

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2015-366

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

C07D 403/14 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **29.05.2015**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **07.12.2016**

(**Věstník č. 49/2016**)

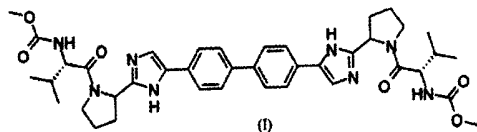
(71) Přihlašovatel:
Zentiva, k.s., Praha 10 - Dolní Měcholupy, CZ

(72) Původce:
Pavel Žvátora, Plumlov, CZ
Ondřej Dammer, Hostivice, CZ
Lukáš Krejčík, Praha 9- Vinoř, CZ
Marcela Tkadlecová, Praha 6, CZ
Jakub Heřt, Praha 6, CZ

(74) Zástupce:
ROTT, RŮŽIČKA & GUTTMANN
Patentová, známková a advokátní kancelář, Ing.
Jana Fuchsová, Vinohradská 37, 120 00 Praha 2

(54) Název přihlášky vynálezu:
Pevné formy Daclatasviru

(57) Anotace:
Řešení se týká solí methyl [(2*S*)-1-[(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-[(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl]-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl]-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu-daclatasviru vzorce I, v tuhém skupenství s kyselinou vybranou ze skupiny sestávající z kyseliny chlorovodíkové, bromovodíkové, sírové, 2-naftalensulfonové, toluensulfonové, methansulfonové, benzensulfonové, maleinové a fumarové. Dalším řešením je způsob přípravy solí daclatasviru s kyselinami.



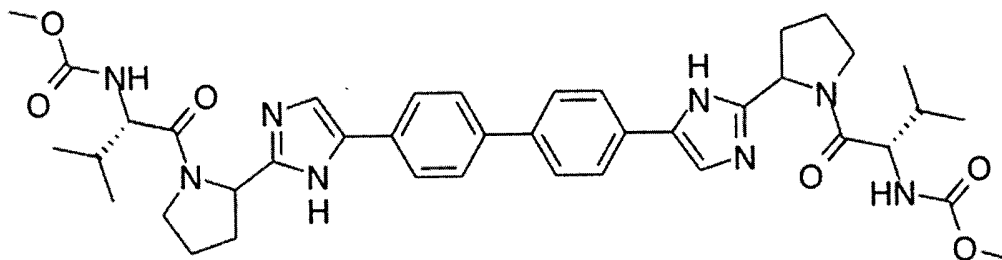
CZ 2015 - 366 A3

20.05.15

Pevné formy Daclatasviru

Oblast techniky

Vynález se týká nových pevných formy Methyl [(2S)-1-{(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-{(2S)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1H-imidazol-4-yl]-4-bifenylyl)-1H-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu vzorec I,



(I)

známého jako daclatasvir, a způsobů jejich přípravy.

Dosavadní stav techniky

Methyl[(2S)-1-{(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-{(2S)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1H-imidazol-4-yl]-4-bifenylyl)-1H-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamát, který je známý jako daclatasvir (CAS no. 1009119-64-5) patří do skupiny antivirotik vhodných pro léčbu hepatitidy typu C. Dihydrochlorid daclatasviru byl pod obchodním názvem Daklinza schválen organizací *European Medicines Agency* (EMA) pro hepatitidy typu C.

Příprava této molekuly a její izolace v krystalické formě jako daclatasvir dihydrochlorid byla popsána v patentových přihláškách WO 2008/021927 a WO 2009/020828.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu jsou nové pevné formy daclatasviru ve formě farmaceuticky akceptovatelných solí s anorganickými a organickými kyselinami a způsoby jejich přípravy. Tyto soli jsou připraveny reakcí daclatasviru v bazické formě (vzorec I) s vybranými kyselinami ve vhodném rozpouštědle nebo směsích rozpouštědel.

Připravené nové pevné formy má vhodné fyzikálně-chemické vlastnosti pro použití ve farmacii a formulaci nových lékových forem.

Popis obrázků

- Obrázek 1. RTG práškový záznam volné báze daclatasviru připravené (podle příkladu 1)
- Obrázek 2. DSC záznam volné báze daclatasviru připravené (podle příkladu 1)
- Obrázek 3. RTG práškový záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu (podle příkladu 2)
- Obrázek 4. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu (podle příkladu 2)
- Obrázek 5. RTG práškový záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu (podle příkladu 3)
- Obrázek 6. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu (podle příkladu 3)
- Obrázek 7. RTG práškový záznam daclatasvir dihydrobromidu (podle příkladu 4)
- Obrázek 8. DSC záznam daclatasvir dihydrobromidu (podle příkladu 4)
- Obrázek 9. RTG práškový záznam daclatasvir disíranu (podle příkladu 5)
- Obrázek 10. DSC záznam daclatasvir disíranu (podle příkladu 5)
- Obrázek 11. RTG práškový záznam daclatasvir naftalensulfonát (podle příkladu 6)
- Obrázek 12. DSC záznam daclatasvir naftalensulfonát (podle příkladu 6)
- Obrázek 13. ^1H NMR spektrum daclatasvir naftalensulfonát (podle příkladu 6)
- Obrázek 14. RTG práškový záznam daclatasvir tosylátu (podle příkladu 7)
- Obrázek 15. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir tosylátu (podle příkladu 7)
- Obrázek 16. ^1H NMR spektrum daclatasvir tosylátu (podle příkladu 7)
- Obrázek 17. RTG práškový záznam daclatasvir mesylátu (podle příkladu 8)
- Obrázek 18. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir mesylátu (podle příkladu 8)
- Obrázek 19. ^1H NMR spektrum daclatasvir mesylátu (podle příkladu 8)
- Obrázek 20. RTG práškový záznam daclatasvir besylátu (podle příkladu 9)
- Obrázek 21. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir besylátu (podle příkladu 9)
- Obrázek 22. ^1H NMR spektrum daclatasvir besylátu (podle příkladu 9)
- Obrázek 23. RTG práškový záznam daclatasvir maleátu (podle příkladu 10)
- Obrázek 24. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir maleátu (podle příkladu 10)
- Obrázek 25. ^1H NMR spektrum daclatasvir maleátu (podle příkladu 10)
- Obrázek 26. RTG práškový záznam daclatasvir maleátu (podle příkladu 11)
- Obrázek 27. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir maleátu (podle příkladu 11)
- Obrázek 28. ^1H NMR spektrum daclatasvir maleátu (podle příkladu 11)
- Obrázek 29. RTG práškový záznam daclatasvir fumarát (1:1) (podle příkladu 12)
- Obrázek 30. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir fumarát (1:1) (podle příkladu 12)
- Obrázek 31. ^1H NMR spektrum daclatasvir fumarát (1:1) (podle příkladu 12)

Obrázek 32. RTG práškový záznam daclatasvir fumarát (1:2) (podle příkladu 13)

Obrázek 33. DSC záznam amorfnní formy daclatasvir fumarát (1:2) (podle příkladu 13)

Obrázek 34. ^1H NMR spektrum daclatasvir fumarát (1:2) (podle příkladu 13)

Podrobný popis vynálezu

Soli farmaceuticky aktivních látek mají obecně vyšší rozpustnost a biodostupnost než její odpovídající bazické formy.

Přestože je příprava soli reakcí kyseliny a báze způsobem známým, je vždy problémem získat uvedené soli v tuhém skupenství a v čistotě odpovídající nárokům pro jejich farmaceutické použití. Biologická dostupnost velmi závisí na tom, zda je získán produkt krystalický nebo amorfnní. Amorfnní produkt bývá rychleji rozpustný, často jej nelze získat v odpovídající kvalitě a bývá také nestabilní. Naproti tomu krystalický produkt je ve srovnání s amorfnní formou často stabilní se snadněji získatelnou čistotou a pomaleji se rozpouští. Řešením mohou být směsi amorfnní a krystalické tuhé fáze.

Tento vynález poskytuje soli daclatasviru v tuhé fázi v amorfnních podobách, v krystalické formě, nebo ve směsi amorfnní a krystalu.

Předmětem vynálezu jsou nové pevné formy daclatasviru s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, kyselinou sírovou, maleinovou kyselinou, benzensulfonovou kyselinou, toluensulfonovou kyselinou, naftalensulfonovou kyselinou a methansulfonovou kyselinou v různém molárním poměru. V řešení jsou upřednostňovány molární poměry 2:1, 1:1 a 1:2.

Nové pevné formy daclatasviru s těmito kyselinami mohou být připraveny v odpovídajících poměrech a výtěžcích s vysokou chemickou čistotou v krystalické formě, amorfnní formě, nebo ve směsi amorfnní a krystalu.

Tyto nové pevné formy mohou být jak bezvodé a nebo nesolvatované, tak ve formě hydrátů/solvátů příslušných rozpouštědel.

Připravené nové pevné formy daclatasviru mohou mít různé vnitřní uspořádání (polymorfismus) s odlišnými fyzikálněchemickými vlastnostmi v závislosti na podmínkách jejich přípravy. Z tohoto důvodu se vynález vztahuje k jednotlivým krystalům nebo jejich směsím v libovolném poměru.

Tyto nové pevné formy jsou vhodné k přípravě daclatasviru o vysoké chemické čistotě.

Příprava nových pevných forem daclatasviru (vzorec (I)), je provedena reakcí volné báze s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, kyselinou sírovou, maleinovou kyselinou, benzensulfonovou kyselinou, toluensulfonovou kyselinou, naftalensulfonovou kyselinou nebo

methansulfonovou kyselinou. Reakce je provedena ve vhodném rozpouštědle, kterým mohou být ketony, estery, étery, amidy, nitrily nebo organické kyseliny, alkoholy, alifatické a aromatické uhlovodíky, chlorované uhlovodíky, voda nebo jejich směsi. Preferovány jsou alifatické C₁-C₄ alkoholy, estery nebo jejich směsi. Nejpoužívanějšími rozpouštědly jsou ethylacetát, methanol, ethanol, voda nebo jejich směsi. Výsledný produkt je precipitován nebo krystalizován typicky při teplotách v rozmezí – 30 °C do bodu varu rozpouštědla.

V řešení je upřednostňována amorfnní forma daclatasvir dihydrochloridu, která má pro svoji amorfnní povahu vyšší rozpustnost a biodostupnost, než odpovídající krystalická forma. Připravené amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu vykazují vysokou teplotu skelného přechodu a jsou tak dostatečně stabilní pro použití v lékové formě. Bylo zjištěno, že při skladování amorfnního daclatasvir dihydrochloridu při teplotě 80 °C a relativní vlhkosti vzduchu 75 % po dobu nejméně tří dnů nedochází ke změnám v chemické čistotě a ani ke změně amorfnní povahy vzorku.

Z připravených krystalických forem jsou upřednostňovány daclatasvir maleát a daclatasvir fumarát. Tyto krystalické formy daclatasviru lze připravit a izolovat s vysokou chemickou čistotou.

Připravené nové pevné formy daclatasviru mohou být použity jako alternativa krystalické formy daclatasvir dihydrochloridu pro kompozici nového léčivého přípravku.

Krystalický daclatasvir dihydrochlorid byl připraven podle postupu uvedeného v patentu (WO 2009/020828). Volná báze daclatasviru byla připravena neutralizací daclatasvir dihydrochlorid roztokem hydroxidu sodného podle postupu uvedeného v příkladu 1.

RTG práškový záznam volné báze daclatasviru (připraveného podle příkladu 1) je uveden na obrázku 1.

DSC záznam volné báze daclatasviru (připraveného podle příkladu 1) je uveden na obrázku 2.

Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu volné báze daclatasviru 121 °C.

RTG práškový záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu (připraveného podle příkladu 2) je uveden na obrázku 3.

DSC záznam daclatasvir dihydrochloridu (připraveného podle příkladu 2) je uveden na obrázku 4. Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu daclatasvir dihydrochloridu 191 °C.

RTG práškový záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrochloridu (připraveného podle příkladu 3) je uveden na obrázku 5.

DSC záznam daclatasvir dihydrochloridu (připraveného podle příkladu 3) je uveden na obrázku 6. Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu daclatasvir dihydrochloridu 187 °C.

RTG práškový záznam amorfnní formy daclatasvir dihydrobromidu (připraveného podle příkladu 4) je uveden na obrázku 7.

DSC záznam daclatasvir dihydrobromidu (připraveného podle příkladu 4) je uveden na obrázku 8. Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu daclatasvir dihydrobromidu 183 °C.

RTG práškový záznam amorfnní formy daclatasvir disíranu (připraveného podle příkladu 5) je uveden na obrázku 9.

DSC záznam daclatasvir disíranu (připraveného podle příkladu 5) je uveden na obrázku 10. Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu daclatasvir disíranu 176 °C.

Krystalická forma daclatasvir naftalensulfonátu (1:1) je charakterizována reflexemi uvedenými v Tabulce 1. Tabulka 1 zahrnuje reflexe, jejichž hodnota relativní intenzity je vyšší než 1 procento. Charakteristické difrakční píky daclatasvir tosylátu podle tohoto vynálezu jsou: 5,0; 6,3; 10,2; 13,7; 18,6 a $21,0 \pm 0,2$ ° 2-theta. RTG práškový záznam je uveden na obrázku 11.

Tabulka 1

Pos. [°2Th.]	d [Å]	Rel. Int. [%]
5,03	17,563	90,1
5,86	15,072	67,7
6,25	14,125	64,2
8,23	10,732	15,1
9,06	9,748	11,3
10,18	8,686	28,4
10,49	8,429	26,8
12,64	6,998	10,6
13,30	6,652	40,7
13,66	6,477	52,7
14,05	6,300	27,3
14,61	6,058	38,0
14,99	5,904	33,6

15,40	5,748	21,9
18,58	4,771	35,3
19,31	4,594	28,2
19,86	4,468	22,4
20,99	4,229	100,0
21,92	4,052	17,0
22,67	3,918	18,6
23,18	3,835	10,4
23,87	3,725	11,7
25,63	3,473	17,2
26,77	3,328	13,1
27,94	3,191	10,8

Teplota tání daclatasvir naftalensulfonátu (1:1) (obrázek 12) je v tomto případě 97 °C a 223 °C (DSC).

Na obrázku 13 je uveden příklad ^1H NMR spektra připraveného daclatasvir naftalensulfonátu (připraveného podle příkladu 6).

Krystalická forma daclatasvir tosylátu (1:1) je charakterizována reflexemi uvedenými v Tabulce 2. Tabulka 2 zahrnuje reflexe, jejichž hodnota relativní intenzity je vyšší než 1 procento. Charakteristické difrakční píky daclatasvir tosylátu podle tohoto vynálezu jsou: 5,0; 6,3; 10,2; 13,7; 18,6 a $21,0 \pm 0,2$ ° 2-theta. RTG práškový záznam je uveden na obrázku 14.

Tabulka 2

Pos. [°2Th.]	d [Å]	Rel. Int. [%]
5,03	17,563	90,1
5,86	15,072	67,7
6,25	14,125	64,2
8,23	10,732	15,1
9,06	9,748	11,3
10,18	8,686	28,4
10,49	8,429	26,8
12,64	6,998	10,6
13,30	6,652	40,7

13,66	6,477	52,7
14,05	6,300	27,3
14,61	6,058	38,0
14,99	5,904	33,6
15,40	5,748	21,9
18,58	4,771	35,3
19,31	4,594	28,2
19,86	4,468	22,4
20,99	4,229	100,0
21,92	4,052	17,0
22,67	3,918	18,6
23,18	3,835	10,4
23,87	3,725	11,7
25,63	3,473	17,2
26,77	3,328	13,1
27,94	3,191	10,8

Teplota tání daclatasvir tosylátu (1:1) (obrázek 15) je v tomto případě 122 °C a 234 °C (DSC).

Na obrázku 16 je uveden příklad ^1H NMR spektra připraveného daclatasvir tosylátu (připraveného podle příkladu 7).

RTG práškový záznam daclatasvir mesylátu (připraveného podle příkladu 8) je uveden na obrázku 17.

DSC záznam daclatasvir mesylátu (připraveného podle příkladu 8) je uveden na obrázku 18. Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu daclatasvir mesylátu 103 °C.

Na obrázku 19 je uveden příklad ^1H NMR spektra připraveného daclatasvir mesylátu (připraveného podle příkladu 8).

RTG práškový záznam daclatasvir besylátu (připraveného podle příkladu 9) je uveden na obrázku 20.

DSC záznam daclatasvir besylátu (připraveného podle příkladu 9) je uveden na obrázku 21. Podle tohoto příkladu je teplota skelného přechodu daclatasvir besylátu 108 °C.

Na obrázku 22 je uveden příklad ^1H NMR spektra připraveného daclatasvir besylátu (připraveného podle příkladu 9).

Krystalická forma daclatasvir maleátu (1:1) je charakterizována reflexemi uvedenými v Tabulce 3. Tabulka 3 zahrnuje reflexe, jejichž hodnota relativní intenzity je vyšší než 1 procento. Charakteristické difrakční píky daclatasvir maleátu podle tohoto vynálezu jsou: 9,1; 15,8; 17,9; 21,5; 24,7 a $26,3 \pm 0,2$ ° 2-theta. RTG práškový záznam je uveden na obrázku 23.

Tabulka 3

Pos. [°2Th.]	d [Å]	Rel. Int. [%]
4,21	20,985	5,2
8,37	10,553	31,8
9,13	9,679	100,0
12,92	6,848	15,4
13,49	6,558	9,1
14,25	6,211	26,0
15,81	5,601	43,3
16,91	5,241	13,7
17,94	4,941	34,5
18,71	4,739	23,7
19,29	4,599	7,5
20,10	4,414	8,8
20,99	4,230	6,2
21,53	4,124	34,6
23,12	3,844	18,2
24,65	3,608	25,6
26,32	3,383	12,4
28,08	3,175	5,1
29,50	3,025	2,2
30,64	2,915	1,9
32,22	2,776	2,3
33,39	2,681	2,0

Teplota tání daclatasvir maleátu (1:1) (obrázek 24) je v tomto případě 165 °C (DSC).

Na obrázku 25 je uveden příklad ¹H NMR spektra připraveného daclatasvir maleátu (připraveného podle příkladu 10).

Krystalická forma daclatasvir maleátu (1:2) je charakterizována reflexemi uvedenými v Tabulce 4. Tabulka 4 zahrnuje reflexe, jejichž hodnota relativní intenzity je vyšší než 1 procento. Charakteristické difrakční píky daclatasvir maleátu podle tohoto vynálezu jsou: 9,0; 15,6; 17,8; 21,4; 23,0 a $24,5 \pm 0,2$ ° 2-theta. RTG práškový záznam je uveden na obrázku 26.

