

(19)



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA GOSPODARSTVO

URAD RS ZA INTELEKTUALNO LASTNINO

(10) **SI 23291 A**

(12)

PATENT

(21) Številka prijave: **201000048**

(51) Int. Cl. (2011.01)

(22) Datum prijave: **09.02.2010**

C07D 333/00

A61K 31/4523

A61P 19/00

(45) Datum objave: **31.08.2011**

(72) Izumitelji: **Ručman Rudolf, 1211 Ljubljana, SI;**
Zupet Pavel, 8000 Novo mesto, SI;
Sunil Doshi, Bur Dubai, Dubai, AE

(73) Imetnik: **SILVERSTONE PHARMA,**
Aeulestrasse 74, 9490 Vaduz, BE

(74) Zastopnik: **Patentna pisarna d.o.o., Čopova 14, p.p. 1725, 1001 Ljubljana, SI**

(54) **NOVE ADICIJSKE SOLI RALOXIFENA, POSTOPEK ZA NJIHOVO PRIPRAVO IN NJIHOVA UPORABA V TERAPIJI**

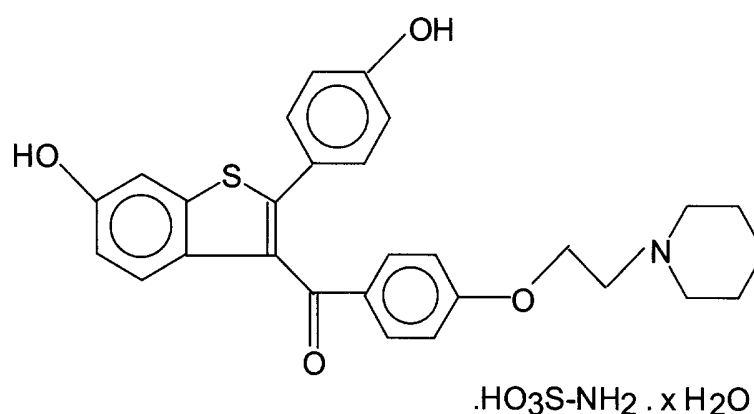
(57) Izum je s področja farmacevtske kemije in opisuje nove soli raloxifena in sicer sulfaminat v amorfni in kristalni obliki ter njegove hidrate. Spojine imajo boljšo topnost v vodi in 0,1 molarne klorovodikovi kislini kot do sedaj uporabljana sol raloxifen hidroklorid in so zato zelo

primerne za pripravo farmacevtskih preparatov za preprečevanje in zdravljenje osteoporoze, razgradnje kosti in prsnega raka pri ženskah v obdobju po menopavzi. Izum tudi omogoča pripravo nove farmacevtske oblike, primerne za zunanjo, transdermalno uporabo.

Nove adicijske soli raloxifena, postopek za njihovo pripravo in njihova uporaba v terapiji.

Področje tehnike, v katero spada izum.

Predloženi izum je s področja farmacevtske kemije in se nanaša na nove stabilne in dobro topne adicijske soli raloxifena - raloxifen sulfaminat in njegove hidrate s splošno formulo:



kjer x znaša od 0 do 2,

postopek za njihovo pripravo in njihovo uporabo za izdelavo farmacevtske oblike za preprečevanje in zdravljenje osteoporoze in prsnega raka pri ženskah v obdobju po menopavzi.

Tehnični problem.

Glavni problem preparatov, ki vsebujejo raloxifen, zlasti pri tistih z raloxifen hidrokloridom, je velika hidrofobnost in izredno nizka topnost spojin v vodi in s tem v zvezi tudi zelo nizka biološka razpoložljivost (približno 2%). Zato je potrebno za doseganje terapevtskega učinka uporabiti visoko dozo aktivne spojine, kar je pa žal povezano z večjimi stranskimi učinki.

Zato obstaja potreba po uvedbi novih adicijskih soli z boljšo topnostjo, kar bi omogočilo boljšo resorpcijo in višjo biološko razpoložljivost.

Stanje tehnike.

Raloxifen je kemijsko [6-hidroksi-2-(4-hidroksi-fenil)-benzotiofen-3-il] - [4- [2- (1-piperidil) etoksi] fenil]- metanon. Predstavlja selektivni modulator estrogenskih receptorjev (SERM) in ima estrogeno delovanje na kosti in antiestrogeno delovanje na maternico in prsa pri ženskah. Učinkovit je tako kot tamoksifen za preprečevanje in zdravljenje prsnega raka pri ženskah v postmenopavzi, vendar v nižjih dozah in z manjšim rizikom tromboembolije (V.Vogel, J. Constantino et al, JAMA, 295 (23), 2727-2741 in E.B. Connor et al, New England J. of Med., 355, 125-137, 2006).

Najbolj običajna oblika učinkovine je raloxifen hidroklorid, ki se pridobiva po postopkih opisanih v patentih EP 62503 A1, US 5,629.425, v patentni prijavi US 2007/0100147 A1 ter v člankih: J. Dominguez C. Leon, IUPAC.ORG/publications/cd/ medicinal chemistry, Dec. 2006 in J. Med. Chem., 27, 1057-1066 (1986).

Patent EP 0062504 navaja uporabo raloxifen hidroklorida kot kontracepcijskega sredstva.

Mednarodna patentna prijava WO 2004/029046 A2 opisuje tudi nove soli raloxifena: L-laktat, DL-laktat, sukcinat in malonat in njihove hidrate, ki pa niso dosti boljši od raloxifen hidroklorida.

Patent EP 584 952 opisuje uporabo kislinskih adicijskih soli raloxifena kot so: hidroklorid, sulfat, laktat, sukcinat in malonat za pripravo farmacevtskih preparatov za inhibicijo razgradnje kosti in za zdravljenje oz. preventivo osteoporoze.

