

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043691**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2023.06.13

(21) Номер заявки

201992873

(22) Дата подачи заявки

2018.06.14(51) Int. Cl. **C07H 1/02** (2006.01)**C07H 19/10** (2006.01)**C07H 19/20** (2006.01)**C07F 9/24** (2006.01)**(54) ПОЛУЧЕНИЕ ФОСФАТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ**(31) **1709471.5**(32) **2017.06.14**(33) **GB**(43) **2020.05.19**(86) **PCT/GB2018/051638**(87) **WO 2018/229493 2018.12.20**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

НУКАНА ПиЭлСи (GB)

(72) Изобретатель:

**Гриффит Хью, Кенновин Гордон
(GB), Даммалапати Венката Лакшми
Нарасимха Рао, Котала Мани Бушан
(IN)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) BRUCE S. ROSS ET AL.: "Synthesis of Diastereomerically Pure Nucleotide Phosphoramidates", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 76, no. 20, 21 October 2011 (2011-10-21), pages 8311-8319, XP055137289, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/jo201492m, the whole document, page 8313, left-hand column, line 3 - right-hand column, line 2, Pages

8312-8313: Scheme 2 and 3, compounds 5, 6 page 8314; compound 8, Page 8314 CONCLUSION

BRYON SIMMONS ET AL.: "Mechanism-Based Solution to the ProTide Synthesis Problem: Selective Access to Sofosbuvir, Acelarin, and INX-08189", ORGANIC LETTERS, vol. 19, no. 9, 18 April 2017 (2017-04-18), pages 2218-2221, XP055507907, US, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/acs.orglett.7b00469, the whole document, page 2221; table 3, page 2219; figure 2; compound 2

CHRISTOPHER MCGUIGAN ET AL.: "Phosphoramidate ProTides of the Anticancer Agent FUDR Successfully Deliver the Preformed Bioactive Monophosphate in Cells and Confer Advantage over the Parent Nucleoside", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 54, no. 20, 27 October 2011 (2011-10-27), pages 7247-7258, XP055023640, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/jm200815w, cited in the application, the whole document, In particular compound 7m

MICHAELA SERPI ET AL.: "Synthetic Approaches for the Preparation of Phosphoramidate Prodrugs of 2'-Deoxyseudoisocytidine", CHEMISTRY OPEN, vol. 6, no. 3, 5 May 2017 (2017-05-05), pages 424-436, XP055508703, ISSN: 2191-1363, DOI: 10.1002/open.201700019, abstract, page 425; figure 1; compounds NUC-3373 (8)

WO-A1-2016030335

WO-A1-2016083830

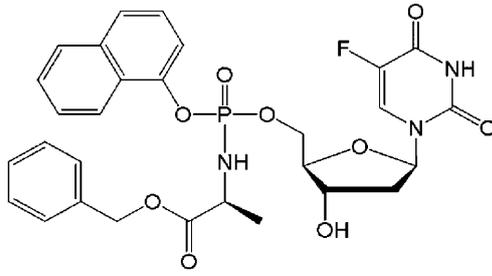
WO-A1-2017207989

WO-A2-2016098123

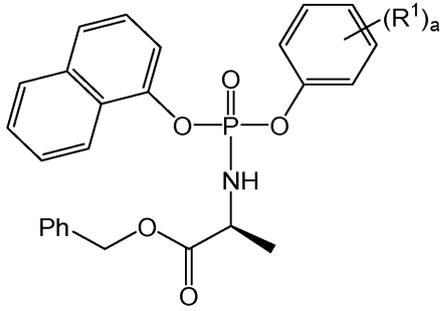
WO-A1-2017087517

(57) Настоящее изобретение относится к способам получения соединений формулы Ia и IIa, где значения R¹ и а определены в формуле изобретения, обладающих противораковой активностью, в виде конкретных фосфатных диастереомеров.

B1**043691****043691 B1**



Формула Ia



Формула IIa

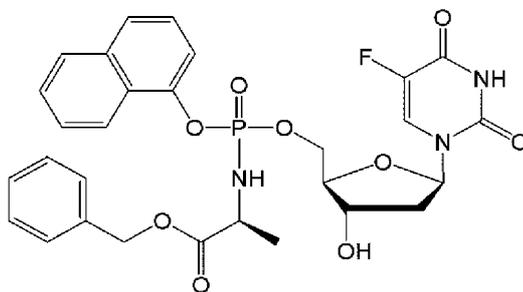
Область техники

Настоящее изобретение, в общем, относится к новому способу получения определенных ProTides в виде конкретных фосфатных диастереоизомеров. Определенные ProTides включают те, что пригодны в лечении рака, такой как NUC-3373 (5-фтор-2'-дезоксидеоксиуридин-5'-O-[1-нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат).

Уровень техники

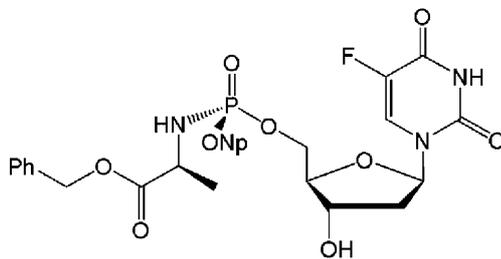
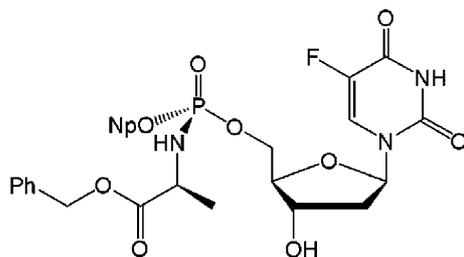
ProTides представляют собой защищенные фосфатные производные нуклеозидов. Было показано, что они являются особенно сильнодействующими терапевтическими средствами в области как противовирусных, так и онкологических препаратов. ProTides, более конкретно, являются пролекарствами монофосфорилированных нуклеозидов. Данные соединения, по-видимому, избегают многих внутренних и приобретенных механизмов устойчивости, которые ограничивают полезность исходных нуклеозидов (смотри, например, 'Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development'; Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542).

NUC-3373 (5-фтор-2'-дезоксидеоксиуридин-5'-O-[1-нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат) представляет собой ProTide адаптацию 5FU/FUDR, современного основного лечения колоректального рака. NUC-3373 и ряд родственных соединений показали активность *in vitro* в ряде моделей рака, во многих случаях и, в частности, для NUC-3373, данная активность была выдающейся и намного превосходила результаты, полученные с 5-фторурацилом. Добавление ProTide фосфорамидатного фрагмента к молекуле 5-фторурацила/FUDR дает особые преимущества доставки ключевой активированной формы агента (FdUMP) в опухолевые клетки. Доклинические исследования показали, что NUC-3373 преодолевает ключевые механизмы устойчивости к раковым клеткам, связанные с 5-FU и его пероральным пролекарством, капецитабином, генерируя высокие внутриклеточные уровни активного метаболита FdUMP, приводя к гораздо большему ингибированию роста опухолевых клеток. Кроме того, в официальных исследованиях токсикологии на собаках, NUC-3373 переносился значительно лучше, чем 5-FU (смотри WO2012/117246; McGuigan et al.; Phosphoramidate ProTides of the anticancer agent FUDR successfully deliver the preformed bioactive monophosphate in cells and confer advantage over the parent нуклеозид; J. Med. Chem.; 2011, 54, 7247-7258; и Vande Voorde et al.; The cytostatic activity of NUC-3073, a phosphoramidate prodrug of 5-fluoro-2'-deoxyuridine, is independent of activation by thymidine kinase and insensitive to degradation by phosphorolytic enzymes; Biochem. Pharmacol; 2011, 82, 441-452).



NUC-3373

ProTides обычно получают в виде смеси двух диастереоизомеров, эпитерных по фосфатному центру. Диастереоизомеры NUC-3373, например, имеют следующие структуры (в которых Np представляет собой 1-нафтил):

 (S_P) -NUC-3373 (R_P) -NUC-3373

WO 2014/076490 описывает способ получения нуклеозидных пролекарств, таких как гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфат реакцией гемцитабина или его структурных вариантов с диастереоизомерной смесью фосфорхлоридатов в присутствии катализатора, включая соль металла, такую как $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, CuCl , CuBr , CuI , $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{OC}(\text{O})\text{CF}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, $\text{Fe}(\text{OTf})_3$, $\text{La}(\text{OTf})_3$, с выходом ~45%.

Способ получения NUC-1031 в диастереоизомерно чистой форме описан в WO 2017/098252 (PCT/GB 2016/053875).

Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении способа получения NUC-3373 по существу в диастереоизомерно чистой форме.

Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении (S_p) и/или (R_p)-эпимера (эпимеров) NUC-3373 по существу в диастереоизомерно чистой форме (формах), который является масштабируемым, экономичным и/или эффективным, например, более масштабируемым, экономичным и/или эффективным, чем способы, применяя ВЭЖХ. Таким образом, цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении способа получения (S_p) и/или (R_p)-эпимера (эпимеров) по существу в диастереоизомерно чистой форме (формах), который является подходящим для широкомасштабного получения.

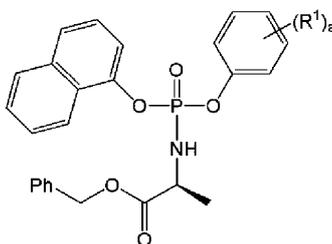
Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении простого способа, т.е. способа, который включает минимальное количество стадий способа и или реагентов для получения (S_p) и/или (R_p)-эпимера (эпимеров) по существу в диастереоизомерно чистой форме (формах).

Другая цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении способа, который обеспечивает отделенный (S_p)- или (R_p)-эпимер по существу в диастереоизомерно чистой форме и, в то же время, удовлетворяет или превышает необходимые критерии, установленные такими организациями, как FDA США, в отношении количества и природы любых следовых примесей, возникающих в результате синтеза и разделения.

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения удовлетворяют некоторым или всем из целей выше.

Сущность настоящего изобретения

Согласно первому аспекту настоящего изобретения представлен способ получения X-диастереоизомера соединения формулы IIa



Формула IIa,

где R^1 представляет собой галоген, и a представляет собой целое число от 1 до 5, включающий:

a) суспендирование или растворение Y-диастереоизомера соединения формулы IIa или смеси Y- и X-диастереоизомеров соединения формулы IIa в растворителе (S2),

b) обработку раствора или суспензии основанием (B2), получая X-диастереоизомер по существу в диастереоизомерно обогащенной форме, и

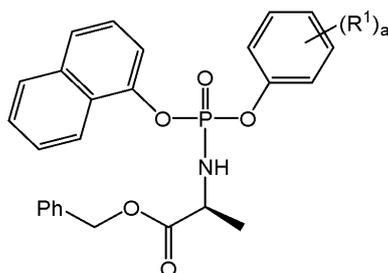
c) выделение X-диастереоизомера формулы IIa,

где B2 представляет собой третичный амин;

где S2 представляет собой смесь гептана или гексана и полярного органического растворителя, где смесь содержит более 50% по объему гексана или гептана; и

где X-диастереоизомер соединения IIa представляет собой (S_p)-диастереоизомер, и Y-диастереоизомер соединения IIa представляет собой (R_p)-диастереоизомер, за исключением случая, когда $\text{OPh}(R^1)_a$ уходящая группа имеет более низкий приоритет распределения по правилу Кана-Ингольда-Прелога, чем нафтилокси группа, при этом X-диастереоизомер соединения IIa представляет собой (R_p)-диастереоизомер и Y-диастереоизомер соединения IIa представляет собой (S_p)-диастереоизомер.

Согласно второму аспекту настоящего изобретения представлен способ получения медленно элюирующегося диастереоизомера соединения формулы IIa



Формула IIa,

где R^1 представляет собой галоген, и a представляет собой целое число от 1 до 5, включающий:

a) суспендирование или растворение быстро элюирующегося соединения формулы IIa или смеси быстро элюирующегося и медленно элюирующегося диастереоизомеров соединения формулы IIa в растворителе (S2),

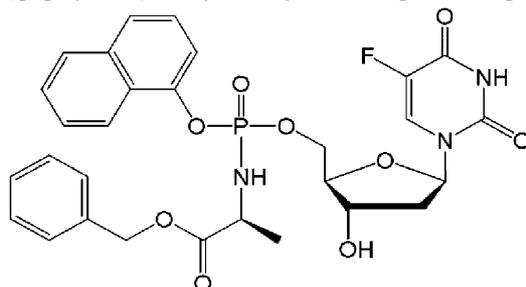
b) обработку раствора или суспензии основанием (B2), получая медленно элюирующийся диастереоизомер по существу в диастереомерно обогащенной форме, и

c) выделение медленно элюирующегося диастереоизомера формулы IIa, где B2 представляет собой третичный амин;

где S2 представляет собой смесь гептана или гексана и полярного органического растворителя, где смесь содержит более 50% по объему гексана или гептана;

где медленно элюирующийся диастереоизомер соединения IIa представляет собой изомер, элюирующийся медленнее в обращено-фазовой ВЭЖХ, и быстро элюирующийся диастереоизомер соединения IIa представляет собой изомер, элюирующийся быстрее в обращено-фазовой ВЭЖХ.

