

# Pregabalin enantiomerek viselkedésének vizsgálata

## Investigation of the behaviour of pregabalin enantiomers

BÁNHÉGYI Dorottya Fruzsina<sup>1</sup>, Dr. FOGASSY Elemér<sup>1</sup>, Dr. PÁLOVICS Emese<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, H-1111 Budapest, Budafoki út 8,  
tel: +36-1-463-2101, fax: +36-1-463-3648

### ABSTRACT

*The behavior of pregabalin enantiomers obtained by resolution of the free  $\gamma$ -amino acid, racemic pregabalin (PGA) was investigated in the process of the resolution via diastereomeric salt formation. Various resolution methods, purification possibilities of the enantiomeric mixtures, the effect of the achiral compound, the crystallization time of the diastereomeric salt, and the effect of the solvent on the resolution were studied. Summarizing our experimental results, we can establish that the resolution of pregabalin is affected by kinetic control, and significant enantiomeric enrichment can be reached with the replenishment of the diastereomeric salt.*

### KIVONAT

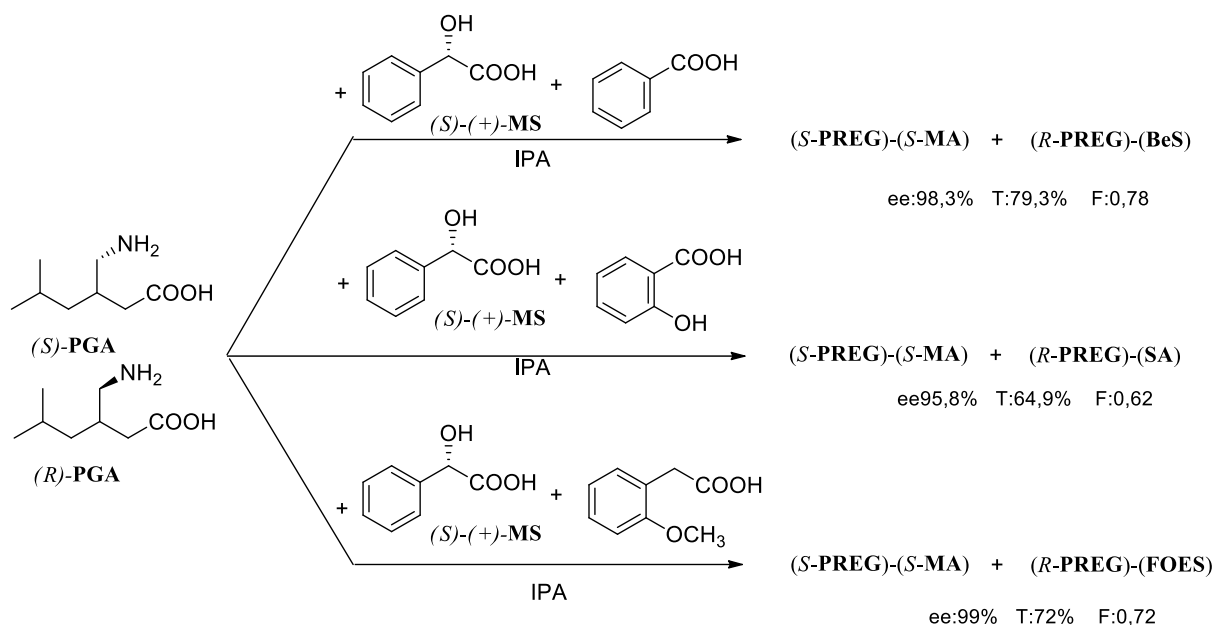
*A szabad állapotú  $\gamma$ -aminosav, a racém pregabalin (PGA) reszolválásával előállított enantiomerek viselkedését vizsgáltuk a diasztereomer sóképzéses reszolválás folyamataiban. Tanulmányoztuk a különböző reszolválási módszereket, az enantiomerkeverékek tisztítási lehetőségeit, az akirális hozzátétek, a diasztereomer só kristályosítási idejének valamint az alkalmazott oldószernek a hatását a reszolválhatóságra. Kísérleteink eredményeit összegezve megállapítható, hogy a pregabalin reszolválását kinetikus kontrol befolyásolja, és a diasztereomer visszapótlásával szignifikáns enantiomerdúsítás érhető el.*

