

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043173**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.04.27

(21) Номер заявки
202092356

(22) Дата подачи заявки
2020.10.31

(51) Int. Cl. **C07D 403/14** (2006.01)
C07B 61/00 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **СПОСОБ ЭНАНТИОМЕРНОГО ОБОГАЩЕНИЯ 3-[(1R)-1-(2,6-ДИХЛОР-3-ФТОРФЕНИЛ)ЭТОКСИ]-5-(1-ПИПЕРИДИН)-4-ИЛПИРАЗОЛ-4-ИЛ)ПИРИДИН-2-АМИНА**

(43) **2022.05.31**

(96) **2020000110 (RU) 2020.10.31**

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

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

(74) Представитель:
Москалев Е.А. (RU)

(56) EA-A1-200700352

QIAN Jian-Qiang и др. A novel approach for the synthesis of Crizotinib through the key chiral alcohol intermediate by asymmetric hydrogenation using highly active Ir-Spiro-PAP catalyst. *Tetrahedron Letters*, 2014, Vol. 55, No. 9, pp. 1528-1531 (1-6), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.01.053>, с. 3-4

CN-B-102532106

CN-A-105272966

CN-B-103664896

(57) Изобретение относится к химической технологии, а именно к способу энантиомерного обогащения 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиридин-2-амина (кризотиниба), противоопухолевого лекарственного средства из группы ингибиторов протеинтирозинкиназ. Техническим результатом является повышение энантиомерной чистоты смеси, содержащей (R)-кризотиниб до уровней энантиомерного избытка 99,7% и выше без использования органических растворителей. Способ энантиомерного обогащения кристаллического 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиридин-2-амина (кризотиниба) до энантиомерного избытка на уровне 99,7% и выше заключается в том, что сырьевой кризотиниб кристаллической формы А с меньшей энантиомерной чистотой подвергают седиментации в водном растворе неорганической соли калия с плотностью от 1,350 до 1,355 г/мл при температуре 20±1°C.

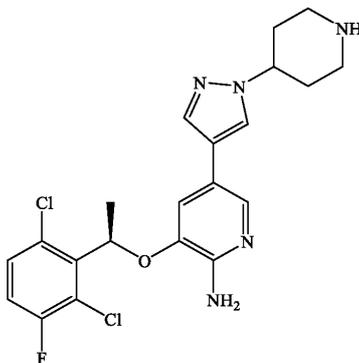
B1**043173****043173****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к химической технологии, а именно, к способу энантиомерного обогащения кристаллического 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиридин-2-амин (кризотиниба), противоопухолевого лекарственного средства из группы ингибиторов протеинтирозинкиназ.

Предшествующий уровень техники

Соединение 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиридин-2-амин (международное непатентованное название - кризотиниб, CAS 877399-52-5, PF-02341066) характеризуется следующей структурной формулой:



Брутто-формулой: $C_{21}H_{22}Cl_2FN_5O$

Молекулярной массой: 450,337.

Под торговым названием "Ксалкори" (Xalkori) известен лекарственный препарат на основе кризотиниба. Согласно инструкции по применению ЛП 001917-290816, препарат применяется при ALK-позитивном и ROS-1-позитивном распространенном немелкоклеточном раке легкого. Кризотиниб является селективным низкомолекулярным ингибитором рецепторов тирозинкиназы (RTK), в том числе, киназы анапластической лимфомы (ALK), ингибитором рецепторов фактора роста гепатоцитов (HGFR), представителей семейства RTK, ROS 1 и RON. Кризотиниб ингибирует фосфорилирование киназ ALK и с-Мет дозозависимым способом, что приводит к подавлению пролиферации клеток, связанной с остановкой клеточного роста в фазе G1-S, и индуцированию апоптоза.

Опираясь на литературные данные, можно выделить несколько подходов к получению кризотиниба, среди которых наиболее распространенным является кросс-сочетание арилгалогенидов с диоксоборолансодержащими соединениями. Прототипом настоящего изобретения является евразийский патент ЕА 013678 В1 (опубл. 30.06. 2010; МПК: C07D 241/20, C07D 401/12, C07D 401/14, C07D 403/04, C07D 403/14), в котором описаны способы получения группы соединений, включающих молекулу кризотиниба в энантиомерно чистой форме. В описании к патенту термины "оптически чистый", "энантиомерно чистый", "чистый энантиомер" и "оптически чистый энантиомер" определяются как композиция, которая содержит один энантиомер соединения и, по существу, не содержит противоположный энантиомер соединения. Типичное оптически чистое соединение содержит более чем примерно 80 мас.% одного энантиомера соединения и менее чем примерно 20 мас.% противоположного энантиомера соединения, более предпочтительно более чем примерно 90 мас.% одного энантиомера соединения и менее чем примерно 10 мас.% противоположного энантиомера соединения, еще более предпочтительно более чем примерно 95 мас.% одного энантиомера соединения и менее чем примерно 5 мас.% противоположного энантиомера соединения и наиболее предпочтительно более чем примерно 97 мас.% одного энантиомера соединения и менее чем примерно 3 мас.% противоположного энантиомера соединения. Таким образом, в патенте под группой соединений, включающих молекулу кризотиниба в энантиомерно чистой форме, подразумеваются вещества, содержащие примерно от 3 до 20% энантиомерной примеси.