Tabulka 4

Pos. [°2Th.]	d [Å]	Rel. Int. [%]
4,11	21,469	18,0
8,31	10,629	35,3
9,02	9,795	100,0
12,61	7,013	19,5
13,20	6,700	11,5
13,98	6,331	25,2
15,57	5,687	56,4
16,74	5,293	20,8
17,77	4,987	40,0
18,62	4,761	26,3
19,94	4,450	9,7
21,38	4,153	41,1
22,20	3,999	7,9
22,54	3,941	12,3
22,97	3,869	34,8
24,55	3,623	32,7
26,30	3,388	16,4
28,05	3,179	7,2
29,59	3,016	2,8
30,47	2,932	2,1

Teplota tání daclatasvir maleátu (1:2) (obrázek 27) je v tomto případě 166 °C (DSC).

Na obrázku 28 je uveden příklad ¹H NMR spektra připraveného daclatasvir maleátu (připraveného podle příkladu 11).

Krystalická forma daclatasvir fumarátu (1:1) je charakterizována reflexemi uvedenými v Tabulce 5. Tabulka 5 zahrnuje reflexe, jejichž hodnota relativní intenzity je vyšší než 1

procento. Charakteristické difrakční píky daclatasvir fumarátu podle tohoto vynálezu jsou: 8,1; 11,7; 15,1; 20,3; 22,7 a $24,4 \pm 0,2$ ° 2-theta. RTG práškový záznam je uveden na obrázku 29.

Tabulka 5

Pos. [°2Th.]	d [Å]	Rel. Int. [%]
7,44	11,874	15,4
8,15	10,845	100,0
9,99	8,845	9,3
11,13	7,944	42,2
11,71	7,552	69,2
12,95	6,832	18,1
14,63	6,049	11,8
15,12	5,854	44,0
15,37	5,760	35,6
16,88	5,249	22,2
18,42	4,813	9,8
18,73	4,733	10,7
19,93	4,451	64,1
20,29	4,374	77,8
21,33	4,163	11,7
21,88	4,059	7,3
22,65	3,922	26,5
23,91	3,719	14,7
24,41	3,644	24,3
25,24	3,526	9,0
26,32	3,383	19,2
27,07	3,291	18,9
28,34	3,146	4,6
29,61	3,014	7,6

Teplota tání daclatasvir fumarátu (1:1) (obrázek 30) je v tomto případě 112 °C a 179 °C (DSC).

Na obrázku 31 je uveden příklad ^1H NMR spektra připraveného daclatasvir fumarátu (připraveného podle příkladu 12).

Krystalická forma daclatasvir fumarátu (1:2) je charakterizována reflexemi uvedenými v Tabulce 6. Tabulka 6 zahrnuje reflexe, jejichž hodnota relativní intenzity je vyšší než 1 procento. Charakteristické difrakční píky daclatasvir fumarátu podle tohoto vynálezu jsou: 6,6; 8,2; 13,0; 15,4 a $20,5 \pm 0,2$ ° 2-theta. RTG práškový záznam je uveden na obrázku 32.

Tabulka 6

Pos. [°2Th.]	d [Å]	Rel. Int. [%]
6,60	13,378	31,4
7,56	11,680	19,5
8,23	10,730	76,6
10,02	8,823	7,5
11,31	7,814	7,4
11,82	7,484	25,4
12,48	7,089	54,6
13,00	6,804	87,6
14,16	6,250	20,5
15,41	5,747	100,0
20,52	4,325	65,8
23,40	3,798	17,0
24,59	3,617	9,5
25,37	3,508	5,6
26,47	3,365	17,0
27,22	3,274	9,6
28,72	3,106	14,4

Teplota tání daclatasvir fumarátu (1:1) (obrázek 33) je v tomto případě 154 °C a 200 °C (DSC).

Na obrázku 34 je uveden příklad ^1H NMR spektra připraveného daclatasvir fumarátu (připraveného podle příkladu 13).

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady, které ilustrují přípravu nových pevných forem daclatasviru podle vynálezu, mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezuje.

Experimentální část

RTG prášková difrakce

Difraktogramy byly získány na práškovém difraktometru X'PERT PRO MPD PANalytical, použité záření CuK α ($\lambda=1.542$ Å), excitační napětí: 45 kV, anodový proud: 40 mA, měřený rozsah: 2 - 40° 2 θ , velikost kroku: 0,01° 2 θ při setrvání na reflexi 0,5 s, měření probíhalo na plochém vzorku o ploše/tloušťce 10/0,5 mm. Pro korekci primárního svazku byly užity 0,02 rad Sollerovy clonky, 10 mm maska a 1/4° fixní protirozptylová clonka. Ozářená plocha vzorku je 10 mm, byly užity programovatelné divergenční clonky. Pro korekci sekundárního svazku byly užity 0,02 rad Sollerovy clonky a 5,0 mm protirozptylová clonka.

Infračervená spektroskopie

ATR (Ge – single reflection) infračervená spektra práškových vzorků byla změřena infračerveným spektrometrem (Nicolet Nexus, Thermo, USA) vybaveným DTGS detektorem KBr, v rozsahu měření 600-4000 cm⁻¹ a se spektrálním rozlišením 4,0 cm⁻¹. Data byla získána při počtu akumulací spektra 64. Ke zpracování spekter byl použit software OMNIC 6.2.

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Záznamy nových pevných forem daclatasviru byly naměřeny na přístroji Discovery DSC od firmy TA Instruments. Navážka vzorku do standardního Al kelímku (40 μ L) byla mezi 4-5 mg a rychlost ohřevu 5 °C/min. Teplotní program, který byl použit je složen z 1 stabilizační minuty na teplotě 0°C a poté z ohřevu do 220 °C rychlostí ohřevu 5 °C/min (Amplituda = 0,8 °C a Perioda = 60s). Jako nosný plyn byl použit 5.0 N₂ o průtoku 50 ml/min.

¹H NMR

Pro strukturní charakterizaci byla použita ¹H NMR spektroskopie při 250 MHz od firmy Bruker Avance 250. Jako rozpouštědlo byl použit deuterovaný D6-dimethylsulfoxid a měření probíhala při teplotě 303 K. Jako vnitřní reference s 0,00 ppm byl použit trimethylsilan (TMS).

PříkladyPříklad 1**Příprava volné báze daclatasviru**

Krystalický daclatasvir dihydrochlorid byl připraven podle postupu uvedeného v patentu (WO 2009/020828). Volná báze daclatasviru byla připravena suspendováním 500 mg daclatasvir dihydrochloridu ($n = 6,45 \cdot 10^{-4}$ mol) ve 30 ml ethylacetátu. K této suspenzi bylo přidáno 2,3 ml vodného roztoku NaOH ($n = 1,29 \cdot 10^{-3}$ mol), který byl připraven rozpuštěním 180 mg NaOH v 8 ml vody. Vzniklý roztok byl důkladně protřepán. Vrstva organického rozpouštědla byla oddělena od vodné fáze, promyta 8 ml vody. Po opětovném odstranění vodné fáze bylo k organickému roztoku přidáno 50 mg bezvodého síranu sodného, roztok byl zfiltrován a odpařen na rotační vakuové odparce. Dále byla oddělena neutralizací daclatasvir dihydrochlorid roztokem hydroxidu sodného s následnou izolací produktu v roztoku ethylacetátu. Po odpaření organického rozpouštědla byla získána volná báze daclatasviru. Výtěžek 432,3 mg (95 %). HPLC čistota 98 %. Teplota skelného přechodu 121 °C (DSC). RTG práškový záznam na obr. 1.

Příklad 2**Příprava amorfni formy amorfni formy daclatasvir dihydrochloridu precipitací**

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methyl-
-butanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl]-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl]-
3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 300 mg ($4,06 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 10 ml izopropylalkoholu. K tomuto roztoku bylo přidáno 242 μ l ($8,53 \cdot 10^{-4}$ mol) bezvodé kyseliny chlorovodíkové v izopropylalkoholu (16,3 %). Směs byla ponechána 30 min. míchat při laboratorní teplotě. Poté bylo k tomuto roztoku přidáno 9 ml tercbutymethylletheru a vzniklá suspenze byla ponechána míchat 2 hod. za pokojové teploty. Vyloučený pevný podíl byl odfiltrován. Výsledný produkt byl ponechán vyschnout ve vakuové sušárně při teplotě 40 °C a tlaku 20 kPa po dobu 12 hod. Výtěžek 277 mg (85 %). HPLC čistota 98,3 %. RTG práškový záznam na obr. 3. Teplota skelného přechodu podle DSC 191 °C.

Příklad 3**Příprava amorfni formy amorfni formy daclatasvir dihydrochloridu odpaření rozpouštědla**

Krystalický daclatasvir dihydrochlorid připravený podle příkladu 1 v množství 300 mg byl rozpuštěn v 1,5 ml methanolu při 40 °C. Vzniklý roztok byl zfiltrován a odpařen na vakuové odparce při teplotě 45 °C a tlaku 2 kPa. Výsledný produkt byl ponechán vyschnout ve vakuové sušárně při teplotě 40 °C a tlaku 20 kPa po dobu 12 hod. HPLC čistota 98,0 %. RTG práškový záznam na obrázku 5. Teplota skelného přechodu podle DSC 187 °C.

Příklad 4**Příprava daclatasvir dihydrobromidu**

Methyl[(2S)-1-{(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-{(2S)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl}-2-pyrrolidinyl]-1H-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1H-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 103,3 mg ($1,40 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 30,6 μ l ($2,71 \cdot 10^{-4}$ mol) kyseliny bromovodíkové (48 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 95,4 %. RTG práškový záznam na obrázku 7 Obrázek 6. Teplota skelného přechodu podle DSC 183 °C.

Příklad 5**Příprava daclatasvir disíranu**

Methyl[(2S)-1-{(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-{(2S)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl}-2-pyrrolidinyl]-1H-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1H-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 102,6 mg ($1,39 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 15,0 μ l

($2,54 \cdot 10^{-4}$ mol) kyseliny sírové (96 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 97,6 %. RTG práškový záznam na obrázku 9. Teplota skelného přechodu podle DSC 176 °C.

Příklad 6

Příprava daclatasvir naftalensulfonát

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methyl-
-butanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-
3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 98,39 mg ($1,33 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 39,91 mg ($1,42 \cdot 10^{-4}$ mol) 2-naftalensulfonové kyseliny (70 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 96,3 %. RTG práškový záznam na obrázku 11. Teplota bodu tání podle DSC $T_{mp1} = 97$ °C a $T_{mp1} = 223$ °C.

Příklad 7

Příprava daclatasvir tosylát

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methyl-
-butanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-
3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 125,1 mg ($1,69 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 30,33 mg ($1,74 \cdot 10^{-4}$ mol) toluensulfonové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 98 %. RTG práškový záznam na obrázku 14. Teplota bodu tání podle DSC $T_{mp1} = 122$ °C a $T_{mp2} = 234$ °C.

Příklad 8

Příprava daclatasvir mesylátu

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 98,39 mg ($1,33 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 13,79 mg ($1,74 \cdot 10^{-4}$ mol) methansulfonové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 97,3 %. RTG práškový záznam na obrázku 17. Teplota skelného přechodu podle DSC 103 °C.

Příklad 9**Příprava daclatasvir besylátu**

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 101,3 mg ($1,37 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 21,32 mg ($1,74 \cdot 10^{-4}$ mol) benzensulfonové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 97,7 %. RTG práškový záznam na obrázku 20. Teplota skelného přechodu podle DSC 108 °C.

Příklad 10**Příprava daclatasvir maleátu (1:1)**

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 98,45 mg ($1,33 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 15,64 mg ($1,33 \cdot 10^{-4}$ mol) maleinové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 98,9 %. RTG práškový záznam na obrázku 23. Teplota bodu tání podle DSC 165 °C.

Příklad 11**Příprava daclatasvir maleátu (1:2)**

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 103,6 mg ($1,40 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 32,9 mg ($2,81 \cdot 10^{-4}$ mol) maleinové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 98,8 %. RTG práškový záznam na obrázku 26. Teplota bodu tání podle DSC 166 °C.

Příklad 12**Příprava daclatasvir fumarátu (1:1)**

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 104,3 mg ($1,41 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 21,32 mg ($1,41 \cdot 10^{-4}$ mol) fumarové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 98,5 %. RTG práškový záznam na obrázku 29. Teplota bodu tání podle DSC $T_{mp1} = 112$ °C a $T_{mp2} = 179$ °C.

Příklad 13**Příprava daclatasvir fumarátu (1:2)**

Methyl[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-{(2*S*)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1*H*-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1*H*-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-

29.05.19

3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu (volné báze daclatasviru) v množství 99,8 mg ($1,35 \cdot 10^{-4}$ mol) byl rozpuštěn ve 4 ml ethylacetátu. K tomuto roztoku bylo přidáno 31,67 mg ($2,70 \cdot 10^{-4}$ mol) fumarové kyseliny (99 %). Směs byla ponechána 2 hod. míchat při laboratorní teplotě. Poté byl roztok ponechán volně odpařit za pokojové teploty. HPLC čistota 98,3 %. RTG práškový záznam na obrázku 32. Teplota bodu tání podle DSC $T_{mp1} = 154 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a $T_{mp2} = 200 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

29.05.15

Patentové nároky

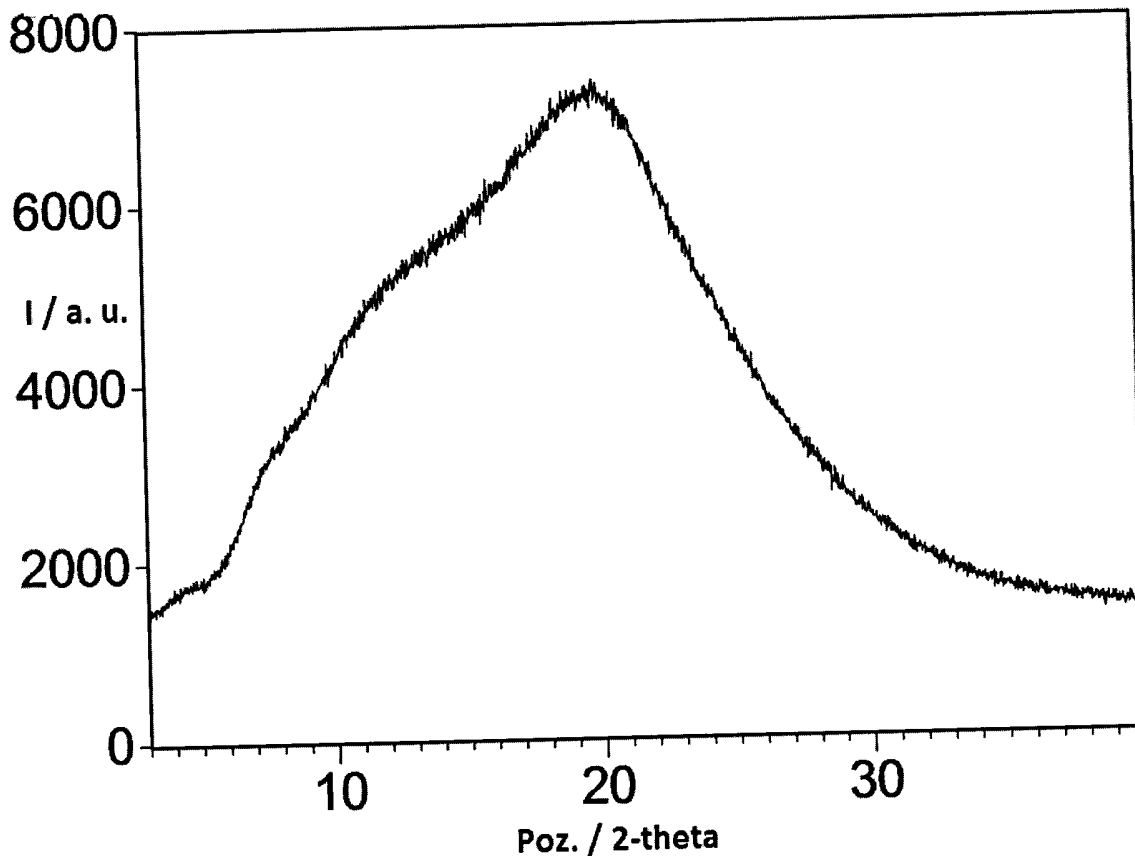
1. Soli daclatasviru v tuhém skupenství s kyselinou vybranou ze skupiny sestávající z kyseliny chlorovodíkové, bromovodíkové, sírové, 2-naftalensulfonové, toluensulfonové, methansulfonové, benzensulfonové, maleinové a fumarové.
2. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s kyselinou chlorovodíkovou v tuhém skupenství, která vykazuje v RTG práškovém záznamu charakteristické amorfní haló.
3. Sůl daclatasviru podle nároku 2 s kyselinou chlorovodíkovou v tuhém skupenství podle nároku 1 vyznačující se tím, že vykazuje teplotu skelného přechodu $T_g > 180$ °C.
4. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s kyselinou bromovodíkovou v tuhém skupenství.
5. Sůl daclatasviru s kyselinou s kyselinou bromovodíkovou podle nároku 4, která vykazuje v RTG práškovém záznamu charakteristické amorfní haló.
6. Sůl daclatasviru podle nároku 4 s kyselinou bromovodíkovou podle nároku 4 vyznačující se tím, že vykazuje teplotu skelného přechodu $T_g > 180$ °C.
7. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s kyselinou sírovou v tuhém skupenství.
8. Sůl daclatasviru s kyselinou sírovou podle nároku 7, která vykazuje v RTG práškovém záznamu charakteristické amorfní haló.
9. Sůl daclatasviru s kyselinou sírovou podle nároku 7 vyznačující se tím, že vykazuje teplotu skelného přechodu $T_g > 170$ °C.
10. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s 2-naftalensulfonovou kyselinou v tuhém skupenství.
11. Sůl daclatasviru s 2-naftalensulfonovou kyselinou podle nároku 10, která vykazuje charakteristické reflexe v RTG práškovém záznamu: 4,5; 10,5; 13,7; 15,1; 18,9 a 21,6 $\pm 0,2$ ° 2-theta.
12. Sůl daclatasviru s 2-naftalensulfonovou kyselinou podle nároku 10 v krystalické formě, která vykazuje v DSC záznamu pík při teplotě 97 °C a pík při teplotě 223 °C.
13. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s toluensulfonovou kyselinou v tuhém skupenství.
14. Sůl daclatasviru s toluensulfonovou kyselinou podle nároku 13, která vykazuje charakteristické reflexe v RTG práškovém záznamu: 5,0; 6,3; 10,2; 13,7; 18,6 a 21,0 $\pm 0,2$ ° 2-theta.

