

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390923** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.09.29

(51) Int. Cl. **C07D 209/16** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.10.09

(54) **ПОЛУЧЕНИЕ ПСИЛОЦИБИНА, РАЗЛИЧНЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ФОРМ,
ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОСТАВОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **1716505.1; 1810588.2; 1816438.4**

(32) **2017.10.09; 2018.06.28; 2018.10.09**

(33) **GB**

(62) **202090917; 2018.10.09**

(71) Заявитель:
**КОМПАСС ПАТФАЙНДЕР
ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Изобретатель:

**Лондebro Дерек Джон, Браун
Кристофер, Нортен Джиллиан Скотт,
Мур Джиллиан, Патил Хемант (GB),
Николс Дэвид (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Это изобретение относится к крупномасштабному производству псилоцибина для применения в медицине. Более конкретно, оно относится к способу получения высокой чистоты кристаллического псилоцибина, в частности в форме Полиморфа А. Оно также относится к способу производства псилоцибина и промежуточных соединений в его производстве и составам, содержащим псилоцибин.

A1

202390923

202390923

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578016EA/23

ПОЛУЧЕНИЕ ПСИЛОЦИБИНА, РАЗЛИЧНЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ФОРМ, ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОСТАВОВ, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

Это изобретение относится к крупномасштабному производству псилоцибина для применения в медицине.

Под крупномасштабным понимают производство партий псилоцибина массой более 10 г, более предпочтительно, более 100 г, более предпочтительно, более 250 г и вплоть до, и выше, килограммов.

Оно также относится к производству промежуточных соединений, включая, но не ограничиваясь ими, псилоцин, различные полиморфные формы псилоцибина, включая изоструктурные варианты, и их состава для применения в медицине, в частности, но не исключительно, для лечения резистентной к лечению депрессии, как определено в Diagnostic and Statistical Manual, 5th Edition, либо отдельно, либо в сочетании с психологической поддержкой, которая может проводиться в цифровой форме.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Псилоцибин впервые был синтезирован в 1958 в Sandoz, см. GB912714 и US3075992, и был широко доступен в качестве химиката для исследований до середины 1960-х.

Психоделический препарат на растительной основе использовался в качестве вспомогательного средства для психотерапии для лечения расстройств настроения и алкогольных расстройств, и недавно в 3 клинических исследованиях сообщалось о его применении при симптомах депрессии.

Griffiths et al 2016; J Psychopharmacol 30 (12) :1181-1197;

Ross et al 2016; J Psychopharmacol 30 (12) :1165-1180; и

Carhart-Harris et al 2016, Lancet Psychiatry 3(7): 619-627.

Способы производства псилоцибина ограничены и включают:

J Nat Prod 2003, 66, страницы 885-887;

Helv Chim Acta 1959, 42, 2073-2103;

Experientia 1958, 15, 397-399; и

Synthesis 1999, 935-938.

На основе этой литературы заявители полагают, что способ, описанный в J Nat Prod 2003, 66, страницы 885-887 (далее JNP) является наиболее подходящим способом для развития в процесс коммерческого масштаба.

Описанный там способ дает количества порядка 10 г и включает 6 стадий, пронумерованных (i)-(vi).

По аналогии с заявленным способом, стадии ii и iii далее обсуждаются как одна стадия (*Стадия 2*) и способ JNP воспроизводится как на фиг. 1 здесь.

Стадия 1 (i) включает взаимодействие 4-гидроксииндола (“3”) с уксусным ангидридом (Ac₂O) в пиридине и безводном дихлорметане (CH₂Cl₂) при 0°C. Добавляют воду, смесь выпаривают, и полученный концентрат растворяют в этилацетате, промывают

водой и насыщенным хлоридом натрия, и органическую фазу сушат над сульфатом натрия и выпаривают с получением 4-ацетилиндола ("4"), который собирают фильтрацией и промывают водой и этилацетатом.

Стадия 2 (ii и iii), двухстадийное ацилирование (ii) - стадия амидирования (iii), включает образование 3-диметиламинооксалил-4-ацетилиндола ("6") через: (ii) взаимодействие 4-ацетилиндола ("4") с оксалилхлоридом ((COCl)₂) в безводном диэтиловом эфире, перемешивание, добавление н-гексана и выдерживание при -20°C с получением промежуточного ацетата 3-(2-хлор-2-оксоацетил)-1Н-индол-4-ила ("5"), который разделяют фильтрацией. Промежуточное соединение растворяют в безводном тетрагидрофуране (ТГФ) и подвергают взаимодействию с диметиламином ((CH₃)₂NH) в тетрагидрофуране и пиридине. Добавляют безводный простой эфир из-за отверждения, и реакционный продукт разделяют фильтрацией и промывают н-гексаном, этилацетатом и водой с получением 3-диметоксиаминооксалил-4-ацетилиндола ("6").

Стадия 3 (iv) включает получение псилоцина ("1") взаимодействием 3-диметиламинооксалил-4-ацетилиндола ("6") с алюмогидридом лития (LiAlH₄) в безводном ТГФ в атмосфере аргона. После кипячения с обратным холодильником и охлаждения добавляют безводный сульфат натрия, затем раствор сульфата натрия, и затем безводный сульфат натрия. Реакционную смесь разбавляют этилацетатом, быстро концентрируют в вакууме, и полученные кристаллы псилоцина быстро промывают метанолом.

Стадия 4 (v) включает получение бензил[2-(4-оксииндол-3-ил)этил]диметиламмоний-4-О-бензилфосфата ("8") взаимодействием псилоцина, растворенного в безводном ТГФ, с н-бутиллитием (n-BuLi) в н-гексане при -78°C и тетрабензилпирофосфатом [(BnO)₂PO]₂O, и нагревание реакции до 0°C, и отслеживание получения промежуточного фосфата дибензил 3-[2-(диметиламино)этил]-1Н-индол-4-ила ("7"). При проверке его присутствия добавляют аминопропил силикагель, смесь разбавляют этилацетатом и фильтруют через слой Целита отсасыванием, фильтрат концентрируют в вакууме, повторно растворяют в CH₂Cl₂, и осадок собирают фильтрацией.

Стадия 5 (vi) включает получение псилоцибина ("2") взаимодействием ("8") в метаноле (MeOH) с водородом (H₂) с применением активированного палладием углеродного катализатора (Pd/C). Добавляют воду из-за отложения продукта, и ("8"), отслеживают его де-бензилированное производное вместе с появлением псилоцибина, реакционный раствор фильтруют через слой Целита. Продукт собирают фильтрацией и промывают этанолом с получением белой игольчатой кристаллической формы с температурой плавления 190°C-198°C.

В отличие от большинства способов, таких как JNP, в которых применяют не водные растворители, такие как метанол или этанол, в *Experientia* 1958, 15, 397-399 применяется одна перекристаллизация из воды с получением псилоцибина из грибного экстракта. Идея заключается в применении кипящей воды для растворения исходного материала, полученного в небольшом масштабе хроматографией, и полученный высушенный в высоком вакууме продукт плавят неясно при 185-195°C, и показана потеря массы 25,4%,

что позволяет предположить явное отличие от чистоты и формы, которые получены заявителем.

Во время развития синтеза с получением Псилоцибина, заявитель провел множество реакций гидрирования в масштабе 5 г, которые привели к получению разных кристаллических форм Псилоцибина. Исходная реакция гидрирования дает Гидрат А (JCCA2157E), который имеет ПРД дифрактограмму, показанную на фиг. 7d, и ДСК и ТГА термограммы, показанные на фиг. 8d. ДСК демонстрирует эндотерм при $\sim 97^{\circ}\text{C}$, который совпадает со снижением массы в ТГА, показывая дегидратацию, и эндотермическое событие с температурой начала $\sim 216^{\circ}\text{C}$, которое считается плавлением. Другая реакция гидрирования дает этанольный сольват (JCCA2158D), который затем анализируют ПРД (Фиг. 7e), ДСК (Фиг. 8e), ТГА (Фиг. 8e) и ^1H ЯМР, показывая 11% уловленного этанола. ДСК термограмма показывает эндотерм с началом $\sim 154^{\circ}\text{C}$, который считается плавлением одновременно с $\sim 13\%$ потерей массы в ТГА. В другом эксперименте, проведенном в процессе разработки, заявитель провел кристаллизацию псилоцибина; вместо того, чтобы оставаться в растворе в горячей воде, позволяя стадию доочистки на фильтре, при высокой температуре выпадает осадок ($>90^{\circ}\text{C}$). Образованные твердые вещества не растворяются повторно при дальнейшем нагревании или добавлении дополнительной воды. При охлаждении и выделении твердого вещества (CB646E) проводят ПРД. ПРД дифрактограмма (Фиг. 7f) предполагает смешанную фазу Полиморфа А' (JCCA2160-F-D4) и Полиморфа В (JCCA2160-F-TM2-C5). Эти открытия подчеркивают важность разработки способа, который позволит последовательно получать желаемую кристаллическую форму, поэтому заявитель приступил к экспериментам, чтобы определить, что это за формы, чтобы они могли давать химически чистый псилоцибин в контролируемой форме, подходящей для использования в медицине.

Для клинических испытаний любое новое активное вещество (НАВ) должно быть пригодно к крупномасштабному производству (обычно 100 г и более, более предпочтительно, более 250 г, еще более предпочтительно, более 500 г, до партий более килограмма), в зависимости от количества активного вещества, которое следует вводить человеку. Оно также должно быть химически чистым, хорошо определенным и стабильным при хранении.

Более того, любой способ производства должен быть легко воспроизводим и обеспечивать постоянство от партии к партии.

Первым объектом данного изобретения является получение псилоцибина, постоянной полиморфной формы, для введения человеку.

Другим объектом данного изобретения является получение химически чистого псилоцибина, постоянной полиморфной формы, для введения человеку.

Еще одним объектом является получение химически чистого псилоцибина в больших количествах, поскольку для коммерческого использования чистый псилоцибин должен производиться масштабно.

Еще одним объектом изобретения является получение способа кристаллизации

псилоцибина в желаемой полиморфной форме.

Еще одним объектом изобретения является получение адаптируемого способа производства псилоцибина из псилоцина или 4 гидроксиндола.

При разработке подходящей методики заявитель столкнулся с многочисленными проблемами и трудностями, которые он должен был преодолеть, и это является отдельным, независимым объектом: преодолеть проблемы, выявленные на каждом этапе, и использовать изобретения по отдельности или в комбинации.

Еще одним объектом изобретения является составить псилоцибин в соответствии с данным изобретением в форме, подходящей для введения человеку и применения в медицине, в частности, при лечении расстройств центральной нервной системы (ЦНС), и более конкретно, но не исключительно, при лечении депрессии, в частности, резистентной к лекарственным средствам депрессии, отдельно или в сочетании с цифровым товаром медицинского назначения или цифровым решением.

СУЩНОСТЬ ОПИСАНИЯ

Согласно первому аспекту данного изобретения, представлен кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А', характеризующийся одним или более из:

- a. пики в ПРД дифрактограмме при $11,5$, $12,0$ и $14,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- b. пики в ПРД дифрактограмме при $11,5$, $12,0$ и $14,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при $19,7$, $20,4$, $22,2$, $24,3$ или $25,7^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- c. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7a или 7b; или
- d. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205 - 220°C , которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8a или 8b.

Полиморф А

В соответствии с предпочтительным вариантом данного изобретения, представлен кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А, характеризующийся одним или более из:

- a. пики в ПРД дифрактограмме при $11,5$, $12,0$, $14,5$ и $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- b. пики в ПРД дифрактограмме при $11,5$, $12,0$, $14,5$ и $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при $19,7$, $20,4$, $22,2$, $24,3$ или $25,7^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- c. ПРД дифрактограмма которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7a; или
- d. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205 - 220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8a.

Пик при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ имеет относительную интенсивность по сравнению с пиком при $14,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, по крайней мере, 5%, предпочтительно, по крайней мере, 6%, более предпочтительно, по крайней мере, 7%-8%, и от 9% до, по крайней мере, 10%.

В одном варианте, Полиморф А псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму,

отличающуюся дифрактограммой, суммированной в таблице 1. В одном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина имеет, по крайней мере, 3 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина содержит, по крайней мере, 4 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина содержит, по крайней мере, 5 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина содержит, по крайней мере, 6 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина содержит, по крайней мере, 8 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина содержит, по крайней мере, 10 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А псилоцибина содержит, по крайней мере, 15 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 1. Пик около $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ отличает Полиморф А псилоцибина от Полиморфа А', в котором пик отсутствует или по существу отсутствует (т.е. имеет относительную интенсивность по сравнению с пиком $14,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ менее 2%, более предпочтительно, менее 1%).

Таблица 1 - положения пиков ПРД для Полиморфа А

Положение [$^\circ 2\theta$]	Относительная интенсивность [%]
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

В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы 11,5, 12,0, 14,5 и $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В другом варианте,

кристаллический Полиморф А псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком, возникающим при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, двумя дополнительными пиками, возникающими при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, тремя дополнительными пиками, возникающими при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В еще одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, по существу, такую же, как ПРД дифрактограмма, показанная на Фиг. 7а.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы при 14,5 и 17,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ с пиком при 17,5° 2θ , имеющим интенсивность, составляющую, по крайней мере, 5% от интенсивности пика при 14,5° 2θ , более предпочтительно, по крайней мере, от 6% до, по крайней мере, 7%, по крайней мере, 8%, по крайней мере, 9%, до, по крайней мере, 10%.

В одном варианте, у кристаллического Полиморфа А псилоцибина отсутствуют или по существу отсутствуют пики ПРД дифрактограммы при 10,1. Под по существу отсутствием понимают, что любые пики ПРД дифрактограммы при 10,1 составляют менее 2% от интенсивности пика при 14,5° 2θ , например, менее 1%, или не определяются в ПРД дифрактограмме.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина характеризуется эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала 205-220°C, например, 210-220°C, например, 210-218°C, или например, 210-216°C. В другом варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина дополнительно характеризуется эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала 145-165°C, например, 145-160°C, или, например, 145-155°C. В другом варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина характеризуется эндотермическим событием, имеющим температуру начала 205-220°C, например, 210-220°C, например, 210-218°C, или например, 210-216°C, и эндотермическим событием, имеющим температуру начала 145-165°C, например, 145-160°C, или например, 145-155°C, в ДСК термограмме. В еще одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина демонстрирует ДСК термограмму по существу такую, как ДСК термограмма на Фиг. 8а.

В другом варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина характеризуется содержанием воды <0,5% масс./масс., таким как, <0,4% масс./масс., таким как <0,3% масс./масс., таким как <0,2% масс./масс., или таким как <0,1% масс./масс. Специалист в данной области техники знает способы определения содержания воды в соединении, например титрованием Карла Фишера. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина характеризуется потерей <0,5% масс./масс., такой как <0,4% масс./масс., такой как <0,3% масс./масс., такой как <0,2% масс./масс., такой как <0,1% масс./масс., в ТГА термограмме при температуре окружающей среды, такой как около 25°C, и 200°C. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина теряет менее 2% массовых

при тестировании потери при сушке, например, менее 1% массовых, например, менее 0,5% массовых. Тестирование потери при сушке проводят при 70°C.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина является высоко чистой кристаллической формой Полиморфа А, например, псилоцибин содержит, по крайней мере, 90% массовых, например, 95%, например, 99%, например, 99,5% Полиморфа А.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина является белым или беловатым твердым веществом.

В другом варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина является химически чистым, например, псилоцибин имеет химическую чистоту более 97%, такую как более 98%, или такую как более 99% по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина не имеет отдельных примесей более 1%, более предпочтительно, менее 0,5%, включая фосфорную кислоту, измеренную по ^{31}P ЯМР, и псилоцин, измеренный по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина имеет химическую чистоту более 97% площади, более предпочтительно, более 98% площади, и наиболее предпочтительно, более 99% площади по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина не имеет отдельных примесей более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади, измеренных по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина не содержит псилоцин на уровне более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади, измеренный по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина не содержит фосфорную кислоту на уровне более 1% масс., более предпочтительно, менее 0,5% масс. измеренную по ^{31}P ЯМР. В одном варианте, кристаллический Полиморф А псилоцибина имеет химический анализ, по крайней мере, 95% масс., такой как, по крайней мере, 96% масс., или такой как, по крайней мере, 98% масс.

Полиморф А'

Согласно другому варианту изобретения, представлен кристаллический Полиморф А' псилоцибина, характеризующийся одним или более из:

а. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0 и 14,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, но отсутствие или по существу отсутствие пика при 17,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

б. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0 и 14,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, но отсутствие или по существу отсутствие пика при 17,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

с. ПРД дифрактограммой которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7b; или

d. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8b.

Под по существу отсутствием пика при 17,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ понимают, если присутствует, пик, имеющий относительную интенсивность, по сравнению с пиком при 14,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, менее 5%, более предпочтительно, менее 4%, от менее 3% до 2%, 1% или менее.

В одном варианте, Полиморф А' псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, характеризующуюся дифрактограммой, суммированной в таблице 2. В одном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 3 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 4 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 5 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 6 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 8 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 10 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 15 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 20 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф А' псилоцибина содержит, по крайней мере, 25 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 2, но имеет отсутствие или по существу отсутствие пика при $17,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$.

Таблица 2 - положения пиков ПРД для Полиморфа А'

Положение [$^\circ 2\theta$]	Относительная интенсивность [%]
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
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

В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы при 11,5, 12,0, и $14,5^{\circ}2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$ но, по существу, не имеет пик при $17,5^{\circ} 2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительными пиком, появляющимся при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или $25,7^{\circ} 2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, двумя дополнительными пиками, появляющимися при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или $25,7^{\circ} 2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина дополнительно характеризуется присутствием пика, появляющегося при $10,1^{\circ} 2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В еще одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, по существу, такую же, как ПРД дифрактограмма, показанная на Фиг. 7б.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы при 14,5 и $17,5^{\circ}2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$, где интенсивность пика при $17,5^{\circ}2\theta$ составляет менее 5% интенсивности пика при $14,5^{\circ}2\theta$, например, менее 4%, например, менее 3%, например, менее 2%, например, менее 1% или, например, около 1%.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы при 10,1 и $14,5^{\circ}2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$, где интенсивность пика при $10,1^{\circ} 2\theta$ составляет, по крайней мере, 1% от интенсивности пика при $14,5^{\circ}2\theta$, например, по крайней мере, 2%, например, по крайней мере, 3% или, например, около 4%.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала 205-220°C,

такую как 210-220°C, такую как 210-218°C или такую как 210-216°C. В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина дополнительно характеризуется эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала 145-165°C, такую как 145-160°C или такую как 145-155°C. В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется эндотермическим событием, имеющим температуру начала 205-220°C, такую как 210-220°C, такую как 210-218°C или такую как 210-216°C, и эндотермическим событием, имеющим температуру начала 145-165°C, такую как 145-160°C или такую как 145-155°C, в ДСК термограмме. В еще одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина демонстрирует ДСК термограмму, по существу такую же, как ДСК термограмма на Фиг. 8b.

В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется содержанием воды <0,5% масс./масс., таким как <0,4% масс./масс., таким как <0,3% масс./масс., таким как <0,2% масс./масс. или таким как <0,1% масс./масс. Специалист в данной области техники знает способы определения содержания воды в соединении, например титрованием Карла Фишера. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина характеризуется потерей <0,5% масс./масс., такой как <0,4% масс./масс., такой как <0,3% масс./масс., такой как <0,2% масс./масс., такой как <0,1% масс./масс. в ТГА термограмме от температуры окружающей среды, такой как 25°C до 200°C. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина теряет менее 2% массовых при тестировании потери при сушке, например, менее 1% массовых, например, менее 0,5% массовых. Тестирование потери при сушке проводят при 70°C.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина является высоко чистой кристаллической формой Полиморфа А', например, псилоцибин содержит, по крайней мере, 90% массовых, например, 95%, например, 99%, например, 99,5% Полиморфа А'.

В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина является белым или беловатым твердым веществом.

В другом варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина является химически чистым, например, псилоцибин имеет химическую чистоту более 97%, более предпочтительно, более 98% и наиболее предпочтительно, более 99% по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина не имеет отдельных примесей более 1%, более предпочтительно, менее 0,5%, включая фосфорную кислоту, измеренную по ³¹P ЯМР, и псилоцин, измеренный по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина имеет химическую чистоту более 97% площади, более предпочтительно, более 98% площади, и наиболее предпочтительно, более 99% площади по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина не имеет отдельных примесей более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади, измеренной по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина не содержит псилоцин на уровне более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади, измеренной по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина не содержит фосфорную

кислоту на уровне более 1% масс., более предпочтительно, менее 0,5% масс., измеренную по ^{31}P ЯМР. В одном варианте, кристаллический Полиморф А' псилоцибина имеет химический анализ, по крайней мере, 95% масс., такой как, по крайней мере, 96% масс., или такой как, по крайней мере, 98% масс.

ПРД дифрактограммы и положения пиков ПРД получают с применением излучения $\text{Cu K}\alpha$.

ДСК и ТГА термограммы получают с применением скорости нагревания $20^\circ\text{C}/\text{мин}$.

В одном варианте представлен высокой чистоты кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А' (12А или 12А'), демонстрирующий ПРД дифрактограмму, по существу такую, как показана на Фиг. 7а или 7б, и ДСК термограмму такую, как по существу показана на Фиг. 8а или 8б или их смеси.

Предпочтительно, кристаллический Полиморф А псилоцибина (12А) демонстрирует ПРД дифрактограмму, как показана на Фиг. 7а и ДСК термограмму, как показана на Фиг. 8а.

Предпочтительно, кристаллический Полиморф А' псилоцибина (12А') демонстрирует ПРД дифрактограмму, по существу такую, как показана на Фиг. 7б, и ДСК термограмму, по существу такую, как показана на Фиг. 8б.

Предпочтительно, кристаллический Полиморф А псилоцибина (12А) высокой чистоты характеризуется ПРД дифрактограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 7а и ДСК термограмму, которая, по существу, показана на Фиг. 8а.

Предпочтительно, кристаллический Полиморф А' псилоцибина (12А') высокой чистоты характеризуется ПРД дифрактограммой, которая показана на Фиг. 7б, и ДСК термограммой которая показана на Фиг. 8б.

Полиморф А (включая его изоструктурный вариант, Полиморф А') (Фиг. 7а и 7б) отличается от Полиморфа В (Фиг. 7с), Гидрата А (Фиг. 7д) и этанольного сольвата (Фиг. 7е: Сольват А), и отношения между некоторыми из разных форм показаны на Фиг. 9.

Кристаллический Полиморф А псилоцибина или Полиморф А' является белым или беловатым твердым веществом и/или имеет химическую чистоту более 97%, более предпочтительно, более 98%, и наиболее предпочтительно, более 99% по ВЭЖХ, и не имеет отдельных примесей более 1%, более предпочтительно, менее 0,5%, включая фосфорную кислоту, измеренную по ^{31}P ЯМР, и псилоцин, измеренный по ВЭЖХ. В одном варианте, представлен кристаллический псилоцибин высокой чистоты, Полиморф А или Полиморф А'. В одном варианте, кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А', имеет химическую чистоту более 97% площади, более предпочтительно, более 98% площади, и наиболее предпочтительно, более 99% площади по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А', не имеет отдельных примесей более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади, измеренных по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А', не содержит псилоцин на уровне более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади измерен по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический псилоцибин, Полиморф

А или Полиморф А', не содержит фосфорную кислоту на уровне более 1% масс., более предпочтительно, менее 0,5% масс. измеренную по ^{31}P ЯМР.В одном варианте, кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А', имеет химический анализ, по крайней мере, 95% масс., такой как, по крайней мере, 96% масс., или такой как, по крайней мере, 98% масс.

Нагревание Полиморфа А или А' вызывает эндотермическое событие, имеющее температуру начала около 150°C, соответствующую переходу твердое вещество-твердое вещество Полиморфа А или Полиморфа А' в Полиморф В. Продолжающееся нагревание полученного твердого вещества, т.е. Полиморфа В, вызывает второе эндотермическое событие, соответствующее температуре плавления, имеющее температуру начала 205-220°C (см. Фиг. 8a и 8b).

Согласно другому независимому аспекту данного изобретения, представлена кристаллическая форма псилоцибина, Гидрат А, характеризующаяся одним или более из:

- а. пики в ПРД дифрактограмме при 8,9, 12,6 и 13,8° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- б. пики в ПРД дифрактограмме при 8,9, 12,6 и 13,8° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 6,5, 12,2, 19,4, 20,4 или 20,8° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- с. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7d; или
- д. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C, по существу которая показана на фигуре 8d.

В одном варианте, Гидрат А псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, характеризующуюся дифрактограммой, суммированной в таблице 3. В одном варианте, описанном здесь, кристаллический Гидрат А псилоцибина содержит, по крайней мере, 3 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 3. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Гидрат А псилоцибина содержит, по крайней мере, 4 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 3. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Гидрат А псилоцибина содержит, по крайней мере, 5 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 3. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Гидрат А псилоцибина содержит, по крайней мере, 8 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 3. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Гидрат А псилоцибина содержит, по крайней мере, 10 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 3.

Таблица 3 - положения пиков ПРД для Гидрата А

Положение [$^\circ 2\theta$]	Относительная интенсивность [%]
5,6	14,4
6,5	18,84
8,9	100
12,2	11,51
12,6	18,65

13,8	44,22
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

В одном варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы при $8,9$, $12,6$ и $13,8^{\circ}2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним пиком, возникающим при $6,5$, $12,2$, $19,4$, $20,4$ или $20,8^{\circ}2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В другом варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, двумя пиками, возникающими при $6,5$, $12,2$, $19,4$, $20,4$ или $20,8^{\circ} 2\theta \pm 0,1^{\circ} 2\theta$. В еще одном варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, по существу, такую же, как ПРД дифрактограмма, показанная на Фиг. 7d.

В одном варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина характеризуется эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала $205-220^{\circ}\text{C}$, такую как $210-220^{\circ}\text{C}$, такую как $210-218^{\circ}\text{C}$, или такую как $210-216^{\circ}\text{C}$. В другом варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина дополнительно характеризуется эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала $85-105^{\circ}\text{C}$, или такую как $90-$

100°C. В другом варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина характеризуется эндотермическим событием, имеющим температуру начала 205-220°C, такую как 210-220°C, такую как 210-218°C или такую как 210-216°C, и эндотермическим событием, имеющим температуру начала 85-105°C или такую как 90-100°C, в ДСК термограмме. В еще одном варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина демонстрирует ДСК термограмму по существу такую же, как ДСК термограмма на Фиг. 8d.

В другом варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина характеризуется содержанием воды 10-18%, таким как 12-16% или таким как около 13%. Специалист в данной области техники знает способы определения содержания воды в соединении, например, титрование Карла Фишера. В одном варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина характеризуется потерей массы в ТГА термограмме 10-18%, такой как 12-16% или такой как около 13%, при температуре от температуры окружающей среды, такой как около 25°C, до 120°C.

В одном варианте, кристаллический Гидрат А псилоцибина является высоко чистой кристаллической формой Гидрата А, например, псилоцибин содержит, по крайней мере, 90% массовых, например, 95%, например, 99%, например, 99,5% Гидрата А.

Согласно другому независимому аспекту данного изобретения, представлена кристаллическая форма псилоцибина, Полиморф В, характеризующаяся одним или более из:

- a. пики в ПРД дифрактограмме при 11,1, 11,8 и 14,3° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- b. пики в ПРД дифрактограмме при 11,1, 11,8 и 14,3° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 14,9, 15,4, 19,3, 20,0 или 20,6° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- c. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7c; или
- d. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8c.

В одном варианте, Полиморф В псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, характеризующуюся дифрактограммой, суммированной в таблице 4. В одном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф В псилоцибина содержит, по крайней мере, 3 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 4. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф В псилоцибина содержит, по крайней мере, 4 пика ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 4. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф В псилоцибина содержит, по крайней мере, 5 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 4. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф В псилоцибина содержит, по крайней мере, 8 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 4. В определенном варианте, описанном здесь, кристаллический Полиморф В псилоцибина содержит, по крайней мере, 10 пиков ($\pm 0,1^\circ 2\theta$) из таблицы 4.

Таблица 4 - положения пиков ПРД для Полиморфа В

Положение [$^{\circ}$ 2Т]	Относительная интенсивность [%]
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
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

В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина характеризуется пиками ПРД дифрактограммы при 11,1, 11,8 и 14,3° $2\theta \pm 0,1^{\circ}$ 2θ . В другом варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним пиком, возникающим при 14,9, 15,4, 19,3, 20,0 или 20,6° $2\theta \pm 0,1^{\circ}$ 2θ . В другом варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина дополнительно характеризуется, по крайней мере, двумя пиками, появляющимися при 14,9, 15,4, 19,3, 20,0 или 20,6° $2\theta \pm 0,1^{\circ}$ 2θ . В еще одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина демонстрирует ПРД дифрактограмму, по существу, такую же, как ПРД дифрактограмма, показанная на Фиг. 7с.

В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина характеризуется

эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющим температуру начала 205-220°C, такую как 210-220°C, такую как 210-218°C или такую как 210-216°C. В еще одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина демонстрирует ДСК термограмму по существу такую же, как ДСК термограмма на Фиг. 8с.

В другом варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина характеризуется содержанием воды <0,5% масс./масс., таким как <0,4% масс./масс., таким как <0,3% масс./масс., таким как <0,2% масс./масс., или таким как <0,1% масс./масс. Специалист в данной области техники знает способы определения содержания воды в соединении, например, титрование Карла Фишера. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина характеризуется потерей <0,5% масс./масс., такой как <0,4% масс./масс., такой как <0,3% масс./масс., такой как <0,2% масс./масс., такой как <0,1% масс./масс., в ТГА термограмме при температуре от температуры окружающей среды, такой как 25°C, до 200°C. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина теряет менее 2% массовых при тестировании потери при сушке, например, менее 1% массовых, например, менее 0,5% массовых. Тестирование потери при сушке проводят при 70°C.

В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина является высоко чистой кристаллической формой Полиморфа В, например, псилоцибин содержит, по крайней мере, 90% массовых, например, 95%, например, 99%, например, 99,5% Полиморфа В.

В другом варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина является химически чистым, например, псилоцибин имеет химическую чистоту более 97%, например, более 98%, или, например, более 99% по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина не имеет отдельных примесей более 1%, более предпочтительно, менее 0,5%, включая фосфорную кислоту, измеренную по ³¹P ЯМР, и псилоцин, измеренный по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина имеет химическую чистоту более 97% площади, более предпочтительно, более 98% площади, и наиболее предпочтительно, более 99% площади по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина не имеет отдельных примесей более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади измерен по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина не содержит псилоцин на уровне более 1% площади, более предпочтительно, менее 0,5% площади измерен по ВЭЖХ. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина не содержит фосфорную кислоту на уровне более 1% масс., более предпочтительно, менее 0,5% масс. измерен по ³¹P ЯМР. В одном варианте, кристаллический Полиморф В псилоцибина имеет химический анализ, по крайней мере, 95% масс., например, по крайней мере, 96% масс., или, например, по крайней мере, 98% масс.

Псилоцибин в соответствии с данным изобретением в форме Полиморфа А или А' имеет общие свойства, иллюстрированные в таблице 5 ниже:

Таблица 5

Внешний вид:	Белое или беловатое твердое вещество
--------------	--------------------------------------

Основное эндотермическое событие в ДСК (температура начала) (соответствующая плавлению):	210-215°C
Гигроскопичность:	Псилоцибин образует Гидрат А при высокой влажности, и при добавлении к воде, но вода от гидратации быстро теряется при сушке. Поэтому образуется безводная форма.
Кристаллическая форма:	Безводный Полиморф А и/или А'
pKa (расчетный):	1,74, 6,71, 9,75
Растворимость	<i>приблизительно</i> 15 мг/мл в воде

Псилоцибин соответствует спектру, представленному в таблице 6 ниже и показанному в спектре на Фиг. 10-13.

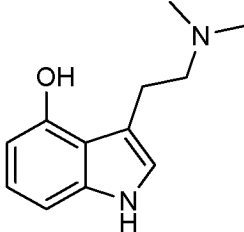
Таблица 6

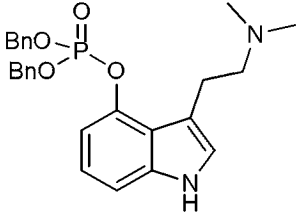
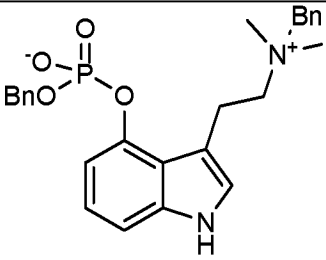
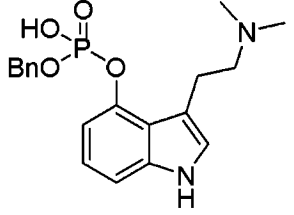
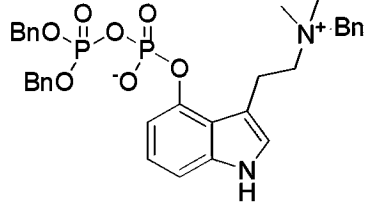
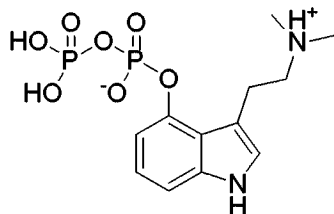
Методика	Conclusions
Протонный (^1H) и углеродный (^{13}C) ЯМР	Расположение протонного (Фиг. 10) и углеродного спектра (Фиг. 11) соответствует Псилоцибину.
ПФ-инфракрасная спектроскопия (ПФ-ИК)	Расположение ПФ-ИК спектра (Фиг. 12) соответствует Псилоцибину.
Mass Spectroscopy (MS)	Assignment of the mass spectrum (Фиг. 13) is concordant with Псилоцибин.

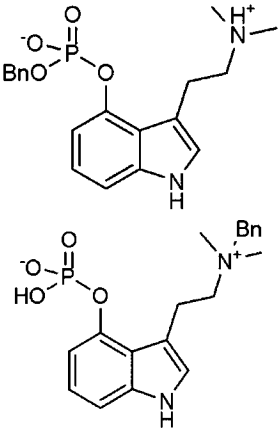
Высокая чистота достигается тщательным контролем условий реакции, чтобы гарантировать, что потенциальные органические примеси значительно уменьшены.

Известные и потенциальные примеси в Псилоцибине показаны в таблице 7 ниже:

Таблица 7

Примесь	Относительное время удержания (ОВУ)	Структура	Происхождение
Псилоцин	1,65		Исходный материал (стадия 3). Также образуется при гидролизе Псилоцибина. Единственная значительная примесь, наблюдаемая в партиях

			псилоцибина.
Стадия 4А			Исходный продукт, образованный в реакции на стадии 4. Превращается в стадию 4 при перемешивании в ТГФ. Превращается в Псилоцибин на стадии 5.
Стадия 4	2,74		Промежуточное соединение
N-Дензилированная стадия 4			Идентифицирована МС на стадии 4. Превращается в Псилоцибин на стадии 5.
Стадия 4 ангидридная примесь			Идентифицирована МС на стадии 4. Превращается в стадию 5 Примесь пиррофосфорной кислоты на стадии 5.
Стадия 5 Примесь пиррофосфорной кислоты			Идентифицирована МС. Образуется из ангидрида стадии 4. Удаляется на стадии 6 перекристаллизацией сочетанием гидролиза в Псилоцибин и повышает растворимость из-за лишней фосфатной группы.

Стадия 5 (промежуточные соединения)	1,89 и 2,45		2 промежуточных соединения образуются во время гидрирования. Они затем превращаются в продукт (структуры на основе химии). Отслеживаются и контролируются в реакции на стадии 5.
----------------------------------------	-------------	-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Также, осторожная обработка обеспечивает сохранение уровней растворителей ниже уровней, показанных в таблице 8.

Таблица 8

Растворитель	Контролируется	Химическая стадия, на которой применяют растворитель
Метанол	3000 ч./млн.	Стадия 5
Этанол	5000 ч./млн.	Стадия 5
ТГФ	720 ч./млн.	Стадия 4
Толуол	890 ч./млн.	Образуется как побочный продукт на стадии 5

Через тщательный выбор рабочей методики, псилоцибиновое лекарственное вещество в соответствии с данным изобретением соответствует критериям приемлемости, указанным в таблице 9 ниже:

Таблица 9

Признак качества	Критерий приемлемости	Способ тестирования
1. Внешний вид	Только для информации.	Визуальный
2. Идентификация по ^1H ЯМР	Сравнивают со ссылочным. Фиг. 10	^1H ЯМР
3. Идентификация по ^{13}C ЯМР	Сравнивают со ссылочным. Фиг. 11	^{13}C ЯМР
4. Идентификация по МС	Сравнивают со ссылочным. Фиг. 12	МС
5. Идентификация по ПФ-ИК	Сравнивают со ссылочным. Фиг. 13	ПФ-ИК
6. Потеря при сушке	НБЧ 2% масс./масс.	Европейская

		фармакопея 2,2,32
7. Остаток при сгорании	НБЧ 0,5% масс./масс.	Фармакопея США <281>
8. Химическая чистота	НМЧ 97% площади	ВЭЖХ
9. Родственные лекарству примеси	Ни одна примесь НБЧ 1,0% площади	ВЭЖХ
10. Анализ (на сухой основе)	95-103% масс.	ВЭЖХ
11. Остаточное содержание растворителя	Метанол НБЧ 3000 ч./млн. Этанол НБЧ 5000 ч./млн. ТГФ НБЧ 720 ч./млн. Толуол НБЧ 890 ч./млн.	ГХВР
12. Содержание фосфорной кислоты	НБЧ 1% масс./масс.	³¹ P ЯМР
13. Элементный анализ ИСП-МС	Cd НБЧ 1,5 ч./млн. Pb НБЧ 1,5 ч./млн. As НБЧ 4,5 ч./млн. Hg НБЧ 9,0 ч./млн. Co НБЧ 15 ч./млн. V НБЧ 30 ч./млн. Ni НБЧ 60 ч./млн. Li НБЧ 165 ч./млн. Pd НБЧ 30 ч./млн.	Фармакопея США <233>
15. Полиморфизм	Соответствует ссылке. Фиг. 7а	ПРД
16. Температура плавления	Результат отчета. Фиг. 8а	ДСК

Аббревиатуры, применяемые в таблице: НБЧ=не более чем, НМЧ=не менее чем.

