



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112055** (13) **C2**  
(51) МПК (2016.01)  
**A61K 9/16** (2006.01)  
**A61K 31/4152** (2006.01)  
**C07D 231/22** (2006.01)  
**A61P 25/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2012 07654</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Куберес-Алтісент Марія Роза (ES), Сола-Карандель Льюїс (ES), Гарсія-Коусейро Урко (ES)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>25.11.2010</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ЛАБОРАТОРЬОС ДЕЛЬ ДР. ЕСТЕВЕ, С.А., Avda. Mare de Déu de Montserrat, 221, E- 08041 Barcelona, Spain (ES)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.07.2016</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>09382261.7, 10382025.4</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2006/021462 A1, 02.03.2006 EP 2 113 501 A1, 04.11.2009 LEE S. ET AL.: "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Chapter 8 (Large-Scale Aspects of Salt Formation: Processing of Intermediates and Final Products, Chapter 12 (Monographs on Acids and Bases)", 1 January 2002 (2002-01-01), HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION, AND USE, ZURICH: VERL. HELVETICA CHIMICA ACTA; WEINHEIM [U.A]: WILEY-VCH, DE, PAGE (S) 191 - 192,211, XP002548973, ISBN: 978-3-906390-26-0, page 192, page 211 - page 213 BERGE S. M. ET AL.: "PHARMACEUTICAL SALTS", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION, WASHINGTON, US, vol. 66, no. 1, 1 JANUARY 1977 (1977-01-01), PAGES 1-19, XP002552191, ISSN: 0022-3549, DOI: 10.1002/JPS.2600660104, page 7, page 1, right-hand column, table 1
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>25.11.2009, 04.02.2010</b>	
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>EP, EP</b>	
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>10.10.2012, Бюл.№ 19</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.07.2016, Бюл.№ 14</b>	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>РСТ/EP2010/068256, 25.11.2010</b>	

**(54) СОЛІ 4-[2-[[5-МЕТИЛ-1-(2-НАФТАЛІНІЛ)-1Н-ПІРАЗОЛ-3-ІЛ]ОКСІ]ЕТИЛ]МОРФОЛІНУ****(57) Реферат:**

Даний винахід стосується солей 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1Н-піразол-3-іл]оксі]етил]морфоліну, особливо гідрохлориду, фармацевтичних композицій, що їх містять, і їх використання для лікування і/або профілактики захворювань, пов'язаних з сигма-рецептором.

**UA 112055 C2**



## Опис

Галузь техніки, до якої належить винахід

Даний винахід стосується солей 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну, фармацевтичних композицій, що їх містять, і їх використання для лікування і/або профілактики захворювань, пов'язаного з сигма рецептором.

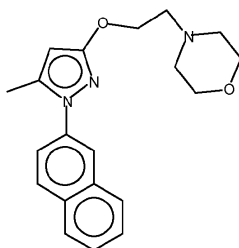
Відомий рівень техніки

Пошуку нових терапевтичних агентів в останні роки значно сприяло краще розуміння будови білків і інших біомолекул, пов'язаних із захворюваннями, що досліджуються. Одним важливим класом вказаних білків є сигма ( $\sigma$ ) рецептор, рецептор поверхні клітин центральної нервової системи (ЦНС), який може бути пов'язаний з дисфоричними, галюциногенними і стимулюючими серцеву діяльність ефектами опіоїдів. На основі вивчення біології і функцій сигма рецепторів, були представлені докази того, що ліганди сигма рецепторів можуть виявитися корисними при лікуванні психозів і рухових порушень, таких як дистонія і стареча дискінезія, і рухових розладів, пов'язаних з хореєю Хантінгтона або синдромом Тауретта, і при хворобі Паркінсона (Walker, J.M. et al, Pharmacological Reviews, 1990, 42, 355). Повідомлялося, що відомий ліганд сигма рецептора римказол при клінічному застосуванні демонструє ефекти при лікуванні психозів (Snyder, S.H., Largent, B.L. J. Neuropsychiatry 1989, 1, 7). Сайти зв'язування сигма рецепторів мають переважну спорідненість до правообертових ізомерів деяких опіатних бензоморфанів, таких як (+)SKF 10047, (+)циклазоцин, і (+)пентазоцин і також до деяких нарколептиків, таких як галоперидол.

Сигма рецептори бувають щонайменше двох підтипів, які можна диференціювати, використовуючи стереоселективні ізомери вказаних фармакоактивних лікарських засобів. SKF 10047 має наномольну спорідненість відносно сигма 1 ( $\sigma$ -1) сайту, і має мікромольну спорідненість відносно сигма 2 ( $\sigma$ -2) сайту. Галоперидол відрізняється аналогічною спорідненістю відносно обох підтипів. Ендогенні ліганди сигма рецепторів невідомі, хоча було висловлене припущення, що прогестерон є одним з них. Можливі ефекти лікарських засобів, що опосередковуються сигма-сайтами, включають модулювання функцій глутаматного рецептора, реакцій нейротрансмітера, нейропротекції, поведінки і пізнавальних здібностей (Quirion, R. et al. Trends Pharmacol. Sci., 1992, 13:85-86). Більшість досліджень мають на увазі, що сайти зв'язування сигма (рецептори) являють собою плазмалемальні елементи каскаду передачі сигналів. Лікарські засоби, про які повідомлялося, що вони є селективними лігандами сигма рецепторів, були оцінені як антипсихотики (Hanner, M. et al. Proc. Natl. Acad. Sci., 1996, 93:8072-8077). Існування сигма рецепторів в ЦНС, імунній і ендокринній системах передбачає імовірність того, що вони можуть служити зв'язком між вказаними трьома системами.

Враховуючи потенційні терапевтичні застосування агоністів або антагоністів вказаних сигма рецепторів, була зроблена множина спроб, спрямованих на виявлення селективних лігандів. Так, у відомому рівні техніки розкриті різні ліганди сигма рецепторів. 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфолін являє собою один з таких багатообіцяючих лігандів сигма рецептора. Вказана сполука і спосіб її отримання розкриті і заявлені в WO 2006/021462.

4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфолін являє собою високо селективний антагоніст сигма-1 ( $\sigma$ -1) рецептора. Він виявляє сильну анальгезуючу активність при лікуванні і профілактиці хронічного і гострого болю, і особливо, невропатичного болю. Молекулярна вага вказаної сполуки становить 337,42 а. о. м.(uma). Структурна формула вказаної сполуки має вигляд:



Для здійснення фармацевтичної розробки і реалізації потенціалу вказаної сполуки існує необхідність у вказаній галузі техніки в додаткових формах 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну, які полегшать отримання кращої якості композицій вказаного активного фармацевтичного інгредієнта. Крім того, нові форми вказаної сполуки можуть також поліпшити способи її виробництва, обробки і характеристик зберігання, а також його терапевтичних ефектів, таких як фармакологічні характеристики. У цьому плані альтернативні форми вказаної сполуки можуть мати досить різноманітні властивості, такі як, наприклад,

підвищена термодинамічна стабільність, вищий ступінь чистоти або поліпшена біодоступність (наприклад, поліпшена абсорбція, поліпшені характеристики розчинності). Специфічні форми сполуки можуть також полегшити отримання (наприклад, підвищити сипучість), обробку і зберігання (наприклад, зменшити гігроскопічність, збільшити термін зберігання) композицій сполуки або забезпечити використання нижчих доз терапевтичного агента, тим самим зменшуючи можливі побічні ефекти. Таким чином важливо створити такі форми, що мають бажані характеристики для фармацевтичного використання.

Суть винаходу

Автори даного винаходу після обширних досліджень різних форм 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну (що називається тут як "сполука 63"), із здивуванням виявили і продемонстрували, що деякі з його солей, і особливо гідрохлоридна сіль, забезпечують сприятливі властивості отримання, обробки, зберігання і/або терапевтичного застосування.

Таким чином, в першому аспекті даний винахід стосується солі 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну, вибраної з групи, що складається з етансульфонату, фумарату, гідрохлориду, малату, малеату, малонату і метансульфонату.

У переважному варіанті даний винахід стосується гідрохлоридної солі 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну (що називається тут як "P027" або "сполука прикладу 1").

Сполука P027 має молекулярну вагу 373,88 uma, pKa 6,73 і її температура плавлення становить 194,2 °C. Вказана сполука дуже добре розчиняється у воді і добре розчиняється в метанолі, 1n хлористоводневій кислоті і диметилсульфоксиді. Вона слабо розчиняється в етанолі, дещо розчиняється в ацетоні і практично не розчиняється в етилацетаті і 1n розчині гідроксиду натрію. Вказаний продукт демонструє кращий профіль розчинності і абсорбції in vivo ніж основа, що йому відповідає.

У іншому аспекті даний винахід стосується способу отримання гідрохлоридної солі 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну, який включає:

а) змішування 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну і розчину, що містить хлористоводневу кислоту, і

б) виділення отриманої гідрохлоридної солі.

Наступний аспект даного винаходу включає фармацевтичні композиції, які включають гідрохлорид 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну і фармацевтично прийнятний носій, ад'ювант або засіб доставки.

У наступному аспекті даний винахід стосується гідрохлориду 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну для використання як лікарського засобу, переважно як ліганд сигма рецептора, тобто для використання для лікування і/або профілактики опосередкованого рецептором сигма захворювання або стану.

Інший аспект даного винаходу стосується способу лікування і/або профілактики захворювань, опосередкованих сигма рецептором, причому вказаний спосіб включає введення потребуючому такого лікування пацієнту терапевтично ефективної кількості сполуки, як визначено раніше, або її фармацевтичної композиції.

Вказані аспекти і переважні варіанти даного винаходу додатково визначені в формулі винаходу.

Короткий опис креслень

Фіг. 1: диференціальна скануюча калориметрія (DSC=ДСК) сполуки прикладу 1.

Фіг. 2: термогравіметрія (TGA=ТГМ) сполуки прикладу 1.

Фіг. 3: спектр протонного ядерного магнітного резонансу (<sup>1</sup>H ЯМР) сполуки прикладу 1.

Фіг. 4: спектр протонного ядерного магнітного резонансу (<sup>1</sup>H ЯМР) сполуки 63.

Фіг. 5: спектр протонного ядерного магнітного резонансу (<sup>1</sup>H ЯМР) прикладу 2.

Фіг. 6: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) прикладу 2.

Фіг. 7: термогравіметрія (ТГМ) сполуки прикладу 2.

Фіг. 8: FTIR аналіз сполуки прикладу 2.

Фіг. 9 спектр протонного ядерного магнітного резонансу (<sup>1</sup>H ЯМР) сполуки прикладу 3.

Фіг. 10: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) сполуки прикладу 3.

Фіг. 11: термогравіметрія (ТГМ) сполуки прикладу 3.

Фіг. 12: FTIR аналіз сполуки прикладу 3.

Фіг. 13 спектр протонного ядерного магнітного резонансу (<sup>1</sup>H ЯМР) сполуки прикладу 4.

Фіг. 14: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) сполуки прикладу 4.

Фіг. 15: термогравіметрія (ТГМ) сполуки прикладу 4.

Фіг. 16: FTIR аналіз сполуки прикладу 4.

Фіг. 17 спектр протонного ядерного магнітного резонансу ( $^1\text{H}$  ЯМР) сполуки прикладу 5.

Фіг. 18: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) сполуки прикладу 5.

Фіг. 19: термогравіметрія (ТГМ) сполуки прикладу 5.

Фіг. 20: FTIR аналіз сполуки прикладу 5.

5 Фіг. 21: спектр протонного ядерного магнітного резонансу ( $^1\text{H}$  ЯМР) сполуки прикладу 6.

Фіг. 22: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) прикладу 6.

Фіг. 23: термогравіметрія (ТГМ) сполуки прикладу 6.

Фіг. 24: FTIR аналіз прикладу 6.

Фіг. 25: спектр протонного ядерного магнітного резонансу ( $^1\text{H}$  ЯМР) сполуки прикладу 7.

10 Фіг. 26: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) сполуки прикладу 7.

Фіг. 27: термогравіметрія (ТГМ) сполуки прикладу 7.

Фіг. 28: FTIR аналіз сполуки прикладу 7.

Фіг. 29: Термодинаміка розчинності для сполуки прикладу 1. Калібрувальна крива.

Фіг. 30: Концентрація сполуки прикладу 1 в плазмі щура.

15 Докладний опис переважного варіанту даного винаходу

Автори даного винаходу виявили, що сполука P027, яка являє собою  $\text{HCl}$  сіль 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну, має переваги, пов'язані з тим фактом (нарівні з іншими), що вона являє собою кристалічну тверду речовину, що спрощує виділення, очищення і подальшу обробку.

20 Дійсно, після обширного скринування солей автори виявили, що велике число кислот (наприклад, сірчана кислота або L-винна кислота) не утворюють твердої речовини при змішуванні з 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліном, а утворюють масло. Крім того, серед кислот, які можна використовувати для отримання солей в твердій формі, хлористоводнева кислота виявилася кислотою, яка забезпечує кращі результати з точки зору легкості отримання, фізичної стабільності, збільшення масштабу виробництва,

25 розчинності, і т. д. Таким чином, даний винахід стосується солі 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну, вибраної з групи, що складається з етансульфонату, фумарату, гідрохлориду, малату, малеату, малонату і метансульфонату. Вказані солі здатні забезпечити отримання кристалічної твердої речовини.

30 Переважно, даний винахід стосується гідрохлориду 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну (P027).

Гідрохлоридну сіль 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну можна отримати, додаючи розчин хлористоводневої кислоти до відповідної йому основи, розчиненої у відповідному розчиннику. У конкретному варіанті сполуку P027 зручно отримувати,

35 розчиняючи вказану сполуку у вигляді вільної основи в етанолі, насиченому  $\text{HCl}$ . Як було вказано раніше, повідомлялося, що 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфолін являє собою високо селективний антагоніст сигма-1 ( $\sigma$ -1) рецептора, демонструючи високу анальгезуючу активність при лікуванні і профілактиці хронічного і гострого болю, і особливо, невропатичного болю (див. WO 2006/021462). Тепер авторами було

40 виявлено, що гідрохлоридна сіль 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну особливо підходить як лікарський засіб. Тому в даному винаході далі запропоновані лікарські засоби або фармацевтичні композиції, що включають гідрохлорид 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]окси]етил]морфоліну разом з фармацевтично прийнятним носієм, ад'ювантом або засобом доставки для введення пацієнту.

45 Більш конкретно, сполуку P027 можна використовувати для лікування і/або профілактики захворювання або стану опосередкованого рецептором сигма.

