

*Sviluppo di un metodo industriale per la  
produzione di un API in forma  
polimorfa pura*

Paride Grisenti (EUTICALS)

23 Aprile 2015

# Sviluppo dello stato solido di un API

Aspetti brevettuali

Protezione dello stato solido

Data di ingresso dei genericisti nel mercato/periodo di esclusività/Strategie brevettuali (USA PIV)

Reattività: caratteristiche chimico-fisiche (compreso il psd)

Stabilità dell'API

Confezionamento e condizioni di stoccaggio (es temperatura) e psd

Caratteristiche farmacocinetiche

Biodisponibilità: Solubilità e velocità di dissoluzione

Aspetti regolatori ed analitici

Costanza di stato solido (consistency)

Ove siano possibili più stati solidi di un API determinarne l'identità e la purezza polimorfa

Selezione dello stato solido in cui un determinato API dovrà essere prodotto ed allo sviluppo di metodi di produzione in grado di produrre consistentemente tale stato solido

Una "due diligence"  
preventiva dovrebbe  
esser fatta per isolare ed  
identificare le diverse  
forme cristalline durante  
la fase di sviluppo  
prendendo  
in considerazione i  
polimorfi più stabili  
nell'intervallo delle  
condizioni  
che il prodotto  
incontrerà nella sua vita

Selezione dello stato solido  
in cui un determinato API  
dovrà essere prodotto e  
sviluppo di metodi di  
produzione in grado di  
produrre consistentemente  
tale stato solido

Fattori di processo

Igroscopicità

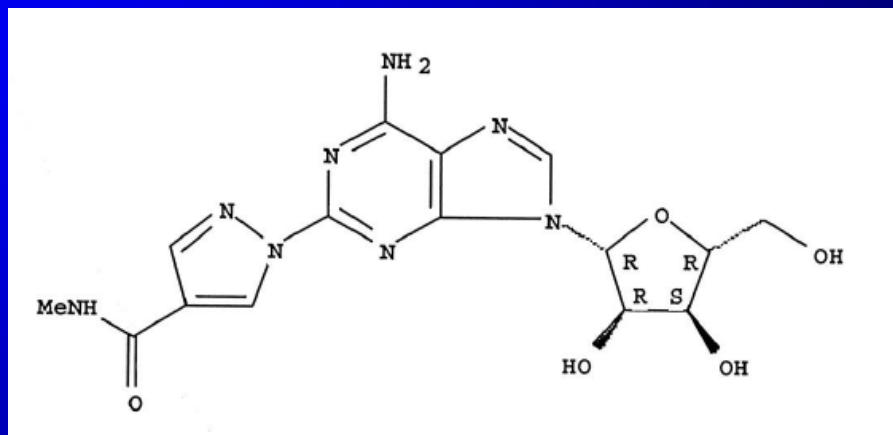
Proprietà del Bulk,  
Meccaniche e Reologiche

Facilità di isolamento,  
filtrazione ed  
essiccamento

Grado di purificazione

## PRIMO CASO: REGADENOSON

Il Regadenoson come composto chimico è identificato dal Registry Number: 313348-27-5 (Figura 1).



**Figura 1.** Formula di struttura del Regadenoson

Questo composto è stato descritto per la prima volta nel 1998 da CV Therapeutics, Inc., USA (Preparation of nucleoside N-pyrazole as adenosine A<sub>2a</sub> receptor agonists for purposes of imaging the heart. WO2000078779). Il Regadenoson viene utilizzato come sostanza coadiuvante nell'imagin coronarico. Prima della somministrazione dell'agente di contrasto, le arterie coronariche devono esser dilatate, consentendo in tal modo la diagnosi di una possibile malattia arteriosa coronarica (CAD) in modo più agevole. La forma farmaceutica è una soluzione per somministrazione intravenosa.

## POLIMORFISMO DEL REGADENOSON

In base ai dati di letteratura il Regadenoson viene descritto esistere in 4 diverse forme polimorfe identificate come forme cristalline A, B, C e D (oltre ad una forma amorfa).

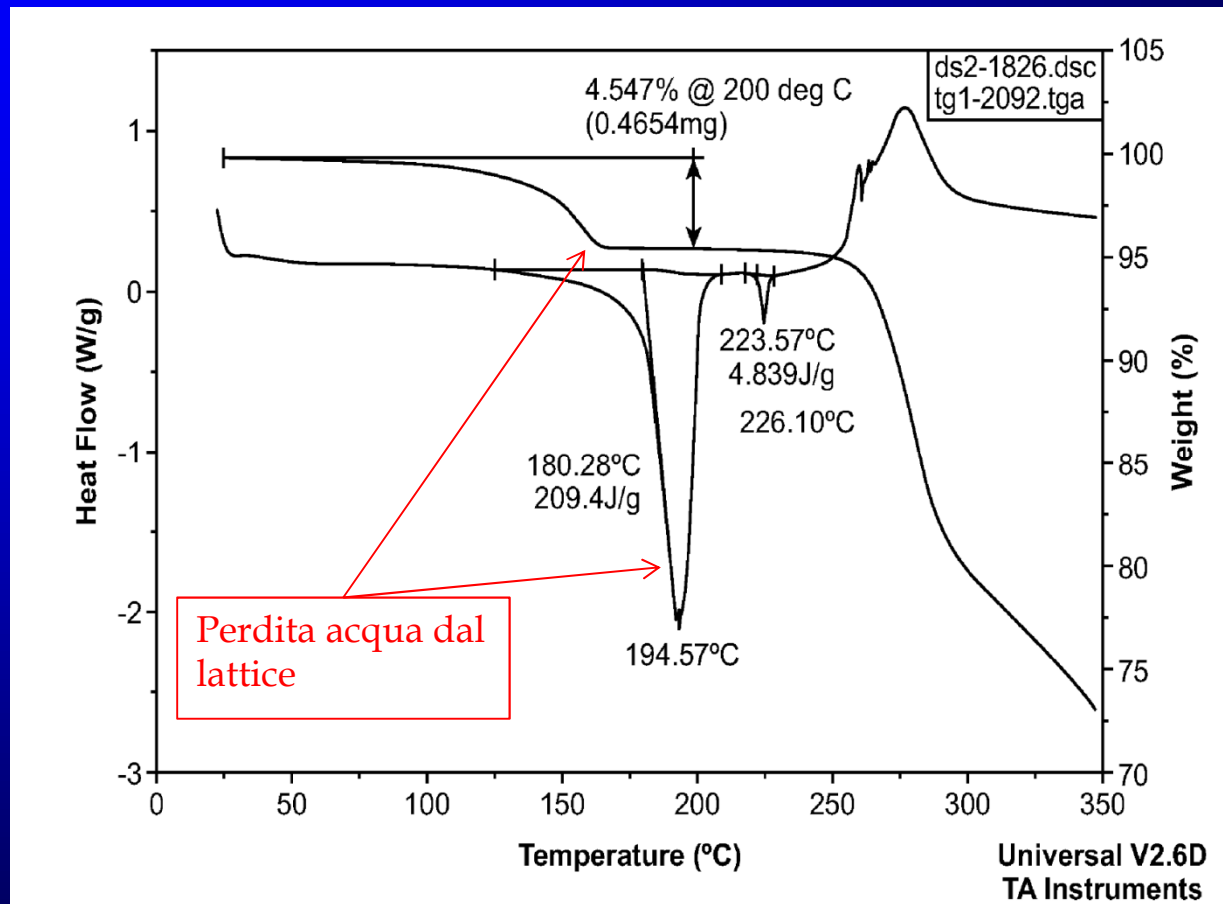
Le forme polimorfe A and D vengono descritte come le forme cristalline più stabili e come stati solidi preferiti in cui il Regadenoson può essere isolato ed utilizzato per scopi formulativi.