Методика, применяемая для верификации, представлена в разделе «подробное описание».

Фактически, критерии 6-13 значительно превышены на практике, как отмечено в таблице 10 ниже:

Table 10

Признак качества	Критерий приемлемости	Обычно	Способ тестирования
1. Потеря при сушке		Обычно менее 1%	Европейская

		масс./масс.	фармакопея 2,2,32
2. Остаток при сгорании		Обычно менее 0,2% масс./масс.	Фармакопея США <281>
3. Химическая чистота		Обычно НМЧ 99%	ВЭЖХ
4. Родственные лекарству примеси	Ни одна примесь НБЧ 1,0%	ОВУ 1,49: 0,06% ОВУ 1,69 (Псилоцин): 0,39% ОВУ 1,70: 0,05% Другие МЧ 0,05%: 0,22%	ВЭЖХ
5. Анализ (на сухой основе)	95-103	98,65%	ВЭЖХ
6. Остаточное содержание растворителя	Метанол НБЧ 3000 ч./млн. Этанол НБЧ 5000 ч./млн. ТГФ НБЧ 720 ч./млн. Толуол НБЧ 890 ч./млн.	НБЧ 5 ч./млн. НБЧ 10 ч./млн. НБЧ 5 ч./млн. НБЧ 5 ч./млн.	ГХВР
Содержание фосфорной кислоты	НБЧ 1% масс./масс.	0,2% Отсутствие фосфорной кислоты (H ₃ PO ₄), которое начинается при приблизительно 0 ч./млн.	³¹ P ЯМР
Элементный анализ по ИСП-МС	Cd НБЧ 1,5 ч./млн. Pb НБЧ 1,5 ч./млн. As НБЧ 4,5 ч./млн. Hg НБЧ 9,0 ч./млн. Co НБЧ 15 ч./млн. V НБЧ 30 ч./млн. Ni НБЧ 60 ч./млн. Li НБЧ 165 ч./млн.	МЧ 0,5 ч./млн. МЧ 0,5 ч./млн. МЧ 1 ч./млн. МЧ 1 ч./млн. МЧ 5 ч./млн. МЧ 20 ч./млн. МЧ 10 ч./млн. МЧ 20 ч./млн.	Фармакопея США <233>

	Pd НБЧ 30 ч./млн.	МЧ 5 ч./млн.	
--	-------------------	--------------	--

Аббревиатуры, применяемые в таблице: НБЧ=не более чем, МЧ=менее чем.

Таким образом, кристаллический псилоцибин, в форме Полиморфа А или Полиморфа А', имеет спектр, который подтвержден протонным (^1H) и углеродным (^{13}C) ЯМР, ПФ-инфракрасной спектроскопией (ПФ-ИК) и масс спектроскопией (МС) - Фиг. 10-13.

Он также соответствует любым критериям, указанным в таблице 9 или таблице 10.

Согласно второму аспекту данного изобретения, представлена партия кристаллического псилоцибина в форме Полиморфа А или Полиморфа А' в соответствии с первым аспектом данного изобретения. В одном варианте, представлена партия кристаллического псилоцибина, Полиморфа А или Полиморфа А', содержащая, по крайней мере, 10 г, более предпочтительно, по крайней мере, 100 г, и наиболее предпочтительно, по крайней мере, 250 г. В одном варианте, представлена партия кристаллического псилоцибина, Полиморфа А или Полиморфа А', содержащая, по крайней мере, 10 г, более предпочтительно, по крайней мере, 100 г, и наиболее предпочтительно, по крайней мере, 250 г. В одном варианте, представлена партия псилоцибина высокой чистоты, содержащая, по крайней мере, 10 г, более предпочтительно, по крайней мере, 100 г, и наиболее предпочтительно, по крайней мере, 250 г. В одном варианте, представлена партия Полиморфа А псилоцибина высокой чистоты, содержащая, по крайней мере, 10 г, более предпочтительно, по крайней мере, 100 г, и наиболее предпочтительно, по крайней мере, 250 г. В одном варианте, представлена партия Полиморфа А' псилоцибина высокой чистоты, содержащая, по крайней мере, 10 г, более предпочтительно, по крайней мере, 100 г, и наиболее предпочтительно, по крайней мере, 250 г.

Альтернативно и независимо, кристаллический псилоцибин может принимать форму Гидрата А или Полиморфа В.

Согласно третьему аспекту данного изобретения, представлен фармацевтический состав, содержащий кристаллический псилоцибин и один или более эксципиентов.

В одном варианте, представлен фармацевтический состав, содержащий псилоцибин высокой чистоты и один или более эксципиентов. В другом варианте, представлен фармацевтический состав, содержащий кристаллический Полиморф А псилоцибина и один или более эксципиентов. В другом варианте, представлен фармацевтический состав, содержащий кристаллический Полиморф А' псилоцибина и один или более эксципиентов. В другом варианте, представлен фармацевтический состав, содержащий кристаллический псилоцибин высокой чистоты, Полиморф А или Полиморф А', и один или более эксципиентов. В другом варианте, представлен фармацевтический состав, содержащий кристаллический Полиморф А псилоцибина высокой чистоты и один или более эксципиентов. В другом варианте, представлен фармацевтический состав, содержащий кристаллический Полиморф А' псилоцибина высокой чистоты и один или более эксципиентов.

Альтернативно и независимо, кристаллический псилоцибин в составе может

принимать форму Гидрата А или Полиморфа В.

Предпочтительные фармацевтические эксципиенты для перорального введения включают: разбавители, такие как микрокристаллическая целлюлоза, крахмал, маннит, безводный гидрофосфат кальция или смеси двуокиси кремния, карбоната кальция, микрокристаллической целлюлозы и талька; разрыхлители, такие как гликолят крахмала натрия или кроскармеллоза натрия; связующие агенты, такие как повидон, соповидон или гидроксипропилцеллюлоза; смазывающие агенты, такие как стеарат магния или стеарилфумарат натрия; глиданты, такие как коллоидная двуокись кремния; и пленочные покрытия, такие как белый Opadry II или коричневый Opadry II на основе ПВС.

Псилоцибин является тяжелым для составления активным веществом по множеству причин. Во-первых, он имеет плохие характеристики текучести, и во-вторых, его применяют в относительно низких дозах, что, совместно, затрудняет обеспечение однородности содержимого при таблетировании.

Хорошая смесь будет иметь Критерий приемлемости, значение КП менее 15, и более предпочтительно, менее 10.

Она также имеет % заявленного значения более 90%, более предпочтительно, более 94%.

Между ними, эти параметры показывают соответствующее дозирование псилоцибина между таблетками.

Для большинства фармацевтических таблеток могут применяться стандартные эксципиенты, в частности, наполнители. Однако в процессе составления таблеток псилоцибина заявитель обнаружил, что для получения удовлетворительного продукта предпочтителен нестандартный наполнитель.

В связи с этим выбирают функциональный наполнитель. Функциональным наполнителем является силикативированный наполнитель, предпочтительно, силикативированная микрокристаллическая целлюлоза. Предпочтительные формы содержат сорта с высокой прессуемостью, с размером частиц около 45-150 микронов.

Фактически может применяться смесь двух функциональных наполнителей, имеющих разные интервалы размера частиц с массовыми долями из двух в пользу частиц большего размера.

В одном варианте силикативированный микрокристаллический наполнитель может содержать первый наполнитель, имеющий размер частиц около 45-80 микронов в количестве вплоть до 30%, более предпочтительно, вплоть до 20%, более предпочтительно, вплоть до 15% или менее, и второй наполнитель, имеющий размер частиц около 90-150 микронов в количестве вплоть до 70%, более предпочтительно, вплоть до 80, и более предпочтительно, вплоть до 85% или более, массовых.

Состав может дополнительно содержать или состоять из разрыхлителя, предпочтительно, гликолята крахмала натрия, глиданта, предпочтительно, коллоидной двуокиси кремния, и смазывающего агента, предпочтительно, стеарилфумарата натрия.

Другие подробности разработки состава даны в примере 12.

Необходимо отметить что составы могут содержать псилоцибин в любой форме, не только в описанных предпочтительных полиморфных формах.

В Studerus et al (2011) J Psychopharmacol 25(11) 1434-1452 классифицированы пероральные дозы псилоцибина следующим образом: очень низкие дозы 0,045 мг/кг; низкие дозы 0,115-0,125 мг/кг, средние дозы 0,115-0,260 мг/кг и высокие дозы 0,315 мг/кг.

Псилоцибин обычно присутствует в составленной дозе в количестве от 0,01 мг/кг до 1 мг/кг. Типовая доза для человека (для взрослого человека с массой тела 60-80 кг) будет равна дозе приблизительно от 0,60 мг до 80 мг. В одном варианте, 2-50 мг кристаллического псилоцибина, наиболее предпочтительно, Полиморф А или Полиморф А' присутствует в составленной дозе, такой как 2-40 мг, такой как 2-10 мг, такой как 5 мг, такой как 5-30 мг, такой как 5-15 мг, такой как 10 мг, такой как 20-30 мг или такой как 25 мг. В одном варианте, 2-50 мг кристаллического псилоцибина, в частности, Полиморфа А, присутствует в составленной дозе, например, 2-40 мг, например, 2-10 мг, например, 5 мг, например, 5-30 мг, например, 5-15 мг, например, 10 мг, например, 20-30 мг или, например, 25 мг. В одном варианте, 2-50 мг кристаллического псилоцибина, в частности, Полиморфа А', присутствует в составленной дозе, например, 2-40 мг, например, 2-10 мг, например, 5 мг, например, 5-30 мг, например, 5-15 мг, например, 10 мг, например, 20-30 мг или, например, 25 мг.

Предпочтительные дозы для взрослых, вероятно, находятся в интервале от 1 мг до 40 мг, предпочтительно, 2-30 мг, более предпочтительно, 15-30 мг, например, 5 мг, 10 мг или 25 мг. Микродозирование, обычно десятые части этих доз, также возможны с микродозовыми составами, обычно, в интервале от 0,05 мг до 2,5 мг.

Предпочтительным фармацевтическим составом является пероральная форма.

Пероральной лекарственной формой может быть таблетка или капсула.

Для таблетки необходима возможность точного диспергирования активного вещества. Это трудно из-за низких доз и гигроскопической и липкой природы активного вещества, что ограничивает текучесть.

Псилоцибин присутствует вместе с одним или более эксципиентами. Предпочтительные эксципиенты включают микрокристаллическую целлюлозу и крахмал, более конкретно, силикатированную микрокристаллическую целлюлозу.

Согласно четвертому аспекту данного изобретения представлен кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' согласно первому аспекту данного изобретения для применения в медицине. В одном варианте, представлен кристаллический Полиморф А псилоцибина для применения в медицине. В одном варианте, представлен кристаллический Полиморф А' псилоцибина для применения в медицине. В одном варианте, представлен высокой чистоты кристаллический Полиморф А псилоцибина для применения в медицине. В одном варианте, представлен высокой чистоты кристаллический Полиморф А' псилоцибина для применения в медицине.

Альтернативно и независимо, кристаллический псилоцибин может принимать форму Гидрата А или Полиморфа В.

Согласно пятому аспекту данного изобретения, представлен кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по первому аспекту данного изобретения для применения в лечении расстройств центральной нервной системы.

Альтернативно и независимо, кристаллический псилоцибин может принимать форму Гидрата А или Полиморфа В.

В одном варианте, представлен кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А', для применения в лечении депрессии. В одном варианте, представлен кристаллический псилоцибин, Полиморф А или Полиморф А', для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии. В одном варианте, представлен кристаллический Полиморф А псилоцибина для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии. В одном варианте, представлен кристаллический Полиморф А' псилоцибина для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии. В одном варианте, представлен высокой чистоты кристаллический Полиморф А псилоцибина для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии. В одном варианте, представлен высокой чистоты кристаллический Полиморф А' псилоцибина для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии.

Другие состояния, которые можно лечить, включают: тревожные расстройства, включая тревожность при поздней стадии болезни, например рака, а также генерализованное тревожное расстройство, депрессию, включая клиническую депрессию, гистаминовые головные боли, обсессивно-компульсивное расстройство, расстройства личности, включая расстройство поведения, лекарственные расстройства, включая: алкогольную зависимость, никотиновую зависимость, опиоидную зависимость, кокаиновую зависимость и другие зависимости, в том числе игровую зависимость, пищевую зависимость и питание Расстройство и дисморфофобию. Еще одним состоянием является лечение боли.

Согласно шестому аспекту данного изобретения, представлен способ лечения расстройств центральной нервной системы, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы кристаллического псилоцибина в форме Полиморфа А или Полиморфа А' согласно первому аспекту данного изобретения.

В одном варианте, представлен способ лечения депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы кристаллического псилоцибина в форме Полиморфа А или Полиморфа А'. В одном варианте, представлен способ лечения резистентной к лекарственному средству депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы кристаллического псилоцибина в форме Полиморфа А или Полиморфа А'. В одном варианте, представлен способ лечения резистентной к лекарственному средству депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы Полиморфа А псилоцибина. В одном варианте, представлен способ лечения резистентной к лекарственному средству депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы Полиморфа

А' псилоцибина. В одном варианте, представлен способ лечения резистентной к лекарственному средству депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы высокой чистоты кристаллического Полиморфа А псилоцибина. В другом варианте, представлен способ лечения резистентной к лекарственному средству депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы высокой чистоты кристаллического Полиморфа А' псилоцибина.

Альтернативно и независимо, кристаллический псилоцибин может принимать форму Гидрата А или Полиморфа В.

Для получения псилоцибина в соответствии с данным изобретением псилоцибин кристаллизуют из воды контролируемым способом.

Согласно седьмому аспекту данного изобретения представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина, характеризующийся тем, что способ включает стадию водной кристаллизации псилоцибина с контролируемой сушкой с получением кристаллического Полиморфа А псилоцибина согласно первому аспекту данного изобретения.

В одном варианте, представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина, характеризуемый тем, что способ включает стадию водной кристаллизации псилоцибина с контролируемой сушкой с получением кристаллического Полиморфа А псилоцибина с ПРД дифрактограммой, которая показана на Фиг. 7а и ДСК и ТГА термограммами, которые показаны на Фиг. 8а. В другом варианте, представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина, характеризуемый тем, что способ включает стадию водной кристаллизации псилоцибина с контролируемой сушкой с получением высокой чистоты кристаллического псилоцибина - Полиморфа А с ПРД дифрактограммой, которая показана на Фиг. 7а и ДСК термограммой, которая показана на Фиг. 8а.

Предпочтительно, Полиморф А является изоструктурным вариантом с ПРД дифрактограммой, которая показана на Фиг. 7а, и ДСК термограммой, которая показана на Фиг. 8а.

Более предпочтительно, псилоцибин перекристаллизовывают обычно в около 10-20 объемах воды, нагревают при перемешивании до температуры, по крайней мере, 70°C, проводят доочистку на фильтре с подходящим обрезанием (обычно, ниже 5 мкм), высевают при температуре около 70°C и охлаждают под контролем до около 5°C в течение более 2 часов.

Более предпочтительно, способ включает контролируемое охлаждение, которое опускает температуру на около 5°C-15°C в час, более предпочтительно, около 10°C в час.

Предпочтительно, стадию доочистки на фильтре проводят через фильтр подходящего размера, такого как 1,2 мкм линейный фильтр.

Предпочтительно, перемешивание проводят перемешиванием при около 400-500 об./мин, обычно около 450 об./мин.

Предпочтительно, затравкой является Гидрат А псилоцибина. В одном варианте, 0,1% массовый или менее добавляют в процесс.

Предпочтительно, кристаллический псилоцибин выделяют вакуумной фильтрацией.

В одном варианте, выделенные кристаллы сушат *в вакууме* при температуре, по крайней мере, 30°C, такой как 30-50°C, или такой как 40-50°C. В одном варианте, выделенные кристаллы сушат *в вакууме* в течение, по крайней мере, 10 часов, например, 12-18 часов или, например, около 30 часов. В одном варианте, выделенные кристаллы сушат *в вакууме* при температуре, по крайней мере, 30°C, такой как 30-50°C, или такой как 40-50°C, в течение, по крайней мере, 10 часов, например, 12-18 часов, или, например, около 30 часов. В одном варианте, выделенные кристаллы сушат до тех пор, пока выделенные кристаллы не потеряют менее 2% массовых в тесте потери при сушке, например, менее 0,5% массовых.

Предпочтительно, выделенные кристаллы промывают несколько раз в воде и сушат *в вакууме* при около 50°C в течение, по крайней мере, 12 часов.

Полученные кристаллы обычно относительно большие (50-200 микронов) и однородные при рассматривании под микроскопом x 10, что показано на Фиг. 16а.

Это отличается от кристаллов, полученных без контролируемого охлаждения, которые намного меньшего размера (обычно 5-50 микронов) при рассматривании под микроскопом x 10, что показано на Фиг. 16b.

Согласно восьмому аспекту данного изобретения, представлен Псилоцибин по первому аспекту данного изобретения, полученный способом кристаллизации в соответствии с данным изобретением.

Согласно девятому аспекту данного изобретения, представлен фармацевтический состав, содержащий псилоцибин согласно первому аспекту данного изобретения, полученный способом кристаллизации в соответствии с данным изобретением.

Псилоцибин, произведенный до кристаллизации, может быть получен любым способом: синтетическим или биологическим, например, ферментацией, или получен экстрагированием из грибов.

В предпочтительных способах производства применяется псилоцин или 4-гидроксииндол в качестве исходного материала.

Согласно десятому аспекту данного изобретения, представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина из псилоцина, включающий стадии:

i) Стадия 4 - взаимодействие псилоцина с тетрабензилпирофосфатом с получением фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1H-индол-4-ила; и

ii) Стадия 5 - взаимодействие фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1H-индол-4-ила с водородом и с получением псилоцибина.

Согласно одиннадцатому аспекту данного изобретения, представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина из 4-гидроксииндола, содержащий стадии:

i) Стадия 1 - взаимодействие 4-гидроксииндола с уксусным ангидридом с получением ацетата 1H-индол-4-ила;

ii) Стадия 2 - взаимодействие ацетата 1Н-индол-4-ила с оксалилхлоридом и диметиламином с получением ацетата 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила;

iii) Стадия 3 - взаимодействие ацетата 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила с алюмогидридом лития с получением псилоцицина;

iv) Стадия 4 - взаимодействие псилоцицина с тетрабензилпирофосфатом с получением фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила; и

v) Стадия 5 - взаимодействие фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила с водородом с получением псилоцибина.

Согласно двенадцатому аспекту данного изобретения представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина согласно десятому или одиннадцатому аспекту данного изобретения, дополнительно включающий:

vi) Стадию 6 - водной кристаллизации с контролируемой сушкой с получением кристаллического Полиморфа А псилоцибина согласно первому аспекту данного изобретения.

В одном варианте, представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина согласно десятому или одиннадцатому аспекту данного изобретения, дополнительно включающий:

vi) Стадию 6 - водной кристаллизации с контролируемой сушкой с получением кристаллического псилоцибина - Полиморфа А с ПРД дифрактограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 7а, и ДСК термограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 8а.

В одном варианте, представлен способ крупномасштабного производства псилоцибина согласно десятому или одиннадцатому аспекту данного изобретения, дополнительно включающий:

vi) Стадию 6 - водной кристаллизации с контролируемой сушкой с получением высокой чистоты кристаллического псилоцибина - Полиморфа А с ПРД дифрактограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 7а, и ДСК термограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 8а.

Предпочтительно, кристаллическим псилоцибином является Полиморф А.

При разработке методики крупномасштабного производства псилоцицина или псилоцибина заявитель преодолел одну или более значительных проблем на каждой из стадий 1-5, и хотя эти проблемы рассматриваются в контексте каждой стадии крупномасштабного производства псилоцицина или псилоцибина, или, точнее, способы преодоления каждой проблемы считаются отдельными и независимыми изобретениями, так как они применяются в производстве других активных веществ, являются ли они промежуточными соединениями для псилоцицина, псилоцибина, или другими производными, солями, сложными эфирами и подобными, которые дают пролекарство.

Предпочтительно, стадия 4 (i) реакции включает применение гексаметилдисалазида натрия (NaHMDS).

Он имеет преимущества по сравнению с применением бутиллития в том, что: i) с

ним проще обращаться, и ii) он не вводит литий в реакцию, что может вызвать вопросы в дальнейшем производственном процессе.

Предпочтительно, в реакции применяют растворитель ТГФ.

Преимущество заключается в том, что полученный продукт получают со значительно большей чистотой.

Предпочтительно, на (i) реакцию начинают при температуре ниже -50°C .

Преимущество заключается в снижении уровней примесей (m/z 295,2 по ЖХМС), что значительно влияет на чистоту после.

Более предпочтительно, на Стадии 4 (ii) применяют ТГФ в качестве растворителя.

Преимущество заключается в гарантии отсутствия загущения и облегчения простого перемешивания для получения продукта.

Предпочтительно, Стадия 4 (ii) включает процесс перемешивания с получением фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1H-индол-4-ила.

Процесс перемешивания имеет преимущество, заключающееся в том, что процесс упрощается и выход улучшается.

Для того, чтобы реакция на Стадии 4 (ii) завершилась, отслеживают уровни промежуточного соединения 4A, и при завершении фосфат бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1H-индол-4-ила фильтруют и сушат в печи.

Преимущество заключается в том, что минимизируются примеси и получают более чистый продукт.

Предпочтительно, в реакции на Стадии 5 отслеживают уровни промежуточных соединений по ВЭЖХ, применяя относительное время удержания (ОВУ), и завершение определяют по присутствию промежуточных соединений в количестве менее 0,2%.

Неочищенный псилоцибин (продукта Стадии 5, (12)) имеет основанные примеси со стадии 5, относительно время удержания которых (ОВУ) в способе ВЭЖХ составляет около 1,89 и 2,45, соответственно, и псилоцин (ОВУ 1,66). Эти примеси показаны в таблице 7. Обычно неочищенный псилоцибин (продукт Стадии 5 (12)) имеет 0,24% площади примеси с ОВУ 1,89, 0,03% площади примеси с ОВУ 2,45 и 1,86% площади псилоцина. Кроме того, примесь пиррофосфорной кислоты (ОВУ 0,31) присутствует в неочищенном псилоцибине, например, на уровне около 2-6% площади по ВЭЖХ.

На этом уровне могут быть проведены последующие процессы кристаллизации с получением по существу чистого псилоцибина, например, псилоцибина, имеющего чистоту, по крайней мере, 95% площади по ВЭЖХ, такую как, крайней мере, 98% площади, или такую как, по крайней мере, 99% площади. В одном варианте, примесь пиррофосфорной кислоты (ОВУ 0,31) присутствует в по существу чистом псилоцибине на уровне менее 0,3% площади по ВЭЖХ, например, менее 0,2% площади, или, например, менее 0,1% площади.

Кроме того, во время этой стадии добавляют воду в реакционную смесь для сохранения псилоцибина в растворе.

Предпочтительно, катализатор восстанавливают фильтрацией.

Предпочтительно, на Стадии 1 реакцию проводят в ДХМ и пиридине.

Преимущество заключается в отсутствии воспламеняющихся растворителей.

Предпочтительно, реакцию смесь промывают лимонной кислотой с получением pH около 2-3 для удаления избыточного пиридина, и кислую фазу отделяют от ДХМ фазы.

Преимущество заключается в том, что может быть выделено промежуточное соединение 2A, что позволяет очистку без избытка оксалилхлорида.

Более предпочтительно, ДХМ фазу затем промывают бикарбонатом натрия при pH около 8.

Преимущество заключается в более чистой обработке.

Предпочтительно, ацетат 1H-индол-4-ила осаждают в гептане.

Это помогает осаждению и позволяет преодолеть некоторые вопросы частичной растворимости.

Предпочтительно, сульфат магния применяют в качестве сушащего агента.

Предпочтительно, применяют растворители трет-бутилметиловый эфир (МТБЭ) и тетрагидрофуран (ТГФ).

Предпочтительно, реакцию с оксалилхлоридом проводят при около 30°C-40°C.

Преимущество заключается в обеспечивании более высокой скорости реакции, дающей улучшенные уровни завершения.

Предпочтительно, промежуточное соединение 2A выделяют фильтрацией.

Преимущество заключается в очистке промежуточного соединения без избытка оксалилхлорида.

Предпочтительно, на Стадии 2, стадии i промежуточное соединение 2A также промывают для удаления избыточного оксалилхлорида.

Предпочтительно, промежуточное соединение 2A промывают МТБЭ.

Предпочтительно, проводят добавление гептана для осаждения дополнительного промежуточного соединения 2A.

Предпочтительно, на Стадии 2, стадии ii, диметиламин применяют в избытке.

Преимущество заключается в значительно улучшенном профиле примесей и получаемом выходе.

Предпочтительно, pH сохраняется на уровне около или выше pH 7.

Предпочтительно, реакцию проводят в МТБЭ.

Предпочтительно, эта стадия дополнительно включает стадию очистки, которая удаляет соли диметиламина.

Преимущество заключается в улучшении чистоты.

Предпочтительно, эта стадия включает стадии суспендирования и фильтрации.

Преимущество заключается в улучшении технологичности и чистоты.

Более предпочтительно, она включает суспендирование с водой и/или ИПС, фильтрацию и сушку выделенного ацетата 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1H-индол-4-ила.

Преимущество заключается в улучшении чистоты и выхода и снижении гидролиза.

Предпочтительно, на Стадии 3 реакцию проводят в растворителе ТГФ.

Преимущество заключается в получении суспензии/эмульсии без загущения.

Предпочтительно, ацетат 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1H-индол-4-ила добавляют в раствор $LiAlH_4$ в ТГФ.

Предпочтительно, реакцию гасят ацетоном, затем лимонной кислотой, обеспечивая то, что смесь остается сильно щелочной (pH 11 или выше).

Преимущество заключается в получении более высокого выхода.

Предпочтительно, псилоцин фильтруют и промывают в ТГФ и суспендируют в $PrOAc:MTBЭ$, фильтруют, промывают в МТБЭ и сушат.

Преимущество заключается в получении продукта высокой чистоты, например, по крайней мере, 95% чистого по ВЭЖХ, например, по крайней мере, 98% чистого по ВЭЖХ, или, например, по крайней мере, 99% чистого по ВЭЖХ.

Предпочтительный способ производства включает каждую из Стадий 1-6, но должно быть понятно, что каждая из характеристик может оставаться единственной или может применяться в сочетании с любой другой характеристикой из той же или другой стадии реакции.

Псилоцибин данной формы, Полиморфа А или Полиморфа А', и псилоцибин такой высокой чистоты ранее не получали, и заявителям известно, что их получение Полиморф А и Полиморф А', в частности (которые показаны на Фиг 7a& 7b и 8a& 8b), является новым. Действительно, производство больших партий Полиморфа А является новым. Результатом методики кристаллизации в соответствии с данным изобретением и, частично, производственного процесса является получение такой высокой химической чистоты кристаллического псилоцибина.

Более того, с учетом нестабильной природы соединения, они получили кристаллическую форму, которая показала себя стабильной в тяжелых условиях (описаны ниже) в течение, по крайней мере, 12 месяцев.

Полиморф А и А' (Фиг. 7a и 7b) отличается от Полиморфа В (Фиг. 7c), Гидрата А (Фиг. 7d) и этанольного сольвата (Фиг. 7e) и смеси (Фиг. 7f (верх)), что очевидно из их ПРД дифрактограмм и ДСК термограмм, как описано ниже.

Отношение между различными полиморфами показано на Фиг. 9.

Действительно, размер и форма кристаллов определяются методикой кристаллизации, и они, в свою очередь, могут влиять на стабильность и способность продукта к составлению.

В особенно предпочтительном варианте, псилоцибин производят 6-стадийным способом, как показано ниже:

Согласно другому аспекту данного изобретения, представлен способ производства кристаллического псилоцибина согласно первому аспекту данного изобретения, отличающийся тем, что способ включает водную кристаллизацию псилоцибина с контролируемой сушкой с получением кристаллического Полиморфа А псилоцибина или Полиморф А', согласно первому аспекту данного изобретения. В одном варианте,

представлен способ производства кристаллического псилоцибина согласно первому аспекту данного изобретения, отличающийся тем, что способ включает водную кристаллизацию, с контролируемой сушкой, с получением кристаллического псилоцибина - Полиморфа А или Полиморфа А' с ПРД дифрактограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 7а или Фиг. 7б, и ДСК термограммой, которая, по существу, показана на Фиг. 8а или 8б. В одном варианте, представлен способ производства псилоцибина согласно первому аспекту данного изобретения, отличающийся тем, что способ включает водную кристаллизацию с контролируемой сушкой с получением высокой чистоты кристаллического псилоцибина - Полиморфа А или Полиморфа А' с ПРД дифрактограммой, которая показана на Фиг. 7а или Фиг. 7б и ДСК термограммой, которая показана на Фиг. 8а или Фиг. 8б.

Предпочтительно, Полиморф А и Полиморф А' являются изоструктурными вариантами с ПРД дифрактограммами, которые, по существу, показаны на Фиг. 7а и Фиг. 7б, и ДСК термограммами которые, по существу, показана на Фиг. 8а и Фиг. 8б.

Более предпочтительно, псилоцибин перекристаллизовывают в около 10-20 объемах воды, нагревают при перемешивании до температуры, по крайней мере, 70°C, доочищают на фильтре с подходящей нарезкой (обычно, ниже 5 мкм), высевают при температуре около 70°C и охлаждают под контролем до около 5°C в течение более 2 часов.

Более предпочтительно, способ включает контролируемое охлаждение, которое снижает температура на около 5°C-15°C в час, более предпочтительно, около 10°C в час.

Предпочтительно, стадию доочистки на фильтре проводят через фильтр подходящего размера, такой как 1,2 мкм или 0,45 мкм во встроенном фильтре.

Предпочтительно, перемешивание проводят перемешиванием при около 400-500 об./мин, обычно около 450 об./мин.

Предпочтительно, затравкой является Гидрат А псилоцибина. В одном варианте, 0,1% массовых или менее затравки добавляют в процесс.

Предпочтительно, кристаллический псилоцибин выделяют вакуумной фильтрацией.

В одном варианте, выделенные кристаллы сушат *в вакууме* при температуре, по крайней мере, 30°C, такой как 30-50°C, или такой как 40-50°C. В одном варианте, выделенные кристаллы сушат *в вакууме* в течение, по крайней мере, 10 часов, например, 12-18 часов, или например, около 30 часов. В одном варианте, выделенные кристаллы сушат *в вакууме* при температуре по крайней мере, 30°C, такой как 30-50°C, или такой как 40-50°C, в течение, по крайней мере, 10 часов, например, 12-18 часов, или например, около 30 часов. В одном варианте, выделенные кристаллы сушат до тех пор, пока выделенные кристаллы не потеряют менее 2% в тесте потери при сушке, например, менее 0,5% массовых.

Предпочтительно, выделенные кристаллы промывают несколько раз в воде и сушат *в вакууме* при около 50°C в течение, по крайней мере, 12 часов.

Полученные кристаллы обычно относительно большие (50-200 микронов) и однородные, при рассмотривании под микроскопом x 10, что показано на Фиг. 16а.

Это отличается от кристаллов, полученных без контролируемого охлаждения, которые намного меньшего размера (обычно 5-50 микронов) при рассматривании под микроскопом $\times 10$, что показано на Фиг. 16b.

Стадия 1: Синтез ацетата 1Н-индол-4-ила (3)

Основной реакцией является реакция 4-гидроксииндола (1) с уксусным ангидридом (2) с получением ацетата 1Н-индол-4-ила (3); (Фиг. 2)

Наиболее предпочтительно, стадия 1 проходит следующим образом:

4-гидроксииндол (1), ДХМ (12) и пиридин (13) добавляют в сосуд и охлаждают до около 0-5°C. Уксусный ангидрид (2) добавляют по каплям, и смесь нагревают до около 20-25°C и перемешивают до полного растворения по ВЭЖХ. Реагенты промывают водным раствором лимонной кислоты (14) и водным NaHCO_3 (15), сушат над MgSO_4 (16), фильтруют и выпаривают до приблизительно половины объема. Добавляют гептан (17), и дистилляцию проводят для удаления основной части ДХМ. Смесь охлаждают до около 5-25°C, фильтруют, промывают гептаном и сушат в вакуумной печи в течение ночи для выделения ацетата 1Н-индол-4-ила (3) в виде твердого вещества, подходящего для применения на следующей стадии.

Стадия 2: Синтез ацетата 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила (6)

Основной реакцией является реакция ацетата 1Н-индол-4-ила (3) с оксалилхлоридом (4) и диметиламином (5) с получением ацетата 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила (6); (Фиг. 3)

Наиболее предпочтительно, стадия 2 проходит следующим образом:

Ацетат 1Н-индол-4-ила (3) растворяют в смеси ТГФ (19) и МТБЭ (18) при комнатной температуре. Оксалилхлорид (4) добавляют по каплям, позволяя экзотермическую реакцию при около 35-40°C. Интервал температуры сохраняют все время добавления. Затем реакционную смесь перемешивают при около 40°C до завершения по ВЭЖХ. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и добавляют гептан (17), что вызывает выпадение в осадок дополнительного твердого вещества. Суспензию перемешивают, затем дают осесть, затем удаляют основную часть растворителя (18/19) декантированием. Твердое вещество дважды промывают в сосуде гептаном (17). Добавляют МТБЭ (18) с получением желтой суспензии, и смесь охлаждают до около -20°C. Добавляют раствор диметиламина (5), сохраняя температуру от -20°C до -10°C. Затем реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают до завершения, добавляя дополнительный диметиламин при необходимости. Реакционную смесь фильтруют, промывают гептаном (17) и сушат в вакуумной печи. Неочищенный ацетат 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила (6) затем очищают суспендированием в воде (20), затем ИПС (21) и затем сушат в вакуумной печи с получением (6) в виде твердого вещества для применения на следующей стадии.

Стадия 3: Синтез 3-(2-(диметиламино)этил)-1Н-индол-4-ола (Псилоцин) (8)

Основной реакцией является реакция ацетата 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила (6) с алюмогидридом лития (7) с получением псилоцина (8); (Фиг. 4)

Наиболее предпочтительно, стадия 3 проходит следующим образом:

Ацетат 3[(диметилкарбамоил)карбонил]-1Н-индол-4-ила (6) перемешивают в ТГФ (19) и охлаждают до около 0°C. ТГФ раствор LiAlH₄ (7) добавляют по каплям, сохраняя температуру около 0-20°C. Затем реакцию смесь кипятят с обратным холодильником до завершения по ВЭЖХ. Реакционную смесь охлаждают до 0°C и избыток LiAlH₄ гасят добавлением ацетона (22), затем водного раствора лимонной кислоты (14). Затем партию фильтруют для удаления солей лития и алюминия. Фильтрат сушат над MgSO₄ (16), фильтруют и концентрируют и загружают в слой двуокиси кремния (23). Слой элюируют ТГФ (19) и фракции, содержащие продукт, выпаривают. Полученное твердое вещество суспендируют в смеси iPrOAc:МТБЭ (24/18), фильтруют и промывают МТБЭ. Твердое вещество сушат в печи с получением высокой чистоты псилоцина (8) в виде беловатого вещества.

Стадия 4: Синтез фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила (10)

Основной реакцией является реакция псилоцина (8) с тетрабензилпирофосфатом (9) с получением фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила (10), (Фиг. 5)

Наиболее предпочтительно, стадия 4 проходит следующим образом:

Загружают псилоцин (8) в сосуд, затем добавляют ТГФ (19). Реакционную смесь охлаждают до температуры от -50°C до -70°C и NaHMDS (25) добавляют по каплям при температуре от около -45°C до -70°C. Температуру доводят до от -45°C до -60°C и добавляют тетрабензилпирофосфат в ТГФ. Партию нагревают до 0°C, затем твердые побочные продукты удаляют фильтрацией, и фильтрат концентрируют *в вакууме*. Концентрированную смесь затем нагревают до около 40°C и перемешивают до тех пор, пока промежуточное соединение не превратится в продукта со стадии 4 (10) - контролируют отслеживанием и применением ВЭЖХ. партию охлаждают до около 0-5°C, и полученное твердое вещество удаляют фильтрацией и сушат *в вакууме* с получением фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила (10) в виде твердого вещества.

Стадия 5: Синтез промежуточного гидрофосфата 3-[2-(диметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила (неочищенный Псилоцибин) (12)

Основная реакция включает взаимодействие фосфата бензил 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила (10) с водородом (11) с получением псилоцибина (12), (Фиг. 6).

Наиболее предпочтительно, стадия 5 проходит следующим образом:

В сосуд загружают Pd/C (26), метанол (24) и фосфат 3-[2-(бензилдиметилазаниумил)этил]-1Н-индол-4-ила (10), и полученную смесь продувают водородом (11) до завершения по ВЭЖХ. Очищенную воду (20) добавляют во время этого процесса для сохранения продукта в растворе. Смесь нагревают до около 35°C-45°C и затем фильтруют через слой Целита (27), промывая метанолом (24) и очищенной водой (20). Фильтрат выпаривают *в вакууме*, азеотропируя этанолом (28) с получением

промежуточного псилоцибина (12).

Стадия 6: Синтез гидрофосфата 3-[2-(диметилазаниумил)этил]-1H-индол-4-ила (Псилоцибин)

Основной стадией очистки/определения полиморфа является стадия водной кристаллизацией с последующим контролируемым охлаждением и стадией сушки, с получением высокой чистоты кристаллического псилоцибина, Полиморфа А или Полиморфа А'.