**Kulcsszavak:** reszolválás, diasztereomer sóképzés, optimaizálás, enantiomer-tisztaság, diasztereomer visszapótlás

### 1. BEVEZETÉS

A királis, enantiomertiszta vegyületek gazdaságos elválasztása iránt egyre nagyobb az érdeklődés mind tudományos mind pedig ipari szempontból. A farmakológiailag hatásos vegyületek többsége királis, ezért a gyógyszeriparnak a kedvezőbb terápiás hatással rendelkező izomert kell előállítani a szintézisek során keletkező racém vegyületből. Az FDA 1992-es rendelete alapján racém hatóanyag előállítása esetén az enantiomerek farmakokinetikai és farmakodinámiás hatását is vizsgálni kell annak érdekében, hogy az eltérő indikációkra, vagy az esetleges toxikus mellékhatásokra fény derüljön. [1] Ebből kifolyólag az új reszolválóágensek kutatása és a hatékony reszolválási eljárások kidolgozása kellőképpen indokolt. A szabad állapotú aminosavak reszolválása nagy kihívás a kutatók számára. Kutatómunkánk során egy szabad állapotú  $\gamma$ -aminosav (PGA) elválasztására kidolgozott, ismert eljárás helyett, a szokásos elválasztásokhoz hasonló eljárás kialakításának lehetőségeit vizsgáltuk. Emellett a racém mandulasav (MS) és a racém orto-klórmandulasav (2-CI-MS) különböző diasztereomer sóképzéses reszolválási módszereit kutattuk. [2],[3] Célunk volt továbbá különféle reszolválóágensek keverékek összehasonlítása a reszolválhatóság javítása érdekében.

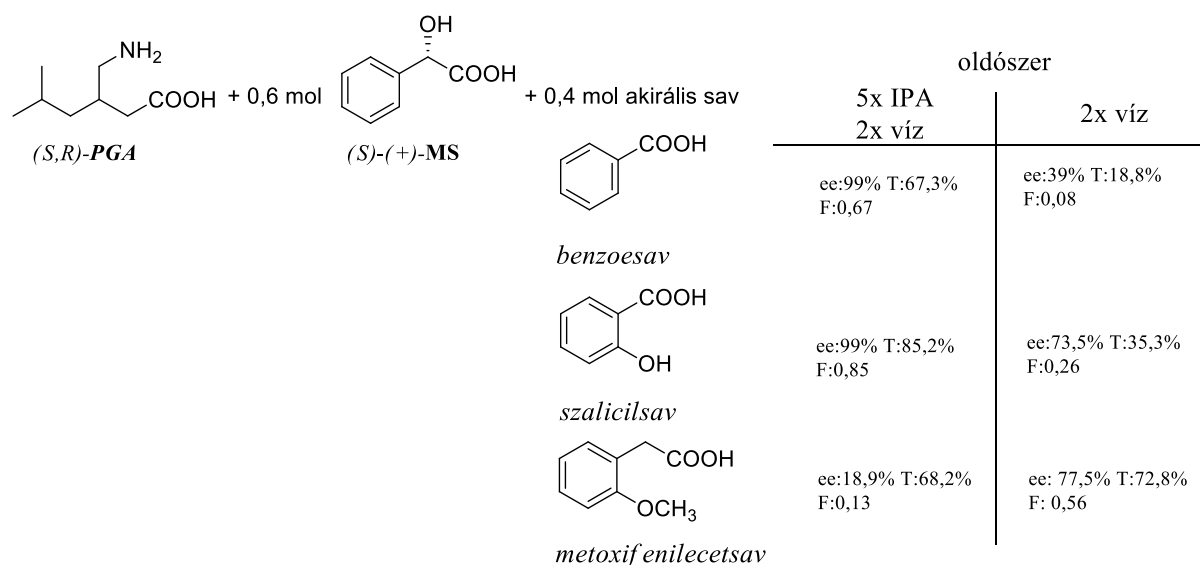
Tanulmányozva a pregabalin szabadalom szerinti reszolválását, úgy véltük, hogy a reakció nagy anyagigénye miatt célszerű lenne egy molnyi (*S*)-mandulasavat valamely más aromás akirális karbonsavval helyettesíteni (1. ábra). [4] A választásunk a benzooesav, szalicilsav és metoxifenilecetsav rokon molekulaszervezetű, azonos kémiai karakterű, akirális hozzátétekre esett.



1. ábra: Akirális hozzátétek alkalmazása – Pope és Peachy módszer

Hasonlóan jó eredményeket kaptunk ezeknél a rezolválásoknál, mint a szabadalom szerinti rezolválás esetében.

