

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042336**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.02.06

(51) Int. Cl. **C07D 401/04** (2006.01)
C07C 231/02 (2006.01)

(21) Номер заявки
202190412

(22) Дата подачи заявки
2021.02.28

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ [3,4-ДИФТОР-2-(2-ФТОР-4-ИОДОАНИЛИНО)ФЕНИЛ]
[3-ГИДРОКСИ-3-[(2S)-2-ПИПЕРИДИН-2-ИЛ]АЗЕТИДИН-1-ИЛ]МЕТАНОНА
ГЕМИФУМАРАТА

(43) 2022.08.31

(96) 2021000023 (RU) 2021.02.28

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"АКСЕЛЬФАРМ" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Иванов Андрей Сергеевич, Скорняков
Юрий Владимирович, Торчинов
Георгий Юрьевич (RU)**

(56) US-A1-2018273506
WO-A1-2019086469

FERDOUSI, FARHANA, KHANAM (2015)
NOVEL APPROACHES FOR CATA-LYTIC
DIRECT AMIDE FORMATION, Durham theses,
Durham University [он-лайн], [найденно 2021-06-02],
Найдено в <http://etheses.dur.ac.uk/11457/>, Раздел
4.3.5.3, Synthesis of Azetidine Derivatives, с. 110-112
MYLAVARAPU R.K. et al. Boric Acid
Catalyzed Amidation in the Synthesis of Active
Pharmaceutical Ingredients. ORGANIC PROCESS
RESEARCH & DEVELOPMENT, 2007, Vol. 11, No.
6, pp. 1065-1068 <https://doi.org/10.1021/op700098w>,
весь текст

(57) Изобретение относится к химической технологии, а именно, к способу получения [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодоанилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона и его гемифумарата, противоопухолевого средства из группы ингибиторов протеинкиназ. Техническим результатом является уменьшение количества реагентов и повышение безопасности процесса получения целевого продукта. Способ получения кобиметиниба гемифумарата или основания кобиметиниба осуществляют с использованием в качестве исходного сырья 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойной кислоты и трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата, при этом реакцию с образованием амидной связи между вышеуказанными веществами проводят в присутствии борной кислоты в среде ароматического углеводорода при температуре кипения реакционной смеси.

B1**042336****042336 B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к химической технологии, а именно, к способу получения [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иоданилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанола гемифумарата, противоопухолевого средства из группы ингибиторов протеинкиназ.

Предшествующий уровень техники

Сигнальный каскад митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) играет важную роль в передаче внеклеточных сигналов в ответ на клеточные реакции. Известны четыре основные подгруппы ферментов в семействе МАРК: внеклеточные регулируемые киназы (ERKs), c-Jun N-терминальные киназы (JNK/SAPK), ERK5 и группа протеинкиназ p38. Сигнальный путь ERK, в котором белки MEK являются важными компонентами, отвечает за основные клеточные функции, такие как пролиферация, выживание, дифференцировка, ангиогенез и миграция.

Кобиметиниб представляет собой аллостерический ингибитор киназ MEK 1/2, блокирующий активную передачу клеточных сигналов. В биохимических и цитологических исследованиях кобиметиниб продемонстрировал высокую активность в отношении широкого спектра опухолей *in vivo* на моделях ксенотрансплантата опухоли, несущей мутацию BRAF и KRAS.

Кобиметиниб является действующим веществом в лекарственном препарате "Котеллик" (Cotellic), который применяется при неоперабельной и метастатической меланоме с BRAF V600 мутацией у взрослых пациентов в комбинации с вемурафенибом. Согласно инструкции по применению ЛП 003464-070817 такое сочетание ингибирует реактивацию МАРК-пути через MEK 1/2 за счет одновременного воздействия на BRAF и MEK, приводя к более выраженному подавлению передачи сигнала, апоптозу большего числа опухолевых клеток и усилению опухолевых ответов в доклинических моделях по сравнению с монотерапией вемурафенибом.