Наиболее предпочтительно, стадия 6 проходит следующим образом:

Промежуточный Псилоцибин (12) (стадия 5) загружают в сосуд с очищенной водой (20), и смесь нагревают до растворения псилоцибина (12). Полученный основной раствор затем дочищают фильтрацией в заранее нагретый сосуд. Температуру доводят до, предпочтительно, около 68°C-70°C, и заправку гидрата Псилоцибина (т.е. Гидрат А) добавляют к реакционной смеси. Партию затем охлаждают под контролем до около 0-10°C и перемешивают, и твердые вещества собирают фильтрацией и промывают очищенной водой. Выделенные твердые вещества затем сушат *in vacuo* с получением высокой чистоты кристаллического Псилоцибина, Полиморфа А или А', в виде беловатого твердого вещества.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Варианты данного изобретения описаны ниже со ссылкой на прилагаемые чертежи, в которых:

На Фиг. 1 представлена схема реакции, описанной в JNP;

На Фиг. 2 представлена схема реакции со Стадии 1 одного аспекта данного изобретения;

На Фиг. 3 представлена схема реакции со Стадии 2 одного аспекта данного изобретения;

На Фиг. 4 представлена схема реакции со Стадии 3 одного аспекта данного изобретения;

На Фиг. 5 представлена схема реакции со Стадии 4 одного аспекта данного изобретения;

На Фиг. 6 представлена схема реакции со Стадии 5 одного аспекта данного изобретения;

На Фиг. 7a представлена ПРД дифрактограмма Полиморфа А (GM764B);

На Фиг. 7b представлена ПРД дифрактограмма Полиморфа А' (JCCA2160F);

На Фиг. 7c представлена ПРД дифрактограмма Полиморфа В; (JCCA2160-F-TM2);

На Фиг. 7d представлена ПРД дифрактограмма Гидрата А (JCCA2157E);

На Фиг. 7e представлена ПРД дифрактограмма этанольного сольвата (JCCA2158D);

На Фиг. 7f представлена ПРД дифрактограмма продукта, полученного во время развития процесса (CB646-E) (сверху) - по сравнению с дифрактограммами Полиморфа А' (JCCA2160F) (по середине) и Полиморфа В (JCCA2160-TM2) (снизу);

На Фиг. 8a представлена ДСК и ТГА термограмма Полиморфа А (GM764B);

На Фиг. 8b представлена ДСК и ТГА термограмма Полиморфа А' (JCCA2160F);

На Фиг. 8c представлена ДСК термограмма Полиморфа В (GM748A);

На Фиг. 8d представлена ДСК и ТГА термограмма Гидрата А (JCCA2157E);

На Фиг. 8e представлена ДСК и ТГА термограмма этанольного сольвата (JCCA2158D);

На Фиг. 9 фазовая диаграмма формы, показывающая взаимоотношение формы в системах на основе воды;

На Фиг. 10 представлен ^1H ЯМР спектр Псилоцибина; (читать вместе с соответствующим примером 7);

На Фиг. 11 представлен ^{13}C ЯМР спектр Псилоцибина; (читать вместе с соответствующим примером 7);

На Фиг. 12 представлен ПФ-ИК спектр Псилоцибина;

На Фиг. 13 представлен масс спектр Псилоцибина;

На Фиг. 14 представлена пронумерованная структурная форма Псилоцибина;

На Фиг. 15 представлена кривая растворимости от температуры для Псилоцибина в воде;

На Фиг. 16a представлена микрофотография, показывающая кристаллы, полученные при контролируемом охлаждении;

На Фиг. 16b представлена микрофотография, показывающая кристаллы, полученные при не контролируемой сушке охлаждением;

На Фиг. 17 представлена фазовая диаграмма формы, показывающая взаимоотношения форм в разных системах растворителей;

На Фиг. 18 представлена ПРД дифрактограмма - Шаблон С для твердых веществ, выделенных при 25 и 50°C;

На Фиг. 19 представлены ПРД дифрактограммы - Шаблоны D, E и F для твердых веществ, выделенных при 25 и 50°C;

На Фиг. 20 представлено сравнение ПРД дифрактограмм, полученных для твердых веществ, выделенных при уравнивании аморфного Псилоцибина в растворителях А-Н;

На Фиг. 21 представлено сравнение ПРД дифрактограмм, полученных для твердых веществ, выделенных при уравнивании аморфного Псилоцибина в растворителях I-P; и

На Фиг. 22 представлено сравнение ПРД дифрактограмм, полученных для твердых веществ, выделенных при уравнивании аморфного Псилоцибина в растворителях R-Y.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В отличие от известного уровня техники, данное изобретение рассматривает получение псилоцибина в коммерческом масштабе, в количествах или партиях, по крайней мере, 100 г, и, более предпочтительно, по крайней мере, 250 г, уровнях на 1 log или 2 log выше, чем уровни, описанные в JNP, где описан “крупно” масштабный способ получения

количестве в граммах на уровне 10 г шкалы.

Для демонстрации многих значительных стадий развития из JNP, в описании ниже представлены детали экспериментов и исследований, проведенных на каждой из стадий способа, которые иллюстрируют выбор, сделанный для преодоления множественных технических проблем, возникших при производстве псилоцибина (7) для GMP в крупном масштабе (включая различные промежуточные соединения (2-6)), начиная с 4-гидроксииндола (1).

Ссылка на конкретное числовое значение включает в себя, по крайней мере, это конкретное значение, если контекст явно не предписывает иное. Когда выражен интервал значений, другой вариант осуществления включает в себя от одного конкретного значения и/или до другого конкретного значения. Кроме того, ссылка на значения, указанные в интервалах, включает каждое и любое значение в этом интервале. Все интервалы являются включающими и комбинируемыми.

Когда значения выражены в виде приближений с использованием предшествующего «около», должно быть понятно, что конкретное значение образует другой вариант.

Как здесь используется, формы единственного числа «a», «an» и «the» включают множественное число.

Термин «около» при использовании в отношении числовых интервалов, предельных значений или конкретных значений используется для обозначения того, что приведенные значения могут варьироваться до 10% от указанного значения. Поскольку многие из числовых значений, используемых здесь, определены экспериментально, специалистам в данной области должно быть понятно, что такие определения могут, и часто будут варьироваться в зависимости от различных экспериментов. Значения, используемые в данном документе, не должны рассматриваться как чрезмерно ограничивающие в силу этого присущего изменения. Таким образом, термин «около» применяют для включения изменений $\pm 10\%$ или менее, изменений $\pm 5\%$ или менее, изменений $\pm 1\%$ или менее, изменений $\pm 0,5\%$ или менее или изменений $\pm 0,1\%$ или менее от указанного значения.

Используемые здесь термин «лечение» и подобные термины относятся к снижению тяжести и/или частоты симптомов, устранению симптомов и/или основной причины указанных симптомов, уменьшению частоты или вероятности появления симптомов и/или их основной причины, задержке, предотвращению и/или замедлению прогрессирования заболеваний и/или расстройств и улучшению или устранению повреждений, вызванных, прямо или косвенно, заболеваниями и/или расстройствами.

Здесь применяются следующие аббревиатуры:

ДСК - Дифференциальная сканирующая калориметрия

КТ - комнатная температура

МТБЭ - метил-трет-бутиловый эфир

ТГА - термогравиметрический анализ

ТГФ - тетрагидрофуран

отн. - в отношении

ПРД - Порошковая рентгеновская дифракция

ПРИМЕР 1

СТАДИЯ 6 СПОСОБ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ И ПОЛУЧЕННЫЕ ПОЛИМОРФЫ

Эксперимент с получением формы А':

1,0 г неочищенного Псилоцибина загружают в 25 мл колбу. Добавляют воду (12,8 мл/16 объемов в зависимости от активности исходного материала). Смесь перемешивают и нагревают до 80°C. Получают темно-коричневый раствор с видимыми нерастворенными твердыми веществами. Смесь доочищают фильтрацией через нагретый 0,45 мкм фильтр в горячую 25 мл колбу. Нерастворенные твердые вещества удаляют с получением темно-коричневого раствора. Раствор повторно уравнивают при 75°C и затем медленно охлаждают (10°C/час) до температуры окружающей среды. Полученный бледно-коричневый раствор уравнивают при температуре окружающей среды в течение 16 часов. Суспензию охлаждают до 5°C до выделения твердого вещества вакуумной фильтрацией. Фильтровальную лепешку промывают водой (0,8 мл/1 объем) и сушат в вакууме при 50°C в течение 16 часов. Выход 75%, химическая чистота 99%, ЯМР анализ >98%.

Описанную выше методику повторяют с 14 объемами (11,2 мл) воды. Выход 69%, химическая чистота 99%, ЯМР анализ >98%.

В обоих случаях растворение неочищенного Псилоцибина достигается при около 75°C. При постепенном охлаждении, выпадение осадка наблюдают при около 60°C.

В обоих случаях, получают Полиморф А' псилоцибина, подтверждают ПРД (дифрактограмма соответствует Фиг. 7b) и ДСК (термограмма соответствует Фиг. 8b).

Эксперимент с получением формы А:

94 г неочищенного Псилоцибина, полученного на Стадии 5 (чистота около 93% по ВЭЖХ с около 4% пирофосфатной примеси) подвергают водной перекристаллизации, как представлено ниже:

В протоколе использовано достаточное количество воды (12 объемов), быстрая скорость перемешивании (450 об./мин) и контролируемый профиль охлаждения (10°C/ч).

Псилоцибин (94,0 г) (СВ650Е) загружают в 2 л колбу. Добавляют воду (902 мл, 12 объемов в зависимости от активности исходного материала). Смесь перемешивают и нагревают до около 78°C. Получают темно-коричневый раствор с видимыми нерастворенными твердыми веществами. Смесь доочищают фильтрацией через 1,2 мкм встроенный фильтр в горячую 5 л колбу, оборудованную верхней мешалкой (450 об./мин). Нерастворенные твердые вещества удаляют с получением очищенного темно-коричневого раствора. Раствор повторно уравнивают при около 75°C и затем медленно охлаждают (10°C/час) до температуры окружающей среды. Раствор засевают Гидратом А псилоцибина (GM758А-ПРД дифрактограмма соответствует Фиг. 7d) с последующим созреванием в воде при 68°C-70°C. Полученную бледно-коричневую суспензию уравнивают при температуре окружающей среды в течение 16 часов. Суспензию охлаждают до 5°C в течение одного часа до выделения твердого вещества вакуумной фильтрацией.

Фильтровальную лепешку промывают водой (282 мл, 3 объема) и сушат *в вакууме* при около 50°C в течение 30 часов.

Способ успешно завершают с получением выхода 75%. Химическая чистота твердого вещества подтверждается как 99,3%. Анализ твердого вещества ПРД после сушки в течение 30 часов показал Полиморф А (Фиг. 7а). Характерное возмущение наблюдается при около $\sim 17^\circ 2\theta$, например, $17,5^\circ 2\theta$, и было заметно в объемном материале.

Характеризация твердого состояния Полиморфа А и Полиморфа А'

ДСК и ТГА термограммы (Фиг. 8а), полученные для Полиморфа А были сравнимы с ДСК и ТГА термограммами, полученными для Полиморфа А' (Фиг. 8б). ТГА термограммы (Фиг. 8а), полученные для Полиморфа А и Полиморфа А', показали отсутствие потери массы до разложения. Это говорит о том, что разница между ПРД, полученными для Полиморфа А (Фиг. 7а; возмущение присутствует при около $\sim 17^\circ 2\theta$) и для Полиморфа А', который получают в маленьком масштабе (Фиг. 7б; возмущение отсутствует) была не из-за избыточной гидратации.

Микроскопия твердого вещества (Фиг. 16а) показала кристаллы в форме стержней с хорошей однородностью с интервалом размеров от 50 до 200 микронов.

ПРД дифрактограмма, полученная для Полиморфа А', не демонстрирует возмущение при около $\sim 17^\circ 2\theta$ до той же степени, как и Полиморф А. Возмущение в ПРД дифрактограмме при около $\sim 17^\circ 2\theta$ более выражено для псилоцибина, полученного в крупном масштабе (по сравнению с тем, который получен в маленьком масштабе) и было неожиданным. Заявитель продемонстрировал, что Гидрат А является единственной полиморфной формой, которая существует в интервале температур с отсутствием пика дифракции в области $17^\circ 2\theta$ (см. Фиг. 7д). Это дает веские основания предполагать разрушение Гидрата А при дегидратации с получением Полиморфа А или А', который варьируется по масштабу, и что Полиморф А является истинной формой с Полиморфом А', полученным в маленьком масштабе, являющимся атипичным.

Чтобы проверить надежность этой теории и продемонстрировать возврат к Полиморфу А, небольшую часть объема повторно сушат после другой пропитки в воде (для воссоздания Гидрата А). Небольшой образец (250 мг - Полиморф А псилоцибина) уравнивают в воде (10 объемов) в течение одного часа. Суспензию фильтруют, и анализ влажного твердого вещества подтвердил, что был получен Гидрат А (Фиг. 7д), без возмущений при $17^\circ 2\theta$. Продукт сушат *в вакууме* в течение 16 часов, и твердое вещество повторно оценивают ПРД. Продукт Полиморф А' подтверждают ПРД (Фигура 7б) со снижением отмеченного возмущения ПРД. Дополнительная сушка исходного сыпучего твердого вещества и выдерживание при температуре окружающей среды не изменяет ПРД дифрактограмму твердого вещества. Получают два варианта твердого вещества, ПРД дифрактограммы для Полиморфа А и Полиморфа А' виртуально идентичны, кроме пика $\sim 17,5^\circ 2\theta$. Тепловые свойства также идентичны. Разница между ПРД дифрактограммами для Полиморфа А и Полиморфа А' незначительна, и оба полиморфа кинетически превращаются в гидратированное состояние очень быстро.

Дополнительные эксперименты были проведены, чтобы убедиться, что различия в ПРД дифрактограммах для Полиморфа А и Полиморфа А' были из-за крупномасштабного процесса кристаллизации, дающего твердые вещества с большим размером частиц, которые затем не так эффективно сохнут и вызывают изменения, или в том, была ли причина в разнице формы кристаллизации и размере кристаллического твердого вещества. Полиморф А псилоцибина (полиморфная форма, подтвержденная до эксперимента) измельчают в ступке пестиком и оценивают ПРД. Никаких изменений в полиморфе не отмечают. Другую часть (51 мг) загружают с водой (<1 мл) и оценивают во влажном состоянии для подтверждения образования гидрата. Обе партии сушат *in vacuo* при 50°C в течение около 18 часов и повторно оценивают ПРД. Измельченный образец остается Полиморфом А. Гидратированный образец после дегидратации определен как Полиморф А' (т.е. без отражения при $\sim 17,5^\circ 2\theta$). Это позволяет предположить, что только размер/форма кристаллизации не является единственной причиной для исходных пиков отражения.

ТГА оценка показала, что входная партия демонстрирует незначительную потерю массы (0,139% массовых) при около 70°C. Размер частиц снижается, и затем высушенное твердое вещество демонстрирует большую потерю массы 0,343% масс. при около 75°C, в то время как гидратированное и высушенное твердое вещество демонстрирует меньшую потерю массы 0,069% масс. при около 80°C. Размер частиц снижают, и затем высушенное твердое вещество выдерживают при 80°C в течение 10 минут (после точки потери массы по ТГА), но оценка ПРД показывает отсутствие изменений исходного материала, что означает, что низкие уровни гидратации и частичной набухания кристаллической матрицы не являются причиной изменений.

Возможно получить Полиморф А' через гидратацию Полиморфа А и последующую сушку выделенного твердого вещества в маленьком масштабе.

Полиморф А и Полиморф А' псилоцибина, около 60 мг каждый, загружают водой, 0,2 мл, для получения Гидрата А из обеих партий. Половину каждого Гидрата А сушат *in vacuo* при 25°C в течение около 17¼ часов, и оставшийся каждый Гидрат А сушат при температуре окружающей среды в потоке N₂ в течение около 17¼ часов. Твердое вещество выделяют после сушки и оценивают ПРД. Оценка ПРД твердых веществ, выделенных из исходного Полиморфа А, подтверждает, что был успешно получен Гидрат А, и что твердые вещества высушены с получением Полиморфа А' обоими способами сушки. Оценка ПРД твердых веществ, выделенных из исходного Полиморфа А' подтверждает, что был успешно получен Гидрат А, и что высушенные твердые вещества остались Полиморфом А' при обоих способах сушки.

В исследованном маленьком масштабе, Полиморф А и Полиморф А' высыхают с получением Полиморфа А' через превращение в Гидрат А.

У Полиморфа А псилоцибина (100 мг) снижают размер частиц измельчением в ступке пестиком. Измельченную партию подвергают двум различным режимам сушки для оценки того, влияет ли снижение размера частиц на дегидратацию образца. Первый образец выдерживают при 80°C в течение 10 минут, и второй образец выдерживают при 110°C в

течение 10 минут. Оба твердых вещества оценивают ПРД, которая показывает, что Полиморф А сохраняется. Было рассмотрено, не выдерживалась ли измельченная партия в прерывающемся изотермическом стрессе при 110°C в течение достаточно долгого времени для того, чтобы повлиять на форму, и поэтому часть измельченной партии сушат *в вакууме* при 110°C в течение около 24 часов. Оценка ПРД показала незначительные изменения в форме с все еще присутствующими отражениями Полиморфа А при около 17, но с незначительно пониженной интенсивностью.

Был сделан вывод, что Полиморф А нелегко превращается в Полиморф А' через снижение размера частиц и/или сушку при высокой температуре.

Методология

Оценки стабильности Псилоцибина не содержащего пирофосфатную примесь, показывают, что при температурах более 80°C уровень примеси промежуточного соединения со Стадии 3 (псилоцина), образованной гидролизом Псилоцибина, является проблемой. Например, когда 83 мг/мл водный раствор Псилоцибина нагревают до 90°C и анализируют ВЭЖХ через 1, 2 и 4 часа, уровень примеси со Стадии 3 определяют как 0,28, 1,82 и 7,79% площади, соответственно. Наоборот, когда 50 мг псилоцибина растворяют в воде (1,2-1,8 мл; объем, достаточный для сохранения раствора) и нагревают до 70, 75 и 80°C в течение 4 часов, уровень примеси со Стадии 3 определяют, по ВЭЖХ, как 0,53, 0,74 и 2,30% площади, соответственно. Перекристаллизация нагревает неочищенный Псилоцибин до 75°C-80°C для достижения растворения и доочистки фильтрацией. Немедленное охлаждение раствора ограничивает степень гидролиза Псилоцибина через снижение времени удержания продукта до избыточной температуры.

Дальнейшую испытательную перекристаллизацию Псилоцибина проводят через введение следующих изменений:

Изменение применяемых объемов воды;

Изменение перемешивания;

Наличие контролируемого профиля охлаждения;

Наличие быстрого (не контролируемого) профиля охлаждения.

Применение меньших объемов воды (до 12 объемов) не затрудняет процесс перекристаллизации, и растворение Псилоцибина достигается при температуре, позволяющей стадию доочистки фильтрацией. Было показано, что разные скорости охлаждения дают разные распределения размеров кристаллов; медленное контролируемое охлаждение при около 10°C в час дает относительно большой и более равномерный средний размер частиц (Фиг. 16a), в то время как профиль быстрого охлаждения дает меньшие кристаллы (Фиг. 16b). Контролируемый профиль охлаждения предпочтителен, и это отражено в улучшенной чистоте для контролируемого охлаждения.

Применение этого способа дает Псилоцибин с химической чистотой 99,3% с 75% выходом. Тепловые характеристики твердого вещества соответствуют желательным. Различия в ПРД дифрактограмме сухого твердого вещества позволяют предположить, что профиль сушки может быть важным при определении того, как Гидрат А разрушается с

образованием предпочтительной твердой формы. Было продемонстрировано, что Полиморф А является стабильным в условиях ускоренного тестирования стабильности в течение 12 месяцев.

Эксперимент

Стадию 5 загружают в сосуд под N_2 с последующим добавлением воды (приблизительно 12-15 объемов в зависимости от активного вещества со Стадии 5). Смесь нагревают до около $80^\circ C$ для растворения и доочищают фильтрацией через 1,2 мкм встроенный фильтр в чистую новую колбу, нагретую до $80^\circ C$. Скорость перемешивания устанавливают на высоком уровне (450 об./мин), и раствор уравнивают при $70-75^\circ C$. Раствор охлаждают до температуры окружающей среды со скоростью приблизительно $10^\circ C/час$, засевают Гидратом А псилоцибина (0,001 x загрузку стадии 5) при $68-70^\circ C$. Суспензию выдерживают при температуре окружающей среды в течение ночи, затем охлаждают до приблизительно $5^\circ C$ и выдерживают в течение 1 часа. Суспензию фильтруют, промывая водой (2-3 объема в зависимости от активной загрузки Стадии 5). Чистый Псилоцибин сушат в вакууме при $50^\circ C$. Получают кристаллический продукт псилоцибина (Полиморф А или Полиморф А' в зависимости от масштаба), например, применение 94 г входного псилоцибина дает Полиморф А и применение 1 г входного псилоцибина дает Полиморф А'. Обычно, размеры партий более 5 г дают Полиморф А, а партии размером менее 5 г дают Полиморф А'.

Отличия от JNP и польза могут быть суммированы следующим образом:

i) Дополнительная стадия кристаллизации дает определенную кристаллическую форму - Полиморф А (или А').

ii) Нагревание до около $80^\circ C$ в течение короткого периода времени дает преимущество в том, что максимизируется растворимость (и избегается гидролиз), что обеспечивает хороший выход.

iii) При около $70-80^\circ C$ доочистка фильтрацией может применяться для удаления нерастворимых примесей. Это наилучшим способом достигается применением встроенного фильтра - обычно около 1,2 мкм. Это обеспечивает хорошую химическую чистоту.

iv) Применение высокой скорости перемешивания (обычно около 450 об./мин) обеспечивает быстрое растворение, позволяя минимизировать время, при котором раствор выдерживается при $80^\circ C$, тем самым избегая повышенных уровней промежуточной примеси со Стадии 3, образованной гидролизом Псилоцибина.

v) Обеспечение контролируемого охлаждения, обычно охлаждения при около $10^\circ C$ в час, дает более однородный размер кристаллов и сохраняет форму как кристаллический Гидрат А.

vi) Засевание раствора при около $70^\circ C$ Гидратом А псилоцибина способствует кристаллизации в виде Гидрата А.

vii) Кристаллы промывают в воде и сушат при около $50^\circ C$ для того, чтобы максимизировать чистоту и получение Полиморфа А или А', в зависимости от масштаба.

ПРИМЕРЫ 2-6

СТАДИИ 1-5 ПОЛУЧЕНИЯ ПСИЛОЦИБИНА

В следующих примерах показаны значительные разработки способа, описанного в JNP, и показанного на Фиг. 1, как описано здесь выше.

ПРИМЕР 2

СТАДИЯ 1 (Фиг. 2)

Условия стадии 1 в JNP включают применение 1,1 экв. As_2O и 1,2 экв. Пиридина в растворителе ДХМ. Реакцию считают завершенной (99% продукта, 0% ИМ) после перемешивания в течение ночи. Реакционную смесь промывают водой и концентрируют *в вакууме* с получением коричневого масла. В литературе масло помещают в EtOAc и концентрируют выпариванием, вызывая осаждение твердых веществ при низком объеме.

Исследование

Однако, у заявителей осаждение твердых веществ из EtOAc не наблюдается. Осаждение твердых веществ индуцируется растиранием с гептаном, однако это не дает адаптируемый способ. Твердые вещества собирают с получением продукта со стадии 1 высокой чистоты (75% выход, >95% чистота по ЯМР).

Хотя реакция хорошо работает, метод выделения требует дополнительного развития для того, чтобы получить простое в обращении твердое вещество. Следует надеяться, что выделение твердых веществ фильтрацией также обеспечит очистку.

Реакцию сначала пробуют в EtOAc для того, чтобы посмотреть, можно ли стимулировать осаждение твердых веществ, позволяя выделение непосредственно из реакционной смеси. Однако было обнаружено, что профиль реакции в EtOAc менее благоприятен, чем в ДХМ и, следовательно, реакцию отменяют.

Заявитель вымывает пиридин из реакционной смеси ДХМ, так как считается, что это может помешать перекристаллизации продукта. Реакцию повторяют (при завершении 0,4% ИМ, 98,7% продукта по ВЭЖХ), и реакционную смесь промывают 20% лимонной кислотой с получением pH 2/3, удаляя пиридин, и затем добавляют насыщенный $NaHCO_3$ (водн.) для того, чтобы избежать низкого pH на стадиях выпаривания. Органические фазы сушат, и замену растворителя на гептан проводят с получением осаждения стадии 1. Твердые вещества собирают фильтрацией с получением чистой стадии 1 после сушки *в вакууме* (87% выход, >95% чистота по ЯМР).

Проводят испытания стабильности, которые подтверждают, что реакционная смесь стабильна в течение ночи при перемешивании с 20% лимонной кислотой, а также насыщенным $NaHCO_3$. Продукт является стабильным при сушке в печи при 40°C и 60°C.

Масштабирование

Реакцию со стадии 1 успешно масштабируют, обрабатывая >100 г 4-гидроксииндола. Реакция проходит как ожидается и дает продукт со стадии 1 (93% выход, ~98% ЯМР чистота).

Синтез исходного материала GMP

Крупномасштабную реакцию со стадии 1 проводят для получения исходного материала GMP (обрабатывая >500 г 4-гидроксииндола). Реакция проходит как ожидается,

потребляя ИМ согласно ВЭЖХ (99,2% продукта, <0,1% ИМ). Реакционную смесь обрабатывают с применением установленной методики с получением продукта со стадии 1 после сушки (94% выход, 99,1% по ВЭЖХ, 99% ЯМР анализ).

При разработке также было отмечено, что методика стадии 1 была эффективной для удаления незначительных примесей, присутствующих в некоторых партиях 4-гидроксииндола. Низкие уровни примесей, присутствующих в 4-гидроксииндоле, полностью удаляются после реакции со стадии 1, давая чистый продукт с высоким выходом (89%) и чистотой (99% по ВЭЖХ, 99% по ЯМР анализу).

Эксперимент

4-гидроксииндол (1 экв. ограничивающего реагента) загружают в сосуд под N_2 , затем ДХМ (дихлорметан; 6 объемов на основе загрузки 4-гидроксииндола). Реакционную смесь охлаждают до 0-5°C и добавляют пиридин (1,2 экв.) по каплям при 0-5°C. Уксусный ангидрид (1,1 экв.) добавляют по каплям при 0-5°C, и реакционную смесь нагревают до 20-25°C в течение 1-1,5 с и перемешивают при 20-25°C в течение еще 3 часов. Берут образец реакционной смеси и анализируют завершение. Затем реакционную смесь промывают три раза 20% водным раствором лимонной кислоты (3×3 объема на основе загрузки 4-гидроксииндола) и один раз насыщ. $NaHCO_3$ (3 объема на основе загрузки 4-гидроксииндола). Раствор ДХМ сушат над $MgSO_4$ и фильтруют, и слой ДХМ концентрируют до половины объема дистилляцией. Добавляют гептан (6 объемов на основе загрузки 4-гидроксииндола), и дополнительный ДХМ удаляют дистилляцией до полного осаждения Стадии 1. Реакционную смесь охлаждают до 15-25°C, и твердые вещества собирают фильтрацией, промывают гептаном (1 объем на основе загрузки 4-гидроксииндола), сушат в вакууме в течение ночи при 60°C.

Отличия от JNP и польза могут быть суммированы следующим образом:

i) Заявитель вымывает пиридин с применением лимонной кислоты при pH около 2-3. Это способствует улучшенному выделению и кристаллизации. На практике фазу ДХМ отделяют, и водную фазу лимонной кислоты выбрасывают.

ii) Дополнительная промывка в бикарбонате натрия позволяет дальнейшее улучшение.

iii) Замена растворителя на гептан улучшает осаждение твердых веществ, максимизируя выход и давая воспроизводимую Стадию 1 высокой чистоты.

EXAMPLE 3

СТАДИЯ 2 (Фиг. 3)

Шаг i - образование хлорангидрида

Образование реакционноспособного Промежуточного соединения 2A взаимодействием продукта со стадии 1 с оксалилхлоридом (1,5 экв.) сначала пробуют в смеси МТБЭ и ТГФ (6 об./1 об.) для определения того, является ли это жизнеспособной альтернативой летучему и легковоспламеняющемуся Et_2O , применяемому в литературе. Реакция завершается через ~18 часов с похожим профилем растворимости как и для Et_2O (стадия 1 в растворе, осаждение стадии 2A).

Так как промежуточный хлорангидрид подвержен гидролизу, приводящему к переменным результатам анализа, получают более надежный образец и проводят анализ, в котором реакцию гасят в ТГФ/ NMe_2 (с получением стадии 2) и затем анализируют ВЭЖХ.

Соотношение МТБЭ и ТГФ оптимизируют с получением наивысшей чистоты и выхода промежуточного соединения, где предпочтительное соотношение МТБЭ:ТГФ, составляющее 6:1, выбирают для масштабирования. Могут применяться другие соотношения МТБЭ:ТГФ.

Реакцию масштабирования проводят с применением предпочтительной смеси растворителей (1 объем ТГФ, 6 объемов МТБЭ), но добавление оксалилхлорида проводят при 30-35°C. Полученный раствор затем нагревают при 40°C в течение 2,5 ч с получением завершения с ~1% оставшегося продукта стадии 1. Проведение горячего добавления для сохранения раствора обеспечивает высокую скорость реакции и дает улучшенный уровень завершения при намного более коротком времени реакции (2,5 ч по сравнению с ночью). Продукт все еще выпадает в осадок при температуре через ~15 мин, и никакого вредного влияния на профиль реакции не наблюдается по ВЭЖХ.

Так как стабильность Промежуточного соединения 2А не известна, пытаются осуществить телескопирование материала на стадию 2, вместо того, чтобы выделять промежуточное соединение и рисковать разложением (гидролизом). Профиль реакции сложный, в нем присутствует множество компонентов на низком уровне. Добавляют МТБЭ и собирают осадок. Однако он также был определен как сложная смесь по ВЭЖХ/ЯМР.

Из-за плохого профиля реакции было сочтено необходимым выделить Промежуточное соединение 2А для очистки от избыточного оксалилхлорида. Реакцию повторяют, и желтый осадок собирают фильтрацией и промывают МТБЭ для удаления избытка оксалилхлорида (80% выход). ЯМР анализ подтверждает достаточную чистоту продукта (~95% по ЯМР). Однако, несмотря на хранение под азотом, некоторое разложение было отмечено в течение нескольких дней, вызывающее частичный гидролиз, включая снятие защиты ацетатной группы.

Чтобы попытаться снизить вероятность гидролиза промежуточного хлорангидрида во время выделения, проводят дальнейшие исследования метода телескопирования. Было обнаружено, что позволяя реакционной смеси легко выпадать в осадок, растворы МТБЭ могут быть легко декантированы, и затем остаточные твердые вещества промыты другой порцией МТБЭ таким же образом. Это позволяет очистить Промежуточное соединение 2А от избыточного оксалилхлорида, одновременно минимизируя воздействие влаги.

Чувствуется, что некоторый реакционный выход может быть потерян из-за частичной растворимости промежуточного соединения в смеси ТГФ/МТБЭ. Это подтверждается добавлением гептана к декантированным жидкостям, что вызывает выпадение в осадок дополнительных твердых веществ. Для ограничения этой растворимости, добавление гептана (8 об.) проводят до декантирования. Вместо промывания твердого вещества МТБЭ, гептан также применяют для промывок (3×6 об.), что максимизирует выход при сохранении высокой чистоты промежуточного соединения.

Эта методика была успешно масштабирована и является предпочтительным способом.

Шаг ii - Реакция с диметиламином

Литература (Synthesis, 1999, 6, 935-938; D.E. Nichols) предполагает, что HNMe_2 газ является эффективным для этого превращения. Однако для упрощения крупномасштабного способа его заменяют либо на твердый $\text{HNMe}_2\cdot\text{HCl}$, с дополнительным избытком основания, либо на раствор HNMe_2 в ТГФ. В JNP применяют HNMe_2 в присутствии избытка основания (пиридин).

Выделенное изначально, Промежуточное соединение 2А применяют для оптимизации реакции с диметиламином через ряд пробных реакций (см. таблицу 11).

Таблица 11 - Попытки оптимизации реакции на Стадии 2

#	Источник диметиламина на	Основани е	Растворител ь	Завершение по ВЭЖХ	Выделенные вещества	твердые
1	2М HNMe_2 /ТГФ 1,2 экв.	Пиридин 1,3 экв.	ТГФ/МТБЭ	80% продукта	64% выход, ~70% чистый по ЯМР	
2	$\text{HNMe}_2\cdot\text{HCl}$ 1,5 экв.	K_2CO_3	ТГФ/ H_2O	70% продукта	40% выход ~98% по ЯМР.	
3	2М HNMe_2 /ТГФ 1,33 экв.	Пиридин 3,6 экв.	Et_2O	81% продукта	63% выход, ~90% по ЯМР.	
4	2М HNMe_2 /ТГФ 2,9 экв.	Н/О	Et_2O	93% продукта	72% выход, ~98% по ЯМР.	

Предложенные в литературе условия с пиридином (#1) пробовали вместе с такой же реакцией в Et_2O (#3), двухфазной реакцией с применением $\text{Me}_2\text{NH}\cdot\text{HCl}$ и водного K_2CO_3 (#2) и реакции с избытком 2М Me_2NH в ТГФ (#4). Основным компонентом по ВЭЖХ был желаемый продукт во всех случаях, где условия с применением водного основания и избытка Me_2NH в общем были более чистыми, чем условия с пиридином. Хотя значительное количество продукта гидролиза было видно во всех случаях, считается, что это результат непрореагировавшего Промежуточного соединения 2А, которое было погашено во время получения образца для анализа ВЭЖХ. Реакционные смеси обрабатывают добавлением воды, и затем органический растворитель удаляют в вакууме с получением осаждения твердых веществ.

Реакция с избытком амина показала значительно улучшенный профиль, который результирует в более высокий выход (72% к 63%) и чистоту (98% к 90%). Этот подход ограничивает содержание воды в реакции и, следовательно, минимизирует вероятность возникновения гидролиза. Также ожидается, что очистка будет более легкой благодаря

отсутствию пиридина в выделенных твердых веществах. По этим причинам условия с избытком HNMe_2 в качестве основания были выбраны для масштабирования.

Реакция в Et_2O дает чистый (#4) профиль. Однако для облегчения крупномасштабной обработки было доказано преимущество замены на менее летучий растворитель, такой как МТБЭ. Это облегчит телескопирование хлорангидрида в эту реакцию. По этим причинам было выбрано проведение реакции в МТБЭ с применением избытка 2М Me_2NH в ТГФ.

Полагают, что добавлением воды поможет обработке через солубилизацию присутствующих солей $\text{HNMe}_2\cdot\text{HCl}$, которые дают очень густую смесь и замедляют фильтрацию. Попробовали этот подход. Однако, при добавлении воды к реакционным смесям в МТБЭ и ТГФ получили плохое восстановление, и анализ жидкостей показал дополнительные примеси и значительное снятие защиты с ацетата (фенольный продукт). Поэтому требуется дальнейшее развитие очистки.

Развитие очистки

Было бы желательно разработать стратегию очистки, которая позволит удалить продукт гидролиза и другие полученные примеси. Также было бы желательно включить воду в кристаллизацию для снижения содержания соли в выделенном продукте (предположительно, $\text{HNMe}_2\cdot\text{HCl}$). С этой целью провели скрининг ряда из 15 растворителей и смесей растворителей (масштаб 100 мг, 10 об. растворителя, циклическое нагревание до 60°C).

Таблица 12- Попытки очистки на Стадии 2

Растворитель	Наблюдения	Восстановление	Чистота по ВЭЖХ (примеси гидролиза Промежуточного соединения 2А)
МТБЭ	Суспензия	47 мг*	96,4% (2,8%)
ДХМ	Суспензия	60 мг	99,5% (0,5%)
Толуол	Суспензия	30 мг*	95,8% (3,4%)
EtOAc	Суспензия	66 мг*	97,8% (1,6%)
iPrOAc	Суспензия	40 мг*	97,3% (2,0%)
ИПС	Суспензия	65 мг	99,4% (0,4%)
EtOH/ H_2O , 1:1	Суспензия	62 мг	99,4% (0,5%)
MeCN/ H_2O , 1:1	Частичный раствор при КТ Раствор при 60°C	30 мг	99,0% (0,7%)
Ацетон/ H_2O , 1:1	Суспензия при КТ Раствор при 60°C	51 мг	99,4% (0,5%)

ТГФ/Н ₂ O, 1:1	Частичный раствор при КТ Раствор при 60°C	Без осадка	н/д
Гептан	Суспензия	34 мг*	95,0% (3,6%)
МИБК	Суспензия	65 мг	97,9% (1,4%)
МЭК	Суспензия	60 мг	99,6% (0,3%)
Циклогексан	Суспензия	41 мг*	94,4% (4%)
Ксилол	Суспензия	56 мг*	96,1% (3%)

* Восстановление не репрезентативное из-за густых суспензий и твердых веществ, прилипших к стеклянной пробирке.

Из проверенных растворителей ацетон/вода дает перекристаллизацию с незначительной наблюдаемой растворимостью при комнатной температуре. Так как это является водной системой, это имеет преимущество, помогая выдувать Me₂NH.HCl из твердых веществ.

Перекристаллизация из ацетона/воды была масштабирована. Раствор получают при температуре (5 об. ацетона, 1 об. воды) до добавления дополнительной воды (4 об.), и смесь охлаждают до КТ с получением кристаллизации (62% восстановление, >99% чистота по ВЭЖХ). Этот способ затем масштабируют далее добавлением большего количества воды для того, чтобы помочь восстановлению (во всего 5 об. ацетона, 10 об. воды, 78% восстановление).

Способ масштабируют далее (30 г), и неочищенное твердое вещество получают методом перекристаллизации. Хотя чистота продукта высока, имеется резкое снижение выхода (56% выход, 99% по ЯМР анализу, 99,4% по ВЭЖХ).

Для улучшения восстановления добавленное количество воды увеличивают еще с 10 об. до 15 об. Это сохраняет чистоту продукта на уровне более 99% и дает высокое восстановление в маленьком масштабе (90% восстановление, 56-70% полученное ранее). Однако масштабирование этой замененной методики снова дает низкое восстановление (58% выход). Следовательно, из-за проблем, возникающих при масштабировании перекристаллизации, был найден альтернативный способ очистки на основе проведенного первоначального скрининга суспензии (таблица 12 выше).

Реконструкцию стратегии очистки проводят с продуктом, выделенным из крупномасштабной реакции, стадии 2. Реакция развивается как ожидается и дает неочищенный продукт после сушки в печи (70% по ЯМР анализу, 79% выход активного вещества). Для удаления значительного солевого компонента (предположительно, HNMe₂.HCl) часть суспендируют в воде при КТ. После сушки это дает 75% восстановление (95% по ЯМР анализу), показывая, что это является эффективным средством снижения содержания соли. Чистота по ВЭЖХ остается неизменной на уровне ~93%. Затем был найден способ увеличить химическую чистоту твердых веществ.

После начального скрининга оба, EtOH:H₂O, ИПС и ацетон:H₂O по-видимому дают

продукт высокой чистоты с хорошим восстановлением, и поэтому эти системы растворителей выбирают для дальнейшего исследования. Входная чистота составляет 92,7% с основными примесями на уровнях 1,4%, 1,0% и 0,8%.

