



MD 4081 G2 2011.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4081** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) Int. Cl.: **A61K 31/395** (2006.01)
C07D 498/22 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2007 0265 (22) Data depozit: 2006.02.27 (31) Nr.: 05004695.2 (32) Data: 2005.03.03 (33) Țara: EP (41) Data publicării cererii: 2008.05.31, BOPI nr. 5/2008	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2010.12.31, BOPI nr. 12/2010 (85) 2007.10.02 (86) PCT/EP2006/001755, 2006.02.27 (87) WO 2006/094662 A1, 2006.09.14
(71) Solicitant: ALFA WASSERMANN S.P.A., IT (72) Inventatori: VISCOMI Giuseppe Claudio, IT; CAMPANA Manuela, IT; CONFORTINI Donatella, IT; BARBANTI Maria Miriam, IT; BRAGA Dario, IT (73) Titular: ALFA WASSERMANN S.P.A., IT (74) Mandatar autorizat: GLAZUNOV Nicolae	

(54) **Forme polimorfe de rifaximină, procedee de obținere și utilizare a acestora în calitate de preparate medicamentoase cu activitate antibiotică**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la formele polimorfe de rifaximină, și anume la formele δ și ϵ .

Forma polimorfă de rifaximină δ este 5
caracterizată printr-un conținut de apă de la 2,5% până la 6,0%, de preferință de la 3,0% până la 4,5%, și o difractogramă pe pulbere cu 10
raze X având varfuri la valorile unghiurilor de difracție 2Θ $5,7^\circ \pm 0,2$, $6,7^\circ \pm 0,2$, $7,1^\circ \pm 0,2$, $8,0^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,4^\circ \pm 0,2$, $10,8^\circ \pm 0,2$, $11,3^\circ \pm 0,2$, $12,1^\circ \pm 0,2$, $17,0^\circ \pm 0,2$, $17,3^\circ \pm 0,2$, $17,5^\circ \pm 0,2$, $18,5^\circ \pm 0,2$, $18,8^\circ \pm 0,2$, $19,1^\circ \pm 0,2$, $21,0^\circ \pm 0,2$, $21,5^\circ \pm 0,2$.

Forma polimorfă de rifaximină ϵ este 15
caracterizată printr-o difractogramă pe pulbere cu raze X având varfuri la valorile unghiurilor de difracție 2Θ $7,0^\circ \pm 0,2$, $7,3^\circ \pm 0,2$, $8,2^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,3^\circ \pm 0,2$, $11,1^\circ \pm 0,2$, $11,7^\circ \pm 0,2$, $12,4^\circ \pm 0,2$, $14,5^\circ \pm 0,2$, $16,3^\circ \pm 0,2$, $17,2^\circ \pm 0,2$, $18,0^\circ \pm 0,2$, $19,4^\circ \pm 0,2$.

2
Invenția se referă de asemenea la procedee de obținere a formelor polimorfe de rifaximină δ și ϵ printr-un proces de cristalizare desfășurat prin diluarea rifaximinei brute în alcool etilic și precipitarea prin adăugarea apei la o anumită temperatură și într-o perioadă prestabilită de timp cu uscarea ulterioară în condiții de vid sau la o presiune atmosferică normală până la atingerea unui conținut anumit de apă în produsul finit.

Formele polimorfe de rifaximină obținute pot fi utilizate în calitate de preparate medicamentoase cu acțiune antibiotică pentru administrare orală și topică.

Revendicări: 11

Figuri: 2

MD 4081 G2 2011.07.31

(54) Polymorphous forms of rifaximin, processes for their production and use as medicinal preparations with antibiotic action

(57) Abstract:

1

The invention refers to polymorphous forms of rifaximin, namely to δ and ε forms.

The polymorphous form of rifaximin δ is characterized by a water content from 2.5% up to 6.0%, preferably from 3.0% up to 4.5%, and an X-ray powder diffraction pattern having peaks of the diffraction angle values 2Θ $5.7^\circ \pm 0.2$, $6.7^\circ \pm 0.2$, $7.1^\circ \pm 0.2$, $8.0^\circ \pm 0.2$, $8.7^\circ \pm 0.2$, $10.4^\circ \pm 0.2$, $10.8^\circ \pm 0.2$, $11.3^\circ \pm 0.2$, $12.1^\circ \pm 0.2$, $17.0^\circ \pm 0.2$, $17.3^\circ \pm 0.2$, $17.5^\circ \pm 0.2$, $18.5^\circ \pm 0.2$, $18.8^\circ \pm 0.2$, $19.1^\circ \pm 0.2$, $21.0^\circ \pm 0.2$, $21.5^\circ \pm 0.2$.

The polymorphous form of rifaximin ε is characterized by an X-ray powder diffraction pattern having peaks of the diffraction angle values 2Θ $7.0^\circ \pm 0.2$, $7.3^\circ \pm 0.2$, $8.2^\circ \pm 0.2$, $8.7^\circ \pm 0.2$, $10.3^\circ \pm 0.2$, $11.1^\circ \pm 0.2$, $11.7^\circ \pm 0.2$, $12.4^\circ \pm 0.2$, $14.5^\circ \pm 0.2$, $16.3^\circ \pm 0.2$, $17.2^\circ \pm 0.2$, $18.0^\circ \pm 0.2$, $19.4^\circ \pm 0.2$.

2

The invention relates also to processes for producing polymorphous forms of rifaximin δ and ε by a crystallization process carried out by dissolution of raw rifaximin in ethyl alcohol and precipitation by addition of water at a determinate temperature and for a determinate period of time, followed by drying carried out under vacuum conditions or under a normal atmospheric pressure until reaching a settled water content in the end product.

The produced polymorphous forms of rifaximin can be used as medicinal preparations with antibiotic action for oral and topical use.