В одном варианте возможного способа получения кризотиниба по указанному изобретению Вос-защищенный кризотиниб получали конденсацией 3-[(1R)-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксоборолан-2-ил)-пиридин-2-иламина и трет-бутилового эфира 4-(4-бромпиразол-1-ил)пиперидин-1-карбоновой кислоты, в которой катализатором выступал бис(трифенилфосфин)палладий(II) дихлорид, основанием - карбонат натрия (водный раствор). Полученный трет-бутиловый эфир 4-(4-{6-амино-5-[(1R)-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-пиразин-2-ил}пиразол-1-ил)-пиперидин-1-карбоновой кислоты очищали колоночной хроматографией. В другом варианте синтеза 3-[(1R)-2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1H-пиразол-4-ил)пиразин-2-иламин в безводном диметилформамиде смешивали с гидридом натрия (60% суспензия в минеральном масле) в инертной атмосфере, затем вводили в реакцию с трет-бутиловым эфиром 4-метансульфонилоксипиперидин-1-карбоновой кислоты при 90°C. После окончания реакции прибавляли в реакционную смесь воду и экстрагировали продукт этилацетатом. Вос-защищенный кризотиниб очищали методом препаративной колоночной хроматографии, используя смесь "ацетонитрил-вода" с добавлением уксусной кислоты. Далее, Вос-защищенный кризотиниб, полученный двумя разными методами, подвергали деблокированию действием хлористого

водорода в диоксане, а полученный продукт очищали хроматографически на обращенной фазе C18. В первом случае согласно общей методике 62 после очистки и лиофилизации получали кризотиниб в форме ацетата; его выход составил 78%, чистота по ВЭЖХ - 100%, а энантиомерный избыток - 96,4%. Во втором варианте синтеза согласно общей методике 66 патента выход ацетата кризотиниба составил 51%, а чистота по ВЭЖХ и энантиомерный избыток не были указаны. В то же время, в частных примерах также не указаны чистота по

ВЭЖХ и энантиомерные избытки для кризотиниба в форме свободного основания. Исходя из этого, нельзя рассчитывать на то, что полученное этим способом основание кризотиниба будет иметь такой же энантиомерный избыток или выше. Данное обстоятельство побудило авторов настоящего изобретения воспроизвести данный способ получения кризотиниба и перепроверить его энантиомерную чистоту.

Способы синтеза кризотиниба кросс-сочетанием арилгалогенидов с бороновыми эфирами описаны в патентах Китая CN 102532106 В (опубл. 03.12.2014, МПК: C07D 401/14, A61P 35/00), CN 105294657 В (опубл. 06.04.2018, МПК: C07D 401/14), патентных заявках CN 104693184 А (опубл. 10.05.2015, МПК: C07D 401/14), US 20060128724 А1 (опубл. 15.06.2006, МПК: A61K 31/496, A61K 31/4439, C07D 403/02). Очистку Вос-защищенного кризотиниба и кризотиниба без защитных групп проводили колоночной хроматографией на силикагеле.

Публикация J-Q. Qian и др. посвящена новому способу получения ключевого полупродукта для синтеза кризотиниба с высокой степенью энантиомерной чистоты и получению кризотиниба на его основе [J-Q. Qian, P-C. Yan, D-Q. Che, Q-L. Zhou, Y-Q. Li, A novel approach for the synthesis of Crizotinib through the key chiral alcohol intermediate by asymmetric hydrogenation using highly active Ir[(R)-DTB-SpiroPAP-3-Me catalyst, Tetrahedron Letters, 2014, 55 (9), 1528-1531, DOI: 10.1016/j.tetlet.2014.01.053]. (S)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этанол получали гидрированием соответствующего замещенного ацетофенона водородом под давлением около 10 атмосфер с использованием высокоэффективного и энантиоселективного катализатора Ir[(R)-DTB-SpiroPAP-3-Me] в присутствии трет-бутилата калия в среде этанола. Авторы статьи сообщают о том, что конверсия ацетофенона на стадии каталитического гидрирования составила 100%, а энантиомерный избыток полученного хирального спирта - 99,6%. Для оптимизации условий реакции было изучено влияние мольного соотношения катализатора и основания к субстрату, а также давления, температуры и времени проведения на выход и энантиомерную чистоту продукта. Почти во всех случаях конверсия была 100%, а энантиомерный избыток хирального спирта более 99,6%. Условия гидрирования оказались подходящими для масштабирования загрузки до 100 кг, а результаты были сопоставимы с лабораторными. По утверждению авторов кризотиниб получали, исходя из синтезированного вышеописанным способом энантиомерно чистого (S)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этанола, используя реакцию Сузуки между N,N-ди-Вос-(R)-5-бром-3-(1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси)пиридин-2-амином и трет-бутил-4-(4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксоборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил)пиперидин-1-карбоксилатом с последующим деблокированием аминогруппы действием HCl в этаноле. Выход полученного кризотиниба составил 85%, а энантиомерный избыток 99,5%. К сожалению, в указанной статье не были приведены методики синтеза и очистки химических соединений, описывающие конкретные средства и методы, при помощи которых могли быть осуществлены все перечисленные стадии синтеза кризотиниба. Результаты в виде величин выходов, энантиомерных избытков или числа оборотов катализатора (TON) носили декларативный характер. В статье также отсутствуют какие-либо спектральные или иные аналитические данные, подтверждающие химическую структуру и конфигурацию промежуточных соединений и конечного продукта. Также осталось неясным каким способом проводилось их выделение и очистка, в частности, каким образом удаляли из продукта использованный (очевидно гомогенный) иридиевый катализатор. Последний вопрос является весьма существенным, поскольку содержание тяжелых металлов в лекарствах строго нормируется требованиями фармакопеи.