На основе известного уровня техники можно сделать вывод о том, что ключевой стадией синтеза кобиметиниба является образование амидной связи между производным азетидина и арилкарбоновой кислотой или её производным. Так, в Евразийском патенте № 019983 В1 (опубл. 30.07.2014, МПК: C07D 205/04; C07D 205/06; C07D 401/06 и др.), относящемся к патентному семейству международной публикации WO 2007044515 А1 (опубл. 19.04.2007), приведен способ получения кобиметиниба на основе реакции фторангидрида 3,4-дифтор-2-[(4-иод-2-фторфенил)амино]бензойной кислоты с соответствующим защищенным производным азетидина в присутствии диизопропилэтиламина с последующей очисткой сырья продукта флеш-хроматографией. Фторангидрид синтезировали из 3,4-дифтор-2-[(4-иод-2-фторфенил)амино]бензойной кислоты и цианурфторида в дихлорметане в присутствии пиридина с последующей очисткой технического продукта флеш-хроматографией, а Вос-защищенный азетидин получали гидрированием 1,1-диметилэтил-(2S)-2-(3-гидрокси-1-[[фенилметил]окси]карбонил}-азетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата водородом на палладиевом катализаторе. Защитную Вос-группу удаляли действием хлороводорода в 1,4-диоксане. После экстракции этилацетатом продукт очищали флеш-хроматографией, растворитель отгоняли в вакууме. Твердый осадок растирали в диэтиловом эфире до получения аморфного твердого основания кобиметиниба.

В патенте Китая № 104725352 В (опубл. 10.11.2017, МПК: C07D 04) для получения Вос-защищенного кобиметиниба 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензоилхлорид вводили в реакцию с рацемическим трет-бутил-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилатом в присутствии DIPEA в среде тетрагидрофурана. После завершения реакции и выделения рацемического продукта нужный (S)-изомер Вос-кобиметиниба выделяли при помощи хиральной хроматографии на аналитической колонке CHIRALPAK AD, 0,46×25 см, в подвижной фазе: EtOH-ACN 90:10 (V/V) при скорости потока 0,6 мл/мин. Пример 12 патента описывает наработку 284,54 г хирального продукта с применением данной хроматографической системы (что на практике может потребовать сотни тысяч хроматографических циклов и около ста лет). Выход Вос-кобиметиниба составил 39%, а энантиомерный избыток более 98%. Деблокирование осуществляли действием хлороводорода в метаноле. Сырец основания кобиметиниба очищали кристаллизацией из хлористого метилена.

В патенте США № 10407403 В2 (опубл. 10.09.2019, МПК: C07D 401/04, A61K31/4523) реакцию между 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензоилхлоридом и трет-бутил (S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилатом осуществляли под действием (бензотриазол-1-ил-окси)трипирролидинофосфония гексафторфосфата (PyBOP) в качестве конденсирующего агента и DIPEA в качестве основания в среде N,N-диметилформамида. Вос-защищенный кобиметиниб экстрагировали этилацетатом. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Деблокирование проводили действием HCl в 1,4-диоксане. Кобиметиниб в форме основания очищали перекристаллизацией из смеси этилацетат-гексан. Данный способ выбран в качестве прототипа способа по настоящему изобретению.

Известно, что трет-бутилоксикарбонильная защитная группа при атоме азота может быть деблокирована при воздействии высоких температур. Обычно ее полное удаление требует нагрева до температуры 180°C и выше, однако в ряде случаев полное удаление N-Вос-группы происходит уже при нагревании до 100-120°C [K.E. Krakowiak, J.S. Bradshaw, "Thermal Removal of Boc-Protecting Groups During Preparation of Open-Chain Polyamines", *Synth. Commun.*, 1996, 26 (21), 3999-4004]. Также известно, что N-Вос-

группа может быть количественно удалена кипячением в воде, даже в том случае, если указанная Boc-группа находится при вторичной аминогруппе пиперидинового кольца [J. Wang, Y. Liang, J. Qu. "Boiling water-catalyzed neutral and selective N-Boc deprotection", Chem. Commun., 2009, 5144-5146; DOI: 10.1039/b910239f]. Таким образом, диапазон термической стабильности N-Boc группы в значительной степени определяется средой и условиями, в которых производится нагревание, в том числе растворителем и другими реагентами, присутствующими в реакционной смеси.