Claims: 11

Fig.: 2

(54) Полиморфные формы рифаксими́на, способы их получения и применение в качестве медицинских препаратов с антибиотическим действием

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к полиморфным формам рифаксими́на, а именно к формам δ и ε .

Полиморфная форма рифаксими́на δ характеризуется содержанием воды от 2,5% до 6,0%, преимущественно от 3,0% до 4,5%, и рентгеновской порошковой дифрактограммой, имеющей пики при величинах углов дифракции 2Θ $5,7^\circ \pm 0,2$, $6,7^\circ \pm 0,2$, $7,1^\circ \pm 0,2$, $8,0^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,4^\circ \pm 0,2$, $10,8^\circ \pm 0,2$, $11,3^\circ \pm 0,2$, $12,1^\circ \pm 0,2$, $17,0^\circ \pm 0,2$, $17,3^\circ \pm 0,2$, $17,5^\circ \pm 0,2$, $18,5^\circ \pm 0,2$, $18,8^\circ \pm 0,2$, $19,1^\circ \pm 0,2$, $21,0^\circ \pm 0,2$, $21,5^\circ \pm 0,2$.

Полиморфная форма рифаксими́на ε характеризуется рентгеновской порошковой дифрактограммой, имеющей пики при величинах углов дифракции 2Θ $7,0^\circ \pm 0,2$, $7,3^\circ \pm 0,2$, $8,2^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,3^\circ \pm 0,2$, $11,1^\circ \pm 0,2$, $11,7^\circ \pm 0,2$, $12,4^\circ \pm 0,2$, $14,5^\circ \pm 0,2$, $16,3^\circ \pm 0,2$, $17,2^\circ \pm 0,2$, $18,0^\circ \pm 0,2$, $19,4^\circ \pm 0,2$.

2

Изобретение также относится к способам получения полиморфных форм рифаксими́на δ и ε осуществляемым кристаллизацией путем разбавления рифаксими́на брутто в этиловом спирте и осаждения при добавлении воды при определенной температуре и на определенный период времени с последующей сушкой в условиях вакуума или при нормальном атмосферном давлении до достижения определенного содержания воды в конечном продукте.

Полученные полиморфные формы рифаксими́на могут быть использованы в качестве медицинских препаратов с антибиотическим действием для перорального и местного применения.

П. формулы: 11

Фиг.: 2

Descriere:

Invenția se referă la formele polimorfe de rifaximină, și anume la formele δ și ϵ .

Rifaximina (INN, vezi The Merck Index, XIII ed., 8304) este un antibiotic din clasa rifamicinelor, și anume este o pirido-imidazo-rifamicină.

5 Sunt cunoscuți derivați ai imidazo-rifamicinei și procedeul de fabricare a lor [1] și este cunoscut procedeul de fabricare a ei, începând de la rifamicina O (The Merck Index, XIII ed., 8301) [2].

10 Ambele brevete menționate descriu purificarea rifaximinei, specificând că cristalizarea poate fi efectuată din solvenți potriviți și prezintă sumar câteva exemple în care produsul de reacție a fost cristalizat dintr-un amestec de apă și alcool etilic luate într-un raport de 7:3, apoi uscat la presiune atmosferică, sau în vid, fără a face mențiuni despre condițiile experimentale de cristalizare și uscare, nici despre caracteristicile cristalografice distinctive ale produsului obținut. Prezența diferitor polimorfi nu a fost menționată și de aceea condițiile experimentale descrise în ambele brevete au fost elaborate cu scopul de a obține
15 un produs omogen, având o puritate potrivită din punct de vedere chimic, fără specificarea aspectelor cristalografice ale produsului propriu-zis.

În prezent s-a descoperit că există unele forme polimorfe, formarea cărora depinde de solventul utilizat, de durata și temperatura la care se efectuează cristalizarea și uscarea.

20 Aceste forme polimorfe regulate vor fi în continuare, condițional identificate ca rifaximina δ (figura 1) și rifaximina ϵ (figura 2) în baza difractogramelor lor specifice, descrise în prezenta invenție.

Formele polimorfe de rifaximină au fost caracterizate prin difracție cu raze X. Identificarea și caracterizarea acestor forme polimorfe și, actualmente, definirea condițiilor experimentale pentru obținerea lor sunt foarte importante pentru un compus cu activitate
25 farmacologică care, pe exemplul rifaximinei, este elaborată ca un preparat medicamentos, atât pentru uz uman, cât și pentru uz veterinar. De fapt se cunoaște că, polimorfismul unui compus care poate fi folosit ca substanță activă la fabricarea medicamentelor poate influența proprietățile farmaco-toxicologice ale medicamentului. Diverse forme polimorfe ale unei substanțe active, administrate în calitate de medicament sub formă orală sau topică,
30 pot modifica multe proprietăți ale lui, cum este biodisponibilitatea, solubilitatea, stabilitatea, compresibilitatea, capacitatea de curgere și abilitatea de a lucra, cu o modificare consecventă a profilurilor de securitate toxicologică, eficacitate clinică și eficiență productivă.

Cele relatate sunt confirmate prin faptul că autoritățile care reglementează emiterea
35 autorizației de introducere a medicamentelor pe piață cer ca procedeele de fabricare a substanțelor active să fie standardizate și controlate astfel încât să aibă rezultate omogene și stabile în ceea ce privește polimorfismul loturilor de producție (CPMP/QWP/96, 2003 - Note for Guidance on Chemistry of new Active Substance; CPMP/ICH/367/96 - Note for guidance specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances
40 and new drug products: chemical substances; Date for coming into operation: May 2000).

Necesitatea standardizării este mai exigentă anume în domeniul antibioticelor cu rifaximină și a fost formulată de (Henwood S.Q., de Villiers M.M., Liebenberg W. și Lötter A.P., Drug Development and Industrial Pharmacy, 26 (4), 2000, p. 403-408), care au stabilit că diferite loturi de producție de rifaximină (INN) de la diferiți producători se
45 deosebesc între ele din cauza că prezintă diferite caracteristici polimorfe și, ca urmare, diferite profiluri de dizolvare, și o alterare consecventă a proprietăților farmaceutice corespunzătoare.