Еще одним из вариантов получения кризотиниба является восстановление нитрогруппы трет-бутилового эфира 4-(4-{5-нитро-6-[(1R)-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]пиразин-2-ил}пиразол-1-ил)-пиперидин-1-карбоновой кислоты. В патентной заявке Китая № 105272966 А (опубл. 27.01.2016; МПК: C07D 401/14) на завершающей стадии проводили каталитическое гидрирование 4-(4-{5-нитро-6-[(1R)-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]пиразин-2-ил}пиразол-1-ил)-пиперидин-1-карбоновой кислоты водородом в присутствии Pd на активированном угле. Трет-бутиловый эфир 4-(4-{5-амино-6-[(1R)-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-пиразин-2-ил}пиразол-1-ил)-пиперидин-1-карбоновой кислоты подвергали обработке раствором трифторуксусной кислоты в хлористом метиле. После завершения реакции деблокирования полученную смесь подщелачивали водным раствором бикарбоната натрия, продукт экстрагировали этилацетатом. Завершающим этапом очистки выступала перекристаллизация из этанола. В патенте Китая № 106632263 В (опубл. 10.05.2017; МПК: C07D 401/14) защищенное производное кризотиниба получали восстановлением трет-бутилового эфира 4-(4-{5-нитро-6-[(1R)-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]пиразин-2-ил}пиразол-1-ил)-пиперидин-1-карбоновой кислоты действием порошка железа в присутствии безводной уксусной кислоты в этаноле при нагревании до 80°C. Деблокирование карбоксильной группы проводили концентрированной соляной кислотой при охлаждении в среде этанола. После завершения реакции и добавления гидроксида натрия выпадал осадок кризотиниба. Дополнительно фильтрат экстрагировали этилацетатом, органический растворитель удаляли в вакууме. Сырьевой кризотиниб очищали перекри-

сталлизацией из абсолютного этанола. Чистота по ВЭЖХ составила 98%, величина энантиомерного избытка не приведена.

Получение кризотиниба с энантиомерной чистотой более 99% описано в патенте Китая № 103319311 В (опубл. 30.09.2015, МПК: C07C 33/46, C07C 29/145, B01J 31/24), патентной заявке CN 103664896 А (опубл. 26.03.2014, МПК: C07D 401/14, C07D 207/16). Энантиомерная чистота кризотиниба, получаемого по указанным выше способам, должна, в основном, зависеть не от технологии синтеза, а от энантиомерной чистоты исходного сырья при условии, что дальнейшие превращения не вызывают значительной рацемизации хирального центра.

Таким образом, анализ литературных данных показал, что основными способами получения энантиомерно чистого кризотиниба является асимметрический синтез (S)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этанола и дальнейшее его превращение в кризотиниб либо использование других исходных соединений с определенной хиральностью. Для выделения/очистки синтезированного кризотиниба или его производных использовалась колоночная хроматография, перекристаллизация и экстракция. При этом использование лиофилизации органических растворов на заключительном этапе выделения или очистки сопряжено с тем, что в получаемом лиофилизате, как правило, сохраняются значительные уровни остаточных органических растворителей [DOI: 10.1016/j.xrphs.2018.04.001]. Колоночная хроматография трудно применима для промышленного производства, поскольку требует очень больших объемов органических растворителей. Из вышеперечисленных методов перекристаллизация представляется наиболее предпочтительной для промышленных производств, однако она также обладает рядом недостатков, проистекающих из необходимости использования органических растворителей. К этим недостаткам относятся потенциальная пожаро- и взрывоопасность, накладывающие ограничения на объем производственного помещения, конструкцию здания и его элементов, режим воздухообмена, требования к защите от статического электричества и т.д.; токсичность для организма человека и окружающей среды; необходимость соблюдать нормы по остаточному содержанию органических растворителей в активной фармацевтической субстанции и готовом лекарственном средстве, а также разрабатывать и применять методы их количественного определения; высокая вероятность образования сольватов; временное хранение, утилизация или регенерация отработанных растворителей.

