



HU000231296B1

(19) **HU**(11) Lajstromszám: **231 296**(13) **B1****MAGYARORSZÁG**
Szellemi Tulajdon Nemzeti Hivatala

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 18 00089**(51) Int. Cl.: **C07C 59/54** (2006.01)(22) A bejelentés napja: **2018. 03. 09.****C07C 59/72** (2006.01)(40) A közzététel napja: **2019. 09. 30.**(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértesítőben: **2022. 09. 28.**

(72) Feltaláló(k):
Hortobágyi Irén 20%, Budapest (HU)
Lászlófi István 20%, Nagykálló (HU)
Varga Zoltán 20%, Budapest (HU)
Juhász Imre 15%, Budapest (HU)
Ritz Imola 15%, Budapest (HU)
Dr. Kardos Zsuzsanna 10%, Budapest (HU)

(73) Jogosult(ak):
Chinoi Zrt., Budapest (HU)

(74) Képviselő:
DANUBIA Szabadalmi és Jogi Iroda Kft.,
Budapest (HU)

(54) **Eljárás treprostinil-dietanol-amin só B polimorf formájának előállítására**

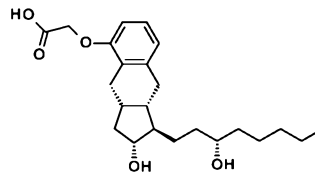
(57) Kivonat

Eljárás treprostinil dietanol-amin só B polimorf formájának robusztus, reprodukálható és egy lépésben történő előállítására, oly módon, hogy

- a treprostinilt metanolban oldjuk,
- az oldathoz hozzáadjuk a dietanol-amint vagy metanolos oldatát,
- a reakcióelegyet oldódásig kevertetjük,
- a sóképzés lejátszódása után az oldathoz aprótikus oldószert adunk,
- az oldatot leszűrjük,
- a szűrletet beoltjuk a treprostinil dietanol-amin só B polimorf formával,
- a kapott kristály szuszpenzióhoz hozzáadjuk a második adag aprótikus oldószert,
- a kristályosodás teljessé válásáig kevertetjük a szuszpenziót,
- a kristályokat kinyerjük, mossuk, szárítjuk.

Eljárás treprostinil dietanol-amin só B polimorf formájának előállítására

A (II) képletű



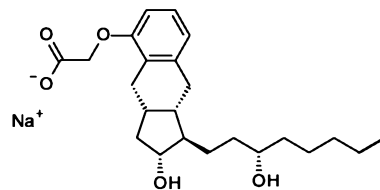
II

treprostinil vérlemezke aggregáció gátló és értágító hatású szintetikus prosztaciklin származék. Az egyetlen prosztaciklin származék, amelyik *subcutan*, intravénás, inhalációs és orális formában is alkalmazható.

Terápiás alkalmazási területe a pulmonáris arteriális hipertónia (Pulmonary Arterial Hypertension, PAH), *Drugs*, **2012**, 72 (18) 2351-2363) és a krónikus thromboemboliás pulmonáris hipertónia kezelése

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500005505.pdf, letöltés 2017. február 15.)

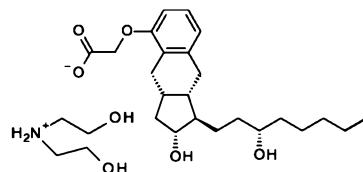
(III) képletű



III

treprostinil nátrium só injekciós célra Remodulin® néven, inhalációs célra Tyvaso® néven kerül forgalomba.

(I) képletű



I

treprostinil dietanol-amin sója a tablettás kiszerezésű Orenitram® hatóanyaga.

A kristályos treprostinil dietanol-amin só két polimorf formáját (A és B formák) a **WO2005/007081** számú szabadalmi bejelentésben ismertetik elsőként. A polimorf formákat olvadásponttal, porröntgennel, DSC (Differential Scanning Calorimetry), TGA (Thermogravimetric Analysis) görbékkel valamint vízfelvevő képességükkel jellemzik.

Megállapítják, hogy

- a metastabil **A** forma higroszkópos, 103°C-on olvad, a DSC görbe 103°C-nál endoterm csúcsot mutat, a TGA görbe szerint a kristályok szolvatált oldószert nem tartalmaznak
- a stabilisabb **B** forma sokkal kevésbé higroszkópos, 107°C-on olvad, a DSC görbe 107°C-nál endoterm csúcsot, a TGA görbe minimális súlyvesztést mutat 100°C-on
- az **A** és **B** forma eltérő pordiffraktogramot ad: a stabilabb **B** kristályformára jellemző csúcs $17,2^\circ 2\theta$.
- az **A** formából szerves oldószerekkel (1,4-dioxán, izopropanol, tetrahidrofurán, toluol) készített szuszpenzió különböző hőfokon kevertetve a stabilisabb **B** formává alakul.

Az Organic Process & Development, 2009, 13, 242-249. (*Crystallization Process Development for Stable Polymorph of Trepstinil*; Batra, H.; Penmasta, R.; Phares, K.; Staszewski, J.; Tuladhar, S. M.; D. A. Walsh, United Therapeutics) közleményben részletesen ismertetik a két polimorf fizikai tulajdonságait, valamint az előállításukra vonatkozó kísérleteket. Az elsőként izolált metastabil **A** forma állás közben a termodinamikailag stabilabb **B** formává alakult.

Számos, különböző arányban vett oldószerek-elegyet vizsgáltak. Az izopropanol: metil-*tert*-butil-éter (TBME) elegyekből főleg az **A** formához jutottak, de a kristály szuszpenzió több órással kevertetésével az **A** forma **B** formává alakult, ez az átalakulás azonban a méretnöveléskor nem történt meg.

Etanol: acetone = 7:1 (termelés 85-90%) valamint etanol: etil-acetát = 7:1 (termelés > 90%) elegyből kristályosítva az egységes **B** formához jutottak, ha az oldatot beoltották a **B** kristályformával, és nagyon lassú, több beállított hőfokot tartalmazó kontrollált hűtést alkalmaztak a kristályosodáshoz.

A WO 2009/078965 számú szabadalmi bejelentés a nagy tisztaságú trepstinil Na só előállítását ismerteti kristályos trepstinil dietanol-amin són keresztül.

A trepstinil etil-acetátos oldatához adják a vízmentes etanolt és a dietanol-amint. A tiszta oldatot 60-75°C-on kevertetik 30-60 percet, majd 55±5°C-ra hűtik, beoltják 1% trepstinil dietanol-amin **B** polimorffal. A kiváló kristályokat 1 órát kevertetik hőfoktartással, majd 20-22°C-ra hűtik a kristály szuszpenziót. 16-24 óra kevertetés után a kristályokat szűrik, etil-acetáttal mossák és szárítják, termelés 88%.

Ha a trepstinil dietanol-amin kristályok olvadáspontja > 104°C, akkor formájuk megfelel a **B** formának.

Ha a trepstinil dietanol-amin kristályok olvadáspontja < 104°C, akkor **A** és **B** forma keverékét kapják. Ebben az esetben a kristály keveréket etanol: etil-acetát oldószerekkel ismételt kristályosítják.

Az ismertett eljárás tehát nem robosztus, nem reprodukálható, sok esetben az **A** + **B** forma keveréke keletkezik.

A WO 2014/089385 számú szabadalmi bejelentés ismerteti a trepstinil, a trepstinil Na és a trepstinil dietanol-amin sók előállítását.

A treprostinil dietanol-amin só előállításához a treprostinil etil-acetátos oldatát dietanol-amin vízmentes etanolos oldatával kezelik, a kapott szuszpenziót reflux hőmérsékletre fűtik 15 percig, miközben minden komponens beoldódik. Ezután lassan, 18 óra alatt, szobahőmérsékletre hűtik. A kivált fehér kristályos anyagot szűrik, etil-acetáttal mossák, szárítják vákuumban, 50°C-on, 24 órát. Termelés 76%. A só fizikai tulajdonságait **nem** ismertetik.

Az **IN 2014CH02963-A** számú szabadalmi bejelentésben a treprostinil, treprostinil Na és a treprostinil dietanol-amin előállítását ismertetik.

Dietanol-amin vizes oldatához adják a treprostinil acetonos oldatát 25-30°C-on. Az oldatot opcionálisan beoltják, majd 15 percet kevertetik hőfoktartással. A kristály szuszpenziót 0-5°C-ra hűtik, 90 perc kevertetés után a kristályokat szűrik, mossák, szárítják. Termelés: 79%, **A** polimorf.

Az **A** polimorf formájú treprostinil dietanol-amin kristályokat acetonnal szuszpendálják, majd reflux hőmérsékleten kb. 0,2% etanolt adnak a szuszpenzióhoz. 6 óra kevertetés reflux hőmérsékleten, majd hűtés 25-30°C-ra, a kristályokat szűrik, mossák, szárítják. Termelés 100%, **B** polimorf.

Az ismertetett eljárás szerint tehát csak két lépésben lehet előállítani a treprostinil dietanol-amin só **B** polimorfját.

Az **US 2016/0152548** számú szabadalmi bejelentésben ismertetett eljárás szerint a sóképzéshez a treprostinilt és a dietanol-amint etanolban és etil-acetátban oldják 70°C-on, 30 perc kevertetés után az oldatot 55°C-ra hűtik, beoltják 1 tömeg% **B** polimorf kristályformájú treprostinil dietanol-amin oltókristállyal 55°C-on kevertetik 1 órát a szuszpenziót, majd szobahőmérsékletre hűtik. 16 óra kevertetés után a kristályokat szűrik, mossák, szárítják. Termelés: 93%, a kristályok fizikai tulajdonságai (olvadáspont, porröntgen, DSC, TGA) nincsenek megadva.

Az ismertetett eljárás szerint is etanol – etil-acetát elegyet használnak a kristályosításra, mint a **WO 2014/089385** számú szabadalmi bejelentésben, amiről ismert, hogy nem robosztus, nem reprodukálható, és sok esetben az **A + B** forma keverékét eredményezi.

