

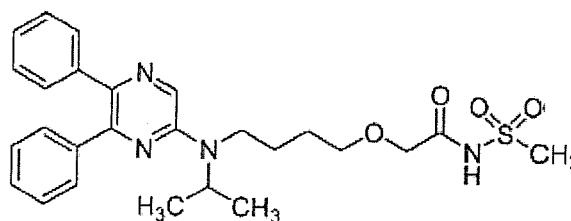
**Traduzione Brevetto Europeo N. 2447254 a nome Nippon Shinyaku Co., Ltd., dal titolo: "CRISTALLI".**

### Descrizione

[Campo tecnico]

La presente invenzione si riferisce a un cristallo di 2-{4-[N-(5,6-difenilpirazin-2-il)-N-isopropilammino]butilossi}-N-(metilsolfonil)acetammide (successivamente descritta come "composto A").

[Formula 1]



[Sfondo della tecnica]

Il composto A ha un eccellente effetto agonistico PGI<sub>2</sub> e mostra un effetto inibitorio dell'aggregazione piastrinica, un effetto vasodilatatore, un effetto broncodilatatore, un effetto inibitorio della deposizione lipidica, un effetto inibitorio dell'attivazione dei leucociti, ecc. (vedi, per esempio, nel Riferimento brevettuale 1).

Specificatamente, il composto A è utile come agente preventivo o terapeutico per un attacco ischemico transitorio (TIA), neuropatia diabetica, cancrena diabetica, disturbi circolatori periferici (ad es. occlusione arteriosa cronica, claudicatio intermittente, embolia periferica, sindrome da vibrazione, morbo di Raynaud), malattie del tessuto connettivo (ad es. lupus eritematoso sistemico, sclerodermia, malattie miste del tessuto connettivo, sindrome vasculitica), riuclusione/restenosi dopo angioplastica coronarica transluminale

percutanea (PTCA), arteriosclerosi, trombosi (ad es. trombosi cerebrale in fase acuta, embolia polmonare), ipertensione, ipertensione polmonare, disturbi ischemici (ad es. infarto cerebrale, infarto miocardico), angina (ad es. angina stabile, angina instabile), glomerulonefrite, nefropatia diabetica, insufficienza renale cronica, allergia, asma bronchiale, ulcera, ulcera da pressione (piaghe da decubito), restenosi dopo intervento coronarico: aterectomia e impianto di stent, trombocitopenia da dialisi, malattie in cui è coinvolta la fibrosi di organi o tessuti [ad es., malattie renali (ad es., nefrite tubulointerstiziale), malattie respiratorie (ad esempio polmonite interstiziale (fibrosi polmonare), broncopneumopatia cronica ostruttiva), malattie digestive (ad es. epato-cirrosi, epatite virale, pancreatite cronica e cancro scirro-stomatico), malattie cardiovascolari (ad es. fibrosi miocardica), malattie articolari e ossee (ad es. fibrosi del midollo osseo e artrite reumatoide), malattie della pelle (ad es. cicatrici dopo operazione, cicatrici da scottature), cheloide, e cicatrici ipertrofiche), malattie ostetriche (ad es., isteromioma), malattie urinarie (ad es. ipertrofia prostatica), altre malattie (ad es. morbo di Alzheimer, peritonite sclerosante, diabete di tipo I e adesione dell'organo dopo l'intervento)], disfunzione erettile, ad esempio disfunzione erettile diabetica, disfunzione erettile psicogena, disfunzione erettile psicotica, disfunzione erettile associata a disfunzione renale cronica, disfunzione erettile dopo intervento intrapelvico per rimozione della prostata, disfunzione erettile vascolare associata a invecchiamento e arteriosclerosi), malattie infiammatorie intestinali (ad es. colite ulcerativa, morbo di Crohn, tubercolosi intestinale, colite ischemica e ulcera intestinale associata col morbo di Behçet), gastrite, ulcera gastrica, oftalmopatia ischemica (ad es. occlusione dell'arteria retinica, occlusione

della vena retinica, neuropatia ottica ischemica), perdita uditiva improvvisa, necrosi avascolare delle ossa, danni intestinali causati dalla somministrazione di un agente antinfiammatorio non steroideo (ad es., diclofenac, meloxicam, oxaprozin, nabumetone, indometacina, ibuprofene, ketoprofene, naprossene, celecoxib) (non vi è alcuna limitazione specifica per il danno intestinale purché appaiano nel duodeno, nell'intestino tenue e nell'intestino crasso e loro esempi comprendono danni alla mucosa come erosione e ulcera generata nel duodeno, nell'intestino tenue e nell'intestino crasso), e sintomi associati alla stenosi del canale spinale lombare (ad esempio, paralisi, ottusità nella percezione sensoriale, dolore, intorpidimento, diminuzione della capacità di deambulazione, ecc. associata a stenosi del canale spinale cervicale, stenosi del canale spinale toracico, stenosi del canale spinale lombare, stenosi del canale spinale diffusa o stenosi sacrale) ecc. (vedi, per esempio, nei Riferimenti brevettuali da 1 a 6). In aggiunta, il composto A è utile come agente accelerante per la terapia angiogenica come la terapia genica o il trapianto autologo di midollo osseo, come agente accelerante l'angiogenesi nel ripristino dell'arteria periferica o nella terapia angiogenica, ecc. (vedi, per esempio, nel Riferimento brevettuale 1).

Come menzionato sopra, mentre è nota l'utilità del composto A come agente terapeutico per i disturbi sopra menzionati, nessun riferimento descrive o suggerisce la possibilità dell'esistenza dei cristalli del composto A.

[Riferimento della tecnica precedente]

[Riferimento brevettuale]

[Riferimento brevettuale 1] WO2002/088084

[Riferimento brevettuale 2] WO2009/157396

[Riferimento brevettuale 3] WO2009/107736

[Riferimento brevettuale 4] WO2009/154246

[Riferimento brevettuale 5] WO2009/157397

[Riferimento brevettuale 6] WO2009/157398

[Sommario dell'invenzione]

[Problema da risolvere con l'invenzione]

Un oggetto principale della presente invenzione è fornire un nuovo cristallo del composto A. Addizionalmente, un oggetto della presente invenzione è fornire un metodo di produzione del cristallo e di una composizione farmaceutica contenente il cristallo come componente attivo.

[Sistemi per risolvere il problema]

Si spera che il complesso del medicamento sia una sostanza di elevata qualità per cui un effetto costante può essere sempre evidenziato e di una forma che è industrialmente facile da lavorare. I presenti inventori hanno studiato seriamente. Come risultato, i presenti inventori hanno trovato un nuovo cristallo del composto A e hanno portato a completezza la presente invenzione.

La presente invenzione comprende, per esempio, quanto segue da (1) a (4).

