



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0611116-5 A2**

(22) Data de Depósito: 27/06/2006
(43) Data da Publicação: 10/08/2010
(RPI 2066)



(51) Int.Cl.:
C07C 255/33
C07D 249/08
A61K 31/4196
A61P 35/00

(54) Título: **UMA IMPUREZA DE INTERMEDIÁRIO DE ANASTROZOL E SEUS USOS**

(57) Resumo: Provem-se marcadores de referência e padrões de referência para a determinação de impurezas em Anastrozol.

(30) Prioridade Unionista: 27/06/2005 US 60/694,528

(73) Titular(es): Sicor Inc

(72) Inventor(es): Alessandro Pontiroli, Roberto Casalone

(74) Procurador(es): Mirian Oliveira da Rocha Pitta

(86) Pedido Internacional: PCT US2006025093 de 27/06/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/002720 de 04/01/2007

UMA IMPUREZA DE INTERMEDIÁRIO DE ANASTROZOL E SEUS USOS

Pedidos Afins

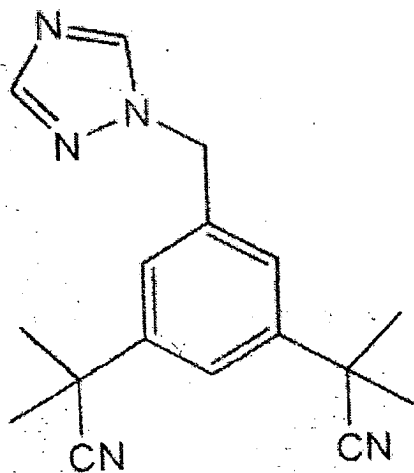
Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório U.S. No. 60/694.528, depositado em 27 de junho de 2005 e reivindica prioridade para o Pedido de Patente U.S. No. Aguardado, depositado em 27 de junho de 2006, incorporados ao presente por referência.

Área da Invenção

A presente invenção refere-se a uma impureza de um intermediário de Anastrozol, denominada "Impureza A" e seus usos.

Antecedentes da Invenção

Anastrozol, cuja denominação química é 1,3-benzodiacetonitrilo- $\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -tetrametil-5-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil e que tem a seguinte estrutura química



Anastrozol

é um potente e seletivo inibidor não esteroidal do sistema aromatase (estrógeno-sintetase), que converte andrógenos adrenais em estrógenos no tecido periférico. É usado no tratamento do câncer de mama em estágio avançado ou localmente avançado e como tratamento adjuvante no início do câncer de mama, em mulheres menopausadas. Essa droga está disponível no mercado para administração oral com o nome de ARIMIDEX®, da AstraZeneca.

Como qualquer composto sintético, Anastrozol pode conter compostos estranhos ou impurezas que podem ser provenientes de várias fontes. Podem ser materiais iniciais não reagidos, produtos secundários da reação, produtos de reações secundárias, ou produtos de degradação. As impurezas no Anastrozol, ou em qualquer ingrediente farmacêutico ativo ("API" - Active Pharmaceutical Ingredient) são indesejáveis e, em casos extremos, podem até mesmo ser prejudiciais para um paciente que está sendo tratado com uma forma de dosagem contendo o API.

Sabe-se também nessa arte que as impurezas em um API podem ter origem na degradação do próprio API, o que está relacionado com a estabilidade do API puro durante o armazenamento e com o processo de fabricação, inclusive a síntese química. As impurezas de processo incluem materiais iniciais não reagidos, derivados químicos de impurezas contidas nos materiais iniciais, produtos secundários sintéticos e produtos de degradação.

Além da estabilidade, que é um fator na vida de prateleira do API, a pureza do API produzido no processo de fabricação comercial é evidentemente uma condição necessária para a comercialização. As impurezas introduzidas durante os processos de fabricação comercial devem limitar-se a quantidades muito pequenas e devem, preferivelmente, estar substancialmente ausentes. Por exemplo, a norma ICH Q7A para fabricantes de APIs exige que as impurezas de processo sejam mantidas abaixo de limites estabelecidos, especificando a qualidade das matérias primas, controlando os parâmetros do processo, tais como temperatura, pressão, tempo e proporções estequiométricas e incluindo etapas de purificação, tais como cristalização, destilação e extração líquido-líquido no processo de fabricação.

A mistura de produtos de uma reação química raramente

consiste de um único composto com pureza suficiente para obedecer aos padrões farmacêuticos. Produtos colaterais e produtos secundários da reação e reagentes adjuntos utilizados na reação, na maioria dos casos, também estão presentes na mistura de produtos. Em certas etapas, durante o processamento de um API como, por exemplo, (S)-anastrozol, é preciso testá-lo quanto à pureza, geralmente por análise de HPLC (*High Performance Liquid Chromatography* - Cromatografia Líquida de Alto Desempenho) ou TLC (*Thin Layer Chromatography* - Cromatografia de Camada Fina), para determinar se é adequado para continuar a ser processado e, em última análise, para ser usado em um produto farmacêutico. O API não precisa ser absolutamente puro, uma vez que pureza absoluta é um ideal teórico, tipicamente inalcançável. Ao contrário, os padrões de pureza são estabelecidos com a intenção de garantir que um API seja tão isento de impurezas quanto possível e, desse modo, seja tão seguro quanto possível para uso clínico. Conforme exposto acima, nos Estados Unidos as normas da *Food and Drug Administration* recomendam que as quantidades de algumas impurezas se limitem a menos de 0,1 por cento.

