



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111491919 A

(43)申请公布日 2020.08.04

(21)申请号 201880078639.8

D·尼克尔斯

(22)申请日 2018.10.09

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

(30)优先权数据

代理人 封新琴

1716505.1 2017.10.09 GB

(51)Int.Cl.

1810588.2 2018.06.28 GB

C07D 209/16(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.06.04

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2018/057811 2018.10.09

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/073379 EN 2019.04.18

(71)申请人 指南针路径有限公司

地址 英国柴郡

(72)发明人 D·J·隆德斯布鲁 C·布朗

J·S·诺森 G·摩尔 H·帕蒂尔

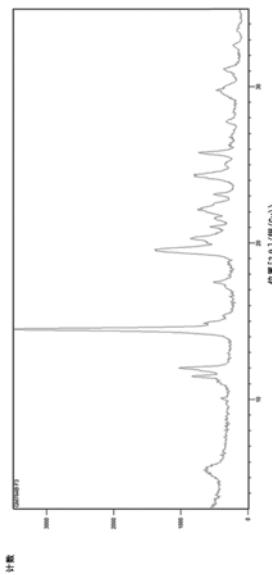
权利要求书2页 说明书61页 附图31页

(54)发明名称

赛洛西宾、不同多晶型形式、中间体、配制品的制备及其用途

(57)摘要

本发明涉及用于医学用途的赛洛西宾的大规模生产。更具体地，本发明涉及一种获得高纯度结晶的特别处于多晶型物A形式的赛洛西宾的方法。本发明还涉及一种生产赛洛西宾及其生产中的中间体以及含有赛洛西宾的配制品的方法。



1. 一种处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其特征在于以下中的一种或多种:

- a. 在XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰;
- b. 在XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰, 其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的至少一个另外的峰;
- c. 基本上如图7a或7b中所示的XRPD衍射图; 或者
- d. 基本上如图8a或8b所示, DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

2. 根据权利要求1所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其特征还在于:DSC热谱图中起始温度在210°C与215°C之间的吸热事件。

3. 根据权利要求1或2所述的处于多晶型物A形式的结晶赛洛西宾, 其特征在于以下中的一种或多种:

- a. XRPD衍射图中在11.5、12.0、14.5和17.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰;
- b. XRPD衍射图中在11.5、12.0、14.5和17.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰, 其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处至少一个另外的峰;
- c. 基本上如图7a中所示的XRPD衍射图; 或者
- d. 基本上如图8a所示, DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

4. 根据权利要求3所述的处于多晶型物A形式的结晶赛洛西宾, 其中与在14.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰相比, 在17.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰具有至少5%的相对强度。

5. 根据权利要求1或2所述的处于多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其特征在于以下中的一种或多种:

- a. XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰, 但是不存在或基本上不存在17.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰;
- b. XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰, 但是不存在或基本上不存在17.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰, 其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处至少一个另外的峰;
- c. 基本上如图7b所示的XRPD衍射图; 或者
- d. 基本上如图8b所示, DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

6. 根据权利要求5所述的处于多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其中与在14.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰相比, 在17.5° $2\theta$  $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的任何峰具有小于5%的相对强度。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其特征还在于具有:

- ii) <0.5%w/w的含水量; 或
- iii) 在TGA热谱图中, 在如25°C的环境温度与200°C之间, <0.5%w/w的损失。

8. 根据任一前述权利要求所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其具有通过HPLC得出的大于97%的化学纯度, 并且没有单一杂质是大于1%的, 所述杂质包括如通过<sup>31</sup>P NMR所测量的磷酸和如通过HPLC所测量的光盖伞辛。

9. 根据任一前述权利要求所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾, 其中所述结晶赛洛西宾是白色至灰白色固体。

10. 根据任一前述权利要求所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾,

其包含与图10至13中的任一个或多个一致的光谱。

11. 根据任一前述权利要求所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾，其包含表9的第6至13点的一个或多个质量属性的验收标准。

12. 根据权利要求1至4或7至11所述的一批结晶赛洛西宾多晶型物A，其包含至少100g。

13. 一种药物配制品，其包含根据任一前述权利要求所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾。

14. 根据权利要求13所述的药物配制品，其是口服剂型。

15. 根据权利要求13或14所述的药物配制品，其中所述处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾以提供从0.01mg/kg至1mg/kg的剂量的量存在。

16. 根据权利要求13至15中任一项所述的药物配制品，其包含一种或多种赋形剂。

17. 根据权利要求16所述的药物配制品，其中所述一种或多种赋形剂包含微晶纤维素或淀粉。

18. 根据权利要求16所述的药物配制品，其中所述一种或多种赋形剂包含硅化的微晶纤维素。

19. 根据权利要求1至11所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾，其用于医学用途。

20. 根据权利要求1至11所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾，其用于治疗中枢神经障碍。

21. 根据权利要求1至11所述的处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾，其用于治疗耐药性抑郁症。

22. 一种大规模生产处于多晶型物A形式的赛洛西宾(12)的方法，其特征在于所述方法包括使赛洛西宾(12)经受水结晶步骤，并且控制干燥，以生产根据权利要求1至4或7至11中任一项所述的结晶赛洛西宾多晶型物A。

23. 一种用于医学用途的处于多晶型物A(12A)形式的结晶赛洛西宾。

24. 一种用于治疗耐药性抑郁症的处于多晶型物A(12A)形式的结晶赛洛西宾。

25. 一种治疗耐药性抑郁症的方法，其包括向有需要的受试者给予有效剂量的处于多晶型物A(12A)形式的结晶赛洛西宾。

26. 一种大规模生产处于多晶型物A(12A)形式的赛洛西宾(12)的方法，其特征在于所述方法包括使赛洛西宾(12)经受水结晶步骤，并且控制干燥，以生产特征在于以下中的一种或多种的晶体：

a. XRPD衍射图中在11.5、12.0、14.5和17.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰；

b. XRPD衍射图中在11.5、12.0、14.5和17.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰，其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处至少一个另外的峰；

c. 基本上如图7a中所示的XRPD衍射图；或者

d. 基本上如图8a所示，DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

27. 根据权利要求26所述的方法，其中将所述赛洛西宾在约10-20体积的水中重结晶，在搅动下加热至至少70°C的温度，精过滤，在约70°C的温度下接种，并且经超过2小时的时间段冷却至约5°C。

## 赛洛西宾、不同多晶型形式、中间体、配制品的制备及其用途

- [0001] 本发明涉及用于医学用途的赛洛西宾的大规模生产。
- [0002] 大规模意指生产多个批次的重量大于10g、更优选大于100g、再更优选大于250g并且高达和高于Kg水平的赛洛西宾。
- [0003] 本发明还涉及生产中间体(包括但不限于光盖伞辛(psilocybin))、赛洛西宾的不同多晶型形式(包括同构变体)及其配制品,用于医学用途,特别地但不排除耐治疗抑郁症的治疗(如在Diagnostic and Statistical Manual,第5版中所定义的),所述中间体、赛洛西宾的不同多晶型形式及其配制品可单独使用,也可与数字方式提供的心理支持结合。

### 背景技术

- [0004] 赛洛西宾在1958年首先由Sandoz合成,参见GB 912714和US 3075992,并且直到20世纪60年代中期才广泛用作研究化学品。
- [0005] 基于植物的迷幻剂已被用作心理疗法的辅助物,用于治疗心境障碍和酒精性障碍,并且最近有3项临床试验已报道了其用于治疗抑郁症症状的用途。
- [0006] Griffiths等人2016;J Psychopharmacol 30 (12) :1181-1197;
- [0007] Ross等人2016;J Psychopharmacol 30 (12) :1165-1180;以及
- [0008] Carhart-Harris等人2016,Lancet Psychiatry 3 (7) :619-627。
- [0009] 生产赛洛西宾的方法是有限的并且包括:
- [0010] J Nat Prod 2003,66,第885-887页;
- [0011] Helv Chim Acta 1959,42,2073-2103;
- [0012] Experientia 1958,15,397-399;以及
- [0013] Synthesis 1999,935-938。
- [0014] 基于此文献,申请人认为在J Nat Prod 2003,66,第885-887页(以下称为JNP)中公开的方法是开发为商业规模工艺最合适的方法。
- [0015] 其中公开的方法产生约10g的量并且包括6个步骤,编号为(i)至(vi)。
- [0016] 通过与本申请人的方法类比,以下将步骤ii和iii作为单个步骤(步骤2)进行讨论,并且JNP方法如本文图1所示重现。
- [0017] 步骤1(i)包括使4-羟基吲哚(“3”)与乙酸酐( $\text{Ac}_2\text{O}$ )在吡啶和无水二氯甲烷( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )中在0℃下反应。添加水,将混合物蒸发,并且将所得浓缩物在乙酸乙酯中溶解,用水和饱和氯化钠洗涤,并且将有机相经硫酸钠干燥并且蒸发以获得4-乙酰基吲哚(“4”),将所述4-乙酰基吲哚通过过滤收集并且用水和乙酸乙酯洗涤。
- [0018] 步骤2(ii和iii),两步酰化(ii)-酰胺化步骤(iii),包括通过以下方式形成3-二甲基氨基草酰基-4-乙酰基吲哚(“6”):(ii)使4-乙酰基吲哚(“4”)与草酰氯( $(\text{COCl})_2$ )在无水二乙醚中反应、搅拌,添加正己烷并且保持在-20℃以产生中间体3-(2-氯-2-氧代乙酰基)-1H-吲哚-4-基乙酸酯(“5”),将所述中间体通过过滤分离。将所述中间体在无水四氢呋喃(THF)中溶解,并且与二甲胺( $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$ )在四氢呋喃和吡啶中反应。由于固化添加无水醚,并且将所述反应产物通过过滤分离,并且用正己烷、乙酸乙酯和水洗涤,以获得3-二甲基氨基

基草酰基-4-乙酰基吲哚(“6”)。

[0019] 步骤3(iv)包括通过使3-二甲基氨基草酰基-4-乙酰基吲哚(“6”)与氢化铝锂(LiAlH<sub>4</sub>)在无水THF中在氩气氛下反应,形成光盖伞辛(“1”)。回流并且冷却后,添加无水硫酸钠,然后添加硫酸钠溶液,并且进一步添加无水硫酸钠。将反应混合物用乙酸乙酯稀释,快速在真空中浓缩,并且将所得的光盖伞辛晶体用甲醇短暂洗涤。

[0020] 步骤4(v)包括通过使溶解于无水THF中的光盖伞辛与在正己烷中的正丁基锂(n-BuLi)在-78℃下和四苄基焦磷酸酯[(BnO)<sub>2</sub>PO]<sub>2</sub>O反应,形成苄基[2-(4-氧吲哚-3-基)乙基]二甲基铵-4-O-苄基磷酸酯(“8”),并且允许将所述反应加温至0℃,并且监测中间体二苄基3-[2-(二甲基氨基)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸酯(“7”)的产生。在检查其存在时,添加氨基丙基硅胶,将混合物用乙酸乙酯稀释并且通过硅藻土垫通过抽吸过滤,将滤液在真空中浓缩,在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中再溶解,并且通过过滤收集沉淀。

[0021] 步骤5(vi)包括使用钯活化的碳催化剂(Pd/C),在甲醇(MeOH)中使(“8”)与氢气(H<sub>2</sub>)反应形成赛洛西宾(“2”)。由于产物沉积添加水,并且监测(“8”)、其单脱苄基衍生物以及赛洛西宾的出现,将反应溶液通过硅藻土垫过滤。将产物通过过滤收集,并且用乙醇洗涤,以提供白色针状晶型,熔点为190℃-198℃。

[0022] 与使用非水性溶剂(如甲醇或乙醇)的大多数方法(如JNP)相反,Experientia 1958, 15, 397-399使用从水中单次重结晶以通过蘑菇提取获得赛洛西宾。所述教导是使用沸腾的水以溶解通过色谱以小规模获得的起始材料,并且据称所得的高真空干燥的材料在185℃与195℃之间熔融不明显,并且示出25.4%的重量损失,这表明其纯度和形式与申请人获得的纯度和形式明显不同。

[0023] 在开发用以生产赛洛西宾的合成期间,申请人以5g的规模进行了许多氢化反应,这导致获得了赛洛西宾的不同晶型。初始氢化反应产生水合物A(JCCA2157E),其展现如图7d所示的XRPD衍射图和如图8d所示的DSC和TGA热谱图。DSC在约97℃时展现吸热,这与TGA中指示脱水的重量减少一致,并且在约216℃的开始温度下发生了吸热事件(据推测是熔融)。另一个氢化反应产生乙醇溶剂化物(JCCA2158D),当通过XRPD(图7e)、DSC(图8e)、TGA(图8e)和通过<sup>1</sup>H NMR分析时,表明11%截留的乙醇。DSC热谱图示出开始温度为约154℃的吸热(显现是熔融),同时TGA中约13%的重量损失。在开发期间进行的另一个实验中,申请人进行了赛洛西宾的结晶;而不是将其保持在热水中的溶液从而允许精过滤步骤,在高温(>90℃)下发生沉淀。进一步加热或添加额外的水后,形成的固体不会再溶解。冷却并且分离固体(CB646E)后,进行XRPD。XRPD衍射图(图7f)表明多晶型物A'(JCCA2160-F-D4)和多晶型物B(JCCA2160-F-TM2-C5)的混合相。这些发现凸显了开发能够一致地产生所需晶型的方法的重要性,因此,申请人着手实验以确定这些晶型是什么,以便它们能够以适合用于医学用途的受控形式产生化学纯的赛洛西宾。

[0024] 对于临床试验,任何新的活性物质(NAS)都应该能够大规模生产(典型地100g+、更典型地大于250g、再更优选地大于500g、至Kg+批次),取决于向人类受试者给药的活性的量。它也应该是化学纯的、定义明确的并且储存稳定的。

[0025] 此外,任何制造方法都必须是易于复制的,并且提供批次间的一致性。

[0026] 本发明的第一个目的是提供用于向人类受试者给予的具有一致多晶型形式的赛洛西宾。

[0027] 本发明的另一个目的是提供用于向人类受试者给予的具有一致多晶型形式的化学纯的赛洛西宾。

[0028] 还进一步的目的是提供大规模批量生产的化学纯的赛洛西宾,由于用于商业用途,必须大规模生产纯的赛洛西宾。

[0029] 本发明的又进一步的目的是提供使赛洛西宾以所需多晶型形式结晶的方法。

[0030] 本发明的又进一步的目的是提供从光盖伞辛或4羟基吲哚制造赛洛西宾的规模化方法。

[0031] 在开发合适的方法中,申请人经历了必须克服的许多问题和困难,并且单独的、独立的目的是克服在每个步骤中确定的那些问题并且单独或组合使用本发明。

[0032] 本发明的又进一步的目的是以适合于向人类受试者给予的形式配制本发明的赛洛西宾,并将其用于医学中、特别地在中枢神经系统障碍 (CNS) 的治疗中、以及更特别地但不排除在抑郁症(特别是耐药性抑郁症)的治疗中,所述赛洛西宾可单独使用,也可与数字保健产品或数字解决方案结合。

## 发明内容

[0033] 根据本发明的第一方面,提供了处于多晶型物A或多晶型物A' 形式的结晶赛洛西宾,其特征在于以下中的一种或多种:

[0034] a. 在XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰;

[0035] b. 在XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰,其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的至少一个另外的峰;

[0036] c. 基本上如图7a或7b中所示的XRPD衍射图;或者

[0037] d. 基本上如图8a或8b所示,DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

[0038] 多晶型物A

[0039] 根据本发明的优选实施方案,提供了处于多晶型物A形式的结晶赛洛西宾,其特征在于以下中的一种或多种:

[0040] a. XRPD衍射图中在11.5、12.0、14.5和17.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰;

[0041] b. XRPD衍射图中在11.5、12.0、14.5和17.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰,其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处至少一个另外的峰;

[0042] c. 基本上如图7a中所示的XRPD衍射图;或者

[0043] d. 基本上如图8a所示,DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

[0044] 与在14.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰相比,在17.5° $2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰具有至少5%、优选至少6%、再更优选至少7%、8%和9%直至至少10%的相对强度。

[0045] 在一个实施方案中,赛洛西宾多晶型物A展现出由在表1中总结的衍射图表征的XRPD衍射图。在本文所述的一个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少3个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少4个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少5个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少6个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛

西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少8个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少10个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物A包含表1的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少15个峰。在约 $17.5^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰将赛洛西宾多晶型物A与多晶型物A'区分,其中不存在或基本上不存在所述峰(即与在 $14.5^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰相比,具有小于2%,更优选地小于1%的相对强度)。

[0046] 表1-多晶型物A的XRPD峰位置

[0047]

位置 [ $^\circ 2\theta$ ]	相对强度 [%]
5.6	8.42
11.5	13.05
12.0	26.45
14.5	100
17.5	10.71
19.7	37.29
20.4	20.06
22.2	17.83
23.2	6.99
24.3	17.93
25.7	16.4
26.8	3.15
27.8	4.54
29.7	9.53
31.2	6.51
32.6	2.45
33.7	1.75

[0048] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征在于在 $11.5$ 、 $12.0$ 、 $14.5$ 和 $17.5^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的XRPD衍射图峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征还在于在 $19.7$ 、 $20.4$ 、 $22.2$ 、 $24.3$ 或 $25.7^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处出现的至少一个另外的峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征还在于在 $19.7$ 、 $20.4$ 、 $22.2$ 、 $24.3$ 或 $25.7^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处出现的至少两个另外的峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征还在于在 $19.7$ 、 $20.4$ 、 $22.2$ 、 $24.3$ 或 $25.7^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处出现的至少三个另外的峰。在又进一步的实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A展现与图7a所示的XRPD衍射图基本上相同的XRPD衍射图。

[0049] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征在于在 $14.5$ 和 $17.5^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的XRPD衍射图峰,并且在 $17.5^\circ 2\theta$ 处的峰具有在 $14.5^\circ 2\theta$ 处的峰的强度的至少5%、再更优选至少6%、至少7%、至少8%、至少9%直至至少10%的强度。

[0050] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A不存在或基本上不存在 $10.1$ 处的XRPD衍射图峰。基本上不存在意指在 $10.1$ 处的任何XRPD衍射图峰为在 $14.5^\circ 2\theta$ 处的峰强度的小于2%(如小于1%),或在XRPD衍射图中不可检测到,

[0051] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征在于DSC热谱图中起始温度在

205°C与220°C之间(如在210°C与220°C之间、如在210°C与218°C之间或如在210°C与216°C之间)的吸热事件。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征还在于DSC热谱图中起始温度在145°C与165°C之间(如在145°C与160°C之间或如在145°C与155°C之间)的吸热事件。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征在于DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间(如在210°C与220°C之间、如在210°C与218°C之间或如在210°C与216°C之间)的吸热事件以及起始温度在145°C与165°C之间(如在145°C与160°C之间或如在145°C与155°C之间)的吸热事件。在又另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A展现与图8a所示的DSC热谱图基本上相同的DSC热谱图。

[0052] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征在于含水量<0.5%w/w,如<0.4%w/w、如<0.3%w/w、如<0.2%w/w或如<0.1%w/w。技术人员将知道确定化合物的含水量的方法,例如卡尔·费希尔滴定法。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A的特征在于在TGA热谱图中,在环境温度(如约25°C)与200°C之间,具有<0.5%w/w损失,如<0.4%w/w、如<0.3%w/w、如<0.2%w/w、如<0.1%w/w。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A在干燥失重测试中,损失以重量计小于2%,如以重量计小于1%,如以重量计小于0.5%。在70°C下进行干燥失重测试。

[0053] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A是高度纯的多晶型物A晶型,例如,赛洛西宾包含以重量计至少90%,如95%、如99%、如99.5%的多晶型物A。

[0054] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A是白色至灰白色固体。

[0055] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A是化学纯的,例如赛洛西宾具有通过HPLC得出的大于97%(如大于98%或如大于99%)的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A中没有单一杂质是大于1%的,更优选小于0.5%,所述杂质包括如通过<sup>31</sup>P NMR测量的磷酸和如通过HPLC测量的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A具有通过HPLC得出的大于97面积%、再更优选大于98面积%、并且最优选大于99面积%的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A中,如通过HPLC测量的,没有单一杂质是大于1面积%的,更优选小于0.5面积%。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A不含有如通过HPLC测量的水平大于1面积%的光盖伞辛,更优选小于0.5面积%的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A不含有如通过<sup>31</sup>P NMR测量的水平大于1重量%的磷酸,更优选小于0.5重量%的磷酸。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A具有至少95重量%,如至少96重量%或如至少98重量%的化学测定。

[0056] 多晶型物A'

[0057] 根据本发明的另一个实施方案,提供了结晶赛洛西宾多晶型物A',其特征在于以下中的一种或多种:

[0058] a.XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5°2θ±0.1°2θ处的峰,但是不存在或基本上不存在17.5°2θ±0.1°2θ处的峰;

[0059] b.XRPD衍射图中在11.5、12.0和14.5°2θ±0.1°2θ处的峰,但是不存在或基本上不存在17.5°2θ±0.1°2θ处的峰,其特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7°2θ±0.1°2θ处至少一个另外的峰;

[0060] c.基本上如图7b所示的XRPD衍射图;或者

[0061] d.基本上如图8b所示,DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

[0062] 基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰意指, 如果存在的话, 所述峰具有与在  $14.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰相比小于 5%、更优选小于 4%、小于 3% 直至 2%、1% 或更小的相对强度。

[0063] 在一个实施方案中, 赛洛西宾多晶型物 A' 展现出由表 2 中总结的衍射图表征的 XRPD 衍射图。在本文所述的一个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 3 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 4 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 5 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 6 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 8 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 10 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 15 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 20 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。在本文所述的某个实施方案中, 所述结晶赛洛西宾多晶型物 A' 包含表 2 的 ( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ ) 的至少 25 个峰, 但是不存在或基本上不存在于  $17.5^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$  处的峰。

[0064] 表 2-多晶型物 A' 的 XRPD 峰位置

位置 [ $^{\circ}2\theta$ ]	相对强度 [%]
5.5	4.89
10.1	4.09
11.5	22.05
12.0	22.77
14.5	100
14.9	11.29
17.5	1.08

[0066]	18.7	2.44
	19.4	23.02
	19.6	33.7
	20.3	17.01
	21.1	12.08
	21.6	8.51
	22.2	15.54
	22.6	8.78
	23.1	10.11
	24.3	21.83
	25.1	4.36
	25.8	15.4
	26.3	4.28
	26.8	2.86
	27.8	5.96
	28.6	1.91
	29.7	10.56
	31.1	7.35
	32.6	3.72
	33.8	1.54

[0067] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于在11.5、12.0和14.5° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处的XRPD衍射图峰,但是基本上不存在17.5° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处的峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处出现的至少一个另外的峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征还在于在19.7、20.4、22.2、24.3或25.7° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处出现的至少两个另外的峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征还在于存在在10.1° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处出现的峰,并且通过在10.1° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处出现的峰的存在与多晶型物A区分。在又进一步的实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 展现与图7b所示的XRPD衍射图基本上相同的XRPD衍射图。

[0068] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于在14.5和17.5° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处的XRPD衍射图峰,其中在17.5° $2\theta$ 处的峰强度为在14.5° $2\theta$ 处的峰强度的小于5%,如小于4%、如小于3%、如小于2%、如小于1%或如约1%。

[0069] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于在10.1和14.5° $2\theta$  ± 0.1° $2\theta$ 处的XRPD衍射图峰,其中在10.1° $2\theta$ 处的峰强度为在14.5° $2\theta$ 处的峰强度的至少1%,如至少2%、如至少3%或如约4%。

[0070] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间(如在210°C与220°C之间、如在210°C与218°C之间或如在210°C与216°C之间)的吸热事件。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征还在于DSC热谱图中起始温度在145°C与165°C之间(如在145°C与160°C之间或如在145°C与155°C之间)的吸热事件。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间(如在210°C与220°C之间、如在210°C与218°C之间或如在210°C与216°C之间)的吸热事件以及起始温度在145°C与165°C之间(如在145°C与160°C之间或如在

145°C与155°C之间)的吸热事件。在又另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 展现与图8b所示的DSC热谱图基本上相同的DSC热谱图。

[0071] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于含水量<0.5%w/w,如<0.4%w/w、如<0.3%w/w、如<0.2%w/w或如<0.1%w/w。技术人员将知道确定化合物的含水量的方法,例如卡尔·费希尔滴定法。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 的特征在于在TGA热谱图中,在环境温度(如25°C)与200°C之间,具有<0.5%w/w损失,如<0.4%w/w、如<0.3%w/w、如<0.2%w/w、如<0.1%w/w。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 在干燥失重测试中,损失以重量计小于2%,如以重量计小于1%,如以重量计小于0.5%。在70°C下进行干燥失重测试。

[0072] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 是高度纯的多晶型物A' 的晶型,例如,赛洛西宾包含以重量计至少90%,如95%、如99%、如99.5%的多晶型物A'。

[0073] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 是白色至灰白色固体。

[0074] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 是化学纯的,例如赛洛西宾具有通过HPLC得出的大于97%、再更优选大于98%以及最优选大于99%的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 中没有单一杂质是大于1%的,更优选小于0.5%,所述杂质包括如通过<sup>31</sup>P NMR测量的磷酸和如通过HPLC测量的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 具有通过HPLC得出的大于97面积%、再更优选大于98面积%、并且最优选大于99面积%的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 中,如通过HPLC测量的,没有单一杂质是大于1面积%的,更优选小于0.5面积%。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 不含有如通过HPLC测量的水平大于1面积%的光盖伞辛,更优选小于0.5面积%的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 不含有如通过<sup>31</sup>P NMR测量的水平大于1重量%的磷酸,更优选小于0.5重量%的磷酸。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A' 具有至少95重量%,如至少96重量%或如至少98重量%的化学测定。

[0075] 使用Cu K $\alpha$ 辐射获得XRPD衍射图和XRPD峰位置。

[0076] 使用20°C/min的加热速率获得DSC和TGA热谱图。

[0077] 在一个实施方案中,提供了高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A' (12A或12A') (展现出基本上如图7a或7b所示的XRPD衍射图和基本上如图8a或8b所示的DSC热谱图)、或其混合物。

[0078] 优选地,所述结晶赛洛西宾多晶型物A(12A)展现如图7a所示的XRPD衍射图和如图8a所示的DSC热谱图。

[0079] 优选地,所述结晶赛洛西宾多晶型物A' (12A') 展现基本上如图7b所示的XRPD衍射图和基本上如图8b所示的DSC热谱图。

[0080] 优选地,所述高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A(12A)的特征在于基本上如图7a所示的XRPD衍射图和基本上如图8a所示的DSC热谱图。

[0081] 优选地,所述高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A(12A')的特征在于如图7b所示的XRPD衍射图和如图8b所示的DSC热谱图。

[0082] 多晶型物A(包括其同构变体多晶型物A') (图7a和7b)与多晶型物B(图7c)、水合物A(图7d)和乙醇溶剂化物(图7e:溶剂化物A)不同,并且一些不同形式之间的关系示于图9。

[0083] 所述结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'是白色至灰白色固体,和/或具有通过HPLC得出的大于97%、再更优选大于98%并且最优选大于99%的化学纯度,并且其中没有单一杂质是大于1%的,更优选小于0.5%,所述杂质包括如通过 $^{31}\text{P}$  NMR测量的磷酸和如通过HPLC测量的光盖伞辛。在一个实施方案中,提供了高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'具有通过HPLC得出的大于97%面积%、再更优选大于98%面积%、并且最优选大于99%面积%的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'中,如通过HPLC测量的,没有单一杂质是大于1%面积%的,更优选小于0.5%面积%。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'不含有如通过HPLC测量的水平大于1%面积%的光盖伞辛,更优选小于0.5%面积%的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'不含有如通过 $^{31}\text{P}$  NMR测量的水平大于1重量%的磷酸,更优选小于0.5重量%的磷酸。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'具有至少95重量%,如至少96重量%或如至少98重量%的化学测定。

[0084] 多晶型物A或A'的加热导致具有150°C左右的起始温度的吸热事件(对应于多晶型物A或多晶型物A'向多晶型物B的固固转化)。所得固体(即多晶型物B)的持续加热导致第二吸热事件,所述第二吸热事件对应于起始温度在205°C与220°C之间的熔点(参见图8a和8b)。

[0085] 根据本发明的另一个独立的方面,提供了赛洛西宾晶型水合物A,其特征在于以下中的一种或多种:

[0086] a.XRPD衍射图中在8.9、12.6和 $13.8^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰;

[0087] b.XRPD衍射图中在8.9、12.6和 $13.8^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的峰,其特征还在于在6.5、12.2、19.4、20.4或 $20.8^\circ 2\theta \pm 0.1^\circ 2\theta$ 处的至少一个另外的峰;

[0088] c.基本上如图7d所示的XRPD衍射图;或者

[0089] d.基本上如图8d所示,DSC热谱图中起始温度在205°C与220°C之间的吸热事件。

[0090] 在一个实施方案中,赛洛西宾水合物A展现出由在表3中总结的衍射图表征的XRPD衍射图。在本文所述的一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A包含表3的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少3个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾水合物A包含表3的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少4个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾水合物A包含表3的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少5个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾水合物A包含表3的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少8个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾水合物A包含表3的( $\pm 0.1^\circ 2\theta$ )的至少10个峰。

[0091] 表3水合物A的XRPD峰位置

位置 [ $^\circ 2\theta$ ]	相对强度 [%]
5.6	14.4
6.5	18.84
8.9	100
12.2	11.51
12.6	18.65
13.8	44.22

[0093]	16.2	21.22
	18.9	6.62
	19.4	38.68
	20.4	21.32
	20.8	19.73
	21.5	20.75
	22.3	12.8
	22.5	19.38
	23.1	47.53
	23.5	25.79
	24.3	5.62
	24.8	14.62
	25.4	5.27
	26.9	6.53
	27.9	7.82
	28.4	5.78
	29.0	5.09
	29.7	4.83
	32.1	8.27
	32.8	4.81
	33.4	3.74
	34.2	5.96

[0094] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征在于在 $8.9^{\circ}$ 与 $13.8^{\circ}$ 之间± $0.1^{\circ}$ 处的XRPD衍射图峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征还在于在 $6.5^{\circ}$ 、 $12.2^{\circ}$ 、 $19.4^{\circ}$ 、 $20.4^{\circ}$ 或 $20.8^{\circ}$ ± $0.1^{\circ}$ 处出现的至少一个峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征还在于在 $6.5^{\circ}$ 、 $12.2^{\circ}$ 、 $19.4^{\circ}$ 、 $20.4^{\circ}$ 或 $20.8^{\circ}$ ± $0.1^{\circ}$ 处出现的至少两个峰。在又进一步的实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A展现与图7d所示的XRPD衍射图基本上相同的XRPD衍射图。

[0095] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征在于DSC热谱图中起始温度在 $205^{\circ}\text{C}$ 与 $220^{\circ}\text{C}$ 之间(如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $220^{\circ}\text{C}$ 之间、如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $218^{\circ}\text{C}$ 之间或如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $216^{\circ}\text{C}$ 之间)的吸热事件。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征还在于DSC热谱图中起始温度在 $85^{\circ}\text{C}$ 与 $105^{\circ}\text{C}$ 之间或如在 $90^{\circ}\text{C}$ 与 $100^{\circ}\text{C}$ 之间的吸热事件。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征在于DSC热谱图中起始温度在 $205^{\circ}\text{C}$ 与 $220^{\circ}\text{C}$ 之间(如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $220^{\circ}\text{C}$ 之间、如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $218^{\circ}\text{C}$ 之间或如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $216^{\circ}\text{C}$ 之间)的吸热事件以及起始温度在 $85^{\circ}\text{C}$ 与 $105^{\circ}\text{C}$ 之间或如在 $90^{\circ}\text{C}$ 与 $100^{\circ}\text{C}$ 之间的吸热事件。在又另一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A展现与图8d所示的DSC热谱图基本上相同的DSC热谱图。

[0096] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征在于含水量在10%与18%之间,如在12%与16%之间或如约13%。技术人员将知道确定化合物的含水量的方法,例如卡尔·费希尔滴定法。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A的特征在于在TGA热谱图中,在环境温度(如约 $25^{\circ}\text{C}$ )与 $120^{\circ}\text{C}$ 之间,具有在10%与18%之间如在12%与16%之间或如约13%的重量损失。

[0097] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾水合物A是高度纯的水合物A晶型,例如赛洛西宾包含以重量计至少90%,如95%、如99%、如99.5%的水合物A。

[0098] 根据本发明的另一个独立的方面,提供了赛洛西宾晶型多晶型物B,其特征在于以下中的一种或多种:

[0099] a.XRPD衍射图中在11.1、11.8和14.3 $^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$ 处的峰;

[0100] b.XRPD衍射图中在11.1、11.8和14.3 $^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$ 处的峰,其特征还在于在14.9、15.4、19.3、20.0或20.6 $^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$ 处的至少一个另外的峰;

[0101] c.基本上如图7c所示的XRPD衍射图;或者

[0102] d.基本上如图8c所示,DSC热谱图中起始温度在205 $^{\circ}\text{C}$ 与220 $^{\circ}\text{C}$ 之间的吸热事件。

[0103] 在一个实施方案中,赛洛西宾多晶型物B展现出由在表4中总结的衍射图表征的XRPD衍射图。在本文所述的一个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物B包含表4的( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ )的至少3个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物B包含表4的( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ )的至少4个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物B包含表4的( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ )的至少5个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物B包含表4的( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ )的至少8个峰。在本文所述的某个实施方案中,所述结晶赛洛西宾多晶型物B包含表4的( $\pm 0.1^{\circ}2\theta$ )的至少10个峰。

[0104] 表4多晶型物B的XRPD峰位置

位置 [ $^{\circ}2\theta$ ]	相对强度 [%]
[0105]	5.5
	21.33
	11.1
	36.91
	11.8
	100.00
	12.5
	12.73
14.3	70.23
14.9	50.01
15.4	23.67
17.1	51.58

[0106]	17.4	91.25
	18.0	12.61
	19.3	39.33
	20.0	76.61
	20.6	50.26
	21.5	20.77
	22.3	40.19
	23.9	13.32
	24.3	16.03
	25.3	32.94
	28.3	7.60
	28.9	17.89
	29.3	8.96
	31.3	6.57
	32.2	6.90
	33.8	2.37