Таблица 13 - Дальнейшее развитие очистки (суспензия при 40°C 1 ч, фильтрация при КТ, 1 об. промывка)

Система растворителей	Восстановление	Чистота по ВЭЖХ (уровни основных примесей)			
		Продукт	Пр. 1	Пр. 2	Пр. 3
Ацетон/вода 6/16 об.	67%	98,8%	0,7%	0,2%	0,1%
1:1 EtOH:H ₂ O 10 об.	79%	98,0%	0,9%	0,5%	0,2%
ИПС 10 об.	90%	97,5%	0,8%	0,8%	0,3%
ИПС 5 об.	92%	97,2%	1,0%	0,7%	0,3%
4,5:2,5 ИПС:H ₂ O* 7 об.	79%	98,7%	0,6%	0,4%	0,1%
6:1 ИПС:H ₂ O 7 об.	82%**	98,0%	0,9%	0,6%	0,2%

* Реакция изначально проходит в 1:1 ИПС:H₂O в 5 об. Однако, она становится слишком густой для перемешивания, поэтому добавляют еще 2 об. ИПС.

** Смесь была густой, и присутствующие твердые вещества были очень мелкими, что затрудняло фильтрацию, так как некоторые твердые вещества забились фильтр.

Результаты этих попыток позволяют предположить, что хорошее восстановление возможно для этих систем, в частности, на основе ИПС. EtOH:H₂O дает намного лучший профиль примесей, чем только ИПС; однако восстановление было не очень хорошим (79 к 90%). Профиль примесей с ИПС значительно улучшался в присутствии воды (98,7% к ~97,5%), однако это приводит к низкому восстановлению (79 к 90%). Это позволяет предположить определенный уровень растворимости соединения в воде. Последнюю попытку в ИПС и EtOH:воде проводят при пониженных объемах воды для того, чтобы посмотреть, может ли быть найден баланс полученной высокой чистоты и восстановления ~90%. Хотя эта система улучшает выход, фильтрация была медленной и поэтому также оценивали другие смеси растворителей.

Таблица 14 - Исследование других смесей растворителей (масштаб 500 мг, суспензия при 40°C 1 ч, фильтрация при КТ, 1 об. промывка)

Система растворителей	Восстановление	Чистота по ВЭЖХ (уровни основных примесей)			
		Продукт	Пр. 1	Пр. 2	Пр. 3
ИПС 10 об.	460 мг (92%)	97,6%	1,1%	0,7%	0,3%
1:3 EtOH:H ₂ O 5 об.	451 мг (90%)	96,2%	1,4%	0,8%	0,5%
1:2 EtOH:H ₂ O 5 об.	440 мг (88%)	97,5%	1,3%	0,7%	0,4%
1:1 EtOH:H ₂ O 5 об.	375 мг (75%)	97,9%	1,0%	0,7%	0,3%
2:1 EtOH:H ₂ O 5 об.	354 мг (71%)	97,6%	1,0%	0,6%	0,4%
3:1 EtOH:H ₂ O 5 об.	369 мг (74%)	97,9%	0,9%	0,5%	0,3%

При 5 об. EtOH/воды суспензии были слишком густые и плохо обрабатывались. Так

как чистота твердых веществ была сравнима со всеми попытками (незначительные вариации вероятно из-за количества фильтраций и промывок), 100% условия ИПС были масштабированы, так как одни предлагают высокое восстановление, и полученная суспензия легко обрабатывается.

Исходное масштабирование предпочтительной суспензии дает (92% восстановление) с чистотой по ВЭЖХ 96,4% (уровни примесей 1,2%, 0,7%, 0,4%). Анализ жидкостей показал, что они обогащены всеми основными примесями - 72% (8,6%, 3,8%, 3,4%) по ВЭЖХ. Этот способ признан подходящим способом очистки, предлагающим высокое восстановление, и продукт применяют для тестирования на следующей стадии для того, чтобы обеспечить отслеживание и удаление примесей дальше (>99% на стадии 3, никаких отдельных примесей >0,5%).

Суспензия признается масштабируемой, когда оставшийся неочищенный продукт стадии 2 (70% анализ) далее суспендируют в воде для удаления неорганических веществ, и затем суспендируют в ИПС с получением продукта улучшенной чистоты (97% по ЯМР анализу, 76% выход для стадии 2, 96,8% по ВЭЖХ, примеси 1,1%, 0,8%, 0,4%).

Синтез исходного материала GMP

Крупномасштабную реакцию со стадии 2 проводят для снабжения GMP. Реакция проходит как ожидается с получением неочищенного продукта, который суспендируют в воде и фильтруют для получения стадии 2 которая на 93% чистая по ВЭЖХ. Ее далее суспендируют в 8 об. ИПС и фильтруют с получением продукта стадии 2 (93,7% по ВЭЖХ, 92% анализ, 66% выход активного вещества). Так как полученная чистота была меньше, чем наблюдалась во время разработки, проводят тестирование, которое подтверждает полученная стадия 3 высокой чистоты подходит для дальнейшей обработки (исходный материал GMP).

Вторую партию получают в идентичных условиях с получением неочищенного продукта, который после суспендирования в воде был чистым на 90% по ВЭЖХ. Этот продукт затем суспендируют в воде и очищают суспензией ИПС с получением 384 г продукта стадии 2 (93,0% по ВЭЖХ, 91% ЯМР анализ, 60% выход активного вещества).

Третью партию получают для пополнения синтеза GMP. Неочищенный продукт затем очищают водой, затем суспензией ИПС для доставки стадии 2 (79% выход) с повышенной чистотой по сравнению с предыдущими партиями (97,3% по ВЭЖХ, 96% ЯМР анализ).

Эксперимент

Стадию 1 (1 экв. ограничивающий реагент) загружают в сосуд под N_2 , затем ТГФ (1 об. отн. загрузки стадии 1) и МТБЭ (6 об. отн. загрузки стадии 1). Затем в сосуд по каплям добавляют оксалилхлорид (1,5 экв.) позволяя экзотерму изначально повысить температуру до 35-40°C, и затем охлаждают по необходимости для поддержания 35-40°C. Сразу же после добавления реакционную смесь нагревают до 40°C и суспендируют в течение 2-6 часов. Берут образцы реакционной смеси и анализируют завершение, затем охлаждают до КТ и добавляют гептан (8 об. отн. загрузки стадии 1), вызывая осаждение дополнительных

твердых веществ. Реакционную смесь перемешивают в течение 10 мин и затем твердые вещества осаждают. Большую часть растворителя декантируют из твердого вещества, которое затем дважды промывают гептаном (2×6 об. отн. загрузки стадии 1), декантируя так же после каждой промывки. Затем берут образцы твердых веществ и анализируют. МТБЭ загружают в сосуд (4 об отн. загрузки стадии 1) с получением желтой суспензии, которую охлаждают до -20°C с применением бани сухой лед/ацетон. 2М раствор Me₂NH в ТГФ (2 экв.) добавляют по каплям в сосуд в течение ~15 мин, сохраняя температуру от -20°C до -10°C. Реакционную смесь медленно нагревают до КТ и перемешивают в течение ночи. В этот момент добавляют еще Me₂NH, при необходимости. Берут образцы реакционной смеси и анализируют завершение. Реакционную смесь фильтруют, промывают гептаном (2×2 об. отн. загрузки стадии 1), и выделенные твердые вещества сушат при 60°C в вакууме. Неочищенную стадию 2 суспендируют в воде (8 об. отн. загрузки стадии 1) в течение 2-18 часов и затем фильтруют, промывая водой (2 об. отн. загрузки стадии 1). Твердые вещества сушат при 60°C в вакууме с получением неочищенной стадии 2 с <2% масс./масс. воды (определенной титрованием Карла Фишера (KF)). Неочищенную стадию 2 суспендируют в ИПС (10 об.) в течение 2-18 ч и затем фильтруют, промывают ИПС (1 об. отн. массы неочищенной Стадии 2) и сушат в печи в вакууме при 60°C.

Отличия от JNP и польза могут быть суммированы следующим образом:

Шаг 1

i) Во-первых, применение системы растворителей ТГФ/МТБЭ вместо диэтилового эфира было менее летучим и воспламеняемым.

ii) Во-вторых, добавление оксалилхлорида проводят при повышенной температуре, нагревают до 40°C, достигая улучшенной растворимости и предотвращая улавливание продукта стадии 1 в осадке. Также обеспечивается высокая скорость реакции, улучшенные уровни завершения и более короткое время реакции.

iii) В-третьих, Промежуточное соединение 2А выделяют для очистки от избыточного оксалилхлорида.

iv) В-четвертых, гептан добавляют для способствования осаждению Промежуточного соединения 2А.

Стадия 2

v) Применением амина в избытке достигают значительно улучшенной чистоты и выхода, благодаря минимальному присутствию воды и, следовательно, пониженного гидролиза.

vi) Наконец, применение воды и суспензий ИПС дает хорошую чистоту продукта Стадии 2.

ПРИМЕР 4

Стадия 3

Исходную пробную реакцию стадии 3 проводят с применением очищенного продукта со стадии 2 (>99% по ВЭЖХ) и данных условий реакции. Обнаружено, что входящий продукт со стадии 2 практически нерастворим в ТГФ, и поэтому вместо

добавления раствора стадии 2 в LiAlH_4 проводят обратное добавление. 4 экв. LiAlH_4 применяют в качестве 1М раствора в ТГФ с проведением добавления при 20-25°C в течение ~2 ч. В этот момент наблюдают 10% продукт с присутствием нескольких видов промежуточных соединений. Реакционную смесь нагревают при кипении с обратным холодильником в течение ~7 ч с получением 93% превращения продукта (по ВЭЖХ). Реакционную смесь обрабатывают с получением неочищенного продукта стадии 3 (~90% по ВЭЖХ, ~90% по ЯМР, ~87% скорректированный выход).

Проводят пробную реакцию, в которой успешно снижают применяемую загрузку LiAlH_4 (3 экв. к 4 экв.). Надеются, что это будет благоприятствовать обработке через снижение количества образовавшихся солей Li и Al. После длительного нагревания при кипении с обратным холодильником (10-18 ч) промежуточные соединения реакции были в основном израсходованы (остаток 2-3%) с ~95% продукта по ВЭЖХ.

Развитие обработки

Хотя первая пробная реакция успешно работала с применением сегнетовой соли, применяемые объемы были слишком высоки (~100 об.) и эта методика не сформировала ценный процесс для масштабирования. Множество альтернативных методик обработки было исследовано в попытке попробовать и снизить требуемые объемы и помочь удалению солей Li/Al.

Попробовали гашение пониженным объемом с EtOAc, и затем сегнетовой солью. Серое твердое вещество присутствовало в виде густой пасты, которая оседает на дно колбы. Хотя фильтрация не удалась, жидкости могут быть декантированы и твердые вещества повторно суспендированы в ТГФ/EtOAc для экстрагирования продукта. Затем проводят водную обработку и продукт выделяют концентрацией. Это дает продукт хорошей чистоты (90-95% по ЯМР) с хорошим выходом (94% не скорректированный на чистоту). Однако способ нелегко поддается масштабированию.

Реакцию гасят добавлением EtOAc и затем насыщ. Na_2SO_4 в присутствии безводного Na_2SO_4 , действующего в качестве связующего агента. Реакция дает гранулированные твердые вещества, которые могут быть легко отфильтрованы. Затем проводят водную обработку, и продукт выделяют концентрацией. Получают хороший выход (~94% не скорректированный на чистоту), но продукт содержит высокие уровни основной примеси по ЯМР (10% к 2-4% обычно получаемым).

Реакцию гасят 20% AcOH при 0°C, что приводит к образованию геля, который не может быть отфильтрован. От реакции отказываются.

Реакцию гасят EtOAc и затем 20% лимонной кислотой с получением твердых веществ, которые могут быть отделены фильтрацией. Жидкости концентрируют с получением продукта. Хотя эта методика дает незначительно меньший выход (~77% не скорректированный на чистоту), продукт имел очень высокую чистоту (>95%).

Другую реакцию гасят добавлением EtOAc и затем воды (3 мл на г LiAlH_4 в ТГФ). Образовался гель, который не может быть легко отфильтрован, и от реакции отказались.

Наконец, реакцию гасят способом Фишера. Добавляют воду (1 мл на г LiAlH_4), затем

15% NaOH (1 мл на г LiAlH₄) и, наконец, воду (3 мл на г LiAlH₄). Это дает твердое вещество, которое может быть отфильтровано от реакционной смеси. Затем жидкости разделяют и концентрируют *в вакууме* (87% выход, 90-95% по ЯМР).

Эти эксперименты суммированы в таблице 15 ниже:

Таблица 15 - Краткое содержание альтернативных условий обработки

№	Методика обработки	Выход	Чистота
3.1	Гашение EtOAc Сегнетова соль (пониженный объем)	2,8 г (94% не скорректированный)	90-95% по ЯМР
3.2	Гашение EtOAc в присутствии Na ₂ SO ₄	2,8 г (94% не скорректированный)	~80-85% по ЯМР, 10% пр.
3.3	Гашение 20% AcOH	Эмульсия (реакция отбрасывается)	
3.4	Гашение EtOAc 20% лимонная кислота	i) 529 мг (71% не скорректированный) ii) 2,3 г (77% не скорректированный)	>95% чистота по ЯМР
3.5	Гашение водой	Эмульсия (реакция отбрасывается)	
3.6	Гашение водой/NaOH	i) 615 мг (83% не скорректированный) ii) 2,6 г (87% не скорректированный)	90-95% по ЯМР

Оба гашения лимонной кислотой и NaOH дает твердые вещества, которые могут быть легко отфильтрованы из реакционной смеси и требуют минимальных объемов растворителя. Хотя условия с NaOH дают более высокий выход (~10%), продукт, полученный этим методом, был менее чистым и, вероятно, потребует дальнейшей очистки перед применением на следующей стадии. Более низкий выход с лимонной кислотой был, вероятно, из-за некоторого осаждения цитрата продукта. Это оказывало очищающее действие с получением чистого продукта сразу после концентрации. Эти условия были выбраны для масштабирования, и есть надежда, что дальнейшая оптимизация загрузки лимонной кислоты позволит выделить чистый продукт с высоким выходом из этого способа.

Реакцию повторяют с незначительно уменьшенной загрузкой лимонной кислоты для того, чтобы попытаться и максимизировать восстановление. Эта реакция дает продукта с 57% выходом с дальнейшим 20% выходом, полученным при ресуспендировании фильтровальной лепешки в ТГФ (оба образца 97,7% по ВЭЖХ).

Реакцию масштабируют. Однако во время гашения EtOAc, где было замечено предварительно загустение реакционной смеси, реакционная смесь слипалась в колбе в форме густой массы с ограниченным смешиванием. Хотя добавление лимонной кислоты далее дало обычную суспензию/гель, это не является ценным способом. Эта реакция работала с фильтровальной лепешкой, ресуспендированной в ТГФ для максимизации

восстановления с получением 76% выхода активного вещества, 95,0% по ВЭЖХ.

Реакцию повторяют для разработки лучшего гашения и для избегания образования камеди, полученной с EtOAc. Часть гасят добавлением ацетона, что дает легко перемешиваемую суспензию/эмульсию без признаков загустения. Затем проводят обработку лимонной кислотой с получением фильтруемой смеси. Это гашение успешно проводят на остатке реакционной смеси и обрабатывают с получением неочищенного продукта с хорошим выходом (71% анализ, 82% скорректированный выход, 98,0% по ВЭЖХ).

После гашения реакционная смесь обычно имеет pH 8/9. Как часть процесса оптимизации обработки, исследуют разные pH. Реакцию разделяют для обработки, где половина получает слегка пониженную загрузку лимонной кислоты (с получением pH 11/12 после гашения), и другую половину доводят до pH 7 добавлением дополнительной лимонной кислоты. Реакционную смесь с pH 11 обрабатывают с получением продукта 85% по ЯМР анализу (73% выход), а реакционная смесь с pH 7 дает 60% по ЯМР анализу (62% выход). Из этих результатов ясно, что получение правильного pH после гашения является критическим для получения >70% выхода. При очень незначительном снижении загрузки лимонной кислоты (приблизительно 2 об. 20% лимонной кислоты) на приблизительно 8% повышает выход. Учитывая эту информацию, pH будущих реакций отслеживают во время гашения для того, чтобы смесь оставалась сильно щелочной.

Развитие очистки

Проводят скрининг очистки с применением 100 мг порций неочищенного продукта Псилоцина, который суспендируют в 10 об. растворителя при циклическом нагреве до 60°C. Суспензии охлаждают до КТ в течение выходных, и затем образовавшиеся твердые вещества собирают фильтрацией. Стойкость к кислоте и основанию также тестируют с точки зрения проведения кислотной/щелочной обработки. Результаты скрининга представлены в таблице 16 ниже:

Таблица 16 - Скрининг очистки Псилоцина. (Входная чистота и 3 уровня примесей: 90,2%, 3,8%, 0,9%, 0%).

Растворитель	Наблюдения	Восстановление (прибл.)	Чистота по ВЭЖХ (и уровни основных примесей)
MeOH	Раствор при КТ	н/а	н/а
EtOH	Раствор при 60°C Осадок при КТ	35 мг	97,2%, 0,4%, 1,1%, 0,8%
ИПС	Суспензия при 60°C	51 мг	97,6%, 0,5%, 0,5%, 1,1%
MeCN	Раствор при 60°C Осадок при КТ	46 мг	96,8%, 0,6%, 0,4%, 1,6%
EtOAc	Суспензия при 60°C	58 мг	97,1%, 0,9%, 0,2%, 1,3%
ⁱ PrOAc	Суспензия при 60°C	58 мг	98,2%, 0,8%, 0,2%, 0,4%

Толуол	Суспензия при 60°C	70 мг	93,3%, 3,6%, 0,2%, 0,8%
Гептан	Суспензия при 60°C	77 мг	91,3%, 3,8%, 0,2%, 0,7%
Ацетон	Раствор при 60°C Осадок при КТ	30 мг	97,7%, 0,4%, 0,3%, 0,9%
МЭК	Раствор при 60°C Осадок при КТ	24 мг	97,3%, 0,5%, 0,5%, 1,2%
МИБК	Суспензия при 60°C	49 мг	97,4%, 0,6%, 0,2%, 1,3%
ТГФ	Раствор при КТ	н/а	н/а
МТБЭ	Суспензия при 60°C	67 мг	95,5%, 2,0%, 0,1%, 1,5%
ДХМ	Раствор при КТ	н/а	н/а
1М HCl	Раствор при КТ	н/а	83,7%, новая прим. 8%
1М КОН	Суспензия при КТ (черная)	н/а	89,1%, 5,4%, 0,9%, 2,2%

Первая из трех выделенных примесей соответствует наиболее стабильному промежуточному соединению реакции, которое наблюдают при ~70%, где завершается добавление LiAlH₄ (требующее кипячения с обратным холодильником для превращения продукта). Третья примесь не присутствовала на входе и, вероятно, образовалась во время суспендирования. Из растворителей, которые остались в виде суспензии, ¹PrOAc дает наибольшую чистоту. Несколько перекристаллизаций было найдено с MeCN, обладающим способностью удалять примеси во время кристаллизации, и обладающим восстановлением, которое потенциально улучшается во время развития. Некоторое разложение наблюдается и в кислоте, и в основании с образцом КОН, быстро становящихся черными.

Очистку неочищенного продукта стадии 3 увеличивают с применением двух наиболее перспективных растворителей (MeCN и ¹PrOAc). Объемы растворителей снижают до минимума для того, чтобы улучшить восстановление. Результаты этих испытаний представлены в таблице 17 ниже.

Таблица 17 - Дальнейшее развитие очистки с MeCN/¹PrOAc

Растворитель	Наблюдения	Восстановление (прибл.)	Чистота по ВЭЖХ (и уровни основных примесей)
MeCN (5 об.)	Перекристаллизация в 5 об.	512 мг (51%)	97,6%, 0,7%, 0,8%, 0%
¹ PrOAc (3 об.)	Суспензия в 3 об.	706 мг (71%)	95,8%, 1,3%, 0,6%, 0%

Перекристаллизацию получают из MeCN в 5 об., и горячую суспензию получают в ¹PrOAc при 3 об. (обе при 75°C). Восстановление из MeCN снова было плохим, несмотря на пониженные объемы, однако продукта был высокой чистоты (>>95% по ЯМР). Восстановление из ¹PrOAc было лучше при значительном увеличении чистоты продукта при анализе ЯМР (~95%).

Хотя чистота продукта из суспензии ${}^i\text{PrOAc}$ по ВЭЖХ и ЯМР была высокой, наблюдается низкий результат анализа (85% по ЯМР анализу). Для улучшения результата анализа материала, а также удаления цвета (все полученные на этот момент продукты были ярко фиолетовые, зеленые или коричневые) исследуют очистку через слой двуокиси кремния.

Неочищенный Псилоцин (71% анализ, 98,0% по ВЭЖХ) пропускают через 4 экв. двуокиси кремния, элюируя ТГФ. Получено 80% восстановление беловатого твердого вещества с незначительно улучшенной ВЭЖХ чистотой (98,4%) и результатом анализа (~82% анализ). Это оказалось эффективным средством повышения результата анализа продукта и, поэтому, рассматривается как часть обработки реакционной смеси.

Затем проводят ряд суспендирований в ${}^i\text{PrOAc}$ /антирастворителе (Таблица 18) с применением обработанного на двуокиси кремния сырья (100 мг на суспензию), чтобы попытаться улучшить восстановление, при этом сохраняя химическую чистоту (входная чистота 98,4%).

Таблица 18 - Результаты добавлений ${}^i\text{PrOAc}$ /антирастворителя.

Система растворителей	Восстановление	Чистота по ВЭЖХ
${}^i\text{PrOAc}$ 5 об.	78%	99,7%
1:1 ${}^i\text{PrOAc}$:Гептан 5 об.	70%	99,6%
1:1 ${}^i\text{PrOAc}$:МТБЭ 5 об.	83%	99,7%
1:1 ${}^i\text{PrOAc}$:Толуол 5 об.	84%	99,4%
${}^i\text{BuOAc}$ 5 об.	80%	99,6%

Так как все значения чистоты были сравнимыми, две системы растворителей выбирают для масштабирования на основе наивысших полученных результатов восстановления. Две наиболее предпочтительных суспензии (МТБЭ и Толуол в качестве антирастворителя) масштабируют (1,0 г на суспензию) для лучшей оценки восстановления.

Таблица 19 - Масштабирование предпочтительных способов очистки

Система растворителей	Восстановление	Чистота ВЭЖХ
1:1 ${}^i\text{PrOAc}$:МТБЭ 5 об.	79,9%	99,1%
1:1 ${}^i\text{PrOAc}$:Толуол 5 об.	79,4%	99,6%

Обе эти опции дают продукт с чистотой по ВЭЖХ >99% при ~80% восстановлении и, при объединении со слоем двуокиси кремния, являются эффективным средством очистки продукта Псилоцина. Дополнительный цвет удаляется в жидкостях во время суспендирования с получением Псилоцина в виде белого твердого вещества. Все примеси эффективно удаляют до содержания ниже 0,5%. Суспензию ${}^i\text{PrOAc}$:МТБЭ выбирают для масштабирования, так как здесь применяются не токсичные растворители 3 класса ICH.

Масштабирование

Полученные условия стадии 3 масштабируют, и реакция развивается с получением по завершении 94,4% продукта с 2,9% присутствующего промежуточного соединения реакции по ВЭЖХ после кипения с обратным холодильником в течение ночи (типичный способ). После слоя двуокиси кремния Псилоцин получают с 83% чистотой по ЯМР анализу, 66% выходом активного вещества, 97,0% по ВЭЖХ. Этот продукт затем очищают суспендированием в $i\text{PrOAc}/\text{MTBE}$ с получением 100% продукта по ЯМР анализу с 62% выходом и 99,7% по ВЭЖХ.

Из-за того, что неочищенный выход реакции был ниже ожидаемого (66% к ~75%), фильтровальную лепешку и слой двуокиси кремния исследуют повторно для того, чтобы попробовать и восстановить дополнительный продукт. Однако, безуспешно.

Выход ниже ожидаемого мог получиться из-за разложения продукта во время обработки, хотя предшествующее экстремальное тестирование показало, что продукт был стабильным в применяемых условиях. Для дальнейшего исследования этого явления повторяют реакцию. Неочищенный продукт выделяют до слоя двуокиси кремния и берут дополнительные образцы для экстремального тестирования для того, чтобы подтвердить отсутствие разложения продукта во время обработки.

Реакция походит как ожидается до завершения (93,7% продукта, 2,9% промежуточных соединений) и получают концентрированный выход неочищенного продукта (77% ЯМР анализ, 66% выход активного вещества). Фильтровальную лепешку повторно суспендируют в ТГФ/MeOH, но не выделяют никакого значительного количества Псилоцина. Для того, чтобы попытаться и заменить любой продукт, который координируется с солями алюминия, добавляют дополнительную лимонную кислоту для доведения pH до 4 (от pH 8) и лепешку повторно суспендируют в ТГФ, но снова не выделяют никакого значительного количества Псилоцина. Баланс массы не получают из реакции с 66% выходом активного вещества, точно совпадающим с полученным ранее. Эту партию очищают на слое двуокиси кремния и суспендированием в $i\text{PrOAc}/\text{MTBE}$ с получением 62% выхода продукта высокой чистоты (99,8% по ВЭЖХ).

Несмотря на применение относительно высоких объемов растворителя и необходимость слоя двуокиси кремния для удаления соединений алюминия и лития, способ все еще наиболее подходит для требуемого масштаба.

Реакцию стадии 3 далее масштабируют до способа. Реакция проходит как ожидается с завершением через 18 часов (~91% продукта, ~3% оставшихся промежуточных соединений реакции). Обработка на слое двуокиси кремния и суспендирование дают 57% выход Псилоцина высокой чистоты (>99% по ВЭЖХ, 99% ЯМР анализ, 0,35% масс./масс. воды по Карлу Фишеру).

Эксперимент

Стадию 2 (1 экв. ограничивающего реагента) загружают в сосуд, затем добавляют (5 об. отн. загрузки стадии 2). Смесь охлаждают до 0°C и добавляют 1М ТГФ раствор LiAlH_4 (3 экв.) по каплям в течение 30-45 мин, сохраняя температуру 0-20°C. После добавления реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин при 10-20°C и затем нагревают до

кипения с обратным холодильником и перемешивают в течение ~16 ч. Берут образец реакционной смеси и анализируют завершение, охлаждают до 0°C и гасят добавлением по каплям ацетона (9,3 экв.) при 0-30°C, затем 20% водн. раствора лимонной кислоты (1,9 об. отн. загрузки 2 стадии) при 0-30°C. Отслеживают pH добавления для того, чтобы он оставался на уровне $\text{pH} > 11$, и добавление останавливают раньше, если требуется. Полученную суспензию перемешивают в течение 1 ч и фильтруют, промывая ТГФ (2 об. отн. загрузки 2 стадии) для удаления солей Li и Al. Фильтровальную лепешку суспендируют в ТГФ (12,5 об. отн. загрузки 2 стадии) в течение ~1 ч и фильтруют, промывая ТГФ (5 об. отн. загрузки 2 стадии) для восстановления продукта из солей Li и Al. Объединенные органические фазы сушат над MgSO_4 и фильтруют. Фильтрат выпаривают *в вакууме* до приблизительно 10 объемов (отн. загрузки 2 стадии), и этот раствор наносят на слой двуокиси кремния (3 экв. отн. загрузки 2 стадии). Слой двуокиси кремния элюируют ТГФ, и фракции продукта объединяют и выпаривают досуха *в вакууме*. Неочищенную стадию 3 (Псилоцин) суспендируют в 1:1 iPrOAc:MTБЭ (5 об. отн. массы на шаге 18) в течение 2-18ч, фильтруют, промывают МТБЭ (2,5 об. отн. массы на шаге 18) и сушат *в вакууме* при 40°C для выделения Псилоцина.

Отличия от JNP и польза могут быть суммированы следующим образом:

- i) Во-первых, применяя ТГФ в качестве растворителя, реакцию гасят с применением ацетона. Это дает суспензию/эмульсию без загущения.
- ii) Во-вторых, заявитель гасит лимонной кислотой, сохраняя щелочной pH, обычно около 11. Контроль pH обеспечивает получение высокого выхода.
- iii) В-третьих, после очистки на слое двуокиси кремния для удаления остаточных солей Li/Al, элюируя ТГФ, получают суспензию iPrOAc: МТБЭ, дающую высокоочищенный продукт, который затем сушат.

ПРИМЕР 5

СТАДИЯ 4

Сначала применяют условия, описанные в литературе, для обработки 2,58 г образца с получением ~88% превращения в Промежуточное соединение 4А при анализе ВЭЖХ. Продукт очищают добавлением аминопропил двуокиси кремния и фильтрацией через Целит. Полученное зеленое масло (5,5 г) суспендируют в ДХМ с получением бензильного превращения и выпадения в осадок цвиттерионной стадии 4 (4,1 г, 70% выход, ~95% по ЯМР).

Шаг i

Начальное развитие на этом шаге фокусируют на поиске альтернативы ${}^n\text{BuLi}$, с которой было бы легче работать и, в идеале, не вводить дополнительный литий в синтез. Проводят начальный скрининг альтернативных условий, включая следующие основания: Li^tBuO , K^tBuO , NaH, NaHMDS и NaNH_2 . Все реакции дают продукт, где NaHMDS работает так же, как ${}^n\text{BuLi}$. Все реакционные смеси становятся очень густыми с видимым гелеобразованием, поэтому для эффективного перемешивания рекомендуется верхняя мешалка.

Начальный скрининг позволяет предположить, что NaHMDS может быть подходящей альтернативой ⁿBuLi (81% превращение в /Промежуточное соединение 4A). Эти условия масштабируют до 1,5 г вместе со ссылочной реакцией с ⁿBuLi. Верхнее перемешивание применяют в обоих случаях.

Таблица 20 - Сравнение ⁿBuLi и NaHMDS

Время	ВЭЖХ - ⁿ BuLi	ВЭЖХ - NaHMDS
1 ч, -30°C	6,6% Ст. 3, 78% Пром 4A, 1% Ст. 4	<1% Ст 3, 78% Пром 4A, 4% Ст 4
2 ч, 0°C	6,5% Ст 3, 77% Пром 4A, 1% Ст 4	<1% Ст 3, 76% Пром 4A, 4% Ст 4
Неочищенный продукт	4,89 г <1% Ст 3, 2% Пром 4A, 60% Ст 4	4,38 г <1% Ст 3, 5% Пром 4A, 68% Ст 4

Аббревиатуры, применяемые в таблице: Ст 3=Стадия 3, Пром 4A=Промежуточное соединение 4A, Ст 4=Стадия 4

Профиль реакции, полученный в обоих случаях, был очень похож, и в реакции с NaHMDS было потребление стадии 3. Обе реакционные смеси фильтруют на Целите для удаления белого осадка, и концентрируют. По ЯМР избыток протонов бензила присутствует в обоих случаях (особенно в примере с ⁿBuLi), и полученный выход составляет >100%. Условия NaHMDS оказались успешными, дающими благоприятный профиль реакции, и были выбраны для дальнейшего масштабирования. Однако требуется развитие обработки и очистки.

Шаг ii

ВЭЖХ данные показывают, что продукт, выделенный в сделанных выше попытках с применением NaHMDS и ⁿBuLi, перегруппировался с получением цвиттерионной стадии 4 при концентрации. Очистить этот продукт от побочных продуктов бензилфосфорной кислоты и других примесей попробовали суспендированием во множестве растворителей.

Таблица 21 - Пробная очистка неочищенного продукта стадии 4

Растворитель	Восстановленная масса	Чистота по ВЭЖХ
ДХМ	Белое твердое вещество	84% Ст 4
EtOH	Камедь	-
EtOAc	Камедь	-
ИПС	Белое твердое вещество	88% Ст 4
Толуол	Камедь	-
МТБЭ	Белое твердое вещество	62% Ст 4
МИБК	Камедь	-
MeCN	Камедь	-
Ацетон	Белое твердое вещество	86% Ст 4

Аббревиатуры, применяемые в таблице: Ст 4=Стадия 4

* фильтрация плохая

Белое твердое вещество получают из нескольких растворителей, однако твердые вещества, полученные из ДХМ и МТБЭ, превратились в бледно-фиолетовую камедь при хранении в течение выходных. Вещество, полученное из ИПС и ацетона, осталось в виде свободнотекучих белых твердых вещества при хранении, предполагая, что стабильность этих твердых веществ вероятно была выше, и что они могут позволить упростить обработку.

Суспензии в ИПС и ацетоне масштабируют до 1 г. Однако, образование камеди было отмечено сразу же после добавления растворителя. Камедь медленно диспергируют при энергичном перемешивании и со временем замечают признаки кристаллизации с получением белой суспензии после перемешивания в течение ночи. Однако этот способ не подходит для масштабирования. Твердые вещества выделяют с хорошим выходом, где ИПС дает наивысшую чистоту.

Также исследуют ТГФ, так как он имеет то преимущество, что также является реакционным растворителем. Однако, при его испытании снова наблюдается изначальное образование камеди (выделен ~80% выход, ~92% по ВЭЖХ). Для того, чтобы попробовать избежать образования камеди и получить более контролируемую кристаллизацию, неочищенную стадию 4 сначала солюбилизируют в низком объеме ДМСО (2 об.). Затем туда добавляют ТГФ (10 об.), и раствор перемешивают в течение выходных. Это дает медленное осаждение продукта, который собирают фильтрацией и промывают ТГФ с получением стадии 4 (86% выход) с 96% чистотой по ВЭЖХ (>95% по ЯМР).

Та как кристаллизация в ТГФ была успешной, и, как было отмечено ранее, полное превращение в цвиттерионную стадию 4 происходит во время концентрации реакционных жидкостей (ТГФ/EtOAc) при 40°C, есть надежда, что можно избежать изменения растворителя и кристаллизовать продукт непосредственно перемешиванием реакционной смеси при 40°C.

Проводят две 4 г реакции в NaHMDS, где обе реакции достигают завершения с ~80% превращением в Промежуточное соединение 4А. Одну реакционную смесь разбавляют EtOAc, и другую ТГФ, и обе фильтруют для удаления фосфатных побочных продуктов. Для дальнейшего снижения уровней фосфатных примесей, проводят отсадку поваренной солью, и органические фазы сушат и концентрируют до 10 об. Эти растворы перемешивают в течение ночи при 40°C с получением превращения в, и осаждения, стадии 4 (~1% стадии 3, ~0,2% Промежуточного соединения 4А, ~82% стадии 4). Твердые вещества собирают фильтрацией с получением 8,03 г (88% выход) из EtOAc/ТГФ и 5,65 г (62% выход) из ТГФ. Коричневые/серые твердые вещества, полученные из EtOAc/ТГФ, были менее чистыми (~90% по ВЭЖХ, 78% анализ) по сравнению с белыми твердыми веществами, полученным из ТГФ (97% по ВЭЖХ, 88% анализ). Анализ водного слоя из реакции с ТГФ показал присутствие продукта, и дополнительные потери были отмечены при конечной фильтрации ТГФ.

Из-за высокой чистоты, полученной из ТГФ, этот растворитель был исследован

далее для оптимизации восстановления. Отсадку поваренной солью не проводят из-за потери продукта в водный слой, и реакционную смесь далее концентрируют после реакции для минимизации потерь во время конечной стадии фильтрации. Эту новую методику продуют на 75 г шкале с порциями реакционной смеси, концентрированными до 8 об. и 6 об. При фильтрации никакого различия в выходе не было отмечено между двумя порциями, при общем выходе 140,4 г (90% по ЯМР анализу, 74% выход активного вещества, 90% по ВЭЖХ).

Отслеживание примесей

Три основных примеси было обнаружено в выделенном продукте, и идентификацию двух из этих видов провели на основе данных МС.

Было показано, что дебензилированная примесь (обычно ~2-5% по ВЭЖХ) дает псилоцибин во время последующего гидрирования и, поэтому, может быть допущена на высоком уровне. Основной наблюдаемой примесью в выделенной стадии 4 (обычно ~5-8% по ВЭЖХ) является ангидридная примесь. Она отслеживается при последующем гидрировании и показано, что она легко удаляется перекристаллизацией из воды в виде высоко растворимой пирофосфатной примеси, которая возникает при дебензилировании. Другая основная наблюдаемая примесь (m/z 295,2 наблюдается по ЖХМС) может контролироваться до менее 2% ограничением температуры реакции (ниже -50°C) и не наблюдается в Псилоцибине после гидрирования.

Профиль примесей в 140 г партии, полученной выше, показал 90,0% стадии 4, 6,4% ангидридной примеси, 0,2% N-дебензилированной примеси и 1,2% m/z 295,2 примеси.

Синтез GMP

Первую крупномасштабную партию стадии 3 (вход 544 г) получают с применением установленной методики с получением 213,5 г (53% выход, 99% по ВЭЖХ). Вторую партию (вход 628,2 г) также успешно обрабатывают с получением 295,2 г (66% выход, 99% по ВЭЖХ).

Некоторая вариабельность в выходе на этой стадии была отмечена для 3 крупномасштабных партий (57%, 53% и 66%). Вероятно, это является следствием незначительных различий в методиках обработки и гашения.

Эксперимент

Стадию 3 загружают в сосуд, затем добавляют ТГФ (15 об. отн. загрузки 3 стадии) и охлаждают до $\leq -50^{\circ}\text{C}$ с применением бани сухой лед/ацетон. Загружают 1М раствор NaHMDS в ТГФ (1,13 экв.), сохраняя температуру $\leq -45^{\circ}\text{C}$, целевую $< -50^{\circ}\text{C}$. Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут при от -60 до -50°C . Тетрабензилпирофосфат (2,26 экв.) загружают в реакционную смесь одной порцией, затем добавляют еще ТГФ (20 об.) сохраняя температуру реакции $< -30^{\circ}\text{C}$. Реакционную смесь нагревают до 0°C , в течение 1,5-2 часов и берут образец для завершения. Реакционную смесь фильтруют для удаления фосфатных солей, промывая ТГФ (8 об.). Фильтрат концентрируют до 6-8 об. остатка и перемешивают в течение ночи при 40°C для превращения Промежуточного соединения 4А в продукт стадии 4. Берут образец реакционной смеси для определения завершения, и затем

фильтруют, и твердое вещество промывают ТГФ (2 об.). Продукт стадии 4 сушат в вакуумной печи при 40°C.