Più in dettaglio le forme polimorfe A, B, C ed una forma amorfa sono descritte in US8106183. In questo brevetto solo la forma cristallina A (una forma monoidrata) viene specificamente rivendicata.

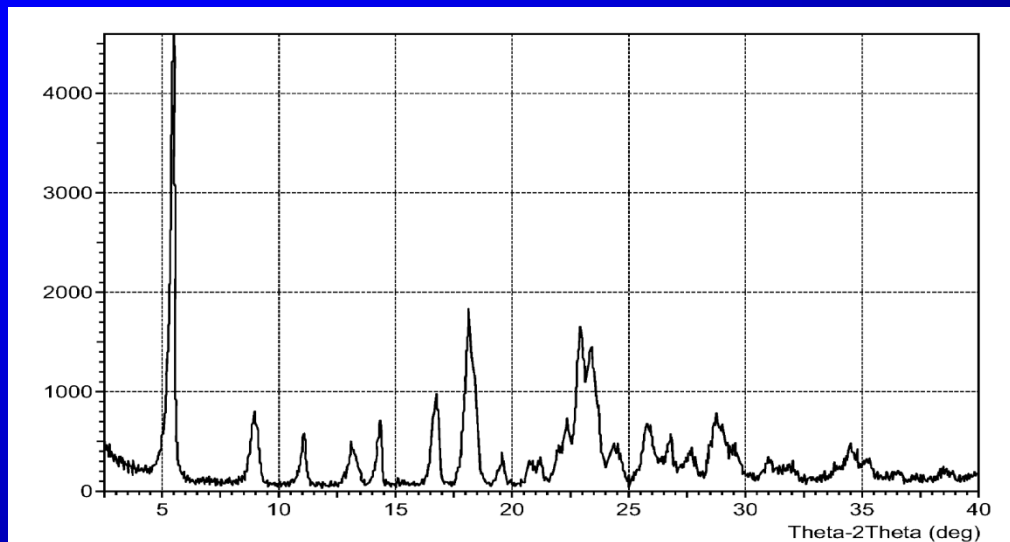
US8106183 è stato concesso e la corrispondente protezione brevettuale scadrà nel 2/02/2027; il brevetto Europeo che appartiene alla stessa patent family è EP1989214, tale brevetto non è ancora stato concesso (se verrà concesso scadrà in data 02/02/2027).

Il polimorfo D è rivendicato nella domanda di brevetto internazionale WO2012149196 se i brevetti che appartengono alla stessa patent family verranno concessi la protezione brevettuale di tale forma cristallina scadrà nel 26/4/2032 (salvo ulteriori possibili estensioni legate a legislazioni locali).

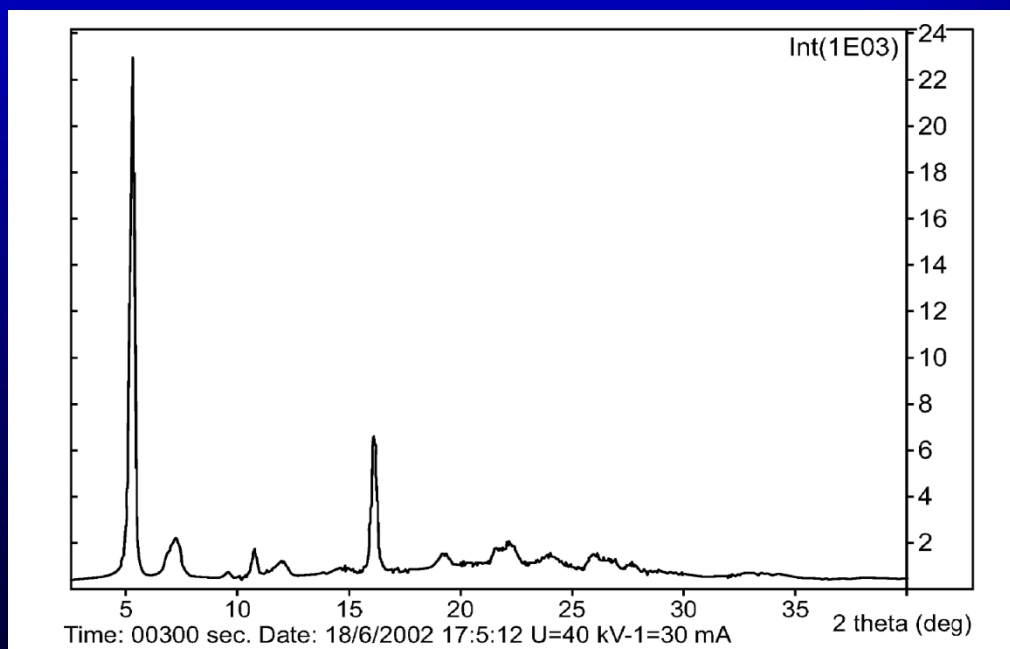
## REGADENOSON: dati DSC e TGA della forma polimorfa A (monoidrata)