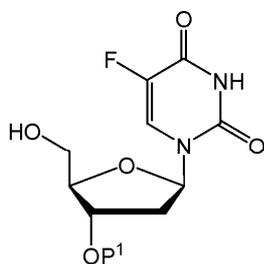
Согласно третьему аспекту настоящего изобретения представлен способ получения (S_p)-диастереоизомера NUC-3373 (формула Ia) по существу в диастереоизомерно чистой форме:



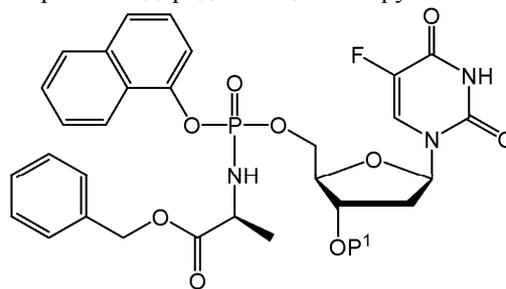
Формула Ia

включающий способ по любому из первого и второго аспектов, стадию d) и стадию e):

d) реакцию X-диастереоизомера соединения формулы IIa, выделенного на стадии c) с соединением формулы IIIa в присутствии основания (B1) с получением соединения формулы IVa по существу в диастереомерно чистой форме; где P^1 независимо выбран из водорода и защитной группы:



Формула IIIa



Формула IVa

где B1 представляет собой реагент Гриньяра;

и

e) где P^1 представляет собой защитную группу, удаления защитной группы P^1 из соединения формулы IVa, получая (S_p)-диастереоизомер NUC-3373 по существу в диастереомерно чистой форме.

Замещение замещенной фенокси группы проходит селективно с обращением фосфатного стереоцентра.

Обычно (S_p)-диастереоизомер предшественника (соединения формулы IIa) дает (S_p)-диастереоизомер ProTide, и (R_p)-диастереоизомер предшественника дает (R_p)-диастереоизомер ProTide. Исключением является случай, когда $OPh(R^1)_a$ уходящая группа имеет более низкий приоритет распределения по правилу Кана-Ингольда-Прелога, чем нафтильная группа (например, когда $OPh(R^1)_a$ пред-

ставляет собой паранитрофенокси). В данных случаях, (R_p)-диастереоизомер предшественника (соединения формулы Па) дает (S_p)-диастереоизомер ProTide, и (S_p)-диастереоизомер предшественника дает (R_p)-диастереоизомер ProTide. Во всем данном описании, изомер соединения формулы Па, который дает (S_p)-изомер ProTide, называют X-диастереоизомером, и изомер соединения формулы Па, который дает (R_p)-изомер ProTide, называют Y-диастереоизомером.

Таким образом, может случиться так, что способ третьего аспекта представляет собой способ получения (S_p)-диастереоизомера ProTide в диастереомерно обогащенной форме, и соединение формулы Па находится в диастереомерно обогащенной форме.

Основание (B1) может представлять собой реагент Гриньяра (т.е. алкилмагнийгалогенид). Примеры реактивов Гриньяра включают трет-бутилмагнийгалогениды, такие как трет-BuMgCl, трет-BuMgBr. Предпочтительно, основание представляет собой трет-BuMgCl.

Стадию а) можно осуществлять в растворителе S1.

Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что после обработки соединений формулы Па основанием, они изомеризуются, предпочтительно образуя X-диастереоизомер по сравнению с Y-диастереоизомером. Таким образом, Y-диастереоизомер можно превратить в X-диастереоизомер, или эпитмерную смесь Y-диастереоизомера и X-диастереоизомера можно превратить в X-диастереоизомер. Это увеличивает общий КПД любой синтетической последовательности для получения X-диастереоизомера NUC-3373, который включает способ третьего аспекта, поскольку это означает, что можно применять все соединения формулы Па, даже часть того, что первоначально образовалось как Y-диастереоизомер.

Соединение формулы Па, применяемое в способе третьего аспекта, может представлять собой X-диастереоизомер. Обычно, X-диастереоизомер представляет собой (S_p)-диастереоизомер, и Y-диастереоизомер представляет собой (R_p)-диастереоизомер.

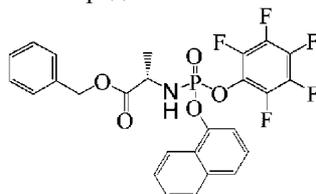
Основание (B2) представляет собой третичный амин. Таким образом, B2 может представлять собой триалкиламин. Самое предпочтительное, B2 представляет собой триэтиламин.

Растворитель S2 может представлять собой смесь, которая содержит более 50% (например, более 70%) углеводорода. Углеводород может представлять собой гексан. Углеводород может представлять собой гептан. S2 может представлять собой смесь гексана или гептана и полярного органического растворителя (например, эфира, сложного эфира, спирта или галогенированного растворителя). S2 может представлять собой смесь гексана или гептана и полярного органического растворителя, причем смесь содержит более 50% (например, более 70%) по объему гексана или гептана. S2 может представлять собой смесь гексана или гептана и этилацетата. S2 может представлять собой смесь гептан и этилацетата. S2 может представлять собой смесь гексана или гептана и этилацетата, причем смесь содержит более 50% (например, более 70%) по объему гексана или гептана. S2 может представлять собой смесь гептана и этилацетата, причем смесь содержит более 50% (например, более 70%) по объему гептана. S2 может представлять собой смесь гексана или гептана и метил трет-бутилового эфира. S2 может представлять собой смесь гексана и метил трет-бутилового эфира, причем смесь содержит более 50% (например, более 70%) по объему гексана или гептана. S2 может представлять собой смесь гексана и метил трет-бутилового эфира, причем смесь содержит более 50% (например, более 70%) по объему гексана.

Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 в течение 24 ч или более. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 в течение 48 ч или более. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 в течение 60 ч или более. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 в течение 72 ч или более. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 в течение вплоть до 100 ч.

Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 при температуре от 0 до 60°C. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания B2 при температуре от 20 до 40°C.

Соединение формулы Па может представлять собой соединение 12:



соединение 12

Соединение формулы Па может представлять собой (R_p) соединение 12 по существу в диастереомерно чистой форме. Соединение может представлять собой быстро элюирующийся изомер соединения 12 по существу в диастереоизомерно чистой форме. Таким образом, соединение может представлять собой изомер соединения 12, которое имеет ^{31}P ЯМР пик при $-1,41 \pm 0,02$, где ЯМР спектр получали на 202 МГц ЯМР приборе в CDCl_3 , причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чис-

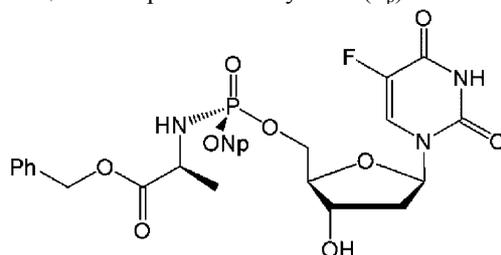
той форме. Соединение может представлять собой изомер соединения 12, которое имеет время удерживания $12,96 \pm 0,20$ мин при проведении аналитической ВЭЖХ на Varian Pursuit XRs 5 C18, $1504,6$ мм, элюируя $H_2O/MeOH$ в 20/80 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме.

Соединение формулы Па может представлять собой (S_p)-соединение 12 по существу в диастереомерно чистой форме. Соединение может представлять собой медленно элюирующийся изомер соединения 12 по существу в диастереоизомерно чистой форме. Таким образом, соединение может представлять собой изомер соединения 12, которое имеет ^{31}P ЯМР пик при $-1,36 \pm 0,02$, когда ЯМР спектр получали на 202 МГц ЯМР приборе в $CDCl_3$, причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме. Соединение может представлять собой изомер соединения 12, который имеет время удерживания $14,48 \pm 0,20$ минут при проведении аналитической ВЭЖХ на Varian Pursuit XRs 5 C18, $150 \times 4,6$ мм, элюируя $H_2O/MeOH$ в 20/80 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме.

NUC-3373 может представлять собой быстро элюирующийся изомер NUC-3373 по существу в диастереоизомерно чистой форме. Таким образом, NUC-3373 может представлять собой изомер NUC-3373, который имеет ^{31}P ЯМР пик при $4,27 \pm 0,10$, когда ЯМР спектр получали на 202 МГц ЯМР приборе в CD_3OD , причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме. NUC-3373 может представлять собой изомер NUC-3373, который имеет время удерживания $16,03 \pm 0,20$ минут при проведении аналитической ВЭЖХ на Varian Pursuit XRs 5 C18, $150 \times 4,6$ мм, элюируя H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме.

NUC-3373 может представлять собой медленно элюирующийся изомер NUC-3373 по существу в диастереоизомерно чистой форме. Таким образом, NUC-3373 может представлять собой изомер NUC-3373, который имеет ^{31}P ЯМР пик при $4,62 \pm 0,10$, когда ЯМР спектр получали на 202 МГц ЯМР приборе в CD_3OD , причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме. NUC-3373 может представлять собой изомер NUC-3373, который имеет время удерживания $16,61 \pm 0,20$ мин при проведении аналитической ВЭЖХ на Varian Pursuit XRs 5 C18, $150 \times 4,6$ мм, элюируя H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится по существу в диастереоизомерно чистой форме.

В четвертом аспекте настоящего изобретения получают (S_p)-NUC-3373:



по существу в диастереоизомерно чистой форме. Предпочтительная изомеризация для образования X-диастереоизомера соединения формулы Па обозначает то, что S_p изомер NUC-3373 получить легче, чем R_p изомер.

Соединение четвертого аспекта настоящего изобретения может предназначаться для медицинского применения. Соединение четвертого аспекта настоящего изобретения может предназначаться для лечения рака (например, солидной опухоли или лейкемии).

Продукт четвертого аспекта настоящего изобретения можно получить (или получают) первым или вторым аспектом настоящего изобретения.

Защитную группу для гидроксильной группы (например, P^1) можно независимо выбрать из необязательно замещенного $-Si(C_1-C_6\text{-алкила})_3$, необязательно замещенного $-C(O)-C_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-C(O)$ -арила, необязательно замещенного $-C(O)-OC_1-C_6\text{-алкила}$, $-C(O)-O$ -аллила, $-C(O)-O-CH_2$ -флуоренила, необязательно замещенного $-C(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(C_1-C_3\text{-алкилен})\text{арила}$, необязательно замещенного $-C(O)OCH_2$ -арила и $-C_1-C_4\text{-алкил}-O-C_1-C_4\text{-алкила}$.

Многие из защищенных исходных соединений формулы Ша являются известными в данной области техники, и/или их можно получить известными способами. Например, исходные соединения формулы Ша можно получить из исходного нуклеозида защитой гидроксильной и/или аминогрупп подходящими защитными группами. Защитные группы можно обычно вводить и удалять, применяя стандартную методологию защитных групп, например, как описано в "Protective Groups in Organic Chemistry," под редакцией J W F McOmie (1973); "Protective Groups in Organic Synthesis," 2^{ое} издание, T W Greene (1991); и "Protecting Groups", 3rd addition P. J Koscienski (1995).

Обычно необходимо получить соединения формул Ша первой защитой 5'-гидроксильной группы исходного нуклеозида защитной группой, которая является ортогональной защитным группам, которые будут

применять для защиты 3' и/или 2'-гидрокси и/или аминогруппы (т.е. группа, которую можно удалять с 5'-гидроксильной группы также без удаления требуемых 3'-гидроксильной, 2'-гидроксильной и/или аминозащитных групп). Одновременно или затем, 3', 2'-гидроксильные и/или аминогруппы защищают требуемой защитной группой (группами), и 5'-гидроксильную защитную группу можно удалять, получая соединение формулы IIIa. Определенные защитные группы можно одновременно вводить по 3' и/или 2'-гидрокси и 5'-гидрокси и необязательно аминогруппе, и затем селективно удалять с 5' гидроксильной группы без удаления с 3' и/или 2'-гидроксила и необязательно аминогруппы.

Согласно некоторым вариантам осуществления, R^1 независимо выбран из необязательно замещенного $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкила})_3$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-арила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-OC}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{-O-аллила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{-O-CH}_2\text{-флуоренила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкилен})\text{арила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арила}$ и $-\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкил-O-C}_1\text{-C}_4\text{-алкила}$.