[0107] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B的特征在于在 $11.1^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$ 处的XRPD衍射图峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B的特征还在于在 $14.9^{\circ}2\theta$ 、 $15.4^{\circ}2\theta$ 、 $19.3^{\circ}2\theta$ 、 $20.0^{\circ}2\theta$ 或 $20.6^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$ 处出现的至少一个峰。在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B的特征还在于在 $14.9^{\circ}2\theta$ 、 $15.4^{\circ}2\theta$ 、 $19.3^{\circ}2\theta$ 、 $20.0^{\circ}2\theta$ 或 $20.6^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}2\theta$ 处出现的至少两个峰。在又进一步的实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B展现与图7c所示的XRPD衍射图基本上相同的XRPD衍射图。

[0108] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B的特征在于DSC热谱图中起始温度在 $205^{\circ}\text{C}$ 与 $220^{\circ}\text{C}$ 之间(如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $220^{\circ}\text{C}$ 之间、如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $218^{\circ}\text{C}$ 之间或如在 $210^{\circ}\text{C}$ 与 $216^{\circ}\text{C}$ 之间)的吸热事件。在又另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B展现与图8c的DSC热谱图基本上相同的DSC热谱图。

[0109] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B的特征在于含水量<0.5%w/w,如<0.4%w/w、如<0.3%w/w、如<0.2%w/w或如<0.1%w/w。技术人员将知道确定化合物的含水量的方法,例如卡尔·费希尔滴定法。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B的特征在于在TGA热谱图中,在环境温度(如约 $25^{\circ}\text{C}$ )与 $200^{\circ}\text{C}$ 之间,具有<0.5%w/w损失,如<0.4%w/w、如<0.3%w/w、如<0.2%w/w、如<0.1%w/w。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B在干燥失重测试中,损失以重量计小于2%,如以重量计小于1%、如以重量计小于0.5%。在 $70^{\circ}\text{C}$ 下进行干燥失重测试。

[0110] 在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B是高度纯的多晶型物B晶型,例如,赛洛西宾包含以重量计至少90%,如95%、如99%、如99.5%的多晶型物B。

[0111] 在另一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B是化学纯的,例如赛洛西宾具有通过HPLC得出的大于97%(如大于98%或如大于99%)的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B中没有单一杂质是大于1%的,更优选小于0.5%,所述杂质包括如通过 $^{31}\text{P}$  NMR测量的磷酸和如通过HPLC测量的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B具有通过HPLC得出的大于97%面积%、再更优选大于98%面积%、并且最优选大于99%面

积%的化学纯度。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B中,如通过HPLC测量的,没有单一杂质是大于1面积%的,更优选小于0.5面积%。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B不含有如通过HPLC测量的水平大于1面积%的光盖伞辛,更优选小于0.5面积%的光盖伞辛。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B不含有如通过 $^{31}\text{P}$  NMR测量的水平大于1重量%的磷酸,更优选小于0.5重量%的磷酸。在一个实施方案中,结晶赛洛西宾多晶型物B具有至少95重量%,如至少96重量%或如至少98重量%的化学测定。

[0112] 本发明的处于多晶型物A或A'形式的赛洛西宾具有下表5中所示的一般特性:

[0113] 表5

[0114]	外观:	白色至灰白色固体
	DSC中的主要吸热事件 (起始温度) (对应于熔融):	210°C-215°C
	吸湿性:	赛洛西宾在高湿度下并且当添加到水中但是水合的水在干燥下快速损失时形成水合物A。因此正在开发无水形式。
	晶型:	无水多晶型物A和/或A'
	pKa (计算的):	1.74、6.71、9.75
	溶解度	在水中约15 mg/ml

[0115] 赛洛西宾符合如下表6所列出的以及图10-13的光谱中所示的光谱。

[0116] 表6

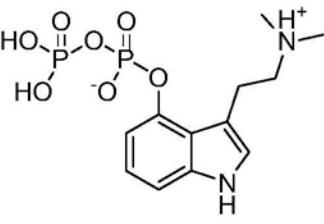
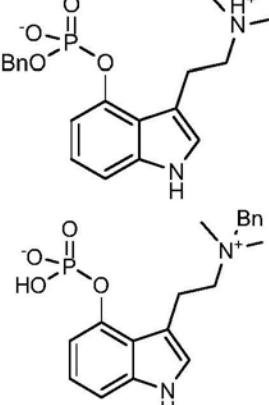
技术	结论
质子 ( $^1\text{H}$ ) 和碳 ( $^{13}\text{C}$ ) NMR	质子光谱 (图10) 和碳光谱 (图11) 的分配与赛洛西宾一致。
FT-红外光谱学 (FT-IR)	FT-IR光谱的分配 (图12) 与赛洛西宾一致。
质谱 (MS)	质谱的分配 (图13) 与赛洛西宾一致。

[0118] 通过仔细控制反应条件以确保潜在的有机杂质显著降低,实现高纯度。

[0119] 赛洛西宾中的已知和潜在杂质如下表7所示:

[0120] 表7

杂质	相对保留时间 (RRT)	结构	来源
[0121]	光盖伞辛	1.65 	起始材料(阶段3)。也可以通过赛洛西宾的水解产生。在赛洛西宾批次中观察到的仅有的显著的杂质。
	阶段4A		在阶段4反应中形成的初始产物。在THF中搅拌下转化到阶段4。在阶段5中转化为赛洛西宾。
	阶段4	2.74 	中间体
	N-脱苄基阶段4		在阶段4中通过MS鉴定。在阶段5中转化为赛洛西宾。
	阶段4酸酐杂质		在阶段4中通过MS鉴定。在阶段5中转化为阶段5焦磷酸杂质。

	阶段5焦 磷酸杂质		通过MS鉴定 由阶段4酸酐形成。 通过水解为赛洛西宾联合由于额外的 磷酸根基团增加了 溶解度，在阶段6重 结晶中去除。
[0122]	阶段5 (中间 体)	1.89和 2.45	

[0123] 类似地，小心处理确保溶剂水平保持在表8所示的水平之下。

[0124] 表8

[0125]	溶剂	控制在	在以下中使用化学阶段溶剂
	甲醇	3000ppm	阶段5
	乙醇	5000ppm	阶段5
	THF	720ppm	阶段4
	甲苯	890ppm	在阶段5中作为副产物产生

[0126] 通过仔细选择操作方法，本发明的赛洛西宾原料药符合下表9所示的验收标准：

[0127] 表9

[0128]	质量属性	验收标准	测试方法
	1. 外观	仅用于提供信息。	目视
	2. 通过 <sup>1</sup> H NMR得出的身份	与参考对比良好。图10	<sup>1</sup> H NMR
	3. 通过 <sup>13</sup> C NMR得出的身份	与参考对比良好。 图11	<sup>13</sup> C NMR
	4. 通过MS得出的身份	与参考对比良好。 图12	MS
	5. 通过FT-IR得出的身份	与参考对比良好。 图13	FT-IR
	6. 干燥失重	NMT 2% w/w	欧洲药典2.2.32
	7. 炽灼残渣	NMT 0.5% w/w	美国药典<281>
	8. 化学纯度	NLT 97面积%	HPLC
	9. 药物相关杂质	没有单一杂质NMT 1.0面 积%	HPLC

[0129]	10. 测定 (以干基计)	95-103重量%	HPLC
	11. 残余溶剂含量	甲醇NMT 3000 ppm 乙醇NMT 5000 ppm THF NMT 720 ppm 甲苯NMT 890 ppm	HRGC
	12. 磷酸含量	NMT 1% w/w	$^{31}\text{P}$ NMR
	13. 通过ICP-MS进行元素分析	Cd NMT 1.5 ppm Pb NMT 1.5 ppm As NMT 4.5 ppm Hg NMT 9.0 ppm Co NMT 15 ppm V NMT 30 ppm Ni NMT 60 ppm Li NMT 165 ppm Pd NMT 30 ppm	美国药典<233>
	14. 多态性	符合参考 图7a	XRPD
	15. 熔点	报告结果 图8a	DSC

[0130] 表中使用的缩写:NMT=不大于,NLT=不小于。

[0131] 详细说明中提供了用于验证纯度的方法。

[0132] 实际上,标准6-13远远超出了实践,如下表10所示:

[0133] 表10

质量属性	验收标准	通常	测试方法
1. 干燥失重		通常小于1% w/w	欧洲 药典2.2.32
2. 炽灼残渣		通常小于0.2% w/w	美国药典 <281>
3. 化学纯度		通常NLT 99%	HPLC
4. 药物相关杂质	没有单一杂质 NMT 1.0%	RRT 1.49: 0.06% RRT 1.69 (光盖伞辛) : 0.39% RRT 1.70: 0.05% 其他LT 0.05%: 0.22%	HPLC
5. 测定 (以干基计)	95 - 103	98.65%	HPLC
6. 残余溶剂含量	甲 醇 NMT 3000 ppm 乙 醇 NMT 5000 ppm THF NMT 720 ppm 甲苯NMT 890 ppm	NMT 5 ppm NMT 10 ppm NMT 5 ppm NMT 5 ppm	HRGC
7. 磷酸含量	NMT 1% w/w	0.2% 不存在磷酸 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ,	$^{31}\text{P}$ NMR

[0135]	8. 通过ICP-MS进行元素分析	在约0 ppm		美国药典<233>
		Cd ppm	NMT 1.5 ppm	
		Pb ppm	NMT 1.5 ppm	
		As 4.5 ppm	NMT LT 1 ppm	
		Hg 9.0 ppm	NMT LT 1 ppm	
		Co ppm	NMT LT 5 ppm	
		V ppm	NMT LT 20 ppm	
		Ni ppm	NMT LT 10 ppm	
		Li 165 ppm	NMT LT 20 ppm	
		Pd ppm	NMT LT 5 ppm	

[0136] 表中使用的缩写:NMT=不大于,LT=小于。

[0137] 因此,处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾具有符合质子(<sup>1</sup>H)和碳(<sup>13</sup>C)NMR、FT-红外光谱(FT-IR)和质谱(MS)的光谱-图10-图13。

[0138] 它还符合表9或表10中指定的任何标准。

[0139] 根据本发明的第二方面,提供了一批根据本发明的第一方面的处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾。在一个实施方案中,提供了一批包含至少10g、更优选至少100g以及最优选至少250g的结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中,提供了一批包含至少10g、更优选至少100g以及最优选至少250g的结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中,提供了一批包含至少10g、更优选至少100g以及最优选至少250g的高纯度赛洛西宾。在一个实施方案中,提供了一批包含至少10g、更优选至少100g以及最优选至少250g的高纯度赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了一批包含至少10g、更优选至少100g以及最优选至少250g的高纯度赛洛西宾多晶型物A'。

[0140] 可替代地并且独立地,结晶赛洛西宾可以采取水合物A或多晶型物B的形式。

[0141] 根据本发明的第三方面,提供了包含结晶赛洛西宾和一种或多种赋形剂的药物配制品。

[0142] 在一个实施方案中,提供了包含高纯度赛洛西宾和一种或多种赋形剂的药物配制品。在另一个实施方案中,提供了包含结晶赛洛西宾多晶型物A和一种或多种赋形剂的药物配制品。在另一个实施方案中,提供了包含结晶赛洛西宾多晶型物A'和一种或多种赋形剂的药物配制品。在另一个实施方案中,提供了包含高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'和一种或多种赋形剂的药物配制品。在另一个实施方案中,提供了包含高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A'和一种或多种赋形剂的药物配制品。

[0143] 可替代地并且独立地,配制品中的结晶赛洛西宾可以采取水合物A或多晶型物B的形式。

[0144] 用于口服配制品的优选药物赋形剂包括:稀释剂,如微晶纤维素、淀粉、甘露醇、无

水磷酸氢钙、或二氧化硅、碳酸钙、微晶纤维素和滑石的共混物；崩解剂，如羟基乙酸淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠；粘结剂，如聚维酮、共聚维酮或羟丙基纤维素；润滑剂，如硬脂酸镁或硬脂富马酸钠；助流剂，如二氧化硅胶体；以及薄膜衣，如欧巴代(Opadry) II白色或PVA基棕色欧巴代II。

[0145] 由于许多原因，赛洛西宾是难以配制的活性物质。首先，它的流动特性差，其次，它被以相对低的剂量使用，这两者使得在压片中确保含量均匀度具有挑战性。

[0146] 良好的共混物将具有小于15、并且更优选小于10的允收值AV值。

[0147] 它还将具有大于90%、更优选地大于94%的标签要求百分比。

[0148] 在这些之间，这些参数表明片剂之间赛洛西宾的一致配量。

[0149] 对于大多数药物片剂，可以使用标准赋形剂，特别是填充剂。然而，在配制赛洛西宾片剂的历程中，申请人发现，为了获得令人满意的产物，优选非标准填充剂。

[0150] 在这方面，选择了功能性填充剂。功能性填充剂是硅化的填充剂，优选硅化的微晶纤维素。优选的形式包括具有从约45至150微米的粒度范围的高紧凑型等级。

[0151] 实际上，可以使用具有不同粒度范围的两种功能性填充剂的混合物，其中两者的wt百分比有利于较大尺寸的颗粒。

[0152] 在一个实施方案中，硅化的微晶填充剂可以包含第一填充剂和第二填充剂，所述第一填充剂以重量计的量为多达30%、更优选多达20%、再更优选多达15%或更少，具有从约45至80微米的粒度范围，所述第二填充剂以重量计的量为多达70%、更优选多达80以及再更优选多达85%或更多，具有从约90至150微米的粒度范围。

[0153] 所述配制品可以进一步包含以下项或由以下项组成：崩解剂(优选羧基乙酸淀粉钠)、助流剂(优选二氧化硅胶体)和润滑剂(优选硬脂富马酸钠)。

[0154] 实施例12中给出了配制品开发的更多细节。

[0155] 应当注意，所述配制品可以包含任何形式的赛洛西宾，而不仅是公开的优选多晶型形式。

[0156] Studerus等人(2011) J Psychopharmacol 25 (11) 1434-1452将赛洛西宾的口服剂量按以下分类：0.045mg/kg的非常低剂量；0.115-0.125mg/kg之间的低剂量；0.115-0.260mg/kg之间的中等剂量和0.315mg/kg的高剂量。

[0157] 赛洛西宾将典型地以配制的剂量以从0.01mg/kg至1mg/kg的量存在。典型的人类剂量(对于体重60-80kg的成年人来说)将等于0.60mg和80mg之间的某个剂量。在一个实施方案中，2和50mg之间的结晶赛洛西宾，最优选多晶型物A或多晶型物A'以配制的剂量存在，所述配制的剂量如2和40mg之间、如2和10mg之间、如5mg、如5和30mg之间、如5和15mg之间、如10mg、如20和30mg之间或如25mg。在一个实施方案中，2和50mg之间的结晶赛洛西宾，特别是多晶型物A以配制的剂量存在，所述配制的剂量如2和40mg之间、如2和10mg之间、如5mg、如5和30mg之间、如5和15mg之间、如10mg、如20和30mg之间或如25mg。在一个实施方案中，2和50mg之间的结晶赛洛西宾特别是多晶型物A'以配制的剂量存在，所述配制的剂量如2和40mg之间、如2和10mg之间、如5mg、如5和30mg之间、如5和15mg之间、如10mg、如20和30mg之间或如25mg。

[0158] 偏爱的成人口服剂量可能在1mg至40mg、优选2至30mg、更优选15至30mg的范围内，例如，5mg、10mg或25mg。也可能进行典型地以这些剂量的约十分之一的微剂量给药，其采用

典型地在0.05mg至2.5mg范围内的微剂量配制品。

[0159] 优选的药物配制品是口服剂型。

[0160] 口服剂型可以是片剂或胶囊。

[0161] 对于片剂,需要能够准确分散活性物质。由于活性物质的低剂量以及吸湿性和粘性性质(限制了其流动性),因此这具有挑战性。

[0162] 赛洛西宾将与一种或多种赋形剂一起存在。优选的赋形剂包括微晶纤维素和淀粉,再更特别地包括硅化的微晶纤维素。

[0163] 根据本发明的第四方面,提供了根据本发明的第一方面的用于医学用途的处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾。在一个实施方案中,提供了用于医学用途的结晶赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了用于医学用途的结晶赛洛西宾多晶型物A'。在一个实施方案中,提供了用于医学用途的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了用于医学用途的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A'。

[0164] 可替代地并且独立地,结晶赛洛西宾可以采取水合物A或多晶型物B的形式。

[0165] 根据本发明的第五方面,提供了本发明的第一方面的用于治疗中枢神经障碍的处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾。

[0166] 可替代地并且独立地,结晶赛洛西宾可以采取水合物A或多晶型物B的形式。

[0167] 在一个实施方案中,提供了用于治疗抑郁症的结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中,提供了用于治疗耐药性抑郁症的结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中,提供了用于治疗耐药性抑郁症的结晶赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了用于治疗耐药性抑郁症的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了用于治疗耐药性抑郁症的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A'。

[0168] 可以治疗的其他病症包括:焦虑性障碍,包括晚期病患例如癌症中的焦虑以及广泛性焦虑障碍;抑郁症,包括重性抑郁障碍;丛集性头痛;强迫症;人格障碍,包括品行障碍;药物障碍,包括:酒精依赖性、尼古丁依赖性、阿片类依赖性、可卡因依赖性;和其他成瘾,包括赌博障碍、饮食障碍和体象障碍。仍进一步的病症是疼痛的治疗。

[0169] 根据本发明的第六方面,提供了治疗中枢神经障碍的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的根据本发明的第一方面的处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾。

[0170] 在一个实施方案中,提供了治疗抑郁症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾。在一个实施方案中,提供了治疗耐药性抑郁症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的处于多晶型物A或多晶型物A'形式的结晶赛洛西宾。在一个实施方案中,提供了治疗耐药性抑郁症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了治疗耐药性抑郁症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的赛洛西宾多晶型物A'。在一个实施方案中,提供了治疗耐药性抑郁症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了治疗耐药性抑郁症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予有效剂量的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A'。

[0171] 可替代地并且独立地,结晶赛洛西宾可以采取水合物A或多晶型物B的形式。

[0172] 为了生产本发明的赛洛西宾,将赛洛西宾以控制的方式从水中结晶。

[0173] 根据本发明的第七方面,提供了大规模制造赛洛西宾的方法,其特征在于,所述方法包括使赛洛西宾经受水结晶步骤,并且控制干燥,以产生根据本发明的第一方面的结晶赛洛西宾多晶型物A。

[0174] 在一个实施方案中,提供了大规模制造赛洛西宾的方法,其特征在于,所述方法包括使赛洛西宾经受水结晶步骤,并且控制干燥,以产生具有如图7a所示的XRPD衍射图以及如图8a所示的DSC和TGA热谱图的结晶赛洛西宾多晶型物A。在一个实施方案中,提供了大规模制造赛洛西宾的方法,其特征在于,所述方法包括使赛洛西宾经受水结晶步骤,并且控制干燥,以产生具有如图7a所示的XRPD衍射图和如图8a所示的DSC热谱图的高纯度结晶赛洛西宾-多晶型物A。

[0175] 优选地,所述多晶型物A是具有如图7a所示的XRPD衍射图和如图8a所示的DSC热谱图的同构变体。

[0176] 更优选地,将赛洛西宾在通常约10-20体积的水中重结晶,在搅动下加热至至少70°C的温度,以合适的截止值(通常低于5μm)精过滤,在约70°C的温度下接种,并且以控制的方式经多于2小时的时间段冷却至约5°C。

[0177] 更优选地,所述方法包括控制冷却,所述控制冷却以每小时约5°C-15°C,更优选每小时约10°C降低温度。

[0178] 优选地,通过适当尺寸的过滤器(如1.2μm串列过滤器)来完成精过滤步骤。

[0179] 优选地,通过以约400-500rpm,典型地约450rpm搅拌进行搅动。

[0180] 优选地,所述晶种是赛洛西宾水合物A。在一个实施方案中,将0.1%重量或更少的晶种添加到所述方法中。

[0181] 优选地,将结晶赛洛西宾通过真空过滤分离。

[0182] 在一个实施方案中,将分离的晶体在至少30°C(如30°C与50°C之间或如40°C与50°C之间)的温度下真空干燥。在一个实施方案中,将分离的晶体真空干燥至少10小时,如12与18小时之间或如约30小时。在一个实施方案中,将分离的晶体在至少30°C(如30°C与50°C之间或如40°C与50°C之间)的温度下真空干燥至少10小时,如12与18小时之间或如约30小时。在一个实施方案中,干燥分离的晶体,直到分离的晶体在干燥失重测试中损失小于2%重量,如小于0.5%重量。

[0183] 优选地,将分离的晶体在水中洗涤几次,并且在约50°C下真空干燥至少12小时。

[0184] 如图16a所示,当在显微镜x 10下观察时,获得的晶体通常相对较大(范围为50至200微米)并且均匀。

[0185] 这不同于在没有控制的冷却的情况下获得的晶体,当在显微镜x 10下观察时所述晶体的尺寸更小(通常为5至50微米),如图16b所示。

[0186] 根据本发明的第八方面,提供了通过本发明的结晶方法获得的根据本发明的第一方面的赛洛西宾。

[0187] 根据本发明的第九方面,提供了药物配制品,所述药物配制品包含通过本发明的结晶方法获得的根据本发明的第一方面的赛洛西宾。

[0188] 可以使用任何方法(合成或生物方法(例如通过发酵))生产或通过从蘑菇中提取

获得在结晶前制造的赛洛西宾。

[0189] 优选的制造方法使用光盖伞辛或4羟基-吲哚作为起始材料。

[0190] 根据本发明的第十方面,提供了从光盖伞辛大规模生产赛洛西宾的方法,所述方法包括以下步骤:

[0191] i)阶段4-使光盖伞辛与四苄基焦磷酸酯反应以形成3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(benzyl 3-[2-(benzyldimethylazaniumyl)ethyl]-1H-indol-4-yl phosphate);以及

[0192] ii)阶段5-使3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯与氢气反应以形成赛洛西宾。

[0193] 根据本发明的第十一方面,提供了从4-羟基吲哚大规模生产赛洛西宾的方法,所述方法包括以下步骤:

[0194] i)阶段1-使4-羟基吲哚与乙酸酐反应以形成1H-吲哚-4-基乙酸酯;

[0195] ii)阶段2-使1H-吲哚-4-基乙酸酯与草酰氯和二甲基胺反应以形成3[(二甲基氨基甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯;

[0196] iii)阶段3-使3[(二甲基氨基甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯与氢化铝锂反应以形成光盖伞辛;

[0197] iv)阶段4-使光盖伞辛与四苄基焦磷酸酯反应以形成3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(benzyl 3-[2-(benzyldimethylazaniumyl)ethyl]-1H-indol-4-yl phosphate);以及

[0198] v)阶段5-使3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯与氢气反应以形成赛洛西宾。

[0199] 根据本发明的第十二方面,提供了按照本发明的第十或第十一方面,大规模制造赛洛西宾的方法,所述方法进一步包括:

[0200] vi)阶段6-水结晶步骤,并且控制干燥,以产生根据本发明的第一方面的结晶赛洛西宾多晶型物A。

[0201] 在一个实施方案中,提供了按照本发明的第十或第十一方面,大规模制造赛洛西宾的方法,所述方法进一步包括:

[0202] vi)阶段6-水结晶步骤,并且控制干燥,以产生具有基本上如图7a所示的XRPD衍射图和基本上如图8a所示的DSC热谱图的结晶赛洛西宾-多晶型物A。

[0203] 在一个实施方案中,提供了按照本发明的第十或第十一方面,大规模制造赛洛西宾的方法,所述方法进一步包括:

[0204] vi)阶段6-水结晶步骤,并且控制干燥,以产生具有如图7a所示的XRPD衍射图和如图8a所示的DSC热谱图的高纯度结晶赛洛西宾-多晶型物A。

[0205] 优选地,所述结晶赛洛西宾是多晶型物A。

[0206] 在开发大规模生产光盖伞辛或赛洛西宾的方法中,申请人克服了在阶段1至5的每个阶段的一个或多个显著的问题,并且同时在大规模生产光盖伞辛或赛洛西宾的每个步骤的上下文中考虑了这些问题,或者而是克服了每个问题的方式被视为是单独的且独立的发明,因为它们可应用于制造其他活性物质(为到光盖伞辛、赛洛西宾或其他衍生物、盐、酯等的中间体(提供前药))。

- [0207] 优选地,阶段4(i)反应包括使用六甲基二硅氮烷钠(NaHMDS)。
- [0208] 与使用丁基锂相比,这具有以下益处:i)更易于操作,以及ii)不会将锂引入反应中(在下游方法中引起问题)。
- [0209] 优选地,所述反应使用溶剂THF。
- [0210] 这具有以显著更高的纯度获得所得产物的益处。
- [0211] 优选地,在(i)中,所述反应在低于-50°C开始。
- [0212] 这具有降低了后续将影响下游纯度的杂质(通过LCMS观察到,m/z295.2)水平的益处。
- [0213] 再更优选地,阶段4(ii)步骤使用THF作为溶剂。
- [0214] 这具有确保避免增稠、并且有助于简单搅出的方法以获得产物的益处。
- [0215] 优选地,阶段4(ii)步骤包括搅出方法,以获得3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(benzyl 3-[2-(benzyldimethylazaniumyl)ethyl]-1H-indol-4-yl phosphate)。
- [0216] 搅出方法具有简化过程并且提高产率的优点。
- [0217] 为了确保阶段4(ii)反应完全进行,监测中间体4A的水平,并且完成后,将3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯过滤并且烘箱干燥。
- [0218] 这具有使杂质最小化并且获得更纯的产物的优点
- [0219] 优选地,使用相对保留时间(RRT),通过HPLC监测阶段5反应的中间体水平,并且通过中间体以小于0.2%存在来确定完成。
- [0220] 赛洛西宾粗品(阶段5产物,(12))具有主要的阶段5杂质(在HPLC方法中的相对保留时间(RRT)分别为约1.89和2.45)和光盖伞辛(RRT 1.66)。这些杂质示于表7中。典型地,赛洛西宾粗品(阶段5产物(12))具有0.24面积%的RRT 1.89杂质、0.03面积%的RRT 2.45杂质和1.86面积%的光盖伞辛。另外,焦磷酸杂质(RRT 0.31)例如以通过HPLC得出的约2-6面积%的水平存在于赛洛西宾粗品中。
- [0221] 在此水平下,可以进行后续的结晶方法以提供基本上纯的赛洛西宾,例如具有通过HPLC得出的至少95面积%,如至少98面积%或如至少99面积%的纯度的赛洛西宾。在一个实施方案中,焦磷酸杂质(RRT 0.31)例如以通过HPLC得出的小于0.3面积%,如小于0.2面积%或如小于0.1面积%的水平存在于基本上纯的赛洛西宾中。
- [0222] 另外,在此阶段期间,将水添加到反应中以将赛洛西宾维持在溶液中。
- [0223] 优选地,通过过滤回收催化剂。
- [0224] 优选地,在阶段1中,在DCM和吡啶中进行所述反应。
- [0225] 这具有避免易燃溶剂的优点。
- [0226] 优选地,将反应混合物用柠檬酸洗涤,以给出约2-3的pH,以除去过量的吡啶,并且将酸相与DCM相分离。
- [0227] 这具有可以分离中间体2A,从而允许纯化除去过量的草酰氯的优点。
- [0228] 更优选地,将DCM相进一步用在约pH 8下的碳酸氢钠洗涤。
- [0229] 这具有更纯的处理的优点。
- [0230] 优选地,使1H-吲哚-4-基乙酸酯在庚烷中沉淀。
- [0231] 这有助于沉淀并且克服了有限溶解度问题。

- [0232] 优选地,将硫酸镁用作干燥剂。
- [0233] 优选使用溶剂叔丁基甲基醚(TBME)和四氢呋喃(THF)。
- [0234] 优选地,与草酰氯的反应在约30°C-40°C下进行。
- [0235] 这具有确保了给出提高的完成水平的高反应速率的优点。
- [0236] 优选地,通过过滤分离中间体2A。
- [0237] 这具有将中间体从过量的草酰氯中纯化出来的优点。
- [0238] 优选地,在阶段2,步骤i中,还将中间体2A进行洗涤以除去过量的草酰氯。
- [0239] 优选地,将中间体2A用TBME洗涤。
- [0240] 优选地,添加庚烷以使另外的中间体2A沉淀出来。
- [0241] 优选地,在阶段2,步骤ii中,过量使用二甲基胺。
- [0242] 这具有获得大大改善的杂质特性和产率的优点。
- [0243] 优选地,将pH维持在约pH 7或高于pH 7。
- [0244] 优选地,在TBME中进行所述反应。
- [0245] 优选地,此阶段还包括除去二甲基胺盐的纯化步骤。
- [0246] 这具有提高纯度的优点。
- [0247] 优选地,此阶段包括浆液和过滤步骤。
- [0248] 这具有改善处理和纯度的优点。
- [0249] 更优选地,此阶段包括用水和/或IPA浆化、过滤和干燥所分离的3[(二甲基氨基甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯。
- [0250] 这具有改善纯度和产率并且减少水解的优点。
- [0251] 优选地,在阶段3中,在溶剂THF中进行所述反应。
- [0252] 这具有形成悬浮液/乳液而不增稠的优点。
- [0253] 优选地,将3[(二甲基氨基甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯添加到LiAlH<sub>4</sub>在THF中的溶液中。
- [0254] 优选地,将所述反应用丙酮、然后柠檬酸淬灭,确保混合物保持强碱性(pH 11或更高)。
- [0255] 这具有获得高产率的优点。
- [0256] 优选地,将光盖伞辛过滤并且在THF中洗涤,并且在PrOAc:TBME中浆化、过滤、在TBME中洗涤并且干燥。
- [0257] 这具有以下优点:获得高纯度产物,例如,通过HPLC得出的至少95%纯的,如通过HPLC得出的至少98%纯的,或如通过HPLC得出的至少99%纯的。
- [0258] 有利的生产方法包括阶段1至6中的每一个,但应理解,每个阶段的每个特征可以独立存在或与来自反应的相同或不同步骤的任何其他特征组合使用。
- [0259] 先前尚未获得给定形式的赛洛西宾即多晶型物A或多晶型物A'以及如此高纯度的赛洛西宾,并且对于申请人而言,特别是多晶型物A和多晶型物A'的生产(如图7a和7b以及8a和8b所示)的知识是新颖的。实际上,大批量生产多晶型物A是新的。本发明的结晶方法的结果以及在部分程度上制造过程使得能获得如此高化学纯度的结晶赛洛西宾。
- [0260] 此外,由于化合物的不稳定性质,它们已经获得了晶型,在加速条件下(下文所述),它们显示持续至少12个月是稳定的。

[0261] 多晶型物A和A' (图7a和7b) 与多晶型物B (图7c)、水合物A (图7d) 和乙醇溶剂化物 (图7e) 和混合物 (图7f) (上图) 不同, 这根据它们的XRPD衍射图和DSC热谱图是清楚的-如下文所示。

[0262] 不同多晶型物之间的关系如图9所示。

[0263] 实际上, 晶体的大小和形状是由结晶方法确定的, 而这些反过来可以影响稳定性和配制产物的能力。

[0264] 在特别优选的实施方案中, 所述赛洛西宾是通过如下概述的6-阶段方法制造的:

[0265] 根据本发明的另一方面, 提供了制造根据本发明的第一方面的结晶赛洛西宾的方法, 其特征在于, 所述方法包括使赛洛西宾经受水结晶步骤, 并且控制干燥, 以产生根据本发明的第一方面的结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中, 提供了制造根据本发明的第一方面的结晶赛洛西宾的方法, 其特征在于, 所述方法包括水结晶步骤, 并且控制干燥, 以产生具有基本上如图7a或图7b所示的XRPD衍射图和基本上如图8a或8b所示的DSC热谱图的结晶赛洛西宾-多晶型物A或多晶型物A'。在一个实施方案中, 提供了制造根据本发明的第一方面的赛洛西宾的方法, 其特征在于, 所述方法包括水结晶步骤, 并且控制干燥, 以产生具有如图7a或图7b所示的XRPD衍射图和基本上如图8a或图8b所示的DSC热谱图的高纯度结晶赛洛西宾-多晶型物A或多晶型物A'。

[0266] 优选地, 多晶型物A和多晶型物A' 是具有基本上如图7a和图7b所示的XRPD衍射图和基本上如图8a和图8b所示的DSC热谱图的同构变体。

[0267] 更优选地, 将赛洛西宾在约10-20体积的水中重结晶, 在搅动下加热至至少70°C的温度, 以合适的截止值 (通常低于5μm) 精过滤, 在约70°C的温度下接种, 并且以控制的方式经多于2小时的时间段冷却至约5°C。

[0268] 更优选地, 所述方法包括控制冷却, 所述控制冷却以每小时约5°C-15°C, 更优选每小时约10°C降低温度。

[0269] 优选地, 通过适当尺寸的过滤器 (如1.2μm或0.45μm串列过滤器) 来完成精过滤步骤。

[0270] 优选地, 通过以约400-500rpm, 典型地约450rpm搅拌进行搅动。

[0271] 优选地, 所述晶种是赛洛西宾水合物A。在一个实施方案中, 将0.1%重量或更少的晶种添加到所述方法中。

[0272] 优选地, 将结晶赛洛西宾通过真空过滤分离。

[0273] 在一个实施方案中, 将分离的晶体在至少30°C (如30°C与50°C之间或如40°C与50°C之间) 的温度下真空干燥。在一个实施方案中, 将分离的晶体真空干燥至少10小时, 如12与18小时之间或如约30小时。在一个实施方案中, 将分离的晶体在至少30°C (如30°C与50°C之间或如40°C与50°C之间) 的温度下真空干燥至少10小时, 如12与18小时之间或如约30小时。在一个实施方案中, 干燥分离的晶体, 直到分离的晶体在干燥失重测试中损失小于2%重量, 如小于0.5%重量。

