

CONFÉDÉRATION SUISSE
INSTITUT FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

(11) **CH** **698 710 B1**

(51) Int. Cl.: **C12P** **21/02** (2006.01)
A61K **38/04** (2006.01)

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

(12) **FASCICULE DU BREVET**

(21) Numéro de la demande:	00421/07	(73) Titulaire(s): Solvay (Société Anonyme), 33, Rue du Prince Albert 1050 Bruxelles (BE)
(22) Date de dépôt:	14.07.2006	(72) Inventeur(s): André Collin, 1081 Bruxelles (BE) Thierry Tambuyser, 1120 Bruxelles (BE)
(30) Priorité:	15.07.2005 US 60/699,818	(74) Mandataire: E. Blum & Co. AG Patent- und Markenanwälte VSP, Vorderberg 11 8044 Zürich (CH)
(24) Brevet délivré:	15.10.2009	(86) Demande internationale: PCT/EP 2006/064253
(45) Fascicule du brevet publié:	15.10.2009	(87) Publication internationale: WO 2007/009946

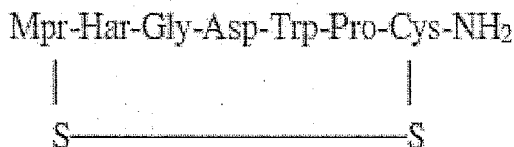
(54) **Procédé de fabrication de l'eptifibatide.**

(57) Procédé de fabrication de l'eptifibatide, qui comprend la soumission d'une solution de dérivé d'eptifibatide dans un solvant à une étape de concentration, dans lequel le pH de ladite solution est inférieur ou égal à 7.

Description

[0001] La présente invention concerne un procédé de fabrication de l'eptifibatide, en particulier un tel procédé comprenant une étape de purification.

[0002] L'eptifibatide, qui est commercialisé par MILLENNIUM PHARMACEUTICALS sous le nom d'IntegrelinTM, est un heptapeptide cyclique de séquence



[0003] qui inhibe de façon sélective le récepteur IIb/ IIIa des glycoprotéines plaquettaires. Il se lie de manière réversible aux plaquettes et possède une comte demi-vie. Il a démontré une efficacité sous forme de solution intraveineuse dans le traitement des patients subissant une angioplastie coronaire, un infarctus du myocarde et un angor.

[0004] Dans son exposé à l'IBC, San Diego, 1999, Callens divulgue un procédé de fabrication de l'eptifibatide.

[0005] Le brevet américain N° 5.686.571 de Scarborough et al. divulgue une chromatographie de l'eptifibatide à l'échelle du laboratoire par une HPLC en phase inversée qui utilise un gradient d'acétonitrile dans de l'acide trifluoroacétique, dans laquelle les fractions de chromatographie sont directement lyophilisées.

[0006] Il était souhaitable de disposer d'un procédé qui permette de fabriquer de l'eptifibatide qui possède la pureté nécessaire pour ses applications et qui présente des avantages en termes de productivité ainsi qu'en ternies de matériel de fabrication nécessaire.

[0007] Par conséquent, l'invention concerne un procédé de fabrication de l'eptifibatide, qui comprend la soumission d'une solution d'un dérivé d'eptifibatide dans un solvant à une étape de concentration, dans lequel le pH de ladite solution est inférieur ou égal à 7.

[0008] De manière surprenante, il s'est avéré que le procédé selon l'invention permet de fournir un matériau à base d'eptifibatide pur concentré sans formation substantielle de sous-produits, en particulier la dimérisation de l'eptifibatide, au cours de l'étape de concentration. Il permet également de respecter les spécifications en matière de purification relative aux impuretés organiques telles que, par exemple, les solvants organiques, en particulier Pacétonitrile.

[0009] Dans cette invention, «solution de dérivé d'eptifibatide» désigne une phase liquide hautement homogène, de préférence totalement homogène, contenant un dérivé d'eptifibatide dissous dans ladite solution.

[0010] Dans cette invention, «dérivé d'eptifibatide» désigne en particulier une forme saline de l'heptapeptide cyclique telle que le chlorure, le trifluoroacétate ou l'acétate. Le dérivé d'eptifibatide préféré est l'acétate, qui est le médicament commercialisé.

[0011] Dans le procédé selon l'invention, le pH de la solution est de préférence inférieur ou égal à 5, et de manière plus préférée, inférieur ou égal à environ 4,6. Dans le procédé selon l'invention, le pH de la solution est généralement supérieur ou égal à 3, et de manière plus préférée, supérieur ou égal à 4.