Geralmente, produtos colaterais, produtos secundários como a impureza A e reagentes adjuntos (coletivamente chamados de "impurezas") são identificados espectroscopicamente e/ou por meio de outro método físico e, então, são associados com uma posição de pico, como um pico em um cromatograma, ou um ponto em uma placa de TLC. [Strobel p. 953, Strobel, H.A.; Heineman, W.R., *Chemical Instrumentation: A Systematic Approach*, 3rd ed. (Wiley & Sons: New York 1989)]. Depois disso, a impureza pode ser identificada, por exemplo, por sua posição relativa na placa de TLC, sendo que a posição na placa é medida em centímetros desde a linha base da placa, ou pela sua posição relativa no cromatograma da HPLC, onde a posição em

um cromatograma é convencionalmente medida em minutos entre a injeção da amostra na coluna e a eluição do componente específico através do detector. A posição relativa no cromatograma é conhecida como "tempo de retenção".

5 O tempo de retenção pode variar ao redor de um valor médio com base nas condições da instrumentação, bem como muitos outros fatores. Para mitigar os efeitos que as referidas variações têm sobre a identificação precisa de uma impureza, os profissionais dessa área usam o "tempo de
10 retenção relativo" ("RRT" - *Relative Retention Time*) para identificar impurezas (Strobel p. 922). O RRT de uma impureza é o seu tempo de retenção dividido pelo tempo de retenção de um marcador de referência. Pode ser vantajoso selecionar um composto que não seja o API, que é
15 acrescentado à mistura ou que está presente na mistura, em uma quantidade suficientemente grande para ser detectável e suficientemente pequena para não saturar a coluna, e usar o referido composto como o marcador de referência para determinação do RRT.

20 Os profissionais experientes na arte da pesquisa e desenvolvimento de fabricação de drogas entendem que um composto em um estado relativamente puro pode ser usado como um "padrão de referência". Um padrão de referência é semelhante a um marcador de referência, que é usado apenas
25 para análise qualitativa, mas também é usado para determinar a quantidade do composto do padrão de referência em uma mistura desconhecida. Um padrão de referência é um "padrão externo", quando uma solução de uma concentração conhecida do padrão de referência e uma mistura
30 desconhecida são analisadas usando-se a mesma técnica. [Strobel p. 924, Snyder p.549, Snyder, L.R.; Kirkland, J.J. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2nd ed. (John Wiley & Sons: New York (1979))]. A quantidade do composto na mistura pode ser determinada comparando-se a magnitude da

resposta do detector. Vide também a Patente U.S. No.6.333.198, incorporada ao presente por referência.

5 O padrão de referência também pode ser usado para determinar a quantidade de outro composto na mistura se um "fator de resposta", que compensa as diferenças na sensibilidade do detector aos dois compostos, tiver sido determinado previamente. (Strobel, p. 894). Com essa finalidade, o padrão de referência é adicionado diretamente à mistura e é conhecido como um "padrão interno". (Strobel
10 p.925, Snyder p.552).

O padrão de referência pode servir como um padrão interno quando, sem a adição deliberada do padrão de referência, uma mistura desconhecida contém uma quantidade detectável do composto do padrão de referência usando a
15 técnica conhecida como "adição de padrão".

Na "técnica de adição de padrão", pelo menos duas amostras são preparadas adicionando-se quantidades conhecidas e diferentes do padrão interno. (Strobel pp. 391-393, Snyder pp. 571, 572). A proporção da resposta do
20 detector devida ao padrão de referência presente na mistura sem a adição pode ser determinada plotando-se a resposta do detector contra a quantidade do padrão de referência adicionado a cada uma das amostras e extrapolando-se o plot para concentração zero do padrão de referência. (Vide, por
25 exemplo, Strobel, Fig. 11.4, p. 392). A resposta de um detector em HPCL (por exemplo, detectores de UV ou detectores de índice refrativo) pode ser e, tipicamente, é diferente para cada composto que elui da coluna de HPLC. Os fatores de resposta, como se sabe, são responsáveis por
30 essa diferença no sinal de resposta do detector para diferentes compostos que eluem da coluna.

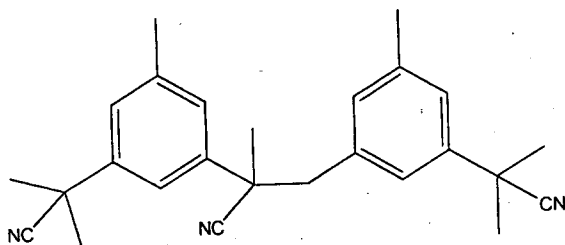
Como sabem os profissionais experientes nessa arte, o gerenciamento das impurezas de processo melhora muito com a compreensão de suas estruturas químicas e caminhos

sintéticos, e com a identificação dos parâmetros que influenciam a quantidade de impurezas no produto final.

A detecção ou quantificação do padrão de referência serve para estabelecer o nível de pureza do API ou seus intermediários. O uso de um composto como padrão exige que se recorra a uma amostra de composto substancialmente puro.