У більш переважному варіанті сполуку P027 використовують для отримання лікарського засобу для лікування і/або профілактики захворювання, вибраного з групи, що складається з діареї; ліпопротеїнових порушень; мігрені; ожиріння; артриту; гіпертонії; аритмії; виразки; дефіциту опромінювання, пам'яті і уваги; порушень пізнавальних здібностей; нейродегенеративних розладів; демієнілізуючих захворювань; залежності від лікарських засобів і хімічних речовин, включаючи кокаїн, амфетамін, етанол і нікотин; пізньої дискінезії; ішемічного удару; епілепсії; удару; стресу; рака; психотичних станів, зокрема, депресії, тривожних станів або шизофренії; запалень; або аутоімунних захворювань.

55 Допоміжні матеріали або добавки в фармацевтичних композиціях даного винаходу можна вибрати з носіїв, ексципієнтів, матеріалів основи, мастильних агентів, наповнювачів, розчинників, розріджувачів, барвників, кондиціонерів смаку, таких як цукор, антиоксидантів, зв'язуючих, адгезивів, розпушувачів, речовин, сприяючих ковзанню, і/або аглютинуючих агентів. У випадку супозиторіїв можуть бути використані воски або складні ефіри жирних кислот або консерванти, емульгатори і/або носії для парентеральних застосувань. Вибір вказаних

60

допоміжних матеріалів і/або добавок і необхідні для використання кількості будуть залежати від форми застосування фармацевтичної композиції.

Лікарські засоби або фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу можуть бути в будь-якій формі, придатній для застосування для людей і/або тварин, переважно людей, включаючи немовлят, дітей і дорослих, і можуть бути отримані стандартними способами відомими фахівцям в даній галузі. Тому композиції відповідно до даного винаходу можуть бути адаптовані для місцевого або системного застосування, зокрема, для шкірного, трансдермального, підшкірного, внутрішньом'язового, внутрішньосуглобового, внутрішньоочеревинного, внутрішньовенного, внутрішньоартеріального, інтравезикального, внутрішньокишкового, інтракавернозного, легеневого, трансбукального, сублінгвального, внутрішньоочного, інтраветріального, інтраназального, черезшкірного, ректального, вагінального, перорального, епідурального, інтратекального, інтравентрикулярного, інтрацеребрального, інтрацеребровентрикулярного, інтрацистернального, інтраспінального, периспінального, інтракраніального способів введення, або для доставки за допомогою голок або катетерів з використанням або без використання помпових пристроїв.

Згадані композиції можна отримати, використовуючи стандартні способи, такі як ті, що розкриті або на які є посилання в фармакопеях Іспанії і США і в аналогічних посилальних текстах.

У одному варіанті даного винаходу переважно, щоб сполука P027 була використана в терапевтично ефективних кількостях. Лікар визначає дозу присутнього терапевтичного агента, яка буде найвідповіднішою, і ця доза буде змінюватися залежно від форми введення і конкретної вибраної сполуки, і крім того, вона буде змінюватися залежно від підлягаючого лікуванню пацієнта, віку пацієнта, що підлягає лікуванню, типу захворювання або стану. Якщо композицію вводять перорально, будуть потрібні великі кількості активного агента для досягнення такого ж ефекту, який досягається при введенні менших кількостей, але парентерально. Вказану сполуку можна використовувати таким же чином, що і порівнювані терапевтичні агенти, і рівні доз можуть бути того ж порядку величини, що і дози, які звичайно використовуються для вказаних інших терапевтичних агентів. Вказану активну сполуку звичайно вводять один або більше разів на день, наприклад, 1, 2, 3 або 4 рази щоденно, причому звичайна повна денна доза знаходиться в інтервалі від 0,1 до 1000 мг/кг/день.

Наступні приклади просто ілюструють деякі варіанти даного винаходу і їх ніяким чином не треба розглядати як такі, що обмежують винахід.

#### ПРИКЛАДИ

##### Аналітичні методи

Для ідентифікації отриманих різних солей сполуки 63 в даному винаході були використані наступні методики:

- Диференціальний скануючий калориметричний аналіз (ДСК).

ДСК аналізи реєструють за допомогою диференціального скануючого калориметра Mettler Toledo DSC822e. Зразки масою 1-2 мг зважують в 40 мкл алюмінієві тиглі з кришкою з маленькими отворами, і нагрівають в атмосфері азоту (50 мл/хв), від 30 до 300°C при швидкості нагрівання 10°C/хв. Збирання даних і їх оцінку здійснюють, використовуючи програмне забезпечення STARe.

- Термогравіметричний аналіз (ТГМ).

Термогравіметричний аналіз здійснюють, використовуючи термогравіметричний аналізатор Mettler Toledo SDTA851e. Зразки масою 3-4 мг зважують (використовуючи мікромасштабні ваги MX5, Mettler) у відкриті 40 мкл алюмінієві тиглі, і нагрівають зі швидкістю 10°C/хв від 30 до 300°C, в атмосфері азоту (80 мл/хв). Збирання даних і їх оцінку здійснюють, використовуючи програмне забезпечення STARe.

- Протонний ядерний магнітний резонанс (<sup>1</sup>H-ЯМР).

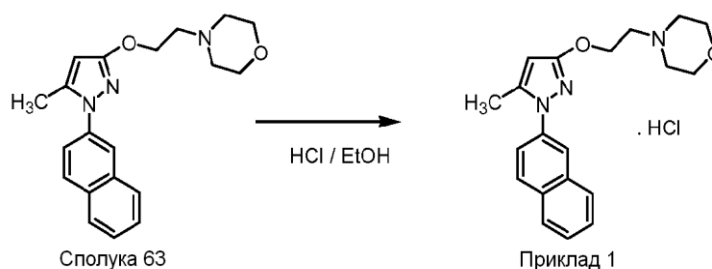
Сpektри протонного ядерного магнітного резонансу записують в дейтерованому хлороформі або метанолі на спектрометрі Bruker Avance 400 Ultrashield NMA, забезпеченому з z-градієнтом 5 мм BBO (Broadband Observe) зондом з ATM і автоматичним BACS-120 автосемплером. Сpektри отримують, розчиняючи 2-10 мг зразка в 0,7 мл дейтерованого розчинника.

- Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR).

FTIR спектри записують, використовуючи прилад Bruker Tensor 27, забезпечений MKII із золотими ґратами однократного відображення (golden gate single reflection) ATR системою, джерелом випромінювання в середньому діапазоні інфрачервоного випромінювання як джерело збудження і DTGS детектором. Сpektри нагромаджують за 32 скани при розрізненні 4 см<sup>-1</sup>. Для здійснення вказаного аналізу не потрібно підготовки зразків.

Приклад 1

Синтез 4-{2-[5-метил-1-(нафталін-2-іл)-1Н-піразол-3-ілокси]етил}морфоліну (сполука 63) і його гідрохлоридної солі (приклад 1)



Сполуку 63 можна отримати способом, розкритим в попередній заявці WO 2006/021462.

5 Гідрохлорид сполуки можна отримати наступним способом:

Сполуку 63 (6,39 г) розчиняють в етанолі, насиченому HCl, потім отриману суміш перемішують протягом декількох хвилин, і випаровують досуха. Залишок кристалізують з ізопропанолу. Маточний розчин після першої кристалізації забезпечує можливість другої кристалізації в результаті концентрування. В результаті обох кристалізацій разом отримують 5,24 г (63 %) відповідної гідрохлоридної солі (Т. пл.=197-199 °C).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ м. ч.: 10,85 (ушир. с, 1H), 7,95 (м, 4H), 7,7 (дд, J=2,2, 8,8 Гц, 1H), 7,55 (м, 2H), 5,9 (с, 1H), 4,55 (м, 2H), 3,95 (м, 2H), 3,75 (м, 2H), 3,55-3,4 (м, 4H), 3,2 (м, 2H), 2,35 (с, 3H).

Ступінь чистоти по даних ВЕРХ становить 99,8 %.

Використовуючи вказаний спосіб, гідрохлоридну сіль отримують у вигляді кристалічної твердої речовини з дуже хорошим виходом. Крім того, його висока температура плавлення особливо зручна з фармацевтичної точки зору, оскільки ця властивість забезпечує хорошу фізичну стабільність продукту.

Екстрагування сполуки 63 з її гідрохлоридної солі (приклад 1)

Зразком, що використовується в даному винаході, є сполука прикладу 1. Основу (сполуку 63) екстрагують, використовуючи  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  з основного водного розчину ( $\text{pH} > 10$ , використовуючи 0,5 М водний розчин  $\text{NaOH}$ ) сполуки прикладу 1, отримуючи масло оранжевого кольору.

## Загальний спосіб кристалізації інших солей сполуки 63

Солі отримують, спочатку змішуючи 1 мл 0,107 М розчину сполуки 63, у вигляді отриманого раніше масла оранжевого кольору (див. приклад 1) в метанолі, з 1 мл 0,107 М розчину відповідного протиіона в метанолі. Отриману суміш перемішують протягом однієї години, і розчинник випаровують у вакуумі (Genevac, 8 мм рт. ст.), отримуючи масло або тверду речовину білого кольору залежно від солі.

Продукт, отриманий на початку процесу отримання, розчиняють в мінімальній кількості кристалізаційного розчинника при його температурі кипіння або максимально при температурі 75 °С. Якщо після додавання 4 мл розчинника сіль не розчиняється повністю, суспензію перемішують при високій температурі протягом 30 хвилин, і залишок розділяють, використовуючи гаряче фільтрування або центрифугування. Маточний розчин охолоджують до кімнатної температури і зберігають протягом 24 годин.

Якщо утворюється тверда речовина, її виділяють (використовуючи фільтрування або центрифугування). Якщо немає, розчин витримують в холодильнику (4°C) протягом декількох днів. Якщо утворюється тверда речовина, її виділяють з розчину. В тому випадку, якщо після всіх вказаних маніпуляцій тверда речовина не утворюється, розчин залишають випаровуватися досуха.

Всі отримані тверді речовини сушать у вакуумному термостаті при 40°C (10 мм рт. ст.) протягом 4 годин, і, якщо отримують достатню кількість, проводять аналізи. Спочатку здійснюють характеризацію, використовуючи <sup>1</sup>H-ЯМР для підтвердження отримання солі. Використані в даному винаході розчинники перераховані в таблиці 1.

Таблиця 1

Розчинники, використані в даному винаході

Назва	Код	Т. кип. °C	Т. пл. °C	Діелектрична стала
Ацетон	ACOB	56	-94	20,7
Ацетонітрил	ACN	81	-46	38,8
Етилацетат	AET	77	-84	6
Хлороформ	CLF	61	-63	4,8
N, N-диметилформамід	MF	153	-98	36,7
Етанол	EOT	78	-114	24,6
Ізопропанол	IPH	82	-90	19,9
Метанол	MOH	65	-98	32,7
Тетрагідрофуран	THF	66	-108	20,4
Диметилкарбонат	CDM	90	3	3,1
Вода	H <sub>2</sub> O	100	0	80
2-бутанол	BUL	98	-115	16,6
Метил-трет-бутиловий ефір	MTE	55	-109	2,6
Діізопропіловий ефір	DIE	68	-86	3,9
Ізобутилацетат	AIB	117	-99	5
Хлорбензол	CLB	132	-45	5,6
Циклогексан	CHE	81	6	2,2
3-пентанон	POA	102	-40	17
Толуол	TOL	110	-93	7,6

Кислоти, які використовують для дослідження кристалічних солей сполуки 63, вибирають відповідно до наступних критерій (таблиця 2):

- 5 - Кислоти, у яких рКа щонайменше на три одиниці менше, ніж у сполуки 63 (рКа 6,7).  
 - Кислоти, які є фармацевтично прийнятними сполуками.

10 Хоча у деяких з вибраних кислот можливі два або навіть три (лимонна кислота) кислотних положення, в принципі, тільки сірчана кислота має другий кислотний протон достатній для утворення дисолі із сполукою 63. Таким чином, усього існує одинадцять різних солей, які можуть утворитися.

Таблиця 2

Кислоти, вибрані як протиіони

Кислота	Код	Ступінь чистоти (%)	pKa1	pKa2	pKa3
Сірчана кислота	SFT	95-97	-3	1,9	-
Метансульфонова кислота	MSF	99,5	-1,2	-	-
Етансульфонова кислота	ESF	95,0	2,05	-	-
Фумарова кислота	FMT	99,5	3,03	4,38	-
L(-)-яблучна кислота	LML	99,5	3,46	5,10	-
Малонова кислота	MLO	99,0	2,83	5,70	-
Малеїнова кислота	MLE	99,0	1,92	6,23	-
Лимонна кислота	CTR	99,5	3,13	4,76	6,40
Гліколева кислота	GLY	99,0	3,82	-	-
L(+)-винна кислота	LTT	99,5	3,02	4,36	-

Загальна стратегія, створена для дослідження кристалічних солей сполуки 63, розділяється на три стадії:

- 15 Стадія 1: Скринування по кристалізації солей  
 Стадія 2: Оптимізація і характеристика солей  
 Стадія 3: Крупномасштабне отримання вибраних солей

Спочатку кристалізаційне скринування здійснюють, використовуючи вибрані протиіони, представлені в таблиці 2, в пошуках багатообіцяючих кристалічних солей. Скринування



здійснюють в маленькому масштабі (40 мг сполуки 63), використовуючи широкий інтервал кристалізаційних розчинників (таблиця 1) і різні методики кристалізації. При скринуванні, умови кристалізації суворо не контролюються, і отримані тверді речовини характеризують за допомогою  $^1\text{H}$ -ЯМР. ЯМР спектроскопія є хорошим свідченням утворення солей, оскільки спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР солі істотно відрізняється від спектра суміші кислоти і основи. Спостерігається чіткий зсув сигналів, пов'язаних з воднями, близькими до протонowanego азоту. Крім того, якщо кислотний протіоіон має характеристичний сигнал в спектрі  $^1\text{H}$ -ЯМР, його можна ідентифікувати, що дозволяє визначити стехіометрію солі і отримати якісне уявлення про ступінь чистоти солі.

На другій стадії, всі кристалічні солі отримують в більшому масштабі, в масштабі 100-500 мг в розчинниках, які показали найкращі результати під час процедури скринування. Крім того, використовують спосіб кристалізації, який можна використовувати для промислового виробництва. Отримані солі повністю характеризують, використовуючи результати  $^1\text{H}$ -ЯМР, ДСК, ТГМ і FTIR. Метою вказаної стадії є, по-перше, створення процедури з масштабом, що змінюється, для отримання вибраних солей з виходом, що оптимізується, і, по-друге, повна характеристика отриманих солей.

І, нарешті, групу вибраних кристалічних солей з адекватними властивостями твердого стану (кристалічність і термостабільність) отримують в масштабі 2-3 г, починаючи із сполуки 63.