15. Sůl daclatasviru s toluensulfonovou kyselinou podle nároku 13 v krystalické formě, která vykazuje v DSC záznamu pík při teplotě 122 °C a pík při teplotě 234 °C.
16. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s methansulfonovou kyselinou v tuhém skupenství.
17. Sůl daclatasviru s methansulfonovou kyselinou podle nároku 16, která vykazuje v RTG práškovém záznamu charakteristické amorfni haló.
18. Sůl daclatasviru s methansulfonovou kyselinou podle nároku 16 vyznačující se tím, že vykazuje teplotu skelného přechodu $T_g > 100$ °C.
19. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s benzensulfonovou kyselinou v tuhém skupenství.
20. Sůl daclatasviru s benzensulfonovou kyselinou podle nároku 19, která vykazuje v RTG práškovém záznamu charakteristické amorfni haló.
21. Sůl daclatasviru s benzensulfonovou kyselinou podle nároku 19 vyznačující se tím, že vykazuje teplotu skelného přechodu $T_g > 106$ °C.
22. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s maleinovou kyselinou v tuhém skupenství.
23. Sůl daclatasviru s jedním molárním ekvivalentem maleinovou kyseliny podle nároku 22, která vykazuje charakteristické reflexe v RTG práškovém záznamu: 9,1; 15,8; 17,9; 21,5; 24,7 a $26,3 \pm 0,2$ ° 2-theta.
24. Sůl daclatasviru s jedním molárním ekvivalentem maleinovou kyseliny podle nároku 22 v krystalické formě, která vykazuje v DSC záznamu pík při teplotě 165 °C.
25. Sůl daclatasviru se dvěma molárními ekvivalenty maleinovou kyseliny podle nároku 22, která vykazuje charakteristické reflexe v RTG práškovém záznamu: 9,0; 15,6; 17,8; 21,4; 23,0 a $24,5 \pm 0,2$ ° 2-theta
26. Sůl daclatasviru se dvěma molárními ekvivalenty maleinovou kyseliny podle nároku 22 v krystalické formě, která vykazuje v DSC záznamu při teplotě 166 °C.
27. Sůl daclatasviru podle nároku 1 s fumarovou kyselinou v tuhém skupenství.
28. Sůl daclatasviru s jedním molárním ekvivalentem fumarové kyseliny podle nároku 27, která vykazuje charakteristické reflexe v RTG práškovém záznamu: 8,1; 11,7; 15,1; 20,3; 22,7 a $24,4 \pm 0,2$ ° 2-theta.

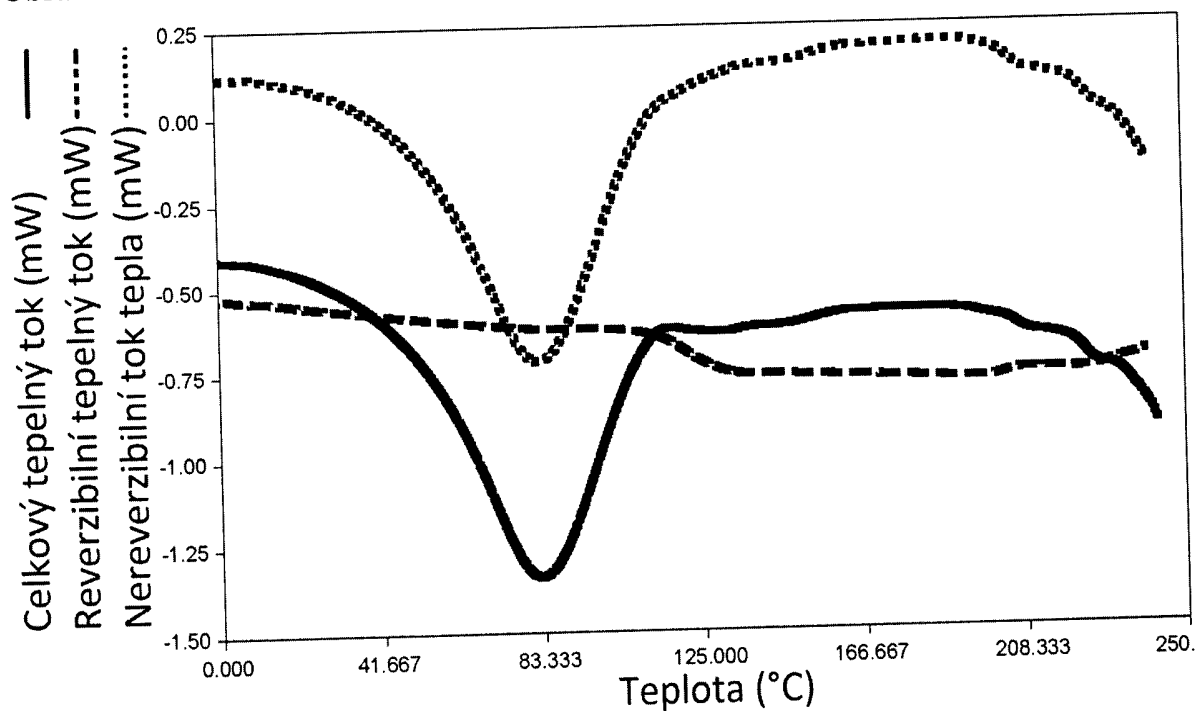
29. Sůl daclatasviru s jedním molárním ekvivalentem fumarové kyseliny podle nároku 27 v krystalické formě, která vykazuje v DSC záznamu pík při teplotě 112 °C a pík při teplotě 179 °C.
30. Sůl s daclatasviru se dvěma molárními ekvivalenty fumarové kyseliny podle nároku 27, která vykazuje charakteristické reflexe v RTG práškovém záznamu: 6,6; 8,2; 13,0; 15,4 a $20,5 \pm 0,2^\circ 2\text{-theta}$.
31. Sůl daclatasviru se dvěma molárními ekvivalenty fumarové kyseliny podle nároku 27 v krystalické formě, která vykazuje v DSC záznamu pík při teplotě 154 °C a pík při teplotě 200 °C.
32. Způsob přípravy pevných forem solí daclatasviru uvedených v nárocích 2, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 27 vyznačující se tím, že je smíchán Methyl[(2S)-1-{(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-{(2S)-2-[(methoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl]-2-pyrrolidinyl]-1H-imidazol-4-yl}-4-bifenylyl)-1H-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl}-3-methyl-1-oxo-2-butanyl]karbamátu - daclatasvir s kyselinou vybranou ze skupiny sestávající z kyseliny chlorovodíkové, bromovodíkové, sírové, 2-naftalensulfonové, toluensulfonové, methansulfonové, benzensulfonové, maleinové a fumarové a s rozpouštědlem.

