

(19)



(10) **LT 4780 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **4780**

(51) Int. Cl. ⁷: **C07D213/02**
A61K 31/44

(21) Paraiškos numeris: **2000 067**

(22) Paraiškos padavimo data: **2000 07 14**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2000 11 27**

(45) Patent paskelbimo data: **2001 04 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US98/27382**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1998 12 22**

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2000 07 14**

(30) Prioritetas: **071968, 1998 01 20, US**

(72) Išradėjas:

Janak SINGH, US
Madhusudhan PUDIPEDDI, US
Mark D. LINDRUD, US

(73) Patent savininkas:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, Lawrenceville-Princeton Road,
Princeton, New Jersey 08543-4000, US

(74) Patentinis patikėtinis:

Rita LAURINAVIČIŪTĖ, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

ŽIV proteazės inhibitoriaus rūgštusis sulfatas

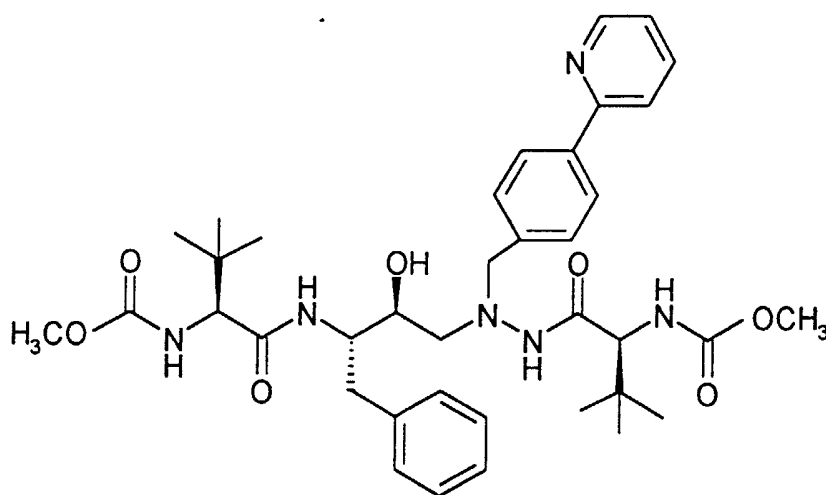
(57) Referatas:

Šiame išradime pateikiamas kristalinis rūgštusis sulfatas, kurio formulė (II), kuris, kaip buvo rasta, turi nelauktai didelį tirpumą/ištirpimo greitį ir peroralinį bioprieinamumą, lyginant su šio azapeptidinio ŽIV proteazės inhibitoriaus laisvos bazės forma.

Išradimo kilmė

1. Išradimo sritis

Šiame išradime pateikiama azapeptidinio ŽIV proteazės inhibitoriaus, kurio formulė:



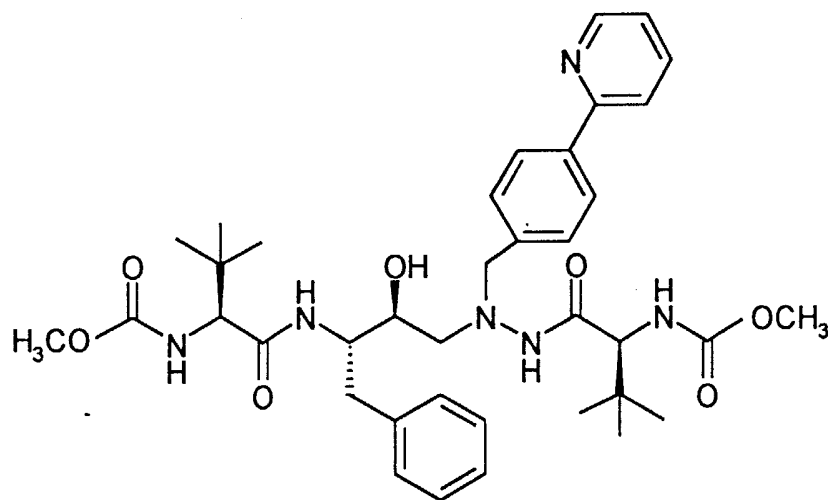
I

naujas kristalinis rūgštusis sulfatas, kuris pasižymi nelauktai dideliu tirpumu/ištirpimo greičiu vandenyje, lyginant su kitomis druskomis, ir labai pagerintu peroraliniu bioprieinamumu gyvūnams, lyginant su laisva baze. Taigi, šis rūgštusis sulfatas tinka aukščiau minėto proteazės inhibitoriaus farmacinėms dozuotoms formoms, ypatingai peroralinėms dozuotoms formoms.

