

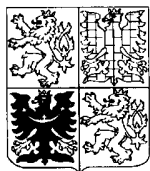
PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 2564

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **22.12.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **20.01.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/071968**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **11.10.2000**
(Věstník č. 10/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/27382**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/36404**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 213/02

A 61 K 31/44

(71) Přihlašovatel:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, Princeton,
NJ, US;

(72) Původce:

Singh Janak, Lawrenceville, NJ, US;
Pudipeddi Madhusudhan, North Brunswick, NJ, US;
Lindrud Mark D., Basking Ridge, NJ, US;

(74) Zástupce:

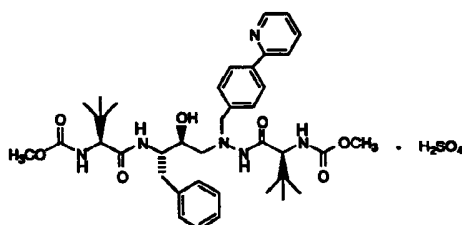
Čermák Karel Dr., Národní třída 32, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Bisulfátová sůl HIV proteasového inhibitoru

(57) Anotace:

Předložené řešení popisuje krystalickou bisulfátovou sůl sloučeniny vzorce II, která má neočekávaně vysokou rychlost rozpustnosti/disoluční rychlost, a orální biodostupnost vzhledem k volné bázičké formě této sloučeniny, kterou je azapeptidový HIV proteasový inhibitor.



11.07.00

2000-2564

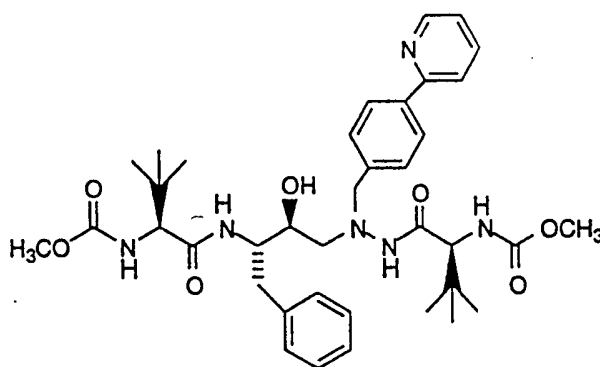
01-1372-00-Če

1

Bisulfátová sůl HIV proteasového inhibitoru

Oblast techniky:

Předložený vynález poskytuje novou krystalickou bisulfátovou sůl azapeptidového HIV proteasového inhibitoru vzorce

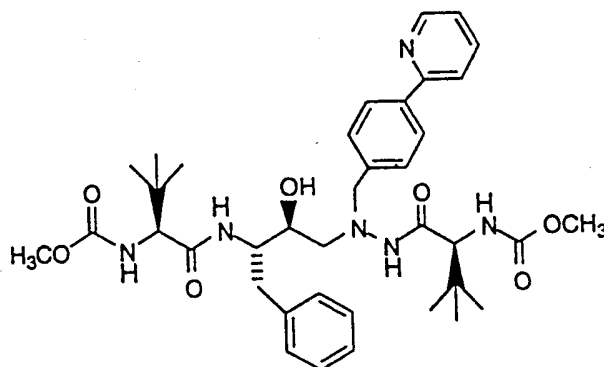


I

který vykazuje neočekávaně vynikající rozpustnost/rozpuštění ve vodě v porovnání s jinými solemi, a výrazně zlepšenou orální biologickou dostupnost u zvířat ve srovnání s volnou bází. Bisulfátová sůl je tedy vhodná pro farmaceutické dávkové formy výše uvedeného inhibitoru proteasy, zejména pro orální dávkové formy.

Dosavadní stav techniky:

Zveřejněná PCT patentová přihláška WO 97/40029 popisuje řadu azapeptidových HIV proteasových inhibitorů, označených, že mají vysoký stupeň inhibiční aktivity vůči HIV viru. Jednou z látek, zahrnutých do rozsahu WO 97/40029 je sloučenina, která má strukturní vzorec



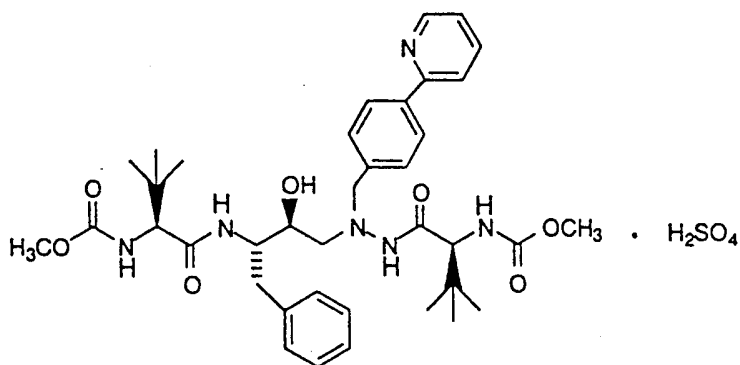
I

a chemického názvu $[3S-(3R^*, 8'R^*, 9'R^*, 12R^*)]-3,12-bis(1,1-dimethyl)-8-hydroxy-4,11-dioxo-9-(fenylmethyl)-6-[4-(2-pyridinyl)fenylmethyl]-2,5,6,10,13-pentaazatetradekandiová$ kyselina, dimethylester a je hodnocena jako možný inhibitor HIV proteasy druhé generace.

