

SIB EX6371R

P077464SM:IAB/REC

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo

domanda n° 18743314.9, pubblicazione n° 3645518

a nome di Amgen Inc.

di One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799, U.S.A.

* * * * *

"Sintesi di omecantiv mecarbil"

DESCRIZIONE

CAMPO

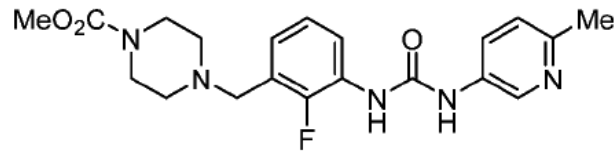
Sono descritti metodi di preparazione di omecamtiv mecarbil. Sono forniti metodi per preparare nuovi intermedi di omecamtiv mecarbil, e metodi sintetici intermedi.

FONDAMENTO

Il sarcomero cardiaco è l'unità di base della contrazione muscolare nel cuore. Il sarcomero cardiaco è una struttura citoscheletrica altamente ordinata composta da miosina del muscolo cardiaco, actina e un insieme di proteine regolatrici. La scoperta e lo sviluppo di attivatori della miosina del muscolo cardiaco a piccole molecole porterebbero a trattamenti promettenti per l'insufficienza cardiaca acuta e cronica e la cardiomiopatia dilatativa (DCM) e condizioni associate a disfunzione sistolica ventricolare sinistra e/o destra o riserva sistolica. La miosina del muscolo cardiaco è la proteina motoria del citoscheletro nella cellula del muscolo cardiaco. È direttamente responsabile della conversione dell'energia chimica in forza meccanica, con conseguente contrazione del muscolo cardiaco.

Gli attuali agenti inotropi positivi, come gli agonisti dei recettori beta-adrenergici o gli inibitori dell'attività della fosfodiesterasi, aumentano la concentrazione di calcio intracellulare, aumentando così la contrattilità cardiaca del sarcomero. Tuttavia, l'aumento dei livelli di calcio aumenta la velocità di contrazione del muscolo cardiaco e riduce il tempo di eiezione sistolica, che è stato collegato a effetti collaterali potenzialmente pericolosi per la vita. Al contrario, gli attivatori della miosina del muscolo cardiaco funzionano con un meccanismo che stimola direttamente l'attività della proteina motoria della miosina del muscolo cardiaco, senza aumentare la concentrazione di calcio intracellulare. Essi accelerano la fase limitante del ciclo enzimatico della miosina e la spostano a favore dello stato che produce forza. Piuttosto che aumentare la velocità di contrazione cardiaca, questo meccanismo allunga invece il tempo di eiezione sistolica, che si traduce in un aumento della contrattilità del muscolo cardiaco e della gittata cardiaca in un modo potenzialmente più efficiente in termini di ossigeno.

Brevetto U.S.A. N. 7.507.735 descrive un genere di composti, incluso omecamtiv mecarbil (AMG 423, CK-1827452), avente la struttura:



Omecamtiv mecarbil è il primo attivatore diretto della classe di miosina cardiaca, la proteina motoria che causa la contrazione cardiaca. Esso è in fase di valutazione come potenziale trattamento dell'insufficienza cardiaca in formulazioni sia endovenose che orali con l'obiettivo di stabilire un nuovo *continuum* di cura per i pazienti sia in ambito ospedaliero che ambulatoriale.

C'è una continua necessità di un processo commerciale di produzione di omecamtiv mecarbil che affronti i problemi specifici della produzione API, compresi i requisiti della buona procedura di fabbricazione (GMP) e l'approvazione degli organismi di regolamentazione (ad esempio, la FDA statunitense e l'EMA).

SOMMARIO

Nella presente è fornito il sale idrato di fosfato di piperazina metilcarbossilato (PMEC). PMEC è indicato in alternativa come metil piperazina-1-carbossilato.

Inoltre nella presente sono forniti procedimenti di sintesi di sale fosfato idrato di PMEC comprendenti a) miscelazione di piperazina e metil cloroformiato per formare PMEC; (b) miscelazione del PMEC e 0,5 equivalenti molar di acido fosforico in una soluzione acquosa per formare PMEC fosfato idrato; e (c) opzionalmente filtrazione dell'PMEC fosfato idrato dalla miscela del passaggio (b). In alcuni casi, il passaggio (a) viene eseguito in una soluzione acquosa che genera PMEC fosfato idrato con un rapporto PMEC/acqua di circa 2:1. In vari casi, il passaggio (a) viene eseguito ad una temperatura da 20 a 55°C per 1-12 ore. In alcuni casi, il PMEC formato nel passaggio (a) viene isolato come soluzione in cloruro di metilene, dicloroetano, 2-metiltetraidrofurano o loro miscele. Più specificamente, l'isolamento può essere effettuato (i) lavando il PMEC risultante dal passaggio (a) con un solvente organico; (ii) modificando il pH da 8 a 14 aggiungendo una base per formare una soluzione acquosa basica; e (iii) estraendo il PMEC dalla soluzione acquosa basica del passaggio (ii) con cloruro di metilene, dicloroetano, 2-metil tetraidrofurano o loro miscele.

Nella presente sono forniti anche procedimenti di sintesi di metil 4-(2-fluoro-3-nitrobenzil)piperazin-1-carbossilato (PIPN) comprendenti (a) la miscelazione di 2-fluoro-3-nitrotoluene, bromato di sodio e bisolfito di sodio in isopropil acetato per formare 1-(bromometil)-2-fluoro-3-nitrobenzene (FNB); (b) opzionalmente il lavaggio di FNB con tiosolfato di sodio acquoso, con cloruro di sodio acquoso, o entrambi; e (c) la miscelazione di FNB, una base di trialchilammina e piperazina metilcarbossilato ("PMEC") fosfato idrato, per formare PIPN. In alcuni casi, FNB viene lavato con tiosolfato di sodio acquoso e cloruro di sodio acquoso. In alternativa, PIPN può essere preparato mediante (a) miscelazione di 2-fluoro-3-nitrotoluene, perossido di benzoile, N-bromosuccinimide e acido acetico a una temperatura da 70 a 95°C per formare 1-(bromometil)-2-fluoro-3-nitrobenzene (FNB); (b) opzionalmente estrazione di FNB con toluene, lavando FNB con una soluzione acquosa basica, o entrambi; (c) miscelazione di FNB, una base di trialchilammina e piperazina metilcarbossilato ("PMEC") fosfato idrato, per formare PIPN. In alcuni casi, l'FNB viene estratto con toluene e lavato con idrossido di sodio acquoso. In entrambi i procedimenti per preparare il PIPN, il PIPN può essere formato come sale cloridrato. In entrambi i procedimenti per preparare PIPN, il PMEC fosfato idrato, può essere preparato come qui descritto. In entrambi i procedimenti per preparare PIPN, la base di trialchilammina comprende diisopropilettilammina o trietilammina. In entrambi i procedimenti per preparare PIPN, prima di miscelare l'FNB, la base di trialchilammina e il PMEC, il procedimento può comprendere inoltre l'aggiunta di dietilfosfito e una trialchilammina e il mescolamento della miscela risultante a una temperatura da 30 a 65°C.

Nella presente sono inoltre descritti procedimenti per sintetizzare fenil (6-metilpiridin-3-il)carbammato (PCAR) che comprendono la miscelazione di 5-ammino-2-metilpiridina (APYR) e fenil cloroformiato in acetonitrile per formare PCAR, in cui la miscelazione viene eseguita in assenza di N-metil pirrolidinone (NMP). In alcuni casi, la miscelazione viene eseguita a una temperatura compresa tra 15 e 30°C per 1-15 ore. In vari casi, il PCAR si forma come sale cloridrato. In alcuni casi, il procedimento può comprendere inoltre la preparazione di APYR mediante un procedimento comprendente: (i) l'idrogenare la 2-metil-5-nitropiridina (NPYR) in presenza di un catalizzatore di palladio per formare APYR grezzo; e (ii) il cristallizzare APYR dall'APYR grezzo in isopropile acetato ed eptano. In vari casi, il procedimento può inoltre comprendere, prima del passaggio (i), il lavaggio

dell'NPYR in isopropile acetato con idrossido di sodio acquoso, seguito dalla miscelazione dell'NPYR lavato in isopropile acetato con carbone. In alcuni casi, il procedimento può inoltre comprendere, prima di miscelare l'APYR e il fenil cloroformiato, la purificazione dell'APYR mediante un procedimento che comprende: (i) il lavaggio di una soluzione di isopropile acetato dell'APYR grezzo, in cui l'APYR grezzo comprende fino al 10% in peso di APYR cloridrato, con idrossido di sodio acquoso, e mescolamento dell'APYR lavato con carbone per formare, dopo filtrazione, una soluzione di APYR; e (ii) cristallizzazione di APYR dalla soluzione di APYR del passaggio (i) da isopropile acetato ed eptano. In vari casi, il procedimento può comprendere inoltre la cristallizzazione di PCAR.

Nella presente sono inoltre descritti procedimenti per sintetizzare metil 4-(3-ammino-2-fluorobenzil)piperazin-1-carbossilato (PIPA) comprendenti (a) la miscelazione di metil 4-(2-fluoro-3-nitrobenzil)piperazin-1-carbossilato (PIPN), una soluzione acquosa di una base inorganica e toluene per formare una soluzione di base libera PIPN; (b) idrogenazione della soluzione di base libera di PIPN in presenza di un catalizzatore di palladio in una miscela di solventi di toluene e alcol per formare PIPA grezza, in cui l'alcol comprende etanolo o isopropanolo; e (c) cristallizzazione di PIPA da PIPA grezza in eptano e toluene. In vari casi, la base inorganica comprende idrossido di sodio.

Nella presente sono inoltre descritti procedimenti per preparare omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato comprendenti (a) la miscelazione di metil 4-(3-ammino-2-fluorobenzil) piperazina-1-carbossilato (PIPA), fenil (6-metilpiridin-3-il) carbammato (PCAR), e una trialchilammina in acetonitrile e tetraidrofurano per formare una soluzione di omecamtiv mecarbil grezzo; (b) isolamento della base libera di omecamtiv mecarbil dalla soluzione di omecamtiv mecarbil grezzo; e (c) miscelazione della base libera isolata di omecamtiv mecarbil con 2 fino a 3 equivalenti molarli di acido cloridrico in isopropanolo e acqua per formare omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato. In vari casi, la trialchilammina comprende diisopropiletilammina o trietilammina. In alcuni casi, l'isolamento del passaggio (b) comprende la cristallizzazione della base libera di omecamtiv mecarbil aggiungendo acqua alla soluzione di omecamtiv mecarbil grezzo dal passaggio (a) e filtrazione della base libera di omecamtiv mecarbil cristallizzata. In vari casi, il procedimento può comprendere inoltre la cristallizzazione

dell'omecattiv mecarbil dicloridrato idrato da isopropanolo e acqua. In alcuni casi, PCAR viene preparata usando un procedimento come descritto nella presente.

Nella presente sono inoltre descritti procedimenti per preparare omecattiv mecarbil dicloridrato idrato comprendenti (a) la miscelazione di metil 4-(3-ammino-2-fluorobenzil) piperazina-1-carbossilato (PIPA), trifosgene e una trialchilammina in acetonitrile e tetraidrofurano per formare PIPA isocianato; (b) miscelazione di PIPA isocianato e di 5-ammino-2-metilpiridina (APYR) per formare la base libera di omecattiv mecarbil; (c) miscelazione della base libera di omecattiv mecarbil con 2-3 equivalenti molarli di acido cloridrico in isopropanolo e acqua per formare omecattiv mecarbil dicloridrato idrato. In alcuni casi, il passaggio (a) viene eseguito tramite produzione continua che comprende la miscelazione di una prima soluzione comprendente PIPA e trialchilammina in acetonitrile e una seconda soluzione comprendente trifosgene in tetraidrofurano usando una *chip* micromescolatrice e un ciclo di reazione per formare PIPA isocianato. In vari casi, il passaggio (b) viene eseguito tramite produzione continua comprendente la miscelazione di una soluzione comprendente PIPA isocianato e una soluzione comprendente APYR usando una mescolatrice a Y e un ciclo di reazione. In alcuni casi, l'APYR viene preparata tramite un procedimento come descritto nella presente. In alcuni casi, PIPA viene preparato tramite un procedimento come descritto nella presente.

BREVE DESCRIZIONE DELLE FIGURE

Figura 1 mostra un grafico isotermico dinamico di assorbimento del vapore (DVS) per tre forme di sale di metil piperazina-1-carbossilato (PMEC) - una forma di sale idrato di fosfato, una forma di sale di emi-solfato e una forma di sale di acetato. L'inizio dell'aumento di peso DVS per ciascun sale è stato misurato come indicato - 35% di umidità relativa (UR) per l'emisolfato; 50% UR per l'acetato; e 65% UR relativa per l'idrato di fosfato. L'idrato fosfato è chiamato fosfato o emi-fosfato e l'emisolfato è chiamato solfato o emi-solfato nella figura.

