

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 837 751**

51 Int. Cl.:

C07H 19/16 (2006.01)

C07H 19/167 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2013** **E 13163400 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2020** **EP 2789624**

54 Título: **Formas sólidas estables de regadenoson**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
01.07.2021

73 Titular/es:

AMRI ITALY S.R.L. (100.0%)
Via del Vecchio Politecnico, 9
20121 Milano, IT

72 Inventor/es:

GRISENTI, PARIDE;
SHAHZAD REZA, ELAHI;
GUAZZI, GIUSEPPE y
ARGESE, MARIA

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 837 751 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Formas sólidas estables de regadenoson

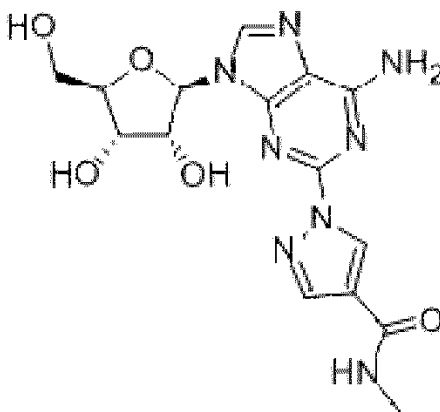
La presente invención se refiere a la síntesis de compuestos orgánicos para su uso en productos farmacéuticos como agentes activos. En particular, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de formas sólidas estables de Regadenoson y las formas así obtenidas.

Antecedentes de la invención

El fenómeno del polimorfismo se genera por la posibilidad de que una misma sustancia se organice en diferentes formas cristalinas (formas polimórficas), se cristalice con moléculas de disolvente (hidratos y disolventes) o se solidifique sin periodicidad (sustancias amorfas).

Las diferentes fases cristalinas o amorfas, aunque sean de la misma sustancia, pueden tener diferentes propiedades químicas, físicas y mecánicas y, en el caso de las sustancias activas de los medicamentos, diferentes características de biodisponibilidad y eficiencia terapéutica. Además, el mismo producto en diferentes fases cristalinas o amorfas puede presentar diferentes características de estabilidad química.

El Regadenoson (compuesto identificado con el número de registro: 313348-27-5) fue descrito por primera vez en el documento WO00/078779 y tiene la siguiente fórmula estructural



Este compuesto es un agonista del receptor de adenosina A_{2A} responsable de regular el flujo sanguíneo del miocardio mediante la vasodilatación de las arterias coronarias y el aumento del flujo sanguíneo al miocardio. El Regadenoson se emplea como ayuda para la formación de imágenes del corazón donde, antes de la administración de un agente de formación de imágenes, las arterias coronarias se dilatan y luego, mediante la observación de las imágenes así producidas, se puede realizar el diagnóstico de una posible enfermedad de las arterias coronarias (EAC).

Se describe que este compuesto tiene diferentes formas polimórficas identificadas como formas polimórficas A, B, C y D, así como una forma amorfa.

La estabilidad de estos estados sólidos es crítica para permitir la síntesis de este compuesto a escala preparatoria. Se sabe por los datos de la literatura que la forma polimórfica A, revelada en la patente US8106183, y la D, revelada en el documento WO2012149196 son las formas polimórficas más estables y son los estados sólidos preferidos en los que el Regadenoson puede ser aislado y utilizado para fines de formulación.

Más detalladamente, las formas polimórficas A, B, C y una forma amorfa fueron reveladas en la patente US8106183. En esta patente, las formas cristalinas se definen mediante la espectroscopia de difracción de rayos X (espectroscopia XRD), datos de calorimetría de barrido diferencial (DSC); también se dieron los métodos de preparación.

La forma polimórfica A de Regadenoson se identificó como una forma monohidratada; esta forma puede producirse por cristalización de Regadenoson a partir de disolventes próticos (por ejemplo, etanol o mezclas de etanol y agua) o de un disolvente polar (por ejemplo, dimetilsulfóxido/agua). La Forma A de Regadenoson fue identificada por los autores de la patente US8106183 como más estable que los polimorfos B y C a temperatura ambiente y también bajo condiciones de estrés de humedad relativa hasta su punto de fusión (identificado por DSC como 194,5°C).

Las formas polimórficas B, C y la forma amorfa se describieron como estados sólidos, que no podían prepararse fácilmente y/o resultar inestables. La forma B se prepara evaporando al vacío una solución de Regadenoson en trifluoroetanol a temperatura ambiente. Sin embargo, su constitución no pudo ser determinada por los inventores de la patente US8106183 debido a que los picos anchos desordenados de los rayos X, el polimorfo contenía cantidades variables de agua y su preparación fiable no podía ser reproducida. El polimorfo C se preparó mezclando Regadenoson

en acetonitrilo a 60°C durante un largo período de tiempo. Este polimorfo mostró un espectro de rayos X distinto, pero demostró ser un hidrato variable, inestable a altas temperaturas.

En la patente US8106183 el método de preparación de una forma amorfa de Regadenoson se describe calentando la forma polimórfica A a 200°C; este estado sólido, a diferencia de las formas polimórficas A-C, no fue descrito por los autores mediante un espectro de difracción de rayos X para identificar posibles halopicos característicos (picos amplios). Esta forma amorfa se preparó según la patente US8106183 calentando la forma polimórfica A por encima del valor del punto de fusión de esta sustancia (el de la forma polimórfica A es de 194,5°C). Este método no es aplicable industrialmente y conduce a la formación de varios productos secundarios. Los actuales inventores han descubierto que este tratamiento térmico provoca una disminución de la pureza cromatográfica de aproximadamente el 30% y un cambio en el color de la muestra (la forma polimórfica A de Regadenoson es una sustancia blanca, pero después de un tratamiento térmico a 190-200°C el color cambia a marrón). Hasta donde sabemos, este es el único método descrito para la preparación del Regadenoson amorfo.

La forma D se revela en el documento WO2012149196 como estable en condiciones inertes. Esta forma contiene entre el 0,8 y el 1,7% en peso de hidratación de agua y se indica como útil para la preparación de soluciones para su administración, como las soluciones parenterales. La forma D se prepara mediante una nueva síntesis completa de Regadenoson, también divulgada en esta referencia. Las fracciones de Regadenoson HPLC de pureza > 99% se combinan y concentran en una pasta. El sobrenadante se decanta y el frasco se calienta en un baño de aceite a 150°C bajo una presión reducida de 1,59 kPa durante 6 horas para dar Forma D.

Estos datos de la literatura indican que sólo las formas polimórficas A y D fueron identificadas como compuestos estables, sin embargo, deben tomarse algunas precauciones para sus condiciones de almacenamiento y manipulación.

