



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **18156** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
**C07H 19/06** (2006.01)  
**A61K 31/17**  
**A61P 31/12** (2006.01)  
**C07H 19/16** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ПРИГОТУВАННЯ І ОЧИЩЕННЯ ГЕМЦИТАБІН-ГІДРОХЛОРИДУ

1

2

(21) u200608611

(22) 31.07.2006

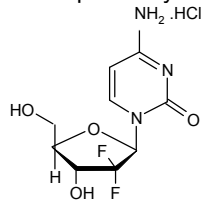
(24) 16.10.2006

(46) 16.10.2006, Бюл. № 10, 2006 р.

(72) Раджу П. В., IN

(73) ДР. РЕДДІ'С ЛАБОРАТОРІС ЛІМІТЕД, IN

(57) 1. Спосіб поліпшення складу (кількості)  $\beta$ -аномера сполуки за формулою I



який включає операції, при яких:

забезпечують розчинення вказаної сполуки в розчиннику, що складається, в основному, з води; підвищують концентрацію вказаної сполуки в даному розчині для ініціації процесу осадження; виділяють вказану сполуку в чистому вигляді, поліпшену в частині  $\beta$ -аномера.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що при здійсненні операції підвищення концентрації видаляють частину розчинника.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що відношення розчинника до початкової сполуки змінюють від 3:1 до 12:1.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що початковий розчин обробляють активованим вугіллям.

5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що операцію підвищення концентрації продовжують, поки відношення розчинника до початкової сполуки не стане нижче 3:1.

6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що сполуку, поліпшену в частині  $\beta$ -аномера, виділяють при температурі приблизно від 0 °C до 10 °C.

7. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що сполука, поліпшена в частині  $\beta$ -аномера, містить не менше 99,7 % даного  $\beta$ -аномера за результатами вимірювання методом рідинної хроматографії високого тиску (розрізняння) (HPLC).

8. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що сполука, поліпшена в частині  $\beta$ -аномера, містить не менше 99,9% даного  $\beta$ -аномера за результатами вимірювання методом рідинної хроматографії високого тиску (розрізняння) (HPLC).

9. Спосіб приготування Гемцитабін-гідрохлориду за п. 1, який **відрізняється** тим, що включає операцію, при якій здійснюють реакцію 2-дезоксидифторо-1-оксорибози по формулі VB з t-бутилдифенілсиліл-хлоридом для формування 3,5-біс(t-бутилдифенілсилокси)-2-дезоксидифторорибози по формулі VIB.

10. Спосіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що 2-дезоксидифторо-1-оксорибозу по формулі VB готують за допомогою проведення реакції етил-2,2-дифторо-3-окси(гідрокси)-3-(2,2-диметилдіоксалан-4-іл)пропionату з іодидом в низькому спирту з подальшою азеотропною дистillaцією.

11. Спосіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що він додатково містить операцію, при якій забезпечують захист гідроксильної групи в 3,5-біс(t-бутилдифенілсилокси)-2-дезоксидифторорибозі по формулі VIB для отримання 3,5-біс(третинний бутилдифенілсилокси)-1-метансульфонілокси-2-деокси-2,2-дифторорибози по формулі VIIВ шляхом використання метансульфонілхлориду.

12. Спосіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що він додатково містить операцію, при якій забезпечують конденсацію 3,5-біс(третинний бутилдифенілсилокси)-1-метансульфонілокси-2-деокси-2,2-дифторорибози по формулі VIIВ із сполукою дислілу по формулі VIII для отримання 1-[2'-деокси-2,2'-дифторо-3',5'-рибофураноза-3,5-біс(третинний бутил-дифенілсилокси)-n-ацетилцитозину по формулі IX.

13. Спосіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що він додатково містить операцію, при якій забезпечують конверсію 1-[2'-деокси-2',2'-дифторо-3',5'-рибофураноза-3,5-біс(третинний бутилдифенілсилокси)-n-ацетилцитозину по формулі IX в Гемцитабін-гідрохлорид по формулі I.

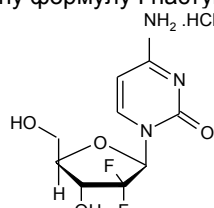
(13) **U**

(11) **18156**

(19) **UA**

Дана корисна модель відноситься до процесу покращення аномерного складу гемцитабін-гідрохлориду.

Гемцитабін-гідрохлорид відомий як хімічне з'єднання під назвою 2-деокси-2, 2-дифтороцитидин-моногідрохлорид ( $\beta$ -аномер) (далі по тексту - гемцитабін-гідрохлорид) і має структурну формулу I наступного вигляду:



Формула I

Гемцитабін-гідрохлорид є нуклеозидним аналогом, що проявляє протипухлинну активність, і відомий на ринку під брендовим найменуванням GEMZAR® у вигляді ін'єкційного розчину. Амбула Gemzar містить еквівалент гемцитабін-гідрохлориду в кількості до 200мг або 1г безоснов-

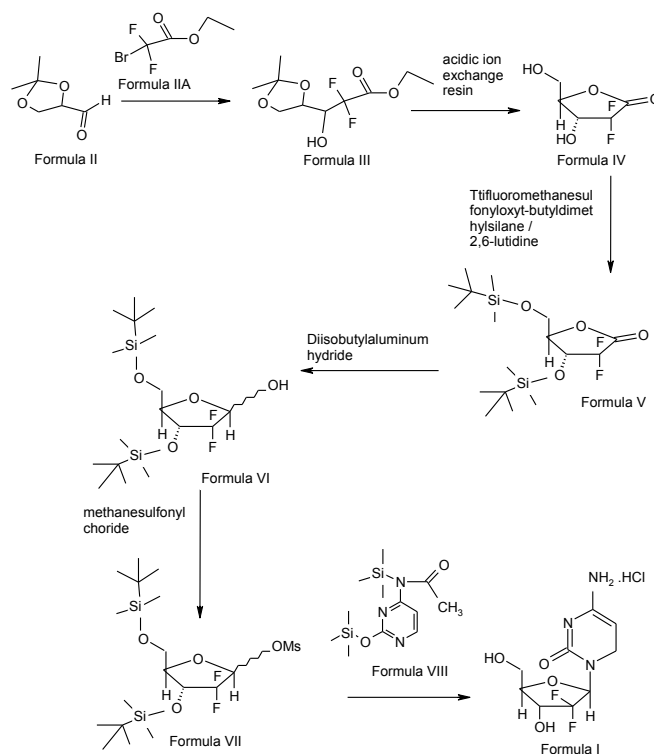
ної речовини (freebase).

З рівня техніки добре відомі способи збільшення кількості  $\beta$ -аномера. Наприклад, патент США №5,945,547 розкриває спосіб очищення гемцитабін-гідрохлориду відносно специфіки його аномерної чистоти.