Patent WO 09609045 opisuje raloxifen hidroklorid v kristalni obliki in v obliki solvata.

Patent EP 910 369 opisuje raloxifen hidroklorid v kristalni obliki, kjer so kristali manjši kot 25 µm, patent EP 826 682 pa v amorfni obliki.

Ameriški patent US 5,447.941 navaja metodo za zaviranje pljučnih hipertenzivnih bolezni z uporabo raloxifena in sorodnih benzotiofenov v obliki široke palete navedenih adicijskih soli z organskimi in anorganskimi kislinami in bazami. Ugotovili smo, da je to le teoretičen seznam možnih soli, ki ni podkrepjen z izvedbenimi primeri. Poleg tega veliko teh soli niti teoretično ni možnih, bodisi zaradi steričnih ovir v molekulah, bodisi zaradi prenizke ionske jakosti.

Patent EP 0062504 obravnava raloxifen hidroklorid in njegovo uporabo kot antiandrogeno in antiestrogeno sredstvo. Patent je že potekel.

Evropski patent EP 0839532 A1 obravnava postopek za profilakso prsnega raka z uporabo podobno široke palete adicijskih soli raloxifena, ki tudi ni podprt z izvedbenimi primeri. Patent EU 0670162 A1 opisuje farmacevtsko formulacijo, ki vsebuje raloxifen v obliki adicijskih soli v kombinaciji s površinsko aktivnimi snovmi in hidrofilnim nosilcem. S primerom je utemeljena uporaba samo ene soli: raloxifen hidroklorida.

Opis rešitve tehničnega problema.

Problem velike hidrofobnosti in slabe topnosti ter posledično nizke biološke razpoložljivosti rešujemo z uvedbo iona sulfaminske kisline v molekulo raloxifena. To bistveno izboljša topnost spojine, saj pri amorfni obliki dosežemo tudi topnost 10 g/100 ml vode pri 18°C, medtem ko je topnost običajne soli - raloxifen hidroklorida - znatno manj kot 0,1 g/100 ml.

Iz doslej znane patentne in ostale literature je razvidno, da raloxifen sulfaminat do sedaj še ni bil sintetiziran in zato predstavlja novo spojino.

Raloxifen sulfaminat pripravimo lahko izhajajoč direktno iz raloxifen baze.

Na zelo enostaven način dobimo raloxifen sulfaminat direktno z reakcijo raloxifen baze z sulfaminsko kislino v primernem topilu, v vodi, nižjem alifatskem alkoholu ali mešanici alkohola in vode pri temperaturi od 60-80°C. Po končani reakciji in ohlادitvi dobimo raloxifen sulfaminat v zelo čisti obliki in v visokem izkoristku. Pri kristalizaciji iz medijev, ki vsebujejo vodo, lahko dobimo tudi hidrate, ki vsebujejo do 2 molekuli vode.

Sestavo in strukturo spojin smo dokazali z elementno analizo, FTIR in ¹H-NMR spektri. Tališča smo določili z metodo po Koflerju in so korigirana z uporabo standardov.

Kristalno strukturo smo določili s pomočjo rentgenske praškovne difrakcije z rentgenskim difraktometrom X'Pert PRO z alfa konfiguracijo, sevanjem CuKα, v območju od 3 - 35° 2 theta.

FTIR spektre smo posneli z IR spektrometrom Perkin Elmer 727B.

¹H-NMR spektre smo posneli z NMR spektrometrom Bruker Advance DPX 300 MHz v tetradevtero metanolu.

Elementne analize so napravljene na aparaturi Perkin Elmer tip 240.

Raloxifen sulfaminat ima v primerjavi z raloxifen hidrokloridom bistveno izboljšano topnost v vodi.

Topnost soli raloxifena v vodi pri 18°C, izražena v g soli, ki se raztopi v 100 ml vode:

raloxifen sulfaminat, dihidrat	0,08
raloxifen sulfaminat, amorfni	10,0
raloxifen hidroklorid	0,055

Ker se soli raloxifena uporabljajo peroralno, je pomembna predvsem topnost v želodčnem soku, katerega glavna sestavina je razredčena klorvodikova kislina. Namreč, zaradi nizke pH vrednosti in prisotnosti kloridnih ionov, se topnost katere koli uporabljene soli zniža blizu nivoja topnosti raloxifen hidroklorida.

Topnost soli raloxifena v 0,1 mol/l HCl pri 18°C (g/100 ml):

raloxifen sulfaminat , dihidrat	0,03
raloxifen sulfaminat (amorfni)	0,04
raloxifen hidroklorid	0,009

Metoda za določanje topnosti je posebej opisana v primeru 5.

Topnost raloxifen hidroklorida se v prisotnosti kloridnih ionov močno zmanjša. Presenetljivo pa je, da je topnost raloxifen sulfaminata znatno boljša. To si razlagamo s tem, da prisotna amino skupina iz sulfaminatnega iona nase veže del kloridnih ionov in se njihova koncentracija v raztopini zato zmanjša. Tako je negativni vpliv kloridnih ionov na topnost ublažen.

Raloxifen sulfaminat v kristalni ali amorfni obliki, ali kot dihidrat, je zato zelo primeren za pripravo farmacevtske formulacije za peroralno uporabo. Preparati so namenjeni za preprečevanje in zdravljenje osteoporoze, prsnega raka pri ženskah v obdobju po menopavzi ter za inhibicijo razgradnje kosti.

V smislu izuma ima raloxifen sulfaminat presenetljivo boljšo raztopnost v razredčeni raztopini klorvodikove kisline, kar omogoča višjo biološko sprejemljivost v primerjavi z dosedaj znanimi adicijskimi solmi raloxifena.