Célunk volt egy olyan eljárás kidolgozása a kristályos treprostinil dietanol-amin só előállítására, amelynek a végrehajtásával robosztus, reprodukálható módon, egy lépésben keletkezik a só stabilabb, **B** polimorf formája.

Az irodalmi adatokból ismert, hogy a treprostinil dietanol-amin só két polimorf formában kristályosodik. Az alacsonyabb olvadáspontú (olvadáspont 103°C) a metastabil **A** forma, a magasabb olvadáspontú (olvadáspont 107°C) **B** forma pedig termodinamikailag stabilabb, így ez a kívánatos forma a gyógyszerhatóanyag előállításánál.

A termodinamikailag stabilabb **B** forma reprodukálható előállítása azonban nem egyszerű feladat: az oldószer- kicsapószer elegy arányának helyes megválasztása, a reflux hőmérsékleten történő oldás, a **B** formával történő beoltás, majd a nagyon lassú, több beállított hőfokot tartalmazó kontrollált hűtés betartása sem biztosítja, hogy minden esetben a stabilabb **B** forma keletkezzen. Az irodalom szerint az előre meghatározott paraméterek szigorú betartása esetén is gyakran előfordul,

hogy együtt kristályosodik az **A** és a **B** forma. Az **A** és **B** kristály formájú keverékből csak egy újabb művelet elvégzésével (ismételt kristályosítás vagy a kristály szuszpenzió hosszas kevertetése) alakítható ki a kívánt polimorf.

Az irodalomból ismert adatokat rendszereztük, vizsgálva, hogy oldószer és oldószerkegyek alkalmazásával milyen kristályforma alakul ki. (I. Táblázat)

I. Táblázat: Irodalmi módszerek a kristályos Treprostinil DEA előállítására

	Hivatkozás	Módszer	Oldószer kicsapószer	Forma	Termelés [%]	Megjegyzés
1	WO2005/007081	1*	tetrahydrofuran víz EtOH: víz	A A+B A+B	nincs adat nincs adat nincs adat	
		2**	dioxán toluol izopropanol tetrahydrofuran	B A+B B B+ A	nincs adat nincs adat nincs adat nincs adat	
2	Org.Proc.Res. &Dev. 2009.	2**	izopropanol izopropanol: TBME	A+B A+B	nincs adat nincs adat	méretnöveléskor nem alakult át az A forma B formává
		1*	izopropanol: TBME	A	nincs adat	
		1*	EtOH: acetone=1:5 EtOH: acetone=1:6 EtOH: acetone=1:7 EtOH: acetone = 1:8 EtOH: acetone=1:10	A+B A+B B*** A+B B***	nincs adat nincs adat nincs adat nincs adat	nem robusztus az eljárás

					94****	
		1*	EtOH: EtOAc=1:5 EtOH: EtOAc=1:6 EtOH: EtOAc=1:7 EtOH: EtOAc=1:8 EtOH: EtOAc=1:10	A+B A+B B*** B*** A+B	nincs adat nincs adat nincs adat nincs adat 95**** nincs adat	nem robusztus az eljárás
3	WO 2009/078965	1*	EtOH: EtOAc=1:7	B***	88	ha A+B válik ki, ismételt kristályosítás
4	WO 2014/089385	1*	EtOH: EtOAc=1:8		76	kristályforma nincs jellemezve, de ez a módszer nem robusztus
5	IN 2014CH02963A	1*	víz: aceton=1:90	A	79	A forma
		2**	aceton: EtOH=600:1	B		A kristályforma átalakítása B formává
6	US2016/0152548	1*	EtOH: EtOAc=1:7		93	kristályforma nincs jellemezve, de ez a módszer nem robusztus

* kristályosítás oldatból, ****A** vagy **A+B** forma kristály szuszpenzió kevertetése

méretnövelt kristályosítás, * ha **A+B** válik ki, megismétlik a kristályosítást

A kristályosítás hőmérséklet profilját nem tartalmazó, leegyszerűsített I. Táblázatból levonható következtetések:

- A **WO 2005/007081** számú szabadalmi bejelentés (1) szerinti kristályosítási eljárások az **A** formát, vagy az **A+B** forma keverékét eredményezik. A kívánt **B** forma a kristály szuszpenzió utólagos, több napos kevertetésével alakítható ki.
- Az **Org. Proc. Res.&Dev.** folyóiratban ismertetett közlemény (2) szerint:
 - A laborkísérletekben elsődlegesen keletkezett **A** forma, valamint az **A+B** forma keveréke teljes mértékben átalakult izopropanollal vagy izopropanol:metil-*terc.*-butil-éter elegyekkel hosszan kevertetve **B** formává, de a méretnöveléskor **nem** sikerült a **B** forma kialakítása.
 - Izopropanol:metil-*terc.*-butil-éter elegyekből kristályosítva az **A** formát kapták.
 - EtOH: aceton elegyekből kristályosítva az 1:7 arányú eleggyel **általában** a **B** forma kristályosodott ki, de volt, hogy **A+B** forma keverékét kapták. Ebben az esetben meg kell ismétetni a kristályosítást addig, amíg az egységes **B** forma keletkezik. Az eljárás során be kell oltani az oldatot a **B** kristályformával, bonyolult hőmérsékletprofil betartása szükséges, a teljes kristályosítás 3 napig

tart. Az eljárás azonban nem robosztus, mert az oldószerek arányának már kismértékű változása is azt eredményezheti, hogy **A+B** formák keveréke kristályosodik ki. Meglepő, hogy az előkísérletek során meghatározott EtOH: aceton=1:7 elegy helyett a méretnöveléskor EtOH: aceton=1:10 arányú elegyet választották.

- EtOH: etil-acetát elegyekből kristályosítva az 1:7 arányú eleggyel **általában** a **B** forma kristályosodott ki, de volt, hogy **A+B** forma keverékét kapták. Ebben az esetben meg kell ismételni a kristályosítást addig, amíg az egységes **B** forma keletkezik. Az eljárás során be kell oltani az oldatot a **B** kristályformával, bonyolult hőmérsékletprofil betartása szükséges, a teljes kristályosítás rövidebb ideig, kb. 1,5 napig tart. Az eljárás evvel az oldószer eleggyel sem robosztus, mert az oldószerek arányának már kismértékű változása is azt eredményezheti, hogy **A+B** formák keveréke kristályosodik ki. Meglepő, hogy ebben az esetben is más oldószerarányt választottak a méretnöveléshez (EtOH: etil-acetát=1:8), mint ami az előkísérletek során a legalkalmasabb volt (EtOH: etil-acetát=1:7).
- A **WO 2009/078965 A1** számú szabadalmi leírás (3) szerint a treprostinil dietanol-amin só kristályosítását EtOH: etil-acetát=1:7 oldószer eleggyel végzik. Ha nem a **B** forma válik ki, a kristályosítást meg kell ismételni, tehát az eljárás nem robosztus.
- A **WO 2014/089385 A2** szabadalmi bejelentés (4) szerint a treprostinil dietanol-amin só kristályosítását EtOH: etil-acetát=1:8 oldószer eleggyel végzik. A kristályforma nincs jellemezve, de az irodalmi adatok alapján ismert, hogy ez az eljárás nem robosztus a **B** forma előállítására.
- Az **IN 2014CH02963** szabadalmi bejelentés (5) szerint a treprostinil dietanol-amin sót aceton: víz elegyből kristályosítják, ami az **A** formát eredményezi. Az **A** kristályforma aceton: EtOH elegyben kevertetve **B** formává alakul.
- Az **US 2016/0152548 A1** szabadalmi bejelentés (6) szerint a treprostinil dietanol-amin só kristályosítását EtOH: etil-acetát=1:7 oldószer eleggyel végzik. A leírás szerint a **B** forma keletkezik, de az irodalmi adatok alapján ismert, hogy ez az eljárás nem robosztus.

Az ipari megvalósítás szempontjából azonban alapvető fontosságú, hogy egy technológia robosztus, egyszerű, könnyen kivitelezhető, méretnövelhető és reprodukálható legyen.

Fentiek ismeretében célul tűztük ki egy olyan eljárás kidolgozását, amelyet alkalmazva **I** képletű treprostinil dietanol-amin só reprodukálhatóan, **minden esetben** és egy lépésben a termodinamikailag stabilabb kristályos **B** polimorf formában keletkezik.

A **B** polimorf formájú treprostinil dietanol-amin só előállításának fejlesztésére számos kísérletet végeztünk. Célunk az volt, hogy olyan oldószerben végezzük a sóképzést, amelyből csak a **B** polimorf forma kristályosodik ki.

A kísérletekben 1,0g treprostinilt (II) oldottunk a választott oldószerekben. Az oldathoz adtunk 0,3g dietanol-amint (IV), és 35°C-on, 30 percet kevertettük a reakcióelegyet. A homogén oldathoz hozzáadtuk a kicsapószer első adagját, szobahőmérsékletre hűtöttük, és beoltottuk a treprostinil dietanol-amin só (I) **B** polimorf formával. 1-2 óra kevertetés után hozzáadtuk a második adag kicsapószer a kristály szuszpenzióhoz, és további 16-24 órát kevertettük szobahőmérsékleten.

A treprostinil dietanol-amin (I) kristályokat szűrtük, mostuk és vákuumban, 45°C-on szárítottuk. A kristályformát DSC és porröntgen (XRPD) vizsgálatokkal állapítottuk meg.

Meglepő módon azt tapasztaltuk, hogy metanolból kristályosítva minden kicsapószerrel (metil-*tercier*-butil-éter, acetone, etil-acetát, diizopropil-éter, acetonitril) a **B** forma kristályosodott ki (porröntgen diffraktogram ld. 1. ábra), míg az irodalomból ismert oldószereket alkalmazva az **A** és **B** forma vegyesen keletkezett.