La industria farmacéutica tiene una gran necesidad de preparar formas sólidas estables de Regadenoson de una manera industrialmente fácil y conveniente. También existe la necesidad de un procedimiento fácil y conveniente para convertir la forma amorfa en formas polimórficas más estables termodinámicamente.

Además, existe también una gran necesidad de disponer de formas sólidas de Regadenoson que sean estables también en condiciones atmosféricas normales, en particular en condiciones húmedas, sin necesidad de almacenarlas en condiciones atmosféricas controladas o inertes, con ventajas evidentes en términos de manipulación y costos.

La presente invención supera el problema técnico de la estabilidad de las formas polimórficas de Regadenoson proporcionando un procedimiento para la preparación de la forma amorfa de Regadenoson y su conversión en nuevas formas sólidas estables.

Sumario de la invención

Los inventores han encontrado sorprendentemente que la forma amorfa del Regadenoson puede prepararse en condiciones de reacción suave con una alta pureza química (>99,6%) y que, bajo atmósfera protegida, es estable al calentamiento (es decir, 80°C) hasta 96 horas; además este estado sólido no da origen a productos de degradación en condiciones secas cuando se almacena a 80°C hasta 96 horas y también cuando se expone a la humedad a 25°C/90% HR hasta 96 horas. El método de preparación de esta forma amorfa no requiere temperaturas de reacción extremas (es decir, 200°C como se describe en la patente US81906183) y puede utilizarse para fines de preparación industrial.

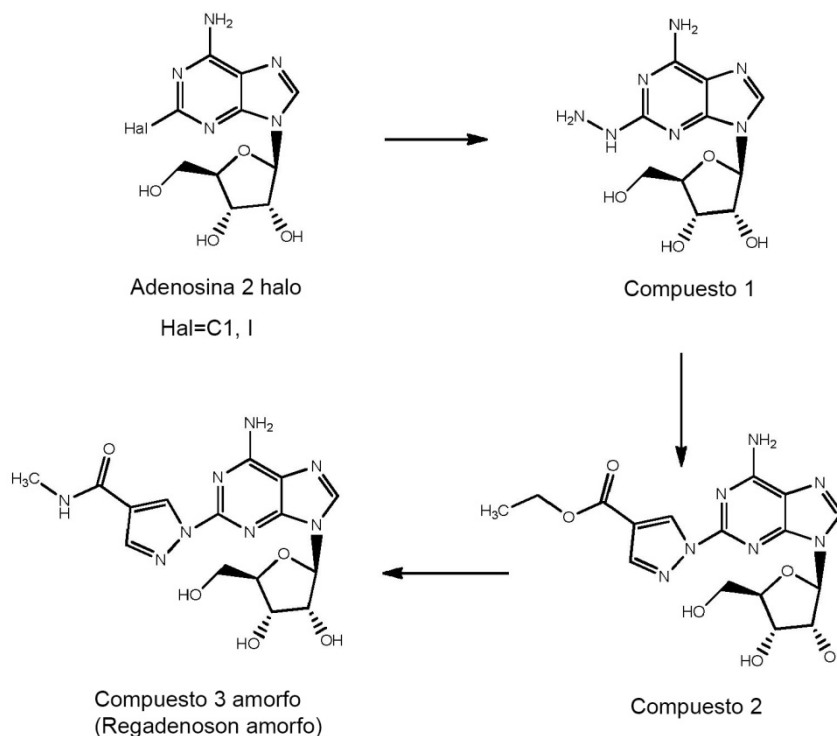
La forma amorfa de Regadenoson puede utilizarse para preparar otras dos formas polimórficas estables de solvate, denominadas en la presente memoria forma E de Regadenoson (solvate con 1 molécula de trifluoroetanol) y forma F de Regadenoson (solvato con 0,5 moléculas de etanol).

En una realización adicional, también una forma cristalina anhidra particularmente estable termodinámicamente de Regadenoson, en la presente memoria llamada forma G, puede ser preparada de Regadenoson amorfo por reflujo en etanol anhidro durante 60-90 horas. La forma G de Regadenoson se caracteriza por un pico endotérmico de fusión de aproximadamente 265°C (determinado por DSC) y por un espectro característico de XRD. La forma G de Regadenoson también puede aislarse convenientemente por precipitación directa de una mezcla de reacción anhidra que contiene etanol y metilamina en tiempos de reacción largos (hasta 90 horas). Por lo general, la forma G se prepara convirtiendo el Regadenoson amorfo en la forma anhidra cristalina más estable termodinámicamente, la forma G.

En cuanto al Regadenoson amorfo, estas tres nuevas formas polimórficas son estables en condiciones secas hasta 96 horas a 80°C y no dan origen a productos de degradación. Además, en condiciones húmedas (es decir, 25°C/90% HR) estas nuevas formas polimórficas no dan origen a productos de degradación. Finalmente hemos encontrado sorprendentemente que también la fase cristalina de la forma polimórfica G de Regadenoson (forma anhidra) muestra una alta estabilidad inusual si se compara con las formas polimórficas A-F y con la forma amorfa: de hecho la forma polimórfica G no sólo es estable cuando se expone al 90% RH a 25°C durante 96 horas, sino también al calentamiento hasta 200°C.

La vía sintética para la preparación del Regadenoson amorfo según la presente invención se reporta en el esquema sintético 1. En este esquema de reacción, la conversión de la adenosina 2-Halo (Hal= Cloro o Yodo) en el compuesto 2 sigue el mismo procedimiento descrito en los documentos WO00/78779 , WO2007092372 y Niiya, Kazunori y otros (Journal of Medicinal Chemistry, 35(24), 4557-61; 1992).

- 5 El paso sintético del compuesto 2 al Regadenoson amorfo es uno de los objetos de la presente invención y fue desarrollado para que la precipitación de esta forma amorfa sólida directamente de la mezcla de la reacción en condiciones suaves con alta pureza química.



Esquema 1. Pasos para Regadenoson sistético

La presente invención será ahora divulgada en la descripción anterior también por medio de figuras y ejemplos.

- 10 En las figuras:

La Figura 1: XRD de la forma amorfa de Regadenoson;

La Figura 2: XRD de Regadenoson forma cristalina F (forma solvato con etanol);

La Figura 3: XRD de Regadenoson forma E (forma solvato con trifluoroetanol);

La Figura 4: XRD de Regadenoson forma G (forma anhidra);

- 15 La Figura 5: Un XRD de Regadenoson forma A (técnica anterior);

La Figura 6: Datos de calorimetría de exploración diferencial de la forma amorfa de Regadenoson;

La Figura 7: Datos de calorimetría diferencial de exploración del Regadenoson G (forma anhidra);

La Figura 8: Datos de estabilidad de la forma amorfa de Regadenoson: XRD después de 96 horas a 80°C bajo atmósfera inerte;

- 20 La Figura 9: Datos de estabilidad del Regadenoson cristalino forma F (forma solvato con etanol): XRD después de 96 horas a 80°C bajo atmósfera inerte;

La Figura 10: Datos de estabilidad de la forma E de Regadenoson (forma soluble con trifluoroetanol): XRD después de 96 horas a 80°C bajo atmósfera inerte.