Utilizând condițiile de cristalizare și uscare dezvăluite în brevetele IT 1154655 și EP 0161534 s-a descoperit că în diferite condiții experimentale se poate obține forma cristalină
50 săracă de rifaximină sau alte forme polimorfe cristaline de rifaximină. Mai mult decât atât, unii parametri, nedescrși în brevetele menționate, cum sunt condițiile de conservare și umiditatea relativă a aerului, au un efect surprinzător în determinarea formei polimorfului.

Formele polimorfe de rifaximină conform invenției nu au fost descrise nici ipotetic, pe când se știe că un produs unitar omogen trebuie să fie obținut, fără ca să conteze metoda
55 aleasă în cadrul condițiilor descrise, necorespunzătoare cu condițiile folosite pentru cristalizare, uscare și conservare.

Actualmente s-a descoperit că obținerea formelor δ și ϵ depinde de prezența apei în solventul de cristalizare, de temperatura la care are loc cristalizarea și de cantitatea de apă prezentă în produs la sfârșitul fazei de uscare.

Forma δ și forma ϵ de rifaximină au fost sintetizate și ele constituie obiectul invenției.

În particular, conținutul rezidual de apă în forma δ uscată variază în intervalul 2,5...6,0%, de preferință 3,0...4,5%, pe când forma ϵ este rezultatul unei tranziții polimorfe la o temperatură controlată, pornind de la forma δ .

5 Aceste rezultate au o importanță remarcabilă, întrucât ele determină condițiile de lucru ale unor etape de producere industrială, care nu pot fi considerate critice pentru stabilirea polimorfismului produsului, de exemplu, menținerea în produsul cristalizat a unei cantități de apă într-un interval îngust de valori sau uscarea produsului final, în care o formă, și anume forma δ , trebuie obținută înaintea uscării pentru a obține forma ϵ , sau păstrarea produsului final, sau caracteristicile containerului în care este păstrat produsul.

10 Rifaximina exercită o largă activitate antibacterială în tractul gastrointestinal împotriva bacteriilor localizate care cauzează diaree infecțioasă, inclusiv tulpinile anaerobe. S-a constatat că rifaximina este caracterizată printr-o absorbție sistemică neglijabilă, datorită caracteristicilor sale chimice și fizice (Descombe J.J. et al. Pharmacokinetic study of rifaximin after oral administration in healthy volunteers. Int J Clin. Pharmacol. Res., 14 (2), 15 1994, p. 51-56).

Astfel s-a descoperit că, pe baza celor două forme polimorfe identificate de rifaximină, este posibilă modularea nivelului său de absorbție sistemică, și aceasta constituie o parte a prezentei invenții, prin administrarea unor forme polimorfe distincte de rifaximină, 20 denumite rifaximina δ și rifaximina ϵ . Este posibilă o diferență în absorbție de aproximativ 100 de ori într-un interval de la 0,001 și 0,3 $\mu\text{g/ml}$ în sange.

Diferența demonstrată în biodisponibilitate este importantă, fiindcă poate diferenția comportamentul farmacologic și toxicologic diferit al celor două forme polimorfe de rifaximină δ și ϵ .

25 De fapt rifaximina ϵ este neglijabil absorbită pe cale orală, pe când rifaximina δ prezintă o absorbție slabă.

Rifaximina ϵ practic nu se absoarbe, activand posibil doar topic, inclusiv în cazul tractului gastrointestinal și având avantajul unei toxicități foarte joase. Pe de altă parte, rifaximina δ , fiind slab absorbită, poate să-și găsească o aplicare avantajoasă împotriva 30 microorganismelor din afara tractului digestiv, capabile de a se ascunde și de a evita parțial acțiunea antibioticelor topice.

La efectele adverse ale administrării rifaximinei se referă, în particular, dezvoltarea la bacterii a unei rezistențe față de antibiotice. În general, în practica terapeutică cu antibiotice întotdeauna este posibil de indus rezistență bacteriană față de același sau alt antibiotic prin 35 alegerea tulpinelor rezistente.

În cazul rifaximinei acest aspect este deosebit de relevant, întrucât rifaximina aparține familiei rifamicinei, un membru al căreia, adică rifampicina, este pe larg folosită în terapia tuberculozei. Actualmente o scurtă cură de tratament al tuberculozei constituie o terapie combinată, care include patru ingrediente farmaceutici activi: rifampicină, izoniazid, 40 etambutol și pirazinamină, rifampicina jucând rolul principal. Astfel, orice medicament care ar pune în pericol eficiența terapiei prin alegerea rezistenței la rifampicină ar fi dăunător (Kremer L, et al. "Re-emergence of tuberculosis: strategies and treatment", Expert Opin. Investig. Drugs, 11 (2), 2002, p. 153-157).

Analizând similitudinea structurală între rifaximină și rifampicină, ar fi posibilă la 45 utilizarea rifaximinei alegerea tulpinilor rezistente de *M. tuberculosis* și inducerea rezistenței încrucișate față de rifampicină. Pentru evitarea acestei acțiuni negative este necesar de a controla calitatea absorbției sistemice a rifaximinei.

Din acest punct de vedere diferența descoperită în absorbția sistemică a formelor δ și ϵ ale rifaximinei este semnificativă, întrucât chiar la o concentrație subinhibitoare a rifaximinei, într-un interval de 0,1 și 1,0 $\mu\text{g/ml}$, a fost demonstrată posibilitatea alegerii 50 mutanților rezistenți (Marchese A. et al. In vitro activity of rifaximin, metronidazole and vancomycin against clostridium difficile and the rate of selection of spontaneously resistant mutants against representative anaerobic and aerobic bacteria, including ammonia-producing species. Chemotherapy, 46(4), 2000, p. 253-266).

