

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

305 213

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07H 19/167 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2013-320**
(22) Přihlášeno: **29.04.2013**
(40) Zveřejněno: **05.11.2014**
(Věstník č. 45/2014)
(47) Uděleno: **30.04.2015**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **10.06.2015**
(Věstník č. 23/2015)

(56) Relevantní dokumenty:

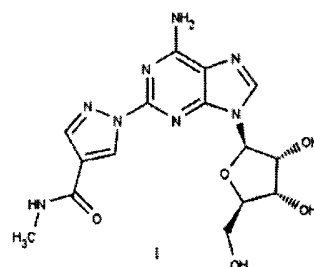
WO 00/78779 A; WO 2008/143667 A; WO 2012/149196 A; CZ 304 053 B6.

(73) Majitel patentu:
FARMAK, a. s., Olomouc, CZ

(72) Původce:
RNDr. Lubomír Kvapil, Ph.D., Slatinice, CZ
prof. Ing. Pavel Hradil, CSc., Hlušovice, CZ
Ing. Martin Grepl, Ph.D., Hlušovice, CZ
Ing. Petr Šlázar, Olomouc, CZ
Mgr. Barbora Dvořáková, Most, CZ

(74) Zástupce:
Rott, Růžička & Guttmann
Patentové, známkové a advokátní kanceláře, Ing.
Ivana Jirotková, Vinohradská 37, 120 00 Praha 2

d) zahřátí vyloučené gelovité sraženiny v protickém rozpouštědle k varu za vzniku suspenze polymorfu E;
e) ochlazení suspenze, izolace a vysušení polymorfu E.



(54) Název vynálezu:

Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1H-pyrazol-1-yl]adenosinu a způsob jeho přípravy

(57) Anotace:

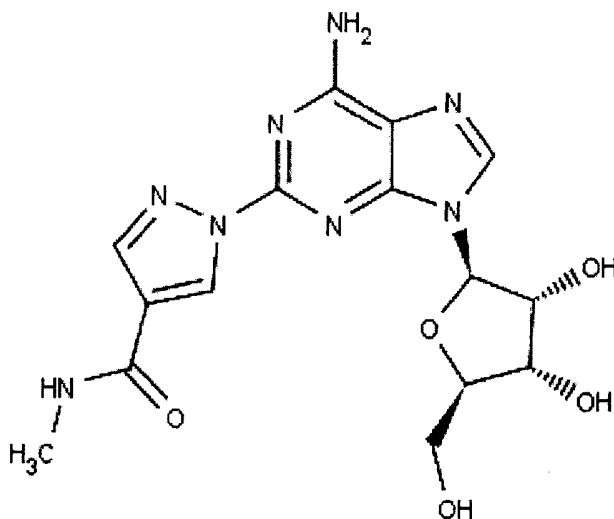
Polymorf 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1H-pyrazol-1-yl]adenosinu (označený jako polymorf E), charakterizovaný rentgenovým difraktogramem X-RPD vykazujícím reflexe při 2 Theta = 5,8°, 12,3°, 15,9°, 17,3°, 20,5°, 22,6°, 23,6°, 27,7° a 29,2° a dále charakterizovaný pomocí DSC, kde vykazuje výrazný endotermický přechod v rozmezí 258 až 264 °C, a dále charakterizovaný pomocí IR spektra, který se připravuje postupem zahrnujícím následující operace:
a) smíchání 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1H-pyrazol-1-yl]adenosinu s polárním aprotickým rozpouštědlem, s výhodou s dimethylsulfoxidem, a zahřátí za vzniku nasyceného roztoku;
b) ochlazení nasyceného roztoku za vzniku zakaleného roztoku 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1H-pyrazol-1-yl]adenosinu;
c) přidání zakaleného roztoku 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1H-pyrazol-1-yl]adenosinu do protického rozpouštědla, s výhodou methanolu, za současného vyloučení gelovité sraženiny;

CZ 305213 B6

Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu a způsob jeho přípravy

5 Oblast techniky

Vynález se týká nového polymorfu 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I



(I)

a způsobu jeho přípravy. 2-[4-[(Methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosin ve formě hydrátu je známý jako regadenoson, který se používá jako koronární vasodilatátor k diagnostickým účelům při radionuklidovém vyšetřování srdce.

Dosavadní stav techniky

V patentové literatuře je popsáno několik různých polymorfů 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I.