2. Ankstesnis technikos lygis

Publikuotoje PCT patentinėje paraiškoje WO 97/40029 aprašoma eilė azapeptidinių ŽIV proteazės inhibitorių, kurie, kaip skelbiama, turi didelį

inhibicinio aktyvumo prieš ŽIV virusą laipsnį. Vienas iš agentų, kuris patenka į WO 97/40029 sferą, yra junginys, kurio struktūrinė formulė:



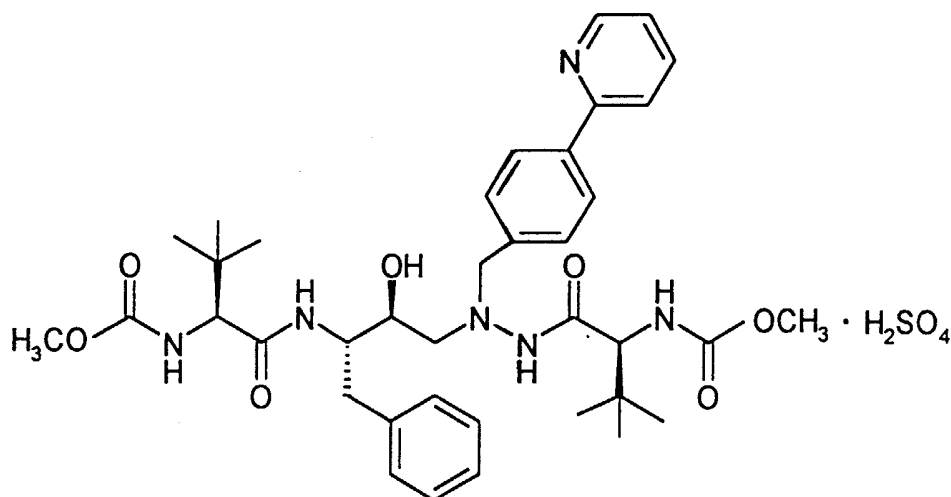
I

jo cheminis pavadinimas yra [3S-(3R*,8'R*,9'R*,12R*)]-3,12-bis(1,1-dimetiletil)-8-hidroksi-4,11-diokso-9-(fenilmetil)-6-[[4-(2-piridinil)-fenilmetil]-2,5,6,10,13-pentaazatetradekandikarboksirūgšties dimetilo esteris ir jis įvertinamas kaip galimas antros kartos ŽIV proteazės inhibitorius.

WO 97/40029 aprašomos azapeptidinių darinių, tokių kaip I junginys, laisvos bazės formos ir taip pat įvairios farmaciškai priimtinos adityvinės druskos su rūgštimis. Nors kaip galimi druskas sudarantys agentai yra paminėtos kelios organinės ir neorganinės rūgštys, įskaitant sulfato rūgštį, konkrečiai nepaminėtas rūgštusis sulfatas, kuris yra šios paraiškos objektas.

Išradimo santrauka

Šiame išradime pateikiamas aukščiau nurodyto I junginio rūgštusis sulfatas, kurio struktūrinė formulė:



II

Smulkus išradimo aprašymas

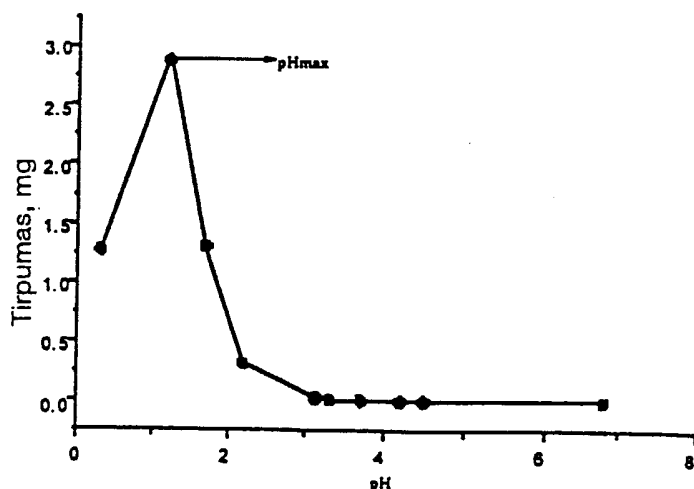
Aukščiau parodytas I junginys yra silpna organinė bazė, turinti mažesnį nei 1 $\mu\text{g/ml}$ tirpumą vandenyje 24 ± 3 °C temperatūroje. Kristalinė laisvos bazės forma, kaip suspensija vandenyje arba aliejuje, turi blogą peroralinį bioprieinamumą gyvūnams, tikriausiai dėl jos ypatingai mažo tirpumo šiuose tirpikliuose.