R^1 можно независимо выбрать из необязательно замещенного $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкила})_3$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-OC}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$ и необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{-O-аллила}$. Предпочтительно, R^1 выбирают из $-\text{C}(\text{O})\text{O-tBu}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O-бензила}$ и $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-аллила}$. Таким образом, R^1 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арил}$. R^1 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{O-tBu}$.

Альтернативно R^1 можно независимо выбирать из необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$ и необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-арила}$, например, R^1 можно независимо выбирать из бензоила и ацетила.

В качестве следующей альтернативы, R^1 может представлять собой необязательно замещенный $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкил})_3$. R^1 может представлять собой $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкил})_3$. Алкильные группы могут быть незамещенными. R^1 может представлять собой трет-бутилдиметилсилил.

Группа необязательно замещенный $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкил})_3$ может представлять собой $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкил})_3$ группу. Группа является (т.е. алкильные группы являются) предпочтительно незамещенной. Иллюстративные примеры включают триэтилсилил и трет-бутил-диметилсилил.

Группа необязательно замещенный $-\text{C}(\text{O})\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкил}$ может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкильную}$ группу. Группа (т.е. алкильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают ацетил и пропионил.

Группа необязательно замещенный $-\text{C}(\text{O})\text{-арил}$ может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{-фенильную}$ группу. Группа (т.е. фенильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают бензоил.

Группа необязательно замещенный $-\text{C}(\text{O})\text{-OC}_1\text{-C}_6\text{-алкил}$ может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{-OC}_1\text{-C}_4\text{-алкильную}$ группу. Группа (т.е. алкильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают $-\text{C}(\text{O})\text{-O-метил}$ и $-\text{C}(\text{O})\text{-O-этил}$. Особенно предпочтительный пример представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{OtBu}$.

Группа необязательно замещенный $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкилен})\text{арил}$ представляет собой предпочтительно необязательно замещенную бензильную группу. Иллюстративные примеры включают бензил, фенэтил, 4-метоксибензил, 4-нитробензил, 4-бромбензил, 2,3-диметоксибензил и 2,4-диметоксибензил.

Группа необязательно замещенный $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арил}$ предпочтительно представляет собой необязательно замещенную $-\text{C}(\text{O})\text{Oбензильную}$ группу. Иллюстративные примеры включают $-\text{C}(\text{O})\text{Oбензил}$ и $-\text{C}(\text{O})\text{O-(4-метоксибензил)}$.

Группа необязательно замещенный $-\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкил-O-C}_1\text{-C}_4\text{-алкил}$ может представлять собой $-\text{C}_1\text{-C}_2\text{-алкил-O-C}_1\text{-C}_2\text{-алкильную}$ группу. Группа (т.е. алкильные группы являются) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают метоксиметил (ММ) и 2-метоксиэтоксиметил (МЕМ).

Группа необязательно замещенный $-\text{S}(\text{O})_2\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкил}$ может представлять собой $-\text{S}(\text{O})_2\text{-C}_1\text{-C}_4\text{-алкильную}$ группу. Группа (т.е. алкильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают метансульфонат.

Группа необязательно замещенный $-\text{S}(\text{O})_2\text{-арил}$ может представлять собой $-\text{S}(\text{O})_2\text{-фенильную}$ группу. Иллюстративные примеры включают фенилсульфонат, 4-метилфенилсульфонат и 4-нитрофенилсульфонат.

Группа необязательно замещенный $-\text{C}(\text{арил})_3$ может представлять собой $-\text{C}(\text{фенильную})_3$ группу. Иллюстративные примеры включают тритил.

Во всем данном описании, "диастереомерно обогащенная форма" и "по существу диастереомерно чистая форма" обозначают диастереоизомерную чистоту более чем 95%. "Диастереомерно обогащенная форма" и "по существу диастереомерно чистая форма" может обозначать диастереоизомерную чистоту больше чем 98%, больше чем 99% или больше чем 99,5%.

Способы настоящего изобретения могут также включать деблокирование гидрокси защитных групп.

Может случиться так, что стадию деблокирования (стадию d) проводят без очистки продукта стадии c).

Когда защитная группа является чувствительной к кислоте (например, тритил, $-\text{C}(\text{O})\text{OtBu}$, ММ, МЕМ, 2,4-диметоксибензил, 2,3-диметоксибензил, $-\text{C}(\text{Me})_2$ -), стадию деблокирования можно проводить,

применяя подходящую кислоту. Кислота может представлять собой кислоту Бренстеда (например, TFA, фосфорную кислоту, HCl или муравьиную кислоту) или кислоту Льюиса (например, ZnBr₂, CeCl₃). Кислоты Льюиса (например, ZnBr₂) являются менее предпочтительными. HCl аналогично является менее предпочтительной. Предпочтительно, кислота представляет собой TFA.

Когда защитная группа представляет собой силильную группу (например, триэтилсилил или трет будтилдиметилсилил), стадию деблокирования можно проводить, применяя подходящую кислоту (например, TFA) или применяя подходящий источник фтора (например, фторид тетрабутиламония, фторкремневую кислоту, HF).

Когда защитная группа представляет собой бензильную группу или C(O)Обензильную группу, стадию деблокирования можно проводить, применяя H₂ и подходящий катализатор (например, Pd/C). Данные защитные группы могут быть менее предпочтительными.

Когда защитная группа представляет собой 4-метоксибензил, 2,3-диметоксибензил, 2,4-диметоксибензил или C(O)O-(4-метоксибензил), стадию деблокирования можно проводить, применяя подходящий окисляющий реагент (например, мета-хлорпербензойную кислоту).

Когда защитная группа представляет собой -C(O)-O-аллил, стадию деблокирования можно проводить, применяя (PPh₃)₄Pd.

Когда защитная группа представляет собой -C(O)-O-CH₂-флуоренил, стадию деблокирования можно проводить, применяя пиперидин.

Стадию деблокирования можно проводить в органическом растворителе или его смеси. Примеры органических растворителей включают, но не ограничиваются, галогенированные растворители (например, дихлорметан, хлороформ, дихлорэтан); спирты (например, метанол, этанол, изопропанол) и эфиры (например, тетрагидрофуран, диэтиловый эфир).

Когда стадию деблокирования проводят в присутствии кислоты (например, TFA, органический растворитель предпочтительно представляет собой галогенированный растворитель, например, дихлорметан.

Реакцию деблокирования можно осуществлять при температуре в диапазоне, например, от -10°C до приблизительно 30°C, например, до приблизительно 10°C. Подходящая температура для проведения реакции составляет -5°C-5°C. Реакцию можно перемешивать в течение периода времени от приблизительно 15 мин до приблизительно 16 ч и предпочтительно от приблизительно 1 ч до приблизительно 4 ч, и более предпочтительно от приблизительно 2 ч до приблизительно 3 ч.

Когда стадию е) проводят, применяя C₁-C₄-спирт и/или воду (например, смесь изопропилового спирта (IPA) и воды), реакционную смесь нагревают, например, до температуры от 30°C до 90°C или до температуры от 60°C до 85°C.

Когда деблокирование проводят в присутствии кислоты (например, TFA), выделение продукта, полученного после деблокирования, обычно осуществляют гашением избытка кислоты, применяемой на стадии деблокирования, и экстракцией продукта несмешивающимся с водой органическим растворителем и извлечением продукта упариванием органического растворителя.

Примеры несмешивающихся с водой органических растворителей, пригодных для экстракции, включают эфиры, такие как этилацетат, метилацетат, изопропилацетат и подобные; хлорированные растворители, такие как дихлорметан, хлороформ и подобные; ароматические углеводородные растворители, такие как толуол, ксилол и подобные; предпочтительно этилацетат.

В определенных вариантах осуществления, может быть все еще желательно очищать ProTide, полученный в способе первого аспекта настоящего изобретения. Аналогично, может быть все еще желательно очищать соединение формулы IIa, полученное в способе четвертого аспекта настоящего изобретения. Способы очистки являются хорошо известными специалисту в данной области техники и включают хроматографию (например, колоночную хроматографию), перекристаллизацию и перегонку. В других вариантах осуществления, очистка не является необходимой.

Ясно, что в описанные в настоящем изобретении варианты осуществления можно вносить различные модификации. Следовательно, приведенное выше описание не следует рассматривать как ограничивающее, а просто как примеры предпочтительных вариантов осуществления. Например, функции, описанные выше и реализованные как лучший режим для работы с настоящим изобретением, приведены только для иллюстрации. Другие схемы и способы можно быть реализованы специалистами в данной области техники без отклонения от объема и сущности настоящего изобретения. Более того, специалистам в данной области техники будут предусмотрены другие модификации в пределах объема и сущности описания, прилагаемого к настоящему изобретению.

Следующие сокращения применяют во всем описании:

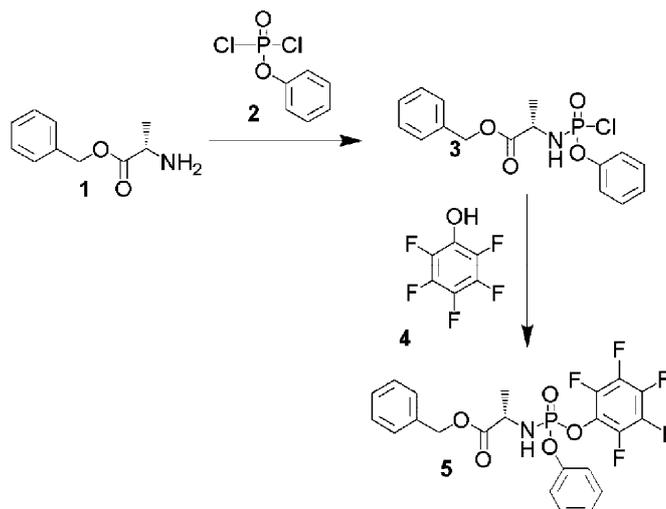
- ACN–ацетонитрил
 AIBVг–ацетоксиизобутирилбромид
 BOC–*трет*–бутилкарбонат
 DCM–дихлорметан
 DMAP–*N, N*–диметил–4–аминопиридин
 DMF–*N, N*–диметилформамид
 eq.–молярный эквивалент
 FUDR–5–фтор–2′–дезоксинуридин
 IPA–изопропиловый спирт
 MEM–2–метоксиэтоксиметил
 MOM–метоксиметил
 MTBE–метил–*трет*–бутиловый эфир
 NMP–*N*–метил–2–пирролидон
 Nr–1–нафтил
 PTSA–пара–толуолсульфокислота
 RT–комнатная температура
 TBAF–фторид тетрабутиламмония
 TBDMS –*трет*–бутилдиметилсилил
 TEA–триэтиламин
 Tf–трифторметилсульфонат (трифлат)
 TFA–трифторуксусная кислота
 THF–тетрагидрофуран

V применяют для обозначения объема (в мл) на вес (в г) исходного соединения. Так, если есть 1 г исходного соединения, 10 V будет обозначать 10 мл указанной жидкости.

Примеры

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими примерами, которые приведены только в качестве иллюстрации, и их не следует считать ограничивающими объем настоящего изобретения.

Иллюстративный пример 1: получение диастереоизомерной смеси бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфиламино]пропионовой кислоты 5 (иллюстративный пример соединения формулы IIb).



