

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390724** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.05.31

(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**

(62) **201992873; 2018.06.14**

(71) Заявитель:
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)

(57) Настоящее изобретение, в общем, относится к способу получения определенных противораковых соединений в виде конкретных фосфатных диастереомеров.

A1

202390724

202390724

A1

ПОЛУЧЕНИЕ ФОСФАТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

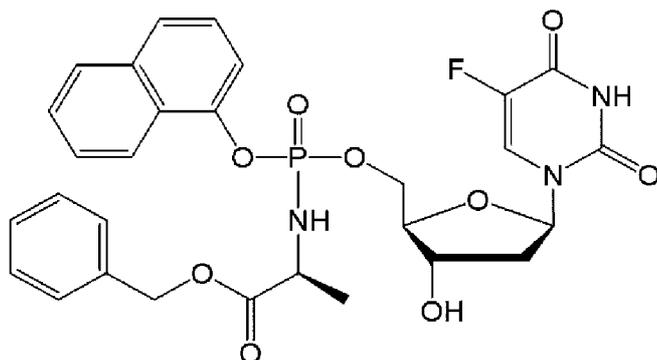
ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

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, такие как NUC-3373 (5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-O-[1-нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат), NUC-7738 (3'-дезоксиаденозин-5'-O-[фенил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат) и NUC-9701 (8-хлораденозин-5'-O-[нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат)

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

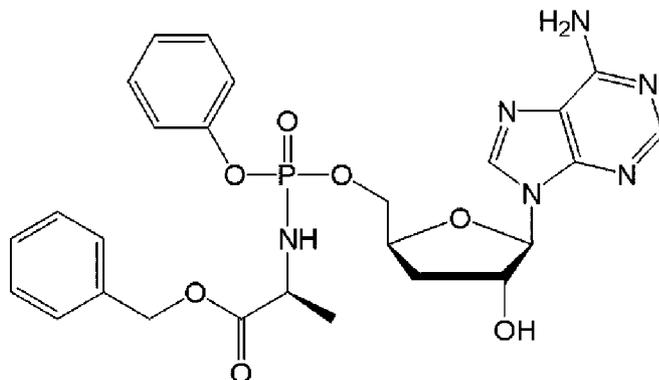
[0001] ProTides представляют собой защищенные фосфатные производные нуклеозидов. Было показано, что они являются особенно сильнодействующими терапевтическими средствами в области как противовирусных, так и онкологических препаратов. ProTides, более конкретно, являются пролекарствами монофосфорилированных 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).

[0002] NUC-3373 (5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-O-[1-нафтил(бензокси-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).

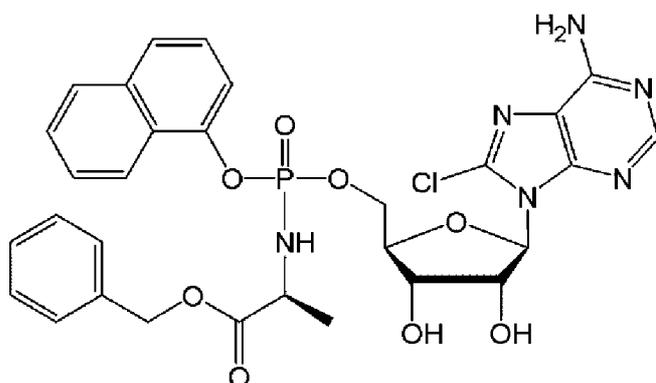


NUC-3373

[0003] ProTide производные пуриновых нуклеозидов, такие как 8-хлораденозин и 3'-дезоксаденозин и родственные соединения, также показали превосходную активность *in vitro* относительно ряда солидных опухолей, лейкозий и лимфом (смотри WO2016/083830 и GB1609602.6). Сам 3'-дезоксаденозин не является особенно эффективным противораковым агентом.

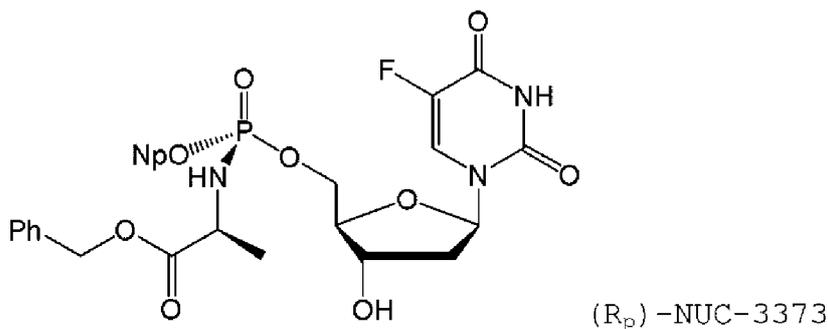
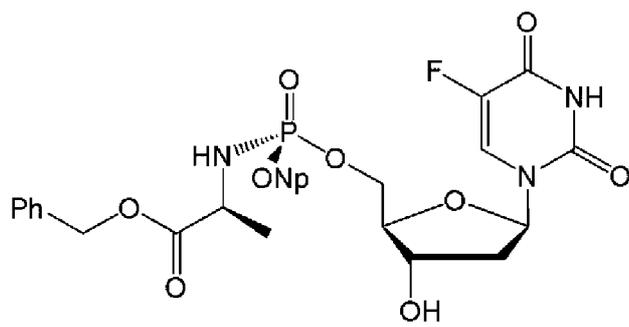


NUC-7738



NUC-9701

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



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 WO2017/098252 (PCT/GB2016/053875).

Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении способа получения NUC-3373, NUC-7738 и/или NUC-9701 в по существу диастереоизомерно чистой форме.

Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении (*S_p*) и/или (*R_p*)-эпимера (эпимеров) NUC-3373, NUC-7738 и/или NUC-9701 в по существу 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) в по существу 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) в по существу диастереоизомерно чистой форме (формах).

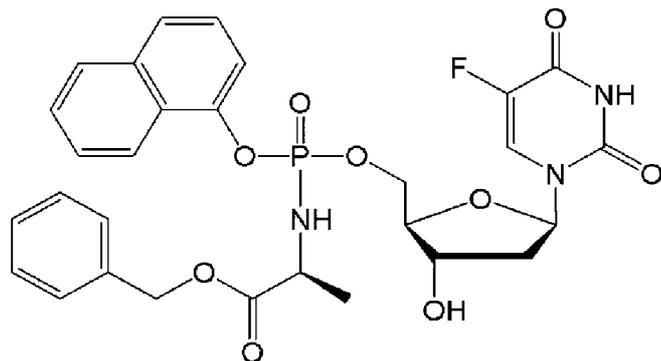
Другая цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в предоставлении способа, который обеспечивает отделенный (*S_p*)- или (*R_p*)-

эпимер в по существу 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

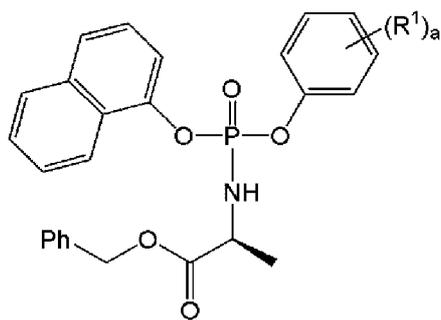
Согласно первому аспекту настоящего изобретения представлен способ получения NUC-3373 (формула Ia) в по существу диастереоизомерно чистой форме:



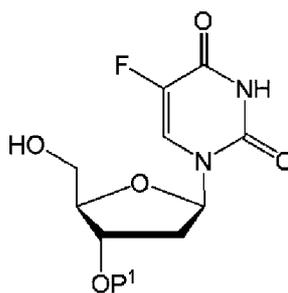
Формула Ia

включающий стадию а) и необязательно стадию б):

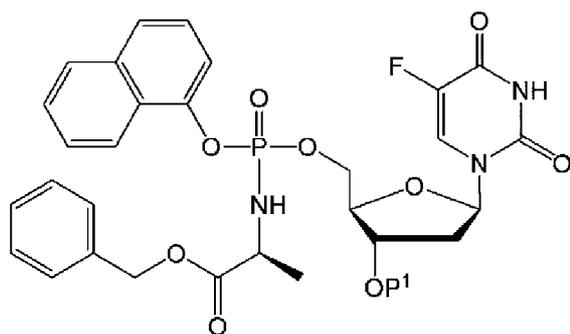
реакции соединения формулы IIa; где R^1 представляет собой электроноакцепторную группу, и а представляет собой целое от 1 до 5, с соединением формулы IIIa в присутствии основания (B1), получая соединение формулы IVa в по существу диастереомерно чистой форме; где P^1 независимо выбран из водорода и защитной группы; и где соединение формулы IIa находится в по существу диастереомерно чистой форме:



Формула IIa



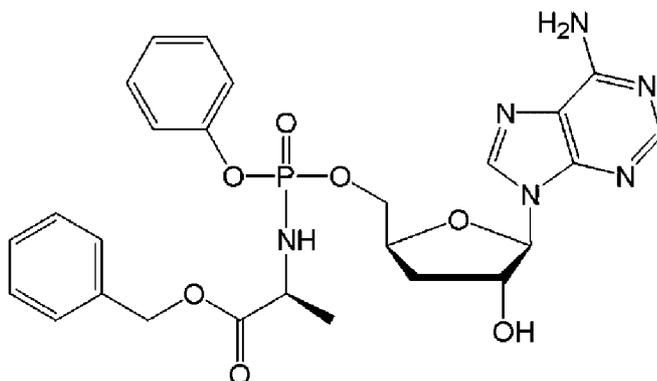
Формула IIIa



Формула IVa

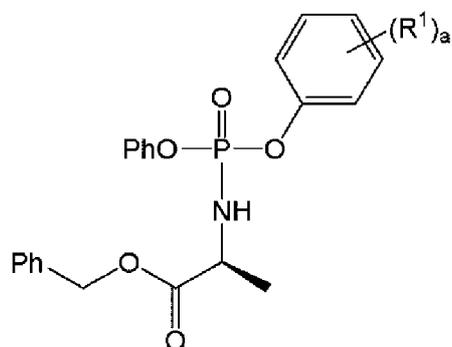
где P^1 представляет собой защитную группу, необязательно удаления защитной группы P^1 из соединения формулы IVa, получая NUC-3373 в по существу диастереомерно чистой форме.