V patentové přihlášce PCT WO 2008/143 667 jsou popsány polymorfy A, B, C a amorfní forma. Polymorf A se připravuje krystalizací 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu z protických rozpouštědel nebo jejich směsí s vodou (například ethanol nebo směs ethanol/voda) nebo krystalizací z polárních aprotických rozpouštědel nebo jejich směsí s vodou (například směs dimethylsulfoxid/voda). Polymorf A je monohydrát a je na rozdíl od dalších dosud známých polymorfů poměrně stabilní.

Polymorf B se připravuje zahuštěním 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu rozpuštěného v trifluorethanolu. Příprava tohoto polymorfu je obtížně reprodukovatelná a X-RPD vykazuje široké, obtížně změřitelné píky.

Polymorf C se připravuje zahříváním suspenze 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu v acetonitrilu při 60 °C po delší dobu. Tento polymorf obsahuje proměnlivé množství vody a zahříváním přechází na nestabilní formy.

Amorfní forma se připravuje zahříváním polymorfu A na teplotu 200 °C. Amorfní forma je nestabilní a v přítomnosti vzdušné vlhkosti tvoří proměnlivé hydráty.

V patentové přihlášce PCT WO 2012/149 196 je popsána příprava polymorfu D poměrně složitým postupem. Nejprve se pomocí „cross coupling“ reakce 2-fluoradenosinu s *N*-methylpyrazol-4-karboxamide ve směsi acetonitril/dimethylsulfoxid připraví surový 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosin, který se pak čistí pomocí reverzní fázové chromatografie za použití směsi methanol/voda. Po zahuštění při 150 °C za sníženého tlaku se získá polymorf D jako bílá pevná látka obsahující proměnlivá množství vody.

Je známo, že polymorfy od jedné lékové substance mohou mít odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti jako je např. rozpustnost, stabilita, hustota a stlačitelnost. V důsledku toho mohou mít různé farmakologické vlastnosti a také různou biologickou dostupnost. Důkladná znalost polymorfů je proto vyžadována od úřadů provádějících kontrolu léčiv, lékových substancí a diagnostik (US Food and Drug Administration).

15 Podstata vynálezu

Předložený vynález se týká nového stabilního polymorfu 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu (dále označovaného jako polymorf E) a způsobu jeho přípravy.

20 Polymorf E je charakterizován pomocí RTG práškové difrakce (dále jen XRPD) a diferenční skenovací kalorimetrie (dále jen DSC).

Polymorf E je charakterizován těmito reflexemi v XRPD difraktogramu 2 Theta = 5,8°, 12,3°, 15,9°, 17,3°, 20,5°, 22,6°, 23,6°, 27,7° a 29,2° (viz obr. 1).

25 Polymorf E je dále charakterizován pomocí DSC, kde vykazuje výrazný endotermický přechod v rozmezí 258 až 264 °C (viz obr. 2).

30 Polymorf E je dále charakterizován pomocí IR spektra (viz obr. 3), jež má píky o hodnotách vlnočtu 3402, 3333, 3217, 3117, 2934, 1650, 1579, 1489, 1420, 1340, 1282, 1236, 1131, 1068, 1024, 985, 901, 851, 805, 691.

35 Regadenoson se používá jako injekční forma ve vodných roztocích. Vzhledem k tomu, že regadenoson je ve všech svých známých polymorfních formách málo rozpustný ve vodě, byla této skutečnosti věnována velká pozornost.

Experimentálně byla stanovena rozpustnost polymorfu E v porovnání s polymorfem A, přičemž bylo zjištěno, že rozpustnost obou polymorfů ve vodě je při různých teplotách prakticky stejná. Avšak překvapivě bylo zjištěno, že rychlost rozpouštění polymorfu E ve vodě je výrazně vyšší než polymorfu A. Pomocí přístroje pro měření distribuce velikosti částic Lasentec FBRM (výrobce Lasentec Product Group, model D600 VL, software FBRM version 6.7.0) bylo provedeno experimentální srovnání rychlosti rozpouštění polymorfu A a polymorfu E. Stejná množství obou polymorfů (165 mg) byla rozpouštěna ve stejném množství vody (500 ml) za stejných podmínek (režim rozpouštění, otáčky míchadla apod.). Křivky znázorňující rychlost rozpouštění obou polymorfů jsou znázorněny na obrázku 4. Jak je patrné, rychlost rozpouštění polymorfu E je přibližně dvojnásobná. K úplnému rozpouštění polymorfu E dojde za cca 45 minut, zatímco rozpouštění stejného množství polymorfu A nastane za stejných podmínek až za cca 90 minut.

