

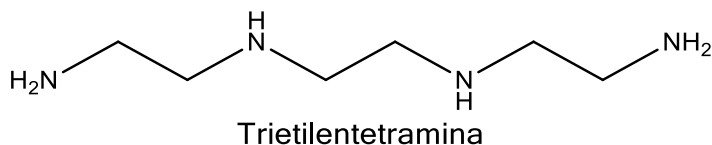
FORMA CRISTALINA DE TETRACLORURO DE TRIETILENTETRAMINA Y
USOS FARMACÉUTICOS DE LA MISMA

Campo de la invención

La invención se relaciona con una forma cristalina de tetracloruro de trietilentetramina (TETA.4HCl) y métodos para elaborar la forma cristalina. La invención además se relaciona con el tratamiento de la enfermedad de Wilson con el uso de tetracloruro de trietilentetramina cristalino.

Antecedentes de la invención

La trietilentetramina, o 1,2-etanodiamina, N, N'-bis(2-aminoetil) (TETA) tiene la estructura:



La sal dicloruro (TETA.2HCl) es una poliamina quelante de cobre (II). Sus propiedades quelantes de cobre lo hacen útil en el tratamiento de diferentes condiciones, en particular la enfermedad de Wilson. La enfermedad de Wilson es un trastorno genético provocado por una mutación en la proteína de la enfermedad de Wilson (gen ATP7B). La condición conduce a la acumulación de cobre en el cuerpo. La capacidad quelante de cobre de la TETA.2HCl también es considerada para el tratamiento de diferentes condiciones tales como el daño de órganos internos en los pacientes con diabetes, en la enfermedad de Alzheimer y cáncer (Henriet y col, International Journal of Pharmaceutics 511 (2016) 312-321).

Sin embargo, a pesar de la cantidad de años que la TETA.2HCl ha sido conocida como útil para el tratamiento de la enfermedad de Wilson, no ha sido un tratamiento exitoso. Esto se debe, al menos en parte, porque ha sido difícil proveer formas adecuadas de TETA.2HCl que tengan suficiente estabilidad a temperatura ambiente. Por lo tanto, para los pacientes es necesario almacenar los comprimidos en condiciones de temperatura reducida, un requerimiento oneroso para un tratamiento que requiere ser administrado con cada comida, de por vida.

Los estudios también han mostrado que la variación en la humedad puede afectar la estabilidad de la sal. La sal es muy sensible al agua y existe en diferentes formas polimórficas que dependen de los niveles de humedad. La alta humedad provoca la inestabilidad del compuesto. Estos efectos sobre la estabilidad plantean desafíos en la formulación de un fármaco adecuado para el tratamiento de pacientes y la necesidad de almacenar materiales en condiciones especiales tal como a temperatura reducida. Por lo tanto existe una necesidad de tratamientos mejorados para la enfermedad de Wilson que puedan administrarse por vía oral y que sean estables en condiciones ambientales durante periodos prolongados de tiempo.

En EP 1778618 se describen técnicas de síntesis para producir TETA y sus sales que incluyen la sal .2HCl y la sal.4HCl. Se dice que solo la sal 2HCl es útil en el tratamiento de la enfermedad de Wilson.

En WO 2006/027705 se describe la síntesis de trietilentetraminas, que incluyen la Forma I y la Forma II de diclorhidrato de trietilentetramina. Este documento no menciona las formas cristalinas de tetraclorhidrato de trietilentetramina.

Síntesis de la invención

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que una forma cristalina nueva de TETA.4HCl tiene propiedades de manejo mejoradas y estabilidad a temperatura ambiente. Por lo tanto es más útil para la formulación en un fármaco que la sal dicloruro o formas conocidas del tetracloruro. Las técnicas previamente conocidas para producir TETA.4HCl (tal como los procesos de cristalización de antisolvente llevados a cabo a temperatura ambiente, y los procesos que incluyen pasos de secado a alta temperatura) llevan a una forma cristalina que se describe en la presente como Forma A. Los presentes inventores, sin embargo, han encontrado que mediante el control cuidadoso de las condiciones de elaboración, en particular la temperatura y la velocidad de cristalización, puede producirse una nueva forma cristalina, conocida en la presente como Forma B. Esta nueva Forma tiene buenas propiedades de manejo y también buena estabilidad y características de vida útil y por lo tanto beneficiosas en la producción de nuevas formulaciones, por ejemplo comprimidos, para tratar la enfermedad de Wilson.

Por lo tanto la presente invención provee una forma cristalina de tetracloruro de trietilentetramina que tiene por lo menos una de las siguientes características:

- (i) un patrón de XRPD que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y 35,3 $\pm$ 0,1°2 θ ; y/o
- (ii) un espectro de Raman que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a un desplazamiento de Raman de 943, 1173, 1527 y 1612 $\pm$ 5 cm⁻¹; y que no contiene más del 10% en peso de la Forma A de tetrahidrocloruro de trietilentetramina que tiene un patrón de XRPD con picos a 25,2 y 35,7 $\pm$ 0,1 °

2 θ , en el que los picos del patrón de XRPD se miden usando una longitud de onda de 1,5418 Å.

También se provee una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina que se describe en la presente junto con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

También se provee un método para producir la forma cristalina de tetracloruro de trietilentetramina de la invención el cual comprende agregar un antisolvente a una solución acuosa de tetracloruro de trietilentetramina y recolectar los cristales obtenidos, en donde el agregado del antisolvente se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C o menor.

También se provee una forma cristalina de tetracloruro de trietilentetramina, o una composición farmacéutica que contiene tetracloruro de trietilentetramina, que puede obtenerse u obtenida mediante los métodos que se describen en la presente.

También se provee una forma cristalina o composición farmacéutica como se describe en la presente para usar en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, preferiblemente para usar en la prevención o tratamiento de la enfermedad de Wilson.

También se provee un método para la prevención o tratamiento de la enfermedad de Wilson en un sujeto que lo requiere, en donde el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de la forma cristalina o composición farmacéutica que se describe en la presente.

También se provee el uso de una forma cristalina o composición farmacéutica como se describe en la presente en la elaboración de un medicamento para la prevención o tratamiento de la enfermedad de Wilson.

A continuación se describen los aspectos particulares de la invención:

1. Una forma cristalina de tetrahidrocloreuro de trietilentetramina que tiene por lo menos una de las siguientes características:
 - (i) un patrón de XRPD que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$; y/o
 - (ii) un espectro de Raman que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a un desplazamiento de Raman de 943, 1173, 1527 y $1612 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$; y que no contiene más del 10% en peso de la Forma A de tetrahidrocloreuro de trietilentetramina que tiene un patrón de XRPD con picos a 25,2 y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$, en el que los picos del patrón de XRPD se miden usando una longitud de onda de 1,5418 Å.
2. Una forma cristalina de acuerdo con el aspecto 1, que tiene un patrón de XRPD que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$.
3. Una forma cristalina de acuerdo con el aspecto 1 o el aspecto 2, que tiene un patrón de XRPD que tiene por lo menos tres picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$.
4. Una forma cristalina de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 3, que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a 25,4, 34,6 y $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$.
5. Una forma cristalina de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 4 la cual no contiene más de 5% en peso de Forma A de tetracloruro de trietilentetramina que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a 25,2 y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$.

6. Una forma cristalina de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes que consiste esencialmente en Forma B de tetrahidrocloreuro de trietilentetramina que tiene:
 - (i) un patrón de XRPD como se define cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y/o
 - (ii) un espectro de Raman que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a un desplazamiento de Raman de 943, 1173, 1527 y $1612 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$.
7. Una composición farmacéutica que comprende una forma cristalina de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 6 y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
8. Una composición farmacéutica de acuerdo con el aspecto 7, la cual es una forma de dosificación oral sólida que comprende una forma cristalina de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 6 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
9. Una composición farmacéutica de acuerdo con el aspecto 7 o el aspecto 8, la cual no contiene más de 10% en peso, preferiblemente no más de 5% en peso, más preferiblemente no más de 2% en peso de la Forma A de tetracloruro de trietilentetramina que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a 25,2 y 35,7 $\pm 0,1^\circ 2\theta$.
10. Una composición farmacéutica de acuerdo con el aspecto 9 la cual está libre sustancialmente de Forma A de tetracloruro de trietilentetramina que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a 25,2 y 35,7 $\pm 0,1^\circ 2\theta$.
11. Un método para producir la forma cristalina de tetrahidrocloreuro de trietilentetramina como se define en el aspecto 1, en donde el método comprende

agregar un antisolvente a una solución acuosa de tetrahydrocloruro de trietilentetramina y recolectar los cristales obtenidos, en donde el agregado del antisolvente se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C o menor.

12. Un método de acuerdo con el aspecto 11, en donde la tasa de agregado de antisolvente a la solución no es más de 0,5 ml/min por gramo de TETA.4HCl disuelto en la solución acuosa.

13. Un método de acuerdo con el aspecto 1 o el aspecto 12, en donde el método comprende:

- (i) agregar antisolvente a una solución acuosa de TETA.4HCl a temperatura T1 durante un periodo de tiempo t1 y/o a una tasa de agregado R1;
- (ii) opcionalmente agregar cristales semilla de TETA.4HCl;
- (iii) opcionalmente agitar la mezcla resultante a T1 durante un tiempo adicional t1a;
- (iv) opcionalmente reducir la temperatura a la temperatura T2 y agitar la mezcla durante un tiempo adicional t2; y
- (v) recolectar los cristales resultantes;

en donde la T1 es de aproximadamente 20°C o menor; T2 es al menos 5°C menor que T1; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,5 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 2 horas y T2 es al menos 30 minutos.

14. Un método de acuerdo con el aspecto 13, en donde el método comprende:

- (i) agregar antisolvente a una solución acuosa de TETA.4HCl a temperatura T1 durante un periodo de tiempo t1 y/o a una tasa R1;
- (ii) opcionalmente agregar cristales semilla de TETA.4HCl;

- (iii) opcionalmente agitar la mezcla resultante a T1 durante un tiempo adicional t1a;
- (iv) reducir la temperatura a la temperatura T2 y agitar la mezcla durante un tiempo adicional t2; y
- (v) recolectar los cristales resultantes;

en donde la T1 es de aproximadamente 20°C o menor; la T2 es de aproximadamente 10°C o menor; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,5 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 3 horas y el t2 es de al menos 30 minutos.