Спосіб включає операції розчинення із співвідношенням 1:1  $\alpha/\beta$  аномерної сполуки в гарячій воді/ацетоні при зворотному стоці і охолодження розчину від -10 до 50°C для осадження необхідного продукту. Гемцитабін-гідрохлорид, що випав в осадок збирається і підлягає подальшим технологічним операціям повторення вказаного вище процесу для отримання гемцитабін-гідрохлориду з чистотою, приблизно, 99%.

Спосіб виробництва гемцитабіна також добре відомий з рівня техніки. Наприклад, патент США №4,808,614 описує спосіб приготування гемцитабін-гідрохлориду по приведеній нижче схемі 1.

Схема 1:

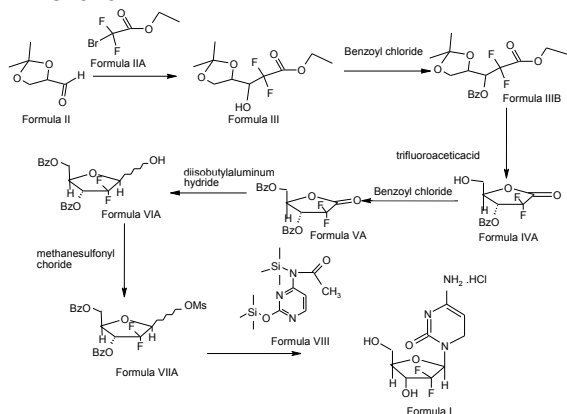


В описі способу згідно з патентом США №4,808,614 розкрито використання реактивів гідролізу, наприклад, слабо кислотних іонообмінних смол (слабо кислотних іонітів), для здійснення процесу перетворення (конверсії) сполуки по формулі III у сполуку по формулі IV.

Крім того, патент США №5,223,608 розкриває

спосіб одержання гемцитабін-гідрохлориду шляхом використання таких реагентів гідролізу, як сильні кислоти, для приготування 2-деокси-2, 2-дифторо-D-еритро-пентофураноза-1-улоз-3, 5-дифензоата по формулі VA. Процес представлено на схемі II.

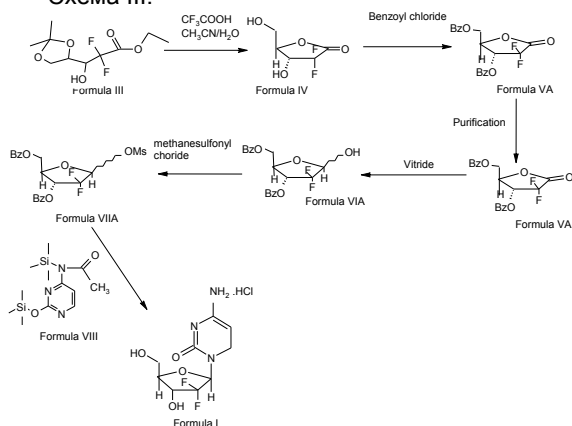
Схема II:



Заявка РСТ, № публікації 2005/095430 А1, розкриває спосіб одержання гемцитабін-гідрохлориду. У вказаній заявці описано використання реагентів гідролізу, подібних сильним кислотам, для приготування 2-деокси-2, 2-дифторо-D-еритро-пентофураноза-1-улоз-3, 5-дibenzoата по формулі VA. Крім того, в заявці описаний процес очищення сполуки по формулі VA. Дана заявка також розкриває спосіб очищення гемцитабін-гідрохлориду шляхом розчинення 95% поліпшеного  $\beta$ -аномера гемцитабін-гідрохлориду у воді, який виділено (отримано в чистому вигляді) шляхом використання розчинників, подібних ізопропіловому спирту, ацетонітрилу або ацетону.

Процес показано на схемі III.

Схема III:



Описані способи відображають основні напрямки в розвитку технології приготування гемцитабін-гідрохлориду. При здійсненні даних способів використані слабо кислотні іонообмінні смоли і сильні кислоти як засоби гідролізу в процесі формування незахищеного і захищеного лактону. Обидва засоби гідролізу страждають недоліком, який полягає у виникненні проблем при формуванні лактонового кільця. При цьому існує небезпека утворення небажаних продуктів реакції, які можуть зіграти роль забруднюючих речовин, що часто приводить до повернення лактону в стан його прекурсорів з відкритим ланцюгом через його (лактону) чутливість до дії сильних кислот і смол.

Продовжує існувати насущна необхідність у вдосконаленні технологій одержання продукту заданої аномерної чистоти і приготування гемцитабін-гідрохлориду.

Дана корисна модель направлена на створен-

ня способу приготування гемцитабін-гідрохлориду, поліпшеного в частині його  $\beta$ -аномера. Крім того, дана корисна модель направлена на створення ефективного продуктивного способу приготування гемцитабін-гідрохлориду і його проміжних речовин необхідної чистоти. Спосіб за даною корисною моделлю відрізняється простотою, екологічністю, економічністю, надійністю і технологічністю.

Таким чином, створений спосіб приготування гемцитабін-гідрохлориду, поліпшеного в частині його  $\beta$ -аномера, що включає операції, при яких:

а) забезпечують розчин гемцитабін-гідрохлориду в розчиннику, який складається, в основному, з води;

б) підвищують концентрацію гемцитабін-гідрохлориду в даному розчині для ініціації процесу осадження;

с) виділяють в чистому вигляді вказану сполуку, поліпшену в згаданій її частині  $\beta$ -аномера;

В іншому аспекті дана корисна модель відноситься до способу приготування гемцитабін-гідрохлориду і його проміжних речовин.

В одному з прикладів здійснення способу приготування гемцитабін-гідрохлориду по формулі I включає операції, при яких виконують:

i. конверсію сполуки по формулі III в сполуку по формулі IV, використовуючи реагенти дециклізації, у присутності відповідного органічного розчинника з подальшою азеотропною дистиляцією;

ii. захист оксигруп сполуки по формулі IV, використовуючи відповідні окси-захисні реагенти, у присутності відповідного органічного розчинника при заданій температурі, з метою забезпечення сполуки по формулі VB;

iii. відновлення речовини по формулі VB, використовуючи відповідний відновлюючий реагент, у присутності відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення сполуки по формулі VIB;

iv. захист сполуки по формулі VIB, використовуючи алкіл-або арил-сульфоніл-хлориди, у присутності відповідної основи і відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення сполуки по формулі VIIB;

v. конденсацію сполуки по формулі VIIB із сполукою по формулі VIII у присутності відповідного органічного розчинника і відповідних основ, з метою забезпечення сполуки по формулі IX; і

vi. зняття захисту зі сполуки по формулі IX, використовуючи відповідний реагент, з подальшим проведенням реакції з хлористоводородною (солянкою) кислотою у присутності відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення гемцитабін-гідрохлориду по формулі I.