55 Cele menționate confirmă importanța prezentei invenții, care a scos în evidență formele polimorfe de rifaximină menționate și a propus diverse căi pentru fabricarea industrială a formelor individuale pure cu diferite proprietăți farmacologice.

Formele δ și ϵ pot fi utilizate în calitate de produse pure și omogene în fabricarea preparatelor medicamentoase cu conținut de rifaximină. După cum deja s-a menționat, procedeul de fabricare a rifaximinei din rifamicina O, conform EP 0161534, prezintă greutatea din punct de vedere al purificării și identificării produsului obținut; el impune anumite restricții din punctul de vedere sintetic deoarece timpul de reacție este prea lung constituind 16...72 ore, lucru ce face procedeul mai puțin potrivit pentru aplicare industrială și, suplimentar, nu permite reducerea *in situ* a rifaximinei oxidate, care ar putea să se formeze în amestecul de reacție.

Astfel, următorul obiect al prezentei invenții îl reprezintă un procedeu îmbunătățit pentru fabricarea industrială a formelor δ și ϵ de rifaximină, revendicate aici ca produse și folosite ca substanțe active omogene și definite la fabricarea preparatelor medicamentoase cu conținut de substanțe active.

După cum deja s-a menționat, formele δ și ϵ ale antibioticului, cunoscut ca rifaximină (INN), procedeele de fabricare și utilizarea lor în preparatele medicamentoase pentru uz oral și topic constituie obiectul prezentei invenții.

Forma polimorfă de rifaximină δ , conform invenției, este caracterizată printr-un conținut de apă 2,5...6,0%, de preferință 3,0...4,5%, și o difractogramă cu raze X, având vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2θ $5,7^\circ \pm 0,2$, $6,7^\circ \pm 0,2$, $7,1^\circ \pm 0,2$, $8,0^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,4^\circ \pm 0,2$, $10,8^\circ \pm 0,2$, $11,3^\circ \pm 0,2$, $12,1^\circ \pm 0,2$, $17,0^\circ \pm 0,2$, $17,3^\circ \pm 0,2$, $17,5^\circ \pm 0,2$, $18,5^\circ \pm 0,2$, $18,8^\circ \pm 0,2$, $19,1^\circ \pm 0,2$, $21,0^\circ \pm 0,2$, $21,5^\circ \pm 0,2$.

Forma polimorfă de rifaximină ϵ , conform invenției, este caracterizată printr-o difractogramă cu raze X, având vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2θ $7,0^\circ \pm 0,2$, $7,3^\circ \pm 0,2$, $8,2^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,3^\circ \pm 0,2$, $11,1^\circ \pm 0,2$, $11,7^\circ \pm 0,2$, $12,4^\circ \pm 0,2$, $14,5^\circ \pm 0,2$, $16,3^\circ \pm 0,2$, $17,2^\circ \pm 0,2$, $18,0^\circ \pm 0,2$, $19,4^\circ \pm 0,2$.

Procedeul constă în interacțiunea unui echivalent molar de rifaximină O cu un exces de 2-amino-4-metilpiridină, de preferință 2,0...3,5 echivalenți molari, într-un amestec de apă și alcool etilic luate într-un raport (v/v) de la 1:1 până la 2:1, timp de 2...8 ore la o temperatură de 40...60°C.

După răcire până la temperatura camerei la amestecul reactant, pentru reducerea cantității mici de rifaximină oxidată care se formează în timpul reacției, s-a adăugat la agitare intensă o soluție de acid ascorbic, dizolvat într-un amestec de apă, alcool etilic și acid clorhidric concentrat. Apoi pH-ul final al amestecului reactant a fost ajustat la 2,0, prin adăugarea acidului clorhidric concentrat, pentru înlăturarea excesului de 2-amino-4-metilpiridină folosită în reacție. Suspensia formată a fost filtrată, iar compusul cristalin obținut spălat cu același amestec format din apă și alcool etilic, folosit în reacție, obținându-se un produs semifinit denumit rifaximină brută.

Rifaximina brută poate fi supusă direct purificării. În cazul când se prevede o durată lungă de conservare a produsului semifinit, rifaximina brută poate fi uscată în vid la o temperatură de cel mult 65°C, timp de 6...24 ore, acest produs semifinit numindu-se rifaximină brută uscată.

Rifaximina brută astfel obținută și/sau rifaximina brută uscată a fost purificată prin dizolvare în alcool etilic la o temperatură de 45...65°C, cristalizată prin adăugarea unei cantități de 15...70% apă din cantitatea de alcool etilic folosit la dizolvare și menținerea la agitare a suspensiei obținute la o temperatură de la 50°C până la 0°C, timp de 4...36 ore.

Suspensia a fost filtrată, iar produsul cristalin obținut spălat cu apă și uscat în vid sau la presiune normală, cu sau fără agent de uscare, la o temperatură cuprinsă între cea de cameră și 105°C, timp de 2...72 ore.

Realizarea formelor δ și ϵ depinde de condițiile alese pentru cristalizare. Decisive s-au dovedit a fi compoziția solventului, din care s-a produs cristalizarea, temperatura la care amestecul de reacție a fost menținut după cristalizare și durata menținerii.

Mai exact, obținerea rifaximinelor δ și ϵ prevede inițierea cristalizării la temperatura de 28°C...32°C, apoi ridicarea ei până la valorile de 40...50°C și menținerea timp de 6...24 ore, urmată de o răcire rapidă până la 0°C, timp de 15 minute și menținerea timp de o oră la această temperatură, filtrarea, spălarea compusului cristalin cu apă și uscarea lui.

Importanța etapei de uscare în obținerea formelor de rifaximină polimorfe δ și ϵ a fost demonstrată prin intermediul metodei Karl Fisher de dozare a apei, care permite verificarea cantității de apă rămasă în produs după uscare.