- 25 La Figura 11: Datos de estabilidad del Regadenoson forma G (forma anhidra): XRD después de 96 horas a 80°C bajo atmósfera inerte.

La Figura 12: Datos de estabilidad del Regadenoson forma G (forma anhidra): XRD después de 96 horas a 25°C/90% RH.

Descripción detallada de la invención

Según la presente invención, y refiriéndonos al anterior Esquema 1, el procedimiento para la preparación de la forma amorfa del Regadenoson comprende los siguientes pasos:

- a) hacer reaccionar la 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina (compuesto 2) con una solución seca de metilamina en un alcohol C₁-C₄ lineal o ramificado para proporcionar una mezcla de reacción;
- b) mantener dicha mezcla de reacción bajo agitación a una temperatura comprendida entre 60 y 100°C en un reactor de presión para obtener la conversión del compuesto 2 en (1-{9-[(4S, 2R, 3R, 5R)-3, 4-dihidroxi-5-(hidroximetil) oxolan-2-il]-6-aminopurin-2il} pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (Regadenoson, compuesto 3);
- c) eliminar la metilamina no reaccionada de dicha mezcla de reacción;
- d) enfriar dicha mezcla de reacción del paso c) a 10-25°C a una velocidad de enfriamiento de 1-2°C min;
- e) diluir dicha mezcla de reacción del paso d) 1:1 con un alcohol C₁-C₄ seco para obtener un precipitado de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2il} pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida amorfa;
- f) filtrar dicho precipitado amorfo del paso e) para aislar, y si se desea
- g) secar dicho precipitado.

En la siguiente descripción, la 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina se denomina también 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2il}pirazol-4-carboxilato de etilo y corresponde al compuesto 2 del esquema 1 anterior.

En la siguiente descripción, (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2il}pyrazol-4-il)-N-metilcarboxamida es Regadenoson y corresponde al compuesto 3 del anterior Esquema 1.

La mezcla de reacción del paso a) se mantiene bajo agitación en un reactor de presión. La presión está, por ejemplo, en el rango de aproximadamente 1-5 Bar.

Preferentemente, la reacción del paso b) se ejecuta hasta la conversión completa a Regadenoson. El tiempo de reacción puede depender de las condiciones de la reacción, el disolvente utilizado, la concentración del reactivo. Típicamente, la reacción se ejecuta durante unas 20-40 horas.

El alcohol C₁-C₄ es metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol, sec-butanol, t-butanol. Se prefiere el etanol, y aún más se prefiere el etanol seco (absoluto).

La temperatura de la reacción se selecciona en función de las concentraciones de reactivo, la velocidad deseada y otras consideraciones según el entorno y el equipo de la reacción. Las condiciones pueden ser establecidas por la persona de habilidad ordinaria en la técnica. Por ejemplo, el compuesto 2 es soluble incluso a temperatura ambiente a 0,1 M, mientras que a 0,5 M se produce la disolución a 80°C. En cualquier caso, la reacción se produce también en suspensión.

La eliminación de la metilamina que no ha reaccionado en el paso c) puede hacerse con cualquier medio ordinario, por ejemplo, mediante la destilación en vacío a aproximadamente 30-60°C o a presión normal a aproximadamente 40°C.

El alcohol utilizado en el paso e) es preferentemente el mismo alcohol utilizado en los pasos anteriores.

El secado del producto final es una operación típica, que no requiere una explicación detallada. Por ejemplo, el secado puede realizarse al vacío a 50-80°C durante 48-96 horas, preferentemente en atmósfera inerte.

Según una realización preferente de la presente invención, la reacción se lleva a cabo utilizando etanol anhidro y la concentración de metilamina en el etanol está comprendida entre el 10 y el 40% p/p, preferentemente el 33%. La concentración molar del compuesto 2 en la mezcla de reacción está comprendida entre 0,5 y 0,1 M preferentemente 0,25 M. La temperatura de reacción preferente está comprendida entre 80-85°C en una presión operativa de aproximadamente 3 Bar para un tiempo de reacción de aproximadamente 30 horas.

En una realización preferente de la presente invención, la implantación de la reacción (pasos c)-g)) se lleva a cabo eliminando la metilamina por destilación en vacío (aproximadamente el 15% del volumen de la reacción se destiló) a 40°C, enfriando la mezcla de la reacción a 20-25°C, diluyendo la mezcla de la reacción 1:1 con etanol anhidro,

manteniendo la mezcla de la reacción bajo agitación durante 30-60' a 20-25°C y recuperando el precipitado por filtración. Ventajosamente, este tipo de trabajo permite obtener al mismo tiempo la forma amorfa del Regadenoson con una alta pureza química. El producto húmedo se seca al vacío a 60°C durante 72 horas para obtener el Regadenoson amorfo.

- 5 La forma amorfa puede ser identificada por técnicas estándar, bien conocidas por la persona de habilidad ordinaria en la técnica.

Los picos de diagnóstico del espectro de XRD son con 6 Halos: P1 (4,040 2θ, 32%, ancho de aproximadamente 2,000 2θ), P2 (14,080 2θ, 33%, ancho de aproximadamente 3,300 2θ), P3 (18,400 2θ, 52%, ancho de aproximadamente 3,300 2θ), P4 (21,520 2θ, 57%, ancho de aproximadamente 2,666 2θ), P5 (24,220 2θ, 68%, ancho de aproximadamente 1,666 2θ), P6 (26,480 2θ, 100%, ancho de aproximadamente 4,998 2θ)

El DSC muestra un pico exotérmico principal a 245,6°C (inicio 236,6°C) seguido de un pico endotérmico a 280,4°C.

Otro objeto revelado en la presente memoria es la forma polimórfica F de Regadenoson (forma solvato con 0,5 moles de etanol por mol de Regadenoson) y puede ser preparada por un procedimiento que comprende:

- 15 a) tratar el Regadenoson amorfo obtenido con el procedimiento anteriormente expuesto en etanol anhidro, preferentemente a una concentración de 3-8% p/p bajo atmósfera inerte, para proporcionar una suspensión;
- b) mantener dicha suspensión a una temperatura comprendida entre 15-40°C durante 8-15 horas, para obtener un precipitado;
- c) recuperar de dicho precipitado, por ejemplo mediante filtración; y si se desea
- 20 d) secar dicho precipitado recuperado bajo vacío, por ejemplo a 40-80°C durante 48-96 horas.