Ще один аспект даної корисної моделі забезпечує одержання кристалічного гемцитабін-гідрохлориду, відмінного системою ліній порошкової дифракції рентгенівського проміння («XRPD»), графіком диференціальної скануючої калориметрії («DSC») та/або спектром поглинання інфрачервоного випромінювання («IR»).

Ще один аспект даної корисної моделі забезпечує одержання гемцитабін-гідрохлориду, в основному, вільного від залишкових розчинників.

Фіг. 1 - система ліній порошкової дифракції рентгенівського випромінювання, що відноситься до гемцитабін-гідрохлориду, приготованого по техно-

логії, описаній в прикладі 8.

Фіг.2 - диференціальна скануюча калориметрія зразка гемцитабін-гідрохлориду, приготованого по технології, описаній в прикладі 8.

Фіг.3 - інфрачервоний спектр зразка гемцитабін-гідрохлориду, приготованого по технології, описаній в прикладі 8.

Фіг.4 - термогравіметрична графічна характеристика зразка гемцитабін-гідрохлориду, приготованого по технології, описаній в прикладі 8.

Фіг.5 - рідинна хроматографія високого тиску (розрізнення) зразка гемцитабін-гідрохлориду, приготованого по технології, описаній в прикладі 8.

В способі по [патенту США №5,945,547] використовують ацетон/воду. Винахідники із здивуванням відкрили, що використання води без ацетону веде до забезпечення більш високої аномерної чистоти.

Таким чином, дана корисна модель забезпечує спосіб очищення гемцитабін-гідрохлориду, з метою отримання гемцитабін-гідрохлориду, поліпшеного в частині його  $\beta$ -аномера.

В одному з прикладів здійснення даної корисної моделі, спосіб очищення гемцитабін-гідрохлориду, поліпшеного в частині його  $\beta$ -аномера, включає операції, при яких:

а) забезпечують розчин гемцитабін-гідрохлориду в розчиннику, що складається, в основному, з води;

б) підвищують концентрацію гемцитабін-гідрохлориду в даному розчині для ініціації процесу осадження;

с) виділяють в чистому вигляді вказану сполуку, поліпшену в згаданій її частині  $\beta$ -аномера;

Операція а) включає забезпечення розчину гемцитабін-гідрохлориду в розчиннику, що складається, в основному, з води.

Розчин гемцитабін-гідрохлориду може бути отриманий шляхом розчинення гемцитабін-гідрохлориду у воді. Прийнятна будь-яка форма гемцитабін-гідрохлориду для утворення такого розчину, наприклад будь-яка кристалічна або аморфна форма гемцитабін-гідрохлориду.

Гемцитабін-гідрохлорид може бути приготований для використання в операції забезпечення розчину по будь-якому із способів, відомих з рівня техніки, або відповідно до згаданих вище технологій.

Концентрація аномерної сольової суміші у воді не є критичною до тих пір, поки використовується така кількість води, якої достатньо для забезпечення повного розчинення. Кількість вживаної води зберігається невеликою, щоб уникнути надмірної втрати продукту під час кристалізації і виділення продукту в чистому вигляді. Кількість води, використаної для виділення бета-аномера, складає, приблизно, від 3-до12-кратної вагової/об'ємної кількості гемцитабін-гідрохлориду.

Розчин може бути приготований при температурі, приблизно, від 25°C до 100°C. Залежно від кількості узятого розчинника, процес розчинення може відбуватися при температурах від 25°C до 100°C. В деяких випадках для здійснення процесу розчинення необхідний підігрів, і розчинення може відбуватися при температурах від 50°C до 100°C.

Як альтернатива, розчин може бути обробле-

ний активованим вугіллям, з метою посилення інтенсивності кольору сполуки, з подальшою фільтрацією через яке-небудь середовище, наприклад, через прожарений розжареним потоком шар діатомової землі (Hyflow) для видалення вуглецю.

Переважає кількість активованого вугілля, використаного при виділенні бета-аномера з поліпшеним кольором, складає, приблизно, від 0,1 до 10 (вага/вага) активованого вугілля на 1 грам аномерної  $\alpha/\beta$ -суміші.

Обробка вуглицем може здійснюватися або при температурі розчинення, або після охолодження розчину до більш низької температури.

Як альтернатива, розчин може бути відфільтрований шляхом проходження через папір, скловолокно або інший мембранний матеріал, або крізь освітлюючий засіб, наприклад, целіт.

Залежно від використовуваного устаткування, концентрації і температури розчину, пристрій фільтрації може вимагати попереднього підігріву, щоб уникнути передчасної кристалізації.

Концентрація розчину може складати, приблизно, від 1г/мл до 20г/мл розчинника, або може коливатися від 1g/ml до 5g/ml.

Операція б) включає підвищення концентрації гемцитабін-гідрохлориду у вказаному розчині, з метою ініціації осадження згаданого  $\beta$ -аномера.

Операція концентрації може виконуватися відповідним методом випаровування, методом дистиляції в атмосфері або у вакуумі.

Дистиляція розчинника може проводитися у вакуумі від 100мм ртутного стовпа до 600мм ртутного стовпа при температурі, приблизно, від 40°C до 70°C. Поки концентрація відбувається без зростання рівнів домішок, може бути використана будь-яка температура і будь-які умови вакууму.

Концентрація розчину може відбуватися до тих пір, поки не почнеться осадження гемцитабін-гідрохлориду з розчину, що перетворює розчин на шлам. В основному, процес концентрації припиняється, коли відношення розчинника до гемцитабін-гідрохлориду досягне значення від 1:1 до 1:5.

Далі реактивна маса може утримуватися при температурі, нижчій за температуру, при якій здійснюється концентрація, наприклад, нижче за проміжок температур, приблизно, від 40°C до 45°C протягом періоду часу, який потрібний для більш повного виділення продукту. Точна температура охолодження і тривалість часу, необхідні для повної кристалізації, можуть бути легко визначені кваліфікованим фахівцем в даній області техніки і будуть також залежати від таких параметрів, як вид концентрації і температура розчину або шлам.

Операція с) включає виділення  $\beta$ -аномера.

Виділення твердої фракції може здійснюватися з використанням звичайних технологій, наприклад, шляхом фільтрації, декантування, центрифугування і іншими подібними методами або шляхом фільтрування в атмосфері інертних газів з використанням таких газів, як азот і інші інертні гази.

Вологий коржик, отриманий в результаті виконання операції с), може бути згодом осушений в лотковій сушарці, вакуумній печі, повітряній печі, сушарці з псевдозрідженим шаром, випарній сушарці і в інших подібних пристроях. Сушка може

здійснюватися при температурі, приблизно, від 35°C до 70°C. Сушка може здійснюватися протягом будь-якого заданого періоду часу від 1 години до 20 годин.