## REGADENOSON: dati DRX (polveri) della forma polimorfa A e B

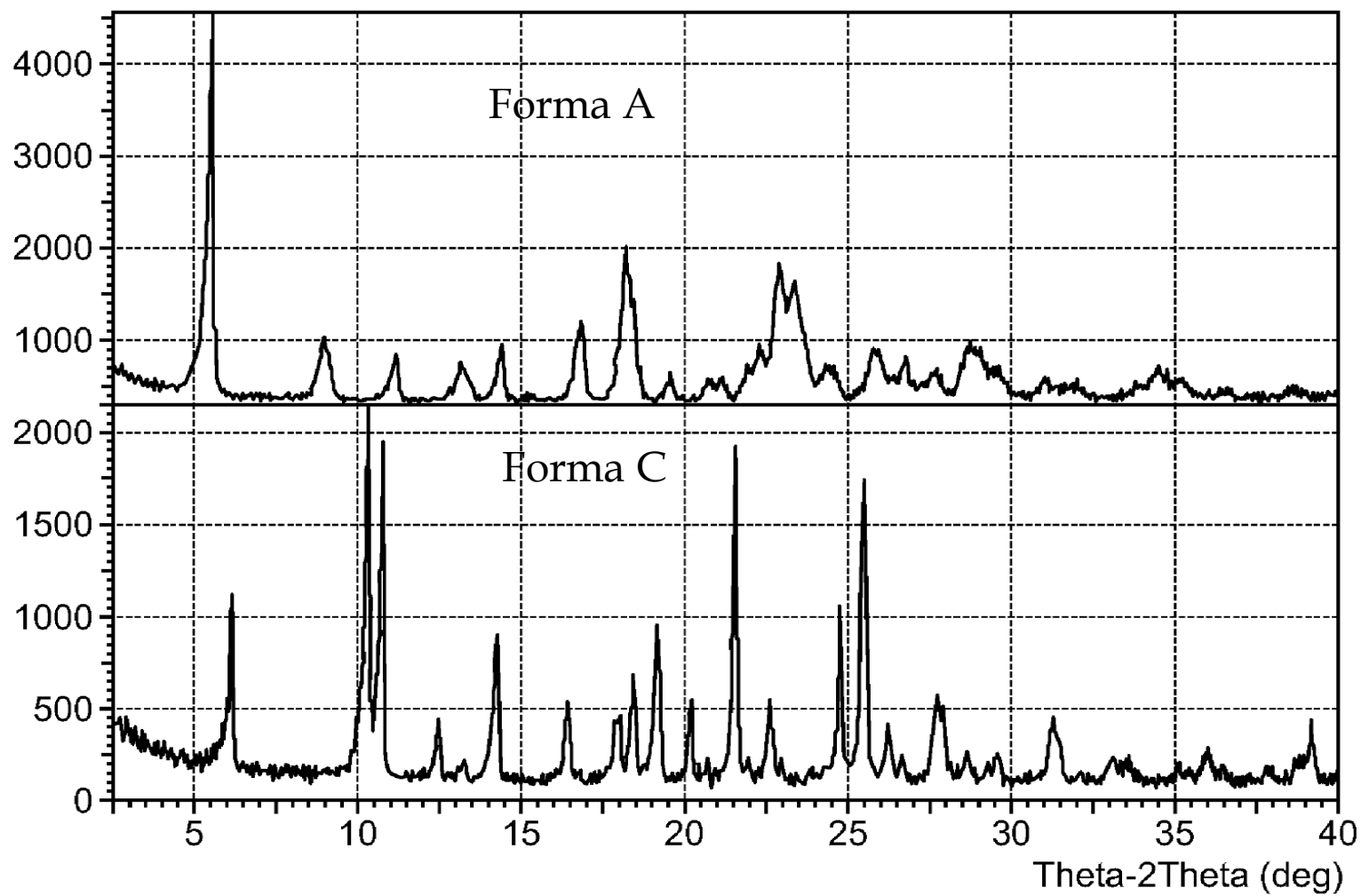


Forma A



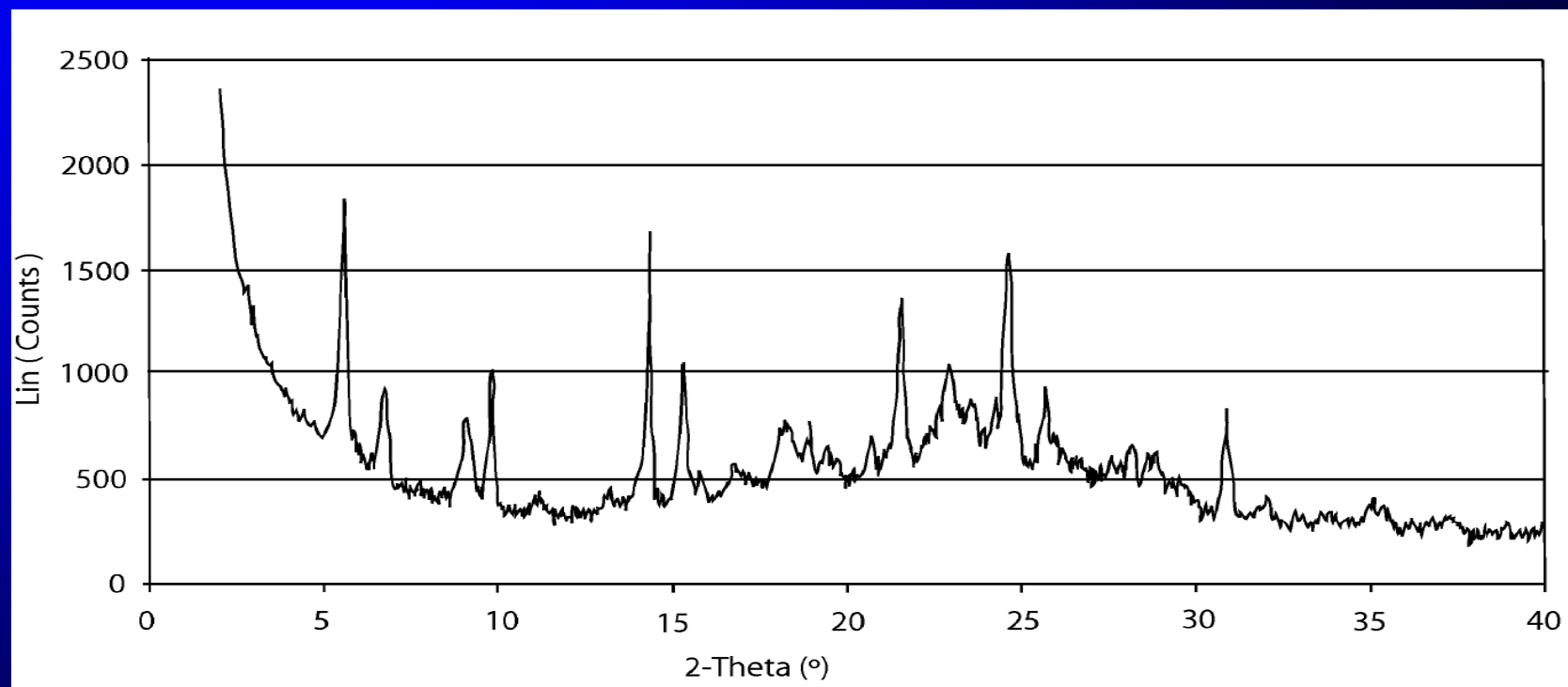
Forma B

REGADENOSON: dati DRX (polveri) della forma polimorfa A e C





## REGADENOSON: dati DRX (polveri) della forma polimorfa D



**Attraverso un lavoro di screening a partire da Regadenoson amorfo tre nuovi polimorfi di Regadenoson sono stati identificati :**

- Forma E (solvato con trifluoroetano)
- Forma F (solvato con etanolo)
- Forma G (forma anidra)
- Forma amorfa (Halo)

Lo screening è stato effettuato tramite:

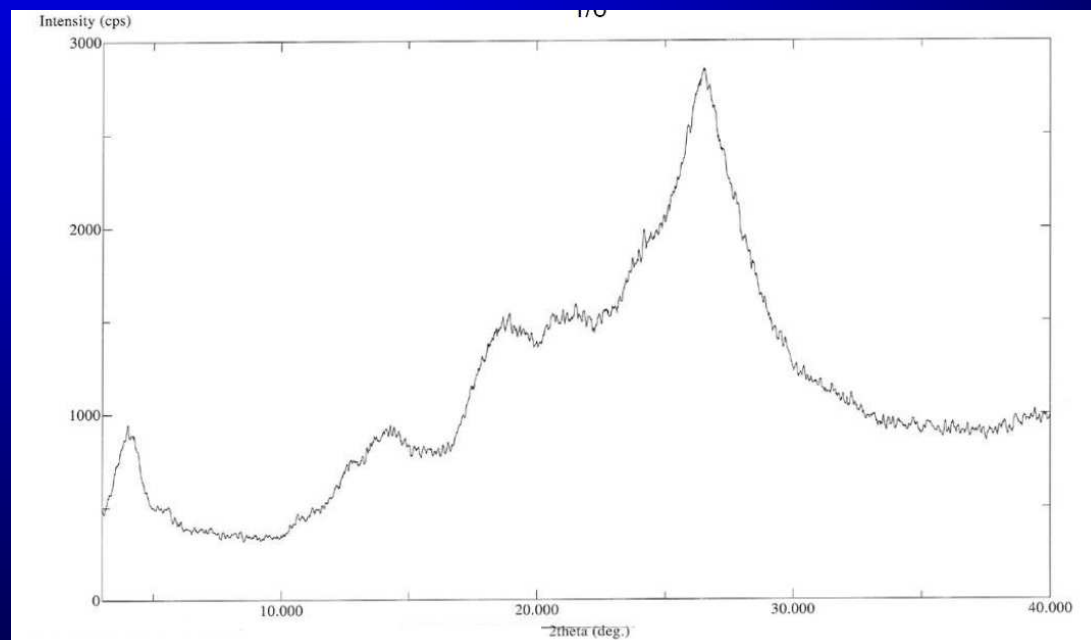
1. Tests di cristallizzazione da un unico solvente o da miscele di solventi (criterio di selezione preliminare: capacità di allontanare le impurezze di processo valutata attraverso analisi HPLC)
2. Tests di desolvatazione/disidratazione per riscaldamento o stempera
3. Transizione polimorfa solido-solido
4. Esposizione a vapori di solventi o ad alta/bassa umidità relativa

## Regadenoson : Forma amorfa (Halo)

**DRX**. P1 (4.040  $2\theta$ , 32%, width about 2.000  $2\theta$ ), P2 (14.080  $2\theta$ , 33%, width about 3.300  $2\theta$ ), P3 (18.400  $2\theta$ , 52%, width about 3.300  $2\theta$ ), P4 (21.520  $2\theta$ , 57%, width about 2,666  $2\theta$ ), P5 (24.220  $2\theta$ , 68%, width about 1.666  $2\theta$ ), P6 (26.480  $2\theta$ , 100%, width about 4.998  $2\theta$ )

**DSC**. One main exothermic peak at 245,6°C (onset 236,6°C) followed by one exothermic peak at 280,4°C.

**IR (ATR)**.  $\text{cm}^{-1}$ : 3317, 3216, 2933, 1640, 1604, 1574, 1404, 1340, 1284, 1130, 1087, 1059, 1019, 975, 912, 863, 724.

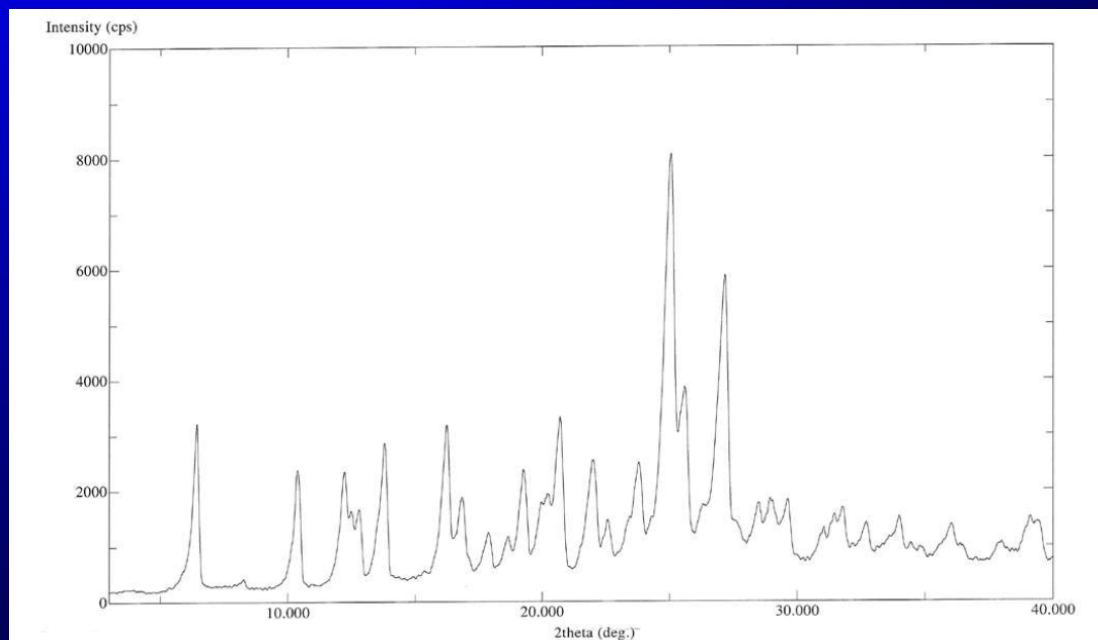


## Regadenoson Forma F (solvato con emietanolo)

**DRX**.  $2\theta$  values (relative intensity): 6.42 (40%), 10.38 (30%), 12.20 (29%), 12.80 (21%), 13.80 (36%), 16.24 (40%), 16.84 (24%), 19.28 (30%), 19.96 (23%), 20.20 (24%), 20.70 (42%), 22.00 (32%), 22.58 (19%), 23.38 (19%), 23.80 (31%), 25.04 (100%), 25.60 (48%), 26.28 (22%), 27.18 (73%), 28.48 (22%)

**DSC**: main endothermic peak at 189°C

**IR (ATR)**.  $\text{cm}^{-1}$ : 3498, 3348, 3309, 3127, 3081, 2972, 2938, 1639, 1620, 1583, 1485, 1450, 1407, 1335, 1287, 1279, 1211, 1132, 1121, 1050, 1036, 1012, 980, 969, 919, 903, 886, 809, 790, 722, 665.