Figura 2 mostra uno spettro calorimetrico a scansione differenziale di PMEC fosfato idrato.

Figura 3 mostra un modello di diffrazione di raggi X su polvere per PMEC fosfato idrato (quadrato) e impasto liquido PMEC (cerchio).

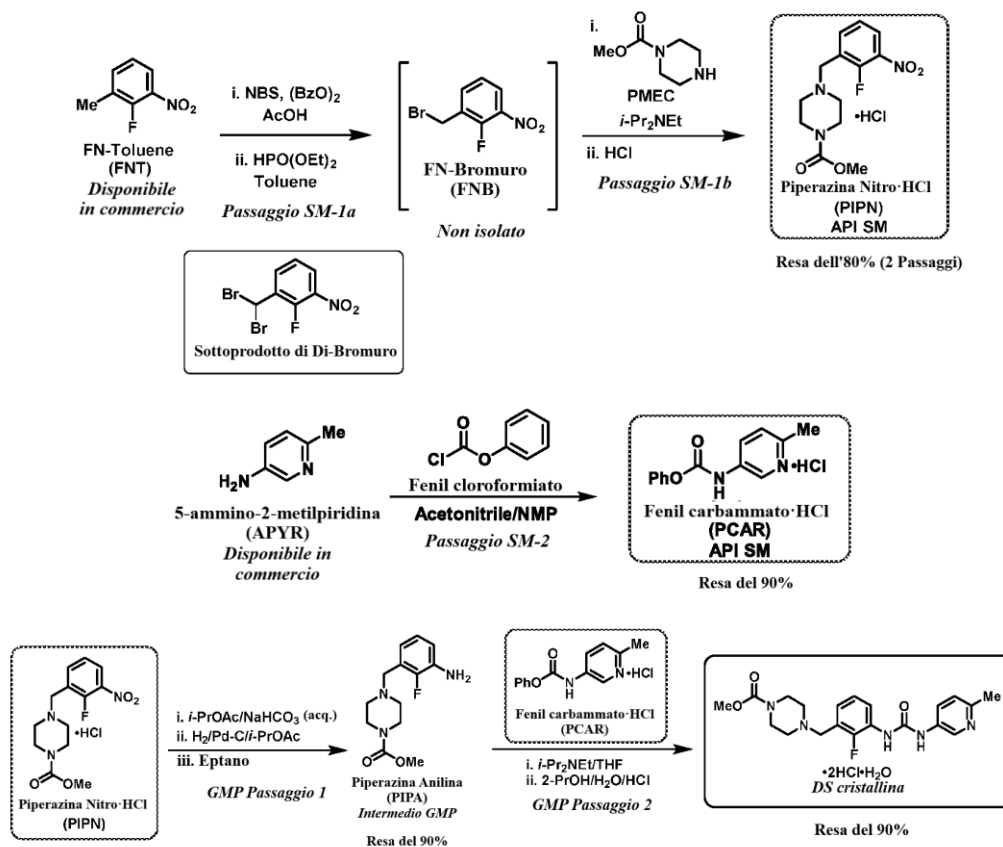
DESCRIZIONE DETTAGLIATA

L'invenzione è definita dalle rivendicazioni allegate. Omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato è usato in una formulazione orale come trattamento dell'insufficienza cardiaca. Condizioni specifiche includono, ma non sono limitate a, insufficienza cardiaca congestizia acuta (o scompensata) e insufficienza cardiaca congestizia cronica; in particolare malattie associate a disfunzione cardiaca sistolica.

Un precedente procedimento per produrre omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato è descritto in WO 2014/152270. La sequenza di fabbricazione GMP qui descritta differisce da quella precedente sequenza sintetica in diversi modi. La sequenza GMP è allungata da due a sei passaggi. Questa sequenza GMP più lunga fornisce sequenze di produzione alternative, tra cui evitare solventi durante la produzione che sono difficili da rimuovere (ad es. N-metilpirrolidone, NMP), evitare l'uso di una cristallizzazione evaporativa, e isolare gli intermedi per evitare difficili scambi di solventi.

Il procedimento precedente per produrre omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato è illustrato nello Schema 1 ed è discusso in dettaglio in WO 2014/152270. Tale procedimento prevede la preparazione non-GMP di materiali di partenza API regolatori Piperazina Nitro-HCl (PIP_N) e Fenil Carbammato-HCl (PCAR) da materie prime disponibili in commercio FN-Toluene (FNT) e 5-Ammino-2-metilpiridina (APYR), rispettivamente. L'intermedio GMP isolato piperazina anilina (PIPA) viene preparato da PIP_N tramite idrogenazione e successivamente accoppiato con PCAR per generare omecamtiv mecarbil. Il sale dicloridrato idrato di omecamtiv mecarbil è prodotto dalla corrispondente base libera tramite un procedimento telescopico (cioè, omecamtiv mecarbil base libera non viene isolato) e isolato come dicloridrato idrato mediante filtrazione dopo macinazione a umido. Tutti i materiali di partenza API sono indicati in riquadri.

Schema 1

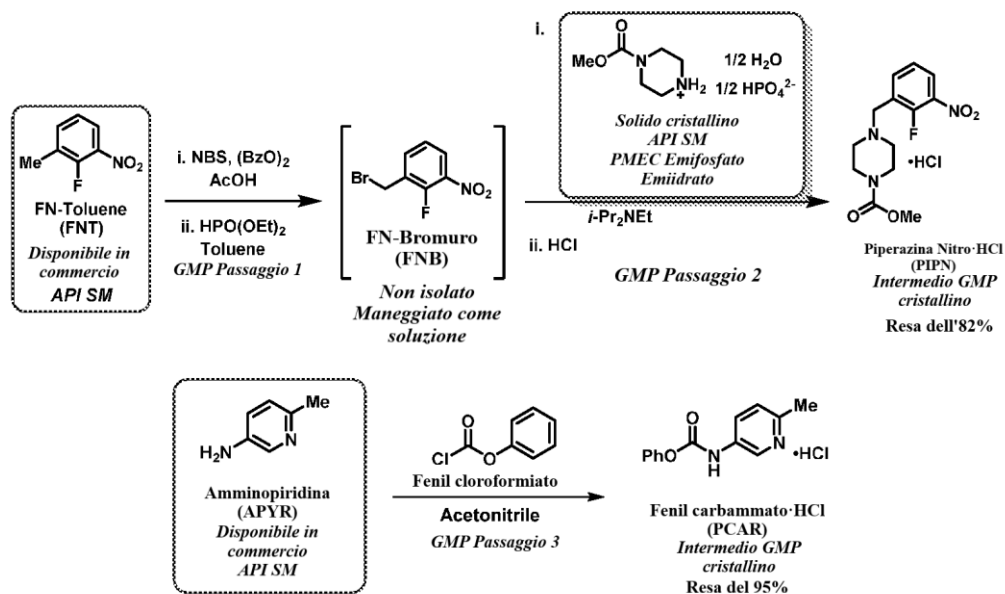


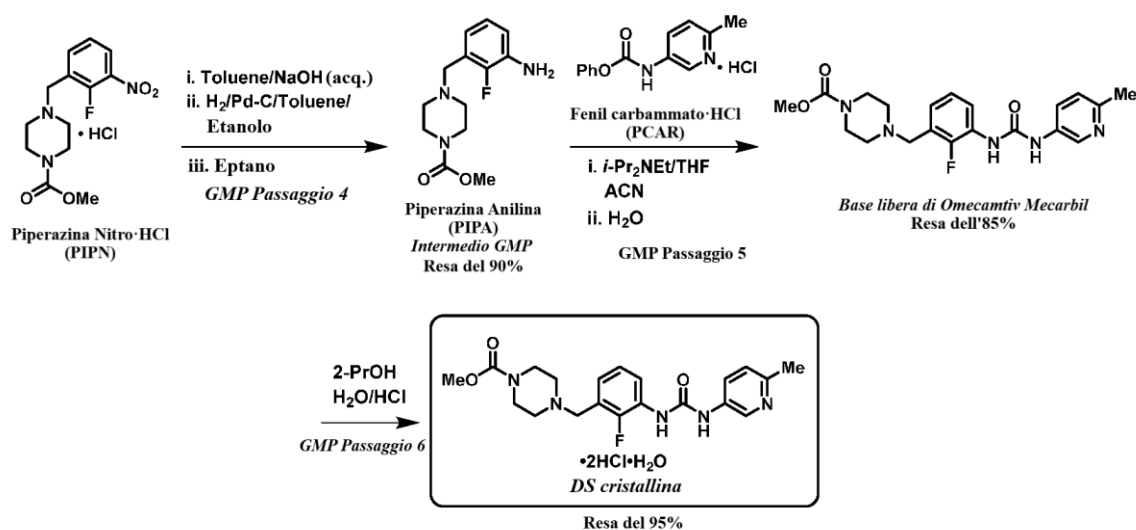
Per la sintesi qui descritta, i materiali di partenza API sono stati spostati a monte nella sequenza al fine di soddisfare i requisiti per la selezione e la giustificazione dei materiali di partenza API a vari organismi di regolamentazione, ad esempio l'EMA e la FDA. In quanto tale, il procedimento qui descritto comprende sei fasi, rispetto alla sequenza in due fasi descritta in WO 2014/152270. Questa sequenza GMP allungata offre diversi vantaggi rispetto alla sequenza più corta. Metil piperazina-1-carbossilato (PMEC) fosfato viene usato al posto della base libera PMEC nella formazione dell'intermedio piperazina nitro-HCl (PIPN). La base libera PMEC è un olio che contiene vari livelli di piperazina, che porta alla formazione di impurità (ad es. BISN nel prodotto PIPN, vedere Schema 3). Al contrario, PMEC fosfato è un sale cristallino stabile che ha livelli bassi e costanti di piperazina. Pertanto, l'uso dell'emifosfato emiidrato di PMEC al posto della base libera PMEC riduce significativamente la formazione di impurità. Il procedimento qui descritto consente anche di evitare l'uso di N-

metilpirrolidinone (NMP) durante la preparazione del PCAR, un vantaggio considerando che l'NMP è difficile da rimuovere ed è apparso negli elenchi del protocollo REACH nell'UE (un elenco di sicurezza dei materiali chimici). Inoltre, il procedimento qui descritto altera il solvente in cui viene condotta l'idrogenazione di PIPN per generare PIPA, poiché l'uso di isopropile acetato nel procedimento precedente comportava un'operazione di cristallizzazione evaporativa, che spesso portava a incrostazioni del materiale e risultati non costanti. Il procedimento qui descritto sostituisce uno scambio di solventi impegnativo, tenendo conto della bassissima solubilità di omecantiv mecarbil base libera in isopropanolo (circa 12 mg/mL) a 20°C e della formazione di una sospensione non agitata durante lo scambio di solvente da tetraidrofurano (THF) ad isopropanolo.

Il nuovo procedimento commerciale qui descritto per preparare omecantiv mecarbil dicloridrato idrato è mostrato nello Schema 2. Esso comprende sei passaggi GMP. I materiali di partenza API commerciali designati sono 2-fluoro-3-nitro-toluene (FNT), 5-ammino-2-metilpiridina (APYR) e PMEC fosfato idrato.

Schema 2

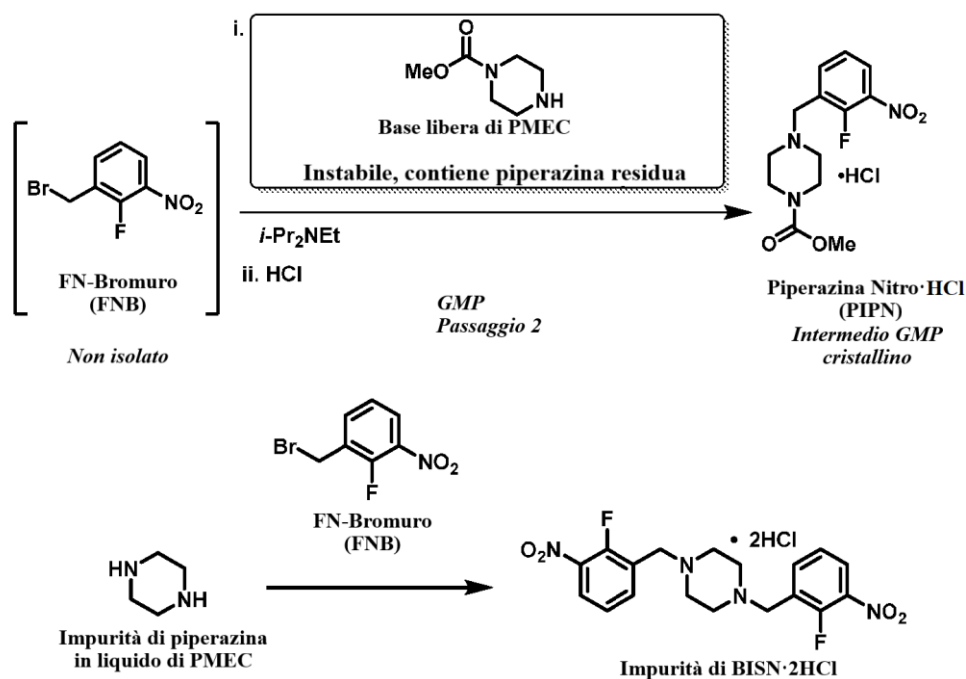




FN-Toluene è una materia prima prodotta dal toluene usando una breve sequenza sintetica. La distillazione frazionata della miscela di isomeri generata fornisce il regioisomero desiderato 2-fluoro-3-nitro-toluene in purezza accettabile, con un'area non superiore a 0,5 GC% di qualsiasi altro isomero. Il 2-fluoro-3-nitro-toluene (FNT) prodotto con questo procedimento ha una qualità riproducibile e può essere designato come materiale di partenza API commerciale.