II. Táblázat: Kristályos treprostinil dietanol-amin só előállítása metanolban

Találmány szerinti példa száma	Metanol (ml)	Kicsapószer			Kitermelés (%)	Kristályforma (DSC, XRPD)
		neve	1. adag (ml)	2. adag (ml)		
1.	4	metil- <i>tercier</i> -butil-éter	15	20	91	B
2.	4	acetone	15	20 +10	73	B
3.	4	etil-acetát	15	20	92	B
4.	6	diizopropil-éter	10	20	95	B
5.	6	toluol	10	20 +10	nem kristályosodott	---
6.	4	acetonitril	15	20	91	B

Megjegyzendő, hogy a toluol kicsapószer nem megfelelő a treprostinil dietanol-amin kristályosítására, alkalmazása esetén nem sikerült a só kristályos formában való kinyerése.

A treprostinil dietanol-amin só kristályos **B** polimorf formájának előállításához tehát a legalkalmasabb a **metanol** oldószer, mert ebből az oldószerből kristályosítva mindig egységesen a **B** forma válik ki.

Kicsapószerként a technológiai szempontból legalkalmasabbnak ítélt **metil-*tercier*-butil-étert** választottuk.

A treprostinil dietanol-amin só képzést **metanolban** – **metil-*tercier*-butil-éter** oldószer-kicsapószer eleggyel 1g-os méretben négyszer megismételtük, majd 70g treprostinilből (II) kiindulva méretnöveltük (7. példa). Minden esetben egységesen a só **B** polimorf formáját kaptuk.

Az eljárásunk tehát robusztus, reprodukálható és egy lépésben eredményezi a kívánt **B** formát.

A kristályosítást **etanol** – **etil-acetát** oldószer-kicsapószer eleggyel is elvégeztük. Ebben az esetben, az irodalmi adatoknak megfelelően, az **A+B** formák keverékét kaptuk (8. példa). A kapott treprostinil dietanol-amin só **A** és **B** formájának keverékét metanol – metil-*tercier*-butil-éter oldószer elegyből átkristályosítva egységesen a só **B** polimorf formáját kaptuk (9. példa).

A treprostinil dietanol-amin sőt vizes metanolban (kb. 30% víz) oldva, és a kicsapást acetonnal végezve ugyancsak egységesen kaptuk a **B** polimorf formát, de a termelés csak 61% volt (10. példa).

A treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formáját kaptuk abban az esetben is, amikor a sót metanolban oldottuk, metil-*tercier*-butil-éterrel 45°C-on opálosra állítottuk, majd szobahőmérsékleten tettük teljessé a kristályosítást (termelés 87%) (11. példa).

Azonban -70°C-on végezve a kristályosítást, alacsony olvadáspontú, erősen higroszkópos kristályokat kaptunk a metanol – metil-*tercier*-butil-éter oldószer eleggyel. Ezt a formát **C** polimorf formának nevezzük (12. példa). A **C** polimorf forma egy kevésbé stabil forma, a DSC görbe alapján az olvadáspontja 86-88°C és a DSC csőben átalakul a stabilabb, magasabb olvadáspontú formává (101-103°C).

Fentiek alapján találmányunk tárgya eljárás treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formájának előállítására oly módon, hogy

- a. a treprostinilt metanolban oldjuk,
- b. az oldathoz hozzáadjuk a dietanol-amint vagy metanolos oldatát,
- c. a reakcióelegyet oldódásig kevertetjük,
- d. a sóképzés lejátszódása után az oldathoz aprótikus oldószert adunk,
- e. az oldatot leszűrjük,
- f. a szűrletet beoltjuk a treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formával,
- g. a kapott kristálysuszpenzióhoz hozzáadjuk a második adag aprótikus oldószert,
- h. a kristályosodás teljessé válásáig kevertetjük a szuszpenziót,
- i. a kristályokat kinyerjük, mossuk, szárítjuk.

Találmányunk további tárgya eljárás a treprostinil dietanol-amin só **A** polimorf formájának vagy **A** és **B** polimorf formák keverékének átalakítására egységes **B** polimorf formává oly módon, hogy

- a. a treprostinil dietanol-amin sót metanolban oldjuk,
- b. az oldathoz aprótikus oldószert adunk,
- c. az oldatot beoltjuk a treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formával,
- d. a kapott kristálysuszpenzióhoz hozzáadjuk a második adag aprótikus oldószert,
- e. a kristályosodás teljessé válásáig kevertetjük a szuszpenziót,
- f. a kristályokat kinyerjük, mossuk, szárítjuk.

A találmány szerinti eljárás előnyös foganatosítási módja szerint a treprostinil és a dietanol-amin, illetve a treprostinil dietanol-amin oldása 25-50°C-on, előnyösen 30-40°C-on történik.

Aprótikus oldószerként étereket, mint metil-*tercier*-butil-étert, diizopropil-étert, keton típusú oldószert, mint acetont, észter típusú oldószert, mint etil-acetátot vagy acetonitrilt, előnyösen metil-*tercier*-butil-étert alkalmazunk.

A találmány szerinti eljárás egyik foganatosítási módja szerint a kristályos, **B** formájú treprostinil dietanol-amin sót úgy állítunk elő, hogy a treprostinilt metanolban oldjuk 35°C-on, hozzáadjuk a szilárd dietanol-amin bázist és oldódásig kevertetjük 35°C-on. Hozzáadjuk a kicsapószer, metil-*tercier*-butil-éter, első adagját, az oldatot szűrjük, a szűrletet beoltjuk a treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formával és szobahőmérsékleten kevertetjük. A kristály szuszpenzióhoz adagoljuk a kicsapószer második adagját, és szobahőmérsékleten kevertetünk a teljes kristályosodásig. Metanol - metil-*tercier*-butil-éterrel átkristályosítva a treprostinil dietanol-

amin só **A** polimorf formája vagy az **A** és **B** polimorf formák keveréke a treprostinil dietanol-amin só **B** formáját eredményezi.

Eljárásunk előnyei az eddig ismert eljárásokhoz képest:

- a módszer egyszerű, robosztus és jól méretnövelhető,
- egy lépésben eredményezi a kívánt **B** formát
- nincs szükség bonyolult fűtés-hűtés profil alkalmazására,
- nincs szükség utólagos kristályforma átalakításra
 - ismételt kristályosításra és vagy
 - a kristály szuszpenzió hosszas kevertetésére,
- reprodukálhatóan eredményezi a kívánt, stabilabb **B** polimorf formát,
- az eljárás egyaránt alkalmas a treprostinil dietanol-amin só **B** forma
 - előállítására treprostinilből és dietanol-aminból (IV) kiindulva, majd a keletkezett sót kristályosítva,
 - treprostinil dietanol-amin só **A** forma, **A** + **B** formák keverékének átkristályosítására az egységes **B** formává.

Találmányunk részleteit a példákban mutatjuk be, anélkül, hogy a találmányt a példákra korlátoznánk.

A találmány szerinti megoldásban alkalmazott mérések körülményei:

Röntgen diffraktogram felvételének:

Indulási helyzet [$^{\circ}2\theta$]: 2,0084

Végső helyzet [$^{\circ}2\theta$]: 39,9864

Mérési hőmérséklet [$^{\circ}C$]: 25,00

Anód anyaga: Cu

K-Alpha1 [λ]: 1,54060

K-Alpha2 [λ]: 1,54443

DSC:

Berendezés: METTLER TOLEDO DSC1 STARe System, Stare basic V9.30

Módszer: Kezdeti hőmérséklet: 30 $^{\circ}C$

Végső hőmérséklet: 150 $^{\circ}C$

Fűtési sebesség: 5 $^{\circ}C/min$

Mennyiség: 2-6 mg, lyukacsos alumínium tégely (40 μ l)

NMR:

Berendezés: Bruker Avance III 500 MHz

Oldószer: DMSO

Rajzok/ ábrák rövid leírása:

1. ábra: A treprostinil dietanol-amin só különböző polimorf formájának röntgen diffraktogram felvételei metanol oldószer- különböző kicsapószer elegyet alkalmazva (1-6. példa):
 - 1.1: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter
 - 1.2: MeOH/ aceton
 - 1.3: MeOH/ etil-acetát
 - 1.4: MeOH/ diizopropil-éter
 - 1.6: MeOH/ acetonitril

„A”: Bimatoprost „A” polimorf forma
 „B”: Bimatoprost „B” polimorf forma
2. ábra: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter elegyből előállított treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf forma DSC görbéje (csúcs: 106.56°C, 7. példa)
3. ábra: EtOH/ etil-acetát elegyből előállított treprostinil dietanol-amin só **A+B** polimorf forma DSC görbéje (csúcsok: 103.84°C és 105.94°C, 8. példa)
4. ábra: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter elegyből előállított treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf forma DSC görbéje (csúcs: 107.34°C, 9. példa)
5. ábra: MeOH/ víz/ aceton elegyből előállított treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf forma DSC görbéje (csúcs: 106.56°C, 10. példa)
6. ábra: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter elegyből, 40-50°C-on előállított treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf forma DSC görbéje (csúcs: 106.23°C, 11. példa)
7. ábra: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter elegyből, -70°C-on előállított treprostinil dietanol-amin só **C** polimorf forma DSC görbéje (csúcsok: 87.66°C és 102.58°C, 12. példa)
8. ábra: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter elegyből előállított treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf forma röntgen diffraktogram felvétele (7. példa)
9. ábra: EtOH/ etil-acetát elegyből előállított treprostinil dietanol-amin só **A+B** polimorf forma röntgen diffraktogram felvétele (8. példa)
10. ábra: MeOH/ metil-*tercier*-butil-éter elegyből, -70°C-on előállított treprostinil dietanol-amin só **C** polimorf forma röntgen diffraktogram felvétele (12. példa)

Példák

Treprostinil dietanol-amin só (I) előállítás

(1R,2R,3aS,9aS)-2-[2-Hidroxi-1-[3(S)-hidroxioktil]-2,3,3a,4,9,9a-hexahidro-1H-benz[f]inden-5-iloxi] ecetsav dietanol-amin só

1. *példa (JIM-562/1)*

1g treprostinilt (II) feloldunk 4ml metanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd hozzáadunk 15ml metil-tercier-butil-étert (TBME), az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 20ml ~~acetont~~ metil-tercier-butil-étert. 16-24 órát kevertetjük a szuszpenziót szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 1,15g (91%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának.