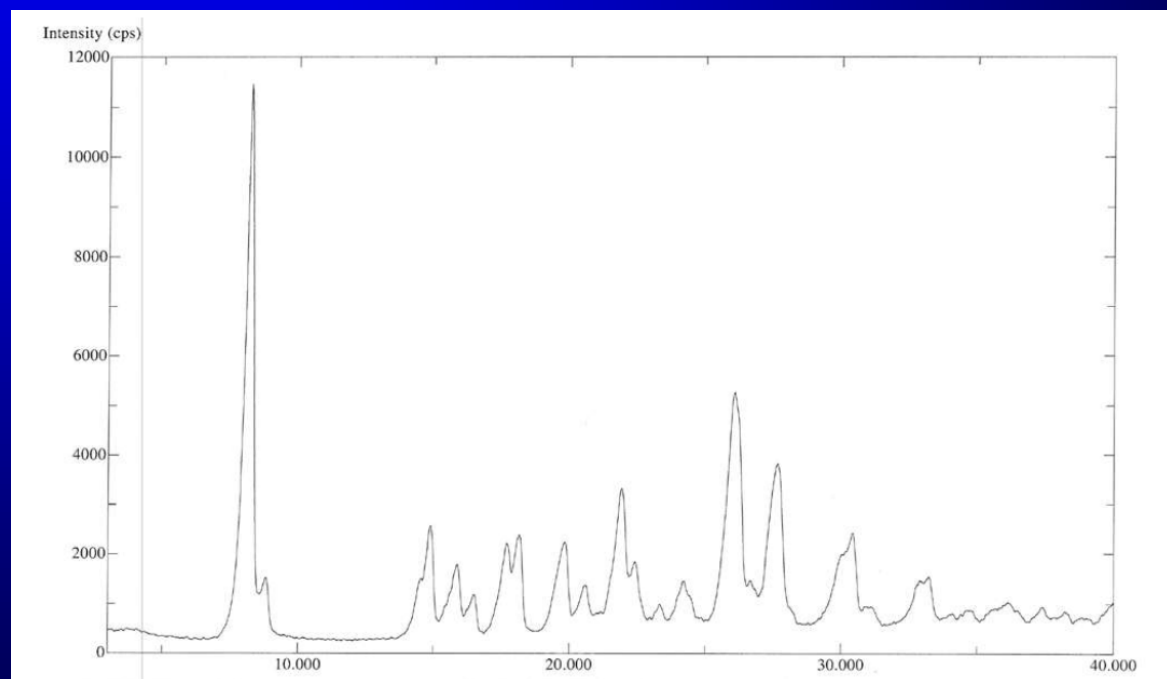


## Regadenoson forma G (forma anidra)

**XRD**.  $2\theta$  values (relative intensity): 8.24 (100%), 14.90 (23%), 17.70 (20%), 18.16 (21%), 19.84(20%), 21.92 (30%), 26.16 (44%), 27.68 (34%), 30.44 (21%)

**DSC**: main endothermic peak at 264.6°C

**IR (ATR)**.  $\text{cm}^{-1}$ : 3329, 3292, 3225, 3159, 3142, 3100, 3021, 2926, 2893, 1665, 1635, 1595, 1559, 1487, 1439, 1417, 1394, 1357, 1340, 1322, 1234, 1214, 1197, 1126, 1075, 1054, 1045, 1032, 1012, 992, 976, 30 919, 859, 850, 817, 790, 744, 715, 671.

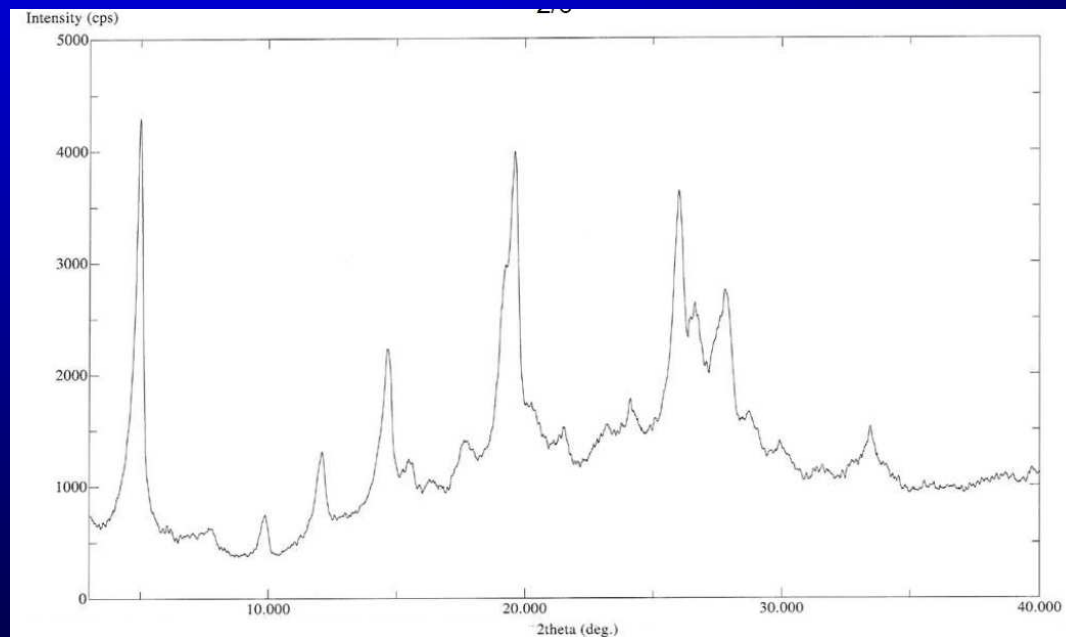


## Regadenoson Forma E (solvato con trifluoroetano)

**DRX.** 2 $\theta$  values (relative intensity): 4.98 (100%), 12.08 (31%), 14.66 (52%), 17.60 (33%), 17.96 (31%), 19.20 (69%), 19.62 (93%), 20.24 (41%), 20.78 (34%), 21.08 (33%), 21.52 (36%), 23.18 (37%), 24.10 (42%), 24.24 (39%), 25.08 (38%), 25.52 (46%), 26.02 (85%), 26.64 (62%), 27.36 (54%), 27.66 (59%), 27.84 (64%), 28.74 (39%)

**DSC:** broad endothermic peak at 145°C

**IR (ATR).**  $\text{cm}^{-1}$ : 3341, 3270, 3127, 2920, 1643, 1578, 1537, 1519, 1488, 1449, 1423, 1413, 1369, 1342, 1276, 1197, 1141, 1090, 1060, 1023, 980, 947, 901, 852, 826, 807, 788.



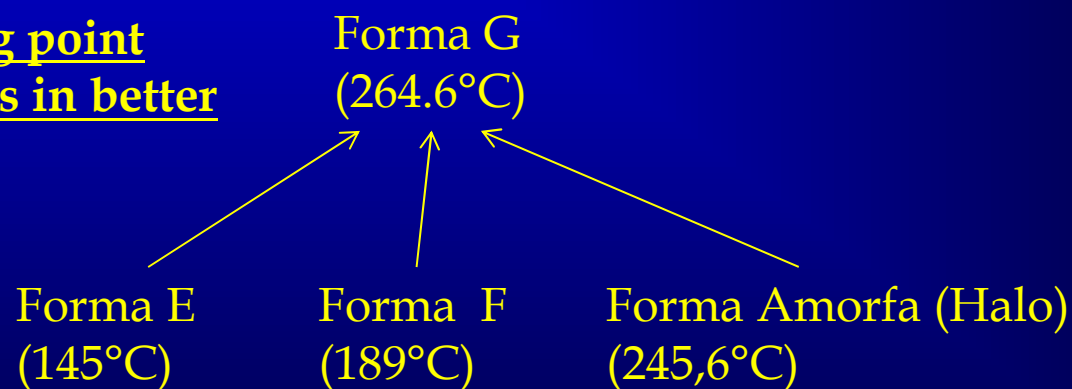
## Stabilità di Regadenoson Forme cristalline E, F, G ed amorfo (Halo)

Campioni di Regadenoson forma cristallina E, F, G ed amorfa sono stati conservati alla temperatura di 80°C in atmosfera inerte e quindi al 90% RH and 20-25°C per 96 ore e quindi rianalizzate in DRX.