(1) Il cristallo della forma I del composto A che mostra picchi di diffrazione nello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del composto A (successivamente descritto come "cristallo della forma I dell'invenzione") ai seguenti angoli di diffrazione  $2\theta$ : 9,4 gradi, 9,8 gradi, 17,2 gradi e 19,4 gradi, dove il diagramma di diffrazione della polvere ai raggi X è ottenuto usando una radiazione Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ),

(2) è inoltre descritto il cristallo della forma II del composto A che mostra

picchi di diffrazione nello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del composto A (successivamente descritto come "cristallo della forma II") ai seguenti angoli di diffrazione  $2\theta$ : 9,0 gradi, 12,9 gradi, 20,7 gradi e 22,6 gradi, dove il diagramma di diffrazione della polvere ai raggi X è ottenuto usando la radiazione Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ),

(3) è inoltre descritto il cristallo della forma III del composto A, che mostra picchi di diffrazione nello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del composto A (successivamente descritto come "cristallo della forma III") ai seguenti angoli di diffrazione  $2\theta$ : 9,3 gradi, 9,7 gradi, 16,8 gradi, 20,6 gradi e 23,5 gradi, dove il diagramma di diffrazione della polvere ai raggi X è ottenuto usando la radiazione Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ),

(4) una composizione farmaceutica contenente il cristallo della forma I come componente attivo (successivamente descritta come "composizione farmaceutica dell'invenzione").

Quando viene specificato un angolo di diffrazione  $2\theta$  per un picco nelle realizzazioni dell'invenzione e nelle rivendicazioni, dovrebbe essere compreso che il valore fornito dev'essere inteso come un intervallo da detto valore meno  $0,2^\circ$  a detto valore più  $0,2^\circ$ , e preferibilmente da detto valore meno  $0,1^\circ$  a detto valore più  $0,1^\circ$ .

[Breve descrizione dei disegni]

[Fig. 1] Questa mostra un grafico dello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del cristallo della forma I dell'invenzione. L'asse verticale indica l'intensità del picco (cps), e l'asse orizzontale indica l'angolo di diffrazione ( $2\theta[^\circ]$ ).

[Fig. 2] Questa mostra un grafico dello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del cristallo della forma II. L'asse verticale indica l'intensità del picco (cps), e l'asse orizzontale indica l'angolo di diffrazione ( $2\theta[^\circ]$ ).

[Fig. 3] Questa mostra un grafico dello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del cristallo della forma III. L'asse verticale indica l'intensità del picco (cps), e l'asse orizzontale indica l'angolo di diffrazione ( $2\theta[^\circ]$ ).

[Fig. 4] Questa mostra una micrografia a scansione elettronica del cristallo della forma I dell'invenzione.

[Fig. 5] Questa mostra una micrografia a scansione elettronica del cristallo della forma II.

[Fig. 6] Questa mostra una micrografia a scansione elettronica del cristallo della forma III.

[Modalità di esecuzione dell'invenzione]

Il cristallo della forma I dell'invenzione è caratterizzato in quanto mostra picchi di diffrazione a 9,4 gradi, 9,8 gradi, 17,2 gradi e 19,4 gradi nello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del composto A.

Il cristallo della forma II è caratterizzato in quanto mostra picchi di diffrazione a 9,0 gradi, 12,9 gradi, 20,7 gradi e 22,6 gradi nello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del composto A.

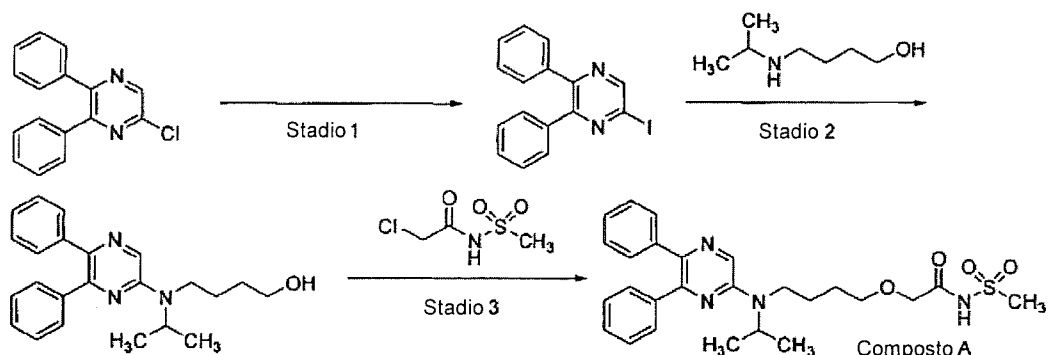
Il cristallo della forma III è caratterizzato in quanto mostra picchi di diffrazione a 9,3 gradi, 9,7 gradi, 16,8 gradi, 20,6 gradi e 23,5 gradi nello spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del composto A.

#### A. Produzione del composto A

Il composto A può essere prodotto, per esempio, secondo il metodo descritto

nel Riferimento brevettuale 1, e può essere inoltre prodotto secondo il metodo di produzione menzionato di seguito.

[Formula 2]



Stadio 1:

La 6-iodo-2,3-difenilpirazina può essere prodotta da 6-cloro-2,3-difenilpirazina facendola reagire con ioduro di sodio. La reazione è eseguita in presenza di un acido in un solvente organico (ad esempio, etile acetato, acetonitrile, acetone, metiletilchetone, o il loro solvente misto). L'acido da usare è, per esempio, acido acetico, acido solforico, o i loro acidi misti. La quantità di ioduro di sodio da usare è generalmente in un intervallo di un rapporto molare da 1 a 10 rispetto alla 6-cloro-2,3-difenilpirazina, preferibilmente in un intervallo di un rapporto molare da 2 a 3. La temperatura di reazione varia a seconda dei tipi dei materiali e dell'acido da usare, ma può essere generalmente in un intervallo da 60°C a 90°C. Il tempo di reazione varia a seconda dei tipi dei materiali e dell'acido da usare e dalla temperatura di reazione, ma può essere generalmente in un intervallo da 9 ore a 15 ore.

Stadio 2:

La 5,6-difenil-2-[4-idrossibutil(isopropil)ammino]pirazina può essere prodotta da 6-iodo-2,3-difenilpirazina facendola reagire con 4-idrossibutil(isopro-

pil)ammina. La reazione è eseguita in presenza di una base in un solvente organico (ad esempio, solfolano, N-metilpirrolidone, N,N-dimetilimidazolidinone, dimetilsolfossido o il loro solvente misto). La base da usare è, per esempio, sodio bicarbonato, potassio bicarbonato, potassio carbonato, sodio carbonato o la loro base mista. La quantità di 4-idrossibutil(isopropil)ammina da usare può essere generalmente in un intervallo di un rapporto molare da 1,5 a 5,0 rispetto alla 6-iodo-2,3-difenilpirazina, preferibilmente in un intervallo di un rapporto molare da 2 a 3. La temperatura di reazione varia a seconda dei tipi dei materiali e della base da usare, ma può essere generalmente in un intervallo da 170°C a 200°C. Il tempo di reazione varia a seconda dei tipi dei materiali e della base da usare e dalla temperatura di reazione, ma può essere generalmente in un intervallo da 5 ore a 9 ore.