Farmacevtski pripravki za peroralno uporabo so lahko v obliki kapsul, tablet ali filmsko obloženih tablet z podaljšanim delovanjem. Pripravljamo jih po znanih postopkih

farmacevtske tehnike. Tablete oziroma kapsule vsebujejo od 50 do 150 mg raloksifen sulfaminata.

Zaradi hidrofobnosti aktivne snovi je smiselna tudi izdelava preparatov v obliki obliža za lokalno, transdermalno uporabo. To omogoča delovanje skozi daljše obdobje in zaradi manjše obremenitve organizma tudi manj stranskih pojavov.

Transdermalni sistem je sestavljen iz hrbtne strani nepropustne za aktivno snov, polimerne plasti, ki služi kot rezervar za aktivno učinkovino in je občutljiva na pritisk in zaščitno folijo, ki je na več mestih perforirana, da skozi njo lahko pronica aktivna učinkovina ter mehanske zaščitne folije, ki se odstrani tik pred uporabo.

Izum pojasnjujejo naslednji izvedbeni primeri, ki so namenjeni za pojasnitev postopkov in v nobenem primeru izuma ne omejujejo:

PRIMER 1. Raloxifen sulfaminat - dihidrat

Raloxifen bazo (2 g, 4,2 mmola) suspendiramo v 10 ml etanola in 1 ml vode, dodamo sulfaminsko kislino (0,41 g, 4,5 mmola), segrevamo na 70 - 80°C in mešamo, da se vse raztopi. Nato ob mešanju in postopnem ohlajevanju počasi (po 1 ml) dodamo skupno 16 ml vode. Kristalno suspenzijo pustimo stati preko noči pri 0°C. Filtriramo in kristale speremo z ledeno vodo. Posušimo jih v vakuumu pri 50°C. Dobimo 2,11 g rumenkastih kristalov (88,4%), ki se talijo pri 138 - 142°C.

Elementna analiza za $C_{28}H_{30}N_2O_7S_2 \cdot 2 H_2O$:

izračunano: C: 55,43% H: 5,39% N: 4,62%

najdeno: C: 55,46% H: 5,68% N: 4,52%

FTIR spekter (cm^{-1}): 3500, 3380, 2772, 2362, 1601, 1532, 1503, 1464, 1357, 1252, 1173, 1050, 953, 903, 829, 620, 560.

1H -NMR spekter: 1,65 (s, širok), 1,85 (t, $J=5,2$ Hz), 3,3 (p, $J=1,6$ Hz), 3,52 (t, $J=4,9$ Hz), 4,36 (t, $J=4,75$ Hz), 6,61 (dt, $J_1=4,7$ Hz, $J_2=2,87$ Hz), 6,85 (d, $J=2,27$ Hz), 6,9 (d, $J=9,07$ Hz), 7,16 (dt, $J_1=8,68$ Hz, $J_2=2,83$ Hz), 7,28 (d, $J=2,11$ Hz), 7,42 (d, $J=8,78$ Hz), 7,71 (dt, $J=8,91$ Hz).

XRD difraktogram:

No.	Položaj [$^{\circ}$ 2 theta]	Razdalja d [Å]	Relat. intenziteta [%]
1	8,2819	10,66747	13,21
2	12,1877	7,25623	13,87
4	13,3750	5,73606	10,63
7	17,9145	4,94740	54,91
9	19,1015	4,64256	19,14
10	19,7490	4,49178	19,24
11	20,5060	4,32764	100,00
14	22,6202	3,92771	12,09
15	23,3294	3,80989	13,60
16	23,5078	3,78138	10,33
18	24,5112	3,62880	15,48
19	24,7390	3,59590	13,92
20	25,2472	3,52466	14,10
23	26,5239	3,35784	10,09
25	27,8511	3,20076	13,12
27	28,8281	3,09448	10,68
28	29,8260	2,99317	13,23
30	31,1460	2,86927	18,90
32	32,2302	2,77518	10,86
35	35,5084	2,52612	12,93

PRIMER 2. Raloxifen sulfaminat - amorfni.

Raloxifen bazo (2,0 g, 4,2 mmola) suspendiramo v 15 ml etanola in 0,5 ml vode, dodamo sulfaminsko kislino (0,405 g, 4,2 mmola), segrejemo na 70 - 80 $^{\circ}$ C in mešamo, da se vse raztopi. Raztopino nato ohladimo na 30 $^{\circ}$ C in jo filtriramo skozi fin filter (5 μ m) in filtrat počasi dokapavamo v 220 ml metil-terc.butiletra, ki ga intenzivno mešamo. Suspenzijo filtriramo in trdno snov na filtru dobro speremo z metil-terc.butiletrom. Nato jo osušimo v vakuumu pri 50 $^{\circ}$ C. Dobimo 2,34 g rumenkaste snovi (98,07%) s tališčem pri 144 - 148 $^{\circ}$ C.

Spojina se lahko topi v vodi: 10 g/100ml vode , pri daljšem stanju ali predvsem pri mešanju lahko pride do rekristalizacije.

Elementna analiza za C₂₈H₃₀N₂O₇S₂:

Izračunano: C: 58,93% H: 5,30% N: 4,91%

Najdeno: C: 58,92% H: 5,78% N: 4,60%

FTIR (cm⁻¹): 2953, 1599, 1539, 1503, 1469, 1423, 1360, 1252, 1170, 1045, 908, 839, 807.

XRD difraktogram: ni reflektsov, amorfna snov.

PRIMER 3. Raloxifen sulfaminat - kristali iz vode.