15. Un método de acuerdo con el aspecto 14, en donde el método comprende:

- (i) agregar antisolvente a una solución acuosa de TETA.4HCl a temperatura T1 durante un periodo de tiempo t1 y/o a una tasa R1;
- (ii) agregar cristales semilla de TETA.4HCl;
- (iii) agitar la mezcla resultante a T1 durante un tiempo adicional t1a;
- (iv) reducir la temperatura a la temperatura T2 y agitar la mezcla durante un tiempo adicional t2; y
- (v) recolectar los cristales resultantes;

en donde la T1 es de aproximadamente 15°C o menor; la T2 es de aproximadamente 5°C o menor; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,2 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 4 horas y el t2 es de al menos 30 minutos.

16. Un método de acuerdo con cualquiera de los aspectos 11 a 15 que además comprende secar los cristales recolectados a una temperatura por debajo de aproximadamente 40°C, preferiblemente por debajo de aproximadamente 30°C.

17. Un método de acuerdo con cualquiera de los aspectos 11 a 16 en donde los cristales recolectados se combinan con un vehículo farmacéuticamente aceptable para producir una composición farmacéutica.
18. Un método de acuerdo con el aspecto 17, en donde el método además comprende comprimir la mezcla de cristales y vehículo farmacéuticamente aceptable para formar un comprimido y opcionalmente recubrir con azúcar o recubrir con película el comprimido.
19. Una forma cristalina o composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método de cualquiera de los aspectos 11 a 18.20. Una forma cristalina o composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, para usar en un método para tratar el cuerpo humano o animal mediante terapia.
21. Una forma cristalina o composición farmacéutica para usar de acuerdo con el aspecto 20, que es para usar en la prevención o tratamiendo de la enfermedad de Wilson.

Descripción breve de las figuras

Las Figuras 1a y 1b son gráficos de flujo que muestran un método para producir TETA.4HCl en forma cruda.

La Figura 2 es un gráfico de flujo que muestra un método para producir la Forma B de TETA.4HCl en forma sustancialmente pura.

En la Figura 4 se describe el patrón de difracción de rayos X de la Forma B de TETA.4HCl.

En la Figura 5a se muestran los espectros de Raman de la Forma A de TETA.4HCl (abajo) y de la Forma B (arriba). En la Figura 5b se muestran los

espectros superpuestos con la Forma A en la línea superior y la Forma B en la línea inferior. Los picos de la Forma B están destacados.

En la Figura 6 se describe un gráfico de Heckel de la Forma A de TETA.4HCl y de la Forma B de TETA.4HCl.

En la Figura 7a se muestra un comprimido de TETA.4HCl elaborado a partir de la Forma A de TETA.4HCl. En la Figura 7b se muestra una imagen del mismo comprimido después del envejecimiento. En la Figura 7c se muestra un análisis de Raman del comprimido envejecido, con las regiones oscurecidas correspondientes a la ubicación de la Forma A de TETA.4HCl en el comprimido. En las Figuras 8a y 8b se muestran los espectros de FTIR-ATR de la Forma B de TETA.4HCl. En la Figura 8a se muestra el espectro completo de 4000 - 525 cm^{-1} . En la Figura 8b se muestra la región huella dactilar 1800 - 525 cm^{-1} .

En la Figura 9a se muestran los análisis de difracción de rayos X en polvo de las muestras del Ejemplo 7 después del agregado manual de etanol a diferentes velocidades, y la comparación con los patrones de referencia de la Forma A y de la Forma B. En la Figura 9b se muestra la ampliación de la Fig 9a en $2\theta = 20 - 29^\circ$. En la Figura 9c se muestra la ampliación de la Fig 9a en $2\theta = 34-37^\circ$.

En la Figura 10a se muestran los análisis de difracción de rayos X en polvo de las muestras del Ejemplo 7 después del agregado programado de etanol, y la comparación con los patrones de referencia de la Forma A y de la Forma B. En la Figura 10b se muestra la ampliación de la Fig 10a en $2\theta = 20 - 29^\circ$. En la Figura 10c se muestra la ampliación de la Fig 10a en $2\theta = 34-37^\circ$.

En las Figuras 11a y 11b se muestra el cambio en la masa respecto a la humedad relativa para el análisis de DVS del Ejemplo 2 y el Ejemplo 3 de referencia respectivamente.

En la Figuras 12a a 12c se muestra el análisis espectral de XRPD de un producto elaborado de acuerdo con un proceso del arte previo.

Descripción detallada de la invención

TETA.4HCl cristalino

La forma cristalina de tetracloruro de trietilentetramina (TETA.4HCl) que se describe en la presente es conocida como Forma B. Esta forma cristalina puede caracterizarse mediante uno o más de su espectro XRPD, su espectro de Raman, su punto de fusión, su espectro de FTIR y su comportamiento de DVS. Los detalles de cada una de estas características de la forma cristalina se describen más adelante. Típicamente, la forma cristalina de la invención se caracteriza por su espectro de XRPD y/o su espectro de Raman, más preferiblemente su espectro XRPD. Por lo tanto, la forma cristalina de la invención típicamente tiene por lo menos una de las siguientes características:

- (i) un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y 35,3 $\pm 0,1^\circ 2\theta$; y/o
- (ii) un espectro de Raman que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a un desplazamiento de Raman de 943, 1173, 1527 y 1612 $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$.

Típicamente, la forma cristalina de TETA.4HCl de la invención tiene un patrón de XRPD que tiene por lo menos dos picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y 35,3 $\pm 0,1^\circ 2\theta$. Preferiblemente, el patrón de XRPD tiene por lo menos tres picos, más preferiblemente por lo menos cuatro picos seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y 35,3 $\pm 0,1^\circ 2\theta$. Más

preferiblemente, por lo menos 5 o todos estos picos se observan en el patrón de XRPD. Más preferiblemente, la forma cristalina de TETA.4HCl de la invención tiene un patrón de XRPD que tiene por lo menos dos picos, preferiblemente por lo menos tres, cuatro, cinco o todos los picos, seleccionados de los picos a 22,9, 25,4, 25,8, 26,6, 34,6 y $35,3 \pm 0,05^\circ 2\theta$. Particularmente se prefiere la forma cristalina de TETA.4HCl que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a 25,4, 34,6 y $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$, más preferiblemente a 25,4, 34,6 y $35,3 \pm 0,05^\circ 2\theta$.

Típicamente, los picos a 25,4 y $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$ son los más intensos, en particular el pico a $25,4 \pm 0,1^\circ 2\theta$. Preferiblemente, el pico a $25,4 \pm 0,1^\circ 2\theta$ es por lo menos dos veces más intenso que el siguiente pico más intenso, más preferiblemente por lo menos tres veces de intenso. Típicamente, el pico a $35,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$ es por lo menos dos veces de intenso que el siguiente pico más intenso.

Típicamente, el patrón de XRPD de la Forma B de TETA.4HCl es sustancialmente similar al descrito en la Figura 4.

Los datos de XRPD pueden obtenerse usando el difractómetro PANALYTICAL X'PERT PRO MPD. Los datos de difracción típicamente se adquieren por exposición de las muestras en polvo a radiación de rayos X de Cu- K_α , que tiene una longitud de onda característica (λ) de 1,5418 Å. Los rayos X se generaron a partir de un ánodo de Cu alimentado con 40 kV y una corriente de 40 mA. Los detalles adicionales de las condiciones de operación para obtener los datos de XRPD se describen en la sección de Ejemplos en la presente.

Típicamente, la forma cristalina de TETA.4HCl de la invención tiene un espectro de Raman que tiene desplazamientos a dos o más de 943, 1173, 1527 y $1612 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$. Preferiblemente, el espectro de Raman presenta por lo menos dos, preferiblemente tres, más preferiblemente los cuatro picos a 943, 1173,

1527 y $1612 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$. Particularmente se prefiere que la forma cristalina de TETA.4HCl tenga un espectro de Raman que tiene desplazamientos a dos o más, preferiblemente tres, más preferiblemente los cuatro, de 943, 1173, 1527 y $1612 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$. Se prefiere particularmente que la forma cristalina de TETA.4HCl tenga un espectro de Raman que tiene desplazamientos a 943 y $1173 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, más preferiblemente 943 y $1173 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$. Típicamente, el espectro de Raman es similar al que se muestra en la Figura 5a (espectro superior).

Los espectros de Raman pueden obtenerse, por ejemplo, usando un analizador Renishaw RA802 Pharmaceutical. Este puede ser operado a una longitud de onda del láser de 785nm. Las condiciones adicionales de operación se describen en la sección de Ejemplos en la presente.

La Forma B de TETA.4HCl forma cristalina es estable frente al almacenamiento. Por lo tanto, típicamente, el patrón de XRPD y/o el espectro de Raman de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 20°C durante 6 meses, preferiblemente 10 meses, más preferiblemente 12 meses es idéntico, o sustancialmente idéntico, al de la forma cristalina de la invención que se describe precedentemente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 20°C durante 6 meses, preferiblemente 10 meses, más preferiblemente 12 meses retiene la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente.

La forma cristalina de la Forma B de TETA.4HCl es estable en ambientes húmedos. Por lo tanto, típicamente, el patrón de XRPD y/o el espectro de Raman de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a

40°C y 75% de humedad durante 1 mes, preferiblemente durante cuatro meses, más preferiblemente durante seis meses, es idéntico, o sustancialmente idéntico, al de la forma cristalina de la invención que se describe precedentemente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 40°C y 75% de humedad durante 1 mes retiene la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 40°C y 75% de humedad durante 4 meses, preferiblemente durante 6 meses, retiene la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente.

Preferiblemente, la estabilidad frente al almacenamiento de la forma cristalina de la invención es determinada mediante el patrón de XRPD. Por lo tanto, preferiblemente el patrón de XRPD de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 20°C durante 6 meses, preferiblemente 10 meses, más preferiblemente 12 meses es idéntico, o sustancialmente idéntico, al de la forma cristalina de la invención que se describe precedentemente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 20°C durante 6 meses, preferiblemente 10 meses, más preferiblemente 12 meses retiene un patrón de XRPD idéntico o sustancialmente idéntico al de la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente. Además, preferiblemente el patrón de XRPD de una muestra de la forma

cristalina de la invención que ha sido almacenada a 40°C y 75% de humedad durante 1 mes, preferiblemente 4 meses, más preferiblemente 6 meses, es idéntico, o sustancialmente idéntico, al de la forma cristalina de la invención que se describe precedentemente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 40°C y 75% de humedad durante 1 mes, preferiblemente 4 meses, más preferiblemente 6 meses, retiene un patrón de XRPD idéntico o sustancialmente idéntico al de la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente.