50 Toto zjištění je v praxi velmi důležité, neboť umožňuje rychlejší přípravu injekčních roztoků a zároveň zvyšuje kapacitu výrobního zařízení. Současně zkracuje tepelnou expozici rozpouštěného 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu, a tím výrazně snižuje tvorbu možných rozkladných produktů.

Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I představuje relativně stabilní polymorf, který vyhovuje zkouškám podle ICH Guideline Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A (R2).

- 5 Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I obsahuje zbytková rozpouštědla vyhovující ICH Guideline for Residual Solvents Q3C (například obsah methanolu maximálně 3000 ppm a obsah dimethylsulfoxidu maximálně 5000 ppm) a proměnlivé množství vody (obvykle do 1,0 %).
- 10 Polymorf E může být připraven ze všech známých polymorfních forem, popřípadě jejich směsí, popřípadě přímo ze zahuštěného reakčního roztoku pomocí jednoduchého a reprodukovatelného postupu, který zahrnuje následující operace:
 - a) smíchání 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu s polárním aprotickým rozpouštědlem, s výhodou s dimethylsulfoxidem, a zahřátí za vzniku nasyceného roztoku;
 - 15 b) ochlazení nasyceného roztoku za vzniku zakaleného roztoku 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu;
 - c) přidání zakaleného roztoku 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu do protického rozpouštědla, s výhodou methanolu, za současného vyloučení gelovité sraženiny;
 - 20 d) zahřátí vyloučené gelovité sraženiny v protickém rozpouštědle k varu za vzniku suspenze polymorfu E;
 - e) ochlazení suspenze, izolace a vysušení polymorfu E.

Postup podle předloženého vynálezu přináší řadu výhod.

- 25 2-[4-[(Methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosin je látka všeobecně špatně rozpustná v běžných organických rozpouštědlech; k několika málo rozpouštědlům, ve kterých se rozpouští, patří aprotická rozpouštědla jako je dimethylacetamid, dimethylformamid, N-methylpyrrolidon, sulfolan či dimethylsulfoxid. Zvláště výhodný je prakticky netoxický dimethylsulfoxid. Výše
- 30 jmenovaná rozpouštědla je možné použít v širokém rozmezí teplot, od laboratorní teploty prakticky až do teploty 150 °C, s výhodou v rozmezí teplot od 30 do teploty 100 °C. Po následujícím ochlazení a zakalení vzniklého roztoku dochází přidávkem protických rozpouštědel, s výhodou methanolu, k vyloučení gelovité sraženiny, která při dalším ohřevu přechází na žádaný polymorf E.
- 35 – Polymorf E podle předloženého vynálezu představuje v porovnání s jinými polymorfy (zejména polymorfy B, C a amorfní forma) relativně stabilní polymorf.
- Tento polymorf vykazuje velmi dobré reologické vlastnosti, je snadno filtrovatelný, dobře sypký a málo elektrostaticky nabitý ve srovnání s ostatními polymorfy.
- 40 – Polymorf E vykazuje vyšší rychlost rozpouštění ve vodě, což je výhodné s ohledem na jeho použití při výrobě injekčních forem.

Objasnění výkresů

45

Obr. 1 představuje XRPD difraktogram polymorfu E podle vynálezu.

Obr. 2 je DSC záznam polymorfu E podle vynálezu.

50

Obr. 3 znázorňuje IR spektrum polymorfu E podle vynálezu.

Obr. 4 zobrazuje křivky znázorňující rychlost rozpouštění polymorfu E podle vynálezu v porovnání s polymorfem A.

5 Příklady uskutečnění vynálezu

Podstata provedení vynálezu je blíže objasněna v následujících příkladech. Tyto příklady mají jen ilustrativní charakter a v žádném případě neomezují rozsah vynálezu.

- 10 K názornějšímu popisu přípravy polymorfu E je u příkladů 1 a 2 rozšířen popis přípravy o popis přípravy amorfni formy, resp. polymorfu A podle naší přihlášky PCT WO 2013/026 424 (A1).