Obrázky

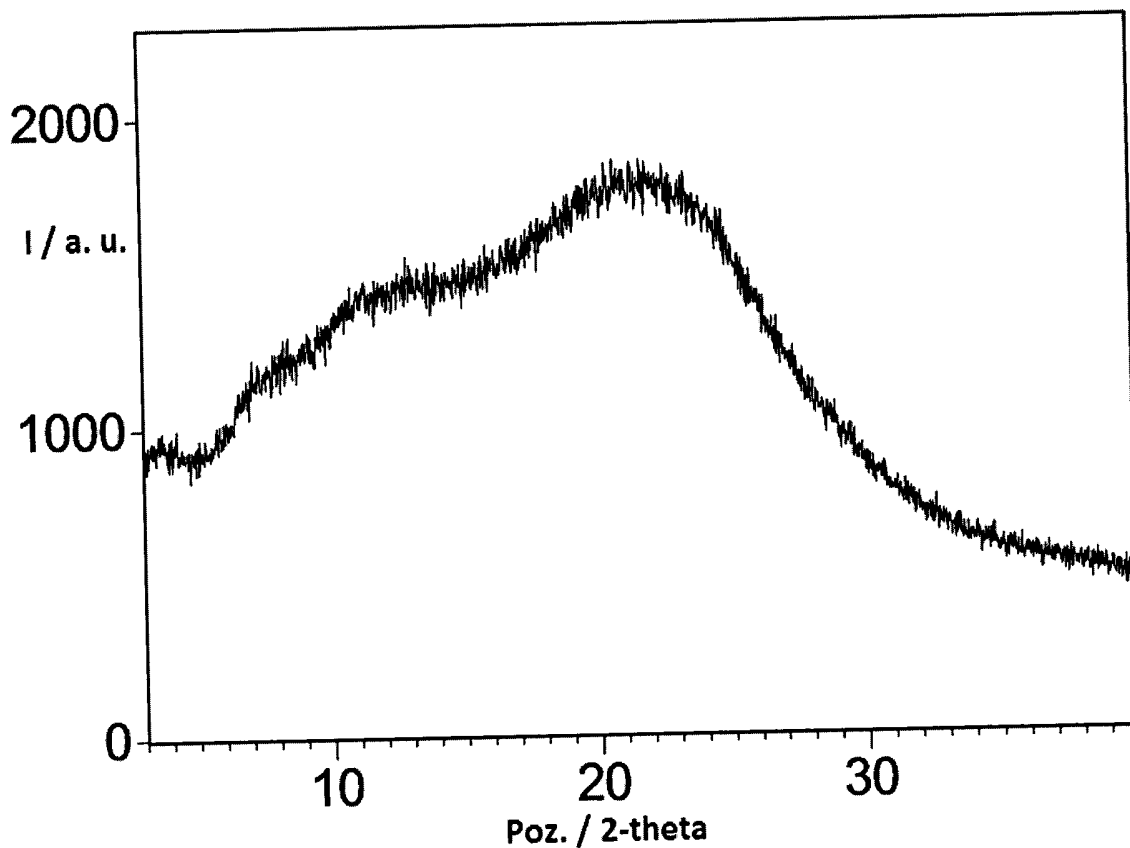
1/21



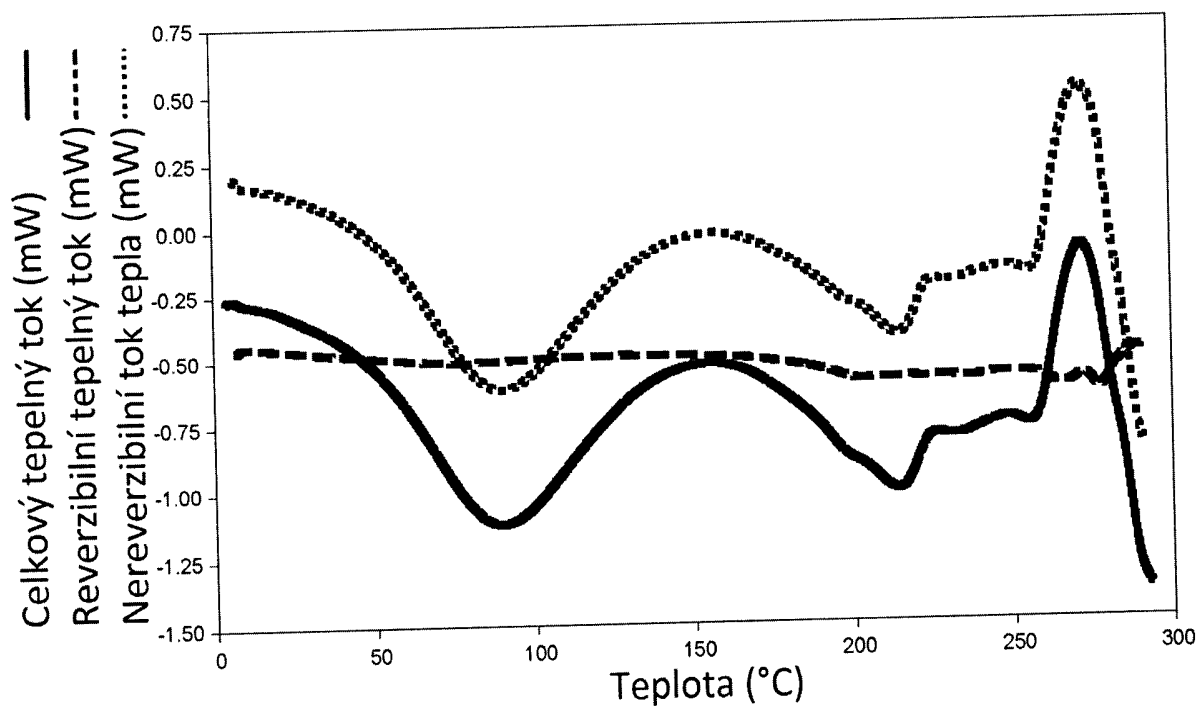
Obrázek 1



Obrázek 2



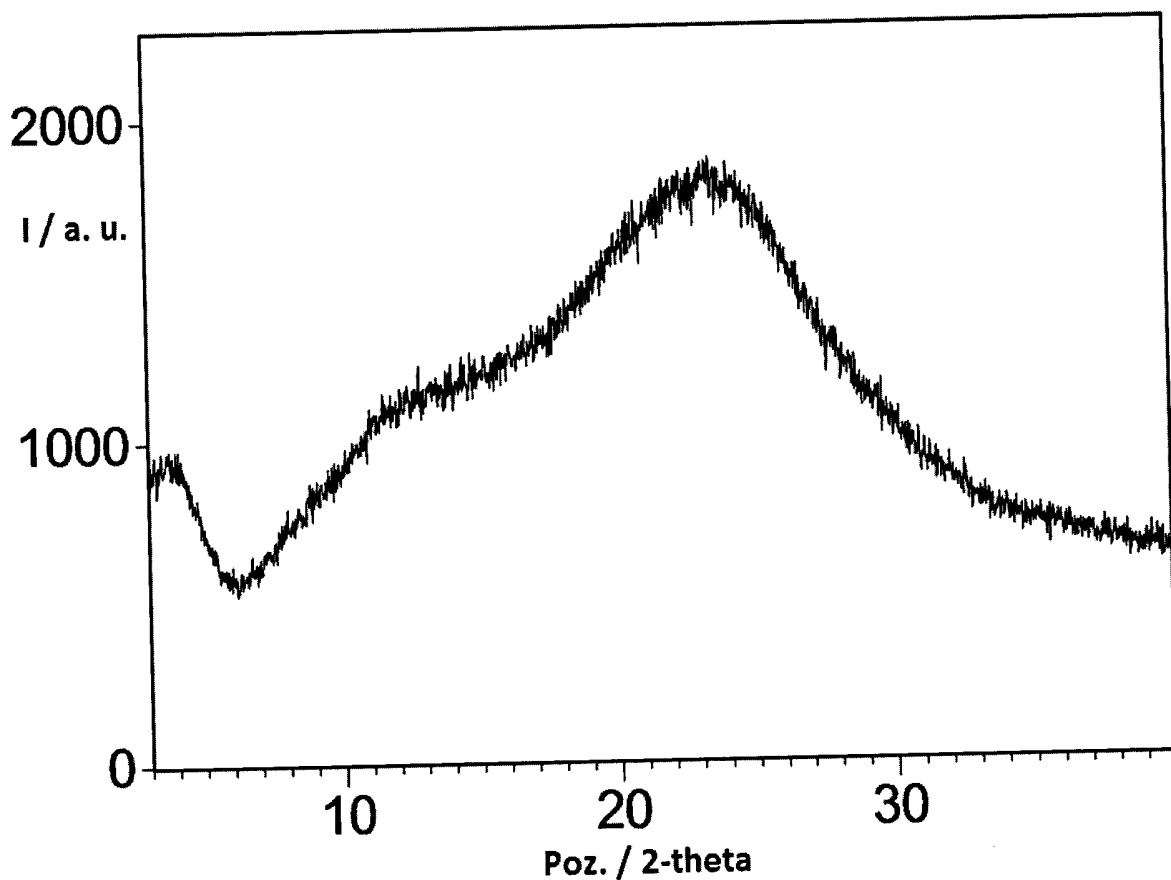
Obrázek 3



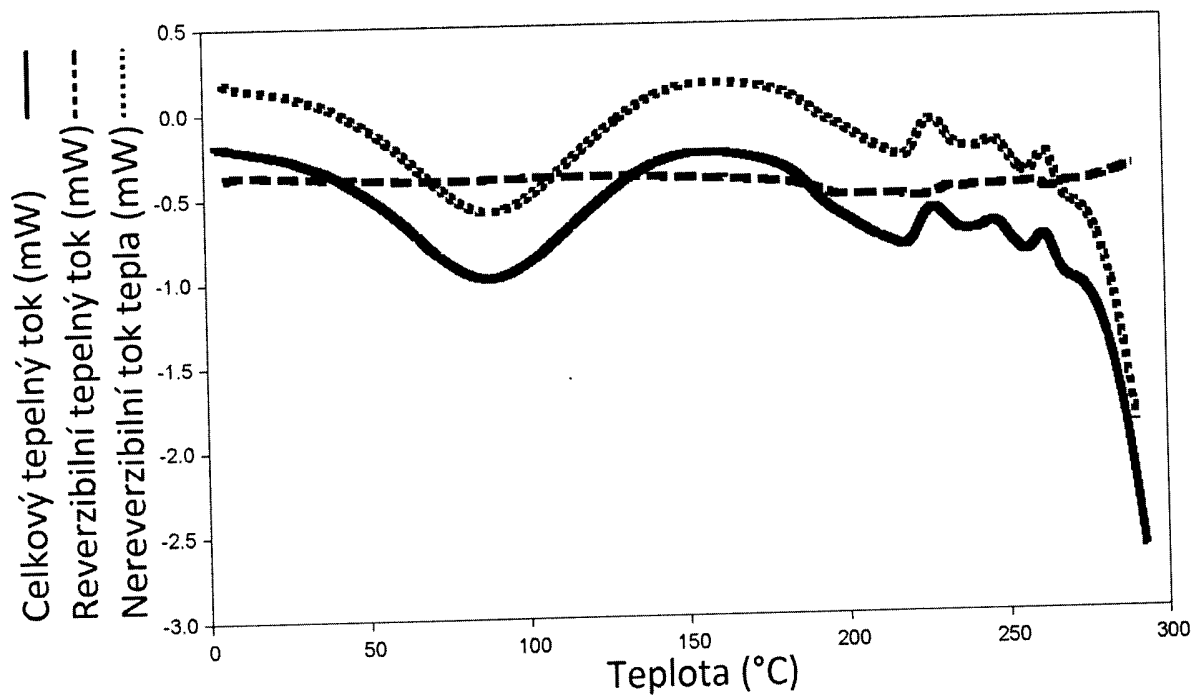
Obrázek 4

29.05.15

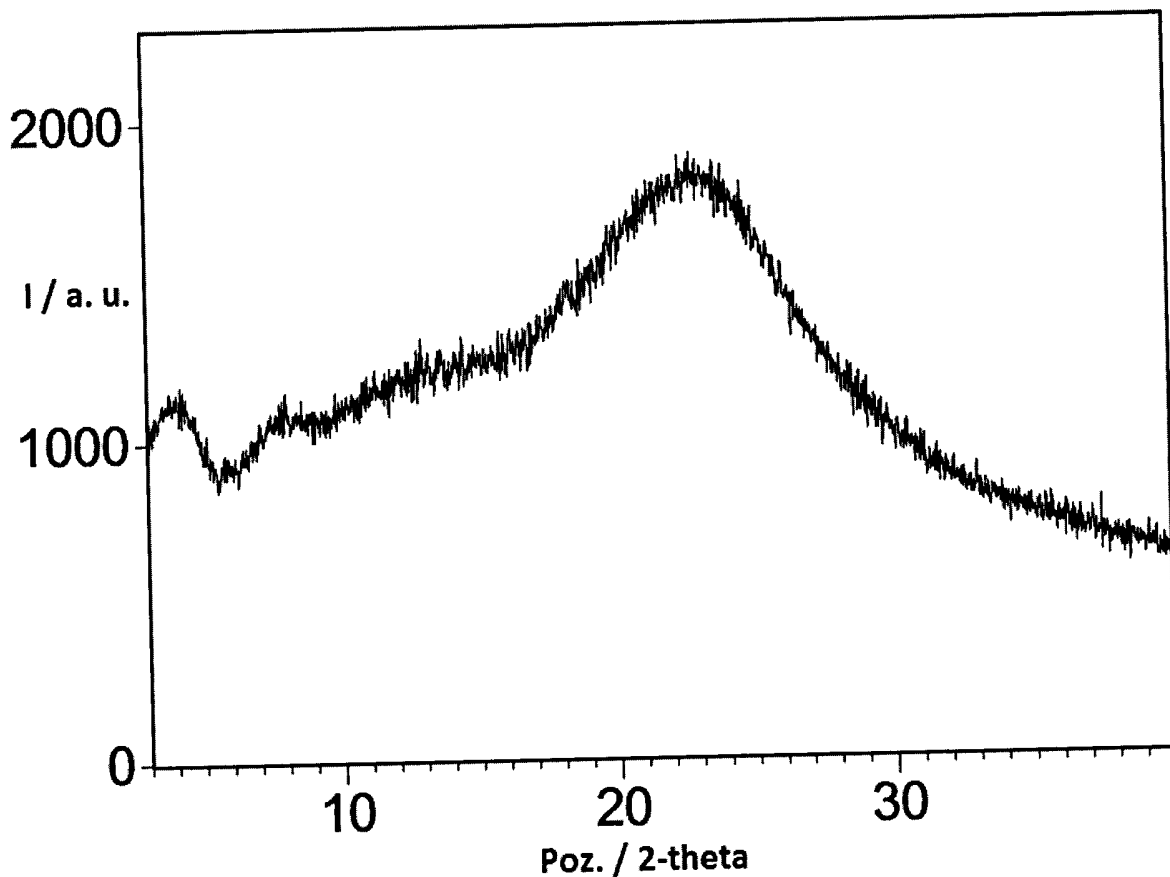
3/21



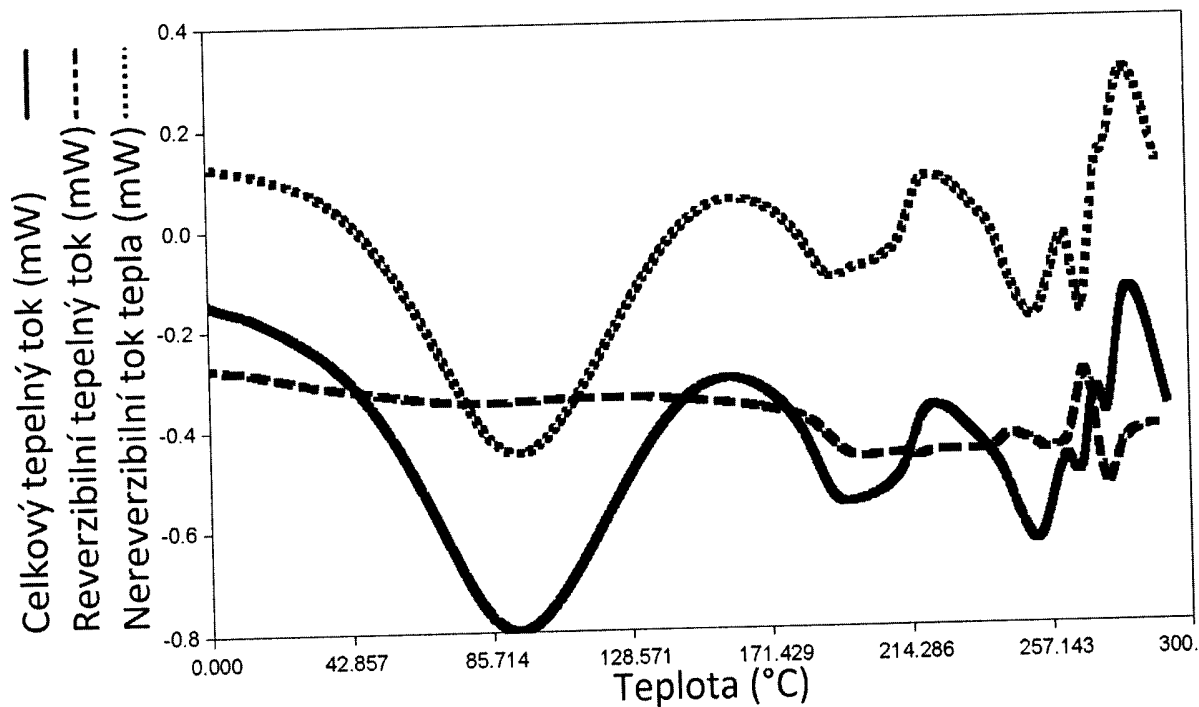
Obrázek 5



Obrázek 6



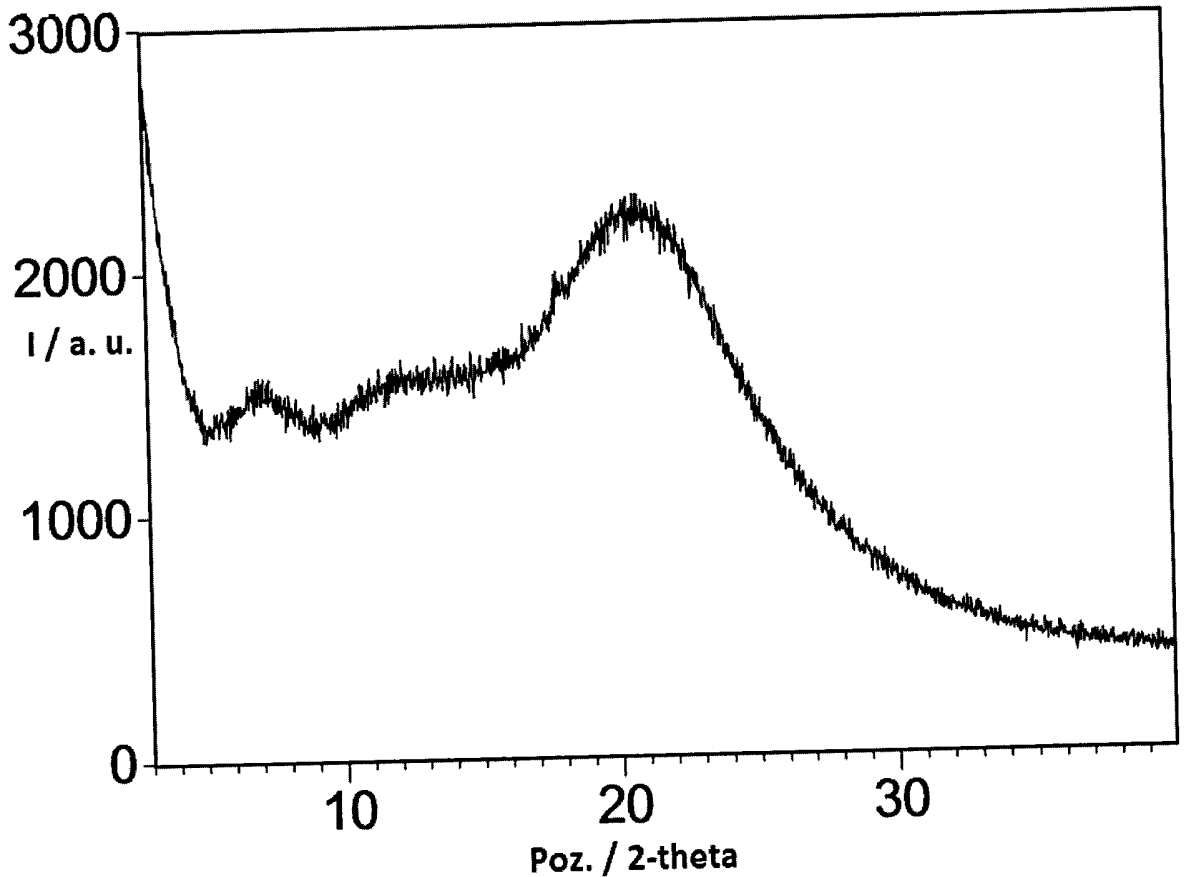