Según una realización preferente, en el paso a) la relación relativa entre el Regadenoson amorfo y el etanol es del 5% p/p, en el paso b) dicha suspensión se mantiene bajo agitación a 20-25°C durante 8-10 horas y en el paso d) dichas condiciones de secado son de 60°C durante 72 horas.

La forma polimórfica F puede identificarse mediante técnicas estándar, bien conocidas por la persona de habilidad ordinaria en la técnica.

Los picos de diagnóstico del espectro de XRD son: 2θ valores (intensidad relativa): 6,42 (40%), 10,38 (30%), 12,20 (29%), 12,80 (21%), 13,80 (36%), 16,24 (40%), 16,84 (24%), 19,28 (30%), 19,96 (23%), 20,20 (24%), 20,70 (42%), 22,00 (32%), 22,58 (19%), 23,38 (19%), 23,80 (31%), 25,04 (100%), 25,60 (48%), 26,28 (22%), 27,18 (73%), 28,48 (22%).

30 El espectro de RMN se caracteriza por las señales de CH₃CH₂OH que se suman a las señales de la conocida RMN de la forma amorfa.

Además, el análisis elemental proporciona una confirmación de la forma de la solución.

El DSC muestra un pico endotérmico a 189°C (inicio 183°C).

35 Otro objeto revelado en la presente memoria es la forma polimórfica E de Regadenoson (forma solvato con 1 mol de trifluoroetanol por mol de Regadenoson) y puede ser preparada por un procedimiento que comprende:

- a) tratar Regadenoson amorfo obtenido con el procedimiento anteriormente revelado en trifluoroetanol seco, preferentemente en una concentración de 1-3%, en una temperatura comprendida entre 15-50°C para 0,5-1,0 hora para proporcionar una mezcla de reacción;
- b) filtrar dicha mezcla de reacción, recuperando un filtrado
- 40 c) concentrar dicho filtrado en vacío, típicamente a 40-60°C, para proporcionar un residuo;
- d) mantener dicho residuo, preferentemente a la misma temperatura de concentración, en vacío, por ejemplo, durante 24-72 horas.

45 Según una realización preferente, la relación relativa entre el Regadenoson amorfo y el trifluoroetanol es del 1% p/p y la solución se mantiene bajo agitación a 20-25°C durante 0,5 horas. La temperatura preferente de evaporación es de aproximadamente 40°C y esta temperatura se mantiene durante 48 horas.

La forma polimórfica E puede identificarse mediante técnicas estándar, bien conocidas por la persona de habilidad ordinaria en la técnica.

Los picos de diagnóstico del espectro de XRD son: 2θ valores (intensidad relativa): 4,98 (100%), 12,08 (31%), 14,66 (52%), 17,60 (33%), 17,96 (31%), 19,20 (69%), 19,62 (93%), 20,24 (41%), 20,78 (34%), 21,08 (33%), 21,52 (36%), 23,18 (37%), 24,10 (42%), 24,24 (39%), 25,08 (38%), 25,52 (46%), 26,02 (85%), 26,64 (62%), 27,36 (54%), 27,66 (59%), 27,84 (64%), 28,74 (39%).

- 5 El espectro de RMN se caracteriza por las señales de $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ que se suman a las señales de la conocida RMN de la forma amorfa.

Además, el análisis elemental proporciona una confirmación de la forma solvato.

El DSC muestra un amplio pico endotérmico a 145°.

- 10 La forma polimórfica G de Regadenoson (Regadenoson anhidro) puede prepararse mediante un procedimiento que comprende los siguientes pasos:

- a) tratar el Regadenoson amorfo obtenido con el procedimiento anteriormente descrito en etanol seco, preferentemente a una concentración del 4-7% p/v a una temperatura comprendida entre 70-78°C durante un tiempo suficiente para convertir dicho Regadenoson amorfo en la forma termodinámica G, más estable, típicamente durante 60-90 horas, para proporcionar una mezcla de reacción;
- 15 b) enfriar dicha mezcla de reacción hasta 20-25°C para proporcionar un precipitado;
- c) aislar dicho precipitado, por ejemplo, por filtración;
- d) secar dicho precipitado aislado bajo vacío a 40-60°C durante 24-72 horas.

- 20 Según una realización preferente, la relación relativa entre el Regadenoson amorfo y el etanol es del 5% p/v y la mezcla de reacción se mantiene bajo agitación a 80°C durante 70 horas. Las condiciones de secado preferentes son 60°C durante 24 horas.

La forma polimórfica G también puede prepararse directamente a partir de la mezcla de reacción revelada en el paso b) del procedimiento descrito anteriormente del compuesto 2 al Regadenoson amorfo. Una vez que el compuesto 2 se convierte en Regadenoson, la reacción continúa durante un tiempo suficiente para convertirlo en la forma cristalina G, más estable termodinámicamente.

- 25 Según esta realización, la forma polimórfica G de Regadenoson (Regadenoson anhidro cristalino) se prepara por un procedimiento que comprende:

- a) hacer reaccionar la 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina (compuesto 2) con una solución seca de metilamina en un alcohol $\text{C}_1\text{-C}_4$ lineal o ramificado para proporcionar una mezcla de reacción;
- 30 b) mantener dicha mezcla de reacción bajo agitación a una temperatura comprendida entre 60-100°C en un reactor de presión para obtener la conversión del compuesto 2 en (1-{9-[(4S, 2R, 3R, 5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (Regadenoson, compuesto 3);
- c) continuar la reacción durante un tiempo suficiente para convertir el Regadenoson en la forma cristalina G, más estable termodinámicamente;
- 35 d) eliminar la metilamina no reaccionada de dicha mezcla de reacción;
- e) enfriar dicha mezcla de reacción del paso d) a 10-25°C a una velocidad de enfriamiento de 1-2°C min;
- f) diluir dicha mezcla de reacción del paso e) 1:1 con un alcohol $\text{C}_1\text{-C}_4$ seco para obtener un precipitado de Regadenoson anhidro cristalino de la forma G;
- g) aislar dicho precipitado del paso f), por ejemplo por filtración, y si se desea
- 40 h) secar dicho precipitado.

- 45 Según una realización preferente, la reacción se lleva a cabo usando etanol anhidro y la concentración de metilamina en el etanol está comprendida entre el 10 y el 40%, preferentemente el 33%. La concentración molar del compuesto 2 en la mezcla de reacción está comprendida entre 0,5 y 0,1 preferentemente 0,25 M. La temperatura de reacción preferente está comprendida entre 80-85°C en una presión operativa de aproximadamente 3 bar para un tiempo de reacción de aproximadamente 70 horas. El trabajo de la reacción se realiza sacando la metilamina por destilación bajo vacío (aproximadamente el 15% del volumen de la reacción fue destilado) a 40°C, enfriando la mezcla de reacción a 20-25°C, diluyendo la mezcla de reacción 1:1 con etanol anhidro, manteniendo la mezcla de reacción bajo agitación

para 30' a 20-25°C y recuperando el precipitado por filtración. El producto húmedo se secó al vacío a 60°C durante 72 horas para dar a la Regadenoson forma polimórfica G.