Учитывая современные фармакопейные требования и требования ИСН к содержанию некачественных родственных примесей в фармацевтических субстанциях, содержание энантиомерной примеси должно быть ниже порогового значения 0,15%. При отсутствии прочих примесей указанное содержание противоположного энантиомера соответствует энантиомерному избытку 99,7%.

Энантиомерный избыток рассчитывают по формуле:

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

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

Поскольку получение кризотиниба с энантиомерным избытком на уровне 99,7% и выше из уровня техники неизвестно, задачей настоящего изобретения является разработка способа повышения энантиомерной чистоты кризотиниба до уровня ее 99,7% или выше, не зависящего от способа получения сырьевого кризотиниба и не требующего использования органических растворителей (что дает также дополнительные существенные преимущества экономического характера).

В настоящее время при разработке лекарственных средств хиральности уделяется большое внимание. Известно, что более 50% лекарств являются хиральными в виде рацематов или чистых энантиомеров. Поскольку целевой домен связывания рецептора обладает стереоспецифичностью, а метаболические пути, в значительной степени, стереоселективны, энантиомеры могут обладать не только разными аспектами биологической активности, но и различными фармакокинетическими параметрами. Соответственно, они могут проявлять разные терапевтические и побочные эффекты. [P. Liu, L. Zhao, J. Pol, et al. "Crizotinib-induced immunogenic cell death in non-small cell lung cancer". Nature Commun. 2019, 10, 1486. DOI: 10.1038/s41467-019-09415-3]. В настоящее время в качестве одобренного к применению лекарственного средства используются препараты на основе (R)-кризотиниба в форме безводного основания. Для него известна только одна кристаллическая форма А. (R)-кризотиниб селективно ингибирует тирозинкиназы ALK, c-Met, ROS1, при наномолярных концентрациях блокирует фосфорилирование тирозина в мутированных клетках. В то же время (S)-кризотиниб проявляет высокую активность в отношении ряда других ферментов, в частности, МТН1 из суперсемейства фосфогидролаз. [X. Dai, G. Guo, P. Zou, et al. "(S)-crizotinib induces apoptosis in human non-small cell lung cancer cells by activating ROS independent of MTH1", Dai et al. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2017, 36, 120]. В работе [F. Fan, H. Yuan, Y. Feng et al. "Molecular Simulation Approaches for the Prediction of Unknown Crystal Structures and Solubilities of (R)- and (R,S)-Crizotinib in Organic Solvents", Cryst. Growth Des. 2019, 19, 5882-5895, DOI: 10.1021/acs.cgd.9b00886] приведены экспериментальные и расчетные данные по растворимости и плотности кристаллов (R)-кризотиниба и (R,S)-кризотиниба. Так, для (R)-кризотиниба предсказанная плотность кристаллов составила 1,3791 г×см⁻³, экспериментальная - 1,3336 г×см⁻³. Для (R,S)-кризотиниба рассчитанная плотность кристаллов составила 1,4384 г×см⁻³, экспериментальная - 1,3699 г×см⁻³. В работе

приведена также температура плавления для (R)-кризотиниба и рацемата, которая составила 475,16 К и 464,57 К, соответственно.

Раскрытие сущности изобретения

Изобретение относится к способу энантиомерного обогащения 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиридин-2-амина (международное непатентованное название - кризотиниб).

Техническим результатом настоящего изобретения является повышение энантиомерной чистоты смеси, содержащей (R)-кризотиниб до уровней энантиомерного избытка 99,7% и выше без использования органических растворителей. Указанный технический результат можно рассматривать как важное техническое достижение, поскольку эффективность предлагаемого способа существенно превосходит известные из уровня техники способы получения энантиомерно чистого кризотиниба.

В поиске технологии, позволяющей получать кризотиниб в наиболее чистом виде, авторами изобретения был проведен синтез данного вещества двумя способами. Согласно первому способу кризотиниб был получен с использованием реакции Кумады, заключающейся во взаимодействии N,N-ди-(трет-бутоксикарбонил)-(R)-5-бром-3-(1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси)-пиридин-2-амина с реагентом Гриньяра, полученным *in situ* из трет-бутил-4-(4-иод-1H-пиразол-1-ил)-пиперидин-1-карбоксилата (1-Вос-4-(4-иод-1H-пиразол-1-ил)-пиперидина). В качестве катализатора кросс-сочетания применялся [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]никеля(II) дихлорид. Очистка конечного продукта проводилась кристаллизацией из этанола (см. пример 1). В полученном образце кризотиниба наблюдалось некоторое количество примеси (S)-изомера (энантиомерный избыток 99,08% ee) (см. пример 1).