15 XRPD byla měřena na přístroji X'Pert PRO MPD (PANalytical, Holandsko) s Co rentgenkou ($\lambda = 0,178901$ nm, $U = 40$ kV, $I = 30$ mA). Vzorky byly nanесeny na bezdifrakční Si–destičku a měřeny v Bragg–Brentanově parafokusující geometrii s velikostí kroku $0,0167^\circ$ 2 Theta v rozsahu úhlů 2 Theta 5 až 50° . Zpracování difrakčních záznamů bylo provedeno pomocí programu High–Score Plus (PANalytical). Pozice difrakčních píků a přístrojové rozšíření difrakcí bylo kontrolováno pomocí standardů SRM640 (Si) a SRM660 (LaB6) od NIST.

- 20 DSC byla měřena s použitím Perkin Elmer instrumentace, model Pyris Diamond DSC s vyhodnocením pomocí Pyris software verze 5.0.

Vzorky byly analyzovány v otevřených hliníkových pánvičkách v dusíkové atmosféře. Teplotní rozsah byl nastaven od 50°C a rychlost ohřevu byla $5^\circ\text{C}/\text{min}$.

- 25 IR spektra byla měřena na přístroji Nicolet IS 10 (Thermo Scientific) metodou ATR na ZnSe krystalu.

30 Příklad 1

Suspenze 1 g 2–(4–methoxykarbonylpyrazol–1–yl)adenosinu v 10 ml 40% methylaminu v methanolu se míchá v uzavřené baňce při 20°C do vzniku roztoku (3 až 5 hodin). Vzniklý roztok se ponechá stát při uvedené teplotě dalších 15 hodin. Roztok se pak zfiltruje s aktivním uhlím a filtrát se zahustí za vakua. Odparek, který je amorfni formou 2–[4–[(methylamino)karbonyl]–1H–pyrazol–1–yl]adenosinu se rozpustí ve 2 ml dimethylsulfoxidu a pak se ponechá samovolně zchladnout na laboratorní teplotu. Vzniklý zakalený roztok se přileje do 20 ml methanolu. Vy-
35 loučí se gelovitá sraženina, která se míchá za varu po dobu 1,5 až 2,5 hodin, přičemž vznikne práškovitá suspenze. Po ochlazení, odsátí a vysušení se získá 0,8 g polymorfu E 2–[4–[(methyl-
40 amino)karbonyl]–1H–pyrazol–1–yl]adenosinu.

XRPD difraktogram 2 Theta = $5,8^\circ$, $12,3^\circ$, $15,9^\circ$, $17,3^\circ$, $20,5^\circ$, $22,6^\circ$, $23,6^\circ$, $27,7^\circ$ a $29,2^\circ$.

DSC vykazuje endotermický přechod při $259,2^\circ\text{C}$.

45

Příklad 2

Suspenze 1 g 2–(4–methoxykarbonylpyrazol–1–yl)adenosinu v 10 ml 40% methylaminu v methanolu se míchá v uzavřené baňce při 20°C do vzniku roztoku (3 až 5 hodin). Vzniklý roztok se ponechá stát při uvedené teplotě dalších 15 hodin. Roztok se pak zfiltruje s aktivním uhlím a filtrát se opatrně částečně zahustí, přičemž se vyloučí gelovitá sraženina bezvodého 2–[4–
50 [(methylamino)karbonyl]–1H–pyrazol–1–yl]adenosinu. Pozvolným přidáním 10 ml vody přejde gelovitá sraženina na jemnou práškovitou sraženinu, která se po rozmíchání odsaje, promyje dů-
55 kladně vodou, pak methanolem a vakuově vysuší do konstantní hmotnosti.

- 5 Získá se tak 0,9 g 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu (polymorf A), který se rozpustí v 1,8 ml dimethylsulfoxidu a pak se ponechá samovolně zchladnout na laboratorní teplotu. Vzniklý zakalený roztok se přileje do 18 ml methanolu vyhřátého na 50 až 60 °C. Vyloučí se gelovitá sraženina, která se míchá za varu po dobu 1,5 až 2,5 hodin, přičemž vznikne prášková suspenze. Po ochlazení, odsátí a vysušení se získá 0,75 g polymorfu E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu

XRPD difraktogram 2 Theta = 5,8°, 12,3°, 15,9°, 17,3°, 20,5°, 22,6°, 23,6°, 27,7° a 29,2°.

- 10 DSC vykazuje endotermický přechod při 260,7 °C.