Obținerea rifaximinei δ în procesul uscării depinde, de fapt, de cantitatea de apă rămasă la sfârșit, care ar trebui să fie de 2,5...6,0%, de preferință de 3,0...4,5%, și nu de presiunea și temperatura experimentului, la care a fost asigurat acest conținut.

Obținerea formei ϵ cu absorbție redusă, începe de la forma δ care trebuie uscată în vid sau la presiune atmosferică, la temperatura camerei sau la temperaturi mărite, în prezența sau în absența unui agent de uscare, pe o durată necesară pentru conversia ei în forma ϵ .

Ambele forme de rifaximină δ și ϵ sunt higroscopice, în condiții potrivite de presiune și umiditate ale mediului absorb reversibil apa și sunt susceptibile de transformare în alte forme.

Tranzițiile dintr-o formă în alta sunt elemente importante ale invenției, fiindcă ele pot constitui o alternativă a procedului de fabricare a formei dorite pentru producerea preparatelor medicamentoase. Astfel, procedeul care face posibilă trecerea rifaximinei δ în rifaximină ϵ într-un mod industrial valid constituie o parte importantă a invenției.

Din cele menționate rezultă că în timpul fazei de conservare sub acțiunea condițiilor mediului ambiant conținutul de apă în produs se poate schimba, lucru care poate fi evitat conservându-l într-un mediu cu umiditate controlată sau în containere închise, care să nu permită în mod semnificativ schimbul de apă cu mediul ambiant.

Procedeul de transformare a rifaximinei δ în rifaximină ϵ include uscarea rifaximinei δ în vid sau la presiune atmosferică, la temperatura camerei sau mărită, în prezența sau absența unui agent de uscare și menținerea ei timp de 6...36 ore, cat are loc conversia.

Polimorul numit rifaximina δ este caracterizat printr-un conținut de apă de 2,5...6,0%, de preferință de 3,0...4,5%, și o difractogramă cu raze X având vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2θ $5,7^\circ \pm 0,2$, $6,7^\circ \pm 0,2$, $7,1^\circ \pm 0,2$, $8,0^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,4^\circ \pm 0,2$, $10,8^\circ \pm 0,2$, $11,3^\circ \pm 0,2$, $12,1^\circ \pm 0,2$, $17,0^\circ \pm 0,2$, $17,3^\circ \pm 0,2$, $17,5^\circ \pm 0,2$, $18,5^\circ \pm 0,2$, $18,8^\circ \pm 0,2$, $19,1^\circ \pm 0,2$, $21,0^\circ \pm 0,2$, $21,5^\circ \pm 0,2$.

Polimorul numit rifaximina ϵ este caracterizat printr-o difractogramă cu raze X, având vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2θ $7,0^\circ \pm 0,2$, $7,3^\circ \pm 0,2$, $8,2^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,3^\circ \pm 0,2$, $11,1^\circ \pm 0,2$, $11,7^\circ \pm 0,2$, $12,4^\circ \pm 0,2$, $14,5^\circ \pm 0,2$, $16,3^\circ \pm 0,2$, $17,2^\circ \pm 0,2$, $18,0^\circ \pm 0,2$, $19,4^\circ \pm 0,2$.

Difractogramele au fost efectuate pe difractometrele Philips X'Pert avand geometria Bragg-Brentano, în următoarele condiții de lucru: tub cu raze X: cupru; radiatia folosită: K (α_1), K (α_2); tensiunea și intensitatea curentului generatorului: kV 40, mA 40; monocromator: grafit; dimensiune a pasului: 0,02; durata pasului 1,25 s; valoarea unghiulară inițială și finală 2θ : $3,0^\circ$? $30,0^\circ$.

Determinarea conținutului de apă în mostrele analizate a fost întotdeauna efectuată cu ajutorul metodei Karl Fisher.

Rifaximina δ și rifaximina ϵ se deosebesc una de alta și prin aceea că ele manifestă diferențe esențiale în ceea ce privește biodisponibilitatea.

Un studiu de biodisponibilitate a celor doi polimorfi a fost realizat pe femele de caini Beagle, cărora li s-a administrat pe cale orală o doză de un polimorf de 100 mg/kg în capsule, colectând mostre de sânge din vena jugulară a fiecărui animal înainte de fiecare dozare și peste 1, 2, 4, 6, 8 și 24 ore după administrare, mostrele transferându-le în tuburi cu heparină, iar plasma separând-o prin centrifugare.

Rifaximina din plasmă a fost determinată prin metoda validată de cromatografie cu lichide LC-MS/MS, calculandu-se concentrația maximă (C_{max}), durata de atingere a C_{max} , timpul de atingere a concentrației maxime (T_{max}) și aria sub curba de concentrație – timp (ASC).

Datele experimentale prezentate în tabel confirmă că rifaximina ϵ se absoarbe puțin, pe cand rifaximina δ este absorbită la o valoare de $C_{max} = 0,308 \mu\text{g/ml}$ în intervalul 0,1...1,0 $\mu\text{g/ml}$.

5 Parametrii farmacocinetici pentru polimorfii rifaximinei după o singură administrare orală a 100 mg/kg în capsule la femele de câini

	C _{max} , ng/ml	T _{max} , ore	AAC 0-24, ng.ore/ml
	Indice mediu	Indice mediu	Indice mediu
Polimorful δ	308,31	2	801
Polimorful ε	6,86	4	42

Rezultatele experimentale prezentate evidențiază mai bine diferența dintre cei doi polimorfi de rifaximină.

