

# PATENTOVÝ SPIS

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2011-517**  
(22) Přihlášeno: **22.08.2011**  
(40) Zveřejněno: **06.03.2013**  
(**Věstník č. 10/2013**)  
(47) Uděleno: **26.07.2013**  
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **04.09.2013**  
(**Věstník č. 36/2013**)

(11) Číslo dokumentu:

## 304 053

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:  
**C07H 19/167** (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

WO 2007/092372 A1; WO 2006/125211 A1.

Palle V. P. et al: Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002, 12 (20): 2935-9; Structure-affinity relationships of the affinity of 2-pyrazolyl adenosine analogues for the adenosine A2A receptor..

(73) Majitel patentu:

FARMAK, a. s., Olomouc, CZ

(72) Původce:

Kvapil Lubomír RNDr. Ph.D., Slatinice, CZ

Hradil Pavel Prof. Ing. Csc., Hlušovice, CZ

Grepl Martin Ing. Ph.D., Hlušovice, CZ

Šlězár Petr Ing., Olomouc, CZ

Dvořáková Barbora Mgr., Most 1, CZ

(74) Zástupce:

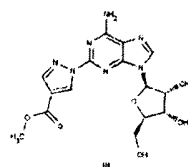
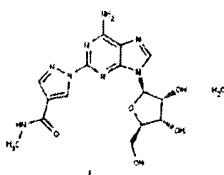
Rott, Růžička & Guttman Patentové, známkové a  
advokátní kanceláře, Ing. Jana Fuchsová, Vinohradská  
37, Praha 2, 12000

(54) Název vynálezu:

**Způsob přípravy 2-[4-  
[(methylamino)karbonyl]-1-H-pyrazol-1-  
yl]adenosinu monohydrátu**

(57) Anotace:

Způsob přípravy 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-H-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu vzorce I reakcí 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce III s roztokem methylaminu v nevodném rozpouštědle popřípadě v kombinaci s dalším inertním rozpouštědlem za vzniku bezvodého 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-H-pyrazol-1-yl]adenosinu, který se přidáním vody přivede na 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-H-pyrazol-1-yl]adenosin monohydrát vzorce I.

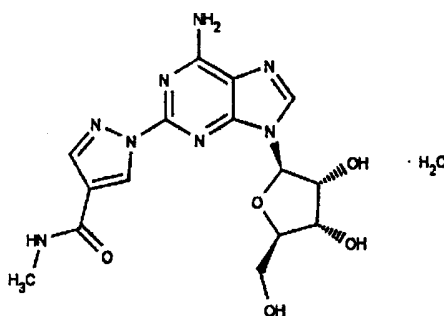


CZ 304053 B6

**Způsob přípravy 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu**

5 Oblast techniky

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



I

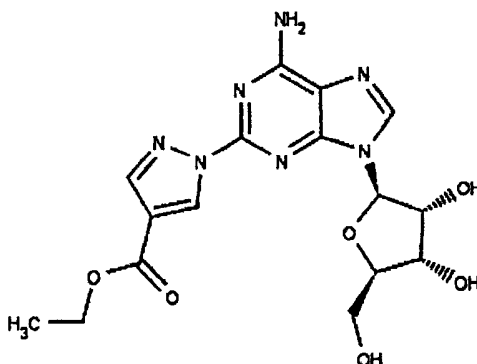
10 který je známý jako Regadenoson a používá se jako koronární vasodilatátor k diagnostickým účelům při radionuklidovém vyšetřování srdce.

15

Dosavadní stav techniky

Dosud známé postupy přípravy I jsou založené na reakci 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II

20



II

s vodným roztokem methylaminu.

25

Je známá reakce 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II se 40% roztokem methylaminu ve vodě při 65 °C po dobu 24 hodin s výtěžkem 75 % (J. Zablocki a spol. – Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids 2001, 20(4-7) 343 nebo US 6 403 567).

30

Další známé provedení využívá reakce 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II se 40% roztokem methylaminu ve vodě při laboratorní teplotě po dobu 4 hodin, následné odstranění

přebytku methylaminu za sníženého tlaku, ochlazení reakční směsi a odfiltrování produktu ve výtěžku 78,4 % a čistotě 99,6 % HPLC (WO 2007 / 092 372 a US Pat Appl. 2010 / 0 267 953).

5 Velmi podobný postup reakce 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II se 40% roztokem methylaminu ve vodě při laboratorní teplotě po dobu 4 hodin, zahuštění od přebytku methylaminu, ochlazení k 0 °C po dobu 2 hodin a následná izolace bez uvedení výtěžku i čistoty je uveden v přihlášce WO 2008 / 143 667.