Отличия от JNP и польза могут быть суммированы следующим образом:

Шаг i

i) Во-первых, гексаметилдисалазид натрия вводят для поддержания депротонирования. Это является эффективной альтернативой бутиллитию, которую легче обрабатывать, и которая не вводит дополнительный литий в реакцию.

ii) Во-вторых, разбавление реакционной смеси ТГФ позволяет получить большую чистоту Промежуточного соединения 4А.

iii) В-третьих, при контроле температуры реакции ниже -50°C, нежелательную m/z 295,2, наблюдаемую по ЖХМС, контролируют на уровне менее 2%.

Шаг ii

iv) В-четвертых, при отслеживании уровней примесей стадии 4А, в частности, N-дебензилированной Стадии 4 (таблица 7) и ангидридной Стадии 4 (таблица 7), может быть воспроизводимо получен чистый продукт.

v) Превращение промежуточного соединения стадии 4А в стадию 4 может проводиться в реакционном растворителе, избегая необходимости тратить время на замену растворителя.

vi) Наконец, полученное твердое вещество промывают ТГФ и сушат в печи с получением стадии 4.

ПРИМЕР 6

СТАДИЯ 5

Отравление катализатора отмечено во время развития этой стадии и необходимо включать в способ шаг обработки углем, при необходимости, для предотвращения неполного гидрирования. Однако обычно обработка углем не требуется.

После продувания водородом в течение 3 часов типовые реакции показали высокие выходы при завершении (>90% продукта, 3-5% оставшихся ИМ). Небольшое количество воды добавляют для того, чтобы способствовать растворимости, и после продувания водородом в течение еще 1 часа достигается потребление стадии 4.

Успешную реакцию обрабатывают фильтрацией, затем выпариванием для удаления метанола, оставляя продукт в виде густой суспензии в воде. Добавляют этанол, и твердое вещество фильтруют с получением Псилоцибина с 69% выходом. ¹H ЯМР подтверждает идентичность продукта, но показывает незначительное присутствие родственной примеси. ЖХМС анализ показывает чистоту 95,2% с основной примесью (4,1%), идентифицированной как примесь пирофосфорной кислоты (таблица 7), полученную из ангидридной примеси со стадии стадия 4. Далее показано, что эта примесь эффективно продувается во время конечной перекристаллизации продукта (Стадия 6).

Затем проводят дополнительную реакцию с применением продукта со стадии 4 из законченной ТГФ обработки, который является 88,0% чистым по ВЭЖХ и содержит 7,3% N-дебензилированную стадию 4 (превратившуюся в продукт), при отсутствии ангидридной

примеси. Снова отмечают завершение, и реакционную смесь обрабатывают как раньше с получением Псилоцибина с 46% выходом. Полагают, что низкий выход является результатом осаждения продукта во время шага фильтрации катализатора. ^1H ЯМР подтверждает идентичность продукта, и ВЭЖХ показывает чистоту 98,9%.

Дальнейшее развитие условий реакции проводят для оптимизации применяемого объема воды, и минимизации потерь продукта во время шага фильтрации. После реакции раствор получают добавлением 10 объемов воды при нагревании до 40°C. Это позволяет удалить катализатор фильтрацией без потери продукта на фильтре.

Некоторое количество стадии 3 образуется гидролизом во время реакции и обработки на уровне приблизительно 1-2,5%, что кажется обычным для способа. Восстановление на уровне стадии 3 было продемонстрировано во время конечной перекристаллизации продукта.

Масштабирование

Крупномасштабную партию стадии 4 (не-GMP) обрабатывают как одну партию (148 г входящего активного вещества). Потребление стадии 4 достигается при 88% продукта и 0,9% стадии 3, полученной при гидролизе. Ангидридная примесь (6,4%) полностью превращается в соответствующую примесь пирофосфорной кислоты (5,2%).

Крупномасштабный продукт гидрирования фильтруют и концентрируют с получением 109 г неочищенного продукта после удаления из этанола для снижения содержания воды (~71% по ЯМР анализу, 86% выход).

Эксперимент

10% Pd/C (~50% увлажненный водой, тип 87L, 0,1 x загрузку стадии 4) загружают в сосуд под N_2 , затем метанол (20 об. отн. стадии 4) и Стадию 4. N_2 заменяют H_2 , и реакционную смесь перемешивают под H_2 (атмосферное давление) в течение 1-2 часов. Берут образец реакционной смеси для подтверждения завершения и затем добавляют воду (10 об. отн. стадии 4), сохраняя температуру <25°C. Смесь перемешивают еще 1-2 часа под H_2 (атмосферное давление). Берут образец реакционной смеси и проверяют завершение.

Если реакция не завершена, повторно загружают H_2 и реакцию продолжают в течение еще 1-12 ч до завершения. Затем реакционную смесь помещают под N_2 и нагревают до 40°C и выдерживают в течение 15-45 минут. Реакционную смесь фильтруют через целит для удаления катализатора, промывая метанолом (13,3 об. отн. загрузки стадии 4) и водой (6,7 об. отн. загрузки стадии 4). Фильтрат концентрируют *в вакууме*, азеотропируя этанолом для удаления воды до тех пор, пока не получают твердое вещество. Отличия от JNP и польза могут быть суммированы следующим образом:

Во-первых, реакцию отслеживают для определения уровней промежуточных соединений по ВЭЖХ, применяя относительное время удержания (ОВУ), и завершение контролируют при присутствии промежуточных соединений на уровне менее 0,2%. Примесь пирофосфорной кислоты со стадии 5 также тщательно отслеживают для подтверждения, что она может контролироваться при конечной перекристаллизации.

Конечный способ Стадии 6 такой, как описано в примере 1.

ПРИМЕР 7

МЕТОДИКА И ПРОТОКОЛЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

Для тестирования чистоты и т.д. применяют следующую методику/протоколы.

7.1 ЯМР

^1H и ^{13}C ЯМР спектр Псилоцибина в D_2O получают с применением 400 МГц спектрометра. Химические сдвиги указаны в ч./млн. относительно D_2O в ^1H ЯМР ($\delta=4,75$ ч./млн.) и относительно MeOH ($\delta=49,5$ ч./млн.), который добавляют в качестве ссылки в спектре ^{13}C ЯМР. В литературе, значения для Псилоцибина показаны в JNP. ЯМР анализ Псилоцибина дает данные, которые согласуются со структурой и согласуются с теми, которые представлены в литературе, с незначительными вариациями в химических сдвигах для протонов рядом с ионизируемыми группами, которые ожидаются, так как цвиттерионная природа соединения делает продукт очень чувствительным к незначительным изменениям в pH.

Данные ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР представлены ниже, и спектры показаны на Фиг. 10 и 11.

Данные ^1H ЯМР (400 МГц, D_2O): 2,79 (с, 3H), 3,18 (т, $J=7,4$ Гц, 2H), 3,31 (т, $J=7,4$ Гц, 2H), 6,97 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,08 (с, 1H), 7,10 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,19 (д, 8,2Гц, 1H).

Данные ^{13}C ЯМР (400 МГц, D_2O (+ следы MeOH): 22,3 (1 x CH_2), 43,4 (2 x CH_3), 59,6 (1 x xCH_2), 108,4 (1 x CH), 108,6 (1 x C), 109,5 (1 x CH), 119,1 (д, $^3\text{J}_{\text{P-H}}=6,7$ Гц, 1 x C), 123,3 (1 x CH_2), 124,8 (1 x CH), 139,3 (1 x C), 146,3 (д, $^2\text{J}_{\text{P-H}}=6,7$ Гц, 1 x C)

7.2 ПФ-ИК

Данные собирают на спектрометре Perkin Elmer Spectrum Two™ с приложением UATR Two. Анализ Псилоцибина (Партия: AR755) ПФ-ИК спектроскопией дает спектр (Фиг. 12), который соответствует предложенному в литературе. Широкий пик при 3244 см^{-1} является типовым для соли амина. Оставшиеся пики находятся в характеристической области и поэтому не могут быть отнесены индивидуально.

7.3. МАСС СПЕКТРОМЕТРИЯ

Масс спектр Псилоцибина (AR755) получают на масс спектрометре Bruker Esquire 3000 plus Ion Trap, и он согласуется со структурой. Масс спектр (Фиг. 13) показал основной пик при $m/z=284,8$ и $568,1$, что соответствует $(\text{M}+\text{H})^+$ и $(2\text{M}+\text{H})^+$ Псилоцибина. Это подразумевает, что молекулярный ион m/z 284 соответствует молекулярной формуле Псилоцибина ($\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}$) (Фиг. 14).

7.4 ОСТАТОК ПРИ СЖИГАНИИ

Способ остатка при сжигании повторяет способ из фармакопеи с одной корректировкой. Несогласованные результаты были получены при нагревании тигля до 500°C , и полагают, это происходит из-за летучести фосфатных остатков, которые образуются. Затем температуру повышают до 800°C для Псилоцибин и получают соответствующие и точные результаты.

7.5 ВЭЖХ - АНАЛИЗ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСТОТЫ

Способ ВЭЖХ, который используют для анализа, химической очистки и количественного анализа примесей Псилоцибина, является градиентным ВЭЖХ-УФ

способом, условия которого показаны в таблице 22. Внешние стандарты применяют для количественного анализа. Приблизительно 1 мг/мл Псилоцибина растворяют в очищенной воде:MeOH (95:5). Обработывают ультразвуком для полного растворения.

Чистоту по ВЭЖХ рассчитывают на основе % площади, и коррелируют к известному стандарту времени удержания.

Анализ ВЭЖХ рассчитывают на безводной основе, на основе % масс. к стандарту известной чистоты и композиции.

Таблица 22: Типовые условия ВЭЖХ для идентификации, чистоты и анализа

Параметр	Условия		
Система	Жидкостной хроматограф серии Agilent 1100 или эквивалент		
Колонка	XBridge C18, 4,6×150 мм; 3,5 мкм (Ex; waters PN:186003034)		
Скорость потока	1,0 мл/мин ⁻¹		
Объем впрыска	5 мкл		
Определение	УФ @ 267 нм		
Температура колонки	30°C		
Подвижная фаза	А - очищенная вода:метанол:ТФА (95:5:0,1) В - метанол:очищенная вода:ТФА (95:5:0,1)		
Градиент	<u>Время</u> (мин)	<u>%А</u>	<u>%В</u>
	0	100	0
	2	100	0
	15	0	100
	20	0	100
	22	100	0

7.6 ОСТАТОЧНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИТЕЛЯ ПО ГХВР

Способ ГХВР для количественного анализа остаточных растворителей является парофазным способом и описан в таблице 23 ниже:

Таблица 23: Типовой ГХ способ определения остаточного растворителя

Параметр	Условия
Система	Agilent 6890/7890 ГХВР или подобная
Колонка	DB-624 60 м x 0,32 мм, 1,80 мкм толщина пленки (или эквивалент)
Программа печи	40°C (выдержка 15 мин) затем линейное увеличение (20°C.мин ⁻¹) до 200°C (выдержка 5 мин)

Параметры паровой фазы	125°C
температура печи	140°C
температура петли	150°C
температура переходной линии	
Деление потока	10:1
Температура впрыска	200°C
Температура датчика	250°C, ПИД
Давление на входе	15 ф./кв.д., постоянное давление
Газ-носитель	Азот
Поток колонки	2,0 мл.мин ⁻¹ @ 40°C
Внутренний стандарт	1,2-дифторбензол

Определяют уровни следующих растворителей и реагентов: Метанол, Этанол, ТГФ и Толуол.

7.7 ТЕМПЕРАТУРА ПЛАВЛЕНИЯ ПО ДСК

Данные ДСК собирают на ДСК PerkinElmer Pyris 6000 (или подобном). Прибор проверяют для калибровки энергии и температуры с применением сертифицированного индия. Образец взвешивают (обычно 0,5-3,0 мг) в алюминиевой кювете для образцов с точечными отверстиями. Кювету обжимают алюминиевой крышкой для кюветы. Затем кювету нагревают со скоростью 20°C/мин от 30 до 300°C при продувании сухим азотом со скоростью 20 мл/мин. Во время процедуры плавления каждая партия Полиморфа А или А' псилоцибина демонстрирует два эндотермических события последнего; первое из которых относят к переходу твердое вещество-твердое вещество Полиморфа А или А' в Полиморф В, и второе из которых относят к плавлению Полиморфа В.

7.8 ПОЛИМОРФИЗМ ПО ПРД

Твердая форма Псилоцибина определяется по ПРД. ПРД дифрактограммы собирают на дифрактометре (таком как PANalytical X'Pert PRO или эквивалент) с применением облучения Cu K α (45 кВ, 40 мА), θ - θ угломера, фокусирующего зеркала, щели расходимости (1/2"), щелей Соллера для обоих, падающего и расходящегося пучков (4 мм) в условиях окружающей среды. Интервал сбора данных составляет 3-35° 2 θ с непрерывной скоростью сканирования 0,2° с⁻¹. Полученную дифрактограмму сравнивают со ссылкой дифрактограммой Полиморфа А или А' чтобы удостовериться в их сходстве (Фиг. 7а или 7б, соответственно).

7.9 ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ (ТГА)

Данные ТГА собирают на ТГА PerkinElmer Pyris 1 (или подобном). Прибор калибруют с применением сертифицированного веса и сертифицированных Alumel и Perkalloy для температуры. Определенное заранее количество образца (обычно около 5 мг) загружают в алюминиевый тигель и нагревают со скоростью 20°C/мин от температуры

окружающей среды до 400°C. Продолжают азотную продувку образца со скоростью 20 мл/мин.

7.10 ПОТЕРЯ ПРИ СУШКЕ

Дважды определяют потерю при сушке образца с применением 1 г порции, точно взвешенной, высушенной при 70°C в вакууме до постоянной массы.

Расчет:

$$\% \text{ Потеря при сушке} = \frac{(W_{\text{ИСХ}} - W_{\text{КОН}})}{W_{\text{ОБР}}} \times 100$$

где:

$W_{\text{ИСХ}}$ —исходная масса чашки и образца до сушки (г)

$W_{\text{КОН}}$ —конечная масса чашки и высушенного образца (г)

$W_{\text{ОБР}}$ —масса образца (г)

ПРИМЕР 8

Исследования принудительного разложения

Лекарственное вещество Псилоцибин подвергают стрессу в разных условиях в растворе и в твердом состоянии с получением образцов для оценки чувствительности аналитического метода.

Исследование принудительного разложения проводят на Псилоцибине; на основании требований ICH Q1A(R2). Тестирование в неблагоприятных условиях дает информацию о потенциальных путях разложения и присущей устойчивости Псилоцибина. Применяемый оптимизированный аналитический метод демонстрирует специфичность к Псилоцибину; было показано, что он подходит, и изменения идентичности, чистоты и эффективности продукта могут быть определены с применением этого метода. Также было показано, что применяемый метод не имеет помех от возможных примесей и продуктов разложения в соответствии с ICH Q2(R1) (Validation of Analytical Procedures) со ссылкой на специфичность. Поэтому метод ВЭЖХ признан подходящим для определения чистоты Псилоцибина и родственных примесей.

Контрольный образец Псилоцибина был стабильным в растворе в течение периода исследования (период исследования составлял 7 дней для не светостабильных образцов). Псилоцибин медленно разлагается при нагревании в растворе с получением псилоцина в качестве основной примеси. Псилоцибин также был стабильным в кислых условиях при комнатной температуре. Однако при 60°C наблюдалось медленное и постоянное разложение с получением псилоцина в качестве основной примеси. Псилоцибин был слегка нестабильным при комнатной температуре в присутствии основания с медленным разложением на несколько примесей в течение периода исследования. Только незначительные уровни примесей были образованы в пероксидных условиях при падении общей чистоты на ~0,5%. В твердом состоянии отмечено медленное химическое разложение (3 дня при 150°C), преимущественно с получением псилоцина (стадия 3) в качестве примеси. Псилоцибин был стабилен в условиях фотостабильности и в твердом состоянии, и в растворе.

Исследования стабильности

Исследования стабильности проводили с двумя партиями Псилоцибина, как показано в таблице 24.

Таблица 24

Номер исследования/ начало исследования	№ партии лекарственного вещества	Упаковка	Место производства	Применение партии	Условия хранения	Желаемые моменты времени/ статус исследования
ONYXST AB0138	GM764B	Двойные пищевые полиэтиленовые пакеты. Внешний полиэтиленовый контейнер	Опук Scientific	Ссыл. Станд.	2-8°C 25°C/60% ОВ 40°C/75% ОВ	1, 3, 6 месяцев непрерывное 1, 3, 6 месяцев непрерывное 1, 3, 6 месяцев непрерывное
ONYXST AB0139	170231	Двойные пищевые полиэтиленовые пакеты. Внешний полиэтиленовый контейнер	Опук Scientific	Клиническое	2-8°C 25°C/60% ОВ 40°C/75% ОВ	1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 месяцев непрерывное 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 месяцев непрерывное 1, 3, 6 месяцев непрерывное

Образцы дважды упаковывают в пищевые полиэтиленовые пакеты и герметично закрывают во внешний полиэтиленовый контейнер и помещают на хранение при 2-8°C, 25°C/60% ОВ и 45°C/75% ОВ, пакет с осушителем кладут между полиэтиленовыми пакетами для предотвращения поглощения влаги. Тестируют внешний вид, содержание воды, чистоту и проводят анализ.

Протоколы двух исследований показаны в таблице 25 и таблице 26.

Данные стабильности через месяц и через три месяца для партии GM764B подробно указаны в таблице 27 и таблице 28 ниже. Данные стабильности через один, три, шесть,

девять и двенадцать месяцев для партии GMP 170231 представлены в таблице 29, таблице 30, таблице 31, таблице 32 и таблице 33, соответственно, ниже.

Таблица 25
 Протокол испытания стабильности Опух

Продукт:	Псилоцибин			Номер испытания Опух:	ONYXSTAB0138	
Номер партии:	GM764B			Ожидаемая дата начала:	10 марта 2017	
Метод тестирования:	Н/Д			Дата производства:	06 февраля 2017	
Дополнительная информация:	1200 мг продукта требуется в каждом контейнере.					
Компоненты упаковки:	Двойные полиэтиленовые линованные пакеты, содержащиеся в 300 мл ПЭВП контейнере (пищевом). Добавлен влагопоглотитель между двумя полиэтиленовыми пакетами.					
Параметры тестирования						
Обычные тесты	Внешний вид Анализ (безводная основа) ¹ H-ЯМР Содержание воды при потере при сушке Химическая чистота/примеси по ВЭЖХ					
Месяцы	1	3	6		Запасные	Всего
2°C-8°C	X	X	X		2	5
25°C/60% ОВ	X	X	X		2	5
40°C/75% ОВ	X	X	X		0	3
Дата истечения срока	10 апреля 2017	10 июня 2017	10 сентября 2017			13

Таблица 26
 Протокол испытания стабильности Опух

Продукт:	Псилоцибин		Номер испытания Опух: ONYXSTAB0139							
Номер партии:	170231		Ожидаемая дата начала: 31 марта 2017							
Метод тестирования:	SS/ПСИЛОЦИБИН/		Дата производства: 27 февраля 2017							
Дополнительная информация:	2200 мг продукта требуется в каждом контейнере.									
Компоненты упаковки:	Двойные полиэтиленовые линованные пакеты, содержащиеся в 300 мл ПЭВП контейнере (пищевом). Добавлен влагопоглотитель между двумя полиэтиленовыми пакетами.									
Параметры тестирования Обычные Внешний вид тесты Анализ (безводная основа) ¹ H-ЯМР Содержание воды при потере при сушке Химическая чистота/примеси по ВЭЖХ										
Момент времени	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	24 месяца	36 месяцев	Запасные	Всего
2-8°C	X	X	X	X	X	X	X	X	2	10
25°C/60% ОВ	X	X	X	X	X	X	X	X	2	10
40°C/75% ОВ	X	X	X						1	4
Дата истечения срока	31 апреля 2017	30 июня 2017	30 сентября 2017	31 декабря 2017	31 марта 2018	30 сентября 2018	31 марта 2019	31 марта 2020		24

Таблица 27: Данные стабильность через один месяц для партии GM764B

Тест	Допустимый предел	T=0	T=1 месяц	T=1 месяц	T=1 месяц
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C/60% ОВ	40°C/75% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Анализ ¹ H-ЯМР	Только для информации.	97% масс./масс.	99% масс./масс.	98% масс./масс.	96% масс./масс.
Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,86% масс./масс.	0,35% масс./масс.	0,20% масс./масс.	0,14% масс./масс.
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,24%	99,24%	99,22%	99,23%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%)	Только для информации.	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%
		0,05%	0,09%	0,10%	0,10%
	ОВУ 0,86	0,37%	0,35%	0,34%	0,34%
	ОВУ 1,46	0,76%	0,76%	0,78%	0,77%
	ОВУ 1,59 (Псилоцин)				
	Всего примесей				

Таблица 28: Данные стабильности через три месяца для партии GM764B

Тест	Допустимый предел	T=0	T=3 месяца	T=3 месяца	T=3 месяца
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C-60% ОВ	40°C-75% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Анализ ¹ H-ЯМР	Только для информации.	97% масс./масс.	97% масс./масс.	99% масс./масс.	97% масс./масс.
Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,86% масс./масс.	0,26% масс./масс.	0,08% масс./масс.	0,14% масс./масс.
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,24%	99,31%	99,27%	99,26%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%)	Только для информации. ОВУ 0,86 ОВУ 1,46 ОВУ 1,59 (Псилоцин) Всего примесей	0,05% 0,05% 0,37% 0,76%	МЧ 0,05% 0,10% 0,37% 0,69%	МЧ 0,05% 0,09% 0,36% 0,73%	МЧ 0,05% 0,10% 0,37% 0,74%

Таблица 29: Данные стабильности через один месяц для партии 170231

Тест	Допустимый предел	T=0	T=1 месяц	T=1 месяц	T=1 месяц
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C/60% ОВ	40°C/75% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,28%	99,20%	99,16%	99,17%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%) ОВУ 1,49 ОВУ 1,62 (Псилоцин) ОВУ 1,70 Примеси при ОВУ 1,89 Примеси при ОВУ 2,45 Примеси МЧ 0,05% Всего примесей	Только для информации.	0,06% 0,39% 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,22% 0,72%	0,05% 0,36% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,39% 0,80%	0,05% 0,37% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,42% 0,84%	0,06% 0,36% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,41% 0,83%
Анализ ВЭЖХ (на сухой основе)	Только для информации	98,65% масс./масс.	98,76% масс./масс.	97,98% масс./масс.	98,52% масс./масс.
Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,32% масс./масс.	0,27% масс./масс.	0,17% масс./масс.	0,19% масс./масс.

Таблица 30: Данные стабильности через три месяца для партии 170231

Тест	Допустимый предел	T=0	T=3 месяца	T=3 месяца	T=3 месяца
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C/60% ОВ	40°C/75% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,28%	99,30%	99,31%	99,17%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%) ОВУ 0,69 ОВУ 1,49 ОВУ 1,62 (Псилоцин) ОВУ 1,70 Примеси при ОВУ 1,89 Примеси при ОВУ 2,45 Примеси МЧ 0,05% Всего примесей	Только для информации.	МЧ 0,05% 0,06% 0,39% 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,22% 0,72%	0,05% 0,05% 0,37% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,22% 0,70%	МЧ 0,05% 0,05% 0,36% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,27% 0,69%	МЧ 0,05% 0,06% 0,39% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,34% 0,79%
Анализ ВЭЖХ (на сухой основе)	Только для информации	98,65% масс./масс.	98,45% масс./масс.	99,46% масс./масс.	98,64% масс./масс.

Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,32% масс./масс.	0,17% масс./масс.	0,01% масс./масс.	0,19% масс./масс.
--------------------------------------	------------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Таблица 31: Данные стабильности через шесть месяцев для партии 170231

Тест	Допустимый предел	T=0	T=6 месяцев	T=6 месяцев	T=6 месяцев
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C-60% ОВ	40°C-75% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,28%	99,20%	99,19%	99,12%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%) ОВУ 0,69 ОВУ 1,49 ОВУ 1,62 (Псилоцин) ОВУ 1,70 Примеси при ОВУ 1,89 Примеси при ОВУ 2,45 Примеси МЧ 0,05% Всего примесей	Только для информации.	МЧ 0,05% 0,06% 0,39% 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,22% 0,72%	0,06% 0,07% МЧ 0,05% 0,35% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,32% 0,80%	0,06% 0,07% МЧ 0,05% 0,34% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,34% 0,81%	0,06% 0,08% МЧ 0,05% 0,38% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,36% 0,88%
Анализ ВЭЖХ (на сухой основе)	Только для информации	98,65% масс./масс.	97,97% масс./масс.	98,04% масс./масс.	100,10% масс./масс.

Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,32% масс./масс.	0,06% масс./масс.	0,32% масс./масс.	2,26% масс./масс.
--------------------------------------	------------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Таблица 32: Данные стабильности через девять месяцев для партии 170231

Тест	Допустимый предел	T=0	T=9 месяцев	T=9 месяцев
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C-60% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,28%	99,16%	99,16%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%) ОВУ 0,69 ОВУ 1,49 ОВУ 1,62 (Псилоцин) ОВУ 1,70 Примеси при ОВУ 1,89 Примеси при ОВУ 2,45 Примеси МЧ 0,05% Всего примесей	Только для информации.	МЧ 0,05% 0,06% 0,39% 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,22% 0,72%	МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,07% 0,06% 0,37% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,34% 0,84%	МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,05% 0,06% 0,37% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,35% 0,84%
Анализ ВЭЖХ (на сухой основе)	Только для информации	98,65% масс./масс.	97,53% масс./масс.	98,12% масс./масс.
Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,32% масс./масс.	0,21% масс./масс.	0,10% масс./масс.

Таблица 33: Данные стабильности через двенадцать месяцев для партии 170231

Тест	Допустимый предел	T=0	T=12 месяцев	T=12 месяцев
Условие	Н/А	Н/А	2°C-8°C	25°C/60% ОВ
Внешний вид	Только для информации.	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений	Беловатое твердое вещество. Не содержит видимых загрязнений
Химическая чистота по ВЭЖХ	Только для информации.	99,28%	99,25%	99,25%
Примеси по ВЭЖХ: (Указаны все БЧ 0,05%) ОВУ 0,69 ОВУ 1,49 ОВУ 1,62 (Псилоцин) ОВУ 1,70 Примеси при ОВУ 1,89 Примеси при ОВУ 2,45 Примеси МЧ 0,05% Всего примесей	Только для информации.	МЧ 0,05% 0,06% 0,39% 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,22% 0,72%	МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,37% МЧ 0,05% МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,38% 0,75%	МЧ 0,05% МЧ 0,05% 0,37% МЧ 0,05% ND МЧ 0,05% 0,38% 0,75%
Анализ ВЭЖХ (на сухой основе)	Только для информации	98,65% масс./масс.	99,63% масс./масс.	98,97% масс./масс.
Содержание воды при потере при сушке	Только для информации.	0,32% масс./масс.	0,49% масс./масс.	0,61% масс./масс.

В течение первых 12 месяцев исследования стабильности ИСН было доказано, что Псилоцибин является химически стабильным при низкой температуре (2-8°C), в условиях окружающей среды (25°C/60% ОВ) и форсированных (40°C/75% ОВ) условиях. Не было никаких изменений во внешнем виде, и анализ ВЭЖХ также оставался постоянным. Содержание воды варьируется во всех образцах из-за изначального воздействия и последующего старения осушителя в исследовании.

Пример 9 - Эксперимент с получением Гидрата А

Псилоцибин (200 мг) загружают в пробирку для кристаллизации, затем деионизированную воду (4 мл). Смесь уравнивают при 25°C в течение 2 часов, затем твердое вещество выделяют вакуумной фильтрацией. Продукт разделяют на две равные порции. Одну порцию не подвергают последующей сушке с получением Гидрата А, лот GK2, по ПРД и ДСК (дифрактограмма и термограмма соответствуют Фиг. 7d и Фиг. 8d, соответственно).

Пример 10 - Эксперимент с получением Полиморфа В

Полиморф А псилоцибина (250 мг) загружают в круглодонную колбу, нагревают до 173°C с применением масляной бани и выдерживают при температуре в течение 5 минут. Твердое вещество охлаждают до температуры окружающей среды и выделяют с получением лота GK3 с восстановлением 93%. Анализ ПРД и ДСК показал, что лот GK3 является Полиморфом В (дифрактограмма и термограмма соответствуют Фиг. 7с и Фиг. 8с, соответственно).

Пример 11 - Исследования твердого вещества

Делают множество исследований полиморфизма. Совокупность найденных твердых форм показана на фигуре 17. Большинство найденных форм было получено при изменении растворителя; в некоторых случаях были выделены стехиометрические сольваты, в других случаях - не стехиометрические сольваты.

Суспензии Полиморфа А

Медиированные растворителем уравнивания Шаблона А Псилоцибина провели в качестве первичного пути в модификации твердой формы и для визуальной оценки растворимости продукта в ряду из 24 растворителей при температуре 25-50°C.

Шаблон А Псилоцибина (40 мг) дозируют в пробирки при комнатной температуре и добавляют растворители, перечисленные в таблице 34 в аликвотах 0,4 мл (10 об.) к общему объему 1,2 мл (30 об.) и отмечают наблюдения. Смеси постоянно перемешивают. Циклическое нагревание проводят следующим образом: 50°C в течение 18 часов, охлаждение в течение 2 часов до 20°C, созревание в течение 4 часов, нагревание до 50°C в течение 4 часов, охлаждение до 20°C в течение 2 часов, созревание в течение 18 часов. Делают повтор цикла 50°C-20°C в течение 24 часов и применяют следующее:

Выделение после нагревание до 50°C, где достаточно твердого вещества=А серия

Выделение после охлаждения до 20°C, где достаточно твердого вещества=В серия

Все выделенные твердые вещества сушат *in vacuo* при 50°C в течение 24 часов и анализируют ПРД. Наблюдения представлены в таблице 34.

АФИ был в большей степени нерастворим в растворителях, и смеси растворителей, тестированные в 30 объемах при 50°C, давали густые суспензии. Вода не солюбилизует Псилоцибин при 50°C.

Таблица 34 - Табулированные наблюдения созревания суспензий при циклическом нагревании и применения смеси Шаблона А в качестве входящей

Ввод	Растворитель	Набл. 20°C, 0,4 мл	Набл. 20°C, 0,8 мл	Набл. 20°C, 1,2 мл	Набл. 50°C	ПРД А серия	ПРД В серия
1	Циклогексан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
2	Хлорбензол	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
3	2-Хлорбутан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
4	Бензотрифторид	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
5	Анизол	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
6	Нитрометан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	С	С
7	ХПМЭ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
8	Гептан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
9	МТБЭ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	С	А
10	МИБК	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
11	МЭК	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
12	iPrOAc	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	С	С
13	EtOAc	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
14	Толуол	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
15	ТГФ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
16	CHCl ₃	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
17	MeOH	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	D	D
18	EtOH	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	E	E
19	ИПС	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	F	F
20	MeCN	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	С	А
21	Вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Раствор	н/а	А
22	4:1 EtOH/вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	А
23	4:1 ТГФ/вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	Гидрат А
24	4:1 ИПС/вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Сусп.	А	С

Результаты:

На фигурах (Фиг. 18 и Фиг. 19), “25С” означает выделение твердого вещества при

25°C и “50C” означает выделение твердого вещества при 50°C. Например, GM832-20_50_A9 означает GM832 ввод 20 (MeCN), выделенный при 50°C.

Суспензии при 50°C

Вводы 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 22, 23, 24: ПРД дифрактограмма в основном соответствует Полиморфу А, но с дополнительным пиком изменяющейся интенсивности при $18^\circ 2\theta$.

Вводы 6, 9, 12, 20: ПРД дифрактограмма, полученная для выделенных твердых веществ, в основном соответствует (см. Фиг. 18) с дополнительными пиками при $10^\circ 2\theta$ и $13,2^\circ 2\theta$, наблюдаемыми для некоторых образцов. Эта ПРД дифрактограмма обозначена как Шаблон С. Не имеется хемотипической корреляции между растворителями (CH_3NO_2 , МТБЭ, $i\text{PrOAc}$ и CH_3CN).

Ввод 17: полученная ПРД дифрактограмма имеет множество пиков дифракции (Фиг. 19). ПРД дифрактограмма была обозначена Шаблон D.

Ввод 18: полученная ПРД дифрактограмма имеет множество пиков дифракции (Фиг. 19). ПРД дифрактограмма была обозначена Шаблон E.

Ввод 19: полученная ПРД дифрактограмма имеет множество пиков дифракции (Фиг. 19). ПРД дифрактограмма была обозначена Шаблон F.

Суспензии при 25°C:

Вводы 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 22: все ПРД дифрактограммы похожи на ту, которая получена для Полиморфа А.

Вводы 6, 12, 24: ПРД дифрактограммы, полученные для выделенных твердых веществ, в основном соответствуют (см. Фиг. 18) Шаблону С.

Ввод 23: ПРД анализ показал образование Гидрата А.

Ввод 17: полученная ПРД дифрактограмма имеет множество пиков дифракции (Фиг. 19). ПРД дифрактограмма была обозначена Шаблон D.

Ввод 18: полученная ПРД дифрактограмма имеет множество пиков дифракции (Фиг. 19). ПРД дифрактограмма была обозначена Шаблон E.

Ввод 19: полученная ПРД дифрактограмма имеет множество пиков дифракции (Фиг. 19). ПРД дифрактограмма была обозначена Шаблон F.

Анализ результатов:

ПРД дифрактограммы для твердых веществ, выделенных при 25°C, в основном такие же, как ПРД дифрактограммы, полученные для твердых веществ, выделенных при 50°C.

Шаблоны D, E и F получают из спиртов (MeOH, EtOH и ИПС). Сольватированные состояния были предложены с учетом Этанольного сольвата, выделенного ранее во время развития. ПРД дифрактограммы для Этанольного сольвата не являются идентичными, однако, учитывая, что точное изменение уровня растворителя может привести к различным состояниям порядка в решетке, сравнение этих ПРД дифрактограмм дает сильную гипотезу о том, что эти более значительные изменения фазы вызваны уносом растворителя.

ПРД шаблоны D, E и F (Фиг. 19) все отличаются от ПРД дифрактограммы Гидрата

(Фиг. 7d).

Прямое сравнение ПРД дифрактограмм, полученных слоя твердых веществ, выделенных из MeOH, EtOH и ИПС (Шаблоны D, E и F - Фиг. 19), выделенных при двух температурах, показало совпадающие дифрактограммы; две дифрактограммы MeOH похожи, а EtOH и ИПС прямо сравнимы.

Проводят ДСК анализ выделенных твердых веществ, и если доступно достаточное количество образца, ТГА. Все твердые вещества, которые дают Шаблоны D, E и F. показывают эндотермы при около 170-180°C, но в остальном дают разные тепловые профили. ТГА анализ твердого вещества, выделенного из суспензии MeOH, показал одну продолжительную потерю массы от около 25-190°C (3,1%). Стехиометрический метанольный сольват требует 10,3% массовых растворителя. ТГА анализ твердого вещества, выделенного из EtOH, показал две отдельных шага потери массы. Первый, возникающий до 100°C (0,3% массовых), считается из-за воды, и вторая большая потеря (11,5% массовых) из-за растворителя. Стехиометрический этанольный сольват требует 13,9% массовых растворителя. ТГА анализ твердого вещества, выделенного из суспензии ИПС, показал два отдельных шага потери массы. Первая потеря массы до 100°C (0,4% массовых) считается из-за воды, а вторая большая потеря массы (13,9% массовых) считается из-за остаточного растворителя. Стехиометрический ИПС сольват требует 17,5% массовых растворителя.

Суспензии аморфного псилоцибина

Для получения аморфного продукта небольшой образец Псилоцибина (0,5 г) растворяют в воде (0,5 л, 1000 об.), доочищают на фильтре и лиофилизируют. Псилоцибин восстанавливают в виде беловатого волокнистого продукта (лот MC1368A; 412 мг, 82%, ПРД аморфное).

Для визуальной оценки растворимости аморфного АФИ и для модификации формы проводят ряд созреваний в суспензии следующим образом:

Псилоцибин (15 мг) загружают в пробирки. Затем добавляют растворитель при температуре окружающей среды (20°C, 0,3 мл, 20 об.), и суспензии перемешивают. Делают наблюдения. Через 1 час перемешивания образцы нагревают до 45°C в течение 18 часов и делают наблюдения. Образцы нагревают до 50°C в течение 8 часов и делают наблюдения. Образцы перемешивают в течение 72 часов при 25°C и подвергают конечному циклу нагревания до выделения. Наблюдения показаны в таблице 35.

Таблица 35 - Наблюдения аморфного Псилоцибина во время созревания суспензий при циклическом нагревании и поведении формы

Ввод	Растворитель	Набл. при 20°C	Набл. при 45°C	Набл. при 50°C	Данные ПРД
А	Циклогексан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
В	Хлорбензол	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
С	Хлорбутан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Шаблон В

D	Бензотрифторид	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
E	Анизол	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
F	Нитрометан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Шаблон В
G	ХПМЭ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
H	Гептан	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
I	МТБЭ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
J	МИБК	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
K	МЭК	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
L	iPrOAc	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
M	EtOAc	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
N	Толуол	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Похожа на Сольват А
O	ТГФ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
P	Хлороформ	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Похожа на Шаблон Е
R	MeOH	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Полукристаллическая
S	EtOH	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Шаблон D
T	ИПС	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Шаблон В
U	Ацетонитрил	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Amorphous
V	Вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Похожа на Шаблон А
W	4:1 EtOH/вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Похожа на Шаблон D
X	4:1 ТГФ/вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Похожа на Шаблон А
Y	4:1 ИПС/вода	Сусп.	Сусп.	Сусп.	Похожа на Шаблон А

Результаты

Большинство растворителей дали твердое вещество, которое считается полукристаллическим (преимущественно с заметным отражением при около $18^\circ 2\theta$).

Истинно аморфное вещество было получено при уравнивании в MeCN.

Полиморф В был получен из хлорбутана, нитрометана и ИПС (Фиг. 20 и 22).

Шаблон D, который был выделен из MeOH в экспериментах с суспензией Полиморфа А, обсуждавшихся выше, был получен при уравнивании в EtOH, а MeOH в этом исследовании дал полукристаллическое твердое вещество.

Твердые вещества, похожие на Шаблон А, были восстановлены из воды, ТГФ:воды и ИПС:воды (4:1).

Твердое вещество, похожее на Шаблон D, было восстановлено из EtOH:воды (4:1), подтверждая открытие выделения Шаблона D из чистого EtOH.

Твердое вещество, похожее на Шаблон Е, было восстановлено из хлороформа.

Из девяти исследованных растворителей был выделен истинный Полиморф А или А' после длительного уравнивания и термического созревания аморфного

Псилоцибина.