10 Formele δ și ε pot fi utilizate în producerea preparatelor medicamentoase cu activitate antibiotică, conținând rifaximină, atât pentru uz oral, cât și pentru cel topic. Preparatele medicamentoase pentru uz oral conțin rifaximina δ și ε , împreună cu un excipient uzual în calitate de agent de diluare – de exemplu manitol, lactoză sau sorbitol; agenți de legătură – amidon, gelatină, zaharuri, derivați ai celulozei, gume naturale și polivinilpirolidone; agenți de lubrifiere – talc, stearați, uleiuri vegetale hidrogenate, polietilenglicol și dioxid de silicon

15 de lubrifiere – talc, stearați, uleiuri vegetale hidrogenate, polietilenglicol și dioxid de silicon coloidal; agenți de dezintegrare – amidon, celuloză, algi-nați, gume și polimeri reticulați; coloranți; aromatizatori și agenți de îndulcire.

Orice preparat solid administrabil oral poate fi folosit conform prezentei invenții, de exemplu pastilele acoperite și neacoperite, capsulele gelatinoase solide și moi, pilule acoperite cu zahăr, pastile, foite de biscuit, pelete și prafuri în pachetele sigilate.

20 Preparatele medicamentoase pentru uz topic ce conțin rifaximina δ și ε , împreună cu un excipient uzual, cum este petrolatumul alb, ceara albă, lanolina și derivații acesteia, alcoolul stearic, propilenglicolul, lauril sulfatul de sodiu, eterii alcoolilor polioxietilenici grași, esterii acizilor polioxietilenici grași, sorbitanul monostearat, glicerina monostearată,

25 propilenglicolul monostearat, polietilenglicolul, metilceluloza, hidroximetilpropilceluloza, carboximetilceluloza, aluminiul coloidal și silicatul de magneziu, alginatul de sodiu.

Orice preparate topice pot fi folosite conform prezentei invenții, de exemplu unguentele, alifiile, cremele, gelurile și loțiuni.

30 Invenția este în continuare ilustrată prin exemple, care nu vor purta caracter restrictiv pentru invenție, din rezultatele descrise ale cărora devine evident că formele δ și ε pot fi obținute printr-o combinaire potrivită a condițiilor de cristalizare și uscare menționate anterior.

Exemple de realizare

Exemplul 1

35 Prepararea rifaximinei brute și a rifaximinei brute uscate

Intr-un balon cu trei gâturi, echipat cu un agitator mecanic, un termometru și un refrigerent de reflux, s-au adăugat, consecutiv, la temperatura camerei 120 ml apă demineralizată, 96 ml alcool etilic, 63,5 g rifamicină O și 27,2 g 2-amino-4-metilpiridină. Amestecul obținut a fost încălzit până la 50°C, agitat la această temperatură timp de 5 ore și răcit până la 23°C. Apoi la el timp de 30 minute, s-a adăugat un amestec din 9 ml apă demineralizată, 12,6 ml alcool etilic, 1,68 g acid ascorbic și 9,28 g acid clorhidric concentrat. Amestecul reactant a fost agitat timp de 30 minute la o temperatură de cel mult 23°C, după care la el s-au adăugat prin picurare 7,72 g acid clorhidric concentrat până la un pH=2,0. Conținutul balonului a fost agitat suplimentar timp de 30 minute la o temperatură de cel mult 20°C, iar precipitatul a fost filtrat și spălat cu un amestec format din 32 ml apă demineralizată și 25 ml alcool etilic. Rifaximina brută astfel obținută (89,2 g) a fost uscată în vid la temperatura camerei timp de 12 ore, obținându-se 64,4 g rifaximină brută uscată cu un conținut de 5,6% apă. După o uscare suplimentară în vid s-au obținut 62,2 g rifaximină brută uscată cu un conținut de 3,3% apă, difractograma căreia corespunde cu

40 forma polimorfă δ , și include vârfurile valorilor unghiurilor 2θ la $5,7^\circ \pm 0,2$, $6,7^\circ \pm 0,2$, $7,1^\circ \pm 0,2$, $8,0^\circ \pm 0,2$, $8,7^\circ \pm 0,2$, $10,4^\circ \pm 0,2$, $10,8^\circ \pm 0,2$, $11,3^\circ \pm 0,2$, $12,1^\circ \pm 0,2$, $17,0^\circ \pm 0,2$,

45

50

17,3°±0,2, 17,5°±0,2, 18,5°±0,2, 18,8°±0,2, 19,1°±0,2, 21,0°±0,2, 21,5°±0,2. Produsul este higroscopic.

Exemplul 2

Prepararea rifaximinei ε

- 5 Forma δ a fost obținută prin analogie cu exemplul 1, după care compusul cristalin obținut a fost uscat în vid timp de 24 ore la temperatura de 65°C, obținându-se rifaximina ε, caracterizată printr-o difractogramă ce include vârfurile valorilor unghiurilor 2Θ la 7,0°±0,2, 7,3°±0,2, 8,2°±0,2, 8,7°±0,2, 10,3°±0,2, 11,1°±0,2, 11,7°±0,2, 12,4°±0,2, 14,5°±0,2, 16,3°±0,2, 17,2°±0,2, 18,0°±0,2, 19,4°±0,2.

10 Exemplul 3

Biodisponibilitatea la caini după administrare orală

Opt femele de rasă canină Beagle pură, având vârsta de 20 săptămâni și greutatea de 5,0...7,5 kg, au fost împărțite în două grupuri a câte patru. Primul grup a fost tratat cu rifaximina δ, cel de al doilea cu rifaximina ε conform metodei care urmează.

- 15 Fiecărui câine i s-a administrat pe cale orală 100 mg/kg de o formă polimorfă de rifaximină în capsule gelatinoase. De la fiecare animal au fost colectate mostre de sânge a câte 2 ml din vena jugulară înainte de administrare și peste 1, 2, 4, 6, 8 și 24 ore după. Fiecare mostră a fost transferată într-un tub conținând heparină în calitate de anticoagulant, apoi centrifugată, iar plasma a fost separată în două alicote, a câte 500 μl fiecare, care au fost congelate la -20°C. Conținutul de rifaximină în plasmă a fost determinat prin cromatografie cu lichide (LC-MS/MS) și au fost calculați următorii parametri în conformitate cu o analiză standard non-compartimentală: C_{max} – concentrația maximă de rifaximină determinată în plasmă; T_{max} – timpul la care se atinge C_{max}; ASC – aria sub curba de concentrație – timp, calculată după regula liniară trapezoidală. Rezultatele prezentate în tabel demonstrează că rifaximina δ se absoarbe de 40 ori mai bine, în raport cu rifaximina ε, care practic nu se absoarbe.