В окремих прикладах здійснення корисної моделі описаний вище спосіб по даній корисній моделі може бути пристосований до процесу формування бази для безперервної кристалізації. Чистота продукту, отриманого в результаті операції с), перевіряється на визначення процентного вмісту домішок альфа-аномера. Якщо за наслідками рідинної хроматографії високого тиску (розрізнення) вміст домішок не знижується до заданих рівнів нижче 0,1%, то операції від а) до с) повторюються на вологому матеріалі, отриманому в результаті операції с). Якщо в результаті операції с) досягається задана чистота, цикл припиняється.

Таким чином, встановлюється цикл операцій,

які можуть повторюватися невизначену кількість разів, забезпечуючи відповідність процесу по корисної моделі до безперервного процесу. При цьому очевидне досягнення реальної комерційної вигоди.

Очищений гемцитабін-гідрохлорид, отриманий з використанням способу, що заявляється, містить менше 0,1% або менше 0,01% будь-якої домішки цитозина і  $\alpha$ -аномера.

Гемцитабін-гідрохлорид, отриманий з використанням способу, що заявляється, був перевірений по методу рідинної хроматографії високого тиску (розрізнення) (HPLC) за способом, описаним у фармакопеї США (USP) 29; NF 24; 2006; стр. No. 990-991. Результати перевірочних досліджень надані в Таблиці 1.

Таблиця 1

## Спосіб HPLC

Колонка і Насадка	Зорбакс (Zorbax) Rx C8 250X4,6мм, 5μ
Буфер:	13,8г NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O і 2,5мл фосфорної кислоти було розчинено у 1000мл milli Q води і розчин профільтровано через мембранний фільтр з розміром пори 0,45μ. Коефіцієнт рН розчину: 2.4-2.6.
Рухома фаза А:	Буферний розчин використано як рухому фазу.
Рухома фаза В	Використано відфільтрований та дегазований метанол.
Градiєнт:	<p>Час (в хвиликах)</p> <p>розчин А (%v/v)</p> <p>розчин В (5v/v)</p> <p>Елюювання</p> <p>0-8</p> <p>97</p> <p>3</p> <p>Ізокритія (Isocratic)</p> <p>8-13</p> <p>97-50</p> <p>3-50</p> <p>Лінійний градієнт</p> <p>13-20</p> <p>50</p> <p>50</p> <p>Ізократія (Isocratic)</p> <p>20-25</p> <p>50-97</p> <p>50-3</p> <p>Ре-урівноваження (повторне урівноваження)</p> <p>25-30</p> <p>97</p> <p>3</p> <p>Урівноваження</p>
Витрата	1,2мл/хвил
Довжина хвилі визначення (виявлення):	275нм при UV (ультрафіолетовому) дослідженні
Температура:	25±2°C
Об'єм ін'єкції:	20μL
Розріджувач (розчинник):	Milli Q (Милі кількість) води
Робочий час (тривалість операції):	30 хвилин

Назва домішки	RRT
Домішка $\alpha$ -аномера	0,67
Домішка цитозину	0,37

В одному з аспектів дана корисна модель відноситься до способу приготування гемцитабін-гідрохлориду і його проміжних речовин.

В одному з прикладів здійснення способів приготування гемцитабін-гідрохлориду по формулі I включає операції, при яких виконують:

i. конверсію сполуки по формулі III в сполуку по формулі IV, використовуючи реагенти дециклізації, у присутності відповідного органічного розчинника з подальшою азеотропною дистиляцією;

ii. захист оксигруп сполуки по формулі IV, використовуючи відповідні окси-захисні реагенти, у присутності відповідного органічного розчинника при заданій температурі, з метою забезпечення сполуки по формулі VB;

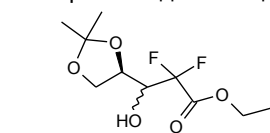
iii. відновлення речовини по формулі VB, використовуючи відповідний відновлюючий реагент, у присутності відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення сполуки по формулі VIB;

iv, захист сполуки по формулі VIB, використовуючи алкіл-або арил-сульфоніл-хлориди, у присутності відповідної основи і відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення сполуки по формулі VIIБ;

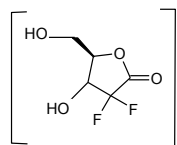
v. конденсацію сполуки по формулі VIIБ із сполукою по формулі VIII у присутності відповідного органічного розчинника і відповідних основ, з метою забезпечення сполуки по формулі IX;

vi. зняття захисту із сполуки по формулі IX, використовуючи відповідний реагент, з подальшим проведенням реакції з хлористоводородною (солянкою) кислотою у присутності відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення гемцитабін-гідрохлориду по формулі I.

Операція i. включає конверсію сполуки по формулі III в сполуку по формулі IV, використовуючи реагенти дециклізації, у присутності відповідного органічного розчинника з подальшою азеотропною дистиляцією



Formula III



Formula IV

Прийнятний діапазон температур для проведення цієї реакції складає, приблизно, від 20°C to 70°C.

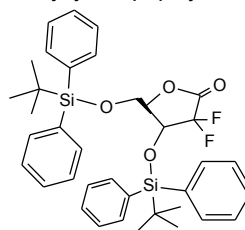
Додатково, реакційна маса піддається азеотропній дистиляції після додавання іодину і спиртового розчину. Дистиляція може проводитися при температурі, приблизно, від 50°C до 150°C.

Перелік відповідних розчинників, які можуть бути використані для проведення реакції, включає, але не обмежується такими спиртовими розчинниками, як метанол, етанол, n-пропанол, ізопропанол, n-бутанол і подібні ним речовини; такими вуглеводнями, як n-гексан, циклогексан, n-гептан, толуол, хлоробензол, 1, 2-

дихлоробензол, ксилоли і інші подібні речовини;

Операція ii. включає захист оксигруп сполуки по формулі IV, використовуючи відповідні окси-захисні реагенти, у присутності відповідного органічного розчинника при заданій температурі, з метою забезпечення сполуки по формулі VB.

В прикладі здійснення даної корисної моделі із захисною групою, що використовується для захисту оксигрупи сполуки по формулі IV, є третинний бутіл-дифенілсиліл-хлорид, що забезпечує сполуку по формулі VB.



Formula VB

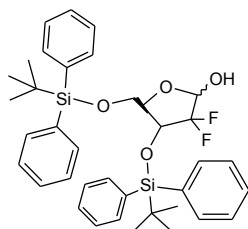
Перелік відповідних окси-захисних груп, які можуть бути використані в згаданій вище реакції, включає, але не обмежується такими окси-захисними групами, як, силілові окси-захисні групи, наприклад, третинний бутіл-дифенілсиліл, триметилсилілхлорид, ізопропільдиметилсиліл, метилдіізопропільсиліл, триізопропільсиліл і подібні їм речовини, форміл, 2-хлорацетил, бензил, дифенілметил, трифенілметил, 4-нітробеніл, феноксиацетил, ізобутирил, зтоксикарбоніл, бензилоксикарбоніл та інші подібні їм речовини.