2. *példa (JIM-562/2)*

1g treprostinilt (II) feloldunk 4ml metanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd hozzáadunk 15ml acetont, az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 30ml acetont. 16-24 órát kevertetjük a szuszpenziót szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 0,92g (73%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának.

3. *példa (JIM-562/3)*

1g treprostinilt (II) feloldunk 4ml metanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd hozzáadunk 15ml etil-acetátot, az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 20ml etil-acetátot. 16-24 órát kevertetjük a szuszpenziót szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 1,16g (92%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának.

4. *példa (JIM-562/4)*

1g treprostinilt (II) feloldunk 6ml metanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd hozzáadunk 10ml diizopropil-étert (DIPE), az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 20ml diizopropil-étert. 16-24 órát kevertetjük a

szuszpenziót szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 1,20g (95%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának.

5. *példa (JIM-562/5) – referencia példa*

1g treprostinilt (II) feloldunk 6ml metanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd hozzáadunk 10ml toluolt, az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 30ml toluolt.

Nem kristályosodott.

6. *példa (JIM-562/6)*

1g treprostinilt (II) feloldunk 4ml metanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd hozzáadunk 15ml acetonitrilt, az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 20ml acetonitrilt. 16-24 órát kevertetjük a szuszpenziót szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 1,15g (91%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának.

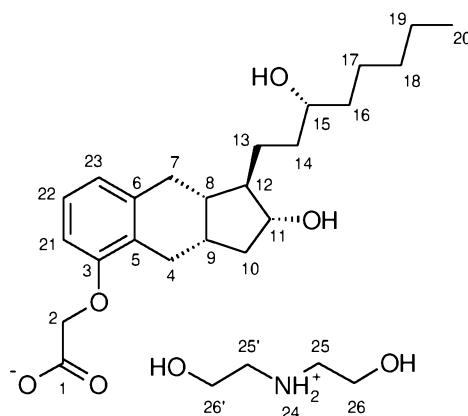
1-6. példa szerint előállított treprostinil dietanol-amin sók porröntgen diffraktogramjai az 1. ábrán találhatóak.

7. *példa*

70g treprostinilt (II) feloldunk 280ml metanolban $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on. Az oldathoz 20,73g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on, majd 1050ml metil-*tercier*-butil-étert adunk hozzá, az oldatot keverővel ellátott készülékbe szűrjük, kb. 700mg **B** polimorf formájú kristállal beoltjuk és 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd 1400ml metil-*tercier*-butil-étert csepegtetünk hozzá. További 16-24 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 87,2g (98%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának. DSC görbe a 2. ábrán, a porröntgen diffraktogram a 8. ábrán található.

A treprostinil dietil-amin só ^{13}C és ^1H NMR adatai az alábbi táblázatban találhatóak (DMSO oldószer, 500 MHz frekvencia).



Számozás	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	¹ H atom száma	Multiplicitás	Kapcsolási állandó (Hz) (+/- 0.2Hz)
1	172.27	-	-	-	
2	67.18	4.27	2	s	
3	155.48	-	-	-	
4	25.72	4 β : 2.735 4 α : 2.40*	1 1	dd m (dd)	J _{4gem} =14.6; J _{4β,9} =6.2 J _{4α,9} =6.8
5	126.43	-	-	-	
6	140.12	-	-	-	
7	33.49	7 β : 2.66 7 α : 2.37*	1 1	dd m (dd)	J _{7gem} =14.2; J _{7β,8} =6.2 J _{7α,8} =6.7
8	40.57	1.74	1	m (dddd/tt)	J _{8,9} =10.0; J _{8,12} =9.0
9	32.50	2.09	1	m (dddd)	
10	41.21	10 β : 1.96 10 α : 1.01	1 1	m (ddd/dt) m (ddd/dt)	J _{10gem} =11.8; J _{9,10β} ~7.0; J _{10β,11} ~6.2 J _{9,10α} ~J _{10α,11} ~10.2
11	75.51	3.47	1	m (td)	J _{11,12} ~9.5
12	51.54	1.10	1	tt	J _{12,13} =6.1
13	28.37	13a: 1.605 13b: 1.31**	1 1	m (dq) m	
14	35.04	14a: 1.445** 14b: 1.42**	1 1	m m	
15	70.13	3.35	1	m (tt)	7.1, 4.1
16	37.04	16a: 1.34** 16b: 1.28**	1 1	m m	
17	24.94	17a: 1.37** 17b: 1.25**	1 1	m m	
18	31.52	18a: 1.26** 18b: 1.19**	1 1	m m	
19	22.16	1.27**	2	m	
20	13.95	0.865	3	t	J _{19,20} =7.0
21	109.42	6.61	1	d	J _{21,22} =8.2
22	125.64	6.98	1	t	J _{22,23} =7.4
23	119.69	6.68	1	d	
25, 25'	49.66	2.885	4	t	J _{25,26} =5.4
26, 26'	57.29	3.595	4	t	

8. példa – referencia példa

Ig treprostinilt (II) feloldunk 5ml etanolban szobahőmérsékleten. Az oldathoz 0,3g dietanol-amint (IV) adunk és fél órát kevertetjük a reakcióelegyet 35±5°C-on, majd hozzáadunk 15ml etil-acetátot, az oldatot szűrjük, beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácepegtetünk 20ml etil-acetátot (EtOH: EtOAc=1:7). 16-24 órát

kevertetjük a szuszpenziót szobahőmérsékleten, majd a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 1,1g (87%), színtelen kristály, az **A** és **B** polimorf formák keveréke. DSC görbe a 3. ábrán, a porröntgen diffraktogram a 9. ábrán található.

9. példa

1g treprostinil dietanol-amin só (I, **A** és **B** polimorf formák keveréke) feloldunk 4ml metanolban $35\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on. A homogén oldathoz hozzáadunk szobahőmérsékleten 15 ml metil-*tercier*-butil-étert és beoltjuk kb. 10mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 20ml metil-*tercier*-butil-étert. 16-24 óra kevertetés után a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 1,23g (97%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának. DSC görbe a 4. ábrán található.

10. példa – referencia példa

0,5g treprostinil dietanol-amin só feloldunk 2ml metanolban és 0,6ml vízben szobahőmérsékleten. A homogén oldathoz hozzácsepegtetünk szobahőmérsékleten 20ml acetont, az opálos oldatot beoltjuk kb. 5mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd hozzácsepegtetünk 10ml acetont. 20 óra kevertetés után a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 0,39g (61%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának. DSC görbe az 5. ábrán található.

11. példa – referencia példa

0,5g treprostinil dietanol-amin só feloldunk 2ml metanolban $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on. A homogén oldathoz hozzáadunk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on 20ml metil-*tercier*-butil-étert és beoltjuk kb. 5mg **B** polimorf formájú kristállyal, az opálos oldatot szobahőmérsékletre hűtjük. 20 óra kevertetés után a kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

Termelés: 0,55g (87%), színtelen kristály, megfelel a **B** polimorf formának. DSC görbe a 6. ábrán található.