Согласно второму аспекту настоящего изобретения представлен способ получения NUC-7738 (формула Ib) в по существу диастереоизомерно чистой форме:

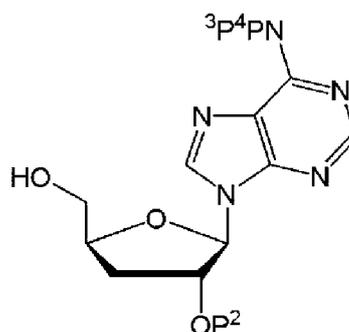


включающий стадию а) и необязательно стадию б):

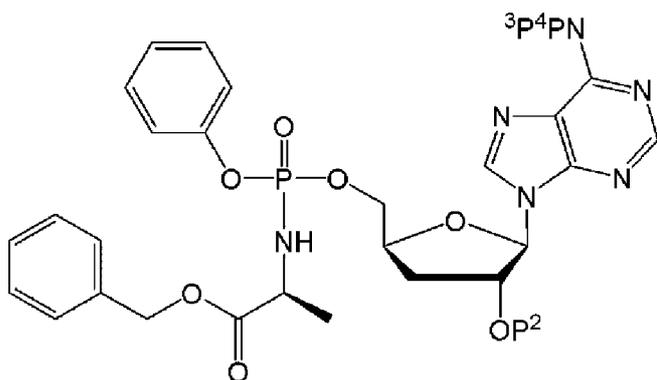
реакцию соединения формулы IIb; где R^1 представляет собой электроноакцепторную группу, и а представляет собой целое от 1 до 5, с соединением формулы IIIb в присутствии основания (B1), давая соединение формулы IVb в по существу диастереомерно чистой форме; где каждый P^2 , P^3 и P^4 независимо выбран из водорода и защитной группы; и где соединение формулы IIb находится в по существу диастереомерно чистой форме:



Формула IIb



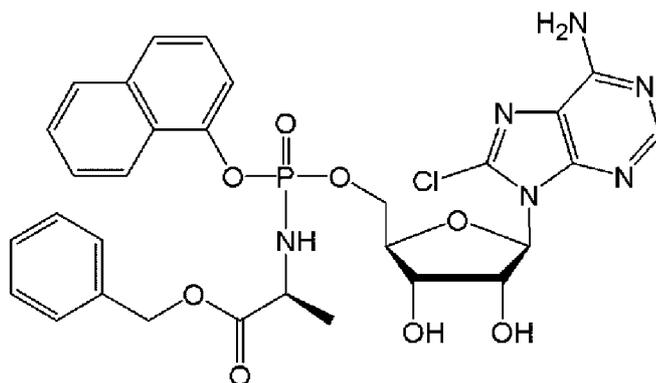
Формула IIIb



Формула IVb

где любая одна или более из P^2 , P^3 и P^4 представляет собой защитную группу, необязательно удаления защитных групп P^2 , P^3 и P^4 из соединения формулы IVb, получая NUC-7738 в по существу диастереомерно чистой форме.

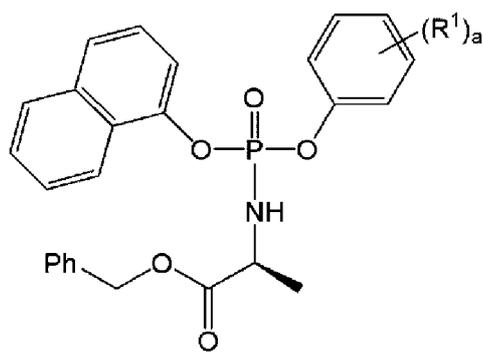
Согласно третьему аспекту настоящего изобретения представлен способ получения NUC-9701 (формула Ic) в по существу диастереоизомерно чистой форме:



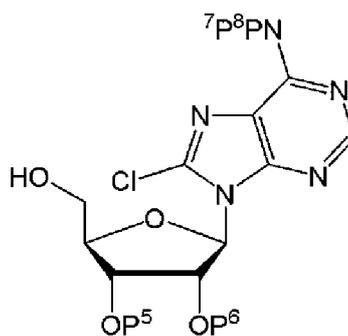
Формула Ic

включающий стадию a) и необязательно стадию b):

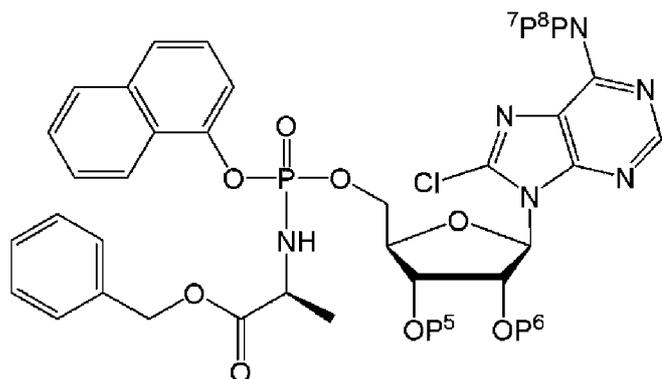
реакции соединения формулы Ia; где R^1 представляет собой электроноакцепторную группу, и а представляет собой целое от 1 до 5, с соединением формулы IIIc в присутствии основания (B1), получая соединение формулы IVc в по существу диастереомерно чистой форме; где каждый P^5 , P^6 , P^7 и P^8 независимо выбран из водорода и защитной группы; и где соединение формулы Ia находится в по существу диастереомерно чистой форме:



Формула IIIa



Формула IIIc



Формула IVc

где любая одна или более из P^5 , P^6 , P^7 и P^8 представляет собой защитную группу, необязательно удаления защитных групп P^5 , P^6 , P^7 и P^8 из соединения формулы IVc, получая NUC-9701 в по существу диастереомерно чистой форме.

R^1 можно выбрать из группы, включающей: галогеновую группу (например, выбранную из фтора, брома, хлора или йода); трифторметил, циано и нитро. а представляет собой целое 1–5. R^1 может при каждом появлении представлять собой галоген, например, фтор. а может быть равно 5.

Замещение замещенной фенокси группы проходит селективно с обращением фосфатного стереоцентра.

Обычно (S_p)-диастереоизомер предшественника (соединения формулы IIa или IIb) дает (S_p)-диастереоизомер ProTide, и (R_p)-диастереоизомер предшественника дает (R_p)-диастереоизомер ProTide. Исключением является случай, когда $O\text{Ph}(R^1)_a$ уходящая группа имеет более низкий приоритет распределения по правилу Кана-Ингольда-Прелога, чем нафтильная группа (например, когда $O\text{Ph}(R^1)_a$ представляет собой паранитрофенокси). В данных случаях, (R_p)-диастереоизомер предшественника (соединения формулы IIa) дает (S_p)-диастереоизомер ProTide, и (S_p)-диастереоизомер предшественника дает (R_p)-диастереоизомер ProTide. Во всем данном описании, изомер соединения формулы IIa, который дает (S_p)-изомер ProTide, называют X-диастереоизомером, и изомер соединения формулы IIa, который дает (R_p)-изомер ProTide, называют Y-диастереоизомер. Для соединения IIb, возникает именно этот случай, когда (S_p)-диастереоизомер предшественника (соединения формулы IIb) дает (S_p)-диастереоизомер ProTide, и (R_p)-

диастереоизомер предшественника дает (R_p)–диастереоизомер ProTide.

Таким образом, может случиться так, что способ первого, второго или третьего аспекта представляет собой способ получения (S_p)–диастереоизомера ProTide в диастереомерно обогащенной форме, и соединение формулы Ia или Ib находится в диастереомерно обогащенной форме.

Может случиться так, что способ первого, второго или третьего аспекта представляет собой способ получения (R_p)–диастереоизомера ProTide в диастереомерно обогащенной форме, и соединение формулы Ia или Ib находится в диастереомерно обогащенной форме.

Основание (B1) может представлять собой азотистое основание. Азотистые основания включают *N*-алкилимидазолы (например, *N*-метилимидазол (NMI)), имидазол, необязательно замещенные пиридины (например, коллидин, пиридин, 2,6-лутидин) и триалкиламины (например, триэтиламин, и диизопропилэтиламин). Альтернативно, основание (B1) может представлять собой органометаллическое основание или основание на основе гидрида металла (например, NaH). Таким образом, основание может представлять собой реагент Гриньяра (т.е., алкилмагниггалогенид). Примеры реактивов Гриньяра включают *трет*-бутилмагниггалогениды, такие как *трет*-BuMgCl, *трет*-BuMgBr. Предпочтительно, основание представляет собой *трет*-BuMgCl.

Стадию а) можно осуществлять в растворителе S1.

В четвертом аспекте настоящего изобретения представлен способ диастереоизомерного обогащения соединения формулы Ia; включающий:

 супендирование или растворение X–диастереоизомера соединения формулы Ia или смеси XR– и Y–диастереоизомеров соединения формулы Ia в растворителе (S2),

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

 выделение X–диастереоизомера формулы Ia. Обычно, X–диастереоизомер представляет собой (S)–диастереоизомер, и Y–диастереоизомер представляет собой (R)–диастереоизомер.

Изобретатели неожиданно обнаружили, что после обработки соединений формулы Ia основанием, они изомеризуются, предпочтительно образуя X–диастереоизомер по сравнению с Y–диастереоизомером. Таким образом, Y–диастереоизомер можно превратить в X–диастереоизомер, или эпимерную смесь Y–диастереоизомера и X–диастереоизомера можно превратить в X–диастереоизомер. Это увеличивает общий КПД любой синтетической последовательности для получения X–диастереоизомера NUC–3373 или NUC–9701, который включает способ первого или третьего аспекта, поскольку это означает, что можно применять все соединения формулы Ia, даже часть того, что первоначально образовалось как Y–диастереоизомер.

Может случиться так, что способ включает:

Получение соединения формулы Ia в виде смеси Y– и X–диастереоизомеров; и что стадия с) включает супендирование или растворение смеси Y– и X–диастереоизомеров

соединения формулы IIa в растворителе (S2). Обычно, X-диастереоизомер представляет собой (Sp)-диастереоизомер, и Y-диастереоизомер представляет собой (Rp)-диастереоизомер.