[0012] Dans le procédé selon l'invention, le pH de la solution est de préférence maintenu aux valeurs indiquées ci-dessus pendant toute l'étape de concentration. Il est préféré de ne pas travailler en dehors des valeurs indiquées, bien qu'il puisse être possible de le faire pendant une courte période de temps, sans que cela ne modifie matériellement les résultats obtenus en vertu des enseignements de cette invention.

[0013] Dans le procédé selon l'invention, le pH de la solution est de préférence maintenu dans un intervalle donné autour d'une valeur de pH cible choisie, telle que décrite ci-dessus. De préférence, cet intervalle est d'environ $\pm 0,5$. Le pH est généralement maintenu en le mesurant et en l'ajustant, si nécessaire, par addition d'un agent de contrôle du pH. Un agent de contrôle du pH préféré est un tampon d'acétate, par exemple en particulier un mélange d'acétate d'eptifibatide et une quantité d'acide acétique contrôlée d'une manière appropriée. L'agent de contrôle du pH peut être ajouté à la solution avant ou pendant l'étape de concentration.

[0014] Dans le procédé selon l'invention, l'étape de concentration est généralement effectuée à une température inférieure ou égale à 40°C, de préférence inférieure ou égale à 35°C et de manière davantage préférée inférieure ou égale à 30°C. Dans le procédé selon l'invention, l'étape de concentration est généralement effectuée à une température supérieure ou égale à -20°C, de préférence supérieure ou égale à 0°C et de manière davantage préférée supérieure ou égale à 20°C. Une étape de concentration effectuée à une température d'environ 30°C est particulièrement préférée.

[0015] Dans le procédé selon l'invention, la température est de préférence maintenue aux valeurs indiquées tout au long de l'étape de concentration. Il est préféré de ne pas travailler en dehors des valeurs indiquées, bien qu'il puisse être possible de le faire pendant une courte période de temps, sans que cela ne modifie matériellement les résultats obtenus en vertu des enseignements de cette invention.

[0016] Dans le procédé selon l'invention, la température durant l'étape de concentration est de préférence maintenue dans un intervalle donné tournant autour d'une valeur de température cible, comme décrit ci-dessus. Cet intervalle est de préférence d'environ $\pm 5^{\circ}\text{C}$, et, de manière particulièrement préférée, de $\pm 2^{\circ}\text{C}$.

[0017] Dans une forme de réalisation particulière du procédé selon l'invention, le solvant comprend de l'eau et un co-solvant organique polaire. Parmi les exemples de co-solvants organiques polaires figurent les nitriles organiques et les alcools. Les nitriles organiques sont préférés, l'acétonitrile est plus particulièrement préféré. Parmi les alcools, les alcools alkyliques, par exemple les alcools en C1–C4, sont préférés. Le méthanol et l'éthanol, en particulier le méthanol, peuvent être adéquatement utilisés.

[0018] Dans cette forme de réalisation, le rapport de volume eau/co-solvant organique polaire est généralement égal à ou supérieur à 50:50 par rapport au mélange eau/solvant organique polaire. Ce rapport est de préférence supérieur ou égal à 70:30. Dans cette forme de réalisation, le rapport de volume eau/co-solvant organique polaire est généralement égal à ou inférieur à 90:10 par rapport au mélange eau/solvant organique polaire. Ce rapport est de préférence égal à ou inférieur à environ 80:20.

[0019] Dans le procédé selon l'invention, le solvant comprend de préférence de l'acide acétique. Lorsque le solvant contient de l'eau et un co-solvant organique polaire, la teneur en acide acétique est de préférence de 0,1-1 part de volume par 100 parts de volume de mélange d'eau/co-solvant organique polaire, et de façon plus préférée d'environ 0,3 part de volume par 100 parts de volume de mélange d'eau/co-solvant organique polaire.

[0020] Dans le procédé selon l'invention, le dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution se compose de préférence d'eptifibatide (acétate).

[0021] Dans le procédé selon l'invention, la pureté du dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution soumise à l'opération de concentration est généralement supérieure ou égale à 98,5% de l'aire déterminée par HPLC. De préférence, cette pureté est supérieure ou égale à 99% de l'aire et de manière plus particulièrement préférée, supérieure ou égale à 99,5% de l'aire. De manière générale, la pureté du dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution soumise à l'opération de concentration ne dépasse pas 99,7% de l'aire déterminée par HPLC.

[0022] Dans le procédé selon l'invention, la concentration du dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution soumise à l'opération de concentration est généralement supérieure ou égale à 0,5% en poids, de préférence supérieure ou égale à 1% en poids et de manière plus particulièrement préférée supérieure ou égale à 2% en poids.

[0023] Dans le procédé selon l'invention, la concentration du dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution soumise à l'opération de concentration est généralement inférieure ou égale à 4% en poids, de préférence inférieure ou égale à 3% en poids.