Від кристалізаційного скринування солей до отримання солей у великому масштабі (стадії 1-3)

Спочатку, кристалізаційне скринування сполуки 63 з десятима протіоіонами, представленими в таблиці 2, здійснюють в масштабі 40 мг, в наступних десяти розчинниках: в ацетоні, етилацетаті, хлороформі, N, N-диметилформаміді, метанолі, етанолі, ізопропанолі, 2-бутанолі, ацетонітрилі і тетрагідрофурані. Процедуру починають з приготування еквімолярних сумішей, з відомих концентрацій метанольних розчинів сполуки 63 і різних протіоінів кислот. Отриманий сирий продукт після випаровування метанолу кристалізують із вказаних раніше гарячих розчинників. Використовують різні стратегії кристалізації залежно від розчинності суміші кожної кислоти і сполуки 63, і тому тверді речовини отримують, використовуючи різні процедури. Для деяких кислот отримана суміш не розчиняється в гарячому кристалізаційному розчиннику, утворюючи суспензію твердої речовини. У інших випадках тверда речовина кристалізується при охолодженні розчину до кімнатної температури, або після декількох днів зберігання при 4 °C або при -18 °C. І, нарешті, при деяких спробах кристалізації, тверда речовина утворюється після повільного випаровування розчинника при кімнатній температурі. У деяких випадках отримують більше ніж одну тверду речовину за спробу кристалізації.

Зі вказаного першого кристалізаційного скринування (таблиця 3), можна зробити наступні спостереження:

- Кристалічні солі сполуки 63 з фумаровою і малеїновою кислотами отримують в більшості аналізованих розчинників. Для обох кислотних протіоінів отримують декілька кристалічних твердих речовин, включаючи сольвати. Всі тверді речовини відповідають еквімолярним солям.

- Еквімолярна суміш сполуки 63 і лимонної кислоти виявляється дуже добре розчинною в переважній більшості досліджених розчинників. Тому, велику частину твердих речовин отримують після завершення випаровування розчинника. Крім того, отримані тверді речовини відрізняються низькою кристалічністю або містять значні кількості залишкових розчинників. Найбільш ймовірно, що низьокристалічні тверді речовини утворюються з десольватованих сольватів.

- Еквімолярна суміш сполуки 63 і гліколевої кислоти виявилася дуже добре розчинною в переважній більшості досліджених розчинників. Тому, більшість твердих речовин отримують після завершення випаровування розчинника, і деякі являють собою суміші твердих речовин.

- Кристалічні солі сполуки 63 з етансульфонової, L-яблучної і маленової кислотами отримують тільки в одному або в двох з аналізованих розчинників в умовах дуже високих концентрацій. Більшість твердих речовин отримують після завершення випаровування розчинника.

- Не було отримано кристалічних твердих речовин сполуки 63 з сірчаною, метансульфоновою і L-винною кислотами. Суміші основи і кислоти виявилися добре розчинні у всіх аналізованих розчинниках, і після завершення випаровування розчинника отримують або масла або некристалічні тверді речовини.

Таблиця 3

Результати першого кристалізаційного скринування з десятима кислотними протиіонами

Кислотний протиіон/розчинник	ACE	AET	CLF	DMF	MOH	EOH	IPH	BUL	ACN	THF
Сірчана кислота (SFT)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло
Метансульфонова кислота (MSF)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло
Етансульфонова кислота (ESF)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	S1	Масло
Фумарова кислота (FMT)	S1(розчинник) S2	S6(розчинник)	S6(кислота)	Масло	S3	S5	S3	S3	S3+S5	S4(розчинник)
Л-яблучна кислота (LML)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	S1	Масло	S1	Масло
Малеїнова кислота (MLE)	S1	S1	S2	S4	S1	S1	S1	S1	S4	S3(розчинник)
Малонова кислота (MLO)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	S1	Масло	Масло	Масло
Лимонна кислота (CTR)	S1	S1	S2(розчинник)	Масло	S3	S3	S4(розчинник)	Масло	S3	Масло
Гліколева кислота (CLY)	S1	S1+S2	S1+S2	S1	S1	S3(розчинник)	S1+S2	S1+S2	S1	S1+S2
Л-вінна кислота (LTT)	Масло	Non-c	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло

\*S: Кристалічна тверда речовина, s: низькокристалічна тверда речовина, Non-c: некристалічна

3 урахуванням вказаних результатів друге кристалізаційне скринування здійснюють в дев'яти додаткових розчинниках. Менш полярні розчинники (ізобутилацетат, диметилкарбонат, хлорбензол, циклогексан, 3-пентанон, толуол, метил-трет-бутиловий ефір, діізопропіловий ефір) і воду вибирають для зниження розчинності солей (таблиця 4).

Таблиця 4

Результати другого кристалізаційного скринування з дев'ятьма кислотними протиіонами

Цільова сіль/розчинник	DIE	MTE	H <sub>2</sub> O	AIB	CDM	CLB	CHE	POA	TOL
Сірчана кислота (SFT)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло
Етансульфонова кислота (ESF)	Масло	S2	Масло	S2	Масло	Масло	Масло	Масло	S2
Метансульфонова кислота (MSF)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	S1
Л-яблучна кислота (LML)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	S1	Масло
Малонова кислота (MLO)	Масло	S1	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло
Лимонна кислота (CTR)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	S1	Масло
Гліколева кислота (GLY)	S2	S1+S2	Масло	S1+S2	S1	S1	S1+S2	S1	S1+S2
Л-вінна кислота (LTT)	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло	Масло

Зі вказаного другого кристалізаційного скринування можна зробити наступні спостереження:

- Хоча еквімолярна суміш сполуки 63 і гліколевої кислоти виявилася менш розчинною у вказаному другому наборі розчинників, її поведінка була досить близько до результатів для першого блоку кристалізацій. Були отримані декілька твердих речовин, що відповідають сумішам твердих речовин. Тверда речовина 1 виявилася єдиною, отриманою після завершення випаровування розчинника, і її не змогли повністю охарактеризувати.
- Кристалічні солі сполуки 63 з Л-яблучною, малоною і лимонною кислотами отримують тільки в одному розчиннику, отримуючи вже відому тверду речовину.
- Кристалічні солі сполуки 63 з етансульфоною кислотою отримують в декількох розчинниках, отримуючи, у всіх випадках, нову тверду речовину, відмінну від отриманого в початковому кристалізаційному скринуванні.
- Тверду речовину, що відповідає кристалічній солі сполуки 63 з метансульфоною кислотою, можна отримати в толуолі.

- У вказаному другому наборі розчинників не отримують кристалічних твердих речовин сполуки 63 з сірчаною і L-винною кислотами.

Враховуючи результати двох описаних кристалізаційних скринуваль, автори оптимізували отримання найкращим чином охарактеризованих не сольватованих солей сполуки 63 з фумаровою, малеїною, метансульфоною, етансульфоною, L-яблучною і маленовою кислотами. Оптимізацію експериментів в збільшених масштабах здійснюють, починаючи зі 100 мг сполуки 63. Процедуру в збільшеному масштабі також оптимізують для солей фумарової, малеїнової, метансульфонової, етансульфонової, L-яблучної і маленової кислот.

Нарешті, отримання солей для шести вибраних протиіонів здійснюють в масштабі 2-3 г, і вони були повністю охарактеризовані. Загальний процес даного винаходу підсумований в наступній таблиці.

Таблиця 5

Результати кристалізацій, здійснених для кристалічних солей сполуки 63

Кристалізаційне скринування Сірчана кислота, Метансульфонова кислота, Етансульфонова кислота, Фумарова кислота, L-(-)-яблучна кислота, Малонова кислота, Малеїнова кислота, Лимонна кислота, Гліколева кислота, L-(+)-винна кислота	190 кристалізацій масштаб 40 мг
Оптимізація отримання кристалічної твердої речовини і її характеристика Метансульфонова кислота, Етансульфонова кислота, Фумарова кислота, L-(-)-яблучна кислота, Малонова кислота, Малеїнова кислота	23 кристалізації масштаб 100-500 мг
Крупномасштабне отримання вибраних солей Метансульфонова кислота, Етансульфонова кислота, Фумарова кислота, L-(-)-яблучна кислота, Малонова кислота, Малеїнова кислота	6 кристалізацій масштаб 2,5 г

#### Приклад 2

Отримання фумаратної солі сполуки 63

Під час початкового скринування кристалізації фумаратної солі були використані в 10 різних розчинниках. Кристалічні тверді речовини, відповідні солі, отримують у всіх розчинниках, за винятком ДМФ і хлороформу, використовуючи різні кристалізаційні методики: суспендування, охолодження насиченого розчину або після завершення випаровування розчинника. У хлороформі вихідну кислоту виділяють, тоді як в ДМФ сіль виділяють у вигляді масла оранжевого кольору. Отримують дві несольватовані тверді речовини, першу речовину в метанолі, ізопропанолі і бутанолі, і другу речовину тільки в етанолі. Нарешті, сольвати отримують в ацетоні, етилацетаті і ТГФ, і суміш двох твердих речовин утворюється в ацетонітрилі.

Несольватовану кристалічну тверду речовину, в принципі будь-яку з отриманих при скринуванні, вибирають для крупномасштабного виробництва. Спочатку була зроблена спроба збільшення масштабу процесу в ацетонітрилі, оскільки ацетонітрил виявився розчинником, який забезпечує отримання кристалічного продукту, в якому сіль менш розчинна. Хоча сіль отримують з дуже хорошим виходом (83 %), вказаний процес не є оптимальним для крупномасштабного процесу, оскільки кислота не розчиняється в ацетонітрилі, і кінцева сіль осаджується з суміші сполуки 63 у вигляді масла і фумарової кислоти у вигляді твердої речовини, причому обидва суспендовані в розчиннику. Потім роблять спробу кристалізації в етанолі для отримання чистої твердої речовини S5. На жаль з'ясувалося, що при крупномасштабному процесі в етанолі, нова, малокристалічна тверда речовина утворюється з низьким виходом. Нарешті, кристалізацію здійснюють в ацетонітрилі, додаючи кислоту, розчинену в спирті (етанолі або ізопропанолі). Трохи кращі результати отримані у випадку, коли фумарову кислоту розчиняють в етанолі і додавання здійснюють при кімнатній температурі (таблиця 6). З іншого боку, суміш фаз отримують, якщо суспензію витримують при 4 °C протягом двох днів (таблиця 6, пункт 4).

Таблиця 6

Крупномасштабні експерименти отримання фумаратної солі сполуки 63

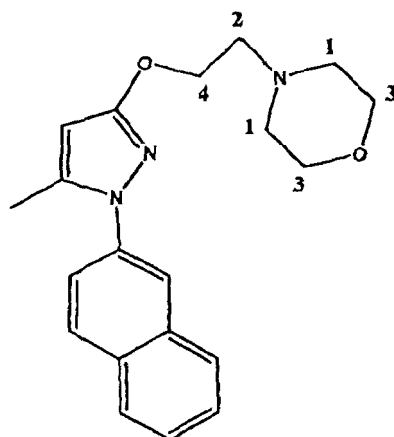
Пункт	Масштаб <sup>1</sup>	Розчинник 1 <sup>2</sup>	Розчинник 2 <sup>3</sup>	T <sub>1</sub> (°C) <sup>4</sup> /T <sub>2</sub> (°C) <sup>5</sup>	Вихід (%) <sup>6</sup>
1	200 мг	2 мл ACN	0,8 мл EtOH	70/25	49
2	500 мг	5 мл ACN	2 мл EtOH	25/25	59
3	200 мг	2 мл IPN	1 мл IPN	25/25	55
4	2,5 мг	20 мл ACN	10 мл EtOH	25/4	58

<sup>1</sup>Стосується вихідного прикладу 1.<sup>2</sup>Розчинник, що використовується для розчинення сполуки 63.<sup>3</sup>Розчинник, що використовується для розчинення фумарової кислоти.<sup>4</sup>Температура, при якій змішують кислоту і основу.<sup>5</sup>Температура, при якій збирають кінцеву тверду речовину.<sup>6</sup>Все експерименти здійснюють, використовуючи затравкові кристали.

Експериментальна процедура, яку використовують для отримання фумаратної солі в масштабі 0,5 г (пункт 2 в таблиці 6) є наступною:

- 5 Розчин фумарової кислоти (153 мг, 1,32 ммоль) в 2 мл етанолу повільно додають до розчину сполуки 63 (456 мг, 1,35 ммоль) в 5 мл ацетонітрилу при кімнатній температурі. У отриманий розчин жовтого кольору вводять затравку і перемішують при кімнатній температурі протягом 15 хвилин. Швидко випадає рясний твердий осад білого кольору. Отриману суспензію перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин. Отриману тверду речовину відфільтровувати, промивають 1 мл ацетонітрилу і сушать у вакуумі (10 мм рт. ст.) при 45 °C протягом 6 годин, отримуючи фумаратну сіль у вигляді твердої речовини білого кольору (350 мг, 59 %).

- 15 Утворення солей можна легко охарактеризувати, використовуючи результати <sup>1</sup>H-ЯМР спектрів, які істотно змінюються в порівнянні зі спектром вільної основи. У випадку фумаратної солі сигнали атомів водню близьких до основного азоту (водні 1 і 2 в приведеній далі формулі) виразно зсунуті в слабе поле (таблиця 7). Менші зсуви можна також спостерігати для сигналів атомів водню, розташованих далі від азоту (водні 3 і 4 в приведеній далі формулі). Крім того, сигнал для фумарату з'являється з очікуваним хімічним зсувом ( $\delta$ : 6,72 м. ч.). Об'єднання сигналів, що відповідають аніону і катіону однозначно підтверджує, що утворюється еквімолярна сіль, а не дисіль (фіг. 5).



Молекулярна формула сполуки 63 із вказуванням воднів, зсуви яких змінюються в спектрах <sup>1</sup>H-ЯМР після утворення солі.

- 25 ДСК аналіз при швидкості нагрівання 10°C/хв, демонструє невеликий ендотермічний пік, після якого йде невеликий екзотермічний пік і інтенсивний ендотермічний сигнал (фіг. 6). Інтенсивний сигнал, який виникає при 142 °C, відповідає температурі плавлення твердої речовини S5. Невеликий пік, що з'являється при 131 °C, відповідає плавленню кристалічної твердої речовини S3. Вказаний пік дуже слабкий, найімовірніше через те, що S3 частково трансформується в тверду речовину S5 в процесі нагрівання при проведенні ДСК аналізу.
- 30 Таким чином, вказаний пік відповідає плавленню іншої S3, що залишилася при температурі

плавлення, що легко кристалізується в S5 (невеликий екзотермічний пік). Пік, що відповідає плавленню практично чистих твердих S3 зразків, має різну інтенсивність залежно від конкретного зразка. Найімовірніше, що перехід твердої речовини S3 в тверду речовину S5 відбувається в різній мірі залежно від форми кристалів і розмірів кристалів. Тому, зразки чистої

5 S3 кристалічної твердої речовини демонструють ДСК профілі, форма яких подана на фіг. 6.

При проведенні ТГ аналізу спостерігається невелика втрата ваги в 0,3 % при температурах між 120 і 150°C, і спостерігається різка втрата ваги, що починається при 190°C за рахунок розкладання.