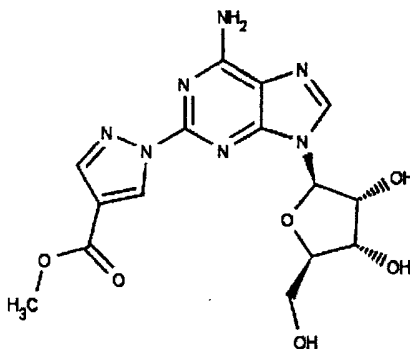
10 V literatuře je také zmíněna možnost syntézy derivátů I pomocí „cross – coupling“ reakce mezi 2-jodadenosinem a deriváty 4-pyrazolokarboxylové kyseliny (Drugs of the Future 2004, 29 (10), 998 a v patentu US 6 514 949). Tato syntéza však není dostatečně doložená experimentálními údaji, lze však předpokládat, že se zde používají komplexy s těžkými kovy a syntetizovaný derivát se pak musí pracně (chromatograficky) čistit.

15 Nevýhody shora uvedených postupů:

- Jak výchozí sloučenina 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosin vzorce II tak i produkt 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosin vzorce I jsou ve vodě, vodném roztoku methylaminu i v běžných organických rozpouštědlech málo rozpustné.
- 20 – Reakce podle shora uvedených postupů proto probíhá v suspenzi, která obsahuje směs výchozího 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II i produktu 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I, mezi odborníky v oboru je známo, že v takovýchto případech může nastat neúplná konverze výchozí sloučeniny na produkt.
- 25 – Další nevýhodou je používání vodného roztoku methylaminu, protože bylo zjištěno, že při reakci esteru a vodného roztoku aminu se může zapojit do reakce i voda a může tak vzniknout jako nečistota odpovídající kyselina resp. její sůl s použitým aminem (viz. J. March – Advanced Organic Chemistry, J. Wiley Interscience Publ., 4th Edition 1992, str. 424).
- 30

### Podstata vynálezu

35 Uvedené nevýhody, zejména nevýhody spojené s prováděním reakce v suspenzi a používáním vodného methylaminu odstraňuje postup podle vynálezu, kterým je způsob přípravy 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu vzorce I vyznačující se reakcí 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce III



III

40

s methylaminem v nevodném rozpouštědle.

Jako nevodné rozpouštědlo methylaminu lze použít organické rozpouštědlo ze skupiny alkoholů jako je methanol a ethanol, s výhodou methanol, nebo rozpouštědlo ze skupiny polárních aprotických rozpouštědel, s výhodou dimethylsulfoxid.

- 5 Jak bylo zjištěno nevodné roztoky methylaminu překvapivě rozpouštějí jak výchozí 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosin vzorce III tak vznikající 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosin mnohem snáze než roztok methylaminu ve vodě. Další podstatou vynálezu je, že se reakce provede v kombinaci s dalším inertním rozpouštědlem, které se použije na rozpouštění 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce III před jeho  
10 reakcí s methylaminem v nevodném rozpouštědle. Jako další inertní rozpouštědlo lze použít zejména rozpouštědla ze skupiny polárních aprotických rozpouštědel s výhodou dimethylsulfoxid.

- 15 Po ukončené reakci se přebytečný methylamin vakuově odstraní, čímž se sníží rozpustnost vzniklého 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu, který se může v některých případech vyloučit v gelovité bezvodé formě. Přidáním vody přejde na výsledný 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosin monohydrát vzorce I.

- 20 Díky tomu, že aminolýza probíhá v nevodném prostředí, nedochází k hlavní konkurenční reakci – hydrolýze a vzniku kyseliny. Po ukončení reakce je však potřeba přidat vodu a převést velmi špatně izolovatelnou formu bezvodého regadenosonu na dobře filtrovatelný monohydrát vzorce I. V této fázi, však již vedlejší reakce nehrozí.

- 25 Reakci podle předkládaného vynálezu je možné provádět v širokém rozmezí teplot, s výhodou zejména při laboratorní teplotě, ale také při mírně zvýšených teplotách až do cca 50 °C v uzavřených nádobách.

- 30 Protože v některých zmíněných postupech (WO 2007/092372) nejsou uvedeny dosažené výtěžky i čistota, byla provedena reprodukce postupu v uvedené přihlášce. Výsledky jsou shrnuty v následujícím přehledu a pro porovnání jsou doplněny výsledky podle příkladu 1 předkládaného vynálezu.