Sumário da Invenção

Em um de seus aspectos, a presente invenção provê uma impureza A recentemente isolada, 2,3-Bis-[3-(ciano-dimetil-metil)-5-metil-fenil]-2-metil-propionitrilo com a seguinte fórmula



Em outro aspecto, a presente invenção provê um processo para determinar a presença de um composto em uma amostra, que consiste em conduzir uma análise por HPLC ou TLC com a impureza A como marcador de referência.

Em ainda outro aspecto, a presente invenção provê um processo para determinar a presença da impureza A em uma amostra, que consiste em conduzir uma análise por HPLC ou TLC com a impureza A como marcador de referência. Especificamente, esse processo consiste em:

(a) determinar por HPLC ou TLC o tempo de retenção correspondente à impureza A em um marcador de referência que consiste na impureza A;

(b) determinar por HPLC ou TLC o tempo de retenção correspondente à impureza A em uma amostra que contém 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno e a impureza A, e

(c) determinar a presença da impureza A na amostra comparando o tempo de retenção da etapa (a) ao tempo de retenção da etapa (b).

Em um aspecto, a presente invenção provê um processo para determinar a quantidade de um composto em uma amostra que consiste em conduzir análise por HPLC ou TLC com a impureza A como um padrão de referência.

5 Em outro aspecto, a presente invenção também provê um processo para preparar anastrozol a partir de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno tendo menos que cerca de 0,10% da área por HPLC da impureza A, que consiste nas seguintes etapas:

10 (a) obtenção de uma ou mais amostras de um ou mais lotes de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno;

(b) medição do nível de impureza A em cada uma das amostras;

15 (c) seleção de um lote da etapa (a) que tenha um nível de impureza A de cerca de menos que 0,10% da área por HPLC, com base na medição das amostras provenientes dos lotes, e

(d) uso do lote selecionado para preparar anastrozol.

20 Em ainda outro aspecto, a presente invenção provê um método usado para determinar a presença da impureza A em uma amostra de 5-bis(2-cianoisopropil)tolueno, que consiste em: combinar uma amostra de 5-bis(2-cianoisopropil)tolueno com água para obter uma solução; injetar a solução obtida em uma coluna HYPERSIL BDS C18 de 100mm x 4,6mm (ou
25 similar); efluir a amostra da coluna em cerca de 35 minutos usando água (no presente, denominada "eluente A") e acetonitrilo (no presente, denominado "eluente B") como eluente e medir o conteúdo de impureza A na amostra relevante com um detector de UV (preferivelmente em um
30 comprimento de onda de 210 nm).

Em uma incorporação, a presente invenção provê uma composição farmacêutica que consiste do Anastrozol fabricado de acordo com o processo da invenção e excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

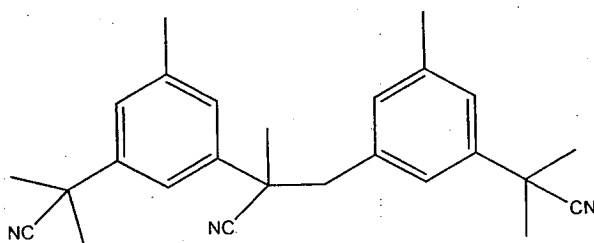
Em uma outra incorporação, a presente invenção provê um processo para preparar uma formulação farmacêutica que consiste em misturar Anastrozol fabricado conforme o processo da invenção e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Descrição Detalhada da Invenção

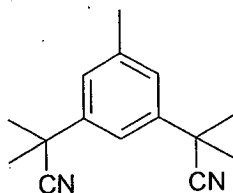
A expressão "substancialmente puro" com relação a 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno refere-se a 3,5-bis(cianoisopropil)tolueno contendo menos que cerca de 0,10% da área por HPLC da impureza A.

A expressão "substancialmente puro" com relação ao Anastrozol refere-se a Anastrozol contendo menos que cerca de 0,10% da área por HPLC da impureza B, conforme definição abaixo.

A presente invenção provê uma impureza recentemente isolada, 2,3-Bis-[3-(ciano-dimetil-metil)-5-metil-fenil]-2-metil-propionitrilo com a seguinte fórmula



Essa impureza, denominada "Impureza A", contamina um intermediário do Anastrozol, 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno, com a fórmula I.