WO 97/40029 popisuje volnou bárickou formu azapeptidových derivátů, jako je sloučenina I, a také různých farmaceuticky přijatelných kyselých adičních solí. Ačkoliv je řada organických a anorganických kyselin zmiňována jako možné látky tvořící soli, včetně kyseliny sírové, není zde žádná zmínka o konkrétní bisulfátové soli, která je předmětem této přihlášky.

Podstata vynálezu

Předložený vynález poskytuje bisulfátovou sůl sloučeniny I výše, mající strukturní vzorec



II

Sloučenina I, jak je popsána výše, je slabá organická báze s rozpustností ve vodě menší než 1 µg/ml při 24 ± 3 °C. Krystalická forma volné báze jako suspenze ve vodě nebo oleji má u zvířat špatnou orální biodostupnost pravděpodobně díky své extrémně nízké solubilitě v těchto nosičích.

Pro rozvoj farmaceutických prostředků, zejména orálních dávkových forem, musí mít účinná složka dostatečnou orální biodostupnost. Jelikož volná báze sloučeniny I nevykazuje takovou biodostupnost, byly zkoumány uvedenými vynálezci kyselé adiční soli. Byla hodnocena řada běžně používaných kyselých adičních solí, jako jsou hydrochlorid, benzensulfonát, methansulfonát, p-toluensulfonát, fosfát, dusičnan, 1,2-ethandisulfonát, isethionát a sulfát, spolu s bisulfátovou solí podle předloženého vynálezu. Všechny tyto soli vykazují ve své krystalické formě nižší solubilitu ve vodě (1-3 mg/ml nebo méně při 24 ± 3 °C), než bisulfát, který měl solubilitu za stejných podmínek přibližně 4-5 mg/ml.

Přechod do pevného stavu byl pozorován, když byly další kyselé adiční soli, zmíněné výše, suspendovány ve vodě, pravděpodobně díky jejich disociaci na formu volné báze. Ve většině případů byla tato transformace doprovázena tvorbou

gelu. Naproti jiným solím zmíněným výše, brání zvláštní proton bisulfátové soli konverzi na volnou bázi, která, jak bylo zmíněno výše, je ve vodě velice nerozpustná a má špatnou orální biodostupnost. Neobvyklá rozpustnost bisulfátové soli ve vodě bude hodnocena dále.

Obecně může být konverze solí na neionizovanou formu nebo vice versa vysvětlena na základě teorie pH-rozpustnosti. Solubilita (rozpustnost) volné báze ve vodě byla stanovena jako funkce pH při $24 \pm 3^\circ\text{C}$ a je znázorněna na obr.1. pH, při němž sloučenina vykazuje nejvyšší rozpustnost, je označeno jako pH_{MAX} , a bylo stanoveno, že je přibližně 1,2. V literatuře bylo uvedeno, že při $\text{pH} > \text{pH}_{\text{MAX}}$ slabé báze organické sloučeniny je rovnovážnou pevnou fází ve vodné suspenzi sloučeniny volná báze. Při $\text{pH} < \text{pH}_{\text{MAX}}$ rovnovážná pevná látka konvertuje na odpovídající formu soli. Termín "rovnovážná pevná fáze" označuje nerozpuštěnou pevnou látku nebo přebytek pevné látky v suspenzi sloučeniny ve vodě po postačující rovnovážné době. Pokud je sůl slabé báze ve vodě v rovnováze v množství převyšujícím jeho limit rozpustnosti (tedy suspenze soli ve vodě), může se výsledné pH suspenze pohybovat na kteroukoliv stranu pH_{MAX} v závislosti na síle kyseliny, kromě jiného. Pokud je výsledné pH vyšší než pH_{MAX} , konvertuje suspendovaná pevná látka na volnou bázi.

Studie prováděné konkrétně s methansulfonátem a hydrochloridovými solemi volné báze potvrzují výše popsané obecné poznatky nalezené v literatuře. Množství v přebytecích rozpustnosti těchto solí byla v rovnováze ve vodě při $24 \pm 3^\circ\text{C}$ po alespoň 24 hodiny. pH suspenzí po ustavení rovnováhy bylo $2,1 \pm 0,1$, což je vyšší než pH_{MAX} . Nerozpuštěné pevné látky z těchto suspenzí byly izolovány, sušeny vzduchem a charakterizovány. Tepelnou a elementární analýzou byly nerozpuštěné pevné látky z těchto suspenzí identifikovány

jako volná báze. Toto chování bylo předpokládáno na základě profilu pH-rozpustnost, znázorněného na grafu na obr.1, a studií uvedených v literatuře.