Далі приводиться характеристика фумаратної солі (фіг. 5-8):

10 <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, d4-метанол) δ: 2,35 (с, 3H), 2,92-3,00 (м, 4H), 3,17 (т, J=5 Гц, 2H), 3,80 (т, J=5 Гц, 4H), 4,44 (т, J=5 Гц, 2H), 5,83 (с, 1H), 6,72 (с, 2H), 7,52-7,62 (м, 3H), 7,89-7,96 (м, 3H), 8,00 (д, J=9 Гц, 1H).

Залишкові розчинники по даних <sup>1</sup>H-ЯМР: 0,2 % вага/вага ацетонітрилу.

15 FTIR (ATR) ν: 3435, 3148, 3037, 2943, 2855, 1876, 1731, 1664, 1650, 1559, 1509, 1488, 1446, 1394, 1372, 1314, 1236, 1186, 1166, 1133, 1098, 1081, 1047, 1014, 981, 932, 917, 859, 816, 787, 769 і 748 см<sup>-1</sup>.

ДСК (10°C/хв): Два ендотермічні піки злиття, виникаючі при 131 і 142°C.

ТГМ (10°C/хв): Втрата ваги 0,3 % при температурі між 120 і 150°C. Процес розкладання починається при 190°C.

20 Приклад 3

Отримання малеатної солі сполуки 63

Під час початкового скринування спроби кристалізації малеатної солі були зроблені в 10 різних розчинниках. Вказана сіль дуже добре розчиняється у всіх аналізованих розчинниках. Спостерігається розчинність в інтервалі від 50 і 200 мг/мл, за винятком варіанту етилацетату, розчинність солі в якому становить 20 мг/мл. Кристалічні тверді речовини отримують у всіх розчинниках після охолодження розчину до кімнатної температури або, для хлороформу, метанолу і ДМФ, після завершення випаровування розчинника. Були детектовані чотири різні тверді речовини. Несольватовану кристалічну фазу отримують в більшості варіантів кристалізації. Крім того, сольват утворюється в ТГФ і дві інші не повністю охарактеризовані

30 тверді речовини утворилися в трьох експериментах.

Враховуючи температури кипіння і необхідні кількості розчинника для кристалізації (66 мг/мл), як розчинник для збільшення масштабу і синтезу кристалічної солі вибирають ізопропанол. Початкова спроба охолодження суміші малеїнової кислоти і сполуки 63 в ізопропанолі з 60°C до кімнатної температури приводить до отримання солі у вигляді масла (таблиця 7). Отримане масло кристалізується після нового перемішування суміші при 60°C протягом декількох годин. Аналогічна методика в більш розбавлених умовах приводить до отримання солі безпосередньо у вигляді твердої речовини. Нарешті, процес оптимізують, викликаючи безпосереднє осадження солі після додавання ізопропанольного розчину кислоти до ізопропанольного розчину сполуки 63 при кімнатній температурі.

40

Таблиця 7

Збільшення масштабу отримання малеатної солі сполуки 63

Шкала1	Об'єм ізопропанолу	Температура додавання	Вихід (%)	Спостереження
200 мг	1,5	60°C	73	Виділення солі у вигляді масла
200 мг	2,0	70°C	77	Кристалізація солі при охолодженні
500 мг	6,0	20-25°C	86	-
2,5 г	30,0	20-25°C	96	-

<sup>1</sup>стосується вихідного прикладу 1.

Експериментальна процедура, яку використовують для отримання малеатної солі в масштабі 2,5 г була наступною:

45 Розчин малеїнової кислоти (772 мг, 6,65 ммоль) в 15 мл ізопропанолу повільно додають до розчину сполуки 63 (2,26 г, 6,69 ммоль) в 15 мл ізопропанолу при кімнатній температурі. Швидко осаджується велика кількість білої твердої речовини. Отриману суспензію перемішують при кімнатній температурі протягом 2 днів і фільтрують. Отриману тверду речовину промивають

ізопропанолом і сушать у вакуумі (10 мм рт. ст.) при 45°C протягом 10 годин, при 55°C протягом 6 годин і при 70°C протягом 17 годин, отримуючи малеатну сіль у вигляді білої твердої речовини (2,82 г, 96 %; що містить 1,1 % ізопропанолу по даних  $^1\text{H}$ -ЯМР).

Отриману малеатну сіль можна легко охарактеризувати, використовуючи спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР (фіг. 9), зміни в якому аналогічні змінам, детально розкритим для фумаратної солі. Крім того, сигнал, що характеризує малеат, з'являється з очікуваним хімічним зсувом 6,30 м. ч. Інтегрування сигналів, що відповідають аніону і катіону, однозначно підтверджує той факт, що утворюється еквімолярна сіль, а не дисіль.

ДСК аналіз (фіг. 10), при швидкості нагрівання 10°C/хв, демонструє ендотермічний інтенсивний пік, який виникає при 139°C (101 Дж/г), що відповідає температурі плавлення. В ТГМ спостерігається втрата ваги в 1 % (фіг. 11) поблизу температури плавлення, що, ймовірно, пов'язано з видаленням залишкового ізопропанолу. Виразне розкладання солі спостерігається при температурах вищих ніж 150°C.

Далі приводяться характеристики малеатної солі (фіг. 9-12):

$^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц, d-хлороформ)  $\delta$ : 2,35 (с, 3H), 3,02-3,64 (м, 6H), 3,99 (т, J=5 Гц, 4H), 4,61-4,66 (м, 2H), 5,70 (с, 1H), 6,30 (с, 2H), 7,50-7,58 (м, 3H), 7,79-7,82 (м, 1H), 7,84-7,95 (м, 3H).

Залишкові розчинники по даних  $^1\text{H}$ -ЯМР: 1,1 % вага/вага ізопропанолу.

FTIR (ATR)  $\nu$ : 3043, 2853, 1707, 1619, 1599, 1557, 1487, 1445, 1374, 1357, 1340, 1302, 1237, 1163, 1135, 1096, 1041, 1022, 930, 919, 861, 817, 762 і 750  $\text{cm}^{-1}$ .

ДСК (10°C/хв): Ендотермічний пік злиття виникає при 139°C.

ТГМ (10°C/хв): Втрата ваги 1,0 % при температурі між 110 і 150°C. Процес розкладання починається при 150°C.

Приклад 4

Отримання метансульфонатної солі сполуки 63

Під час початкового скринування з використанням першого набору з десяти розчинників, метансульфонатну сіль не вдалося закристалізувати. Сіль добре розчиняється у всіх аналізованих розчинниках (>200 мг/мл), утворюючи масло після завершення випаровування розчинника. Коли здійснювали спроби закристалізувати сіль у другому наборі з дев'яти менш полярних розчинників, в більшості експериментів також виділялися масла, або після випаровування розчинника, або тому, що масляниста сіль не розчинялася. Проте, з толуольного розчину, охолодженого до -18°C, була отримана відповідна солі кристалічна тверда речовина після виділення надлишку солі у вигляді масла. Тому, толуол був вибраний для оптимізації крупномасштабного синтезу солі.

У першій спробі крупномасштабного синтезу, метансульфонову кислоту додають безпосередньо до толуольного розчину сполуки 63, але сіль швидко виділяється у вигляді масла. Отримане масло кристалізується після того, як його перемішують разом з розчинником протягом декількох годин при кімнатній температурі. Для ініціювання безпосередньої кристалізації солі у вигляді твердої речовини, той же самий процес повторюють в присутності затравкових кристалів вказаної солі. Крім того, для поліпшення кольору солі метансульфонову кислоту переганяють безпосередньо перед використанням (180°C, 1 мілібар).

Далі приводиться експериментальна процедура, яку використовують для отримання метансульфонатної солі в масштабі 2,5 г:

Метансульфонову кислоту (0,45 мл, 6,94 ммоль) повільно додають до розчину сполуки 63 (2,36 г, 6,98 ммоль) в 25 мл толуолу при кімнатній температурі в присутності затравки. Швидко осаджується велика кількість твердої речовини білого кольору. Отриману суспензію перемішують при 0°C протягом 8 годин і потім фільтрують. Отриману тверду речовину промивають толуолом і сушать у вакуумі (10 мм рт. ст.) при 45°C протягом 2 днів і при 55°C протягом 6 годин, отримуючи метансульфонатну сіль у вигляді твердої речовини білого кольору (2,85 г, 98 %; по даних  $^1\text{H}$ -ЯМР містить 0,6 % толуолу).

Метансульфонатну сіль можна легко охарактеризувати за допомогою  $^1\text{H}$ -ЯМР спектра (фіг. 13), який змінюється таким же чином, який був детально розкритий для фумаратної солі. Крім того, сигнал метансульфонату з'являється в спектрі зі значенням хімічного зсуву 2,84 м. ч.

ДСК аналіз (фіг. 14), при швидкості нагрівання 10°C/хв, демонструє ендотермічний інтенсивний пік, який з'являється при 145°C (84 Дж/г), що відповідає температурі плавлення. В ТГМ спостерігається втрата ваги в 0,5 % (фіг. 15) поблизу температури плавлення, що ймовірно пов'язано з видаленням залишкового толуолу. Виразне розкладання солі спостерігається при температурах вище за 250°C.

Далі приводяться наступні характеристики метансульфонатної солі (фіг. 13-16):

<sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, d-хлороформ) δ: 2,36 (с, 3H), 2,84 (с, 3H), 3,03-3,15 (м, 2H), 3,54-3,61 (м, 2H), 3,63-3,71 (м, 2H), 3,97-4,05 (м, 2H), 4,10-4,20 (м, 2H), 4,71-4,76 (м, 2H), 5,75 (с, 1H), 7,50-7,59 (м, 3H), 7,79-7,82 (м, 1H), 7,84-7,95 (м, 3H).

Залишковий розчинник толуол по даних <sup>1</sup>H-ЯМР: 0,58 % вага/вага.

FTIR (ATR) ν: 3018, 2957, 2920, 2865, 2693, 2627, 1634, 1602, 1562, 1509, 1485, 1435, 1392, 1376, 1265, 1221, 1164, 1131, 1098, 1049, 1033, 1007, 934, 914, 862, 822, 772 і 759 см<sup>-1</sup>.

ДСК (10°C/хв): Ендотермічний пік злиття виникає при 145°C.

ТГМ (10°C/хв): Втрата ваги 0,5 % при температурі між 120 і 160°C. Процес розкладання починається при 260°C.

#### Приклад 5

Отримання етансульфонатної солі сполуки 63

Під час початкового скринування з першим набором з десяти розчинників етансульфонатну сіль вдалося закристалізувати тільки в ацетонітрилі. Але оскільки вказана сіль дуже добре розчиняється у всіх аналізованих розчинниках (>200 мг/мл) вказану тверду речовину отримують тільки після завершення випаровування розчинника. У інших експериментах після завершення випаровування розчинника утворюється масло. При здійсненні спроб кристалізації у другому наборі з дев'яти менш полярних розчинників, отримують три тверді речовини в метил-трет-бутиловому ефірі, ізобутилацетаті і толуолі в суміші з маслянистою сіллю. У вказаних експериментах масляниста сіль повністю не розчинялася. Толуол вибирає для оптимізації і синтезу солі в більш крупному масштабі.

На початку крупномасштабного отримання етансульфонату, маслянисту сіль суспендують в гарячому толуолі і залишають охолоджуватися. Вказана сіль не кристалізується і залишається у вигляді масла. При другій спробі, в якій етансульфонову кислоту повільно додають до розчину сполуки 63 в толуолі, при охолодженні виділяється тверда речовина коричневого кольору. При повторенні тієї ж процедури при кімнатній температурі масло, що швидко утворюється, повільно кристалізується після того, як його перемішують разом з розчинником протягом декількох днів. Для того, щоб викликати безпосередню кристалізацію солі, той же самий процес повторюють при кімнатній температурі в присутності затравкових кристалів солі. Крім того, для поліпшення кольору солі етансульфонову кислоту переганяють безпосередньо перед використанням (200°C, 1 мілібар).

Далі приводиться експериментальна процедура, яку використовують для отримання етансульфонатної солі в масштабі 2,5 г:

Етансульфонову кислоту (0,58 мл, 6,79 ммоль) повільно додають до розчину сполуки 63 (2,29 г, 6,79 ммоль) в 40 мл толуолу при кімнатній температурі в присутності затравкових кристалів. Тверда речовина білого кольору швидко у великій кількості випадає в осад. Отриману суспензію перемішують при 0°C протягом 12 годин і потім фільтрують. Отриману тверду речовину промивають толуолом і сушать у вакуумі (10 мм рт. ст.) при 45°C протягом 8 годин і при 55°C протягом 6 годин, отримуючи етансульфонатну сіль у вигляді твердої речовини білого кольору (2,90 г, 99 %).

Утворення етансульфонатної солі можна легко довести, використовуючи спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (фіг. 17), зміни в якому при порівнянні зі спектром вихідної сполуки 63 відбуваються таким же чином, який був розкритий детально для фумаратної солі. Крім того, сигнали, які відповідають етансульфонату, з'являються в спектрі з хімічним зсувом 1,37 і 2,93 м. ч.

ДСК аналіз (фіг. 18), при швидкості нагрівання 10°C/хв, демонструє ендотермічний інтенсивний пік, який виникає при 133°C (85 Дж/г), що відповідає температурі плавлення. Втрата ваги в 0,3 % спостерігається в ТГМ (фіг. 19) поблизу температури плавлення, що, ймовірно, пов'язано з видаленням залишкового толуолу. Чітке розкладання солі спостерігається при температурах вищих ніж 280°C.

Характеристики етансульфонатної солі (фіг. 17-20):

<sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, d-хлороформ) δ: 1,37 (т, J=7 Гц, 3H), 2,36 (с, 3H), 2,93 (кв, J=1 Гц, 2H), 3,03-3,15 (м, 2H), 3,55-3,62 (м, 2H), 3,64-3,72 (м, 2H), 3,96-4,04 (м, 2H), 4,11-4,21 (м, 2H), 4,71-4,77 (м, 2H), 5,75 (с, 1H), 7,50-7,59 (м, 3H), 7,79-7,83 (м, 1H), 7,84-7,95 (м, 3H).

Залишковий розчинник по даних <sup>1</sup>H-ЯМР: 0,35 % вага/вага.