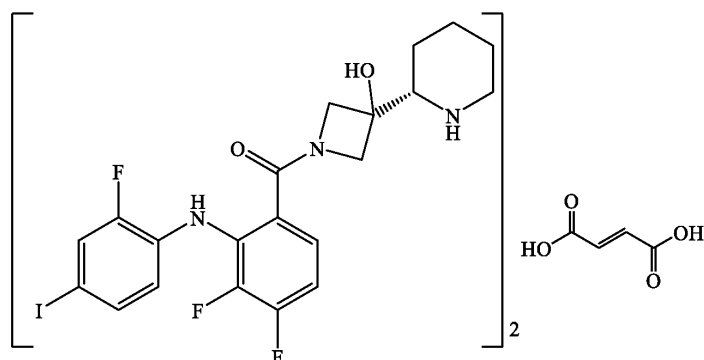
Все вышеперечисленные способы синтеза кобиметиниба (или его солей) обладают рядом недостатков, связанных с использованием конденсирующих реагентов и вспомогательных веществ. При этом используемые реагенты, вспомогательные вещества и продукты их превращения способны загрязнять целевой продукт. Известно, что при использовании N,N'-дициклогексилкарбодиимида (DCC) в качестве побочных продуктов образуются малорастворимая N,N'-дициклогексилмочевина и некоторое количество её N-ацилпроизводного. Последнее представляет собой продукт нежелательной перегруппировки O-ацил-N,N'-дициклогексизомочевины. Если DCC применяется в сочетании с 1-гидроксibenзотриазолом (HOBT или HOBT·H₂O), возможно образование малорастворимого симметричного производного 1,3-диазетидина в качестве побочного продукта. При использовании карбонилдиимидазола основным побочным продуктом реакции является имидазол, а применение PyBOP приводит к образованию HOBT и токсичного 1,1',1"-фосфорилтрипирролидина [E. Valeur, M. Bradley, "Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents", Chem. Soc. Rev. 2009, 38, 606-631; DOI: 10.1039/b701677h], [C.A.G.N. Montalbetti, V. Falque. "Amide bond formation and peptide coupling", Tetrahedron, 2005, 61 10827-10852]. Используемые в синтезе третичные амины, такие как DIPEA, сохраняются в следовых количествах в продукте реакции. Величины безопасных для человека доз и уровней экспозиции свидетельствуют о заметной токсичности многих используемых в синтезе кобиметиниба реагентов и сохраняющихся в виде примесей побочных продуктов. Так, для DIPEA референтная (безопасная) доза RfD составляет 0,56 мкг/кг/д, а референтная (безопасная) экспозиция RfC - 2 мкг/м³. Для N,N'-дициклогексилкарбодиимида значение RfD равно 0,25 мкг/кг/д, RfC - 0,3 мкг/м³; для N,N'-дициклогексилмочевины RfD - 0,87 мкг/кг/д, RfC - 1,04 мкг/м³ [N.B. Munro, e.a. "The Sources, Fate, and Toxicity of Chemical Warfare Agent Degradation Products" Environm. Health Perspect. 1999, 107 (12), 933-974]. Применяемый для получения ацилфторида цианурфторид является летучей жидкостью с давлением насыщенных паров 85,6 при 25°C. Он обладает сильным неприятным запахом и значительными показателями острой токсичности: LC₅₀ 3,1 мг/кг (крыса, ингал.) и LD₅₀ 160 мг/кг (кролик, черескожно) [J.E. Griffiths, "Acute inhalation and dermal application screening studies of 2,4,6-trifluoro-sym-triazine and 2,4,6-tris(trifluoromethyl)-sym-triazine", Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 1972, 33 (6), 382-388; DOI: 10.1080/0002889728506669].

Использование препаративной хроматографии, в том числе флеш-хроматографии, неэффективно при промышленном производстве, поскольку требует значительных объёмов органических растворителей и сорбентов. Применение летучих органических растворителей влечет за собой соответствующие требования к производственному помещению, системе вентиляции, взрывобезопасному исполнению оборудования и т.д. Использование для выделения S-изомера производного кобиметиниба из рацемической смеси при помощи аналитической хиральной хроматографии (как в упомянутом выше описании к патенту Китая №104725352 В) вообще не может считаться промышленно применимым способом, поскольку ввиду очевидных для специалиста причин не может быть масштабирован до промышленной технологии.