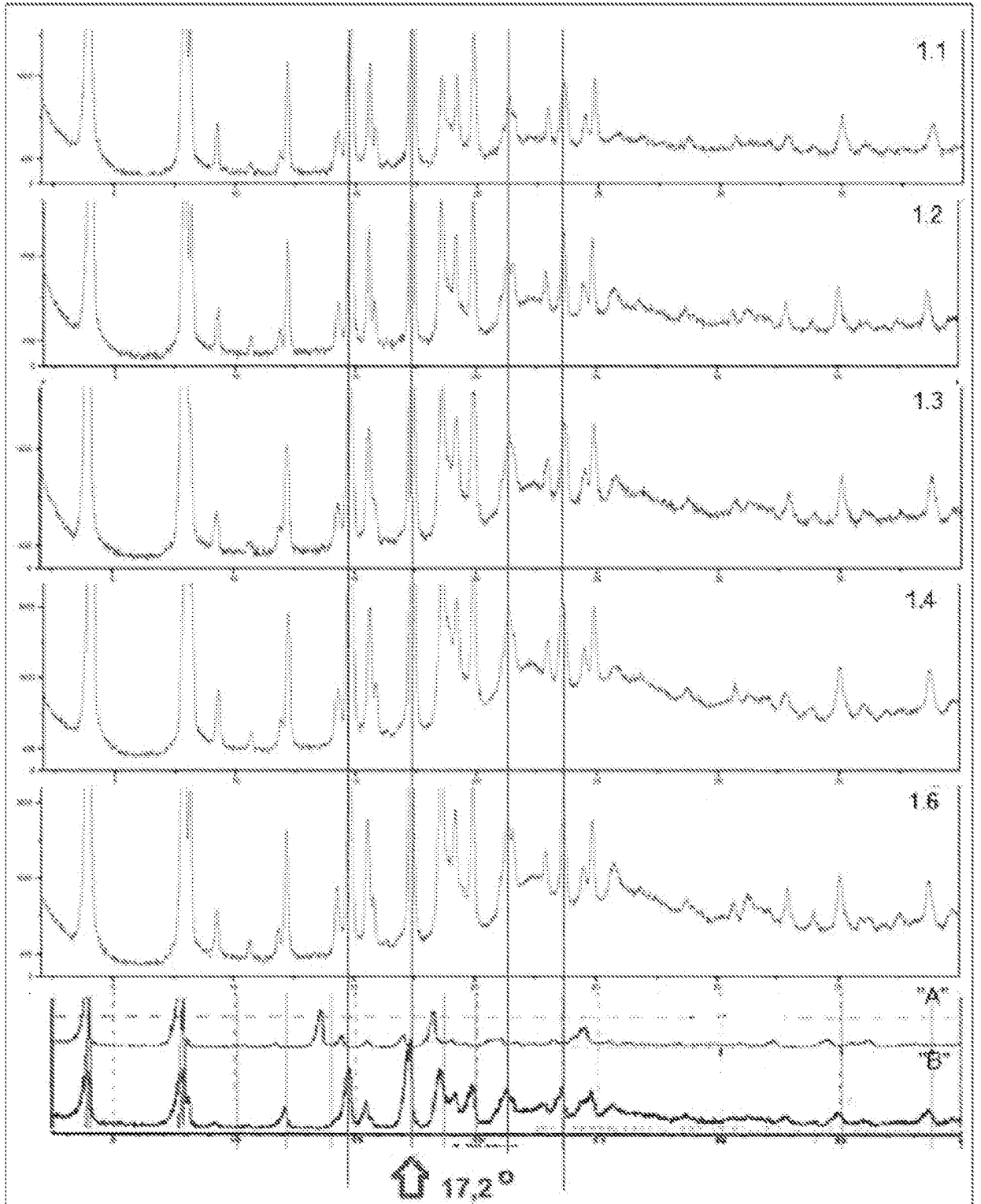
12. példa – referencia példa

0,5g treprostinil dietanol-amin só feloldunk 5ml metanolban -70°C -on. A homogén oldathoz hozzáadunk -70°C -on 30ml metil-*tercier*-butil-étert és beoltjuk kb. 5mg **B** polimorf formájú kristállyal, 2 óra kevertetés után az opálos oldat hőmérsékletét felengedjük szobahőmérsékletre. A nehezen szűrhető kristályokat szűrjük, mossuk, vákuumban szárítjuk $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ -on.

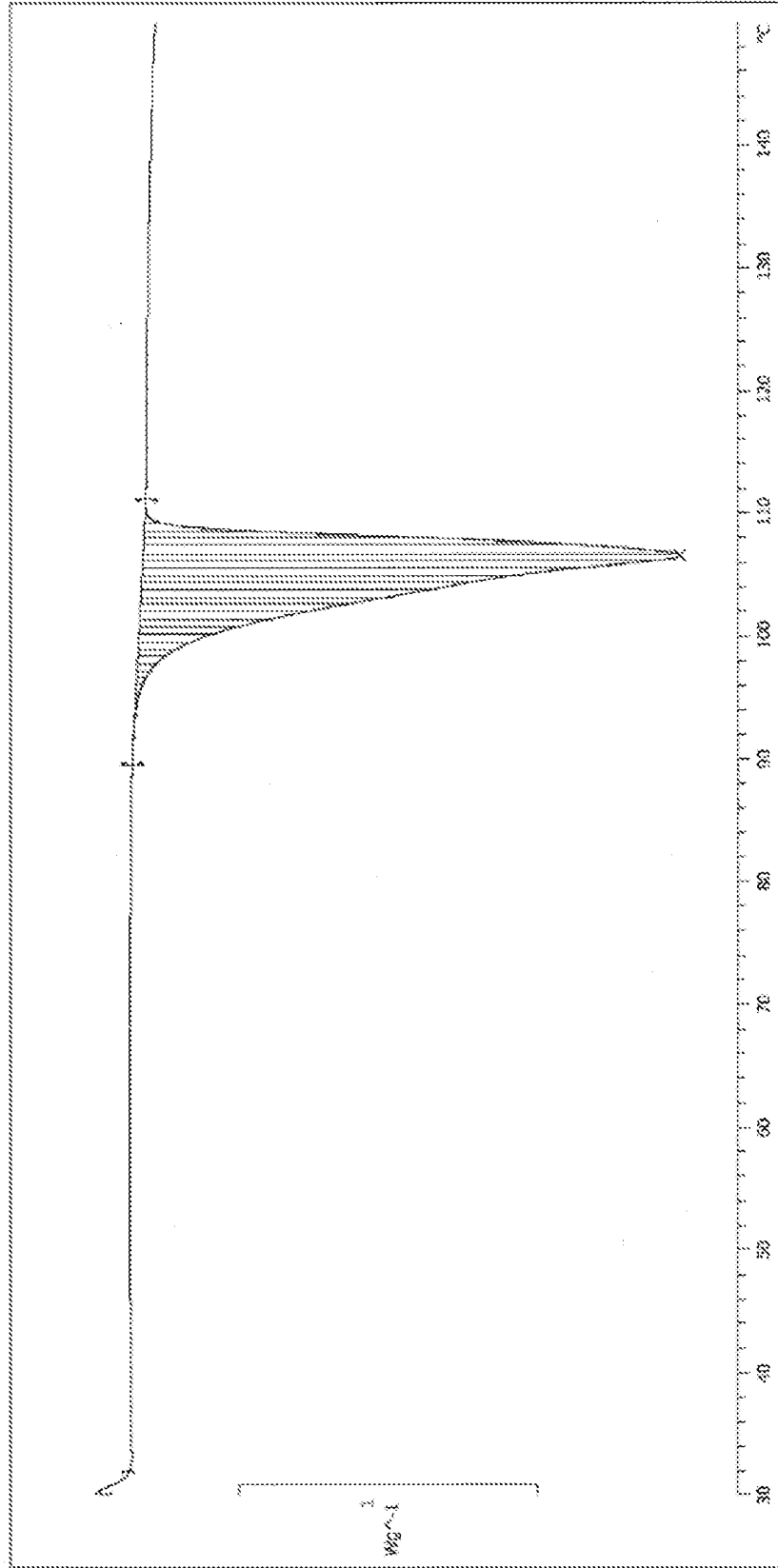
Termelés: 0,31g (49%), megfelel a **C** polimorf formának. DSC görbe a 7. ábrán, a porröntgen diffraktogram a 10. ábrán található.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

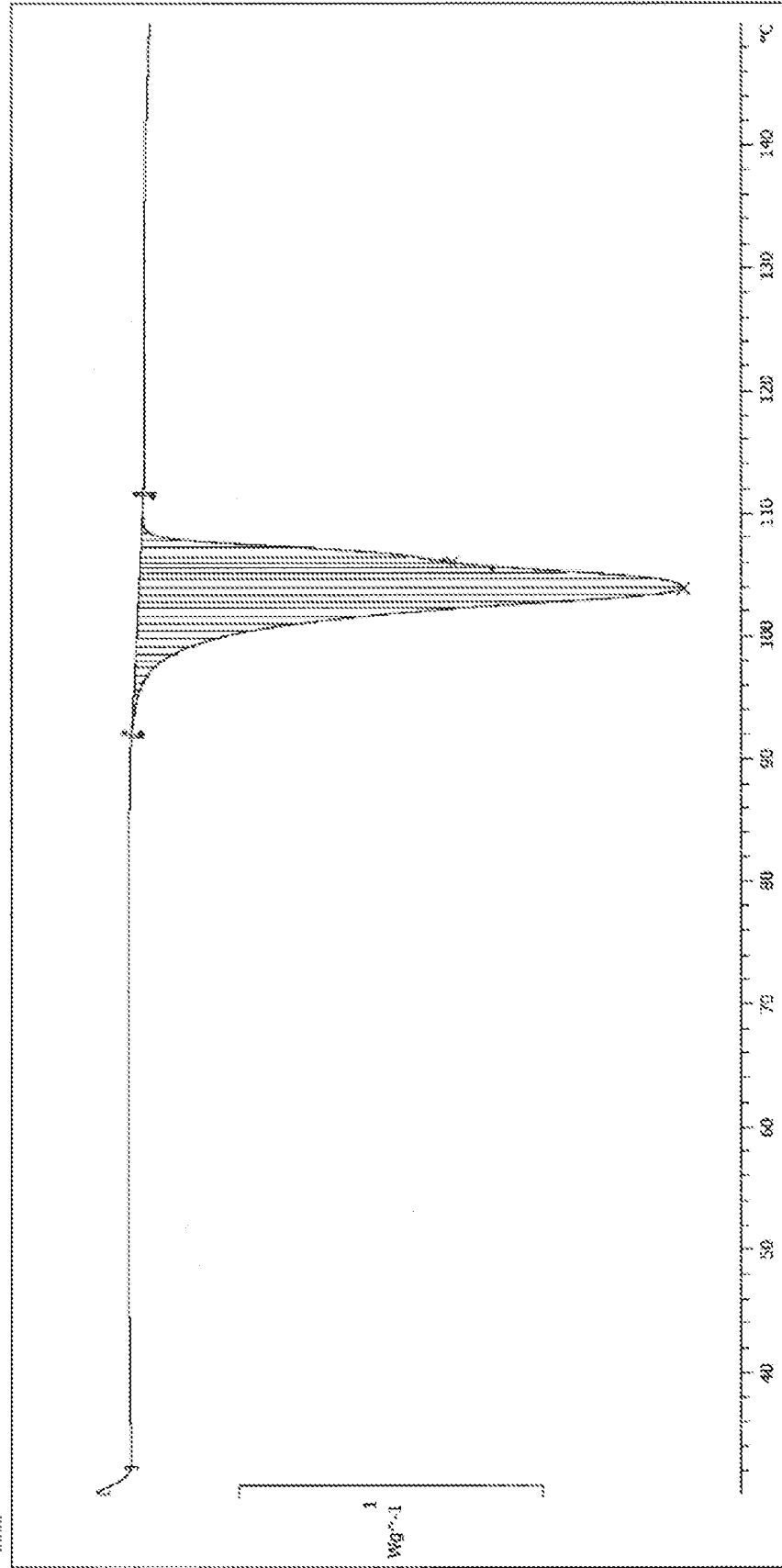
1. Eljárás treprostinil dietanol-amin só B polimorf formájának előállítására, azzal jellemezve, hogy
 - a. a treprostinilt metanolban oldjuk,
 - b. az oldathoz hozzáadjuk a dietanol-amint vagy metanolos oldatát,
 - c. a reakcióelegyet oldódásig kevertetjük,
 - d. a sóképzés lejátszódása után az oldathoz aprótikus oldószert adunk, ahol aprótikus oldószerként étereket, mint metil-*tercier*-butil-étert, diizopropil-étert, keton típusú oldószert, mint acetont, észter típusú oldószert, mint etil-acetátot vagy acetonitrilt alkalmazunk
 - e. az oldatot leszűrjük,
 - f. a szűrletet beoltjuk a treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formával,
 - g. a kapott kristály szuszpenzióhoz hozzáadjuk a második adag aprótikus oldószert,
 - h. a kristályosodás teljessé válásáig kevertetjük a szuszpenziót,
 - i. a kristályokat kinyerjük, mossuk, szárítjuk.
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a treprostinil és a dietanol-amin oldása 25-50°C-on történik.
3. A 2. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a treprostinil és a dietanol-amin oldása 30-40°C-on történik.
4. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy aprótikus oldószerként előnyösen metil-*tercier*-butil-étert alkalmazunk.
5. Eljárás a treprostinil dietanol-amin só A polimorf formájának vagy A és B polimorf formák keverékének átalakítására B polimorf formává azzal jellemezve, hogy
 - a. a treprostinil dietanol-amin sőt metanolban oldjuk,
 - b. az oldathoz aprótikus oldószert adunk, ahol aprótikus oldószerként étereket, mint metil-*tercier*-butil-étert, diizopropil-étert, keton típusú oldószert, mint acetont, észter típusú oldószert, mint etil-acetátot vagy acetonitrilt alkalmazunk.
 - c. az oldatot beoltjuk a treprostinil dietanol-amin só **B** polimorf formával,
 - d. a kapott kristály szuszpenzióhoz hozzáadjuk a második adag aprótikus oldószert,
 - e. a kristályosodás teljessé válásáig kevertetjük a szuszpenziót,
 - f. a kristályokat kinyerjük, mossuk, szárítjuk.
6. Az 5. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy aprótikus oldószerként előnyösen metil-*tercier*-butil-étert alkalmazunk.
7. Az 5. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a treprostinil dietanol-amin só oldása 25-50°C-on történik.
8. A 7. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy a treprostinil dietanol-amin só oldása 30-40°C-on történik.



