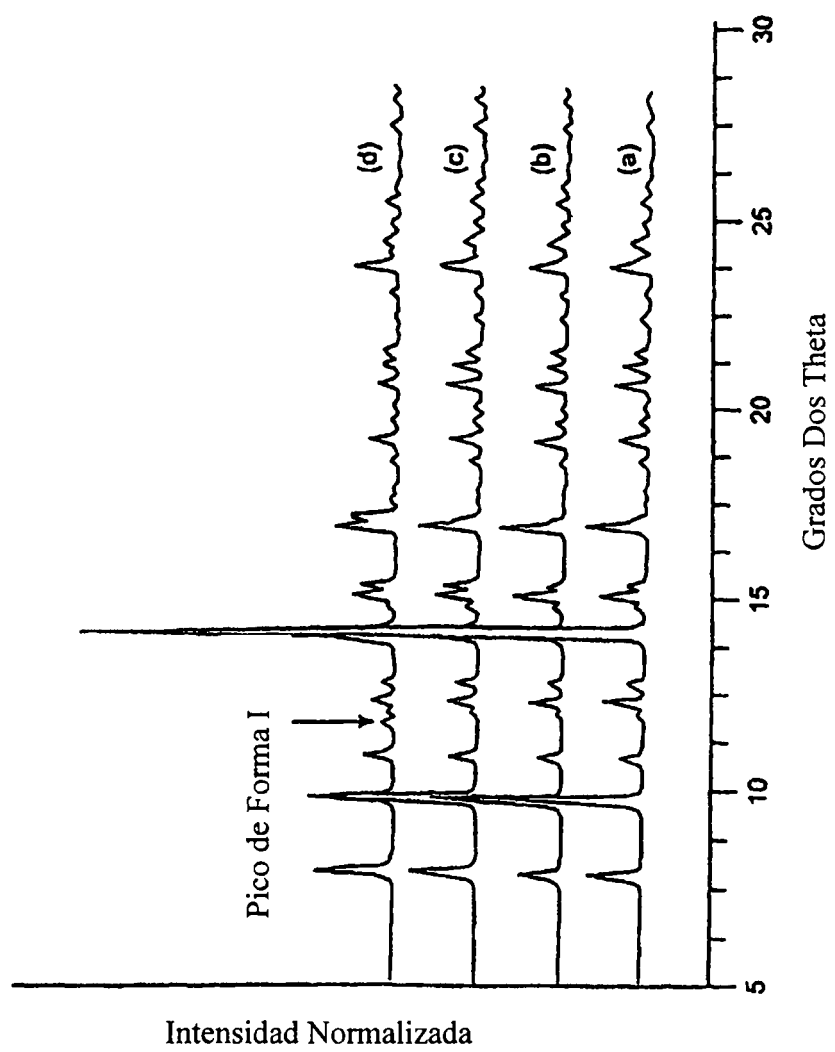
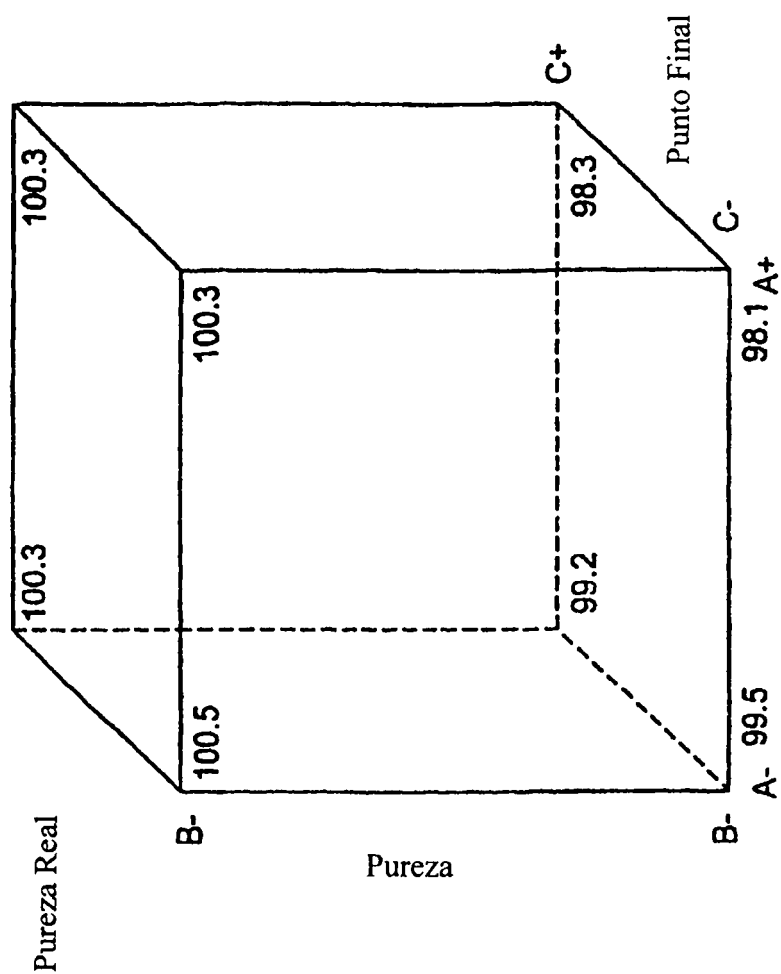