Como alternativa, la estabilidad frente al almacenamiento de la forma cristalina de la invención se determina mediante el espectro de Raman. Por lo tanto, preferiblemente el espectro de Raman de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 20°C durante 6 meses, preferiblemente 10 meses, más preferiblemente 12 meses es idéntico, o sustancialmente idéntico, al de la forma cristalina de la invención que se describe precedentemente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 20°C durante 6 meses, preferiblemente 10 meses, más preferiblemente 12 meses retiene un patrón de XRPD idéntico o sustancialmente idéntico al de la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente. Además, preferiblemente el espectro de Raman de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 40°C y 75% de humedad durante 1 mes, preferiblemente 4 meses, más preferiblemente 6 meses, es

idéntico, o sustancialmente idéntico, al de la forma cristalina de la invención que se describe precedentemente. Preferiblemente, por lo menos 90% en peso, más preferiblemente por lo menos 95% en peso, más preferiblemente por lo menos 98% en peso de una muestra de la forma cristalina de la invención que ha sido almacenada a 40°C y 75% de humedad durante 1 mes, preferiblemente 4 meses, más preferiblemente 6 meses, retiene un espectro de Raman idéntico o sustancialmente idéntico al de la forma cristalina, Forma B, que se describe en la presente.

Las ventajas particulares de la forma cristalina de la invención se relacionan con su estabilidad frente al almacenamiento. Se observa que el almacenamiento de comprimidos obtenidos a partir de la Forma A de TETA.4HCl tiene regiones descoloridas después del almacenamiento durante seis meses a 40°C y 75% de humedad. En la Figura 7b se describe un comprimido obtenido de la Forma A de TETA.4HCl que ha sido envejecido. Esta figura muestra la decoloración del comprimido en el tiempo. La presente invención y la obtención de la Forma B de TETA.4HCl, en particular la Forma B de TETA.4HCl sustancialmente pura, tienen como objetivo abordar este punto. Se cree que los comprimidos obtenidos a partir de la Forma B de TETA.4HCl tienen una tendencia reducida a decolorarse con el tiempo.

La forma cristalina de la invención típicamente tiene un espectro de FTIR que tiene picos a dos o más, preferiblemente cuatro o más, más preferiblemente cinco o seis o más, más preferiblemente en todas las posiciones correspondientes a 1475, 1525, 16010, 2380, 2435, 2580, 2830 y $2880 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$. Preferiblemente, la forma cristalina de la invención tiene un espectro de FTIR que tiene picos a 1525, 2435 y $2675 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, más preferiblemente a 1526, 2436

y $2674 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$. La forma cristalina de la invención no contiene más de 10% en peso de una forma cristalina que tiene un pico a $943 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ en el espectro de FTIR. Preferiblemente, la forma cristalina está sustancialmente libre de una forma cristalina que tiene un pico a $943 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

Los espectros de FTIR típicamente son espectros de FTIR-ATR y pueden obtenerse con el uso de un espectrómetro de FT-IR Nicolet iS5 en modo diamante ATR. Las condiciones específicas adecuadas para obtener los espectros de FTIR se describen con mayor detalle en el Ejemplo 4.

La forma cristalina de la invención típicamente tiene una temperatura de fusión de aproximadamente 260°C , típicamente de aproximadamente 259°C según la medida por DSC. El análisis por DSC se puede llevar a cabo como se establece en el Ejemplo 4. Por ejemplo, el análisis se puede llevar a cabo usando un dispositivo Toledo DSC3+ y colocando las muestras en una cazuela de aluminio sellada de $40 \mu\text{L}$ con una perforación en la tapa antes del análisis, bajo una corriente de nitrógeno de 50 mL/min .

También se puede usar el análisis de la forma cristalina de la invención por DVS para distinguir la forma cristalina B de la presente, de la Forma A. La forma cristalina de la invención típicamente muestra una ganancia de peso a 90% de HR y por arriba de entre 50 y 59%, típicamente entre 54 y 57%. Típicamente, después del final de un ciclo de sorción y desorción (entre 0% y 95% de HR) la ganancia de peso de la muestra no es más de 10%, preferiblemente no más de 5%. Esto contrasta con la Forma A de TETA.4HCl, la cual muestra una ganancia de peso después de la sorción /desorción (entre 0 y 95% de HR) de entre 14 y 15%.

La forma cristalina de TETA.4HCl de acuerdo con la invención no contiene más de 10% en peso de la Forma A de TETA.4HCl. Las formas cristalinas preferidas de TETA.4HCl de acuerdo con la invención están sustancialmente libres de la Forma A de TETA.4HCl. Sustancialmente libre de la Forma A como se usa en la presente significa que la forma cristalina no contiene más de 5% en peso de la Forma A, preferiblemente no más de 2% en peso, más preferiblemente no más de 1% en peso y más preferiblemente no más de 0,5% en peso o no más de 0,1% en peso de la Forma A.

La Forma A de TETA.4HCl es la forma cristalina que se obtiene bajo condiciones estándares de cristalización, tales como las que se describen en el Ejemplo de Referencia 3 de la presente. La Forma A se caracteriza por un patrón de XRPD que tiene picos a $25,2$ y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$, típicamente a $25,2$ y $35,7 \pm 0,05^\circ 2\theta$. Preferiblemente el espectro de XRPD de la Forma A también tiene picos a $21,8$, $26,9$ y $28,2 \pm 0,1^\circ 2\theta$, típicamente a $21,8$, $26,9$ y $28,2 \pm 0,05^\circ 2\theta$. La Forma A también se puede caracterizar por un espectro de Raman que tiene picos a 933 y/o $1513 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, típicamente a 933 y/o $1513 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$. En particular, la Forma A se caracteriza por un espectro de Raman que tiene picos a 933 , 1167 , 1513 y $1604 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, típicamente a 933 , 1167 , 1513 y $1604 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$. Típicamente, la Forma A se caracteriza por un espectro de Raman como se establece en la Figura 5a (espectro inferior) en la presente.

La forma cristalina de acuerdo con la invención no contiene más de 10% en peso de una forma cristalina de TETA.4HCl que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a $25,2$ y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$, o que tiene picos a $21,8$, $25,2$, $26,9$, $28,2$ y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$. Preferiblemente la forma cristalina de acuerdo con la invención contiene no más de 5% en peso, no más de 2% en peso, no más de 1% en peso

y más preferiblemente no más de 0,5% en peso o no más de 0,1% en peso de una forma cristalina de TETA.4HCl que tiene un patrón de XRPD que tiene picos a $25,2$ y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$, o que tiene picos a $21,8$, $25,2$, $26,9$, $28,2$ y $35,7 \pm 0,1^\circ 2\theta$.

La forma cristalina de acuerdo con la invención no contiene más de 20% en peso de una forma cristalina de TETA.4HCl que tiene un espectro Raman que tiene picos a 933 y / o $1513 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, típicamente a 933 y / o $1513 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$, o que tiene picos a 933 , 1167 , 1513 y $1604 \text{ cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, típicamente a 933 , 1167 , 1513 y $1604 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.- Preferiblemente la forma cristalina de acuerdo con la invención contiene no más de 10% en peso, más preferiblemente no más de 5% en peso, no más de 2% en peso, no más de 1% en peso y más preferiblemente no más de 0,5% en peso o no más de 0,1% en peso de una forma cristalina de TETA.4HCl que tiene un espectro de Raman que tiene picos a 933 y/o $1513 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, típicamente a 933 y/o $1513 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$, o que tiene picos a 933 , 1167 , 1513 y $1604 \text{ cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, típicamente a 933 , 1167 , 1513 y $1604 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

La forma cristalina de TETA.4HCl contiene por lo menos 90% en peso de la Forma B. Preferiblemente, la forma cristalina consiste esencialmente en la Forma B, es decir la misma es la Forma B de TETA.4HCl sustancialmente pura. Cuando una forma cristalina consiste esencialmente en la Forma B, la misma típicamente contiene por lo menos 95% en peso de la Forma B de TETA.4HCl, más preferiblemente por lo menos 98% en peso, más preferiblemente por lo menos 99% en peso, y más preferiblemente por lo menos 99,5% en peso o 99,9% en peso de la Forma B de TETA.4HCl, en donde la Forma B de TETA.3HCl se caracteriza por un espectro de XRPD y/o un espectro de Raman

como se establece en la presente, preferiblemente la Forma B de TETA.4HCl se caracteriza por un espectro de XRPD como se establece en la presente.

Los cristales de TETA.4HCl que se describen en la presente se proveen típicamente en forma seca. Por lo tanto, los mismos típicamente contienen menos de 1% en peso de agua, preferiblemente menos de 0,5% en peso de agua, más preferiblemente menos de 0,1% en peso o 0,05% en peso de agua. El solvente residual total es preferiblemente menos de 0,1% en peso, más preferiblemente menos de 0,5% en peso.

Métodos para Elaborar TETA.4HCl cristalino

El TETA.4HCl se puede producir mediante técnicas conocidas en el arte. Por ejemplo, la base libre de TETA está disponible comercialmente y se puede convertir al hidrato cristalino de TETA y aislarse mediante métodos de rutina. El hidrato de TETA se puede tratar con HCl acuoso para proveer la sal de TETA.4HCl. Típicamente, la sal de TETA.4HCl se aísla en forma cruda antes de su recristalización a la forma polimórfica de la Forma B.

El TETA.4HCl en forma cristalina se puede obtener por un proceso de cristalización en antisolvente, típicamente a partir de la solución acuosa. Dicho proceso involucra agregar de un antisolvente a una solución acuosa de TETA.4HCl y recolectar los cristales resultantes. Cuando se lleva a cabo en condiciones estándares de cristalización, por ejemplo por cristalización a temperatura ambiente o superior, y/o mediante un método que incluye secar a temperatura elevada, se ha hallado que dichos métodos conducen a una forma cristalina individual de TETA.4HCl conocida en la presente como la Forma A. Se obtuvieron cristales de la Forma A incluso variando el sistema de solventes.

Por ejemplo, los presentes inventores han producido TETA.4HCl usando los métodos que se describen en WO 2006/027705, y han hallado que estos métodos conducen a la producción de cristales de la Forma A. Los inventores reprodujeron el Ejemplo 17 de WO 2006/027705, partiendo de una mezcla de isómeros de trietilentetramina, y usando las condiciones de cristalización como se describe en el Ejemplo 17 de WO 2006/027705. El producto se analizó por XRPD y los resultados se establecen en las Figuras 12a a 12c. El producto que se obtuvo contuvo los picos característicos de la Forma A de TETA.4HCl. Sin embargo, estuvieron ausentes ciertos picos que se sabe que son característicos de la Forma B de TETA.4HCl, en particular los que se hallan alrededor de $35^{\circ} 2\theta$ y el de $25,4^{\circ} 2\theta$, lo que sugiere que el producto producido fue la Forma A de TETA.4HCl, la cual se sabe que se produce mediante cristalización estándar a temperatura ambiente.