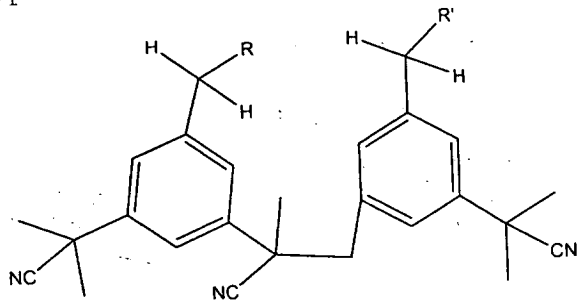


I

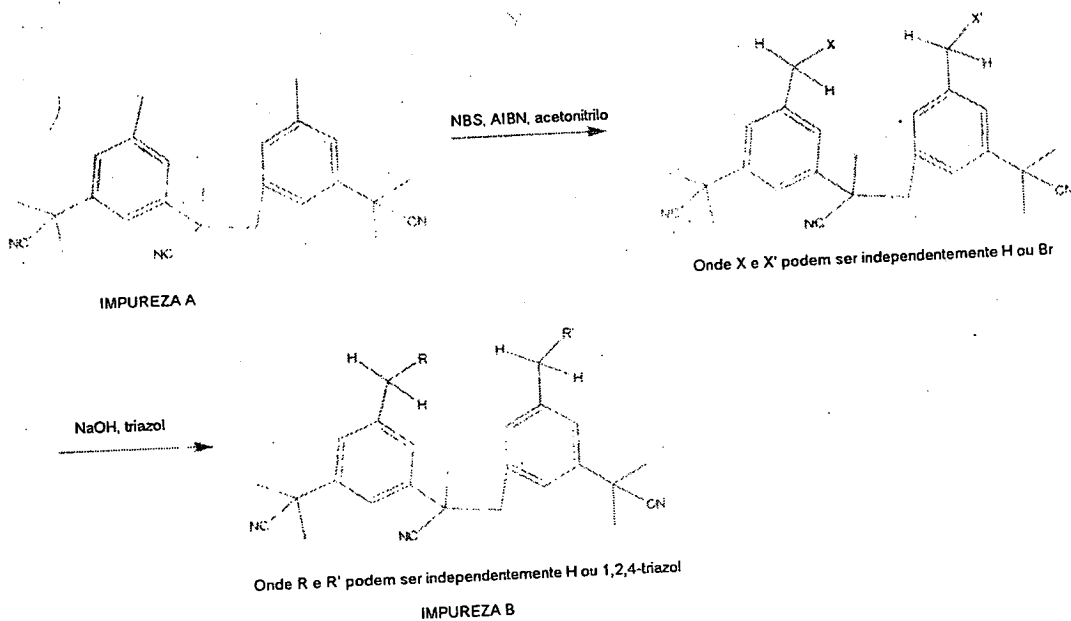
Pode ser caracterizada por dados selecionados no grupo que consiste de um RRT de cerca de 1,53 em relação a 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno da fórmula I e/ou um espectro M/S com um pico em aproximadamente 406 m/z.

A impureza A pode ser isolada por cromatografia de coluna, usando-se uma mistura de heptano e etil acetato como eluente. Preferivelmente, o eluente contém heptano e etil acetato em uma proporção de cerca de 9:1, respectivamente. Preferivelmente, a impureza A contém de cerca de 0% a cerca de 10% da área por HPLC de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno da fórmula I.

Os inventores da presente invenção descobriram que a impureza A se converte durante o decorrer da reação para preparar Anastrozol de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno da fórmula I para uma impureza que contamina o Anastrozol, denominada "impureza B", com a seguinte estrutura:



onde R e R' podem ser, independentemente, H ou 1,2,4-triazol. A conversão da impureza A para impureza B é ilustrada pelo seguinte esquema:



A conversão ocorre de tal maneira que a quantidade de

impureza A é muito semelhante à quantidade de impureza B. Além do mais, como essa impureza se caracteriza por uma solubilidade semelhante à de Anastrozol, é difícil separá-la do Anastrozol e, conseqüentemente, usá-la como um
5 marcador e padrão de referência. Assim, a combinação do conhecimento acima com o fato de que os inventores da presente invenção descobriram que a impureza A pode ser separada mais facilmente do material inicial, 3,4-bis(2-cianoisopropil) tolueno da fórmula I, torna o seu uso como
10 um marcador de referência e um padrão de referência mais atraente.

A presente invenção provê ainda um processo para determinar a presença de um composto em uma amostra, que consiste em conduzir uma análise por HPLC ou TLC com a
15 impureza A como marcador de referência.

A presente invenção também provê um processo para determinar a presença da impureza A em uma amostra, que consiste em realizar uma análise por HPLC ou TLC com a impureza A como marcador de referência. Especificamente,
20 esse processo consiste em:

(a) determinar por HPLC ou TLC o tempo de retenção correspondente à impureza A em um marcador de referência que consiste na impureza A;

(b) determinar por HPLC ou TLC o tempo de retenção
25 que corresponde à impureza A em uma amostra que consiste em 3,5-bis(3-cianoisopropil)tolueno e impureza A, e

(c) determinar a presença da impureza A na amostra comparando o tempo de retenção da etapa (a) ao tempo de retenção da etapa (b).

30 A presente invenção provê um processo para determinar a quantidade de um composto em uma amostra que consiste em realizar análise por HPLC ou TLC com uma impureza A como padrão de referência.

A presente invenção provê ainda um método para

determinar a quantidade de impureza A em uma amostra, que consiste em realizar uma análise por HPLC ou TLC, em que a impureza A é usada como um padrão de referência. Especificamente, esse processo consiste nas etapas seguintes:

5 (a) medição, por HPLC ou TLC, da área sob um pico que corresponde à impureza A em um padrão de referência que consiste em uma quantidade conhecida da impureza A;

10 (b) medição, por HPLC ou TLC, da área sob um pico que corresponde à impureza A em uma amostra que consiste em impureza A e 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno, e

(c) determinação da quantidade de impureza A na amostra, comparando a área da etapa (a) com a área da etapa (b).

15 A presente invenção também provê um processo para preparar Anastrozol de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno que tem menos que cerca de 0,10% da área por HPLC de impureza A, processo esse que consiste nas seguintes etapas:

20 (a) obtenção de uma ou mais amostras de um ou mais lotes de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno;

(b) medição do nível de impureza A em cada uma das amostras;

25 (c) seleção de um lote da etapa (a) que tenha um nível de impureza A de cerca de menos que 0,10 % da área por HPLC, com base na medição das amostras dos lotes, e

(d) uso do lote selecionado para preparar Anastrozol.