Stadio 3:

Il composto A può essere prodotto da 5,6-difenil-2-[4-idrossibutil(isopropil)ammino]pirazina facendola reagire con N-(2-cloroacetil)metansolfonammide. La reazione è eseguita in presenza di una base in un solvente (N-metilpirrolidone, 2-metil-2-propanolo o il loro solvente misto). La base da usare è, per esempio, potassio t-butossido, sodio t-butossido o la loro base mista. La quantità di N-(2-cloroacetil)metansolfonammide da usare può essere generalmente in un intervallo di un rapporto molare da 2 a 4 rispetto alla 5,6-difenil-2-[4-idrossibutil(isopropil)ammino]pirazina, preferibilmente in un intervallo di un rapporto molare da 2 a 3. La temperatura di reazione varia a seconda dei tipi dei materiali e della base da usare, ma può essere generalmente in un intervallo da -20°C a 20°C. Il tempo di reazione varia a seconda dei tipi dei

materiali e della base da usare e dalla temperatura di reazione, ma può essere generalmente in un intervallo da 0,5 ore a 2 ore.

I composti da usare come materiali di partenza nel metodo di produzione sopra menzionato per il composto A sono composti noti, oppure possono essere prodotti mediante metodi noti.

## B. Produzione del cristallo della forma I dell'invenzione

### (I) Produzione del cristallo della forma I dell'invenzione

Il cristallo della forma I dell'invenzione può essere prodotto, per esempio, secondo il metodo descritto di seguito.

#### (1) Stadio di dissoluzione

Questo stadio è uno stadio di dissoluzione del composto A in un solvente mediante riscaldamento. Il solvente appropriato da usare nello stadio è, per esempio, un solvente alcolico, un solvente misto di un solvente alcolico e un solvente chetonico. Il solvente alcolico appropriato da usare nello stadio è, per esempio, metanolo, etanolo, 2-propanolo, preferibilmente etanolo. Il solvente chetonico appropriato da usare nello stadio è, per esempio, metiletilchetone.

Specialmente, il solvente preferibile da usare nello stadio è etanolo o un solvente misto di etanolo e metiletilchetone. Nel caso di un solvente misto di etanolo e metiletilchetone, l'etanolo è in un intervallo da 1,5-volte (v/v) a 100-volte (v/v) rispetto alla quantità di metiletilchetone, preferibilmente in un intervallo da 3-volte (v/v) a 50-volte (v/v), più preferibilmente in un intervallo da 6-volte (v/v) a 20-volte (v/v).

Il volume totale del solvente da usare nello stadio è preferibilmente in un intervallo da 2-volte (ml/g) a 30-volte (ml/g) rispetto alla quantità del composto

A, più preferibilmente in un intervallo da 3-volte (ml/g) a 20-volte (ml/g), ulteriormente più preferibilmente in un intervallo da 4-volte (ml/g) a 15-volte (ml/g). La temperatura di riscaldamento varia a seconda del tipo del solvente e del volume del solvente usato, ma generalmente è inferiore rispetto al punto di ebollizione del solvente da usare, ed è preferibilmente in un intervallo da 60°C a 100°C, più preferibilmente in un intervallo da 70°C a 90°C.

Nello stadio, la soluzione può essere filtrata per rimuovere le sostanze insolubili, se necessario. Per prevenire la precipitazione dei cristalli durante la filtrazione, la filtrazione è preferibilmente eseguita sotto pressione usando un imbuto dotato di un dispositivo riscaldante. Nel caso in cui sia osservata la precipitazione dei cristalli nel filtrato, il precipitato è preferibilmente disciolto nuovamente mediante un nuovo riscaldamento dopo filtrazione.

## (2) Stadio di raffreddamento

Questo stadio è uno stadio di precipitazione del cristallo della forma I dell'invenzione dalla soluzione preparata nello stadio (1) summenzionato mediante raffreddamento. Lo stadio è preferibilmente eseguito usando un cristallizzatore dotato di una funzione riscaldante e una funzione di agitazione.

La temperatura di raffreddamento (temperatura quando il cristallo precipitato è raccolto) è, in modo appropriato, in un intervallo da -10°C a 50°C, preferibilmente in un intervallo da 0°C a 20°C, e più preferibilmente in un intervallo da 0°C a 10°C. Lo stadio è preferibilmente eseguito mediante raffreddamento in un intervallo da 3 ore a 95 ore lentamente fino a che è raggiunta la temperatura di raffreddamento.

Addizionalmente, nello stadio, un seme del cristallo della forma I

dell'invenzione può essere aggiunto. In tal caso, è preferibile che il seme del cristallo della forma I dell'invenzione sia aggiunto quando la soluzione è raffreddata a una temperatura in un intervallo da 60°C a 90°C. La quantità del seme di cristallo del cristallo della forma I dell'invenzione è preferibilmente in un intervallo dall'1% al 10% in peso rispetto alla quantità del composto A.

### (3) Raccolta del cristallo e stadio di essiccamento

Questo stadio è uno stadio di raccolta del cristallo precipitato ottenuto nello stadio (2) summenzionato usando sistemi noti come filtrazione e centrifugazione, ed essiccamento del cristallo raccolto.

Uno stadio di essiccamento può essere eseguito mediante un metodo convenzionale come essiccamento a pressione ridotta e su un disidratante. L'essiccamento è preferibilmente eseguito a pressione ridotta (ad esempio, 10 mm di Hg o meno) in un intervallo da 20°C a 70°C per da un'ora a 48 ore.

Additionalmente, successivamente al summenzionato stadio (1), dopo che il cristallo è parzialmente precipitato mediante rimozione del solvente con riscaldamento e agitazione della soluzione preparata nel summenzionato stadio (1), il cristallo della forma I dell'invenzione può essere ottenuto eseguendo i summenzionati stadi (2) e (3). Nello stadio di rimozione del solvente, il seme del cristallo della forma I dell'invenzione può essere aggiunto. La quantità del seme del cristallo della forma I dell'invenzione è preferibilmente in un intervallo dallo 0,1% al 10% in peso rispetto alla quantità del composto A usato nello stadio (1) summenzionato.

### C. Uso medico e composizione farmaceutica dell'invenzione

Il composto A secondo la presente invenzione ha un eccellente effetto

agonistico PGI<sub>2</sub> e mostra un effetto inibitorio dell'aggregazione piastrinica, un effetto vasodilatatore, un effetto broncodilatatore, un effetto inibitorio della deposizione lipidica, un effetto inibitorio dell'attivazione dei leucociti, ecc.