Соединение формулы IIa, применяемое в способе первого или третьего аспекта, может представлять собой X-диастереоизомер, образованной согласно способу четвертого аспекта. Обычно, X-диастереоизомер представляет собой (Sp)-диастереоизомер, и Y-диастереоизомер представляет собой (Rp)-диастереоизомер.

Способ второго аспекта настоящего изобретения может включать:

суспендирование или растворение Rp-диастереоизомера соединения формулы IIb или смеси (Rp)- и (Sp)-диастереоизомеров соединения формулы IIb в растворителе (S2),

обработку раствора или суспензии основанием (B2), получая (Sp)-диастереоизомер в по существу диастереомерно обогащенной форме, и выделение (Sp)-диастереоизомера формулы IIb.

Таким образом, способ второго аспекта настоящего изобретения может включать:

получение соединения формулы IIb в виде смеси (Rp)- и (Sp)-диастереоизомеров; и что стадия с) включает суспендирование или растворение смеси (Rp)- и (Sp)-диастереоизомеров соединения формулы IIb в растворителе (S2).

Основание (B2) может быть выбрано из группы, состоящей из органических аминовых оснований (например, первичных, вторичных, третичных аминов, циклических аминов; примеры органических аминовых оснований включают N-алкилимидазолы, [например, N-метилимидазол (NMI), имидазол, необязательно замещенные пиридины, (например, коллидин, пиридин, 2,6-лутидин) и триалкиламины (например, триэтиламин и диизопропилэтиламин)]; или неорганические основания (например, гидроксид щелочного металла, карбонаты щелочного металла, алкоксиды щелочного металла, арилоксиды щелочного металла). Предпочтительно, B2 представляет собой третичный амин. Таким образом, B2 может представлять собой триалкиламин. Самое предпочтительное, B2 представляет собой триэтиламин.

Растворитель S2 можно выбрать из группы, состоящей из амидов, эфиров, сложных эфиров, кетонов, ароматических углеводородов, галогенированных растворителей, нитрилов, сульфоксидов, сульфонов и их смесей. S2 может представлять собой органический растворитель. Органические растворители включают, но не ограничиваются, эфиры (например, тетрагидрофуран, диоксан, диэтиловый эфир, *трет-бутил*метиловый эфир); кетоны (например, ацетон и метилизобутилкетон); галогенированные растворители (например, дихлорметан, хлороформ и 1,2-дихлорэтан); углеводороды (например, циклогексан, пентан, гексан, гептан), ароматические растворители (например, бензол и толуол), сложные эфиры (например, этилацетат) и амиды (например, DMF, NMP); или их смеси. Предпочтительно, S2 представляет собой углеводород или смесь, содержащую углеводород. Когда S2 представляет собой смесь, он 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. S2 может представлять собой смесь гексана или гептана 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.

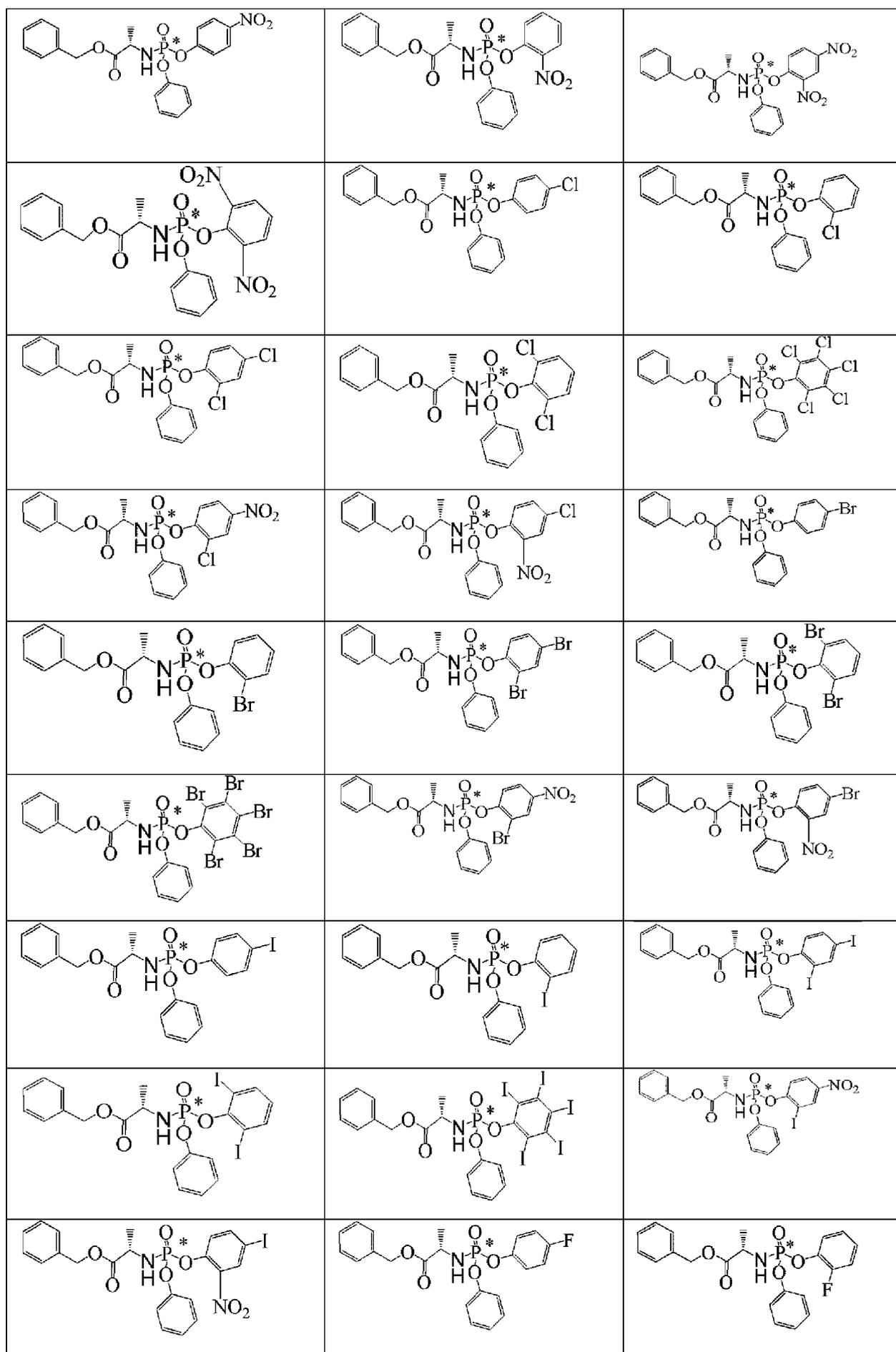
стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 в течение 24 ч или более. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 в течение 48 ч или более. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 в течение 60 ч или более. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 в течение 72 ч или более. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 в течение вплоть до 100 ч.

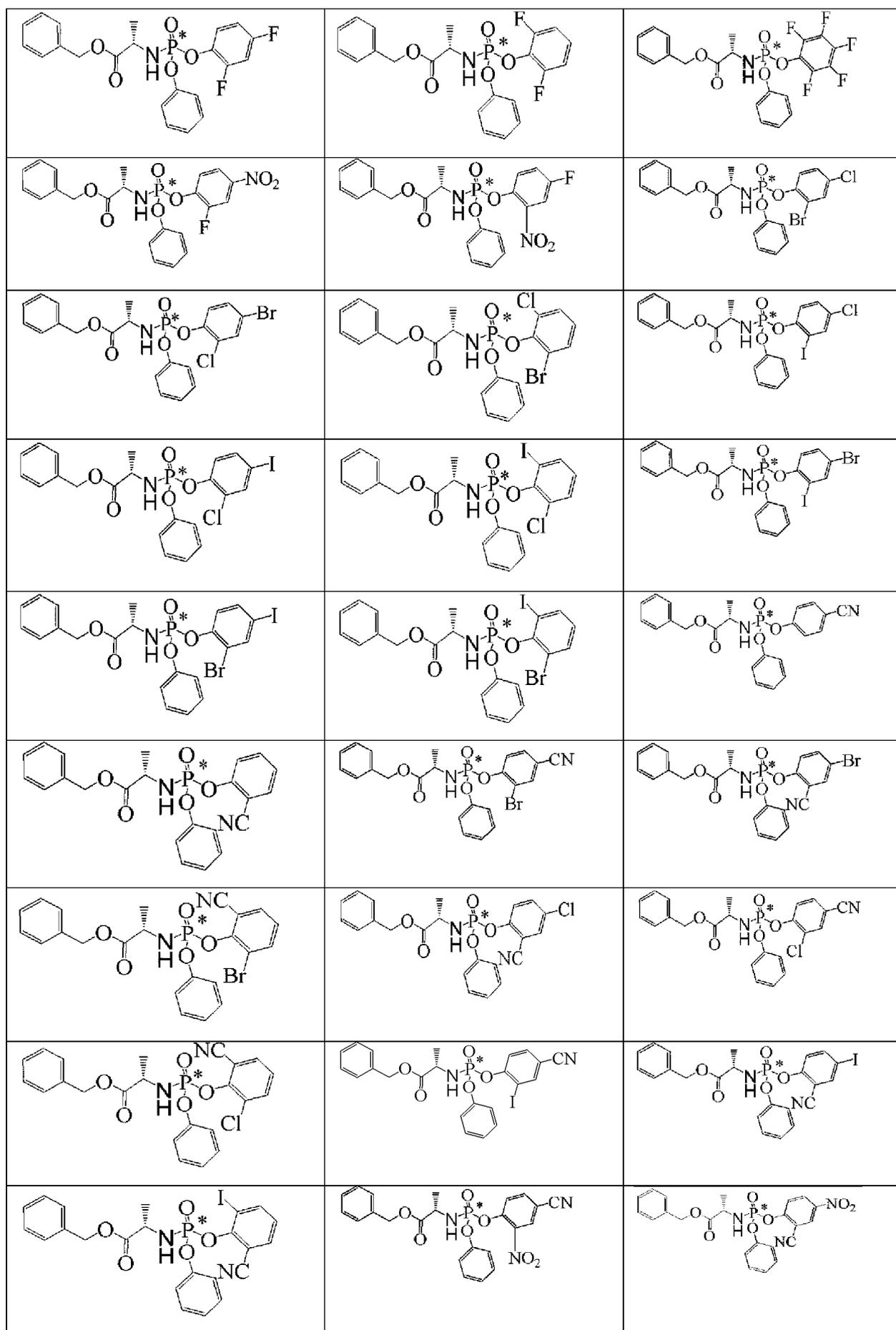
Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 при температуре от 0 до 60 °С. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Па и основания В2 при температуре от 20 до 40 °С.