Fabbricazione di PIPN: PMEC fosfato, ad esempio PMEC fosfato idrato, è un materiale di partenza API preparato in un unico passaggio dalla piperazina. Il procedimento precedente per preparare PIPN usava la base libera PMEC come materia prima, che può essere acquistata, ma è un olio che contiene varie quantità di piperazina. Dopo la conservazione a 25°C, sono stati osservati livelli di piperazina fino al 18% di area LC in PMEC base libera. Come illustrato nello Schema 3, la piperazina residua porta alla formazione di impurezze BISN nel prodotto PIPN.

Schema 3

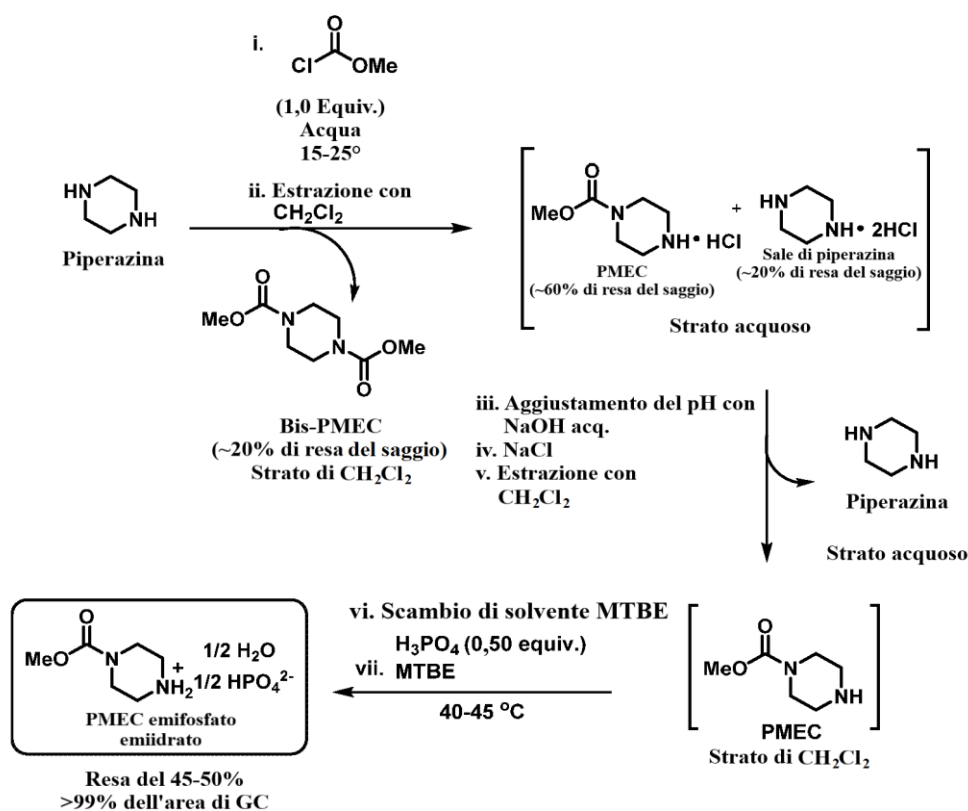


Un sale cristallino stabile di PMEC avente livelli bassi e costanti di piperazina è stato cercato come materiale di partenza API commerciale. Sono stati quindi esaminati più sali per identificare un candidato idoneo. PMEC fosfato, ad es. PMEC fosfato idrato, è risultato essere meno igroscopico del corrispondente solfato e sale acetato, come illustrato nella Figura 1. Esso può essere conservato in sacchetti di alluminio sigillati dall'aria per evitare il contatto con l'umidità.

Come vantaggio, PMEC fosfato, ad esempio PMEC fosfato idrato, può essere aggiunto direttamente a una miscela di reazione per preparare PIPN. Al contrario, PMEC acetato deve essere convertito in PMEC base libera prima dell'aggiunta alla miscela di reazione considerando la formazione di un prodotto secondario da FN-Bromuro (FNB) e l'anione acetato. PMEC fosfato, ad es. PMEC fosfato idrato, contiene bassi livelli di piperazina (<0,4% d'area GC) che non aumentano con la conservazione. PMEC fosfato, ad esempio PMEC fosfato idrato, è stato usato con successo per la produzione di PIPN. Il lotto di PIPN così prodotto (5 kg) conteneva meno di 0,1% di area LC di BISN residuo.

È stato sviluppato un procedimento per produrre PMEC fosfato idrato che prevede il trattamento della piperazina con metilcloroformiato seguito dall'estrazione di PMEC come base libera nello strato organico dopo neutralizzazione con idrossido di sodio acquoso, come mostrato nello Schema 4. Dopo lo scambio di solvente da diclorometano a t-butilmetil etere, il sale desiderato viene cristallizzato mediante aggiunta di acido fosforico e filtrazione. PMEC fosfato idrato viene isolato con una resa del 45-50% da piperazina e >99% di area GC. È stato osservato che i livelli di piperazina nei campioni di PMEC fosfato idrato sono <0,4% d'area GC. Lo spettro DSC e il modello XRPD per PMEC fosfato idrato sono mostrati rispettivamente nelle Figure 2 e 3. Il PMEC fosfato ha una stechiometria di circa 2:1 di PMEC:fosfato e quindi viene qui indicato in modo equivalente come PMEC fosfato, o PMEC emifosfato, sale fosfato di PMEC. Un idrato di PMEC fosfato può essere formato come descritto in dettaglio nella presente, e tale idrato ha una stechiometria di circa 2:1:1 PMEC:fosfato:acqua, e viene indicato in modo equivalente come PMEC fosfato idrato, PMEC emi-fosfato emi-idrato o PMEC fosfato idrato. Resta inteso che il rapporto di PMEC, fosfato e acqua nel PMEC fosfato idrato può differire leggermente dal rapporto stechiometrico 2:1:1 sopra indicato, ad esempio, ad un rapporto di 6:4:3 o simili. L'analisi elementare e/o l'analisi strutturale a raggi X a cristallo singolo possono essere eseguite sul materiale preparato tramite i procedimenti qui descritti. Il rapporto tra PMEC, fosfato e acqua nel sale isolato è coerente e la determinazione del rapporto esatto di PMEC:fosfato:acqua non influisce negativamente sull'idoneità del sale PMEC fosfato idrato qui presente per l'uso previsto come materiale di partenza nella preparazione di omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato.

Schema 4



Il metodo sintetico generale per la preparazione di PMEC fosfato idrato comprende la miscelazione di piperazina e metil cloroformiato per formare PMEC, l'aggiunta di 0,5 equivalenti molar di acido fosforico in una soluzione acquosa per formare il fosfato idrato e opzionalmente la filtrazione del sale. La reazione di piperazina e metilcloroformiato può essere eseguita a una temperatura da 20 a 55°C per 1-12 ore.

Metodi di estrazione specifici e procedure di elaborazione post-reazione sono mostrati nello Schema 4 per purificare il PMEC fosfato. Tuttavia, possono essere impiegate altre procedure di elaborazione. Il PMEC può essere purificato dal bis-PMEC formato nella miscela di reazione di piperazina e metilcloroformiato mediante estrazione con un solvente organico come cloruro di metilene, dicloroetano o 2-metiltetraidrofurano, o una loro miscela. In alcune realizzazioni, il solvente organico comprende cloruro di metilene. Il bis-PMEC indesiderato viene separato nello strato di solvente organico e il PMEC desiderato rimane nello strato acquoso. Il PMEC può

essere ulteriormente purificato. Ad esempio, il P MEC nella soluzione acquosa può essere regolato a un pH basico (ad es. da 8 a 14) mediante l'aggiunta di una soluzione acquosa basica ed estratto con un solvente organico, come cloruro di metilene, dicloroetano o 2-metiltetraidrofurano o una loro miscela, dove il P MEC è nel solvente organico. In alcuni casi, il solvente organico comprende cloruro di metilene. Il P MEC nel solvente organico può subire uno scambio di solvente dal solvente organico estraente a metil t-butil etere (MTBE) e ha reagito con acido fosforico per formare il sale fosfato.

In alcune realizzazioni specifiche, la piperazina è sospesa in 4,0 volumi (V) di acqua a 20 ± 5 °C. Si aggiunge metilcloroformiato (1 equiv.) in ≥ 1 ora mantenendo la temperatura del lotto ≤ 20 °C. La reazione viene agitata a 20 ± 5 °C per ≥ 1 ora. Vengono eseguite una o più estrazioni con cloruro di metilene, scartando ogni volta lo strato di cloruro di metilene. Lo strato acquoso viene trattato con una soluzione acquosa di NaOH 10 M (0,8 equiv.) per regolare il pH tra 9,5 e 10,3. NaCl (1,47 equiv.) viene aggiunto allo strato acquoso e vengono eseguiti lavaggi con cloruro di metilene (2 x 4V). Gli strati di cloruro di metilene vengono combinati e distillati a 2,5 V. Si aggiunge metil butil etere (MTBE) (8 V o 4,5 V) e la soluzione viene concentrata a 2,5 V. Si aggiunge MTBE (3,5 o 4,5 V) e si concentra a 2,5 V. Si aggiunge nuovamente MTBE (3,5 V) e la miscela viene filtrata per rifinitura. La soluzione filtrata viene riscaldata a 45 ± 5 °C (ad es. da 40 a 50°C) e viene aggiunta una soluzione di acido fosforico all'85% (0,5 equivalenti) in MTBE (1,5 V o 3,5 V) in ≥ 3 ore mantenendo una temperatura del lotto di 45 ± 5 °C (ad es. da 40 a 50°C). La sospensione viene raffreddata a 20 ± 5 °C per 2 ore e agitata per 1 ora a 20 ± 5 °C. La sospensione viene filtrata e il pannello risultante viene lavato con MTBE (2 V) ed essiccato (ad esempio, usando azoto e vuoto per ≥ 24 h). La resa di P MEC fosfato idrato è del 48,5%, con un'area LC del 100%, un dosaggio del 64,6% in peso, un contenuto di acqua del 4,2% in peso mediante titolazione Karl Fischer, MTBE residuo dello 0,44% in peso e piperazina residua con 0,2% di area di GC.

Procedura per la fabbricazione di PIPN da FNT: FNT può essere bromurato per formare FNB, che a sua volta può essere fatto reagire con P MEC fosfato idrato per formare PIPN (vedi, ad esempio, parte superiore dello Schema 2). L'FNT può essere bromurato per formare FNB tramite reazione con NBS e cloruro di benzoile in acido acetico a una temperatura di 70-95°C. L'FNB può essere opzionalmente estratto con toluene e/o lavato con

una soluzione acquosa basica per rimuovere le impurità. In alternativa, FNT può essere bromurato per formare FNB tramite reazione con bromato di sodio e bisolfito di sodio in isopropile acetato e acqua. L'FNB formato per reazione con bromato di sodio e bisolfito di sodio può essere opzionalmente lavato con una soluzione acquosa di tiosolfato di sodio e/o una soluzione acquosa di cloruro di sodio per rimuovere le impurità. L'FNB, indipendentemente da come è formato da FNT, può opzionalmente essere trattato con dietilfosfito e una trialchilammina (ad esempio trietilammina o diisopropilettilammina) a una temperatura da 30 a 65°C per ridurre l'impurezza dibromurata indesiderata. L'FNB, indipendentemente da come è formato da FNT, può essere miscelato con una base di trialchilammina (ad esempio, trietilammina o diisopropilettilammina) e P MEC fosfato idrato per formare PIPN. PIPN può essere inoltre convertito nella forma di sale cloridrato mediante miscelazione con acido cloridrico, e può essere inoltre isolato.