Kuriant farmacines vaistines formas, ypatingai peroralines dozuotas formas, veiklusis ingredientas turi turėti pakankamą bioprieinamumą. Kadangi I junginio laisva bazė neturi tokio bioprieinamumo, šie išradėjai tyrinėjo adityvines druskas su rūgštimis. Apart šio išradimo rūgščiojo sulfato, buvo įvertinta eilė paprastai naudojamų adityvinių druskų su rūgštimis, kaip antai hidrochloridas, benzensulfonatas, metansulfonatas, p-toluensulfonatas, fosfatas, nitratas, 1,2-etandisulfonatas, izetionatas ir sulfatas. Visos šios druskos kristalinėje formoje turėjo mažesnį tirpumą vandenyje (1-3 mg/ml arba mažiau 24 ± 3 °C temperatūroje) negu rūgštusis sulfatas, kurio tirpumas tomis pačiomis sąlygomis buvo apie 4-5 mg/ml.

Kai kitos aukščiau minėtos adityvinės druskos su rūgštimis buvo suspenduojamos vandenyje, buvo stebimos kietafazinės transformacijos tikriausiai dėl jų disociacijos susidarant laisvai bazei. Daugumoje atvejų šią transformaciją lydi gelio susidarymas. Skirtingai nuo kitų aukščiau minėtų

druskų, papildomas rūgščiojo sulfato protonas apsaugo nuo virsmo į laisvą bazę, kuri, kaip aukščiau minėta, yra labai netirpi vandenyje ir turi mažą peroralinį bioprieinamumą. Neįprastas rūgščiojo sulfato tirpumas vandenyje buvo toliau detaliai tiriamas tokiu būdu.

Bendrai imant, druskų pavertimas nejonizuota forma arba atvirkščiai gali būti aiškinamas remiantis tirpumo priklausomybės nuo pH teorija. Buvo išmatuotas laisvos bazės tirpumas vandenyje kaip funkcija nuo pH 24 ± 3 °C temperatūroje (parodyta žemiau). pH, kuriam esant junginys turi didžiausią tirpumą, žymimas pH_{max} , ir buvo rasta, kad jis yra apytikriai 1,2. Literatūroje skelbiama, kad esant $pH > pH_{max}$ silpnai bazinio organinio junginio atveju pusiausvyrinė kieta fazė junginio vandeninėje suspensijoje yra laisva bazė. Kai $pH < pH_{max}$, pusiausvyrinė kieta medžiaga pavirsta atitinkama druskos forma. Terminas "pusiausvyrinė kieta fazė" reiškia neištirpusią arba perteklinę kietą medžiagą junginio vandeninėje suspensijoje praėjus pakankamai laiko, kad susidarytų pusiausvyra. Kai silpnos bazės druskos kiekis, viršijantis tirpumo ribą, išlaikomas vandenyje iki pusiausvyros susidarymo (t.y. druskos suspensija vandenyje), gautas suspensijos pH gali atsidurti bet kurioje pH_{max} pusėje, tarp kitų faktorių, priklausomai nuo rūgšties stiprumo. Jei gautas pH yra didesnis nei pH_{max} , suspenduota kieta medžiaga pavirsta laisva baze.



Tyrimai, atlikti su šios laisvos bazės metansulfonatu ir ypač su hidrochloridu, patvirtino aukščiau aprašytus bendrus literatūroje paskelbtus duomenis. Šių druskų viršijantys tirpumą kiekiai buvo laikomi vandenyje iki pusiausvyros susidarymo 24 ± 3 °C temperatūroje mažiausiai 24 valandas. Pasiekus pusiausvyrą, suspensijos pH buvo $2,1 \pm 0,1$, kuris yra didesnis nei pH_{max} . Neištirpusios kietos medžiagos iš šių suspensijų buvo išskirtos, išdžiovintos ore ir charakterizuotos. Pagal terminę ir elementinę analizę neištirpusios kietos medžiagos iš šių suspensijų buvo identifikuotos kaip laisva bazė. Tokios elgsenos buvo galima laukti remiantis aukščiau duotame grafike parodyta tirpumo priklausomybe nuo pH ir literatūroje aprašytais tyrimais.