30

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. IT1154655 B 1987.01.21
2. EP 0161534 B1 1989.09.20

(57) Revendicări:

1. Formă polimorfă de rifaximină δ, care este caracterizată printr-un conținut de apă de la 2,5% până la 6,0%, de preferință de la 3,0% până la 4,5%, și o difractogramă pe pulbere cu raze X având vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2Θ 5,7°±0,2, 6,7°±0,2, 7,1°±0,2, 8,0°±0,2, 8,7°±0,2, 10,4°±0,2, 10,8°±0,2, 11,3°±0,2, 12,1°±0,2, 17,0°±0,2, 17,3°±0,2, 17,5°±0,2, 18,5°±0,2, 18,8°±0,2, 19,1°±0,2, 21,0°±0,2, 21,5°±0,2.

2. Formă polimorfă de rifaximină ε, care este caracterizată printr-o difractogramă pe pulbere cu raze X având vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2Θ 7,0°±0,2, 7,3°±0,2, 8,2°±0,2, 8,7°±0,2, 10,3°±0,2, 11,1°±0,2, 11,7°±0,2, 12,4°±0,2, 14,5°±0,2, 16,3°±0,2, 17,2°±0,2, 18,0°±0,2, 19,4°±0,2.

3. Procedeu de obținere a formelor polimorfe de rifaximină δ și ε, în care un echivalent molar de rifaximină O este supus interacțiunii cu un exces de 2-amino-4-metilpiridină, de preferință de la 2,0 până la 3,5 echivalenți molari, în primul amestec de solvenți care conține apă și alcool etilic într-un raport volumetric de la 1:1 până la 2:1, timp de la 2 până la 8 ore la o temperatură de la 40°C până la 60°C cu obținerea primului amestec de reacție,

- acest amestec de reacție se tratează la temperatura camerei cu o soluție de acid ascorbic într-un amestec de apă, alcool etilic și soluție apoasă concentrată de acid clorhidric cu obținerea celui de al doilea amestec de reacție,

- la al doilea amestec de reacție se adaugă soluție apoasă concentrată de acid clorhidric cu ajustarea valorii pH până la 2,0 cu obținerea unei suspensii,

- suspensia menționată se filtrează, se obține prima substanța solidă,

- prima substanță solidă se spală cu primul amestec menționat de solvenți, se obține rifaximină brută,

- rifaximina brută se supune purificării prin diluare în alcool etilic la o temperatură de 45°C până la 65°C,

- se efectuează precipitarea prin adăugarea apei, de preferință într-o cantitate de 15% până la 70% de masă în raport cu cantitatea de masă de alcool etilic folosit pentru diluare, prin coborârea temperaturii suspensiei la valori de la 50°C până la 0°C, agitând o perioadă de timp de 4 până la 36 ore, în final suspensia este filtrată cu spălarea ulterioară cu apă a substanței solide obținute și uscarea ei în vid sau la presiune normală, cu sau fără agent de uscare, la o temperatură între cea de cameră și 105°C pentru o perioadă de timp de la 2 până la 72 ore;

- totodată, forma polimorfă de rifaximină δ are pe difractograma pe pulbere cu raze X vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2θ 5,7°±0,2, 6,7°±0,2, 7,1°±0,2, 8,0°±0,2, 8,7°±0,2, 10,4°±0,2, 10,8°±0,2, 11,3°±0,2, 12,1°±0,2, 17,0°±0,2, 17,3°±0,2, 17,5°±0,2, 18,5°±0,2, 18,8°±0,2, 19,1°±0,2, 21,0°±0,2, 21,5°±0,2,

- forma polimorfă de rifaximină ϵ are pe difractograma pe pulbere cu raze X vârfuri la valorile unghiurilor de difracție 2θ 7,0°±0,2, 7,3°±0,2, 8,2°±0,2, 8,7°±0,2, 10,3°±0,2, 11,1°±0,2, 11,7°±0,2, 12,4°±0,2, 14,5°±0,2, 16,3°±0,2, 17,2°±0,2, 18,0°±0,2, 19,4°±0,2.

4. Procedeu, conform revendicării 3, **caracterizat prin aceea că** după adăugarea apei la soluția de etanol a rifaximinei brute, temperatura este adusă la o valoare de la 28°C până la 32°C pentru a provoca începutul cristalizării, suspensia astfel obținută este menținută la o temperatură între 40°C și 50°C agitând o perioadă de timp între 6 și 24 ore, apoi suspensia este răcită repede până la 0°C, într-o perioadă de timp între 15 minute și o oră, este filtrată, iar uscarea substanței solide obținute se realizează până la un conținut de apă de la 2,5% până la 6,0%, preferabil de la 3,0% până la 4,5%.

5. Procedeu, conform revendicării 3, **caracterizat prin aceea că** se efectuează uscarea formei polimorfe obținute de rifaximină δ în vid sau la presiunea atmosferică, la temperatura camerei sau la temperaturi înalte, în prezența sau în absența unui agent de uscare, uscarea durand timpul necesar pentru a realiza conversia în forma ϵ .

6. Formă polimorfă de rifaximină δ , definită în revendicarea 1, pentru utilizare în calitate de preparat medicamentos pentru uz oral cu activitate antibiotică în asociere cu excipienți uzuali, cum sunt agenții de diluare, legătură, lubrifiere, dezintegrare, colorare, aromatizare și edulcoloranții.