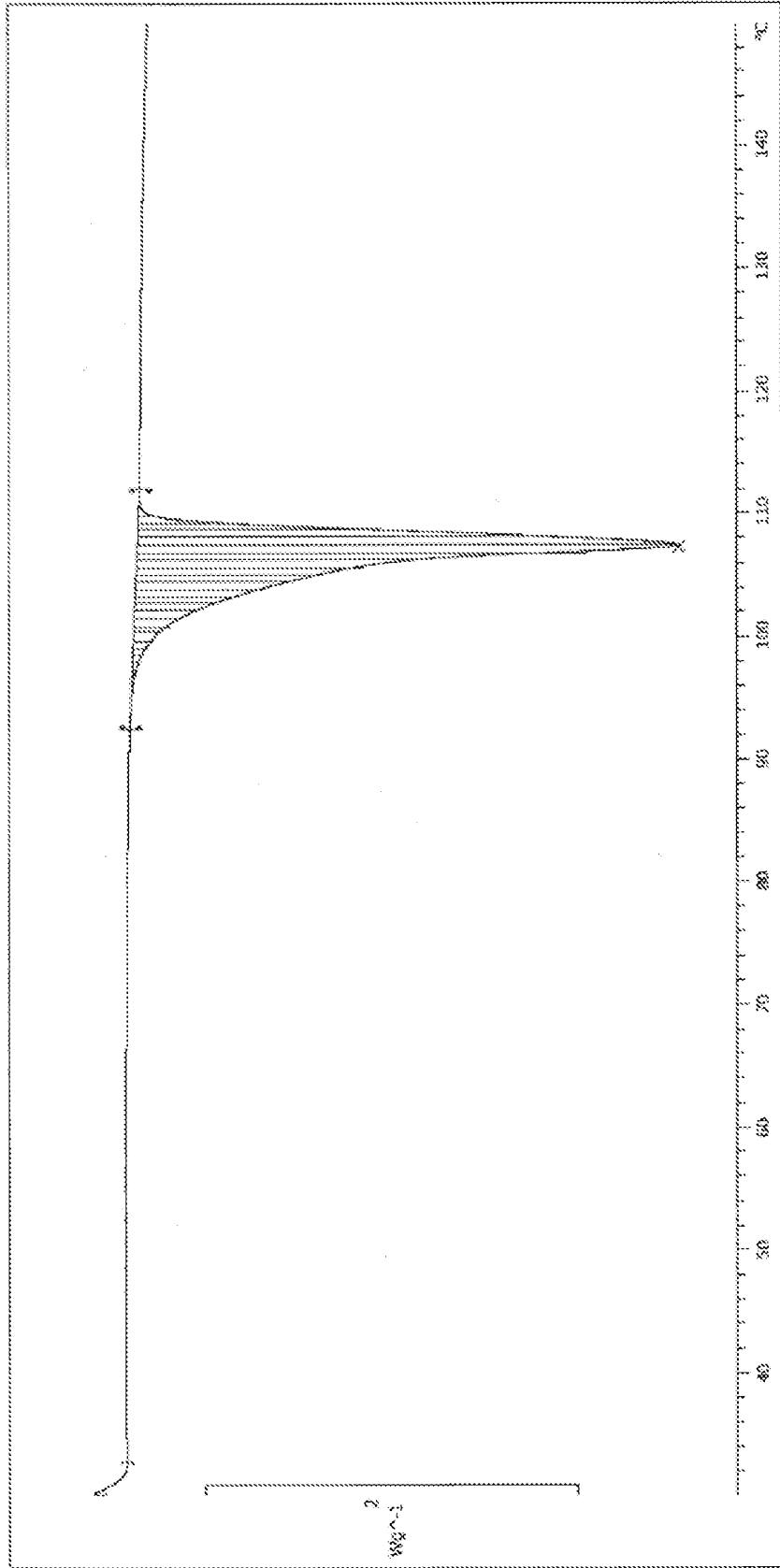
1. ábra



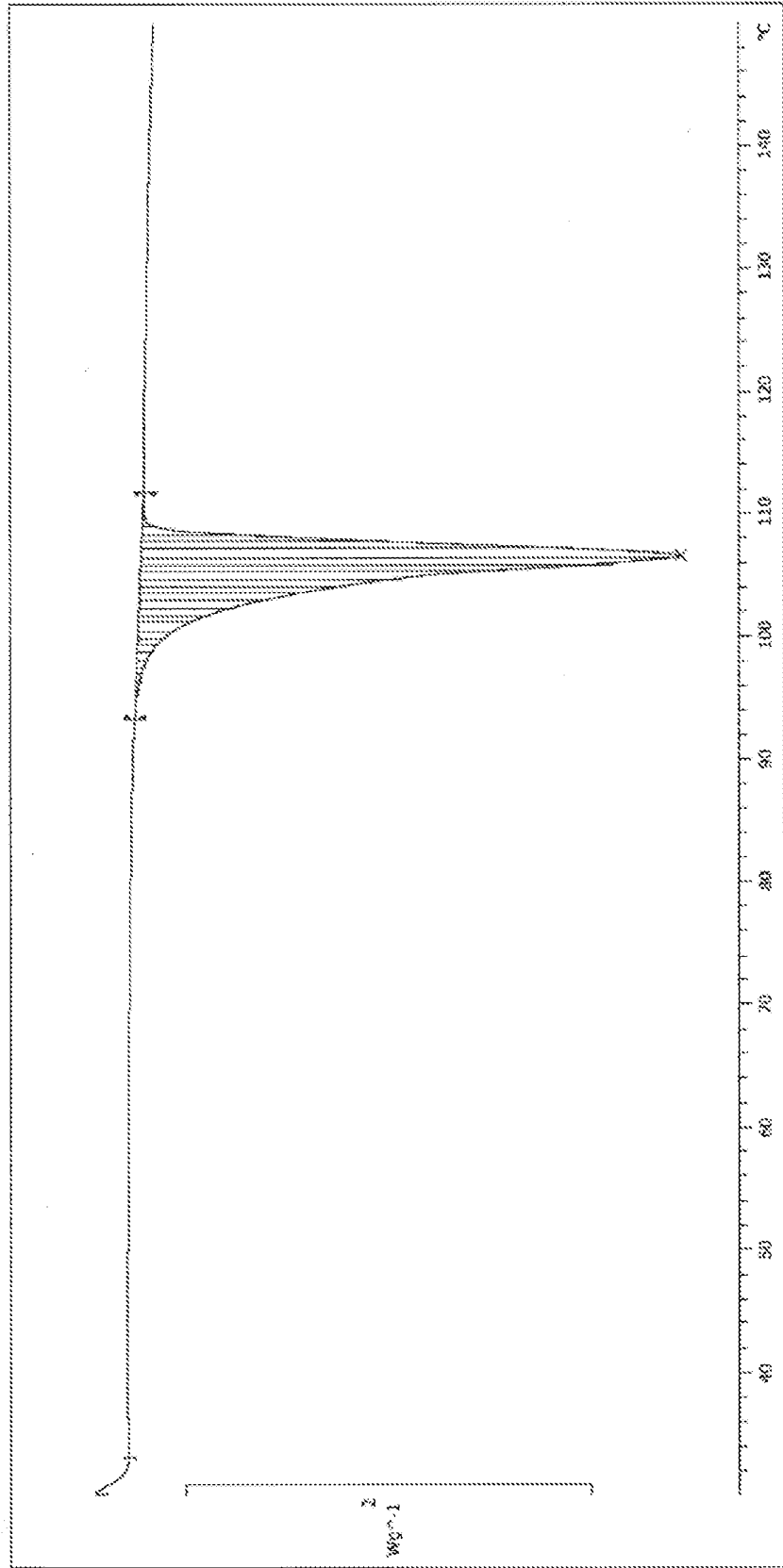
2. ábra



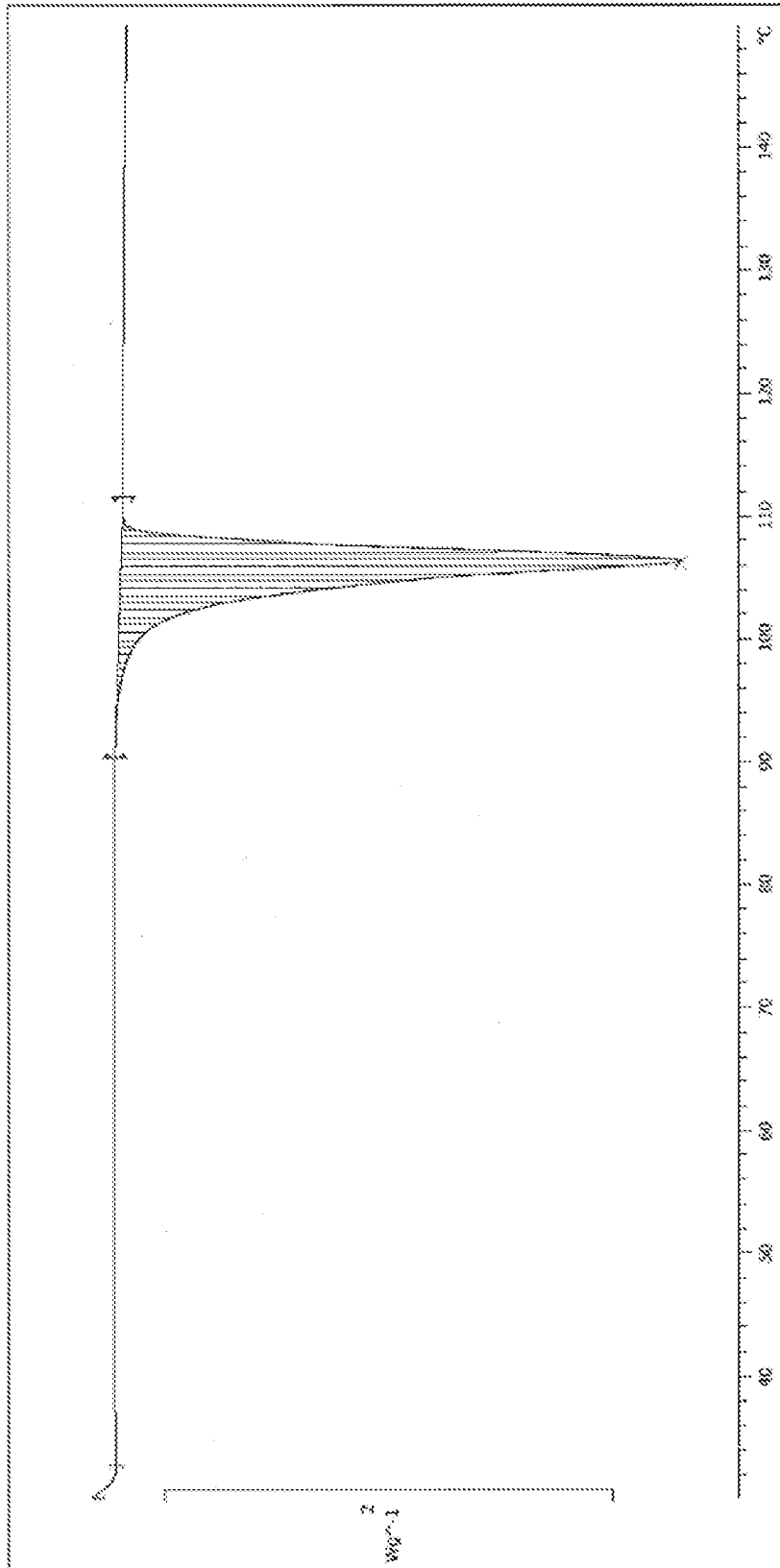