Fig. 14



Velocidad de Enfriamiento

Fig. 15

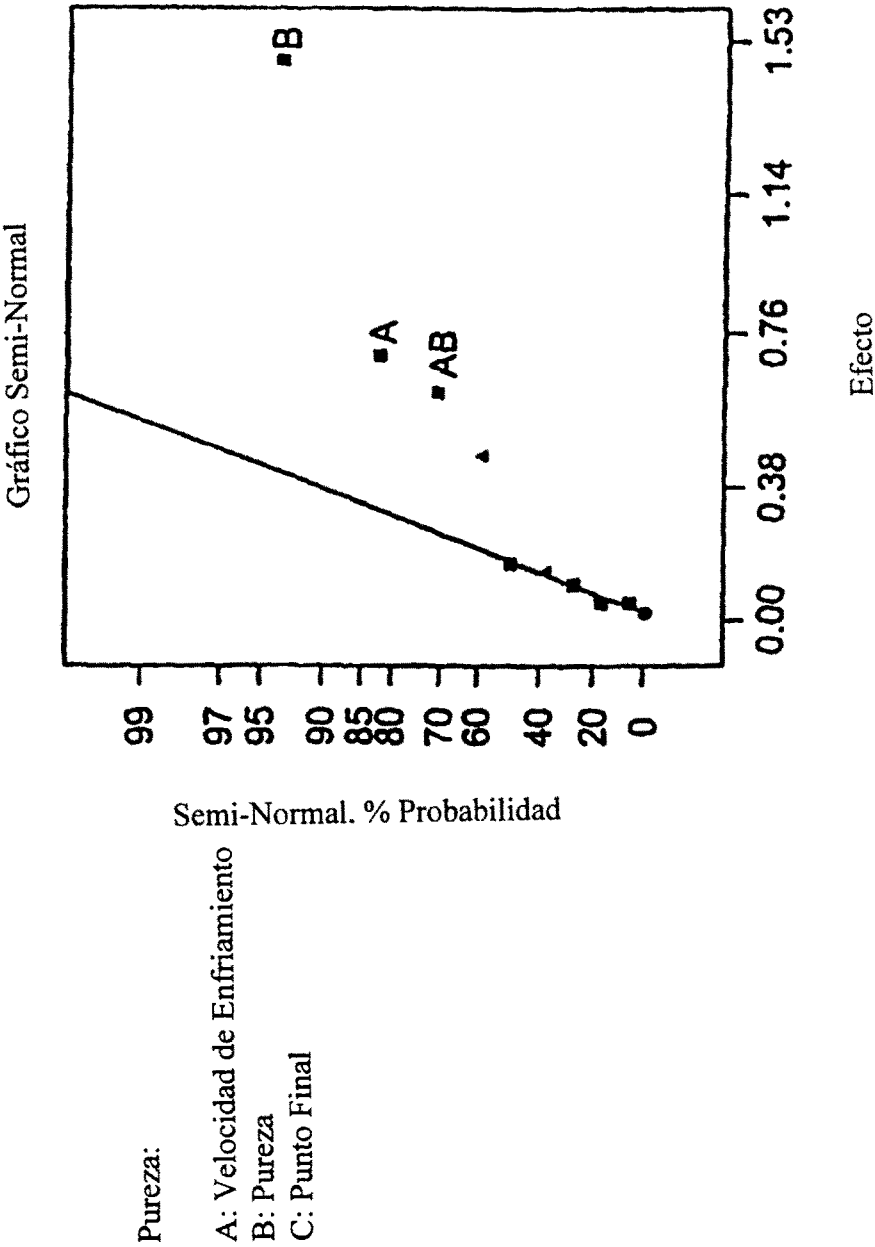
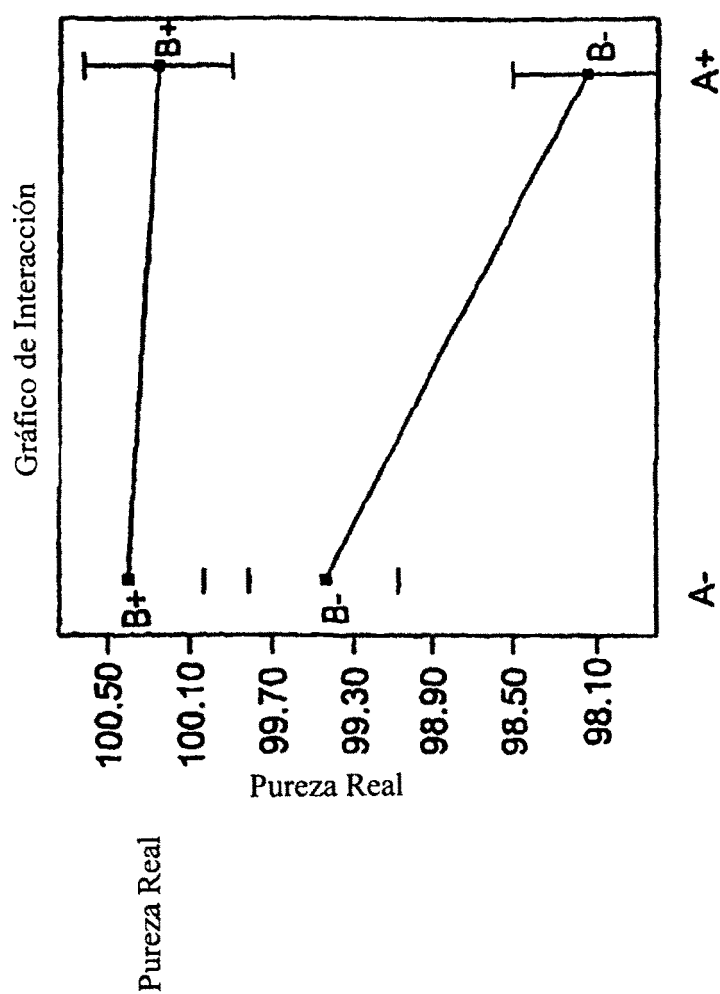