Пример 12 - Развитие состава.

Исходный ряд экспериментов проводят с применением составов, указанных в таблице 36 ниже. Целью было идентифицировать подходящий одиночный наполнитель или сочетание наполнителей для крупномасштабного состава.

Таблица 36

Наименование продукта	№ партии (% масс./масс.)		
	APL-117-6085-01	APL-117-6085-02	APL-117-6085-03
Псилоцибин	1,0	1,0	1,0
Микрокристаллическая целлюлоза Ph 102	91,5	49,5	81,5
Прежелатинизированный крахмал (Крахмал 1500)	-	45,0	-
Compact Cel MAB	-	-	10
Гидроксипропилцеллюлоза (Klucel EXF)	3,0	3,0	3,0
Гликолят крахмала натрия	3,0	3,0	3,0
Коллоидная двуокись кремния	0,5	0,5	0,5
Стеарат магния (получен из овощей)	1,0	1,0	1,0
Стеарилфумарат натрия	-	-	-
ВСЕГО	100,0	100,0	100,0

Результат, в виде ключевых физико-химических свойств - сыпучесть продукта, однородность смеси и однородность содержимого, представлен в таблице 37 ниже:

Таблица 37:

№ партии	Прочность (мг)	Сыпучесть продукта (коэффициент Карриса)	Однородность смеси	Однородность содержимого
APL-117-6085-01	1,0	19,1	Верх=127,9 Середина=106,4 Дно=104,5 Средняя=112,9 %ОСО=10,9	% заявленной=92,4 СР=7,9
APL-117-6085-02	1,0	19,1	Верх=115,9 Середина=106,6 Дно=106,1	% от заявленного=95,2

			Средняя=109,6 %ОСО=4,9	СР=5,9
APL-117-6085-03	1,0	22,4	Верх=105,0 Середина=101,4 Дно=98,7 Средняя=101,7 %ОСО=3,8	% от заявленного=9 6,3 СР=4,6

Хотя партия (APL-117-6085-03) показала хорошую однородность смеси в разных анализируемых образцах (верх, середина и дно) и очень хорошую однородность содержимого, ее свойства сыпучести (на основе индекса Карра) стремятся к верхнему пределу, и было предсказано, что композиция не будет соответствовать более высоким нагрузкам лекарств.

По этой причине было испытано несколько альтернативных составов. Целью было рассмотреть другие сочетания наполнителей с целью улучшения сыпучести порошка, а также достижения хорошей однородности смеси и однородности содержания.

Составы, содержащие меньше Compaсtcel МАВ и большие количества глиданта по сравнению с партией 3 (APL-117-6085-03) также испытывали.

Эти дополнительные составы представлены в таблице 38 ниже.

Таблица 38:

Наименование продукта	№ партии (% масс./масс.)		
	APL-117-6085-05	APL-117-6085-06	APL-117-6085-07
Псилоцибин	1,0	1,0	5,0
Микрокристаллическая целлюлоза Ph 102	-	89,0	85,0
Прежелатинизированный крахмал (Крахмал 1500)	45,0	-	-
Compaсt Cel МАВ	-	5,0	5,0
Микрокристаллическая целлюлоза CEOLUS UF 702	49,5	-	-
Гликолят крахмала натрия	3,0	3,0	3,0
Коллоидная двуокись кремния	0,5	1,0	1,0
Стеарилфумарат натрия	1,0	1,0	1,0
ВСЕГО	100,0	100,0	100,0

Результаты для этих партий показаны в таблице 39 ниже:

Таблица 39:

№	Прочнос	Сыпучесть продукта	Однородность смеси	Однородность
---	---------	--------------------	--------------------	--------------

партии	ть (мг)	(коэффициент Карриса)		содержимого
APL-117-6085-05	1,0	20,9	ВЕРХ=130,0 Середина=105,4 Дно=107,2 Среднее=114,2 %ОСО=12,6%	% От заявленного=88,3 СР=16,5
APL-117-6085-06	1,0	20,0	ВЕРХ=107,0 Середина=96,2 Дно=95,5 Среднее=99,6 % ОСО=6,5	% От заявленного=96,2 СР=10,5
APL-117-6085-07	5,0	24,3	ВЕРХ=91,5 Середина=94,2 Дно=94,8 Среднее=93,5 % ОСО=7,0	% От заявленного=96,0 СР=11,9

APL-117-6085-05 не достигла хорошей однородности смеси и не соответствует критерию однородности содержимого.

APL-117-6085-06 и APL-117-6085-07 демонстрируют улучшенную текучесть порошка, но однородность смеси для обоих составов была хуже, чем у APL-117-6085-03.

Следовательно, заявитель рассмотрел модифицированные эксципиенты, и более конкретно, силикатированные наполнители с различным размером частиц. Эти составы показаны в таблице 40 ниже:

Таблица 40:

Наименование продукта	№ партии (% масс./масс.)	
	APL-117-6085-11	APL-117-6085-12
Псилоцибин	5,0	1,0
Prosolv 50	10,5	15,5
Prosolv 90	80,0	79,0
Гликолят крахмала натрия	3,0	3,0
Коллоидная двуокись кремния	0,5	0,5
Стеарилфумарат натрия	1,0	1,0
ВСЕГО	100,0	100,0

Prosolv является силикатированной микрокристаллической целлюлозой, и два варианта были выбраны для определения того, влияет ли размер частиц на результат. По сравнению со стандартной микрокристаллической целлюлозой (типовой интервал размеров, в зависимости от просеивания, 80-350 микронов), Prosolv имеет более мелкое распределение частиц по размерам, и это дает повышенную площадь поверхности. Было предположено, что повышенная площадь поверхности может обеспечить превосходную сыпучесть и повышенную прессуемость вместе с улучшенной однородностью содержимого и стабильностью в составе. Соотношение Prosolv 50 и Prosolv 90 было таким, чтобы получить распределение частиц по размерам как более мелких, так и более крупных частиц.

Результаты показаны в таблице 41 ниже.

Таблица 41:

№ партии	Прочность (мг)	Сыпучесть продукта (коэффициент Карриса)	Однородность смеси	Однородность содержимого
APL-117-6085-11	5,0	24,3	ВЕРХ=103,4 Середина=100,4 Дно=100,2 Среднее=101,5 % ОСО=2,0	% От заявленного=94,1 СР=6,0
APL-117-6085-12	1,0	21,1	ВЕРХ=101,9 Середина=98,4 Дно=99,9 Среднее=100,1 % ОСО=3,8%	% От заявленного=100,5 СР=5,8

Можно видеть, что ключевые параметры однородности содержимого (более 90%, и, фактически, более 94%) и СР (менее 10, и, фактически, менее 7) являются превосходными, также как и однородность смеси (более 95% с допуском на ошибку).

Настоящая заявка охватывает следующие аспекты:

1. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А', характеризующийся одним или более из:

- a. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0 и 14,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- b. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0 и 14,5° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- c. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7a или 7b; или
- d. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8a или 8b.

2. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по

пункту 1, дополнительно характеризующийся эндотермическим событием в ДСК термограмме, имеющем температуру начала 210-215°C.

3. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А по пункту 1 или 2, характеризующийся одним или более из:

а. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0, 14,5 и 17,5, ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

б. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0, 14,5 и 17,5, ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

с. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7а; или

д. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8а.

4. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А по пункту 3, где пик при 17,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ имеет относительную интенсивность, по сравнению с пиком при 14,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, по крайней мере, 5%.

5. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А' по пункту 1 или 2, характеризующийся одним или более из:

а. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0 и 14,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, но отсутствие или по существу отсутствие пика при 17,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

б. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0 и 14,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, но отсутствие или по существу отсутствие пика при 17,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

с. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7б; или

д. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8б.

6. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А' по пункту 5, где любой пик при 17,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ имеет относительную интенсивность по сравнению с пиком при 14,5 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$ менее 5%.

7. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по любому из пунктов 1-6, дополнительно характеризующийся наличием любого из:

i) содержание воды <0,5% масс./масс.; или

ii) <0,5% масс./масс. потеря в ТГА термограмме от температуры окружающей среды, например, от 25°C до 200°C.

8. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по любому из представленных выше пунктов, имеющий химическую чистоту более 97% по ВЭЖХ, и отсутствие отдельных примесей более 1%, включая фосфорную кислоту, измеренную по ^{31}P ЯМР, и псилоцин, измеренный по ВЭЖХ.

9. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по любому из представленных выше пунктов, где кристаллический псилоцибин является белым или беловатым твердым веществом.

10. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по

любому из представленных выше пунктов, содержащий спектр, который соответствует одному или более с Фиг. 10-13.

11. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по любому из представленных выше пунктов, содержащий критерий приемлемости по одному или более признакам из таблицы 9, пункты 6-13.

12. Партия кристаллического Полиморфа А псилоцибина по пункту 1-4 или 7-11, содержащая, по крайней мере, 100 г.

13. Фармацевтический состав, содержащий кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по любому из представленных выше пунктов.

14. Фармацевтический состав по пункту 13, который является пероральной лекарственной формой.

15. Фармацевтический состав по пункту 13 или 14, где кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' присутствует в количестве, дающем дозу 0,01 мг/кг - 1 мг/кг.

16. Фармацевтический состав по любому из пунктов 13-15, который содержит один или более эксципиентов.

17. Фармацевтический состав по пункту 16, где один или более эксципиентов содержат микрокристаллическую целлюлозу или крахмал.

18. Фармацевтический состав по пункту 16, где один или более эксципиентов содержат силикатированную микрокристаллическую целлюлозу.

19. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по пунктам 1-11 для применения в медицине.

20. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по пунктам 1-11 для применения в лечении расстройства центральной нервной системы.

21. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморфа А' по пунктам 1-11 для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии.

22. Способ крупномасштабного производства псилоцибина (12) в форме Полиморфа А, отличающийся тем, что способ включает водную кристаллизацию псилоцибина (12) при контролируемой сушке, с получением кристаллического Полиморфа А псилоцибина по любому из пунктов 1-4 или 7-11.

23. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А (12А) для применения в медицине.

24. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А (12А) для применения в лечении резистентной к лекарственному средству депрессии.

25. Способ лечения резистентной к лекарственному средству депрессии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таковом, эффективной дозы кристаллического псилоцибина в форме Полиморфа А (12А).

26. Способ крупномасштабного производства псилоцибина (12) в форме Полиморфа А (12А), отличающийся тем, что он включает водную кристаллизацию псилоцибина (12)

при контролируемой сушке с получением кристаллов, характеризующихся одним или более из:

- a. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0, 14,5 and 17,5, ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- b. пики в ПРД дифрактограмме при 11,5, 12,0, 14,5 и 17,5, ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при 19,7, 20,4, 22,2, 24,3 или 25,7 ° $2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;
- c. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7а; или
- d. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205-220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8а.

27. Способ по пункту 26, где псилоцибин перекристаллизовывают в около 10-20 объемах воды, нагревают при перемешивании до температуры, по крайней мере, 70°C, доочищают фильтрацией, засевают при температуре около 70°C и охлаждают до около 5°C в течение более 2 часов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллический псилоцибин в форме Полиморфа А или Полиморф А', характеризующийся одним или более из:

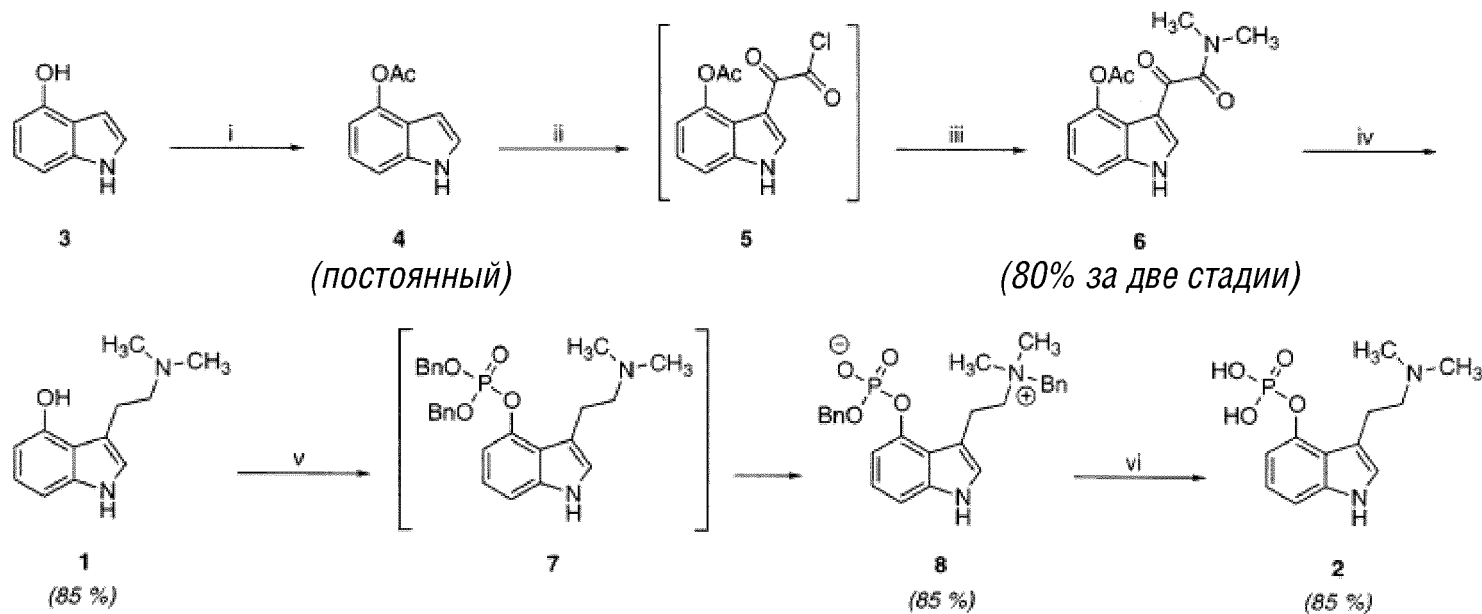
а. пики в ПРД дифрактограмме при $11,5$, $12,0$ и $14,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

б. пики в ПРД дифрактограмме при $11,5$, $12,0$ и $14,5^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$, дополнительно характеризуется, по крайней мере, одним дополнительным пиком при $19,7$, $20,4$, $22,2$, $24,3$ или $25,7^\circ 2\theta \pm 0,1^\circ 2\theta$;

с. ПРД дифрактограмма, которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 7а или 7б; или

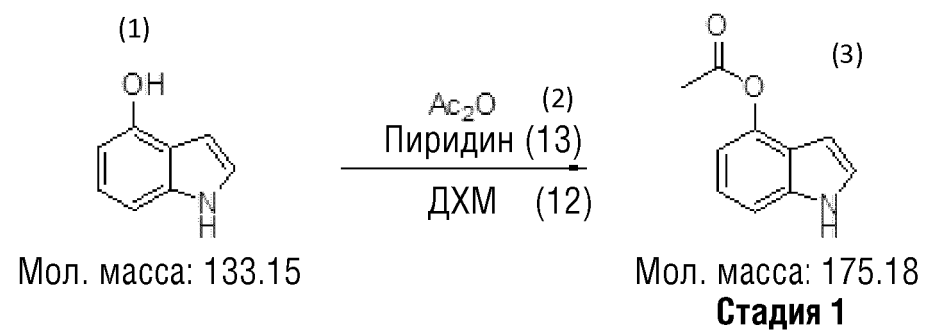
д. эндотермическое событие в ДСК термограмме, имеющее температуру начала 205 - 220°C которая, по существу, иллюстрирована на фигуре 8а или 8б.

ФИГ.1



^aРеагенты и условия: (i) Ac_2O , пиридин, CH_2Cl_2 , 0°C до кт; (ii) $(\text{COCl})_2$, простой эфир, 0°C , *n*-гексен, затем -20°C ; (iii) $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$, ТГФ; (iv) LiAlH_4 , ТГФ, Δ (v) $[(\text{BnO})_2\text{P}(\text{O})]_2\text{O}$, *n*-BuLi, ТГФ, -78°C до 0°C ; (vi) H_2 , Pd/C, MeOH, кт.

ФИГ.2

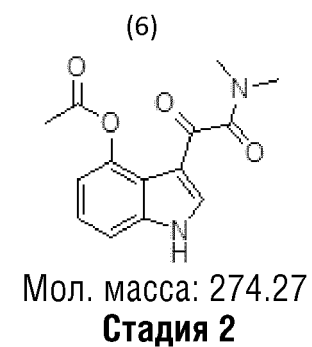
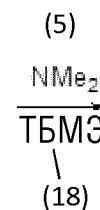
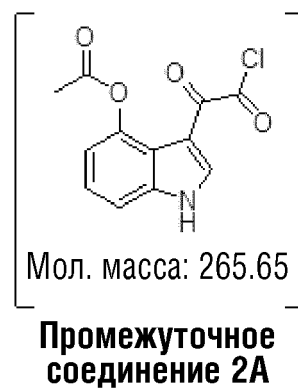
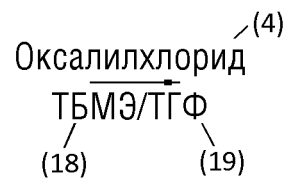
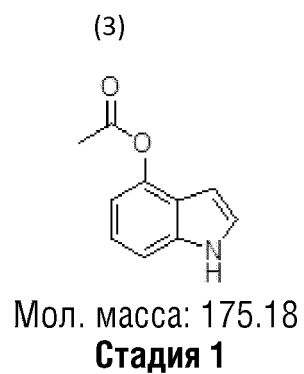


Промывка лимонной кислотой (14) и NaHCO₃ (15)

Сушка с MgSO₄ (16)

Разделение гептаном (17)

ФИГ.3

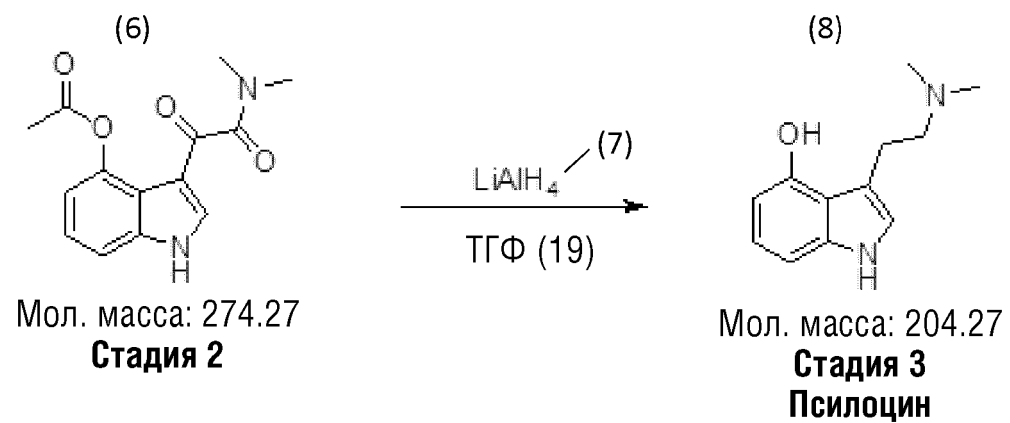


Добавление гептана (17)

Промывка гептаном (17)

Суспензия в воде (20) и ИПС (21)

ФИГ.4

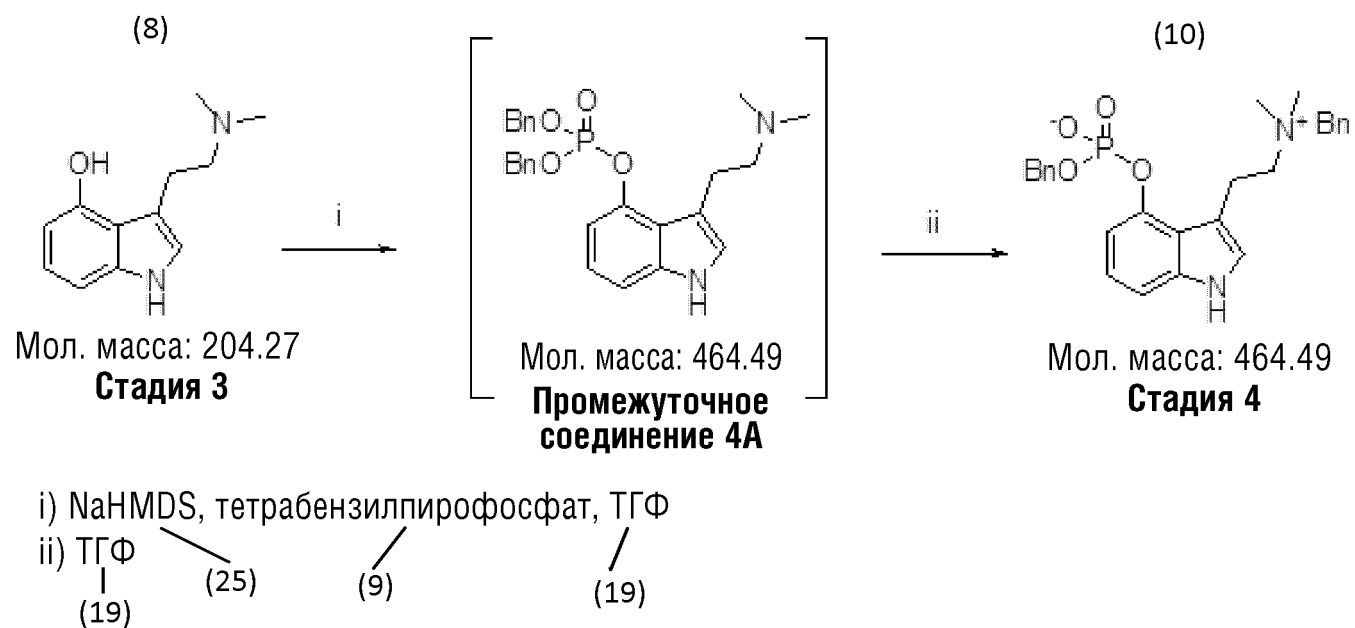


Гашение ацетоном (22) и лимонной кислотой (14)

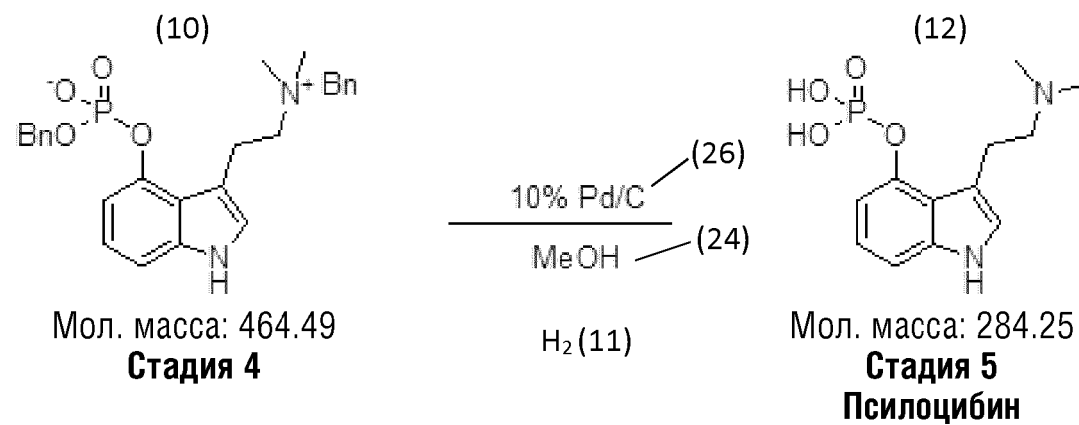
Сушка над MgSO_4 (16)

Суспендирование в iProAc (24): ТБМЭ (18)

ФИГ.5



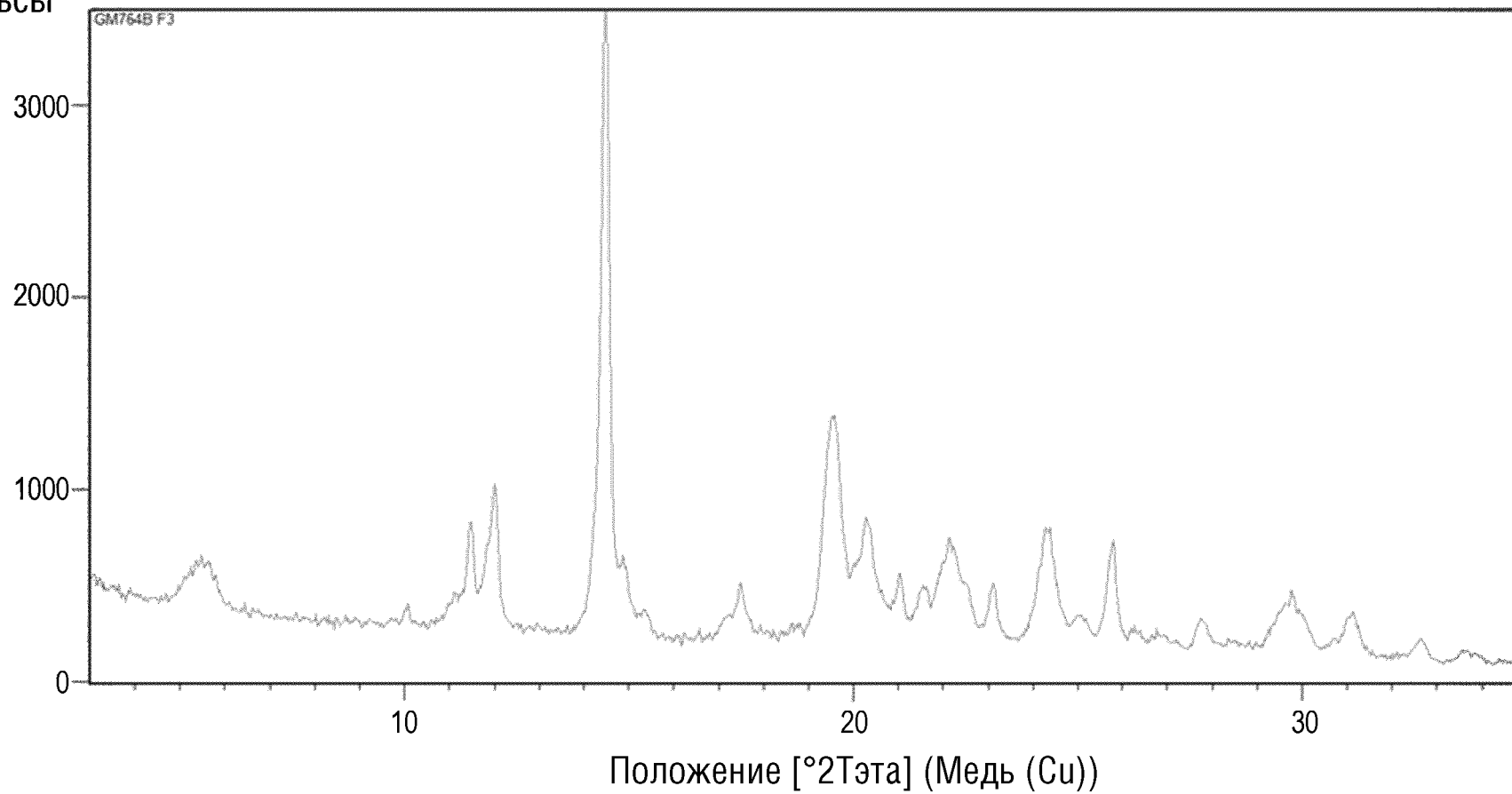
ФИГ.6



Добавляют H₂O (20)
Фильтрация на слое целлита (27)