Obrázek 7



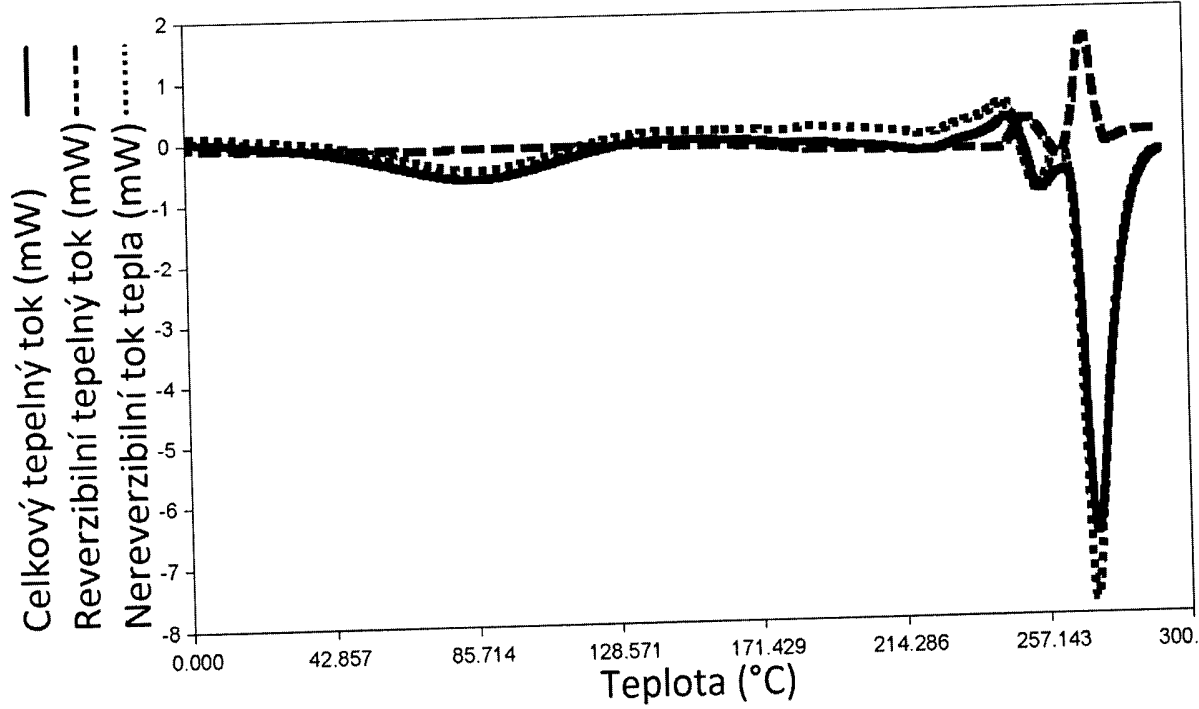
Obrázek 8

29.05.15

5/21

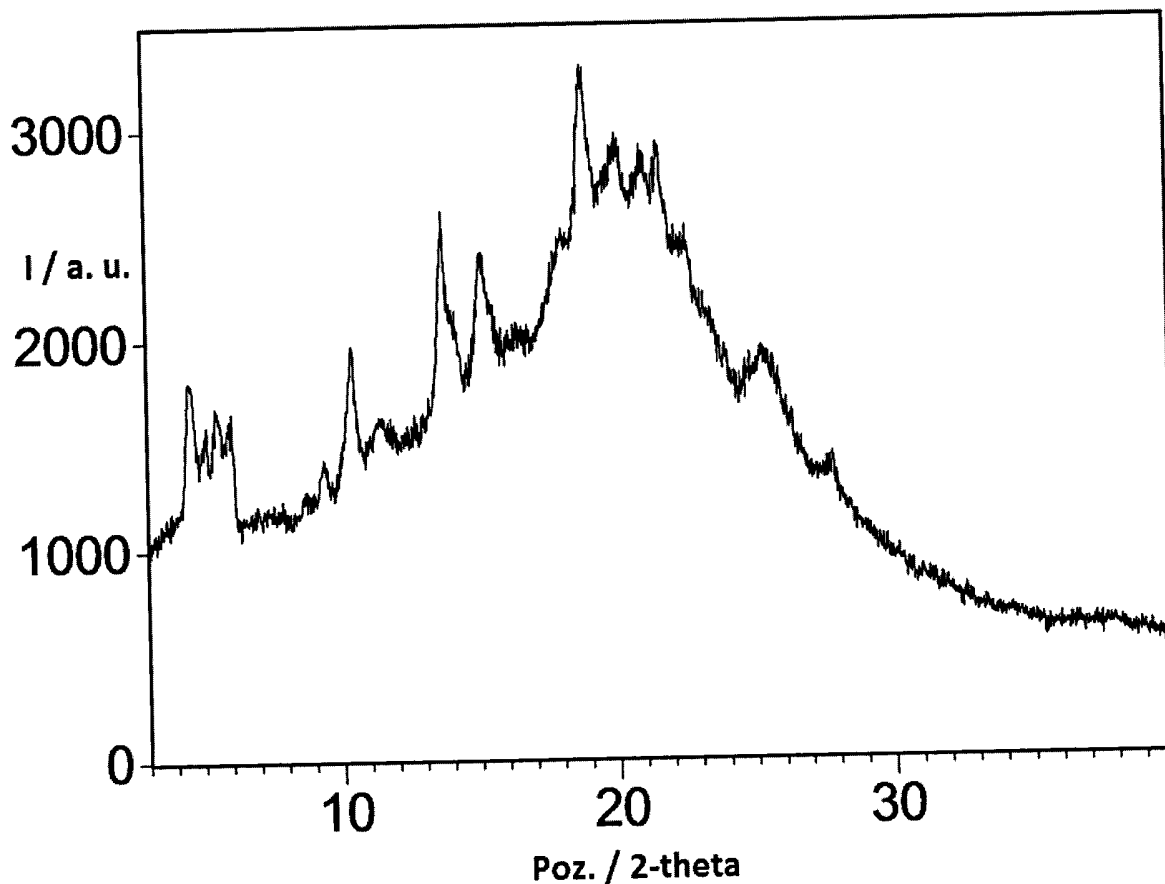


Obrázek 9

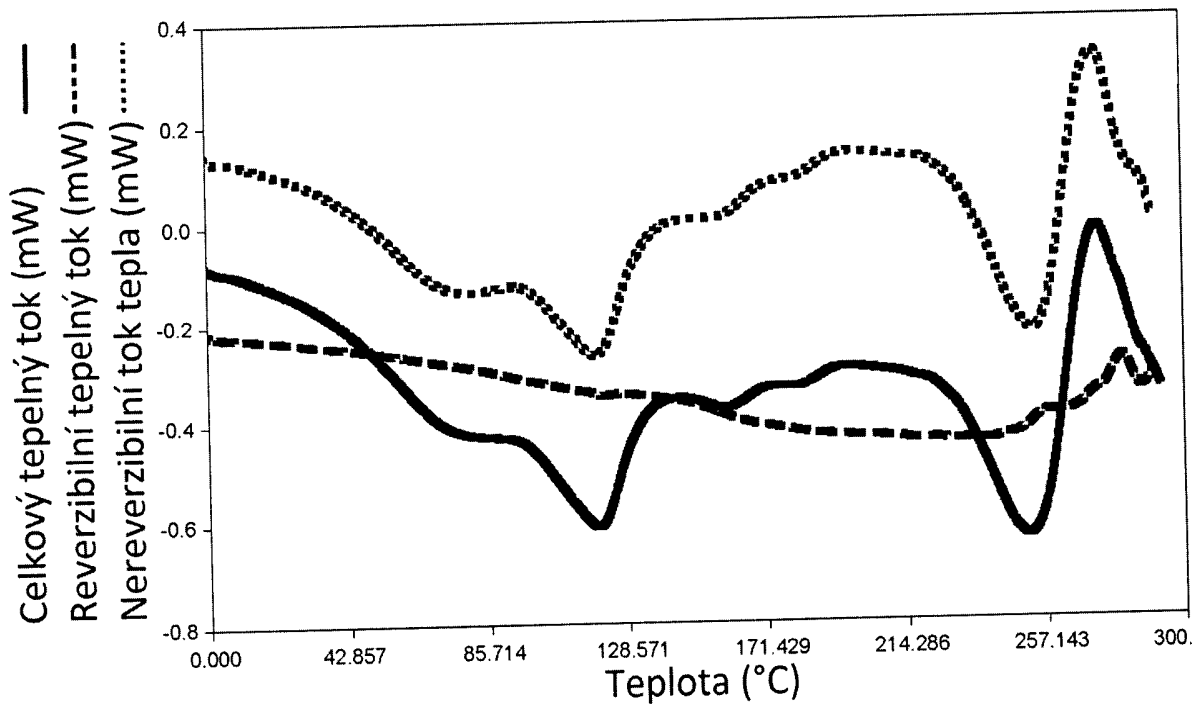


Obrázek 10

6/21



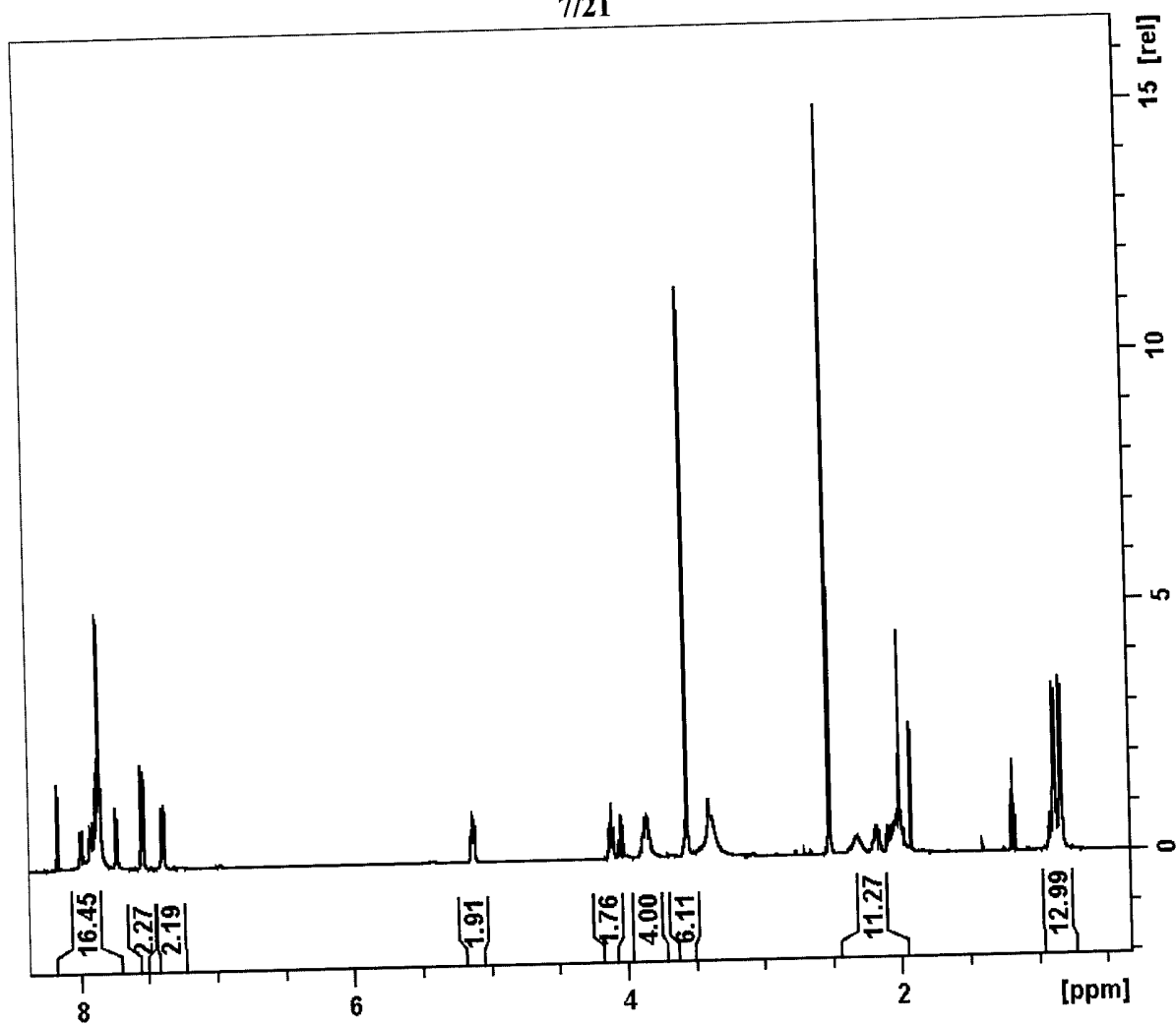
Obrázek 11



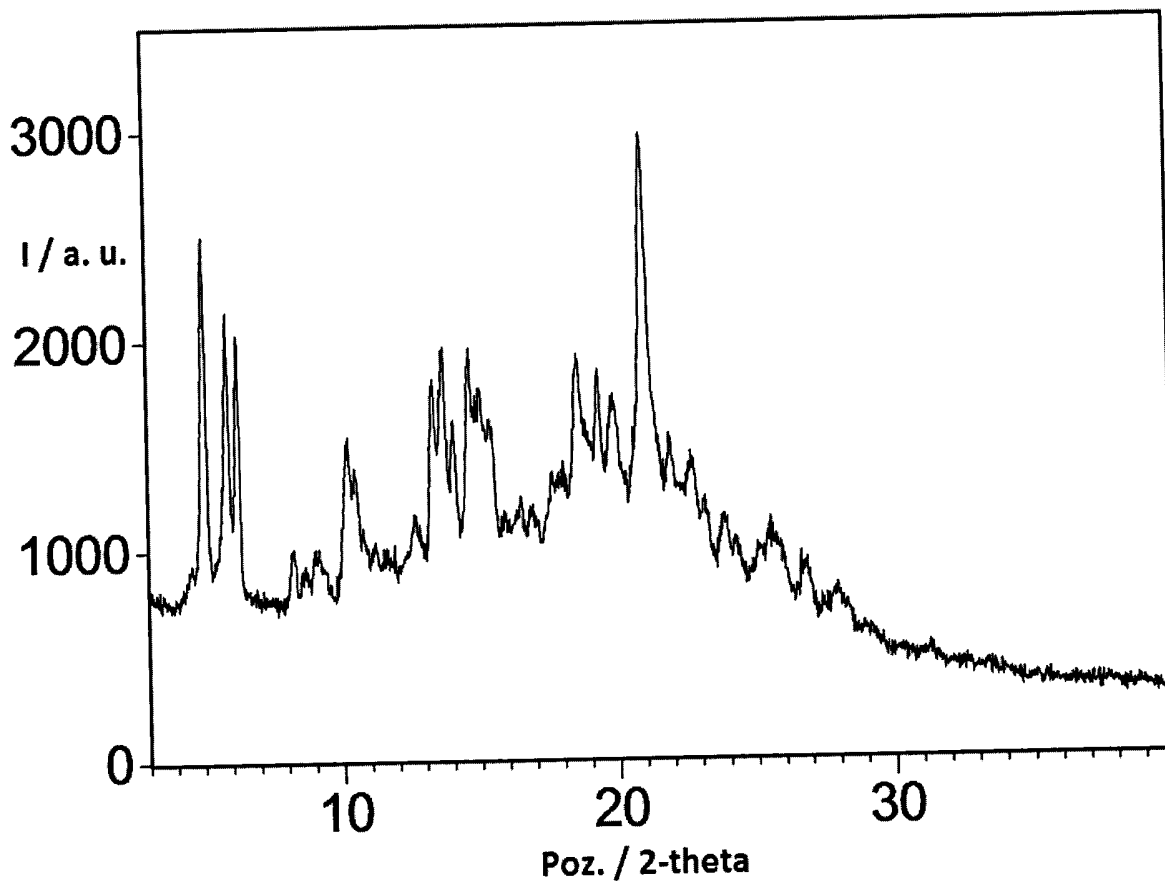
Obrázek 12

29.05.15

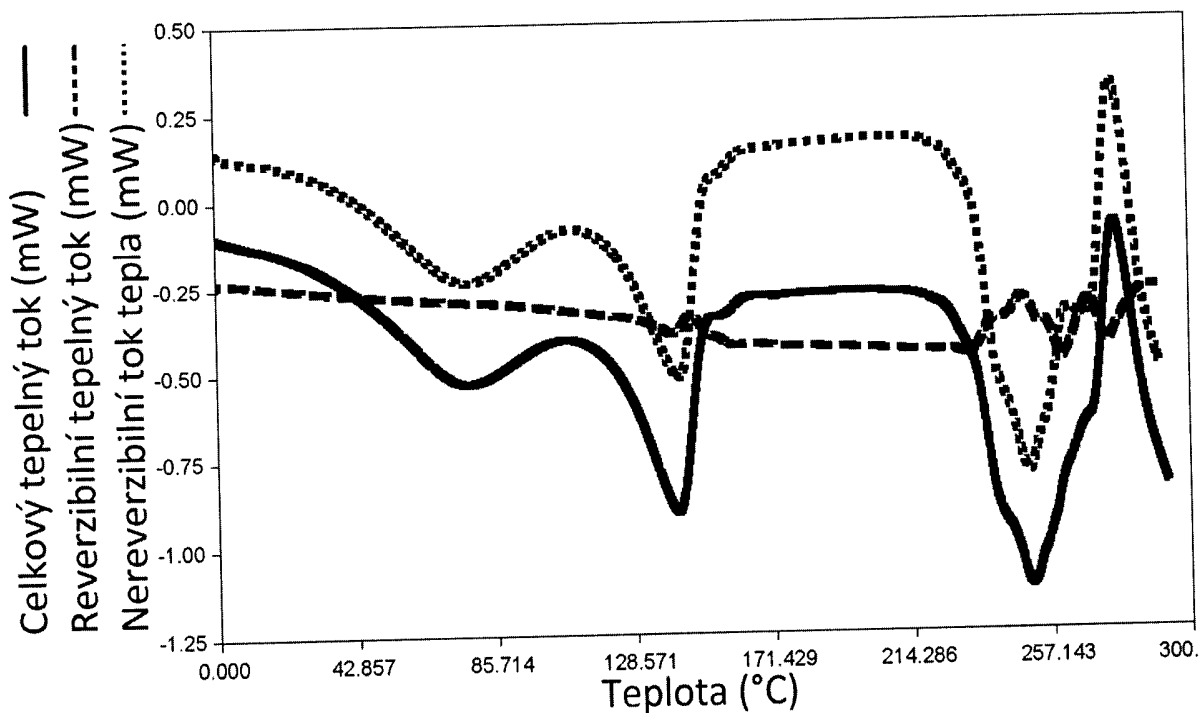
7/21



Obrázek 13