Авторами был также воспроизведен синтез кризотиниба известным способом согласно описанию к евразийскому патенту № 013678 В1 (см. пример 2). Кризотиниб был получен взаимодействием трет-бутилового эфира 4-(4-бромпиразол-1-ил)пиперидин-1-карбоновой кислоты и 3-[(1R)-2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]диоксборолан-2-ил)-пиридин-2-ил амина с использованием дихлорбис(трифенилфосфин)палладия в качестве катализатора. Удаление защитной Вос-группы проводили 4N раствором HCl в диоксане. Очистка конечного соединения осуществлялась препаративной хроматографией на колонке, заполненной обращеннофазовым сорбентом (силикагель С18). Для образца кризотиниба, полученного данным способом, энантиомерный избыток составил 96,73%, что несколько ниже уровня фармакопейных требований.

При исследовании возможностей очистки полученных продуктов авторами изобретения был неожиданно обнаружен способ энантиомерного обогащения кризотиниба путем седиментации в водно-солевой среде. Авторы обратили внимание, что суспендирование кризотиниба-сырца в водно-солевом растворе достаточно высокой плотности приводит к тому, что основная масса вещества распределяется в верхней трети объема, в то время как небольшая часть опускается на дно. Удаление этого придонного осадка при помощи делительной воронки неожиданно позволило увеличить энантиомерную чистоту оставшегося кризотиниба.

Исходя из физического смысла показателя энантиомерного избытка, вещество с ee 99,7% можно рассматривать как композицию, состоящую из 99,7% (R)-кризотиниба и 0,3% (R,S)-кризотиниба. Такое представление наилучшим образом подводит к пониманию сущности способа по настоящему изобретению, который позволяет удалять кристаллы (R,S)-кризотиниба до остаточного уровня не выше 0,3%.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения измельченный и просеянный сырец кризотиниба помещали в делительную воронку цилиндрической формы, заполненную раствором неорганической соли с заданной плотностью. За счет различия в кристаллической плотности кристаллы с наименьшей плотностью, как правило, чистого энантиомера, оставались в верхней трети объема, в то время как небольшое количество более тяжелых кристаллов оседало. Для экспериментов по энантиомерному обогащению был использован как коммерчески доступный кризотиниб, так и кризотиниб, синтезированный по примерам 1 и 2. В качестве среды для разделения могут быть использованы любые водно-солевые растворы подходящей плотности. В частности, авторами изобретения были удачно использованы для этой цели 38%-й раствор бромида калия, 40%-й раствор дигидрофосфата натрия и 35%-й раствор карбоната калия. Все опыты по энантиомерному обогащению сырьевого кризотиниба проводились при комнатной температуре. Для указанных выше концентраций водно-солевых растворов предпочтительная температура составляла $20 \pm 1^\circ\text{C}$. При использовании более низких ($15 \pm 1^\circ\text{C}$) или высоких ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) температур водно-солевые растворы указанных концентраций не позволяли достичь разделения кристаллов рацемического кризотиниба от кристаллов (R)-кризотиниба.

Содержание энантиомеров определяли, используя метод ВЭЖХ на обращенной хиральной фазе. Наилучший результат достигался при использовании бромида калия в качестве среды для разделения (см. примеры 3, 4, 5, 6). Разделение происходило быстрее по времени и эффективнее по чистоте энантиомера. Энантиомерный избыток составил более 99,70% для каждого варианта. Использование дигидрофосфата натрия приводило к увеличению времени седиментации (см. пример 7). В этом случае энантиомерный избыток был 99,74%. При использовании водного раствора карбоната калия наблюдалось образование некоторого количества пены, что усложняло разделение кристаллов (см. пример 8) (энантиомерный избыток составил 99,60%).

Еще одним неожиданным эффектом, обнаруженным авторами изобретения при исследовании седиментационного обогащения сырьевого кризотиниба, оказалось влияние формы сосуда на скорость осаждения кристаллов рацемата. При использовании делительной воронки цилиндрической формы (в вертикальном положении) седиментация происходила примерно в 1,2-1,5 раза быстрее, чем при использовании делительной воронки конической формы (в вертикальном положении). Данное наблюдение особенно удивительно с учетом известного явления ускорения седиментации в сосудах с наклонными стенками по сравнению с сосудах с вертикальными стенками (эффект Бойкотта) [A.E. Boycott, "Sedimentation of blood corpuscles" Nature, 1920, 104, 532].