Pertanto, il cristallo dell'invenzione o la composizione farmaceutica dell'invenzione è utile come agente preventivo o terapeutico per gli attacchi ischemici transitori (TIA), neuropatia diabetica, cancrena diabetica, disturbi circolatori periferici (ad esempio, occlusione arteriosa cronica, claudicatio intermittente, embolia periferica, sindrome da vibrazione, morbo di Raynaud), malattie del tessuto connettivo (ad esempio, lupus eritematoso sistemico, sclerodermia, malattie del tessuto connettivo misto, sindrome vasculitica), riuclusione/restenosi dopo angioplastica coronarica transluminale percutanea (PTCA), arteriosclerosi, trombosi (ad esempio, trombosi cerebrale in fase acuta, embolia polmonare), ipertensione, ipertensione polmonare, disturbi ischemici (ad esempio, infarto cerebrale, infarto miocardico), angina (ad esempio, angina stabile, angina instabile), glomerulonefrite, nefropatia diabetica, insufficienza renale cronica, allergia, asma bronchiale, ulcera, ulcera da pressione (piaghe da decubito), restenosi dopo intervento coronarico come aterectomia e impianto di stent, trombocitopenia da dialisi, le malattie in cui è implicata la fibrosi di organi o di tessuti [ad esempio, malattie renali (ad esempio, nefrite tubulo-interstiziale), malattie respiratorie (ad esempio, polmonite interstiziale (fibrosi polmonare), broncopneumopatia cronica ostruttiva), malattie digestive (ad es. epatocirrosi, epatite virale, pancreatite cronica e cancro scirro-stomachico), malattie cardiovascolari (ad es. fibrosi del miocardio), malattie delle ossa e articolari (ad es. fibrosi del midollo osseo e artrite reumatoide), malattie della pelle (ad es.

cicatrici dopo operazione, cicatrici da scottature), cheloide, e cicatrici ipertrofiche), malattie ostetriche (ad esempio, isteromioma), malattie urinarie (ad esempio, ipertrofia prostatica), altre malattie (ad esempio, morbo di Alzheimer, peritonite sclerosante, diabete di tipo I e adesione di organo dopo l'intervento)], disfunzione erettile (ad esempio, disfunzione erettile diabetica, disfunzione erettile psicogena, disfunzione erettile psicotica, disfunzione erettile associata a insufficienza renale cronica, disfunzione erettile dopo intervento intrapelvico per la rimozione della prostata, disfunzione erettile vascolare associata a invecchiamento e arteriosclerosi), malattie infiammatorie dell'intestino (ad esempio, colite ulcerativa, morbo di Crohn, tubercolosi intestinale, colite ischemica e ulcera intestinale associata col morbo di Behçet), gastrite, ulcera gastrica, oftalmopatia ischemica (ad esempio, occlusione della vena retinica, occlusione della vena retinica, neuropatia ischemica ottica), perdita uditiva improvvisa, necrosi avascolare ossea, danni intestinali causati dalla somministrazione di agenti anti-infiammatori non steroidei (ad esempio, diclofenac, meloxicam, oxaprozin, nabumetone, indometacina, ibuprofene, ketoprofene, naprossene, celecoxib) (non vi è alcuna limitazione specifica per il danno intestinale purché il danno appaia nel duodeno, nell'intestino tenue e nell'intestino crasso e loro esempi comprendono danni della mucosa come erosione e ulcera generata nel duodeno, nell'intestino tenue e nell'intestino crasso), e sintomi associati alla stenosi del canale spinale lombare (ad esempio, paralisi, ottusità nella percezione sensoriale, dolore, intorpidimento, diminuzione della capacità di deambulazione, ecc. associati a stenosi del canale spinale cervicale, stenosi del canale spinale toracico, stenosi del canale spinale lombare, stenosi del

canale spinale diffusa o stenosi sacrale), ecc. In aggiunta, il cristallo dell'invenzione o la composizione farmaceutica dell'invenzione è un utile agente accelerante per la terapia angiogenica, per la terapia genica o del trapianto autologo del midollo osseo, come agente accelerante per l'angiogenesi nel ripristino delle arterie periferiche o nella terapia angiogenica, ecc. Se il cristallo dell'invenzione è somministrato come farmaco, la composizione farmaceutica dell'invenzione è il cristallo dell'invenzione come tale, o contiene il cristallo dell'invenzione in un veicolo farmaceutico accettabile, non tossico e inerte in un intervallo dallo 0,1% al 99,5%, preferibilmente in un intervallo dallo 0,5% al 90%.

Esempi del veicolo comprendono un diluente solido, semi-solido o liquido, agenti di carica e altri ausiliari per la formulazione farmaceutica. Questi possono essere usati da soli o come miscela di due o più di essi.

La composizione farmaceutica dell'invenzione può essere in una qualsiasi delle forme di preparazione orale, come polvere, capsule, compresse, compresse rivestite con zucchero, granuli, polveri diluite, sospensioni, liquidi, sciroppi, elisir o pastiglie, e preparazioni parenterali come iniezioni o supposte in una unità di dosaggio solida o liquida. Possono inoltre essere sotto forma di una preparazione a rilascio prolungato. Fra di esse, le preparazioni orali come le compresse sono particolarmente preferite.

La polvere è in grado di essere prodotta rendendo il cristallo dell'invenzione in un'appropriata dimensione fine.

La polvere diluita è in grado di essere prodotta in modo tale che il cristallo dell'invenzione sia preparato in un'appropriata dimensione fine e poi miscelato

con un veicolo farmaceutico che, similmente, è preparato in una dimensione fine come un carboidrato commestibile (ad esempio, amido e mannitolo). Agenti aromatizzanti, conservanti, agenti disperdenti, agenti coloranti, profumi, ecc. possono essere facoltativamente aggiunti ad esso.

Le capsule possono essere preparate in modo tale che la polvere o la polvere diluita, che è preparata come polvere come menzionato sopra, o i granuli che saranno menzionati sotto la voce per le compresse, siano riempiti in un involucro di una capsula come una capsula di gelatina. È inoltre possibile produrle in modo tale che la polvere o la polvere diluita in forma polverulenta sia miscelata con un lubrificante o un agente fluidificante come silice colloidale, talco, stearato di magnesio, calcio stearato o polietilenglicole solido seguito dalla sua sottoposizione a un'operazione di riempimento. Quando è aggiunto un agente disintegrante o un agente solubilizzante come carbossimetilcellulosa, carbossimetilcellulosa calcio, idrossipropilcellulosa scarsamente sostituita, croscarmellosio sodio, carbossimetilamido sodio, calcio carbonato o sodio carbonato, l'efficacia del prodotto farmaceutico quando le capsule sono ingerite può essere migliorata. È inoltre possibile che la polvere fine del cristallo dell'invenzione sia sospesa/dispersa in un olio vegetale, polietilenglicole, glicerolo o un tensioattivo e avvolta con una lamina di gelatina per fornire una preparazione di una capsula molle.

Le compresse possono essere preparate in modo tale che una miscela in polvere sia ottenuta mediante addizione di una carica al cristallo dell'invenzione che è stato polverizzato e costituito in granuli o pallottole e poi è aggiunto un agente disintegrante o un lubrificante seguito dalla sua formazione in compresse.

La miscela in polvere può essere preparata miscelando in modo appropriato i cristalli in polvere dell'invenzione con un diluente o una base. Se necessario, è possibile aggiungere ad essa un legante (come carbossimetilcellulosa sodio, metilcellulosa, idrossipropilmetilcellulosa, gelatina, polivinilpirrolidone o alcol polivinilico), un agente ritardante la dissoluzione (come paraffina), un agente riassorbente (come un sale quaternario), un assorbente (come bentonite o caolino), ecc.