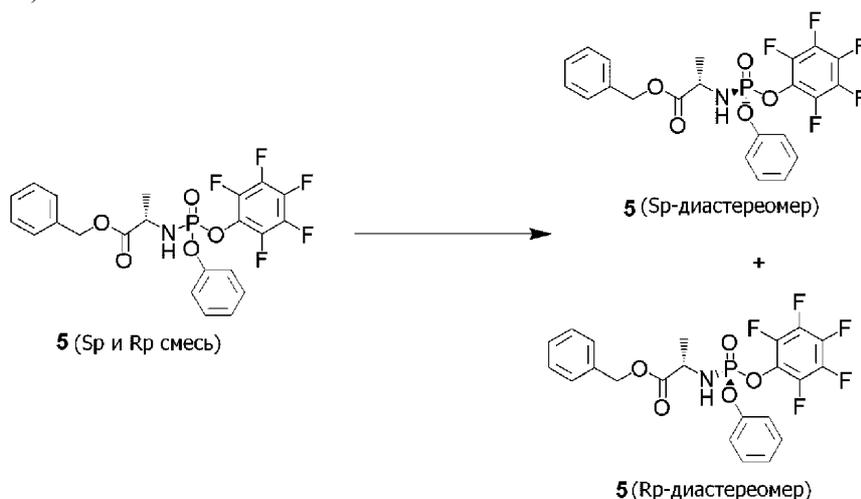
К перемешиваемой смеси гидрохлорида бензилового эфира L-аланина 1 (100 г) в хлористом метиле (1 л) добавляли фенилдихлорфосфат 2 (77 мл) при 25-35°C, и полученную в результате смесь охлаждали до -70°C-78°C, добавляли триэтиламин (130,5 мл), и смесь перемешивали в течение 1 ч при той же температуре. Температуру реакционной массы повышали до 25-35°C и перемешивали в течение 2 ч. После завершения реакции, реакционную массу концентрировали в вакууме ниже 35°C, получая остаток. К полученному остатку добавляли диизопропиловый эфир (2 л) при 25-35°C и перемешивали в течение 30 мин при той же температуре. Фильтровали реакционную массу и промывали диизопропиловым эфиром

(500 мл), с последующим концентрированием фильтрата в вакууме ниже 35°C, получая фенол(бензоксипропионил)фосфорхлоридат 3. Полученное соединение растворяли в хлористом метиле (1 л) при 25-35°C и охлаждали до -5°C-10°C. К реакционной массе добавляли пентафторфенол 4 (85,5 г) и триэтиламин (65,2 мл) при той же температуре и перемешивали в течение 2 ч. После завершения реакции, концентрировали реакционную массу в вакууме ниже 35°C и загружали этилацетат (1 л) при 25-35°C и перемешивали в течение 30 мин при той же температуре. Фильтровали твердый остаток и промывали этилацетатом (1 л). К фильтрату добавляли воду (1 л), 10% карбонат натрия (2×1 л), соляной раствор (1 л) и сушили органический слой безводным сульфатом натрия, концентрировали в вакууме при 35-45°C, получая диастереоизомерную смесь заявленного в заголовке соединения 5 в виде белого полутвердого остатка.

Выход: 210 г.

Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 33,74:66,26% (R_p:S_p).

Иллюстративный пример 2: отделение S_p-диастереоизомера бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 5 (иллюстративный пример соединения формулы IIb).



К диастереоизомерной смеси соединения 5 (210 г; R_p:S_p-33,74:66,26%) добавляли 20% этилацетат в гексане (1,2 л) при 25-35°C и перемешивали в течение 1 часа. Фильтровали твердый остаток и промывали 20% этилацетатом в гексане (300 мл), получая смесь диастереоизомерной смеси соединения 5.

Выход: 112 г.

Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 22,13:77,87% (R_p:S_p).

Фильтрат концентрировали в вакууме, получая диастереоизомерную смесь соединения 5 (75 г; R_p:S_p-65,43:34,57%).

К диастереоизомерной смеси соединения формулы IIb (112 г; R_p:S_p-22,13:77,87%) добавляли 20% этилацетат в гексане (1,2 л) при 25-35°C и перемешивали в течение 1 часа. Фильтровали твердый остаток и промывали 20% этилацетатом в гексане (300 мл), получая по существу чистый S_p-диастереоизомер соединения 5.

Выход: 80 г.

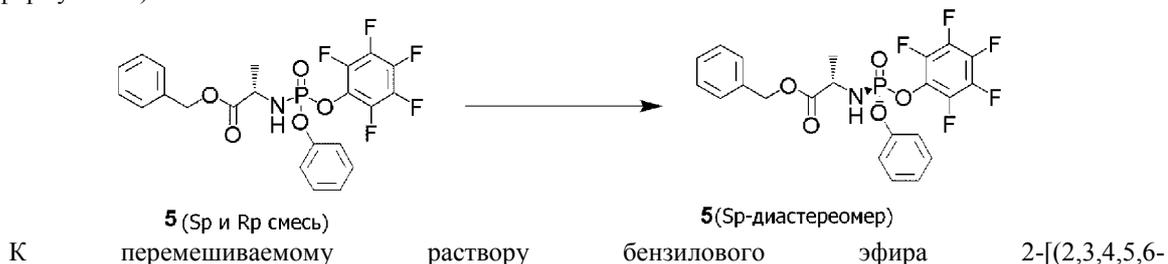
Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 0,20:99,80% (R_p:S_p).

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): 7,18-7,41(м, 10H), 6,91-6,99(д, 1H), 5,10(с, 2H), 4,01-4,11(м, 1H), 1,30-1,32(д, 3H).

ESI-MS (m/z): 524 (M+1).

Фильтрат концентрировали в вакууме, получая диастереоизомерную смесь соединения 5 (28 г; R_p:S_p-80,77:19,23%).

Иллюстративный пример 3: обогащение S-изомером бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 5 (иллюстративный пример соединения формулы IIb).



пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 5 (75 г; $R_p:S_p$ -65,43:34,57%) в 20% этилацетате в гексане (1,1 л), добавляли триэтиламин (7,5 мл) при 25-35°C и перемешивали в течение 6 ч при той же температуре. После завершения реакции, реакцию массу гасили водой (750 мл) и экстрагировали этилацетатом (750 мл). Органический слой сушили безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме, получая заявленное в заголовке соединение в виде твердого остатка.

Выход: 45 г.

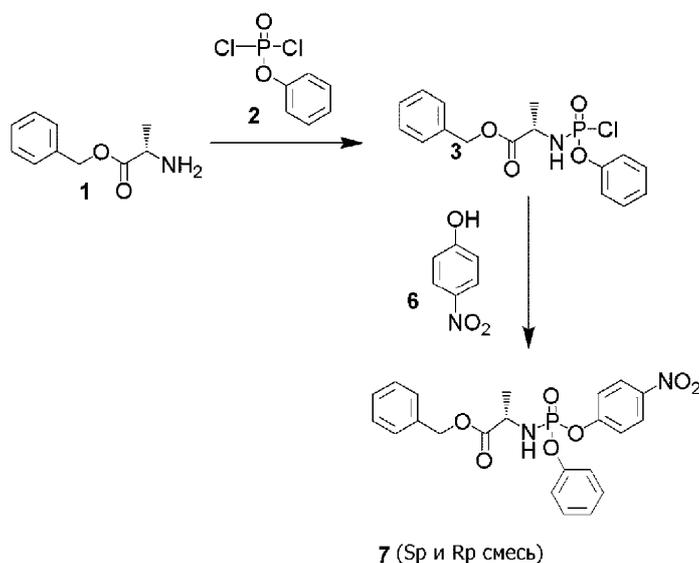
Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 91,29: 8,71% ($S_p:R_p$).

Полученную выше R_p и S_p -диастереоизомерную смесь бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 5 (45 г; $R_p:S_p$ -8,71:91,29%) суспендировали в 20% этилацетате в гексане (1,1 л) при 25-30°C и перемешивали в течение 1 ч при той же температуре. Фильтровали твердый остаток и промывали 20% этилацетатом в гексане (225 мл), получая S_p -диастереоизомер заявленного в заголовке соединения в виде твердого остатка.

Выход: 19 г.

Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 99,92: 0,08% ($S_p:R_p$).

Иллюстративный пример 4: получение диастереоизомерной смеси бензилового эфира 2-[(4-нитрофенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 7 (иллюстративный пример соединения формулы 7b).



К перемешиваемой смеси гидрохлорида бензилового эфира L-аланина 1 (50 г) в хлористом метиле-не (500 мл) добавляли фенилдихлорфосфат 2 (54 г) при 25-35°C, и полученную в результате смесь охлаждали до -70°C-78°C, добавляли триэтиламин (65,2 мл) и перемешивали в течение 1 ч при той же температуре. Температуру реакционной массы повышали до 25-35°C и перемешивали в течение 2 ч. После завершения реакции, концентрировали реакционную массу в вакууме ниже 35°C, получая остаток. К полученному остатку добавляли диизопропиловый эфир (1 л) при 25-35°C и перемешивали в течение 30 мин при той же температуре. Фильтровали реакционную массу и промывали диизопропиловым эфиром (250 мл), с последующим концентрированием фильтрата в вакууме ниже 35°C, получая фенил(бензоксид- L-аланинил)фосфорхлоридат 3. Полученное соединение растворяли в хлористом метиле-не (500 мл) при 25-35°C и охлаждали до -5°C-10°C. К реакционной массе добавляли 4-нитрофенол 6 (27,5 г), триэтиламин (65,2 мл) при той же температуре и перемешивали в течение 2 ч. После завершения реакции, концентрировали реакционную массу в вакууме ниже 35°C и загружали этилацетат (500 мл) при 25-35°C и перемешивали в течение 30 мин при той же температуре. Фильтровали твердый остаток и промывали этилацетатом (500 мл). К фильтрату добавляли воду (500 мл), 10% карбонат натрия (2×500 мл), соляной раствор (500 мл), и сушили органический слой безводным сульфатом натрия, концентрировали в вакууме при 35-40°C, получая диастереоизомерную смесь заявленного в заголовке соединения 7 в виде густой маслянистой жидкости.

Выход: 90 г.

Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 45,6: 54,94% ($R_p:S_p$).

Полученную выше диастереоизомерную смесь бензилового эфира 2-[(4-нитрофенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 7 (40 г; $R_p:S_p$ -45,6: 54,94%) разделяли на чистые S_p и R_p диастереоизомеры препаративной ВЭЖХ и концентрировали чистые фракции в вакууме, получая S_p и R_p диастереоизомеры отдельно.

Выход: S_p -диастереоизомер: 8 г,

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3): 8,15-8,19 (д, 2H), 7,15-7,37 (м, 12H), 5,12 (с, 2H), 4,02-4,24 (м, 2H), 1,39-

1,42 (д, 3H).

ESI-MS (m/z): 479 (M+Na).

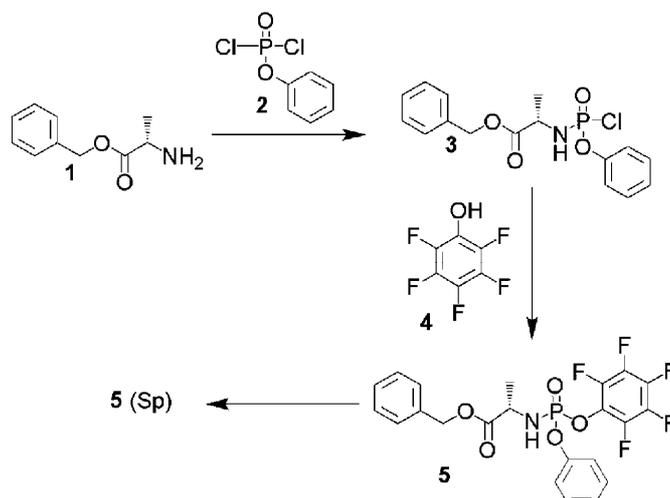
R_p-диастереоизомер: 6 г,

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): 8,08-8,13 (д, 2H), 7,15-7,34 (м, 12H), 5,10 (с, 2H), 4,48-4,56 (м, 1H), 4,11-4,20 (м, 1H), 1,39-1,41 (д, 3H).

ESI-MS (m/z): 457 (M+1) +

S_p и R_p-диастереоизомерная смесь: 20 г.

Иллюстративный пример 5: получение бензилового эфира (Sp)-2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфиламино]пропионовой кислоты 5 (иллюстративный пример соединения формулы Пв).

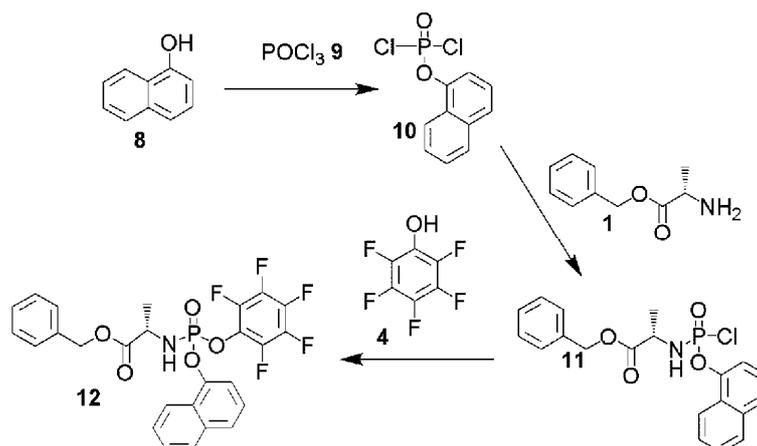


К перемешиваемой смеси гидрохлорида бензилового эфира L-аланин 1 (100 г) в 1000 мл хлористого метилена добавляли фенилдихлорфосфат 2 (97,8 г) в реакционную массу при 30°C. Смесь охлаждали до -20°C и добавляли медленно триэтиламин (93,8 г), поддерживая температуру равной -20°C. Реакцию перемешивали в течение 1 ч при -20°C, затем нагревали до 10°C (10±5) и перемешивали в течение дополнительных 1,5 ч.