Amorfni raloxifen sulfaminat (0,72 g), pridobljen v primeru 2, raztopimo v 7 ml vode, da nastane popolnoma bistra raztopina. Raztopino mešamo z magnetnim mešalom 1 uro, da pomotni in prične kristalizirati, nato jo pustimo stati še preko noči pri 0°C. Kristale filtriramo in speremo z ledeno vodo. Posušimo jih v vakuumu pri 50°C. Dobimo 0,67 g (93%) kristalnega raloxifen sulfaminata s tališčem 141 - 145°C.

Analiza sestave ter FTIR, XRD in NMR spektri potrjujejo formulo: $C_{28}H_{30}N_2O_7S_2 \cdot 2 H_2O$.

PRIMER 4. Raloxifen sulfaminat - hemihidrat.

Raloxifen bazo (2,0 g, 4,2 mmola) suspendiramo v 17 ml izopropanola in 3 ml vode. Dodamo sulfaminsko kislino (0,41 g, 4,5 mmola) in pri 80°C mešamo, da se vse raztopi. Nato med počasnim ohlajevanjem postopoma (po 1ml) dodamo skupno 18 ml vode. Pustimo, da pri 0°C kristalizira preko noči. Kristale odfiltriramo, jih speremo z ledeno vodo in posušimo v vakuumu pri 50°C. Dobimo 1,85 g (77,5%) raloxifen sulfaminata hemihidrata s tališčem od 144 - 148°C.

Elementna analiza za $C_{28}H_{30}N_2O_7S_2 \cdot 0,5 H_2O$:

Izračunano: C: 58,01% H: 5,39% N: 4,83%

Najdeno: C: 57,94% H: 5,72% N: 4,76%

FTIR (cm⁻¹):

3495, 3354, 3016, 2957, 2889, 2770, 2703, 2602, 2363, 1900, 1601,
1531, 1501, 1464, 1358, 1250, 1174, 1123, 1047, 952, 905, 822,
772, 648, 619, 557, 525, 469.

XRD difraktogram:

No.	Položaj [$^{\circ}$ 2 theta]	Razdalja d [Å]	Relat. intenziteta [%]
2	8,2714	10,68090	27,54
4	12,1449	7,28167	13,66
5	13,3750	6,61462	13,26
6	15,4069	5,74654	11,28
9	17,9096	4,94876	58,48
13	20,4605	4,33716	100
14	21,4783	4,13387	15,04
16	22,6094	3,92956	24,29
17	23,2979	3,81498	25,80
18	24,4824	3,63301	12,63
19	24,7140	3,59949	35,08
20	25,2247	3,52777	43,33
22	26,4808	3,36321	17,30
27	29,8173	2,99402	10,59
29	31,1186	2,87172	11,59

PRIMER 5. Določitev topnosti raloxifen sulfaminata.

200 mg preiskovane snovi suspendiramo v 200 ml vode, oziroma v 200 ml 0,1 molarne klorvodikove kisline in pri 18 $^{\circ}$ C mešamo 6 ur. Netopni del nato odfiltriramo, 100 ml filtrata pa v iztehtani bučki zamrznemo in nato liofiliziramo. Suhi preostanek točno iztehtamo in izračunamo topnost, ki jo izrazimo v g /100ml vode oz. klorvodikove raztopine.

PRIMER 6. Priprava obliža za transdermalno uporabo.

V topilu sestavljenem iz 5 g izopropanola, 5 g etanola, 2,5 g butanona in 7 g 1-dodekanola raztopimo 2,5 g amornega raloxifen sulfaminata.

Posebej pripravimo 66 g zamreženega akrilatnega polimera iz: 2-etil-heksilakrilata, vinil acetata in akrilne kisline v mešanici topil: etilacetat/n-heksan/izopropanol/ acetilaceton/ toluen = 40/25/25/1/4 (volumski deli) in to raztopino dodamo med močnim mešanjem k predhodno pripravljeni raztopini raloxifen sulfaminata.. Dobro zmešamo in dodamo še 0,7 g aluminijevega acetilacetonata in pri 20 $^{\circ}$ C mešamo še 4 ure, da zmes polimerizira.

Smolnato lepljivo snov nato razprostremo na silikonizirani foliji polietilena v debelini 0,35 mm in topilo odstranimo s sušenjem pri 55°C. Nato adhezivni film prekrijemo s tanko poliestersko folijo debeline 0,15 mm, ki jo na določenih mesti perforiramo s posebnim orodjem in nato zaščitimo še s krovno folijo.

PRIMER 7. Tablete.

Sestavina:	mg:
Raloxifen sulfaminat	60,00
Laktoza monohidrat	162,00
Celuloza Avicel 120	23,70
Kroskarmeloza- natrijeva sol	2,00
Koloidni silicijev dioksid	0,30
<u>Magnezijev stearat</u>	<u>2,00</u>
	250,00

Seznam slik.

Fig.1. FTIR spekter amornega raloxifen sulfaminata.

Fig.2. FTIR spekter raloxifen sulfaminata hemihidrata.

Fig.3 FTIR spekter raloxifen sulfaminata dihidrata.

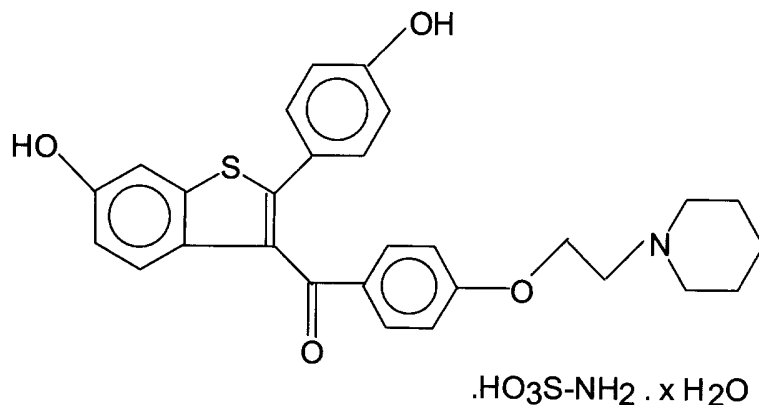
Fig. 4. XRD difraktogram raloxifen sulfaminata hemihidrata.