La miscela in polvere può essere costituita in granuli in modo tale che sia dapprima umidificata usando un legante, per esempio, sciroppo, pasta d'amido, acacia, una soluzione di cellulosa o una soluzione polimerica, miscelata con agitazione ed successivamente essiccata mediante macinazione. Invece della costituzione della polvere in granuli come tale, è anche possibile che la polvere sia applicata a una pastigliatrice e che le pallottole risultanti in una forma incompleta siano macinate per fornire granuli. Quando un lubrificante, come acido stearico, stearato, talco o olio minerale, è aggiunto ai granuli preparati come tali, l'addensamento dei granuli fra di loro può essere prevenuto.

Le compresse possono inoltre essere prodotte in modo tale che il cristallo dell'invenzione sia miscelato con un veicolo fluido inerte, e poi costituite direttamente in compresse senza l'esecuzione degli stadi summenzionati per prepararli in granuli o in pallottole.

Le compresse preparate come tali possono essere sottoposte a un rivestimento con una pellicola o a un rivestimento con zucchero. Inoltre, è possibile applicare un rivestimento protettivo trasparente o semi-trasparente di una pellicola di ceralacca saldamente racchiusa, un rivestimento preparato con

zucchero o un materiale polimerico, o un rivestimento lucido costituito da cera.

In altre preparazioni orali come un liquido, uno sciroppo, una compressa o un elisir, è inoltre possibile costituirlo in una forma di dosaggio unitario dove una sua quantità predeterminata contiene una quantità predeterminata del cristallo della presente invenzione.

Lo sciroppo può essere preparato sciogliendo il cristallo dell'invenzione in un'appropriata soluzione acquosa di un aromatizzante. L'elisir può essere preparato usando un veicolo alcolico non tossico.

La sospensione può essere preparata disperdendo il cristallo dell'invenzione in un veicolo non tossico. Se necessario, è possibile aggiungere ad essa un agente solubilizzante o un emulsionante (come alcol isostearilico etossilato e un estere di poliossietilensorbitolo), un conservante o un agente aromatizzante (come menta o saccarina).

Se necessario, la formulazione unitaria di dosaggio per somministrazione orale può essere preparata in microcapsule. La formulazione può inoltre essere rivestita o racchiusa nel polimero o in una cera per ottenere un'azione prolungata o un rilascio prolungato del componente attivo.

La preparazione parenterale può essere sotto forma di dosaggio unitario liquido per iniezioni sottocutanee, intramuscolari o intravenose, come sotto forma di una soluzione o una sospensione. La preparazione parenterale può essere prodotta in modo tale che una quantità predeterminata del cristallo dell'invenzione è sospesa o disciolta in un veicolo liquido non tossico ottenendo lo scopo dell'iniezione come un mezzo acquoso o oleoso e poi la sospensione o la soluzione è sterilizzata. Il sale non tossico o una sua soluzione può essere

aggiunto per la preparazione di una soluzione isotonica per iniezioni. È inoltre possibile aggiungere uno stabilizzante, un conservante, un emulsionante e simili.

La supposta può essere prodotto mediante dissoluzione o sospensione del cristallo dell'invenzione in un solido basso-fondente solubile o insolubile in acqua come polietilenglicole, grasso di cacao, grasso/olio semi-sintetico (come Witepsol (marchio commerciale registrato)), un estere superiore (come un estere di miristile palmitato) o una loro miscela.

Sebbene la dose possa variare a seconda dello stato di un paziente, come peso corporeo o età, la via di somministrazione o il grado dei sintomi, un intervallo da 0,001 mg a 100 mg al giorno come quantità del cristallo dell'invenzione è generalmente appropriata per un adulto e un intervallo da 0,01 mg a 10 mg è più preferibile. In alcuni casi, una dose minore a quella summenzionata può essere sufficiente o, d'altro lato, una dose più elevata di quella summenzionata può essere necessaria. È inoltre possibile somministrarla da una a diverse volte al giorno oppure somminstrarla in un intervallo da uno a diversi giorni.

[Esempi]

La presente invenzione è descritta in maggior dettaglio con riferimento agli Esempi e agli Esempi di test forniti di seguito; comunque, la presente invenzione non è limitata in alcun modo da questi Esempi.

Per la diffrazione della polvere ai raggi X, fu usato un Rigaku Corporation's RINT-Ultima III (bersaglio: Cu, voltaggio: 40 kV, corrente: 40 mA, velocità di scansione: 4 gradi/min).

Esempio 1: Produzione del cristallo della forma I dell'invenzione

Etanolo (440 ml) fu aggiunto al composto A (40 g), e la miscela fu agitata e riscaldata in un bagno d'olio da 100°C a 110°C. Dopo che il composto A fu disciolto, etanolo (280 ml) fu rimosso. Il concentrato ottenuto fu agitato e riscaldato a riflusso in un bagno di acqua di 80°C per 1 ora. La soluzione fu gradualmente raffreddata a 10°C in 20 ore sotto agitazione, e il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione. Il cristallo ottenuto fu lavato con una piccola quantità di etanolo (48 ml), ed essiccato a pressione ridotta a 60°C per fornire il cristallo della forma I dell'invenzione (38,93 g, 97,3%).

Uno spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del cristallo della forma I dell'invenzione è riportato in Fig. 1.

Mp: 140,4°C (the Japanese Pharmacopoeia, metodo 1 della Determinazione del punto di fusione)

Esempio 2: Produzione del cristallo della forma I dell'invenzione

Etanolo (99 g) e metiletilchetone (11 g) furono aggiunti al composto A (20 g), e riscaldati a 77°C per disciogliere il composto A, e poi la soluzione fu gradualmente raffreddata a 10°C in 20 ore. Durante il raffreddamento, alla soluzione fu aggiunta una piccola quantità del cristallo della forma I dell'invenzione. Dopo raffreddamento, il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione, lavato con etanolo, ed essiccato a pressione ridotta per fornire il cristallo della forma I dell'invenzione (18,72 g, 93,6%).

Esempio 3: Produzione del cristallo della forma II

Etanolo (550 g) e metiletilchetone (55 g) furono aggiunti al composto A (100 g), riscaldati a 77°C, e filtrati sotto pressione mantenendo il riscaldamento.

Con agitazione, il filtrato risultante fu raffreddato da 70°C a 0°C, impiegando 30 minuti, e dopo aver raggiunto 0°C, questo fu agitato a 0°C per 2,5 ore. Il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione, lavato con etanolo (200 ml), ed essiccato a pressione ridotta. Etanolo (99 g) e metiletilchetone (11 g) furono aggiunti al cristallo ottenuto (20 g), riscaldati a 70°C, poi mantenuti a 70°C per 1 ora, e gradualmente raffreddati a 10°C, impiegando 20 ore; e dopo aver raggiunto 10°C, questo fu agitato a 10°C per 1 ora. Il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione, lavato con etanolo (40 ml), ed essiccato a pressione ridotta per fornire il cristallo della forma II (18,73 g, 93,7%). Uno spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del cristallo della forma II è riportato in Fig. 2.