Раствор пентафторфенола 4 (85,3 г) в 100 мл хлористого метилена медленно добавляли при 10°C, с последующим добавлением триметиламина (46,8 г), который добавляли медленно, поддерживая температуру равной 10°C. Медленно добавляли 46,9 г триэтиламина в реакционную массу при 10°C (10±5) в атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение 2 ч при 10°C перед прекращением реакции медленным добавлением 0,5 N HCl раствора, поддерживая температуру равной 10°C. После нагревания до комнатной температуры, смесь отделяли, и органический слой промывали насыщенным раствором бикарбоната, дистиллированной водой и соляным раствором перед концентрированием в вакууме.

Неочищенную смесь суспендировали в 1500 мл 20% этилацетата в н-гептане при 25°C. Добавляли триэтиламин (12,2 г), и смесь перемешивали при 25°C. Смесь фильтровали, и твердый остаток растворяли в 2500 мл этилацетата, который промывали водой и соляным раствором и концентрировали в вакууме. Твердый остаток суспендировали в 1200 мл 20% этилацетата в н-гептане, перемешивали в течение 45-60 мин и фильтровали. Материал сушили в вакууме, получая требуемый продукт 5-(Sp). Выходы были в диапазоне 40-80%, и диастереоизомерная чистота была выше 99%.

Пример 6: получение диастереоизомерной смеси бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)нафт-1-оксифосфиламино]пропионовой кислоты 12 (иллюстративный пример соединения формулы Па).



Альфа-нафтол 8 (100 г) растворяли в DCM (1 л) при 25°C и POCl₃ 9 (1,1 экв.) добавляли при 25°C и перемешивали в течение 10 минут перед тем, как смесь охлаждали до -70°C и перемешивали в течение 10 мин. Медленно добавляли триэтиламин (1,1 экв.), поддерживая температуру ниже -70°C, и смесь перемешивали в течение 1 ч при -70°C. Смесь нагревали до 25°C и перемешивали в течение 1 ч перед охлаждением до -50°C. Добавляли к смеси бензильного эфира L-аланина 1 (HCl соль; 1 экв.), которую перемешивали в течение 10 мин перед тем, как триэтиламин (2,2 экв.) в DCM (200 мл) добавляли при -50°C в течение 30 мин. Смесь перемешивали в течение 1 ч при -50°C перед нагреванием до 25°C и перемешивали в течение дополнительного 1 ч. Смесь охлаждали до -10°C и перемешивали в течение 10 мин перед тем, как медленно добавляли пентафторфенол 4 в DCM (200 мл) к реакционной массе ниже -10°C. Смесь перемешивали при -10°C в течение 10 мин перед тем, как триэтиламин (1,1 экв.) добавляли в течение 30 мин при -10°C. Смесь перемешивали при -10°C в течение 1 ч перед тем, как смесь нагревали до 0°C. Добавляли воду (1 л), и смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C. Смесь нагревали до 25°C и перемешивали в течение 5-10 минут перед тем, как органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали DCM (500 мл). Объединенные органические слои промывали 7% раствором бикарбоната натрия (2X1 л), и органический слой сушили над безводным сульфатом натрия перед концентрированием в вакууме.

50% IPA/воду (2,4 л) добавляли к неочищенному соединению и перемешивали в течение 1 ч при 25°C. Твердое соединение фильтровали, и влажный остаток на фильтре промывали 50% IPA/вода (500 мл) перед сушкой в вакууме. Снова добавляли 50% IPA/воду (2,4 л) к неочищенному соединению и перемешивали в течение 1 ч при 25°C перед фильтрованием, и влажный остаток на фильтре снова промывали 50% IPA/водой (500 мл) перед сушкой в вакууме. Наполовину высушенное соединение промывали циклогексаном (10 об/вес) при 25-30°C в течение 1 ч перед тем, как полутвердое соединение промывали циклогексаном (2 л), и влажное соединение 12 сушили в вакууме при 55-60°C в течение 12 ч.

Результаты.

Вес соединения: 252 г.

Общий выход: 66%.

ВЭЖХ чистота: 98,31% (диастереоизомерное соотношение составляет 1:1).

³¹P ЯМР (202 МГц, CDCl₃): δ_P-1,35,-1,41; ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ_H 8,13-8,10 (1H, м, H-Ar), 7,90-7,88 (1H, м, H-Ar), 7,73 (1H, видимый д, J=8,5 Гц, H-Ar), 7,62-7,55 (3H, м, H-Ar), 7,45-7,41 (1H, м, H-Ar), 7,36-7,28 (5H, м, H-Ar), 5,01 (1H, видимый с, CH₂Ph), 5,12 (1H, кв, J=12,5 Гц, CH₂Ph), 4,38-4,31 (1H, м, NHCHCH₃), 4,17-4,08 (1H, м, NHCHCH₃), 1,49, 1,47 (3H, 2 х д, J= 3,5 NHCHCH₃); MS (ES⁺) m/z: 574 (M+Na⁺, 100%), Точная масса: C₂₆H₁₉F₅NO₅P требуемая 551,40 найденная 574,05 (M+Na⁺); Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя H₂O/MeOH в 20/80 в течение 35 мин, F=1 мл/мин, λ=254, два пика для двух диастереоизомеров с t_R=12,96, 14,48 мин.

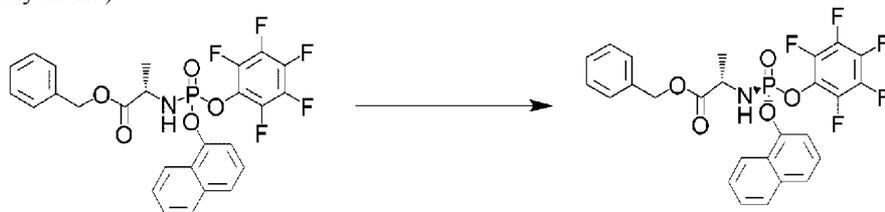
Диастереоизомеры соединения 12 разделяли ВЭЖХ Biotage Isolera, применяя C18 SNAP Ultra (30 г) картридж со смесью MeOH/H₂O (70%/30%) в качестве элюента, получая: быстро элюирующийся изомер (считают R_p диастереоизомером) и медленно элюирующийся изомер (считают, S_p диастереоизомером)

Ремарка: изомеры называли как быстро элюирующийся (FE) и медленно элюирующийся (SE), исходя из времени удерживания на C18 (обращено-фазовом) картридже и ВЭЖХ аналитической колонке.

Быстро элюирующийся изомер (считают R_p диастереоизомером): ³¹P ЯМР (202 МГц, CDCl₃): δ_P-1,41; ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ_H 8,02 (1H, дд, J=7,0, 2,0 Гц, H-Ar), 7,79 (1H, дд, J=6,5, 3,0 Гц, H-Ar), 7,64 (1H, д, J=8,5 Гц, H-Ar), 7,53-7,45 (3H, м, H-Ar), 7,33 (1H, т, J=8,0 Гц, H-Ar), 7,28-7,23 (5H, м, H-Ar), 5,09 (с, 2H, CH₂Ph), 4,29-4,21 (1H, м, NHCHCH₃), 4,02-3,97 (1H, м, NHCHCH₃), 1,38 (3H, д, J=7,0 Гц, NHCHCH₃); MS (ES⁺) m/z: MS (ES⁺) m/z: 574 (M+Na⁺, 100%), Точная масса: C₂₆H₁₉F₅NO₅P требуемая 551,40 найденная 574,05 (M+Na⁺); Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя H₂O/MeOH в 20/80 в течение 35 мин, F=1 мл/мин, λ=254, t_R=2,96.

Медленно элюирующийся изомер (считают Sp диастереоизомером): ^{31}P ЯМР (202 МГц, CDCl_3): δ_{P} -1,36; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ_{H} 8,14-8,11 (1H, м, H-Ar), 7,90-7,87 (1H, м, H-Ar), 7,74 (1H, д, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,60 (1H, д, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,58-7,55 (2H, м, H-Ar), 7,44 (1H, т, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,34-7,30 (5H, м, H-Ar), 5,12 (2H, кв, $J=12,5$ Гц, CH_2Ph), 4,35-4,29 (1H, м, NHCHCH_3), 4,04-4,00 (1H, м, NHCHCH_3), 1,48 (3H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3); MS (ES+) m/z: MS (ES+) m/z: 574 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100%), Точная масса: $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{F}_5\text{NO}_5\text{P}$ требуемая 551,40 найденная 574,05 ($\text{M}+\text{Na}^+$); Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ в 20/80 в течение 35 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$, $t_{\text{R}}=14,48$.

Иллюстративный пример 7: обогащение Sp-диастереоизомером бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)нафт-1-оксифосфиламино]пропионовой кислоты 12 (иллюстративный пример соединения формулы Пв).



12 (Sp и Rp смесь)

12 (Sp-диастереомер)

Диастереоизомерную смесь 1:1 соединения 12 (25 г) растворяли в 10% МТВЕ/н-гексане (500 мл), и добавляли к реакционной массе триэтиламин (2,5 мл) при 25°C. Смесь перемешивали в течение 80 ч при 30°C. Смесь фильтровали, и влажный остаток на фильтре промывали 10% МТВЕ/н-гексаном (75 мл) перед сушкой в вакууме 30 мин. Добавляли 50% IPA/воду (200 мл) к неочищенному соединению выше и перемешивали в течение 1 ч при 25-35°C перед фильтрованием. Влажный остаток на фильтре промывали 50% IPA/водой (100 мл) перед сушкой в вакууме при 55-60°C в течение 12 ч.

Результат:

вес соединения: 17 г,

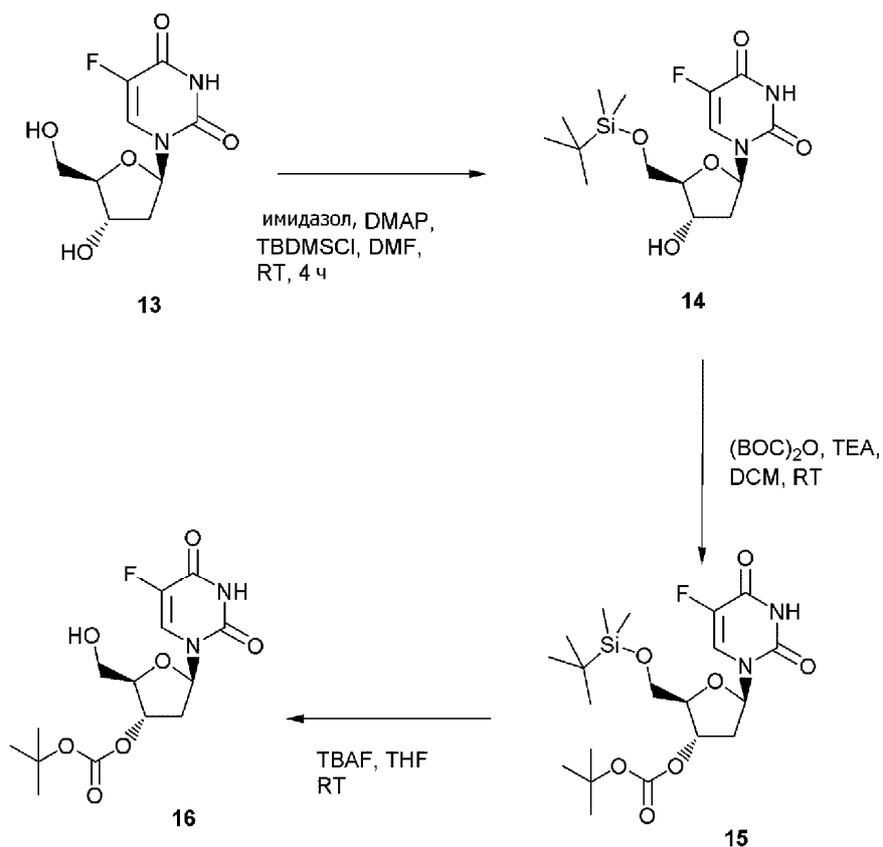
выход: 68%,

ВЭЖХ чистота : 97,66%.