Los presentes inventores han hallado que, mediante el uso del mismo sistema de solventes pero variando las condiciones de cristalización, en particular el tiempo y la temperatura del procesamiento, se pueden obtener cristales de la Forma B.

A temperaturas de aproximadamente 20°C o menores, en particular de aproximadamente 15°C o menores, se puede producir TETA.4HCl como la Forma B. Entre aproximadamente 20°C y 30°C , la forma cristalina producida puede depender de condiciones diferentes a la temperatura de cristalización. Por lo tanto, por arriba de aproximadamente 20°C hay otras condiciones que típicamente también necesitan controlarse con el objetivo de asegurar que se produzca la Forma B. En particular, la forma cristalina producida puede depender de la velocidad de cristalización. Por lo tanto, una cristalización lenta favorece la

formación de la Forma B, mientras que una cristalización más rápida favorece la Forma A. Incluso a temperaturas de entre 15 y 20 °C, se pueden producir algunos cristales de la Forma A, a menos que la cristalización se lleve a cabo lentamente. Por ejemplo, cuando se usa el agregado de antisolvente para formar los cristales, el antisolvente se debe agregar a la solución preferiblemente en forma lenta con el objetivo de asegurar que se produzca la Forma B en lugar de la Forma A.

Típicamente, la forma cristalina de la invención se produce mediante cristalización a una temperatura de aproximadamente 20°C o menos, preferiblemente de aproximadamente 15°C o menos, más preferiblemente de aproximadamente 10°C o menos. En una forma de realización, las temperaturas preferidas para la cristalización son de 13°C o menos, más preferiblemente entre 7 y 13°C. A temperaturas de aproximadamente 15°C o menos, particularmente a 13°C o menos, la Forma B es la Forma termodinámicamente favorecida y la cristalización en general resultará en la Forma B sustancialmente pura.

Preferiblemente, todos los pasos del proceso de cristalización se llevan a cabo por debajo de 30°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C o menos, preferiblemente a aproximadamente 15°C o menos, más preferiblemente a aproximadamente 10°C o menos. Cuando la temperatura está por arriba de aproximadamente 15°C, se puede producir una mezcla de Forma A y Forma B. Cuando la temperatura está por arriba de aproximadamente 30°C, solo se obtendrá la Forma A. Para asegurar que el producto producido es la Forma B sustancialmente pura, la temperatura se mantiene preferiblemente a aproximadamente 15°C o menos en todo momento durante la cristalización. A temperaturas entre aproximadamente 15°C y 20°C, se pueden producir cristales de la Forma B llevando a cabo la cristalización a una velocidad de agregado de

antisolvente lenta. En particular, el agregado de cristales semilla de la Forma B combinados con un agregado lento de solvente induce la formación de la Forma B sustancialmente pura. El agregado de antisolvente en una forma lenta y controlada asegura que la cristalización se desarrolle a partir de los cristales semilla y que no ocurra una nucleación por separado de la Forma A.

Típicamente, la cristalización se lleva a cabo por agregado de antisolvente a una tasa de 0,5 ml/min o menos de antisolvente agregado a una solución acuosa de TETA.4HCl, por gramo de TETA.4HCl disuelto en la solución acuosa. Por lo tanto, la tasa de agregado preferida es de 0,5 ml de antisolvente, por minuto, por gramo de TETA.4HCl o menos, es decir 0,5 ml/min/g o menos. Las tasas de agregado de antisolvente preferidas son 0,2 ml/min/g o menos, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 ml/min/g o menos. Las tasas de agregado preferidas son entre 0,01 y 0,2 ml/min/g, más preferiblemente entre 0,01 y 0,1 ml/min/g.

Por lo tanto, para proveer cristales sustancialmente puros de la Forma B, la cristalización preferiblemente se lleva a cabo a aproximadamente 15°C o menos y preferiblemente a una tasa de agregado de 5 ml/min/g o menos, más preferiblemente 0,2 ml/min/g o menos, por ejemplo aproximadamente 0,1 ml/min/g. En forma más preferida la cristalización se lleva a cabo a 13°C o menos, por ejemplo entre 7 y 13°C, y preferiblemente a una tasa de agregado de menos de 0,2 ml/min/g, por ejemplo aproximadamente 0,1 ml/min/g o menos.

Preferiblemente se agregan cristales semilla de la Forma B de TETA.4HCl. Los cristales semilla se pueden agregar antes, durante o después del agregado del antisolvente, típicamente antes o durante el agregado de antisolvente, más preferiblemente antes del agregado de antisolvente. Si los

cristales semilla se agregan durante o después del agregado de antisolvente, los mismos se agregan preferiblemente antes de que se observe la formación de los cristales.

Un método preferido de cristalización usa TETA.4HCl, preferiblemente TETA.4HCl purificado, como material inicial. La presencia de impurezas en el material inicial puede influir sobre la capacidad para cristalizar en la forma polimórfica deseada. Por lo tanto, el TETA.4HCl está preferiblemente en forma aislada, es decir está aislado de toda mezcla de reacción en la cual se produjo (y típicamente se purificó) antes de que comience la cristalización para producir la Forma B. Además, el TETA.4HCl crudo preferiblemente se recrystaliza antes de comenzar el proceso para producir la Forma B. Esto también provee una mayor pureza del material inicial y permite que los cristales de la Forma B se produzcan en forma segura mediante el seguimiento de los métodos como se establecen en la presente.

El TETA.4HCl típicamente se disuelve en una solución acuosa antes de la cristalización. Típicamente, la solución comprende entre 0,01 y 10 g de TETA.4HCl por ml de agua. Preferiblemente, la solución comprende entre 0,1 y 5 g de TETA.4HCl por ml de agua, más preferiblemente entre 0,6 y 1,2 g de TETA.4HCl por ml de agua. El volumen de antisolvente usando para la recrystalización es típicamente de 0,5 ml o menos, por gramo de TETA.4HCl disuelto en la solución acuosa. Las cantidades preferidas de antisolvente son de 0,2 ml/g de TETA.4HCl o menos, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 ml/g de TETA.4HCl o menos. Las cantidades preferidas de antisolvente son entre 0,01 y 0,2 ml/g de TETA.4HCl, más preferiblemente entre 0,01 y 0,1 ml/g de TETA.4HCl.

Los métodos de cristalización preferidos de la Forma B comprenden los pasos de:

- (i) Agregar un antisolvente a una solución acuosa, preferiblemente una solución acuosa agitada, de TETA.4HCl a temperatura T1 durante un periodo de tiempo t1 y/o a una tasa de agregado R1;
- (ii) Opcionalmente agregar cristales semilla de TETA.4HCl;
- (iii) Opcionalmente agitar la mezcla resultante a T1 durante un tiempo adicional t1a;
- (iv) Opcionalmente reducir la temperatura a la temperatura T2 y agitar la mezcla durante un tiempo adicional t2; y
- (v) Recolectar los cristales resultantes.

La T1 es de aproximadamente 20°C o menos, preferiblemente de aproximadamente 15°C o menos, más preferiblemente de aproximadamente 10°C o menos. Con el objetivo de producir la Forma B sustancialmente pura, la T1 es preferiblemente de aproximadamente 15°C o menos, más preferiblemente de aproximadamente 10°C o menos.

El antisolvente puede ser cualquier solvente en donde el TETA.4HCl sea sustancialmente insoluble. Los antisolventes adecuados incluyen a etanol, metanol, acetonitrilo, propan-2-ol, acetona y 1,4-dioxano y mezclas de los mismos. Se prefieren al metanol y el etanol y a las mezclas de los mismos, en particular al etanol.

La solución típicamente se agita o mezcla durante el agregado, típicamente por agitación. Se puede aplicar un tratamiento adicional de la mezcla, por ejemplo por agitación, durante los pasos (iii) y (iv).

El proceso de cristalización típicamente se lleva a cabo durante un periodo de tiempo extendido. Por lo tanto, el t_1 es típicamente por lo menos 1 hora, preferiblemente por lo menos 1,5 horas. La tasa de agregado de antisolvente R_1 es típicamente 0,5 ml/min/g o menor. Las tasas R_1 preferidas son de 0,2 ml/min/g o menos, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 ml/min/g o menos, por ejemplo entre 0,01 y 0,2 ml/min/g, más preferiblemente entre 0,01 y 0,1 ml/min/g.

Si se agregan cristales semilla, típicamente estos se agregan antes, durante o después de llevar a cabo el paso (i). Preferiblemente, los cristales semilla se agregan antes del paso (i) o durante el agregado de antisolvente del paso (i). Si los cristales semilla se agregan durante o después del agregado de antisolvente, la mezcla típicamente se agita durante un periodo más prolongado, t_{1a} , que preferiblemente es de por lo menos 2 horas, por ejemplo por lo menos 3 horas o 4 horas, por ejemplo aproximadamente 5 horas. Preferiblemente, también se incluye un periodo de agitación adicional a una temperatura inferior antes de la recolección de los cristales. Este paso de agitación adicional se lleva a cabo durante un periodo t_2 que preferiblemente es de por lo menos 30 minutos. El paso de agitación adicional se lleva a cabo a temperatura reducida, T_2 . La T_2 típicamente es menor que la T_1 , preferiblemente por lo menos 5°C, más preferiblemente por lo menos 10°C menor que la T_1 . La T_2 típicamente es de aproximadamente 10°C o menos, preferiblemente de aproximadamente 5°C o menos, más preferiblemente de aproximadamente 0°C. Se ha hallado que el incremento del tiempo o de la velocidad de cristalización y la reducción de la temperatura de cristalización proveen una mayor pureza de la Forma B. La introducción de cristales semilla también colabora en la mejora de la pureza de la forma B forma cristalina.

En el método anterior, típicamente, la T1 es de aproximadamente 20°C o menos; la T2 es al menos 5°C menor que T1; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,5 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 2 horas y el t2 es de al menos 30 minutos. Preferiblemente T1 es de aproximadamente 20°C o menos; la T2 es de aproximadamente 10°C o menos; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,5 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 3 horas y el t2 es de al menos 30 minutos. Más preferiblemente la T1 es de aproximadamente 15°C o menos; la T2 es de aproximadamente 5°C o menos; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,2 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 4 horas y el t2 es de al menos 30 minutos.