Прийнятними, але не обмежувачими об'єм захисту сновими, які можуть бути використані в даному випадку, є: органічні основи, наприклад, піридин, триетиламін, імідазол, 2,6-лутидин, 2,3-лутидин, 3,5-лутидин і подібні ним речовини.

Перелік прийнятних розчинників, які можуть бути використані у вказаній вище реакції, включає але не обмежується такими ефірами, як тетрагідрофуран, 1,4-диоксан, діетиловий ефір, і 1,2- диметоксиетан і інші подібні речовини; такими вуглеводнями, як n-гексан, циклогексан, n-гептан, толуол, хлоробензол, 1, 2-дихлоробензол, ксилоли і інші подібні їм речовини; такими апротонними полярними розчинниками, як N,N-диметил-формамід (DMF), диметилсульфоксид, диметил-ацетамід, ацетонітрил і інші подібні їм речовини; таким кетоном, як ацетон, метил-ізобутил-кетон, метил-терт(третинний)-бутил-кетон і інші подібні їм речовини, або їх сумішами.

Прийнятними температурами для проведення даної операції є температури в діапазоні, приблизно, від 5°C до 50°C.

Операція iii забезпечує відновлення речовини по формулі VB з використанням відповідного відновлюючого реагенту у присутності відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення сполуки по формулі VIB;



Formula VIB

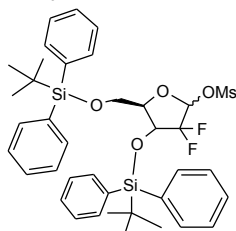
Відповідними, але не обмежувачими об'єм захисту відновлюючими реагентами, які можуть бути використані в даній операції, є натрій-біс(2-метоксизтокс)алюмінійгідрид (вітрид), натрійборгідрид ( $\text{NaBH}_4$ ), літійалюмінійгідрид ( $\text{LiAlH}_4$ ), діізобутилалюмінійгідрид (DIBAL-H).

Перелік прийнятних розчинників, які можуть бути використані у вказаній вище реакції, включає але не обмежується такими спиртами, як метанол, етанол, n-пропанол, ізопропіловий спирт, n-бутанол і іншими подібними речовинами, такими ефірами, як тетрагідрофуран, 1,4-діоксан, діетиловий ефір, і 1,2- диметоксиетан і інші подібні речовини; такими вуглеводнями, як n-гексан, циклогексан, n-гептан, толуол, хлоробензол, 1, 2-дихлоробензол, ксилолы і інші подібні їм речовини; або їх сумішами.

Прийнятними температурами для проведення даної операції є температури в діапазоні, приблизно, від - 50°C до 100°C.

Операція iv. забезпечує захист сполуки по формулі VIB, використовуючи алкіл-або арил-сульфоніл-хлориди, у присутності відповідної основи і відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення сполуки по формулі VIIB;

В одному з прикладів здійснення корисної моделі, з метою забезпечення умов для сполуки по формулі VIB, захисною групою, використовуваною для захисту гідроксильної групи сполуки по формулі VIB, є метан-сульфонілхлорид.



Formula VIIB

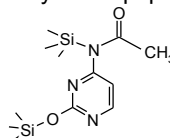
Відповідними, але не обмежувачими об'єм захисту захисними групами, які можуть бути використані для захисту гідроксильної групи, є алкіл-а-арил-сульфонілхлориди, наприклад, метан-сульфонілхлорид, бензол-сульфонілхлорид і подібні їм речовини.

Перелік прийнятних розчинників, які можуть бути використані у вказаній вище реакції, включає але не обмежується такими ефірами, як тетрагідрофуран, 1,4-діоксан, діетиловий ефір, і 1,2-диметоксиетан і інші подібні речовини; такими вуглеводнями, як n-гексан, циклогексан, n-гептан, толуол, хлоробензол, 1, 2-дихлоробензол, ксилолы і інші подібні їм речовини; такими апротонними полярними розчинниками, як N,N-диметилформамід (DMF), диметил-сульфоксид, диметил-ацетамід, ацетонітрил і інші подібні їм речовини; такими складними ефірами, як етилацетат, ізоп-

ропілацетат і інші подібні їм речовини, таким кетоном, як ацетон, метил-ізобутил-кетон, метил-терт(третинний)-бутил-кетон і інші подібні їм речовини, або їх сумішами.

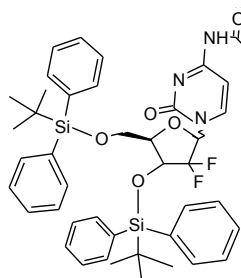
Відповідними температурами для проведення подібної реакції є температури в діапазоні від 0°C до 50°C.

Операція v. полягає в здійсненні конденсації сполуки по формулі VIIB із сполукою по формулі VIII у присутності відповідного органічного розчинника і відповідних основ, з метою забезпечення сполуки по формулі IX;



Formula

VIII



Formula IX

Перелік прийнятних розчинників, які можуть бути використані у вказаній вище реакції, включає але не обмежується такими ефірами, як тетрагідрофуран, 1,4-діоксан, діетиловий ефір, і 1,2-диметоксиетан і інші подібні речовини; такими вуглеводнями, як n-гексан, циклогексан, n-гептан, толуол, хлоробензол, 1, 2-дихлоробензол, ксилолы і інші подібні їм речовини; такими складними ефірами, як етилацетат, ізопропілацетат і інші подібні їм речовини, таким кетоном, як ацетон, метил-ізобутил-кетон, метил-терт(третинний)-бутил-кетон і інші подібні їм речовини, або їх сумішами.

Відповідними, але не обмежувачими об'єм захисту основами, які можуть бути використані для ведення даної операції, є такі органічні основи, як піридин, триетиламін, гексаметилдизилазан, триметилсилілтрифлат і подібні їм речовини.

Відповідними температурами для проведення подібної реакції є температури в діапазоні від 20°C до 100°C.

Операція vi. включає зняття захисту із сполуки по формулі IX, використовуючи відповідний реагент, з подальшим проведенням реакції з хлористоводородною (соляною) кислотою у присутності відповідного органічного розчинника, з метою забезпечення гемцитабін-гідрохлориду по формулі I.

Відповідні реагенти, які можуть бути використані для зняття захисту, вибирають з групи речовин, що включають терт-бутил-амоній, аміак, ацетилхлорид, розбавлення (розчин) хлористоводородної кислоти (соляної кислоти) і подібні їм речовини.