Fig. 16



Interacción de A: Velocidad de Enfriamiento y B: Pureza

Fig. 17

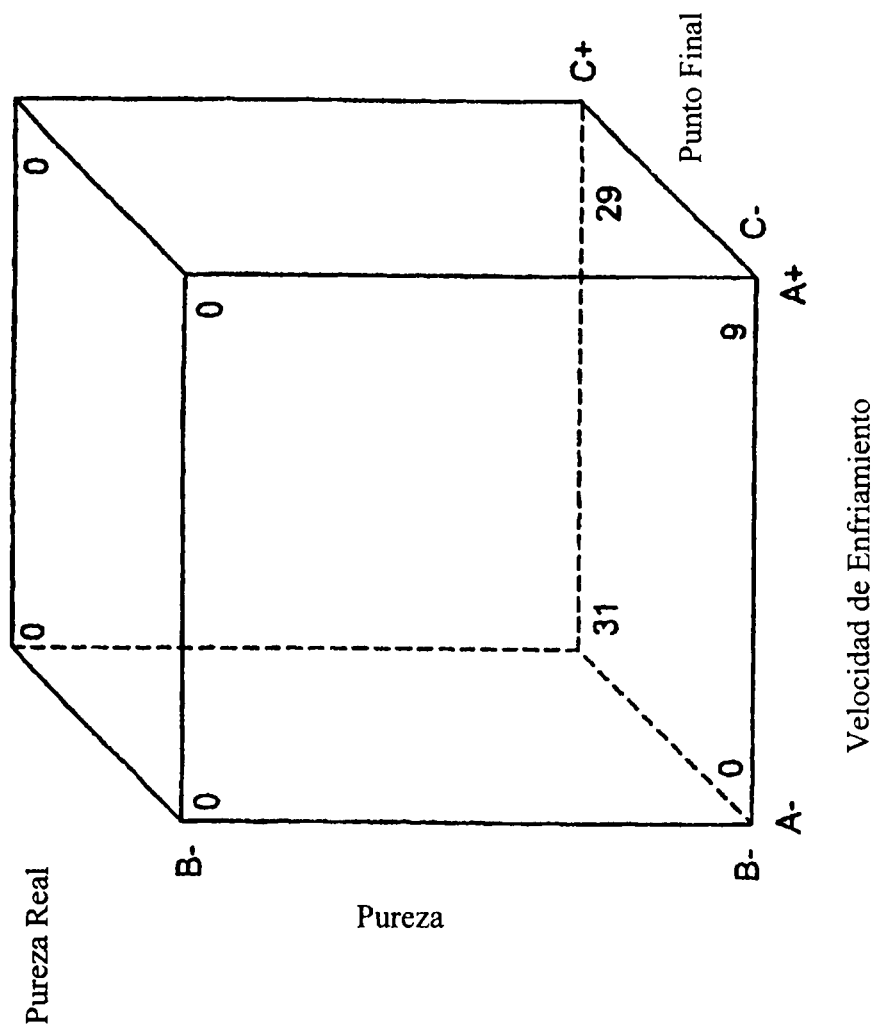


Fig. 18

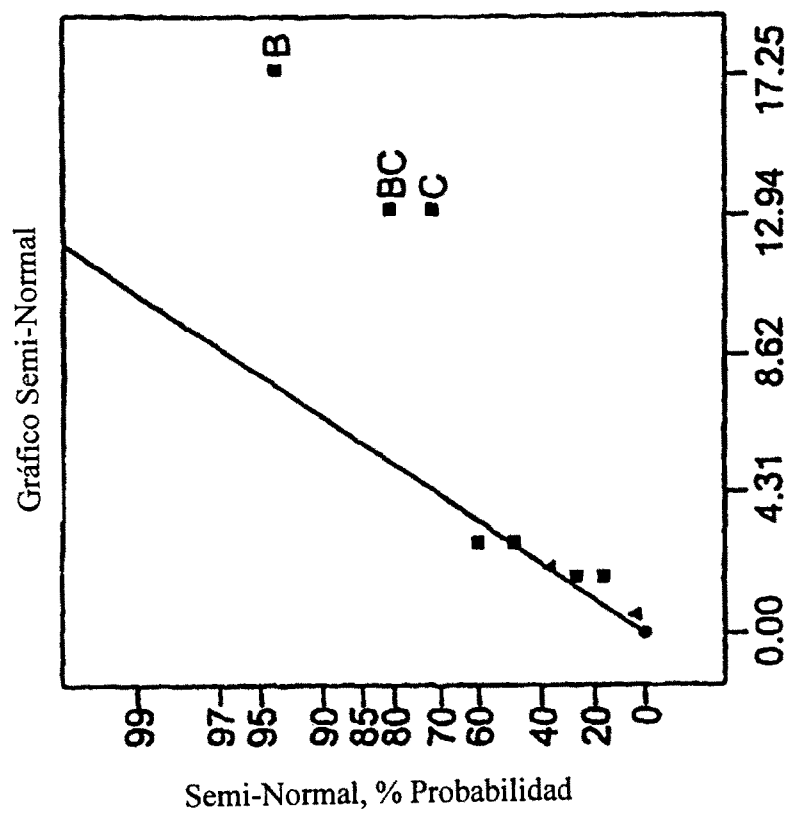


Fig. 19

Forma:
 A: Velocidad de Enfriamiento
 B: Pureza
 C: Punto Final

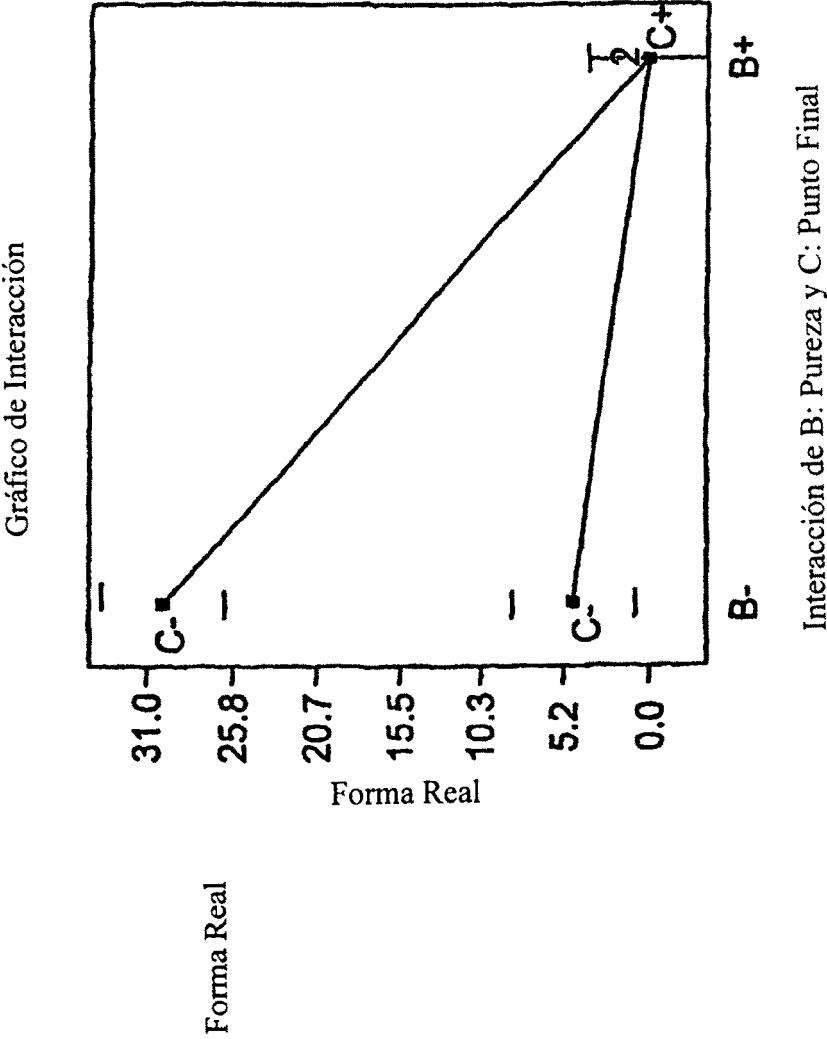


Fig. 20

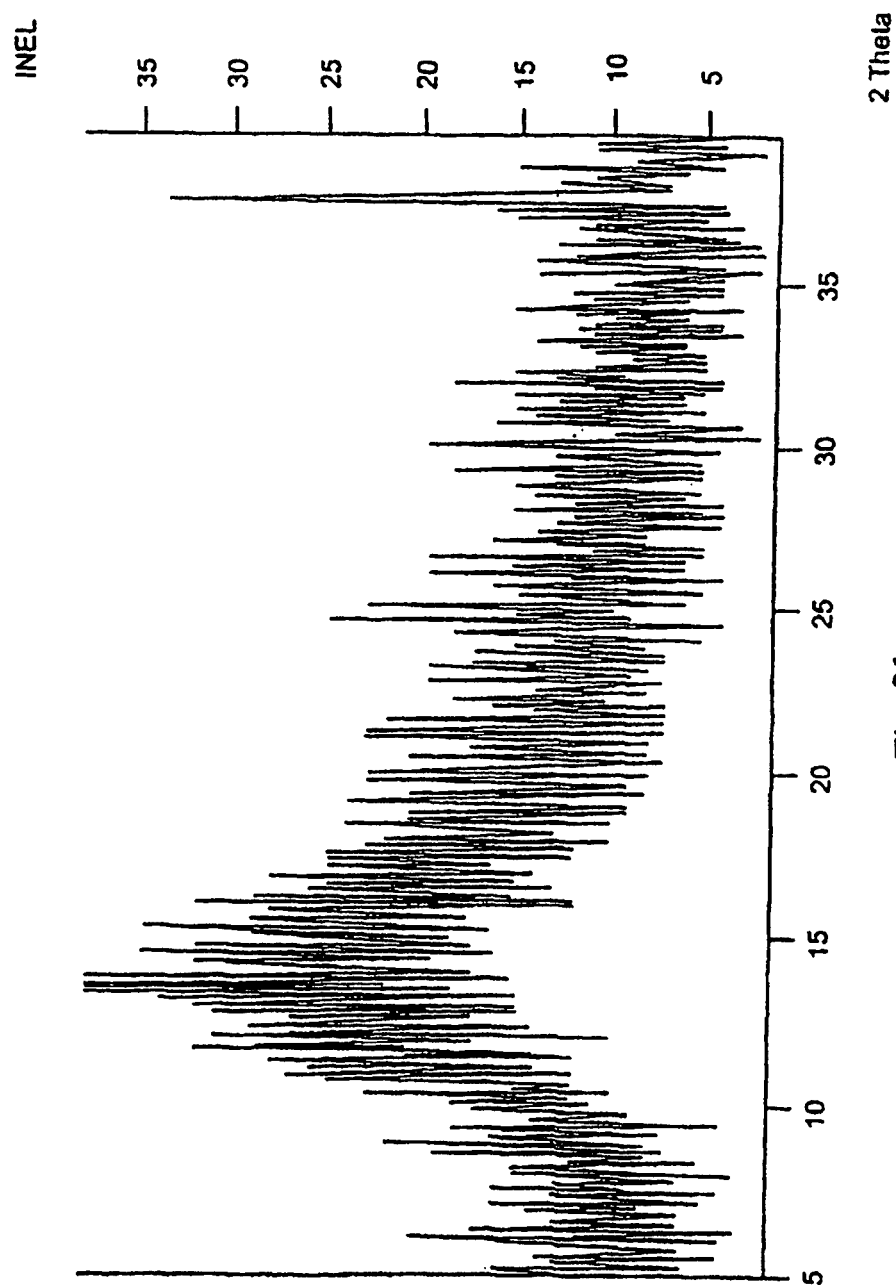


Fig. 21

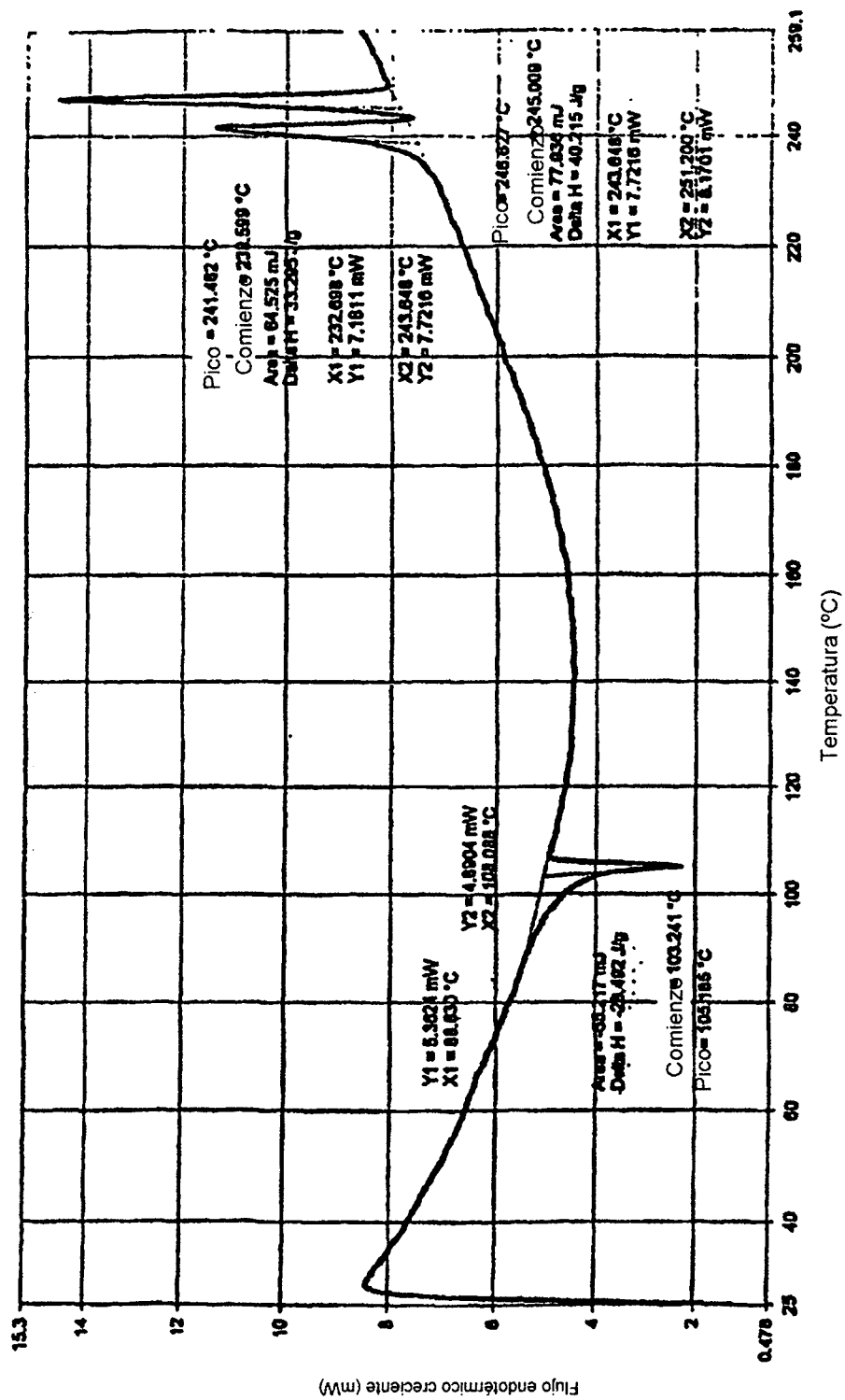