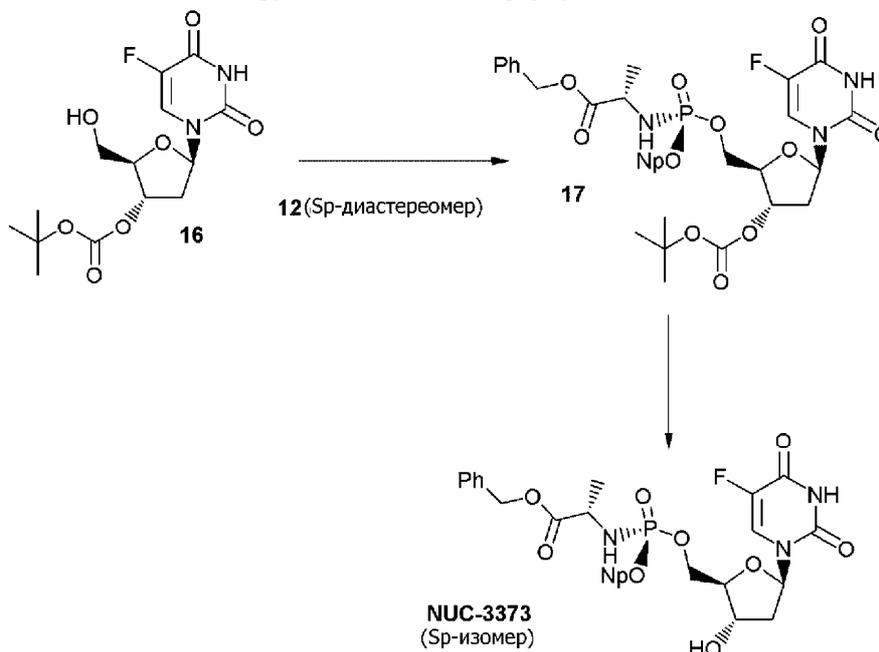
Медленно элюирующийся изомер (считают Sp-диастереоизомером): ^{31}P ЯМР (202 МГц, CDCl_3): δ_{P} -1,36; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ_{H} 8,14-8,11 (1H, м, H-Ar), 7,90-7,87 (1H, м, H-Ar), 7,74 (1H, д, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,60 (1H, д, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,58-7,55 (2H, м, H-Ar), 7,44 (1H, т, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,34-7,30 (5H, м, H-Ar), 5,12 (2H, кв, $J=12,5$ Гц, C_2H_5), 4,35-4,29 (1H, м, NHCHCH_3), 4,04-4,00 (1H, м, NHCHCH_3), 1,48 (3H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3); MS (ES+) m/z: MS (ES+) m/z: 574 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100%), Точная масса: $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{F}_5\text{NO}_5\text{P}$ требуемая 551,40 найденная 574,05 ($\text{M}+\text{Na}^+$); Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ в 20/80 в течение 35 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$, $t_{\text{R}}=14,48$.

Стереохимию (Rp относительно Sp) двух изомеров соединения 12, описанных выше, приписывали ориентировочно на основе сравнения ^{31}P химических сдвигов, ^1H ЯМР спектров и ВЭЖХ времени удерживания NUC-3373 изомеров, полученных, применяя изомеры соединения 12, с данными показателями других ProTides, известных в литературе. Как упоминается выше, стереохимия фосфатного стереоцентра обращается в способе настоящего изобретения, поэтому (Sp)-диастереоизомер соединения формулы 12 будет образовывать (Sp)-диастереоизомер NUC-3373, и, аналогично, (R)-диастереоизомер соединения формулы 12 будет образовывать (R)-диастереоизомер NUC-3373. Приписывание стереохимии подкрепляется порошковой дифракцией рентгеновских лучей и дифференциальной сканирующей калориметрией, которые выполняли на двух изомерах соединения 12, но сама по себе она не является окончательной.

Пример 8: получение Sp и Rp изомеров NUC-3373 3'-ВОС защищенный FUDR 16 можно получить согласно следующей схеме.



Затем, соединение 16 конденсируют с соединением формулы Па.



Соединение 16 (1 г) и Sp изомер соединения 12 (1,2 экв.) растворяли в THF (10 мл), и смесь охлаждали до 0°C. К смеси добавляли трет-бутилмагнийхлорид (2,5 экв., 2,0 М в THF) в течение 15 мин. Смесь нагревали и перемешивали при 25°C в течение 4 ч. Смесь охлаждали до 10°C и добавляли насыщенный раствор хлорида аммония (10 мл). Этилацетат (10 мл) добавляли к смеси, и органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом (5 мл). Объединенные органические слои промывали деионизированной водой (5 мл), с последующей промывкой 20% раствором хлорида натрия (5 мл). Органические слои сушили над безводным сульфатом натрия перед концентрированием в вакууме, получая 2,16 г соединения 17 (100% выход неочищенного).

Неочищенное соединение 17 (1 г) растворяли в DCM (5 мл) и охлаждали до 10°C. TFA (2 мл) медленно добавляли к смеси, поддерживая температуру ниже 20°C. Смесь нагревали до 30°C и перемешива-

ли в течение 6 ч. Смесь охлаждали до 10°C и медленно добавляли деионизированную воду (5 мл), поддерживая температуру ниже 20°C. После перемешивания в течение 10 мин, органический слой отделяли, и водный слой экстрагировали DCM (5 мл). Объединенные органические слои промывали деионизированной водой (2X5 мл), 7% раствором бикарбоната натрия (2X5 мл) и 20% раствором хлорида натрия (5 мл) перед сушкой безводным сульфатом натрия (1 вес/вес) и концентрировали в вакууме. Неочищенное соединение очищали колоночной хроматографией в этилацетате/DCM, применяя силикагель (100-200 мэш). Чистое соединение элюировали в 50% этилацетате/DCM-100% этилацетате. Объединенные чистые фракции концентрировали в вакууме перед тем, как суспензию соединения промывали циклогексаном (5 мл).

Результаты:

вес NUC-3373 (Sp изомер): 9,3 г,

Общий выход: 70%,

ВЭЖХ чистота: 96,86%.

¹H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 8,16-8,14 (м, 1H, H-Ar), 7,90-7,80 (м, 1H, H-Ar), 7,72-7,70 (м, 2H, H-Ar), 7,54-7,49 (м, 3H, H-Ar, H-6), 7,43 (видимый т, 1H, J=8,0 Гц, H-Ar), 7,35-7,27 (м, 5H, H-Ar), 6,16-6,13 (м, 1H, H-1'), 5,11 (AB система, J=12,0 Гц, 2H, OCH₂Ph), 4,35-4,33 (м, 2H, 2 x H-5'), 4,30-4,28 (м, 1H, H-3'), 4,14-4,08 (м, H, CHCH₃), 4,07-4,04 (м, 1H, H-4'), 2,14-2,09 (м, 1H, H-2'), 1,74-1,68 (м, 1H, H-2'), 1,35 (д, J=7,0 Гц, 3H, CHCH₃);

¹³C-ЯМР (125 МГц, MeOD): δ_C 174,92 (д, ³J_{C-P}=3,75 Гц, C=O, эфир), 159,37 (д, ²J_{C-F}=25,9 Гц, C=O, основание), 150,54 (д, ⁴J_{C-F}=4,0 Гц, C=O, основание), 147,99 (д, ²J_{C-P}=7,1 Гц, C-Ar, Naph), 141,75 (д, ¹J_{C-F}=232,1 Гц, CF-основание), 137,18, 136,29 (C-Ar), 129,59, 129,36, 128,90, 127,91 (CH-Ar), 127,83 (д, ³J_{C-P}=5,4 Гц, C-Ar, Naph), 127,59, 126,52, 126,50, 126,18 (CH-Ar), 125,54 (д, ²J_{C-F}=34,1 Гц, CH-основание), 122,64 (CH-Ar), 116,29 (д, ³J_{C-P}=2,75 Гц, CH-Ar, Naph), 86,95 (C-1'), 86,67 (д, ³J_{C-P}=8,1 Гц, C-4'), 72,12 (C-3'), 68,05 (OCH₂Ph), 67,85 (д, ²J_{C-P}=5,3 Гц, C-5'), 51,96 (CHCH₃), 40,84 (C-2'), 20,52 (д, ³J_{C-P}=7,5 Гц, CHCH₃).

³¹P-ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P 4,62;

¹⁹F ЯМР (470 МГц, MeOD): δ_F -167,19;

(ES+) m/z: найденная: (M+Na⁺) 636,1520. C₂₉H₂₉N₃O₉FNaP требуемая: (M+), 613,15.

Обращенная ВЭЖХ (Varian Pursuit XR5 5 C18, 150×4,6 мм) элюируя (H₂O/AcCN от 90/10 до 0/100) в течение 35 мин, t_R 16,61 мин.

Rp изомер NUC-3373 можно получить проведением способа выше, но исходя из Rp диастеремера соединения 12:

¹H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 8,17-8,15 (м, 1H, H-Ar), 7,91-7,88 (м, 1H, H-Ar), 7,72-7,69 (м, 2H, H-Ar), 7,56-7,52 (м, 2H, H-Ar, H-6), 7,50-7,48 (м, 1H, H-Ar), 7,39 (видимый т, J=8,0 Гц, 1H, H-Ar), 7,35-7,28 (м, 5H, H-Ar), 6,16-6,09 (м, 1H, H-1'), 5,13 (с, 2H, OCH₂Ph), 4,35-4,25 (м, 3H, 2 x H-5', H-3'), 4,14-4,08 (м, 1H, CHCH₃), 4,05-4,03 (м, 1H, H-4'), 2,15-2,10 (м, 1H, H-2'), 1,74-1,68 (м, 1H, H-2'), 1,36 (д, J=7,0 Гц, 3H, CHCH₃);

¹³C-ЯМР (125 МГц, MeOD): δ_C 174,58 (д, ³J_{C-P}=5,0 Гц, C=O, ester), 159,38 (д, ²J_{C-F}=26,3 Гц, C=O), 150,48 (C=O основание), 147,80 (д, ²J_{C-P}=6,5 Гц, C-Ar, Naph), 141,67 (д, ¹J_{C-F}=232,5 Гц, CF-основание), 137,15, 136,26 (C-Ar), 129,62, 129,40, 129,36, 128,96, 127,89 (CH-Ar), 127,84 (д, ³J_{C-P}=5,5 Гц, C-Ar, Naph), 127,59, 126,57, 126,55, 126,21 (CH-Ar), 125,61 (д, ²J_{C-F}=34,0 Гц, CH-основание), 122,62 (CH-Ar), 116,55 (д, ³J_{C-P}=3,75 Гц, CH-Ar, Naph), 86,97 (C-1'), 86,66 (д, ³J_{C-P}=7,5 Гц, C-4'), 72,01 (C-3'), 68,07 (OCH₂Ph), 67,84 (д, ²J_{C-P}=5,0 Гц, C-5'), 51,83 (CHCH₃), 40,89 (C-2'), 20,42 (д, ³J_{C-P}=7,5 Гц, CHCH₃).

³¹P-ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P 4,27;

¹⁹F ЯМР (470 МГц, MeOD): δ_F -167,27;

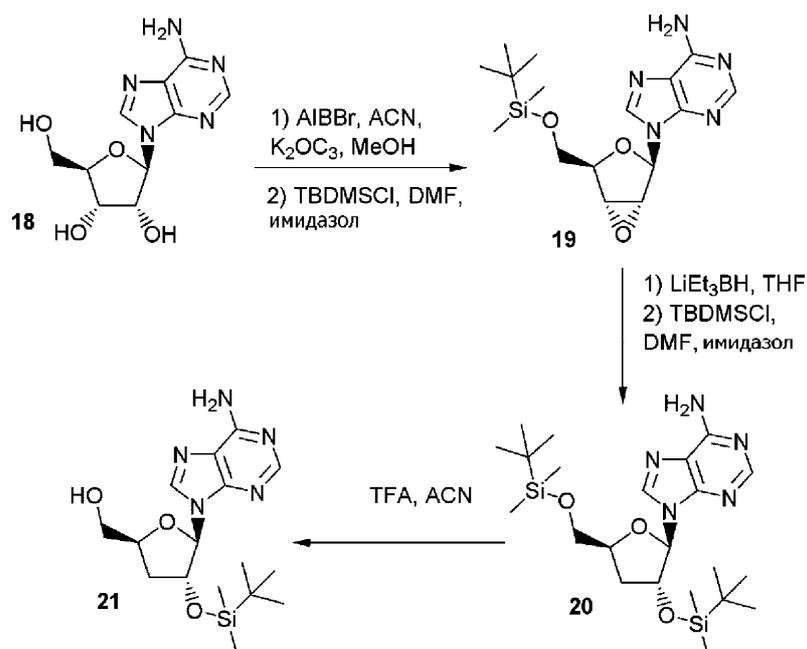
(ES+) m/z: найденная: (M+Na⁺) 636,1520. C₂₉H₂₉N₃O₉FNaP требуемая: (M+), 613,15.

Обращенная ВЭЖХ (Varian Pursuit XR5 5 C18, 150×4,6 мм) элюируя (H₂O/MeOH от 90/10 до 0/100) в течение 35 мин, t_R 16,03 мин.