Pokud je přebytkové množství bisulfátové soli v rovnováze ve vodě, nastává modifikace v pevné fázi v rovnováze s roztokem. Nicméně nerozpuštěná pevná fáze po vyvážení nebyla volnou bází, ačkoliv pH ($1,9 \pm 0,2$) suspenze bylo vyšší než pH_{MAX} a srovnatelné s pH suspenzí methansulfonátu a hydrochloridových solí, popsanych výše. Pevná fáze byla po 24 hodinách rovnovážného stavu identifikována elementární analýzou jako hydratovaná forma 2:1 soli volné báze a kyseliny sírové (označované jako sulfátová sůl). Toto chování bisulfátové soli je neočekávaně založeno na teorii pH-rozpustnost.

Pokud je střídavě přebytkové množství sulfátové soli v rovnováze ve vodě, nastává modifikace v pevné fázi v rovnováze s roztokem. Nerozpuštěná pevná látka z této suspenze byla izolována, sušena na vzduchu a charakterizována. Tepelná a elementární analýza této nerozpuštěné pevné fáze byla podobná jako u volné báze, ačkoliv konverze sulfátové soli na volnou bázi nebyla tak definitivní, jako u methansulfonátu a hydrochloridových solí. Z farmaceutického pohledu není sklon solí konvertovat na volnou bázi ve vodném prostředí žádoucí, vzhledem k nízké orální biodostupnosti volné báze. Proto získává bisulfátová sůl díky svému jedinečnému režimu rozpustnosti ve vodě neočekávané přednosti.

Režim rozpustnosti bisulfátové soli ve vodě byl rovněž neočekávaný vzhledem k interakci volné báze sloučeniny I a kyseliny sírové ve vodě. Například volná báze vykazovala rozpustnost menší než 1 mg/ml ve vodě při pH asi

1,8 upraveném kyselinou sírovou, ve srovnání s 4-5 mg/ml rozpustnosti bisulfátové soli ve vodě za srovnatelných podmínek. Na základě teorie pH rozpustnosti se očekává, že volná báze a sůl vykazují při daném pH obdobnou rozpustnost.

Zvýšená rozpustnost /disoluce bisulfátu přispívá k jeho zlepšené orální biodostupnosti u zvířat vzhledem k volné bázi. Absolutní orální biodostupnost bisulfátové soli byla zjištěna, že je průměrně 20% u psů, pokud je podávána v netvarované pevné formě vložené do želatinové kapsle. Ve srovnání s tím měla krystalická volná báze u psů minimální orální biodostupnost.

Spolu s optimální rozpustností je další požadovanou vlastností farmaceuticky přijatelných forem fyzikální stabilita v pevném stavu. Termín fyzikální stabilita označuje schopnost formy soli udržet si svou krystalovou strukturu (zahrnující rozpouštědla krystalizace, pokud jsou) za podmínek skladování / namáhání. Výrazné změny ve fyzikální povaze formy soli, jak jsou indikovány tepelnými postupy, jako je diferenciální skenovací kalorimetrie, jsou nežádoucí. Bisulfátová sůl vykazuje vynikající fyzikální stabilitu v pevném stavu při skladování při 40 °C/ 75% relativní vlhkosti (RH) po dobu dlouhou 9 měsíců, jak je znázorněno v grafu IIa dále. Diferenciační skenovací kalorimetrie neodhalila výrazné změny v tepelném chování v namáhaném vzorku z bisulfátové soli při porovnání s nenamáhaným vzorkem (uložen při 2-8 °C v uzavřeném kontejneru). Methansulfonát, hydrochlorid a sulfátové soli, na druhou stranu, vykazovaly významné změny ve svých tepelných režimech, když byly uloženy při 40 °C/75% RH po dva týdny, jak je znázorněno na obr. II b, c a d. Ačkoliv není rozdílnost ve fyzikální stabilitě solných forem neobvyklá, sklon konkrétní soli k tvorbě solvátů (nebo krystalových modifikací) a jeho

schopnost zadržovat rozpouštědlo z krystalizace (fyzikální stabilita krystalových modifikací) za podmínek skladování / namáhání nemůže být předvídána apriori.

Viz. **obr. IIa**, kde je znázorněna fyzikální stabilita bisulfátové soli. Plná čára znázorňuje nenamáhaný materiál. Tečkovaná čára znázorňuje materiál namáhaný při 40 °C/ 75% RH po 9 měsíců.