Fig. 22

Fig. 23
Estudio Esquemático

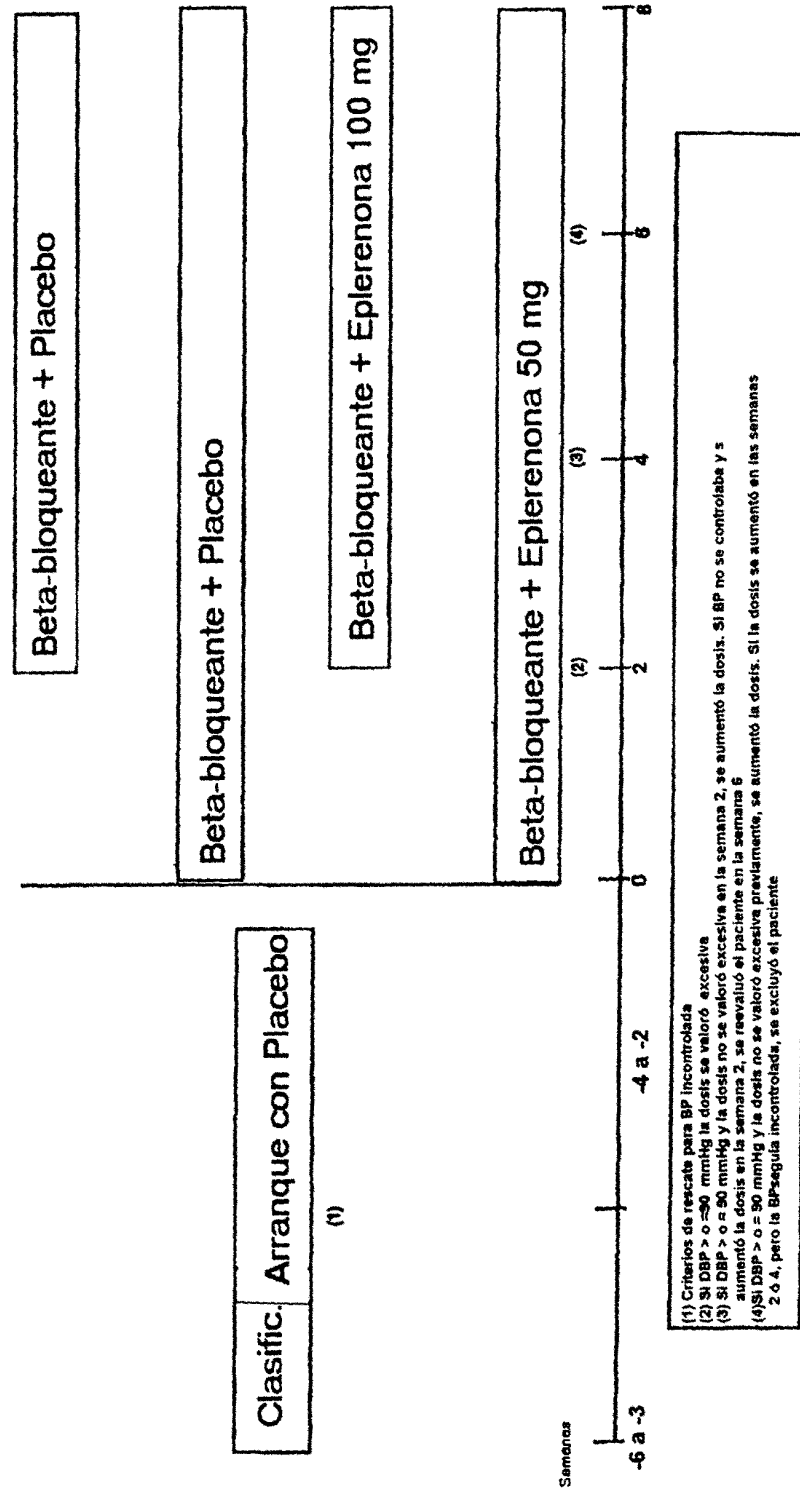


Fig. 24

Características Demográficas de Línea Base

BB

	Pbo (N = 66)	Epl (N = 69)
Edad Media (años)	58,7	55,4
Sexo [N (%)]		
Mujer	37 (56,1)	34 (49,3)
Hombre	29 (43,9)	35 (50,7)
Etnia [N (%)]		
Asiáticos	0 (0,0)	1 (1,4)
Negros	0 (0,0)	1 (1,4)
Caucásicos	65 (98,5)	67 (97,1)
Otros	1 (1,5)	0 (0,0)