FTIR (ATR) ν: 3021, 2958, 2924, 2863, 2625, 2488, 1633, 1603, 1565, 1508, 1485, 1470, 1437, 1391, 1376, 1353, 1334, 1265, 1242, 1210, 1160, 1149, 1131, 1098, 1027, 1008, 978, 934, 916, 856, 819, 776 і 739 см<sup>-1</sup>.

ДСК (10°C/хв): Ендотермічний пік злиття виникає при 133°C.

ТГМ (10°C/хв): Втрата ваги в 0,3 % при температурах між 110 і 160°C. Процес розкладання починається при 280°C.

#### Приклад 6

## Отримання малатної солі сполуки 63

Під час початкового скринування з використанням першого набору з десяти розчинників малатну сіль можна було закристалізувати в ацетонітрилі і ізопропанолі. Проте, вказана сіль дуже легко розчинялася в обох розчинниках ( $>200$  мг/мл) і вказані дві тверді речовини отримують тільки після повного випаровування розчинника. У експериментах, що залишилися, після завершення випаровування розчинника утворюється масло. При здійсненні спроб кристалізації у другому наборі з дев'яти менш полярних розчинників, хоч сіль і була менш розчинною, кристалічну тверду речовину вдалося отримати тільки в 3-пентаноні. У інших експериментах вдалося отримати тільки масло. Враховуючи отримані результати, 3-пентанон вибирають для оптимізації і синтезу вказаної солі в більш крупному масштабі.

Початкові спроби отримання солей в більш крупному масштабі здійснюють, додаючи розчин L-яблучної кислоти в 3-пентаноні до розчину сполуки 63 також в 3-пентаноні при температурах між  $50$  і  $70^{\circ}\text{C}$ . При використанні вказаної процедури сіль іноді виділяється у вигляді масла при охолодженні. Отримане масло легко кристалізується після того, як його перемішують разом з розчинником при  $50^{\circ}\text{C}$  протягом декількох годин. Безпосереднє отримання кристалічної солі можна викликати введенням затравкових кристалів, як це розкрито для процедури отримання малатної солі в масштабі  $2,5$  г, таким чином:

Розчин L-яблучної кислоти ( $933$  мг,  $6,95$  ммоль) в  $10$  мл 3-пентанону повільно додають до розчину сполуки 63 ( $2,35$  г,  $6,95$  ммоль) в  $10$  мл 3-пентанону при  $50^{\circ}\text{C}$ , використовуючи затравкові кристали. Швидко осаджується велика кількість твердої речовини білого кольору, і отриману суспензію розбавляють іншою порцією в  $10$  мл 3-пентанону, повільно охолоджують до кімнатної температури, перемішують протягом  $12$  годин і фільтрують. Отриману тверду речовину промивають 3-пентаном і сушать у вакуумі ( $10$  мм рт. ст.) при  $45^{\circ}\text{C}$  протягом  $15$  годин і при  $55^{\circ}\text{C}$  протягом  $6$  годин, отримуючи малатну сіль у вигляді твердої речовини білого кольору ( $3,03$  г,  $95\%$ ).

Утворення малатної солі можна легко довести, використовуючи спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР (фіг. 21), який значно змінюється в порівнянні зі спектром вихідної сполуки 63, як було детально розкрито для фумаратної солі. Крім того, сигнали малату з'являються в спектрі з хімічними зсувами  $2,59$ ,  $2,79$  і  $4,31$

У ДСК аналізі (фіг. 22), при швидкості нагрівання  $10^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ , ендотермічний інтенсивний пік спостерігається при  $125^{\circ}\text{C}$  ( $119$  Дж/г), що відповідає температурі плавлення.

Крім того, ТГМ аналіз (фіг. 23) не демонструє ніяких втрат ваги при температурах нижчих ніж температура плавлення, що свідчить про відсутність летких компонент. Відсутність залишкових розчинників також підтверджується даними спектра  $^1\text{H}$ -ЯМР.

Далі приводяться характеристики малатної солі (фіг. 21-24):

$^1\text{H}$ -ЯМР ( $400$  МГц, d-хлороформ)  $\delta$ :  $2,35$  (с, 3H),  $2,59$  (дд,  $J_1=16$  Гц,  $J_2=7$  Гц, 1H),  $2,79$  (дд,  $J_1=16$  Гц,  $J_3=5$  Гц, 1H),  $2,89$ - $2,97$  (м, 4H),  $3,13$  (т,  $J=5$  Гц, 2H),  $3,80$  (т,  $J=5$  Гц, 4H),  $4,39$  (дд,  $J_2=7$  Гц,  $J_3=5$  Гц, 1H),  $4,43$  (т,  $J=5$  Гц, 2H),  $5,83$  (с, 1H),  $7,52$ - $7,61$  (м, 3H),  $7,89$ - $7,96$  (м, 3H),  $8,00$  (д,  $J=9$  Гц, 1H).

FTIR (ATR)  $\nu$ :  $3171$ ,  $3003$ ,  $2874$ ,  $1718$ ,  $1597$ ,  $1556$ ,  $1487$ ,  $1468$ ,  $1440$ ,  $1360$ ,  $1268$ ,  $1142$ ,  $1126$ ,  $1097$ ,  $1050$ ,  $1022$ ,  $1010$ ,  $986$ ,  $950$ ,  $920$ ,  $902$ ,  $863$ ,  $822$ ,  $797$ ,  $770$ ,  $746$  і  $742$   $\text{cm}^{-1}$ .

ДСК ( $10^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ ): Ендотермічний пік злиття виникає при  $125^{\circ}\text{C}$ .

ТГМ ( $10^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ ): Втрата ваги починається з температури  $150^{\circ}\text{C}$  в зв'язку з розкладанням.

## Приклад 7

## Отримання малонатної солі сполуки 63

Під час початкового скринування з використанням першого набору з десяти розчинників малонатну сіль вдалося закристалізувати тільки в ізопропанолі. Проте, вказана сіль виявилася дуже добре розчинною у вказаному розчиннику ( $>200$  мг/мл), що провіщало проблеми при збільшенні масштабів синтезу. З цієї причини була зроблена спроба кристалізації у другому наборі з дев'яти менш полярних розчинників. У цій другій серії експериментів, кристалічну тверду речовину вдалося отримати тільки з метил-трет-бутилового ефіру при охолодженні насиченого розчину до  $-18^{\circ}\text{C}$  після виділення, при вищих температурах більша частина солі являє собою масло.

Враховуючи отримані результати, спочатку роблять спробу отримання малонатної солі в більшому масштабі. До великого розчарування відразу після змішування кислоти і сполуки 63 відразу виділяється масло. Отримане масло кристалізується з малим виходом після того, як його перемішують разом з розчинником протягом декількох годин. Вихід можна підвищити, якщо додавати метил-трет-бутиловий ефір під час процесу кристалізації після "вимаслювання" (oiling out). Щоб уникнути утворення солі спочатку у вигляді масла і щоб підвищити вихід, процес кристалізації модифікують. Розчин малонової кислоти в ізопропанолі додають до розчину



сполуки 63 в метил-трет-бутиловому ефірі. Якщо використовувати вказану процедуру, сіль утворюється безпосередньо у вигляді твердої речовини, але при цьому все ще спостерігається деяке вимаслювання. І, нарешті, безпосереднє і повне утворення солі можна забезпечити, використовуючи затравкові кристали, як це розкрито в наступній процедурі:

5 Розчин маленової кислоти (736 мг, 7,07 ммоль) в 10 мл ізопропанолу повільно додають до розчину сполуки 63 (2,38 г, 7,06 ммоль) в 15 мл метил-трет-бутилового ефіру з введеними затравковими кристалами при 0°C. Швидко випадає в осад велика кількість твердої речовини білого кольору. Отриману суспензію перемішують спочатку при кімнатній температурі протягом 12 годин, потім при 0°C протягом 2 годин, і фільтрують. Отриману тверду речовину промивають метил-трет-бутиловим ефіром і сушать у вакуумі (10 мм рт. ст.) при 45°C протягом 7 годин і при 55°C протягом 6 годин, отримуючи малонатну сіль у вигляді твердої речовини білого кольору (2,42 г, 80 %). Утворення малонатної солі можна легко довести, використовуючи спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (фіг. 25), який змінюється в порівнянні зі спектром вихідної сполуки 63, таким же чином, як було детально розкрито для фумаратної солі. Крім того, сигнал, пов'язаний з малонатом, з'являється в спектрі з хімічним зсувом 3,23 м. ч.

ДСК аналіз (фіг. 26), при швидкості нагрівання 10°C/хв, демонструє ендотермічний інтенсивний пік, який виникає при 90°C (85 Дж/г), що відповідає температурі плавлення. Втрати ваги не спостерігають в ТГМ (фіг. 27) при температурах нижчих ніж температура плавлення. Проте, в спектрі <sup>1</sup>H-ЯМР визначаються домішки (0,2 % вага/вага ізопропанолу і 0,2 % метил-трет-бутилового ефіру).

Далі приводяться характеристики малонатної солі (фіг. 25-28):

<sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, d-хлороформ) δ: 2,35 (с, 3H), 3,10-3,40 (м, 4H), 3,23 (с, 2H), 3,40-3,46 (м, 2H), 3,97 (т, J=5 Гц, 4H), 4,59-4,64 (м, 2H), 5,70 (с, 1H), 7,49-7,58 (м, 3H), 7,79-7,82 (м, 1H), 7,84-7,95 (м, 3H).

25 Залишковими розчинниками по даних <sup>1</sup>H-ЯМР є: 0,2 % вага/вага ізопропанолу і 0,2 % метил-трет-бутилового ефіру.

FTIR (ATR) ν: 3148, 3027, 2942, 2857, 1718, 1621, 1599, 1561, 1488, 1443, 1374, 1343, 1308, 1260, 1165, 1135, 1097, 1080, 1046, 1022, 1011, 932, 918, 863, 819 і 752 см<sup>-1</sup>.

ДСК (10°C/хв): Ендотермічний пік злиття виникає при 90°C.

30 ТГМ (10°C/хв): Втрати ваги починаються з 100°C, що зумовлено розкладанням.

Результати скринування кристалізації солей

35 Спроби отримання солей сполуки 63 з сірчаною кислотою і L-винною кислотою закінчилися невдачею, і виходили тільки масла. Інші солі, хоча і в формі твердих речовин, були отримані тільки в результаті комплексних процесів синтезу при порівнянні їх з експериментальною частиною для синтезу гідрохлориду, або в унікальних експериментальних умовах. Крім того, часто отримували некристалічну тверду речовину замість кристалічної форми, яку отримували для гідрохлориду. Всі вказані недоліки мають на увазі, що збільшення масштабу синтезу для вказаних синтетичних процесів обіцяє бути досить складним.

40 У таблиці 8, що приводиться далі, підсумовані ключові результати, які стосуються кожної твердої солі, отриманої у великому масштабі у винаході, що розглядається: ступінь кристалічності, кристалізаційний розчинник, вихід і температура плавлення.

Таблиця 8

Сіль	Кристалічність	Розчинник/вихід	Т. пл.
Гідрохлорид	Кристалічна	Ізопропанол/63 %*	194°C
Фумарат	Кристалічна	Етанол/ацетонітрил 59 %	131°C
Малеат	Кристалічна	Ізопропанол/96 %	139°C
Метансульфонат	Кристалічна	Толуол/98 %	145°C
Етансульфонат	Кристалічна	Толуол/99 %	133°C
Малат	Кристалічна	3-пентанон/95 %	125°C
Малонат	Кристалічна	Ізопропанол/метил-трет-бутиловий ефір 80 %	90°C

(\*) Проведені дві кристалізації (див. приклад 1).

45 Як видно з вищезгаданого, гідрохлоридна сіль завжди утворюється у вигляді кристалічної твердої речовини з дуже хорошим виходом (включаючи кристалізацію) і її температура плавлення вища на 50°C в порівнянні з температурами плавлення інших солей, що чітко

забезпечує перевагу в плані фізичної стабільності. Крім того, при порівнянні ТГМ аналізів гідрохлорид має чіткий профіль і не спостерігається ніяких втрат розчинника. Далі, деякі додаткові експерименти (термодинамічна розчинність, фармакінетика) були проведені для прикладу 1 (P027), щоб підтвердити застосовність вказаної сполуки для фармацевтичних цілей.

#### 5 Приклад 8

Термодинамічна розчинність

Загальний протокол для термодинамічної розчинності при pH 7,4 і pH 2 розкритий далі.

А) Термодинамічна розчинність при pH 7,4

pH буфера 7,4 (50 мМ).

10 Буферні фосфати з pH 7,4 приготують таким чином:

- Приготують розчин 25 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (для 1 л води, вага 8,96 г).

- Приготують розчин 25 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (для 1 л води, вага 3,4 г).

- Змішують 812 мл розчину динатрійфосфату + 182 мл розчину калійфосфату, і відповідне значення pH становить 7,4.

15 Рівновага зразків

Зразки врівноважують, використовуючи:

- Термоміксер Еппендорфа (Stirrer Thermomixer Control of Eppendorf) 25 °C і 1250 об/хв.

- pH-метр з комбінованим електродом pH, півмікро.

Процедура

20 Досліджувана сполука

Відважують 2 мг в ампулу для ВЕРХ (в подвійному примірнику) і додають 1 мл буферу.

Температуру ампули підтримують при 25 °C, в термоміксері Thermomixer Comfort з перемішуванням, протягом 24 годин. Центрифугування при 4000 об/хв проводять протягом 15 хвилин.

25 Верхній шар, що утворився, збирають скляною піпеткою і переносять в ампули для ВЕРХ.

Знову центрифугують, і інжектор програмує на 2,7 мм вище.

Стандарти (в дублікаті)

Розчин А: 2 мг в 5 мл метанолу (400 мкг/мл).

Розчин В: 1 мл розчину А до 10 мл з метанолом (40 мкг/мл).

30 Розчин С: 5 мл розчину В до 50 мл з метанолом (4 мкг/мл).

Розчин D: 4 мл розчину С до 10 мл з метанолом (1,6 мкг/мл).

Розчин Е: 5 мл розчину D до 25 мл з метанолом (0,32 мкг/мл).

10 мкл всіх приготованих розчинів ін'єктують, починаючи з більш розбавленого стандарту.

Ін'єктують також плацебо для перевірки відсутності забруднень.

35 Отримують стандартну калібрувальну криву (див. фіг. 29). Приймають  $Y$  = площу у  $X$  = мкг ін'єктованого стандарту

10 мкл розчину досліджуваної сполуки (ін'єктують в дублікаті, і середню площу піка (якщо вона вимірною) інтерполюють в стандартну криву (див. таблиці 9, 10 і 11 і приклади, що приводяться далі).

40 Умови хроматографічної обробки

- Колонка: XBridge C18 (або аналогічна) 2,5 мкм 4,6×50 мм

- Температура: 35°C.