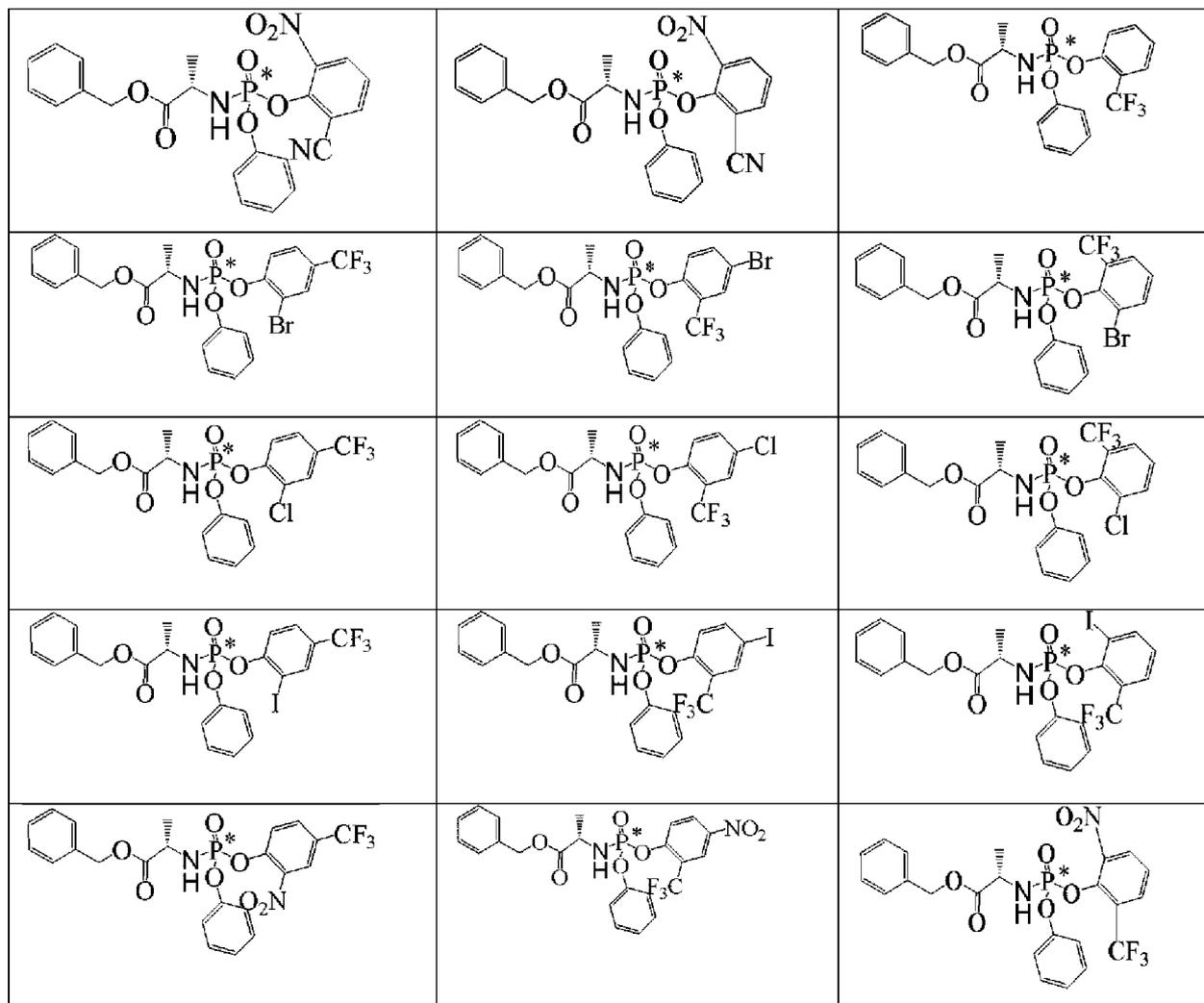
Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 в течение 2 ч или более. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 в течение 6 ч или более. Стадия b) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 в течение 10 ч или более. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 в течение 16 ч или более. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 в течение вплоть до 36 ч.

Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 при температуре от 0 до 50 °С. Стадия d) может включать перемешивание смеси соединения формулы Пб и основания В2 при температуре от 10 до 35 °С.

В определенных конкретных вариантах осуществления второго аспекта настоящего изобретения, соединение формулы Пб представляет собой соединение, выбранное из:

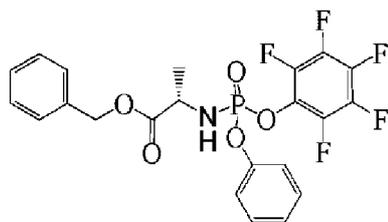




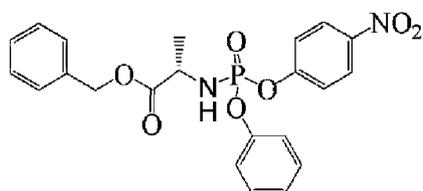


*представляет собой хиральный центр при фосфоре

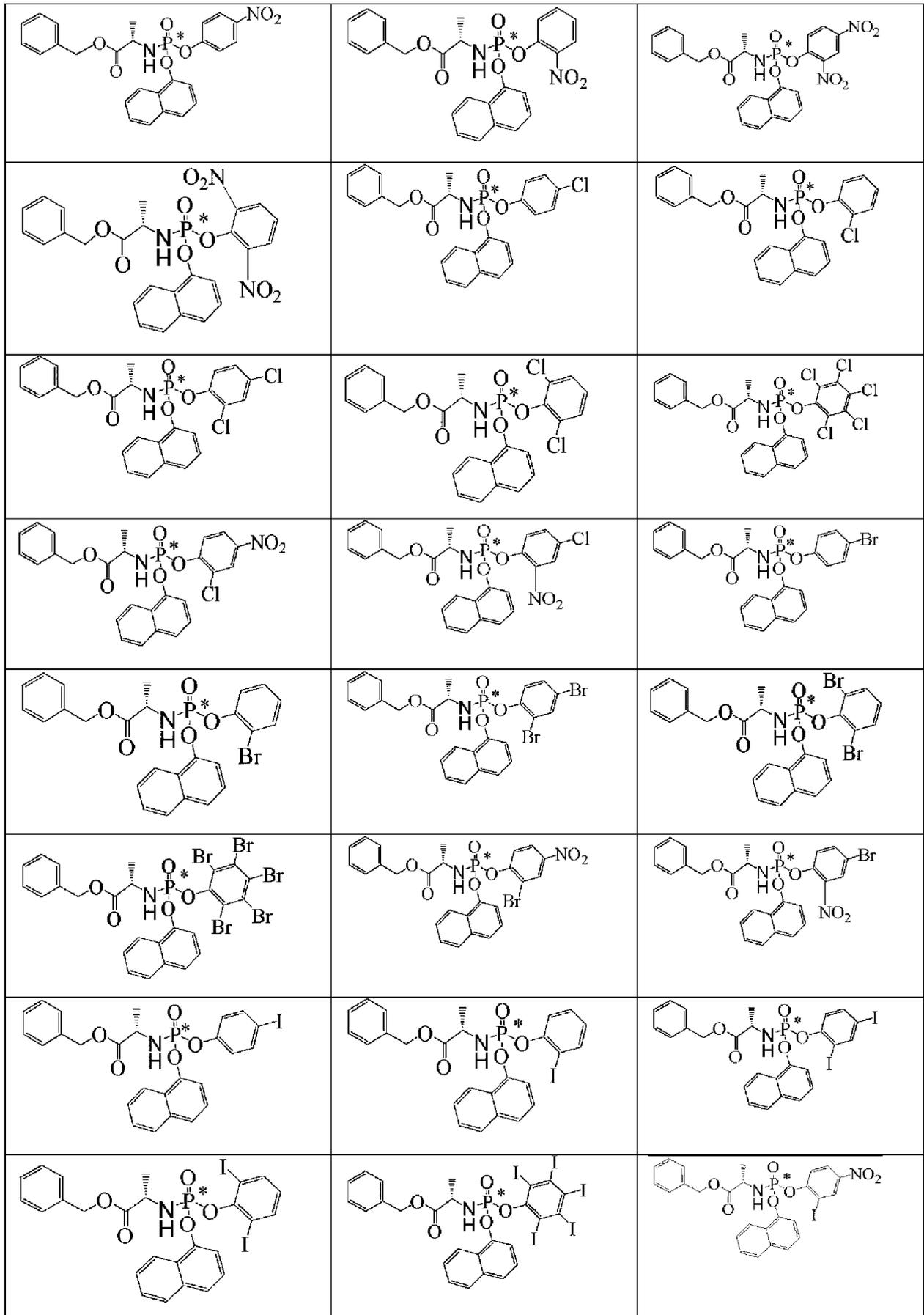
Соединение формулы IIb может представлять собой:

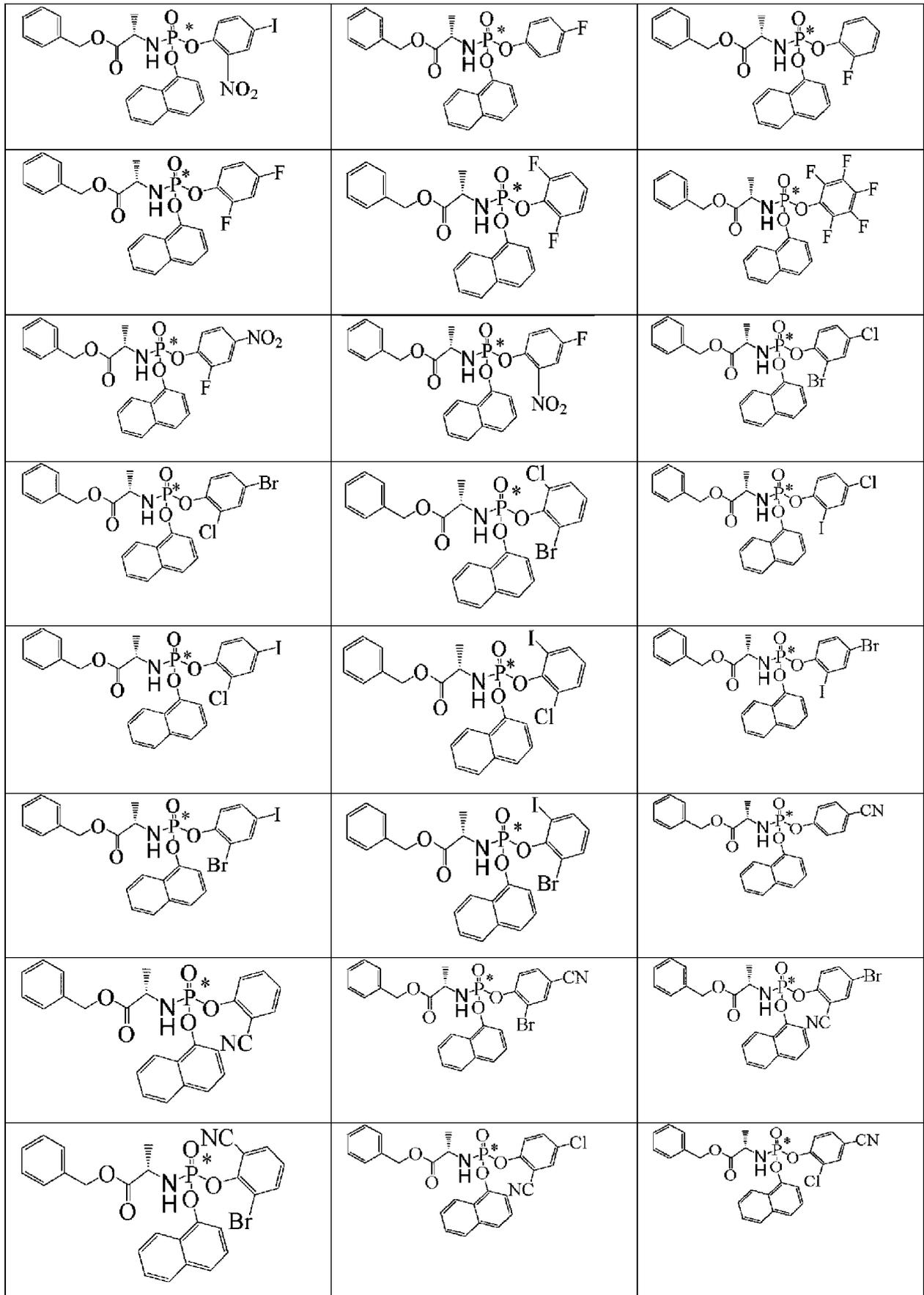


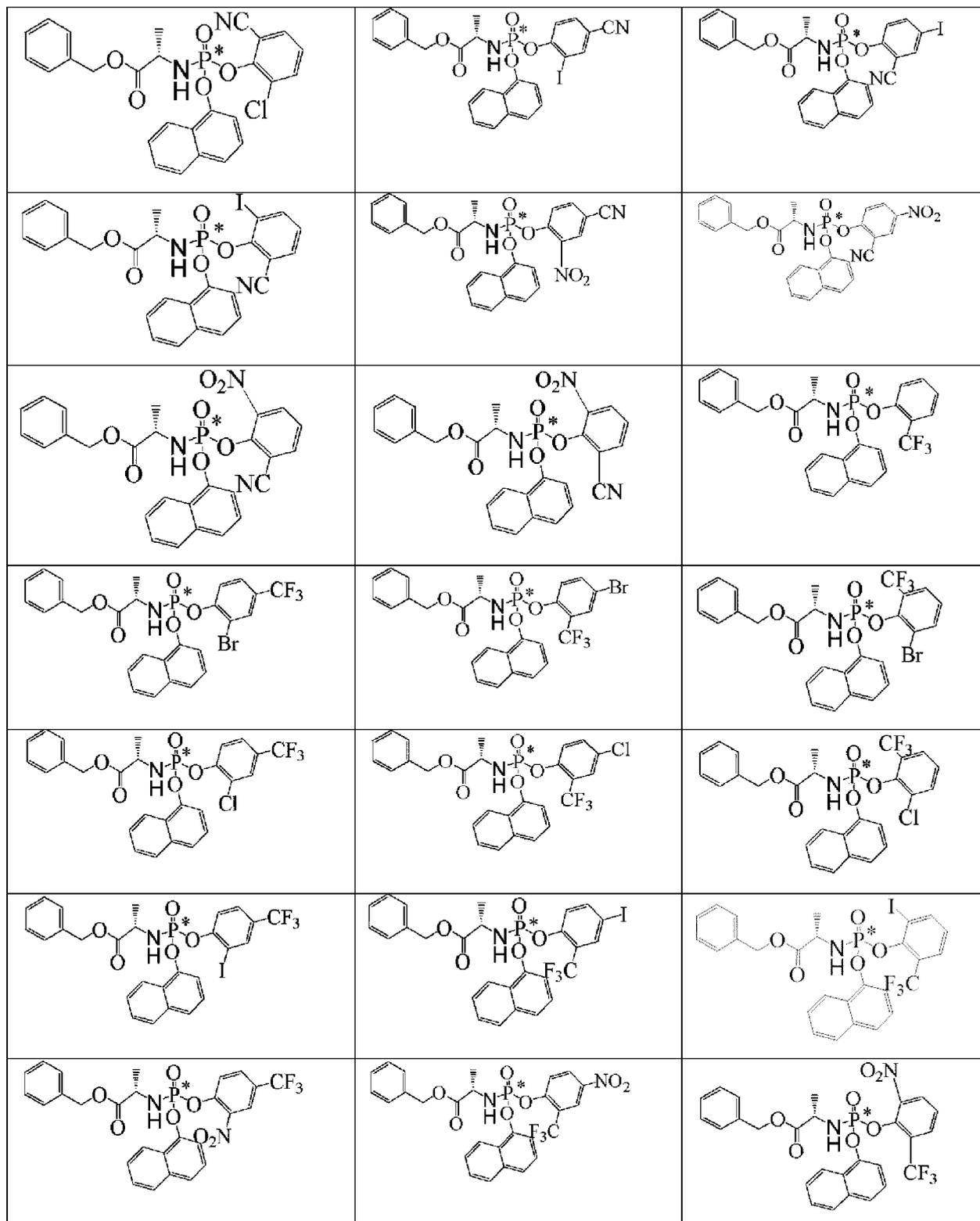
Соединение формулы IIb может представлять собой:



В определенных конкретных вариантах осуществления первого, третьего и четвертого аспектов настоящего изобретения, соединение формулы IIa представляет собой соединение, выбранное из:

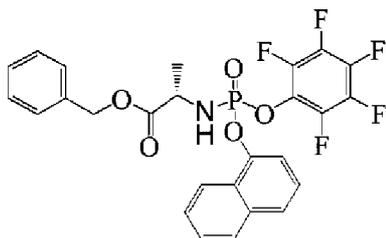






*представляет собой хиральный центр при фосфоре

Соединение формулы Па может представлять собой соединение 12:

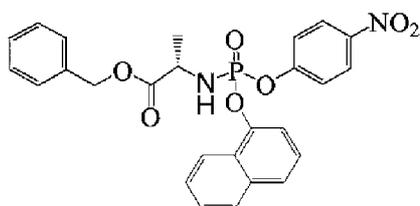


соединение 12

Соединение формулы IIa может представлять собой (R_p) соединение 12 в по существу диастереомерно чистой форме. Соединение может представлять собой быстро элюирующийся изомер соединения 12 в по существу 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 в по существу диастереоизомерно чистой форме. Соединение может представлять собой изомер соединения 12, которое имеет время удерживания $12,96 \pm 0,20$ минут при проведении аналитической ВЭЖХ на Varian Pursuit XRs 5 C18, $150 \times 4,6$ мм, элюируя $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ в 20/80 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме.

Соединение формулы IIa может представлять собой (S_p)–соединение 12 в по существу диастереомерно чистой форме. Соединение может представлять собой медленно элюирующийся изомер соединения 12 в по существу 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 в по существу 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 $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ в 20/80 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме.

Соединение формулы IIa может представлять собой:



NUC–3373 может представлять собой быстро элюирующийся изомер NUC–3373 в по существу 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 в по существу 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 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ от 100/10 до 0/100 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме.

NUC–3373 может представлять собой медленно элюирующийся изомер NUC–3373 в по существу 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 в по существу диастереоизомерно чистой форме. NUC-3373 может представлять собой изомер NUC-3373, который имеет время удерживания $16,61 \pm 0,20$ минут при проведении аналитической ВЭЖХ на Varian Pursuit XRs 5 C18, $150 \times 4,6$ мм, элюируя H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 35 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме.

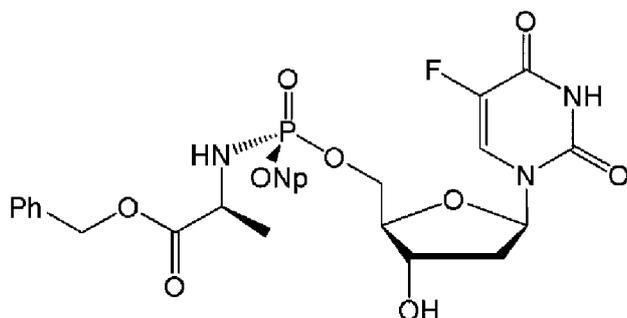
NUC-9701 может представлять собой быстро элюирующийся изомер NUC-9701 в по существу диастереоизомерно чистой форме. Таким образом, NUC-9701 может представлять собой изомер NUC-9701, который имеет ^{31}P ЯМР пик при $3,93 \pm 0,04$, когда ЯМР спектр получали на 202 МГц ЯМР приборе в CD_3OD , причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме. NUC-9701 может представлять собой изомер NUC-9701, который имеет время удерживания $16,43 \pm 0,10$ минут 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 30 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме.