Fig. 25
Peso, BP y Frecuencia Cardiaca de Línea Base

Valores Medios	BB	
	Pbo (N = 66)	Epl (N = 69)
Peso (kg)		
Mujer	70,4	82,0
Hombre	88,9	84,2
BP (mmHg)		
SBP/DBP	157,2/98,8	158,2/99,0
Frecuencia Cardiaca (bpm)	65,7	68,7

Fig. 26
Cambio Medio de la Línea Base en BP
Semana 8 (Visita Final)

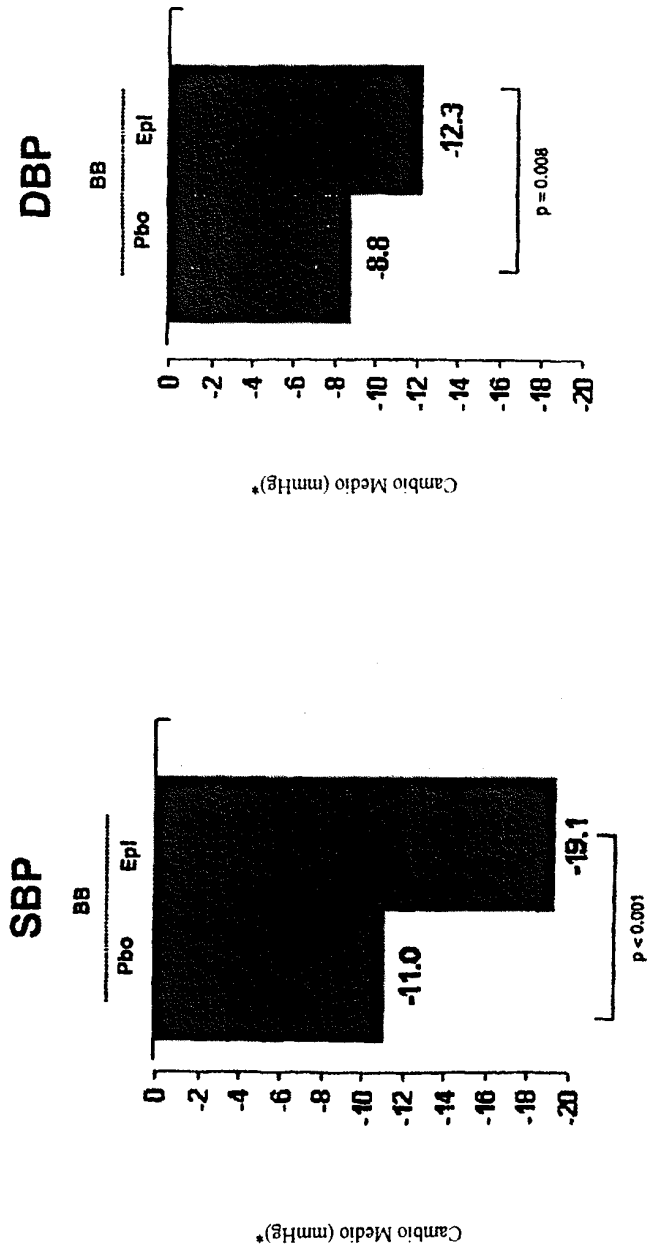
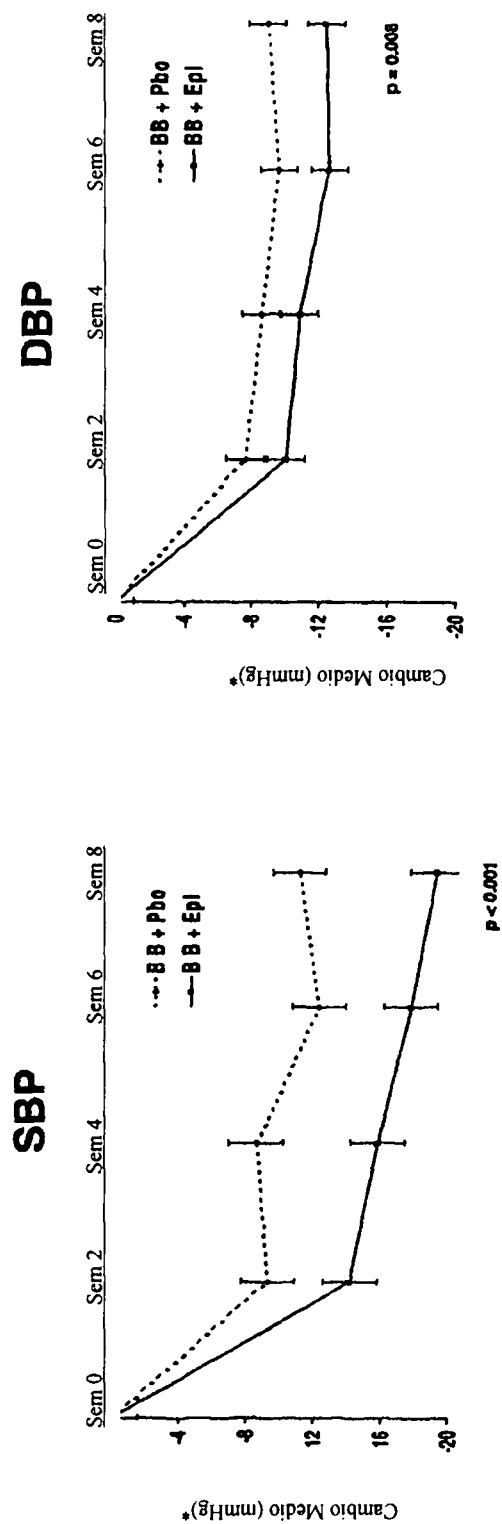