[0024] Dans le procédé selon l'invention, l'étape de concentration est fréquemment choisie parmi une étape d'évaporation, une étape d'osmose inverse et une étape de précipitation ou de cristallisation. De préférence, l'étape de concentration est choisie parmi une étape d'évaporation et une étape d'osmose inverse, et de manière plus préférée il s'agit d'une étape d'évaporation.

[0025] En particulier lorsque l'étape de concentration est choisie parmi une étape d'évaporation et une étape d'osmose inverse, le matériau récupéré de l'opération de concentration est généralement une solution concentrée de dérivé d'eptifibatide.

[0026] Dans cette forme de réalisation, la solution concentrée de dérivé d'eptifibatide récupérée de l'opération de concentration présente de préférence une concentration de dérivé d'eptifibatide inférieure à la limite de solubilité du dérivé d'eptifibatide dans le solvant soumis à l'évaporation ou à l'osmose inverse, à la température de l'étape de concentration. De préférence, la solution a une concentration d'au moins 70% molaire de la limite de solubilité du dérivé d'eptifibatide dans le solvant soumis à l'évaporation ou à l'osmose inverse, à la température de l'étape de concentration, de manière plus préférée d'au moins 75% molaire et de la manière la plus préférée d'environ 80% molaire de la limite de solubilité. En général, la concentration ne dépasse pas environ 85% molaire de la limite de solubilité. Il s'est avéré que le fait de limiter l'étape de concentration à cette valeur permet de mieux contrôler le procédé et, par cela, d'éviter toute précipitation indésirable et perte associée de lots de produit. Dans une forme de réalisation moins avantageuse, la concentration de dérivé d'eptifibatide est sensiblement inférieure à cette limite de solubilité.

[0027] Lorsqu'un mélange d'eau et d'acétonitrile est utilisé, la solution concentrée de dérivé d'eptifibatide présente généralement une concentration en dérivé d'eptifibatide inférieure ou égale à environ 5% en poids, mais de préférence supérieure ou égale à 4% en poids.

[0028] Dans le procédé selon l'invention, la pureté du dérivé d'eptifibatide contenu dans le matériau concentré récupéré de l'opération de concentration est généralement supérieure ou égale à 98,5% de l'aire déterminée par HPLC. De préférence, cette pureté est supérieure ou égale à 99% de l'aire et de manière particulièrement préférée supérieure ou égale à 99,5% de l'aire. Généralement, la pureté du dérivé d'eptifibatide contenu dans le matériau concentré récupéré de l'opération de concentration ne dépasse pas 99,7% de l'aire déterminée par HPLC.

[0029] Dans le procédé selon l'invention, la teneur en dérivés d'eptifibatide dimères contenus dans le matériau concentré récupéré de l'opération de concentration est généralement inférieure ou égale à 0,2% de l'aire déterminée par HPLC, et

de préférence inférieure ou égale à 0,1% de l'aire. Si des dérivés d'eptifibatide dimères sont présents dans le matériau concentré récupéré de l'opération de concentration, leur concentration peut être au moins de 0,05% de l'aire déterminée par HPLC.

[0030] Dans une forme de réalisation préférée du procédé selon l'invention, l'étape de concentration comprend l'évaporation d'un solvant de la solution. Dans cette forme de réalisation, le solvant est généralement évaporé à une pression supérieure ou égale à 0,001 bar, de préférence une pression supérieure ou égale à 0,01 bar. Dans cette forme de réalisation, le solvant est généralement évaporé à une pression inférieure ou égale à 1 bar, de préférence à une pression inférieure ou égale à 0,5 bar, et de manière plus particulièrement préférée à une pression inférieure ou égale à 0,1 bar.

[0031] Lorsqu'un mélange d'eau et d'acétonitrile est utilisé dans cette forme de réalisation préférée, l'évaporation comprend l'évaporation d'un mélange d'eau et d'acétonitrile, de manière à réduire la concentration d'acétonitrile dans la solution.

[0032] Dans un aspect particulièrement préféré de cette forme de réalisation, de l'eau est ajoutée à la solution au cours de l'étape d'évaporation afin de réduire encore la teneur en acétonitrile et de préférence à éliminer pratiquement tout l'acétonitrile de la solution concentrée. Une teneur typique en acétonitrile dans la solution concentrée est inférieure à environ 100 mg/kg, de préférence inférieure ou égale à environ 30 mg/kg et idéalement inférieure ou égale à environ 20 mg/kg.