Kai rūgščiojo sulfato perteklius laikomas vandenyje iki pusiausvyros, kietoje fazėje, esančioje pusiausvyroje su tirpalu, atsiranda pakitimų. Tačiau neištirpusi kieta fazė po pusiausvyros buvo ne laisva bazė, nors suspensijos pH ($1,9 \pm 0,2$) buvo didesnis nei pH_{max} ir palyginamas su aukščiau aprašytų metansulfonato ir hidrochlorido suspensijų pH. Elementine analize nustatyta, kad kieta fazė po mažiausiai 24 val laikymo pusiausvyroje yra laisvos bazės formos ir sulfato rūgšties 2:1 druskos (vadinamos sulfatu) hidratuota forma. Išeinant iš tirpumo priklausomybės nuo pH teorijos, ši rūgščiojo sulfato elgsena yra netikėta.

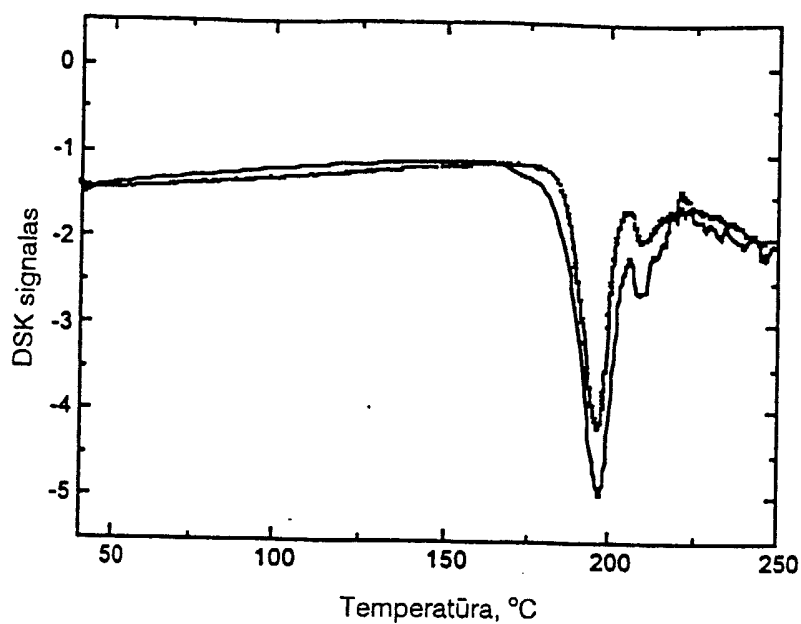
Savo ruožtu, kai sulfato perteklius laikomas vandenyje iki pusiausvyros, kietoje fazėje, esančioje pusiausvyroje su tirpalu, atsiranda pakitimų. Neištirpusi kieta medžiaga buvo išskirta iš suspensijos, išdžiovinta ore ir charakterizuota. Šios neištirpusios kietos fazės terminė ir elementinė analizė buvo panaši į laisvos bazės, nors sulfato virtimas į laisvą bazę nebuvo toks aiškus kaip metansulfonato arba hidrochlorido. Farmaciniu požiūriu druskų polinkis virsti laisva baze vandeninėje aplinkoje yra nepageidautinas dėl laisvos bazės mažo peroralinio bioprieinamumo. Taigi, rūgštusis sulfatas dėl jo unikalios elgsenos tirpumo vandenyje požiūriu turi netikėtą pranašumą.