[0274] 优选地, 将分离的晶体在水中洗涤几次, 并且在约50°C下真空干燥至少12小时。

[0275] 如图16a所示, 当在显微镜x 10下观察时, 获得的晶体通常相对较大 (范围为50至200微米) 并且均匀。

[0276] 这不同于在没有控制的冷却的情况下获得的晶体, 当在显微镜x 10下观察时所述

晶体的尺寸更小(通常为5至50微米),如图16b所示。

[0277] 阶段1:1H-吲哚-4-基乙酸酯(3)的合成

[0278] 核心反应是4-羟基吲哚(1)与乙酸酐(2)反应以形成1H-吲哚-4-基乙酸酯(3);(图2)

[0279] 最优选地,阶段1如下:

[0280] 将4-羟基吲哚(1)、DCM(12)和吡啶(13)添加到容器中并且冷却至约0-5°C。逐滴添加乙酸酐(2),并且将混合物加温至约20°C-25°C,并且搅拌直到通过HPLC指示完成。将反应物用水性柠檬酸溶液(14)和水性NaHCO<sub>3</sub>(15)洗涤,经MgSO<sub>4</sub>(16)干燥,过滤并且蒸发至约一半体积。添加庚烷(17),并且继续蒸馏以除去大部分DCM。将混合物冷却至约5°C-25°C,过滤,用庚烷洗涤并且在真空烘箱中干燥过夜以分离呈适用于以下阶段的固体的1H-吲哚-4-基乙酸酯(3)。

[0281] 阶段2:3[(二甲基氨甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯(6)的合成

[0282] 核心反应是使1H-吲哚-4-基乙酸酯(3)与草酰氯(4)和二甲基胺(5)反应以形成3[(二甲基氨甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯(6);(图3)

[0283] 最优选地,阶段2如下:

[0284] 将1H-吲哚-4-基乙酸酯(3)在室温下溶解于THF(19)和TBME(18)的混合物中。逐滴添加草酰氯(4),使得反应在约35°C-40°C下放热。贯穿添加的其余时刻保持所述温度范围。然后将反应在约40°C下搅拌直到通过HPLC指示完成。将反应冷却至室温并且添加庚烷(17),得到另外的固体的沉淀。搅拌浆液,然后使其沉降,然后通过滗析除去大部分溶剂(18/19)。将固体在容器中用庚烷(17)洗涤两次。添加TBME(18)以给出黄色浆液,并且将混合物冷却至约-20°C。添加二甲基胺溶液(5),将温度维持在-20°C至-10°C。然后将反应加温至室温并且搅拌直至完成,如有必要添加额外的二甲基胺。将反应过滤、用庚烷(17)洗涤并且在真空烘箱中干燥。将粗3[(二甲基氨甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯(6)通过在水(20)、然后IPA(21)中浆化进一步纯化,并且然后在真空烘箱中干燥以产生呈适用于以下阶段的固体的(6)。

[0285] 阶段3:3-(2-(二甲基胺基)乙基)-1H-吲哚-4-醇(光盖伞辛)(8)的合成

[0286] 核心反应是使3[(二甲基氨甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯(6)与氢化铝锂(7)反应以形成光盖伞辛(8);(图4)

[0287] 最优选地,阶段3如下:

[0288] 将3[(二甲基氨甲酰基)羰基]-1H-吲哚-4基-乙酸酯(6)在THF(19)中浆化并且冷却至约0°C。逐滴添加LiAlH<sub>4</sub>(7)的THF溶液,将温度维持在约0-20°C。然后将反应回流直到通过HPLC指示完成。将反应冷却至0°C,并且通过添加丙酮(22)然后添加水性柠檬酸溶液(14)使过量的LiAlH<sub>4</sub>淬灭。将此批次过滤以除去锂盐和铝盐。将过滤物经MgSO<sub>4</sub>(16)干燥,过滤并且浓缩,并且加载到二氧化硅垫(23)上。将垫用THF(19)洗脱并且蒸发含有级分的产物。将所得固体在iPrOAc:TBME(24/18)混合物中浆化,过滤并且用TBME洗涤。将固体在烘箱中干燥以产生呈灰白色固体的高纯度光盖伞辛(8)。

[0289] 阶段4:3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(benzyl 3-[2-(benzyl dimethylazaniumyl)ethyl]-1H-indol-4-yl phosphate)(10)的合成

[0290] 核心反应是使光盖伞辛(8)与四苄基焦磷酸酯(9)反应以形成3-[2-(苄基二甲基

铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(10), (图5)

[0291] 最优选地,阶段4如下:

[0292] 将光盖伞辛(8)加载至容器中,然后加载THF(19)。将反应冷却至-50°C至-70°C,并且在约-45°C至-70°C下逐滴添加NaHMDS(25)。将温度调整至约-45°C至-60°C,并且添加在THF中的四苄基焦磷酸酯。将此批次加温至0°C,之后在将固体副产物通过过滤除去,并且将滤液在真空中浓缩。然后将浓缩的混合物加热至约40°C,并且搅拌直到中间体转化为阶段4产物(10)–通过检测和使用HPLC控制。将此批次冷却至约0–5°C,并且将所得固体通过过滤分离并且在真空中干燥,以提供呈固体的3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(10)。

[0293] 阶段5:中间体级别3-[2-(二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸氢酯(3-[2-(dimethylazaniumyl)ethyl]-1H-indol-4-yl hydrogen phosphate) (赛洛西宾粗品) (12)的合成

[0294] 核心反应包括使3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸苄酯(10)和氢气(11)反应以形成赛洛西宾(12), (图6)。

[0295] 最优选地,阶段5如下:

[0296] 向容器中加载Pd/C(26)、甲醇(24)和3-[2-(苄基二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基磷酸酯(10),并且将所得混合物用氢气(11)喷射直到通过HPLC指示完成。在此过程期间添加纯净水(20)以将产物保留在溶液中。将混合物加热至约35°C–45°C,并且然后通过硅藻土床(27)过滤,用甲醇(24)和纯净水(20)洗涤。将滤液在真空中蒸发,与乙醇(28)共沸以获得中间体级别的赛洛西宾(12)。

[0297] 阶段6:3-[2-(二甲基铵)乙基]-1H-吲哚-4-基氢磷酸(赛洛西宾)的合成

[0298] 核心纯化/多晶型物确定步骤是水结晶步骤,然后为控制的冷却和干燥步骤,以产生高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A或多晶型物A'。

[0299] 最优选地,阶段6如下:

[0300] 将中间体级别的赛洛西宾(12) (阶段5)加载到具有纯净水(20)的容器中,并且加热混合物直到赛洛西宾(12)溶解。然后将所得的本体溶液精过滤至预加温的容器中。将温度调节至优选约68°C–70°C,并且将赛洛西宾水合物晶种(即水合物A)添加到反应中。然后将此批次以控制的方式冷却至约0–10°C并且搅拌,并且将固体通过过滤收集,并且用纯净水洗涤。然后将分离的固体在真空中干燥,以产生呈灰白色固体的高纯度结晶赛洛西宾多晶型物A或A'。

## 附图说明

[0301] 下文参考附图进一步描述了本发明的实施方案,其中:

[0302] 图1是JNP中教导的反应的示意图;

[0303] 图2是本发明一方面的阶段1反应的示意图;

[0304] 图3是本发明一方面的阶段2反应的示意图;

[0305] 图4是本发明一方面的阶段3反应的示意图;

[0306] 图5是本发明一方面的阶段4反应的示意图;

[0307] 图6是本发明一方面的阶段5反应的示意图;

- [0308] 图7a是多晶型物A (GM764B) 的XRPD衍射图；
- [0309] 图7b是多晶型物A' (JCCA2160F) 的XRPD衍射图；
- [0310] 图7c是多晶型物B (JCCA2160-F-TM2) 的XRPD衍射图；
- [0311] 图7d是水合物A (JCCA2157E) 的XRPD衍射图；
- [0312] 图7e是乙醇溶剂化物 (JCCA2158D) 的XRPD衍射图；
- [0313] 图7f是在方法开发期间获得的产物 (CB646-E) 的XRPD衍射图 (顶部) -相比于多晶型物A' (JCCA2160F) (中间) 和多晶型物B (JCCA2160-TM2) (底部) 的衍射图；
- [0314] 图8a是多晶型物A (GM764B) 的DSC和TGA热谱图；
- [0315] 图8b是多晶型物A' (JCCA2160F) 的DSC和TGA热谱图；
- [0316] 图8c是多晶型物B (GM748A) 的DSC热谱图；
- [0317] 图8d是水合物A (JCCA2157E) 的DSC和TGA热谱图；
- [0318] 图8e是乙醇溶剂化物 (JCCA2158D) 的DSC和TGA热谱图；
- [0319] 图9是示出在水基系统中形式的相互关系的形式相图；
- [0320] 图10是赛洛西宾的<sup>1</sup>H NMR光谱；(与分配实施例7一起阅读)；
- [0321] 图11是赛洛西宾的<sup>13</sup>C NMR光谱；(与分配实施例7一起阅读)；
- [0322] 图12是赛洛西宾的FT-IR光谱；
- [0323] 图13是赛洛西宾的质谱；
- [0324] 图14是赛洛西宾的编号结构式；
- [0325] 图15是赛洛西宾在水中的温度溶解度曲线；
- [0326] 图16a是示出通过控制冷却获得的晶体的显微照片；
- [0327] 图16b是示出通过不受控制的冷却干燥获得的晶体的显微照片；
- [0328] 图17是示出在不同的溶剂系统中形式的相互关系的形式相图；
- [0329] 图18是在25 °C和50 °C下分离的固体的XRPD衍射图-图案C；
- [0330] 图19是在25 °C和50 °C下分离的固体的XRPD衍射图-图案D、E和F；
- [0331] 图20是在溶剂A至H中从无定型物赛洛西宾的平衡中分离的固体所获得的XRPD衍射图的比较；
- [0332] 图21是在溶剂I至P中从无定型物赛洛西宾的平衡中分离的固体所获得的XRPD衍射图的比较；以及
- [0333] 图22是在溶剂R至Y中从无定型物赛洛西宾的平衡中分离的固体所获得的XRPD衍射图的比较。

### 具体实施方式

[0334] 与现有技术形成对比,本发明寻求以比JNP中所述(其描述了“大”规模生产10g规模的克量的方法)水平高1log或2log的水平,即至少100g、更优选至少250g的量或批次,以商业大规模生产赛洛西宾。

[0335] 为了证明与JNP不同的许多重要开发步骤,以下描述列出了在每个过程阶段进行的实验和研究的细节,其说明了为克服从4-羟基吲哚(1)开始在大规模生产符合GMP的赛洛西宾(7) (包括多个中间体(2-6))中面对的众多技术问题而做出的选择。

[0336] 除非上下文另外明确指出,否则对特定数值的引用至少包括所述特定值。当表达

值的范围时,另一个实施方案包括从一个特定值和/或到另一个特定值。此外,对陈述的在范围内的值的提及包括所述范围内的每一个值。所有范围都是包含性的和可组合的。

[0337] 当通过使用先行词“约”将值表达为近似值时,应理解所述特定值形成另一个实施方案。

[0338] 如本文所用,单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数。

[0339] 当关于数字范围、截止值或特定值使用术语“约”时,用于指示所引用的值可与所列值相差多达10%。由于本文所用的许多数值是通过实验确定的,因此本领域技术人员应该理解,这种确定可以并且经常在不同的实验之间变化。不应认为本文所用的值因这种固有的变化而具有过度限制性。因此,术语“约”用于涵盖±10%或小于指定值的变化、±5%或小于指定值的变化、±1%或小于指定值的变化、±0.5%或小于指定值的变化或±0.1%或小于指定值的变化。

[0340] 如本文所用,“治疗”和类似术语是指降低症状的严重性和/或频率,消除症状和/或所述症状的根本原因,降低症状和/或其根本原因的频率或可能性,延迟、预防和/或减慢疾病和/或障碍的进程,以及改善或补救由疾病和/或障碍直接或间接引起的损害。

[0341] 本文使用了以下缩写:

[0342] DSC-差示扫描量热法

[0343] RT-室温

[0344] TBME-甲基叔丁基醚

[0345] TGA-热重分析

[0346] THF-四氢呋喃

[0347] wrt-关于

[0348] XRPD-X射线粉末衍射

[0349] 实施例1

[0350] 阶段6结晶过程和所得的多晶型物

[0351] 产生形式A'的实验:

[0352] 将1.0g的粗赛洛西宾加载到25mL烧瓶中。添加水(12.8mL/16体积,基于输入材料的活性)。将混合物搅动并且加热至80°C。获得具有可见的未溶解固体的深棕色溶液。通过加温的0.45μm过滤器将混合物精过滤至热的25mL烧瓶中。除去未溶解的固体,以给出深棕色溶液。将所述溶液在75°C下重新平衡,然后缓慢冷却(10°C/小时)至环境温度。将所得的浅棕色溶液在环境温度下平衡16小时。在通过真空过滤分离固体之前,将悬浮液冷却至5°C。将滤饼用水(0.8mL/1体积)洗涤,并且在50°C下在真空中干燥16小时。产率为75%,化学纯度为99%,NMR测定为>98%。

[0353] 将上述程序用14体积(11.2mL)的水重复。产率为69%,化学纯度为99%,NMR测定为>98%。

[0354] 在这两种情况下,粗赛洛西宾的溶解在约75°C下完成。逐渐冷却时,在约60°C下观察到沉淀。

[0355] 在两种情况下,均产生了赛洛西宾多晶型物A',这通过XRPD(与图7b一致的衍射图)和DSC(与图8b一致的热谱图)确认。

[0356] 产生形式A的实验:

[0357] 使从阶段5过程获得94g的粗赛洛西宾(通过HPLC得出约93%纯,具有约4%焦磷酸酯杂质)经受水性重结晶,如下所示:

[0358] 所述方案使用了足够的水(12体积)、快速搅动速率(450rpm)和控制的冷却曲线(10°C/hr)。

[0359] 将赛洛西宾(94.0g)(CB650E)加载到2L烧瓶中。添加水(902mL,12体积,基于输入材料的活性)。将混合物搅动并且加热至约78°C。获得具有可见的未溶解固体的深棕色溶液。将所述混合物通过1.2μm串列过滤器精过滤至配备有顶置式搅拌器(450rpm)的热的5L烧瓶中。除去未溶解的固体,以给出澄清的深棕色溶液。将所述溶液在约75°C下重新平衡15分钟,然后缓慢冷却(10°C/小时)至环境温度。将溶液在68°C-70°C下在水中成熟后用赛洛西宾水合物A(GM758A-XRPD衍射图与图7d一致)接种。将所得的浅棕色悬浮液在环境温度下平衡约16小时。在通过真空过滤分离固体之前,将悬浮液冷却至5°C持续一小时。将滤饼用水(282mL,3体积)洗涤,并且在约50°C下在真空中干燥30小时。

[0360] 所述过程成功完成,实现75%的产率。确认固体的化学纯度为99.3%。干燥30小时后,通过XRPD分析固体,显示多晶型物A(图7a)。在约17°2θ(如17.5°2θ)下观察到特征性扰动,并且在本体材料中明显。

[0361] 多晶型物A和多晶型物A'的固体状态表征

[0362] 多晶型物A获得的DSC和TGA热谱图(图8a)与多晶型物A'获得的DSC和TGA热谱图(图8b)是可比的。对于多晶型物A和多晶型物A'获得的TGA热谱图(图8a)显示在分解之前没有重量损失。这表明,对于多晶型物A(图7a;在约17°2θ处存在的扰动)和小规模获得的多晶型物A'(图7b;不存在扰动)的所得XRPD之间的差异不是由于过度的水合作用。

[0363] 固体的显微镜检查(图16a)示出棒状晶体,具有良好的均匀度,大小范围在50与200微米之间。

[0364] 对于多晶型物A'获得的XRPD衍射图未展现在约17°2θ处与多晶型物A相同程度的扰动。对于大规模生产的赛洛西宾(与小规模获得的相比),在XRPD衍射图中在约17°2θ处的扰动更明显并且是出乎意料的。申请人已经证明,水合物A是唯一存在于一定温度范围内且在17°2θ区域没有衍射峰的多晶型形式(参见图7d)。这强烈表明脱水后水合物A的崩解,以产生随规模变化的多晶型物A或A',并且多晶型物A是真正的形式,而小规模形成的多晶型物A'是非典型的。

[0365] 为了测试此理论的鲁棒性并且为了证明可以恢复到多晶型物A,将小部分本体再次在水中浸泡(以产生水合物A)后进行再干燥。将小份样品(250mg-赛洛西宾多晶型物A)在水中(10体积)平衡一小时。将悬浮液过滤,并且对湿固体的分析确认了已经产生水合物A(图7d),在17°2θ下无扰动。将所述材料在真空中干燥16小时,并通过XRPD重新评估固体。通过XRPD确认了多晶型物A'材料(图7b),并且注意到XRPD扰动减少。原始本体固体的额外干燥和在环境温度下的老化不会改变所述固体的XRPD衍射图。获得的两种固体形式多晶型物A和多晶型物A'的XRPD衍射图除了约17.5°2θ峰外,几乎相同。热特性也相同。多晶型物A与多晶型物A'的XRPD衍射图之间的区别是微妙的,并且两种多晶型物都非常迅速地在动力学上转化为水合状态。

[0366] 进行了另外的实验,以确定多晶型物A和多晶型物A'的XRPD衍射图的差异是否是由于较大规模的结晶过程递送较大粒度的固体(所述固体随后无法有效干燥并且引起变

化),或者是否是由于结晶固体的习性和尺寸差异。将赛洛西宾多晶型物A(在实验前确认的多晶型形式)经由研钵和杵研磨,并且通过XRPD评估。没有观察到多晶型物的变化。将另一部分(51mg)中加载水(<1mL),并且评估其湿度以确认形成水合物。将两个批次在50°C下在真空中干燥约18小时并且通过XRPD重新评估。研磨的样品保持为多晶型物A。水合样品脱水后显示为多晶型物A'(即,在约17.5°2θ处无反射)。这表明仅尺寸/习性并不是原始反射峰的唯一原因。

[0367] TGA评估揭示,输入批次展现到约70°C有少量质量损失(0.139%重量)。使粒度减小,随后干燥的固体展现到约75°C有0.343wt%的较大的质量损失,然而水合的和干燥的固体展现到80°C有0.069wt%的最小的质量损失。使粒度减小,将随后干燥的固体在80°C下保持10分钟(通过TGA指示经过质量损失点),但是通过XRPD评估揭示,与输入相比无变化,这意味着低水合水平和结晶晶格的部分溶胀不是引起变化的原因

[0368] 可以经由多晶型物A的水合以及随后将分离的固体进行小规模干燥来产生多晶型物A'。

[0369] 向赛洛西宾多晶型物A和多晶型物A'(每种约60mg)中加载水(0.2mL),以从两批次中产生水合物A。将每种水合物A的一半在25°C下在真空中干燥约17<sup>1</sup>/<sub>4</sub>小时,并且将每种水合物A的剩余部分在N<sub>2</sub>流下在环境温度下干燥约17<sup>1</sup>/<sub>4</sub>小时。将固体在干燥后分离,并且通过XRPD评估。对从多晶型物A输入中分离的固体进行的XRPD评估确认了成功产生水合物A,并且通过两种干燥方法干燥固体,以给出多晶型物A'。对从多晶型物A'输入中分离的固体进行的XRPD评估确认了成功产生水合物A,并且通过两种干燥方法干燥固体以保持为多晶型物A'。

[0370] 在小规模研究中,干燥多晶型物A和多晶型物A',以经由转化为水合物A而给出多晶型物A'。

[0371] 经由研钵和杵研磨,减小了赛洛西宾多晶型物A(100mg)的粒度。为了评估减小粒度是否影响样品的脱水,使研磨的批次经受两种不同的干燥方案。将第一样品在80°C下保持10分钟,并且将第二样品在110°C下保持10分钟。通过XRPD评估两种固体,揭示保留了多晶型物A。考虑是否在先前的等温应力下没有将研磨批次在110°C下保持足以影响形式的时间长度,因此将一部分研磨批次在110°C下在真空中干燥约24小时。通过XRPD的评估揭示形式发生了细微变化,其中仍存在约17处的多晶型物A的反射,但是强度略有降低。

[0372] 结论是,经由减小粒度和/或在高温下干燥,多晶型物A将不容易转化为多晶型物A'。

### [0373] 方法

[0374] 不含有焦磷酸酯杂质的赛洛西宾的稳定性评估指示,在超过80°C的温度下,通过赛洛西宾水解产生的阶段3中间体杂质(光盖伞辛)的水平值得关注。例如,当将83mg/mL赛洛西宾水性溶液加热到90°C,并且在1、2和4小时通过HPLC分析时,阶段3杂质的水平分别确定为0.28、1.82和7.79面积%。相比之下,当将50mg的赛洛西宾溶解于水(1.2-1.8mL;足以维持溶液的体积)中并且加热至70、75和80°C持续4小时,阶段3的杂质水平通过HPLC分别确定为0.53、0.74和2.30面积%。重结晶将粗赛洛西宾加热到75°C与80°C之间,以实现溶解和精过滤。通过将材料的停留时间减少直至过高的温度,溶液的立即冷却限制了赛洛西宾水解的水平。

[0375] 进行了赛洛西宾的进一步试验重结晶,引入了以下变化:

[0376] 改变使用的水的体积;

[0377] 改变搅动;

[0378] 具有控制的冷却特性;

[0379] 具有快速(不受控制)的冷却特性。

[0380] 使用较小体积的水(低至12体积)不会阻碍重结晶过程,并且在实现精过滤步骤的温度下,实现赛洛西宾的溶解。不同的冷却速度显示会导致不同的晶体尺寸分布;以约10°C/小时的缓慢控制的冷却产生了相对较大并且更平均的晶体尺寸(图16a),然而快速冷却特性则可产生较小的晶体(图16b)。优选控制冷却特性,这反映为改善了针对控制冷却的纯度。

[0381] 使用所述方法得到99.3%化学纯度、75%产率的赛洛西宾。固体的热特性与所需的那些相对应。干燥固体的XRPD衍射图的差异表明,干燥特性对于确定水合物A如何崩解以给出优选的固体形式可能很重要。已经证明多晶型物A在加速稳定性测试条件下稳定12个月。

[0382] 实验

[0383] 在N<sub>2</sub>下,将阶段5加载至容器中,然后加载水(约12-15体积,基于活性的阶段5)。将所述混合物加热至约80°C以实现溶解,并且通过1.2μm串列过滤器精过滤至加热至80°C的干净新烧瓶中。将搅动速率设置为高水平(450rpm),并且将溶液在70°C-75°C下平衡。将所述溶液以约10°C/小时冷却至环境温度,在68°C-70°C下用赛洛西宾水合物A(0.001x阶段5加载)接种。将悬浮液在环境温度下保持过夜,然后冷却至约5°C并且保持1小时。将悬浮液过滤,用水洗涤(2-3体积,基于阶段5的活性加载)。将纯的赛洛西宾在50°C下在真空中干燥。获得结晶材料赛洛西宾(多晶型物A或多晶型物A'),取决于规模),例如,使用94g赛洛西宾输入产生多晶型物A,而使用1g赛洛西宾输入产生多晶型物A'。典型地,批次大小大于5g产生多晶型物A,而批次大小小于5g产生多晶型物A'。

[0384] 与JNP的区别和益处可以总结如下:

[0385] i) 这一另外的结晶步骤产生了确定的晶型-多晶型物A(或A')。

[0386] ii) 短时间加热至约80°C的优势在于溶解度最大化(并且避免水解),从而确保了良好的产率。

[0387] iii) 在约70°C-80°C下,可以使用精过滤除去不溶性杂质。最好使用串列过滤器(通常约1.2μm)来实现。这确保了良好的化学纯度。

[0388] iv) 使用高搅动速率(通常约450rpm)确保快速溶解,从而允许将溶液保持在80°C的时间最小化,从而避免了通过赛洛西宾水解形成的阶段3中间体杂质的水平增加。

[0389] v) 提供控制的冷却,通常以约10°C/小时冷却,产生更均匀的晶体尺寸,并且维持作为结晶水合物A的形式。

[0390] vi) 在约70°C下,用赛洛西宾水合物A接种溶液,可以促进结晶为水合物A。

[0391] vii) 将晶体在水中洗涤并且在约50°C下干燥,以使纯度最大化,并且根据规模产生多晶型物A或A'。

[0392] 实施例2至6

[0393] 赛洛西宾的阶段1至5产生

[0394] 以下实施例说明了如上文所述的JNP中描述的和图1中所示的方法的重大发展。

[0395] 实施例2

[0396] 阶段1(图2)

[0397] 在JNP中的阶段1条件使用了在溶剂DCM中的1.1当量的Ac<sub>2</sub>O和1.2当量的吡啶。搅拌过夜后,发现反应完成(99%产物,0%SM)。将所述反应混合物用水洗涤并且在真空中浓缩,给出棕色油状物。在文献中,将所述油状物吸收在EtOAc中,并且通过蒸发浓缩,从而以小体积给出固体沉淀。

[0398] 研究

[0399] 然而,在申请人的手中没有观察到来自EtOAc的固体沉淀。通过用庚烷研磨促进固体沉淀,但是这不会形成可扩大的方法。收集固体,给出高纯度的阶段1产物(75%产率,通过NMR得出>95%纯)。

[0400] 尽管反应进行良好,但是分离程序需要进一步开发,以便能够获得易于处理的固体。希望通过过滤分离固体也将提供纯化的手段。

[0401] 首先将反应在EtOAc中进行试验,以查看是否可以促使固体沉淀,从而允许直接从反应混合物中分离。然而,发现在EtOAc中的反应特性不如在DCM中有利,因此放弃了反应。

[0402] 申请人从DCM反应混合物中洗涤出吡啶,因为认为这可能阻止产物的重结晶。重复反应(完成0.4%SM,通过HPLC得出98.7%产物),并且将反应混合物用20%柠檬酸洗涤以达到pH 2/3,除去吡啶,并且然后除去饱和NaHCO<sub>3</sub>(水溶液)以避免在蒸发步骤中的低pH。将有机物干燥,并且溶剂交换为庚烷,给出阶段1的沉淀。通过过滤收集固体,在真空干燥后产生纯的阶段1(87%产率,通过NMR得出>95%纯度)。

[0403] 进行稳定性试验,确认了当与20%柠檬酸以及还有饱和NaHCO<sub>3</sub>一起搅拌时,反应混合物过夜稳定。当在40°C和60°C下烘箱干燥时,发现产物是稳定的。

[0404] 放大

[0405] 成功放大了阶段1反应,处理>100g的4-羟基吲哚。反应按预期进行,并且进行后处理以给出阶段1产物(93%产率,约98%NMR纯度)。

[0406] GMP原材料合成

[0407] 进行大规模的阶段1反应以供应GMP起始原料(处理>500g的4-羟基吲哚)。反应按预期进行,给出通过HPLC得出的SM消耗(99.2%产物,<0.1%SM)。干燥后,使用确定的程序对反应进行后处理,以给出阶段1产物(94%产率,通过HPLC得出99.1%,99%NMR测定)。

[0408] 在开发中还注意到,阶段1程序有效去除一些批次的4-羟基吲哚中存在的少量杂质。在阶段1反应后,完全除去了4-羟基吲哚中存在的低水平杂质,以高产率(89%)和纯度(通过HPLC为99%,通过NMR测定为99%)提供了干净的材料。

[0409] 实验

[0410] 将4-羟基吲哚(1当量的限制性试剂)在N<sub>2</sub>下加载到容器中,然后加载DCM(二氯甲烷;基于4-羟基吲哚加载,6体积)。将反应冷却至0-5°C,并且在0-5°C逐滴添加吡啶(1.2当量)。在0-5°C逐滴添加乙酸酐(1.1当量),并且将反应加温至20°C-25°C持续1-1.5小时,并且在20°C-25°C下搅拌另外的3小时。将反应取样并分析是否完成。然后将反应用20%水性柠檬酸溶液洗涤三次(基于4-羟基吲哚加载,3x 3体积),并且用饱和NaHCO<sub>3</sub>(基于4-羟基吲哚加载,3体积)洗涤一次。将DCM溶液经MgSO<sub>4</sub>干燥并且过滤,并且将DCM层通过蒸馏浓缩至

一半体积。添加庚烷(基于4-羟基吲哚加载,6体积),并且通过蒸馏除去另外的DCM,直到发生阶段1的完全沉淀。将反应冷却至15°C-25°C,并且将固体通过过滤收集,用庚烷洗涤(基于4-羟基吲哚加载,1体积),在60°C下在真空下干燥过夜。

[0411] 与JNP的区别和益处可以总结如下:

[0412] i) 申请人使用柠檬酸在约2-3的pH下洗涤出吡啶。这促进了改善的分离和结晶。在实践中,将DCM相分离并且将水性柠檬酸相弃去。

[0413] ii) 在碳酸氢钠中另外的洗涤导致进一步改善。

[0414] iii) 溶剂交换成庚烷改善了固体沉淀,从而使产率最大化,并且产生了可重现的高纯度阶段1。

[0415] 实施例3

[0416] 阶段2(图3)

[0417] 步骤i-酸性氯化物的形成

[0418] 最初在TBME和THF(6体积/1体积)的混合物中试验了通过阶段1产物与草酰氯(1.5当量)反应形成反应性中间体2A,以确定它替代如文献中使用的挥发性和高度易燃的Et<sub>2</sub>O是可行的。约18小时后,反应完成,具有与Et<sub>2</sub>O相似的溶解度特性(溶液中的阶段1,阶段2A的沉淀)。

[0419] 由于酸性氯化物中间体易于水解,导致可变的分析结果,因此开发了更稳健的样品补充和分析,其中将反应淬灭到THF/NMe<sub>2</sub>中(以给出阶段2)并且然后通过HPLC分析。

[0420] 优化TBME和THF的比率,以给出最高的纯度和中间体产率,选择6:1的TBME:THF的优选比率用于放大。可以使用TBME:THF的其他比率。

[0421] 使用优选的溶剂混合物(1体积THF,6体积TBME)进行放大反应,但是在30°C-35°C下进行草酰氯的添加。然后将所得溶液在40°C下加热2.5小时,给出其中阶段1产物剩余约1%的完成。进行热添加(addition hot)以维持溶液,确保了高反应速率,并且以短得多的反应时间(2.5小时相比于过夜)改善了完成水平。约15分钟后,仍在温度下观察到产物发生沉淀,并且通过HPLC未观察到对反应特性的有害影响。

[0422] 由于中间体2A的稳定性未知,因此尝试套叠材料直至阶段2,而不是分离中间体和冒着降解(水解)的危险。反应特性复杂,其中以低水平存在多种组分。添加TBME,并且收集沉淀。然而,通过HPLC/NMR也发现这是复杂的混合物。

[0423] 由于不良的反应特性,因此认为有必要分离中间体2A,以允许从过量的草酰氯中纯化出来。重复反应,并将黄色沉淀通过过滤收集,并且用TBME洗涤以除去过量的草酰氯(80%产率)。NMR分析确认了产物具有足够的纯度(通过NMR得出约95%)。然而,尽管在氮气下储存,但在随后的几天中仍观察到一些分解,产生部分水解,包括乙酸酯基团的脱保护。

[0424] 为了尝试并且减少分离过程中中间体酸性氯化物的水解潜力,进行了对套叠程序的进一步研究。已经发现,通过使反应混合物沉降,可以容易地使TBME液体滗析,并且然后以类似的方式用另外部分的TBME洗涤残余的固体。这允许从过量的草酰氯中纯化中间体2A,同时使暴露于水分最小化。

[0425] 可以感觉到,由于在THF/TBME混合物中中间体的部分溶解度,可能会损失一些反应产率。这通过以下方式来确认:将庚烷添加到滗析液体中,给出另外的固体的沉淀。为了限制此溶解度,在滗析之前添加庚烷(8体积)。除了用TBME洗涤固体外,庚烷也用于洗涤(3x

6体积),可在维持高纯度中间体的同时使产率最大化。此方法已成功放大,并且是优选的方法。

[0426] 步骤ii-与二甲基胺反应

[0427] 文献(Synthesis, 1999, 6, 935-938; D.E.Nichols)表明HNMe<sub>2</sub>气体对此转化有效。然而,为了简化大规模处理,将所述气体用固体HNMe<sub>2</sub>.HCl(和另外过量的碱)或HNMe<sub>2</sub>在THF中的溶液替代。JNP使用在过量的碱(吡啶)存在下的HNMe<sub>2</sub>。

[0428] 将初始分离的中间体2A用于优化经由一系列试验反应(参见表11)与二甲基胺的反应。

[0429] 表11-阶段2反应优化试验

#	二甲胺 来源	碱	溶剂	HPLC完成	分离的固体
1	2M HNMe <sub>2</sub> /THF	吡啶 1.3当量 1.2当量	THF/TBME	80%产物,	64%产率, 通过NMR得出约 70%纯
2	HNMe <sub>2</sub> .HCl 1.5当量	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	THF/H <sub>2</sub> O	70%产物	40%产率, 通过NMR得出约 98%。
3	2M HNMe <sub>2</sub> /THF 1.33当量	吡啶 3.6当量	Et <sub>2</sub> O	81%产物	63%产率, 通过NMR得出约 90%。
4	2M HNMe <sub>2</sub> /THF 2.9当量	N/A	Et <sub>2</sub> O	93%产物	72%产率, 通过NMR得出约 98%。

[0431] 试验了文献提供的采用吡啶的条件(#1),连同在Et<sub>2</sub>O中相似的反应(#3)、使用Me<sub>2</sub>NH.HCl和水性K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>的双相反应(#2)、以及采用在THF中过量2M Me<sub>2</sub>NH的反应(#4)在所有情况下,通过HPLC得出的主要组分是所需产物,其中使用水性碱和过量Me<sub>2</sub>NH的条件通常比用吡啶的条件更干净。尽管在所有情况下均观察到显著的水解产物,但这被认为是未反应的中间体2A的结果,所述中间体在样品补充过程中被淬灭以用于HPLC分析。通过添加水,将反应进行后处理,然后在真空中除去有机溶剂,给出固体沉淀。

[0432] 与过量胺的反应显示出大大改善的杂质特性,这转化为更高的产率(72%相比于63%)和纯度(98%相比于90%)。这种方法限制了反应的含水量,因此使发生水解的机会最小化。由于在分离的固体中不存在吡啶,因此纯化也被认为是更容易的。出于这些原因,选择了以过量HNMe<sub>2</sub>为碱的条件进行放大。