In alcune realizzazioni specifiche, il 2-fluoro-3-nitrotoluene (3,0 kg, 1 equiv) viene caricato in un reattore seguito da benzoin perossido (0,03 equiv) e N-bromosuccinimide (0,56 equiv). Nel reattore viene caricato acido acetico (3 V) e il lotto viene riscaldato a 83 °C. Dopo 1,5 h si carica nel reattore una sospensione di NBS (0,56 equiv) in acido acetico (1 V). Dopo altre 1,5 h una seconda sospensione di NBS (0,56 equiv) in acido acetico (1 V) viene caricata nel reattore. Dopo altre 5 h una soluzione di H₃PO₃ (0,1 equiv) in acido acetico (0,1 V) viene caricata nel reattore e il lotto viene agitato per 30 minuti poi raffreddato a 20°C. Nel reattore vengono caricati acqua (5,5 V) e toluene (8 V) e si agita vigorosamente la carica per 30 minuti. L'agitazione viene poi interrotta e gli strati lasciati separare. Lo strato acquoso inferiore viene scartato. Nel reattore viene caricata una soluzione di NaOH (1,7 equiv) in acqua (7 V) mantenendo una temperatura del lotto inferiore a 30 °C. Il lotto viene agitato vigorosamente per 30 minuti. L'agitazione viene interrotta e gli strati lasciati separare. Il lotto viene filtrato in un reattore pulito e gli strati vengono lasciati separare. Lo strato acquoso inferiore viene scartato. Nel reattore viene caricata N,N-diisopropilettilammina (0,53 equiv) seguita da metanolo (0,23 V) e il lotto viene riscaldato a 40 °C. Si carica nel reattore una soluzione di dietilfosfito (0,46 equiv) in metanolo (0,23 V) e si agita il lotto per 3 h. Il lotto viene raffreddato a 20 °C. Ad una soluzione di 1 equiv. Si aggiunge 2-fluoro-3-nitrofenilmetilbromuro in toluene (9V), preparato per bromurazione radicalica di 2-fluoro-3-nitrotoluene 2,3 equiv. diisopropilettilammina

a 20 °C. Alla soluzione di agitazione viene aggiunta una soluzione di 1,05 equiv. di P MEC fosfato idrato in metanolo (2,6 V) a gocce. Dopo agitazione per ≥ 3 ore si aggiunge acqua (5V) e si separano gli strati. La fase organica viene lavata due volte con NH_4Cl acquoso saturo (5V) poi una volta con NaHCO_3 acquoso saturo (5V). Dopo filtrazione di rifinitura, lo strato di toluene viene diluito con isopropanolo (9,7 V) e acqua (0,5 V). La soluzione viene riscaldata a 55°C e si aggiunge HCl concentrato (0,15 V) in 30 minuti. La soluzione viene seminata con PIPN-HCl (3% in moli) e tenuta a 55°C per 15 minuti. Nel corso di 4 ore viene aggiunto altro HCl concentrato (0,62 V). La soluzione viene mantenuta a 55 °C per 15 minuti e raffreddata a 20 °C in ≥ 1 ora. La soluzione viene agitata per 30 minuti e filtrata. I cristalli vengono lavati due volte con IPA (5,6V). Il pannello viene essiccato sotto vuoto e azoto per fornire PIPN-HCl (resa 82%, 98,6% in peso, 99,6 LCAP).

In altre realizzazioni specifiche, 2-fluoro-3-nitrotoluene (3,0 kg, 1 equiv) viene caricato in un reattore seguito da benzoin perossido (0,03 equiv) e N-bromosuccinimide (NBS, 0,1 equiv). Nel reattore viene caricato acido acetico (2 V) e la miscela viene riscaldata a 83°C. La miscela di reazione viene agitata per 1,5 ore e viene aggiunta una sospensione di NBS (0,4 equiv) in acido acetico (0,9 V). La miscela di reazione viene agitata per 1,5 ore e viene aggiunta una seconda sospensione di NBS (0,4 equiv) in acido acetico (0,9 V). La miscela di reazione viene agitata per 1,5 ore e viene aggiunta una seconda sospensione di NBS (0,8 equiv) in acido acetico (1,6 V). Viene aggiunto acido acetico (1,0 equiv) e la miscela di reazione viene agitata per 1,5 h e una soluzione di acido fosforoso (H_3PO_3 , 0,1 equiv) in acido acetico (0,1 V) viene caricata nel reattore. La miscela viene agitata per 60 minuti e raffreddata a 20°C. Al recipiente vengono aggiunti acqua (5,5 V) e toluene (8 V) e la miscela bifasica viene agitata vigorosamente per 30 minuti. L'agitazione viene interrotta e gli strati lasciati separare. Lo strato acquoso viene scartato. Viene caricata una soluzione di idrossido di sodio (1,7 equiv) in acqua (7 V) mantenendo la temperatura al di sotto di 30 °C. La miscela bifasica viene agitata vigorosamente per 30 minuti. L'agitazione viene interrotta e gli strati lasciati separare. La miscela bifasica viene filtrata e gli strati vengono lasciati separare. Lo strato acquoso viene scartato. La miscela di reazione viene trasferita in un recipiente pulito separato, il recipiente originale viene risciacquato con toluene (1,2 V) e il volume di risciacquo viene aggiunto alla miscela di reazione. Nello strato organico vengono caricati *N,N*-diisopropiletilamina (0,53

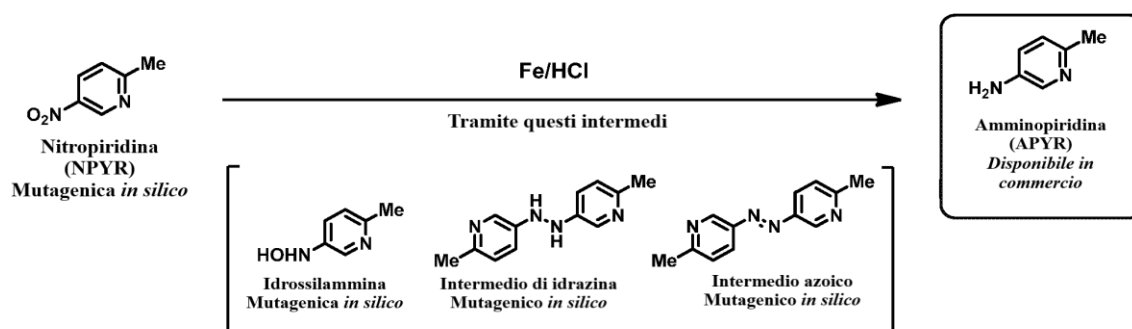
equiv) e metanolo (0,23 V) e la miscela viene riscaldata a 40°C. Viene caricata una soluzione di dietilfosfito (0,46 equiv) in metanolo (0,23 V) e la miscela di reazione agitata per 3 h. La miscela viene raffreddata a 20 °C. Alla soluzione di FNB in toluene, preparata per bromurazione radicalica di 2-fluoro-3-nitrotoluene (FNT), si aggiungono diisopropiletilammina (2,3 equiv.) e toluene (1 V). La soluzione di FNB viene aggiunta a una soluzione di metanolo (1,8 V) e P MEC fosfato idrato (1,05 equiv). Il recipiente originale che conteneva la soluzione di FNB viene risciacquato con metanolo (0,8 V) e il volume di risciacquo viene aggiunto alla miscela di reazione. La miscela di reazione viene agitata per 4 ore a 25°C e si aggiunge acqua (5 V) mantenendo la temperatura del lotto al di sotto di 30°C. La miscela bifasica viene agitata per 30 minuti e gli strati vengono separati. La fase organica viene lavata due volte con cloruro di ammonio acquoso 3 M (5 V), e una volta con bicarbonato di sodio acquoso 1 M (5 V). La miscela di reazione viene trasferita in un recipiente pulito separato, il recipiente originale viene risciacquato con toluene (1 V) e il volume di risciacquo viene aggiunto alla miscela di reazione. Dopo la filtrazione di rifinitura, alla soluzione organica vengono aggiunti isopropanolo (9,7 V) e acqua (0,6 V). La soluzione viene riscaldata a 55°C e viene aggiunto acido cloridrico acquoso al 32% in peso (0,25 equivalenti) in 30 minuti. La soluzione viene agitata a 55°C per 15 minuti e seminata con una sospensione di PIPN (sale cloridrato, 0,045 equivalenti) in isopropanolo (0,2 V). La sospensione viene agitata a 55°C per 30 minuti. Viene aggiunto altro acido cloridrico acquoso al 32% in peso (1,0 equiv) in 4 ore. La sospensione viene agitata a 55°C per 30 minuti e raffreddata a 20°C in 2 ore. La sospensione viene agitata per 30 minuti e filtrata. Il pannello di prodotto viene lavato due volte con isopropanolo (5,6 V). Il pannello di prodotto viene essiccato su filtro/essiccatore per fornire PIPN con una resa dell'82% con saggio del 98,6% in peso e area LC del 99,6%.

In alcune realizzazioni specifiche, 2-Fluoro-3-NitroToluene (5,1 grammi) viene sciolto in isopropile acetato (30 mL) e viene aggiunta una soluzione di bromato di sodio (14,9 grammi) in acqua (50 mL). La miscela viene raffreddata a 10°C. Una soluzione di bisolfito di sodio (10,3 g) in acqua (100 mL) viene aggiunta in 20 minuti. La miscela risultante viene riscaldata a 80°C per 3 h. Il recipiente di reazione ha accesso alla luce visibile. Il contenuto viene raffreddato a 20 °C e le fasi separate. La fase organica viene lavata in sequenza con tiosolfato di sodio acquoso al 10% e cloruro di sodio acquoso saturo. Si ottiene 1-(bromometil)-2-fluoro-3-nitrobenzene

(FNB) con una resa al saggio del 74% con una resa di saggio dell'11% del prodotto dibromuro.

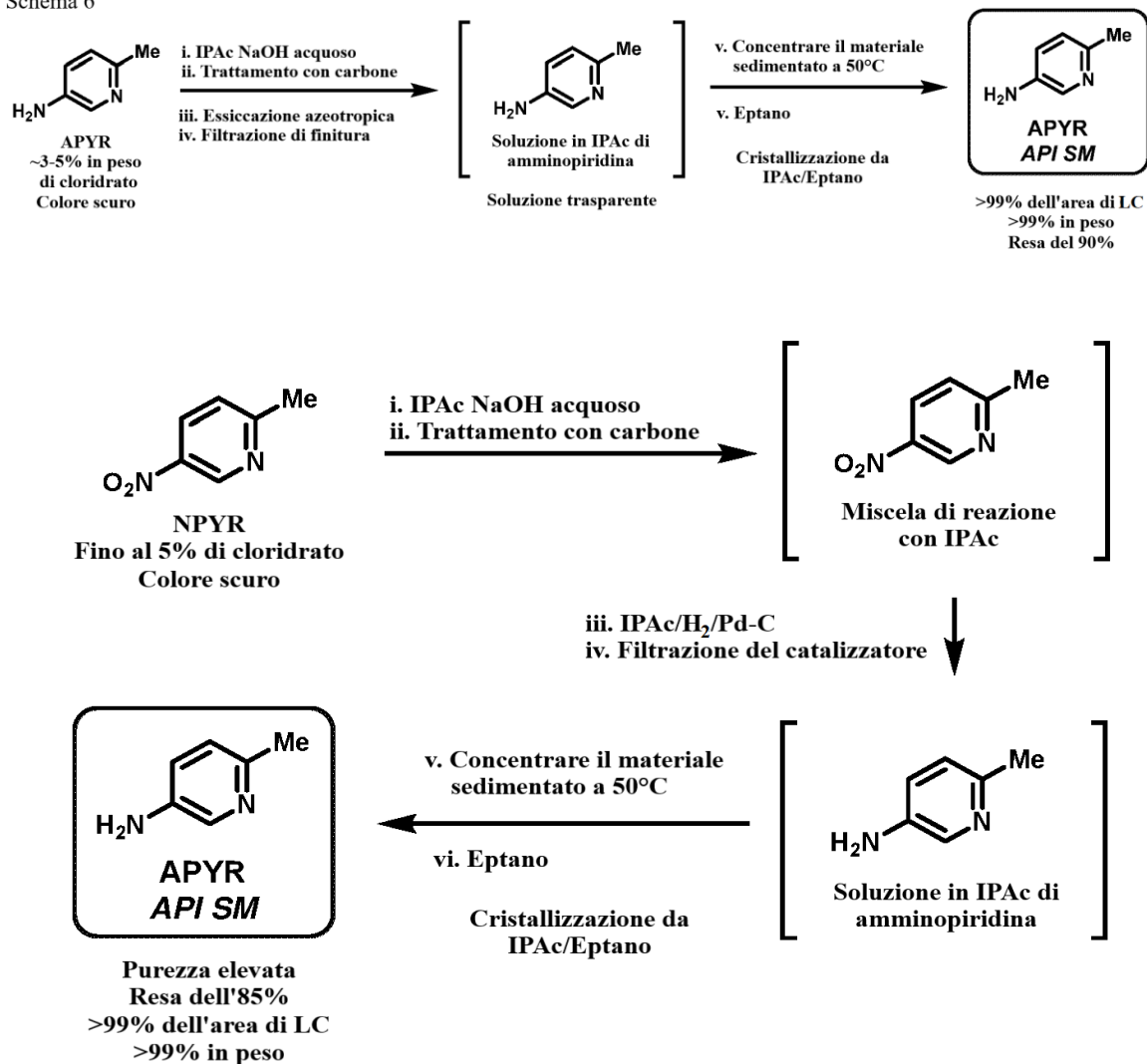
Produzione di APYR: 5-Ammino-2-metilpiridina (APYR) è disponibile in commercio come materia prima, tuttavia contiene varie quantità di sale cloridrato (3-5% in peso) ed è fornita come materiale marrone scuro o nero. Inoltre, può contenere più impurità potenzialmente genotossiche, come illustrato nello Schema 5. Di conseguenza, per usare APYR come materiale di partenza API commerciale con purezza elevata e costante, è necessario un protocollo di purificazione per APYR o un procedimento sintetico per preparare APYR.