Rūgščiojo sulfato tirpumo vandenyje elgsena taip pat buvo netikėta, nagrinėjant I junginio laisvos bazės ir sulfato rūgšties sąveiką vandenyje. Pavyzdžiui, laisvos bazės tirpumas vandenyje yra mažesnis nei 1 mg/ml

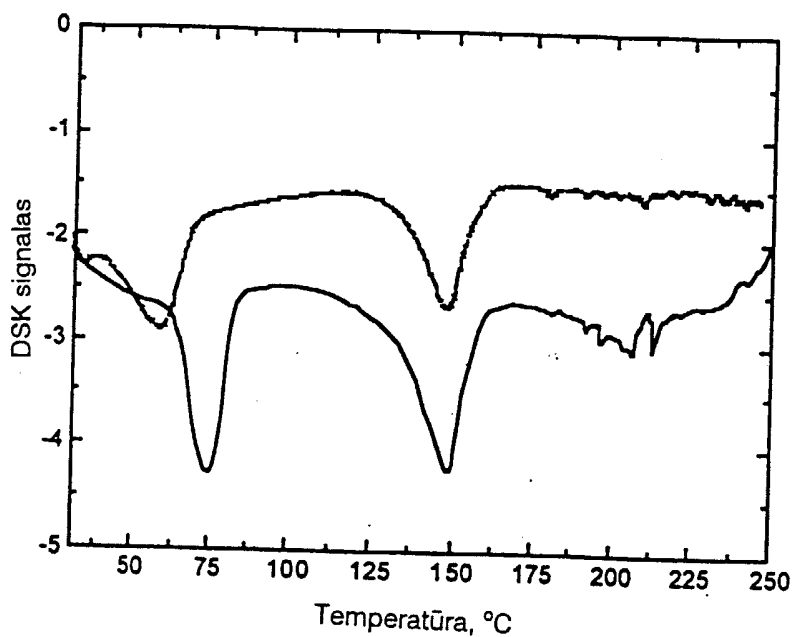
esant pH ~ 1,8, sureguliuotam panaudojant sulfato rūgštį, lyginant su rūgščiojo sulfato 4-5 mg/ml tirpumu vandenyje esant panašioms pH sąlygoms. Remiantis tirpumo priklausomybės nuo pH teorija galima laukti, kad esant duotam pH laisvos bazės ir druskos tirpumas bus panašus.

Padidintas rūgščiojo sulfato tirpumas/ištirpimas duoda įnašą į bioprieinamumo pagerinimą gyvūnams, lyginant su laisva baze. Buvo rasta, kad rūgščiojo sulfato absoliutus peroralinis bioprieinamumas šunims yra maždaug 20 %, kai jis įvedamas priedų neturinčia kieta forma želatininėje kapsulėje. Lyginant su tuo, kristalinė laisva bazė turėjo minimalų peroralinį bioprieinamumą šunims.

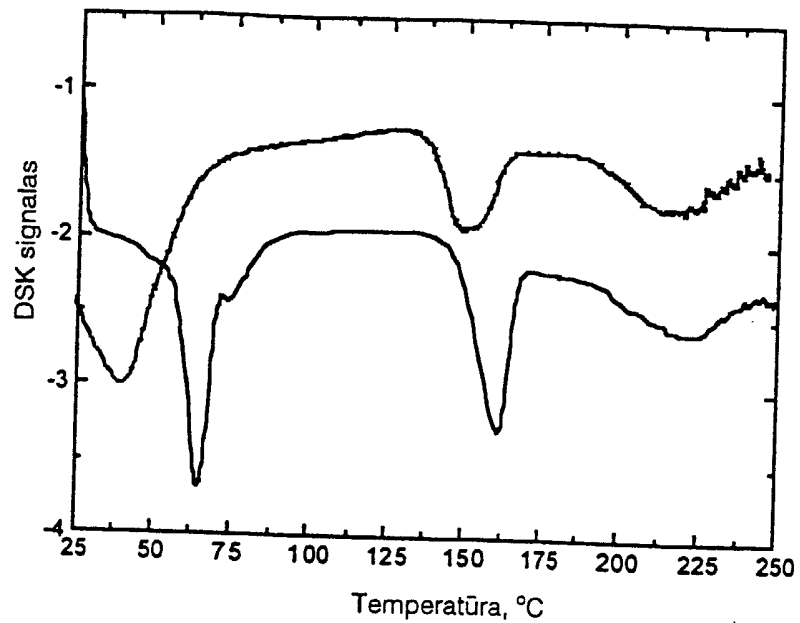
Apart optimalaus tirpumo, kita pageidautina farmacinių druskų formų savybė yra patenkinamas fizinis stabilumas kietoje būsenoje. Terminas "fizinis stabilumas" rodo druskos formos sugebėjimą išlaikyti jos kristalinę struktūrą (įskaitant kristalizacinius tirpiklius, jeigu tokie yra) laikymo/streso sąlygomis. Žymūs druskos formos fizinės prigimties pokyčiai, nustatomi terminiais metodais, tokiais kaip diferencinė skenuojamoji kalorimetrija, yra nepageidautini. Rūgštusis sulfatas turėjo puikų stabilumą kietoje būsenoje, laikant jį 40°C/75 % santykinės drėgmės (SD) sąlygomis net 9 mėnesius, kaip parodyta toliau duodamame IIa brėžinyje. Diferencinė skenuojamoji kalorimetrija neparodė jokių žymių stresą patyrusio rūgščiojo sulfato mėginio terminės elgsenos pokyčių, lyginant su nepatyrusiu streso mėginiu (laikytu 2-8 °C temperatūroje uždareme konteineryje). Priešingai, metansulfonatas, hidrochloridas ir sulfatas parodė žymius terminės elgsenos pokyčius, laikant juos 40 °C/75 % SD tik dvi savaites, kaip parodyta IIb, c ir d. Nors druskų formų fizinio stabilumo skirtumai nėra neįprasti, konkrečios druskos polinkis sudaryti solvatus (arba kristalines modifikacijas) ir jos sugebėjimas išlaikyti kristalizacijos tirpiklį (kristalinės modifikacijos fizinis stabilumas) laikymo/streso sąlygomis negali būti iš anksto numatytas.