NUC-9701 может представлять собой медленно элюирующийся изомер NUC-9701 в по существу диастереоизомерно чистой форме. Таким образом, NUC-9701 может представлять собой изомер NUC-9701, который имеет ^{31}P ЯМР пик при $3,83 \pm 0,04$, когда ЯМР спектр получали на 202 МГц ЯМР приборе в CD_3OD , причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме. NUC-9701 может представлять собой изомер NUC-9701, который имеет время удерживания $16,59 \pm 0,10$ 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 30 мин при 1 мл/мин, причем указанный изомер находится в по существу диастереоизомерно чистой форме.

Соединение формулы IIa можно получить согласно четвертому аспекту настоящего изобретения.

В пятом аспекте настоящего изобретения получают соединение формулы IIa. Соединение может представлять собой S_p изомер соединения формулы IIa. Соединение может представлять собой R_p изомер соединения формулы IIa.

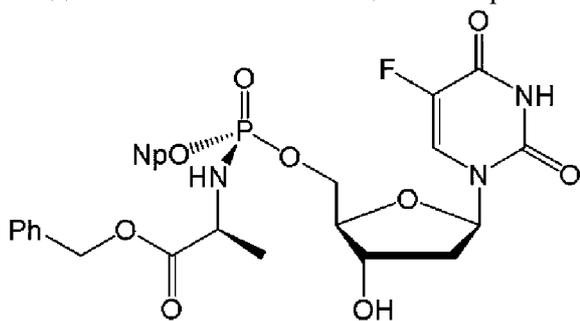
В шестом аспекте настоящего изобретения получают (S_p)-NUC-3373:



в по существу диастереоизомерно чистой форме. Предпочтительная изомеризация для образования X-диастереоизомера соединения формулы IIa обозначает то, что S_p

изомер NUC-3373 получить легче, чем R_p изомер.

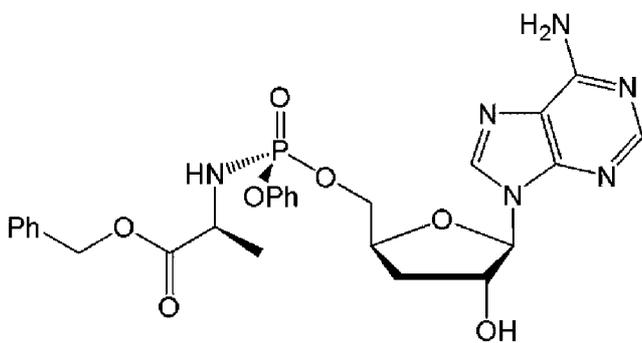
В седьмом аспекте настоящего изобретения получают (R_p)-NUC-3373:



в по существу диастереоизомерно

чистой форме.

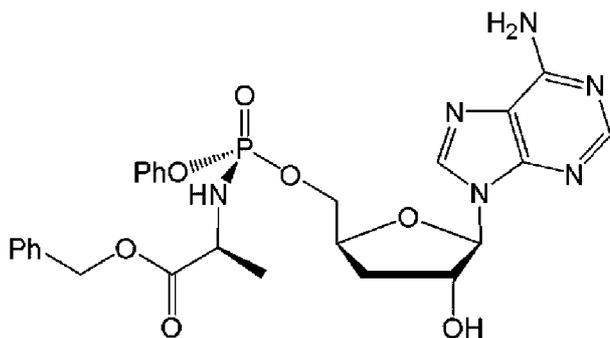
В восьмом аспекте настоящего изобретения получают (S_p)-NUC-7738:



в по существу диастереоизомерно

чистой форме. Предпочтительная изомеризация для получения (S)-диастереоизомера соединения формулы IIb обозначает то, что S_p изомер of NUC-7738 получить легче, чем R_p изомер.

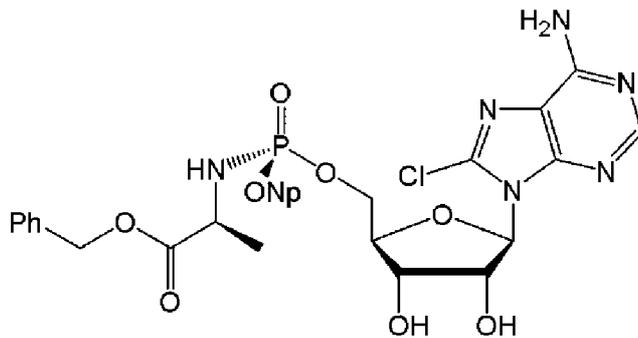
В девятом аспекте настоящего изобретения получают (R_p)-NUC-7738:



в по существу диастереоизомерно

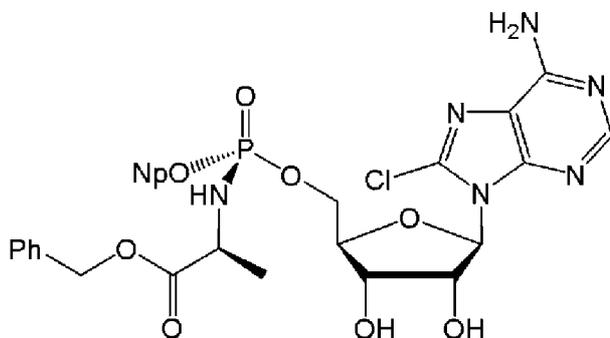
чистой форме.

В десятом аспекте настоящего изобретения получают (S_p)-NUC-9701:



в по существу диастереоизомерно чистой форме. Предпочтительная изомеризация для получения X-диастереоизомера соединения формулы Ia обозначает то, что S_p изомер NUC-9701 получить легче, чем R_p изомер.

В одиннадцатом аспекте настоящего изобретения получают (R_p)-NUC-9701:



в по существу диастереоизомерно чистой форме.

Соединение пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого и одиннадцатого аспектов настоящего изобретения может представлять собой диастереоизомер, описанный выше для первого, второго и третьего аспектов настоящего изобретения.

Настоящее изобретение может также обеспечивать фармацевтическую композицию, содержащую соединение шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого и одиннадцатого аспектов настоящего изобретения и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Настоящее изобретение может также обеспечивать способ лечения рака (например, солидной опухоли или лейкемии), включающий введение нуждающемуся субъекту терапевтически эффективного количества соединения шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого и одиннадцатого аспектов настоящего изобретения.

Соединения шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого и одиннадцатого аспектов настоящего изобретения могут предназначаться для медицинского применения. Соединения шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого и одиннадцатого аспектов настоящего изобретения могут предназначаться для лечения рака (например, солидной опухоли или лейкемии).

Продукты шестого, седьмого, восьмого, девятого, десятого и одиннадцатого аспектов настоящего изобретения можно получить (или получают) первым, вторым или

третьим аспектом настоящего изобретения.

Защитную группу для гидроксильной группы (например, P^1 , P^2 , P^5 или P^6) можно независимо выбрать 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 $-\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкил-O-C}_1\text{-C}_4\text{-алкила}$. Когда две гидроксильные группы соединены с соседними атомами углерода (например, P^5 и P^6), их можно вместе защищать необязательно замещенной $-\text{C}(\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкильной})_2$ - группой.

Защитная группа для аминогруппы (например, P^3 , P^4 , P^7 или P^8) можно при каждом появлении независимо выбрать из $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{-O-аллила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{-O-CH}_2\text{-флуоренила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкилен})\text{арила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-арила}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{-C}_1\text{-C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{S}(\text{O})_2\text{-арила}$ и необязательно замещенного $-\text{Si}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкила})_3$.

Многие из защищенных исходных соединений формулы IIIa, IIIb или IIIc являются известными в данной области техники, и/или их можно получить известными способами. Например, исходные соединения формулы IIIa, IIIb и IIIc можно получить из исходного нуклеозида защитой гидрокси 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^{oe} издание, T W Greene (1991); и "Protecting Groups", 3rd addition P. J Koscienski (1995).

Обычно необходимо получить соединения формул IIIa, IIIb и IIIc первой защитой 5'-гидрокси 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 амино защитных 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, IIIb или IIIc. 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, P^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 $-\text{C}_1-\text{C}_4\text{-алкил}-\text{O}-\text{C}_1-\text{C}_4\text{-алкила}$.

P^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, P^1 выбирают из $-\text{C}(\text{O})\text{O}-t\text{Bu}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -бензила и $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-аллила}$. Таким образом, P^1 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арил}$. P^1 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{O}-t\text{Bu}$.

Альтернативно, P^1 можно независимо выбрать 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, P^1 можно независимо выбрать из бензоила и ацетила.

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

Согласно некоторым вариантам осуществления, P^2 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, $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{-флуоренила}$, 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 $-\text{C}_1-\text{C}_4\text{-алкил}-\text{O}-\text{C}_1-\text{C}_4\text{-алкила}$.

P^2 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, P^2 выбирают из $-\text{C}(\text{O})\text{O}-t\text{Bu}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -бензила и $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-аллила}$. Таким образом, P^2 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арил}$. P^2 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{O}-t\text{Bu}$.

Альтернативно, P^2 можно независимо выбрать 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, P^2 можно независимо выбрать из бензоила и ацетила.

В качестве следующей альтернативы, P^2 может представлять собой необязательно замещенный $-\text{Si}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{-алкил})_3$. P^2 может представлять собой $-\text{Si}(\text{C}_1-\text{C}_4\text{-алкил})_3$. Алкильные группы могут быть незамещенными. P^2 может представлять собой *трет*-бутилдиметилсилил.

P^3 можно независимо выбрать из $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1-\text{C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арила}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{O}$ -аллила, $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{-флуоренила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(\text{C}_1-\text{C}_3\text{-алкилен})\text{арила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_1-\text{C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{-арила}$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{C}_1-\text{C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{S}(\text{O})_2\text{-арила}$ и необязательно замещенного $-\text{Si}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{-алкила})_3$.

P^3 можно независимо выбрать из $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1-\text{C}_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{-арила}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{O}$ -аллила, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{арила})_3$

и необязательно замещенного $-\text{Si}(\text{C}_1\text{--C}_6\text{--алкила})_3$. Предпочтительно, P^3 выбирают из $-\text{C}(\text{O})\text{O--}t\text{Bu}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O--бензила}$ и $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{--аллила}$. Таким образом, P^3 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{--арил}$.