Перечень чертежей

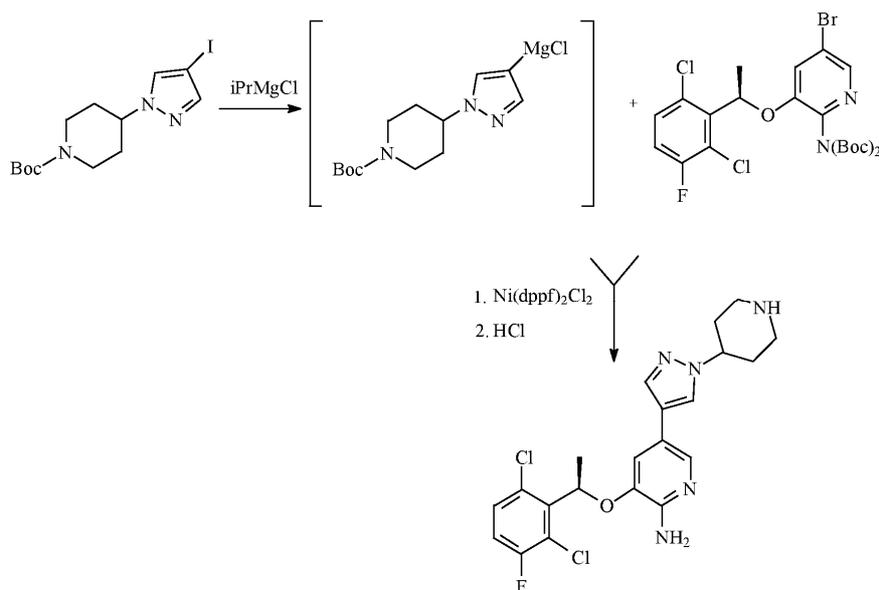
Для пояснения сущности заявляемого технического решения к описанию приложен чертеж, на котором представлен ^1H ЯМР спектр кризотиниба, полученного по примеру 1. Спектр зарегистрирован на частоте 400 МГц в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMCO-d_6).

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

Для подтверждения структуры полученного вещества использовали спектры ^1H ЯМР, зарегистрированные в насыщенном растворе в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMCO-d_6) на ЯМР-спектрометре Bruker AVANCE 400 на рабочих частотах 400 МГц. Содержание энантимеров регистрировали хиральной ВЭЖХ на колонке ChiralPak AD-H (250×4.6 мм, 5 мкм) на приборе Agilent 1200 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Во всех случаях сырьевой кризотиниб измельчали и просеивали на плоских ситах с ячейками квадратной формы со стороной не более 0,2 мм для того, чтобы не допустить слипания кристаллов разных типов друг с другом.

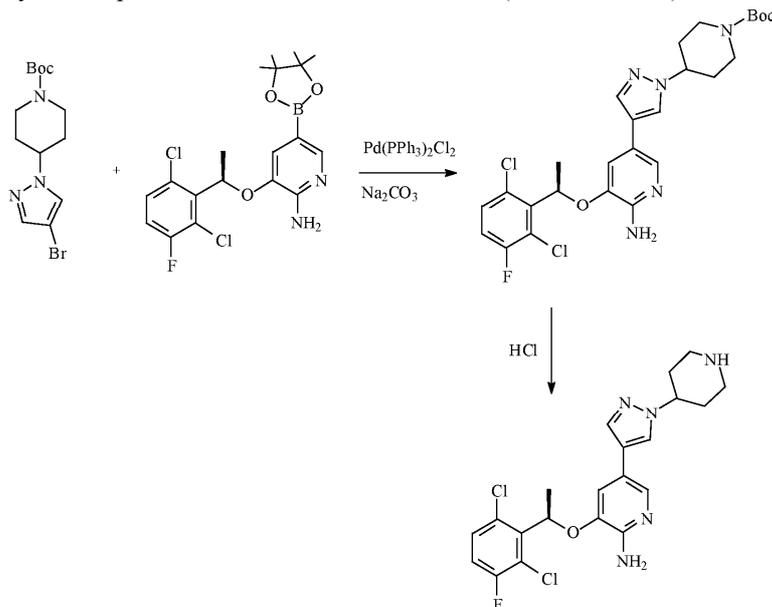
Возможность осуществления заявленной группы изобретений иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается только ими.

Пример 1. Получение 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиперидин-2-амина.



1-Вос-4-(4-иод-1Н-пиразол-1-ил)-пиперидин (2,0 г; 5,3 ммоль) в 15 мл тетрагидрофурана смешали с 5,3 мл 2 М раствора изопропилмагния хлорида в тетрагидрофуране при температуре около 0°C и продолжали перемешивание в течение 4-5 ч. Конверсию исходного вещества отслеживали хроматографически. По окончании реакции загрузили N,N -ди-Вос-(R)-5-бром-3-(1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси)пиридин-2-амин (3,37 г; 5,8 ммоль) и [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]никеля(II) дихлорид (0,14 г; 0,2 ммоль) при нагревании до 30°C , после чего оставили перемешиваться при этой температуре в течение 12 ч. Реакционную массу вылили в 150 мл охлажденной очищенной воды и перемешивали образовавшуюся суспензию в течение 1 часа. Выделившийся осадок отфильтровали на пористом фильтре Шотта, промыли 3×100 мл очищенной воды, затем 3×100 мл 95% этанола. Твердый продукт высушили под вакуумом до постоянной массы. К полученному ди-Вос-защищенному кризотинибу, суспендированному в 50 мл воды, прибавили по каплям 5 мл 36%-го раствора соляной кислоты и перемешивали в течение 30 мин. Реакционную массу нейтрализовали 7 мл 10%-ого раствора гидроксида натрия при перемешивании. Выпавший осадок отфильтровали на пористом фильтре Шотта, промыли 2×100 мл водой и высушили в вакууме. Сырьевой кризотиниб перекристаллизовали из 95%-го этанола и высушили под вакуумом до постоянной массы. Получили 1,52 г кризотиниба в виде мелкокристаллического порошка почти белого цвета. Выход - 64% (99,08% ee). Структура полученного вещества была подтверждена данными ^1H ЯМР (чертеж). Представленный спектр соответствует молекулярной структуре кризотиниба.