Schema 5



Viene descritto un metodo per purificare APYR mediante lavaggio di una soluzione di isopropile acetato di APYR contenente fino al 10% in peso del corrispondente sale cloridrato con idrossido di sodio acquoso e poi miscelazione della fase organica con carbone. APYR può essere cristallizzato da isopropile acetato ed eptano, opzionalmente dopo essiccamento azeotropico della fase organica e filtrazione di rifinitura. Il procedimento per purificare APYR è illustrato nello Schema 6. La purificazione dell'APYR comporta la conversione del sale cloridrato dell'APYR in una base libera dell'APYR e la contemporanea rimozione di materiale inorganico usando un lavaggio acquoso basico di idrossido di sodio di una soluzione di isopropile acetato di APYR. Dopo un trattamento con carbone (ad esempio, miscelazione con carbone e filtraggio della sospensione o ricircolo di una soluzione di isopropile acetato attraverso capsule di carbone vegetale), la soluzione comprendente APYR viene essiccata come azeotropo e filtrata per rifinitura. La soluzione limpida di isopropile acetato viene concentrata e APYR viene cristallizzata per aggiunta di eptano. APYR viene isolata in >99% di area LC e >99% in peso al saggio.

Schema 6



In alcune realizzazioni specifiche della descrizione, una soluzione di 5-ammino-2-metilpiridina (APYR) grezza in isopropile acetato (IPAc) (15 volumi) viene lavata con una soluzione acquosa 1N di NaOH (1,0 volume) e fatta circolare attraverso capsule di carbone fino a quando il colore della soluzione (COS) nel controllo di processo è soddisfatto (COS ≤20). La soluzione viene essiccata come azeotropo per concentrazione a circa 6 volumi e si aggiunge isopropile acetato (8 volumi). La miscela viene filtrata per rifinitura in un recipiente separato. Il recipiente originale viene risciacquato con isopropile acetato (1,0 volume) e il volume di risciacquo

viene aggiunto alla miscela di reazione. La soluzione viene concentrata, ad esempio per distillazione a pressione ridotta e il prodotto viene cristallizzato da isopropile acetato ed eptano (1:4, 10 volumi). In alcuni casi la soluzione viene concentrata a 3 volumi a 60°C e seminata con APYR purificata (1% molare). La sospensione viene agitata per 30 minuti, raffreddata a 20°C in 3 ore e agitata per 1 ora. Eptano (8 volumi) viene aggiunto nel corso di 3 ore per completare la cristallizzazione del materiale. La sospensione viene agitata per 1 ora, filtrata e il pannello di prodotto viene lavato con eptano (2 x 3 volumi). APYR purificata viene isolata mediante filtrazione, essiccata e ottenuta con una resa del 90% con $\geq 99\%$ di area LC.

APYR da NPYR: In alcuni casi, l'APYR è sintetizzata da NPYR, come delineato nello Schema 6. NPYR è idrogenata in presenza di un catalizzatore di palladio per formare APYR grezza che può essere cristallizzata da isopropile acetato ed eptano. L'idrogenazione di NPYR per generare APYR grezza viene effettuata dopo un lavaggio acquoso basico e un trattamento con carbone. Il trattamento con carbone comprende la miscelazione con carbone e il filtraggio della sospensione o il ricircolo di una soluzione di isopropile acetato attraverso capsule di carbone. La soluzione di APYR viene essiccata come azeotropo e filtrata per rifinitura. APYR è cristallizzata da isopropile acetato ed eptano. In alcuni casi, l'NPYR viene purificata prima dell'idrogenazione mediante lavaggio con isopropile acetato e idrossido di sodio acquoso ed eseguendo un trattamento con carbone (miscelazione con carbone e poi filtrazione del carbone).

In alcune realizzazioni specifiche della descrizione, una soluzione di isopropile acetato (15 V) di 2-metil-5-nitropiridina (NPYR) viene lavata con una soluzione acquosa 1N di NaOH (2 V) e acqua (2 V). La soluzione viene opzionalmente fatta circolare attraverso capsule di carbone fino a quando non viene soddisfatto il controllo del colore della soluzione in processo (COS) ($\text{COS} \leq 20$). NPYR è idrogenata con 4,5 bar di idrogeno, ad es. a 70psi/50-60°C (ad es. 55°C) in presenza di 5% Pd/C (su carbone attivo venduto da BASF Escat™ 1421, caricamento di 1,5% in peso) per circa 1 ora. La miscela di reazione viene filtrata ed essiccata come azeotropo mediante concentrazione a circa 7 V, aggiunta di 8 V di isopropile acetato, e filtrazione di rifinitura. La soluzione viene concentrata a 3 V sotto pressione ridotta a 60°C. Il prodotto viene cristallizzato da isopropile acetato ed eptano (1:4) opzionalmente per semina con APYR pura (1% in moli) e/o opzionalmente per

raffreddamento a 20°C. Il prodotto viene opzionalmente filtrato e lavato con eptano (2 x 3 V). APYR è isolata con una resa del 75% con $\geq 99\%$ di area LC.

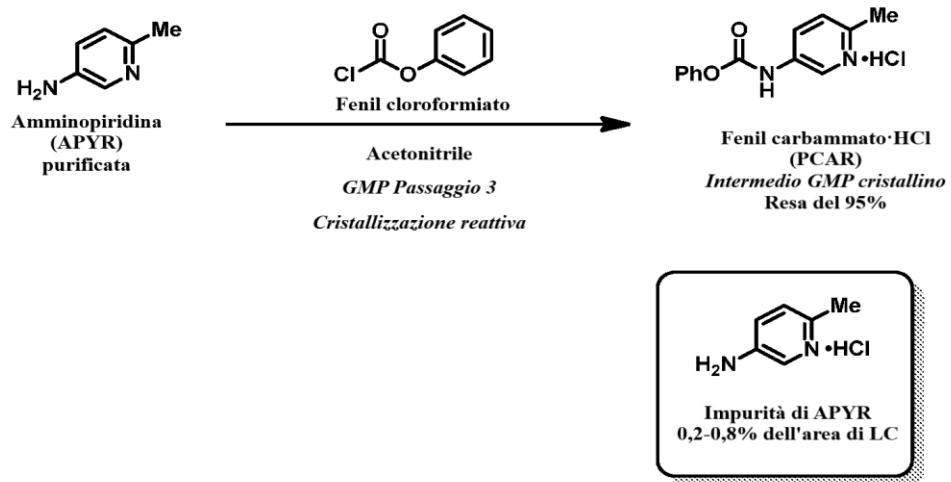
Produzione di PCAR: Nel procedimento precedentemente descritto per la preparazione di omecantiv mecarbil dicloridrato idrato, N-metilpirrolidinone (NMP) viene usato come co-solvente nella preparazione di PCAR. Tuttavia, l'NMP è difficile da rimuovere dal pannello di prodotto poiché è necessario il lavaggio con 30 volumi di acetonitrile per ridurre il livello nel pannello al di sotto di 5000 ppm. Inoltre, l'NMP è un solvente potenzialmente pericoloso che è stato inserito negli elenchi del protocollo REACH regolamentato dall'Unione Europea, adottato per migliorare la protezione della salute umana e dell'ambiente dai rischi che possono essere posti dai prodotti chimici. È stato trovato che usando APYR purificata preparato come descritto sopra, i livelli di APYR cloridrato in PCAR cristallizzato isolato potrebbero essere facilmente mantenuti al di sotto dell'1% di area LC senza l'uso di NMP (vedi Schema 7). Questo non era vero per APYR non purificata, poiché da questo materiale di partenza è stato trovato dall'1 al 2% di area LC di APYR cloridrato in PCAR isolato preparato senza NMP e costituisce una osservazione sorprendente.

Pertanto, nella presente è descritto un metodo per preparare PCAR mediante la miscelazione di APYR e fenil cloroformiato in acetonitrile e in assenza di NMP. La reazione può avvenire a una temperatura compresa tra 15 e 30°C per 1-15 ore. Il metodo può usare APYR che è stato purificato come notato sopra, ad esempio per rimuovere il sale cloridrato di APYR e il colore scuro. APYR può essere preparata da NPYR come descritto sopra. PCAR può essere formato come suo sale cloridrato. Il PCAR può essere cristallizzato, per esempio, come sale cloridrato.

In alcune realizzazioni specifiche della descrizione, una soluzione di 5-ammino-2-metilpiridina (APYR) in ACN (15 volumi) viene fatta reagire con fenilcloroformiato (1,05equiv.) per 3 ore a $20 \pm 5^\circ\text{C}$ mentre il prodotto cristallizza dalla miscela di reazione. La sospensione del prodotto viene filtrata e il pannello essiccato su filtro/essiccatore. PCAR è isolato con una resa del 97%, purezza HPLC $\geq 99\%$, APYR 0,3% e R-urea 0,25%. In alcuni casi, all'APYR purificata si aggiunge acetonitrile (14 volumi) e si agita la miscela per 30 minuti. La miscela viene filtrata per affinamento in un recipiente separato. Il recipiente originale viene risciacquato con

acetonitrile (1,0 volume) e il volume di risciacquo viene aggiunto alla miscela di reazione. Fenilcloroformiato (1,05 equiv.) viene aggiunto in 5 ore a 20°C in presenza di semi di PCAR (0,01 equiv). La miscela viene agitata per altre 2 ore. Il prodotto viene isolato per filtrazione e il pannello viene lavato con acetonitrile (2 x 2 volumi). Il pannello viene essiccato su filtro/essiccatore. PCAR viene isolato con una resa del 97% con $\geq 99\%$ di area LC PCAR e 0,3% di area LC di APYR residua.

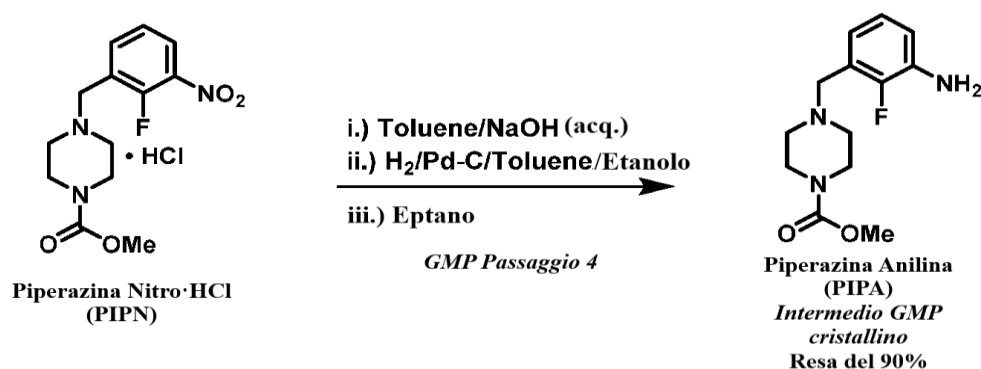
Schema 7



Produzione di PIPA: Il solvente usato durante l'idrogenazione di PIPN per fornire PIPA nel procedimento precedente per preparare omecamtiv mecarbnil dicloridrato idrato era isopropile acetato. La reazione di idrogenazione avveniva bene in questo solvente, tuttavia è stata necessaria una cristallizzazione evaporativa (distillazione del solvente durante la cristallizzazione del prodotto) a causa dell'elevata solubilità del PIPA in miscele di isopropile acetato:eptano in rapporti superiori a 5:95. Gli alti livelli di isopropile acetato usati dovevano essere ridotti mediante distillazione dopo la semina della soluzione del prodotto, portando così a incrostazioni del prodotto e mancanza di robustezza del procedimento. Per il procedimento qui descritto l'isopropile acetato è stato sostituito con il toluene, eliminando tutti i problemi sopra esposti considerando che il rapporto toluene:eptano da ottenere immediatamente prima della filtrazione è di 30:70, il che elimina una cristallizzazione per evaporazione. Inoltre, l'etanolo viene usato come co-solvente durante la reazione di

idrogenazione per aumentare la solubilità del PIPA e garantire la miscibilità del sottoprodotto in acqua. Infine, un bicarbonato di sodio acquoso è stato sostituito con un idrossido di sodio acquoso per operare la trasformazione in base libera di PIPN per il procedimento commerciale al fine di limitare i volumi della soluzione di lavaggio acquosa ed eliminare la fuoriuscita di gas. Il procedimento per preparare PIPA da PIPN come descritto nella presente è presentato nello Schema 8.