Obr. IIb, kde je znázorněna fyzikální stabilita hydrochloridové soli. Plná čára znázorňuje nenamáhaný materiál. Tečkovaná čára znázorňuje materiál namáhaný při 40 °C/ 75% RH po dva týdny.

Obr. IIc, kde je znázorněna fyzikální stabilita methansulfonátové soli. Plná čára znázorňuje nenamáhaný materiál. Tečkovaná čára znázorňuje materiál namáhaný při 40 °C/ 75% RH po dva týdny.

Obr. IId, kde je znázorněna fyzikální stabilita sulfátové soli. Plná čára znázorňuje nenamáhaný materiál. Tečkovaná čára znázorňuje materiál namáhaný při 40 °C/ 75% RH po dva týdny.

Bisulfátová sůl může být připravena vytvořením roztoku z volné báze sloučeniny I s kyselinou sírovou v rozpouštědlech, jako je acetonitril, isopropanol, ethanol, nebo aceton, a potom izolováním takto vytvořené bisulfátové soli.

Vzhledem k její vysoké biodostupnosti stejně jako její dobré krystalinitě a stabilitě je bisulfátová sůl velmi vhodná při přípravě orálních dávkových forem sloučeniny I. Příklady, které následují, dokládají přípravu vybraných

orálních prostředků.

Bisulfátová sůl, a její složení, jsou použity jak je popsáno ve WO 97/40029 pro léčení nemocí způsobených viry, zejména retroviry, jako je virus HIV.

Příklady provedení vynálezu:

Příklad 1

Příprava bisulfátové soli z ethanolu

Do 500ml trojhrdlé baňky s kulatým dnem vybavené horním míchadlem a kapací nálevkou bylo přidáno za míchání 15,013 g (0,0213 molu) volné báze sloučeniny I a 113 ml ethanolu stupně 200 proof (jednotek stupňovitosti ethanolu). Do této suspenze bylo přidáno po kapkách 1,28 ml koncentrované kyseliny sírové po dobu 90 sekund. Po přidání kyseliny sírové byl získán čirý jantarově žlutý roztok. Rztok byl rychle zfiltrován použitím Whatmanova filtračního papíru č.1 a promyt 5 ml ethanolu 200 proof. Do tohoto roztoku bylo přidáno 58 ml heptanu a 37,5 mg (0,25 % hmotn.) zárodečných krystalů sloučeniny vzorce II, následovalo 55 ml dalšího heptanu. Získaná směs byla míchána po 6 hodin při 300 otáčkách za minutu. Získaná suspenze krystalů byla filtrována a promyta 50 ml roztoku ethanolu/heptanu (1:1) a sušena pod vakuem při 60 °C přes noc za získání 15,11 g požadované krystalické bisulfátové soli (výtěžek 88,4 molárních %) vzorce II, uvedeného výše.

Charakterizující vlastnosti bisulfátové soli

Anal.vypočteno pro $C_{38}H_{52}N_6O \cdot 1,0 H_2SO_4$: C, 56,84; H, 6,78; N, 10,37; S, 3,99.

Nalezeno: C, 56,72; H, 6,65; N, 10,41; S, 3,83.

Teplota tání: 195,0 °C

H₂O = 0,28 % (K.F.)

Příklad 2

Příprava bisulfátové soli z acetonu

5M H₂SO₄ (8,52 ml, 42,3 mM) byla přidána po kapkách do suspenze volné báze sloučeniny vzorce I (30,0 g; 42,6 mM) v acetonu (213 ml) míchané mechanicky v 50 °C olejové lázni. Téměř okamžitě byl získán čirý roztok. Rostok byl očkovan krystaly volné báze sloučeniny vzorce II. Po dvou minutách se vytvořila sraženina, která přešla na pastu. Směs byla míchána při 50 °C po jednu hodinu, při 25 °C po 30 minut a při 0 °C po 2 hodiny. Pevná látka byla odfiltrována a první filtrát byl použit pro převedení zbývajícího materiálu v baňce do filtrační nálevky. Produkt byl promyt acetonem, potom heptanem, a sušen pod vakuem přes noc za vzniku 31,48 g (přepočítaný výtěžek 92%) bisulfátové soli vzorce II, teplota tání 198-199 °C.

Anal.vypočteno pro C₃₈H₅₂N₆O₇ . 1,0 H₂SO₄ . 0,2 H₂O : C, 56,59; H, 6,80; N, 10,42; S, 3,98; H₂O, 0,45.

Nalezeno: C, 56,66; H, 6,78; N, 10,50; S, 4,20; H₂O, 0,45(K.F.)

Příklad 3

Příprava bisulfátové soli z isopropanolu

Vodná kyselina sírová (5,0 M; 0,20 ml, 1 mM) byla přidána do suspenze volné báze sloučeniny vzorce I (0,704 g, 1,00 mM) v isopropanolu (4,0 ml) ochlazené v ledové lázni. Ledová lázeň byla odebrána a směs byla míchána při teplotě místnosti.