### Risultati

1. Alla temperatura di 80°C in atmosfera inerte per 96 ore tutte le forme cristalline sono stabili (nessun cambiamento apprezzabile in DRX, DSC; IR)
2. Al 90% RH a 20-25°C per 96 ore: le forme cristalline E, F e la forma amorfa (halo) si sono trasformate in forma G. La forma G è la più stabile.

“Higher melting point  
Typically results in better  
Stability”

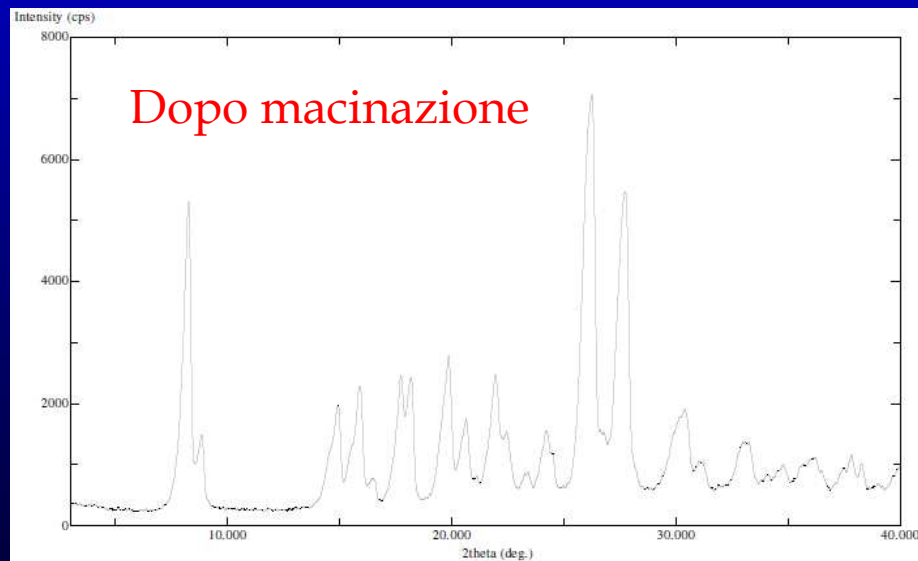


## RELAZIONI TERMODINAMICHE TRA I DIVERSI STATI SOLIDI

- Regadenoson in forma cristallina G ha una bulk density superiore a quello delle forme cristalline E, F e della forma amorfa (Halo)
- Regadenoson in forma cristallina G ha la più bassa solubilità in acqua rispetto alle forme cristalline E, F e della forma amorfa (Halo)
- Regadenoson in forma cristallina G ha la più bassa velocità di dissoluzione intrinseca rispetto alle forme cristalline E, F e della forma amorfa (Halo)
- A differenza delle forme cristalline E, F e della forma amorfa Halo la stempera della forma cristallina G in etanolo anche per tempi lunghi non porta a cambiamenti dello stato solido (tutte le altre tre forme si convertono nella forma G)