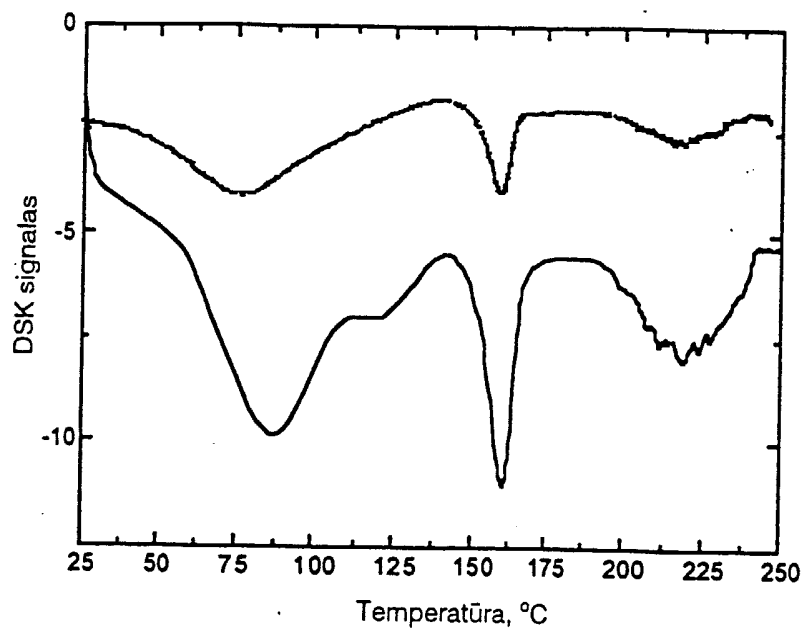
Ila. Rūgščiojo sulfato fizinis stabilumas. Ištinė linija reiškia streso nepatyrusią medžiagą. Punktyrinė linija reiškia medžiagą, palaikytą 40 °C/75 % SD 9 mėnesius.



Ilb. Hidrochlorido fizinis stabilumas. Ištinė linija reiškia streso nepatyrusią medžiagą. Punktyrinė linija reiškia medžiagą, palaikytą 40 °C/75 % SD 2 savaites.



IIC. Metansulfonato fizinis stabilumas. Ištinė linija reiškia streso nepatyrusią medžiagą. Punktinė linija reiškia medžiagą, palaikytą 40 °C/75 % SD 2 savaites.



IID. Sulfato fizinis stabilumas. Ištinė linija reiškia streso nepatyrusią medžiagą. Punktinė linija reiškia medžiagą, palaikytą 40 °C/75 % SD 2 savaites.

Rūgštusis sulfatas gali būti pagaminamas paruošiant I junginio laisvos bazės tirpalą su sulfato rūgštimi tirpikliuose, tokiuose kaip acetonitrilas, izopropanolis, etanolis arba acetonas, po to išskiriant tokiu būdu pagamintą rūgštųjį sulfatą.