Mp: 135,2°C (the Japanese Pharmacopoeia, metodo 1 della Determinazione del punto di fusione)

#### Esempio 4: Produzione del cristallo della forma II

Etanolo (99 g) e metiletilchetone (11 g) furono aggiunti al composto A (20 g), e riscaldati a 77°C per disciogliere il composto A, e poi la soluzione fu gradualmente raffreddata a 10°C in 20 ore. Durante il raffreddamento, alla soluzione fu aggiunta una piccola quantità di cristallo della forma II. Dopo raffreddamento, il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione, lavato con etanolo, ed essiccato a pressione ridotta per fornire il cristallo della forma II (19,70 g, 98,5%).

#### Esempio 5: Produzione del cristallo della forma III

N-Butile acetato (500 ml) fu aggiunto al composto A (36,7 g), e riscaldato a 75°C per disciogliere il composto A, e poi raffreddato a 5°C. Poi, fu eseguito un procedimento di riscaldamento a 60°C e raffreddamento a 5°C, e il procedimento

fu ripetuto. Il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione, lavato con una piccola quantità di isopropile acetato (50 ml), ed essiccato a pressione ridotta per fornire il cristallo della forma III (29,0 g, 79,0%). Uno spettro di diffrazione della polvere ai raggi X del cristallo della forma III è riportato in Fig. 3.

Mp: 138,0°C (the Japanese Pharmacopoeia, metodo 1 della Determinazione del punto di fusione)

Il cristallo dell'invenzione usato nei seguenti Esempi di test da 1 a 3 fu preparato col seguente metodo.

Il cristallo della forma I dell'invenzione, il cristallo della forma II, e il cristallo della forma III furono preparati negli stessi metodi dell'Esempio 2, dell'Esempio 4, e dell'Esempio 5, rispettivamente.

Esempio di test 1: Misurazione della dimensione delle particelle

(1) Misurazione della distribuzione della dimensione delle particelle del cristallo dell'invenzione e del cristallo della forma II e della forma III

Poi fu aggiunto un disperdente (10 ml) al cristallo dell'invenzione (20 mg) o al cristallo della forma II o della forma III con successiva agitazione per scuotimento. i cristalli furono dispersi con onde ultrasoniche. Le distribuzioni della dimensione delle particelle dei cristalli furono misurate usando HORIBA LA-910. Il risultato è riportato nella Tabella 1.

Il disperdente usato è una soluzione satura filtrata del composto A in una soluzione acquosa di Polisorbato 80 0,1 v/v%.

[Tabella 1]

	Forma del cristallo	D10	D50	D90
1	Cristallo della forma I dell'invenzione	5,6	12,8	25,8
2	Cristallo della forma II	5,2	11,3	22,0
3	Cristallo della forma III	4,3	8,0	14,4
D10: Diametro cumulativo delle particelle sottodimensionate al 10% del rapporto volumetrico [ $\mu\text{m}$ ] D50: Diametro cumulativo delle particelle sottodimensionate al 50% del rapporto volumetrico [ $\mu\text{m}$ ] D90: Diametro cumulativo delle particelle sottodimensionate al 90% del rapporto volumetrico [ $\mu\text{m}$ ]				

(2) Osservazione del cristallo dell'invenzione e del cristallo della forma II e della forma III con un microscopio a scansione elettrica

I cristalli furono osservati attraverso un microscopio a scansione elettronica (HITACHI HIGH TECHNOLOGIES TM-1000 Miniscope).

La Fig. 4 mostra la micrografia a scansione elettronica del cristallo della forma I dell'invenzione. La Fig. 5 mostra il cristallo della forma II e la Fig. 6 mostra il cristallo della forma III.

Dai risultati di (1) e (2) menzionati sopra, si concludeva che la dimensione delle particelle del cristallo della forma I dell'invenzione è più grande di quella dei cristalli della forma II e della forma III.

Esempio di test 2: Misurazione del solvente residuo contenuto nel cristallo dell'invenzione e nel cristallo della forma II e della forma III

La concentrazione del solvente residuo contenuto nei cristalli dell'invenzione fu misurata usando le seguenti condizioni di misurazione. Il

risultato è riportato nella Tabella 2.

(Condizioni di misurazione)

#### Apparecchiatura GC

Detector: Detector a ionizzazione di fiamma

Colonna: Colonna capillare

Temperatura della colonna: 150°C - 230°C

Temperatura dell'iniezione: 200°C

Temperatura del detector: 300°C

Gas veicolante: Elio

[Tabella 2]

	Forma del cristallo	Solvente	Contenuto (ppm)
1	cristallo della forma I dell'invenzione	Etanolo	371
		Metil-etil-chetone	82
2	Cristallo della forma II	Etanolo	2169
		Metil-etil-chetone	246
3	Cristallo della forma III	Isopropile acetato n-	93
		Butile acetato	2781

Sebbene ciascuna forma di cristallo non contenga una quantità considerevole dei solventi residui, la quantità dei solventi residui nel cristallo della forma I dell'invenzione era minore di quella della forma II e della forma III.

Esempio di test 3: Effetto di rimozione delle impurezze nella ricristallizzazione

L'efficacia della rimozione delle impurezze nel corso della ricristallizzazione di ciascuna forma cristallina fu misurata usando le seguenti condizioni di misurazione (cromatografia liquida a fase inversa).

(Condizioni di misurazione)

### Apparecchiatura HPLC

Detector: Detector di assorbimento nell'ultravioletto

Colonna: Colonna ODS

Temperatura della colonna: 40°C

Fase mobile: Miscela di acqua, acetonitrile

e acido metansolfonico

La purezza (%) di ciascun cristallo del composto A fu calcolato con la seguente equazione.

$$\text{Purezza (\%)} = (\text{Area del picco del composto A}) / (\text{Area totale}) \times 100$$

Il rapporto di rimozione delle impurezze (%) per ciascun cristallo fu calcolato con la seguente equazione.

$$\text{Rapporto di rimozione delle impurezze (\%)} = \left\{ \left[ (\text{Purezza di ciascun cristallo del composto A}) - (\text{Purezza del composto A grezzo}) \right] / \left[ 100 - (\text{Purezza del composto A grezzo}) \right] \right\} \times 100$$

Il risultato è riportato nella Tabella 3.

[Tabella 3]

	Forma del cristallo	Purezza del composto A (%)	Rapporto di rimozione delle impurezze (%)
	Materiale grezzo	98,04	
1	Cristallo della forma I dell'invenzione	99,51	75
2	Cristallo della forma II	99,33	66
3	Cristallo della forma III	98,97	47

Dai risultati riportati nella Tabella 3, l'efficacia di rimozione delle impurezze per il cristallo della forma I dell'invenzione era più elevato in confronto

con quella dei cristalli della forma II e II.

Esempio di test 4: Studio del solvente per la cristallizzazione del composto A

Gli studi di cristallizzazione del composto A furono eseguiti secondo i metodi (1) e (2) che seguono.