Schema 8



Pertanto, nella presente è descritto un metodo per sintetizzare PIPA che comprende la miscelazione di PIPN (che può comprendere sale cloridrato di PIPN), una soluzione acquosa di una base inorganica e toluene per formare una soluzione di base libera di PIPN. La base inorganica può essere ad esempio bicarbonato di sodio o idrossido di sodio. In alcune realizzazioni, la base inorganica comprende idrossido di sodio. La soluzione di base libera di PIPN viene poi idrogenata in presenza di un catalizzatore di palladio in toluene e un solvente alcolico per formare PIPA grezza. Il solvente alcolico può comprendere etanolo o isopropanolo. PIPA viene quindi cristallizzato da una miscela di solventi eptano e toluene.

In alcune realizzazioni specifiche della descrizione, ad una miscela di 1 equiv. PIPN-HCl e toluene (4V) vengono aggiunti 1M acq. NaOH (3,3V) a 20°C. L'agitazione viene proseguita per 1 ora prima di separare le fasi. Lo strato organico viene lavato due volte con una miscela di acqua (2,4 V) e salamoia satura (0,6 V), poi lo strato organico viene distillato a 3,8 V. La soluzione viene filtrata, il reattore risciacquato con toluene (1V) e la soluzione di risciacquo filtrata prima che gli strati organici vengano combinati. Allo strato di toluene viene

aggiunto Pd/C (0,7% in peso) e la miscela eterogenea viene caricata in un recipiente di idrogenazione. Etanolo (1V) viene aggiunto alla miscela. L'idrogenazione viene eseguita a 20°C sotto 60 psig di idrogeno. Al termine della reazione, la miscela viene filtrata e risciacquata con toluene (1V). La miscela viene distillata a 2,4 V, seminata con 1% molare di PIPA in eptano (0,1 V) a 35°C e poi raffreddata a 20°C. L'aggiunta di eptano (5,6V) è completa in 3 ore. La miscela viene filtrata ed essiccata sotto vuoto e azoto per fornire PIPA (resa 90%, \geq 97,0% in peso, \geq 98,0 LCAP).

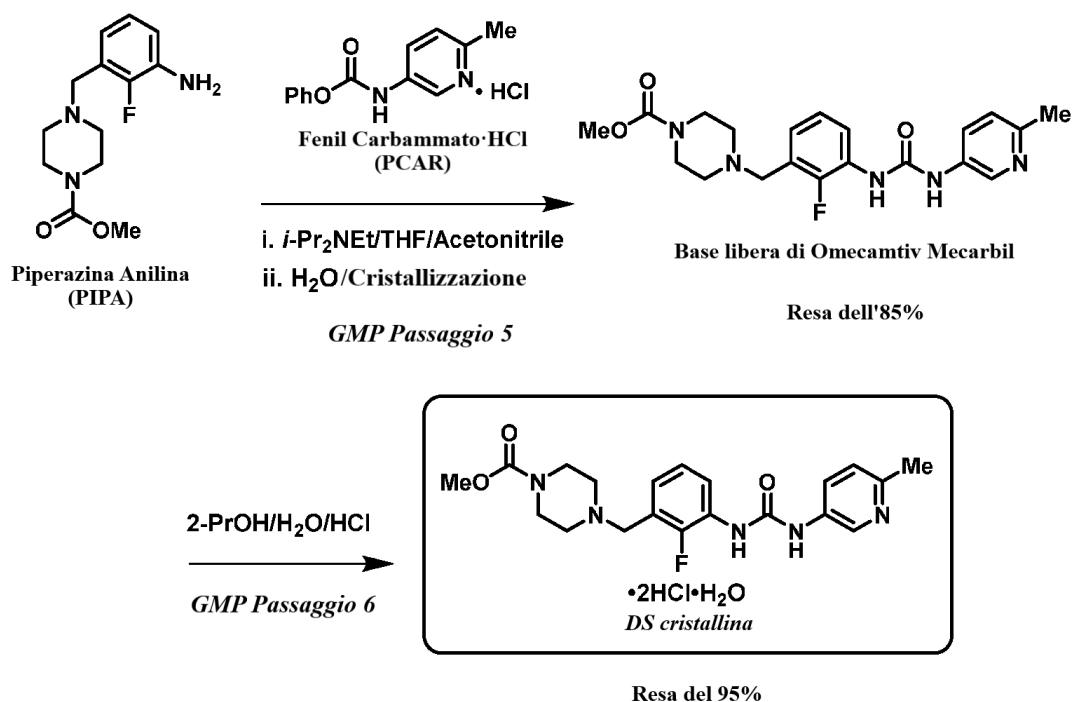
In alcune altre realizzazioni specifiche della descrizione, idrossido di sodio 1 N acquoso (3,3 volumi) viene aggiunto a 1 equiv. di PIPN (sale cloridrato) sospeso in toluene (4 volumi). La miscela bifasica viene agitata a 20°C per 1 ora e le fasi vengono lasciate separare. Lo strato organico viene lavato due volte con una soluzione acquosa di cloruro di sodio 0,9 M (3 volumi). La miscela di reazione viene essiccata come azeotropo per concentrazione a circa 3,8 volumi e filtrata per finitura. La linea di trasferimento viene risciacquata con toluene (1 volume) e la soluzione di risciacquo viene combinata con la soluzione di PIPN. Etanolo (1 volume) viene aggiunto alla soluzione di PIPN e l'idrogenazione del materiale di partenza viene effettuata in presenza di 5% Pd/C (su carbone attivo venduto da BASF come Escat 1421, 0,7% in peso di caricamento del catalizzatore) usando una pressione di 4 bar di idrogeno a 15 °C. Al termine della reazione, la miscela viene filtrata. L'autoclave di idrogenazione e il catalizzatore filtrato vengono risciacquati con toluene (1V) e la soluzione di risciacquo viene combinata con la miscela di reazione. La soluzione viene concentrata a 2,4 volumi e seminata con 1% molare di PIPA in eptano (0,1 volumi) a 38 °C. La miscela viene agitata per 30 minuti a 38°C, raffreddata a 20°C nel corso di 2 ore e agitata a quella temperatura per 30 minuti. Viene aggiunto eptano (5,6 volumi) nel corso di 3 ore e si agita la miscela per 30 minuti. La miscela viene filtrata ed essiccata su filtro/essiccatore. Il pannello viene lavato una volta con eptano:toluene (7:3, 2 volumi totali) e una volta con eptano (2 volumi). PIPA è isolato con una resa dell'88% con un saggio \geq 98,0% in peso e un'area LC \geq 98,0%.

Preparazione di omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato: Il procedimento precedente per preparare omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato prevedeva una procedura telescopica mediante la quale l'omecamtiv mecarbil viene preparato come una soluzione in THF e il solvente viene successivamente scambiato con isopropanolo. Tuttavia,

considerando che la solubilità di omecamtiv mecarbil in isopropanolo a 20°C è di circa 10 mg/mL e il volume totale di isopropanolo al termine dello scambio di solvente, il 95% del materiale è fuori soluzione alla fine dello scambio di solvente, portando alla formazione di un impasto liquido difficile o impossibile da agitare. La distillazione non può più essere eseguita una volta che questo impasto liquido si è formato a causa del trasferimento di massa scadente, lasciando livelli di THF nell'impasto liquido che sono al di sopra della specifica di controllo in processo (IPC), ad esempio, maggiore o uguale a 1% d'area GC. In pratica, ciò porta a ritardi nella produzione dovuti alla necessaria ricarica di isopropanolo fino a quando la miscela può essere agitata, seguita da un'altra distillazione e analisi del THF residuo. Inoltre, il rapporto tra isopropanolo e acqua deve essere verificato mediante un controllo in processo considerando le quantità variabili di isopropanolo al termine della distillazione e l'influenza del rapporto solvente (isopropanolo/acqua) sulle perdite delle acque madri al momento della filtrazione.

Considerando le sfide presentate dal procedimento telescopico precedentemente riportato, è stato sviluppato un isolamento di omecamtiv mecarbil base libera come descritto nella presente (vedere Schema 9). Dopo la formazione di omecamtiv mecarbil in acetonitrile e THF, si aggiunge acqua e si isola omecamtiv mecarbil base libera, ad esempio mediante cristallizzazione. Gli agglomerati cristallini subiscono una rapida filtrazione ed essiccazione. Omecamtiv mecarbil base libera viene quindi sciolto in isopropanolo e acqua in presenza di acido cloridrico per preparare omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato. Utilizzando questa procedura modificata, si evita il difficile scambio di solventi e non è necessaria la misurazione del rapporto tra isopropanolo e acqua poiché quantità note di entrambi i solventi vengono aggiunte alla base libera cristallina di omecamtiv mecarbil all'inizio della fase di formazione del sale.

Schema 9



Pertanto, nella presente è descritto un metodo per preparare omecantiv mecarbil dicloridrato idrato mediante la miscelazione di PIPA, PCAR e una trialchilammina (ad esempio trietilammina o diisopropilettilammina) in acetonitrile e THF per formare omecantiv mecarbil. L'omecantiv mecarbil viene isolato come base libera e poi miscelato con 2-3 equivalenti molar di acido cloridrico in isopropanolo e acqua per formare omecantiv mecarbil dicloridrato idrato, che può essere opzionalmente cristallizzato da isopropanolo e acqua. L'isolamento della base libera di omecantiv mecarbil può essere effettuato mediante cristallizzazione mediante aggiunta di acqua e filtrazione. PIPA e PCAR possono essere preparati come descritto sopra.

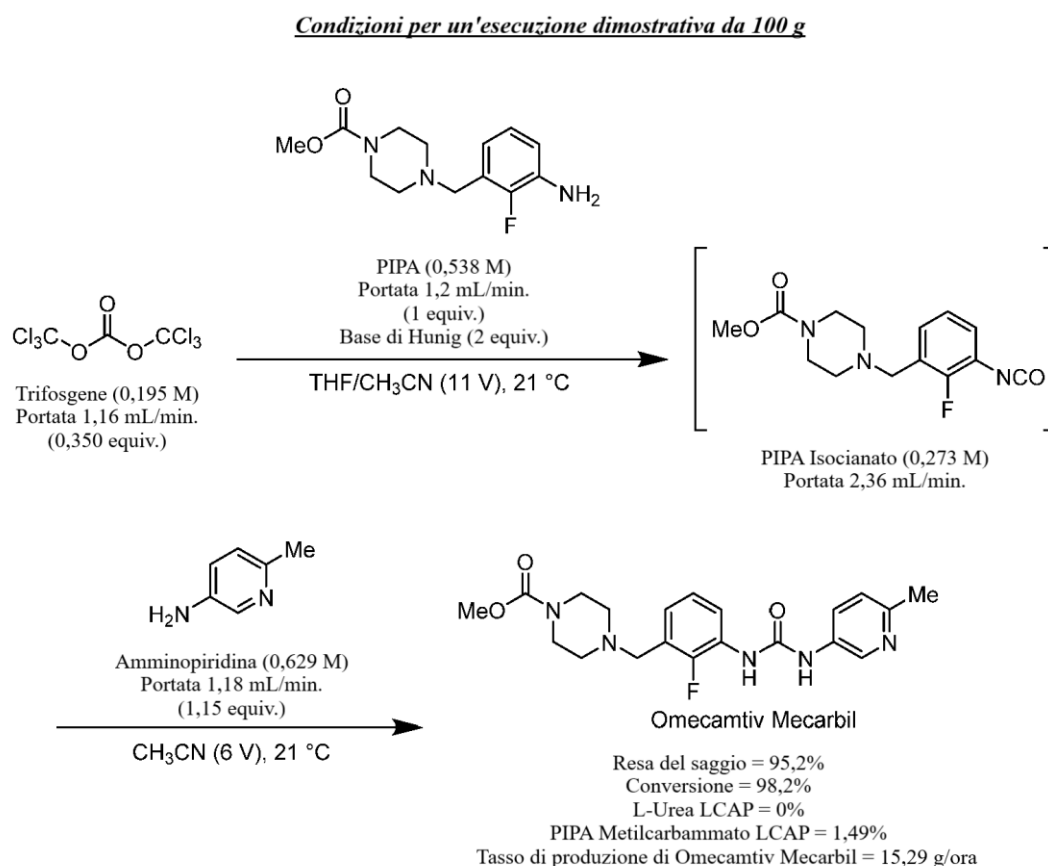
In alcune realizzazioni della descrizione, PIPA (2,1 kg, 1 equiv) viene caricato in un reattore, seguito da PCAR (1,1 equiv), poi THF (2,5 V) e infine acetonitrile (2,5 V). Alla sospensione risultante viene aggiunta *N,N*-diisopropilettilammina (1,2 equiv) e il lotto viene riscaldato a 55°C per 16 h. Si aggiunge quindi acqua (5 V) in 15 minuti e si caricano nel reattore i semi di omecantiv mecarbil base libera (0,05 equiv). Il lotto viene agitato per 15 minuti e si aggiunge acqua (10 V) in 3 h. Il lotto viene raffreddato a 20 °C per 1 h e filtrato. Il pannello

viene lavato con acqua 3:1:acetonitrile (3 V) e poi acetonitrile (3 x 3 V). Il pannello viene essiccato in un filtro/essiccatore. Omecamtiv mecarbil base libera è isolato come solido con una resa dell'80%, con un'area del 99,9% LC e un saggio del 99,3% in peso.