- Рухома фаза ACN/бікарбонат амонію 10 мМ.

- Градієнт: 0-3,5 хв: від 15 % ACN до 95 % ACN.

45 3,5-5 хв: 95 % ACN.

5-6 хв: 95 і 15 % ACN.

6-8 хв: 15 % ACN.

- Швидкість потоку: 1,5 мл/хв.

- Детектування: близько максимуму УХ поглинання.

50 В) Термодинамічна розчинність при pH 2.

Попередню процедуру виконують, використовуючи HCl 0,01н.

Термодинамічна розчинність для сполуки прикладу 1

Відповідно до розкритого протоколу отримують 227 мкг/мл (pH=7,4). Див. відповідний графік на фіг. 29.

55

Таблиця 9

Калібрування  
Пік: Muestra

Назва зразка	Дата отримання	Аам-пула	Т (хв)	Об'єм	Детектування	DR	Величина X	Площа	Рез. Id.	Розрах. Id.	С. ваг	Висота (мкОб)
Приклад 1 Pat. (50 мкг/мл)	22/07/2010 17:09:51	3	16,1	5	PDA 260,0 нм	100,00	250,000	1235989	40781	40782	5000,000	225760
Приклад 1 Pat. (50 мкг/мл)	22/07/2010 17:40:35	3	16,1	5	PDA 260,0 нм	100,00	250,000	1237942	40785	40782	5000,000	226564
Приклад 1 Pat. (250 мкг/мл)	22/07/2010 16:11:31	4	16,1	5	PDA 260,0 нм	20,00	1250,000	6158085	40787	40782	5000,000	1132609
Приклад 1 Pat. (250 мкг/мл)	22/07/2010 18:42:21	4	16,1	5	PDA 260,0 нм	20,00	1250,000	6135000	40789	40782	5000,000	1129398
Приклад 1 Pat. (500 мкг/мл)	22/07/2010 19:13:10	5	16,1	5	PDA 260,0 нм	10,00	2500,000	11826040	40791	40782	5000,000	2158910
Приклад 1 Pat. (500 мкг/мл)	22/07/2010 19:44:00	5	16,1	5	PDA 260,0 нм	10,00	2500,000	11849583	40793	40782	5000,000	2168579

Таблиця 10

Зразки  
Muestra: pH 7,4

	Зразок	Muestra	Ам-пула	RT	Дата отримання	Розбавлення	Ін'єкт. Об'єм (мкл)	Детектування	Площа	Висота
1	Приклад PROB 1	1 pH 7,4	13	16,1	23/07/2010 14:30:00	1,00	5	PDA 260,0 нм	5520835	1006234
2	Приклад PROB 1	1 pH 7,4	13	16,1	23/07/2010 15:00:50	1,00	5	PDA 260,0 нм	5527190	1002480
3	Приклад PROB 2	1 pH 7,4	14	16,1	23/07/2010 15:31:42	1,00	5	PDA 260,0 нм	5433650	992252
4	Приклад PROB 2	1 pH 7,4	14	16,1	23/07/2010 15:02:29	1,00	5	PDA 260,0 нм	5438948	988427
Середнє										
% RSD										

Зразки  
Muestra: pH 7,4

	Концентрація	Одиниці	Рез. Id.	Розрах. Id.	Вага зразка
1	229,0	мкг/мл	40794	40782	1,00
2	229,3	мкг/мл	40795	40782	1,00
3	225,3	мкг/мл	40796	40782	1,00
4	225,3	мкг/мл	40797	40782	1,00
Середнє	227,262				
% RSD	0,9				

Приклад 9

Параметри фармакокінетики  $C_{\text{макс}}$  і AUC

- 5 Тестують фармакокінетичні характеристики сполуки прикладу 1 для щурів штаму Wistar Hanover після однократного перорального введення 25 мг/кг (виражено як сполука 63). Для цієї мети зразки плазми відбирають в різні моменти часу і аналізують, використовуючи метод ВЕРХ (високоєфективної рідинної хроматографії) з детектування флуоресценції.

Отримання зразків

- 10 У вказаному тесті використовують дві групи щурів. Групі 1 вводять носій, а групі 2 вводять сполуку прикладу 1 в дозі 25 мг/кг при об'ємі 10 мл/кг, що вводиться.

Зразки крові відбирають з ретро-орбітальної зони в наступні моменти часу: перед введенням дози, через 15 хв, 30 хв, 1 годину, 1,5 години, 2 години, 3 години, 4 години, 5 годин, 6 годин, 8 годин і 24 години після введення дози. Потім зразки крові переносять в пластикові ампули, що містять гепарин. Плазму отримують шляхом центрифугування зі швидкістю приблизно 3000 об/хв протягом 10 хв при 4 °С. Отримані зразки плазми маркують і заморожують при температурі приблизно -65 °С до аналізу.

Аналіз зразків

- 20 Зразки аналізують, використовуючи затверджений раніше аналітичний метод. Коротше, зразки плазми щурів відтануть при кімнатній температурі і центрифугують при 3000 об/хв протягом 10 хв при приблизно 4 °С. Зразки по 300 мкл плазми поміщують в ампули і вводять 30 мкл робочого розчину внутрішнього стандарту. Ампули закривають і ретельно перемішують.

Для екстрагування сполуки прикладу 1 використовують наступний метод твердофазної екстракції.

- 25 1. Картридж активують метанолом протягом 1 хв при швидкості 1,5 мл/хв.  
2. Картридж активують водою протягом 2 хв при швидкості 1,5 мл/хв.  
3. Завантажують зразок (80 мкл) в картридж з водою на 1,5 хв при швидкості 1,0 мл/хв.  
4. Змочують сумішшю вода/ACN (90/10, об/об) протягом 30 сек при швидкості 1,5 мл/хв.  
30 5. Елюють зразки пересувною фазою протягом 1 хв при швидкості 0,5 мл/хв.  
6. Картридж і капіляр промивають водою і метанолом.

Потім зразки хроматографують, використовуючи як рухому фазу суміш 20 мМ одноосновного калійфосфату при pH 3, і ацетонітрилу (70-73 %) А і (30-27 %) В (об/об) при кімнатній температурі. Використовують швидкість потоку 0,5 мл/хв, і час аналізу складає близько 17 хв.

- 35 Піки, що відповідають сполуці прикладу 1 і її внутрішньому стандарту, розраховують, використовуючи детектування флуоресценції на довжині хвилі збудження 260 нм і на довжині хвилі емісії 360 нм. Інші параметри: Час реакції: >0,2 хв (4 сек стандарт) і PMT посилення 8.

Параметри фармакокінетики

- 40 Параметри фармакокінетики отримують, використовуючи криві середнього рівня плазми шляхом некомпартментальних кінетик за допомогою програмного забезпечення WinNonlin Professional version 5.0.1.

- 45 Величини пікової концентрації плазми ( $C_{\text{макс}}$ ) і часи, за які вказані концентрації досягаються, ( $t_{\text{макс}}$ ) отримують безпосередньо з експериментальних результатів. Константу елімінації ( $k_{\text{ел}}$ ) розраховують, використовуючи лінійну регресію останньої фази кривої (log концентрації від часу). Час півжиття ( $t_{1/2}$ ) визначають з рівняння  $t_{1/2} = 0,693/k_{\text{ел}}$ . Площа під кривою рівнів плазми залежно від часу від нуля до останнього часу визначення ( $AUC_{0-t}$ ) розраховують, використовуючи метод трапецій. Площа під кривою рівнів вмісту в плазмі залежно від часу від

нуля до нескінченності ( $AUC_{0-\infty}$ ) розраховують, використовуючи вираз:  $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_{\text{конц}}/k_{\text{ел}}$ , де  $C_{\text{конц}}$  являє собою концентрацію плазми в останній момент вимірювання.

Фармакокінетичні параметри  $C_{\text{макс}}$  і  $AUC$  для сполуки прикладу 1

Відповідно до описаного протоколу отримують  $C_{\text{макс}}$ : 1152,8 нг/мл,  $AUC_{0-t}$ : 1218,4 нг·час/мл і  $AUC_{0-\infty}$ : 1249,6 нг·час/мл. Див. відповідні графіки на фіг. 30.

Результати, отримані в останніх двох тестах (розчинність і фармакокінетика), підтримують кандидатуру гідрохлориду як найкращу сіль для сполуки 63 для відповідних композицій і клінічних досліджень.

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Гідрохлоридна сіль 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]оксі]етил]морфоліну.

2. Спосіб отримання гідрохлоридної солі за п. 1, який включає:

а) змішування 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафталініл)-1H-піразол-3-іл]оксі]етил]морфоліну і розчину, що містить хлористоводневу кислоту, і

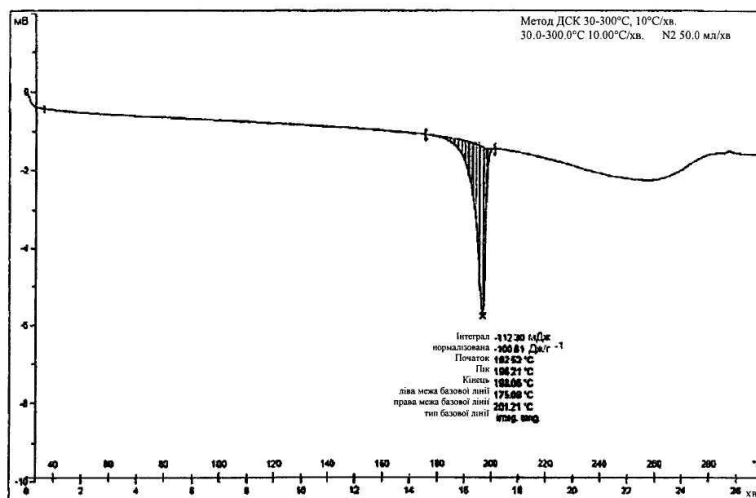
б) виділення отриманої гідрохлоридної солі.

3. Фармацевтична композиція, яка включає гідрохлоридну сіль за п. 1.

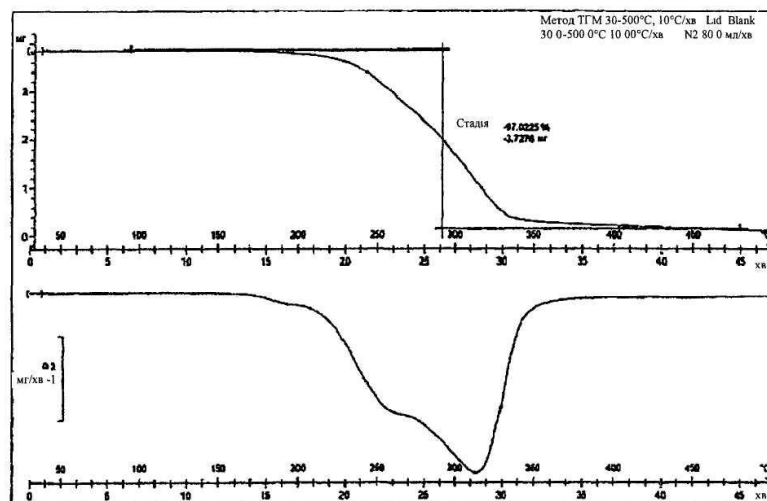
4. Гідрохлоридна сіль за п. 1 для використання як лікарського засобу.

5. Гідрохлоридна сіль за п. 1, призначена для лікування і/або профілактики захворювання або стану, опосередкованого рецептором сигма.

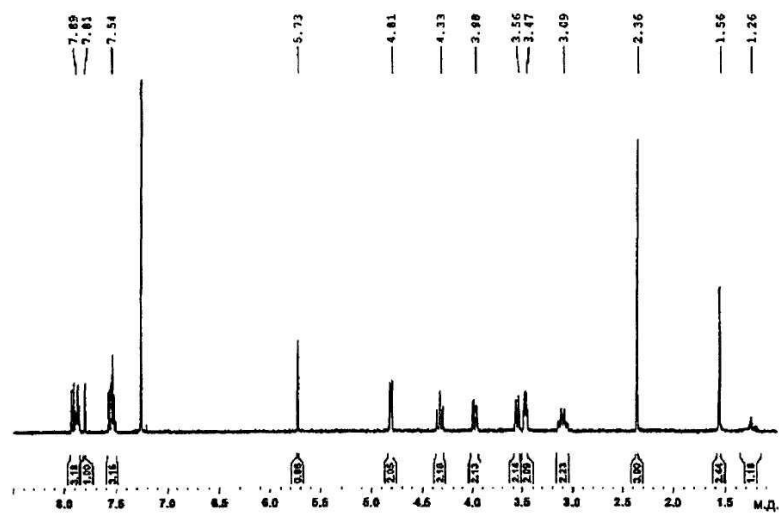
6. Гідрохлоридна сіль за п. 1, призначена для лікування і/або профілактики захворювання, вибраного з групи, що складається з діареї; ліпопротеїнових порушень; мігрені; ожиріння; артриту; гіпертензії; аритмії; виразки; дефіциту навчованості, пам'яті і уваги; порушень пізнавальних здібностей; нейродегенеративних захворювань; демієлінізуючих захворювань; залежності від ліків і хімічних речовин, включаючи кокаїн, амфетамін, етанол і нікотин; пізньої дискінезії; ішемічного удару; епілепсії; удару; стресу; раку; психотичних станів, зокрема депресії, страхів або шизофренії; запалень або аутоімунних захворювань.