Fig. 5. XRD difraktogram raloxifen sulfaminata dihidrata.

Fig. 6. XRD difraktogram amornega raloxifen sulfaminata.

Patentni zahtevki.

1. Raloxifen sulfaminat in njegovi hidrati s splošno formulo:



kjer x znaša od 0 do 2.

2. Raloxifen sulfaminat po zahtevku 1 v amorfni obliki.
3. Raloxifen sulfaminat po zahtevku 1 v kristalni obliki.
4. Raloxifen sulfaminat dihidrat po zahtevku 1 v kristalni obliki z naslednjim rentgenskim praškovnim difraktogramom (XRD):

No.	Položaj [° 2 theta]	Razdalja d [Å]	Relat. intenziteta [%]
1	8,2819	10,66747	13,21
2	12,1877	7,25623	13,87
4	13,3750	5,73606	10,63
7	17,9145	4,94740	54,91
9	19,1015	4,64256	19,14
10	19,7490	4,49178	19,24
11	20,5060	4,32764	100,00
14	22,6202	3,92771	12,09
15	23,3294	3,80989	13,60
16	23,5078	3,78138	10,33
18	24,5112	3,62880	15,48
19	24,7390	3,59590	13,92
20	25,2472	3,52466	14,10
23	26,5239	3,35784	10,09
25	27,8511	3,20076	13,12
27	28,8281	3,09448	10,68
28	29,8260	2,99317	13,23
30	31,1460	2,86927	18,90
32	32,2302	2,77518	10,86
35	35,5084	2,52612	12,93

5. Raloxifen sulfaminat hemihidrat po zahtevku 1 v kristalni obliki z naslednjim rentgenskim praškovnim difraktogramom (XRD):

No.	Položaj [$^{\circ}$ 2 theta]	Razdalja d [Å]	Relat. intenziteta [%]
2	8,2714	10,68090	27,54
4	12,1449	7,28167	13,66
5	13,3750	6,61462	13,26
6	15,4069	5,74654	11,28
9	17,9096	4,94876	58,48
13	20,4605	4,33716	100
14	21,4783	4,13387	15,04
16	22,6094	3,92956	24,29
17	23,2979	3,81498	25,80
18	24,4824	3,63301	12,63
19	24,7140	3,59949	35,08
20	25,2247	3,52777	43,33
22	26,4808	3,36321	17,30
27	29,8173	2,99402	10,59
29	31,1186	2,87172	11,59

5. Uporaba raloxifen sulfaminata ali njegovih hidratov po zahtevkih od 1 do 5 za pripravo farmacevtske oblike, ki omogoča lahko sproščanje v želodčnem soku.
6. Uporaba raloxifen sulfaminata ali njegovih hidratov po zahtevkih od 1 do 5 za pripravo farmacevtske oblike, ki omogoča peroralno uporabo.
7. Uporaba raloxifen sulfaminata ali njegovih hidratov po zahtevkih od 1 do 5 za pripravo farmacevtske oblike, ki omogoča transdermalno uporabo.
8. Farmacevtska sestava po zahtevkih od 5 do 7, namenjena za uporabo pri preventivi in zdravljenju prsnega raka, osteoporoze in razgradnje kosti.