3. ábra



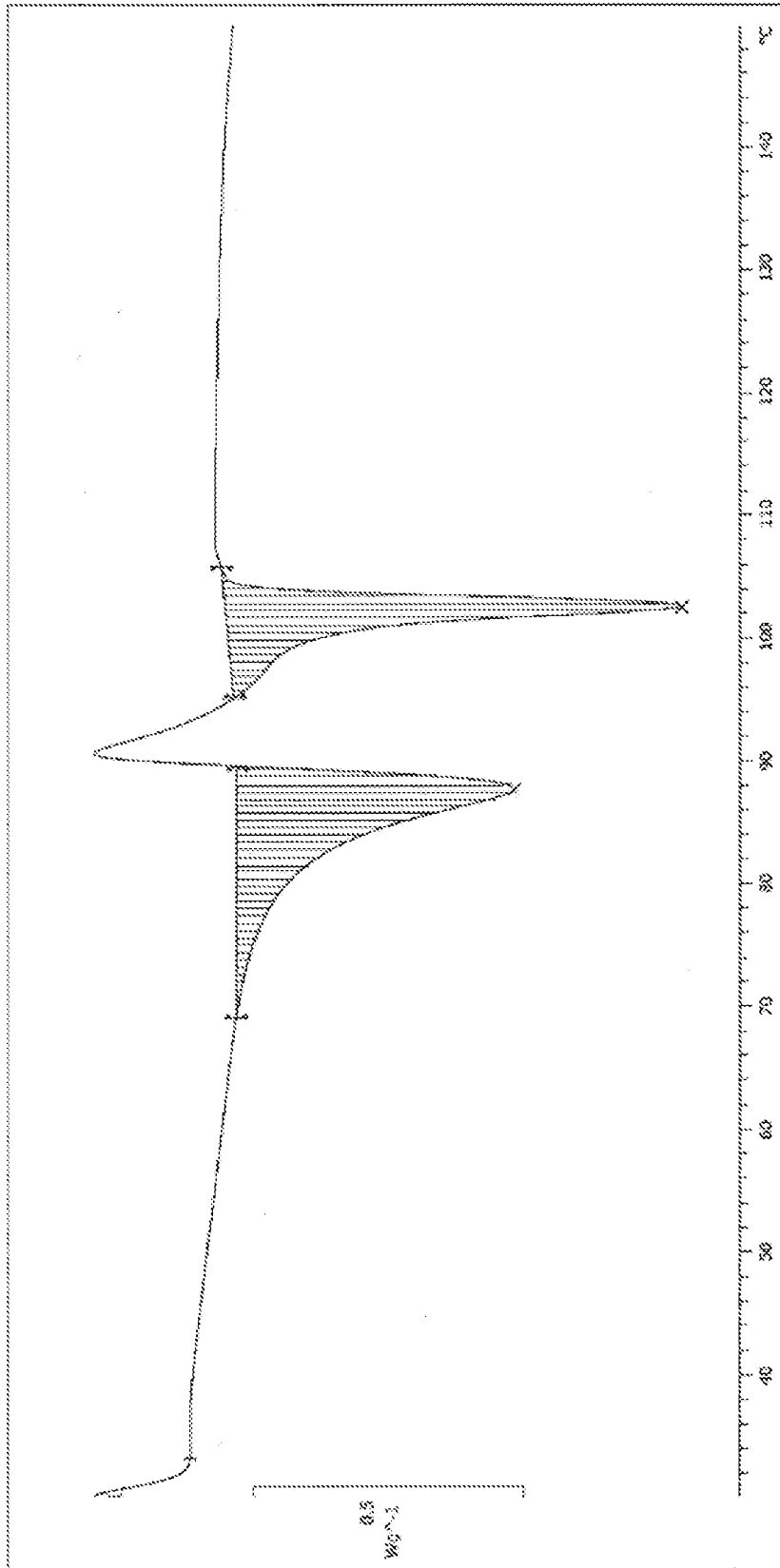
4. ábra



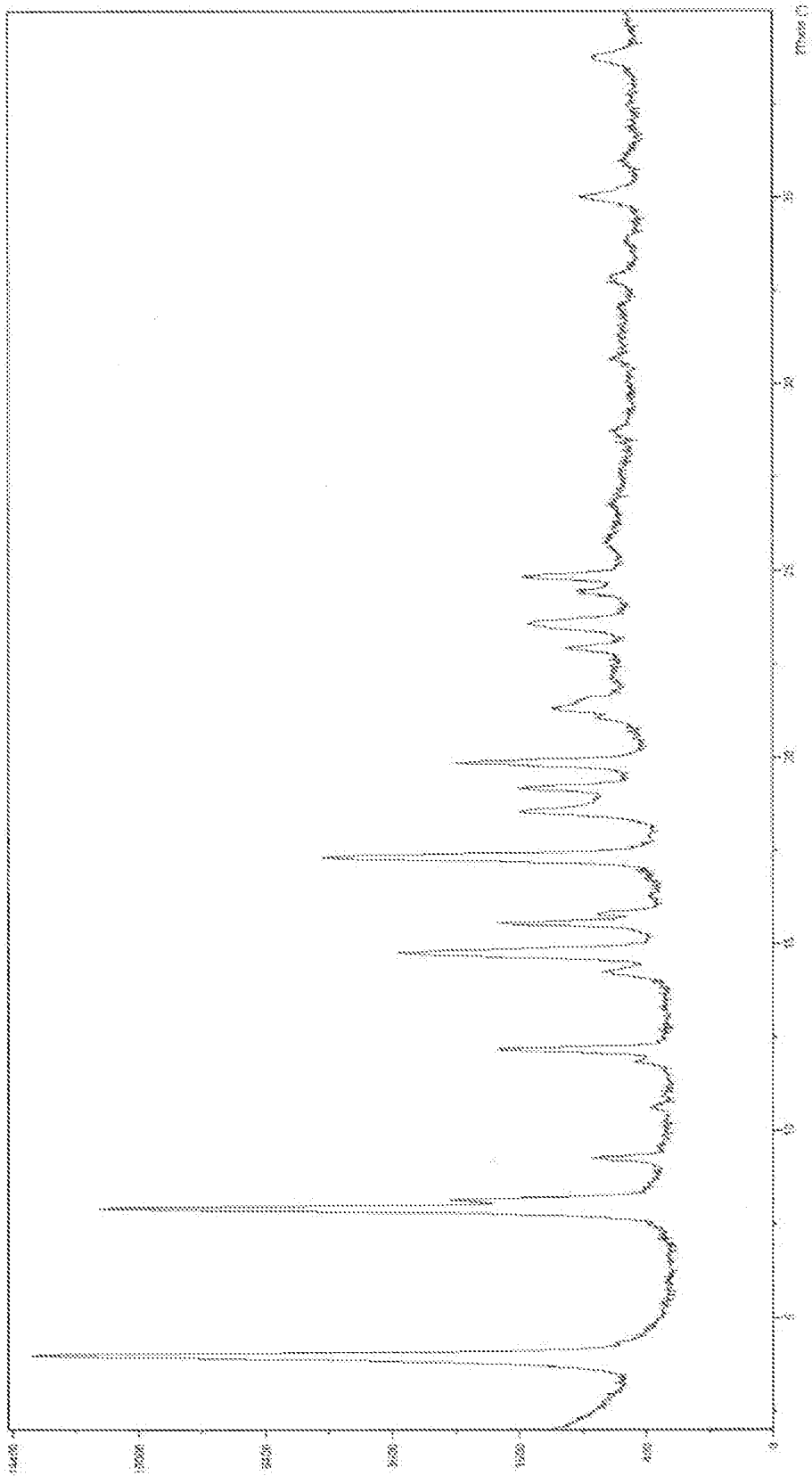
5. ábra