Omecamtiv mecarbil base libera (2,6 kg, 1 equiv) viene caricato in un reattore seguito da 2-propanolo (2,6 V) e acqua (1,53 V). Il lotto viene poi riscaldato a 45 °C. 6 M HCl acquoso (2,2 equiv) viene aggiunto a una velocità tale da mantenere la temperatura del lotto al di sotto di 60 °C. Il lotto viene riscaldato a 60 °C per 30 minuti e filtrato in un reattore pulito a 60 °C. Il recipiente originale viene risciacquato con una miscela di isopropanolo:acqua (1:1, 0,1 volumi totali) e il volume di risciacquo viene aggiunto alla miscela di reazione. La soluzione viene raffreddata a 45°C e una sospensione di semi di omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato (0,05 o 0,03 equiv) in isopropanolo (0,14 o 0,1 V) viene caricata nel reattore. La sospensione viene agitata per 1 h. Isopropanolo (3,68 V) viene caricato nel reattore in 2 h. La miscela viene riscaldata a 55 °C per 1 ora e mantenuta per 30 minuti a quella temperatura. La miscela viene raffreddata a 45 °C in 1 h. La miscela viene agitata per 2 h e poi al reattore viene aggiunto isopropanolo (7,37 V) in 3 h. La miscela viene agitata per 1 h e poi raffreddata a 20°C in 2 h. La miscela viene macinata a umido fino a soddisfare le specifiche d90 (ad esempio 110 µm) e la sospensione viene filtrata. Il pannello umido viene lavato due volte con isopropanolo:acqua (95:5, 2V). Il pannello umido viene essiccato sotto vuoto fino a quando i livelli di isopropanolo sono inferiori a 1000 ppm. Il pannello viene opzionalmente reidratato se necessario usando ad esempio una corrente di azoto umidificato, fino a che il contenuto di acqua dei solidi è compreso tra 3,0 e 4,2% in peso. Il materiale può essere ricristallizzato se non soddisfa le specifiche. Omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato viene isolato come solido con una resa del 91,3%, con un'area LC del 99,96% e un saggio del 100,1% in peso.

Preparazione di Omecamtiv Mecarbil Dicloridrato Idrato mediante produzione continua: Nella presente è descritto un metodo per preparare omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato usando un procedimento di produzione continuo. La procedura sintetica generale è delineata nello Schema 10 di seguito.

Schema 10



Pertanto, nella presente è descritto un metodo per preparare omecantiv mecarbil dicloridrato idrato comprendente la miscelazione di PIPA, trifosgene e una trialchilammina in acetonitrile e tetraidrofurano per formare un PIPA isocianato; miscelazione del PIPA isocianato e APYR per formare la base libera di omecantiv mecarbil; e la miscelazione della base libera di omecantiv mecarbil con da 2 a 3 equivalenti molarli di acido cloridrico in isopropanolo e acqua per formare omecantiv mecarbil dicloridrato idrato. La reazione di PIPA, trifosgene e trialchilammina (ad esempio trietilammina o diisopropilettilammina) può essere eseguita mediante produzione continua usando una micro-mescolatrice e un circuito di reazione. La reazione di PIPA isocianato e APYR può essere eseguita tramite produzione continua usando una mescolatrice a Y e un circuito di reazione. PIPA e/o APYR possono essere preparati come descritto sopra.

In alcune realizzazioni della descrizione, la fabbricazione continua viene eseguita come segue. Ad un pallone da 1 L a 3 colli si aggiunge acetonitrile (471 mL) seguito da PIPA (100,09 g, 374 mmol) e la miscela viene agitata fino a quando i solidi si sciolgono. Si aggiunge diisopropiletilammina (135 ml, 770 mmol) e si agita la miscela fino a che non diventa omogenea. Ad un pallone separato da 1 L a 3 colli viene aggiunto THF (620 mL) seguito da trifosgene (39,3 g, 131 mmol) e la miscela viene agitata fino a quando i solidi si sciolgono. Ad un pallone separato da 1 L a 3 colli si aggiunge acetonitrile (598 mL) seguito da APYR (47,3 g, 431 mmol). La miscela viene agitata fino a quando i solidi si sciolgono. I palloni vengono collegati alle pompe a siringa Asia. Il flusso della soluzione di PIPA/diisopropiletilammina viene avviato a 1,2 mL/min (1,00 equiv PIPA) e il flusso della soluzione di trifosgene viene avviato a 1,16 mL/min (1,05 equiv di fosgene). I flussi di procedimento vengono miscelati attraverso una micro-mescolatrice e poi fatti passare attraverso un circuito di reazione da 3 mL. La conversione di PIPA nel corrispondente isocianato è monitorata da ReactiR. Lo stato stazionario viene raggiunto quasi istantaneamente.

Il flusso della soluzione APYR viene avviato a 1,18 mL/min (1,15 equiv). I flussi di PIPA isocianato e APYR vengono uniti in una mescolatrice a Y e fatti passare attraverso un'apparecchiatura a circuito di reazione da 51 mL (ad esempio, un sistema a tre circuiti con un primo circuito avente un volume di 10 mL, un secondo circuito da 25 mL e un terzo circuito 16 ml). Il flusso di reazione viene fatto passare attraverso la cella a flusso ReactiR per monitorare l'andamento della reazione e raccolto in un recipiente contenente MeOH (100 mL). Questa configurazione viene eseguita continuamente per 5,5 ore per fornire circa 1,3 L di soluzione del prodotto di reazione.

In alcuni casi, la soluzione del prodotto viene trasferita in un recipiente di reazione da 2 L e concentrata ad un volume di circa 350 mL. Si aggiunge isopropanolo (300 mL) e la miscela viene concentrata ad un volume di 350 mL. L'ultima operazione viene ripetuta tre volte.

Dopo la distillazione finale, il recipiente viene riempito nuovamente di azoto e vengono aggiunti altri 300 mL di isopropanolo seguiti da 125 mL di acqua. La temperatura della camicia viene impostata a 50°C e viene aggiunto lentamente HCl 6 M (82 mL). La temperatura della camicia viene ridotta a 45°C e viene aggiunta una soluzione

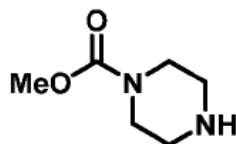
1:1 di isopropanolo:acqua (50 mL). La cristallizzazione viene seminata con altri 5 g di omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato sospesi in 15 mL di isopropanolo, quindi tenuta per 1 ora a 45 °C. Alla miscela si aggiunge isopropanolo (227 mL) e si porta la temperatura a 55°C per 1 ora. La temperatura della camicia viene impostata a 45 °C e la miscela viene agitata per circa 16 ore. Isopropanolo (670 mL) viene aggiunto in 90 minuti. La temperatura della camicia viene ridotta a 20 °C e la miscela agitata per 2 ore. La sospensione viene filtrata e la torta viene lavata con 800 mL di isopropanolo:acqua 95:5. Il pannello viene essiccato sotto vuoto. Omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato viene isolato con una resa del 93,5% (99,09 g) con 99,17% in peso e 99,7% di purezza LCAP.

In alcuni casi, alla miscela di reazione vengono aggiunti isopropanolo (315 mL) e acqua (125 mL). La miscela viene riscaldata a 50°C e viene aggiunto acido cloridrico acquoso 6 M (82 mL). La soluzione viene raffreddata a 45 °C e viene aggiunta una sospensione di semi di omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato (5 g) in una miscela di isopropanolo:acqua (1:1, 50 mL). La sospensione viene agitata a 45°C per 1 ora. Si aggiunge isopropanolo (227 mL) e la miscela viene riscaldata a 55 °C per 1 ora. La sospensione viene raffreddata a 45°C e agitata per 16 ore. L'isopropanolo (670 mL) viene aggiunto in 90 minuti. La miscela viene raffreddata a 20°C e agitata per 2 ore. La sospensione viene filtrata e il pannello lavato con una soluzione di 95:5 isopropanolo:acqua (800 mL). Il pannello viene essiccato sul filtro/essiccatore. Omecamtiv mecarbil dicloridrato idrato viene isolato con una resa del 93,5% (99,1 g) con un saggio del 99,17% in peso e un'area LC del 99,7%.

Un certo numero di procedimenti qui descritti includono passaggi indicati come opzionali. In alcuni casi, il passaggio opzionale non viene eseguito. In altri casi, il passaggio opzionale viene eseguito.

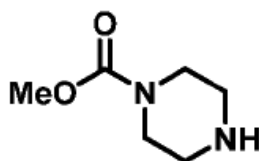
RIVENDICAZIONI

1. Piperazina metilcarbossilato



("PMEC") fosfato idrato.

2. Procedimento per sintetizzare piperazina metilcarbossilato



("PMEC") fosfato idrato comprendente

(a) il mescolare piperazina e metilcloroformiato per formare PMEC;

(b) il mescolare PMEC e 0,5 equivalenti molar di acido fosforico in una soluzione acquosa per formare PMEC fosfato idrato; e

(c) opzionalmente il filtrare il PMEC fosfato idrato dalla miscela del passaggio (b).

3. Procedimento della rivendicazione 2, comprendente inoltre l'isolamento del PMEC formato dal passaggio (a) come soluzione in cloruro di metilene, dicloroetano, 2-metiltetraidrofurano, o loro miscela.

4. Procedimento della rivendicazione 3, in cui l'isolamento viene eseguito

(i) lavando il PMEC risultante dal passaggio (a) con un solvente organico;

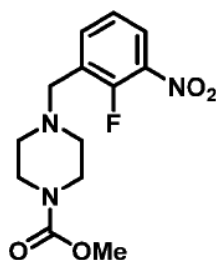
(ii) modificando il pH da 8 a 14 aggiungendo una base per formare una soluzione acquosa basica; e

(iii) estraendo il PMEC dalla soluzione acquosa basica del passaggio (ii) con cloruro di metilene, dicloroetano, 2-metil tetraidrofurano, o loro miscela.

5. Procedimento della rivendicazione 2, in cui il passaggio (a) viene eseguito in una soluzione acquosa.

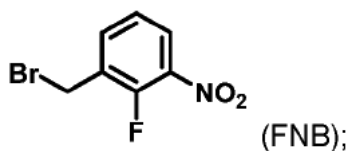
6. Procedimento di una qualsiasi delle rivendicazioni da 2 a 5, in cui il passaggio (a) viene eseguito a una temperatura da 20 a 55°C per 1 fino a 12 ore.

7. Procedimento per sintetizzare metil 4-(2-fluoro-3-nitrobenzil)piperazina-1-carbossilato



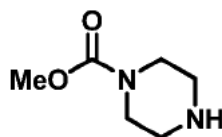
(PIPN) comprendente

(a) il mescolare 2-fluoro-3-nitrotoluene, bromato di sodio, e bisolfito di sodio in isopropilacetato e acqua per formare 1-(bromometil)-2-fluoro-3-nitrobenzene



(b) opzionalmente il lavare l'FNB con tiosolfato di sodio acquoso, con cloruro di sodio acquoso, o entrambi; e

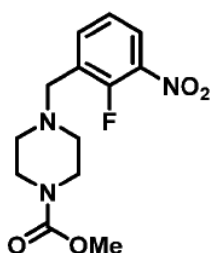
(c) il mescolare FNB, una base di trialchilammina, e piperazina metilcarbossilato



("PMEC") fosfato idrato per formare PIPN.