Таким образом, задачей настоящего изобретения является разработка нового способа получения кобиметиниба, включающего конденсацию 2,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойной кислоты с защищенным производным (S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата, который лишен указанных недостатков.

Сущность изобретения

Изобретение относится к способу получения [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иоданилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона гемифумарата (международное непатентованное название - кобиметиниб, CAS 1369665-02-0 (фумарат) 934660-93-2 (основание), GDC-0973, XL518), которое характеризуется следующей структурной формулой:



Брутто-формулой: $C_{48}H_{46}F_6I_2N_6O_8$.

Молекулярной массой: 1178,71 в форме гемифумарата кобиметиниба и 531,32 в форме свободного основания кобиметиниба.

В настоящем изобретении предлагается способ получения [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодоанилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона гемифумарата (кобиметиниба) из 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойной кислоты (1) (далее арилкарбоновой кислоты) и трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата (2) (далее амина).

Согласно настоящему изобретению, конденсация арилкарбоновой кислоты с амином достигается при использовании субстехиометрического (каталитического) количества борной кислоты. В качестве растворителя на стадии реакции арилкарбоновой кислоты с амином используются ароматические углеводороды, предпочтительно, толуол. Для смещения химического равновесия в сторону продуктов реакции, образовавшуюся воду удаляют из реакционной среды при помощи азеотропной отгонки (Пример 1, 2), либо активированных молекулярных сит (Пример 3). В одном варианте осуществления изобретения борную кислоту или борный ангидрид, в который она может превратиться в условиях синтеза, удаляли фильтрованием и промыванием раствора, содержащего продукт реакции, раствором бикарбоната натрия и водой (Пример 1). В другом варианте от борной кислоты избавлялись путем многократного растворения и отгонки метанола из реакционной массы (Пример 2). Последний приём позволяет удалить борную кислоту в виде азеотропа метанола с триметилборатом (образуется из борной кислоты с метанолом). Во всех вариантах осуществления стадии амидирования образовывался промежуточный продукт - трет-бутил-(S)-2-(1-(3,4-дифтор)-2-(2-фтор-4-иодфенил)амино)бензоил)-3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилат (или Вос-кобиметиниб) (3). В ходе осуществления способа по настоящему изобретению авторами было обнаружено, что при кипячении в толуоле (т. кип.110,6°C) и орто-ксилоле (т. кип.144,4°C) в присутствии борной кислоты N-Вос-группа в полученном производном (3) сохраняется полностью. Использование в качестве среды для амидирования ксилола по ГОСТ 9410-78, представляющего собой смесь трех изомеров ксилола и этилбензола, приводило к результатам, аналогичным тем, которые были получены при использовании орто-ксилола. Попытка удалить защитную Вос-группу с полученного производного кобиметиниба (3) кипячением в воде не увенчалась успехом, поскольку при этом наблюдалась чрезвычайно медленная конверсия исходного вещества в продукт. В ходе дальнейших экспериментов авторы неожиданно обнаружили, что замена воды на концентрированный (насыщенный при температуре 20°C) раствор хлорида натрия позволяет достичь полной конверсии в течение приблизительно 4 часов. Авторы не ставили задачи выяснить связано ли в данном случае ускорение реакции с увеличением ионной силы среды или специфическим действием растворенного хлорида натрия, однако было отмечено, что добавление к водно-солевому раствору неионогенного ПАВ (0,5% полисорбат 80 или 40) дополнительно ускоряет реакцию (примерно в 1,5 раза).

Удаление Вос-защитной группы осуществляли нагреванием полученного полупродукта (3) (Вос-защитного кобиметиниба) в концентрированном растворе хлорида натрия в воде. Кобиметиниба гемифумарат (5) получали действием фумаровой кислоты на основание кобиметиниба (4) в этаноле. Выход продукта - 90% для Примера 1, 86% - для Примера 2, ее 99,71% и 99,84%, соответственно.