Dėl didelio bioprieinamumo bei jo gero kristališkumo ir stabilumo rūgštusis sulfatas labai tinka gaminant I junginio peroralines dozuotas formas. Toliau duodami pavyzdžiai iliustruoja būdingų peroralinių vaisto formų paruošimą.

Rūgštusis sulfatas ir jo vaisto formos yra naudojamos, kaip aprašyta WO 97/40029, ligų, kurias sukelia virusai, ypatingai retrovirusai, kaip antai ŽIV virusas, gydymui.

Konkrečių įgyvendinimo variantų aprašymas

1 pavyzdys

Rūgščiojo sulfato gavimas iš etanolio

I 500 ml talpos trigurklę apvaliadugnę kolbą su viršuje esančiu maišikliu ir lašinamuoju piltuvu maišant pridedama 15,013 g (0,0213 mol) I junginio laisvos bazės ir 113 ml 200 standarto stiprumo etanolio. Į šią suspensiją per 90 sekundžių sulašinama 1,28 ml koncentruotos sulfato rūgšties. Sulašinus sulfato rūgštį, gaunamas skaidrus gintaro spalvos tirpalas. Šis tirpalas greitai nufiltruojamas, naudojant #1 Vatmano filtrinį popierių ir perplaunama 5 ml 200 standarto stiprumo etanolio. Į šį tirpalą pridedama 58 ml heptano ir 37,5 mg (0,25 % pagal masę) II formulės junginio kristalų kristalizacijos centrų sudarymui, po to dar 55 ml heptano. Gautas mišinys maišomas 6 val. 300 aps/min. greičiu. Susidariusi kristalų suspensija nufiltruojama, plaunama 50 ml etanolio/heptano (1:1) tirpalo, ir išdžiovinus per naktį vakuume 60 °C temperatūroje gaunama 15,11 g norimo kristalinio rūgščiojo sulfato (88,4 mol.% išeiga), turinčio aukščiau parodytą II formulę.

Charakterizuojančios rūgščiojo sulfato savybės

Analizė. Apskaičiuota pagal $C_{38}H_{52}N_6O \cdot 1,0 H_2SO_4$: C, 56,84; H, 6,78; N, 10,37; S, 3,99. Rasta: C, 56,72; H, 6,65; N, 10,41; S, 3,83.

Lyd. temp. 195,0°.

$H_2O = 0,28 \%$ (KF).

2 pavyzdys

Rūgščiojo sulfato gavimas iš acetono

Į 50 °C alyvos vonioje esančią mechaniniu maišikliu maišomą I formulės junginio laisvos bazės (30,0 g, 42,6 mM) suspensiją acetone (213 ml) sulašinama 5M H_2SO_4 (8,52 ml, 42,6 mM). Beveik momentaliai gaunasi skaidrus tirpalas. Į šį tirpalą kristalizacijos centrų sudarymui pridedama II formulės junginio. Po dviejų minučių susidaro nuosėdos, kurios pavirsta pasta. Šis mišinys maišomas 50 °C temperatūroje vieną valandą, 25 °C temperatūroje 30 minučių ir 0 °C temperatūroje 2 valandas. Kieta medžiaga nufiltruojama ir pirmasis filtratas panaudojamas perkelti kolboje likusiai medžiagai į filtravimo piltuvą. Produktas plaunamas acetonu, po to heptanu, ir išdžiovinus per naktį vakuume gaunama 31,48 g (koreguota išeiga 92 %) II formulės rūgščiojo sulfato; lyd. temp. 198-199 °C (skyla).

Analizė. Apskaičiuota pagal $C_{38}H_{52}N_6O \cdot 1,0 H_2SO_4 \cdot 0,2 H_2O$: C, 56,59; H, 6,80; N, 10,42; S, 3,98; H_2O , 0,45. Rasta: C, 56,66; H, 6,78; N, 10,50; S, 4,20; H_2O , 0,45 (KF).

3 pavyzdys

Rūgščiojo sulfato gavimas iš izopropanolio

Į atšaldytą ledo vonioje I formulės junginio laisvos bazės (0,704 g, 1,00 mM) suspensiją izopropanolyje (4,0 ml) pridedama sulfato rūgšties (5,0 M, 0,20 ml, 1 mM). Ledo vonia nuimama, ir mišinys maišomas kambario temperatūroje. Po 15 minučių suspensija ištirpsta. Į tirpalą kristalizacijos centrų sudarymui pridedama kristalų, gautų pagal 1 ir 2 pavyzdžiuose aprašytas metodikas, ir maišoma 5 valandas. Kieta medžiaga nufiltruojama, ir

filtratas panaudojamas kietai medžiagai perkelti iš kolbos į piltuvą. Perplovus produktą heptanu ir išdžiovinus vakuume, gaunama 0,752 g II formulės kristalinio rūgščiojo sulfato; išeiga 90 %, lyd. temp. 160-190 °C (skyla).