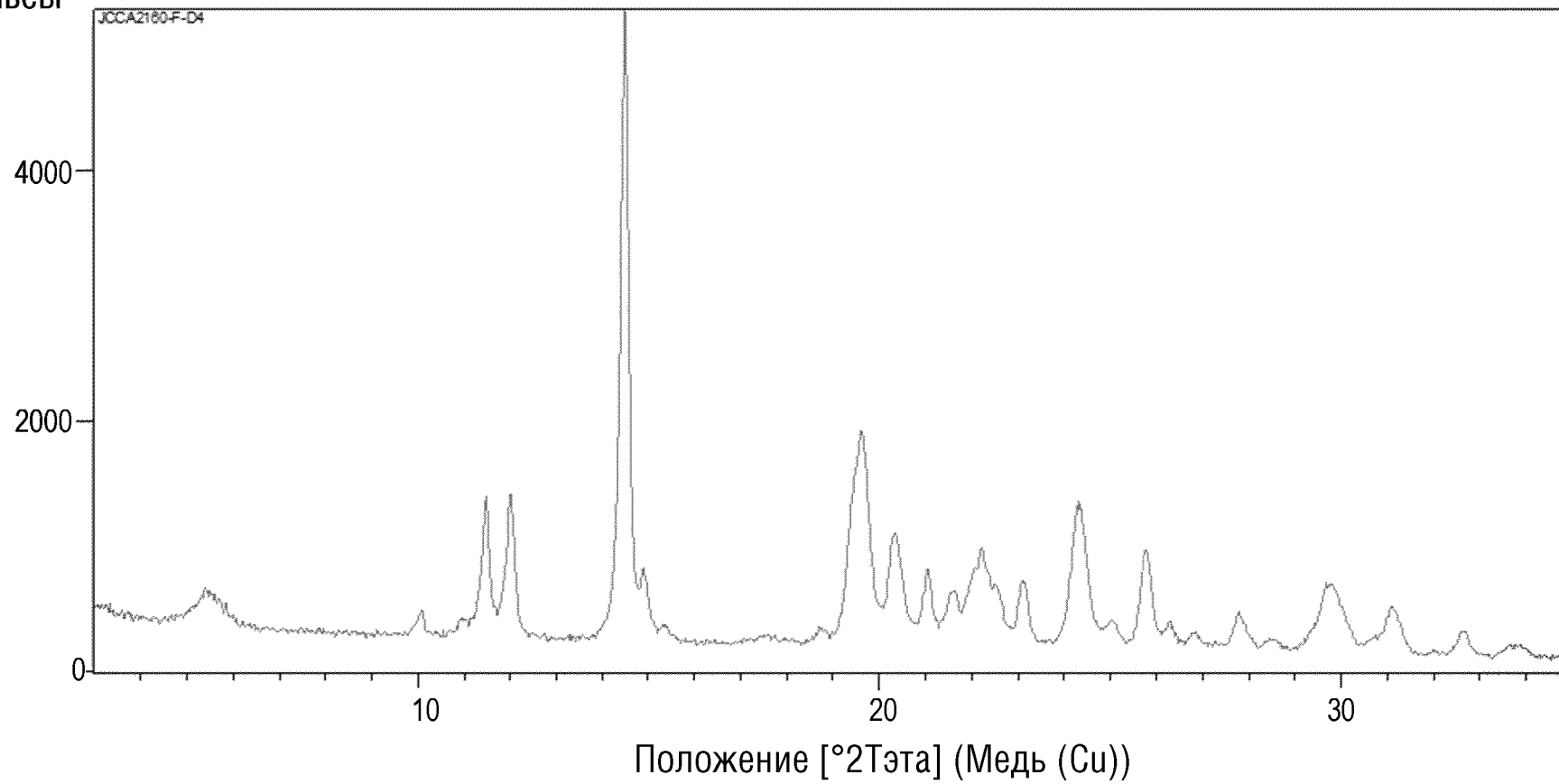
ФИГ.7А

Импульсы



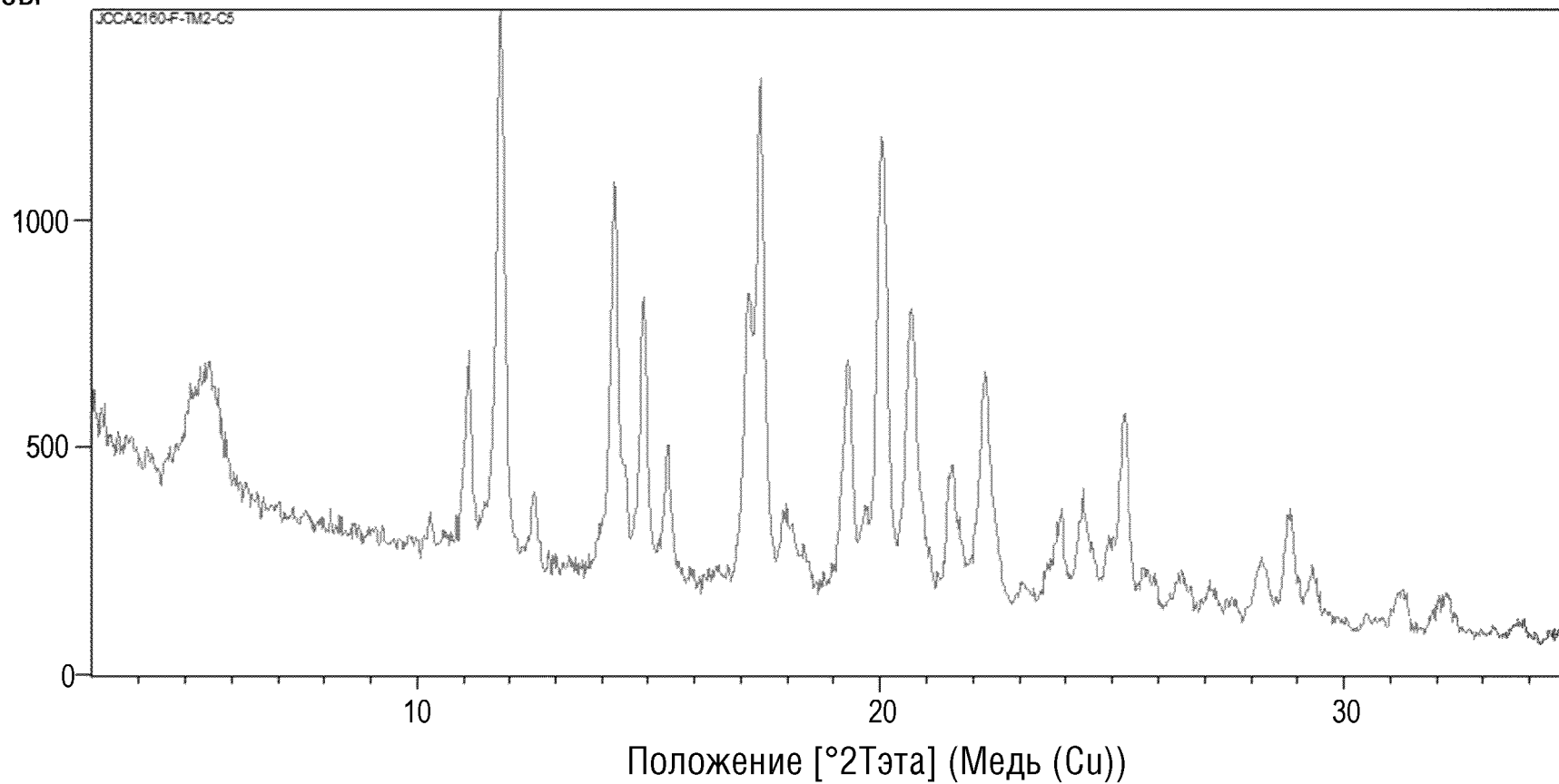
ФИГ.7В

Импульсы



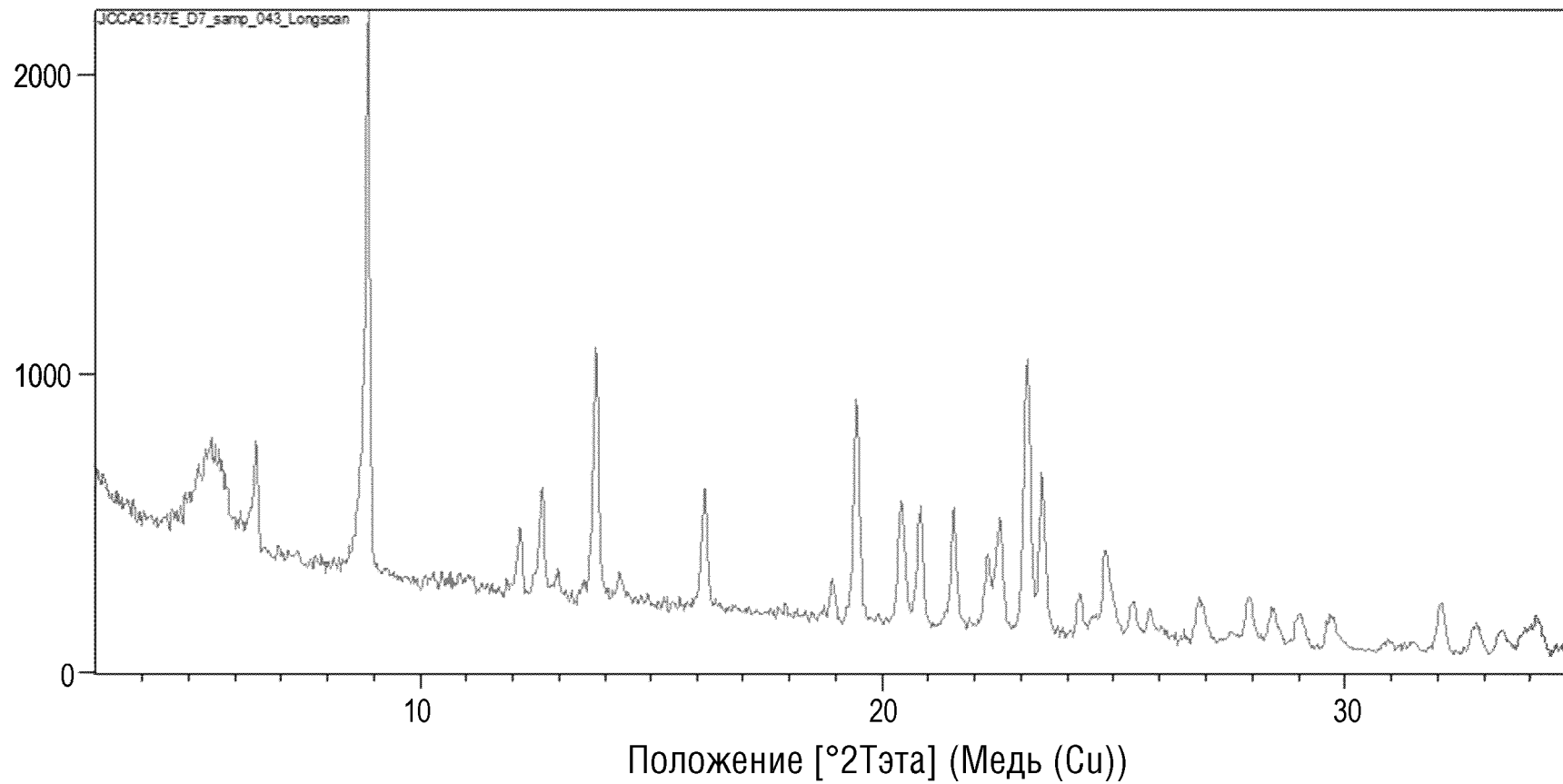
ФИГ.7С

Импульсы



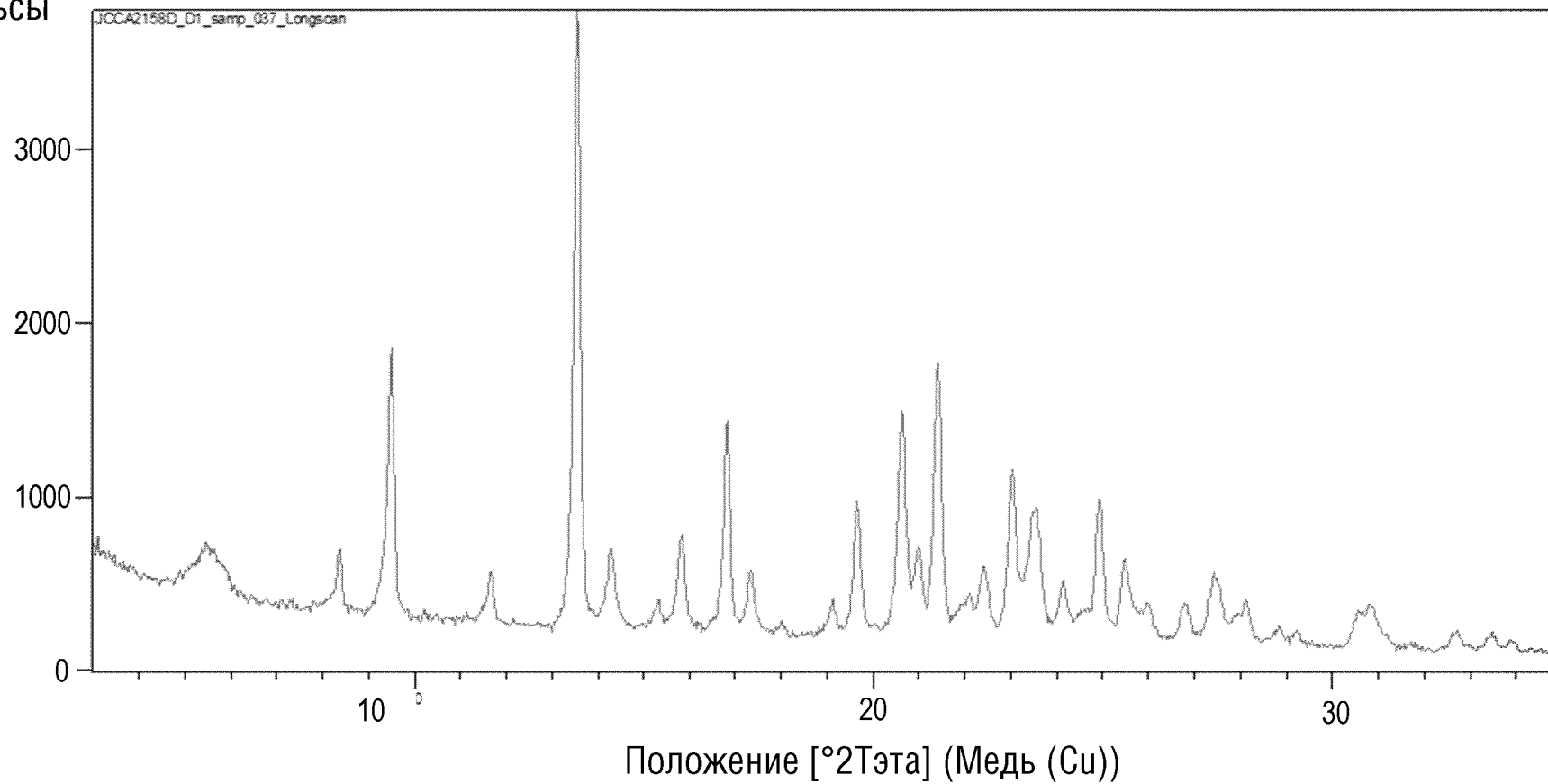
ФИГ.7D

Импульсы



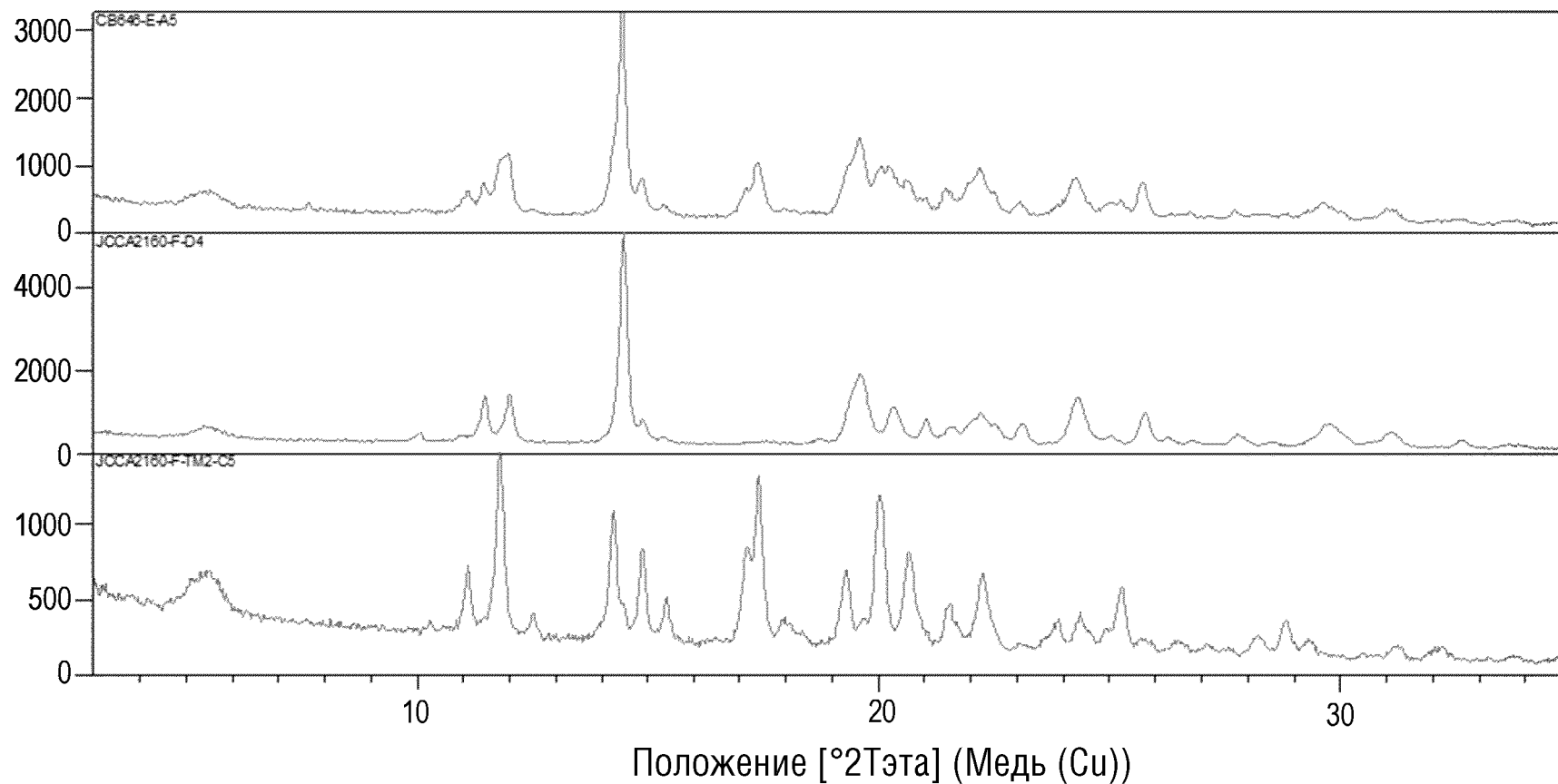
ФИГ.7Е

Импульсы



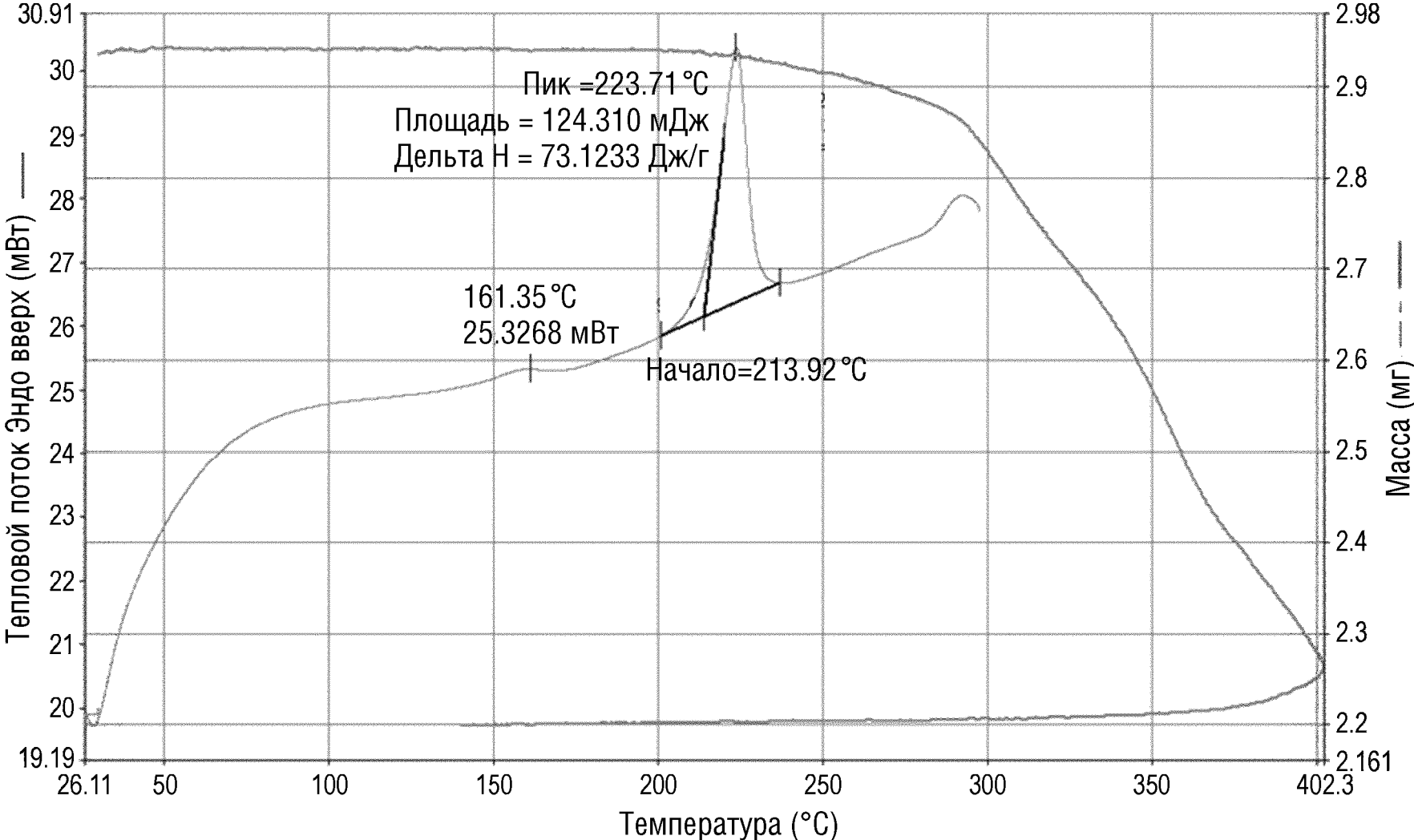
ФИГ.7F

Импульсы

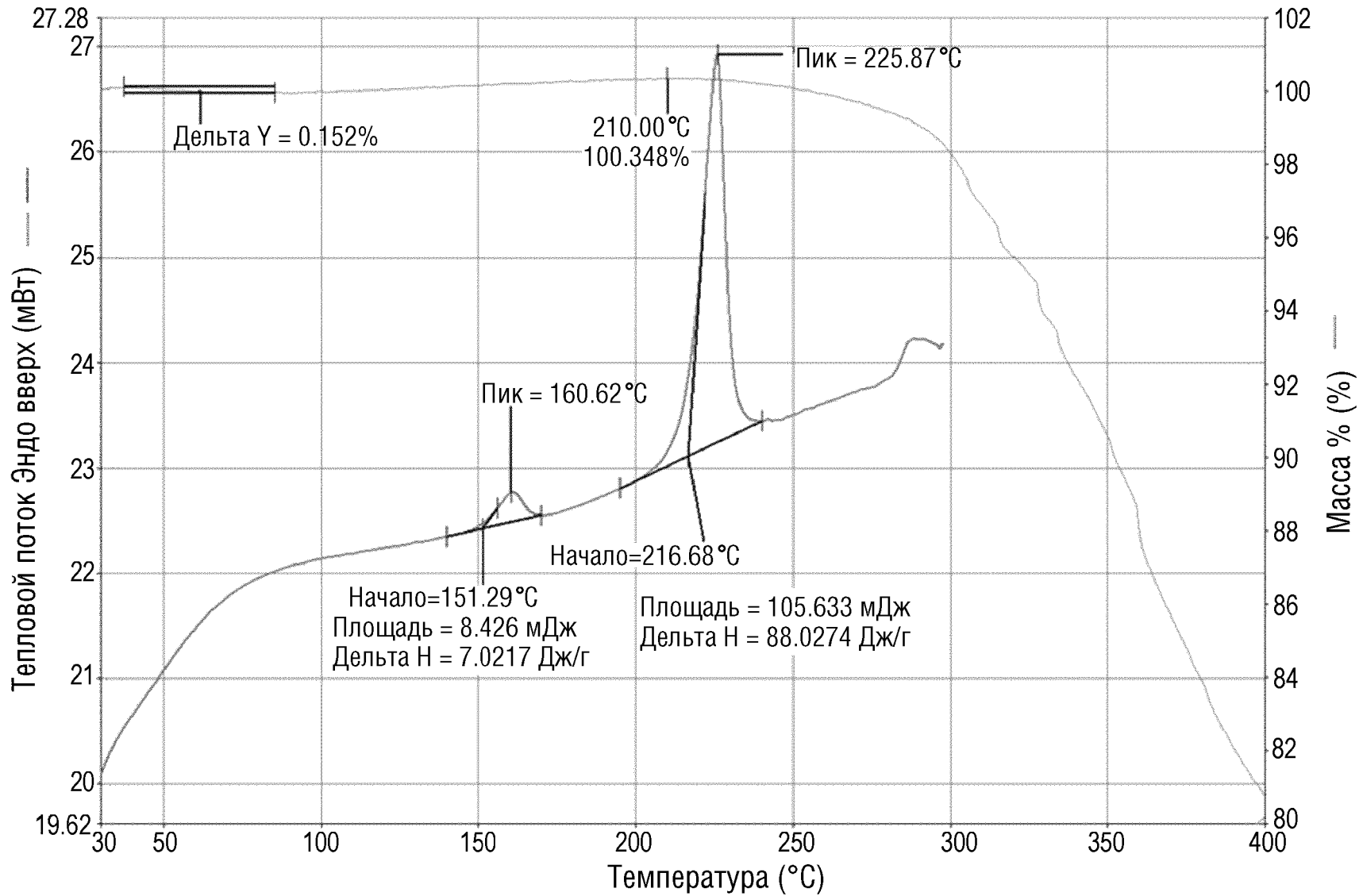


СВ646 - ВЕРХ - СМЕШАННАЯ ФАЗА; JCCA2160-F-СЕРЕДИНА ШАБЛОН А'; JCCA2160-F-TM2-НИЗ ШАБЛОН В

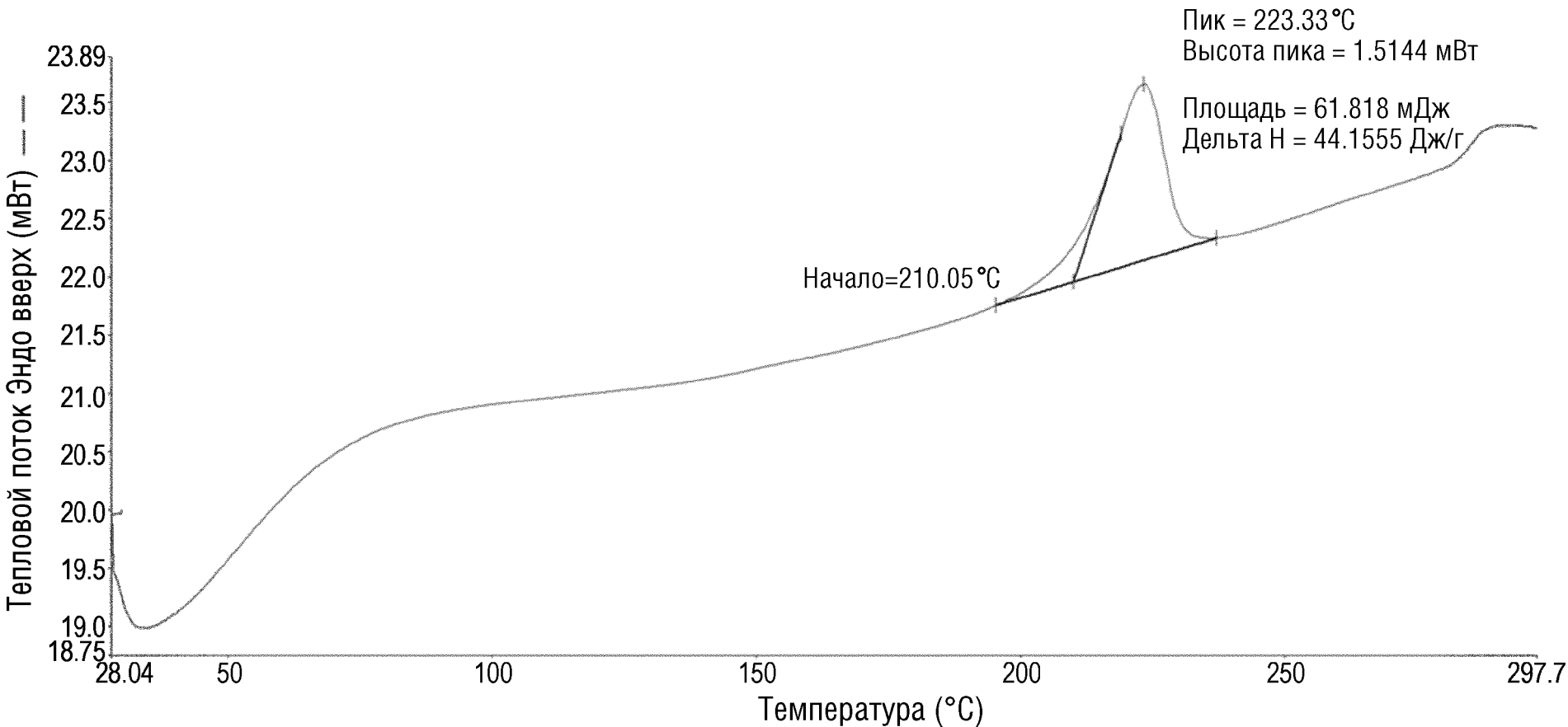
ФИГ.8А



ФИГ.8В

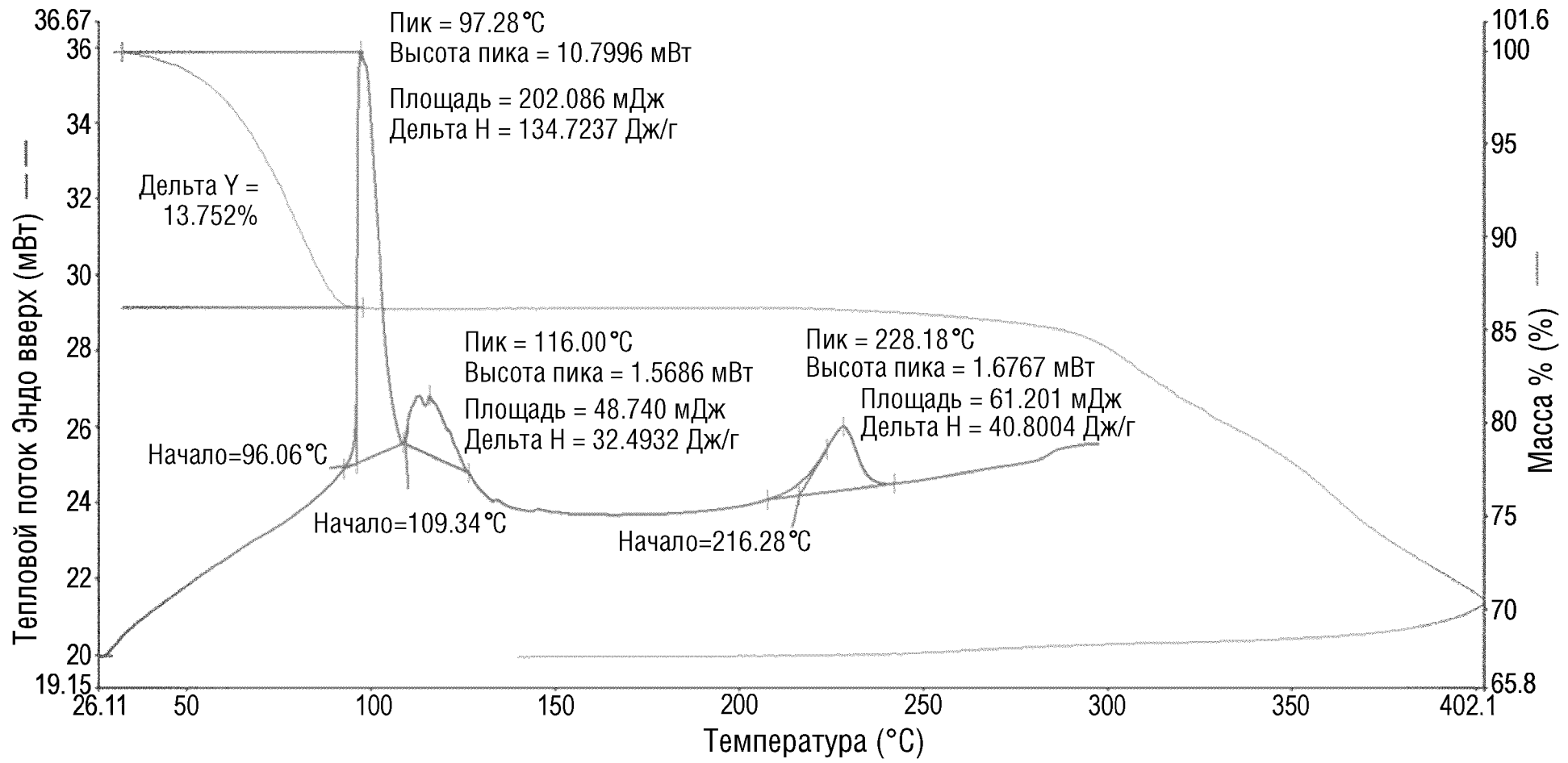


ФИГ.8С

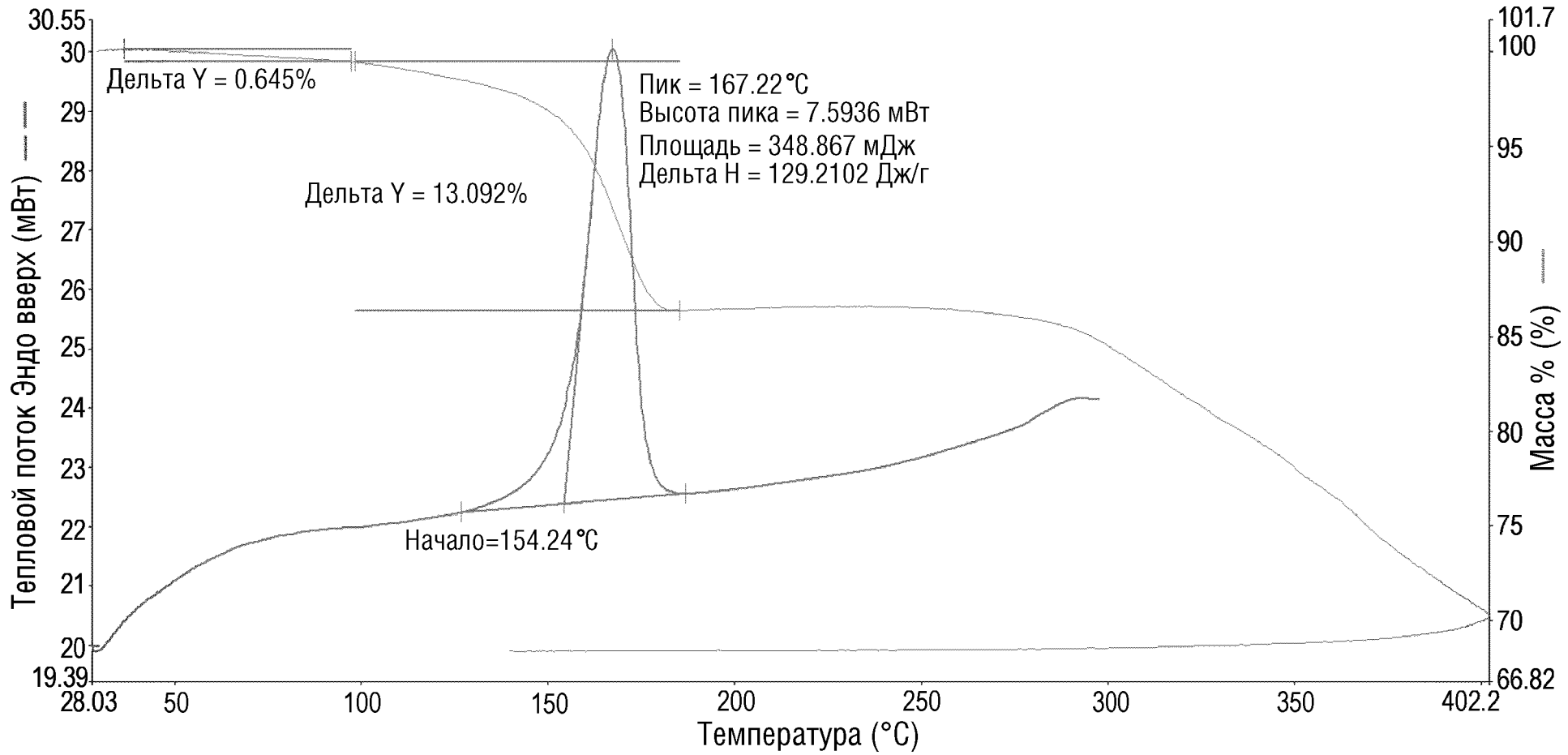


15/32

ФИГ.8D



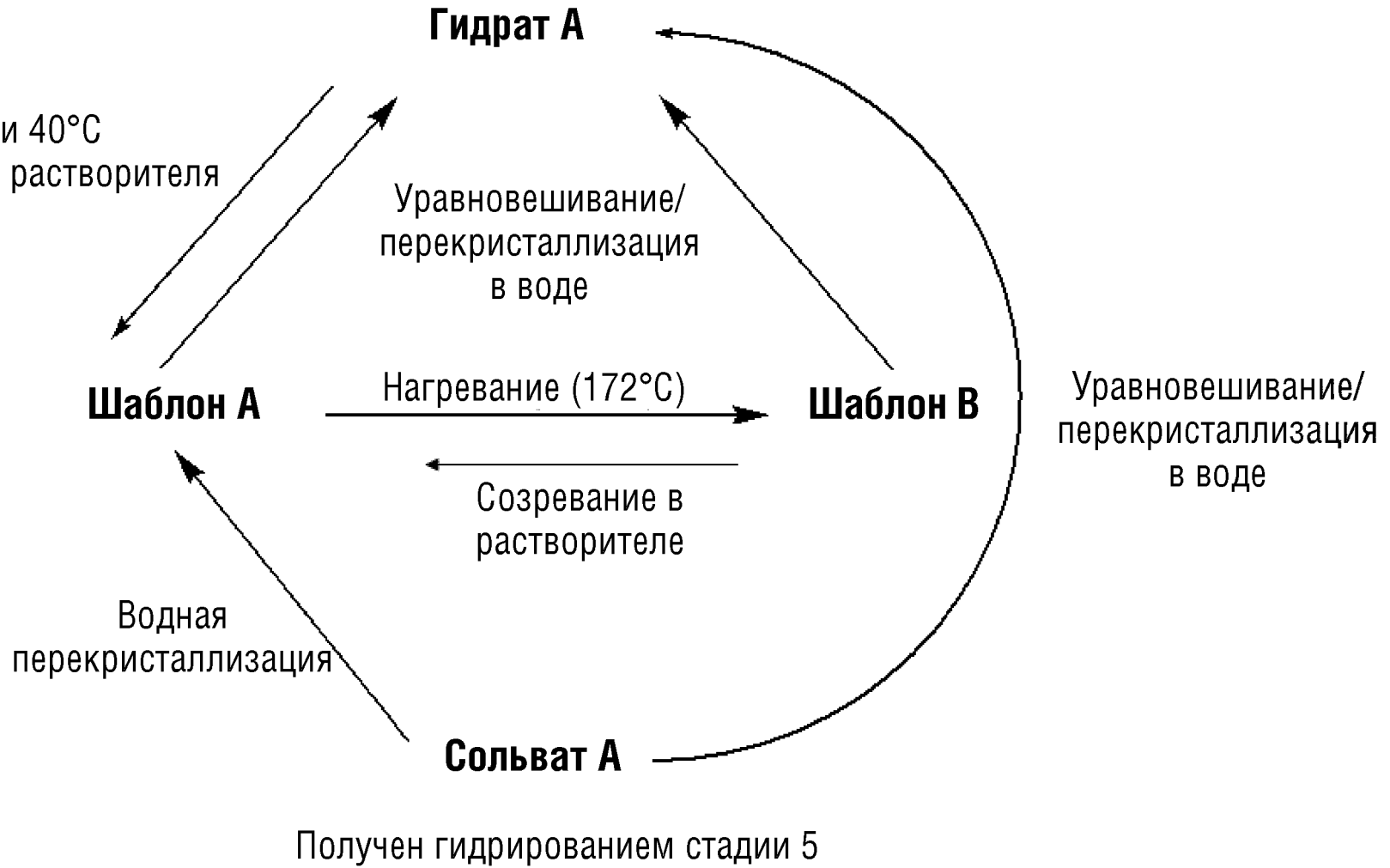
ФИГ.8Е



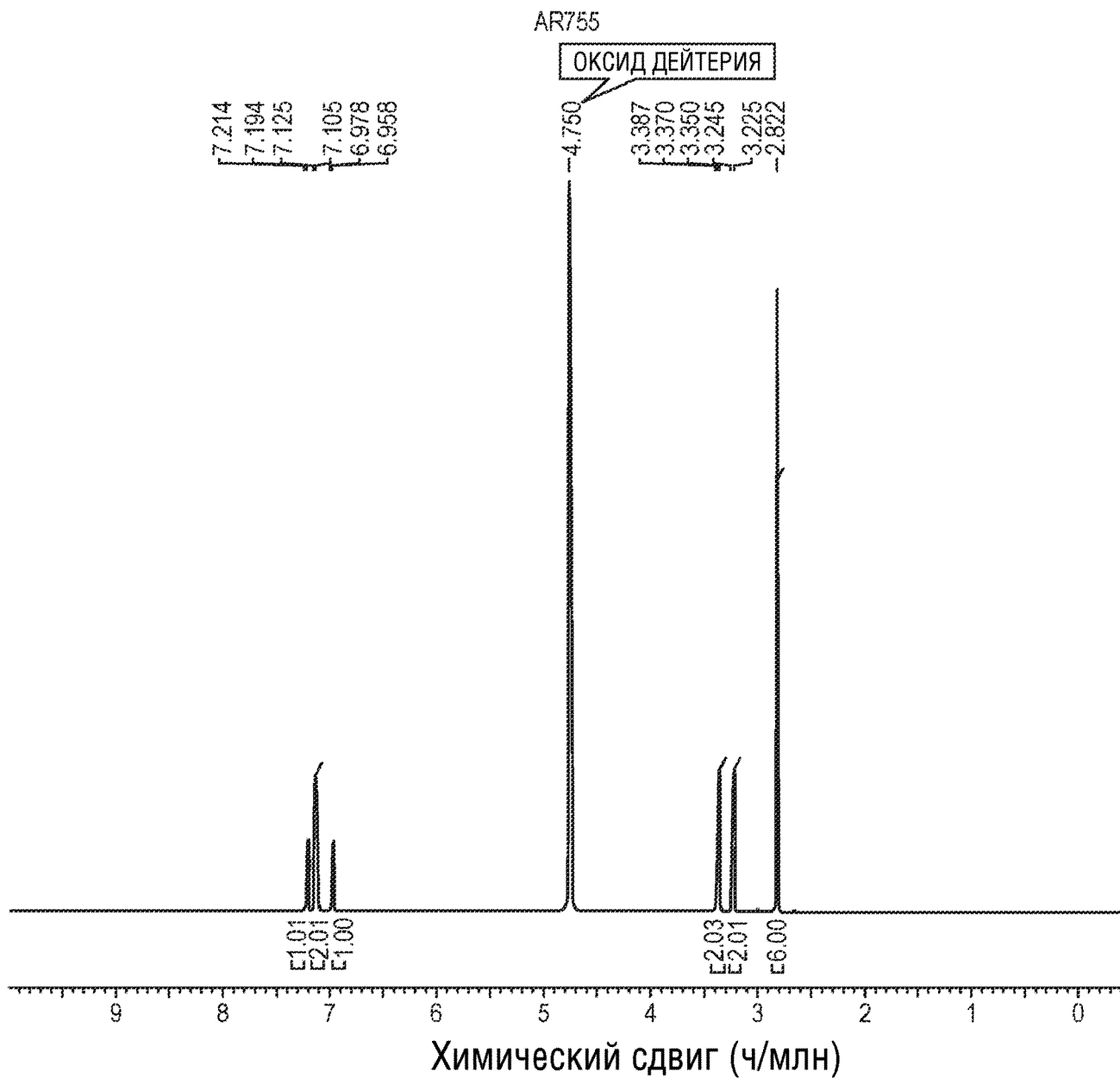
17/32

ФИГ.9

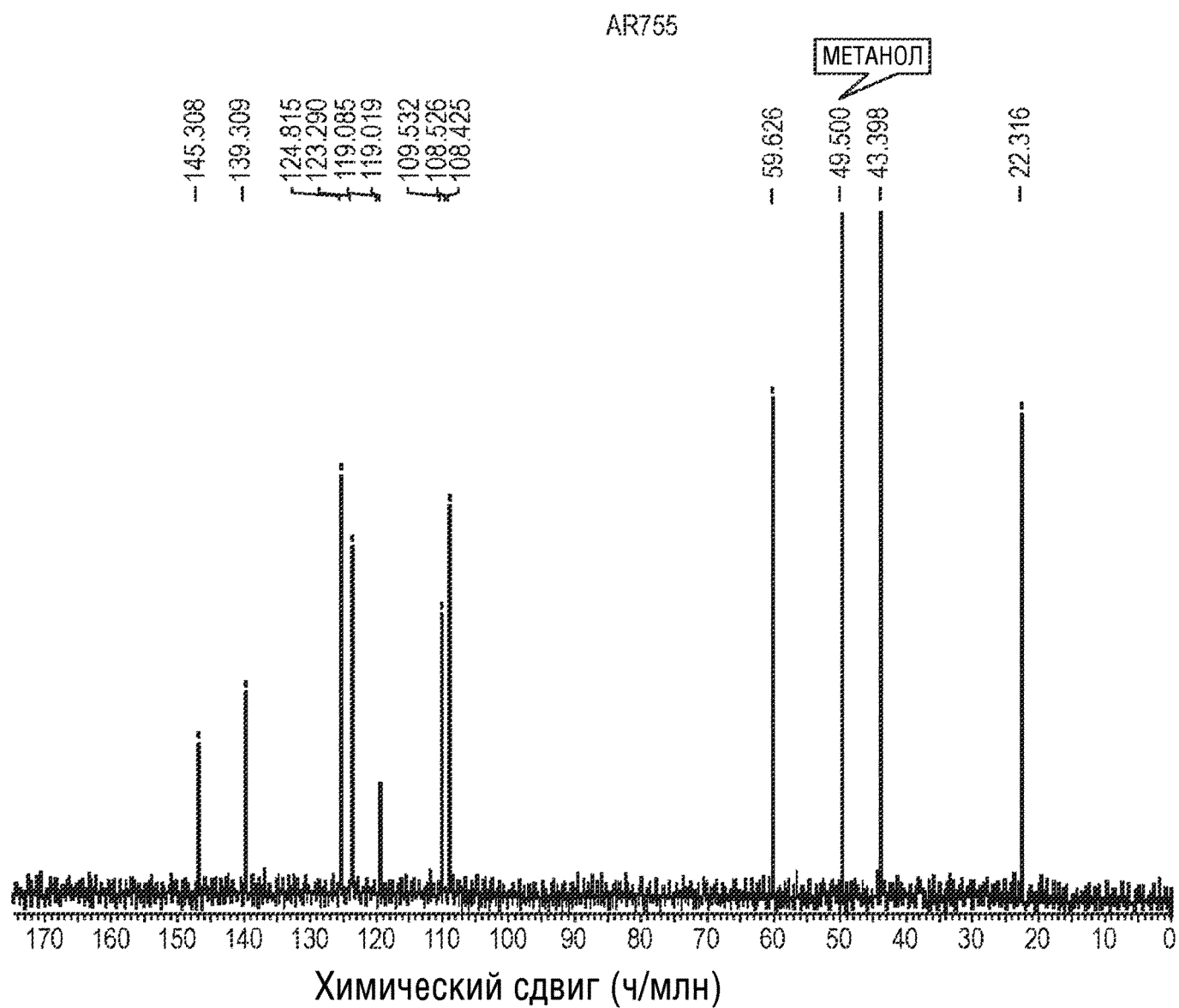
- 1) Сушка при 40°C
- 2) Удаление растворителя в вакууме