Авторами настоящего изобретения был воспроизведен способ получения основания кобиметиниба, описанный в патенте US 10407403 B2. Конденсацию 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойной кислоты с трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилатом осуществляли действием PyBOP в присутствии диизопропилэтиламина в среде ДМФА. Продукт-сырец очищали перекристаллизацией из смеси этилацетат-н-гексан в соотношении 1:1 (v/v). Очистку кобиметиниба выполняли флеш-хроматографией в этилацетате с добавлением водного раствора аммиака в хлороформе и метаноле. Выход после хроматографической очистки составил 68%. По данным ВЭЖХ продукт содержал примесь 1,1',1''-фосфорилтрипирролидина в количестве 0,27%.

В настоящем изобретении предлагается способ получения кобиметиниба путем взаимодействия 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойной кислоты (1) и трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата (2) с применением борной кислоты в субстехиометрическом (каталитиче-

ском) количестве, осуществляемого при нагревании в среде ароматического углеводорода.

Основным техническим результатом предлагаемого изобретения является уменьшение количеств загружаемых реагентов, что приводит к повышению "экономии атомов" [B. M. Trost. "The atom economy - a search for synthetic efficiency", Science, 1991, 254 (5037), 1471-1477; DOI: 10.1126/science.1962206]. Следует отметить, что "экономия атомов" служит объективной мерой материальной эффективности химического процесса, следствием которого является большая экономическая эффективность производства благодаря экономии реагентов и уменьшению объема отходов. Также предлагаемый способ отличается более высокой степенью безопасности, поскольку используемая вместо традиционных конденсирующих агентов и вспомогательных реагентов (HOBt, диизопропилэтиламин) борная кислота представляет собой биоразлагаемый экологичный реагент с хорошим профилем безопасности. Референтная (безопасная) доза RfD для борной кислоты составляет 200 мкг/кг/д, что значительно выше, чем для конденсирующих агентов и продуктов их превращений, описанных выше. Кроме того, борная кислота в способе по настоящему изобретению используется в количествах ниже стехиометрического, что также усиливает вышеуказанные технические результаты.

Перечень фигур чертежей

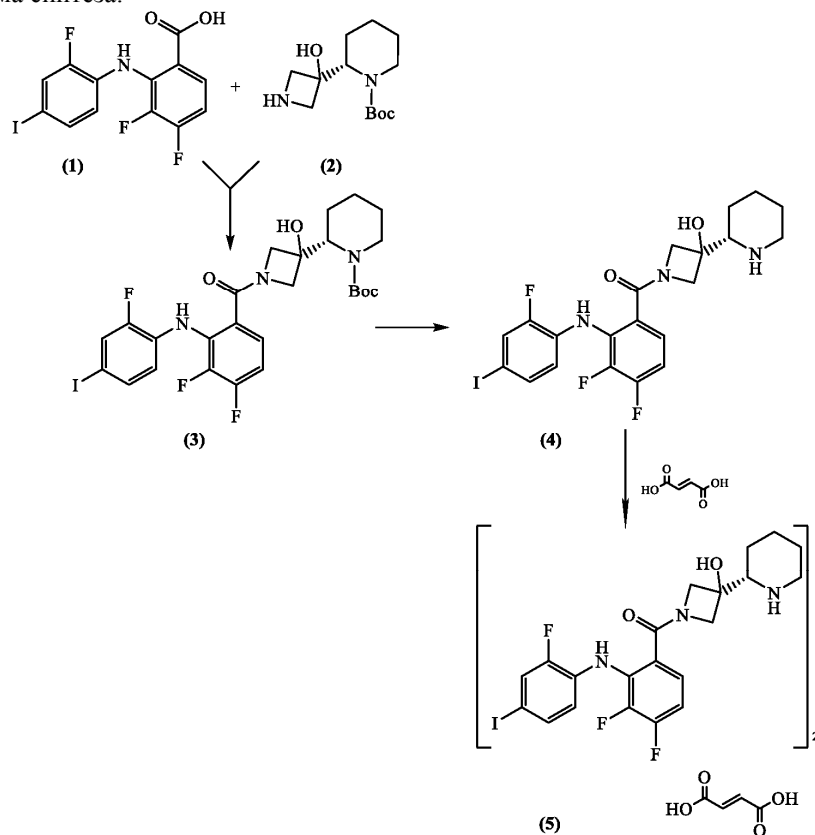
Для пояснения сущности заявляемого технического решения к описанию приложена фиг. 1.