7. Formă polimorfă de rifaximină ϵ , definită în revendicarea 2, pentru utilizare în calitate de preparat medicamentos pentru uz oral cu activitate antibiotică în asociere cu excipienți uzuali, cum sunt agenții de diluare, legătură, lubrifiere, dezintegrare, colorare, aromatizare și edulcoloranții.

8. Formă polimorfă de rifaximină δ și ϵ , conform revendicărilor 6 și 7, **caracterizată prin aceea că** preparatele pentru uz oral reprezintă tablete acoperite cu înveliș și neacoperite, capsule gelatinoase solide și moi, pilule acoperite cu zahăr, cașete, granule și prafuri în ambalaj ermetic.

9. Formă polimorfă de rifaximină δ , definită în revendicarea 1, pentru utilizare în calitate de preparat medicamentos cu activitate antibiotică pentru uz topic.

10. Formă polimorfă de rifaximină ϵ , definită în revendicarea 2, pentru utilizare în calitate de preparat medicamentos cu activitate antibiotică pentru uz topic.

11. Formă polimorfă de rifaximină δ și ϵ , conform revendicărilor 9 și 10, **caracterizată prin aceea că** preparatele pentru uz topic reprezintă unguente, alifii, creme, geluri și loțiuni.

Șef Secție:

GROSU Petru

Examinator:

CIOCARLAN Alexandru

Redactor:

LOZOVANU Maria

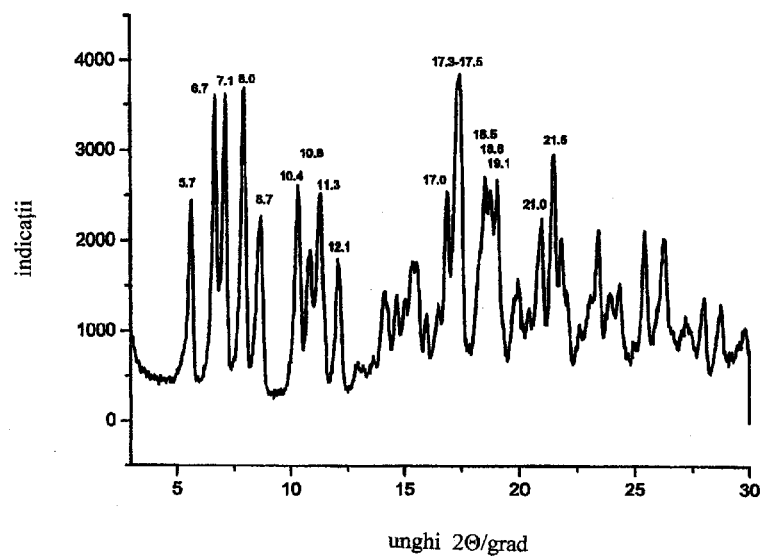


Fig. 1

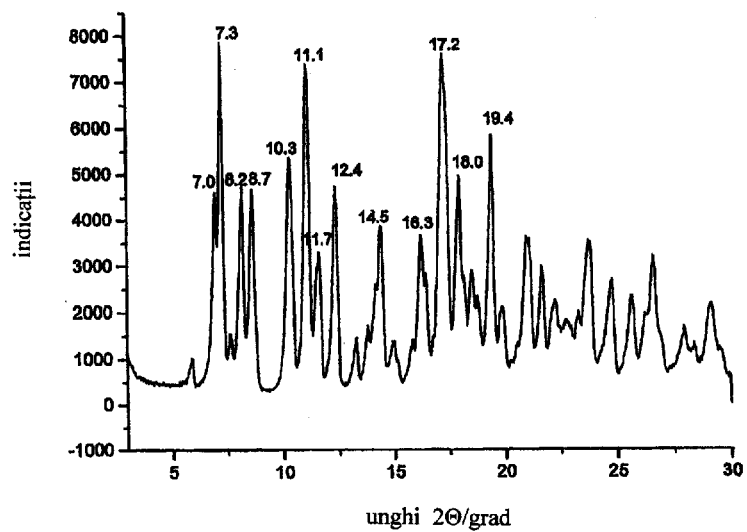


Fig. 2

AGENTIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELECTUALA A REPUBLICII MOLDOVA

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii	
(21) Nr. depozit: a 2007 0265	(32) Data de prioritate recunoscută: 2005.03.03
(22) Data depozit: 2006.02.27	Raport de documentare internațională: ? da
(54) Titlul: Forme polimorfe de rifaximină, procedee de obținere și utilizare a acestora în calitate de preparate medicamentoase cu activitate antibiotică	
(71) Solicitant: ALFA WASSERMANN S.P.A., IT	
(51) (Int.Cl): Int. Cl.: A61K 31/395 (2006.01) A61K 9/06 (2006.01) A61K 9/107 (2006.01) C07D 498/22 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)	
II. Condiții de unitate a invenției: ? satisface ☐ nu satisface	
Note:	
III.Revendicări: claritatea, susținerea de descriere	
Note: ? satisface ☐ nu satisface	
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare)	
MD (Documentare Invenții (inclusiv cereri nepublicate)) - C07D498/22, A61K31/395, rifaximină, antibiotică. "Worldwide" (Espacenet) – C07D498/22, A61K31/395, rifaximin, antibiotic. EA, CIS (Eapatis) – C07D498/22, A61K31/395, рифаксимин, антибиотик.	
V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate	

VI. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 3653 G2 2008.07.31	1-11
A	US 4341785 A 1982.07.27	1-11
A,D	IT1154655 B 1987.01.21	1-11
A,D	EP 0161534 A 1985.11.21	1-11
A,C	WO 2006094662 A1 2006.09.14	1-11
* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general		T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur		E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie		D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare		C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
		& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate		L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării		2010.08.10
Examinator		CIOCARLAN Alexandru