Фіг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

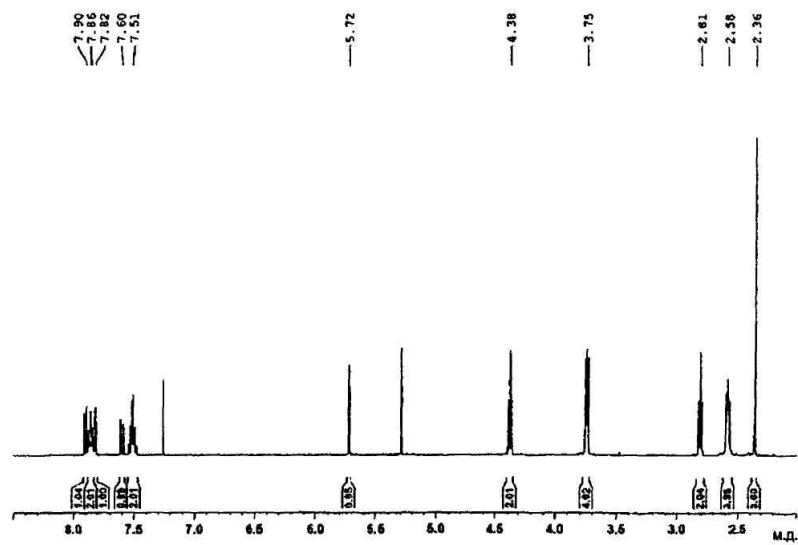


Fig. 4

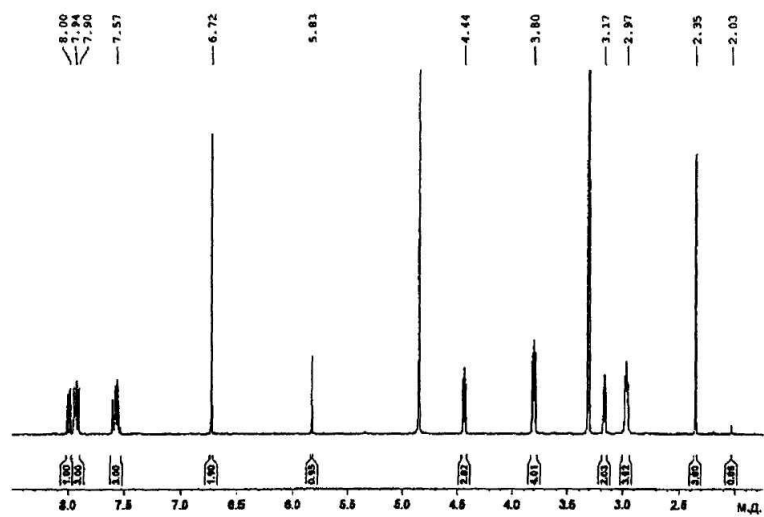


Fig. 5

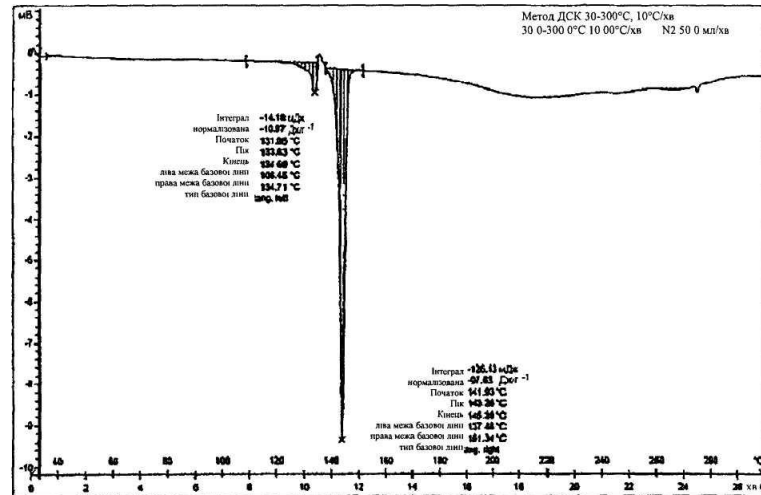


Fig. 6

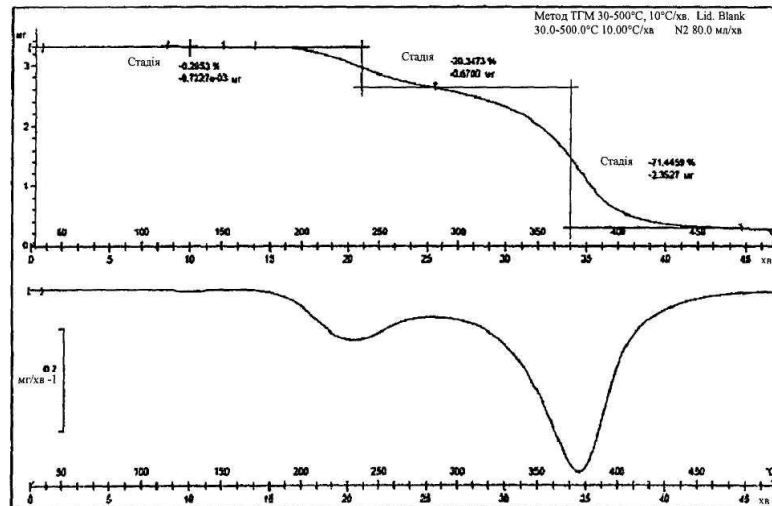
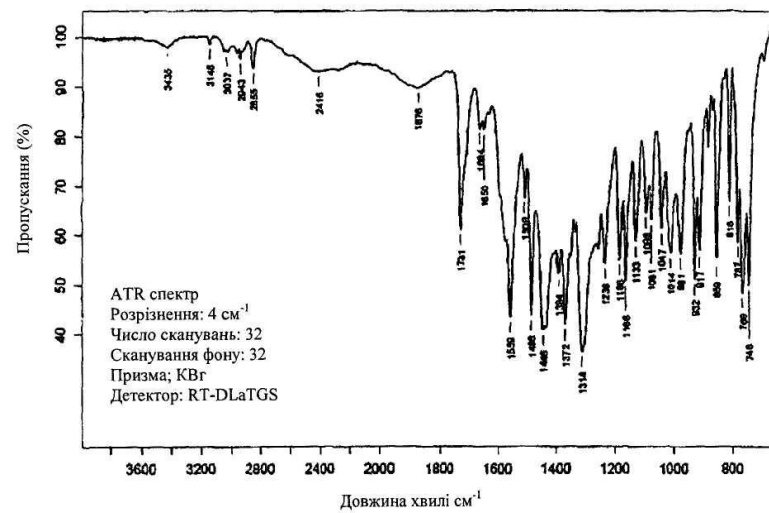
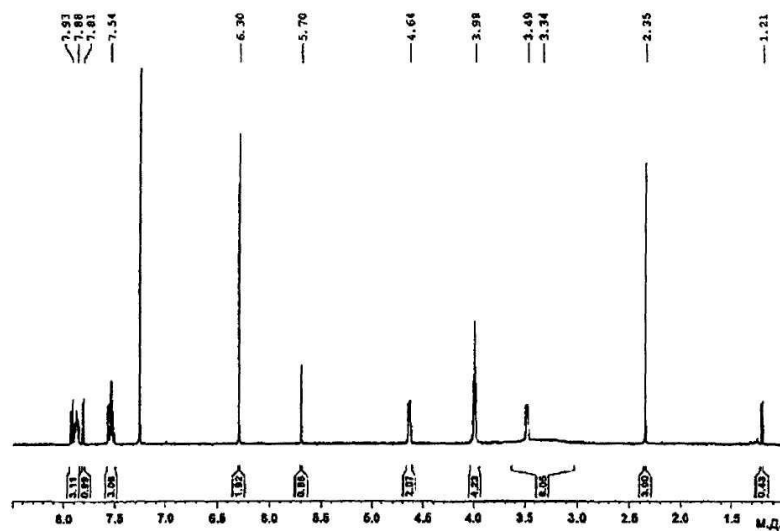


Fig. 7





Фіг. 8



Фіг. 9

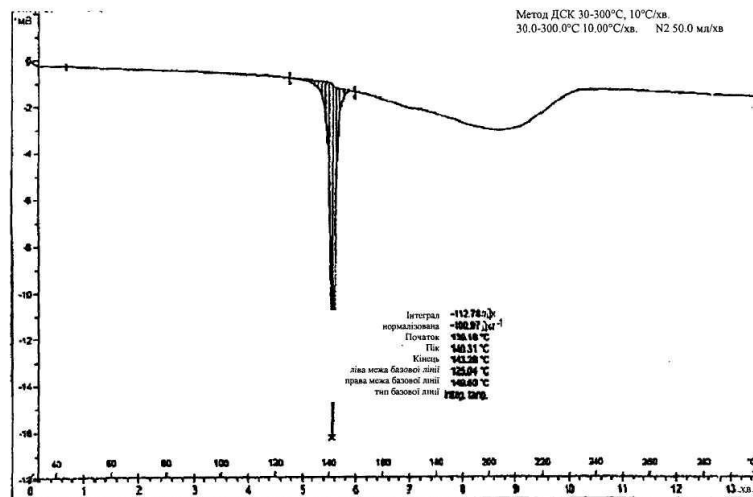


Fig. 10

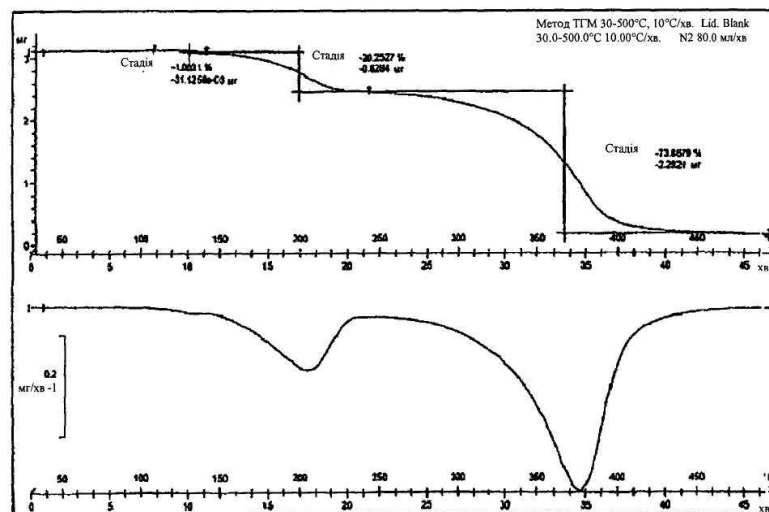
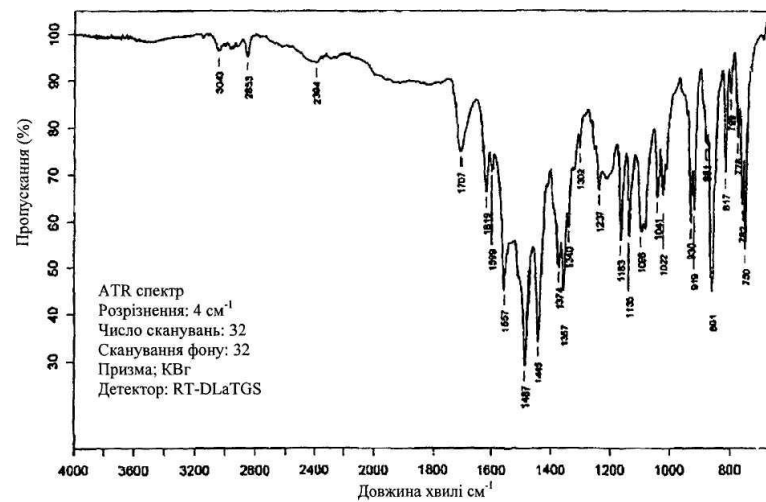
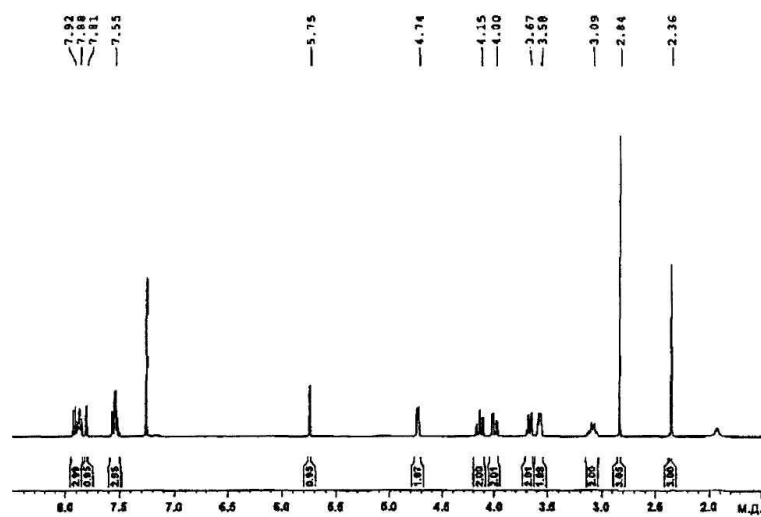


Fig. 11



Фіг. 12



Фіг. 13

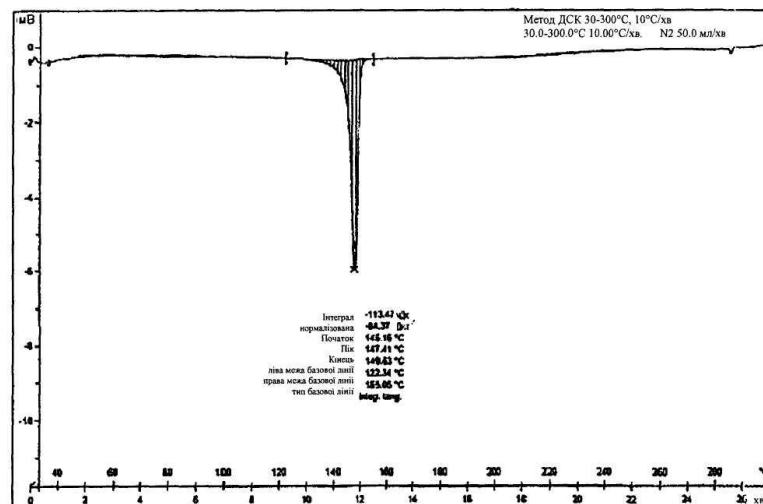


Fig. 14

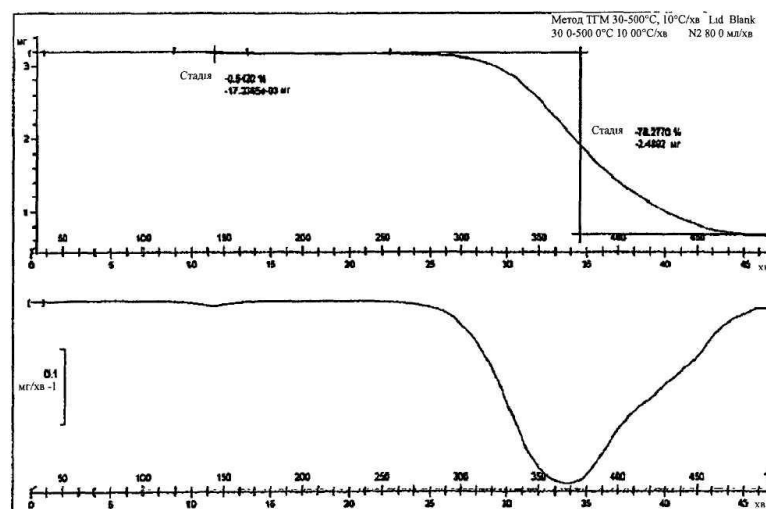
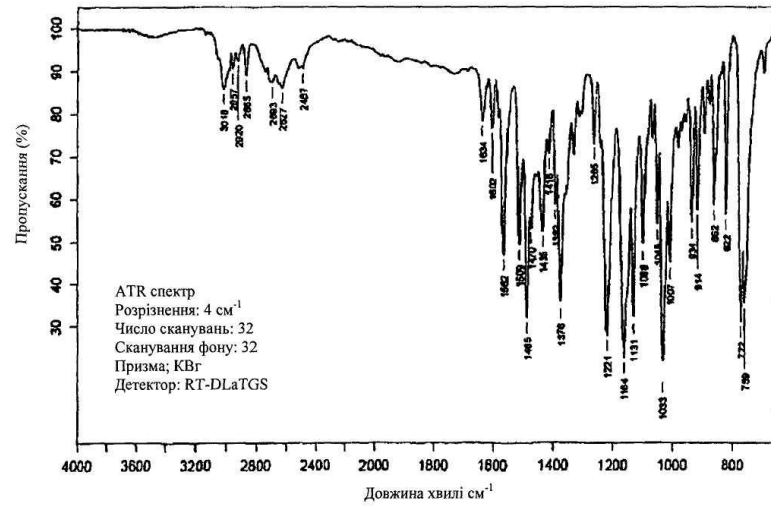
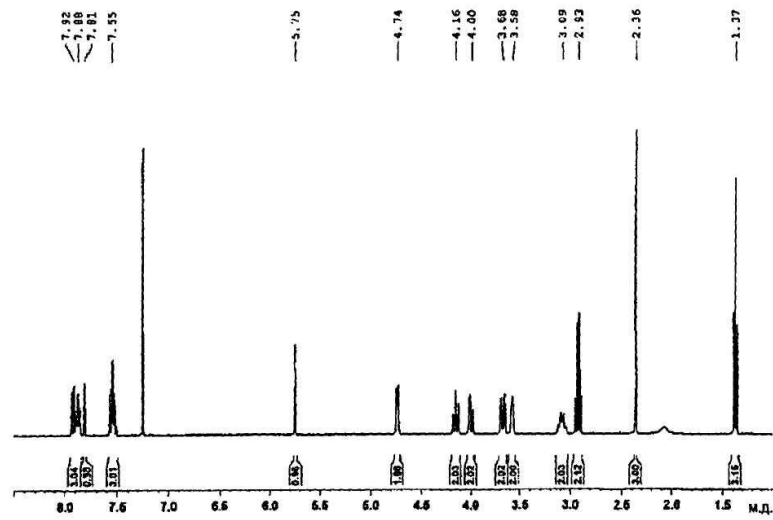