На фиг. 1 приведен ^1H ЯМР спектр основания кобиметиниба, полученного согласно Примеру 1 настоящего описания. Спектр зарегистрирован на частоте 400 МГц в дейтерированном хлороформе (CDCl_3).

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

Спектры ^1H ЯМР были зарегистрированы в насыщенном растворе в дейтерированном хлороформе (CDCl_3) на ЯМР-спектрометре Bruker AVANCE 400 на рабочих частотах 400 МГц. Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии осуществляли на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), снабженном диодно-матричным детектором с переменной длиной волны с использованием колонки с фенилсодержащей фазой Phenomenex Synergi Polar - RP ($150 \times 4,6$ мм, 4 мкм), Agilent Poroshell 120 ($75 \times 4,6$ мм, 2,7 мкм) либо ChiralPak IE-3 ($150 \times 4,6$ мм, 3 мкм) (для анализа хиральной чистоты). Масс-спектрометрическую идентификацию проводили на жидкостном тройном квадрупольном масс-спектрометре LCMS-8045 (Shimadzu).

Общая схема синтеза:



Возможность осуществления заявленной группы изобретений иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается только ими.

Пример 1. Получение [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иоданилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона гемифумарата.

В колбе объемом 250 мл, снабженной обратным холодильником и насадкой Дина-Старка, раствори-

ли 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойную кислоту (1) (10,0 г; 25 ммоль) в 150 мл толуола при перемешивании и нагревании до 50°C. К полученному раствору прибавили трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилат (2) (6,5 г; 25 ммоль), борную кислоту (0,39 г; 6,31 ммоль) и кипятили при перемешивании. После того, как объем выделившейся воды достиг примерно 0,4-0,5 мл, реакционную смесь кипятили еще 1 час, затем охладили до комнатной температуры. Нерастворимый осадок отделили фильтрованием. Фильтрат промыли 10%-ным раствором бикарбоната натрия (100 мл), затем водой (2×100 мл), затем толуол отогнали в вакууме. Твердый остаток Вос-защищенного кобиметиниба (3) суспендировали в насыщенном растворе хлорида натрия (150 мл), кипятили около 4 ч. Продукт фильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой (3×50 мл), высушили под вакуумом. Подлинность полученного основания кобиметиниба подтверждена методом ^1H ЯМР (см. спектр на фиг. 1).

Осадок основания кобиметиниба (4) смешали с примерно 100 мл 95% этанола, прибавили фумаровую кислоту (2,03 г; 18 ммоль) и нагрели до образования раствора. Горячий раствор пропустили через фильтр и охладили до температуры около 0°C, при этом образовался осадок кобиметиниба гемифумарата (5). Твердый продукт промыли на фильтре водой (2×50 мл) и высушили до постоянной массы под вакуумом. Получили 26,5 г кобиметиниба гемифумарата. Выход 90 %, содержание основного вещества 99,6% (ВЭЖХ-УФ).

Пример 2. Получение [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодоанилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона гемифумарата.

В колбе, снабженной обратным холодильником и насадкой Дина-Старка, растворили 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойную кислоту (1) (10,0 г; 25 ммоль) в 150 мл о-ксилола, трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилат (2) (6,5 г; 25 ммоль) и борную кислоту (0,31 г; 5,00 ммоль). Смесь нагрели до кипения и кипятили с отгонкой азеотропа до завершения реакции. Далее смесь охладили до комнатной температуры, нерастворимый осадок отфильтровали, а фильтрат упарили под вакуумом. Остаток перерастворили в метаноле, и растворитель отгоняли при пониженном давлении многократно (3-9 раз), пока масса колбы с остатком не перестала уменьшаться. Твердый осадок Вос-защищенного кобиметиниба (3) суспендировали в насыщенном растворе хлорида натрия (150 мл), кипятили около 4 ч. Продукт фильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой (3×50 мл), высушили под вакуумом. Основание кобиметиниба (4) смешали с примерно 50 мл 95% этанола и прибавили фумаровую кислоту (2,03 г; 18 ммоль). Смесь нагрели до образования раствора, горячий раствор пропустили через фильтр и охладили до примерно 0°C. Образовавшийся осадок кобиметиниба гемифумарата отфильтровали, промыли на фильтре водой (3×50 мл) и высушили до постоянной массы под вакуумом. Получили 25,3 г (86%, ее 99,84 %) кобиметиниба гемифумарата. Содержание основного вещества 99,6% (ВЭЖХ-УФ). Масс-спектр: m/z ($M+H^+$) 532,0.