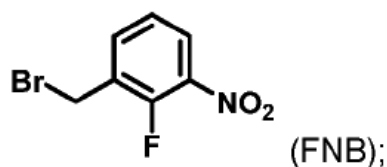
8. Procedimento della rivendicazione 7, in cui l'FNB viene lavato con tiosolfato di sodio acquoso e cloruro di sodio acquoso.

9. Procedimento per sintetizzare metil 4-(2-fluoro-3-nitrobenzil)piperazina-1-carbossilato



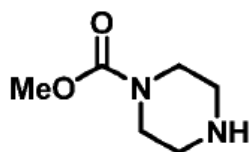
(PIPN) che comprende

(a) il mescolare 2-fluoro-3-nitrotoluene, perossido di benzoile, N-bromosuccinimide e acido acetico a una temperatura tra 70 e 95°C per formare 1-(bromometil)-2-fluoro-3-nitrobenzene



(b) opzionalmente l'estrarre FNB con toluene, lavando FNB con una soluzione acquosa basica, o entrambi;

(c) il mescolare FNB, una base di trialchilammina, e piperazina metilcarbossilato



("PMEC") fosfato idrato per formare PIPN.

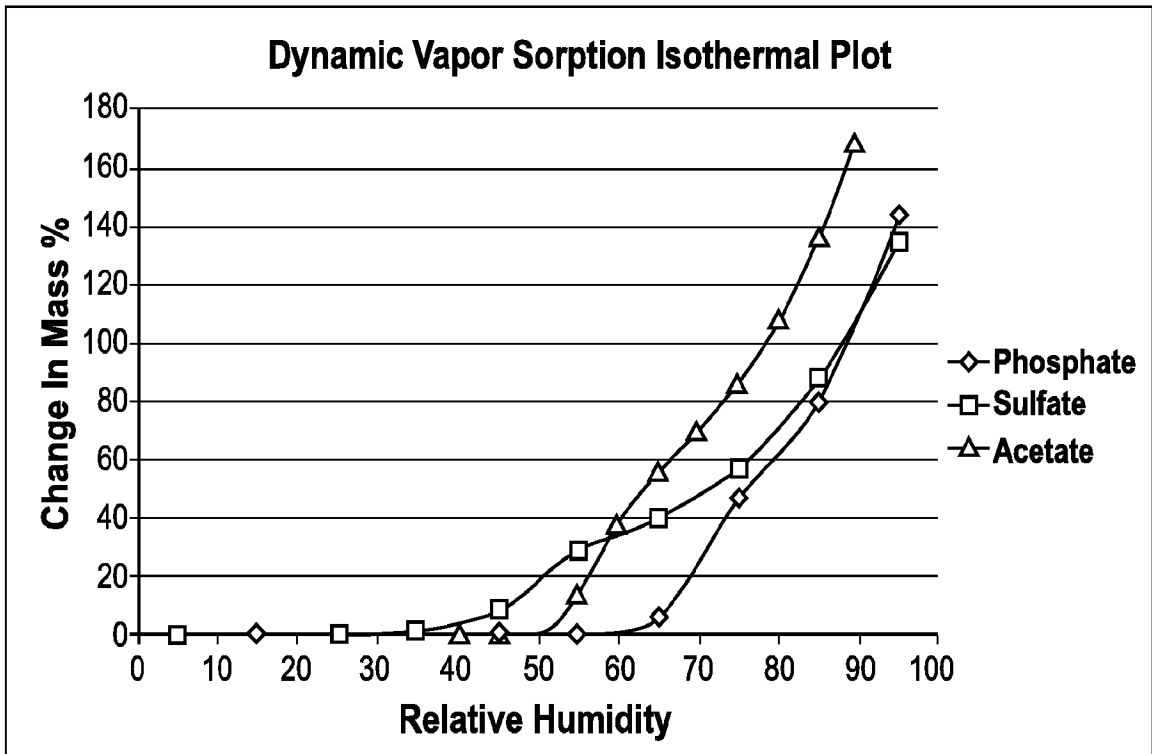
10. Procedimento della rivendicazione 9, in cui l'FNB viene estratto con toluene e lavato con idrossido di sodio acquoso.

11. Procedimento di una qualsiasi delle rivendicazioni da 7 a 10, in cui il PIPN viene formato come sale cloridrato.

12. Procedimento di una qualsiasi delle rivendicazioni da 7 a 11, in cui il PMEC fosfato idrato viene preparato mediante un procedimento di una qualsiasi delle rivendicazioni da 2 a 6.

13. Procedimento di una qualsiasi delle rivendicazioni da 7 a 12, in cui la base di trialchilammina comprende diisopropilettilammina o trietilammina.

14. Procedimento di una qualsiasi delle rivendicazioni da 7 a 13, in cui prima di miscelare l'FNB, la base di trialchilammina, e il PMEC fosfato idrato, il procedimento comprende inoltre l'aggiunta di dietilfosfito e una trialchilammina, e il mescolamento della miscela risultante a una temperatura da 30 a 65°C.



PMEC Salt	DVS Weight Increase Onset
Hemi-Sulfate	35 RH
Acetate	50 RH
Hemi-Phosphate	65 RH

FIGURE 1

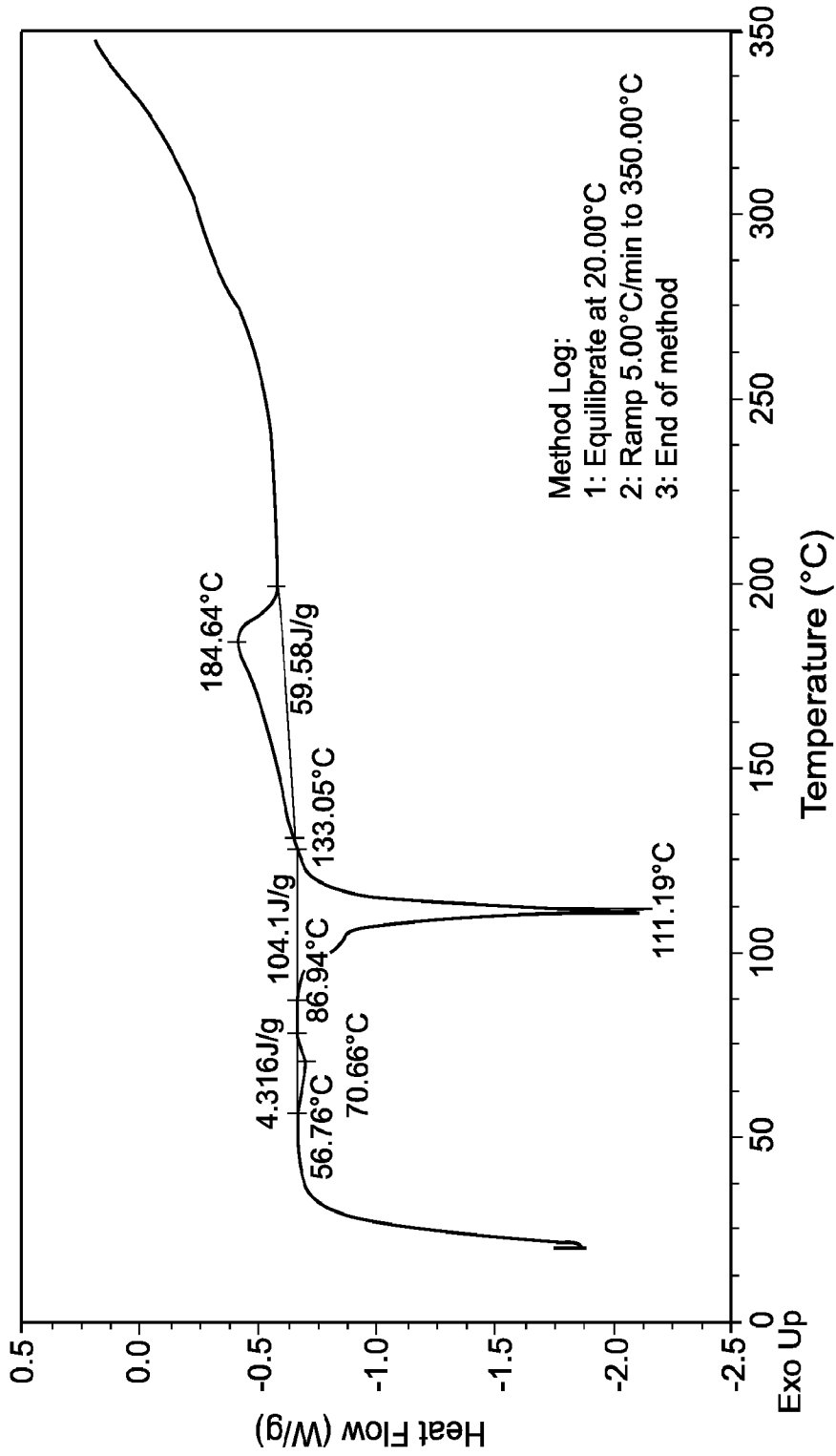


FIGURE 2

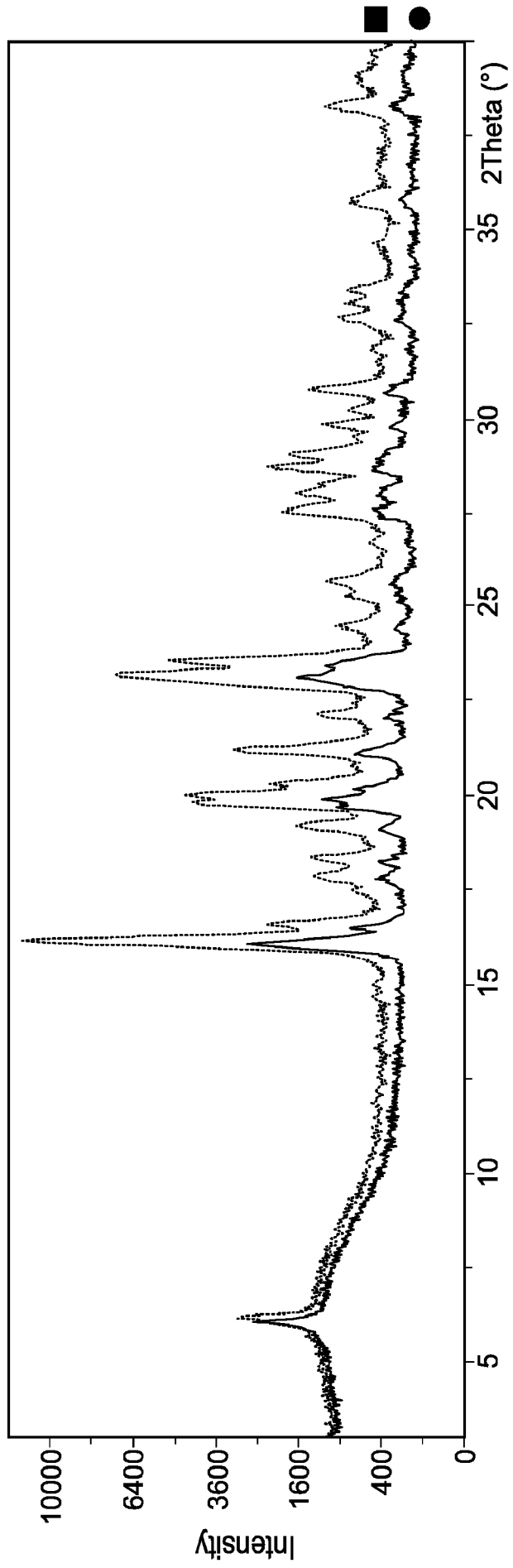


FIGURE 3

EX6371R TRADUZIONE LEGENDE DISEGNI

Figure 1-3

Figure: figura

Fig. 1

Dynamic vapor sorption isothermal plot	Grafico isotermico di assorbimento di vapore dinamico
Change in mass %	% di variazione in massa
Phosphate	Fosfato
Sulfate	Solfato
Acetate	Acetato
Relative humidity	Umidità relativa
PMEC salt	Sale di PMEC
DVS weight increase onset	Inizio dell'incremento di peso DVS
Hemi-sulfate	Emi-solfato
Hemi-phosphate	Emi-fosfato

Fig. 2

Heat flow	Flusso di calore
Exo up	Exo up
Temperature	Temperatura
Method log:	registro del metodo:
Equilibrate at 20.00°C	Equilibrare a 20,00°C
Ramp 5.00°C/min to 350.00°C	Rampa da 5,00°C/min a 350,00°C
End of method	Fine del metodo

Fig. 3

Intensity	Intensità
-----------	-----------

2Theta	2Teta
--------	-------