Fig. 15



Фіг. 16



Фіг. 17

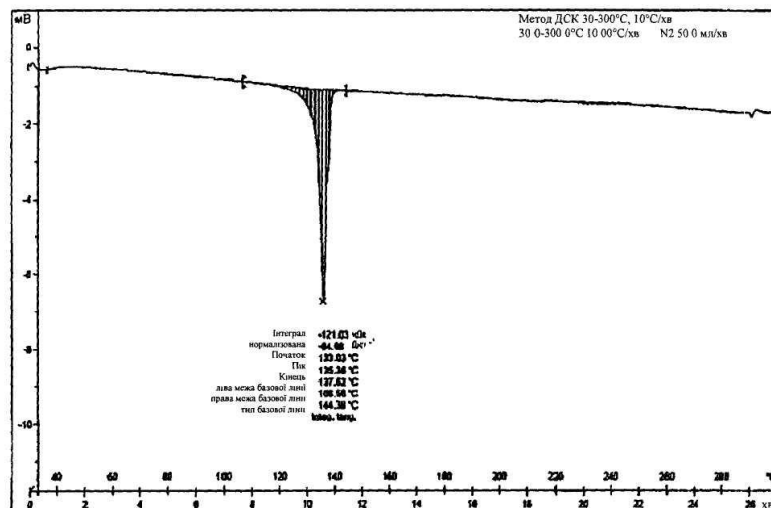


Fig. 18

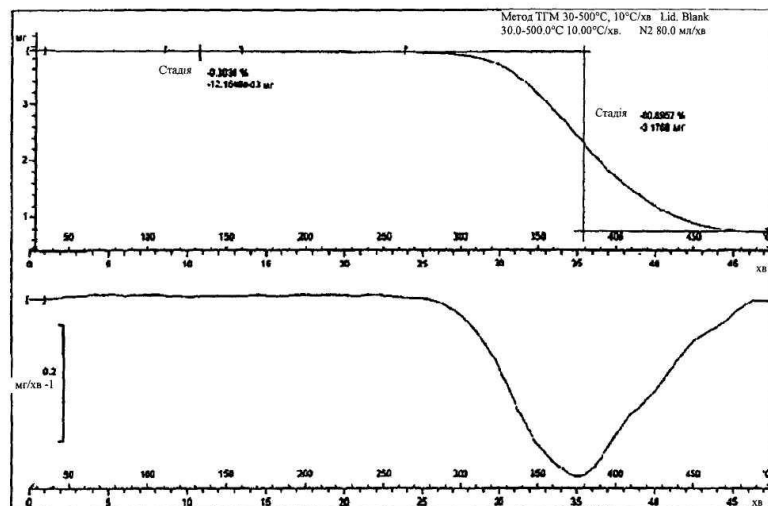
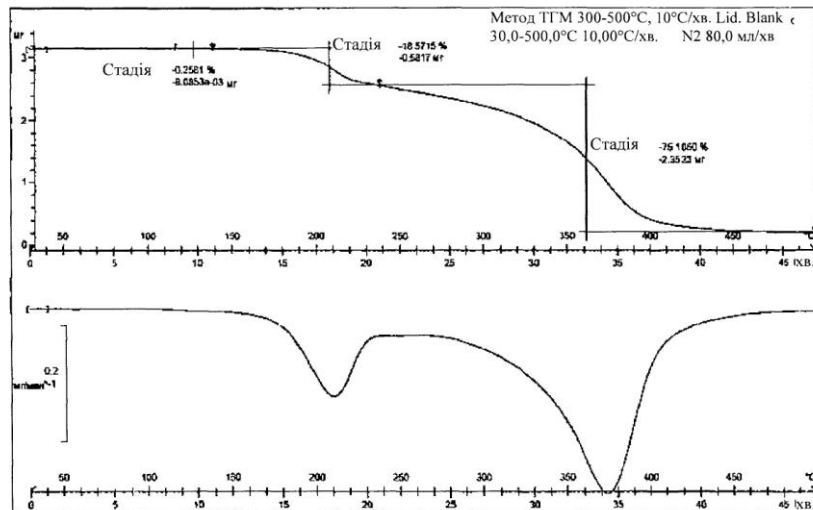
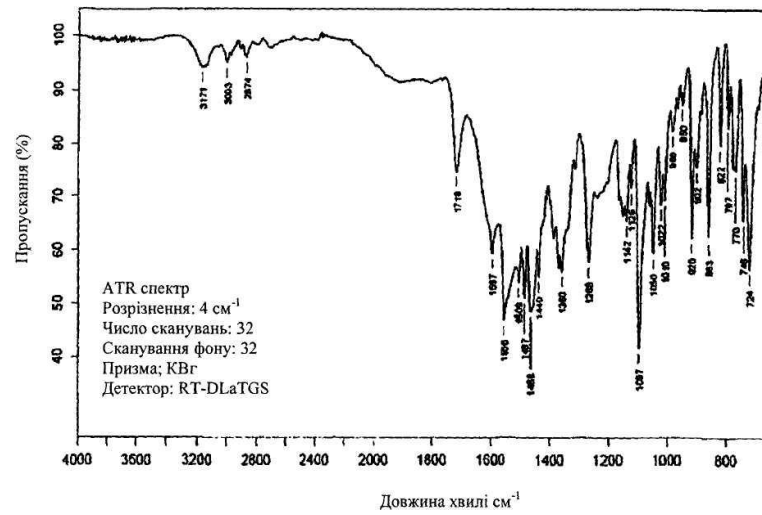


Fig. 19



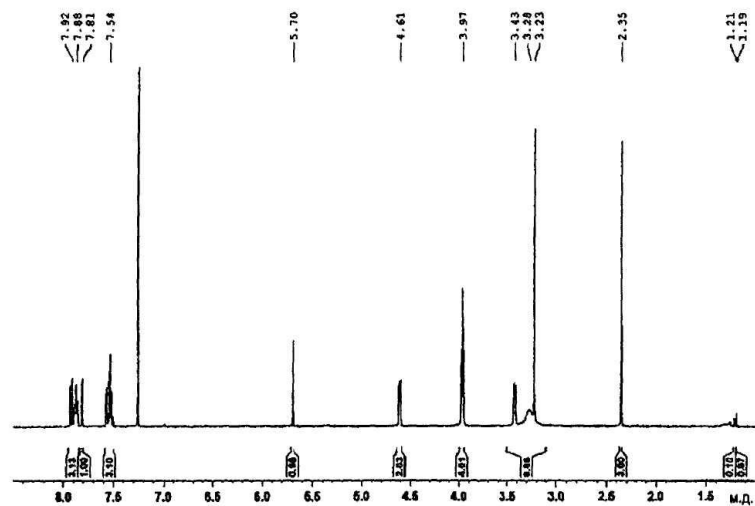


Фіг. 23

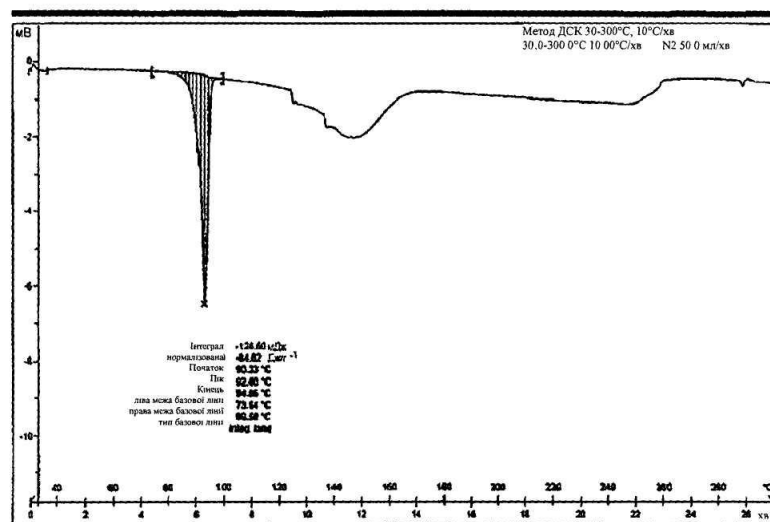


Фіг. 24

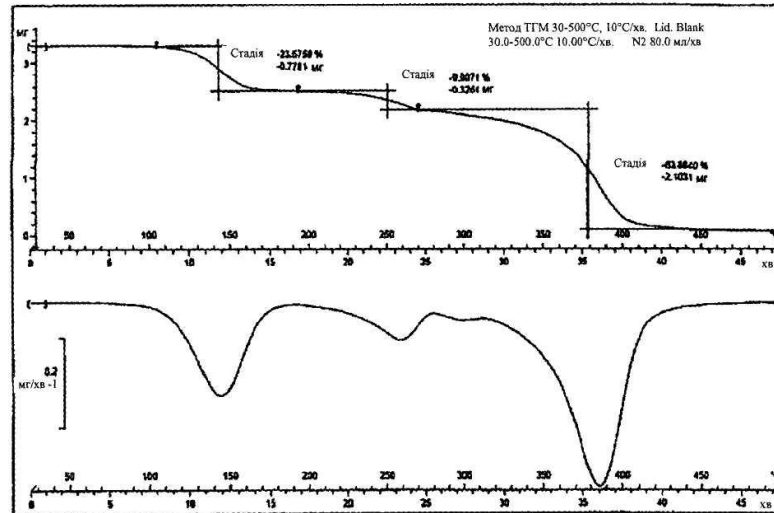




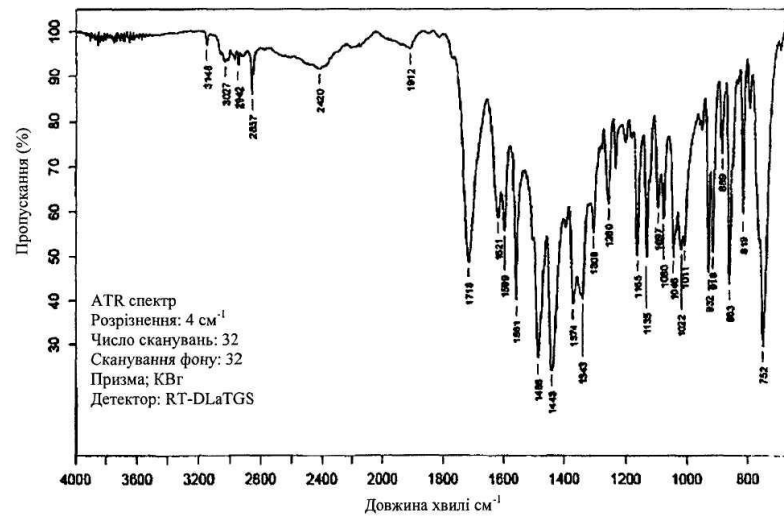
Фиг. 25



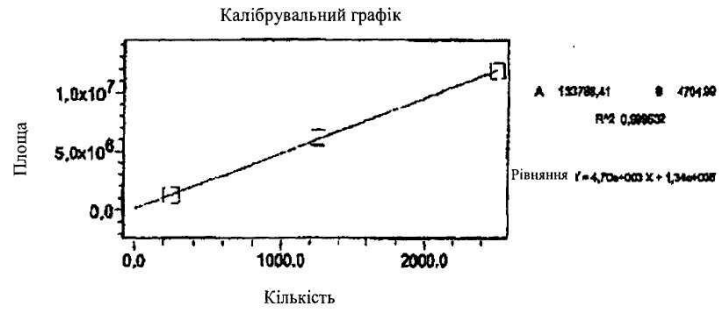
Фиг. 26



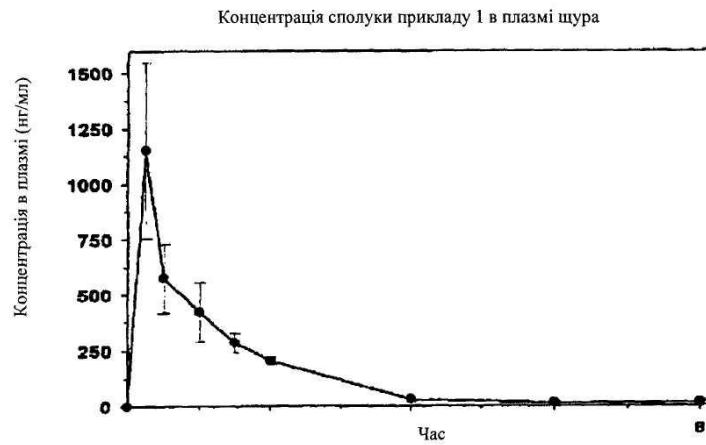
Фіг. 27



Фіг. 28



Фіг. 29



Фіг. 30

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601