[0433] 在Et<sub>2</sub>O中的反应给出干净的(#4)特性。然而,为了促进大规模处理,证明了改用挥发性较小的溶剂(如TBME)是有利的。这将促进将酸性氯化物套叠到此反应中。出于这些原因,选择使用在THF中的过量2M Me<sub>2</sub>NH在TBME中进行反应。

[0434] 认为水的添加将通过溶解HNMe<sub>2</sub>.HCl盐而有助于后处理,所述HNMe<sub>2</sub>.HCl盐存在并且导致非常浓稠的混合物和缓慢的过滤。这是经过试验的。然而,当将水添加到在TBME和THF中的反应中时,获得差的回收,其中对液体的分析示出另外的杂质和广泛的乙酸酯脱保护(苯酚产物)。因此,需要对纯化的进一步开发。

[0435] 纯化开发

[0436] 希望开发可以除去观察到的水解产物和其他杂质的纯化策略。还希望在结晶中包括水以降低所分离的材料的盐含量(假定为HNMe<sub>2</sub>.HCl)。为此,筛选了一系列15种溶剂和溶

剂混合物(100mg规模,10体积溶剂,热循环至60°C)。

[0437] 表12-阶段2纯化试验

溶剂	观察结果	回收	HPLC纯度(中间体2A的水解杂质)
TBME	浆液	47 mg*	96.4% (2.8%)
DCM	浆液	60 mg	99.5% (0.5%)
甲苯	浆液	30 mg*	95.8% (3.4%)
EtOAc	浆液	66 mg*	97.8% (1.6%)
iPrOAc	浆液	40 mg*	97.3% (2.0%)
IPA	浆液	65 mg	99.4% (0.4%)
EtOH/H <sub>2</sub> O, 1:1	浆液	62 mg	99.4% (0.5%)
MeCN/H <sub>2</sub> O, 1:1	室温下部分溶液 60°C下溶液	30 mg	99.0% (0.7%)
丙酮/H <sub>2</sub> O, 1:1	室温下浆液 60°C下溶液	51 mg	99.4% (0.5%)
THF/H <sub>2</sub> O, 1:1	室温下部分溶液 60°C下溶液	无沉淀	n/a
庚烷	浆液	34 mg*	95.0% (3.6%)
MIBK	浆液	65 mg	97.9% (1.4%)
MEK	浆液	60 mg	99.6% (0.3%)
环己烷	浆液	41 mg*	94.4% (4%)
二甲苯	浆液	56 mg*	96.1% (3%)

[0439] \*由于浓稠的悬浮液和固体附着在玻璃小瓶上,回收不具有代表性。

[0440] 从溶剂中筛选出的丙酮/水给出重结晶,其在室温下观察到很小的溶解度。由于这是水性系统,因此具有帮助从固体中清除Me<sub>2</sub>NH.HCl的优势。

[0441] 将丙酮/水重结晶放大。在添加另外的水(4体积)之前,在温度(5体积丙酮,1体积水)下获得溶液,并且将混合物冷却至室温,给出结晶(62%回收率,>99%HPLC纯度)。随后通过添加更多的水进一步放大此方法,以帮助回收(总共5体积丙酮,10体积水,78%回收率)。

[0442] 将所述方法进一步放大(30g),并且通过重结晶程序获得粗固体。尽管产物纯度高,但是产率却下降(56%产率,通过NMR测定为99%,通过HPLC为99.4%)。

[0443] 为了改善回收率,将水的添加量从10体积进一步增加到15体积。这将产物纯度维持在高于99%,并且在小规模上给出更高的回收率(90%回收率,先前观察到56%-70%)。但是,此修正程序的扩大再次给出低回收率(58%产率)。因此,由于放大重结晶时遇到的问题,基于进行的原始浆液筛选寻求了可替代的纯化手段(以上表12)。

[0444] 纯化策略的重新开发使用了从大规模阶段2反应中分离的材料。在烘箱干燥后,反应如预期进行,以给出粗产物(通过NMR测定为70%,79%活性产率)。为了除去显著的盐组分(假定为HNMe<sub>2</sub>.HCl),将一部分在室温下水浆化。干燥后,给出75%的回收率(通过NMR测定为95%),表明这是降低盐含量的有效手段。HPLC纯度保持约93%不变。然后寻求增加固体化学纯度的方法。

[0445] 从初始筛选中,EtOH:H<sub>2</sub>O、IPA和丙酮:H<sub>2</sub>O都显现给出具有良好回收率的高纯度产品,因此选择了这些溶剂系统用于进一步研究。输入纯度是92.7%,主要杂质水平是1.4%、

1.0% 和 0.8%。

[0446] 表13-进一步的纯化开发(在40℃下浆化1小时,在室温下过滤,1体积洗涤)

溶剂系统	回收	HPLC纯度 (主要杂质水平)			
		产物	杂质1	杂质2	杂质3
[0447]	丙酮/水 6/16体积	67%	98.8%	0.7%	0.2%
	1 : 1 EtOH : H <sub>2</sub> O 10体积	79%	98.0%	0.9%	0.5%
	IPA 10体积	90%	97.5%	0.8%	0.8%
	IPA 5体积	92%	97.2%	1.0%	0.7%
	4.5 : 2.5 IPA : H <sub>2</sub> O * 7体积	79%	98.7%	0.6%	0.4%
	6 : 1 IPA : H <sub>2</sub> O 7体积	82% **	98.0%	0.9%	0.6%

[0448] \*反应初始在5体积的1:1 IPA:H<sub>2</sub>O中进行。然而,它变得太浓稠而无法搅拌,因此添加了另外2体积的IPA。

[0449] \*\*混合物浓稠,并且存在的固体非常细,使得过滤变得困难,其中一些固体通过了过滤器。

[0450] 这些试验的结果表明,从这些系统(特别是基于IPA的那些)可以实现良好的回收率。EtOH:H<sub>2</sub>O比单独的IPA给出稍微更好的杂质特性;然而,回收率不佳(79%相比于90%)。水分的存在大大提高了IPA的杂质特性(98.7%相比于约97.5%),然而这导致了较低的回收率(79%相比于90%)。这表明对于化合物具有一定水平的水溶性。在IPA和EtOH:水中采用减少的水体积进行了最终试验,以观察是否可以找到提供高纯度和约90%的回收率的平衡。尽管此系统改善了产率,但是过滤速度慢,因此还评价了其他溶剂混合物。

[0451] 表14-对其他溶剂混合物的检查(500mg规模,在40℃下浆化1小时,在室温下过滤,1体积洗涤)

溶剂系统	回收	HPLC纯度 (杂质水平)			
		产物	杂质1	杂质2	杂质3
[0452]	IPA 10体积	460 mg (92%)	97.6%	1.1%	0.7%
	1 : 3 EtOH : H <sub>2</sub> O 5体积	451 mg (90%)	96.2%	1.4%	0.8%
	1 : 2 EtOH : H <sub>2</sub> O 5体积	440 mg (88%)	97.5%	1.3%	0.7%
	1 : 1 EtOH : H <sub>2</sub> O 5体积	375 mg (75%)	97.9%	1.0%	0.7%
	2 : 1 EtOH : H <sub>2</sub> O 5体积	354 mg (71%)	97.6%	1.0%	0.6%
	3 : 1 EtOH : H <sub>2</sub> O 5体积	369 mg (74%)	97.9%	0.9%	0.5%

[0453] 5体积EtOH/水浆液非常浓稠,并且不易处理。由于固体的纯度在所有试验中均具有可比性(由于过滤和洗涤的质量可能会有轻微变化),因此放大了100% IPA条件,因为它

们提供了高回收率,并且易于处理所得的悬浮液。

[0454] 优选的浆液的初始放大给出(92%回收率)96.4%的HPLC纯度(杂质水平为1.2%、0.7%、0.4%)。液体分析示出在所有主要杂质中富含产物-通过HPLC得出72%(8.6%、3.8%、3.4%)。这被认为是提供高回收率的合适的纯化方法,并且在以下阶段中使用测试了所述材料,以确保在下游实现杂质的跟踪和去除(在阶段3中>99%,无单一杂质>0.5%)。

[0455] 当将剩余的粗品阶段2材料(70%测定)水浆化以去除无机物,并且然后在IPA中浆化以给出纯度提高的材料(通过NMR测定为97%,阶段2的76%产率,通过HPLC得出96.8%,杂质为1.1%、0.8%、0.4%)时,证明所述浆液是可放大的。

[0456] GMP原材料合成

[0457] 进行了大规模的阶段2反应以提供GMP活动。反应按预期进行,提供了粗产物,将所述粗产物水浆化并且过滤以提供阶段2(通过HPLC得出是93%纯的)。将其在8体积IPA中进一步浆化并且过滤以给出阶段2产物(通过HPLC得出93.7%,92%测定,活性产率66%)。由于获得的纯度低于在开发活动中观察到的纯度,因此进行了使用测试,确认所获得的高纯度阶段3适用于后续处理(GMP原材料)。

[0458] 在相同条件下进行第二批,以给出粗产物,其在水浆化后通过HPLC得出是90%纯的。随后将此材料水浆化,并且通过IPA浆液纯化,以给出384g的阶段2产物(通过HPLC得出93.0%,NMR测定91%,60%活性产率)。

[0459] 进行第三批以补充GMP合成。当与之前的批次(通过HPLC得出97.3%,NMR测定96%)相比时,依次通过水、IPA浆液成功纯化粗产物,以产生具有提高的纯度的阶段2(79%产率)。

[0460] 实验

[0461] 在N<sub>2</sub>下,将阶段1(1当量,限制性试剂)加载到容器中,然后加载THF(相对于阶段1加载,1体积)和TBME(相对于阶段1加载,6体积)。然后将草酰氯逐滴添加到容器中(1.5当量),允许放热以初始时将温度升高至35°C-40°C,并且然后根据需要应用冷却以维持35°C-40°C。添加后立即将反应加热至40°C并且搅拌2-6小时。将反应取样并且分析是否完成,然后冷却至室温,并添加庚烷(相对于阶段1加载,8体积),给出另外的固体的沉淀。将反应搅拌10min,然后允许固体沉降。从固体中滗析大部分溶剂,然后将所述固体用庚烷洗涤两次(相对于阶段1加载,2x 6体积),每次洗涤后以类似的方式滗析。然后将固体取样并且分析。将TBME加载到容器中(相对于阶段1加载,4体积),以给出黄色浆液,使用干冰/丙酮浴将其冷却至-20°C。经约15分钟将Me<sub>2</sub>NH在THF中的2M溶液(2当量)逐滴添加到容器中,维持温度在-20°C至-10°C。使反应混合物缓慢加温至室温,并且搅拌过夜。如有需要,可以在此时添加另外的Me<sub>2</sub>NH。将反应取样并分析是否完成。将反应过滤,用庚烷洗涤(相对于阶段1加载,2x 2体积),并且将分离的固体在真空下在60°C下干燥。将粗品阶段2在水中(相对于阶段1加载,8体积)中浆化2-18小时,并且然后过滤,用水(相对于阶段1加载,2体积)洗涤。将固体在真空下在60°C下干燥以获得具有<2%w/w水(由卡尔·费希尔滴定法(KF)确定)的粗品阶段2。将粗品阶段2在IPA(10体积)中浆化2-18小时,然后过滤,用IPA(相对于粗品阶段2的量,1体积)洗涤,并且在60°C下在真空下烘箱干燥。

[0462] 与JNP的区别和益处可以总结如下:

[0463] 步骤1

- [0464] i) 首先, 使用代替乙醚的THF/TBME溶剂系统具有低挥发性和低易燃性。
- [0465] ii) 其次, 在升高的温度下添加草酰氯, 加热至40°C, 引起提高的溶解度并且防止阶段1产物截留在沉淀中。还提供了高反应速率、提高的完成水平、和更短的反应时间。
- [0466] iii) 第三, 将中间体2A分离以允许纯化除去过量的草酰氯。
- [0467] iv) 第四, 添加庚烷以帮助沉淀中间体2A。
- [0468] 步骤2
- [0469] v) 通过确保过量使用胺, 由于存在最少的水, 获得了大大提高的纯度和产率, 并且因此减少了水解。
- [0470] vi) 最后, 使用水和IPA浆液提供了阶段2产物的良好纯度。
- [0471] 实施例4
- [0472] 阶段3
- [0473] 使用纯化的阶段2材料(通过HPLC得出>99%)和提供的反应条件进行初始阶段3试验反应。发现阶段2的输入材料基本上不溶于THF, 并且因此, 不是向LiAlH<sub>4</sub>中添加阶段2的溶液, 而进行了反向添加。将4当量的LiAlH<sub>4</sub>作为在THF中的1M溶液使用, 经约2小时在20°C-25°C下进行添加。此时观察到10%的产物, 其中存在几种中间体种类。将反应在回流下加热约7小时, 以给出93%的产物转化率(通过HPLC得出)。对反应进行后处理以给出粗品阶段3产物(通过HPLC得出约90%, 通过NMR得出约90%, 校正产率约87%)。
- [0474] 进行试验反应, 其中成功减少了所采用的LiAlH<sub>4</sub>加载(3当量相比于4当量)。希望这将通过减少产生的Li和Al盐的量而有益于后处理。在回流下长时间加热(10-18小时)后, 大量消耗了反应中间体(剩余2%-3%), 通过HPLC得出具有约95%产物。
- [0475] 后处理开发
- [0476] 尽管使用罗谢尔盐(Rochelles salt)成功地对第一个试验反应进行了后处理, 但是采用的体积非常大(约100体积), 并且此程序将不会形成可行的方法用于放大。为了尝试减少所需的体积并帮助去除Li/Al盐, 检查了各种可替代的后处理程序。
- [0477] 先后用EtOAc和罗谢尔盐试验了减少体积的淬灭。灰色固体以浓稠糊状物存在, 其沉降到烧瓶底部。当过滤失败时, 可以将液体滗析并且将固体在THF/EtOAc中重新浆化以提取产物。然后进行水性后处理, 并且通过浓缩分离产物。这样以良好的产率(94%, 未针对纯度校正)产生高纯度(通过NMR得出90%-95%)的产物。然而, 所述方法不易于放大。
- [0478] 通过依次添加EtOAc、饱和Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(在作为粘合剂的无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的存在下)使反应淬灭。所述反应给出颗粒状固体, 其可以容易地过滤。然后进行水性后处理, 并且通过浓缩分离产物。获得了良好的产率(约94%, 未针对纯度校正), 但是产物含有通过NMR得出的较高水平的主要杂质(10%相比于通常观察到的2%-4%)。
- [0479] 在0°C下将反应用20%AcOH淬灭, 导致形成不能过滤的凝胶。放弃反应。
- [0480] 将反应依次用EtOAc、20%柠檬酸淬灭, 以给出可以通过过滤分离的固体。将液体浓缩以获得产物。尽管此程序的产率略低(约77%, 未针对纯度校正), 但产物的纯度非常高(>95%)。
- [0481] 通过依次添加EtOAc、水(对于在THF中每g的LiAlH<sub>4</sub>而言为3mL)淬灭进一步的反应。形成不易过滤的凝胶, 放弃反应。
- [0482] 最后, 通过费希尔方法淬灭反应。添加水(对于每g的LiAlH<sub>4</sub>而言为1mL), 然后添加

15%NaOH(对于每g的LiAlH<sub>4</sub>而言为1mL),最后添加水(对于每g的LiAlH<sub>4</sub>而言为3mL)。这给出了固体,可以从反应混合物中过滤固体。然后将液体分配并且在真空中浓缩(87%产率,通过NMR得出90%-95%)。

[0483] 这些实验总结在下表15中:

[0484] 表15-可替代的后处理条件的总结

#	后处理程序	产率	纯度
[0485]	3.1 EtOAc淬灭 罗谢尔盐(减少的体积)	2.8 g (94%, 未校正)	通过 NMR 得出 90%-95%
	3.2 在 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 的 存在下, EtOAc淬灭	2.8 g (94%, 未校正)	通过 NMR 得出约 80%-85%, 10%杂质。
	3.3 20% AcOH 淬灭	乳液(对废物的反应)	
	3.4 EtOAc淬灭 20%柠檬酸	i) 529 mg (71%, 未校正) ii) 2.3 g (77%, 未校正)	通过NMR得出> 95% 的纯度
[0486]	3.5 水淬灭	乳液(对废物的反应)	
	3.6 水 /NaOH 淬 灭	i) 615 mg (83%, 未校正) ii) 2.6 g (87%, 未校正)	通过 NMR 得出 90%-95%

[0487] 用柠檬酸和NaOH淬灭均给出固体,所述固体可以很容易地从反应混合物中过滤,并且需要最小的溶剂体积。尽管使用NaOH的条件具有较高(约10%)的产率,但是从此程序获得的产物纯度较低,因此在用于下一阶段之前可能需要进一步纯化。用柠檬酸时较低的产率可能是由于产物柠檬酸盐的一些沉淀。这具有纯化作用,其中在浓缩后直接获得干净产物。选择这些条件用于放大,并且希望柠檬酸加载的进一步优化将使得能够从此方法中以高产率分离出干净产物。

[0488] 为了尝试使回收率最大化,将反应用略减少的柠檬酸加载进行重复。此反应以57%的产率产生产物,并且通过将滤饼在THF中重新浆化获得了另外20%的产率(两个样品通过HPLC得出均为97.7%)。

[0489] 将反应放大。然而,在EtOAc淬灭期间,先前看到反应变浓稠,在烧瓶中使反应胶粘以形成浓稠的物质(限制了混合)。尽管随后添加柠檬酸导致形成通常的浆液/凝胶,但这并不代表可行的方法。用在THF中重新浆化的滤饼对此反应进行后处理,以使回收率最大化,给出76%的活性产率,通过HPLC得出95.0%。

[0490] 为了开发更好的淬灭并且避免用EtOAc时观察到的胶状物形成,重复所述反应。将一部分通过添加丙酮淬灭,其导致容易搅拌的悬浮液/乳液,没有浓稠的迹象。然后进行柠檬酸处理,以给出可过滤的混合物。对反应的剩余部分成功地进行此淬灭,并且进行后处理而以良好的产率提供粗产物(71%测定,82%校正产率,通过HPLC得出98.0%)。

[0491] 淬灭后,发现反应混合物的pH通常为8/9。作为后处理优化方法的一部分,研究了不同的pH。分离反应物以进行后处理,其中一半接受稍微减少的柠檬酸加载(以在淬灭后获得pH 11/12),而另一半通过添加另外的柠檬酸达到pH 7。对pH 11反应进行后处理,以给出85%NMR测定(73%产率)的材料,而pH 7反应给出60%NMR测定(62%产率)。此结果明显的是,为了给出>70%的产率,淬灭后获得正确的pH至关重要。通过仅略微减少柠檬酸加载(仍

约2体积的20%柠檬酸),产率获得约8%的增加。掌握了这些信息后,为了确保混合物保持强碱性,在淬灭期间监测未来反应的pH。

[0492] 纯化开发

[0493] 使用100mg份的粗光盖伞辛产物进行纯化筛选,将所述产物在10体积的溶剂中伴随加热循环至60°C浆化。将浆液冷却至室温过周末,然后通过过滤收集任何固体。为了进行酸/碱后处理,还测试了对酸和碱的稳定性。筛选的结果在下表16中示出:

[0494] 表16-光盖伞辛纯化筛选(输入纯度和3个主要的杂质水平:90.2%、3.8%、0.9%、0%)。

溶剂	观察结果	回收(约)	HPLC纯度(和主要杂质水平)
MeOH	室温下, 溶液	n/a	n/a
EtOH	60°C下溶液 室温下, 沉淀	35 mg	97.2%, 0.4%, 1.1%, 0.8%
IPA	60°C下, 浆液	51 mg	97.6%, 0.5%, 0.5%, 1.1%
MeCN	60°C下溶液 室温下, 沉淀	46 mg	96.8%, 0.6%, 0.4%, 1.6%
EtOAc	60°C下, 浆液	58 mg	97.1%, 0.9%, 0.2%, 1.3%
<sup>i</sup> PrOAc	60°C下, 浆液	58 mg	98.2%, 0.8%, 0.2%, 0.4%
甲苯	60°C下, 浆液	70 mg	93.3%, 3.6%, 0.2%, 0.8%
庚烷	60°C下, 浆液	77 mg	91.3%, 3.8%, 0.2%, 0.7%
丙酮	60°C下溶液 室温下, 沉淀	30 mg	97.7%, 0.4%, 0.3%, 0.9%
MEK	60°C下溶液 室温下, 沉淀	24 mg	97.3%, 0.5%, 0.5%, 1.2%
MIBK	60°C下, 浆液	49 mg	97.4%, 0.6%, 0.2%, 1.3%
THF	室温下, 溶液	n/a	n/a
TBME	60°C下, 浆液	67 mg	95.5%, 2.0%, 0.1%, 1.5%
DCM	室温下, 溶液	n/a	n/a
1 M HCl	室温下, 溶液	n/a	83.7%, 新杂质8%
1 M KOH	室温下, 浆液(黑色)	n/a	89.1%, 5.4%, 0.9%, 2.2%

[0495]

[0496] 当LiAlH<sub>4</sub>添加完成(需要回流以转化为产物)时,三种突出显示的杂质中的第一个对应于最稳定的反应中间体(在约70%观察到)。第三种杂质不存在于输入中,并且显现在浆化期间产生。在保持为浆液的溶剂中,<sup>i</sup>PrOAc给出最高的纯度。发现了几种重结晶,其中MeCN具有在结晶期间除去杂质的潜力,并且具有在开发期间有潜力提高的回收率。在酸和碱中均观察到一些降解,其中KOH样品迅速变黑。

[0497] 使用两种最有前景的溶剂(MeCN和<sup>i</sup>PrOAc)放大了粗品阶段3材料的纯化。为了提高回收率,将溶剂体积降至最低。这些试验的结果在下表17中示出:

[0498] 表17-MeCN/<sup>i</sup>PrOAc纯化的进一步开发

溶剂	观察结果	回收率 (%)	HPLC纯度 (和主要杂质水平)
[0499]	MeCN (5体积)	5体积中重结晶 (51%)	512 mg 97.6%, 0.7%, 0.8%, 0%
	<sup>i</sup> PrOAc (3体积)	3体积中浆化 (71%)	706 mg 95.8%, 1.3%, 0.6%, 0%

[0500] 从5体积MeCN获得重结晶,并且在3体积<sup>i</sup>PrOAc中(均在75°C下)获得热浆液。尽管体积减小,但是从MeCN的回收率仍然很差,然而产物的纯度非常高(通过NMR得出>>95%)。从<sup>i</sup>PrOAc的回收率更好,并且产物纯度通过NMR分析时大大提高(约95%)。

[0501] 尽管来自<sup>i</sup>PrOAc浆液的材料的HPLC和NMR纯度高,但是观察到的测定值低(通过NMR测定为85%)。为了改善材料的测定值并且除去颜色(到目前为止获得的所有材料均为强紫色、绿色或棕色),研究了通过二氧化硅垫纯化。

[0502] 使粗光盖伞辛(71%测定,通过HPLC得出98.0%)通过4当量的用THF洗脱的二氧化硅。获得了灰白色固体80%的回收率,其HPLC纯度(98.4%)和测定值(约82%测定)略有提高。证明这是增加产物测定值的有效手段,并且因此被包括在反应后处理的部分中。

[0503] 然后使用二氧化硅处理的输入(每浆液100mg)进行一系列<sup>i</sup>PrOAc/抗溶剂浆液(表18),以尝试提高回收率,同时维持化学纯度(输入纯度98.4%)。

[0504] 表18-<sup>i</sup>PrOAc/抗溶剂添加的结果

溶剂系统	回收	HPLC纯度
[0505]	<sup>i</sup> PrOAc 5体积	78%
	1:1 <sup>i</sup> PrOAc : 庚烷 5体积	70%
	1:1 <sup>i</sup> PrOAc : TBME 5体积	83%
	1:1 <sup>i</sup> PrOAc : 甲苯 5体积	84%
	<sup>i</sup> BuOAc 5体积	80%

[0506] 由于所有纯度值均具有可比性,因此基于获得的最高回收率选择了两种溶剂系统进行放大。将两种有利的浆液(TBME和甲苯作为抗溶剂)放大(每浆液1.0g)以更好地评估回收率。

[0507] 表19-有利的纯化系统的放大

溶剂系统	回收	HPLC纯度
[0508]	1:1 <sup>i</sup> PrOAc : TBME 5体积	79.9%
	1:1 <sup>i</sup> PrOAc : 甲苯 5体积	79.4%

[0509] 这两种选择均提供了在约80%的回收率下具有>99%HPLC纯度的材料,并且与二氧化硅垫组合时显现提供了有效的纯化光盖伞辛产物的方法。在浆液期间将另外的颜色除去进入液体中,给出呈白色固体的光盖伞辛。所有杂质均被有效除去至低于0.5%。选择<sup>i</sup>PrOAc:TBME浆液进行放大,因为它使用了无毒的ICH 3类溶剂。

[0510] 放大

[0511] 在回流过夜(此过程典型)后,将开发的阶段3条件放大并且进行反应以给出通过HPLC得出的存在2.9%反应中间体的94.4%产物的完成。二氧化硅垫后,获得通过NMR测定得出的83%纯度、66%活性产率、通过HPLC得出97.0%的光盖伞辛。将此材料通过在<sup>i</sup>PrOAc/TBME中浆化进一步纯化,以给出通过NMR测定得出100%、62%产率以及通过HPLC得出99.7%的材料。

[0512] 由于反应的粗产率低于预期(66%相比于约75%),因此为了尝试回收另外的材料,对滤饼和二氧化硅垫进行了重新研究。但是,这是不成功的。

[0513] 低于预期的产率可能是由于在后处理期间产物的分解,但先前的应力测试已经指示所述材料在所使用的条件下是稳定的。为了对此进行进一步研究,重复所述反应。在二氧化硅垫之前分离粗产物,并取另外的应力测试样品以确认产物的降解在后处理期间未发生。

[0514] 反应按预期进行,以给出完成(93.7%产物,2.9%中间体),并且浓缩,产生粗材料(77%NMR测定,66%活性产率)。将滤饼在THF/MeOH中重新浆化,但是没有分离出明显的光盖伞辛。为了尝试置换任何与铝盐配位的产物,添加另外的柠檬酸以使pH值达到4(从pH8),并且将滤饼在THF中重新浆化,但是仍然没有分离出明显的光盖伞辛。从反应中未获得质量平衡,其中66%的活性产率与先前获得的活性产率密切匹配。将此批次通过二氧化硅垫和在<sup>i</sup>PrOAc/TBME中的浆化来纯化,以给出62%产率的高纯度材料(通过HPLC得出99.8%)。

[0515] 尽管所采用的溶剂体积相对较高,并且需要二氧化硅垫来去除铝和锂物质,但此方法仍非常适合于所需的规模。

[0516] 将阶段3反应进一步放大以进行处理。反应按预期进行,以在18小时后给出完成(约91%的产物,剩余约3%的反应中间体)。通过二氧化硅垫和浆化的后处理给出57%产率的高纯度光盖伞辛(通过HPLC得出>99%,99%NMR测定,0.35%w/w水卡尔费希尔)。

[0517] 实验

[0518] 将阶段2(1当量,限制性试剂)加载到容器中,然后加载THF(相对于阶段2加载,5体积)。将混合物冷却至0°C并且经30-45min逐滴添加LiAlH<sub>4</sub>(3当量)的1M THF溶液,将温度保持在0-20°C。添加后,将反应在10°C-20°C下搅拌30min,并且然后加热至回流并且搅拌约16小时。将反应取样并且分析是否完成,冷却至0°C并且通过在0-30°C下逐滴添加丙酮(9.3当量)然后在0-30°C下逐滴添加20%水性柠檬酸溶液(相对于阶段2加载,1.9体积)淬灭。监测添加的pH以确保其保持在pH>11并且如果需要则尽早停止添加。将所得悬浮液搅拌1小时并且过滤,用THF(相对于阶段2加载,2体积)洗涤以除去Li和Al盐。将滤饼在THF(相对于阶段2加载,12.5体积)中浆化约1小时并且过滤,用THF(相对于阶段2加载,5体积)洗涤,以从Li和Al盐中回收产物。将合并的有机物经MgSO<sub>4</sub>干燥并且过滤。将滤液在真空中蒸发直至剩余约10体积(相对于阶段2加载),并且将此溶液施加到二氧化硅垫(相对于阶段2加载,3当量)上。用THF洗脱二氧化硅垫,并且将产物级分合并并且在真空中蒸发至干。将粗品阶段3(光盖伞辛)在1:1*i*PrOAc:TBME(相对于步骤18的量,5体积)中浆化2-18小时,过滤,用TBME(相对于步骤18的量,2.5体积)洗涤,并且在40°C下在真空中干燥以分离纯的光盖伞辛。

[0519] 与JNP的区别和益处可以总结如下:

[0520] i) 首先, 申请人在使用THF作为溶剂的同时, 使用丙酮淬灭反应。这导致不浓稠的悬浮液/乳液。

[0521] ii) 其次, 申请人用柠檬酸淬灭, 维持碱性pH, 通常约11。pH控制确保获得高产率。

[0522] iii) 第三, 通过二氧化硅垫纯化以除去残余的Li/Al盐, 用THF洗脱后, iPrOAc: TBME浆化提供了高度纯化的产物, 然后将其干燥。

[0523] 实施例5

[0524] 阶段4

[0525] 初始时使用文献条件, 以处理2.58g样品, 从而通过HPLC分析时得到约88%转化为中间体4A。将产物通过添加氨基丙基二氧化硅并且通过硅藻土过滤来纯化。将所得的绿色油状物(5.5g)在DCM中浆化, 给出苄基转移以及两性离子阶段4(4.1g, 70%产率, 通过NMR得出约95%)的沉淀。

[0526] 步骤i

[0527] 在此阶段的初始开发集中于寻找易于处理并且理想情况下不会将其他的锂引入合成中的<sup>n</sup>BuLi替代品。进行对替代条件的初始筛选, 所述替代条件包括以下碱: Li<sup>t</sup>BuO、K<sup>t</sup>BuO、NaH、NaHMDS和NaNH<sub>2</sub>。所有反应均给出产物, 其中NaHMDS性能如同<sup>n</sup>BuLi一样好。所有反应物都变得非常浓稠, 观察到胶凝, 并且建议进行顶置式搅拌以进行有效搅拌。

[0528] 初始筛选表明NaHMDS将是<sup>n</sup>BuLi的合适替代品(81%转化为产物/中间体4A)。将这些条件与采用<sup>n</sup>BuLi的参考反应一起放大至1.5g。在两种情况下均使用顶置式搅拌。

[0529] 表20-<sup>n</sup>BuLi和NaHMDS的比较

时间点	HPLC - <sup>n</sup> BuLi	HPLC - NaHMDS
1 hr, -30°C	6.6% St 3, 78% Int 4A, 1% St 4	<1% St 3, 78% Int 4A, 4% St 4
2 hr, 0°C	6.5% St 3, 77% Int 4A, 1% St 4	<1% St 3, 76% Int 4A, 4% St 4
粗产物	4.89 g <1% St 3, 2% Int 4A, 60% St 4	4.38 g <1% St 3, 5% Int 4A, 68% St 4

[0531] 表中使用的缩写: St 3=阶段3、Int 4A=中间体4A、St 4=阶段4

[0532] 两种情况下获得的反应特性非常相似, 其中NaHMDS反应给出阶段3的消耗。将两个反应在硅藻土上过滤以除去白色沉淀, 并且浓缩。通过NMR得出, 在两种情况下(尤其是在用<sup>n</sup>BuLi的例子中)都存在过量的苄基质子, 并且分离的产率>100%。证明NaHMDS条件成功给出了有利的反应特性, 并且选择此条件用于进一步放大。然而, 需要进行后处理和纯化开发。

[0533] 步骤ii

[0534] HPLC数据指示, 使用NaHMDS和<sup>n</sup>BuLi从上述试验中分离的材料已进行了重排, 以在浓缩后给出两性离子阶段4。通过在多种溶剂中浆化, 尝试将此材料从苄基磷酸副产物和其他杂质中纯化出来。

[0535] 表21-粗品阶段4产物的试验纯化

溶剂	大量回收	HPLC纯度
DCM	白色固体	84% St 4
EtOH	胶状物	-
EtOAc	胶状物	-

IPA	白色固体	88% St 4
甲苯	胶状物	-
TBME	白色固体	62% St 4
MIBK	胶状物	-
MeCN	胶状物	-
丙酮	白色固体	86% St 4

[0537] 表中使用的缩写:St 4=阶段4

[0538] \*过滤差

[0539] 从几种溶剂中获得白色固体,然而从DCM和TBME获得的固体在储存过周末时变成浅紫色胶状物。从IPA和丙酮中获得的那些在储存时仍是自由流动的白色固体,这表明这些固体的稳定性可能更高,并且使得易于处理。

[0540] 将IPA和丙酮中的浆液放大至1g。然而,在添加溶剂后立即发现胶粘。将胶状物通过剧烈搅拌缓慢分散并且最终示出结晶迹象,过夜搅拌后形成白色浆液。然而,此过程不适用于放大。以良好的产率分离固体,其中IPA提供了最高的纯度。

[0541] 还研究了THF,因为此物具有也充当反应溶剂的优势。然而,当对此进行试验时,再次观察到初始胶状物的形成(分离的约80%产率,通过HPLC得出约92%)。为了尝试避免胶状物的形成并且给出更受控制的结晶,首先将粗品阶段4溶解在少量DMSO(2体积)中。然后将THF(10体积)添加到其中,并且将溶液搅拌过周末。此举缓慢给出产物的沉淀,将其通过过滤收集并且用THF洗涤,以产生具有96%HPLC纯度(通过NMR得出>95%)的阶段4(86%产率)。

[0542] 由于THF结晶成功,并且先前已注意到在40°C下反应液体(THF/EtOAc)的浓缩期间,完全转化为两性离子阶段4发生,因此希望可以避免溶剂的变化并且通过在40°C搅拌反应混合物使产物直接结晶。