Suspenze byla rozpuštěna po 15 minutách. Roztok byl očkovan krystaly připravenými jako v příkladech 1 a 2 výše, a míchán 5 hodiny. Pevná látka byla odfiltrována a filtrát byl použit pro převedení pevné látky z baňky do nálevky. Produkt byl promyt heptanem a sušen pod vakuem za vzniku 0,752 g krystalické bisulfátové soli vzorce II, výtěžek 90 %, teplota tání 160-190 °C.

Anal.vypočteno pro $C_{38}H_{52}N_6O_7 \cdot 1,0 H_2SO_4 \cdot 2,0 H_2O$: C, 54,40; H, 6,97; N, 10,02; S, 3,82; H_2O , 4,29.

Nalezeno: C, 54,25; H, 6,73; N, 10,02; S, 3,67; H_2O , 4,53
(K.F.)

Krystaly získané z isopropanolu vykazovaly práškový rentgenový difraktogram odlišný od krystalů získaných z acetonitrilu, ethanolu-heptanu nebo acetonu. Nyní jsou označovány jako krystaly typu II. Krystaly typu I se zdají být bezvodým /desolvatovaným krystalickým materiálem, zatímco krystaly typu II jsou hydratované, hygroskopické krystalické formy.

Příklad 4

Příprava kapslí z bisulfátové soli

A. Kapsle (50 a 200 mg ekvivalentů volné báze)

Kapsle jsou vytvořeny pro orální podávání, kdy je kapsle velikosti 0, je šedá, neprůhledná, tvrdá želatinová kapsle obsahující bisulfátovou sůl vzorce II formulovanou jako vlhký granulát s laktosou, krospovidonem a stearatem hořečnatým.

B. Kapsle (100 mg ekvivalentů volné báze)

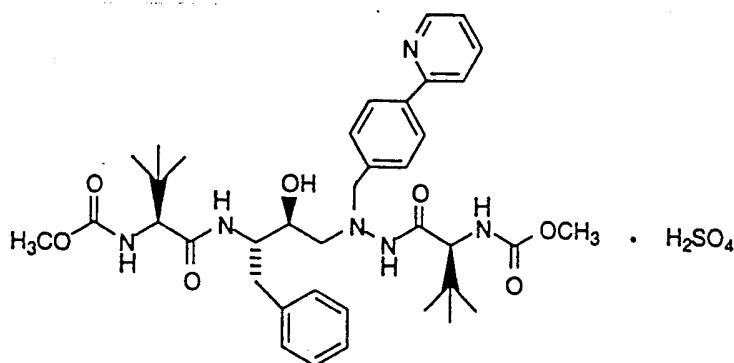
11.07.00

11

Kapsle jsou vytvořeny pro orální podávání, v němž je kapsle velikosti 0, je šedá, matná, tvrdá želatinová kapsle obsahující bisulfátovou sůl vzorce II suspendovanou v Gelucire 44/14. Gelucire 44/14 je nasycený polyglykolizovaný glycerid sestávající z mono-, di- a triglyceridů a mono- a di-esterů mastných kyselin a polyethylenglykolu. Kapsle jsou připraveny tavením Gelucire 44/14 při 45-70 °C, následoval přídavek bisulfátové soli za míchání. Roztavená směs byla plněna do tvrdých želatinových kapslí a ponechána ochladit a ztuhnout.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Bisulfátová sůl vzorce



II

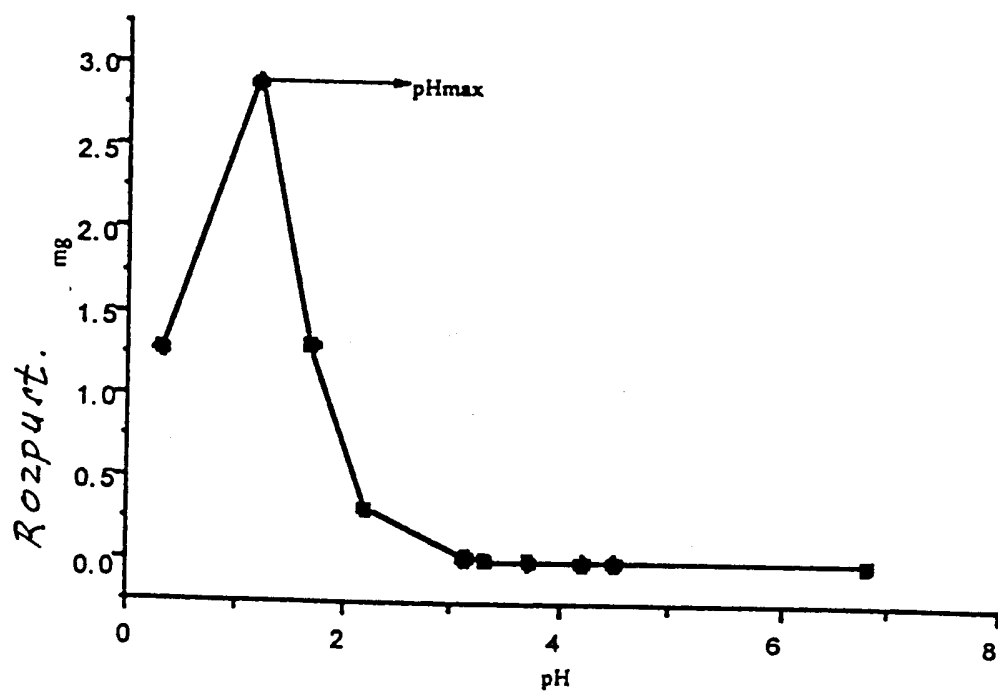
2. Farmaceutická dávková forma vyznačující se tím, že obsahuje bisulfátovou sůl podle nároku 1 a farmaceuticky přijatelný nosič.