30 Nos casos em que o nível medido na etapa (b) for mais alto que cerca de 0,10% da área por HPLC, o processo compreenderá ainda a etapa de purificação por quaisquer meios conhecidos nessa arte, inclusive o método descrito no Pedido de Patente Provisória U.S. No. 60/694.528, em que 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno é cristalizado a partir de um solvente selecionado no grupo que consiste de hidrocarbonetos aromáticos C₆₋₉ e éteres C₂₋₈.

A presente invenção provê um método de HPLC usado para determinar a presença e quantidade de impureza A em uma amostra de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno que consiste em: combinar uma amostra de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno com água para obter uma solução; 5 injetar a solução obtida em uma coluna HYPERSIL BDS C18 de 100mm x 4,6mm (ou similar); eluir a amostra da coluna em cerca de 35 minutos usando água (denominada, no presente, "eluyente A") e acetonitrilo (denominado, no presente, "eluyente B") como eluentes, e medir o conteúdo de impureza 10 A na amostra relevante com um detector de UV (preferivelmente em um comprimento de onda de 210 nm).

Preferivelmente, o eluyente usado pode ser uma mistura do eluyente A com o eluyente B, cuja proporção varie ao longo 15 do tempo, isto é, um eluyente gradiente. Aos 0 minutos, o eluyente contém 80% do eluyente A e 20% do eluyente B. Aos 30 minutos, o eluyente contém 40% do eluyente A e 60% do eluyente B. Aos 35 minutos, o eluyente contém 20% do eluyente A e 80% do eluyente B, ao passo que aos 36 minutos, o eluyente contém 20 80% do eluyente A e 20% do eluyente B.

A presente invenção provê, adicionalmente, uma composição farmacêutica que consiste de Anastrozol feito conforme o processo da invenção e excipientes farmacologicamente aceitáveis.

25 A presente invenção também provê um processo para preparar uma formulação farmacêutica que consiste em misturar Anastrozol feito conforme o processo da invenção e um veículo farmacologicamente aceitável.

A invenção tendo sido descrita com referência a certas 30 incorporações preferenciais, outras incorporações ficarão evidentes para o profissional experiente na arte, levando em consideração a especificação. A invenção é adicionalmente definida por referência aos exemplos seguintes, que descrevem com detalhes a preparação do

composto da presente invenção. Ficará evidente para os profissionais com experiência nessa arte que muitas modificações, tanto dos materiais quanto dos métodos, podem ser feitas sem se afastar do escopo da invenção.

5

Exemplos

A análise da impureza A é feita em 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno bruto usando-se a seguinte HLPC:

Coluna e Empacotamento: HYPERSIL BDS C18; 3 μ m, 100mmX4,6mm, cat n. 28013-104630 ou equivalente.

10	Eluente A:	Água		
	Eluente B:	Acetonitrilo		
	Gradiente	Tempo(min)	% Eluente A	% Eluente B
		0	80	20
		30	40	60
15		35	20	80
		36	80	20

Tempo para interrupção: 35 minutos

Tempo de equilíbrio: 5 minutos

Velocidade do fluxo: 1,0 ml/min.

20 Detector: UV a 210 nm

Temperatura da coluna: 60°C

Injeção: 5 μ l

Diluyente: Acetonitrilo

25 A composição da fase Móvel e a velocidade do fluxo podem variar a fim de se conseguir a necessária adequabilidade do sistema.

Análise do Espectro de Massa

Infusão direta na fonte de íons ESI. As condições operacionais empregadas foram as seguintes:

30 Instrumento: LCQ Deca (ThermoFinnigan), operando em modo de íons positivos

Concentração da amostra: 10⁻⁶M em Acetonitrilo

Voltagem do Spray: 4 kV

Voltagem Capilar: 13 V

Temperatura Capilar: 270°C

A invenção tendo sido descrita com referência a certas incorporações preferenciais, outras incorporações se tornarão evidentes para um profissional experiente nessa arte mediante consideração da especificação. A invenção é adicionalmente definida por referência aos seguintes exemplos, que descrevem com detalhes a preparação da composição e métodos para o uso da invenção. Ficará evidente para os profissionais com experiência nessa arte que muitas modificações, tanto nos materiais como nos métodos, podem ser realizadas sem se afastar do escopo da invenção. Os exemplos descritos abaixo descrevem experimentos de cristalização simples, que podem ser repetidos para se obter os mesmos rendimentos e aprimoramentos em purificação até que a pureza final desejada seja obtida.

Exemplo 1: Cristalização de

3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno, a partir de tolueno

Uma amostra de 4 g de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno, tendo um conteúdo inicial de impureza A de 1,93% da área por HPLC, foi suspensa em 10 ml de tolueno e aquecida a 65°C, até ocorrer a completa dissolução. Permitiu-se então que a solução esfriasse até 25°C ao longo de um período de 1 hora e então foi resfriada até 0°C ao longo de um período de 2 horas. Após 30 minutos a 0°C, a suspensão resultante foi filtrada e o filtrado foi lavado com 2,5 ml de tolueno, previamente resfriado até 0°C. 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno purificado foi recuperado na quantidade de 3,2 g, tendo um conteúdo de impureza A de 1.02% da área por HPLC.