La forma polimórfica G puede identificarse mediante técnicas estándar, bien conocidas por la persona experta en la técnica.

- 5 Los picos de diagnóstico del espectro de XRD son: 2θ valores (intensidad relativa): 8,24 (100%), 14,90 (23%), 17,70 (20%), 18,16 (21%), 19,84 (20%), 21,92 (30%), 26,16 (44%), 27,68 (34%), 30,44 (21%).

Además, el análisis elemental proporciona una confirmación de la forma anhidra.

El DSC muestra un pico endotérmico principal a 264,6°C.

- 10 La forma polimórfica G muestra la importante ventaja de una gran estabilidad térmica también en condiciones húmedas.

En la identificación anterior de las formas sólidas de Regadenoson, los valores de los diversos espectros y datos analíticos deben tomarse teniendo en cuenta los posibles errores, la precisión y la exactitud típicas del tipo de técnica analítica utilizada.

- 15 Todas las formas sólidas de Regadenoson de la presente invención son estables desde el punto de vista químico, es decir, se caracterizan por su alta pureza, especialmente en vista de su uso como fármacos. Además, las formas sólidas de la presente invención son termodinámicamente estables y la forma G es particularmente estable en condiciones húmedas y de estrés.

Las ventajas de la presente invención son proporcionar un método no destructivo para la preparación del Regadenoson amorfo, pasando por un camino sintético que implica condiciones de reacción suaves.

- 20 Las formas sólidas estables también son ventajosas desde el punto de vista reglamentario, ya que la estabilidad de una forma cristalina es un requisito para el registro del medicamento.

Además, desde el punto de vista industrial, el almacenamiento de este tipo de formas es ventajoso por su mayor duración.

- 25 Otro objeto de la presente invención son las composiciones farmacéuticas que comprenden el Regadenoson en forma polimórfica G. Las composiciones farmacéuticas son bien conocidas en la técnica, así como sus métodos de preparación. Véase por ejemplo "Remington's Pharmaceutical Sciences", última edición. En las referencias mencionadas también se dan ejemplos de composiciones farmacéuticas, véase por ejemplo el documento WO2012/149196. La composición farmacéutica según la presente invención comprende una dosis terapéuticamente efectiva de Regadenoson en una forma polimórfica G en mezcla con excipientes y vehículos convencionales. Las dosis terapéuticas típicas se encuentran en la técnica, en particular para el fármaco Lexiscan®. Las composiciones preferentes son las formulaciones inyectables, por ejemplo, jeringas precargadas que contienen 0,4 mg/5 ml de ingrediente activo.

Se prefieren especialmente las composiciones farmacéuticas en forma de formulaciones inyectables.

Los siguientes ejemplos ilustran aún más la invención.

35 Sección experimental

- Se realizaron análisis de ¹H RMN a 500 MHz con un espectrómetro Bruker FT-NMR AVANCETM DRX500. Los espectros infrarrojos (IR) se registraron en un instrumento Perkin Elmer (Mod FTIR Spectrum one) equipado con un muestreo ATR universal. Los DSC se registraron en un instrumento Perkin Elmer (Mod. DSC7) a una velocidad de calentamiento de 20 °C/min de 50°C a 310°C. Los espectros de difracción de rayos X se registraron mediante un difractómetro (Rigaku-D-Max) desde un ángulo inicial [1/2 2θ] de 5,000 a 60,000. Los diagramas de difracción se obtuvieron empleando un ánodo de Cu (Kα = 1,54060 Å y Kα = 1,54439 Å).

Se informa en la presente memoria del método HPLC utilizado para la determinación de la pureza cromatográfica del Regadenoson:

- columna ProntoSil C-18-AQ (250 x 4,6 mm, 5µm)
- 45 • temperatura de la columna: 45°C
- flujo de 1,5 ml/min.
- detector UV= 260 nm

- elución de gradiente: tiempo 0=95% fase A, 5% fase B; tiempo 35'=75% fase A y 25% fase B; tiempo 38'25% fase A y 75% fase B; tiempo 40'=95% fase A y 5% fase B.
- composición de la fase A: 97% agua / 0,1% trietilamina / 0,1% ácido acético / 3,0% acetonitrilo (v/v/v/v)
- composición de la fase B: 10% de la fase A y 90% de acetonitrilo (v/v)

5 Ejemplo 1

Método A. Preparación de la 2-hidrazinoadenosina (compuesto 1) a partir de la 2-cloroadenosina

Una mezcla de 2-Cloroadenosina (100 g; 0,33 moles) e hidrato de hidracina (60-65% en agua; 300 ml) se agitó mientras se calentaba a 40-45 °C durante 2,5 horas. A continuación, la mezcla de reacción se llevó a 20-25°C y se diluyó bajo agitación con etanol al 96% (900 ml); la mezcla de reacción se mantuvo luego bajo agitación durante 8-10 horas y el precipitado se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó secuencialmente con agua (400 ml) y el etanol se enfrió a 0°C (400 ml); el sólido recuperado se secó a presión reducida durante 24 horas a 40°C para obtener 2-hidrazinoadenosina (80 g, 0,27 moles; 81% de rendimiento molar).

Método B. Preparación de la 2-hidrazinoadenosina (compuesto 1) a partir de la 2-iodoadenosina

Una mezcla de 2-iodoadenosina (100 g; 0,25 moles), hidracina monohidratada (98%; 80 ml) en 96% de etanol (300 ml) se agitó a 40-45 °C durante unas 2 horas. A continuación, la mezcla de reacción se llevó a 20-25°C y se diluyó bajo agitación con etanol al 96% (300 ml); la mezcla de reacción se mantuvo luego bajo agitación durante 8-10 horas y el precipitado se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con etanol al 96% (2 x 140 ml) enfriado a 0°C; el sólido recuperado se secó a presión reducida durante 24 horas a 40°C para obtener 2-hidrazinoadenosina (66 g, 0,22 moles; 88% de rendimiento molar).

El compuesto 1 obtenido según los métodos A y B mostró las mismas propiedades químico-físicas: ¹H-NMR (DMSO-d₆). δ 3,55 (m, 1 H), 3,62 (m, 1 H), 3,0-4,0 (2bs parcialmente superpuestas al sistema anterior; 3H), 3,80 (dd, 1H), 4,15 (dd, 1H), 4,60 (t, 1H), 5,10 (bs, 2H), 5,90 (d, 1H), 6,90 (br s, 2 H), 7,25 (s, 1H), 7,98 (s, 1H).