[0543] 进行了两个4g NaHMDS反应,其中两个反应均完成,约80%转化为中间体4A。将一个反应用EtOAc稀释,另一个反应用THF稀释,并且将两个反应都过滤以除去磷酸盐副产物。为了进一步降低磷酸盐杂质水平,进行盐水洗涤,并且将有机物干燥并且浓缩至10体积。将这些溶液在40°C下搅拌过夜,以给出转化为阶段4和阶段4的沉淀(约1%阶段3,约0.2%中间体4A,约82%阶段4)。通过过滤收集固体,从EtOAc/THF给出8.03g(88%产率),而从THF给出5.65g(62%产率)。当与从THF获得的白色固体(通过HPLC得出97%,88%测定)相比时,从EtOAc/THF获得的褐色/灰色固体具有较低的纯度(通过HPLC得出约90%,78%测定)。对来自THF反应的水层的分析示出存在产物,并且最终的THF滤液具有另外的损失。

[0544] 由于从THF获得更高的纯度,因此对此溶剂进行了进一步研究以优化回收率。由于产物损失到水层,省略了盐水洗涤,反应后将反应混合物进一步浓缩,以使最终过滤步骤期间的损失最小化。以75g规模试验此新程序,其中将部分反应混合物浓缩至8体积和6体积。过滤后,在两部分之间没有观察到产率差异,总产率为140.4g(通过NMR测定得出90%,74%活性产率,通过HPLC得出90%)。

[0545] 杂质追踪

[0546] 在分离出的产物中观察到三种主要杂质,其中基于MS数据提出了针对这些种类中的两种的身份。

[0547] 显示脱苄基杂质(典型地通过HPLC得出约2%-5%)在随后的氢化期间给出赛洛西宾,因此可以以更高的水平耐受。在分离的阶段4中观察到的主要杂质(典型地通过HPLC得出约5%-8%)是酸酐杂质。这通过随后的氢化追踪到并且显示出可通过从水中重结晶很容易地除去,这是由脱苄基作用产生的高可溶性焦磷酸酯杂质。通过限制反应温度(低于-50°C),发现可以将其他观察到的主要杂质(通过LCMS观察到m/z 295.2)控制在低于2%,并且在氢化后在赛洛西宾中未观察到。

[0548] 以上生产的140g批次的杂质特性示出90.0%的阶段4、6.4%的酸酐杂质、0.2%的N-脱苄基杂质和1.2%的m/z 295.2杂质。

[0549] GMP合成

[0550] 使用确定的程序完成了第一大规模阶段3批次(544g输入),以给出213.5g(53%产率,通过HPLC得出99%)。还成功处理了第二批(628.2g输入),以给出295.2g(66%产率,通过HPLC得出99%)。

[0551] 注意到在3个大规模批次中在此阶段的产率存在一些变化(57%、53%和66%)。这可能是由于后处理和淬灭程序中存在微小差异。

[0552] 实验

[0553] 将阶段3加载到容器中,然后加载THF(相对于阶段3加载,15体积),并且使用干冰/丙酮浴冷却至≤-50°C。加载在THF中的1M NaHMDS溶液(1.13当量),维持温度≤-45°C,目标<-50°C。将反应在-60°C至-50°C下搅拌30分钟。将四苄基焦磷酸酯(2.26当量)以单份加载到反应中,然后加载另外的THF(20体积),同时维持反应温度<-30°C。经1.5-2小时将反应升温至0°C,并且取样以查看是否完成。将反应过滤以除去磷酸盐,用THF(8体积)洗涤。将滤液浓缩直到剩余6-8体积并且在40°C下搅拌过夜以将中间体4A转化为阶段4产物。将反应取样以查看是否完成,然后过滤,并且将固体用THF(2体积)洗涤。将阶段4产物在40°C下在真空烘箱中干燥。

[0554] 与JNP的区别和益处可以总结如下:

[0555] 步骤i

[0556] i) 首先,引入六甲基二硅氮烷钠以支持去质子化。证明它是丁基锂的有效替代品,更易于处理,并且不会将另外的锂引入反应中。

[0557] ii) 其次,通过用THF稀释反应,获得了更高纯度的中间体4A。

[0558] iii) 第三,通过将反应温度控制在低于-50°C,将通过LCMS观察到的不希望的mz 295.2控制在小于2%的水平。

[0559] 步骤ii

[0560] iv) 第四,通过监测阶段4A杂质(特别是N-脱苄基阶段4(表7)和酸酐阶段4(表7))的水平,可以可重现地生产纯的产物。

[0561] v) 可以在反应溶剂中进行中间体阶段4A至阶段4的转化,避免了费时的溶剂交换的需要。

[0562] vi) 最后,将获得的固体用THF洗涤,并且烘箱干燥,以获得阶段4。

[0563] 实施例6

[0564] 阶段5

[0565] 在此阶段的开发期间注意到了催化剂中毒,并且在需要防止不完全氢化时可以在

过程中包括炭化 (charcolation) 步骤。然而,炭化不是常规需要的。

[0566] 用氢气喷射3小时后,典型的反应显示高水平的完成 (>90% 产物, 剩余3%-5% SM)。添加少量的水以帮助溶解,并且在用氢气喷射另外1小时后,达到阶段4的消耗。

[0567] 通过过滤对成功的反应进行后处理,然后蒸发以除去甲醇,将产物作为浓稠悬浮液留在水中。添加乙醇,并且将固体过滤,以给出69%产率的赛洛西宾。<sup>1</sup>H NMR确认了产物的身份但是指示存在少量相关杂质。LCMS分析指示95.2%的纯度,其中主要杂质(4.1%)被鉴定为焦磷酸杂质。(表7)衍生自阶段4中的酸酐杂质。后来显示在最终产物重结晶期间,此杂质被有效吹扫(阶段6)。

[0568] 然后使用来自最终THF后处理的阶段4材料进行进一步反应,所述材料通过HPLC得出为88.0%纯,并且含有7.3%N-脱苄基阶段4(转化为产物),无任何酸酐杂质。再次注意到完成,并且如前对反应进行后处理以给出46%产率的赛洛西宾。认为低产率是由于在催化剂过滤步骤期间产物的沉淀。<sup>1</sup>HNMR确认产物的身份并且HPLC指示98.9%的纯度。

[0569] 进行了反应条件的进一步开发,以优化所采用的水体积并且使过滤步骤期间的产物损失最小化。反应后,通过在加热至40°C下添加10体积的水来获得溶液。这允许通过过滤除去催化剂,而不会在过滤器上引起产物损失。

[0570] 在反应和后处理期间,通过水解产生了水平为约1%-2.5%的一些阶段3(显现是所述过程典型的)。在最终产物重结晶期间,展现了阶段3水平的降低。

[0571] 放大

[0572] 将大规模阶段4批次(非GMP)作为单批次(148g有效输入)处理。实现了阶段4的消耗,具有88%的产物和由水解生成的0.9%阶段3。酸酐杂质(6.4%)完全转化为相应的焦磷酸杂质(5.2%)。

[0573] 从乙醇剥除回去以减少含水量后,将大规模的氢化进行过滤并且浓缩,以产生109g粗产物(通过NMR测定得出约71%,86%产率)。

[0574] 实验

[0575] 将10%Pd/C(约50%水湿,87L型,0.1x阶段4加载)在N<sub>2</sub>下加载到容器中,然后加载甲醇(相对于阶段4,20体积)和阶段4。将N<sub>2</sub>用H<sub>2</sub>替代,并且将所述反应在H<sub>2</sub>(常压)下搅拌1-2小时。将反应取样以查看是否完成,然后添加水(相对于阶段4,10体积),维持温度<25°C。将混合物在H<sub>2</sub>(常压)下再搅拌1-2小时。将反应取样并检查是否完成。

[0576] 如果反应未完成,则再加载H<sub>2</sub>,并且将反应再继续进行1-12小时直到观察到完成。然后将反应置于N<sub>2</sub>下,并且加温至40°C并且保持15-45分钟。将反应通过硅藻土过滤以除去催化剂,用甲醇(相对于阶段4加载,13.3体积)和水(相对于阶段4加载,6.7体积)洗涤。将滤液在真空中浓缩,与乙醇共沸以除去水,直到获得固体。与JNP的区别和益处可以总结如下:

[0577] 主要地,使用相对保留时间(RRT),通过HPLC监测反应的中间体水平,并且用以小于0.2%存在的中间体控制完成。还小心监测阶段5焦磷酸杂质,以确认可以在最终重结晶中对其进行控制。

[0578] 最终阶段6过程是如实施例1中所述的。

[0579] 实施例7

[0580] 测试方法和方案

[0581] 为了测试纯度等,采用以下方法/方案。

[0582] 7.1 NMR

[0583] 使用400MHz光谱仪获得在D<sub>2</sub>O中的赛洛西宾的<sup>1</sup>H和<sup>13</sup>C NMR光谱。在<sup>1</sup>H NMR中,相对于D<sub>2</sub>O ( $\delta$ =4.75ppm)以ppm报道了化学位移,在<sup>13</sup>C NMR光谱中,相对于MeOH ( $\delta$ =49.5ppm) (作为参考物质添加)以ppm报道了化学位移。JNP中报道了赛洛西宾的文献价值。通过NMR对赛洛西宾的分析给出了与结构相一致并且与文献中报道的相一致的数据,其中在可电离基团附近质子的化学位移仅有很小的变化,预期这是由于化合物的两性离子性质使所述材料对pH很小的变化非常敏感。

[0584] 以下概述了<sup>1</sup>H NMR和<sup>13</sup>C NMR数据,并且光谱示于图10和图11中。

[0585] <sup>1</sup>H NMR数据 (400MHz, D<sub>2</sub>O) : 2.79 (s, 3H) , 3.18 (t,  $J$ =7.4Hz, 2H) , 3.31 (t,  $J$ =7.4Hz, 2H) , 6.97 (d,  $J$ =8.0Hz, 1H) , 7.08 (s, 1H) , 7.10 (t,  $J$ =8.0Hz, 1H) , 7.19 (d, 8.2Hz, 1H) 。

[0586] <sup>13</sup>C NMR数据 (400MHz, D<sub>2</sub>O (+trace MeOH) : 22.3 (1x CH<sub>2</sub>) , 43.4 (2xCH<sub>3</sub>) , 59.6 (1x xCH<sub>2</sub>) , 108.4 (1x CH) , 108.6 (1x C) , 109.5 (1x CH) , 119.1 (d,  ${}^3J_{P-H}$ =6.7Hz, 1x C) , 123.3 (1x CH<sub>2</sub>) , 124.8 (1x CH) , 139.3 (1x C) , 146.3 (d,  ${}^2J_{P-H}$ =6.7Hz, 1x C)

[0587] 7.2 FT-IR

[0588] 在具有UATR两附件的Perkin Elmer Spectrum Two<sup>TM</sup>光谱仪上收集数据。通过FT-IR光谱对赛洛西宾 (批次:AR755) 的分析给出了与所提出的结构一致的光谱 (图12)。在3244cm<sup>-1</sup>处的宽峰是典型的胺盐。剩余峰位于指纹区域,因此无法单独分配。

[0589] 7.3.质谱

[0590] 在Bruker Esquire 3000加离子阱质谱仪上获得赛洛西宾 (AR755) 的质谱,并且与结构一致。质谱图 (图13) 在m/z=284.8和568.1处显示了一个主峰,对应于赛洛西宾的(M+H)<sup>+</sup>和(2M+H)<sup>+</sup>。这暗示分子离子具有对应于赛洛西宾分子式 (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P) 的m/z 284 (图14)。

[0591] 7.4炽灼残渣

[0592] 炽灼残渣方法遵循药典方法,具有一处调整。当将坩埚加热至500°C时,获得不一致的结果,并且认为这是由于所产生的磷酸盐残余物的低挥发性所致。因此,对于赛洛西宾,将温度提高到800°C,并且获得了一致而准确的结果。

[0593] 7.5 HPLC-测定和纯度确定

[0594] 用于赛洛西宾的测定、化学纯度和杂质定量的HPLC方法是梯度HPLC-UV方法,并且条件概述于表22中。外标用于定量。将约1mg/mL的赛洛西宾溶解于纯净水:MeOH (95:5) 中。超声处理至完全溶解。

[0595] 通过HPLC得出的纯度以面积%为基础计算,并且与已知的保留时间标准相关。

[0596] 通过HPLC测定是基于无水、基于相对于已知纯度和组分的标准品的重量%计算。

[0597] 表22:用于鉴定、纯度和测定的典型HPLC条件

参数	条件																		
系统	Agilent 1100系列液相色谱仪或等效物																		
柱	XBridge C18, 4.6 x 150 mm; 3.5 $\mu\text{m}$ (Ex; waters PN:186003034)																		
流速	1.0 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$																		
注射体积	5 $\mu\text{l}$																		
检测	UV @ 267 nm																		
柱温	30°C																		
流动相	A - 纯净水 : 甲醇 : TFA (95 : 5 : 0.1) B - 甲醇 : 纯净水 : TFA(95 : 5 : 0.1)																		
梯度	<table> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>22</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	%A	%B	0	100	0	2	100	0	15	0	100	20	0	100	22	100	0
时间 (min)	%A	%B																	
0	100	0																	
2	100	0																	
15	0	100																	
20	0	100																	
22	100	0																	

[0599] 7.6通过HRGC得出的残余溶液含量

[0600] 用于定量残余溶剂的HRGC方法是顶空方法,并且描述于下表23中:

[0601] 表23:典型的残留溶剂GC方法

参数	条件
系统	Agilent 6890/7890 HRGC或类似
柱	DB-624 60 m x 0.32 mm, 1.80 $\mu\text{m}$ 膜厚度 (或等效物)
烘箱程序	40°C (保持15 min), 然后升温 ( $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 至200°C (保持5 min)
顶空参数	
烘箱温度	125°C
环温度	140°C
传输线温度	150°C
分流比	10:1
注射器温度	200°C
检测器温度	250°C, FID
顶空压力	15 psi, 恒压

载气	氮气
柱流量	2.0 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ @ 40°C
内标	1,2-二氟苯

[0604] 确定以下溶剂和试剂的水平:甲醇、乙醇、THF和甲苯。

[0605] 7.7通过DSC得出的熔点

[0606] DSC数据是在PerkinElmer Pyris 6000DSC(或类似产品)上收集的。使用合格的钢,对于能量和温度校准,对仪器进行验证。将样品称重(通常为0.5至3.0mg)放入针孔铝样品盘中。将盘用铝盘盖夹压。将盘以20mL/min从30°C加热至300°C,伴随以20°C/min用干燥氮气吹扫。在熔点程序期间,每个批次的赛洛西宾多晶型物A或A'展现出两个吸热事件后者;第一个归因于多晶型物A或A'固-固转化为多晶型物B,第二个归因于多晶型物B的熔化。

[0607] 7.8通过XRPD得出的多态性

[0608] 通过XRPD确定赛洛西宾的固体状态形式。在环境条件下,在使用Cu K $\alpha$ 辐射(45kV, 40mA)、 $\theta$ - $\theta$ 测角仪、聚焦镜、发散狭缝(1/2")、在入射光束和发散光束(4mm)二者下的索勒狭缝的衍射仪(如PANalytical X' Pert PRO或等效物)上收集XRPD衍射图。数据收集范围是3-35° $\theta$ ,连续扫描速度是0.2° s $^{-1}$ 。将所得衍射图与多晶型物A或A'的参考衍射图进行比较,以确保一致(分别为图7a或7b)。

[0609] 7.9热重分析(TGA)

[0610] 在PerkinElmer Pyris 1TGA(或类似产品)上收集TGA数据。对于温度,使用合格的重量和合格的Alumel和Perkalloy校准仪器。将预定量的样品(通常约5mg)装载入铝坩埚中,并且以20°C/min的速度从环境温度加热到400°C。在样品上维持以20mL/min的氮气吹扫。

[0611] 7.10干燥失重

[0612] 使用1g份一式两份确定样品的干燥失重,准确称重,在70°C下干燥,在真空下至恒定重量。

[0613] 计算:

$$[0614] \text{干燥失重\%} = \frac{(W_{\text{初始}} - W_{\text{最终}})}{W_{\text{样品}}} \times 100$$

[0615] 其中:

[0616]  $W_{\text{初始}}$ =平皿和干燥前样品的初始重量(g)

[0617]  $W_{\text{最终}}$ =平皿和干燥的样品的最终重量(g)

[0618]  $W_{\text{样品}}$ =样品重量(g)

[0619] 实施例8

[0620] 强制降解研究

[0621] 在各种条件下在溶液中和固体状态下均对赛洛西宾原料药施加应力,以提供用以评价分析方法选择性的样品。

[0622] 基于ICH Q1A(R2)的要求,对赛洛西宾进行强制降解研究。在应力条件下的测试已经提供了有关赛洛西宾潜在的降解途径和内在稳定性的信息。所采用的优化分析方法证明了对赛洛西宾的特异性;显示其是合适的,并且可以使用此方法检测产物的身份、纯度和效力的变化。根据ICH Q2(R1)(分析程序的验证),关于特异性,使用的方法也显示不受可能的杂质和降解产物的干扰。因此,HPLC方法被认为适用于确定赛洛西宾和相关杂质的纯度。

[0623] 赛洛西宾的对照样品在研究期(非光稳定性样品的研究期为7天)内在溶液中是稳定的。当在溶液中加热时,赛洛西宾缓慢降解,产生作为主要杂质的光盖伞辛。赛洛西宾在

室温下在酸性条件下也是稳定的。然而,在60°C下观察到缓慢并且稳定的降解,产生作为主要杂质的光盖伞辛。在碱存在的情况下,赛洛西宾在室温下略不稳定,在研究期间内缓慢降解出一定范围的杂质。在过氧化物条件下仅形成了极低水平的杂质,总纯度下降了约0.5%。在固体状态下,注意到缓慢的化学降解(在150°C下3天),主要产生了作为杂质的光盖伞辛(阶段3)。在光稳定性条件下无论作为固体还是在溶液中,赛洛西宾都是稳定的。

[0624] 稳定性研究

[0625] 如表24所示,用两批的赛洛西宾进行了稳定性研究。

[0626] 表24

研究编号/研究开始	原 料 药 货 号	包 装	制 造 场 地	批 量 使用	储 存 条 件	预 定 时 间 点 / 研究状态
	ONYXSTAB0138	GM764B 双食品级聚乙烯袋。 外聚乙烯容器	Onyx科学	参 考 标 准	2°C-8°C 25°C/60% RH 40°C/75% RH	1、3、6个月 正在进行 1、3、6个月 正在进行 1、3、6个月 正在进行
[0627]	ONYXSTAB0139	170231 双食品级聚乙烯袋。 外聚乙烯容器	Onyx科学	临 床	2°C-8°C 25°C/60% RH 40°C/75% RH	1、3、6、9、 12、18、24、 36个月 正在进行 1、3、6、9、 12、18、24、 36个月 正在进行 1、3、6个月 正在进行

[0628] 将样品装在双层食品级聚乙烯袋中,并且密封在外聚乙烯容器中,并且置于2°C-8°C、25°C/60%RH和45°C/75%RH下储存,内聚乙烯袋之间包括干燥剂袋,以防止水分吸收。进行外观、含水量、纯度和测定的测试。

[0629] 两项研究的方案示于表25和表26。

[0630] 批次GM764B的一个月和三个月稳定性数据在下表27和表28中详细列出。下表29、表30、表31、表32和表33中分别提供了GMP批次170231的一个月、三个月、六个月、九个月和十二个月的稳定性数据。

[0631] 表25

[0632] Onyx稳定性试验方案表

产品:	赛洛西宾	Onyx 试验编号:	ONYXSTAB0138						
批号:	GM764B	试验截止开始日期:	2017 年 3 月 10 日						
测试方法:	N/A	生产日期:	2017 年 2 月 06 日						
附加信息:	每个容器中要求 1200 mg 的材料。								
包装组分:	300 ml HDPE 容器 (食品级) 中含有双聚乙烯袋装内衬。在两个聚乙烯袋之间插入干燥剂袋。								
<u>测试参数</u>									
<u>常规测试</u>									
[0633]									
	外观								
	<sup>1</sup> H-NMR 测定 (基于无水)								
	通过干燥失重得出的含水量								
	通过 HPLC 得出的化学纯度/杂质								
	月	1	3	6				备件	总计
	2°C-8°C	X	X	X				2	5
	25°C/60% RH	X	X	X				2	5
	40°C/75% RH	X	X	X				0	3
	截止日期	2017 年 4 月 10 日	2017 年 6 月 10 日	2017 年 9 月 10 日					13

[0634] 表26

[0635] Onyx稳定性试验方案表

产品:	赛洛西宾	Onyx 试验编号:	ONYXSTAB0139								
批号:	170231	试验截止开始日期:	2017 年 3 月 31 日								
测试方法:	SS/赛洛西宾/	生产日期:	27FEB2017								
附加信息:	每个容器中要求 2200 mg 的材料。										
包装组分:	300 ml HDPE 容器 (食品级) 中含有双聚乙烯袋装内衬。在两个聚乙烯袋之间插入干燥剂袋。										
<u>测试参数</u>											
<u>常规测试</u>											
[0636]											
	外观										
	通过 HPLC 测定 (以干基计)										
	通过干燥失重得出的含水量										
	通过 HPLC 得出的化学纯度/杂质										
	时间点	1 个月	3 个月	6 个月	9 个月	12 个月	18 个月	24 个月	36 个月	备件	总计
	2°C-8°C	X	X	X	X	X	X	X	X	2	10
	25°C/60% RH	X	X	X	X	X	X	X	X	2	10
	40°C/75% RH	X	X	X						1	4
	截止日期	2017 年 4 月 31 日	2017 年 6 月 30 日	2017 年 9 月 30 日	2017 年 12 月 31 日	2018 年 3 月 31 日	2018 年 9 月 30 日	2019 年 3 月 31 日	2020 年 3 月 31 日		24

[0637] 表27:批次GM764B的一个月稳定性数据

测试	规格限制	T = 0	T = 1 个月	T = 1 个月	T = 1 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C/60% RH	40°C/75% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
<sup>1</sup> H-NMR 测定	仅用于提供信息。	97% w/w	99% w/w	98% w/w	96% w/w
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.86% w/w	0.35% w/w	0.20% w/w	0.14% w/w
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.24%	99.24%	99.22%	99.23%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)	仅用于提供信息。 RRT 0.86 RRT 1.46 RRT 1.59 (光盖伞辛)	0.05% 0.05% 0.37%	0.05% 0.09% 0.35%	0.05% 0.10% 0.34%	0.05% 0.10% 0.34%
	总杂质	0.76%	0.76%	0.78%	0.77%

[0638] 表28:批次GM764B的三个月稳定性数据

[0640]

测试	规格限制	T = 0	T = 3 个月	T = 3 个月	T = 3 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C-60% RH	40°C-75% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
<sup>1</sup> H-NMR 测定	仅用于提供信息。	97% w/w	97% w/w	99% w/w	97% w/w
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.86% w/w	0.26% w/w	0.08% w/w	0.14% w/w
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.24%	99.31%	99.27%	99.26%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)	仅用于提供信息。 RRT 0.86 RRT 1.46 RRT 1.59 (光盖伞辛)	0.05% 0.05% 0.37%	LT 0.05% 0.10% 0.37%	LT 0.05% 0.09% 0.36%	LT 0.05% 0.10% 0.37%
	总杂质	0.76%	0.69%	0.73%	0.74%

[0641]

表29:批次170231的一个月稳定性数据

测试	规格限制	T = 0	T = 1 个月	T = 1 个月	T = 1 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C/60% RH	40°C/75% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.28%	99.20%	99.16%	99.17%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)					
RRT 1.49	仅用于提供信息。	0.06%	0.05%	0.05%	0.06%
RRT 1.62 (光盖伞辛)		0.39%	0.36%	0.37%	0.36%
RRT 1.70		0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.89 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 2.45 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
杂质 LT 0.05%		0.22%	0.39%	0.42%	0.41%
总杂质		0.72%	0.80%	0.84%	0.83%
通过 HPLC 测定 (以干基计)	仅用于提供信息	98.65% w/w	98.76% w/w	97.98% w/w	98.52% w/w
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.32% w/w	0.27% w/w	0.17% w/w	0.19% w/w

[0642]

表30:批次170231的三个月稳定性数据

测试	规格限制	T = 0	T = 3 个月	T = 3 个月	T = 3 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C/60% RH	40°C/75% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.28%	99.30%	99.31%	99.17%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)					
RRT 0.69	仅用于提供信息。	LT 0.05%	0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.49		0.06%	0.05%	0.05%	0.06%
RRT 1.62 (光盖伞辛)		0.39%	0.37%	0.36%	0.39%
RRT 1.70		0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.89 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 2.45 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
杂质 LT 0.05%		0.22%	0.22%	0.27%	0.34%
总杂质		0.72%	0.70%	0.69%	0.79%
通过 HPLC 测定 (以干基计)	仅用于提供信息	98.65% w/w	98.45% w/w	99.46% w/w	98.64% w/w
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.32% w/w	0.17% w/w	0.01% w/w	0.19% w/w

[0643]

表31:批次170231的六个月稳定性数据

测试	规格限制	T = 0	T = 6 个月	T = 6 个月	T = 6 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C-60% RH	40°C-75% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.28%	99.20%	99.19%	99.12%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)					
RRT0.69	仅用于提供信息。	LT 0.05%	0.06%	0.06%	0.06%
RRT 1.49		0.06%	0.07%	0.07%	0.08%
RRT 1.62 (光盖伞辛)		0.39%	0.35%	0.34%	0.38%
RRT 1.70		0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.89 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 2.45 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
杂质 LT 0.05%		0.22%	0.32%	0.34%	0.36%
总杂质		0.72%	0.80%	0.81%	0.88%
通过 HPLC 测定 (以干基计)	仅用于提供信息	98.65% <sup>w/w</sup>	97.97% <sup>w/w</sup>	98.04% <sup>w/w</sup>	100.10% <sup>w/w</sup>
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.32% <sup>w/w</sup>	0.06% <sup>w/w</sup>	0.32% <sup>w/w</sup>	2.26% <sup>w/w</sup>

[0646] 表32:批次170231的九个月稳定性数据

测试	规格限制	T = 0	T = 9 个月	T = 9 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C-60% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.28%	99.16%	99.16%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)				
RRT0.69	仅用于提供信息。	LT0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.49		0.06%	0.07%	0.05%
RRT 1.62 (光盖伞辛)		0.39%	0.06%	0.06%
RRT 1.70		0.05%	0.37%	0.37%
RRT 1.89 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 2.45 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
杂质 LT 0.05%		0.22%	LT 0.05%	LT 0.05%
总杂质		0.72%	0.34%	0.35%
通过 HPLC 测定 (以干基计)	仅用于提供信息	98.65% <sup>w/w</sup>	97.53% <sup>w/w</sup>	98.12% <sup>w/w</sup>
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.32% <sup>w/w</sup>	0.21% <sup>w/w</sup>	0.10% <sup>w/w</sup>

[0649] 表33:批次170231的十二个月稳定性数据

测试	规格限制	T = 0	T = 12 个月	T = 12 个月
条件	N/A	N/A	2°C-8°C	25°C/60% RH
外观	仅用于提供信息。	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染	灰白色固体。无可见污染
通过 HPLC 得出的化学纯度	仅用于提供信息。	99.28%	99.25%	99.25%
通过 HPLC 得出的杂质: (引用所有 GT 0.05%)				
RRT0.69	仅用于提供信息。	LT0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.49		0.06%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.62 (光盖金辛)		0.39%	0.37%	0.37%
RRT 1.70		0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
RRT 1.89 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	ND
RRT 2.45 处的杂质		LT 0.05%	LT 0.05%	LT 0.05%
杂质 LT 0.05%		0.22%	0.38%	0.38%
总杂质		0.72%	0.75%	0.75%
通过 HPLC 测定 (以干基计)	仅用于提供信息	98.65% <sup>w/w</sup>	99.63% <sup>w/w</sup>	98.97% <sup>w/w</sup>
通过干燥失重得出的含水量	仅用于提供信息。	0.32% <sup>w/w</sup>	0.49% <sup>w/w</sup>	0.61% <sup>w/w</sup>

[0651] 在ICH稳定性研究的前12个月内,已经证明赛洛西宾在低温(2°C-8°C)、环境条件(25°C/60% RH)和加速(40°C/75% RH)条件下是化学上稳定的。外观没有变化,并且HPLC分析也保持一致。由于研究中使用的干燥剂袋的初始影响和随后的老化,所有样品中的含水量都发生了变化。

[0652] 实施例9-形成水合物A的实验

[0653] 将赛洛西宾(200mg)加载到结晶管中,然后加载去离子水(4ml)。在通过真空过滤分离固体之前,将混合物在25°C下平衡2小时。将材料分成两个相等的部分。一部分不经受进一步干燥,以给出水合物A的批次GK2,通过XRPD和DSC检测(衍射图和热谱图分别与图7d和图8d一致)。

[0654] 实施例10-形成多晶型物B的实验

[0655] 将赛洛西宾多晶型物A(250mg)加载到圆底烧瓶中,使用油浴加热至173°C,并且在所述温度下保持5分钟。将固体冷却至环境温度并且分离,以给出回收率为93%的批次GK3。通过XRPD和DSC的分析揭示,批次GK3为多晶型物B(衍射图和热谱图分别与图7c和图8c一致)。

[0656] 实施例11-固体状态研究

[0657] 完成了许多多态性研究。发现的固体形式的总结示于图17。发现的大多数形式均衍生自溶剂扰动;在一些情况下,分离化学计量的溶剂化物,并且在其他情况下,分离非化学计量的溶剂化物。

[0658] 多晶型物A的浆液

[0659] 进行溶剂介导的赛洛西宾图案A(Psilocybin Pattern A)的平衡,作为进入固体形式修饰的主要途径,并以在25°C与50°C之间在24种溶剂的范围内直观评估材料的溶解度。

[0660] 在室温下将赛洛西宾图案A(40mg)加入管中,并且以0.4ml(10体积)的等分试样添加如表34中所列的溶剂,至1.2ml(30体积)的总体积,并且记录观察结果。不断搅动混合物。

如下进行热循环:50℃持续18小时、经2小时冷却至20℃、成熟4小时、加热至50℃持续4小时、经2小时冷却至20℃、成熟18小时。经24小时进行重复的50℃-20℃循环,并且应用以下操作:

- [0661] 加热至50℃后分离,其中固体足够=A系列
- [0662] 冷却至20℃后分离,其中固体足够=B系列
- [0663] 将所有分离的固体在50℃下在真空中干燥24小时,并且通过XRPD分析。观察结果提供于表34中。
- [0664] API在50℃下在以30体积测试的溶剂和溶剂混合物中大部分不溶,从而导致重悬浮液。在50℃下,水确实溶解了赛洛西宾。
- [0665] 表34-针对热循环浆液成熟和使用图案A共混物作为输入的观察结果列表

条目	溶剂	观察结果 20℃, 0.4 ml	观察结果 20℃, 0.8 ml	观察结果 20℃, 1.2 ml	观察结 果50℃	XRPD A系列	XRPD B系列
[0666]	1 环己烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	2 氯苯	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	3 2-氯丁烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	4 三氟甲苯	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	5 苯香醚	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	6 硝基甲烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	C	C
	7 CPME	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	8 庚烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	9 TBME	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	C	A
	10 MIBK	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
[0667]	11 MEK	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	12 iPrOAc	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	C	C
	13 EtOAc	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	14 甲苯	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	15 THF	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	16 CHCl <sub>3</sub>	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	17 MeOH	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	D	D
	18 EtOH	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	E	E
	19 IPA	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	F	F
	20 MeCN	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	C	A
	21 水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	溶液	n/a	A
	22 4:1 EtOH/水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	A
	23 4:1 THF/水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	水合物 A
	24 4:1 IPA/水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	悬浮液	A	C

- [0668] 结果:
- [0669] 在图(图18和图19)中,“25C”表示在25℃下分离固体,以及“50C”表示在50℃下分离固体。例如,GM832-20\_50\_A9代表在50℃下分离的GM832条目20(MeCN)。
- [0670] 50℃浆液
- [0671] 条目1、2、3、4、5、7、8、10、11、13、14、15、16、22、23、24:XRPD衍射图与多晶型物A的

XRPD衍射图大致一致,但是在 $18^{\circ}2\theta$ 下具有不同强度的另外的峰。

[0672] 条目6、9、12、20:分离的固体所获得的XRPD衍射图大致一致(参见图18),对于相同样品观察到在 $10^{\circ}2\theta$ 和 $13.2^{\circ}2\theta$ 下具有另外的峰。此XRPD衍射图称为图案C。溶剂( $\text{CH}_3\text{NO}_2$ 、 $\text{TBME}$ 、 $\text{iPrOAc}$ 和 $\text{CH}_3\text{CN}$ )之间无化学型相关性。

[0673] 条目17:获得的XRPD衍射图具有多个衍射峰(图19)。XRPD衍射图称为图案D。

[0674] 条目18:获得的XRPD衍射图具有多个衍射峰(图19)。XRPD衍射图称为图案E。

[0675] 条目19:获得的XRPD衍射图具有多个衍射峰(图19)。XRPD衍射图称为图案F。

[0676]  $25^{\circ}\text{C}$ 浆液:

[0677] 条目1、2、3、4、5、7、8、9、10、11、13、14、15、16、20、21、22:XRPD衍射图均与多晶型物A所获得的XRPD衍射图相似。

[0678] 条目6、12、24:分离的固体所获得的XRPD衍射图与图案C大致一致(参见图18)。

[0679] 条目23:XRPD分析示出形成了水合物A。

[0680] 条目17:获得的XRPD衍射图具有多个衍射峰(图19)。XRPD衍射图称为图案D。

[0681] 条目18:获得的XRPD衍射图具有多个衍射峰(图19)。XRPD衍射图称为图案E。

[0682] 条目19:获得的XRPD衍射图具有多个衍射峰(图19)。XRPD衍射图称为图案F。

[0683] 结果分析:

[0684] 在 $25^{\circ}\text{C}$ 下分离的固体的XRPD衍射图与在 $50^{\circ}\text{C}$ 下分离的固体所获得的XRPD衍射图大致相同。