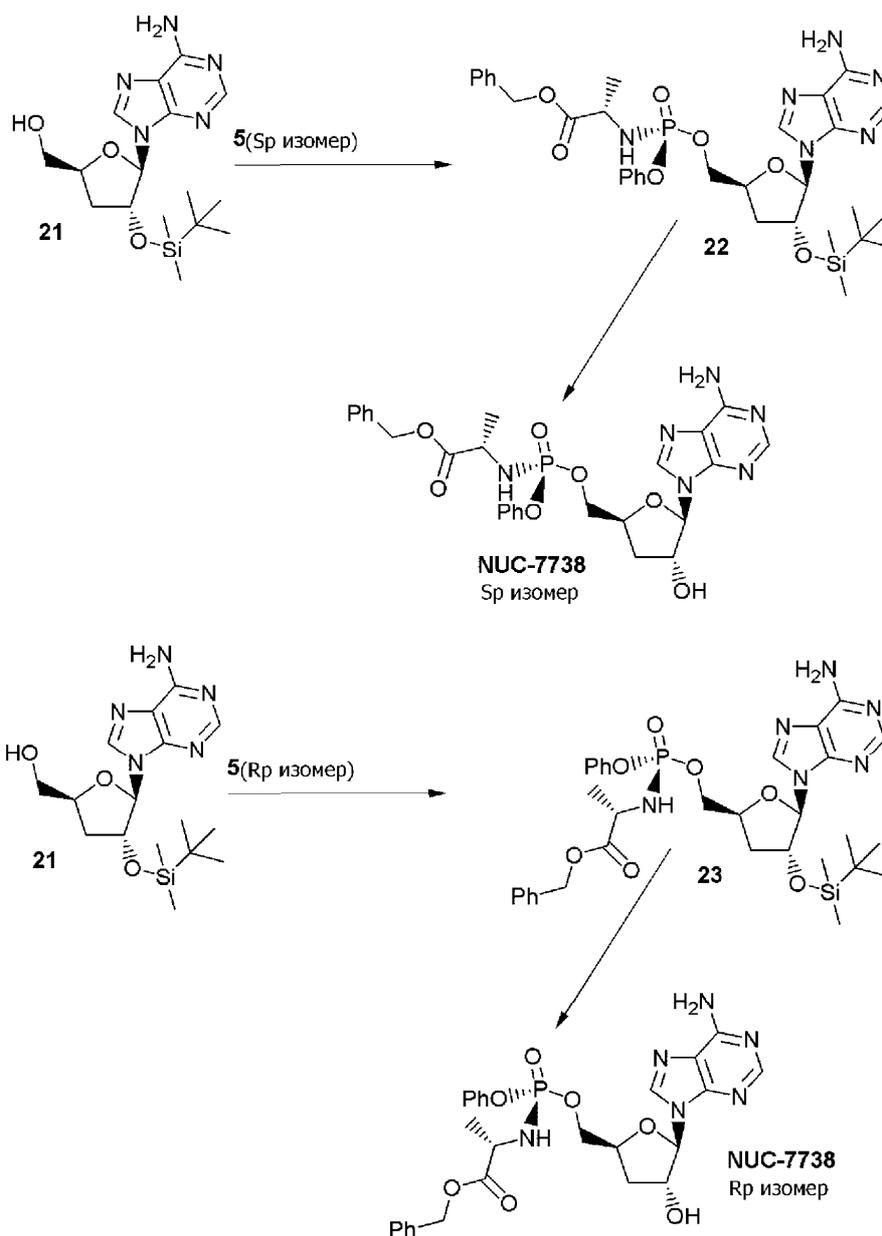
Стереохимию (Rp относительно Sp) двух NCU-3373 изомеров, описанных выше, приписывали ориентировочно, исходя из сравнения ³¹P химического сдвига, ¹H ЯМР спектров и ВЭЖХ времени удерживания с данными показателями ProTides, известных в литературе. Стереохимию соединения 12 приписывали ориентировочно, исходя из того, какой изомер NUC-3373 образует данный изомер соединения 12.

Иллюстративный пример 9: получение Sp и Rp изомеров NUC-7738.

2'-ГВДМС защищенный 3'-дезоксаденозин 21 можно получить согласно следующей схеме.



Затем, соединение 21 конденсируют с соединением формулы IIb, применяя условия способа конденсации, описанного в примере 8. Для получения NUC-7738, TBDMS группу можно удалять, применяя TFA в THF.



Аденозин (18) в эпоксид 19.

Один эквивалент аденозина (18) растворяли в 10 V ацетонитрила, и смесь охлаждали до 15°C. Медленно добавляли 3,0 молярных эквивалента ацетоксиизобутирилбромид при 15°C. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 8 ч. Реакцию гасили раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали 5% раствором хлорида натрия, и органические слои концентрировали в вакууме.

Продукт растворяли в 15 V метанола и 1 эквивалент по весу карбоната калия добавляли перед перемешиванием в течение 2 часов. Смесь концентрировали в вакууме, и продукт промывали водой перед сушкой продукт в вакууме при 60°C, получая 2',3'-ангидроаденозин с выходом 70-85%.

1 эквивалент 2',3'-ангидроаденозина и 1,6 эквивалента имидазола растворяли в 5 V DMF. Смесь охлаждали до 15°C и добавляли 0,8 эквивалента TBDMSCl. Смесь перемешивали в течение 1-2 часов при 30°C перед добавлением дополнительных 0,4 эквивалента имидазола и 0,4 эквивалента TBDMSCl. Смесь перемешивали в течение следующих 1-2 часов при 30°C перед добавлением воды (5 V). Смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои последовательно промывали 7% раствором бикарбоната натрия, водой и 5% раствором хлорида натрия перед концентрированием в вакууме. Продукт промывали гептаном перед сушкой в вакууме при 50°C, получая эпоксид 19 с выходом 75-90%.

Эпоксид 19 в 5'-силлкордицепин 21.

1 Эквивалент эпоксида 19 растворяли в смеси DMSO (5V) и THF (5V). Смесь охлаждали до 0°C, и смесь продували азотом. Добавляли 1M триэтилборгидрид лития (1 экв.) в THF при 0(±5)°C в течение 1-2 часов. Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут, нагревали до 30°C и перемешивали в течение 2

часов перед тем, как медленно добавляли метанол (10 V) при 5°C. 10 V 10% гидроксида натрия, и затем 10 V 10% раствора пероксида водорода добавляли по каплям при 5°C. Смесь экстрагировали этилацетатом, и объединенные органические слои промывали последовательно 10% раствором метабисульфитом натрия, водой, 7% раствором бикарбоната натрия и 10% раствором хлорида натрия перед концентрированием в вакууме. Продукт промывали гептаном перед сушкой в вакууме при 50°C, получая 2'-силилкордицепин с выходом 70-100%.

2'-силилкордицепин, 2,5 эквивалента имидазола и 0,15 эквивалентов DMAP растворяли в 5V DMF. Смесь охлаждали до 15°C перед добавлением порциями 2,5 эквивалентов TBDMSCl. Реакцию перемешивали в течение 4 часов при 30°C перед охлаждением до 15°C. Добавляли 10 V воды, и смесь экстрагировали этилацетатом. Органические слои промывали 7% раствором бикарбоната натрия, водой и 5% хлоридом натрия перед концентрированием в вакууме.

Смесь растворяли в 8V и добавляли 2 V воды перед тем, как смесь охлаждали до 0°C. 2,5 экв. трифторуксусной кислоты добавляли к реакционной смеси при 0°C в течение 30-60 мин. Смесь нагревали до 10°C и перемешивали в течение 4-6 ч при 10°C. Добавляли воду, и смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали 7% раствором бикарбоната натрия, водой (дважды) и 5% раствором хлорида натрия перед концентрированием в вакууме. Продукт промывали гептаном и сушили в вакууме, получая 5'-силилкордицепин 21 с выходом 40-70%.

5'-Силилкордицепин 21 в S_p-NUC-7738.

5'-силилкордицепин 21 растворяли в 10 об ТНФ и охлаждали до 0°C. Добавляли 2,0M трет-БуMgCl (2,5 эквивалента), и смесь перемешивали в течение 15 мин. S_p изомер соединения 5 (2,5 экв.) растворяли в 5 V ТНФ и добавляли к реакции при 0°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин перед нагреванием до 25°C и перемешивали в течение следующих 2 часов. Реакцию гасили 10% раствором хлорида аммония (10 V) и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали водой и 10% соляным раствором перед концентрированием в вакууме.

Продукт растворяли в ТНФ (10V) перед охлаждением до 0°C. Смесь 10 V TFA и воды (1:1) добавляли к реакции в течение 30 минут перед тем, как смесь перемешивали в течение 45 мин, нагревали до 30°C и перемешивали в течение следующих 16 ч. Реакцию гасили 7% NaHCO₃ раствором (90 объемов) при 0°C перед экстрагированием этилацетатом. Объединенные органические слои промывали водой, 7% раствором бикарбоната натрия и 10% соляным раствором перед концентрированием в вакууме.

Продукт очищали колоночной хроматографией, применяя силикагель (100-200 мэш), колонку элюировали 2-10% MeOH в DCM, получая S_p-NUC-7738 с выходом 40%. ВЭЖХ чистота продукта составляла 99,50%, и хиральная ВЭЖХ показала, что S_p изомер составляет 99,90%, и R_p изомер составляет 0,10%.

Тот же способ осуществляли, получая R_p-NUC-7738.

R_p-NUC-7738:

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ_H 8,26 (с, 1H, H8), 8,22 (с, 1H, H2), 7,37-7,25 (м, 7H, Ar), 7,22-7,12 (м, 3H, Ar), 6,01 (д, J=1,5 Гц, 1H, H1'), 5,12 (AB кв, J_{AB}=12,0 Гц, Δδ_{AB}=0,04, 2H, CH₂Ph), 4,74-4,70 (м, 1H, H2'), 4,69-4,62 (м, 1H, H4'), 4,44-4,38 (м, 1H, H5'), 4,28-4,21 (м, 1H, H5'), 3,99-3,90 (м, 1H, CHCH₃ L-Ala), 2,35-2,27 (м, 1H, H3'), 2,09-2,02 (м, 1H, H3'), 1,29 (д, J=7,0 Гц, 3H, CHCH₃ L-Ala).

³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD) δ_P 3,91.

MS (ES+) m/z найденная 569,2 [M+H⁺], 591,2 [M+Na⁺], 1159,4 [2M+Na⁺] C₂₆H₂₉N₆O₇P требуемая m/z 568,2 [M].

Обращено-фазовая ВЭЖХ (Varian Pursuit XR5 5 C18, 150×4,6 мм) элюируя H₂O/CH₃CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, F: 1 мл/мин, λ=200 нм, показала один пик с t_R 14,02 мин.

S_p-NUC-7738:

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ_H 8,24 (с, 1H, H8), 8,22 (с, 1H, H2), 7,36-7,26 (м, 7H, Ar), 7,22-7,13 (м, 3H, Ar), 6,01 (д, J=1,5 Гц, 1H, H1'), 5,08 (AB кв, J_{AB}=12,0 Гц, Δδ_{AB}=0,01, 2H, CH₂Ph), 4,70-4,67 (м, 1H, H2'), 4,66-4,60 (м, 1H, H4'), 4,41-4,35 (м, 1H, H5'), 4,26-4,19 (м, 1H, H5'), 4,02-3,94 (м, 1H, CHCH₃ L-Ala), 2,36-2,27 (м, 1H, H3'), 2,08-2,01 (м, 1H, H3'), 1,34-1,30 (м, 3H, CHCH₃ L-Ala).

³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD) δ_P 3,73.

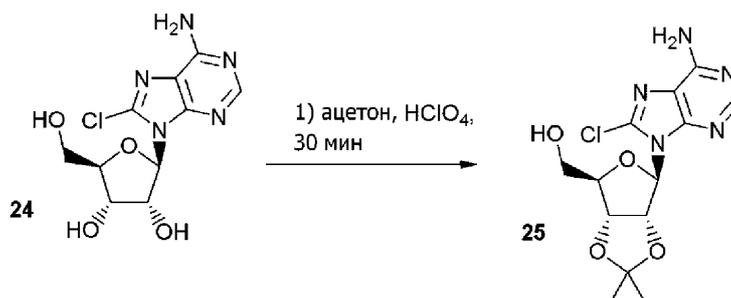
MS (ES+) m/z найденная 569,2 [M+H⁺], 591,2 [M+Na⁺], 1159,4 [2M+Na⁺] C₂₆H₂₉N₆O₇P требуемая m/z 568,2 [M].

Обращено-фазовая ВЭЖХ (Varian Pursuit XR5 5 C18, 150×4,6 мм) элюируя H₂O/CH₃CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 минут, F: 1 мл/мин, λ=200 нм, показала один пик с t_R 14,26 мин.