(1) Il solvente di cristallizzazione (vedi Tabelle 4 e 5) fu aggiunto al composto A, e la miscela fu agitata a 50°C per 60 minuti. La miscela risultante fu filtrata. Dopo filtrazione, la soluzione madre isolata fu agitata a 60°C per 30 minuti, e raffreddata a 5°C in 11 ore. Dopo agitazione a 5°C per 72 ore, il solido precipitato fu raccolto per filtrazione. Il solido fu essiccato a 20°C a pressione ridotta, per cui fu ottenuto un solido.

Gli spettri di diffrazione della polvere ai raggi X dei cristalli ottenuti furono misurati e fu determinata la forma di ciascun cristallo.

I risultati sono riportati nella Tabella 4 (studio a singolo solvente) e Tabella 5 (studio con solventi misti).

Nello studio con solventi misti (Tabella 5), ciascun solvente fu miscelato e usato in quantità uguali.

[Tabella 4]

	Solvente di cristallizzazione	Forma dei cristalli
1	terz-Butilmetiletere	NA
2	Acetone	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
3	Cloroformio	NA
4	Metanolo	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
5	Tetraidrofurano	Cristallo della forma II + Cristallo

	Solvente di cristallizzazione	Forma dei cristalli
		della forma III
6	Isopropiletero	NA
7	2-Metiltetraidrofurano	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
8	Etanolo	NA
9	Cicloesano	NA
10	Acetonitrile	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
11	1,2-Dicloroetano	NA
12	Fluorobenzene	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
13	1,2-Dimetossietano	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
14	Metilcicloesano	NA
15	Nitrometano	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
16	1,4-Diossano	NA
17	3,3-Dimetil-2-butanone	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
18	Isobutanolo	NA
19	Toluene	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
20	Dietile carbonato	Cristallo della forma III
21	n-Butile acetato	Cristallo della forma III
22	Clorobenzene	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
23	Etilbenzene	NA
24	p-Xilene	NA
25	Isoamile acetato	Cristallo della forma III
26	n-Amile acetato	Cristallo della forma III

	Solvente di cristallizzazione	Forma dei cristalli
27	Metil-fenilettere	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
28	Cicloesano	NA
29	bis(2-Metossietil)etere	Cristallo della forma III
30	1,3,5-Trimetilbenzene	Amorfo
31	4-Idrossi-4-metil-2-pentanone	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
32	2,6-Dimetil-4-eptanone	Cristallo della forma III
NA: Il solido non fu precipitato.		

[Tabella 5]

	Solvente di cristallizzazione	Forma dei cristalli
1	Cloroformio	NA
	Acetonitrile	
2	Tetraidrofurano	Cristallo della forma II
	Cicloesano	
3	Etile formiato	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
	Acqua	
4	Metanolo	NA
	Acqua	
5	Acqua	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
	Acqua	
6	1,2-Dimetossietano	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
	Acqua	
7	Etanolo	Cristallo della forma II
	Acqua	
8	Cicloesano	Cristallo della forma II
	1,4-Diossano	
9	2-Propanolo	Cristallo della forma II

	Solvente di cristallizzazione	Forma dei cristalli
	Acqua	
10	Cicloesano	NA
	Tetraidrofurano	
11	1-Propanolo	Cristallo della forma II
	Acqua	
12	1,4-Diossano	Cristallo della forma II
	Acqua	
13	2-Butanolo	Cristallo della forma II
	Acqua	
14	Cicloesano	Cristallo della forma II
	Cicloesano	+ Cristallo della forma III
15	1-Butanolo	Cristallo della forma II
	Acqua	
16	Cicloesano	Cristallo della forma II + Cristallo della forma III
	1,4-Diossano	
NA: Il solido non fu precipitato.		

(2) Ulteriori studi furono eseguiti usando il seguente metodo per quelle condizioni in cui i cristalli non furono precipitati (vedi le Tabelle 4 e 4) e condizioni simili ad esse. I solventi usati negli ulteriori esperimenti furono scelti in considerazione della tossicità, della solubilità del composto A e della disponibilità per l'uso industriale.

Una quantità di solvente minore di quella del test nel sopra menzionato (1) fu aggiunta al composto A, e la miscela fu riscaldata a 75°C con agitazione. Dopo dissoluzione del composto A, la miscela fu agitata a 65°C per da 5 a 8 ore. La miscela fu raffreddata a 20°C in 9 ore. Il cristallo precipitato fu raccolto per filtrazione ed essiccato a 70°C a pressione ridotta, per cui fu ottenuto un cristallo. I risultati sono riportati nella Tabella 6.

Nello studio con solventi misti, ciascun solvente fu miscelato e usato in quantità uguale.

[Tabella 6]

	Solvente di cristallizzazione	Forma dei cristalli
1	terz-Butilmetiletere	NA
2	Isopropiletere	NA
3	Cicloesano	NA
4	Etanolo	Cristallo della forma I dell'invenzione
5	2-Propanolo	Cristallo della forma I dell'invenzione + Cristallo della forma III
6	Etilbenzene	Cristallo della forma III
7	Metanolo	Cristallo della forma I dell'invenzione
	Acqua	+ Cristallo della forma III
8	Cicloesanone	NA
	Tetraidrofurano	
NA: Il solido non fu precipitato.		

Dai risultati dei sopra menzionati (1) e (2), si concludeva che il cristallo della forma II e il cristallo della forma III possono essere ottenuti da vari solventi.

D'altro lato, cristalli che contengono il cristallo della forma I dell'invenzione possono essere ottenuti soltanto da solventi alcolici, e i cristalli altamente puri della forma I dell'invenzione possono essere ottenuti da etanolo.

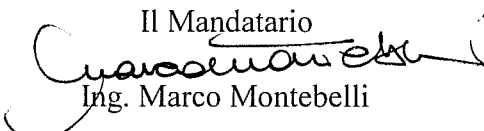
### RIVENDICAZIONI

1. Cristallo della forma I della 2-{4-[N-(5,6-difenilpirazin-2-il)-N-isopropilammino]butilossi}-N-(metilsolfonil)acetammide, che mostra picchi di diffrazione nel suo spettro di diffrazione ai raggi X almeno ai seguenti angoli di diffrazione  $2\theta$ : 9,4 gradi, 9,8 gradi, 17,2 gradi e 19,4 gradi, dove il diagramma di diffrazione della polvere ai raggi X è ottenuto usando la radiazione Cu  $K\alpha$ .
2. Composizione farmaceutica comprendente il cristallo della Rivendicazione 1 come componente attivo.
3. Agente agonista del recettore PGI2 comprendente il cristallo della Rivendicazione 1 come componente attivo.
4. Composto per l'uso nel trattamento di neuropatia diabetica, cancrena diabetica, disturbi circolatori periferici, occlusione arteriosa cronica, claudicatio intermittente, trombosi, ipertensione polmonare, infarto miocardico, angina, glomerulonefrite, nefropatia diabetica, insufficienza renale cronica, asma bronchiale, polmonite interstiziale (fibrosi polmonare), sclerodermia, malattie polmonari ostruttive croniche, malattia infiammatoria intestinale, nefrite tubulointerstiziale, o sintomatologia associata a stenosi del canale spinale lombare, per cui il composto è il cristallo della Rivendicazione 1.
5. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento dell'ipertensione polmonare.
6. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di disturbi circolatori periferici.

7. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di occlusione arteriosa cronica.
8. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di claudicatio intermittente.
9. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento dei sintomi associati con la stenosi del canale spinale.
10. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di fibrosi polmonare.
11. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di scleroderma.
12. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di insufficienza renale cronica.
13. Composto per l'uso secondo la Rivendicazione 4, dove l'agente è per il trattamento di nefrite tubulo-interstiziale.

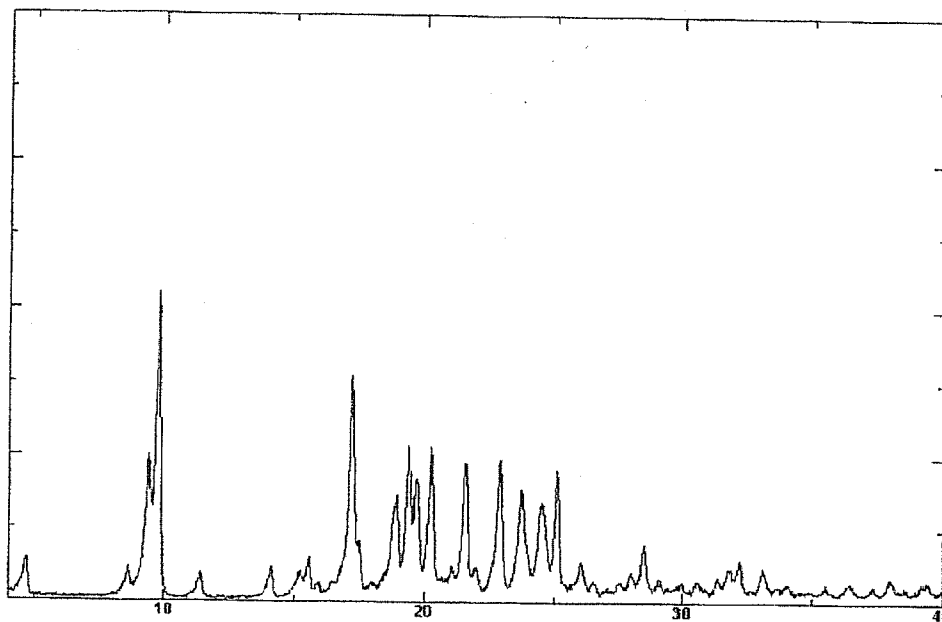
Dogana, 14/02/2018

In fede

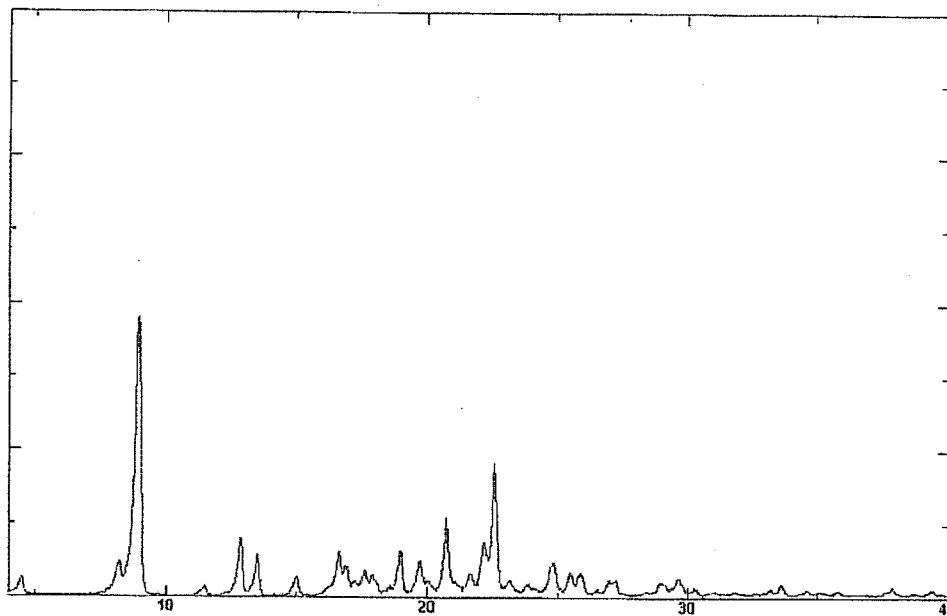
Il Mandatario  
  
Ing. Marco Montebelli

USBM CPI 001

[Fig. 1]

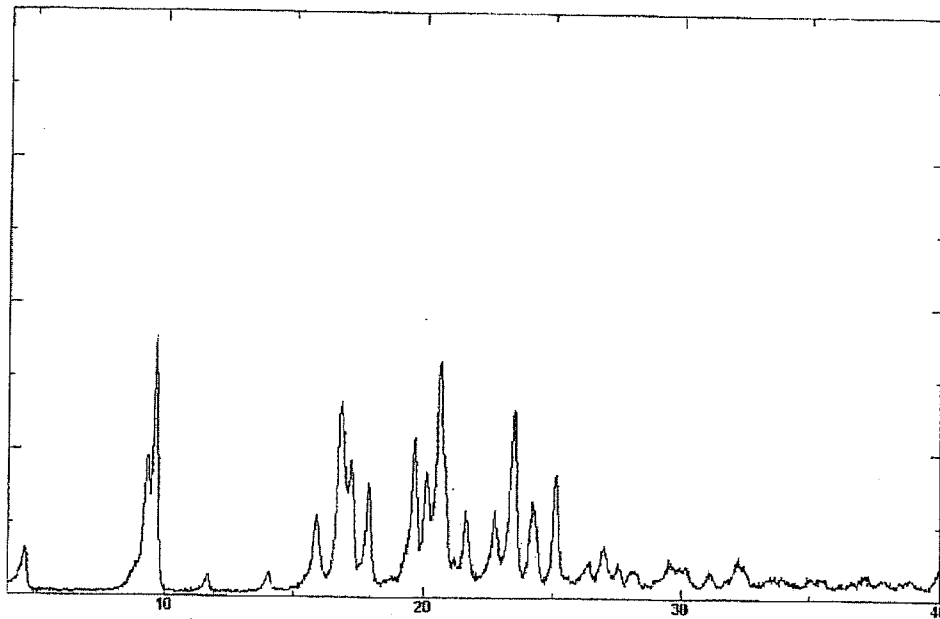


[Fig. 2]



*Marco Montebelli*  
**Ing. MARCO MONTEBELLI**  
**Cod. USBM CPI 001**

[Fig. 3]



[Fig. 4]



200  $\mu$ m

*Montebelli*  
Ing. MARCO MONTEBELLI  
Cod. USBM CPI 001

[Fig. 5]



200  $\mu$ m

*Montebelli*  
**Ing. MARCO MONTEBELLI**  
**Cod. USBM CPI 001**

[Fig. 6]



200  $\mu$ m

*Montebelli*  
Ing. MARCO MONTEBELLI  
Cod. USBM CPI 001