Альтернативно, P^3 можно независимо выбрать 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, P^3 можно независимо выбрать из бензоила и ацетила.

В качестве другой альтернативы, P^3 представляет собой Н.

P^4 можно независимо выбрать из Н, $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1\text{--C}_6\text{--алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{--арила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{--O--аллила}$, $-\text{C}(\text{O})\text{--O--CH}_2\text{--флуоренила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(\text{C}_1\text{--C}_3\text{--алкилен)арила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{--C}_1\text{--C}_6\text{--алкила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{--арила}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{--C}_1\text{--C}_6\text{--алкила}$, необязательно замещенного $-\text{S}(\text{O})_2\text{--арила}$ и необязательно замещенного $-\text{Si}(\text{C}_1\text{--C}_6\text{--алкила})_3$.

Предпочтительно, P^4 представляет собой Н.

Может случиться так, что каждый P^3 и P^4 представляет собой Н. Может случиться так, что каждый P^3 и P^4 представляет собой Н, и P^2 представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{O--}t\text{Bu}$. Может случиться так, что каждый P^3 и P^4 представляет собой Н, и P^2 представляет собой *трет-бутил*диметилсилил.

Согласно некоторым вариантам осуществления, каждый P^5 и P^6 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 $-(\text{C}_1\text{--C}_3\text{--алкилен)арила}$, необязательно замещенного $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{--арила}$ и $-\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкил--O--C}_1\text{--C}_4\text{--алкила}$; или P^5 и P^6 вместе образуют необязательно замещенную $-\text{C}(\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкильную})_2\text{--}$ группу.

P^5 и P^6 могут быть одинаковыми.

Каждый P^5 и P^6 можно 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, каждый P^5 и P^6 выбирают из $-\text{C}(\text{O})\text{O--}t\text{Bu}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O--бензила}$ и $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{--аллила}$. Таким образом, каждый P^5 и P^6 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{--арил}$. Каждый P^5 и P^6 может представлять собой $-\text{C}(\text{O})\text{O--}t\text{Bu}$.

Альтернативно, каждый P^5 и P^6 можно выбрать 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, каждый P^5 и P^6 можно выбрать из бензоила и ацетила.

В качестве следующей альтернативы, каждый P^5 и P^6 может представлять собой необязательно замещенный $-\text{Si}(\text{C}_1\text{--C}_6\text{--алкил})_3$. P^2 представлять собой $-\text{Si}(\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкил})_3$. Алкильные группы могут быть незамещенными. Каждый P^5 и P^6 может представлять собой *трет-бутил*диметилсилил.

Однако предпочтительно, P^5 и P^6 вместе образуют необязательно замещенную $-\text{C}(\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкильную})_2\text{--}$ группу.

$C(C_1-C_4\text{-алкильную})_2$ - группу. Может случиться так, что P^5 и P^6 вместе образуют $-C(Me)_2$ - группу.

P^7 можно независимо выбирать из $-C(O)OC_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-C(O)OCH_2\text{-арила}$, $-C(O)-O\text{-аллила}$, $-C(O)-O-CH_2\text{-флуоренила}$, необязательно замещенного $-C(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(C_1-C_3\text{-алкилен)арила}$, необязательно замещенного $-C(O)-C_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-C(O)\text{-арила}$, $-S(O)_2-C_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-S(O)_2\text{-арила}$ и необязательно замещенного $-Si(C_1-C_6\text{-алкила})_3$.

P^7 можно независимо выбирать из $-C(O)OC_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-C(O)OCH_2\text{-арила}$, $-C(O)-O\text{-аллила}$, необязательно замещенного $-C(\text{арила})_3$ и необязательно замещенного $-Si(C_1-C_6\text{-алкила})_3$. Предпочтительно, P^7 выбирают из $-C(O)O-tBu$, $-C(O)O\text{-бензила}$ и $-C(O)OCH_2\text{-аллила}$. Таким образом, P^7 может представлять собой $-C(O)OCH_2\text{-арил}$.

Альтернативно, P^7 можно независимо выбирать из необязательно замещенного $-C(O)-C_1-C_6\text{-алкила}$ и необязательно замещенного $-C(O)\text{-арила}$, например, P^7 можно независимо выбирать из бензоила и ацетила.

В качестве другой альтернативы, P^7 представляет собой H.

Аналогично, P^8 можно независимо выбирать из H, $-C(O)OC_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-C(O)OCH_2\text{-арила}$, $-C(O)-O\text{-аллила}$, $-C(O)-O-CH_2\text{-флуоренила}$, необязательно замещенного $-C(\text{арила})_3$, необязательно замещенного $-(C_1-C_3\text{-алкилен)арила}$, необязательно замещенного $-C(O)-C_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-C(O)\text{-арила}$, $-S(O)_2-C_1-C_6\text{-алкила}$, необязательно замещенного $-S(O)_2\text{-арила}$ и необязательно замещенного $-Si(C_1-C_6\text{-алкила})_3$.

Предпочтительно, P^8 представляет собой H.

Может случиться так, что каждый P^7 и P^8 представляет собой H. Может случиться так, что P^7 и P^8 представляют собой H, и P^5 и P^6 вместе образуют $-C(Me)_2$ - группу.

Группа необязательно замещенный $-Si(C_1-C_6\text{-алкил})_3$ может представлять собой $-Si(C_1-C_4\text{-алкил})_3$ группу. Группа является (т.е., алкильные группы являются) предпочтительно незамещенной. Иллюстративные примеры включают триэтилсилил и *трет-бутил*-диметилсилил.

Группа необязательно замещенный $-C(O)-C_1-C_6\text{-алкил}$ может представлять собой $-C(O)-C_1-C_6\text{-алкильную}$ группу. Группа (т.е., алкильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают ацетил и пропионил.

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

Группа необязательно замещенный $-C(O)-OC_1-C_6\text{-алкил}$ может представлять собой $-C(O)-OC_1-C_4\text{-алкильную}$ группу. Группа (т.е., алкильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают $-C(O)-O\text{-метил}$ и $-C(O)-O\text{-этил}$. Особенно предпочтительный пример представляет собой

$C(O)O/Bu$.

Группа необязательно замещенный $-(C_1-C_3\text{-алкилен})$ 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 $-C(O)OCH_2$ -арил предпочтительно представляет собой необязательно замещенную $-C(O)O$ бензильную группу. Иллюстративные примеры включают $-C(O)O$ бензил и $-C(O)O$ (4-метоксибензил).

Группа необязательно замещенный $-C_1-C_4$ -алкил- $O-C_1-C_4$ -алкил может представлять собой $-C_1-C_2$ -алкил- $O-C_1-C_2$ -алкильную группу. Группа (т.е., алкильные группы являются) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают метоксиметил (МОМ) и 2-метоксиэтоксиметил (МЕМ).

Группа необязательно замещенный $-S(O)_2-C_1-C_6$ -алкил может представлять собой $-S(O)_2-C_1-C_4$ -алкильную группу. Группа (т.е., алкильная группа) предпочтительно является незамещенной. Иллюстративные примеры включают метансульфонат.

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

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

Когда две или более из P^2 , P^3 и P^4 или P^5 , P^6 , P^7 и P^8 представляют собой защитные группы, стадия деблокирования может включать две или три отдельные реакции деблокирования. Это является случаем, когда применяют две или три различные защитные группы и когда данные две или три защитные группы нельзя удалять в одних условиях.

Однако может случиться так, что стадия деблокирования включает одну реакцию деблокирования, в которой удаляют все защитные группы. Таким образом, может случиться так, что P^2 и P^3 представляют собой защитные группы, которые можно удалять в одних условиях. Может случиться так, что P^2 и P^3 являются одинаковыми. Аналогично, может случиться так, что P^5 и P^6 представляют собой защитные группы, которые можно удалять в одних условиях. Может случиться так, что P^5 и P^6 являются одинаковыми.

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%.

Любая из приведенных выше алкильных и арильных (например, фенильных, включая фенильные группы в бензильных группах) групп необязательно замещена, где это химически возможно, 1-3 заместителями, каждый из которых независимо при каждом появлении выбран из группы, состоящей из: оксо, $=NR^a$, $=NOR^a$, галогена, нитро, циано,

NR^aR^a , $\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_2\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{CONR}^a\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{CO}_2\text{R}^a$, OR^a , SR^a , SOR^a , SO_3R^a , SO_2R^a , $\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^a$, CO_2R^a , $\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, CONR^aR^a , $\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкила}$, $\text{C}_2\text{--C}_4\text{--алкенила}$, $\text{C}_2\text{--C}_4\text{--алкенила}$ и $\text{C}_1\text{--C}_4\text{ галогеналкила}$; где R^a независимо при каждом появлении выбран из H, $\text{C}_1\text{--C}_4$ алкила и $\text{C}_1\text{--C}_4$ галогеналкила.

Может случиться так, что любая из приведенных выше алкильных групп является незамещенной.

Может случиться так, что любая из приведенных выше арильных групп (например, фенильных, включая фенильные группы в бензильных группах) необязательно замещена, где это химически возможно, 1–3 заместителями, каждый из которых независимо при каждом появлении выбран из группы, состоящей из: галогена, нитро, циано, NR^aR^a , $\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_2\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{CONR}^a\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{CO}_2\text{R}^a$, OR^a , SR^a , SOR^a , SO_3R^a , SO_2R^a , $\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^a$, CO_2R^a , $\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, CONR^aR^a , $\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкила}$, $\text{C}_2\text{--C}_4\text{--алкенила}$, $\text{C}_2\text{--C}_4\text{--алкенила}$ и $\text{C}_1\text{--C}_4$ галогеналкила; где R^a независимо при каждом появлении выбран из H, $\text{C}_1\text{--C}_4$ алкила и $\text{C}_1\text{--C}_4$ галогеналкила.

Может случиться так, что любая из приведенных выше арильных (например, фенильных, включая фенильные группы в бензильных группах) групп необязательно замещена 1–3 заместителями, каждый из которых независимо при каждом появлении выбран из группы, состоящей из: галогена, нитро, OR^a , $\text{C}_1\text{--C}_4\text{--алкила}$, $\text{C}_1\text{--C}_4$ галогеналкила; где R^a независимо при каждом появлении выбран из H, $\text{C}_1\text{--C}_4$ алкила и $\text{C}_1\text{--C}_4$ галогеналкила.