ФИГ.10

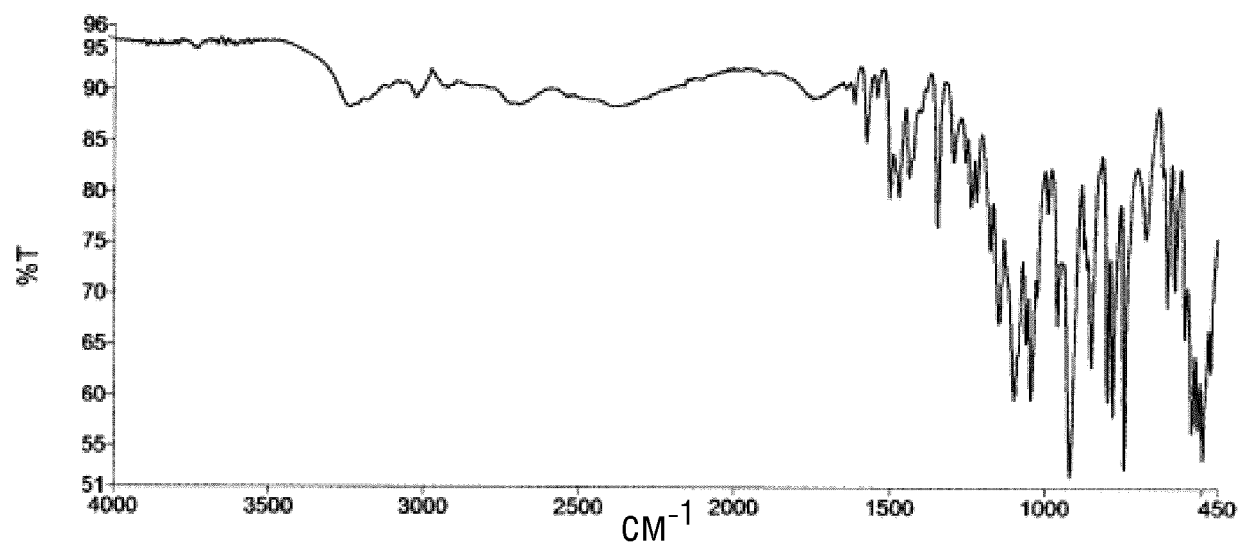


ФИГ.11



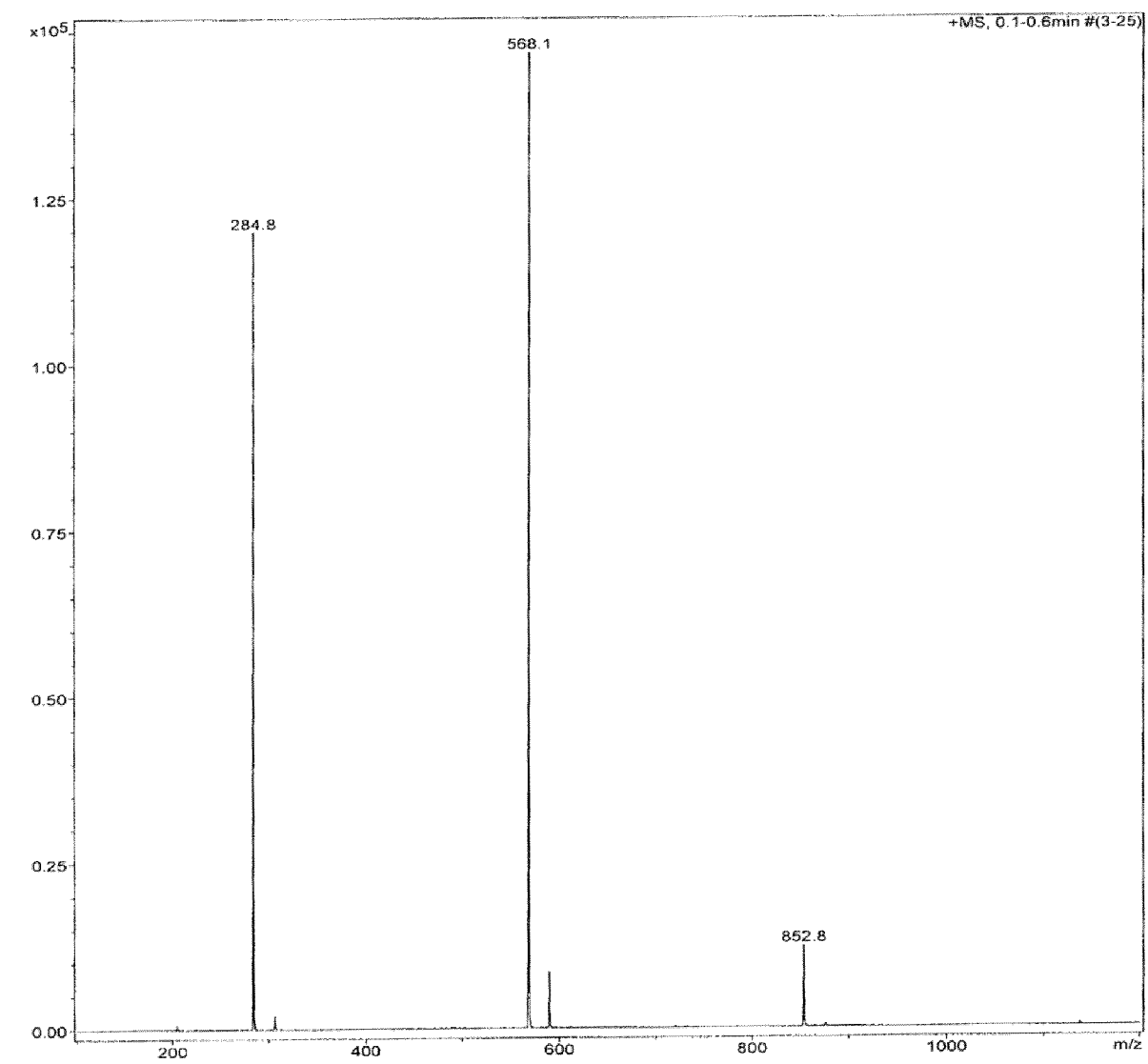
ФИГ.12

Спектральный график

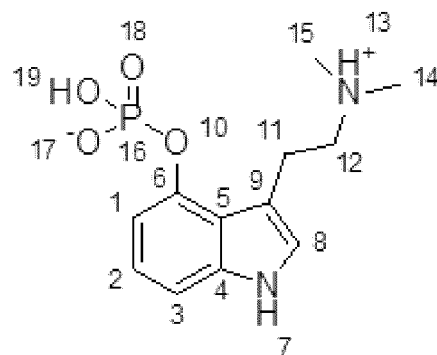


Наименование	Описание
— AR755	Псилоцибин по Ryan Date Friday, февраль, 17, 2017

ФИГ.13



ФИГ.14



Псилоцибин

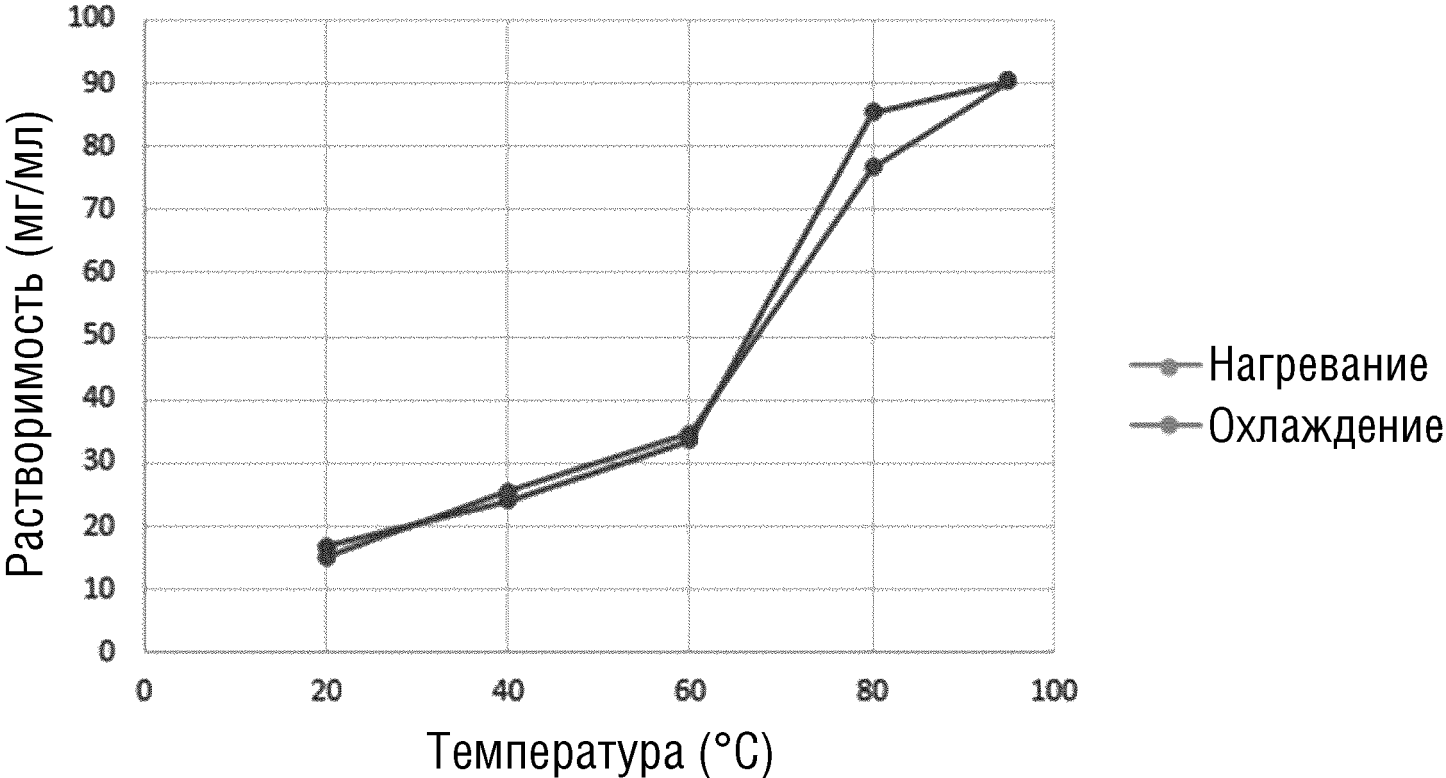
$C_{12}H_{17}N_2O_4P$

Точная масса: 284.09

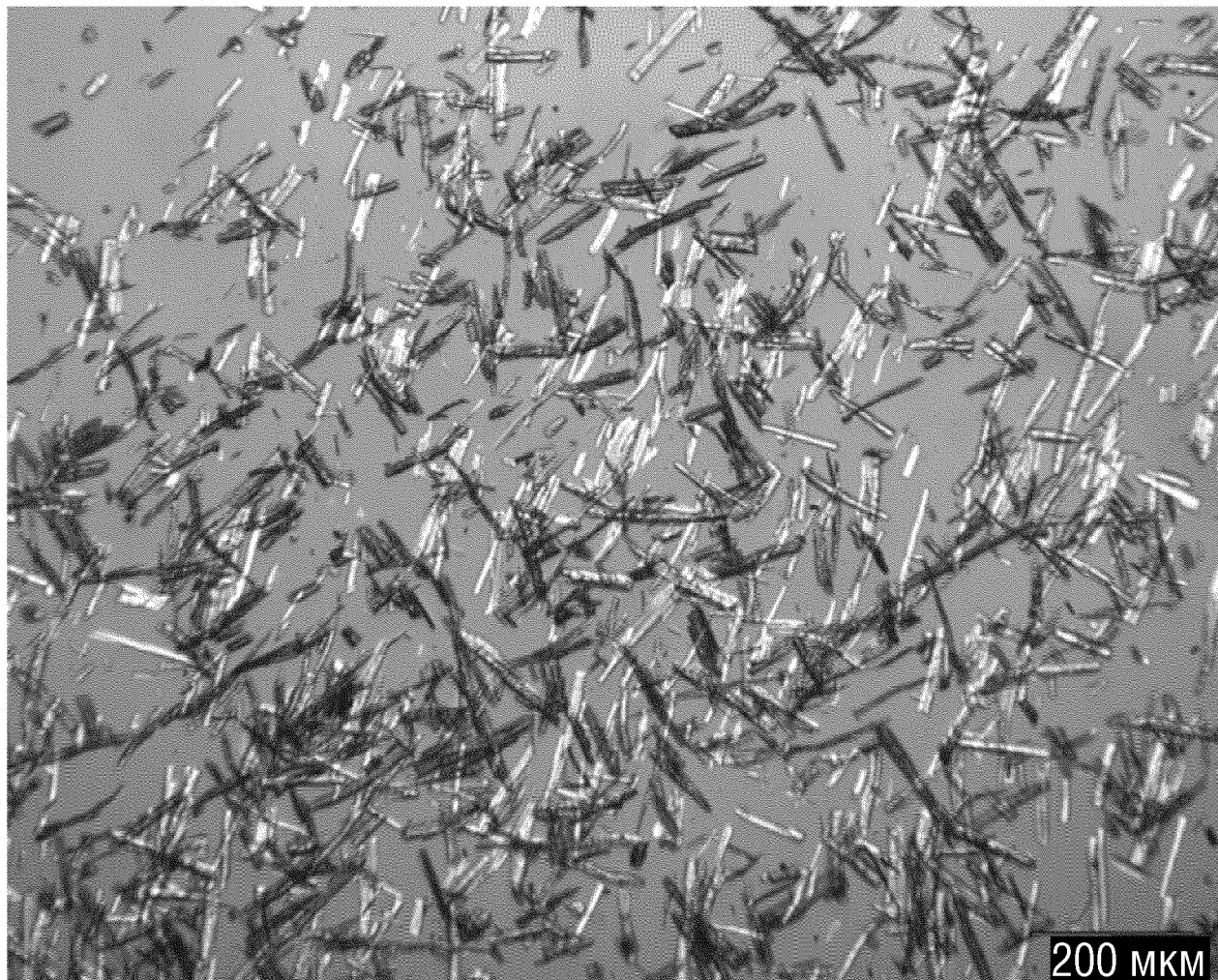
Мол. масса: 284.25

ФИГ.15

Растворимость Псилоцибина в воде



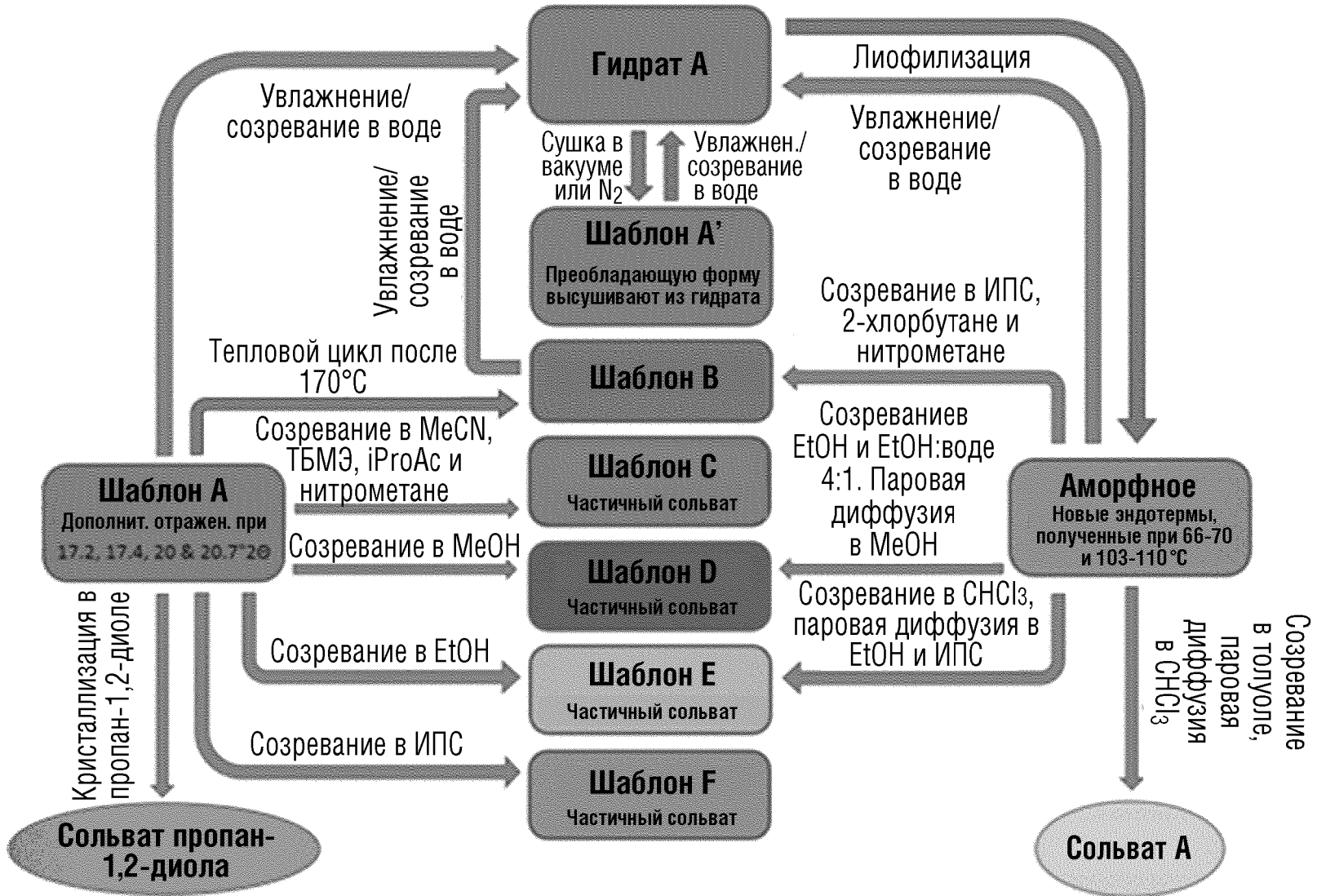
ФИГ.16А



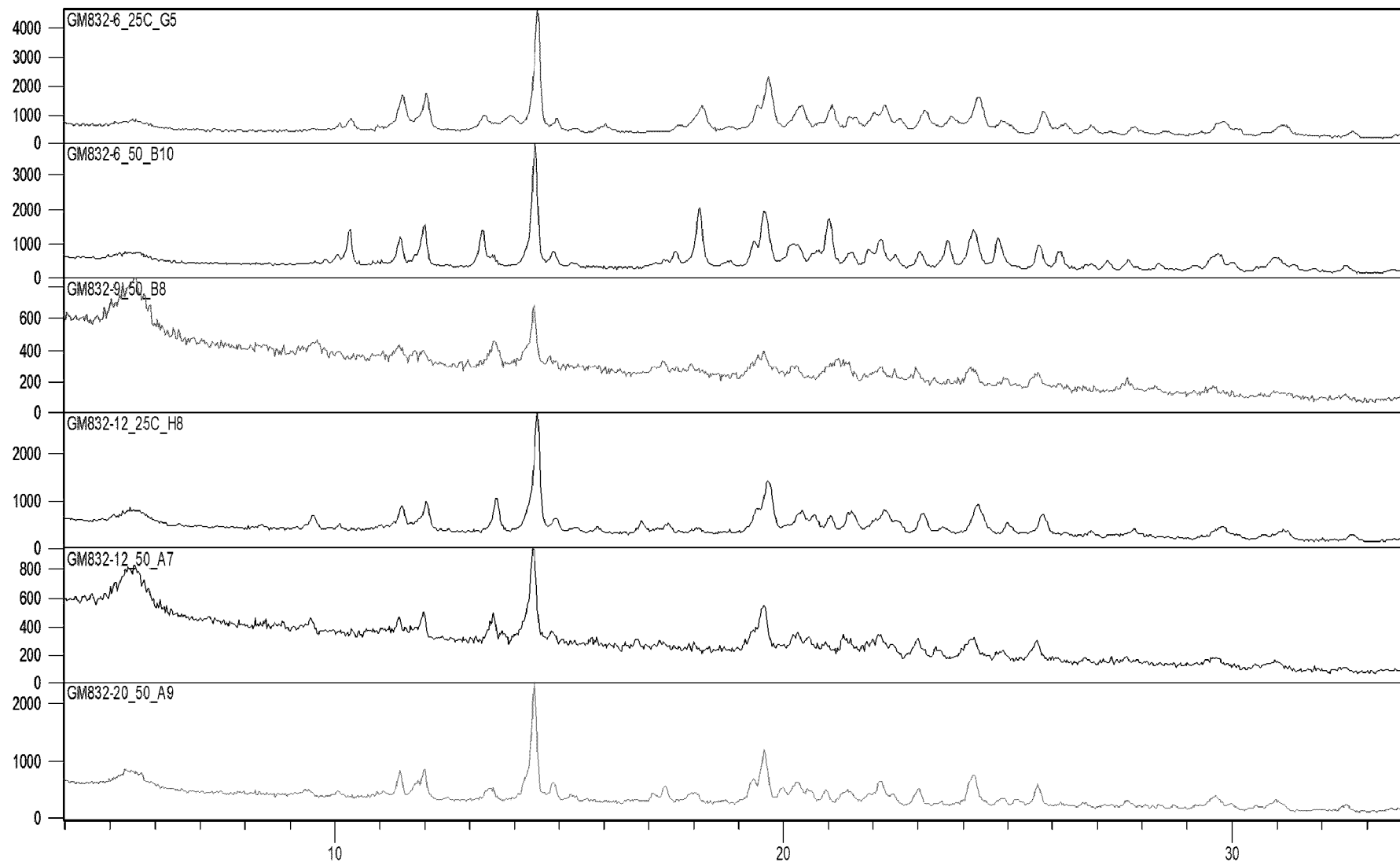
ФИГ.16В



ФИГ.17

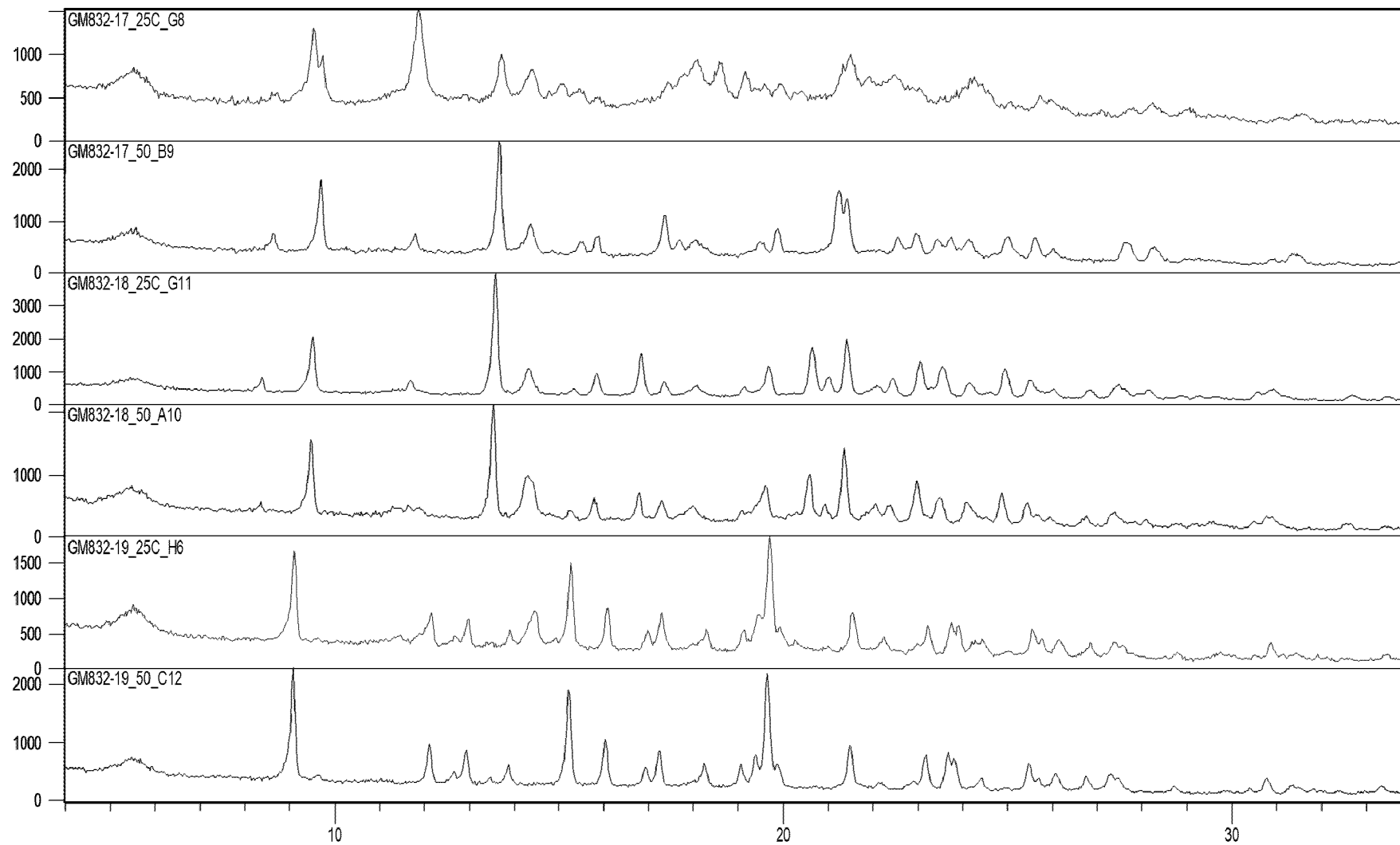


ФИГ.18

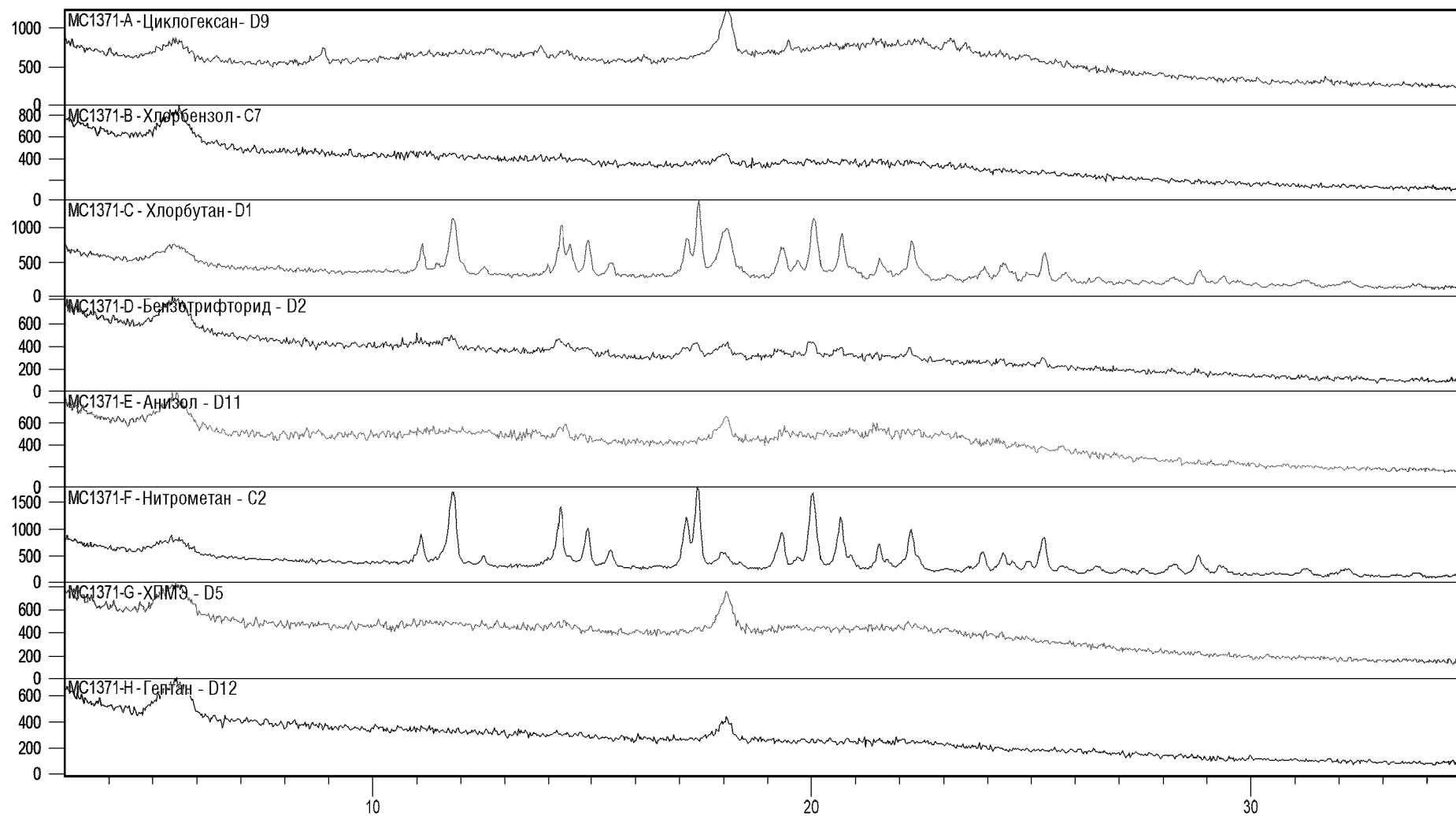


Положение [$^\circ 2\theta$] (Медь (Cu))

ФИГ.19

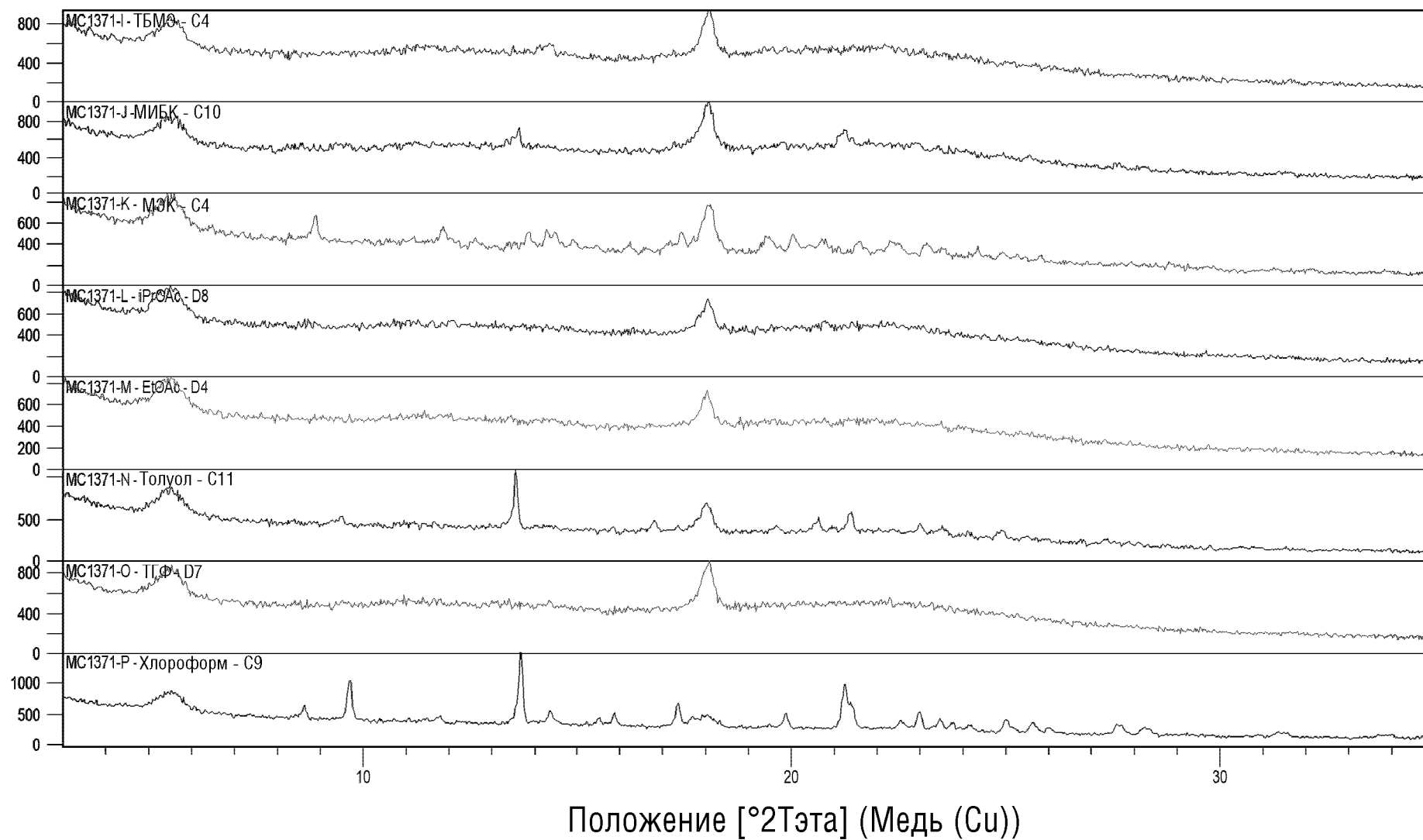


ФИГ.20

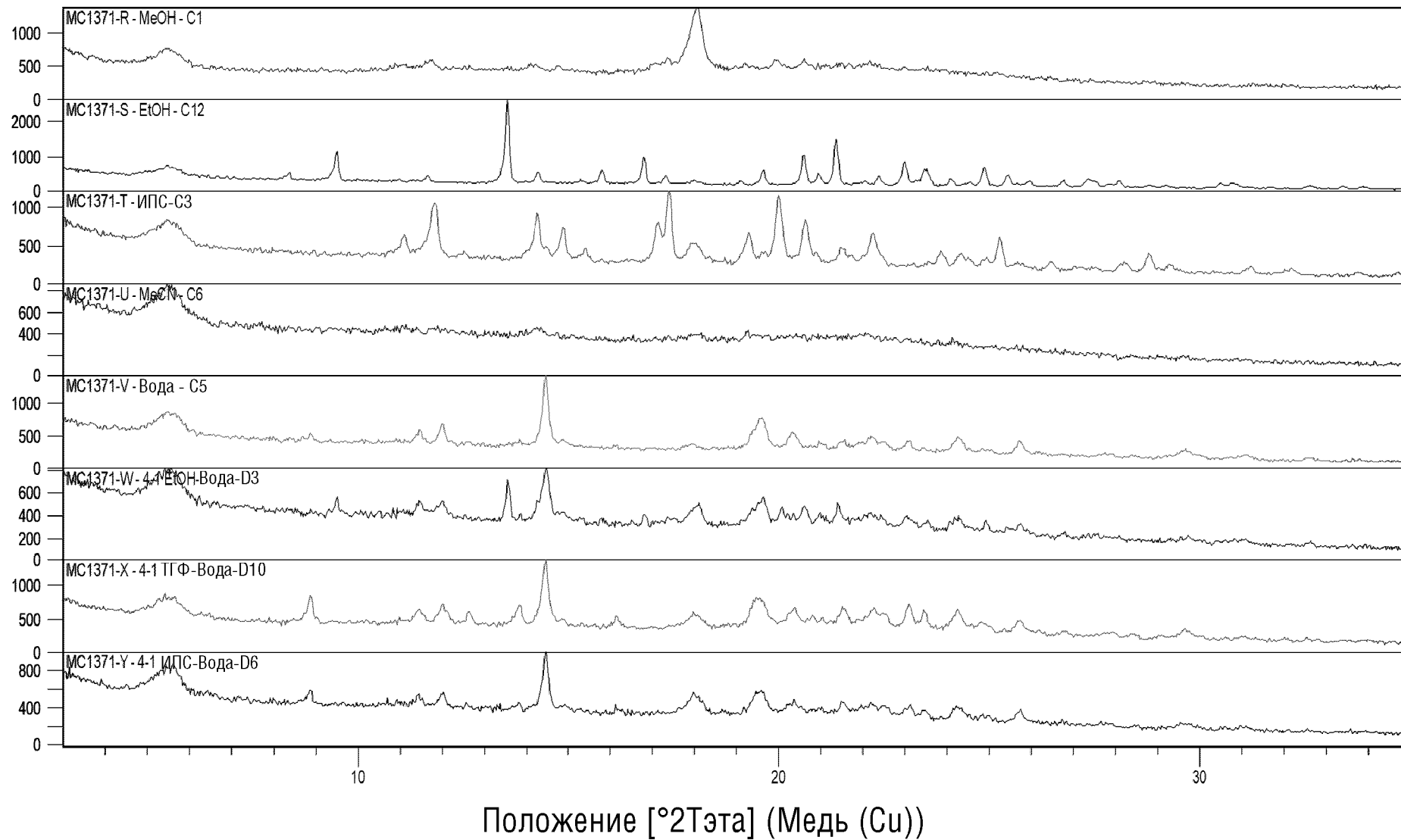


Положение [$^\circ 2\theta$] (Медь (Cu))

ФИГ.21



ФИГ.22



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2018/057811

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D209/16
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 3 192 111 A (ALBERT HOFMANN ET AL) 29 June 1965 (1965-06-29) column 2, line 67 - column 3, line 11; examples column 3, lines 28-38	1
A	----- GB 912 714 A (SANDOZ LTD) 12 December 1962 (1962-12-12) page 2, lines 12-36; example 1	1
A	----- US 3 075 992 A (ALBERT HOFMANN ET AL) 29 January 1963 (1963-01-29) column 4, lines 33-37; examples 6, 7 ----- -/--	1

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 23 January 2019	Date of mailing of the international search report 11/03/2019
----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Beyss-Kahana, Ellen
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2018/057811

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WEBER, H.P. ET AL.: "Crystal Structures of the Teonanacatl Hallucinogens. Part 1. Psilocybin C₁₂H₁₇N₂O₄P", JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 2, 1974, pages 942-946, XP002788002, DOI: 10.1039/P29740000942 page 942</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1
A	<p>SHIROTA, O. ET AL.: "Concise Large-Scale Synthesis of Psilocin and Psilocybin, Principal Hallucinogenic Constituents of "Magic Mushroom"", JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS, vol. 66, 30 May 2003 (2003-05-30), pages 885-887, XP002788065, DOI: 10.1021/np030059u cited in the application scheme 1</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1
L	<p>CAIRA M R ED - MONTCHAMP JEAN-LUC: "CRYSTALLINE POLYMORPHISM OF ORGANIC COMPOUNDS", TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY; [TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY], SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 198, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 163-208, XP001156954, ISSN: 0340-1022, DOI: 10.1007/3-540-69178-2_5 paragraph bridging pages 165-166; chapter 3.1</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2018/057811

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3192111	A	29-06-1965	NONE
GB 912714	A	12-12-1962	BE 582353 A 01-02-2019
			DE 1211645 B 03-03-1966
			ES 251430 A1 01-04-1960
			FR 1311106 A 07-12-1962
			GB 912714 A 12-12-1962
			LU 37646 A1 01-02-2019
			NL 121067 C 01-02-2019
			NL 243249 A 01-02-2019
			OA 1253 A 25-01-1969
US 3075992	A	29-01-1963	NONE