Příklad 3

- 15 Suspenze 2 g polymorfu C 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu (přípraven podle PCT/US 2007/069 190, str. 10) se rozpustí v 3 ml dimethylsulfoxidu a pak se ponechá samovolně zchladnout na laboratorní teplotu. Vzniklý zakalený roztok se přileje do 30 ml methanolu vyhřátého na 50 až 60 °C. Vyloučí se gelovitá sraženina, která se míchá za varu po dobu 1 hodiny, přičemž vznikne prášková suspenze, která se ochladí na laboratorní teplotu. Po ochlazení, odsátí a vysušení se získá 1,75 g polymorfu E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu.

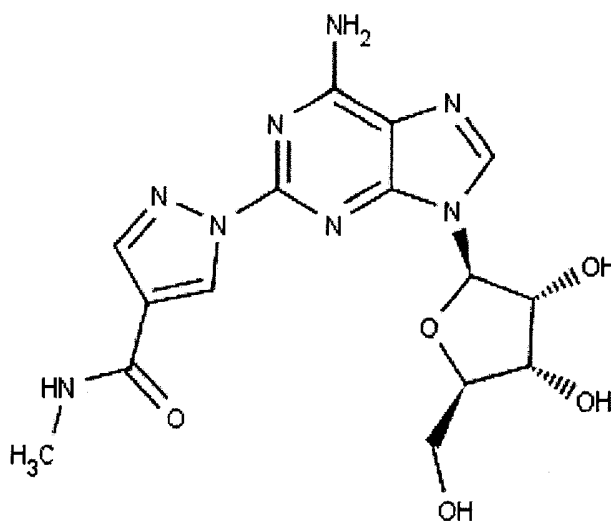
XRPD difraktogram 2 Theta = 5,8°, 12,3°, 15,9°, 17,3°, 20,5°, 22,6°, 23,6°, 27,7° a 29,2°.

- 25 DSC vykazuje endotermický přechod při 259,3 °C.