# Stabilità alla macinazione del Regadenoson forma G

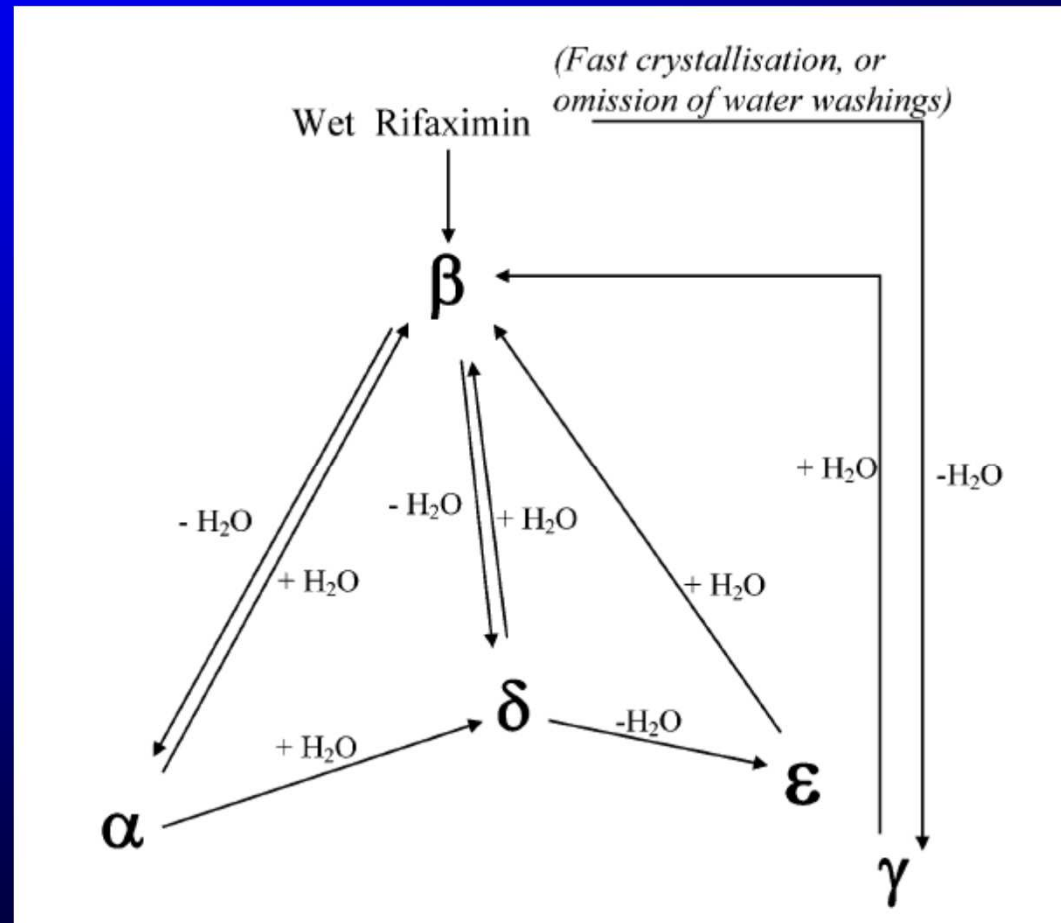


**REGADENOSON IN FORMA  
CRISTALLINA G E'  
OGGETTO DI UNA  
DOMANDA DI BREVETTO  
INTERNAZIONALE**

## SECONDO CASO: RIFAXIMINA

- La Rifaximina (composto identificato dal CAS registry number 80621-81-4) è un antibiotico semisintetico non assorbibile derivato dalla Rifamicina descritto per la prima volta nel 1981 dalla Alfa Wasserman (BE888895); questo composto è attualmente utilizzato in terapia per il trattamento della diarrea del viaggiatore e per il trattamento dell'encefalopatia epatica.
- Dati di letteratura confermano che tale sostanza può essere isolata in diverse forme cristalline identificate con le lettere dell'alfabeto greco: le forme cristalline  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  sono state descritte nel 2004 (EP1557421, Alfa Wasserman), le forme  $\epsilon$  e  $\delta$  nel 2006 (EP1698630, Alfa Wasserman), le forme  $\zeta$ ,  $\eta$ ,  $\alpha$  dry,  $\iota$  nel 2009 (WO2009108730, Salix Pharmaceuticals, Ltd.), le forme K e  $\theta$  nel 2011 (WO2011153444 Salix Pharmaceuticals, Ltd.). Inoltre sappiamo che la Rifaximina può esistere in forma amorfa (WO2008035109 by Cipla Limited) ed in una forma amorfa "halo" (WO2011080691).
- La Rifaximina nella forma polimorfa  $\alpha$  è la forma cristallina presente sul mercato con il nome commerciale di Xifaxan®: questa forma cristallina è brevettata da Alfa Wasserman in Europa sino al 9/3/2024 (EP1557421) e sino al 19/6/2024 in USA (US7045620).

Il cambiamento di struttura cristallina produce  
cambiamenti di due-tre ordini di grandezza nella velocità di dissoluzione  
Intrinseca, nella solubilità e biodisponibilità di Rifaximina



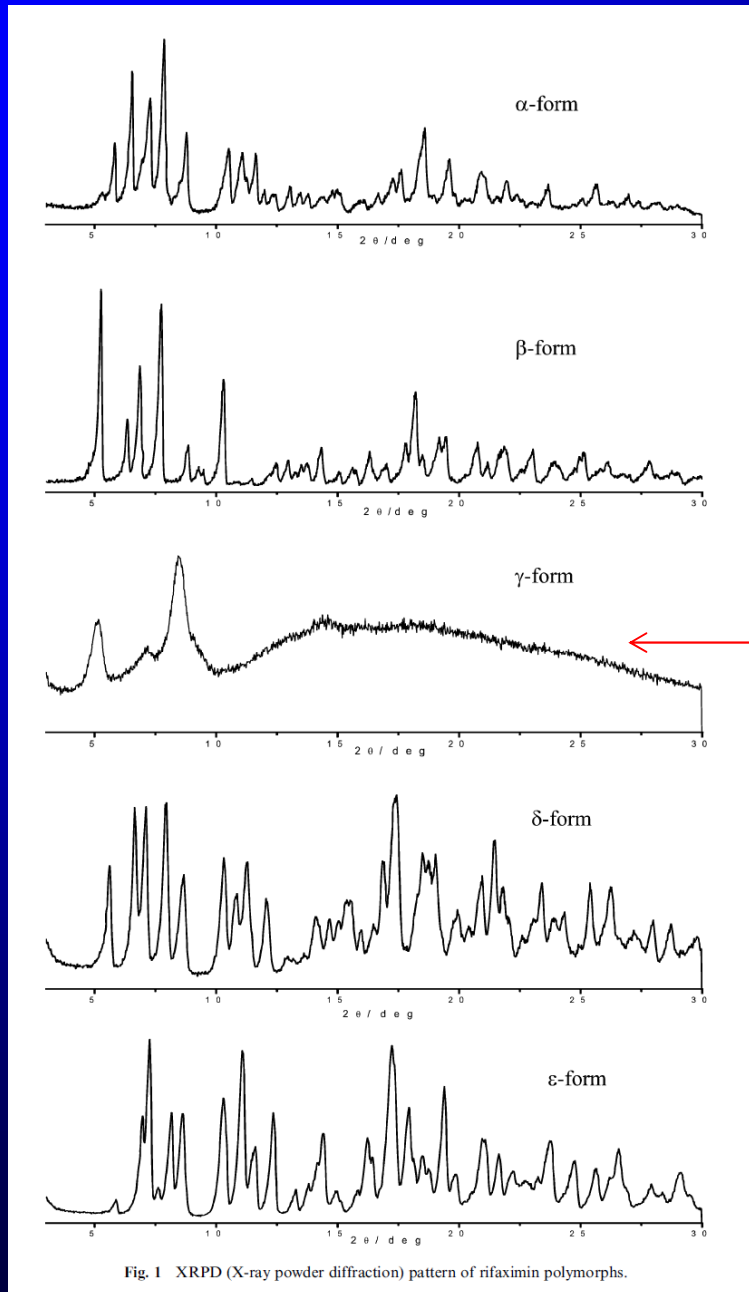


Fig. 1 XRPD (X-ray powder diffraction) pattern of rifaximin polymorphs.

Spettri DRX significativamente diversi

Quasi amorfa

G. C. Viscomi et al. **Crystal forms of rifaximin and their effect on pharmaceutical properties.** CrystEngComm, 2008, 10, 1074–1081.

# Velocità di dissoluzione Intrinseca delle forme alfa, beta, gamma e delta di Rifaximina

Mixing rate

Form	250 rpm			100 rpm		
	$C_{max, sol}^a$ /absorbance unit	$t_{max}^b$ /h	$t_{eq}^c$ /h	$C_{max, sol}^a$ /absorbance unit	$t_{max}^b$ /h	$t_{eq}^c$ /h
$\alpha$	0.07	0.17	1.25	0.07	1.25	7.00
$\beta$	0.05	0.25	1.50	0.06	1.25	6.00
$\gamma$	6.00	0.17	0.75	1.63	0.75	4.00
$\delta$	0.48	0.25	2.67	0.24	0.92	5.00
$\epsilon$	0.51	0.08	0.83	0.18	0.67	7.00

<sup>a</sup> The reported values are direct readings on the instrument without correction for the nonlinearity of the response. <sup>b</sup> Time to reach  $C_{max, sol}$ . <sup>c</sup> Time to reach constant concentration at the equilibrium.

G. C. Viscomi et al. Crystal forms of rifaximin and their effect on pharmaceutical properties. CrystEngComm, 2008, 10, 1074-1081.