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy az oldószerváltás milyen mértékben befolyásolja a rezolválhatóságot. Ugyanazon akirális hozzátétekkel dolgozva tovább, a reakciókat először ötszörös mennyiségű izopropil-alkohol és kétszeres mennyiségű víz elegyében, majd pedig kétszeres mennyiségű vízben végeztük (2. ábra).

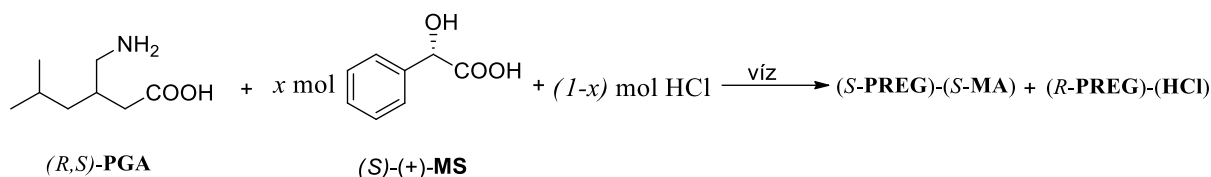


2. ábra: A racém pregabalin rezolválása akirális hozzátétek alkalmazásával – izopropil-alkohol víz elegyében és vízben

A benzoesav és szalicilsav alkalmazása esetén többszöri újraszolválás nélkül, valamint a kapott diasztereomer só átkristályosítása nélkül is sikerült tiszta enantiomert elkülöníteni. Megállapítottuk, hogy az (S)-mandulasavat 0,6 molekvivalens mennyiségben alkalmazva jobb elválasztás érhető el, mint félekvivalens mennyiség esetén. A metoxifenilecetsav akirális sav esetén, érdekes módon vízben magasabb enantiomertisztaság érhető el, mint izopropil-alkohol víz elegyében. Az eredeti US 5637767 számú szabadalomhoz képest az izopropil-alkohol mennyiségét tizedére csökkentve, a 1,5 molekvivalensnyi (S)-mandulasav helyett 0,6 molekvivalensnyit felhasználva, amit 0,4 molekvivalensnyi akirális aromás karbonsavval egészítettünk ki, lényegesen gazdaságosabbá tudtuk tenni a tiszta (S)-pregabalin enantiomer előállítását.

## 2. A RESZOLVÁLÁSRA HATÓ KÖRÜLMÉNYEK

Miután az akirális aromás karbonsavak hozzátétként való alkalmazásával eredményes rezolválásokat értünk el, feltételeztük, hogy kedvező akirális sav lehet a sósav is (3. ábra). Emellett párhuzamosan vizsgáltuk a diasztereomer kristályosodási idejének, az oldószer mennyiségének, a pH-nak valamint az ultrahangnak a hatását a rezolválás eredményére.



3. ábra: Pregabalin rezolválása (S)-mandulasavval HCl alkalmazásával – általános képlet

A diasztereomer kristályosodására két napot hagyva racém elegyet eredményezett a fél molekvivalensnyi (S)-mandulasav alkalmazása. Amennyiben a diasztereomer kristályokat 10 perc várakozás után szűrtük igen szerény eredményt kaptunk, míg ha azonnal szűrtük őket a diasztereomer sóból kapott enantiomer tisztasága 84,4%, a termelés 94,7%-os. A kísérleteink alapján megállapítható, hogy a pregabalin rezolválásának végeredményét a kinetikus kontrol befolyásolja. Úgy tapasztaltuk, hogy az ultrahang a diasztereomer só kiválását segítette és azt találtuk, hogy azon rezolválások esetén, melyeknek a kinetikus kontrol kedvez a diasztereomer só összetételét az ultrahang stabilizálja, nem engedi a termodinamikai kontrol kialakulását. A gyorsan kicsapódó diasztereomer só szűrésével és megbontásával nagyon tiszta enantiomerhez juthatunk. Továbbá megállapítottuk, hogy a rezolválás ideális pH-ja 6.