30

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I

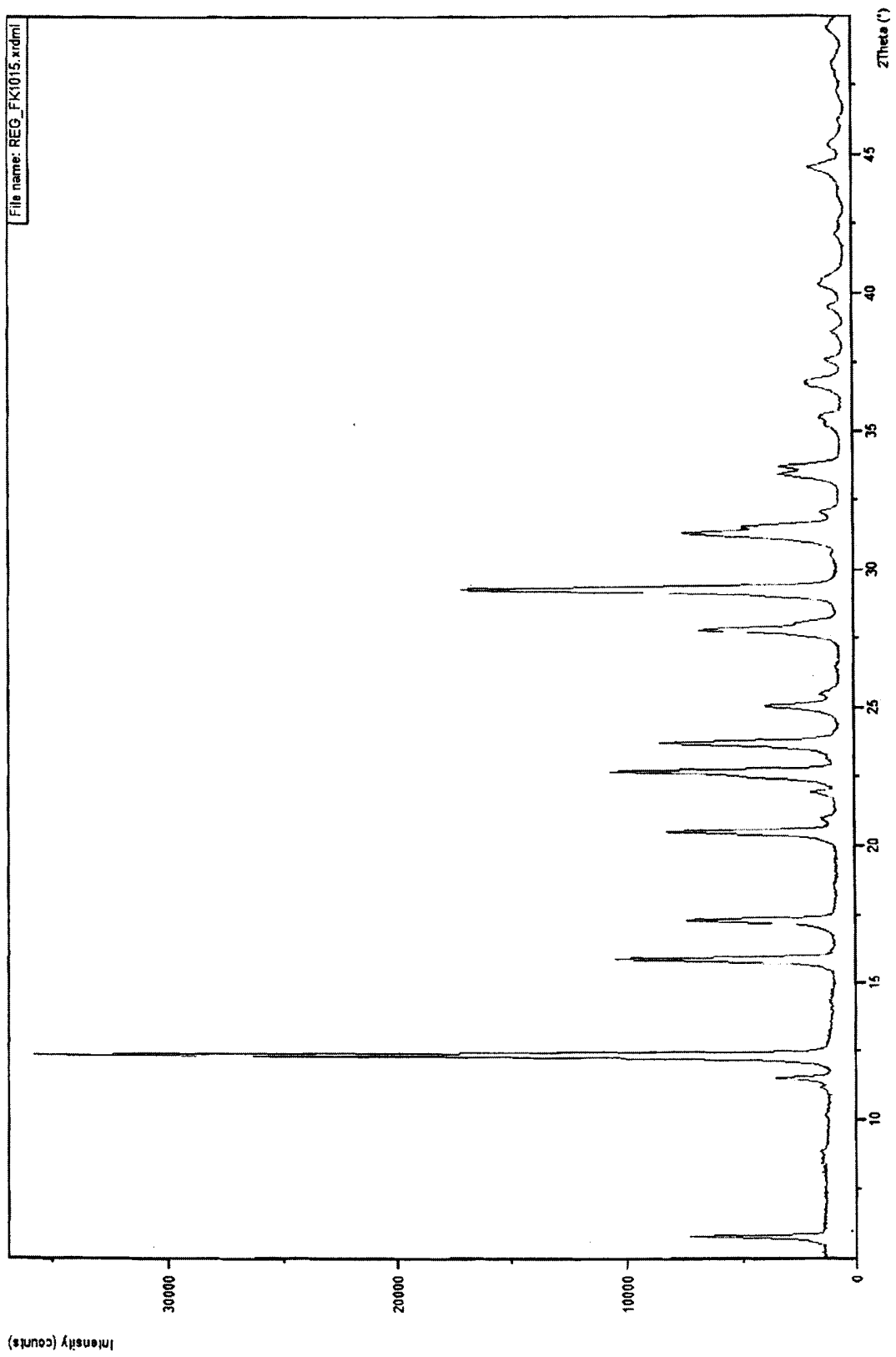


(I)