La cristalización preferiblemente se lleva a cabo bajo una atmósfera inerte, por ejemplo bajo atmósfera de nitrógeno.

Los métodos preferidos de cristalización incluyen por lo menos los pasos (i), (iv) y (v) previos. Los métodos más preferidos incluyen los pasos (i), (iii), (iv) y (v). Los métodos aún más preferidos incluyen todos los pasos (i) a (v). Por lo tanto, un método preferido para elaborar TETA.4HCl comprende los pasos de:

- (i) agregar antisolvente a una solución acuosa, típicamente una solución acuosa agitada, de TETA.4HCl a temperatura T1 durante un periodo de tiempo t1 y/o a una tasa R1;
- (ii) opcionalmente agregar cristales semilla de TETA.4HCl;
- (iii) opcionalmente agitar la mezcla resultante a T1 durante un tiempo adicional t1a;
- (iv) reducir la temperatura a la temperatura T2 y agitar la mezcla durante un tiempo adicional t2; y
- (v) recolectar los cristales resultantes;

en donde la T1 es de aproximadamente 20°C o menos; la T2 es de aproximadamente 10°C o menos; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,5 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 3 horas y el t2 es de al menos 30 minutos.

Otro método preferido, el cual es adecuado para producir la Forma B sustancialmente pura de TETA.4HCl comprende:

- (i) agregar antisolvente a una solución acuosa, típicamente una solución acuosa agitada, de TETA.4HCl a temperatura T1 durante un periodo de tiempo t1 y/o a una tasa R1;
- (ii) agregar cristales semilla de TETA.4HCl;
- (iii) agitar la mezcla resultante a T1 durante un tiempo adicional t1a;
- (iv) reducir la temperatura a la temperatura T2 y agitar la mezcla durante un tiempo adicional t2; y
- (v) recolectar los cristales resultantes;

en donde la T1 es de aproximadamente 15°C o menos; la T2 es de aproximadamente 5°C o menos; el t1 es de al menos 1 hora, la R1 es de 0,2 ml/min/g o menor, el t1a es de por lo menos 4 horas y el t2 es de al menos 30 minutos.

Los cristales se pueden recolectar mediante cualquier método adecuado siempre y cuando la temperatura de los pasos de recolección se mantenga por debajo de aproximadamente 40°C, preferiblemente por debajo de aproximadamente 30°C. Se ha hallado que los pasos llevados a cabo a una temperatura superior antes de que los cristales se hayan secado completamente, conducen solamente a cristales de la Forma A. Más preferiblemente, la

recolección de los cristales se lleva a cabo por debajo de aproximadamente 25°C, por ejemplo aproximadamente 20°C o menos.

Los métodos adecuados para recolectar cristales incluyen filtración y centrifugación. Típicamente, los cristales resultantes se secan típicamente a una temperatura por debajo de aproximadamente 40°C, preferiblemente por debajo de aproximadamente 30°C. Los cristales se pueden lavar, por ejemplo con antisolvente, antes de secarlos. Los antisolventes adecuados para lavar son los que se mencionaron previamente, en particular metanol o etanol, más preferiblemente etanol. El secado típicamente es secado por vacío, debido a que el calentamiento conducirá a que se produzcan cristales de la Forma A. Se prefiere el secado al vacío a menos de aproximadamente 40°C.

Si se desea, el producto seco resultante se puede procesar adicionalmente, por ejemplo por molienda o granulación. El cristal de la Forma B es sustancialmente estable a la molienda.

En los casos en que sea relevante, los pasos de recolección y de procesamiento adicionales tales como lavado, secado y la molienda típicamente se llevan a cabo bajo una atmósfera inerte, tal como de nitrógeno.

Composiciones Farmacéuticas y Formas de Dosificación

Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden la Forma B cristalina de TETA.4HCl como se describe en la presente junto con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede tener cualquier forma adecuada, pero preferiblemente es una forma de dosificación oral. Por ejemplo, la composición puede tener la forma de un comprimido, una cápsula, un polvo, un semisólido, una formulación de

liberación sostenida, una solución, una suspensión o cualquier otra composición apropiada. Los comprimidos, las cápsulas y los polvos, en particular los comprimidos, son las formas preferidas.

En formas de realización alternativas, las composiciones se administran por vía parenteral, por ejemplo por vía subcutánea o por vía intravenosa.

La forma de dosificación farmacéutica se puede producir llevando a cabo pasos de procesamiento adicionales sobre los cristales producidos como se describe en la presente. Por lo tanto, una composición, típicamente una forma de dosificación oral, se puede producir mediante los pasos de (a) obtener la Forma B de TETA.4HCl, por ejemplo usando el método que se describe precedentemente, (b) opcionalmente moler y/o granular los cristales obtenidos, (c) combinar la Forma B de TETA.4HCl con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y (d) opcionalmente mezclar la Forma B de TETA.4HCl y el vehículo. Los vehículos adecuados se describen adicionalmente más adelante. Cuando la forma de dosificación oral es un comprimido, el proceso además puede comprender (e) comprimir la mezcla para formar un comprimido y opcionalmente recubrir el comprimido con azúcar o recubrir con una película. Como alternativa, la forma de dosificación oral sólida puede ser una cápsula o un polvo. En este caso, el método de la invención además puede comprender (e) empaquetar la mezcla resultante, por ejemplo en una cápsula. En el proceso se pueden incluir pasos estándares adicionales, por ejemplo moler, granular, recubrir con azúcar, o recubrir con película.

La composición farmacéutica típicamente comprende hasta 85% en peso de TETA.4HCl, por ejemplo hasta 50% en peso TETA.4HCl. Las composiciones preferidas son estériles y libres de pirógenos.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para la preparación de formas de dosificación orales incluyen, por ejemplo, solubilizar agentes, por ejemplo ciclodextrinas o ciclodextrinas modificadas; diluyentes, por ejemplo lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de papa; lubricantes, por ejemplo sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes; por ejemplo almidones, gomas tragacanto, gelatina, jarabe, acacia, sorbitol, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona; agentes disgregantes, por ejemplo almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato de almidón sódico; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes, tales como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias no tóxicas y farmacológicamente inactivas usadas en formulaciones farmacéuticas. Dichas preparaciones farmacéuticas se pueden elaborar de una manera conocida, por ejemplo, por medio de mezclado.

Las composiciones de la invención típicamente contienen una alta proporción de la Forma B de TETA.4HCl y una baja cantidad de la Forma A. Las composiciones farmacéuticas de la invención no contienen más de 10% en peso de la Forma A de TETA.4HCl. Preferiblemente, las composiciones de la invención están sustancialmente libres de la Forma A tetracloruro de trietilentetramina. Sustancialmente libre de la Forma A como se usa en la presente significa que la composición no contiene más de 5% en peso, preferiblemente no más de 2% en peso, más preferiblemente no más de 1% en peso, o 0,5% en peso, y más preferiblemente no más de 0,1% en peso de la Forma A de TETA.4HCl.

Usos Médicos

Se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención a un sujeto. Ha de comprenderse que el nivel de dosis específico para cualquier sujeto particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la ruta de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos y la severidad de la enfermedad particular que está bajo tratamiento. Los niveles de la dosis óptima y la frecuencia de dosificación usualmente serán determinados mediante ensayo clínico.

Una dosis diaria típica es de hasta 50 mg por kg de peso corporal, por ejemplo entre 0,001 y 50 mg por kg de peso corporal, de acuerdo con la edad, el peso y las condiciones del sujeto a tratar, el tipo y la severidad de la enfermedad y la frecuencia y la ruta de administración. Preferiblemente, los niveles diarios de dosificación son entre 0,05 mg y 2 g, preferiblemente entre 0,1 mg y 10 mg. El compuesto de la invención típicamente se administra al paciente en una cantidad no tóxica.

La invención también provee una forma cristalina como se define en la presente o una composición como se define en la presente para usar en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia. En particular las formas cristalinas y las composiciones de la invención son útiles para reducir los niveles de cobre en un sujeto y/o para reducir los efectos tóxicos de la retención de cobre en un sujeto. Por lo tanto las mismas son útiles en el tratamiento de trastornos y enfermedades asociadas con los niveles elevados de

cobre. En particular, las mismas son útiles en la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Wilson.

La TETA en sí misma constituye un tratamiento conocido para la enfermedad de Wilson y las enfermedades y trastornos asociados con los niveles elevados de cobre. Después de la administración de la forma cristalina de la invención, los compuestos se disolverán en el sistema *in vivo* y se puede esperar que el efecto terapéutico de la forma cristalina sea el mismo que el de las formas conocidas de TETA.

Los sujetos tratados de acuerdo con la presente invención pueden ser sujetos humanos o animales, en particular humanos o mamíferos, típicamente humanos.

Ejemplos

Ejemplo de referencia 1: Síntesis de la Forma cruda de TETA.4HCl

Se elaboró la forma cruda de TETA.4HCl como se describe en las Figuras 1a y 1b.

Ejemplo 2: Síntesis de la Forma B de TETA.4HCl

Se elaboró la Forma B de TETA.4HCl en forma sustancialmente pura de acuerdo con los pasos descritos en la Figura 2.

Ejemplo de referencia 3: Síntesis de la Forma A de TETA.4HCl

Se disolvió TETA.4HCl en crudo bajo nitrógeno en 2 volúmenes de agua purificada, y luego se clarificó la solución obtenida mediante filtración. Se calentó un reactor a 70°C (temperatura de camisa del reactor) y cuando la temperatura

de la mezcla de reacción fue de entre 55 y 60°C, se agregaron 7 volúmenes de metanol para recrystalizar el producto, a una tasa tal que la temperatura en la masa permaneció entre 55 y 65°C.

Después de por lo menos 30 minutos de agitación a 65°C (temperatura de camisa del reactor), la mezcla de reacción se enfrió lentamente durante un periodo de por lo menos 2 horas 30 minutos, respetando una velocidad de enfriado de aproximadamente 5°C cada 30 minutos, para obtener una temperatura en la masa de entre 30°C y 35°C. Luego se agitó la suspensión durante al menos 1 hora a una temperatura en la masa mantenida de entre 30°C y 35°C.

El producto se filtró en un filtro esmaltado Nutsch con una porosidad de membrana de 10 µm y se lavó dos veces con 1,5 volúmenes de metanol. La filtración forzada se llevó a cabo después del último lavado para secar el producto. El producto se secó en un horno de vacío a 60°C durante al menos 14 horas.