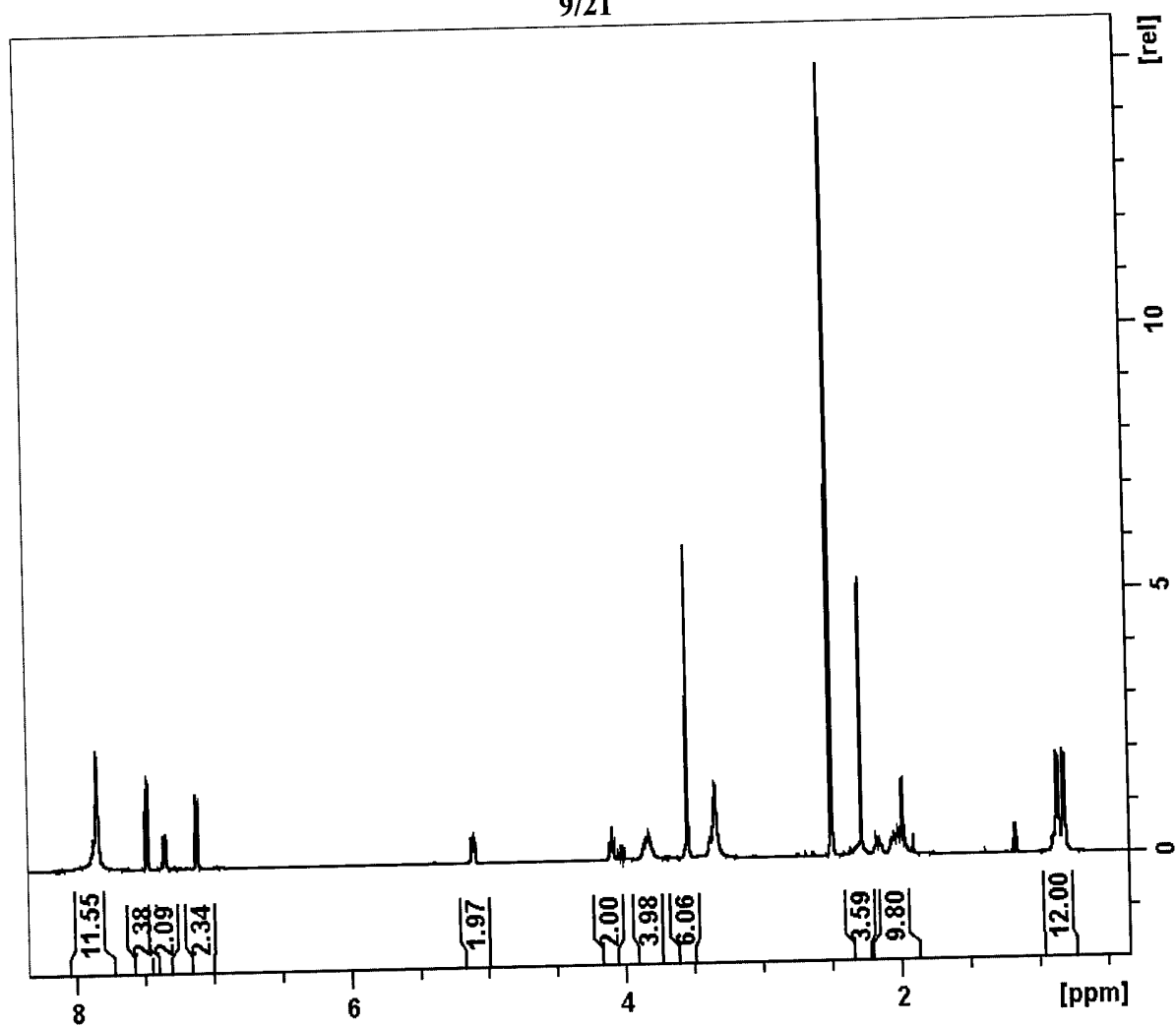
Obrázek 14



Obrázek 15

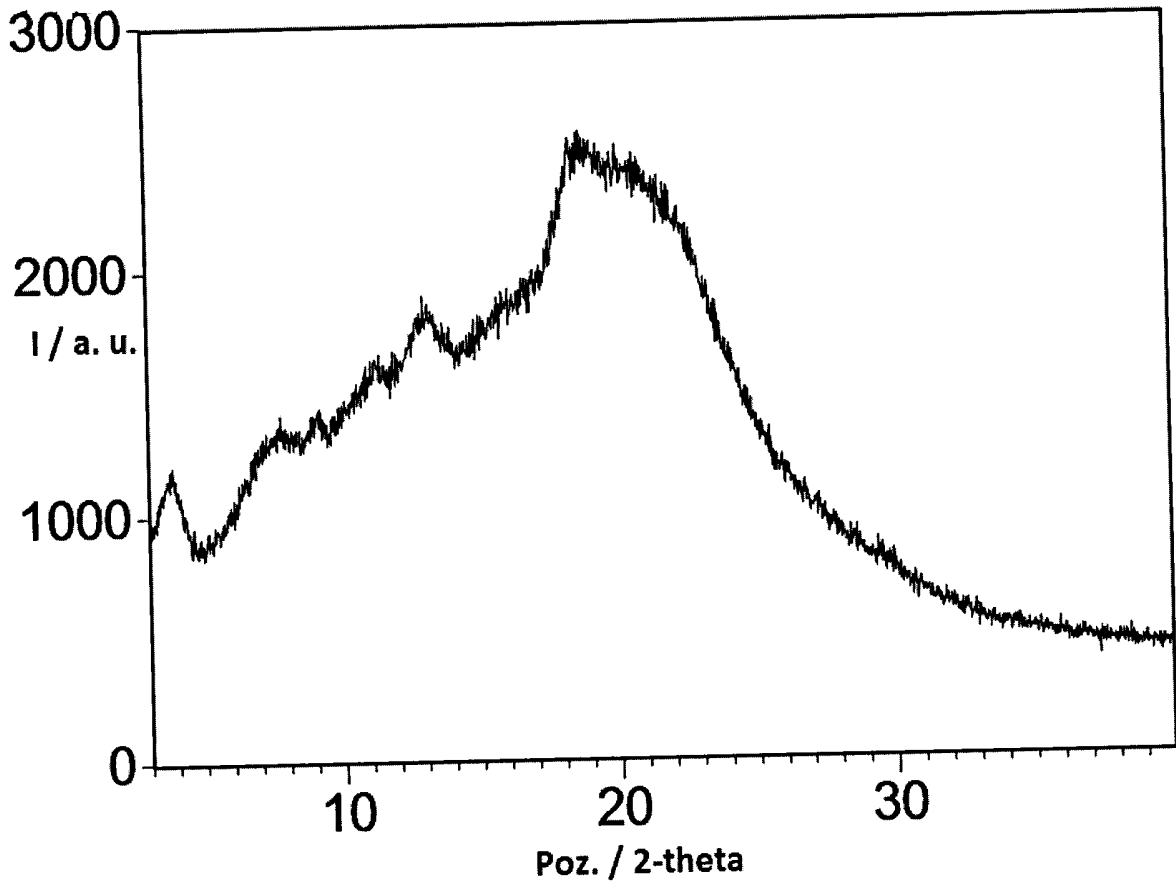
29.05.15

9/21

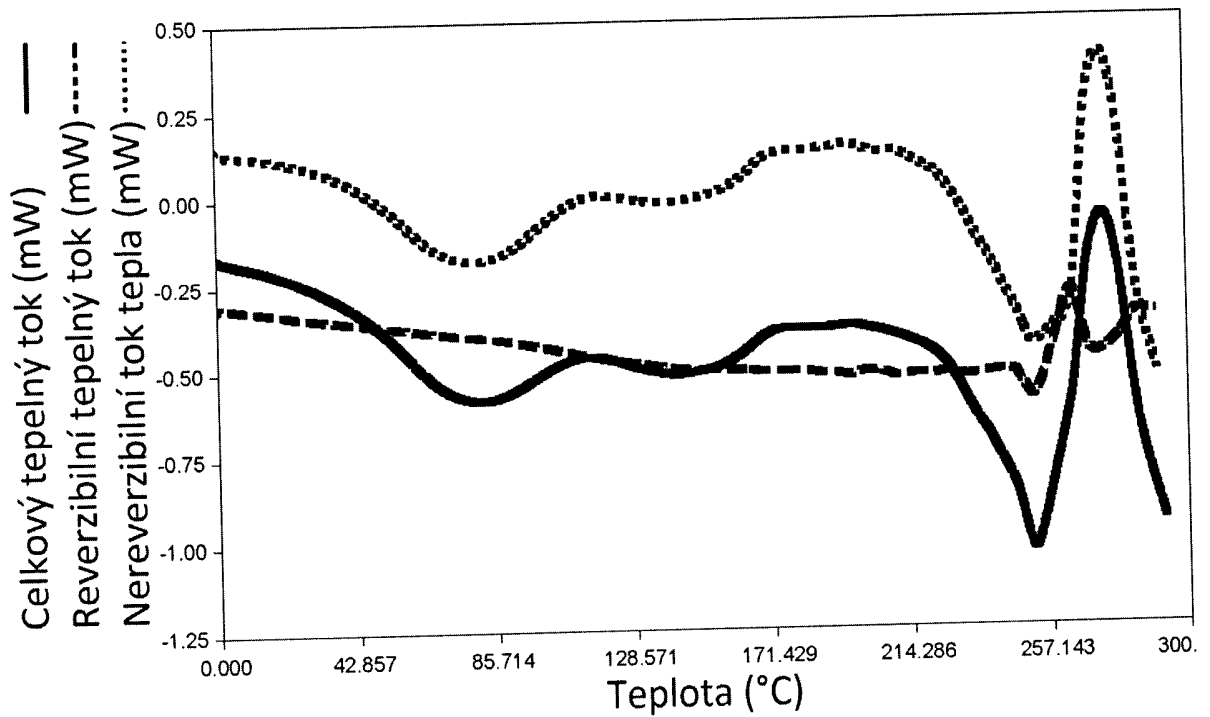


Obrázek 16

10/21



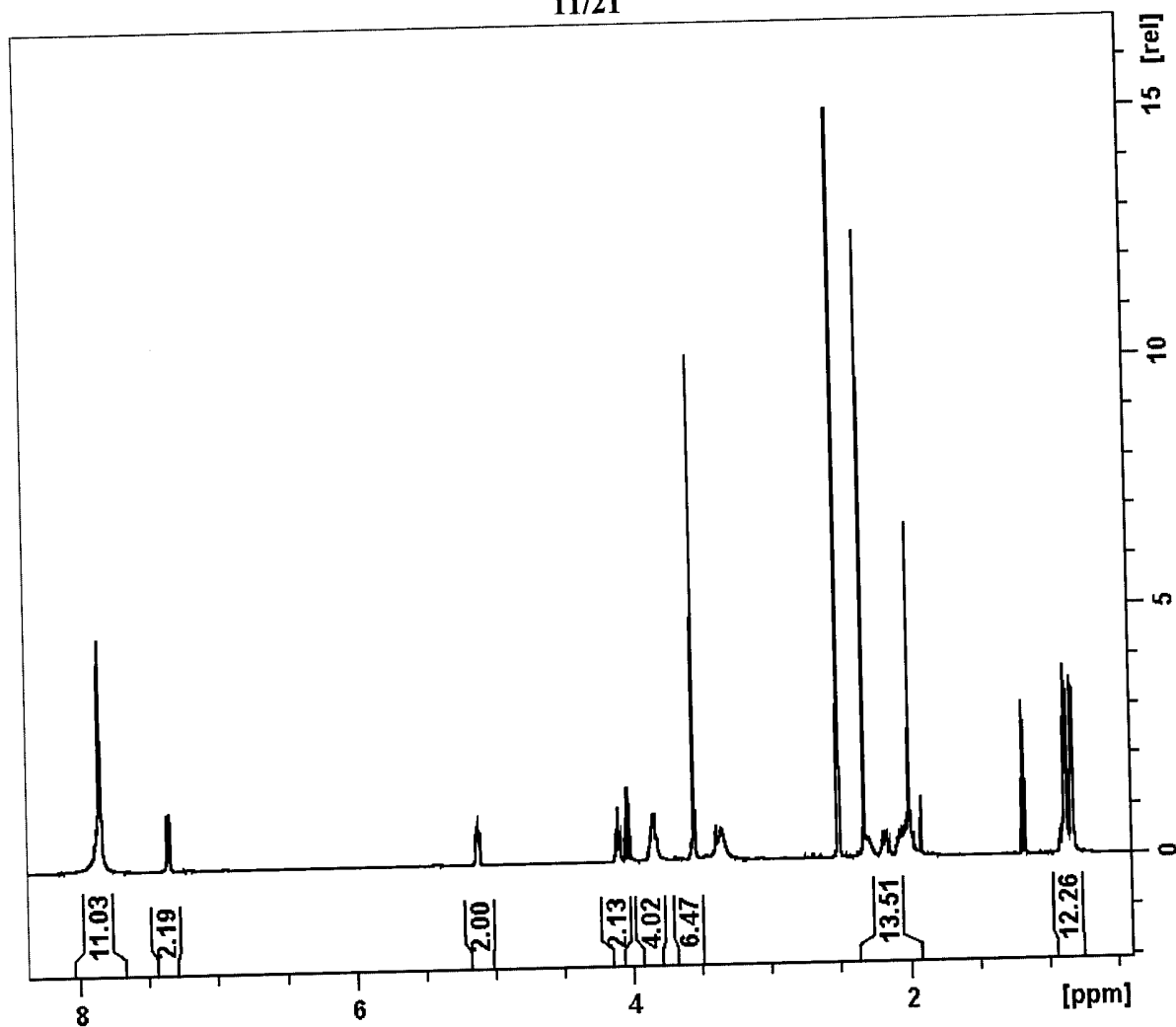
Obrázek 17



Obrázek 18

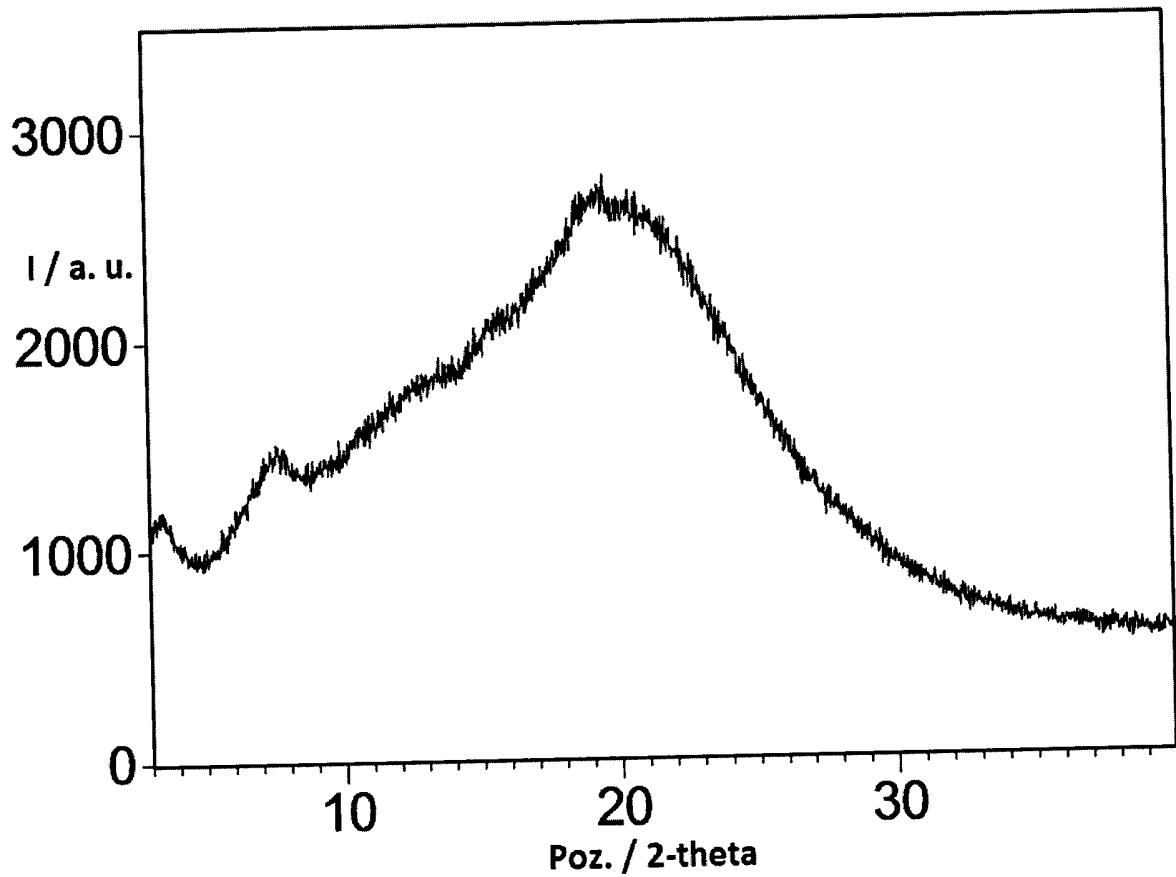
29.05.15

11/21

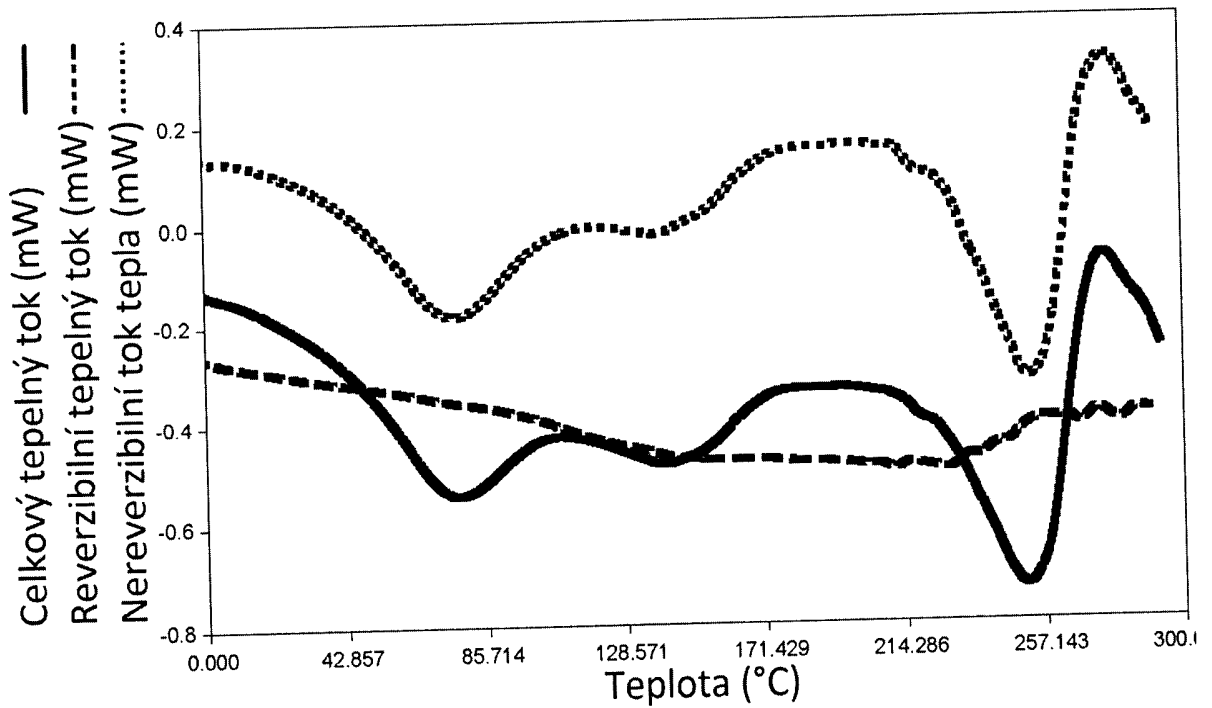


Obrázek 19

12/21

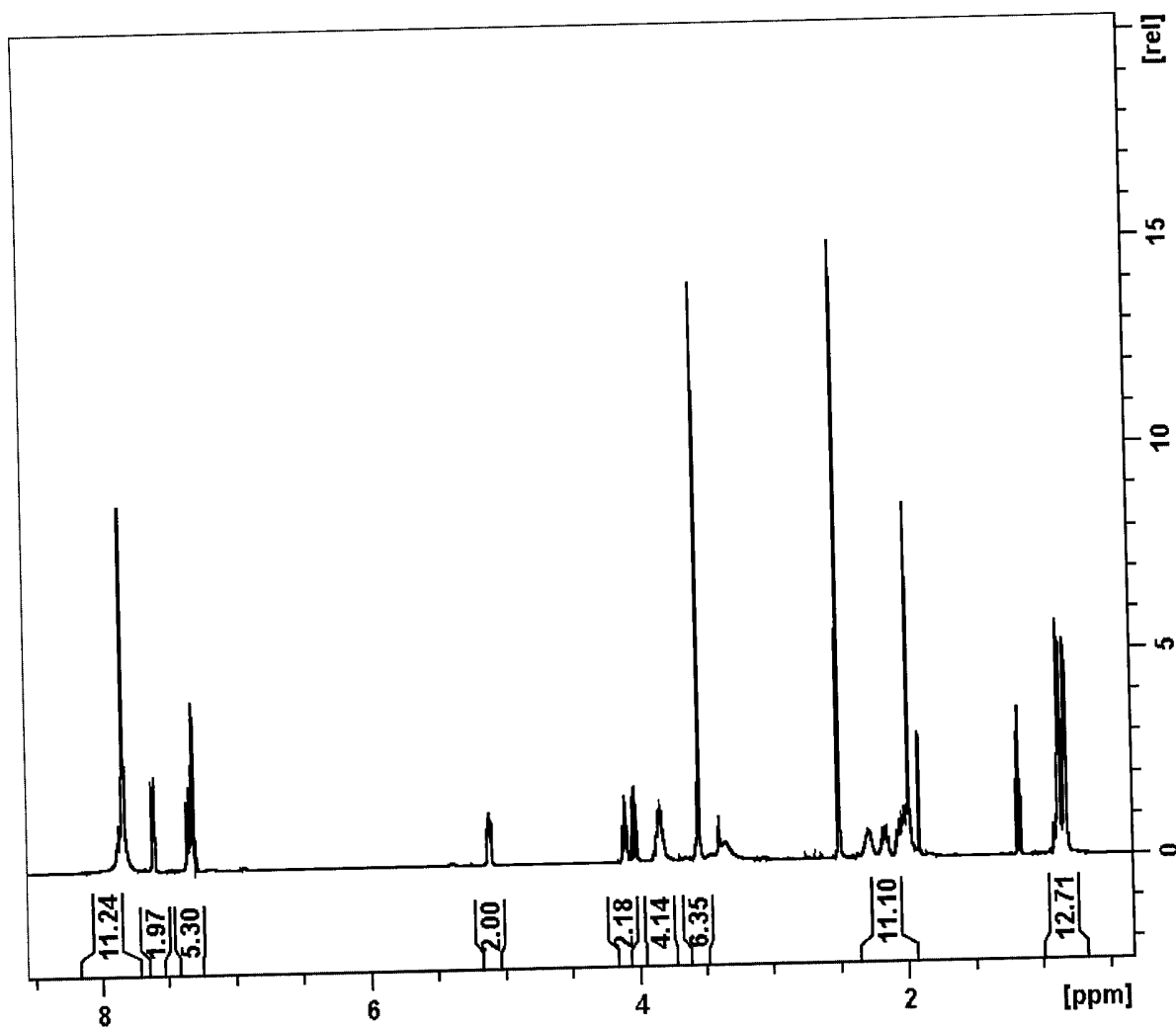