Exemplo 2: Cristalização e recristalização de

3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno a partir de tolueno

3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno (50 g) contendo 0,45% de impureza A, foi dissolvido em tolueno (150 ml) e

aquecido a 65-70°C até se obter uma solução completa. Após 10 minutos, permitiu-se que a solução esfriasse até 25°C em 6 horas. Após esse tempo, a solução foi resfriada até -20°C em uma hora, agitada na mesma temperatura por 30 minutos e então foi filtrada. O sólido foi então lavado com tolueno (25 ml) previamente resfriado até -0°C.

O sólido úmido foi então analisado por meio de HPLC, mostrando um conteúdo de 0,24% de impureza A. Esse sólido foi recristalizado mais duas vezes, produzindo 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno com 0,07% de impureza A. Esse sólido foi então secado em um forno a 50°C até todo o solvente ser removido.

Exemplo 3: cristalização de 3,5-bis(cianoisopropil)tolueno a partir de 3 volumes de tolueno

Uma amostra de 42 g de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno, com um conteúdo inicial de impureza A de 0,11% da área por HPLC, foi suspensa em 130 ml de tolueno e aquecida a 61°C, até ocorrer a completa dissolução. Permitiu-se então que a solução esfriasse até 25°C ao longo de um período de 3 horas, obtendo-se uma suspensão e então foi resfriada até -20°C ao longo de um período de 2 horas. Após 30 minutos em -20°C, a suspensão resultante foi filtrada e o filtrado foi lavado com 2,5 ml de tolueno que havia sido previamente resfriado até -20°C. 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno purificado foi recuperado na quantidade de 40,1 g, com um conteúdo de impureza A de 0,06% da área por HPLC.

Exemplo 4: Síntese de Anastrozol

Uma amostra de 30 g do 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno com 0,06% da área por HPLC de impureza A foi dissolvida em 150 ml de acetonitrilo e 24,8 g de N-bromosuccinimida foram acrescentados. A suspensão resultante foi aquecida até 50°C por 30 minutos, até obter-se uma solução amarelo claro. Então, 0,5g de 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) foi adicionado e a reação foi aquecida

até 70°C por 6 horas. Permitiu-se então que a solução esfriasse até 20°C, sendo então despejada em 150 ml de uma solução de metabissulfito de sódio a 5% em água, com agitação vigorosa. Então, a camada orgânica foi separada e lavada com 100 ml de uma solução de carbonato de sódio a 5% em água, antes do solvente orgânico ser removido sob pressão reduzida, até obter-se um volume total de 90 ml. A pasta resultante foi então aquecida até 50°C, e 150 ml de heptano foram lentamente adicionados ao longo de um período de 30 minutos, elevando a temperatura para 70°C. Permitiu-se então que a suspensão esfriasse até 20°C, e foi filtrada em um funil de vidro sinterizado. A secagem sob pressão reduzida produziu 54 g de 1-bromo-3,5-bis(2-cianoisopropil) tolueno bruto, com pureza de 85 por cento (HPLC).

15 B: formação de Anastrozol

Uma amostra de 16,7 g de 1,2,4-triazol foi dissolvida em 52 ml de NMP a 20°C, e 9,7 g de NaOH foram acrescentados em porções ao longo de 1 hora, ao mesmo tempo em que se mantinha a temperatura abaixo de 35°C. A solução foi agitada por 18 horas a 20°C, e foi, então, resfriada até -30°C. Uma solução de alfa-bromo-3,5-bis(2-cianoisopropil) tolueno bruto em 60 ml de NMP foi lentamente acrescentada ao longo de 6 horas, ao mesmo tempo em que se mantinha a temperatura abaixo de -20°C. Após o término da adição, a suspensão foi agitada por 18 horas a -20°C e, durante esse tempo, a reação foi monitorada por meio de HPLC. Quando a quantidade de material inicial chegou a menos que 0,5 por cento, acrescentou-se ácido acético em uma quantidade suficiente para proporcionar um pH de cerca de 6,5 a cerca de 7. Permitiu-se que a temperatura da mistura se elevasse lentamente até 20°C e, então, 120 ml de tolueno, 240 ml de heptano e 170 ml de água foram acrescentados. O sistema bifásico foi agitado vigorosamente por 30 minutos e então a camada orgânica foi separada. Então, 240 ml de água, 60 ml

de tolueno e 120 ml de heptano foram acrescentados à fase aquosa e o sistema foi agitado por 30 minutos, antes da fase orgânica ser separada. Então, 400 ml de tolueno e 240 ml de água foram adicionados à porção aquosa e o sistema bifásico foi agitado por uma hora. A camada orgânica foi separada, e lavada 3 vezes com 180 ml de uma solução de 0,05N de ácido sulfúrico em água. A fase orgânica final foi concentrada sob pressão reduzida até um volume final de 150 ml a 40°C e 180 ml de heptano foram acrescentados gota a gota ao longo de um período de 1 hora. A suspensão foi resfriada até 0°C, agitada por 1 hora e filtrada. O sólido bruto foi dissolvido em 390 ml de 2-propanol a 50°C e 78 ml de heptano foram lentamente adicionados sob agitação.

A solução foi resfriada até 0°C, agitada por 1 hora e filtrada. O sólido foi secado a 55°C sob pressão reduzida, até um peso constante ser alcançado, tendo sido produzidos 23,5 g do produto com uma pureza de mais que 99,4% da área por HPLC, tendo 0,06% de impureza B, e um ponto de fusão de 85°C, conforme medição por DSC.