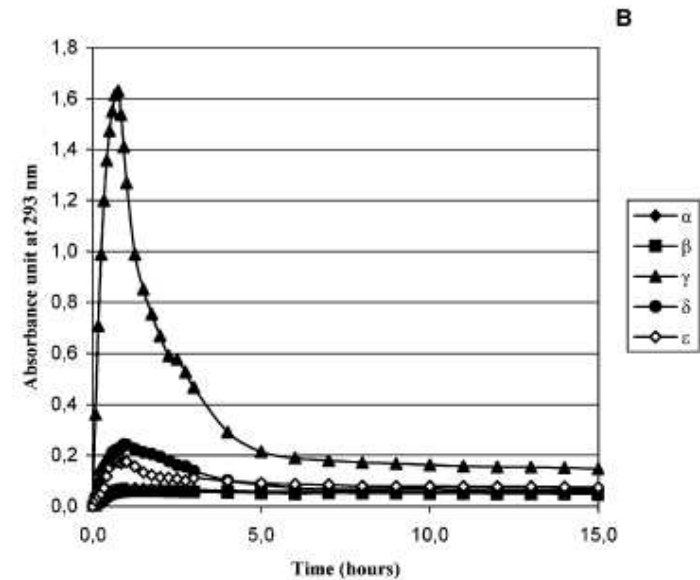
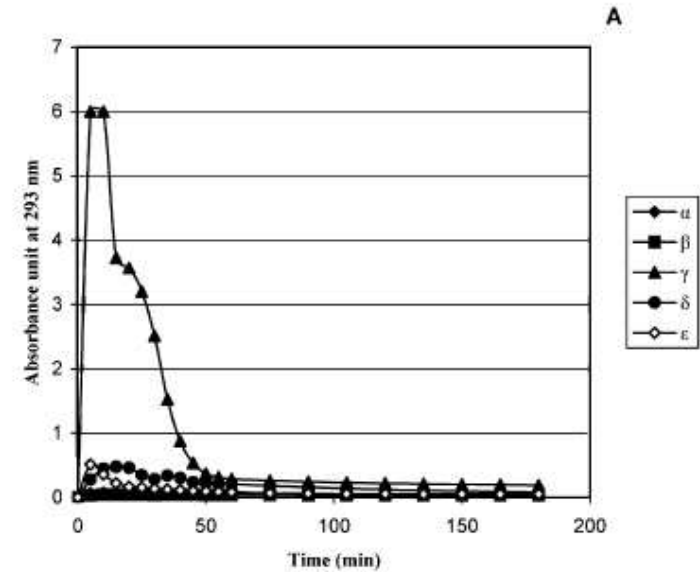


Fig. 5 "Kinetic" solubility of rifaximin polymorphous forms in water over time at the mixing rate of 250 rpm (A) and 100 rpm (B).

## Biodisponibilità delle forme alfa, beta, gamma e delta di Rifaximina

**Table 7** Study of bioavailability of the crystalline forms of rifaximin in dogs. Mean  $\pm$  S.E.M. of the pharmacokinetic parameters after oral administration of 100 mg kg<sup>-1</sup> ( $n = 4$ )

Rifaximin form	$C_{\max}^a$ ng ml <sup>-1</sup>	$t_{\max}^b$ h	$AUC_{0-24\text{ h}}^c$ ng h ml <sup>-1</sup>	$AUC_{0-\text{inf}}^d$ ng h ml <sup>-1</sup>
$\alpha$	2.6 $\pm$ 0.7	4	17 $\pm$ 7	17 $\pm$ 7
$\beta$	1.1 $\pm$ 0.6	4	10 $\pm$ 7	12 $\pm$ 8
$\gamma$	1,085.1 $\pm$ 78.7	2	4,795 $\pm$ 4,120	4,894 $\pm$ 4,107
$\delta$	308.3 $\pm$ 224.1	2	801 $\pm$ 517	830 $\pm$ 515
$\epsilon$	6.9 $\pm$ 5.1	4	42 $\pm$ 35	77 $\pm$ 42

<sup>a</sup> Maximum observed plasma concentration. <sup>b</sup> Time from administration to obtain  $C_{\max}$ ; the values are given as median. <sup>c</sup> Area under the concentration–time curve from time zero up to last sampling (24 h after administration). <sup>d</sup> Area under the concentration–time curve calculating the extrapolation to infinity.

G. C. Viscomi et al. Crystal forms of rifaximin and their effect on pharmaceutical properties. CrystEngComm, 2008, 10, 1074–1081.

**L'utilizzo di forme cristalline diverse dalla forma alfa  
(prodotto di Riferimento di AW)  
potrebbe alterare l'efficacia e la sicurezza del prodotto  
(dal momento che la Rifaximina è un antibiotico che agisce  
localmente, a livello del tratto gastrointestinale,  
con un ampio spettro di azione su microorganismi  
Gram +, Gram -, aerobici ed anaerobici).**

**Nel caso di utilizzo di forme cristalline di Rifaximina  
diverse dalla forma alfa dovranno esser condotti studi  
di Bioequivalenza**

*Contains Nonbinding Recommendations***Draft Guidance on Rifaximin**

This draft guidance, once finalized, will represent the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the Office of Generic Drugs.

**Active ingredient:** Rifaximin

**Form/Route:** Tablet/Oral

**Recommended studies** 1 study

Type of study: BE Study with Clinical Endpoint  
Design: Randomized, double blind, parallel, placebo controlled in vivo  
Strength: 200 mg (dosed: three times daily for 3 days)  
Subjects: Male and nonpregnant female subjects with travelers' diarrhea  
Additional comments: Specific recommendations are provided below.

*Contains Nonbinding Recommendations***Draft Guidance on Rifaximin**

This draft guidance, once finalized, will represent the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the Office of Generic Drugs.

**Active ingredient:** Rifaximin

**Form/Route:** Tablet/Oral

**Recommended studies:** 3 studies

1. Type of study: Fasting Bioequivalence (BE) Study with Pharmacokinetic (PK) endpoints  
Design: Single-dose, two-way crossover in-vivo  
Strength: 550 mg  
Subjects: Healthy males and nonpregnant females, general population.  
Additional Comments: Applicants may consider using a reference-scaled average bioequivalence approach for rifaximin. If using this approach, please provide evidence of high variability in the bioequivalence parameters of AUC and/or C<sub>max</sub> (i.e., within-subject variability  $\geq 30\%$ ). Please refer to the Progesterone Capsule Draft Guidance for additional information regarding highly variable drugs.





DETERMINAZIONE V&A N. 993/2012

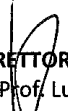
**ART. 1**

1. Sono annullate le Determinazioni AIFA n. 2040-2050 del 07/10/2010, n. 2083 e 2084 del 12/10/2010 e n. 2164 dell'08/11/2010, richiamate nelle premesse.
2. Sono, altresì, annullati i provvedimenti e le modifiche successive e conseguenti alle Determinazioni di cui al comma 1, relativamente alle variazioni ad oggi intercorse.

**ART. 2**

1. La presente determinazione ha effetto dalla data di pubblicazione sul sito istituzionale dell'AIFA e sarà pubblicata anche sulla Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana.

Roma, li 13/07/2012

  
IL DIRETTORE GENERALE  
(Prof. Luca Pani)

**ITALIA: le determinazioni AIFA ritirate si riferiscono a formulazioni contenenti stati solidi di Rifaximina diverse dalla forma alfa. Alcuni produttori sono stati citati per contraffazione del diritto di privativa industriale relativamente alle forme brevettate da AW.**

**AD OGGI NESSUN GENERICISTA È STATO IN GRADO DI SUPERARE L'OSTACOLO RAPPRESENTATO DAL BREVETTO SUI POLIMORFI DI AW**