### Kinetikus kontrol vizsgálata

1. táblázat

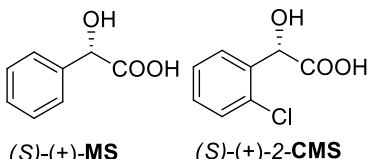
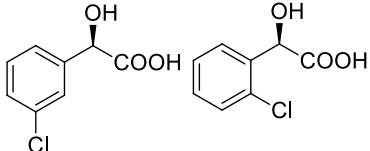
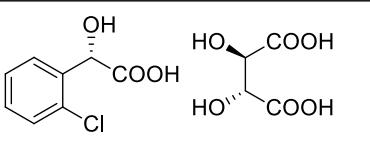
Kísérleti eredmények a kristályos kiválásból				
(S)-MS [mol]	idő	ee <sup>a</sup> [%]	T <sup>b</sup> [%]	F <sup>c</sup>
0,5	<1 perc	84,4	94,7	0,8
	10 perc	84,6	22	0,19
	2 nap	-	64	-

<sup>a</sup> Az enantiomerkeverék és a tiszta enantiomer azonos körülmények között mért fajlagos forgatóképességének hányadosából számított érték. <sup>b</sup> A termelést a megfelelő enantiomer teljes mennyiségére, vagyis a racém vegyület mennyiségének felére vonatkoztatva számítottam. <sup>c</sup> A rezolválhatóság, vagy F-faktor, a termelés és az enantiomertisztaság szorzatából számítható.

## 3. HOLLAND RESZOLVÁLÁS

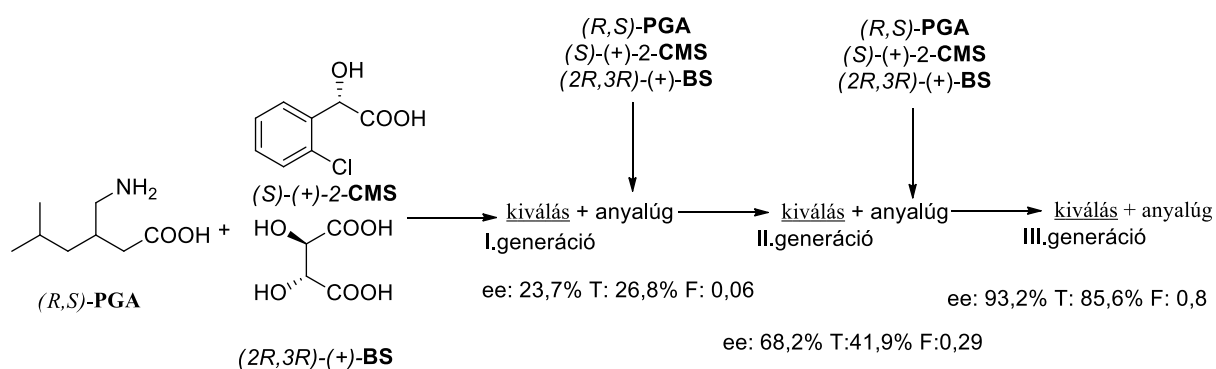
Holland kutatók felismerték, hogy bizonyos esetekben jobb elválasztás érhető el, ha a rezolválóágensek (főleg rokon molekulaszervezetű) keverékével reagáltatjuk a racém vegyületet, mint ha külön-külön alkalmaznánk őket. Sokszor ezen rezolválóágensek önmagukban alkalmatlanok a diasztereomer sóképzésre, viszont a szerkezetileg hasonló rezolválóágensek kölcsönhatása a diasztereomer sóképzést elősegíti, ezáltal szignifikánsan javítható a rezolválhatóság. [5],[6],[7] Mindezek alapján különböző összetételű rezolválóágensek keverékekkel is megkíséreltük a pregabalin rezolválását. Azt is kipróbáltunk, hogy ezen arányok változtatásával milyen eredményt érünk el.

A 2. táblázatból kitűnik, hogy az (S)-mandulasav, (S)-2-klórmandulasav esetén a 9:1 arány bizonyult a leghatékonyabbnak félekvivalens mennyiségben alkalmazva, de szerényebb eredményt ad, mint a tiszta (S)-mandulasavval történő rezolválás. Az (R)-3-klórmandulasav és (R)-2-klórmandulasav ugyancsak 9:1 arányú keverékével 93,2%-os enantiomertisztaságot sikerült elérni, ebben az esetben az (R)-pregabalint vált ki a diasztereomer sóban.