MS (ESI positivo): detectable el ión molecular protonado a m/z=298,4

IR (ATR). cm⁻¹: 3504, 3435, 3324, 3156, 2941, 2913, 1643, 1585, 1476, 1049, 1030.

25 Ejemplo 2

1-[9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il]pirazol-4-carboxilato de etilo, que también puede identificarse como 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina (compuesto 2)

A una suspensión de 2-hidrazinoadenosina (25 g, 80 mmol) en una mezcla 1:1 de MeOH/AcOH (450 ml) se le añadió (etoxicarbonil)malondialdehído (19 g, 120 mmol) y la mezcla se calentó a 80°C durante 3 h. El precipitado formado se recogió por filtración y se lavó con etanol y éter dietílico para obtener 30 g (74 mmol; 92% de rendimiento molar) del compuesto (2) como sal de acetato.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 1,25 (t, 3 H), 1,98 (s, 2,3H acetato), 3,58 (m, 1 H), 3,68 (m, 1 H), 3,90 (dd, 1 H), 4,15 (dd, 1 H), 4,25 (q, 2H), 4,60 (t, 1 H), 5,0 (bs, 1 H), 5,20 (bs, 1 H), 5,50 (bs, 1 H), 5,90 (d, 1 H), 7,80 (br s, 2 H), 8,08 (s, 1 H), 8,4 (s, 1 H), 8,9 (s, 1 H).

IR (ATR). cm⁻¹: 3486, 3334, 3195, 2982, 2941, 1712, 1660, 1609, 1489, 1018, 982.

MP: 161,4°CMS (ESI positivo): detectable el ión molecular protonado a m/z=406,5

Ejemplo 3

(1-[9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il]pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida amorfa (compuesto 3)

El compuesto 2 (21 g, 52 mmol) fue suspendido bajo agitación a 20-25°C en una solución de metilamina al 33% en etanol absoluto (210 ml). La mezcla se calentó bajo agitación a 80-85°C en un reactor de presión durante 30 horas. Después de este período, la mezcla de reacción se concentró bajo vacío (1,59 kPa) a 40°C hasta aproximadamente el 85% del volumen inicial (es decir, hasta un volumen de reacción final de aproximadamente 178 ml). La temperatura de reacción se llevó a 20-25°C, y luego se diluyó con etanol absoluto (200 ml). La mezcla se mantuvo bajo agitación durante 30' a 20-25°C y el precipitado se recuperó por filtración, se lavó en el filtro con etanol absoluto (200 ml) y se secó al vacío a 60°C durante 72 horas para obtener 17g (43,6 mmoles; 84% calculado sobre la sustancia seca) del compuesto 3 en forma amorfa con una pureza cromatográfica del 99,7% (determinada por HPLC).

¹H-NMR (DMSO d₆) δ 2,76 (d, 3 H, 4,6 Hz; CH₃-NH), 3,67 y 3,57 (m, 2 H; CH₂OH), 3,96 (m, 1 H; CH-CH₂), 4,17 (m, 1 H; 3'CH-OH), 4,62 (m, 1 H; 2'CH-OH), 5,02 (dd, 1 H, 5,7 Hz; OH), 5,23 (bs, 1 H; OH), 5,50 (d, 1 H, 6,2 Hz; 2'OH), 5,94

(d, 1 H, 6,2 Hz; O-CH-N), 7,77 (bs, 2 H; NH₂), 8,07 (s, 1 H; =N-N-CH=), 8,35 (q, 1 H; NH), 8,41 (s, 1 H; N-CH=N), 8,95 (s, 1 H; CH=N). Estos datos espectroscópicos están de acuerdo con la estructura propuesta y con los datos de la literatura (Patente US8106183).

5 XRD (Figura 1). Regadenoson amorfo con 6 halos: P1 (4,040 2θ, 32%, ancho aproximadamente 2,000 2θ), P2 (14,080 2θ, 33%, ancho aproximadamente 3,300 2θ), P3 (18,400 2θ, 52%, ancho aproximadamente 3,300 2θ), P4 (21,520 2θ, 57%, ancho aproximadamente 2,666 2θ), P5 (24,220 2θ, 68%, ancho aproximadamente 1,666 2θ), P6 (26,480 2θ, 100%, ancho aproximadamente 4,998 2θ)

10 DSC (figura 6). Un pico exotérmico principal a 245,6°C (inicio 236,6°C) seguido de un pico endotérmico a 280,4°C. IR (ATR). cm⁻¹: 3317, 3216, 2933, 1640, 1604, 1574, 1404, 1340, 1284, 1130, 1087, 1059, 1019, 975, 912, 863, 724. MS (ESI positivo): detectable el ión molecular protonado a m/z=391,5

Ejemplo 4

Forma polimórfica F de la (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (compuesto 3 hemietanolato)

15 El compuesto amorfo 3 (17 g) obtenido del Ejemplo 3 se mezcló en etanol absoluto (340 ml) bajo agitación a 20-25°C y atmósfera de nitrógeno durante 8-10 horas. Después de este período el sólido se recuperó por filtración, se lavó en el filtro con etanol absoluto (250 ml) y se secó al vacío a 60°C durante 72 horas para obtener 13 g de compuesto 3 en la forma polimórfica F (67% de rendimiento molar). La pureza HPLC de este compuesto es del 99,7%

20 ¹H-NMR (DMSO d₆) δ 1,07 (t, 0,85 H, CH₃CH₂OH), 2,76 (d, 3 H, 4,6 Hz; CH₃-NH), 3,45 (dd, 0,57 H, CH₃CH₂OH) 3,67 y 3,57 (m, 2H; CH₂OH), 3,96 (m, 1 H; CH-CH₂), 4,17 (m, 1 H; 3'CH-OH), 4,45 (t, 0,44H, CH₃CH₂OH), 4,62 (m, 1 H; 2'CH-OH), 5,02 (dd, 1H, 5,7 Hz; OH), 5,23 (bs, 1H; OH), 5,50 (d, 1H, 6,2 Hz; 2'OH), 5,94 (d, 1 H, 6,2 Hz; O-CH-N), 7,77 (bs, 2H; NH₂), 8,07 (s, 1 H; =N-N-CH=), 8,35 (q, 1H; NH), 8,41 (s, 1 H; N-CH=N), 8,95 (s, 1 H; CH=N). XRD (Figura 2). 2θ valores (intensidad relativa): 6,42 (40%), 10,38 (30%), 12,20 (29%), 12,80 (21%), 13,80 (36%), 16,24 (40%), 16,84 (24%), 19,28 (30%), 19,96 (23%), 20,20 (24%), 20,70 (42%), 22,00 (32%), 22,58 (19%), 23,38 (19%), 23,80 (31%), 25,04 (100%), 25,60 (48%), 26,28 (22%), 27,18 (73%), 28,48 (22%)

25 DSC: pico endotérmico principal a 189°C

IR (ATR). cm⁻¹: 3498, 3348, 3309, 3127, 3081, 2972, 2938, 1639, 1620, 1583, 1485, 1450, 1407, 1335, 1287, 1279, 1211, 1132, 1121, 1050, 1036, 1012, 980, 969, 919, 903, 886, 809, 790, 722, 665.