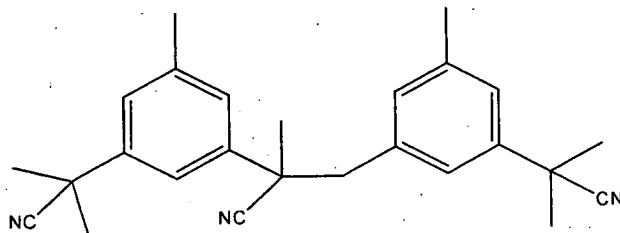
Exemplo 5: Isolação da Impureza A

Uma amostra de 3,5-bis(2-cianoisopropil)tolueno contendo a impureza A foi purificada por eluição da coluna em cromatografia *flash* com uma mistura de heptano/etil acetato na proporção de 9:1, analisando-se as frações com HPLC. As frações que continham a impureza A com uma pureza > 90% foram reunidas e o solvente foi removido sob vácuo, produzindo a impureza A (2,3-Bis-[3-ciano-dimetil-metil]-5-metil-fenil]-2-metil-propionitrilo) da fórmula I.

REIVINDICAÇÕES

1. IMPUREZA ISOLADA 2,3-BIS-[3-(CIANO-DIMETIL-METIL)-5-METIL-FENIL]-2-METIL-PROPIONITRILO (IMPUREZA A), com a seguinte

5 fórmula:



10

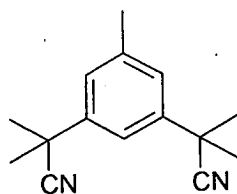
2. IMPUREZA ISOLADA 2,3-BIS-[3-(CIANO-DIMETIL-METIL)-5-METIL-FENIL]-2-METIL-PROPIONITRILO (IMPUREZA A), conforme a reivindicação 1, caracterizada por:

15 conter entre cerca de 0% e cerca de 10% de 3,5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno.

3. IMPUREZA ISOLADA 2,3-BIS-[3-(CIANO-DIMETIL-METIL)-5-METIL-FENIL]-2-METIL-PROPIONITRILO (IMPUREZA A), conforme a

20 reivindicação 2, caracterizada por:

contaminar um intermediário de Anastrozol, 3,5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno da fórmula I:



25

4. IMPUREZA ISOLADA 2,3-BIS-[3-(CIANO-DIMETIL-METIL)-5-METIL-FENIL]-2-METIL-PROPIONITRILO (IMPUREZA A), conforme as

30 reivindicações 1 e 2, caracterizada por:

o tempo relativo de retenção (RRT) ser aproximadamente igual a 1,53 em relação ao 3,5-bis(2-ciano-isopropil) tolueno da fórmula I.

5 5. IMPUREZA ISOLADA 2,3-BIS-[3-(CIANO-DIMETIL-METIL)-5-METIL-FENIL]-2-METIL-PROPIONITRILO (IMPUREZA A), conforme quaisquer das reivindicações 1 a 3, caracterizada por:

haver um espectro M/S com um pico EM, aproximadamente, 406 m/z.

10 6. PROCESSO PARA DETERMINAR A PRESENÇA DE UM COMPOSTO NUMA AMOSTRA, CONSISTINDO EM CONDUZIR ANÁLISE POR HPLC OU TLC, COM A IMPUREZA A COMO UM MARCADOR DE REFERÊNCIA.

15 7. PROCESSO PARA DETERMINAR A PRESENÇA DE UM COMPOSTO NUMA AMOSTRA, CONSISTINDO EM CONDUZIR ANÁLISE POR HPLC OU TLC COM A IMPUREZA A COMO UM MARCADOR DE REFERÊNCIA, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por:

o composto cuja presença deve ser determinada ser a impureza A.

20 8. PROCESSO PARA DETERMINAR A PRESENÇA DE UM COMPOSTO NUMA AMOSTRA CONSISTINDO EM CONDUZIR ANÁLISE POR HPLC OU TLC COM A IMPUREZA A COMO UM MARCADOR DE REFERÊNCIA, de acordo com quaisquer das reivindicações 6 e 7, caracterizado por:

compreender as seguintes etapas:

25 (a) determinação, por JHPLC ou TLC, do tempo de retenção correspondente à impureza A num marcador referência que consiste na impureza A;

30 (b) determinação, por HPLC ou TLC, do tempo de retenção correspondente à impureza A numa amostra que contém 3,5-bis(2-ciano-isopropil) tolueno e impureza A; e

(c) determinação da presença da impureza A numa amostra pela comparação dos tempos de retenção obtidos nas etapas (a) e (b).

5 9. PROCESSO PARA DETERMINAR A PRESENÇA DE UM COMPOSTO NUMA AMOSTRA CONSISTINDO EM CONDUZIR ANÁLISE POR HPLC OU TLC COM A IMPUREZA A COMO PADRÃO DE REFERÊNCIA.

10 10. PROCESSO PARA DETERMINAR A PRESENÇA DE UM COMPOSTO NUMA AMOSTRA CONSISTINDO EM CONDUZIR ANÁLISE POR HPLC OU TLC COM A IMPUREZA A COMO UM MARCADOR DE REFERÊNCIA OU PADRÃO DE REFERÊNCIA, de acordo com quaisquer das reivindicações 6 a 9, caracterizado por:

objetivar determinar a quantidade da impureza A numa amostra compreendendo A EXECUÇÃO DE ANÁLISE POR HPLC ou TLC, sendo a impureza A usada como padrão de referência.