Пример 3. Получение [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодоанилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона.

В атмосфере сухого азота растворили 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойную кислоту (5,0 г; 13 ммоль) в 50 мл безводного толуола при перемешивании. Добавили прокаленные активированные молекулярные сита Цеолит (3А) (около 1 г). В полученный раствор вводили трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилат (3,58 г; 14 ммоль), борную кислоту (0,20 г; 3,1 ммоль) и кипятили в течение 4 ч с обратным холодильником. Цеолит и осадок ангидрида борной кислоты отфильтровали, толуол удалили в вакууме. Твердый осадок Вос-защищенного кобиметиниба (3) суспендировали в насыщенном растворе хлорида натрия (150 мл), кипятили около 5 ч. Продукт фильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой (3×50 мл), высушили под вакуумом до постоянной массы. Получили 6,35 г основания кобиметиниба (4). Выход 92%. Содержание основного вещества - 99,2% (ВЭЖХ-УФ).

Пример 4. Получение [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодоанилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона гемифумарата.

Основание кобиметиниба (4), (6,35 г; 12 ммоль), полученное по примеру 3, растворили в 30 мл 95% этанола, добавили раствор фумаровой кислоты (0,7 г) в 2 мл 95% этанола. Раствор перемешивали в течение 2 ч, затем медленно охладили до 0°C. Образовавшийся осадок кобиметиниба гемифумарата (5) отфильтровали, промыли на фильтре холодным этанолом и высушили под вакуумом до постоянной массы. Получили 13,8 г гемифумарата кобиметиниба. Выход 98%. Содержание основного вещества - 99,1% (ВЭЖХ-УФ).

Пример 5. Синтез основания кобиметиниба согласно примеру 8 патента США № 10407403 В2 (пример сравнения).

В колбе растворили 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойную кислоту (5,0 г; 13 ммоль) в 50 мл N,N-диметилформамида. К полученному раствору по каплям добавили раствор бензотриазол-1-ил-окситрипирролидино-фосфоний гексафторфосфата (PyVor) (7,23 г; 14 ммоль) в 50 мл N,N-диметилформамида и оставили при перемешивании в течение 3 ч. Добавили трет-бутил (S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилат (3,58 г; 14 ммоль) и диизопропилэтиламин (4,35 мл; 25

ммоль), перемешивали 4 ч при нагревании до 40°C. После окончания реакции добавили 100 мл этилацетата и 10%-ный раствор гидроксида натрия (5,6 мл), перемешивали 15 мин. Органический слой отделили экстракцией, затем промыли водой (3×50 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (3×50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия. Растворитель удалили в вакууме. К полученному осадку добавили 4N HCl в 1,4-диоксане (50 мл), нагрели до 60°C и перемешали в течение 3 ч. Растворитель удалили в вакууме. Сырец основания кобиметиниба очищали флеш-хроматографией на силикагеле в этилацетате с добавлением водного раствора аммиака в хлороформе и метаноле, затем кристаллизовали из смеси этилацетат - гексан (100 мл). Выход основания кобиметиниба составил 4,69 г (68%). Содержание основного вещества - 99,1% (ВЭЖХ-УФ). Содержание 1,1',1"-фосфорилтрипирролидина в очищенном продукте составило 0,27% по данным ВЭЖХ.

Пример 6. Получение [3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодоанилино)фенил][3-гидрокси-3-[(2S)-2-пиперидин-2-ил]азетидин-1-ил]метанона гемифумарата (масштабирование).