11.07.00

13

2000-2564

1/5

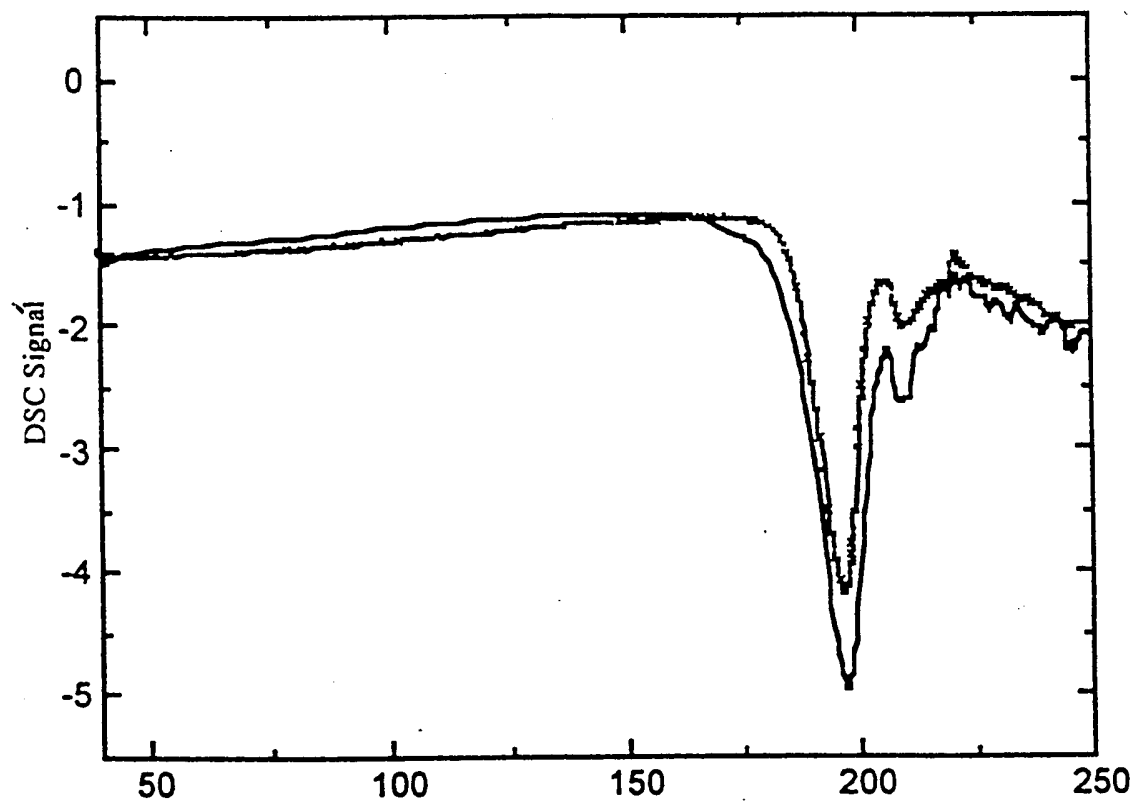


11.07.00

14

2000-2564

2/5



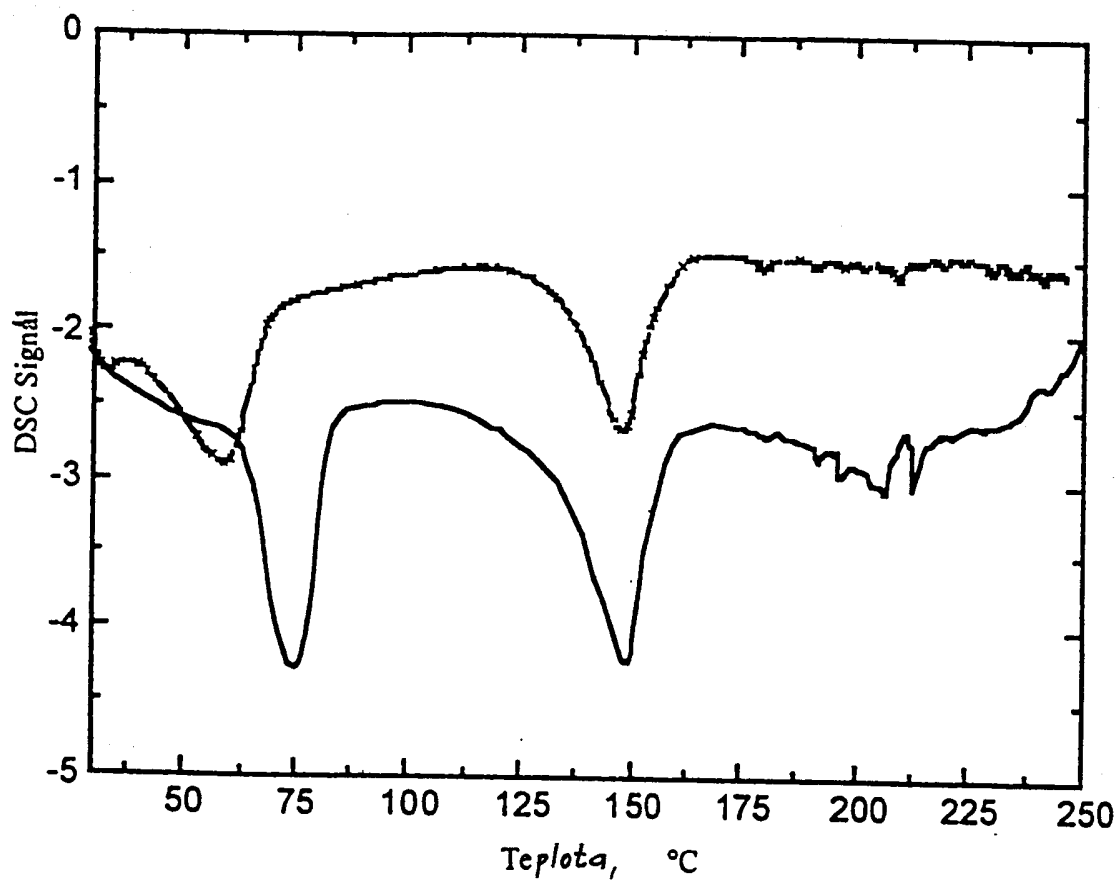