15 11. PROCESSO PARA DETERMINAR A PRESENÇA DE UM COMPOSTO NUMA AMOSTRA CONSISTINDO EM CONDUZIR ANÁLISE POR HPLC OU TLC COM A IMPUREZA A COMO UM MARCADOR DE REFERÊNCIA OU PADRÃO DE REFERÊNCIA, de acordo com quaisquer das reivindicações de 6 a 10, caracterizado por:

20 compreender as seguintes etapas:

(a) medição por HPLC ou TLC, da área sob um pico correspondente à impureza A num padrão de referência que consiste num valor conhecido da quantidade de impureza A;

25 (b) medição por HPLC ou TLC, da área sob um pico correspondente à impureza A numa amostra que contém 3,5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno e impureza A; e

(c) determinação da quantidade de impureza A numa amostra pela comparação das medições efetuadas nas etapas (a) e (b).

30 12. PROCESSO PARA PREPARAR ANASTROZOL DO 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO TENDO MENOS QUE CERCA DE 0,10% DA ÁREA POR HPLC DE IMPUREZA A, caracterizado por:

compreender as seguintes etapas:

- 5 (a) obtenção de uma ou mais amostras de um ou mais lotes de 3,5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno;
- (b) medição do nível de impureza A em cada uma das amostras;
- (c) seleção de um lote da etapa (a) cujo nível de impureza A é menor que 0,10% da área por HPLC, baseado na medição das amostras dos lotes; e
- (d) uso do lote selecionado para preparar o anastrozol.

10 13. PROCESSO PARA PREPARAR ANASTROZOL DO 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO TENDO MENOS QUE 0,10% DA ÁREA POR HPLC DE IMPUREZA A, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado por:

o processo adicionalmente compreender, anteriormente à etapa (d), a purificação do 3,5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno quando o nível medido na etapa 15 (b) for maior que cerca de 0,10% da área por HPLC.

20 14. PROCESSO PARA PREPARAR ANASTROZOL DO 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO TENDO MENOS QUE 0,10% DA ÁREA POR HPLC DE IMPUREZA A, de acordo com quaisquer das reivindicações 12 e 13, caracterizado por:

a dita purificação ser obtida pela cristalização do 3,5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno a partir de um solvente selecionado no grupo que consiste num hidrocarboneto aromático C₆₋₉, e um éter C₂₋₈.

25 15. MÉTODO DE HPLC USADO PARA DETERMINAR A PRESENÇA E A QUANTIDADE DE IMPUREZA A NUMA AMOSTRA DE 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO, caracterizado por:

compreender as seguintes etapas:

- 30 (a) combinação de uma amostra de 5-bis(2-ciano-isopropil)tolueno com água para obter uma solução;
- (b) injeção da solução obtida numa coluna;

- (c) eluição da amostra da coluna em cerca de 35 minutos usando água, eluente A, e acetonitrilo, eluente B, como um eluente, e
- (d) medição da impureza A contida na amostra em questão com um detector de UV.

5

16. MÉTODO DE HPLC USADO PARA DETERMINAR A PRESENÇA E A QUANTIDADE DE IMPUREZA A NUMA AMOSTRA DE 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado por:

10 o detector de UV operar num comprimento de onda de cerca de 210 nm.

17. MÉTODO DE HPLC USADO PARA DETERMINAR A PRESENÇA E A QUANTIDADE DE IMPUREZA A NUMA AMOSTRA DE 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO, de acordo com quaisquer das reivindicações 15 ou 16, caracterizado por:

15 o eluente usado ser uma mistura do eluente A e eluente B.

18. MÉTODO DE HPLC USADO PARA DETERMINAR A PRESENÇA E A QUANTIDADE DE IMPUREZA A NUMA AMOSTRA DE 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO, de acordo com quaisquer das reivindicações 15 a 17, caracterizado por:

20 a razão entre o eluente A e o eluente B variar com o tempo.

19. MÉTODO DE HPLC USADO PARA DETERMINAR A PRESENÇA E A QUANTIDADE DE IMPUREZA A NUMA AMOSTRA DE 3,5-BIS(2-CIANO-ISOPROPIL)TOLUENO, de acordo com quaisquer das reivindicações 15 a 18, caracterizado por:

25 ao iniciar-se o processamento, o eluente conter 80% do eluente A e 20% do eluente B; aos 30 minutos, o eluente conter 40% do eluente A e 60% de eluente B; aos 35 minutos, o eluente conter 20% do eluente A e 80% do eluente B; e, aos 36 minutos; o eluente conter 80% do eluente A e 20% do eluente B.

30

20. COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO ANASTROZOL, fabricada de acordo com quaisquer dos processos previstos em quaisquer das reivindicações 12 a 14, caracterizada por:

conter excipientes aceitáveis farmacêuticamente.

5

21. PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO UMA MISTURA DE ANASTROZOL fabricada de acordo com quaisquer dos processos previstos em quaisquer das reivindicações 12 a 14, caracterizado por:

10

a mistura ser com um veículo aceitável farmacêuticamente.

RESUMO

UMA IMPUREZA DE INTERMEDIÁRIO DE ANASTROZOL E SEUS USOS -
Provêm-se marcadores de referência e padrões de referência
para a determinação de impurezas em Anastrozol..