Ejemplo 4: Análisis de las formas cristalinas de TETA.4HCl

Difracción de rayos X en polvo

Se colocaron unos pocos miligramos de las muestras obtenidas en el Ejemplo 2 precedente entre tres películas de polímero (Kapton® y polipropileno). El Kapton® exhibe un pico amplio en el difractómetro con una intensidad de pico de alrededor de $2\theta = 5,5^\circ$.

Las muestras se colocaron en un difractómetro PANALYTICAL X'PERT PRO MPD configurado en modo de transmisión, y se analizó usando las condiciones indicadas en la Tabla 1 más adelante. Los datos de difracción se

adquieren por exposición de las muestras en polvo a radiación de rayos X de Cu- K_{α} , que tiene una longitud de onda característica (λ) de 1,5418 Å. Los rayos X se generaron a partir de un ánodo de Cu alimentado con 40 kV y una corriente de 40 mA. Los análisis se realizaron entre 2° y 50° (a menos que se indique de otra manera). La calibración del difractómetro se validó antes de cada análisis.

En la Figura 4 se muestra un patrón de XRPD para los cristales producidos de acuerdo con el Ejemplo 2 (Forma B sustancialmente pura).

Tabla 1: Condiciones de análisis de XRPD

Tipo	X'Pert Pro MPD Panalytical
Número de serie	DY2764
Haz incidente (modo transmisión)	Radio (en mm): 240.0 Tubo de rayos X: Nombre: PW3373/10 Material del ánodo: Cu Voltaje (kV): 40 Corriente (mA): 40 Tipo de enfoque: Línea (longitud (mm): 12,0 ancho (mm): 0,4 ángulo de salida(°): 4,4) Espejo de rayos X Nombre: Inc. Beam Cu W/Si (MPD parabólico) Cristal (W/Si grado parabólico) Ángulo de aceptación (°): 0,8 Longitud (mm): 55,3

	Rendija Soller Soller 0,04 rad Abertura (rad.): 0,04 Rendija antidispersión Rendija AD 1,4mm (espejo) Tipo: Fija Altura (mm): 1,40 Rendija de divergencia Rendija fija 1/8° Distancia a la muestra (mm): 140 Tipo Fija Altura (mm): 0,19
Haz difractado	Radio (mm): 240,0 Rendija Soller Nombre: Soller grande 0,04 rad Abertura (rad.): 0,04 Detector Nombre: PIXcel Tipo: detector RTMS PHD – nivel inferior (%): 25,5 PHD – nivel superior (%): 70,0 Modo: Escaneo Longitud activa (°) 3,347

Espectroscopía de Raman

Las muestras del Ejemplo 2 y del Ejemplo de referencia 3 se analizaron por espectroscopía de Raman. Se usó un analizador Renishaw RA802 Pharmaceutical bajo las siguientes condiciones:

Tabla 2:

Longitud de onda del láser	785 nm
Dispersión espectral	2 cm ⁻¹ /pixel
Objetivo	Hi Mag (x50 – 1 µm capacidad)
Enfoque	Automático (LiveTrack)
Tiempo de adquisición	1 s
Potencia del láser	50%

Los espectros se proveen en las Figuras 5a y 5b. En la Figura 5b, la línea inferior representa el Ejemplo 2 (Forma B), mientras que la línea superior representa el Ejemplo de referencia 3 (Forma A). Las flechas describen desplazamientos únicos de la Forma B. El espectro de Raman del ejemplo 2 muestra bandas a 943, 1173, 1527 y 1612 cm⁻¹. El espectro de Raman del Ejemplo de referencia 3 (Forma A) muestra picos a 933, 1167, 1513 y 1604 cm⁻¹.

Análisis FTIR-ATR

Se midieron los espectros infrarrojos en un espectrómetro de FT-IR Nicolet iS5 equipado con un módulo ATR iS7, con los parámetros que se describen a continuación:

Tabla 3:

Modo	Diamante ATR
Resolución	4 cm ⁻¹
Números de barridos (medida)	32 barridos
Números de barridos (fondo)	32 barridos
Espectro	4000 cm ⁻¹ a 525 cm ⁻¹ , en absorbancia

Se obtuvo un espectro infrarrojo para el ejemplo 2 (Forma B). El espectro se muestra en las Figuras 8a y b.

Análisis de DSC

Los análisis de DSC se llevaron a cabo usando un Mettler Toledo DSC3+ (número de serie B531255222) en cazuelas de aluminio selladas de 40µl con la tapa perforada antes del análisis, bajo corriente de nitrógeno a 50 mL/min.

Tabla 4:

ID de la muestra	Ejemplo 2
Peso de la muestra	0,360 mg
Rango de barrido	20°C –
Tasa de barrido	10°/min

Se observa un evento endotérmico correspondiente a la fusión de la muestra. Las temperaturas de inicio y pico se muestran en la Tabla a continuación.

Tabla 5:

<i>T inicio</i>	<i>T Pico</i>	<i>Entalpía</i>	<i>Comentario</i>
<i>(°C)</i>	<i>(°C)</i>	<i>(J/g)</i>	
252,1	259,2	232,1	Fusión

Temperaturas de inicio, pico y entalpías

Análisis termogravimétrico (TGA)

Los análisis termogravimétricos se llevaron a cabo usando un analizador Pyris 1 TGA (número de serie 537N7052501) en cazuelas de aluminio selladas, perforadas antes del análisis, bajo corriente de nitrógeno a 20 mL/min.

Tabla 6:

Muestra ID	Ejemplo 2
Peso de la muestra	5,100 mg
Temperatura de inicio	25°C
Temperatura final	300°C
Tasa de barrido	10°C/min

El análisis termogravimétrico muestra una pérdida de peso que inicia a 225°C, la cual aumenta después de 289,5°C. Esto posiblemente es debido a degradación. La pérdida de peso fue 10,24%: 2,64% entre 225,0 y 289,5°C y 7,60% entre 289,5 y 299,0°C

Análisis de sorción de vapor dinámico (DVS)

Los análisis de DVS se llevaron a cabo usando un analizador SMS DVS Intrinsic (número de serie PF 140088) en cazuelas de aluminio abiertas a 25°C con un gas de purga de nitrógeno a 100 ml/min. El criterio de estabilidad fue un

cambio de peso menor que 0,002% en una ventana de tiempo de 5 minutos (con un mínimo de 10 minutos y un máximo de 100 minutos).

Tabla 7:

ID de la muestra	Ejemplo 2
Peso de la muestra	11,2773 mg (inicial) 11,2763 mg (ref. 0% de HR)
Temperatura	25°C
Programa de humedad relativa	1) 40% de HR – 0% de HR 2) 0% de HR – 95% de HR 3) 95% de HR – 0% de HR

Los gráficos de isoterma de DVS se proveen en las Figuras 11a (Ejemplo 2) y 11b (Ejemplo de Referencia 3). Los análisis de DVS realizados en estas dos muestras muestran una ganancia de peso significativa a valores altos de humedad relativa (90% de HR y superior):

- por lo menos +55,8% por ejemplo 2
- por lo menos +60,8% para el Ejemplo de Referencia 3

Las etapas de desorción exhiben diferentes comportamientos para los dos sólidos. El Ejemplo 2 casi alcanza su peso de referencia en la segunda etapa de desorción. Para el Ejemplo de Referencia 3 el peso es aún +14,4% más alto que el peso de referencia al final de la segunda etapa de desorción (aún +7,9% más alto para el valor mínimo alcanzado). Cabe

señalar que para el último el criterio de límite de tiempo se alcanzó en estos pasos (por lo tanto el peso de la muestra no se estabilizó).

Ejemplo 5: prueba de Heckel

El objetivo de la prueba de Heckel es comprimir un material de prueba bajo condiciones controladas para derivar la presión de fluencia del material en bruto. Se comprime un peso conocido de material en un molde de 10 mm de diámetro con punzones facetados planos moviéndose a una velocidad dada. La fuerza del punzón se mide con precisión a intervalos frecuentes mientras que el desplazamiento de los punzones se usa para calcular el volumen de polvo. La presión de fluencia se calcula a velocidades lenta y rápida de los punzones para evaluar la componente de deformación dependiente del tiempo del material. Las muestras elaboradas de acuerdo con el Ejemplo 2 y el Ejemplo de referencia 3 se sometieron a la prueba de Heckel.

METODOLOGÍA

Determinación de la densidad verdadera mediante picnometría de helio.

Equipamiento usado: Micromeritics AccuPyc II 1340

Parámetros de la prueba:

Tamaño del recipiente 3,5 cm³

Número de purgas 5

Presión de purga 19,5 psig

Número de corridas 10

Presión de llenado de corrida 19,5 psig

Tasa de equilibrio 0,02 psig

Precisión de corrida Sí

Escala completa de porcentaje 0,05%

El ensayo se llevó a cabo por duplicado. (Asumiendo un objetivo <2% de variabilidad alcanzado).

Compresión

Se compacta un peso conocido de droga pura a una porosidad teórica de cero usando punzones facetados planos de 10 mm de diámetro. El simulador de compactación se usó bajo las siguientes condiciones:

Herramienta: facetada plana redonda de 10 mm

Perfil: perfil con forma de V

Velocidad del punzón – Lenta 0,1 mm/s

Velocidad del punzón – Rápida 300 mm/s

Lubricación del molde: Sí con estearato de Mg en acetona

Número de repeticiones: 3

Corrección de elasticidad: Sí

Durante la compresión la ubicación de las puntas del punzón se determina de manera precisa y la fuerza medida por las celdas de carga produciendo un registro de los parámetros de compresión primaria. La temperatura y humedad se monitorearon a intervalos durante la prueba.

Los datos se analizaron mediante el programa de computación Compaction Analysis para generar valores de presión de fluencia (P_y) usando la ecuación de Heckel:

$$\ln \frac{1}{1-D} = kP + A$$

en donde D = densidad relativa del compacto

P = Presión aplicada

K = Gradiente de la línea en la región lineal

[Referencia: R.W. Heckel. Trans. Metall. Soc. AIME 221 (1961)1001-1008]

Sensibilidad a la velocidad de deformación (SRS)

Para algunos materiales, las características de deformación cambian con la velocidad de la fuerza aplicada. Esto se puede estimar mediante el cálculo de la sensibilidad a la velocidad de deformación. La presión de fluencia a alta velocidad de compresión se compara con la que existe a baja velocidad usando la siguiente ecuación:

$$\%SRS = \frac{Py \text{ rápida} - Py \text{ lenta}}{Py \text{ lenta}} \times 100$$

[Referencia: R.J. Roberts and R.C. Roe, Chem. Eng. Sci. 42(1987) p903].