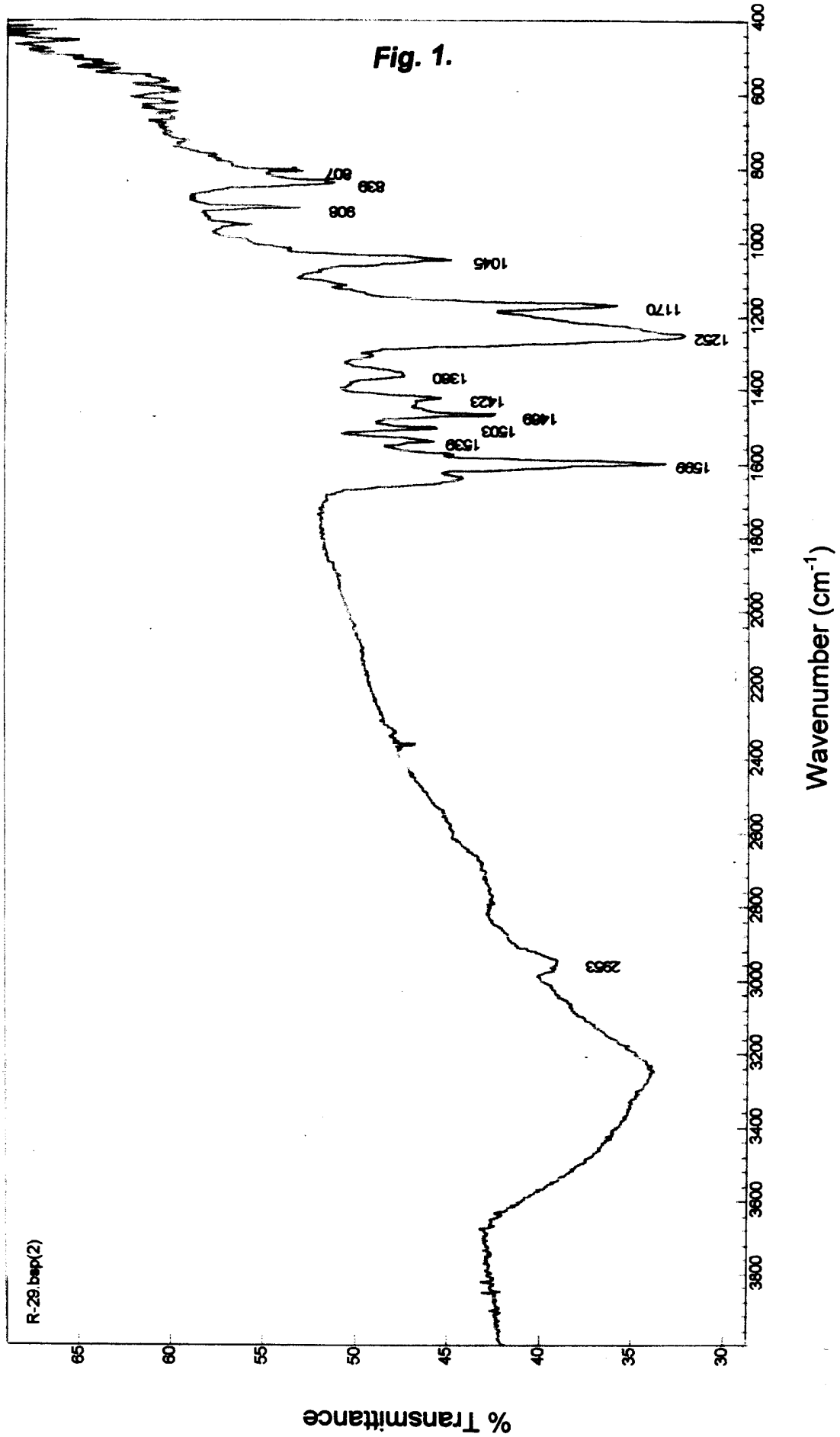
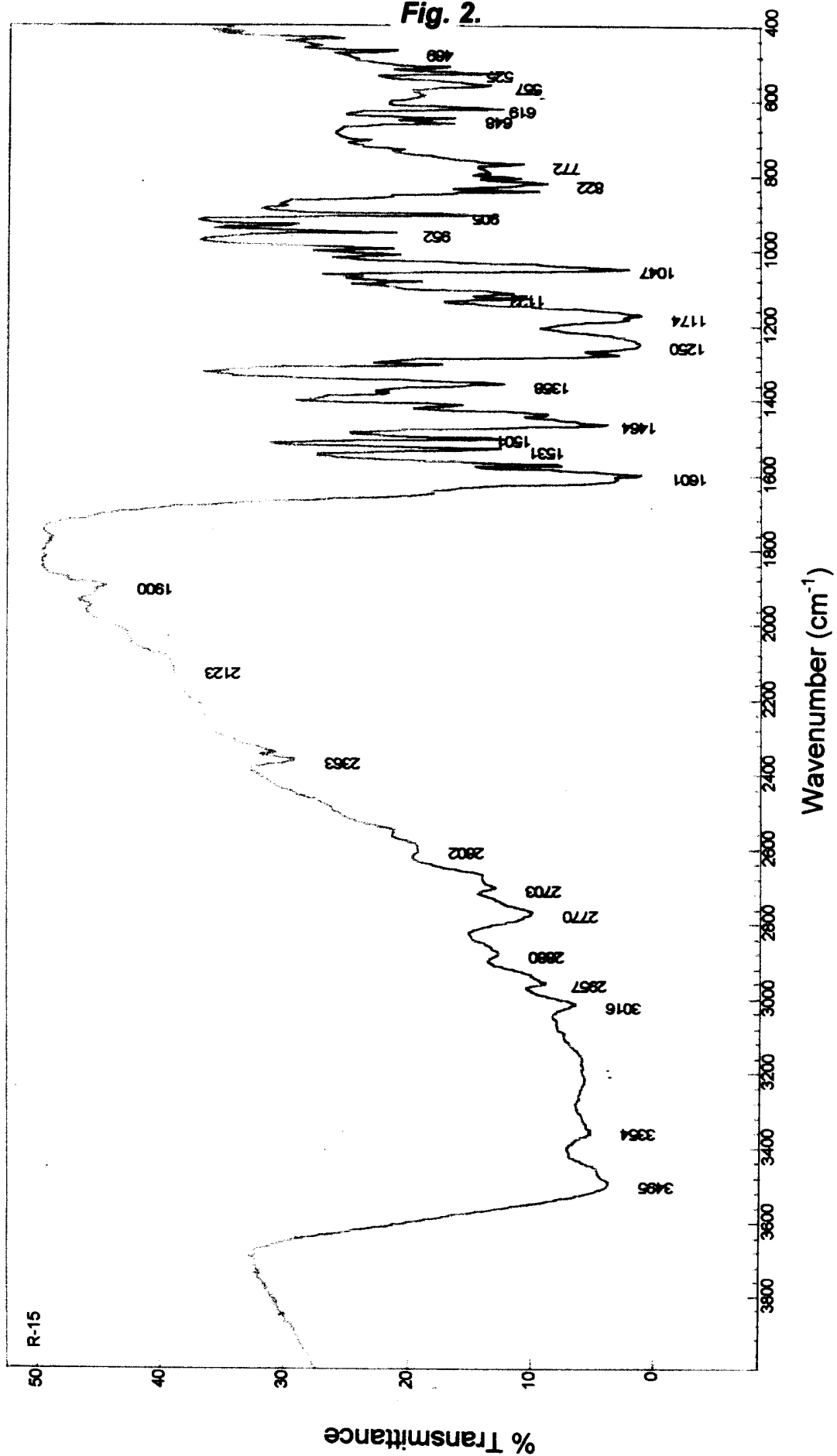
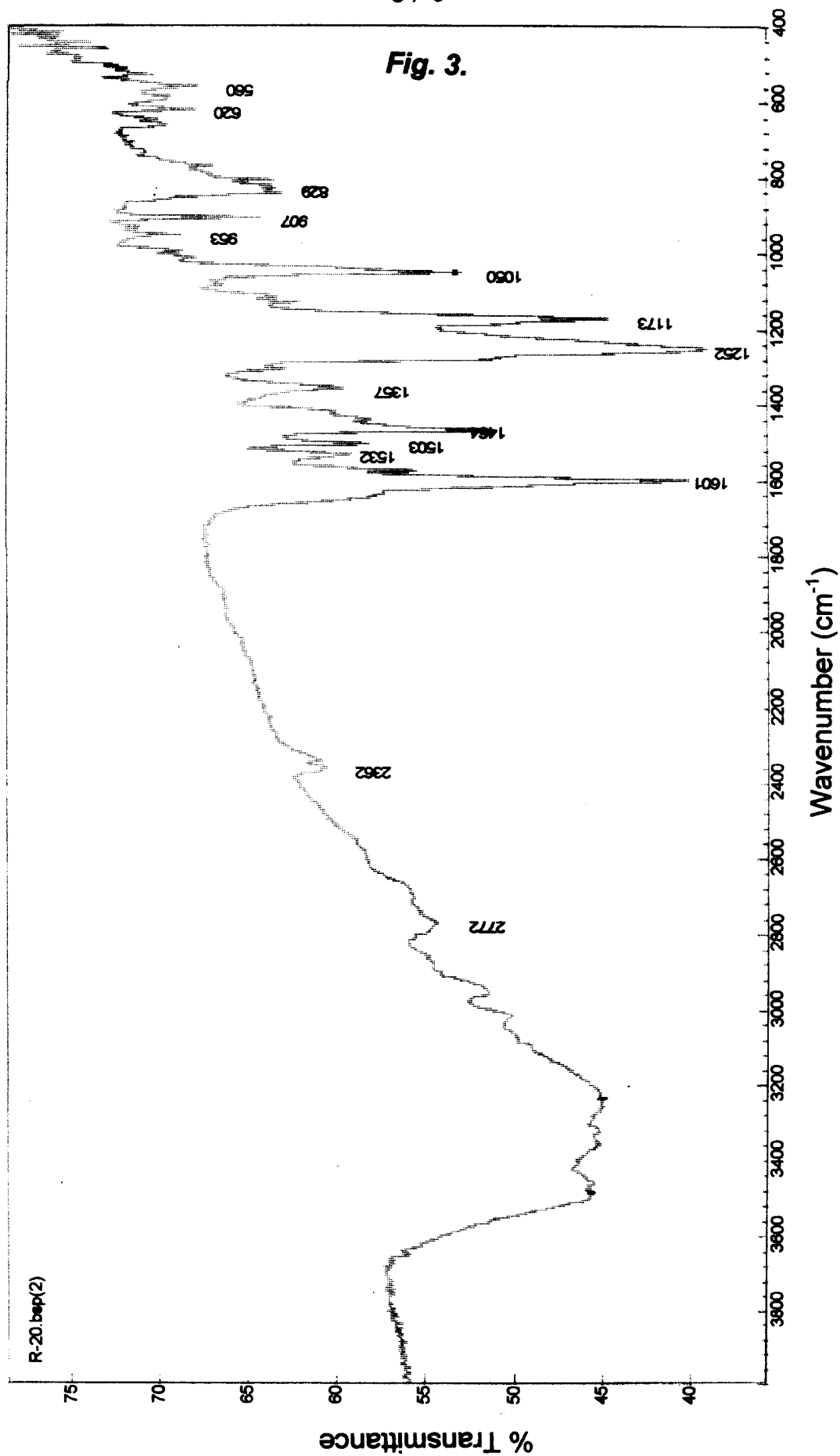