Пример 2. Получение кризотиниба известным способом (ЕА 013678 В1).



Вос-защищенный кризотиниб получали согласно общей методике 62, описанной в патенте ЕА 013678 В1. К 10,0 г 1-Вос-4-(4-{6-амино-5-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]пиридин-3-ил}-пиразол-1-ил)-пиперидина в 100 мл метанола добавили 50 мл 4N HCl в диоксане. Раствор перемешивали в течение 12 ч, вылили в 300 мл 5%-го раствора гидроксида натрия. Выпавший осадок отфильтровали под вакуумом и растворили в метаноле. Очистку проводили методом препаративной хроматографии на установке BioTage, используя колонку, заполненную обращеннофазовым сорбентом C18. В качестве элюентов использовали смесь ацетонитрил/вода с добавлением 0,1% уксусной кислоты. Получили 7,51 г кризотиниба в виде мелкокристаллического порошка почти белого цвета (выход 75%, 96,73% ee). Спектр ^1H ЯМР полученного вещества совпадает со спектром вещества, синтезированного по примеру 1, и представленного на чертеже.

Пример 3. Энантиомерное обогащение коммерчески доступного кризотиниба (91,8% ee) с помощью раствора бромида калия.

В цилиндрическую делительную воронку объемом 600 мл налили 400 мл раствора бромида калия с массовой долей соли 38%, плотностью 1,351 г/мл при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$. При перемешивании загрузили кристаллический кризотиниб (10,0 г, 91,8% ee) производства Hubei XinRunde Chemical Co., Китай. Полученную суспензию перемешивали в течение 5 ч и оставили отстаиваться в делительной воронке на 10 ч. Придонный осадок удалили вместе с нижней четвертью объема жидкости через кран делительной воронки. Оставшуюся суспензию отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3) и высушили в вакууме до постоянной массы. Получили 9,40 г (R)-кризотиниба (99,75% ee) в виде порошка почти белого цвета.

Пример 4. Энантиомерное обогащение коммерчески доступного кризотиниба (89,4% ee) с помощью раствора бромида калия.

В коническую делительную воронку объемом 600 мл налили 400 мл раствора бромида калия с массовой долей соли 38%, плотностью 1,351 г/мл при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$. При перемешивании загрузили кристаллический кризотиниб (10,0 г, 89,4% ee) производства Jinan Boss Chemical Industry Co., Китай. Полученную суспензию перемешивали в течение 5 ч и оставили в делительной воронке на 14 ч. Придонный осадок удалили вместе с нижней четвертью объема жидкости через кран делительной воронки. Оставшуюся суспензию отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой очищенной и высушили в вакууме до постоянной массы. Получили 9,37 г (R)-кризотиниба (99,81% ee) в виде порошка почти белого цвета.

Пример 5. Энантиомерное обогащение полученного по примеру 2 кризотиниба (96,73% ee) с помощью раствора бромида калия.

В цилиндрическую делительную воронку объемом 600 мл налили 400 мл раствора бромида калия с массовой долей соли 38%, плотностью 1,351 г/мл при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$. При перемешивании загрузили кристаллический кризотиниб (10,0 г), полученный по примеру 2. Полученную суспензию встряхивали на платформе орбитального шейкера в течение 5 ч и оставили отстаиваться в делительной воронке на 7 ч. Придонный осадок удалили вместе с нижней четвертью объема жидкости через кран делительной воронки. Оставшуюся суспензию отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой очищенной и высушили в вакууме до постоянной массы. Получили 9,89 г (99,71% ee).

Пример 6. Энантиомерное обогащение полученного по примеру 2 кризотиниба (96,73% ee) с помощью раствора бромида калия.

Очистку кризотиниба проводили аналогично способу из примера 3, используя в качестве сырья кристаллический кризотиниб (10,0 г), полученный по примеру 2. Получили 9,87 г (99,80% ee).

Пример 7. Энантиомерное обогащение коммерчески доступного кризотиниба (89,4% ee) с помощью раствора дигидрофосфата натрия.