Перелік прийнятних розчинників, які можуть бути використані у вказаних вище реакціях, включає але не обмежується таким осаджувачем,

як вода; такими спиртами, як метанол, етанол, етанол-гідрохлорид, n-пропанол, ізопропанол, ізопропіловий спирт, n-бутанол і інші подібні речовини; такими галогенізованими розчинниками, як дихлорометан, дихлороетан, хлороформ і інші, подібні їм речовини; такими ефірами, як тетрагідрофуран, 1,4-діоксан, діетиловий ефір, і 1,2-диметоксиетан і інші подібні речовини; такими вуглеводнями, як n-гексан, циклогексан, n-гептан, толуол, хлоробензол, 1,2-дихлоробензол, ксилоли і інші подібні їм речовини; такими апротонними полярними розчинниками, як N,N-диметилформамід (DMF), диметил-сульфоксид, диметил-ацетамід, ацетонітрил і інші подібні їм речовини; такими складними ефірами, як етилацетат, ізопропилацетат і інші подібні їм речовини, таким кетоном, як ацетон, метил-ізобутил-кетон, метил-терт(третинний)-бутил-кетон і інші подібні їм речовини, або їх сумішами.

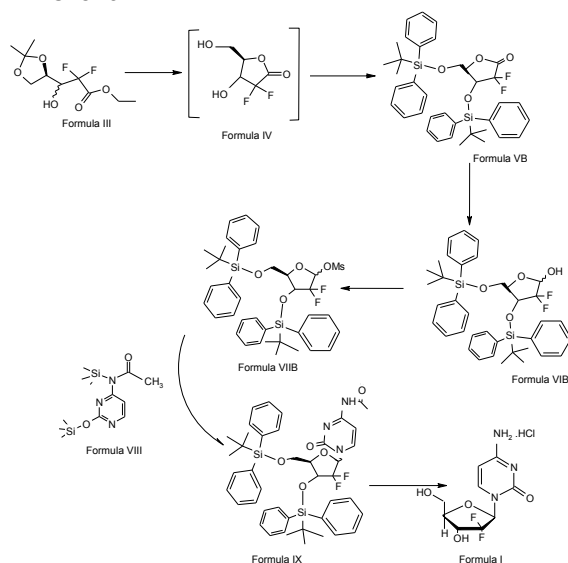
Як альтернатива, одна або декілька операцій, від i) до iv), в технологічному ряді процесу можуть здійснюватися без виділення проміжних сполук. В одному з прикладів здійснення операції i) проводять без виділення проміжної сполуки, при цьому за даною операцією слідує виділення сполуки по формулі VB.

Відповідною температурою для проведення реакції є температура в діапазоні, приблизно, від -10°C до 70°C.

Вологий коржик, отриманий на різних стадіях обробки, може бути в подальшому висушений. Сушку можуть здійснювати в лотковій сушарці, у вакуумній печі, повітряної печі, в сушарці з псевдозрідженим шаром, в розпилювальних сушарках, в сушарках-випарниках і інших пристроях. Сушка може виконуватися при температурі, приблизно, від 35°C до 70°C. Сушка може виконуватися протягом будь-якого заданого періоду часу в діапазоні від 1 до 20 годин.

Весь процес може бути відображений схемою IV.

Схема IV



Ще один аспект даної корисної моделі забезпечує отримання кристалічного гемцитабін-гідрохлориду, відмінного системою ліній порош-

кової дифракції рентгенівського випромінювання («XRPD»), графіком диференціальної скануючої калориметрії («DSC») та/або спектром поглинання інфрачервоного випромінювання («IR»).

Кристалічний гемцитабін-гідрохлорид, отриманий відповідно до даної корисної моделі, відрізняється своєю власною системою XRPD. Усі дані XRPD, наведені в даному описі, були одержані, використовуючи Cu K $\alpha$  - випромінювання з довжиною хвилі 1,541 Å на дифрактометрі, принцип роботи якого заснований на порошковій дифракції рентгенівського випромінювання [Bruker AXE D8 Advance Powder X-ray Diffractometer.].

Кристалічний гемцитабін-гідрохлорид відрізняється системою ліній порошкової дифракції рентгенівського випромінювання (XRPD) з характеристичними піками, приблизно в 9,57; 11,35; 13,74; 14,38; 15,29; 19,09; 20,36; 21,15; 22,755; 22,98; 23,36; 24,02; 26,58; 27,56; 28,29; 29,19; 30,74; 31,66; 34,45; 35,42; 37,1; 37,96; 41,99; 44,023 $\pm$ 0,2 градусів, дві тета.

Диференціальні скануючі калориметричні дослідження проводилися на моделі DSC Q1000 TA приладів з ухилом 5°C/мин., часом модуляції 60 секунд і температурою модуляції  $\pm$ 1°C. Початкова температура - 0°C, кінцева температура - 200°C.

Кристалічний гемцитабін-гідрохлорид має характеристичну криву диференціальної скануючої калориметрії яка, в основному, відповідає Фіг.2, де зображена ендометрична крива при 259-274°C.

Інфрачервоний спектр (IR) гемцитабін-гідрохлориду був зареєстрований на спектрофотометрі моделі Perkin Elmer System Spectrum, між 450см<sup>-1</sup> і 4000см<sup>-1</sup>, з роздільною спроможністю 4см<sup>-1</sup> в гранулі бромиду калію, концентрація сполуки, що піддається випробуванню, складає 1% по масі.

Кристалічний гемцитабін-гідрохлорид характеризується інфрачервоним спектром з характеристичними піками, які описані приблизними значеннями 3392, 3259, 3117, 3078, 1679, 1535, 1283, 1199, 1065, 856, 814 $\pm$ 1см<sup>-1</sup>.

Ще в одному прикладі здійснення даної корисної моделі забезпечується гемцитабін-гідрохлорид, в основному, вільний від залишкових розчинників.

Гемцитабін-гідрохлорид, отриманий з використанням даної корисної моделі, має процентний вміст залишкового розчинника в межах міжнародних норм, визначених Міжнародною Конференцією по Гармонізації Технічних Вимог до реєстрації фармацевтичних засобів, призначених для лікування людей. Рівень вмісту розчинників залежить від типу розчинника, але не перевищує 5000 частинок на 1млн. (ppm) або 4000 частин на 1млн. (ppm), або 3000 частин на 1млн. (ppm)

Гемцитабін-гідрохлорид, отриманий відповідно до даної корисної моделі, містить менше 100ppm або менше 500ppm ацетону, менше 100ppm або менше 500ppm ізопропола, менше 100ppm або менше 500ppm дихлорометану.

Певні специфічні аспекти і приклади здійснення даної корисної моделі можуть бути більш



детально пояснені з посиланнями на наступні приклади, які приведені тільки з метою ілюстрації і жодною мірою не обмежують об'єм захисту дана корисна модель.