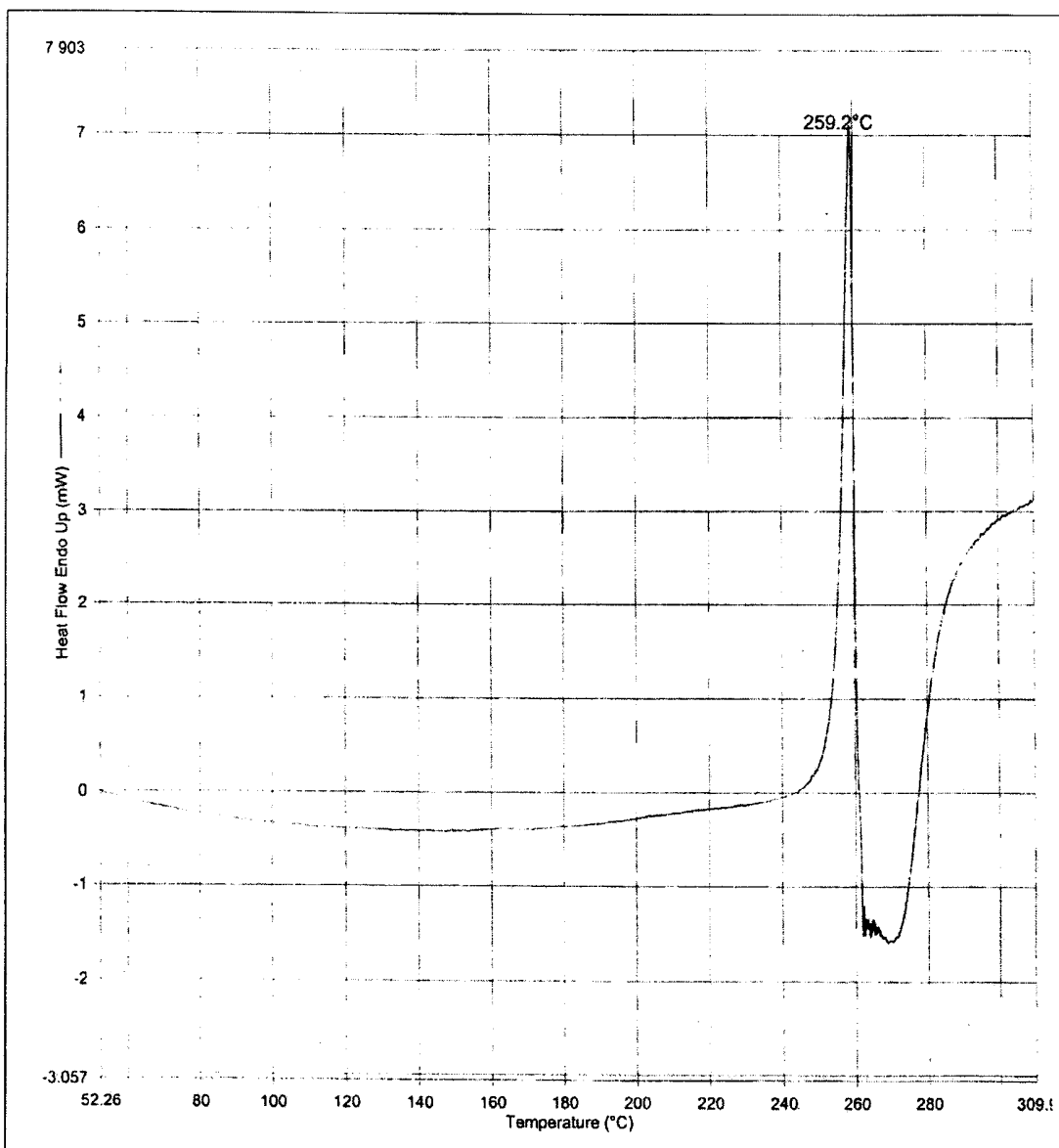
35

který je charakterizován rentgenovým difraktogramem vykazujícím reflexe při $2\theta = 5,8^\circ$, $12,3^\circ$, $15,9^\circ$, $17,3^\circ$, $20,5^\circ$, $22,6^\circ$, $23,6^\circ$, $27,7^\circ$ a $29,2^\circ$ 2θ , měřeno pomocí Co rentgenky při $\lambda = 0,178901$ nm, $U = 40$ kV, $I = 30$ mA.

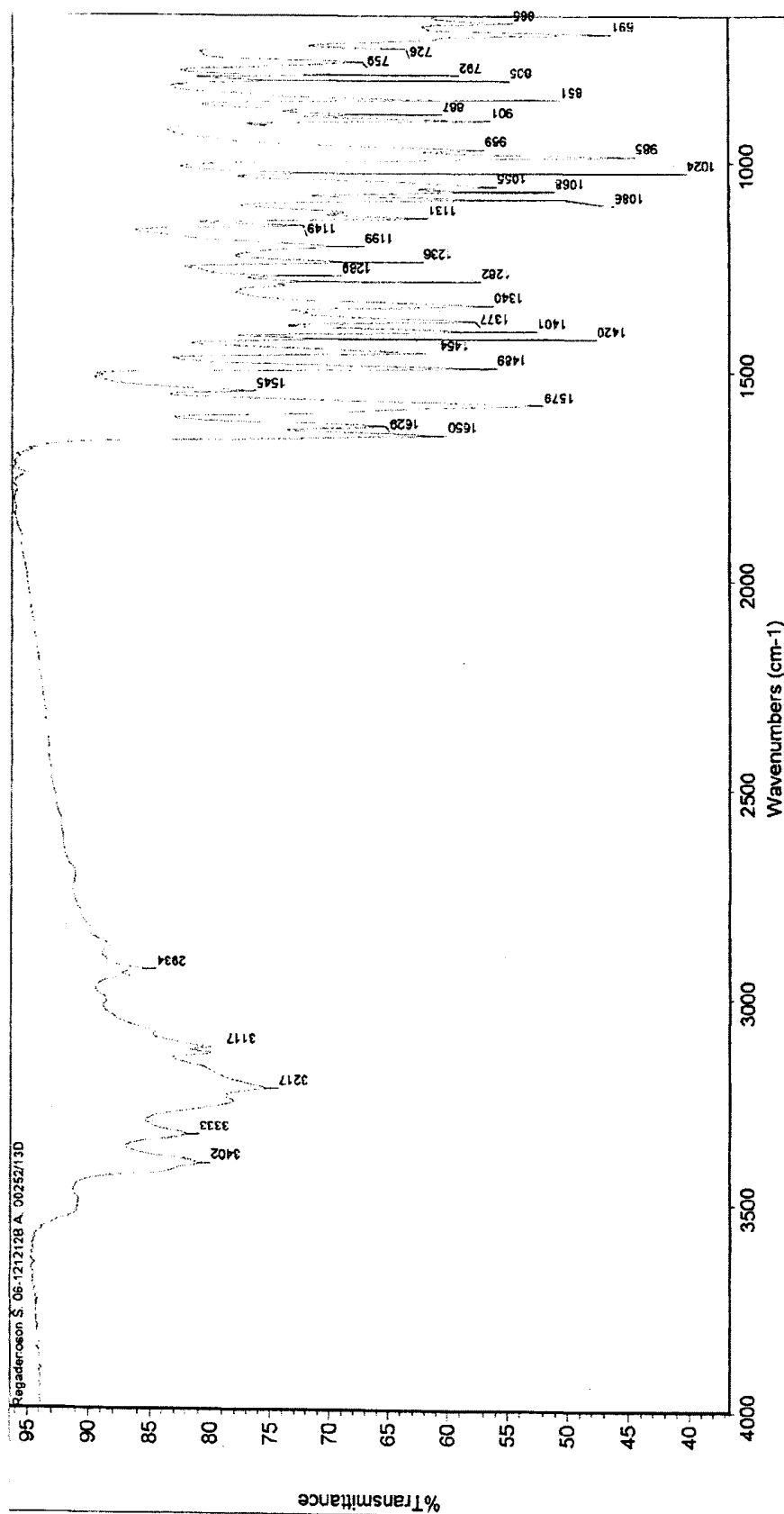
- 5 **2.** Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I podle nároku 1, který je charakterizován pomocí diferenční skenovací kalorimetrie, kde vykazuje výrazný endotermický přechod v rozmezí 258 až 264 °C.
- 10 **3.** Polymorf E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I podle nároku 1 nebo 2, který je charakterizován pomocí infračerveného spektra, jež má píky o hodnotách vlnočty 3402, 3333, 3217, 3117, 2934, 1650, 1579, 1489, 1420, 1340, 1282, 1236, 1131, 1068, 1024, 985, 901, 851, 805, 691.
- 15 **4.** Způsob přípravy polymorfu E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že zahrnuje následující operace
 - a) smíchání 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu s polárním aprotickým rozpouštědlem, s výhodou s dimethylsulfoxidem, a zahřátí za vzniku nasyceného roztoku;
 - 20 b) ochlazení nasyceného roztoku za vzniku zakaleného roztoku 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu;
 - c) přidání zakaleného roztoku 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu do protického rozpouštědla, s výhodou methanolu, za současného vyloučení gelovité sraženiny;
 - d) zahřátí vyloučené gelovité sraženiny v protickém rozpouštědle k varu za vzniku suspenze polymorfu E;
 - 25 e) ochlazení suspenze, izolace a vysušení polymorfu E.
- 30 **5.** Způsob přípravy polymorfu E 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I podle nároku 4, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se jako výchozí surovina použije jakákoli známá polymorfní forma 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I, případně jejich směs, popřípadě zahuštěný reakční roztok.