[0685] 图案D、E和F衍生自醇( $\text{MeOH}$ 、 $\text{EtOH}$ 和 $\text{IPA}$ )。考虑到在开发期间先前分离的乙醇溶剂化物,假定了溶剂化状态。乙醇溶剂化物的XRPD衍射图不相同,然而考虑到确切的溶剂水平变化可能会在晶格内传递不同的顺序状态,因此这些XRPD衍射图之间的比较提供了强有力的假设,即这些更显著的相变化是由溶剂夹带引起的。

[0686] XRPD图案D、E和F(图19)与水合物的XRPD衍射图(图7d)都不相同。

[0687] 获得的在两种温度下分离的由 $\text{MeOH}$ 、 $\text{EtOH}$ 和 $\text{IPA}$ 衍生的固体的XRPD衍射图(图案D、E和F-图19)的直接比较示出了一致的衍射图;两种 $\text{MeOH}$ 衍射图相似,而 $\text{EtOH}$ 和 $\text{IPA}$ 是直接可比较的。

[0688] 对分离的固体进行DSC分析,并且在可获得足够样品的情况下,进行TGA分析。产生图案D、E和F的固体均以在约 $170^{\circ}\text{C}$ - $180^{\circ}\text{C}$ 下吸热为特征,但是其他方面表现出不同的热特性。 $\text{MeOH}$ 浆液分离的固体的TGA分析示出了一种从约 $25^{\circ}\text{C}$ - $190^{\circ}\text{C}$ 的延长的质量损失(3.1%)。化学计量的甲醇溶剂化物需要10.3%重量的溶剂。 $\text{EtOH}$ 浆液分离的固体的TGA分析示出了两个不同的质量损失步骤。发生在 $100^{\circ}\text{C}$ 之前的第一次质量损失(0.3%重量)被认为是由于水,第二次较大的损失(11.5%重量)是由于溶剂。化学计量的乙醇溶剂化物需要13.9%重量的溶剂。 $\text{IPA}$ 浆液分离的固体的TGA分析以两个不同的质量损失步骤为特征。发生在 $100^{\circ}\text{C}$ 之前的第一次质量损失(0.4%重量)被认为是由于水,而第二次较大的质量损失(13.9%重量)被认为是由于残余溶剂。化学计量的 $\text{IPA}$ 溶剂化物需要17.5%重量的溶剂。

[0689] 无定型物赛洛西宾的浆液

[0690] 为了产生无定型材料,将少量的赛洛西宾样品(0.5g)在水(0.5L,1000体积)中溶解,精过滤并且冻干。回收作为灰白色纤维状物质的赛洛西宾(批号MC1368A;412mg,82%,XRPD无定型物)。

[0691] 为了评估无定型物API的视觉溶解度并且为了诱导形式修饰,进行了以下一系列浆液成熟:

[0692] 将赛洛西宾(15mg)加载到管中。然后在环境温度(20°C, 0.3ml, 20体积)下添加溶剂并且搅动悬浮液。进行观察。搅拌1小时后,将样品加热至45°C持续18小时,并且进行观察。将样品加热至50°C持续8小时,并且进行观察。在分离前,将样品在25°C下搅动72小时,并且使其经受最终热循环。观察结果示于表35。

[0693] 表35-在热循环浆液成熟期间无定型物赛洛西宾和形式命运的观察结果

条目	溶剂	20°C下的观察结果	45°C下的观察结果	50°C下的观察结果	XRPD数据
A	环己烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
B	氯苯	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
C	氯丁烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	图案B
D	三氟甲苯	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
E	茴香醚	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
F	硝基甲烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	图案B
G	CPME	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
H	庚烷	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
I	TBME	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
J	MIBK	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
K	MEK	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
L	iPrOAc	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
M	EtOAc	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
N	甲苯	悬浮液	悬浮液	悬浮液	与溶剂化物A相似
O	THF	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶
P	氯仿	悬浮液	悬浮液	悬浮液	与图案E相似
R	MeOH	悬浮液	悬浮液	悬浮液	半结晶

[0694]

S	EtOH	悬浮液	悬浮液	悬浮液	图案D
T	IPA	悬浮液	悬浮液	悬浮液	图案B
U	乙腈	悬浮液	悬浮液	悬浮液	无定型物
V	水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	与图案A相似
W	4:1 EtOH/水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	与图案D相似
X	4:1 THF/水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	与图案A相似
Y	4:1 IPA/水	悬浮液	悬浮液	悬浮液	与图案A相似

[0695]

[0696] 结果

[0697] 大多数溶剂回收被认为是半结晶(主要是无定型物,在约18°2θ处具有明显的反射)的固体。

[0698] 从在MeCN中的平衡中回收完全无定型物。

[0699] 从氯丁烷、硝基甲烷和IPA回收多晶型物B(图20和22)。

[0700] 从EtOH平衡中回收以上讨论的多晶型物A浆液实验中从MeOH中分离的图案D,而此研究中的MeOH回收半结晶固体。

[0701] 从水、THF:水和IPA:水(4:1)中回收与图案A相似的固体。

[0702] 从EtOH:水(4:1)中回收与图案D相似的固体,这支持了仅从EtOH中分离图案D的发现。

[0703] 从氯仿中回收与图案E相似的固体。

[0704] 经过长时间的平衡和无定型赛洛西宾的热成熟后,从所研究的溶剂中均未分离出真正的多晶型物A或A'。

[0705] 实施例12-配制品开发。

[0706] 使用如下表36中所示的配制品进行了初始的一系列实验。目的是鉴定用于大规模配制的合适的单一填充剂或组合填充剂。

[0707] 表36

材料名称	批号 (% w/w)		
	APL-117-6085-01	APL-117-6085-02	APL-117-6085-03
赛洛西宾	1.0	1.0	1.0
微晶纤维素Ph 102	91.5	49.5	81.5
预糊化淀粉 (淀粉 1500)	-	45.0	-
Compact Cel MAB	-	-	10
羟丙基纤维素 (Klucel EXF)	3.0	3.0	3.0
羧基乙酸淀粉钠	3.0	3.0	3.0
胶体二氧化硅	0.5	0.5	0.5
硬脂酸镁 (植物衍生的)	1.0	1.0	1.0
硬脂酰富马酸钠	-	-	-
总计	100.0	100.0	100.0

[0710] 在关键物理化学特性-物质流、共混均匀度和含量均匀度方面的结果在下表37中示出:

[0711] 表37:

批号	强度 (mg)	物料流 (卡尔指数)	共混均匀度	含量均匀度
[0712]	APL-117-6085-01	1.0	19.1 顶部 = 127.9 中间 = 106.4 底部 = 104.5 平均值 = 11 2.9 % RSD = 10. 9	% 标签要求 = 92.4 AV = 7.9
	APL-117-6085-02	1.0	19.1 顶部 = 115.9 中间 = 106.6 底部 = 106.1 平均值 = 10 9.6 % RSD = 4.9	% 标签要求 = 95.2 AV = 5.9
	APL-117-6085-03	1.0	22.4 顶部 = 105.0 中间 = 101.4 底部 = 98.7 平均值 = 101. 7 % RSD = 3.8	% 标签要求 = 96.3 AV = 4.6

[0713] 同时批次 (APL-117-6085-03) 在所分析的不同样品 (顶部、中间和底部) 中示出了良好的共混均匀度和非常良好的含量均匀度, 其流动特性 (基于卡尔指数) 趋于高端, 并且预测配制品不能容纳更高的药物负荷。

[0714] 出于这一原因, 尝试了多种可替代的配制品。目的是考虑其他填充剂组合, 以改善粉末流动以及实现良好的共混均匀度和含量均匀度。

[0715] 与批次3 (APL-117-6085-03) 相比, 还试验了含有较少的Compactcel MAB和较多量的助流剂的配制品

[0716] 这些另外的配制品在下表38中示出。

[0717] 表38:

材料名称	批号 (% w/w)		
	APL-117-6085-05	APL-117-6085-06	APL-117-6085-07
赛洛西宾	1.0	1.0	5.0
微晶纤维素Ph 102	-	89.0	85.0
预糊化淀粉 (淀粉1500)	45.0	-	-
Compact Cel MAB	-	5.0	5.0
微晶纤维素 CEOLUS UF 702	49.5	-	-
羧基乙酸淀粉钠	3.0	3.0	3.0
胶体二氧化硅	0.5	1.0	1.0
硬脂酰富马酸钠	1.0	1.0	1.0
总计	100.0	100.0	100.0

[0719] 这些批次的结果示于下表39中:

[0720] 表39:

批号	强度 (mg)	物料流 (卡尔指数)	共混均匀度	含量均匀度
[0721]	APL-117-6085-05	1.0	20.9 顶部 = 130.0 中间 = 105.4 底部 = 107.2 平均值 = 114.2 % RSD = 12.6%	% 标签要求 = 88.3 AV = 16.5
	APL-117-6085-06	1.0	20.0 顶部 = 107.0 中间 = 96.2 底部 = 95.5 平均值 = 99.6 % RSD = 6.5	% 标签要求 = 96.2 AV = 10.5
	APL-117-6085-07	5.0	24.3 顶部 = 91.5 中间 = 94.2 底部 = 94.8 平均值 = 93.5 % RSD = 7.0	% 标签要求 = 96.0 AV = 11.9

[0722] APL-117-6085-05不能获得良好的共混均匀度,并且无法达到含量均匀度标准。

[0723] APL-117-6085-06和APL-117-6085-07二者均展示出改善的粉末流动,但是两种配制品的共混均匀度比APL-117-6085-03的差。

[0724] 因此,申请人研究了改良的赋形剂,并且更具体地是具有不同粒度的硅化的填充剂。这些配制品在下表40中示出:

[0725] 表40:

材料名称	批号 (% w/w)	
	APL-117-6085-11	APL-117-6085-12
赛洛西宾	5.0	1.0
Prosolv 50	10.5	15.5
Prosolv 90	80.0	79.0
羧基乙酸淀粉钠	3.0	3.0
胶体二氧化硅	0.5	0.5
硬脂酰富马酸钠	1.0	1.0
总计	100.0	100.0

[0727] Prosolv是硅化的微晶纤维素,并且选择两种变体以确定粒度是否影响结果。与标准的微晶纤维素(典型的尺寸范围(根据筛分)是80-350微米)相比,所述Prosolv具有更细的粒度分布,给出了增加的表面积。假设增加的表面积可以为配制品提供优异的流动性和增加的紧凑性,以及改善的含量均匀度和稳定性。Prosolv 50和Prosolv 90的比率可以产生跨较细和较粗的颗粒的粒度分布。

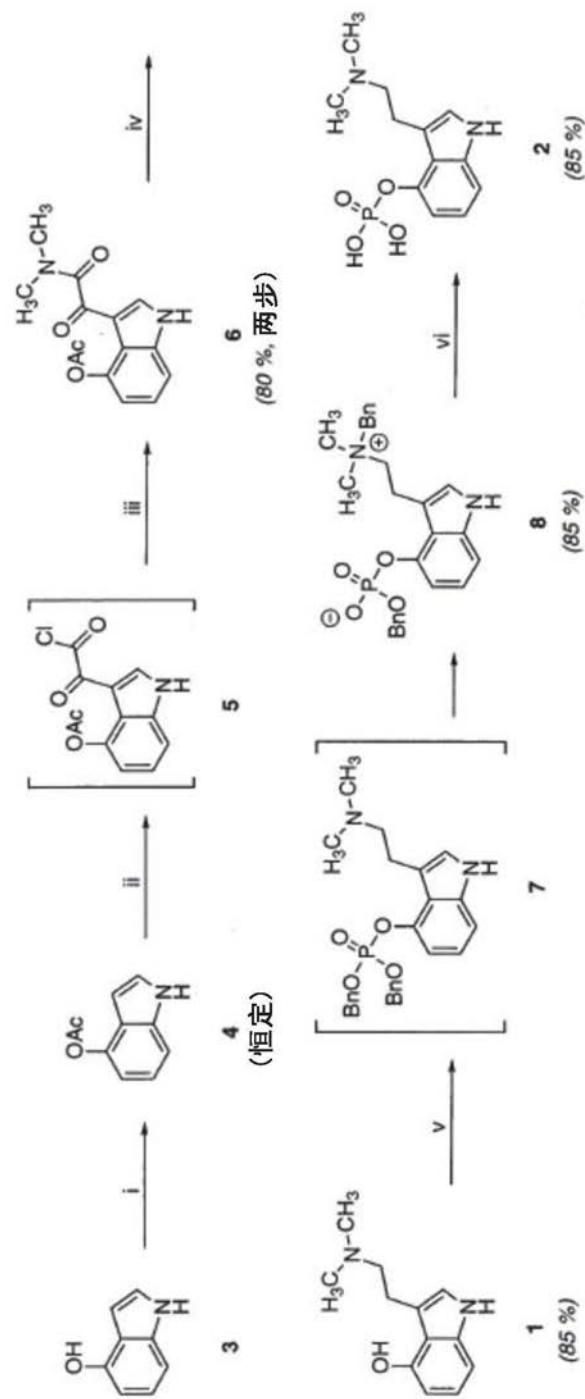
[0728] 结果在下表41中示出

[0729] 表41：

[0730]

批号	强度 (mg)	物料流 (卡尔指数)	共混均匀度	含量均匀度
APL-117-6085-11	5.0	24.3	顶部 = 103.4 中间 = 100.4 底部 = 100.2 平均值 = 101.5 % RSD = 2.0	% 标签要求 = 94.1 AV = 6.0
APL-117-6085-12	1.0	21.1	顶部 = 101.9 中间 = 98.4 底部 = 99.9 平均值 = 100.1 % RSD = 3.8%	% 标签要求 = 100.5 AV = 5.8

[0731] 可见,含量均匀度(大于90%,并且实际上大于94%)和AV(小于10,并且实际上小于7)的关键参数以及共混均匀度(大于95%,允许误差)的一致性都很优异。



<sup>a</sup> 试剂和条件: (i)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , 吡啶,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ 至室温; (ii)  $(\text{COCl})_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ , 正己烷, 然后  $-20^\circ\text{C}$ ; (iii)  $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$ ,  $\text{THF}$ ; (iv)  $\text{LiAlH}_4$ ,  $\text{THF}$ ,  $\Delta$ ; (v)  $[(\text{BnO})_2\text{P}(\text{O})_2\text{Cl}]_2$ ,  $n\text{-BuLi}$ ,  $\text{THF}$ ,  $-78^\circ\text{C}$ 至 $0^\circ\text{C}$ ; (vi)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{MeOH}$ , 室温;