#### Приклад 1.

Спосіб приготування 3,5-біс (третичний-бутил-дифеніл-силілокси)-2-деокси-2, 2-дифторо-1-оксорибози (формула VB)

100,3г етил 2, 2-дифторо-3-окси-3(2, 2-диметилдіоксалан-4-іл) пропіонату по формулі III, 2000мл метанолу і 10,02г лодину були завантажені в чисту і суху з круглим дном пробірку з подальшим негайним струшуванням протягом 12 годин. Розчин 22,5г натрій-тіосульфату в 225мл води був доданий до вказаної вище реактивної маси при температурі, приблизно, 25-35°C протягом, приблизно, 30 хвилин з подальшою дистиляцією 1000мл метанолу, узятого з реактивної суміші при температурі, приблизно, 80-95°C. Одночасно 500мл толуолу завантажували в отриману реактивну масу, а 500мл розчинника відділяли методом дистиляції під атмосферним тиском при 95°C. Вказану вище операцію повторювали 5 разів при температурі 120°C і забезпечували вакуум від 650 до 750мм для повного видалення толуолу, з метою отримання сполуки 2-деокси-2, 2-дифторо-1-оксорибози по формулі IV.

Отриманий залишок розчиняли в 1325мл N, N-диметил-формаміду (DMF) в атмосфері азоту при температурі, приблизно, 25-35°C. 80,5г імідазолу і 303мл третинного-бутил-дифеніл-силілохлориду (TBDPSi-Cl) завантажували в отриману реактивну суміш при 25-35°C з подальшим негайним струшуванням при температурі, приблизно, 25-35°C протягом 12 годин (over night). Факт завершення реакції був перевірений, використовуючи метод тонкошарової хроматографії, і суміш охолоджували, приблизно, до 10-15°C. 2600мл води додавали при температурі 10° при одночасному перемішуванні з подальшим екстрагуванням за допомогою 2х500мл дихлорометану. Органічні і водні шари розділяли (відділяли один від одного), після чого органічний шар промивали 500мл води, а потім органічний шар дистилювали в умовах вакууму при температурі 50°C. Отриманий сировинний матеріал очищали колонковою хроматографією з використанням петролейного ефіру і етил-ацетатних розчинних систем, з метою отримання 100г чистої заданої сполуки.

Мас.: 662,4(M+NH<sub>4</sub>) атомних одиниць маси (a.m.u.) і <sup>1</sup>H NMR: 0,8 частинок на млн. (ppm) (9H), 1,1 ppm (9H), 4,5 ppm (2H), 3,4 ppm (1H), 3,7 ppm (9H) δ значення.

#### Приклад 2

Спосіб приготування 3,5-біс (третичний-бутил-дифеніл-силілокси)-2-деокси-2, 2-дифторорибози (формула VIB)

100г 3,5-біс (третичний-бутил-дифеніл-силілокси)-2-деокси-2, 2-дифторо-1-оксорибози (формула VB) і 1000мл тетрагідрофурану (THF) були завантажені в пробірку з круглим дном в атмосфері азоту при температурі, приблизно, 25-35°C з одночасним перемішуванням. Реактивну суміш охолоджували до температурі від -45 до -50°C після чого додавали 75,4мл натрій-біс (2-метоксиетокси) гідриду алюмінія (вітриду) протя-

гом, приблизно, 5-10 хвилин з подальшим струшуванням під тиском. Факт завершення реакції був перевірений, використовуючи тонкошарову хроматографію. Після завершення реакції 200мл насиченого розчину хлориду амоніа додавали до отриманої реактивної маси при температурі, приблизно, -45°C з подальшим розділенням на два шари. Отриманий водний шар екстрагували за допомогою 3х500мл етилацетату, після чого послідувала сепарація органічних і водних шарів. Органічний шар піддавали повній дистиляції для отримання 103,5г заданої сполуки.

Мас: 664,4 (M+NH<sub>4</sub>) атомних одиниць маси (a.m.u.) і <sup>1</sup>H NMR: 0,9ppm (9H), 1,1 (9H), 5.1ppm (1H) δ значення.

#### Приклад 3

Спосіб приготування 3,5-біс (третичний-бутил-дифеніл-силілокси)-1-метан-силокси-2-деокси-2, 2-дифторорибози (формула VIIIB)

103г 3,5-біс (третичний-бутил-дифеніл-силілокси)-2-деокси-2, 2-дифторорибози (формула VIB), 1030мл дихлорометану і 55,5мл триетиламіну завантажували в пробірку з круглим дном в атмосфері азоту при одночасному перемішуванні. Реактивну масу охолоджували до 0-5°C з подальшим додаванням 18,6мл метансульфоніл-хлориду до згаданої вище маси при 0°C протягом 10 хвилин. Реактивній масі давали можливість нагрітися до температури 25-35°C і струшували під тиском протягом, приблизно, 3-4 годин до тих пір, поки не був витрачений вихідний матеріал. Факт завершення реакції перевіряли, використовуючи тонкошарову хроматографію. До отриманої реактивної маси додавали 300мл води і віділяли шляхом сепарації два шари з подальшим екстрагуванням водяного шара знову до 300ml дихлорометану. Отримані органічні шари піддавали повній дистиляції у вакуумі, з метою отримання 111,0г заданої сполуки.

Мас.: 742,2(M+NH<sub>4</sub>) атомних одиниць маси (a.m.u.) і <sup>1</sup>H NMR: 5,9ppm (1H), 0,8 (9H), 1,1ppm (9H), 3,1ppm (3H) δ значення.

#### Приклад 4

Спосіб приготування [2'-деокси-2', 2'-дифторо-3', 5'-рибофураноза 3,5-біс (третинний-бутил-дифеніл-силілокси)-N-ацетилцитозину (формула IX)

92,98г N-ацетилцитозина і 1925мл толуолу завантажували в пробірку з круглим дном в атмосфері азоту. 204,6мл гексаметил-дизилазана (HMDS) також додавали у згадану вище пробірку протягом 5 хвилин при 25-35°C з подальшою дистиляцією 20% розчину у вакуумі при температурі, приблизно, 65°C, і реактивній масі давали можливість остигнути до температури, приблизно, 50°C. 41мл триметил-силілохлориду додавали до згаданої вище реактивної суміші з подальшим підігрівом реактивної маси, з метою забезпечення зворотного стоку, і підтримували реактивну масу в стані зворотного стоку протягом 2-3 годин під тиском. 585мл толуолу шляхом дистиляції витягували з реактивної суміші з подальшим додаванням 1375мл толуолу, і реактивну масу охолоджували до 25-35 оЗ. 102,3мл триметилсилілтрифлата (TMS трифлата) додавали до згаданої вище реактивної маси протягом 5-10 хвилин і

реактивну масу струшували протягом, приблизно, 20-30 хвилин. Розчин сполуки, підданої дії метилсульфонілу (mesylated), по формулі VIIIB, в 550мл толуолу додавали до згаданої вище отриманої силілірованої реактивної маси при температурі 25-35°C, після чого реактивну масу нагрівали до температури утворення зворотного стоку і утримували реактивну масу під тиском протягом 15 годин. Реактивну масу охолоджували до температури, приблизно, 25-35°C з одночасним перемішуванням, після чого протягом 10 хвилин до неї додавали 40мл метанолу. З отриманої реактивної маси виділяли методом дистиляції розчинник в кількості до 50% від його повного об'єму при температурі, приблизно, 50°C в умовах вакууму з подальшим охолодженням реактивної маси до 0-5°C протягом 15-20 хвилин. Отримана смоляниста реактивна маса була декантована, органічний шар був промитий 700мл насиченого розчину  $\text{NaHCO}_3$  і розділений на два шари. Органічний шар було піддано дистиляції в умовах вакууму, з метою отримання 134г заданого продукту.