Tabulka č. 1

35

		Výtěžek	Čistota HPLC	nečistoty	
		/%/	/%/	„ester“ /%/	„kyselina“ /%/
1	PCTWO2007/092372, př.4 ( doba reakce 4 hodiny)	71,4	96,8	2,74	0,33
2	PCTWO2007/092372, př.4 (doba reakce 24 hod )	74,3	98,2	1,40	0,24
3	Předkl. vynález , př. 1	86,5	99,9	0,03	0,03

Pro všechny pokusy byl použit výchozí 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosin vzorce II a 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosin vzorce III ve stejné kvalitě (čistota 99,8 % HPLC).

5 Z tabulky je patrné, že při reprodukci postupu podle přihlášky WO 2007/092372, př. 4, kdy byla přesně dodržena v přihlášce uvedená reakční doba 4 hodiny bylo dosaženo výtěžku 71,4 % a čistoty 96,8 % HPLC, přičemž zůstalo nezreagováno 2,74 % „esteru“ 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II) a jako nečistota vznikající reakcí s vodou se objevilo 0,33 %  
10 „kyseliny“ resp. její methylaminové soli, která se překvapivě velmi špatně odstraňuje. Doba reakce byla tedy prodloužena na 24 hodin, čímž se mírně zvýšil jak výtěžek (74,3 %) i čistota (98,2 % HPLC), avšak stále zůstalo nezreagováno relativně velké množství 1,40 % 2-(4-ethoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce II.

15 Naproti tomu postupem podle předkládaného vynálezu bylo dosaženo čistoty 99,9 % HPLC a nezreagováno zůstalo pouze 0,03 % 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce III, rovněž množství špatně odstranitelné nečistoty „kyseliny“ je výrazně nižší (0,03 %).

20 Při výrobě lékových substancí a diagnostik je nejdůležitějším parametrem kvalita resp. čistota připraveného produktu a také čistota meziproduktů (viz např. ICH Harmonized Tripartite Guideline, Impurities in New Drug Substances Q3A(R2), 2006). Čistota dosažená podle WO 2007/092372 se pohybovala kolem 98 % HPLC, avšak pouze v postupu podle předkládaného vynálezu bylo dosaženo čistoty přes 99 % HPLC. To znamená, že pouze v případě produktu podle předkládaného vynálezu není nutné provádět jeho přečištění např. krystalizací, zatímco u produktů připravených podle WO 2007/092372 bude pravděpodobně nutné provést navíc nějaké přečištění.  
25

Výhody způsobu podle předloženého vynálezu jsou následující:

- Reakce probíhá v homogenním roztoku, který zaručuje snadnou kontrolu průběhu reakce  
30 a její vysokou konverzi s minimálním množstvím nečistot;
- Reakce probíhá za mírných reakčních podmínek;
- Výsledkem je vyšší čistota i výtěžek.  
35

#### Příklady provedení vynálezu

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

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) byla měřena s použitím Perkin Elmer instrumentace, model Pyris Diamond DSC s vyhodnocením pomocí Pyris software verze 5.0.

45 Vzorky byly analyzovány v otevřených hliníkových pánvičkách v dusíkové atmosféře.

#### Příklad 1

50 Suspenze 1 g 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu (2,556 mmol) v 10 ml 40% (w/v) methylaminu v methanolu se míchá v uzavřené baňce při 20 °C do vzniku roztoku (cca 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 přizahustí, přičemž se vyloučí gelovitá sraženina bezvodého 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu. Pozvolným přidáním

10 ml vody přejde gelovitá sraženina na jemnou práškovitou sraženinu, která se po rozmíchání odsaje, promyje důkladně 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 tj. 86,5 % o čistotě 99,9 % HPLC.

Diferenční skenovací kalorimetrie DSC vykazuje *endo* přechody při 177 °C a 188 °C.

#### 10 Příklad 2

15 Suspenze 2 g 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu (5,111 mmol) a 6 ml DMSO se za míchání vyhřeje na cca 50 °C. Ke vzniklému roztoku se po ochlazení na 20 °C přilije 14 ml 40% (w/v) methylaminu v methanolu. Reakční roztok se pak ponechá stát v uzavřené baňce při 20 °C po dobu 20 hodin. Roztok se pak zfiltruje s aktivním uhlím a filtrát se opatrně přizahustí, přičemž se vyloučí gelovitá sraženina bezvodého 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]-adenosinu. Pozvolným přidáním 20 ml vody přejde gelovitá sraženina na jemnou práškovitou sraženinu, která se po rozmíchání odsaje, promyje důkladně vodou, pak methanolem a vakuově vysuší do konstantní hmotnosti.