R*R**	R* : R**	kiválásból	anyalúgból
 (S)-(+)-MS      (S)-(+)-2-CMS	0,25 : 0,25 0,16 : 0,33 0,45 : 0,05	ee: 0,6% T: 15,7% F: 0,001 ee: 55,2% T: 30,6% F: 0,17 ee: 48,7% T: 102,4% F: 0,5	ee: 4,7% T: 32,5% F: 0,02 ee: 65,6% T: 15,2% F: 0,1 ee: 27,4% T: 30,2% F: 0,09
 (R)-(-)-3-CMS      (R)-(+)-2-CMS	0,45 : 0,05	ee: 93,2% T: 39,2% F: 0,37	ee: 11,9% T: 9,8% F: 0,01
 (S)-(+)-2-CMS      (2R,3R)-(+)-BS	0,45 : 0,05	ee: 93,2% T: 85,6% F: 0,8	ee: 20,1% T: 68,2% F: 0,14

#### 4. A DIASZTEREOMER VISSZAPÓTLÁSA – OPTIMALIZÁLÁS

A 2. táblázatban feltüntetett utolsó rezolválás eredménye már egy optimalizált eredmény, melyet úgy értünk el, hogy a kivált diasztereomerrel ekvivalens mennyiségű rezolválóágenst ( (S)-2-klórmandulasavat és (2R,3R)-borkősavat) pótolunk vissza az anyalúgba (4. ábra).



4. ábra: A diasztereomer visszapótlása

A visszapótlást kétszer ismételtük meg, így a kivált diasztereomer sók megbontása után megkaptuk az első, a második és a harmadik generációs (S)-pregabalin kristályokat. A harmadik generációs kristályok az elsőhöz képest több mint háromszor tisztább (  $ee_1$ : 23,6%,  $ee_3$ : 93,2%), így megállapítható, hogy ezzel a módszerrel szignifikáns enantiomerdúsítást sikerült elérnünk. A rezolválhatóságot több mint tízszeresére javítottuk, mindeközben a termelés is háromszorosára növekedett. Úgy gondoljuk ez a módszer a későbbiekben akár egy folyamatos technológia alapját is képezheti.

## 5. KONKLÚZIÓ

Összesítve tapasztalatainkat a pregabalin enantiomerek viselkedésének vizsgálatában megállapítottuk, hogy a rezolválás során kinetikus kontrol érvényesül, a diasztereomer sókat hosszabb ideig kristályosítva az enantiomerkeverék tisztasága csökken. Az US 5637767 számú szabadalom szerinti eljárást izopropil-alkohol:víz elegyében és vízben is sikerült hasonlóan jó eredménnyel megvalósítani, illetve módosítva az említett eljárást 1,5 molekvivalensnyi (*S*)-mandulasav helyett 0,6 molekvivalensnyi (*S*)-mandulasav és 0,4 molekvivalensnyi akirális aromás rokon molekulaszervezetű karbonsav (benzoesav, szalicilsav, metoxifenilecetsav) alkalmazása mellett tiszta enantiomert állítottunk elő. Különböző összetételű és arányú rezolválóagens keverékekkel (Holland rezolválás) is megkíséreltük a pregabalin rezolválását, ezen kívül szignifikáns enantiomerdúsítást sikerült elérnünk a diasztereomer só visszafordításával, optimalizálva a Holland rezolválás eredményét.

## 6. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] "FDA'S policy statement for the development of new stereoisomeric drugs," *Chirality*, vol. 4, no. 5, pp. 338–340, 1992.
- [2] F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics, and J. Schindler, "Strategies in optical resolution: a practical guide," *Tetrahedron Asymmetry*, vol. 19, no. 5, pp. 519–536, 2008.
- [3] E. Fogassy, M. Nógrádi, D. Kozma, G. Egri, E. Pálovics, and V. Kiss, "Optical resolution methods," *Org. Biomol. Chem.*, vol. 4, no. 16, pp. 3011–3030, 2006.
- [4] S. J. P. William Jackson Pope, "The Application of Powerful Optically Active Acids to the Resolution of Externally Compensates Basic Substances. Resolution of Tetrahydroquinaldine.," *J. Chem. Soc.*, vol. 75, no. 18, pp. 1066–1093, 1899.
- [5] R. M. Kellogg, B. Kaptein, and T. R. Vries, "Dutch resolution of racemates and the roles of solid solution formation and nucleation inhibition," *Top. Curr. Chem.*, vol. 269, no. January, pp. 159–197, 2006.
- [6] E. Pálovics, L. Bereczki, K. Marthi, G. Pokol, F. Faigl, and E. Fogassy, "Solvent dependency though not solvate formation in the derivative-derivative resolution of N-formylphenylalanine," *Tetrahedron Asymmetry*, vol. 18, no. 21, pp. 2531–2536, 2007.
- [7] R. M. Kellogg *et al.*, "Dutch Resolution: Separation of enantiomers with families of resolving agents. A status report," *Synthesis (Stuttg.)*, 2003.