Analizė. Apskaičiuota pagal $C_{38}H_{52}N_6O \cdot 1,0 H_2SO_4 \cdot 2,0 H_2O$: C, 54,40; H, 6,97; N, 10,02; S, 3,82; H_2O , 4,29. Rasta: C, 54,25; H, 6,73; N, 10,02; S, 3,67; H_2O , 4,53 (KF).

Iš izopropanolio gauti kristalai turėjo miltelių Rentgeno spindulių difrakcijos vaizdą besiskiriantį nuo kristalų, gautų iš acetonitrilo, etanolio-heptano arba acetono, vaizdo. Jie pavadinti II tipo kristalais. I tipo kristalai yra bevandenė desolvatuota kristalinė medžiaga, tuo tarpu kai II tipo kristalai yra hidatuotos, higroskopinės kristalinės formos.

4 pavyzdys

Rūgščiojo sulfato kapsulių tipo vaisto formos pagaminimas

A. Kapsulės (50 ir 200 mg laisvos bazės ekvivalentas)

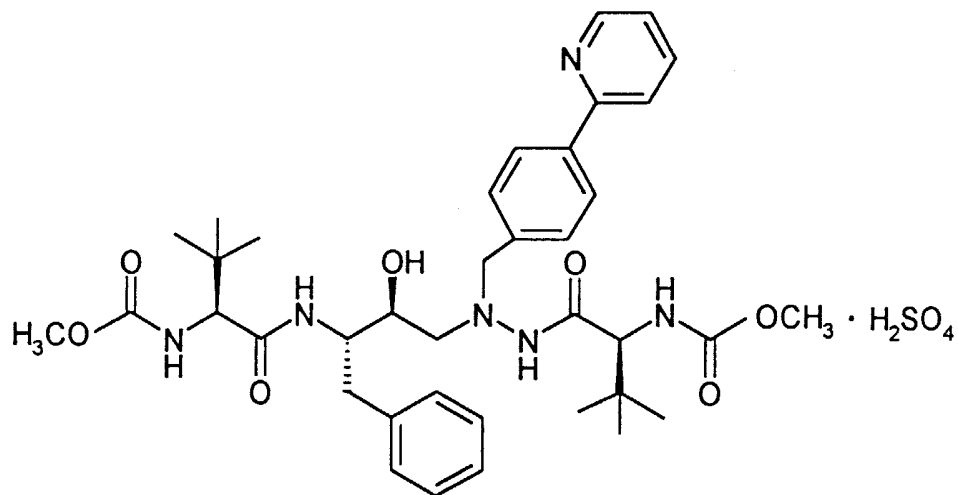
Pateikiamos peroralinio vartojimo kapsulės, kur kapsulė yra #0 dydžio, pilka, neskaidri, kieta želatininė kapsulė, turinti II formulės rūgščiojo sulfato, paruošto drėgno granuliavimo būdu su laktoze, krospovidonu ir magnio stearatu.

B. Kapsulės (100 mg laisvos bazės ekvivalentas)

Pateikiamos peroralinio vartojimo kapsulės, kur kapsulė yra #0 dydžio, pilka, neskaidri, kieta želatininė kapsulė, turinti II formulės rūgščiojo sulfato, suspenduoto Gelucire 44/14. Gelucire 44/11 yra sotus poliglikolintas gliceridas, susidedantis iš mono-, di- ir trigliceridų ir mono- ir di-riebalų rūgščių polietilenglikolio esterių. Kapsulės pagaminamos sulydant Gelucire 44/11 45-70 °C temperatūroje, po to maišant pridedama rūgščiojo sulfato. Sulydytu mišiniu užpildomos kietos želatininės kapsulės ir paliekamos atvėsti ir sukietėti.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Rūgštusis sulfatas, kurio formulė:



II

2. Farmacinė dozuota forma, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad j ją įeina rūgštusis sulfatas pagal 1 punktą ir farmaciškai priimtinas nešiklis.