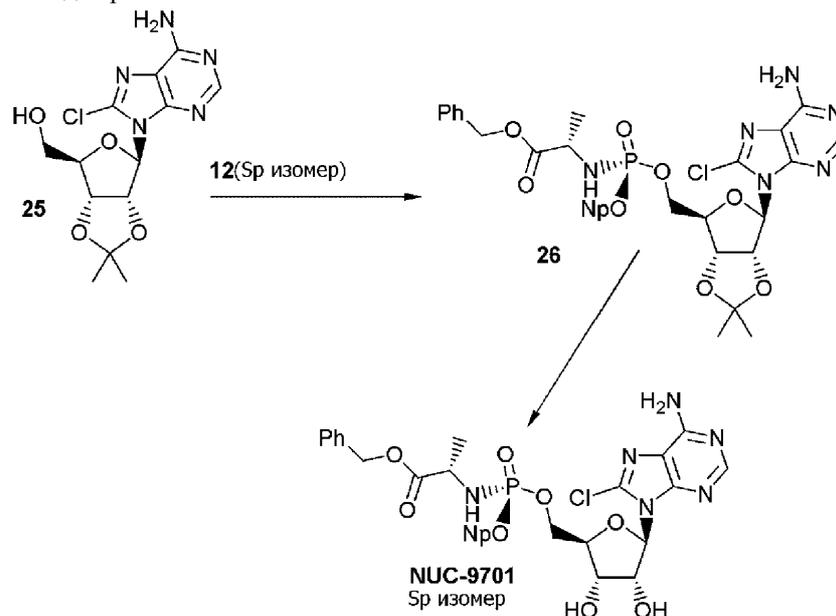
Стереохимию (R_p относительно S_p) двух NUC-7738 изомеров, описанных выше, подтверждали стандартным рентгеновским кристаллографическим анализом.

Иллюстративный пример 10: получение NUC-9701.

Диметилацеталь 25 8-хлораденозина 24 можно получить согласно следующей схеме (также описанной в WO 2017/207989).



Затем, соединение 25 можно конденсировать с соединением формулы Па, применяя условия способа конденсации, описанные в примере 8. Для получения NUC-9701, диметилацеталь можно удалять, применяя 1:1 ТРА:вода при 0°C в течение 5 ч.



Соединение 25 (30 г; 1 эквивалент) и требуемый изомер соединения 12 (58,08 г; 1,2 эквивалента) растворяли в 300 мл (10 объемов) THF. Смесь охлаждали до 0°C перед медленным добавлением трет-бутилмагнийхлорида (76,8 мл 2,0 М в THF; 1,75 эквивалента), поддерживая температуру равной 0°C, и смесь перемешивали в течение 4 часов. Добавляли к реакционной смеси 300 мл (10 объемов) 10% раствора хлорида аммония, поддерживая температуру ниже 15°C. Смесь экстрагировали этилацетатом, и объединенные органические слои промывали 7% раствором бикарбоната натрия (дважды), водой (дважды) и 20% хлоридом натрия перед сушкой безводным сульфатом натрия и фильтрованием. Этилацетат удаляли в вакууме.

К полученному в результате продукту добавляли 600 мл (20 объемов) 60% муравьиной кислоты в воде, и реакцию перемешивали в течение 65-70 ч при 25°C перед медленным добавлением этилацетата (600 мл; 20 объемов). Добавляли 600 мл (20 объемов) 20% раствора хлорида натрия, и слои разделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом перед добавлением по каплям 600 мл (20 объемов) 10% раствора аммиака к объединенным органическим слоям, и слои разделяли. Органический слой промывали водой (три раза) и 20% раствором хлорида натрия, сушили с 30 г (1 вес/вес) безводного сульфата натрия и фильтровали перед концентрированием в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией, получая 20-45 г NUC-9701.

Sp-NUC-9701:

¹H-ЯМР (500 МГц; MeOD-d₄): δ_H 8,07 (1H, д J= 8,5 Гц, H-Napht), 8,05 (1H, с, 2-H), 7,87 (1H, д J=8,5 Гц, H-Napht), 7,67 (1H, д J= 8,5 Гц, H-Napht), 7,54-7,48 (2H, м, H-Napht), 7,41-7,30 (1H, м, H-Napht), 7,36-7,33 (1H, м, H-Napht), 7,26-7,22 (5H, м, -CH₂Ph), 6,03 (1H, д J=5,0 Гц, H-1'), 5,33 (1H, т J= 5,0 Гц, H-2'), 5,01, 4,98 (AB, J_{AB}=12,3 Гц, CH₂Ph), 4,65 (1H т J= 5,5 Гц, H-3'), 4,49-4,45 (1H, м, H_a-5'), 4,41-4,36 (1H, м, H_b-5'), 4,22-4,20 (1H, м, H-4'), 3,94-3,90 (1H, м, -CHCH₃), 1,17 (1H, д J=7,0 Гц, CH₃).

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD-d₄): δ_p 3,93 (1P, с).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя H₂O/ CH₃CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин; 1 мл/мин, λ=254 нм, показала пик с t_R= 16,43 мин.

Rp-NUC-9701:

¹H-ЯМР (500 МГц; MeOD-d₄): δ_H 8,10 (1H, с, H-2), 8,08 (1H, д J= 8,5 Гц, H-Napht), 7,87 (1H, д J= 8,5

Гц, H-Napht), 7,67 (1H, д J= 8,5 Гц, H-Napht), 7,53-7,50 (1H, м, H-Napht), 7,48-7,44 (1H, м, H-Napht), 7,40-7,38 (1H, м, H-Napht), 7,33-7,27 (6H, м, H-Napht и -CH₂Ph), 6,02 (1H, д J=5,0 Гц, H-1'), 5,28 (1H, т J= 5,0 Гц, H-2'), 5,04, 5,02 (AB, J_{AB}=12,2 Гц, CH₂Ph), 4,63 (1H т J= 5,5 Гц, H-3'), 4,48-4,46 (1H, м, H_a-5'), 4,38-4,35 (1H, м, H_b-5'), 4,23-4,20 (1H, м, H-4'), 4,05-4,01 (1H, м, -CHCH₃), 1,17 (1H, д J=7,0 Гц, CH₃).

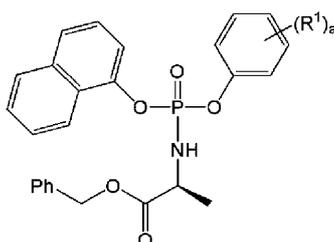
³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD-d₄: δ_p 3,83 (1P, с).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя H₂O/CH₃CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин; 1 мл/мин, λ=254 нм, показала пик с t_R=16,59 мин.

Стереохимию (R_p относительно S_p) двух NUC-9701 изомеров, описанных выше, относили ориентировочно, исходя из сравнения ³¹P химического сдвига, 1H ЯМР спектров и ВЭЖХ времени удерживания с данными показателями других ProTides, известных в литературе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения X-диастереоизомера соединения формулы Па



Формула Па,

где R¹ представляет собой галоген и а представляет собой целое число от 1 до 5, включающий:

а) суспендирование или растворение Y-диастереоизомера соединения формулы Па или смеси Y- и X-диастереоизомеров соединения формулы Па в растворителе (S2),

б) обработку раствора или суспензии основанием (B2), получая X-диастереоизомер по существу в диастереомерно обогащенной форме,

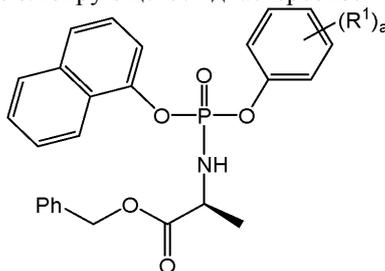
с) выделение X-диастереоизомера формулы Па,

где B2 представляет собой третичный амин;

где S2 представляет собой смесь гептана или гексана и полярного органического растворителя, где смесь содержит более 50% по объему гексана или гептана; и

где X-диастереоизомер соединения Па представляет собой (S_p)-диастереоизомер, и Y-диастереоизомер соединения Па представляет собой (R_p)-диастереоизомер, за исключением случая, когда OPh(R¹)_a уходящая группа имеет более низкий приоритет распределения по правилу Кана-Ингольда-Прелога, чем нафтилокси группа, при этом X-диастереоизомер соединения Па представляет собой (R_p)-диастереоизомер и Y-диастереоизомер соединения Па представляет собой (S_p)-диастереоизомер.

2. Способ получения медленно элюирующегося диастереоизомера соединения формулы Па



Формула Па,

где R¹ представляет собой галоген и а представляет собой целое число от 1 до 5, включающий:

а) суспендирование или растворение быстро элюирующегося соединения формулы Па или смеси быстро элюирующегося и медленно элюирующегося диастереоизомеров соединения формулы Па в растворителе (S2),

б) обработку раствора или суспензии основанием (B2), получая медленно элюирующийся диастереоизомер по существу в диастереомерно обогащенной форме, и

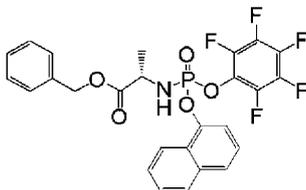
с) выделение медленно элюирующегося диастереоизомера формулы Па,

где B2 представляет собой третичный амин;

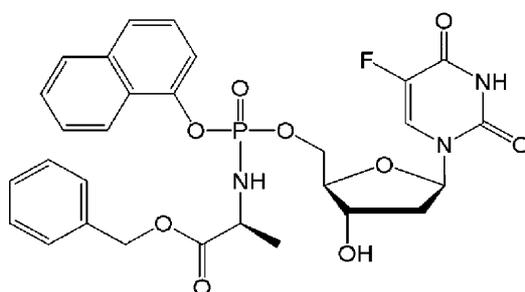
где S2 представляет собой смесь гептана или гексана и полярного органического растворителя, где смесь содержит более 50% по объему гексана или гептана;

где медленно элюирующийся диастереоизомер соединения Па представляет собой изомер, элюирующийся медленнее в обращено-фазовой ВЭЖХ, и быстро элюирующийся диастереоизомер соединения Па представляет собой изомер, элюирующийся быстрее в обращено-фазовой ВЭЖХ.

3. Способ по п.1 или 2, где В2 представляет собой триэтиламин.
4. Способ по любому из предшествующих пунктов, где S2 представляет собой смесь гептана или гексана и трет-бутилметилового эфира, причем смесь содержит более 50% по объему гептана или гексана.
5. Способ по любому из предшествующих пунктов, где стадия b) включает перемешивание смеси соединения формулы IIa и основания В2 в течение 24 ч или более.
6. Способ по любому из предшествующих пунктов, где стадия b) включает перемешивание смеси соединения формулы IIa и основания В2 при температуре от 0-60°C.
7. Способ по любому из предшествующих пунктов, где соединение формулы IIa представляет собой:



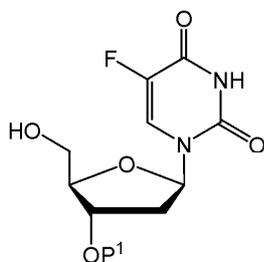
8. Способ получения (S_p)-диастереоизомера NUC-3373 (формула Ia) по существу в диастереоизомерно чистой форме



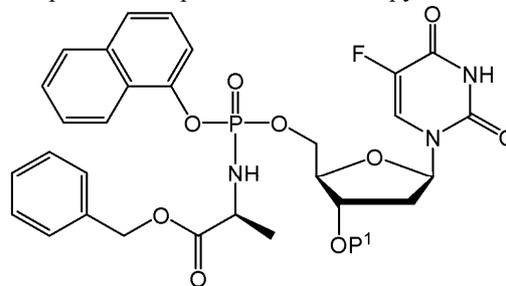
Формула Ia

включающий способ по любому из пп.1-9, стадию d) и стадию e):

- d) реакцию X-диастереоизомера соединения формулы IIa, выделенного на стадии c) с соединением формулы IIIa в присутствии основания (В1) с получением соединения формулы IVa по существу в диастереомерно чистой форме; где P^1 независимо выбран из водорода и защитной группы:



Формула IIIa



Формула IVa

- где В1 представляет собой реагент Гриньяра; и
- e) где P^1 представляет собой защитную группу, удаления защитной группы P^1 из соединения формулы IVa, получая (S_p)-диастереоизомер NUC-3373 по существу в диастереомерно чистой форме.
9. Способ по п.8, где P^1 представляет собой $-C(O)O^tBu$.
10. Способ по п.8 или п.9, где В1 представляет собой tBuMgCl .
11. Способ по любому из пп.8-10, где стадию d) проводят в эфирном растворителе.
12. Способ по п.11, где стадию d) проводят в THF.