Fig. 2.





4 / 6

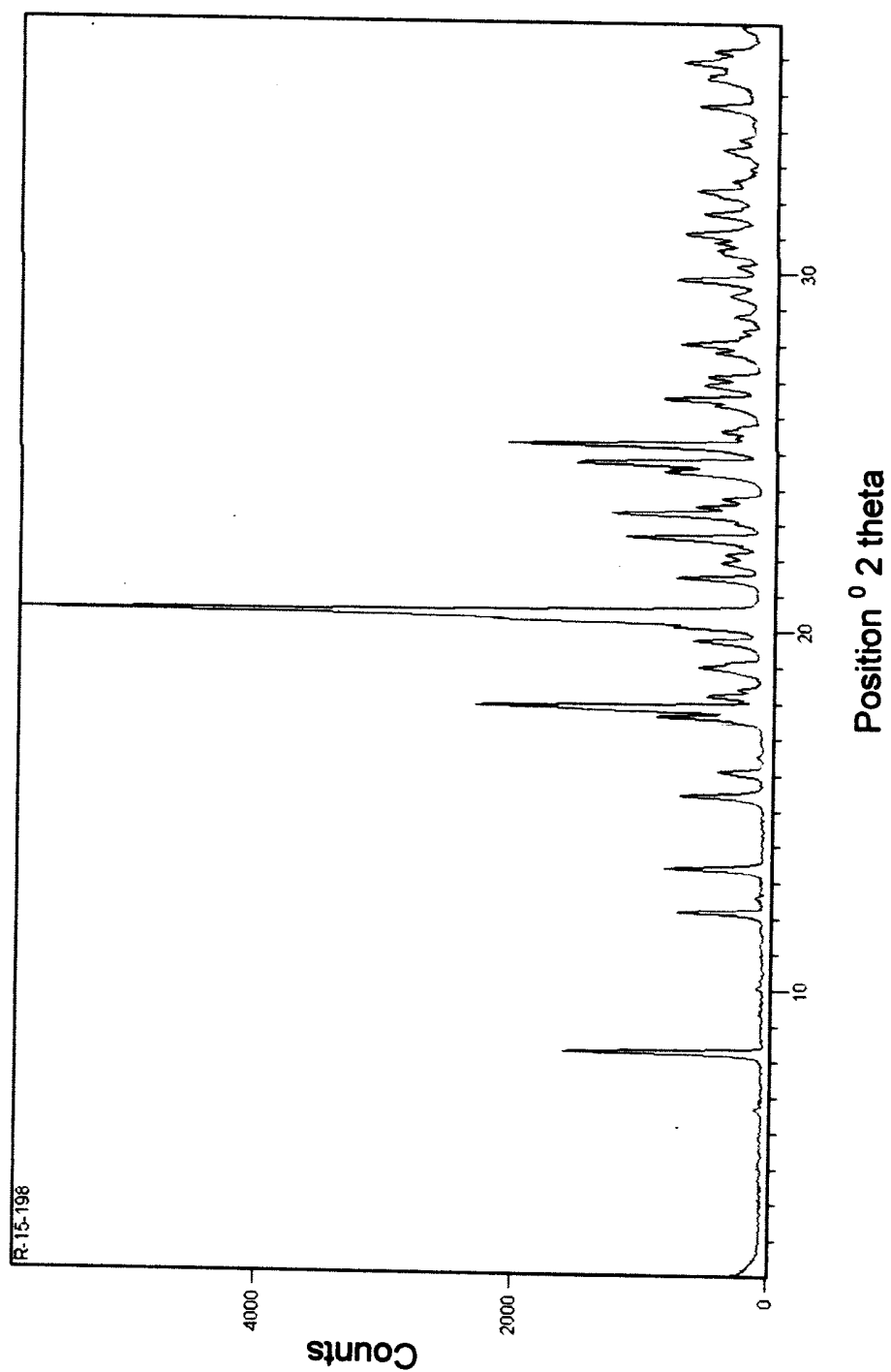
Fig. 4.