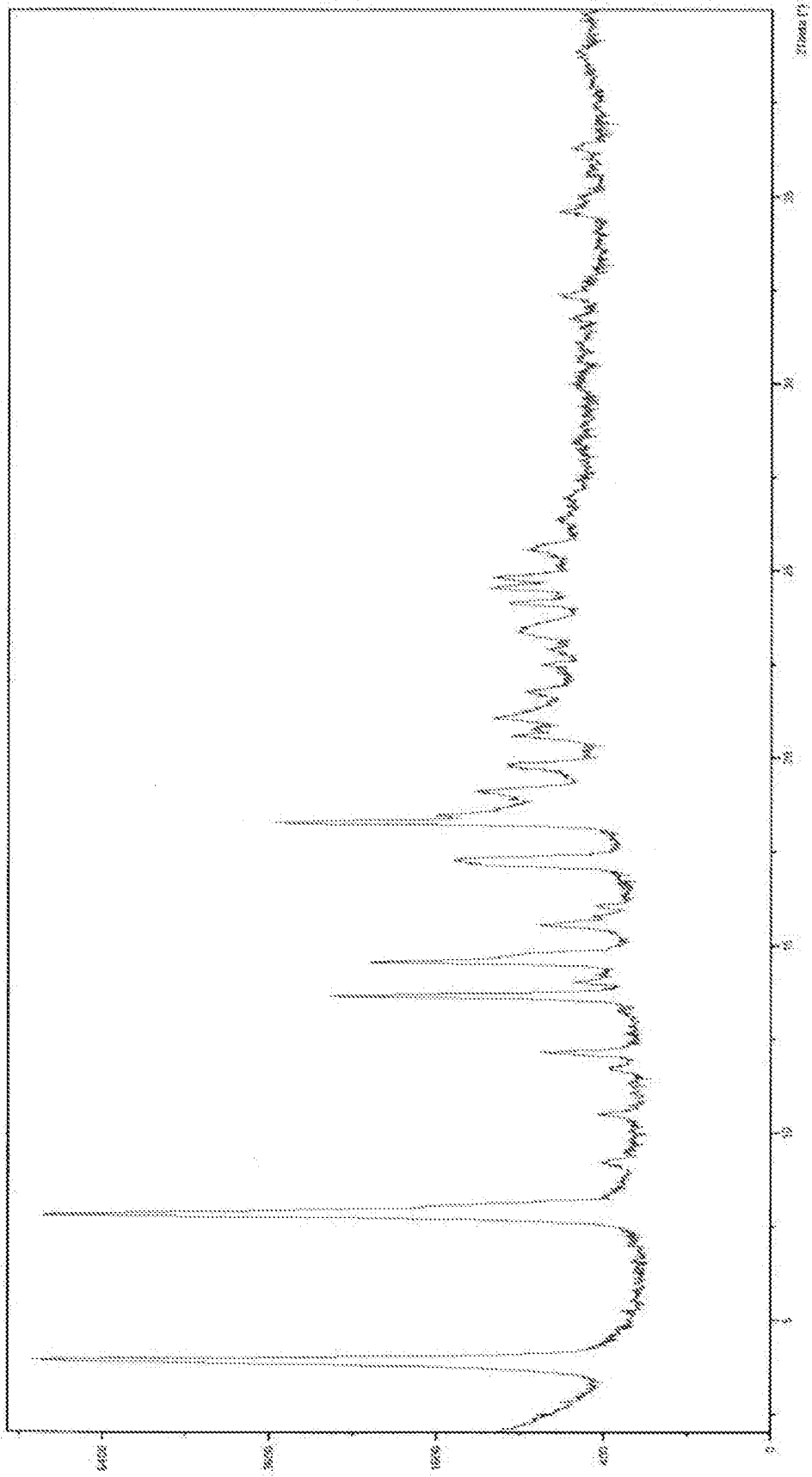
6. ábra



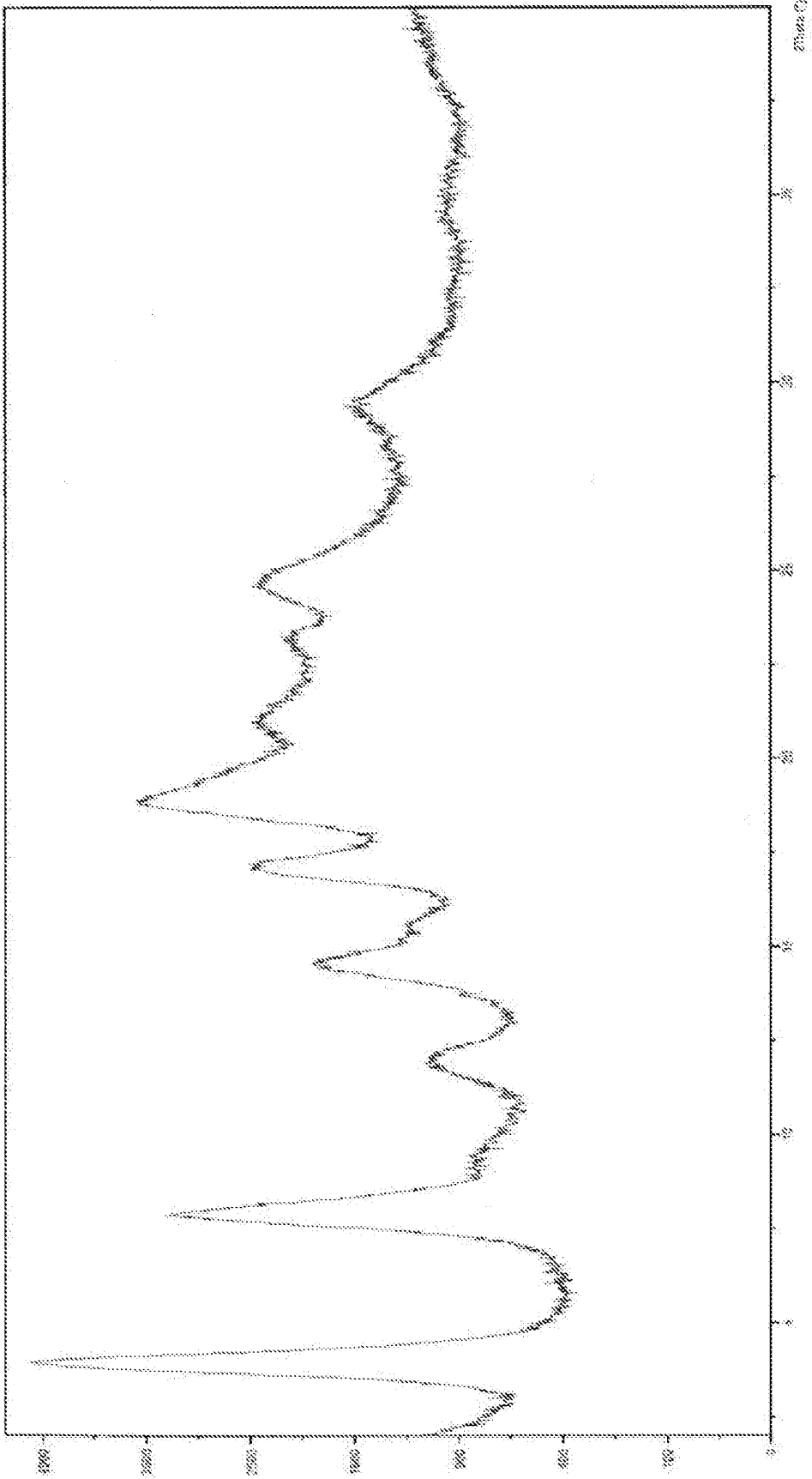
7. ábra



8. ábra



9. ábra



10. ábra