Синтез проводили аналогично Примеру 1 с 40-кратной загрузкой всех реагентов, катализаторов и растворителей за исключением борной кислоты, которую брали в количестве 18 мол.% от количества трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата. Синтез проводили в реакторе объёмом 10 л. Получили кобиметиниба гемифумарат с выходом 91%, чистотой 99,8%, ee 99,71%.

Пример 7. Определение хиральной чистоты образцов кобиметиниба или кобиметиниба гемифумарата.

Для образцов кобиметиниба определение хиральной чистоты проводили методом ВЭЖХ в соответствии с ГФ РФ (ОФС 1.2.1.2.0005.15 "Высокоэффективная жидкостная хроматография", ОФС 1.2.1.2.0001.15 "Хроматография") на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), снабженном диодно-матричным детектором с переменной длиной волны, на колонке ChiralPak IE-3 (150×4,6 мм, 3 мкм).

Хроматографические условия:

Температура колонки - 30°C;

Длина волны - 279 нм;

Скорость потока - 1,0 мл/мин;

Подвижная фаза - 0,10% (V/V) раствор этаноламина в смеси н-гептан : этиловый спирт 82:18 (V/V);

Время хроматографирования - 20 мин.

Согласно требованиям Государственной Фармакопеи РФ и Международного совета по гармонизации (ICH) к содержанию невалифицированных родственных примесей в фармацевтических субстанциях, содержание невалифицированной примеси должно быть ниже порогового значения 0,15%. При отсутствии прочих примесей указанное содержание противоположного энантиомера соответствует энантиомерному избытку 99,7%.

Энантиомерный избыток рассчитывали по формуле:

$$ee = \frac{R - S}{R + S} 100\%$$

где R и S - содержание R и S энантиомеров, соответственно.

Таблица 1

Значения энантиомерного избытка для образцов, полученных по примерам 1-5 описания

Кобиметиниб по примеру	Энантиомерный избыток, %
1	99,71
2	99,84
3	99,75
4	99,74
5	99,30

Пример 8. Определение содержания фумаровой кислоты в образцах кобиметиниба гемифумарата.

Для образцов кобиметиниба гемифумарата определение содержания фумаровой кислоты проводили методом ВЭЖХ с обращенной фазой в соответствии с ГФ РФ (ОФС 1.2.1.2.0005.15 "Высокоэффективная жидкостная хроматография", ОФС 1.2.1.2.0001.15 "Хроматография") на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), снабженным диодно-матричным детектором с переменной длиной волны, на колонке с фенилсодержащей фазой Phenomenex Synergi Polar - RP (150×4,6 мм, 4 мкм).

Хроматографические условия:

Температура колонки - 25°C;

Длина волны - 220 нм;

Скорость потока - 1,0 мл/мин;

Подвижная фаза А - 0,1% (V/V) раствор трифторуксусной кислоты в воде;

Подвижная фаза Б - 0,1% (V/V) раствор трифторуксусной кислоты в ацетонитриле;

Время хроматографирования - 12 мин.

Таблица 2
Содержание фумаровой кислоты в образцах кобиметиниба по примерам 1-4

Кобиметиниб по примеру	Содержание фумаровой кислоты (9,4-10,3%)
1	9,85
2	9,58
4	10,12

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения кобиметиниба гемифумарата или основания кобиметиниба с использованием в качестве исходного сырья 3,4-дифтор-2-((4-иод-2-фторфенил)амино)бензойной кислоты и трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата, отличающийся тем, что реакцию с образованием амидной связи между вышеуказанными веществами проводят в присутствии борной кислоты в среде ароматического углеводорода при температуре кипения с удалением воды из реакционной среды азеотропной отгонкой.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что борную кислоту используют в количестве, не превышающем 0,25 эквивалента относительно трет-бутил-(S)-2-(3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве ароматического углеводорода используют толуол.

4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что после образования амидной связи производят удаление защитной Вос-группы кипячением трет-бутил-(S)-2-(1-(3,4-дифтор)-2-(2-фтор-4-иодфенил)амино)бензоил)-3-гидроксиазетидин-3-ил)пиперидин-1-карбоксилата в концентрированном водном растворе хлорида натрия с получением основания кобиметиниба.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что полученное основание кобиметиниба вводят в реакцию с фумаровой кислотой с получением кобиметиниба гемифумарата.