Fig. 27
Cambio Medio en BP (Cada Visita)
BB y Eplerenona



*Ajustado al tratamiento, centro, y valor de línea base

Fig. 28
Renina Activa y Aldosterona:
BB y Eplerenona

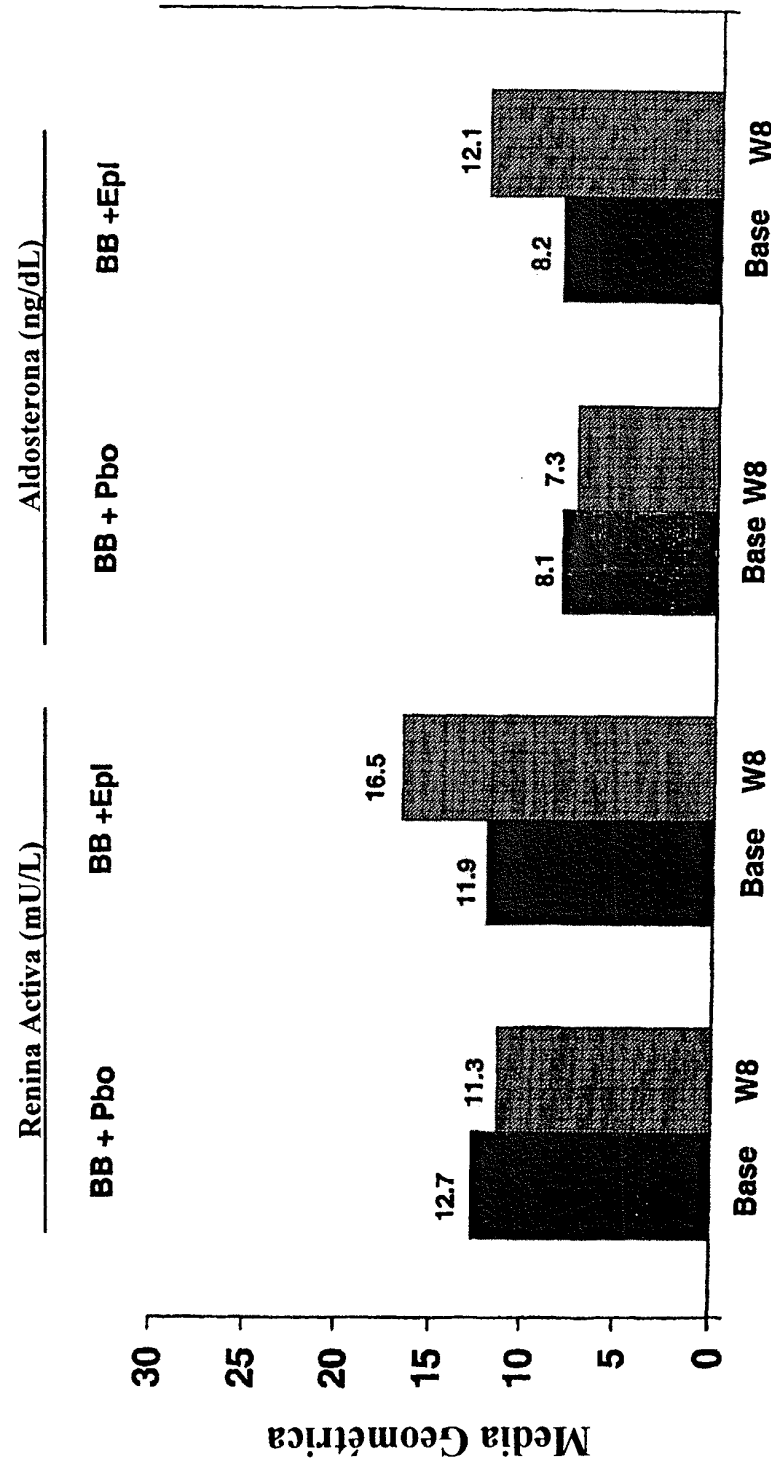


Fig. 29

Sucesos Adversos

	BB	
	Pbo (N = 66)	Epl (N = 69)
Hipercalcemia	0	4*
Hiperuricemia	0	0
Valores de Laboratorio Incrementados		
GGT	0	0
SGOT	0	0
SGPT	0	0
BUN	0	0
Impotencia	0	0
Ginecomastia	0	0
Hipotensión	0	0
Irregularidades Menstruales	0	0

ES 2 265 437 T3

* 3 casos de hipercalcemia se resolvieron espontáneamente con el tratamiento continuado, y un paciente fue excluido