图1

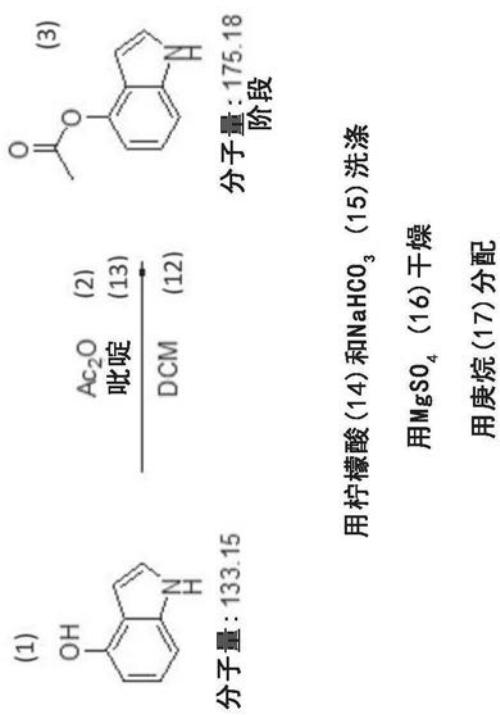


图2

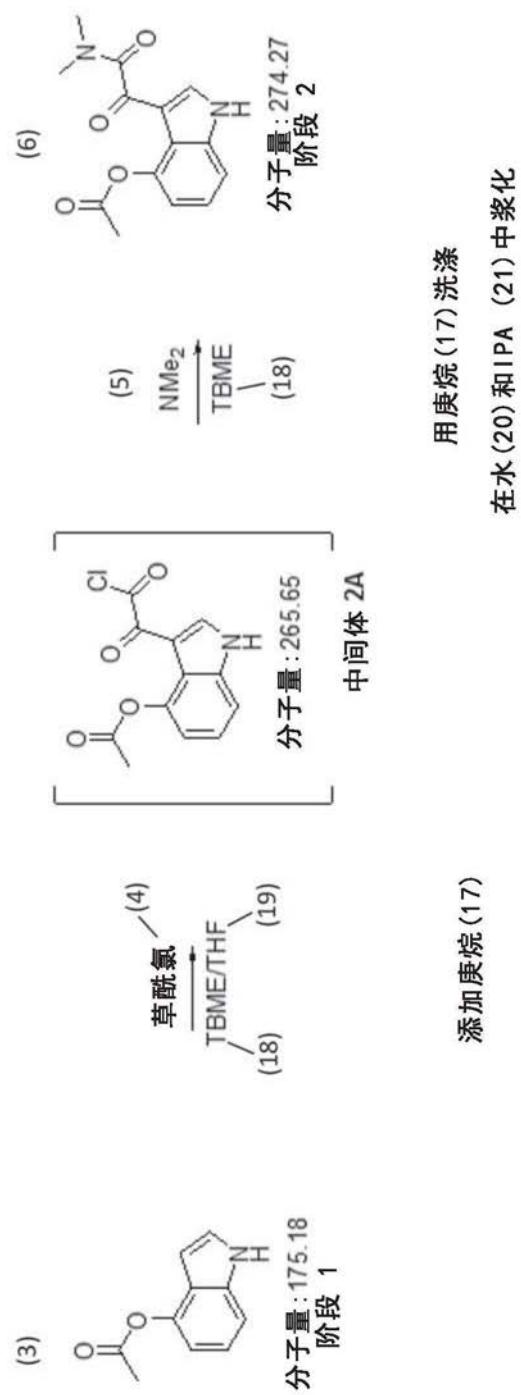


图3

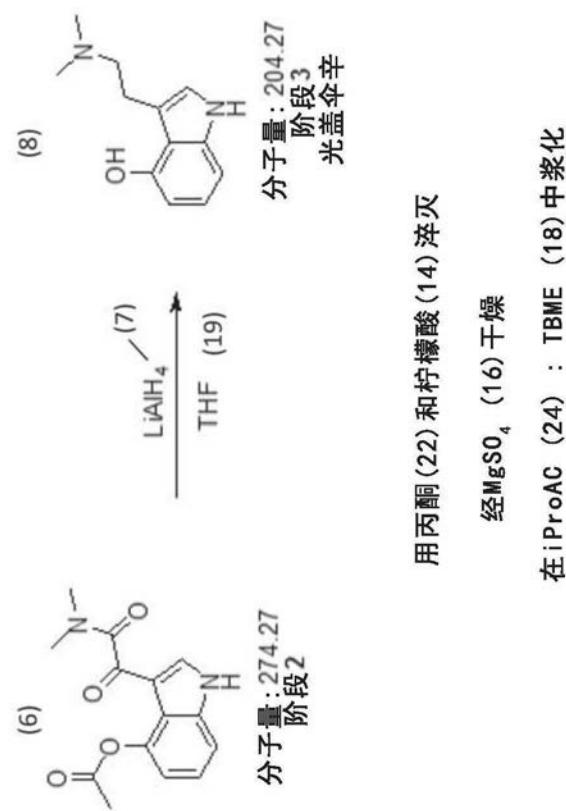


图4

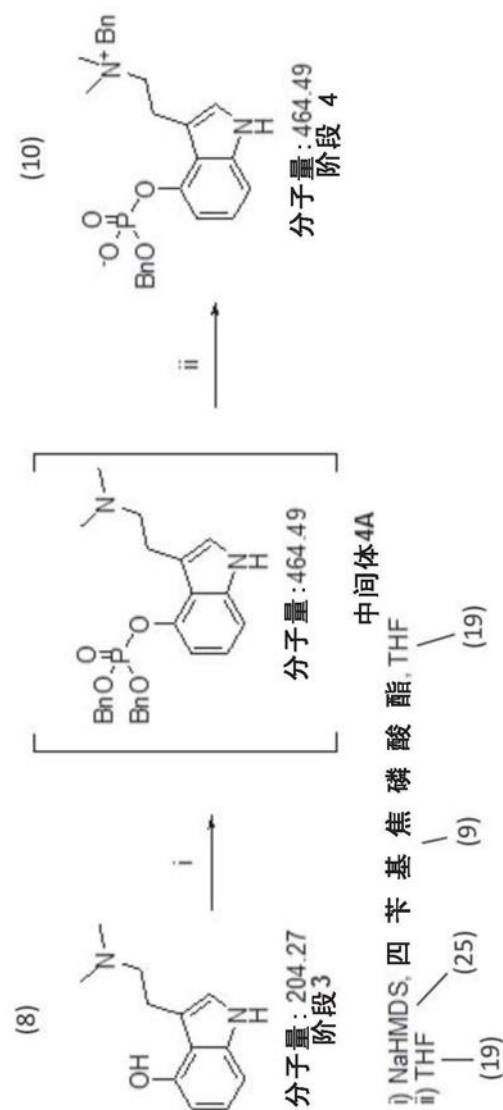


图5

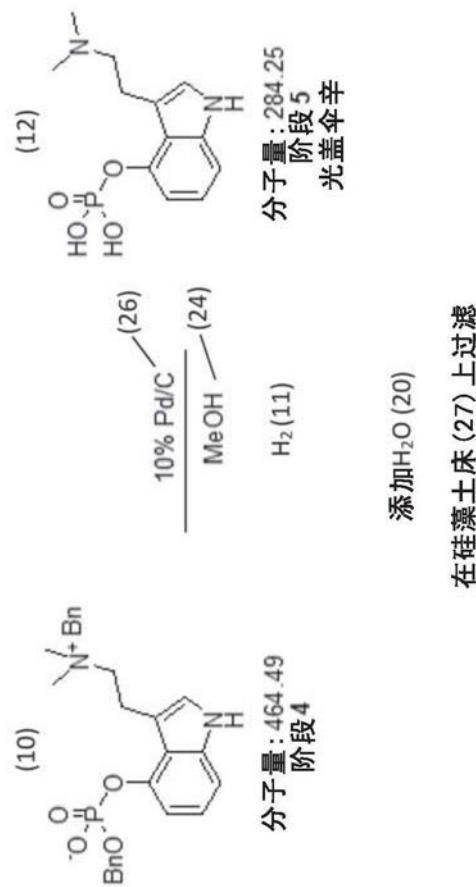


图6

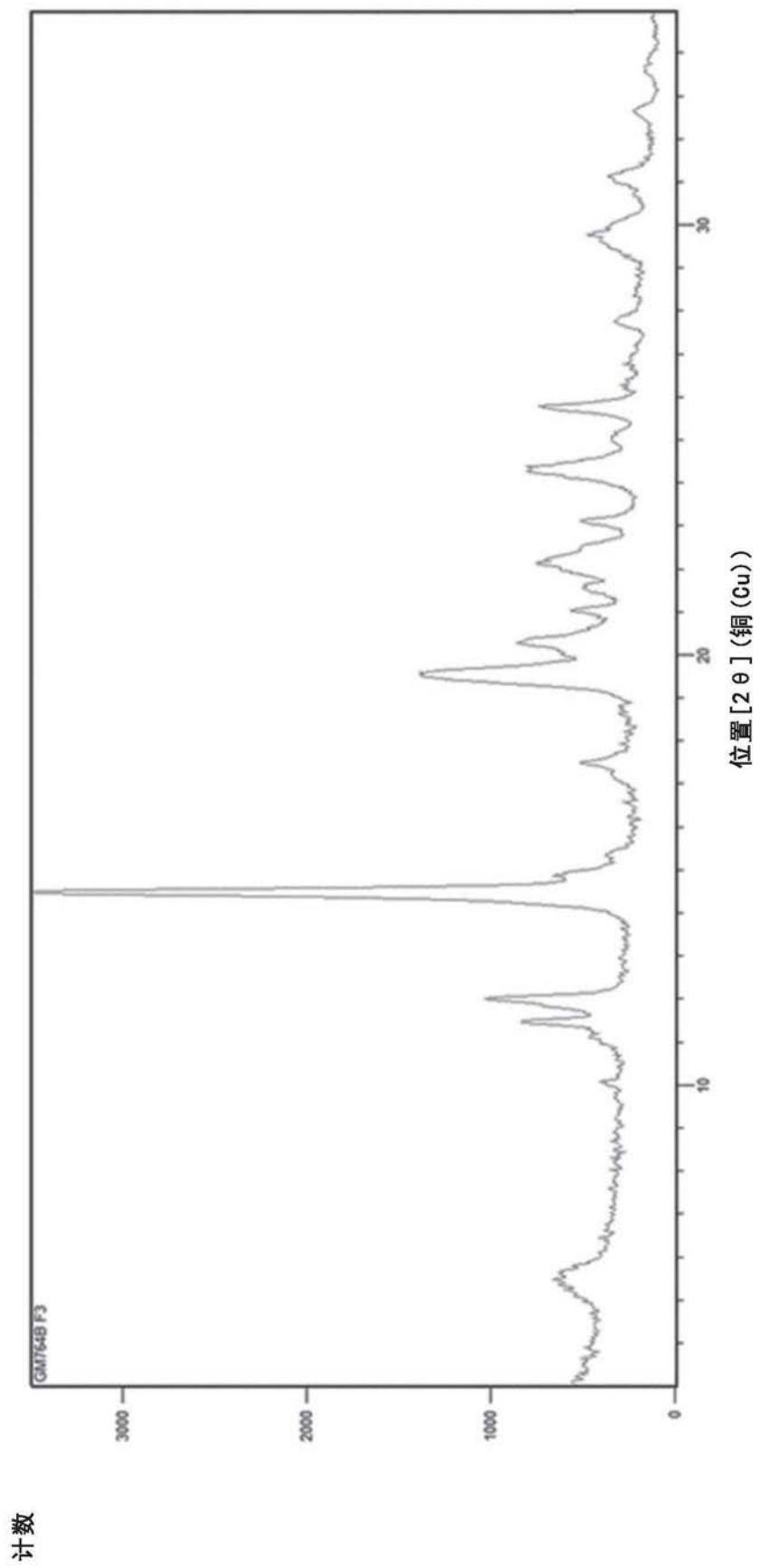


图7A

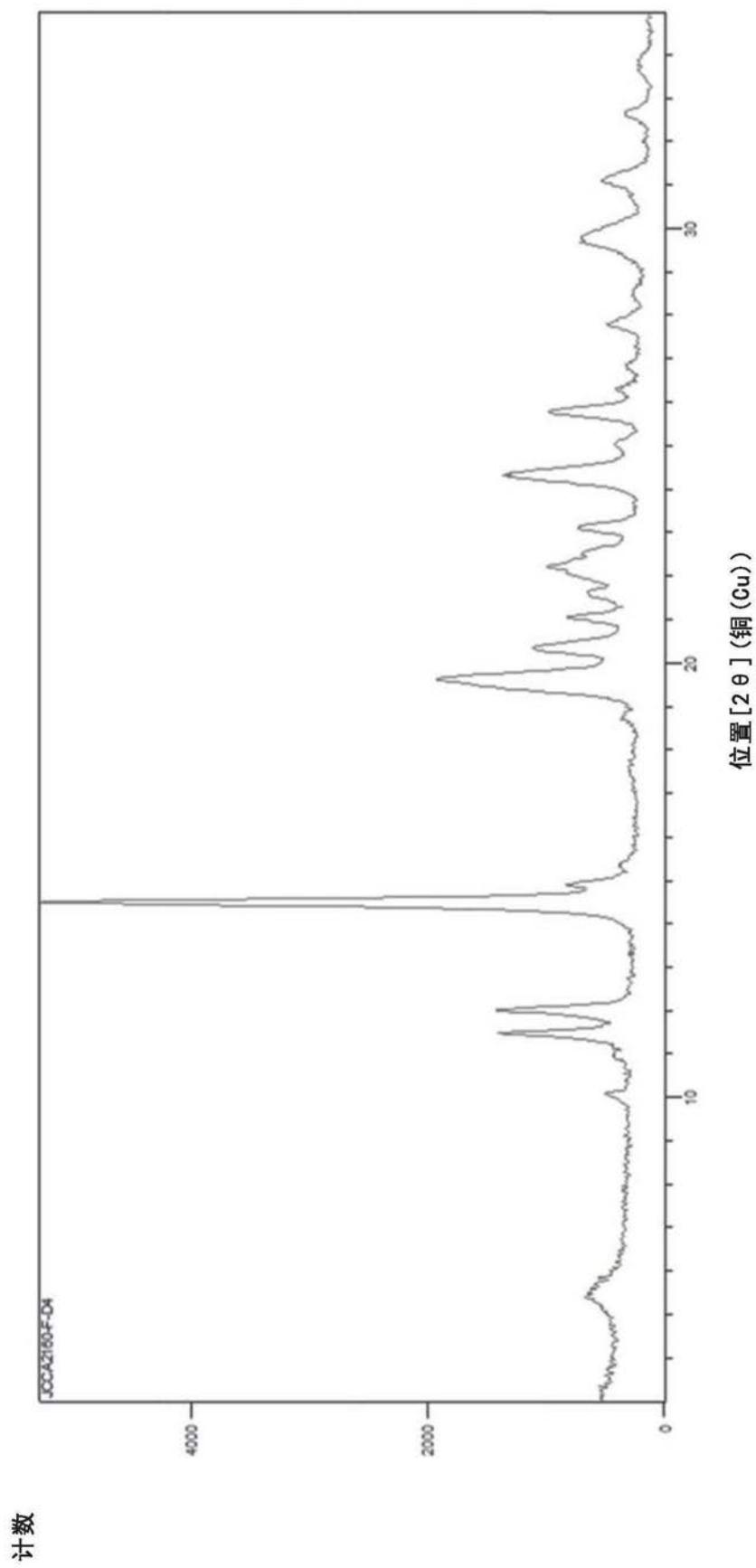


图7B

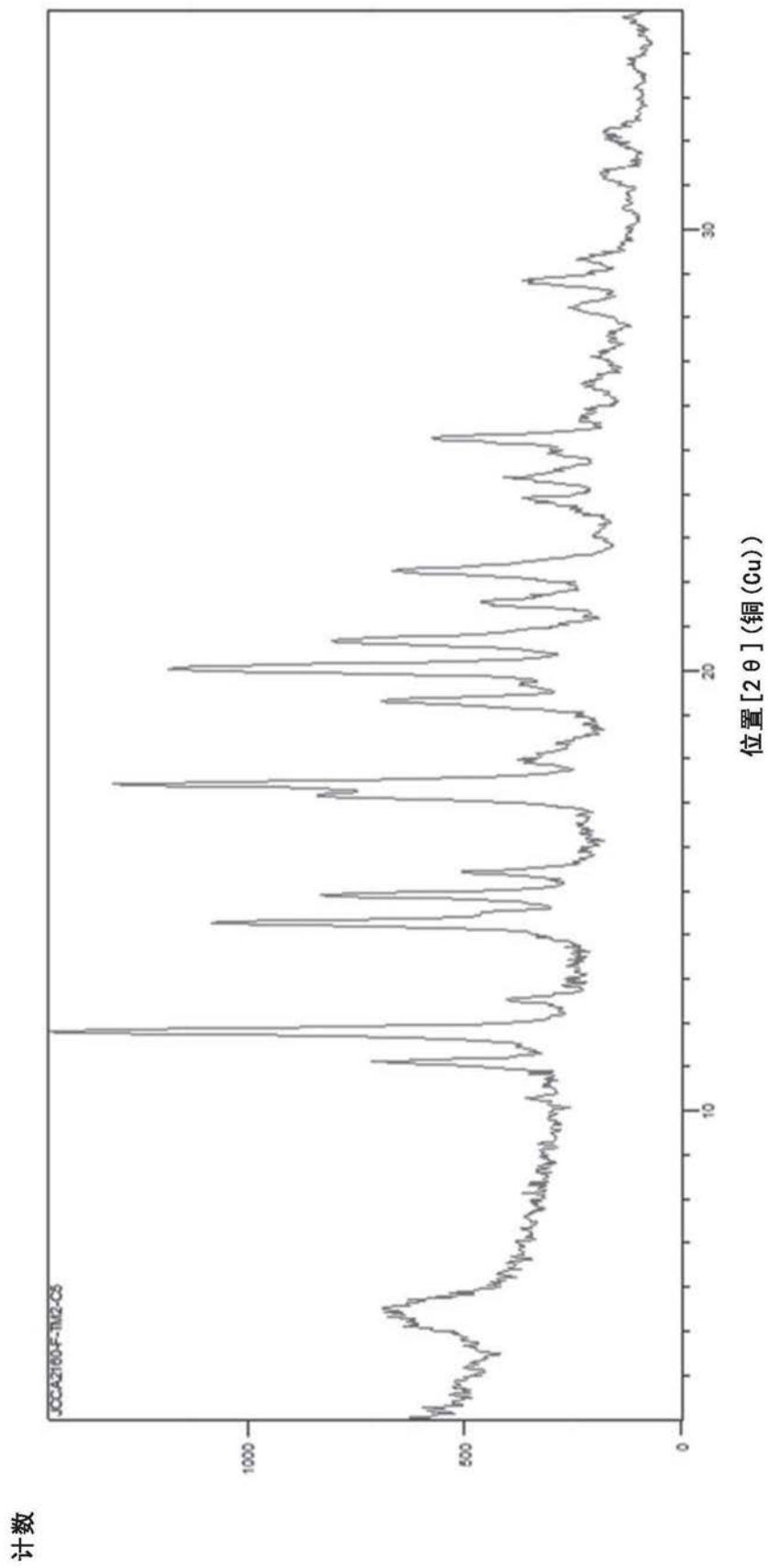


图7C

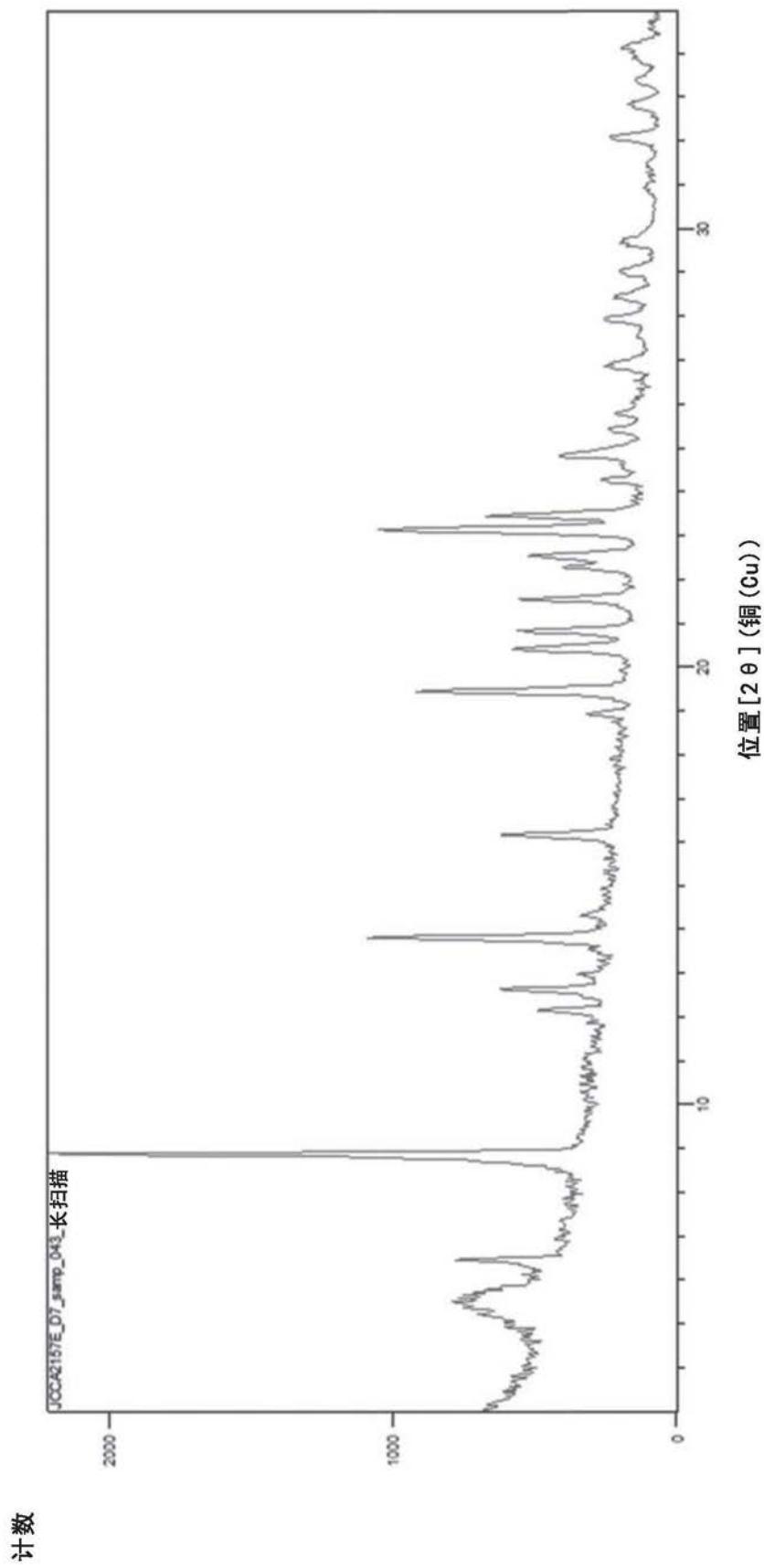


图7D

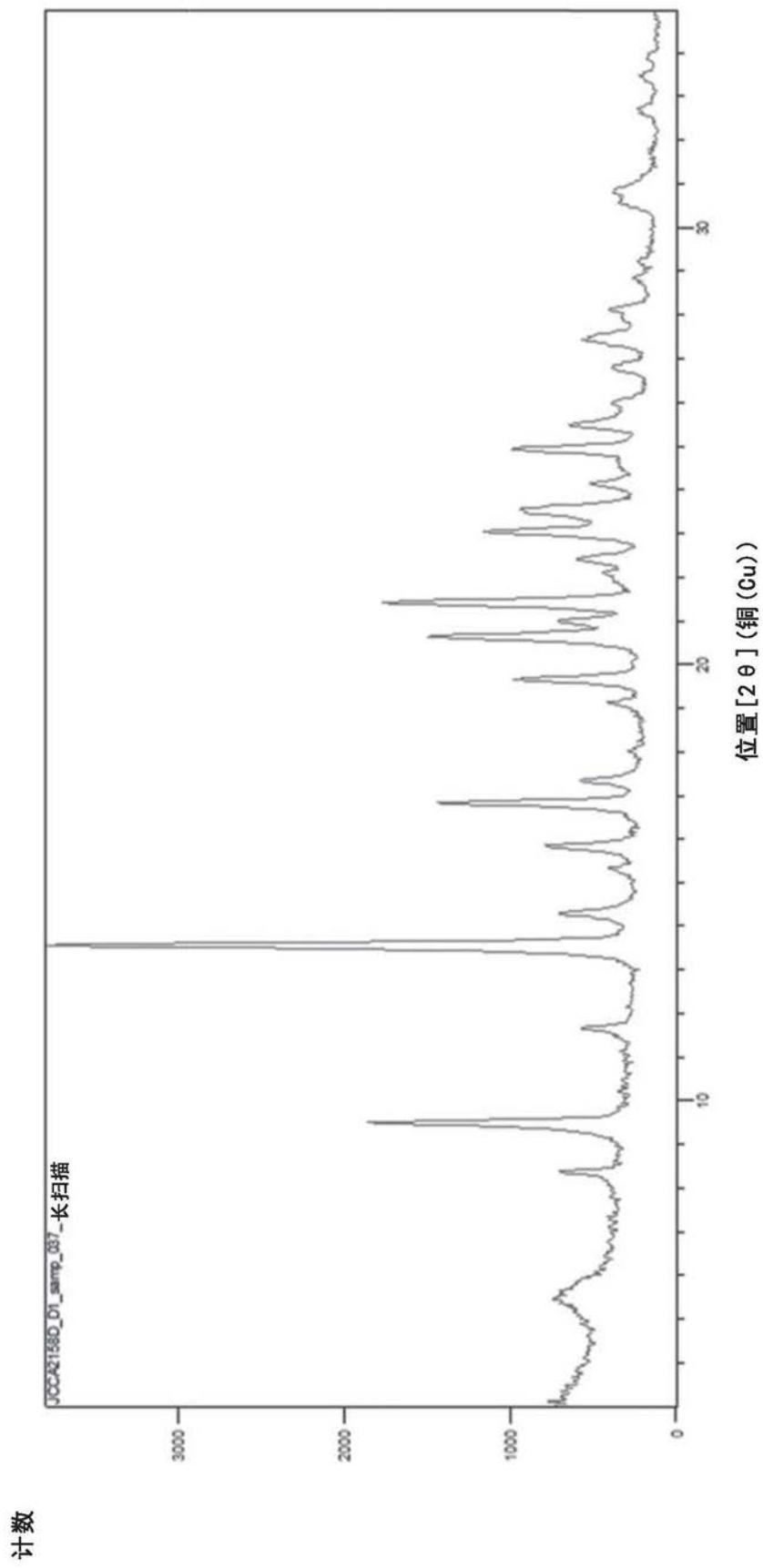


图7E

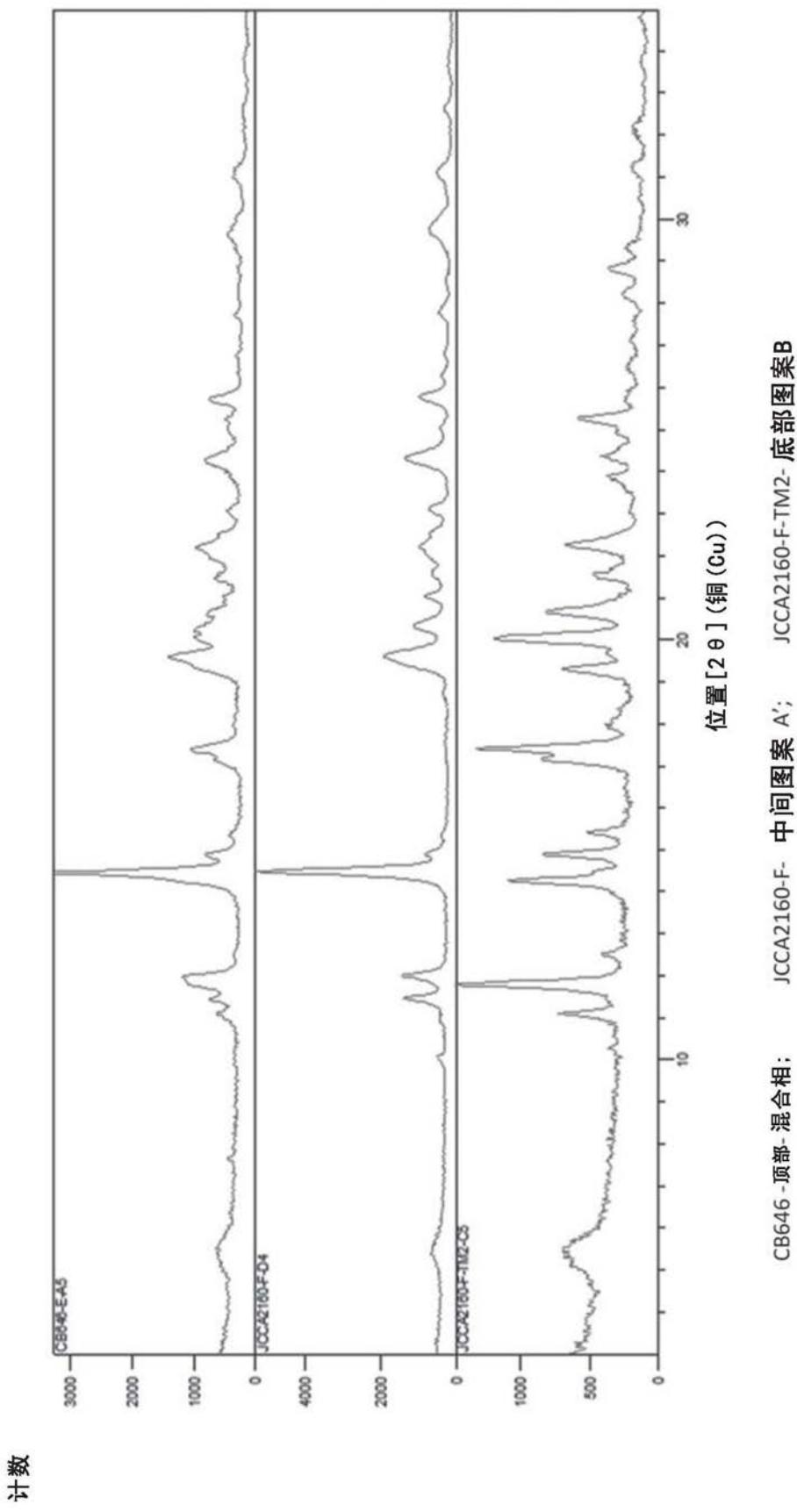
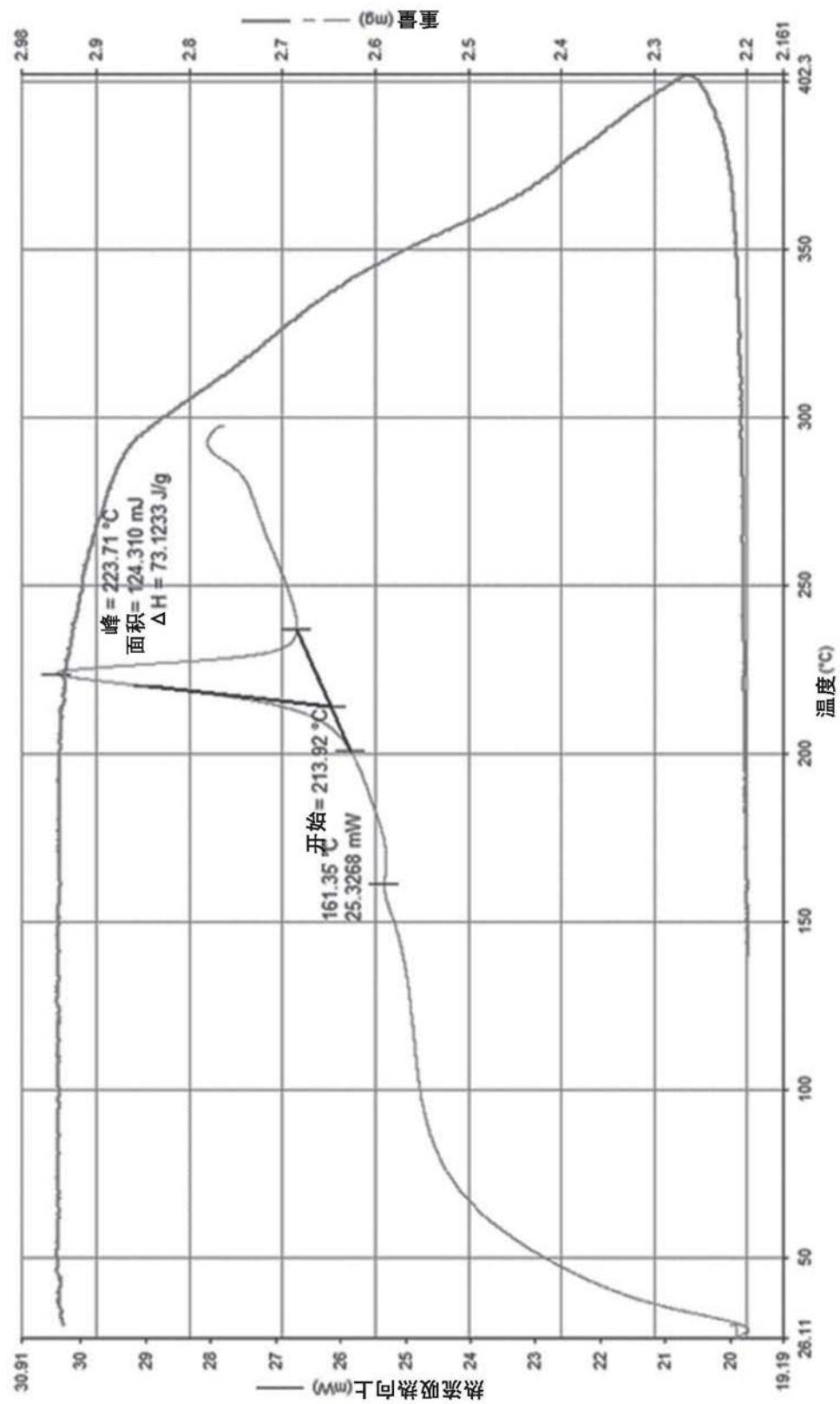
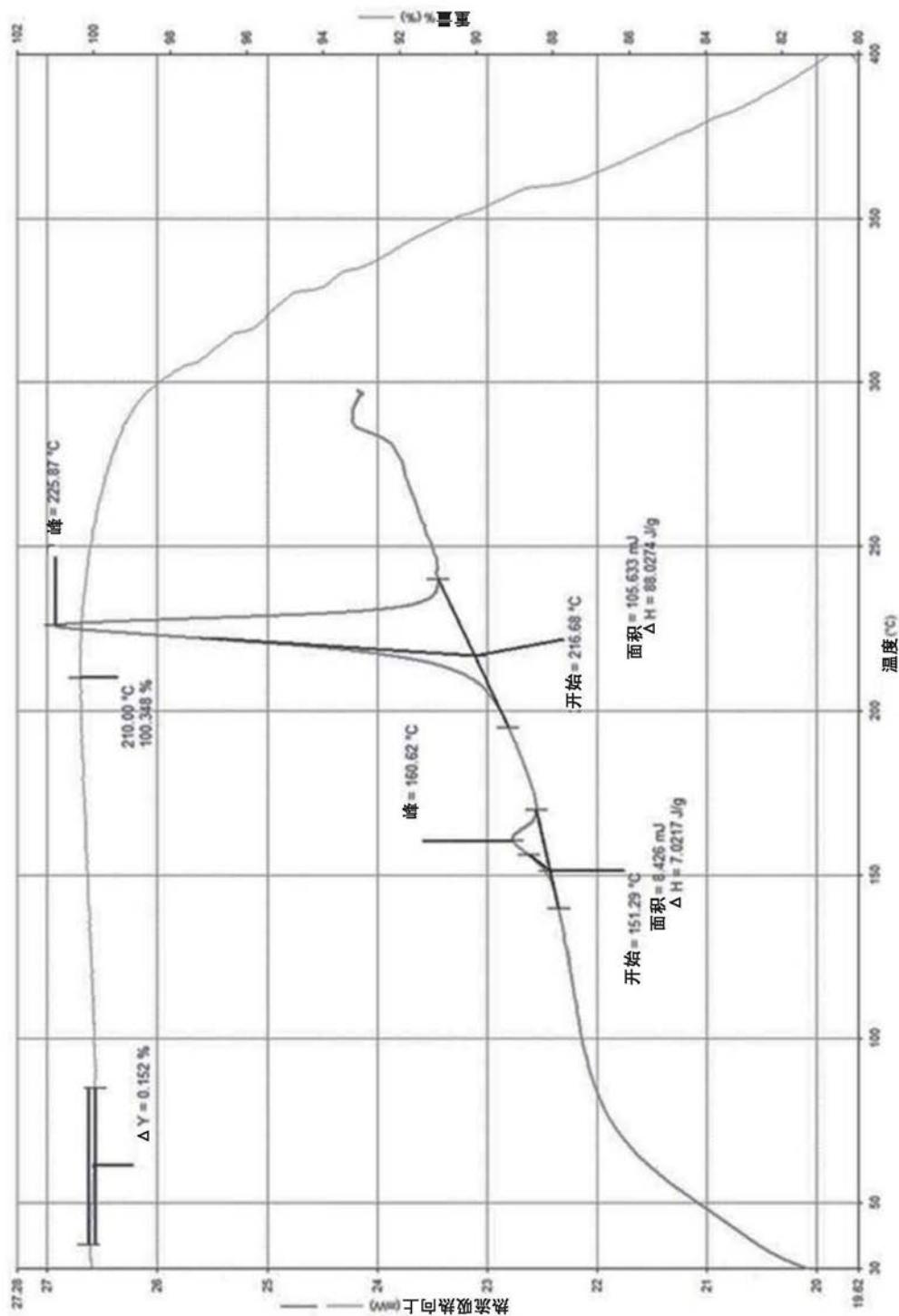