Obrázek 20

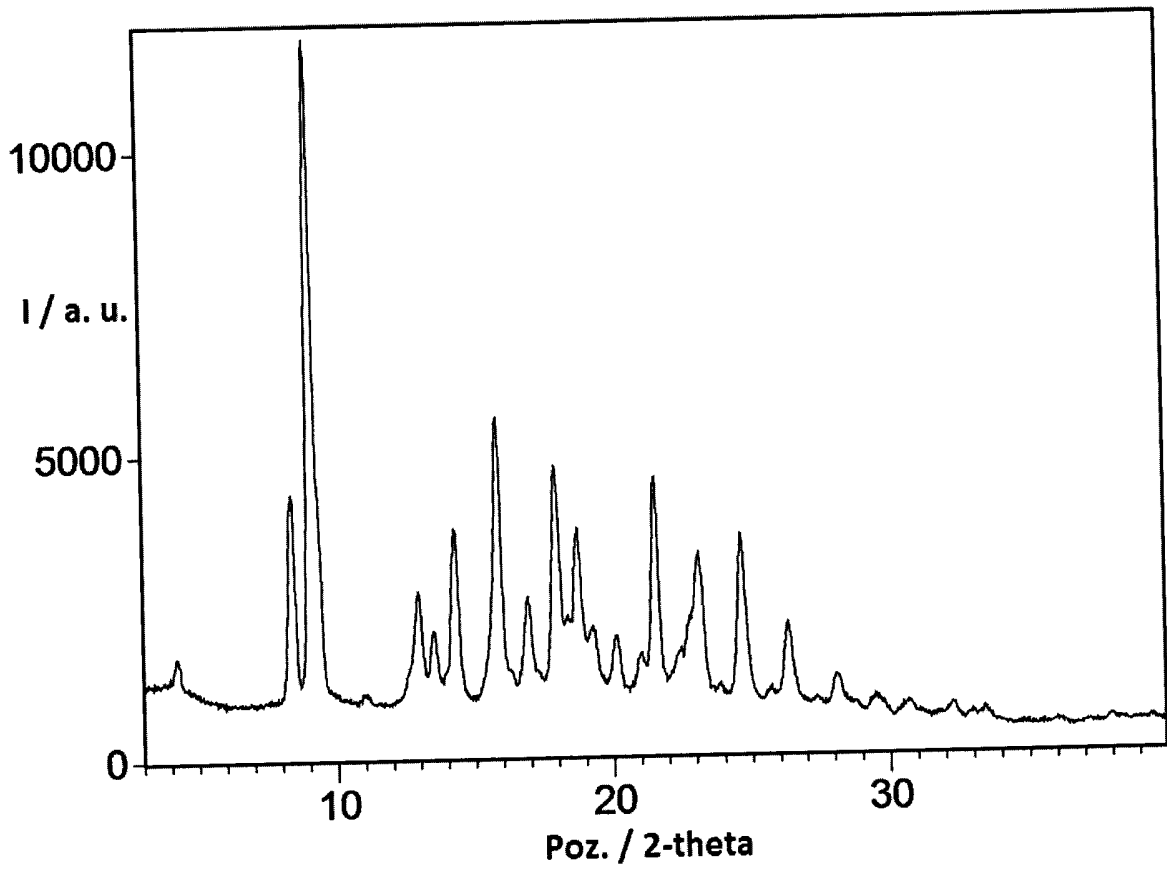


Obrázek 21

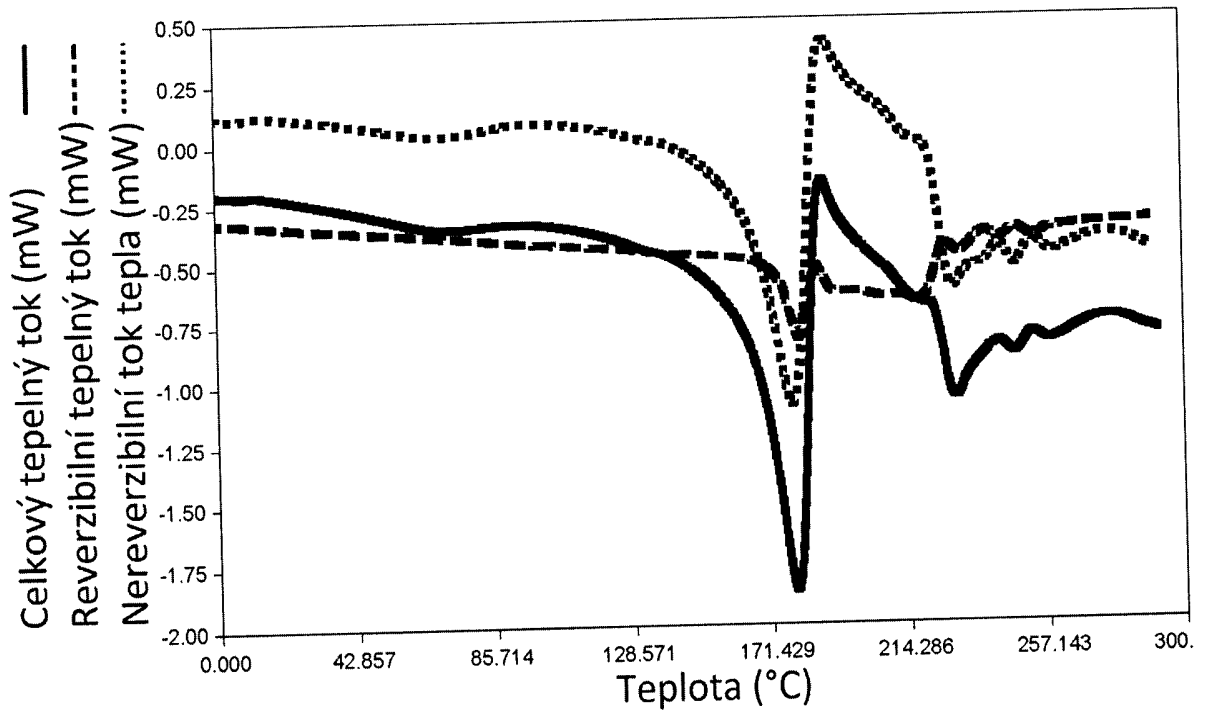
13/21



Obrázek 22

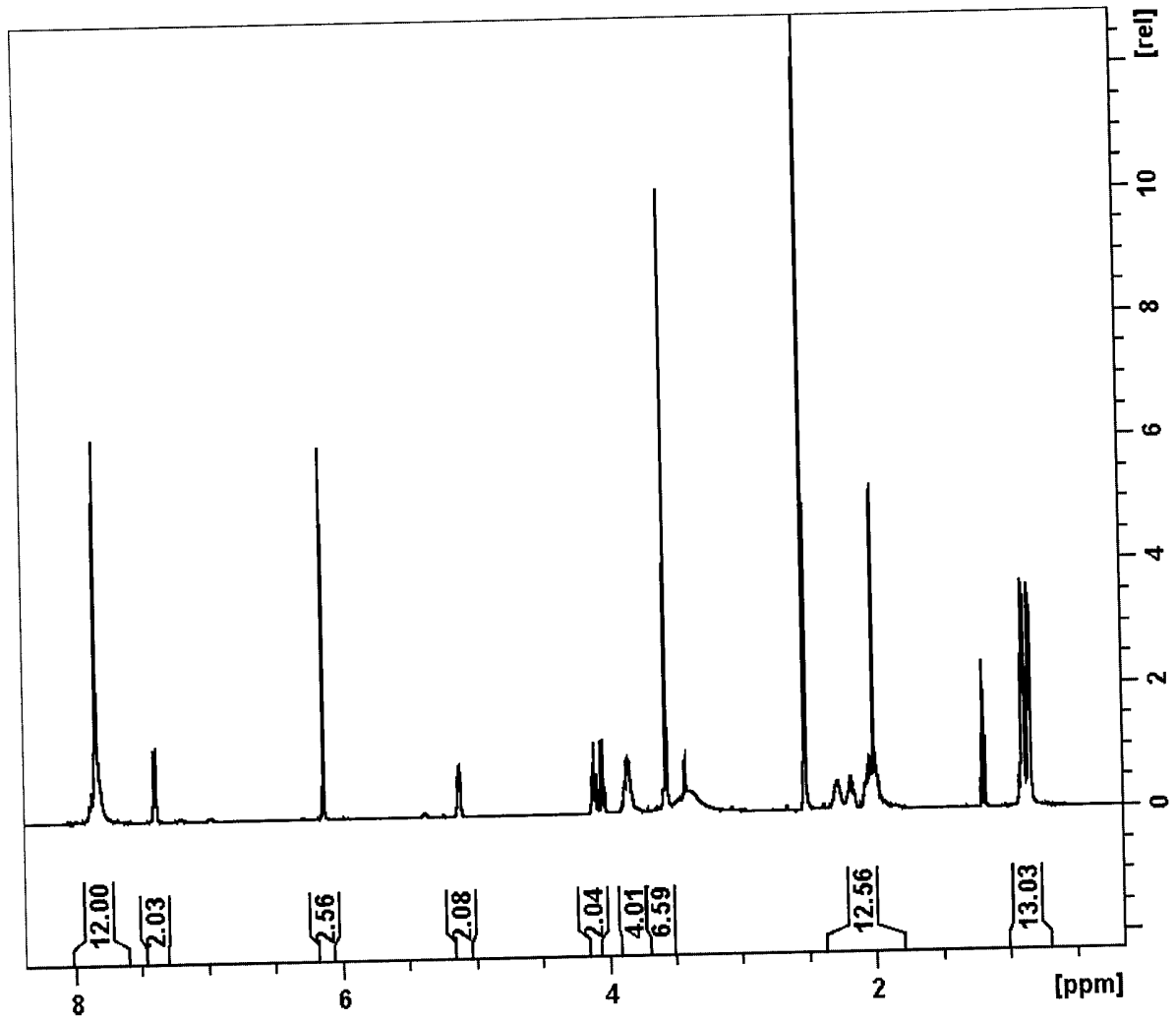


Obrázek 23



Obrázek 24

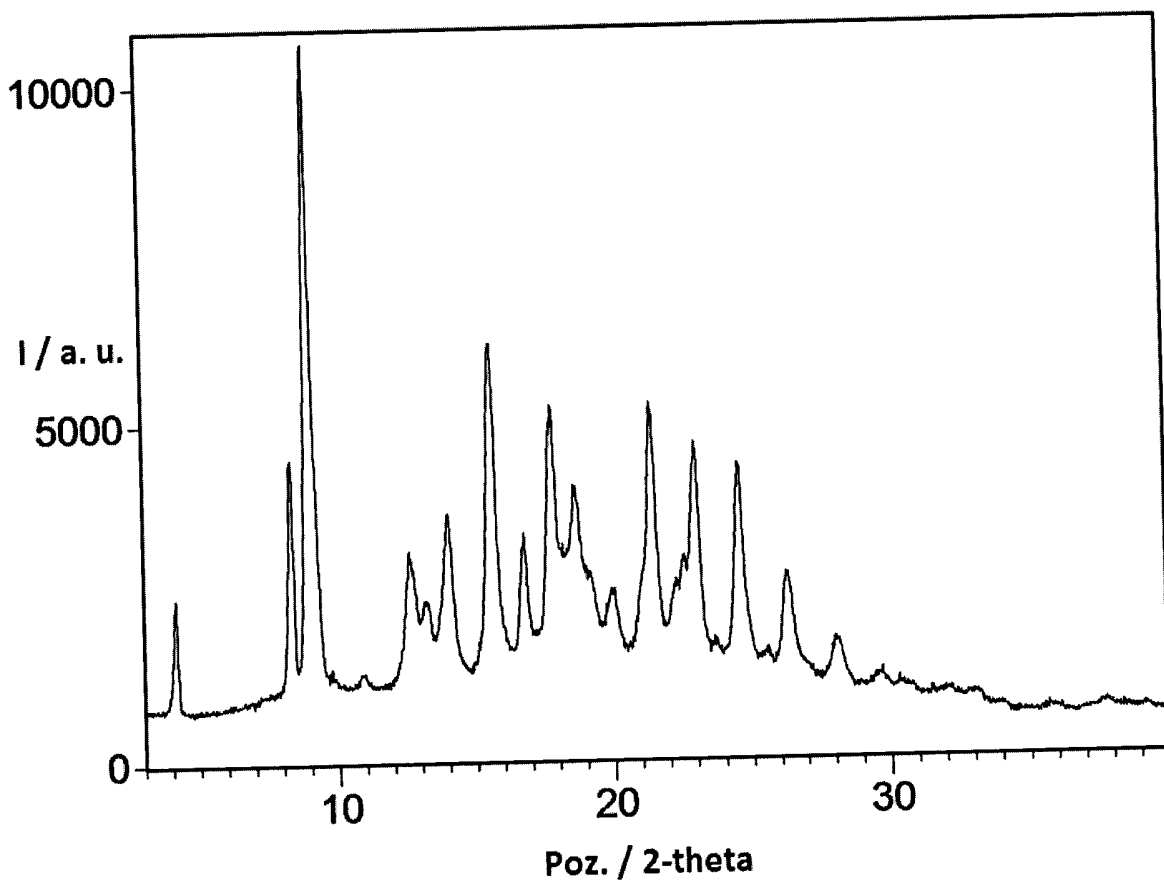
15/21



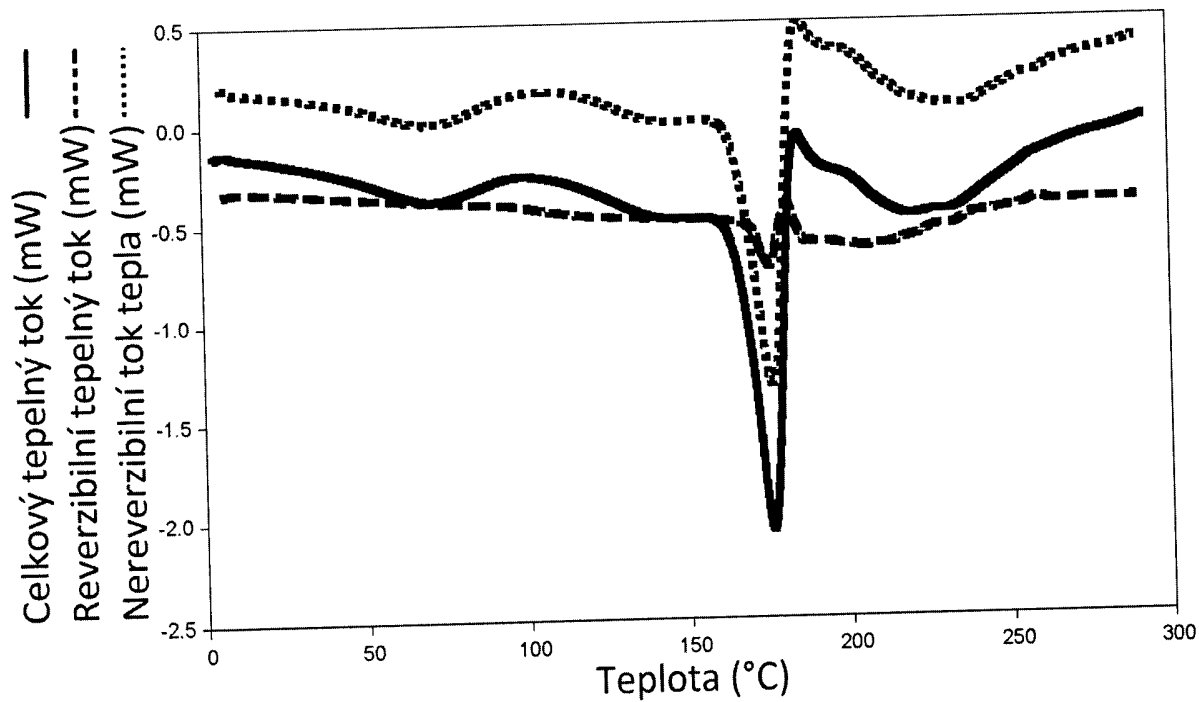
Obrázek 25

29.05.15

16/21



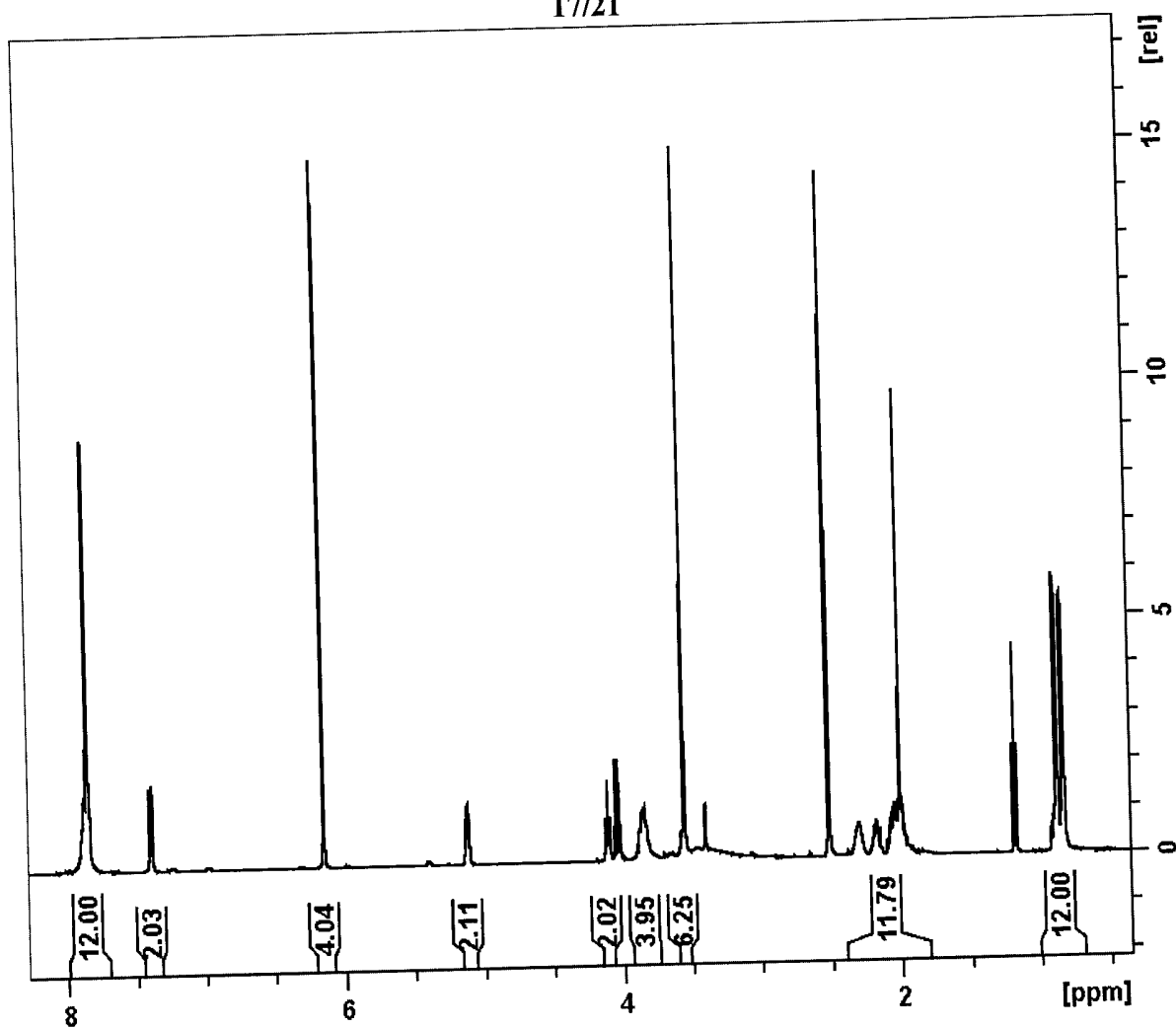
Obrázek 26