Obr. IIa: Fyzikální stabilita bisulfátové soli.

11.07.00

2000-256C

15

3/5



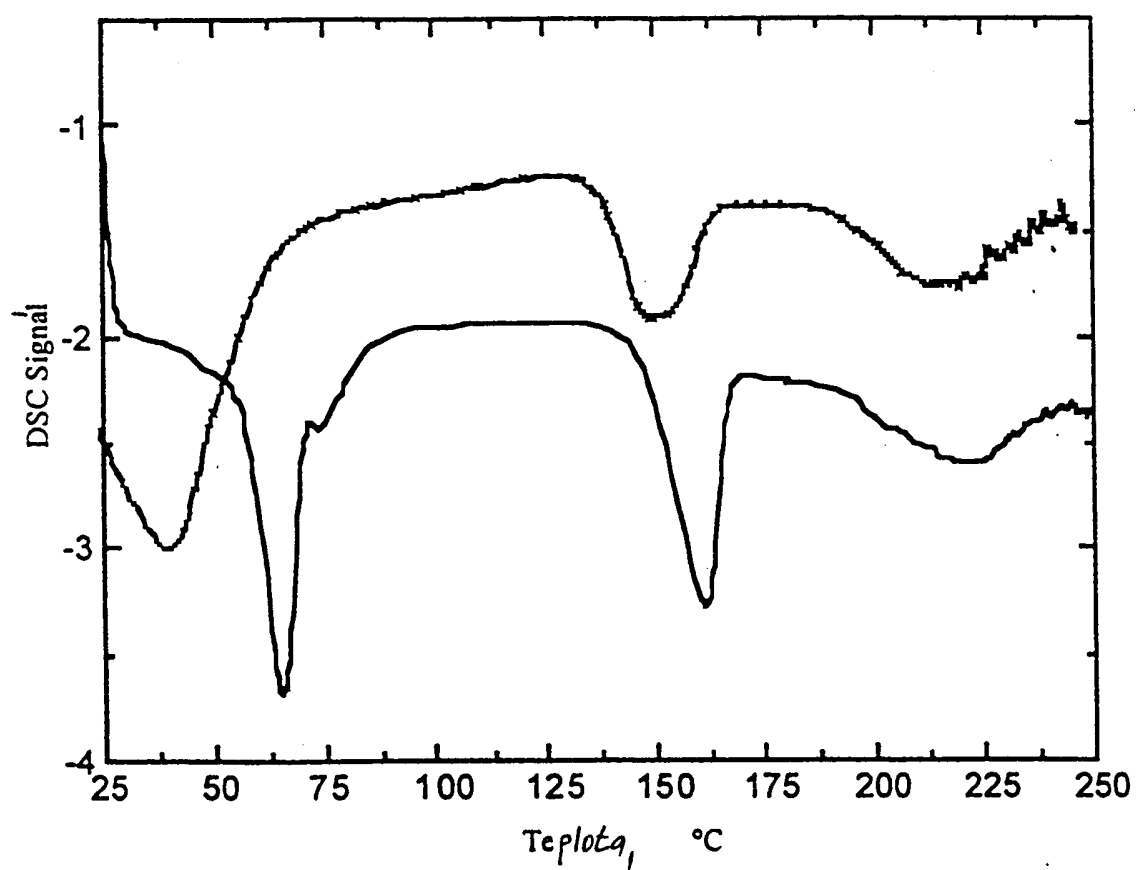
Obr. IIb.: Fyzikální stabilita hydrochloridové soli.