#### Приклад 5

Спосіб приготування гемцитабін-гідрохлориду по формулі I

133г 1-[2'-деокси-2', 2'-дифторо-3', 5'-рибофураноза-3, 5-біс (третинний -бутил -дифеніл-силілокси)-N-ацетилцитозину по формулі IX, який був приготований, при здійсненні прикладу 4, завантажували в пробірку з круглим дном в атмосфері азоту. Додавали 7,5 літрів метанолу, і реактивний розчин охолоджували до 0-5°C з подальшим додаванням до реактивного розчину 1330мл аміаку. Отриманий розчин концентрували при 50°C до мінімальної кількості і реактивну масу екстрагували за допомогою 12 літрів етилацетата з подальшою концентрацією органічного шару при 50°C. 1180мл тетрагідрофурану (THF) і 79,8мл TBAF (гетра n-бутиламмонійфториду) вводили у вказану вище отриману реактивну масу при 25-30°C і перемішували протягом, приблизно, 1 години. Факт завершення реакції перевіряли, використовуючи метод тонкошарової хроматографії, після чого реактивну масу концентрували у вакуумі при температурі 50°C. До отриманої реактивної маси додавали демінералізовану воду, після чого водний шар промивали дихлорометаном.

Отриманий водяний шар концентрували при температурі 55°C, з метою отримання 72%  $\alpha$ -аномера і 24%  $\beta$ -аномера. 190мл ізопропілового спирту додавали до отриманої сировинної маси, після чого реактивну масу нагрівали до 60°C і додавали 25мл концентрованої соляної кислоти. Отриману реактивну масу охолоджували до 10-15°C і перемішували, приблизно, протягом 3 годин при 10°C. Отриманий твердий продукт фільтрували, з ціллю отримання 69,9%  $\alpha$ -аномера and 28,48%  $\beta$ -аномера, а отриманий фільтрат концентрували при 45°C. До отриманого сировинного фільтрату додавали ацетон і перемішували протягом однієї ночі. Отриманий твердий продукт фільтрували, з ціллю отримання 2%  $\alpha$ -аномера і 71%  $\beta$ -аномера. Отриманий твердий продукт розчиняли (розбавляли) у демінералізованій воді

(qty) і завантажували активоване вугілля, з подальшим перемішуванням протягом 30-45 хвилин. Отриману реактивну масу фільтрували, а отриманий фільтрат концентрували до мінімальної кількості, з метою отримання 700мг заданої сполуки. Чистота по HPLC: 95% чистота по  $\beta$ -аномеру.

#### Приклад 6

Очищення гемцитабін-гідрохлориду

6,4л (3 об'єми) демінералізованої води поміщали в реактор і нагрівали до температури, приблизно, 80-85°C. 6,6кг сировинного гемцитабін-гідрохлориду, що містить в співвідношенні 1:1 суміш  $\alpha/\beta$  - аномерної солі, приготованої HPLC - методом, додавали у вище згаданий реактор при одночасному перемішуванні до утворення прозорого розчину. Реактивний розчин охолоджували, приблизно, до 20-25°C з подальшою фільтрацією відокремленого твердого продукту в атмосфері азоту. Тверду речовину промивали 5л ацетону. Отриманий твердий продукт висушували методом відсмоктування вологи протягом, приблизно, 1 години під тиском в атмосфері азоту, з метою отримання 2,7кг гемцитабін-гідрохлориду.

Чистота по HPLC: 98,1%.

%  $\alpha$ -аномера: 1,7%.

#### Приклад 7

Очищення гемцитабін-гідрохлориду

860мл очищеної води поміщали в реактор разом з 86г сировинного гемцитабін-гідрохлориду, що містить в співвідношенні 1:1 суміш  $\alpha/\beta$  - аномерної солі. Суміш нагрівали до температури, приблизно, 35-40°C при одночасному перемішуванні до утворення прозорого розчину. До реактивної маси додавали 0,1 об'єму активованого вугілля при 35-40°C з перемішуванням протягом, приблизно, 30 хвилин. Реактивну масу фільтрували через Nuflow з подальшою промивкою 3x30мл демінералізованої води при кімнатній температурі. Отриманий фільтрат концентрували до 3 об'ємів реактивної маси при 45-50°C у вакуумі 600мм ртутного стовпа, після чого охолоджували до 15-20°C з одночасним струшуванням/перемішуванням протягом 30 хвилин при температурі 15-20°C. Реактивну масу фільтрували з подальшою промивкою 50мл ацетону при 15-20°C і висушували методом відсмоктування вологи протягом 30 хвилин. Отриману тверду масу висушували при температурі 35-40°C протягом, приблизно, 4 годин у вакуумі 600-620мм ртутного стовпа, з метою отримання 31г гемцитабін-гідрохлориду.

Чистота по HPLC: 95,6%

%  $\alpha$ -аномера - 6,8%.

#### Приклад 8

Очищення гемцитабін-гідрохлориду

342мл (12 об'ємів) очищеної води поміщали в реактор разом з 28,5г гемцитабін-гідрохлориду, що має чистоту 95,6%, і нагрівали до температури 35-40°C при одночасному струшуванні/перемішуванні до формування прозорого розчину. 0,1 об'єму активованого вугілля додавали до реактивної суміші при температурі 35-40°C з перемішуванням протягом 30 хвилин. Реактивну масу фільтрували через Nuflow з подальшою промивкою 3x25мл демінералізованої води при

**21**

кімнатній температурі. Отриманий фільтрат концентрували до 2 об'ємів реактивної маси при 45-50°C у вакуумі 600-620мм ртутного стовпа, після чого охолоджували до 25-30°C. Реактивну масу фільтрували з подальшою промивкою 31мл ацетону при 25-30°C. Описаний процес повторювали ще раз і під кінець отриману тверду масу висушували при температурі 35-40°C протягом, прибли-

**18156****22**

зно, 4 годин у вакуумі 600-620мм ртутного стовпа, з метою отримання 24г гемцитабін-гідрохлориду.

Чистота по HPLC: 99,96%.

%  $\alpha$ -аномера – 0,01%.

Обертання площини поляризації світла:  $[\alpha]_D^{20}$  (10мг/мл водного розчину): +47,1°.