Datos de análisis elementales calculados para C₁₅H₁₈N₈O₅·C₂H₆O₁. Valores teóricos: C=46,49%, H=5,12%, O=21,29%, N=27,11 %. Encontrado: C=46,55%, H=5,15%, O=21,35%, N=26,95%.

30 Ejemplo 5

Forma polimórfica E de la (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (compuesto 3 trifluoroetanolato)

35 1g (2,56 mmoles) de compuesto amorfo 3 obtenido según el ejemplo 3 se disolvieron en 2,2,2-trifluoroetanol (100 ml) bajo agitación a 20-25°C y atmósfera de nitrógeno y se mantuvieron bajo agitación durante 30'. Después de este período, la solución se filtró (corte de 0,45 μm); el filtrado se concentró bajo vacío a 40°C para dejar un residuo que permitiera obtener el compuesto 3 en la forma polimórfica E (980 mg).

40 ¹H-NMR (DMSO d₆) δ 2,78 (d, 3 H, 4,6 Hz; CH₃-NH), 3,67 y 3,57 (m, 2H; CH₂OH), 3,93 (dd, CF₃CH₂OH), 3,98 (m, 1 H; CH-CH₂), 4,19 (bs, 1 H; 3'CH-OH), 4,62 (d, 1 H; 2'CH-OH), 5,02 (dd, 1H, 5,7 Hz; OH), 5,23 (bs, 1H; OH), 5,50 (d, 1H, 6,2 Hz; 2'OH), 5,94 (d, 1H, 6,2 Hz; O-CH-N), 6,08 (bs, CF₃CH₂OH), 7,77 (bs, 2H; NH₂), 8,07 (s, 1H; =N-N-CH=), 8,35 (q, 1H; NH), 8,41 (s, 1H; N-CH=N), 8,95 (s, 1H; CH=N).

XRD (Figura 3). 2θ valores (intensidad relativa): 4,98 (100%), 12,08 (31%), 14,66 (52%), 17,60 (33%), 17,96 (31%), 19,20 (69%), 19,62 (93%), 20,24 (41%), 20,78 (34%), 21,08 (33%), 21,52 (36%), 23,18 (37%), 24,10 (42%), 24,24 (39%), 25,08 (38%), 25,52 (46%), 26,02 (85%), 26,64 (62%), 27,36 (54%), 27,66 (59%), 27,84 (64%), 28,74 (39%)

DSC: amplio pico endotérmico a 145°C

45 IR (ATR). cm⁻¹: 3341, 3270, 3127, 2920, 1643, 1578, 1537, 1519, 1488, 1449, 1423, 1413, 1369, 1342, 1276, 1197, 1141, 1090, 1060, 1023, 980, 947, 901, 852, 826, 807, 788.

Datos de análisis elementales calculados para C₁₅H₁₈N₈O₅·C₂H₃O₁F₃. Valores teóricos: C=41,64%, H=4,32%, O=19,57%, N=22,85%, F=11,62%. Encontrado: C=41,84%, H=4,52%, O=19,56%, N=22,65%, F=11,42%.

Ejemplo 6

Forma polimórfica G de la (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (compuesto 3 anhidro) del compuesto amorfo 3

El compuesto amorfo 3 (500 mg; 1,28 mmoles) obtenido del Ejemplo 3 se mezcló en etanol absoluto (10 ml) bajo agitación a 80°C y atmósfera de nitrógeno durante 70 horas. Después de este período la mezcla de reacción se llevó a 20-25°C y el sólido se recuperó por filtración, se lavó en el filtro con etanol absoluto (5 ml) y se secó al vacío a 60°C durante 24 horas para obtener 450 mg del compuesto 3 en la forma polimórfica G (90% de rendimiento molar). La pureza HPLC de este compuesto fue del 99,8%

¹H-NMR (DMSO d₆) δ 2,76 (d, 3 H, 4,6 Hz; CH₃-NH), 3,66 y 3,56 (m, 2H; CH₂OH), 3,96 (m, 1 H; CH-CH₂), 4,18 (m, 1 H; 3'CH-OH), 4,62 (m, 1 H; 2'CH-OH), 5,04 (dd, 1H, 5,7 Hz; OH), 5,26 (bs, 1 H; OH), 5,52 (d, 1 H, 6,2 Hz; 2'OH), 5,94 (d, 1 H, 6,2 Hz; O-CH-N), 7,78 (bs, 2 H; NH₂), 8,07 (s, 1 H; =N-N-CH=), 8,36 (q, 1 H; NH), 8,42 (s, 1 H; N-CH=N), 8,96 (s, 1 H; CH=N).

XRD (Figura 4) 2θ valores (intensidad relativa): 8,24 (100%), 14,90 (23%), 17,70 (20%), 18,16 (21%), 19,84 (20%), 21,92 (30%), 26,16 (44%), 27,68 (34%), 30,44 (21%)

DSC: pico endotérmico principal a 264,6°C

IR (ATR). cm⁻¹: 3329, 3292, 3225, 3159, 3142, 3100, 3021, 2926, 2893, 1665, 1635, 1595, 1559, 1487, 1439, 1417, 1394, 1357, 1340, 1322, 1234, 1214, 1197, 1126, 1075, 1054, 1045, 1032, 1012, 992, 976, 919, 859, 850, 817, 790, 744, 715, 671.

Datos de análisis elementales calculados para C₁₅H₁₈N₈O₅. Valores teóricos: C=46,15%, H=4,65%, O=20,49%, N=28,71%. Encontrado: C=46,11%, H=4,67%, O=20,52%, N=28,75%

Ejemplo 7

La forma polimórfica G de la (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurina-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (compuesto 3 anhidro) forma el compuesto 2.

El compuesto 2 (25,2 g, 62,4 mmoles) se suspendió bajo agitación a 20-25°C en una solución de metilamina al 33% en etanol absoluto (252 ml). La mezcla se calentó bajo agitación a 80-85°C en un reactor de presión durante 70 horas (la presión registrada en el recipiente de reacción fue de 3 Bar). Después de este período, la mezcla de reacción se concentró en vacío (0,015 bar) a 40°C hasta aproximadamente el 85% del volumen inicial (es decir, hasta un volumen de reacción final de aproximadamente 214 ml). La temperatura de reacción se llevó a 20-25°C y luego se diluyó con etanol absoluto (240 ml). La mezcla se mantuvo bajo agitación durante 30' a 20-25°C y el precipitado se recuperó por filtración, se lavó en el filtro con etanol absoluto (240 ml) y se secó al vacío a 60°C durante 72 horas para obtener 19,7 g (50,5 mmoles; 80%) de compuesto 3 en forma anhidra con una pureza cromatográfica del 99,8% (determinada por HPLC).