11.07.00

16

2000-2564

4/5



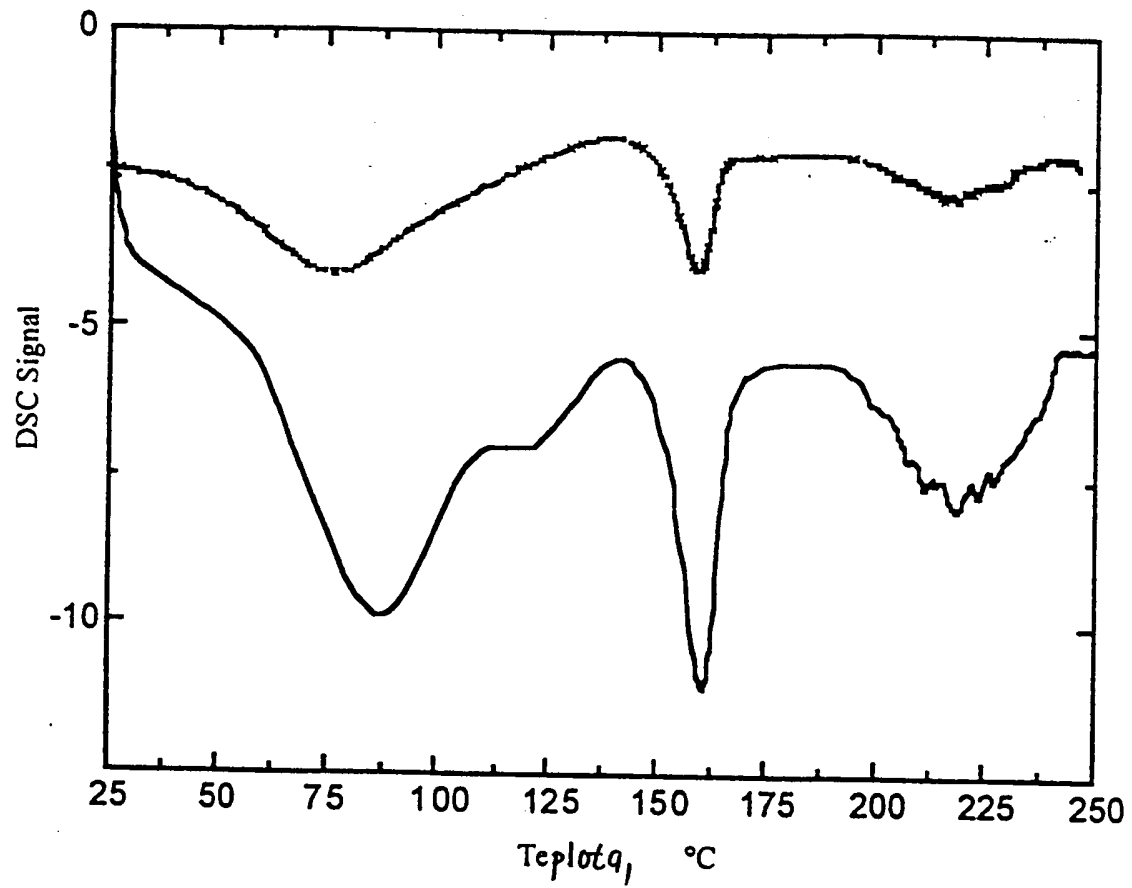
Obr. IIc.: Fyzikální stabilita methansulfonátové soli

11.07.00

17

2000-2564

5/5



Obr. IIId: Fyzikální stabilita sulfátové soli