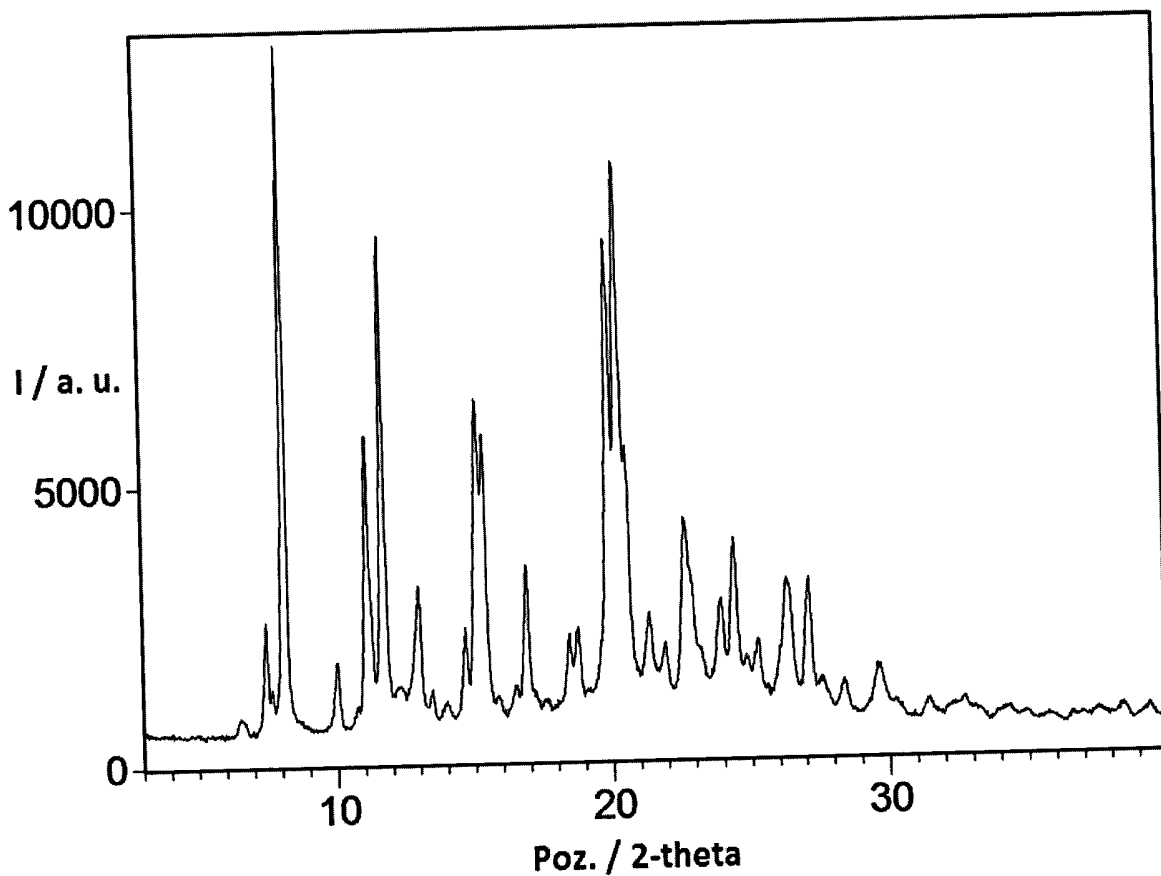
Obrázek 27

29.05.15

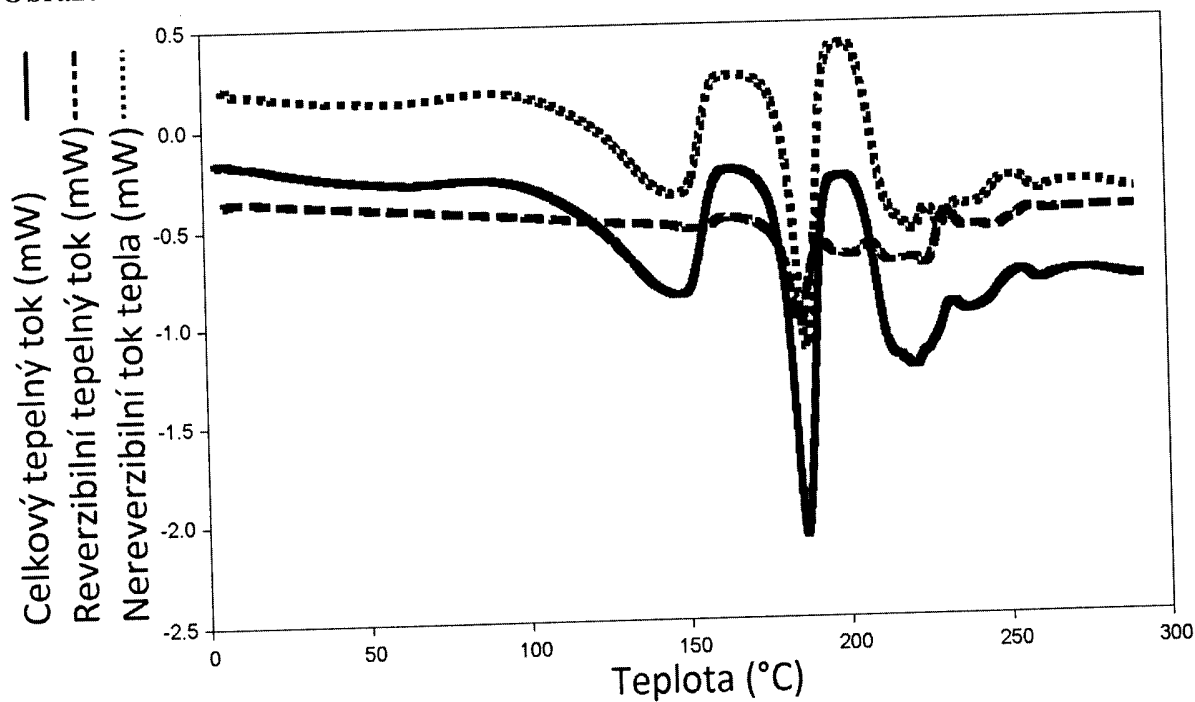
17/21



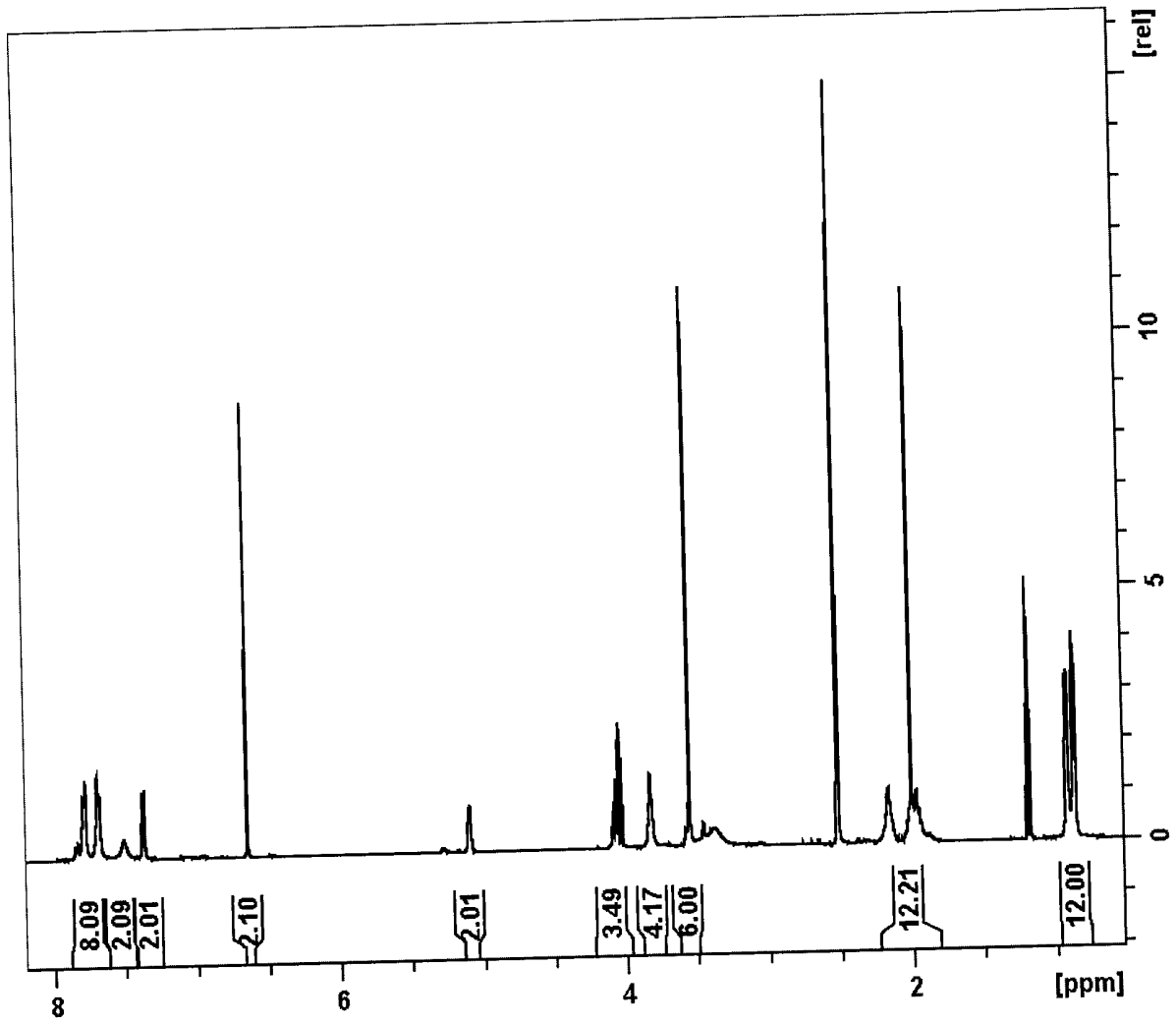
Obrázek 28



Obrázek 29

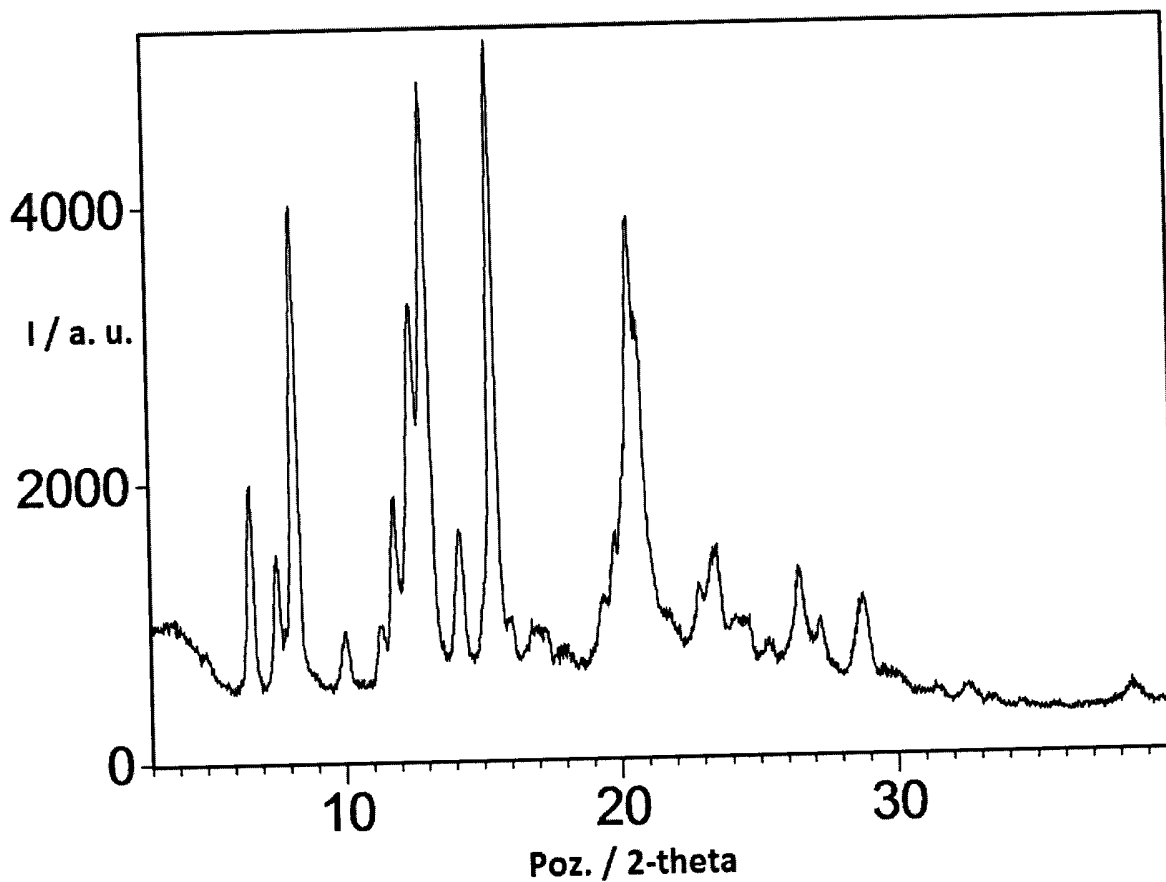


Obrázek 30

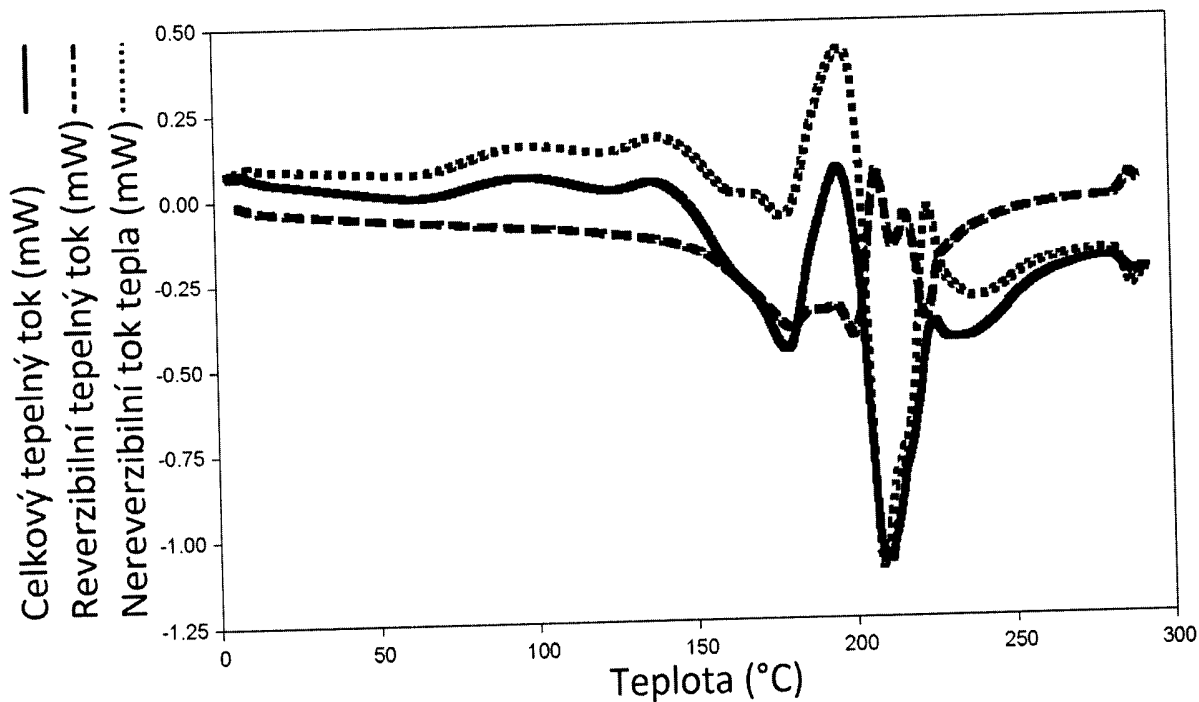


Obrázek 31

20/21



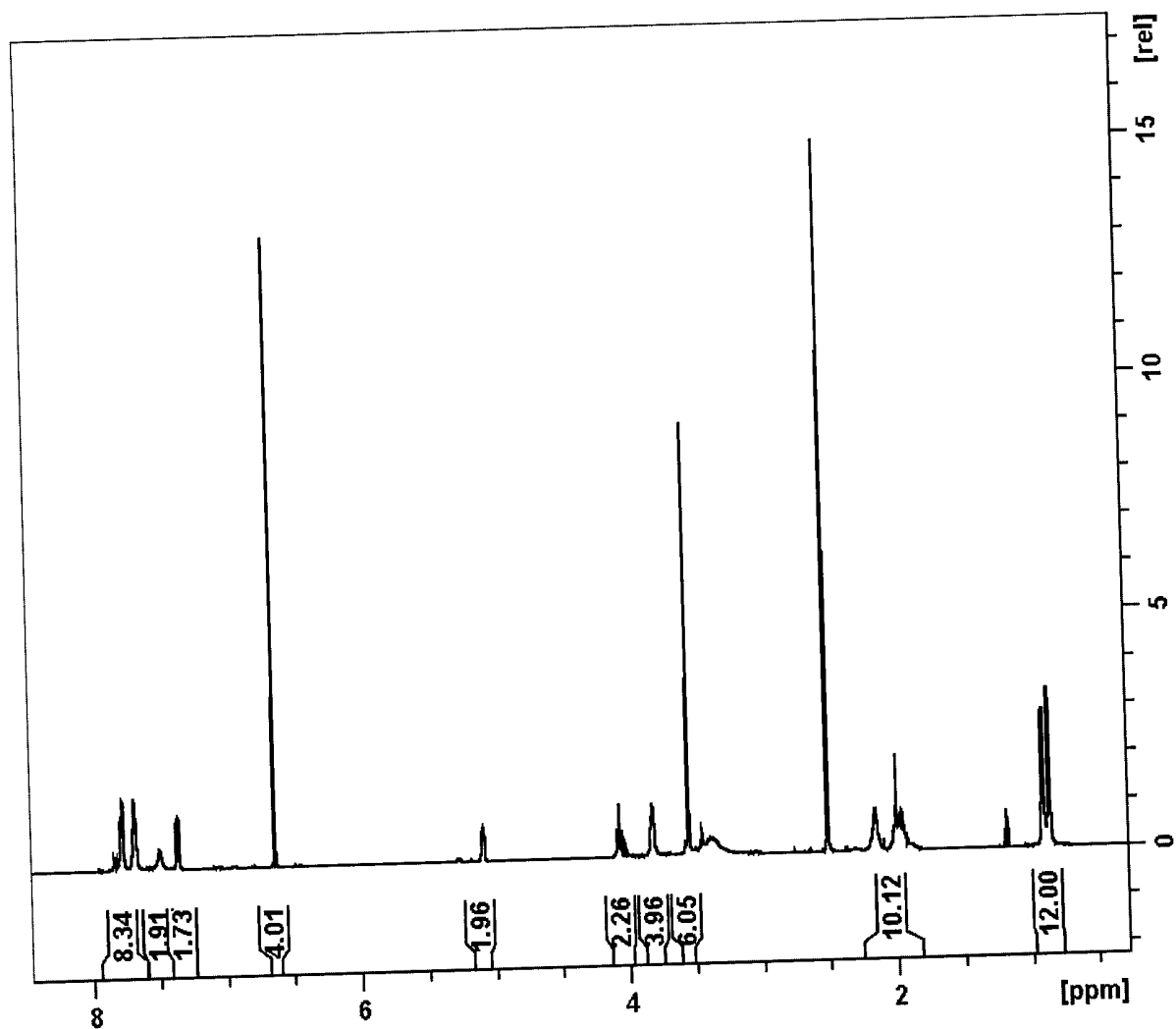
Obrázek 32



Obrázek 33

29.05.15

21/21



Obrázek 34