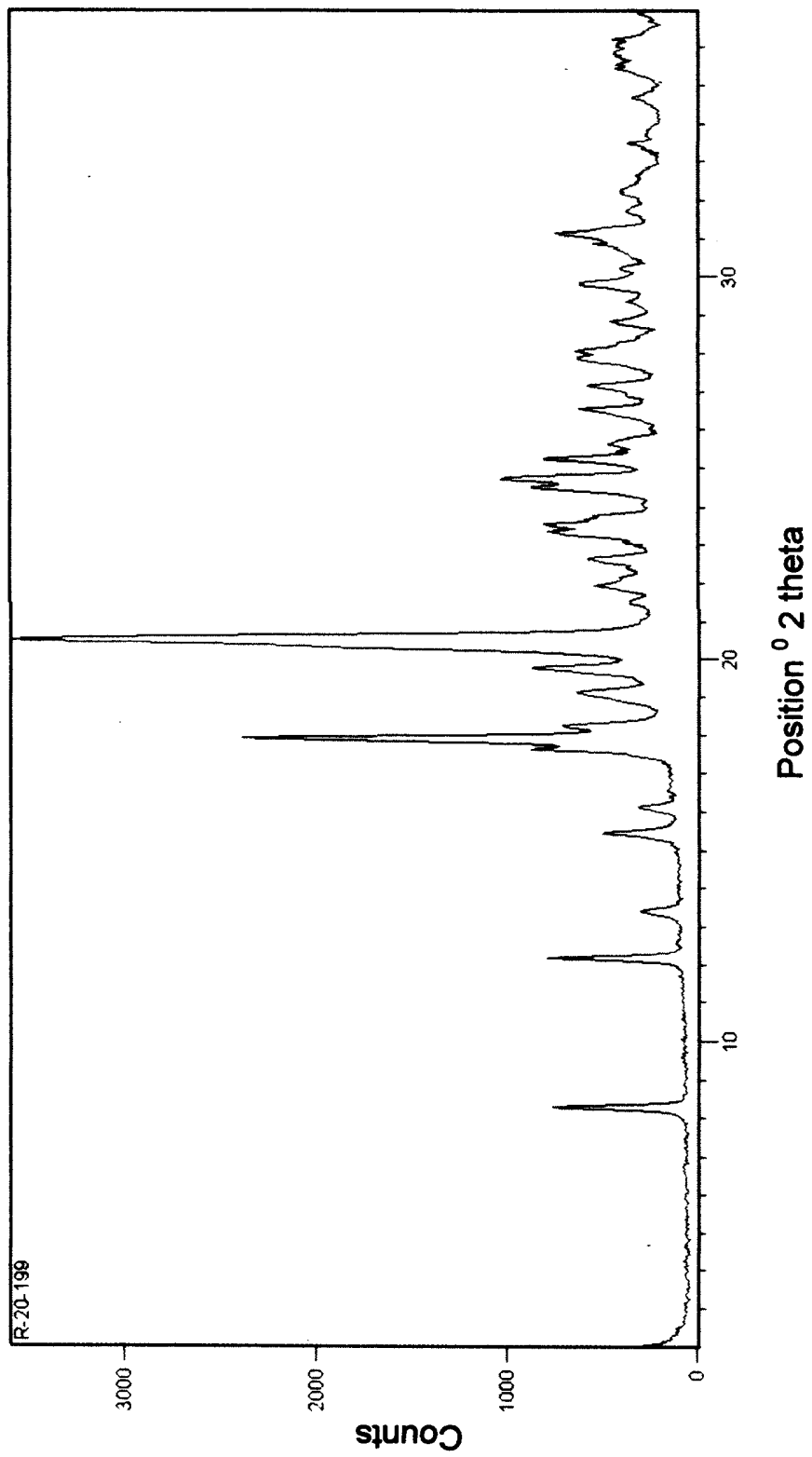
Fig. 5.

Fig. 6.