图7F





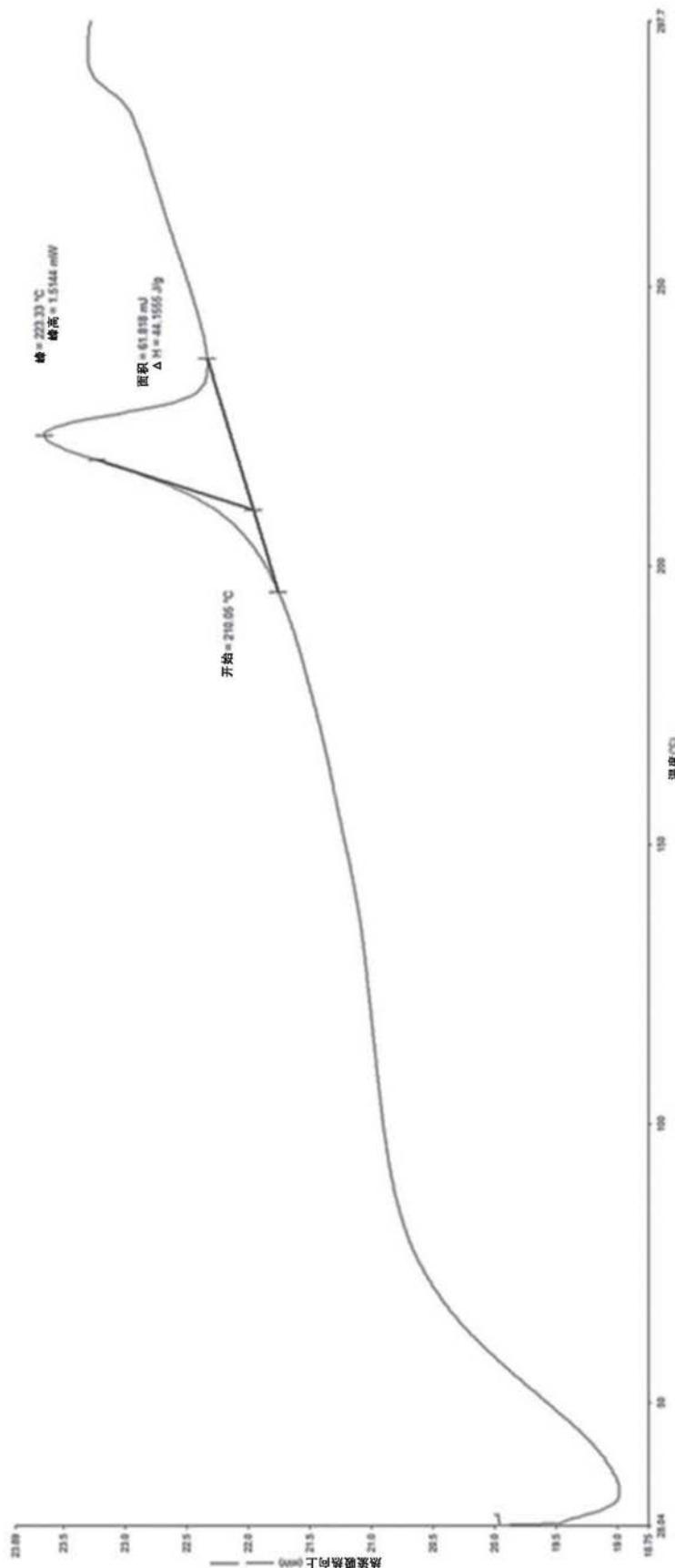


图8C

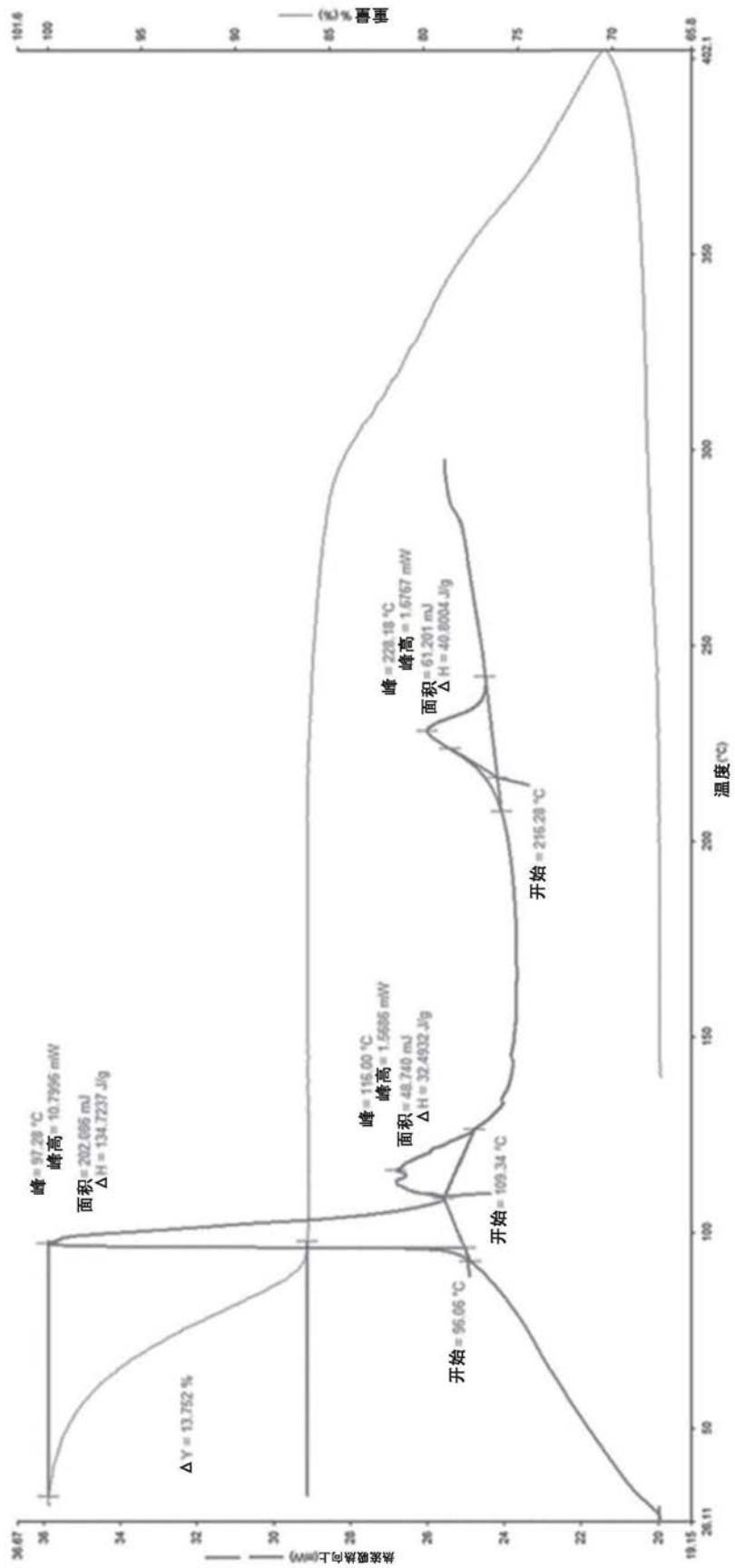


图8D

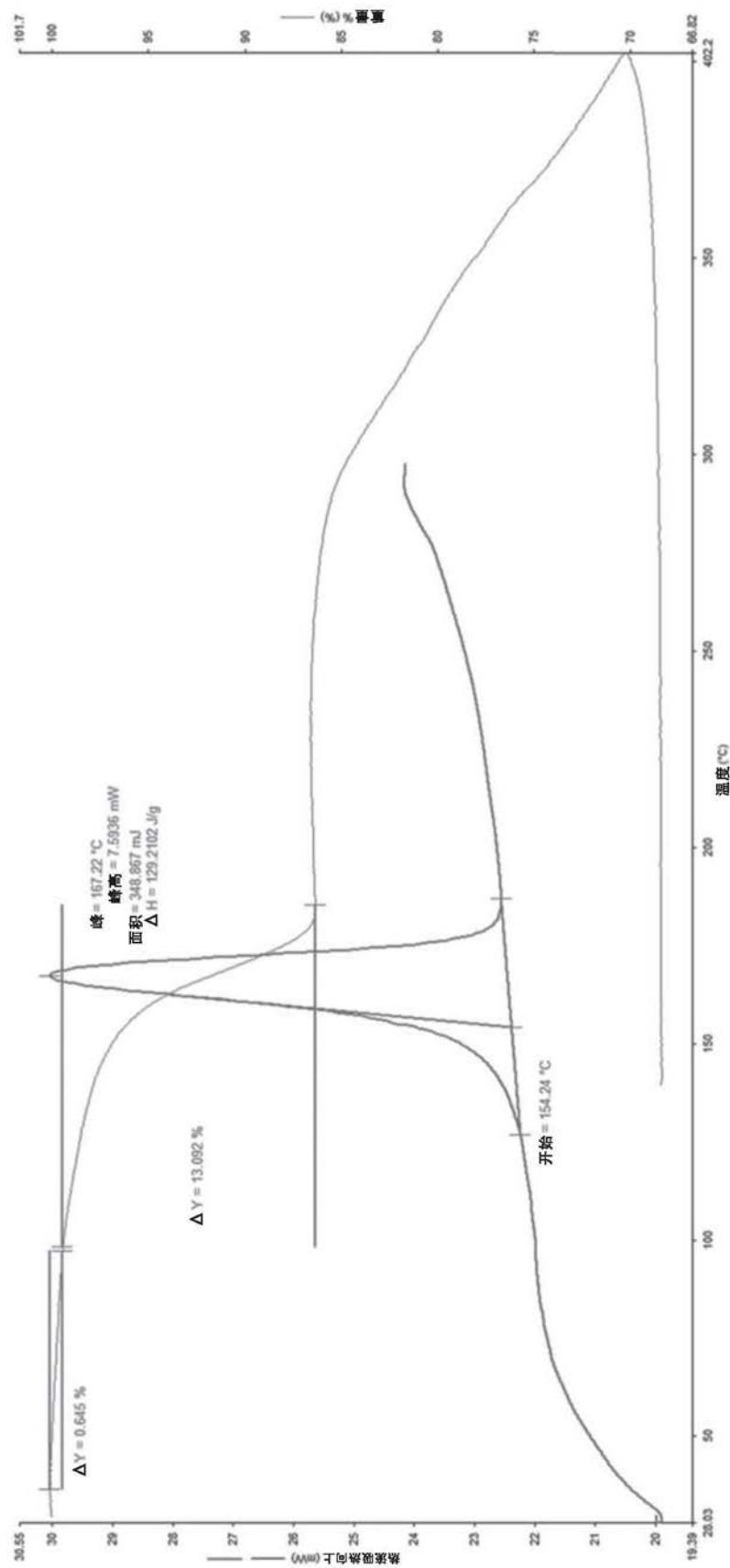


图8E

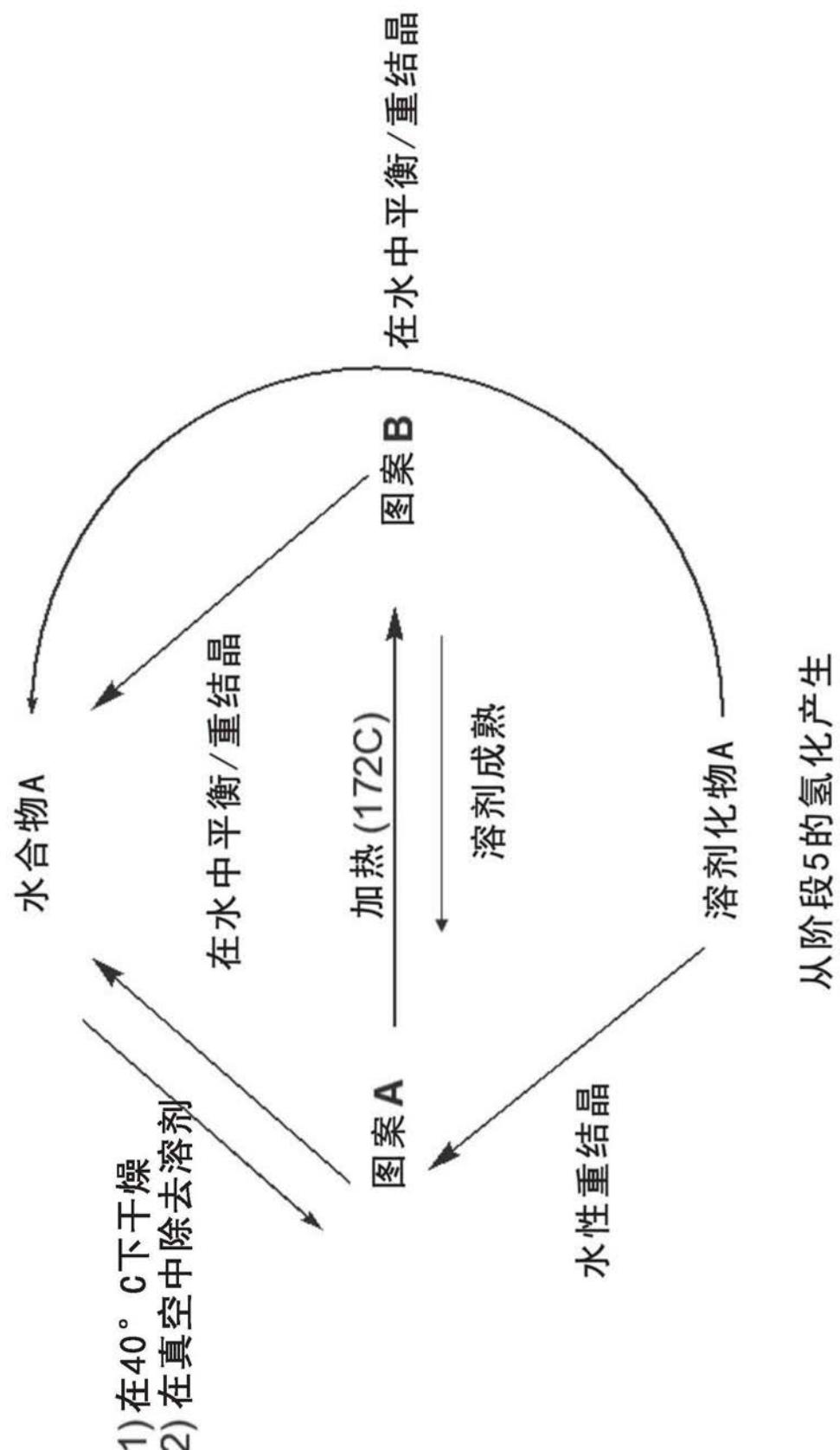


图9

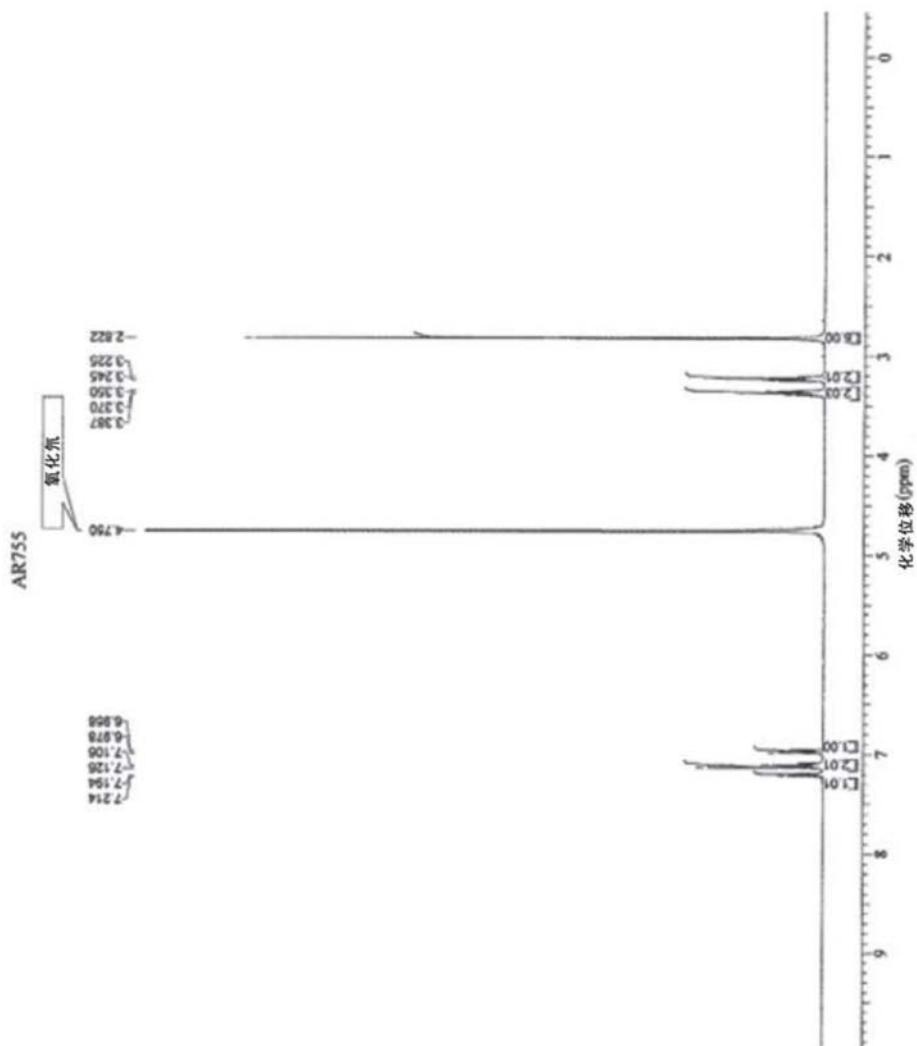


图10

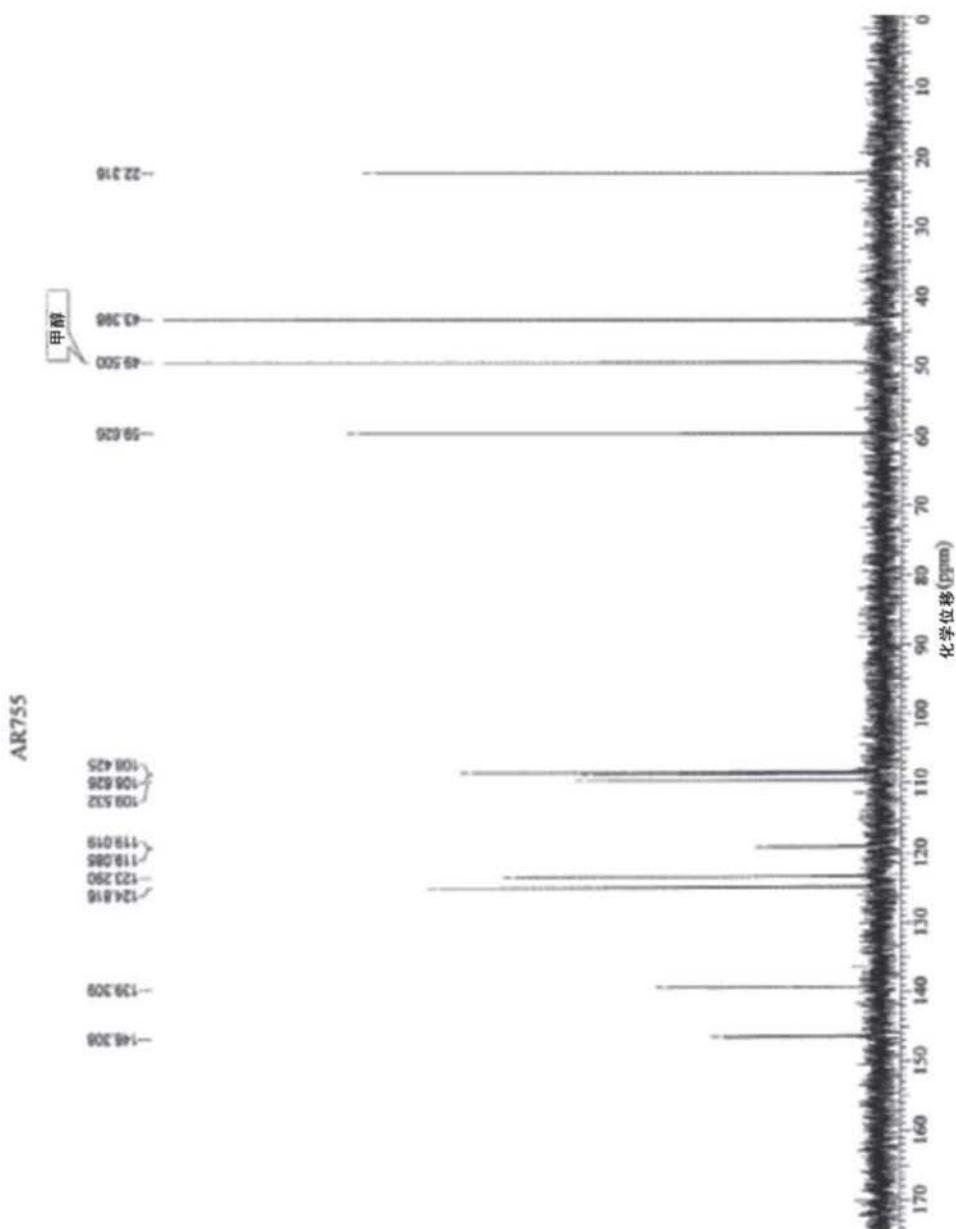


图11

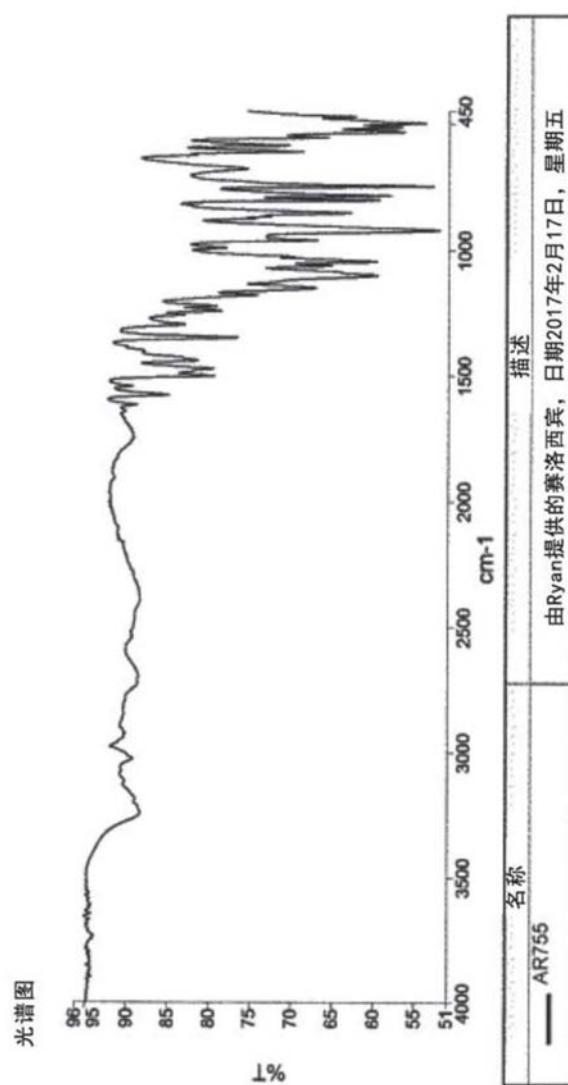


图12

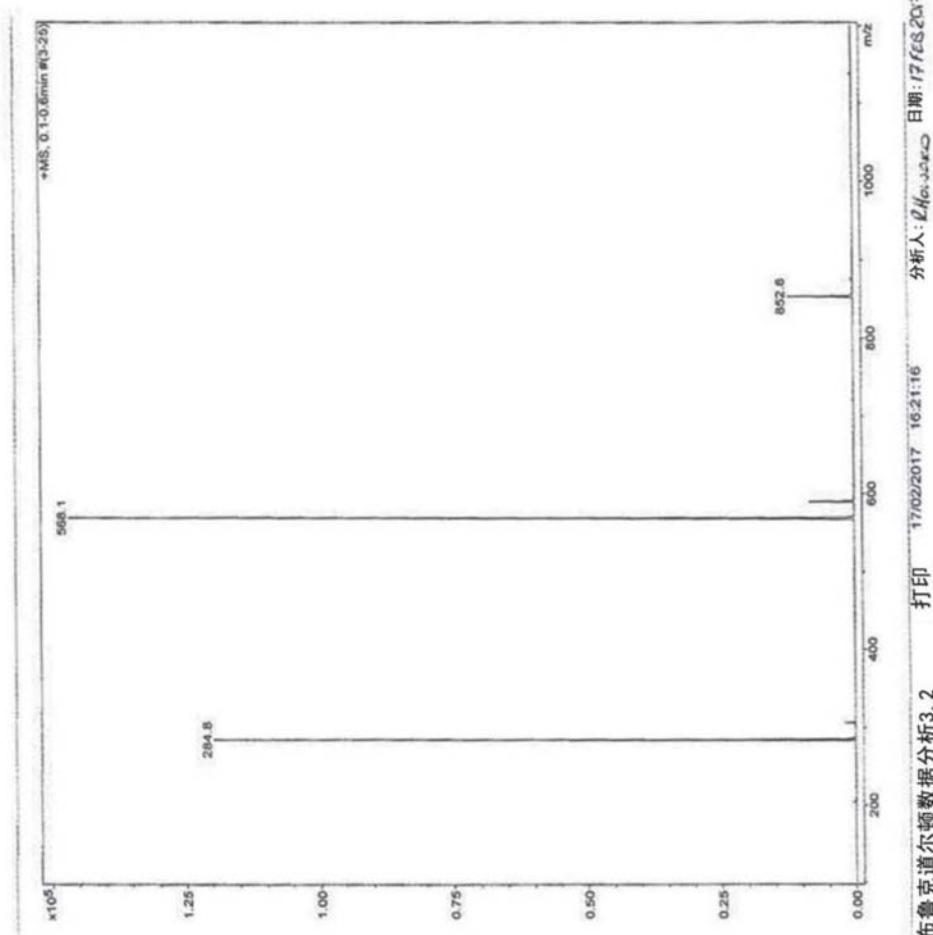


图13

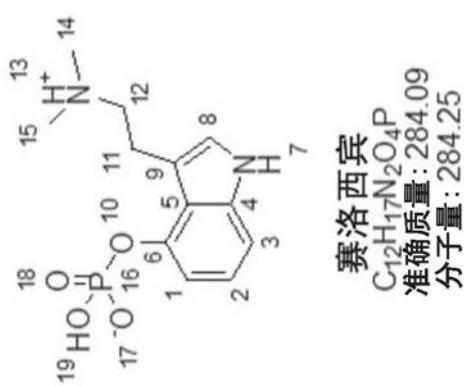


图14

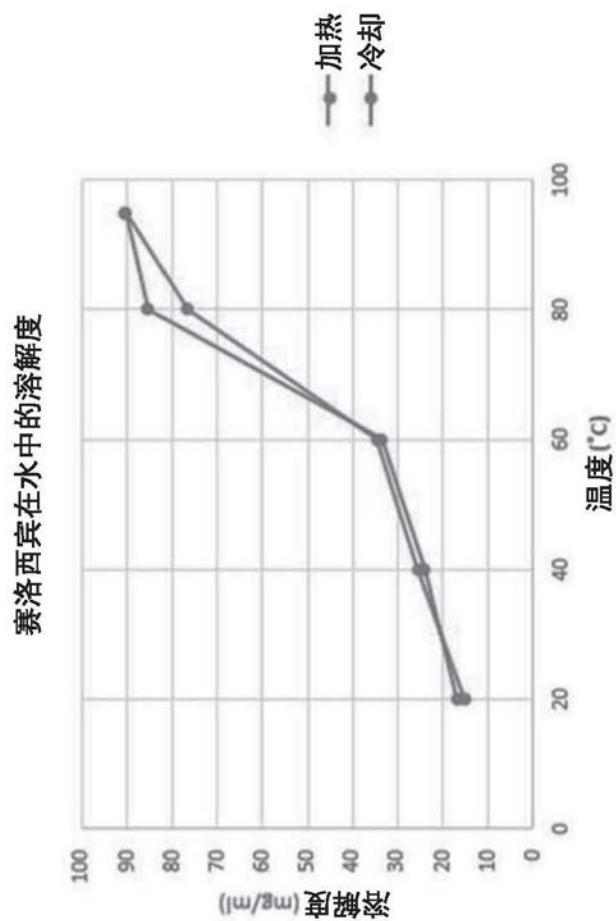


图15



图16A



图16B

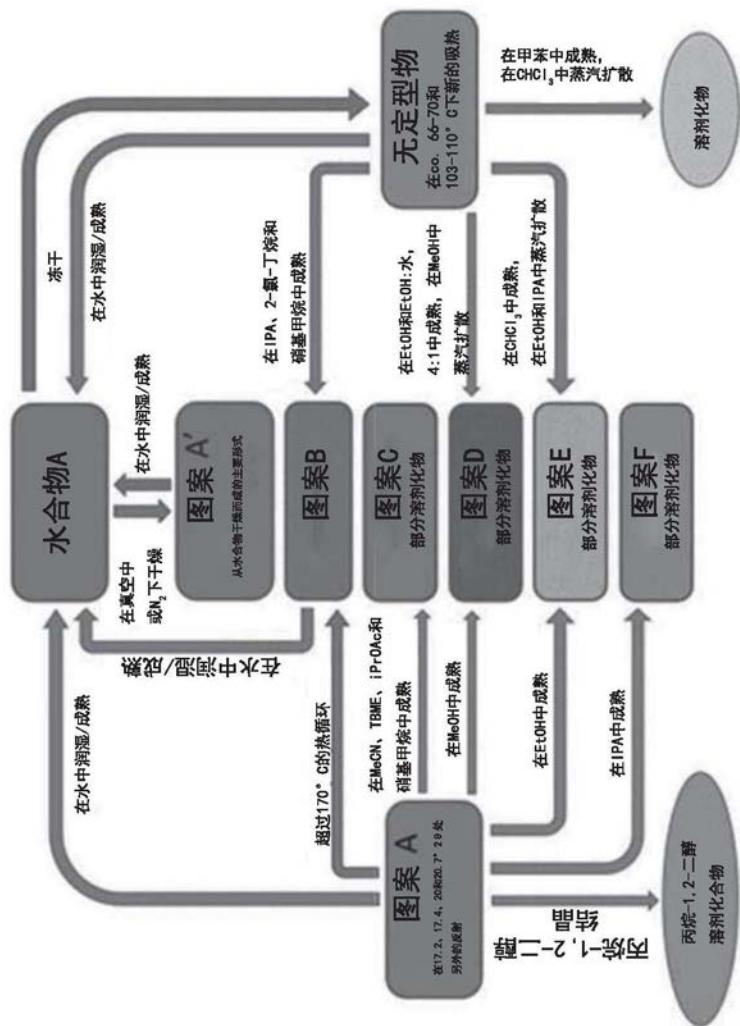


图 17

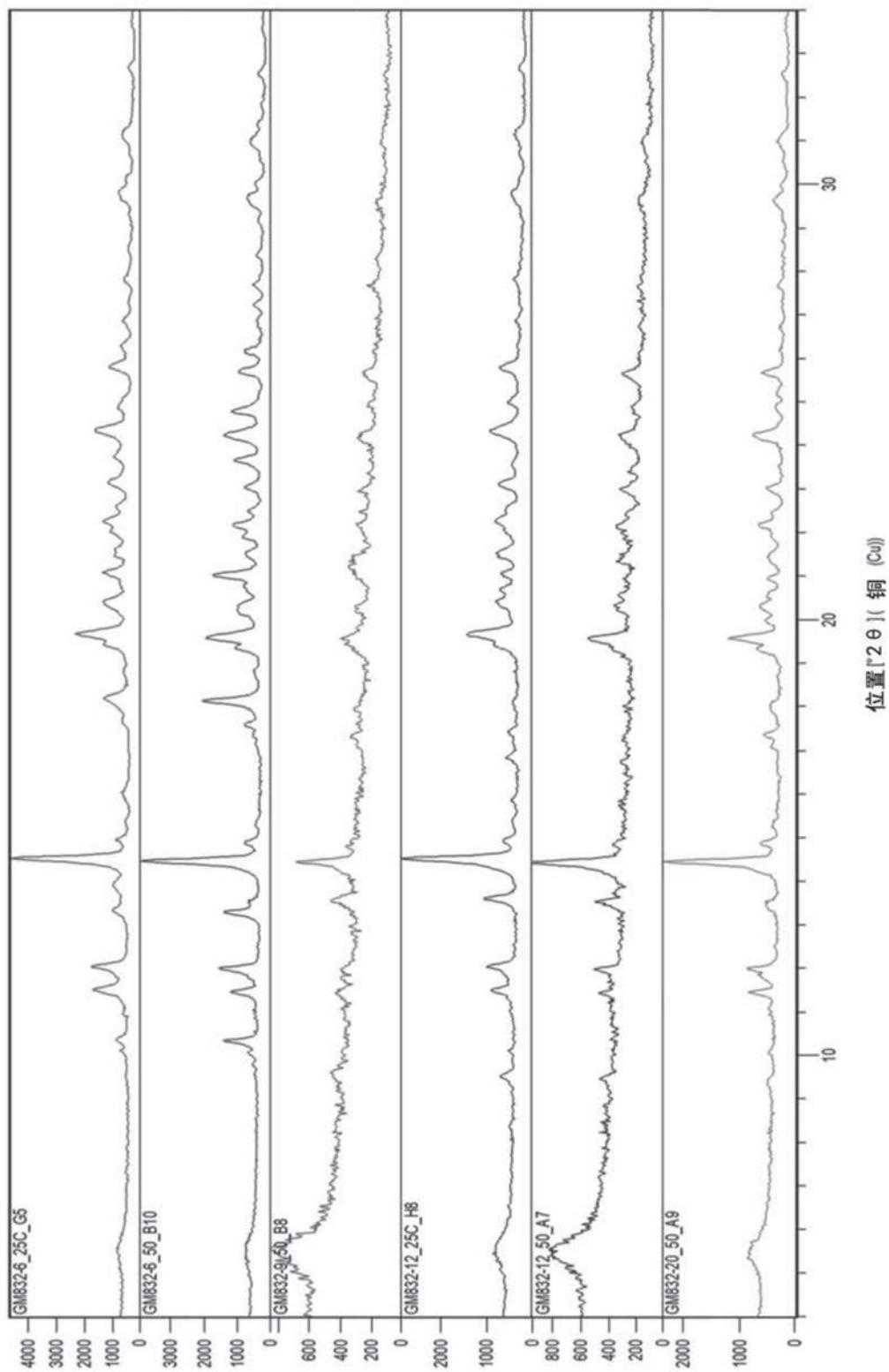


图18

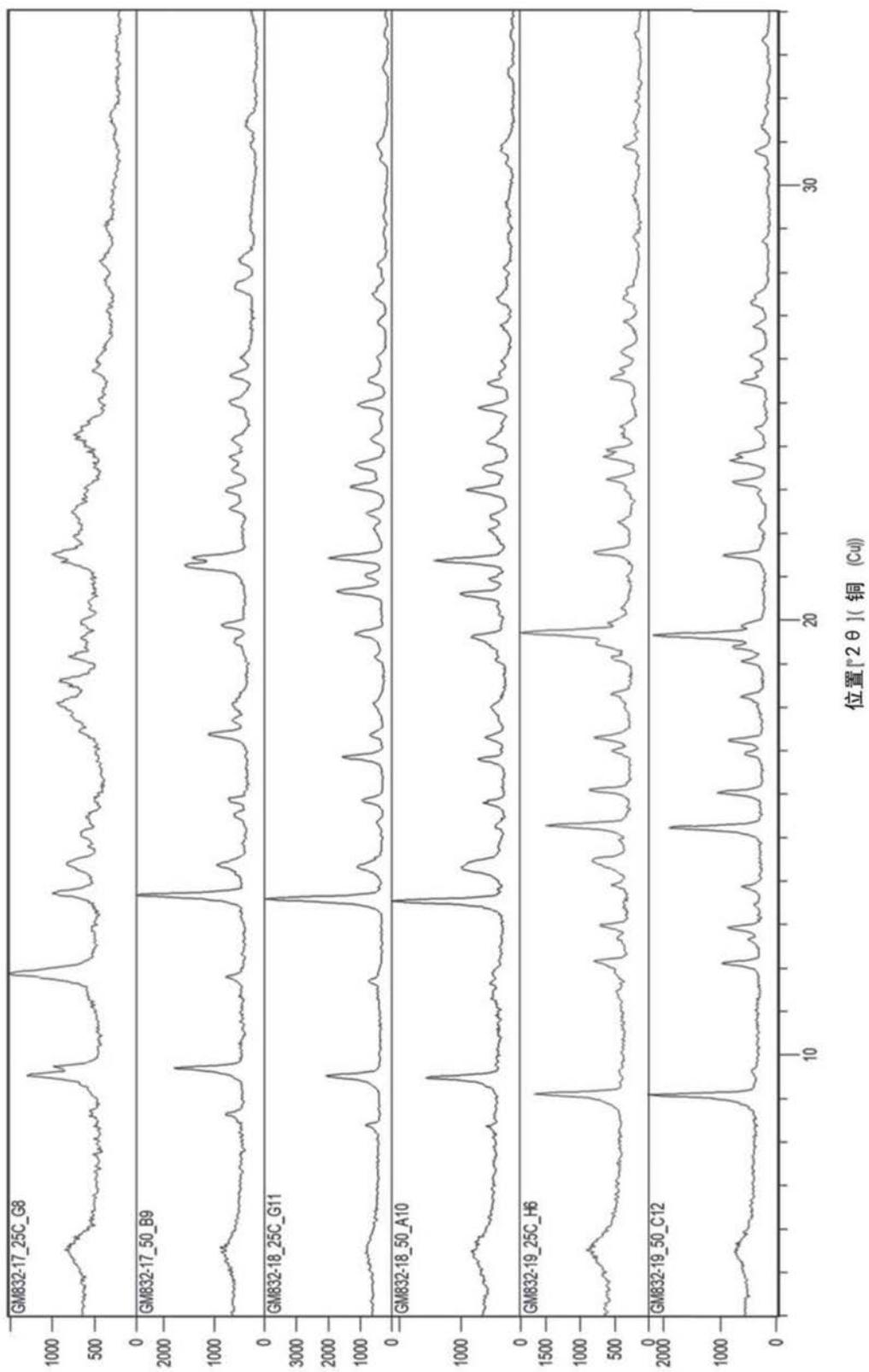


图19

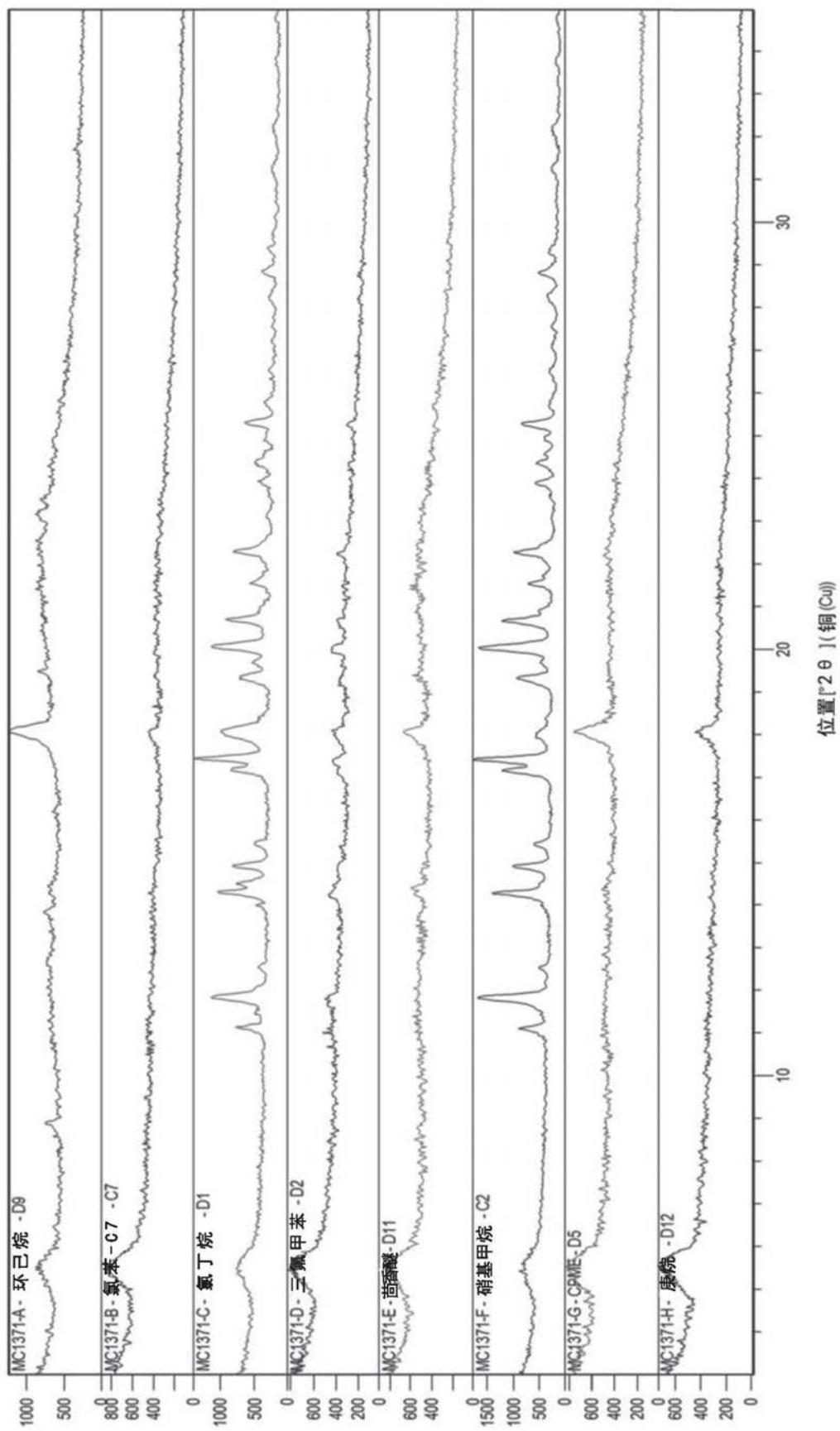


图20

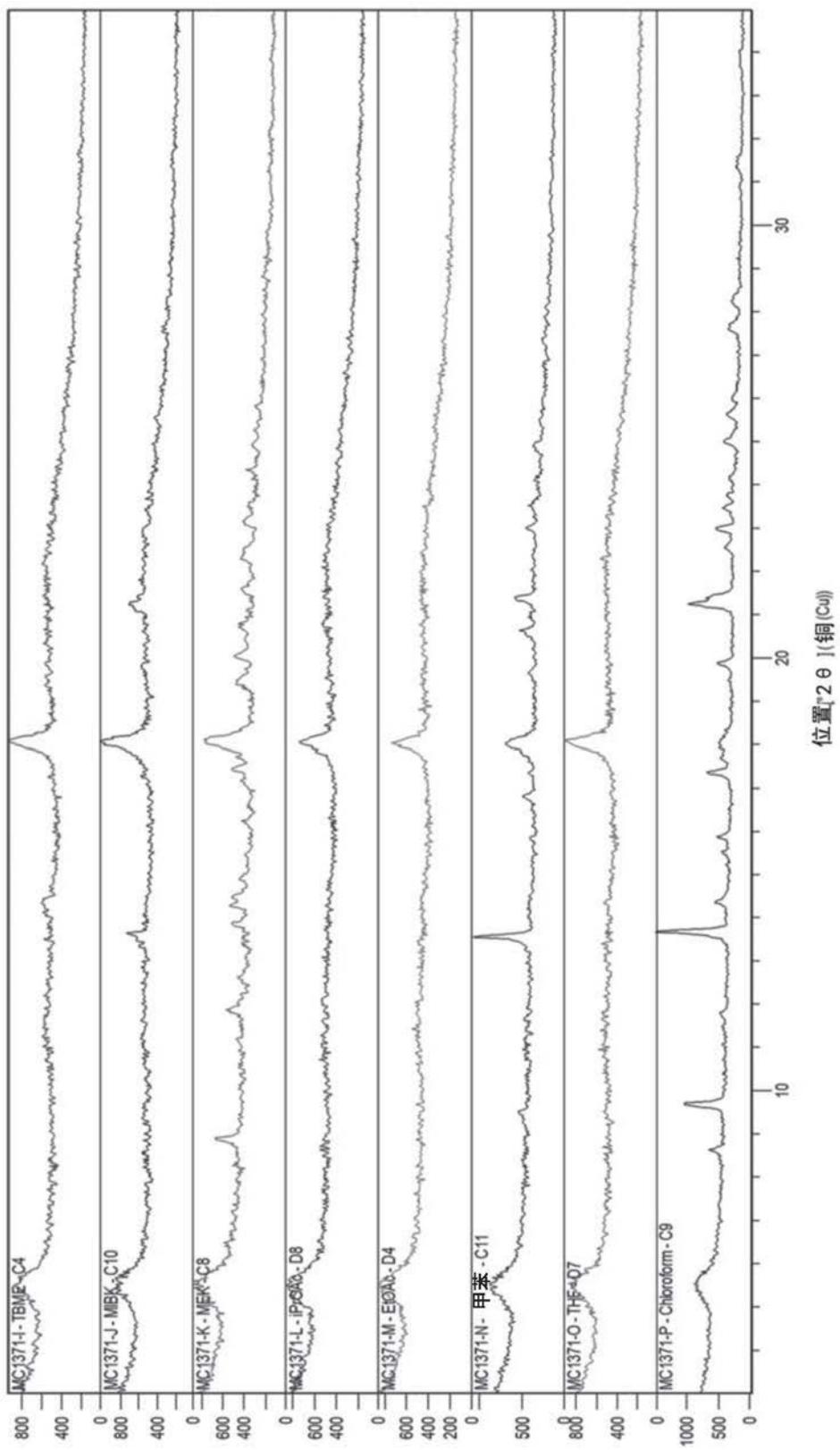


图21

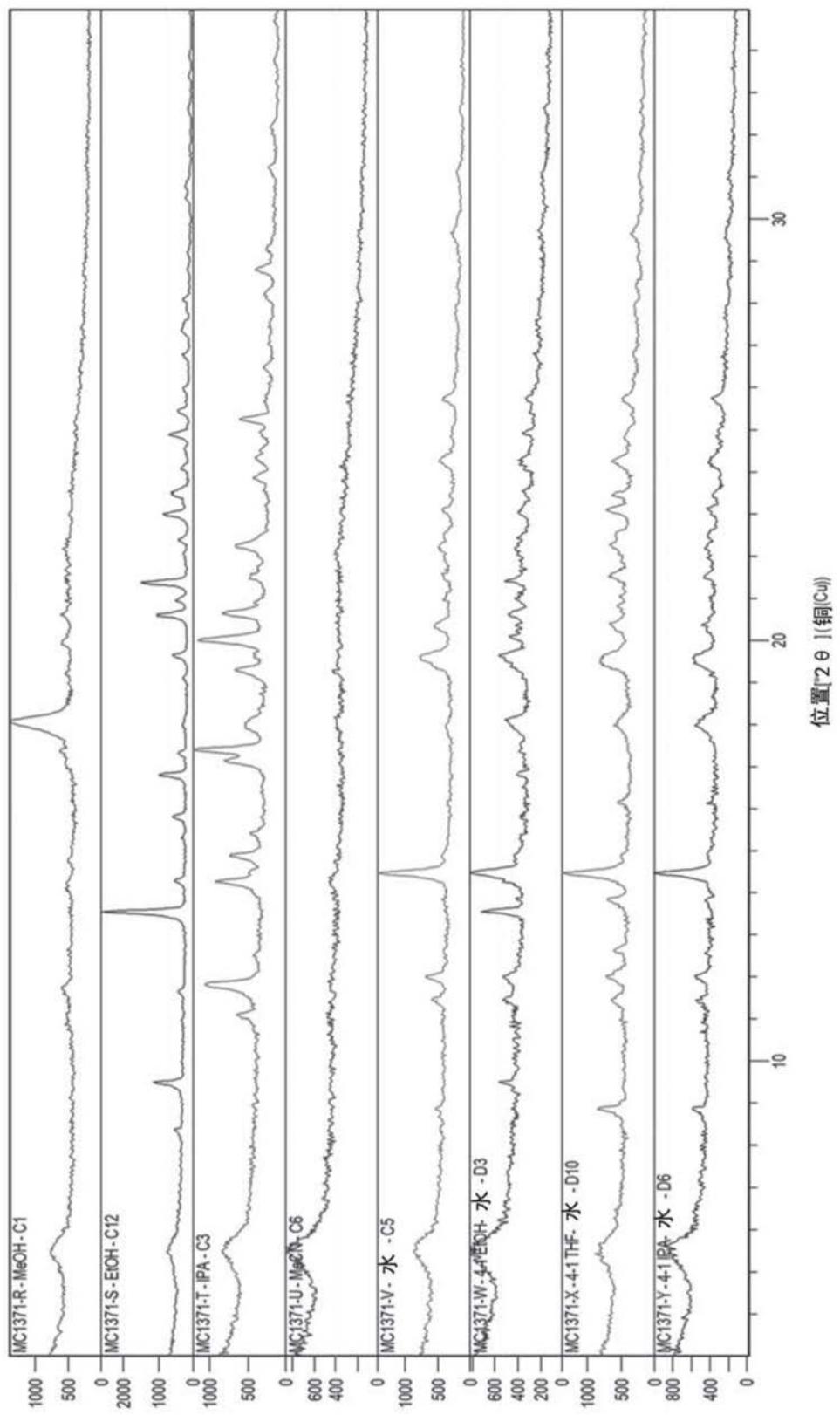


图22