[0033] Dans une forme de réalisation préférée, le procédé selon l'invention comprend les étapes (a) à (d) dans lesquelles

- a) le dérivé d'eptifibatide brut est fabriqué par le couplage de fragments peptidiques, par exemple selon la séquence de réaction divulguée dans l'exposé IBC de Callens précité;
- b) le dérivé d'eptifibatide brut est soumis à une opération de purification comprenant au moins une opération de chromatographie liquide en vue d'obtenir une solution de dérivé d'eptifibatide;
- c) la solution de dérivé d'eptifibatide est soumise à l'étape de concentration selon l'invention en vue d'obtenir un matériau présentant une concentration accrue d'eptifibatide; et
- d) le matériau présentant une concentration accrue d'eptifibatide est soumis à une opération de lyophilisation en vue d'obtenir de l'eptifibatide.

[0034] L'exemple ci-après vise à illustrer la présente invention sans toutefois en limiter la portée.

Exemple

[0035] 80 l d'une solution d'acétate d'eptifibatide ayant une pureté de 99,5% mesurée par HPLC analytique sur une colonne en phase inverse C-18, ayant une concentration d'eptifibatide de 15,2 g/l dans un mélange eau/acétonitrile/acide acétique 70 parts en volume/30 parts en volume/0,3 part en volume, ladite solution ayant un pH de 4,6, ont été introduits dans un évaporateur tabulaire à film ascendant et une solution d'acétonitrile/eau est évaporée à une température maintenue à environ 30°C. Durant l'évaporation, 30 l d'eau sont introduits de façon continue à la vitesse de l'évaporation. L'évaporation a ensuite été poursuivie jusqu'à ce que le volume de la solution ait diminué jusqu'à environ 30 l. Le pH de cette solution était de 4,2. Une solution concentrée d'acétate d'eptifibatide ayant une concentration de 40,5 g/l et une pureté de 99,5% et pas de dimère détectable a été récupérée et introduite dans une étape de lyophilisation. De l'acétate d'eptifibatide ayant une pureté adéquate pour l'utilisation en tant que médicament a été obtenu en haut rendement de cette étape.

[0036] Le procédé selon l'invention permet de réduire le volume de la solution introduite dans des procédures d'isolement ultérieures telles qu'une étape de lyophilisation coûteuse, tout en maintenant la pureté nécessaire du dérivé d'eptifibatide pour une application pharmaceutique et en évitant essentiellement la formation de sous-produits, notamment de sous-produits dimères.

Revendications

1. Procédé de fabrication de l'eptifibatide comprenant une étape de purification, laquelle comprend la soumission d'une solution d'un dérivé d'eptifibatide dans un solvant à une étape de concentration, dans lequel le pH de ladite solution est inférieur ou égal à 7.
2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le pH de la solution est inférieur ou égal à 5.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel le pH de la solution est supérieur ou égal à 3.
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel l'étape de concentration est réalisée à une température inférieure ou égale à 40°C.
5. Procédé selon la revendication 4, dans lequel la température est de 0 à 35°C.
6. Procédé selon la revendication 5, dans lequel la température est comprise de 20 à 35°C.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans lequel l'étape de concentration comprend une évaporation de solvant au départ de la solution.
8. Procédé selon la revendication 7, dans lequel le solvant est évaporé à une pression comprise entre 0,001 et 0,5 bar.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans lequel le solvant comprend de l'eau et un co-solvant organique polaire.
10. Procédé selon la revendication 9, qui comprend l'évaporation d'un mélange d'eau et d'acetonitrile.
11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans lequel le solvant comprend de l'acide acétique.
12. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans lequel le dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution est constitué essentiellement d'eptifibatide (acétate).
13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, dans lequel la concentration du dérivé d'eptifibatide contenu dans la solution soumise à l'opération de concentration est de 0,5 à 3% en poids.
14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans lequel le matériau récupéré de l'opération de concentration est une solution concentrée de dérivé d'eptifibatide.
15. Procédé selon la revendication 14, dans lequel la solution concentrée présente une concentration de dérivé d'eptifibatide de 4 à 5% en poids.
16. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, qui comprend les étapes (a) à (d), dans lesquelles
 - a) du dérivé d'eptifibatide brut est fabriqué par le couplage de fragments peptidiques;
 - b) le dérivé d'eptifibatide brut est soumis à une opération de purification comprenant au moins une opération de chromatographie liquide en vue d'obtenir une solution de dérivé d'eptifibatide;
 - c) la solution de dérivé d'eptifibatide est soumise à l'étape de concentration selon l'une quelconque des revendications 1 à 15 en vue d'obtenir un matériau présentant une concentration accrue d'eptifibatide; et
 - d) le matériau présentant une concentration accrue d'eptifibatide est soumis à une opération de lyophilisation en vue d'obtenir de l'eptifibatide.