Las propiedades químico-físicas del compuesto obtenido 3 son las mismas que las del Ejemplo 6.

Ejemplo 8

Preparación de la forma polimórfica A de la (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurina-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (compuesto 3) según la patente US8106183.

La forma polimórfica A del compuesto 3 fue preparada según el Experimento 4 de la patente US8106183. La muestra obtenida fue analizada por espectroscopia XRD y corresponde a la forma polimórfica A de monohidrato de Regadenoson (Figura 5)

Datos de estabilidad registrados en el compuesto 3 en las formas polimórficas A, E, F y amorfo

Las formas polimórficas calificadas A, E, F y la forma amorfa del compuesto 3 obtenidas según los ejemplos 3-6 se almacenaron a 80°C en atmósfera inerte y a 90% HR y 20-25°C durante 96 horas. Las muestras almacenadas a 80°C en atmósfera inerte se analizaron a las 72 y 96 horas para determinar la pureza (HPLC) y el estado sólido (XRD); también las muestras almacenadas al 90% de HR y 20-25°C se analizaron después de 96 horas para determinar la pureza (HPLC) y el estado sólido (XRD).

Los datos de estabilidad obtenidos sobre la variación de la pureza cromatográfica (datos de HPLC) se muestran en las tablas 1 y 2; la estabilidad del estado sólido de las formas cristalinas E, F y de las formas amorfas se comprobaron mediante DRX en las muestras almacenadas durante 96 horas a 80°C en atmósfera inerte (Figuras 8-11).

Tabla 1. Datos de estabilidad de diferentes formas polimórficas de Regadenoson a 80°C en atmósfera inerte

Tiempo (horas)	Forma A	Forma E	Forma F	Halo Amorfo	Forma G
0	99,5	99,6	99,8	99,7	99,8
72	99,5	99,4	99,7	99,7	99,8
96	99,5	99,6	99,7	99,7	99,8

Tabla 2. Datos de estabilidad de la HPLC de diferentes formas polimórficas de Regadenoson almacenadas al 90% de HR y 20-25°C

Tiempo (horas)	Forma A	Forma E	Forma F	Halo Amorfo	Forma G
0	99,5	99,6	99,8	99,7	99,8
96	99,5	99,7	99,8	99,7	99,8

REIVINDICACIONES

1. Regadenoson anhidro cristalino (forma G) **caracterizado por** los siguientes picos de diagnóstico del espectro de difracción de rayos X en valores 2-theta (θ): 8,24, 14,90, 17,70, 18,16, 19,84, 21,92, 26,16, 27,68, 30,44.
2. Un procedimiento de preparación del Regadenoson anhidro cristalino de la reivindicación 1 que comprende los siguientes pasos:
 - a. hacer reaccionar la 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina con una solución seca de metilamina en un alcohol C₁-C₄ lineal o ramificado para proporcionar una mezcla de reacción;
 - b. mantener dicha mezcla de reacción bajo agitación a una temperatura comprendida entre 60-100°C en un reactor de presión para obtener la conversión de dicha 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina en (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida;
 - c. eliminar la metilamina no reaccionada de dicha mezcla de reacción;
 - d. enfriar dicha mezcla de reacción del paso c) a 10-25°C a una velocidad de enfriamiento de 1-2°C min;
 - e. diluir dicha mezcla de reacción del paso d) 1:1 con un alcohol C₁-C₄ seco para obtener un precipitado de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida amorfa;
 - f. filtrar dicho precipitado amorfo del paso e) para aislar, y si se desea
 - g. secar dicho precipitado.
 - h. tratar el Regadenoson amorfo en etanol seco, preferentemente a una concentración del 4-7% p/v a una temperatura comprendida entre 70-78°C durante un tiempo suficiente para convertir dicho Regadenoson amorfo en la forma termodinámica G, más estable, típicamente durante 60-90 horas, para proporcionar una mezcla de reacción;
 - i. enfriar dicha mezcla de reacción hasta 20-25°C para proporcionar un precipitado;
 - j. aislar dicho precipitado, por ejemplo por filtración;
 - k. secar dicho precipitado aislado bajo vacío a 40-60°C durante 24-72 horas.
3. El procedimiento según la reivindicación 2, en el que en dicho paso a) dicho alcohol C₁-C₄ es etanol.
4. El procedimiento según la reivindicación 3, en el que dicho etanol es seco.
5. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que en dicho paso a) dicha metilamina está en una concentración de entre el 10 y el 40%.
6. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que en dicho paso a) dicha 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina está en una concentración molar de entre 0,5 y 0,1 M.
7. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en el que en dicho paso b) la temperatura de reacción está comprendida entre 80-85°C, la presión es de aproximadamente 3 bar, el tiempo de reacción es de unas 30 horas.
8. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2-7, en el que el paso c) se lleva a cabo eliminando la metilamina por destilación al vacío a 40°C, el paso d) se lleva a cabo enfriando la mezcla de reacción a 20-25°C, el paso e) se lleva a cabo diluyendo la mezcla de reacción 1:1 con etanol anhidro y manteniendo la mezcla de reacción bajo agitación durante 30-60' a 20-25°C.
9. Un procedimiento de preparación del Regadenoson anhidro cristalino de la reivindicación 1 que comprende:
 - a. hacer reaccionar la 2-(4-etoxicarbonilpirazol-1-il)adenosina con una solución seca de metilamina en un alcohol C₁-C₄ lineal o ramificado para proporcionar una mezcla de reacción;
 - b. mantener dicha mezcla de reacción bajo agitación a una temperatura comprendida entre 60-100°C en un reactor de presión para obtener la conversión del compuesto 2 en (1-{9-[(4S, 2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida;
 - c. continuar la reacción durante un tiempo suficiente para convertir el Regadenoson en la forma termodinámicamente más estable, de G;
 - d. eliminar la metilamina sin reaccionar de dicha mezcla de reacción;

- e. enfriar dicha mezcla de reacción del paso d) a 10-25°C a una velocidad de enfriamiento de 1-2°C min;
- f. diluir dicha mezcla de reacción del paso e) 1:1 con un alcohol seco C₁-C₄ para proporcionar un precipitado de Regadenoson anhidro cristalino;
- g. aislar dicho precipitado del paso f); y si se desea
- 5 h. secar dicho precipitado.

10. Una composición farmacéutica, en particular en formulación inyectable, que comprende el Regadenoson anhidro cristalino de la reivindicación 1.