RESULTADOS

Densidad Verdadera

Tabla 8:

Corrida	Ejemplo de Referencia 3	Ejemplo 2
Corrida 1	1,3523 g/cm ³	1,3693 g/cm ³
Corrida 2	1,3431 g/cm ³	1,3973 g/cm ³ *
Corrida 3		1,3678 g/cm ³
MEDIA	1,3477 g/cm ³ (DE 0,013)	1,3686 g/cm ³ (DE 0,002)

*La variación entre corridas 1&2 excede el 2%. 3^{ra} corrida llevada a cabo. Los datos de la corrida 2 se asumieron como valores atípicos y no se usaron para el cálculo de la media.

Tabla 9: Resultados de comparación: Ejemplo de Referencia 3

Velocidad lenta 0,1 mm/s	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
Presión de fluencia (Mpa)	101,529	95,501	97,474
Rango de región lineal usado en el cálculo (Mpa)	25-150	25-150	25-150
Fuerza Pico de Punzón Superior (kN)	20,830	18,543	19,570
Fuerza de Eyección (kN)	0,039	-0,007	-0,020
Observaciones de compacto:	Comprimido bueno brillante	Comprimido bueno brillante	Comprimido bueno brillante
Resistencia de compacto (Kilopondios)	6,41	7,45	11,17

Condiciones de laboratorio: 21,3°C/52,1% de HR

Tabla 10: Resultados de Compactación: Ejemplo de Referencia 3

Velocidad Alta 300	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
---------------------------	------------------	------------------	------------------

mm/s			
Presión de fluencia (Mpa)	127,197	125,309	129,748
Rango de región lineal usado en el cálculo (Mpa)	25-150	25-150	25-150
Fuerza Pico de punzón superior (kN)	14,644	14,752	14,617
Fuerza de Eyección (kN)	0,421	0,327	0,381
Observaciones de compacto:	Bueno pero con ampollas en la superficie superior y astillado en los bordes	Bueno pero con ampollas en la superficie superior y astillado en los bordes	Bueno pero con ampollas en la superficie superior y astillado en los bordes
Resistencia de compacto (Kilopondios)	6,59	4,27	4,75

Condiciones de laboratorio: 21,6°C/50,0% de HR

Tabla 11: Resumen de resultados y observaciones

Propiedad de Lote	Ejemplo de Referencia 3
--------------------------	--------------------------------

Presión de Fluencia Lenta (0,1mm/s)	98,17 Mpa ($\pm 3,07$)
Presión de Fluencia Rápida (300 mm/s)	127,42 Mpa ($\pm 2,23$)
Sensibilidad a la tasa de deformación	29,8%

Tabla 12: Resultados de Compactación: Ejemplo 2

Velocidad lenta 0,1 mm/s	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 4
Presión de fluencia (Mpa)	106,465	117,516	118,116	115,227
Rango de región lineal usado en el cálculo (Mpa)	25-150	25-150	25-150	25-150
Fuerza Pico de Punzón Superior (kN)	20,211	24,088	24,175	23,906
Fuerza de Eyección (kN)	0,044	0,053	0,080	0,060
Observaciones de compacto:	Comprimido bueno brillante	Comprimido bueno brillante	Comprimido bueno brillante	Comprimido bueno brillante
Resistencia de compacto	12,07	7,52	9,64	9,19

(Kilopondios)				
---------------	--	--	--	--

Condiciones de laboratorio: 21,7°C/51,1% de HR

Tabla 13: Resultados de Compactación: Ejemplo 2

Velocidad Alta 300 mm/s	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
Presión de fluencia (Mpa)	129,865	129,108	129,861
Rango de región lineal usado en el cálculo (Mpa)	25-150	25-150	25-150
Fuerza Pico de Punzón Superior (kN)	14,566	14,542	14,717
Fuerza de Eyección (kN)	0,441	0,456	0,417
Observaciones de compacto:	Bueno pero con ampollas en la superficie superior y adherencia al punzón inferior	Comprimido bueno y brillante. Pegado y astillado en borde inferior.	Comprimido bueno brillante. Pegado y astillado en borde inferior,
Resistencia de compacto (Kilopondios)	9,83	11,58	8,88

Condiciones de laboratorio: 21,7°C/51,2% de HR

Tabla 14: Resumen de resultados y observaciones

Propiedad de Lote	Ejemplo 2
Presión de Fluencia Lenta (0,1mm/s)	114,33 Mpa ($\pm 5,39$)
Presión de Fluencia Rápida (300 mm/s)	129,61 Mpa ($\pm 0,44$)
Sensibilidad a la tasa de deformación	13,4%

La prueba de Heckel es una medida de la deformación de un comprimido formado. La resistencia del producto compacto es una indicación de cómo el tiempo de permanencia afecta a la adhesión del producto compacto. Se halló que los productos compactos del Ejemplo de referencia 3 producidos a baja velocidad tuvieron una resistencia moderada a la tensión (6-11 kilopondios). A velocidad rápida, la resistencia se redujo a aproximadamente entre 4 y 6 kilopondios. Por otro lado, el Ejemplo 2 mostró resistencias de entre 7 y 12 kilopondios a baja velocidad, pero entre 9 y 11 kilopondios a alta velocidad, demostrando que el Ejemplo 3 tiene una mayor resistencia a la tensión del producto compactado para tasas de compactación rápidas. En la Figura 6 se

muestra la sensibilidad a la tasa de deformación del Ejemplo 2 y del Ejemplo de referencia 3 a diferentes velocidades de producción.

Ejemplo 6: Envejecimiento de los comprimidos

El TETA.4HCl que se obtuvo de acuerdo con el Ejemplo de referencia 3 se comprimó para formar un comprimido. En la Figura 7a se provee una imagen del comprimido. El comprimido se dejó envejecer durante seis meses a 40°C y 75% de humedad. Después del envejecimiento, se observó que el comprimido tenía varias zonas decoloradas. En la Figura 7b se provee una imagen del comprimido envejecido.

El comprimido se analizó por espectroscopía Raman bajo las mismas condiciones que se establecieron en el Ejemplo 4 anterior y los resultados se compararon con los espectros de Raman para la Forma A y Forma B de TETA.4HCl. En la Figura 7c se muestran, en las regiones sombreadas, las áreas del comprimido que muestran presencia de la Forma A de TETA.4HCl. Como es evidente a partir de la comparación de las Figuras 7b y c, las áreas de la Forma A de TETA.4HCl se correlacionan con la localización de las regiones decoloradas de la superficie del comprimido.

Se detectaron cantidades mínimas de la Forma B de TETA.4HCl en el comprimido que se pueden haber formado durante la compresión del TETA.4HCl para formar el comprimido. Las áreas de la Forma B de TETA.4HCl no se correlacionan con las regiones decoloradas que se observan en el comprimido envejecido.

Ejemplo 7: Proceso de Cristalización

Las pruebas de cristalización para la preparación de la Forma B se llevaron a cabo a 20°C. Las soluciones iniciales se prepararon en una mezcla de etanol/agua a (25:75) y el agregado de etanol se llevó a cabo hasta alcanzar una proporción de (75:25). Primero las pruebas se llevaron a cabo mediante agregado manual de etanol. Luego se llevaron a cabo las pruebas adicionales usando una bomba con jeringa, para un agregado a una velocidad baja y controlada.

Agregado manual (por goteo)

En estas pruebas, el agregado se llevó a cabo en forma manual usando una micropipeta. Se colocó una solución de TETA.4HCl en una mezcla de (25:75) etanol / agua bajo agitación y se termostató a 20°C. La cantidad de material inicial de TETA.4HCl es como se establece en la Tabla 15.

El antisolvente (etanol) se agregó por goteo a intervalos regulares. Se ensayaron dos "velocidades" de agregado. Después del agregado del antisolvente, se muestreó la fase sólida y se analizó por difracción de rayos X con el objetivo de determinar la naturaleza de las fases sólidas. Las condiciones de la difracción de rayos X fueron como se establece en el Ejemplo 4. La última prueba se llevó a cabo con semillas de la Forma B presentes al comienzo del agregado, y a una velocidad más lenta de agregado (PE1716E007-L-5). Esta prueba conduce a una fase sólida sin señales de la Forma A observadas en el difractograma.

Los resultados se establecen en la Tabla 15 y los difractogramas obtenidas después del análisis de las fases sólidas en suspensión al final del agregado de etanol se presentan en las Figuras 9a, b y c. En las Figuras 9a-c se muestran los difractogramas de XRPD para los siguientes casos,

comenzando desde la línea inferior:

Referencia de la Forma A (línea inferior de las Figuras 9a-c)

Referencia de la Forma B

PE1716E007-L-5

PE1716E007-L-4

PE1716E007-L-3

PE1716E007-L-2

PE1716E007-L-1

PE1716E007-R-1 (línea superior de las Figuras 9a-c)

Tabla 15:

Referencia de prueba	masa de material (mg)	masa de mezcla de solvente (mg)	Concentración inicial (mg/mg de solución)	Semillas (mg)	Solvente agregado (μL) (mg)		Tiempo	Concentración final (mg/mg de solución)	Perfil de XRD Referencia de XRD
PE1716E007-R-1	192,71	384,45	0,334	No	816	643,82	2 s	0,158	Forma B + Forma A
PE1716E007-L-1	190,28	387,53	0,329	No	816	643,81	1 min	0,156	Forma B + Forma A
PE1716E007-L-2	702,48	1445,64	0,327	No	3000	2367	1 min	0,156	Forma B + Forma A
PE1716E007-L-3	703,91	1445,90	0,327	No	3000	2367	1 min	0,156	Forma B + Forma A
PE1716E007-L-4	748,33	1462,15	0,339	No	3000	2367	5 min	0,163	Forma B + Forma A (débil)
PE1716E007-L-5	750	1452,53	0,341	2,72	3000	2367	32 min	0,164	Forma B

Tabla 15. Resultados de las pruebas de cristalización mediante agregado manual.

Agregado Programado (continuo)

En esta serie de pruebas, el agregado del antisolvente se realizó mediante bomba con jeringa. Esto permitió un agregado continuo a una velocidad muy baja. Se usó el mismo protocolo anterior: se preparó una solución del material inicial cercano a la saturación, en una mezcla de 25:75 etanol/agua como se establece en la Tabla 16. Luego se saturó la solución con la Forma B hasta obtener una fase sólida en suspensión: esto asegura la presencia de semillas de la Forma B al comienzo del agregado de antisolvente.