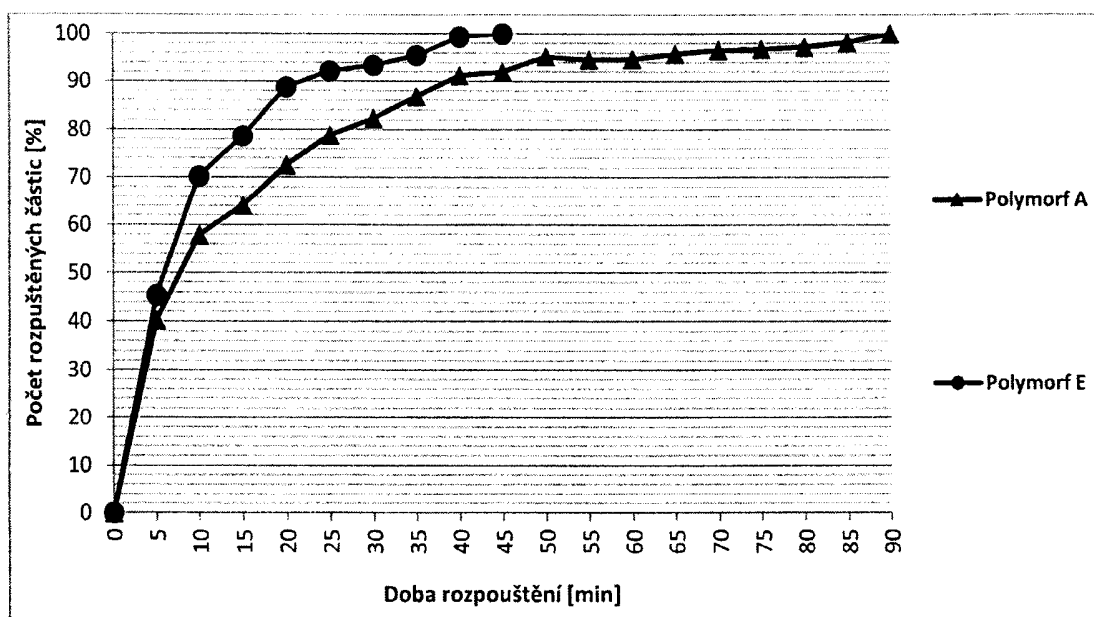
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4

Konec dokumentu