В коническую делительную воронку объемом 600 мл налили 400 мл раствора дигидрофосфата натрия с массовой долей соли 40% и плотностью 1,350 г/мл при температуре $20\pm 1^\circ\text{C}$. При перемешивании загрузили кристаллический кризотиниб (10,0 г, 89,4% ee) производства Jinan Boss Chemical Industry Co., Китай. Полученную суспензию перемешивали в течение 5 ч. Смесь оставили в делительной воронке на 24 ч. Придонный осадок удалили вместе с нижней четвертью объема жидкости через кран делительной воронки. Оставшуюся суспензию отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой очищенной и высушили в вакууме до постоянной массы. Получили 9,86 г (R)-кризотиниба (99,74% ee) в виде порошка почти белого цвета.

Пример 8. Энантиомерное обогащение коммерчески доступного кризотиниба (89,4% ee) с помощью раствора карбоната калия.

В коническую делительную воронку объемом 600 мл налили 400 мл раствора карбоната калия с массовой долей соли 35%, плотностью 1,355 г/мл при температуре $20\pm 1^\circ\text{C}$. При перемешивании добавили кристаллический кризотиниб (10,0 г, 89,4% ee) производства Jinan Boss Chemical Industry Co., Китай. Полученную суспензию встряхивали на платформе орбитального шейкера в течение 5 ч. Смесь оставили в делительной воронке на 20 ч. Придонный осадок удалили вместе с нижней четвертью объема жидкости. Оставшуюся суспензию отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли водой очищенной и высушили в вакууме до постоянной массы. Получили 9,76 г (R)-кризотиниба (99,60% ee) в виде порошка почти белого цвета.

Пример 9. Определение хиральной чистоты образцов кризотиниба.

Для образцов кризотиниба 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), снабженным диодно-матричным детектором с переменной длиной волны, на колонке ChiralPak AD-H (250×4,6 мм, 5 мкм).

Значения энантиомерного избытка для образцов кризотиниба по примерам 1-8

Кризотиниб по примеру	Энантиомерный избыток, %
1	99,08
2	96,73
3	99,75
4	99,81
5	99,71
6	99,80
7	99,74
8	99,60

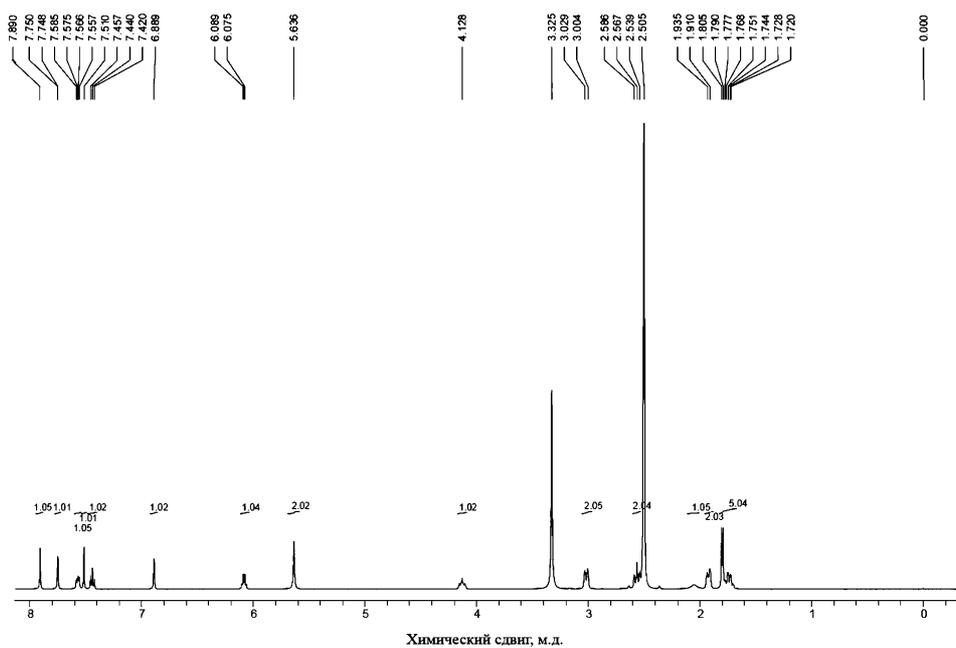
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ повышения энантиомерной чистоты кристаллической формы А 3-[(1R)-1-(2,6-дихлор-3-фторфенил)этокси]-5-(1-пиперидин-4-илпиразол-4-ил)пиридин-2-амин (кризотиниба) до уровня энантиомерного избытка не менее 99,7%, отличающийся тем, что сырьевой кризотиниб кристаллической формы А с меньшей энантиомерной чистотой подвергают седиментации в водном растворе неорганической соли калия с плотностью от 1,350 до 1,355 г/мл при температуре $20\pm 1^\circ\text{C}$.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что седиментацию проводят в водном растворе бромида калия.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что седиментацию проводят в сосуде с вертикальными стенками.

043173



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2