Se probaron dos velocidades de agregado: 0,05 mL/min y 0,1 mL/min (para 750 mg de material inicial en solución). Se agregó etanol a estas velocidades seleccionadas hasta obtener una proporción de 75:25 etanol/agua. Se realizaron dos pruebas adicionales con agregado hasta 82:18, lo que corresponde a una concentración de aproximadamente 12,5%, y hasta 87,5/12,5 ratio, lo que corresponde a una concentración de aproximadamente 9% (peso de material inicial/total).

Los análisis por difracción de rayos X se llevaron a cabo usando las condiciones que se establecen en el Ejemplo 4. Los resultados se muestran en la Tabla 16 siguiente, y los difractogramas obtenidos después del análisis de las fases sólidas en suspensión al final del agregado de etanol se presentan en las Figuras 10a a 10c. En estas se muestran los perfiles de difracción sin señales de la Forma A observadas para las dos pruebas con una proporción final de etanol/agua de 75:25, y la prueba a 87,5:12,5. Se observa un pequeño hombro a la izquierda del pico a $2\Theta = 25,4^\circ$ (que corresponde a la Forma A) para la prueba a 82:18.

Figuras 10a-c show XRPD difractogramas para para los siguientes

casos, comenzando desde la línea inferior:

Referencia de la Forma A (línea inferior en las Figuras 10a-c)

Referencia de la Forma B

PE1716E007-L-6

PE1716E007-L-7

PE1716E007-L-8

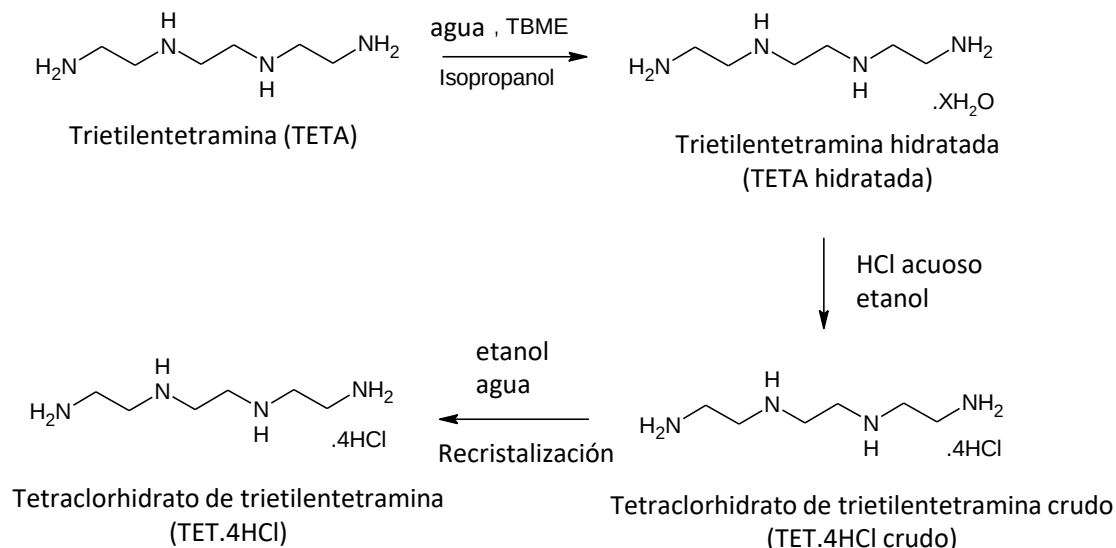
PE1716E007-L-9 (línea superior en las Figuras 10a-c)

Referencia de prueba	masa de material inicial	masa de mezcla de solventes	Concentración inicial	Semillas	Solvente agregado		Tasa de agregado	Concentración final	Perfil de XRD Referencia de XRD
	(mg)	(mg)	(mg/mg solución)	(mg)	(μL)	(mg)	(mL/min)	(mg/mg solución)	
E007-L-6	750,24	1449,99	0,341	2,93	3000	2367,0	0,05	0,164	Forma B PE1716X048
E007-L-7	749,20	1448,69	0,341	5,29	3000	2367,0	0,1	0,164	Forma B PE1716X049
E007-L-8	750,57	1445,90	0,342	2,90	4844	3821,9	0,1	0,125	Forma B + Forma A (débil) PE1716X050
E007-L-9	749,22	1445,08	0,341	2,98	7783	6140,8	0,1	0,090	Forma B PE1716X051

Tabla 16: Resultados de las pruebas de cristalización mediante agregado programado

Ejemplo 8: Proceso de cristalización

En el esquema siguiente se presenta un resumen de la síntesis de tetraclorhidrato de trietilentetramina (trientina) (TETA 4HCl).



En el Paso I, laa trietilentetramina (TETA) se convierte a la correspondiente trietilentetramina hidratada (TETA hidratada) por agitación en presencia de agua y TBME. Se agrega isopropanol como antisolvente y si se lo requiere, semillas con TETA hidratada. La TETA hidratada se cristaliza, se filtra y se aísla. El tetraclorhidrato de trietilentetramina crudo (TETA 4HCl crudo) se obtiene por reacción de la trietilentetramina hidratada (TETA hidratada) con ácido clorhídrico acuoso en etanol (Paso II). El tetraclorhidrato de trietilentetramina crudo (TETA 4HCl crudo) se recrystaliza a partir de una mezcla de agua purificada y etanol. El tetraclorhidrato de trietilentetramina crudo (TETA 4HCl crudo) se purifica adicionalmente por recrystalización a partir de una mezcla de agua purificada y etanol en presencia semillas de la Forma B para dar tetraclorhidrato de trietilentetramina (TETA 4HCl) (Paso III).

El método produce un tamaño de lote de entre 110 y 130 kg de TETA 4HCl, a partir de 125 kg de TETA. El rendimiento global para la síntesis es de aproximadamente 50% incluyendo dos recrystalizaciones de TETA 4HCl crudo.

La recrystalización para producir cristales de la Forma B se lleva a cabo como se resume en los diagramas de flujo de las Figuras 1a, 1b y 2, pero con el agregado de una recrystalización adicional del TETA.4HCl crudo al final del Paso II (Figura 1b) y antes del Paso III (Figura 2). El proceso se puede describir de la siguiente manera:

Una vez que se establecieron las condiciones inertes de las instalaciones, todas las manipulaciones se llevan a cabo bajo un flujo de nitrógeno.

Paso I: Elaboración de trietilentetramina hidratada (TETA hidratada)

- Se carga la trietilentetramina (cantidad nominal 125 kg) en un reactor seguido por TBME (185 ± 5 kg). Se agrega agua (ca 28 kg) con agitación durante ≥ 15 minutos mientras que se mantiene la temperatura a $\leq 30^\circ\text{C}$.
- A la solución se agregan semillas de trietilentetramina hidratada (ca. 0,1kg) con agitación a entre 25 y 35°C , si se requiere, para promover la cristalización.
- Se agrega isopropanol (64 ± 1 kg) a entre 25 y 35°C .
- Se calienta la suspensión a entre 30 y 40°C durante ≥ 15 minutos, seguido por enfriamiento lento durante ≥ 90 minutos a entre 15 y 25°C .
- Se enfría la suspensión a entre -5 y 5°C y se agita durante ≥ 30 minutos
- Se filtra y se centrifuga el producto. Luego, se toma una muestra para su análisis (ensayo de GC) y para la determinación de impurezas.

- Si la muestra es suficientemente pura, se carga la TETA hidratada húmeda en la secadora y se seca a $\leq 25^{\circ}\text{C}$ hasta cumplir con los requerimientos que se establecen en el siguiente paso.
- El producto seco se analiza para ver su pureza por GC, apariencia, agua residual por KF, identidad por FTIR, cenizas sulfatadas y solventes residuales por GC.

Paso II: Elaboración de tetraclorhidrato de trietilentetramina crudo (TETA.4HCl crudo)

- Se disuelve la trietilentetramina hidratada (TETA hidratada) en agua (85 ± 1 kg) y se acidifica con ácido clorhídrico acuoso concentrado (200 ± 5 kg) agregado durante ≥ 1 h a $\leq 40^{\circ}\text{C}$. Se verifica el valor de pH (pH objetivo = 1,0) y se agrega ácido clorhídrico acuoso concentrado hasta llegar a un pH $\leq 1,0$.
- Se enfría la mezcla de reacción a entre 15 y 25°C y se agita durante ≥ 10 minutos.
- Se trata la solución con etanol (672 ± 5 kg) el cual se agrega durante $\geq 1,5$ h, manteniendo la temperatura a $\leq 30^{\circ}\text{C}$.
- Se enfría la suspensión a entre -5 y 5°C y se agita durante ≥ 30 minutos.
- Se filtra el producto y el sólido se lava en forma sucesiva con etanol (1×20 kg, luego 3×25 kg).
- El tetraclorhidrato de trietilentetramina crudo (TETA.4HCl crudo) se disuelve en agua (340 ± 10 kg).
- Se trata la solución con etanol (909 ± 10 kg) el cual se agrega durante $\geq 1,5$ h, manteniendo la temperatura a $\leq 30^{\circ}\text{C}$.

- Se enfría la suspensión a entre -5 y 5°C y se agita durante ≥ 30 minutos.
- Se filtra el producto y el sólido se lava en forma sucesiva con etanol (1 x 14 kg, luego 3 x 15 kg).

Paso III: Elaboración de tetraclorhidrato de trietilentetramina (TETA.4HCl)

- El tetraclorhidrato de trietilentetramina crudo (TETA.4HCl crudo) se disuelve en agua (340 ± 10 kg).
- Se trata la solución con etanol (909 ± 15 kg) el cual se agrega durante $\geq 1,5$ h, manteniendo la temperatura a entre 7 y 13°C .
- A la solución se agregan semillas de TETA.4HCl (2% en peso) durante el agregado del etanol.
- La suspensión se agita durante ≥ 5 horas, luego se enfría a -5°C y se agita durante ≥ 30 minutos.
- Se filtra el producto y el sólido se lava en forma sucesiva con etanol (1 x 14 kg, luego 3 x 15 kg).
- Se analiza una muestra del producto para ver su pureza por GC.
- El producto se seca a $\leq 40^{\circ}\text{C}$ y si se cumple el parámetro control para pérdida durante el secado, el producto se muele.

La sustancia farmacológica molida se transfiere bajo corriente de nitrógeno a bolsa de polietileno doble de calidad alimenticia y luego se coloca en una bolsa de aluminio y se sella. La bolsa de aluminio se inserta en un tambor de HDPE.

Reprocesamiento

El TETA 4HCl obtenido después de la recristalización se prueba para evaluar las impurezas por GC. Si los niveles de impurezas son demasiado altos, se puede repetir el Paso III.