20 Získá se tak 1,69 g 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu tj. 80,9 % o čistotě 99,9 % HPLC.

#### 25 Příklad 3

30 Suspenze 1 g 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu (2,556 mmol) v 10 ml 40% (w/v) methylaminu v ethanolu se v tlakové zkumavce míchá na lázni o teplotě 50 °C. Během cca 4 hodin vznikne roztok, který se míchá při uvedené teplotě po dobu dalších 8 hodin. Poté se reakční roztok ochladí, zfiltruje s aktivním uhlím a filtrát se vakuově přizahustí, přičemž vznikne gelovitá sraženina bezvodého 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu. Pozvolným přidáním 8 ml vody vznikne jemná práškovitá sraženina, která se po rozmíchání odsaje, promyje vodou, pak methanolem a vakuově vysuší do konstantní hmotnosti.

35 Získá se tak 0,9 g 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu tj. 86,3 % o čistotě 99,6 % HPLC.

#### 40 Příklad 4

45 Do 8 ml 20% (w/v) methylaminu v dimethylsulfoxidu se přidá 1,3 g 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu (3,322 mmol). Vzniklý roztok se míchá v tlakové zkumavce na lázni o teplotě 50 °C po dobu 12 hodin. Poté se reakční roztok ochladí, zfiltruje se s aktivním uhlím a filtrát se vakuově přizahustí. K reakčnímu roztoku se pak přidá opatrně 15 ml vody. Vyloučená jemná práškovitá sraženina se pak odsaje, promyje vodou, pak methanolem a vakuově usuší do konstantní hmotnosti.

50 Získá se tak 1,15 g 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu tj. 84,6 % o čistotě 99,4 % HPLC.

#### Průmyslová využitelnost

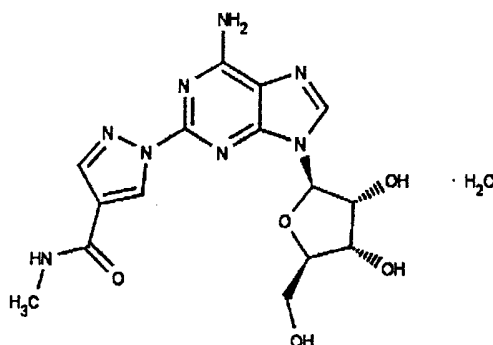
55 Způsob přípravy 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu vzorce I podle předkládaného vynálezu je možno uplatnit ve výhodných technicko-ekonomicko-

kých podmínkách, při současném dodržení vysoké čistoty produktu a vyšší výtěžnosti i čistotě a to za mírných reakčních podmínek.

5

## PATENTOVÉ NÁROKY

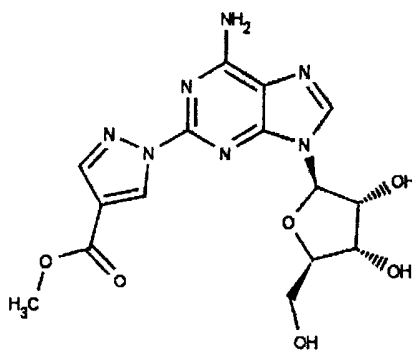
- 10 1. Způsob přípravy 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu vzorce I



I

15 **vyznačující se**

- a) reakcí 2-(4-methoxykarbonylpyrazol-1-yl)adenosinu vzorce III



III

20

s methylaminem v nevodném rozpouštědle za vzniku bezvodého 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu,

- 25 b) přidavkem vody a vznikem 2-[4-[(methylamino)karbonyl]-1-*H*-pyrazol-1-yl]adenosinu monohydrátu vzorce I.

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se jako nevodné rozpouštědlo methylaminu použije organické rozpouštědlo ze skupiny alkoholů jako je methanol a ethanol nebo polární aprotické rozpouštědlo jako je dimethylsulfoxid.

30

3. Způsob podle nároků 1 a 2, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se reakce provede v kombinaci s dalším inertním rozpouštědlem.

5 4. Způsob podle nároků 1 až 3, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se jako další inertní rozpouštědlo použije rozpouštědlo ze skupiny polárních aprotických rozpouštědel jako je dimethylsulfoxid.

10

---

Konec dokumentu

---