Арильные группы содержат от 6 до 20 атомов углерода в зависимости от требований валентности. Арильные группы представляют собой карбоциклические группы, которые удовлетворяют правилу Хюккеля (т.е., они содержат карбоциклическую кольцевую систему, содержащую $2(2n+1)\pi$ электронов). Арильные группы могут представлять собой необязательно замещенные фенильные и необязательно замещенные бифенильные группы, необязательно замещенные нафталенильные группы или необязательно замещенные антраценильные группы. Равно, арильные группы могут включать неароматические карбоциклические части. Предпочтительно арильная группа представляет собой необязательно замещенную фенильную группу.

Алкильные группы могут быть с нормальной или разветвленной цепью. Таким образом, например, C_4 алкильная группа может представлять собой *n*-бутил, изобутил или *трет*-бутил.

Стадию а) первого, второго и третьего аспекта можно проводить в органическом растворителе (S1). Органические растворители включают, но не ограничиваются, эфиры (например, тетрагидрофуран, диоксан, диэтиловый эфир, метил-*трет*-бутиловый эфир); кетоны (например, ацетон и метилизобутилкетон); галогенированные растворители (например, дихлорметан, хлороформ и 1,2-дихлорэтан); и амиды (например, DMF, NMP); или их смеси. Когда стадию а) проводят в присутствии реагента Гриньяра, органический растворитель предпочтительно представляет собой эфир. Самое предпочтительное, растворитель представляет собой тетрагидрофуран.

Когда стадию а) первого аспекта проводят в присутствии азотистого основания, органический растворитель самое предпочтительное представляет собой галогенированный растворитель или амид.

Реакцию обычно проводят при подходящей температуре, например, от приблизительно -5°C до приблизительно 40°C . Предпочтительно, температура реакции составляет от приблизительно 25°C до приблизительно 30°C . Реакцию можно перемешивать в течение периода времени от приблизительно 15 мин до приблизительно 16 ч и предпочтительно от приблизительно 30 мин до приблизительно 60 мин.

Способы настоящего изобретения могут также включать деблокирование гидроксидов и амино защитных групп.

Может случиться так, что стадию деблокирования (стадию b) проводят без очистки продукта стадии а).

Когда защитная группа является чувствительной к кислоте (например, тритил, $\text{C}(\text{O})\text{OtBu}$, MOM, MEM, 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, ZnBr_2 , CeCl_3). Кислоты Льюиса (например, ZnBr_2) являются менее предпочтительными. HCl аналогично является менее предпочтительной. Предпочтительно, кислота представляет собой TFA.

Когда защитная группа является чувствительной к основанию, например, ацетил, бензоил, стадию деблокирования можно проводить, применяя подходящее основание, например, водный NH_3 или водный NaOH. Группы, чувствительные к основаниям, могут быть менее предпочтительными.

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

Когда защитная группа представляет собой бензильную группу или $\text{C}(\text{O})\text{Обензильную}$ группу, стадию деблокирования можно проводить, применяя H_2 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 $\text{C}(\text{O})\text{O}-(4\text{-метоксибензил})$, стадию деблокирования можно проводить, применяя подходящий окисляющий реагент (например, мета-хлорпербензойную кислоту).

Когда защитная группа представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ аллил, стадию деблокирования можно проводить, применяя $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$.

Когда защитная группа представляет собой $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-$ 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 часов и предпочтительно от приблизительно 1 часа до приблизительно 4 часов, и более предпочтительно от приблизительно 2 часов до приблизительно 3 часов.

Когда стадию b) проводят, применяя C_1 – C_4 -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 Ia, 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:

АСN–ацетонитрил

AIBBr–ацетоксиизобутирилбромид

BOC–*трет*–бутилкарбонат

DCM–дихлорметан

DMAP–*N, N*–диметил–4–аминопиридин

DMF–*N, N*–диметилформаид

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

Np–1–нафтил

PTSA–пара–толуолсульфокислота

RT–комнатная температура

TBAF–фторид тетрабутиламмония

TBDMS –*трет*–бутилдиметилсилил

TEA–триэтиламин

Tf–трифторметилсульфонат (трифлат)

TFA–трифторуксусная кислота

THF–тетрагидрофуран

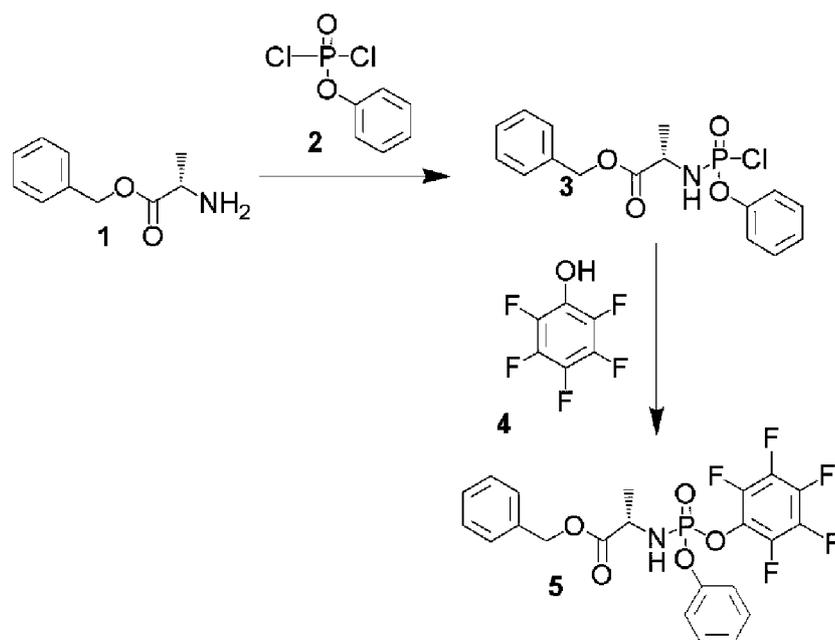
V применяют для обозначения объема (в мл) на вес (в г) исходного соединения.

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.

Пример 1: получение диастереоизомерной смеси бензилового эфира 2–[(2,3,4,5,6–пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты 5 (иллюстративный пример соединения формулы IIb)

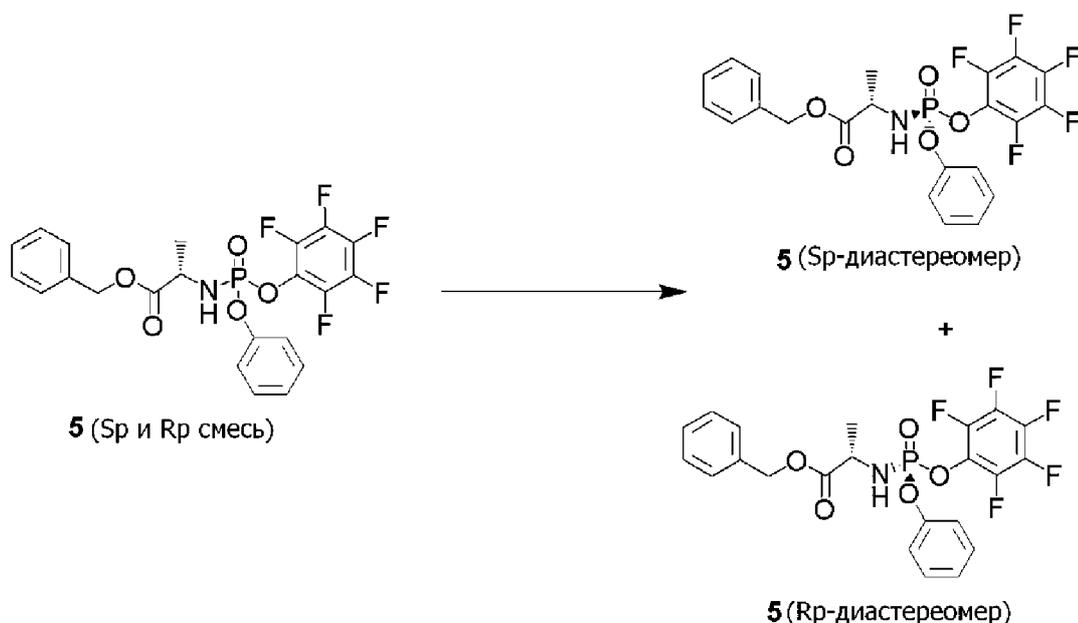


К перемешиваемой смеси гидрохлорида бензилового эфира L-аланина **1** (100 г) в хлористом метиле (1 л) добавляли фенилдихлорфосфат **2** (77 мл) при 25–35°C, и полученную в результате смесь охлаждали до –70°C—78°C, добавляли триэтиламин (130,5 мл), и смесь перемешивали в течение 1 часа при той же температуре. Температуру реакционной массы повышали до 25–35°C и перемешивали в течение 2 часов. 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 фенил(бензокси-L-аланинил)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 часов. 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)

Пример 2: отделение S_p-диастереоизомера бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионой 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

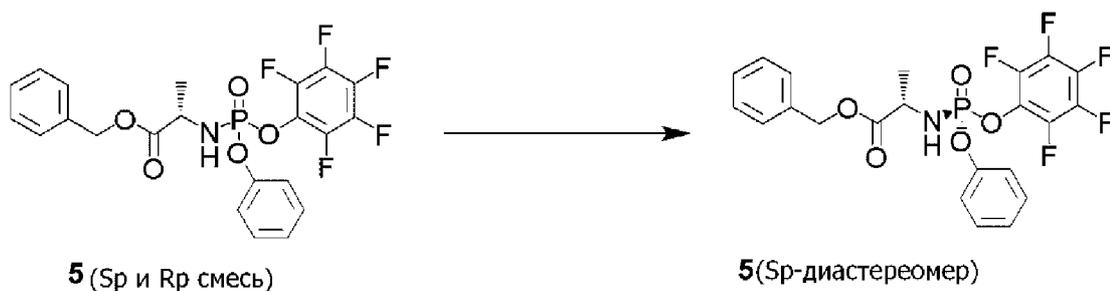
Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 0,20:99,80% (R_P: S_P)

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%).

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



К перемешиваемому раствору бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфеноксифенокси)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 часов 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

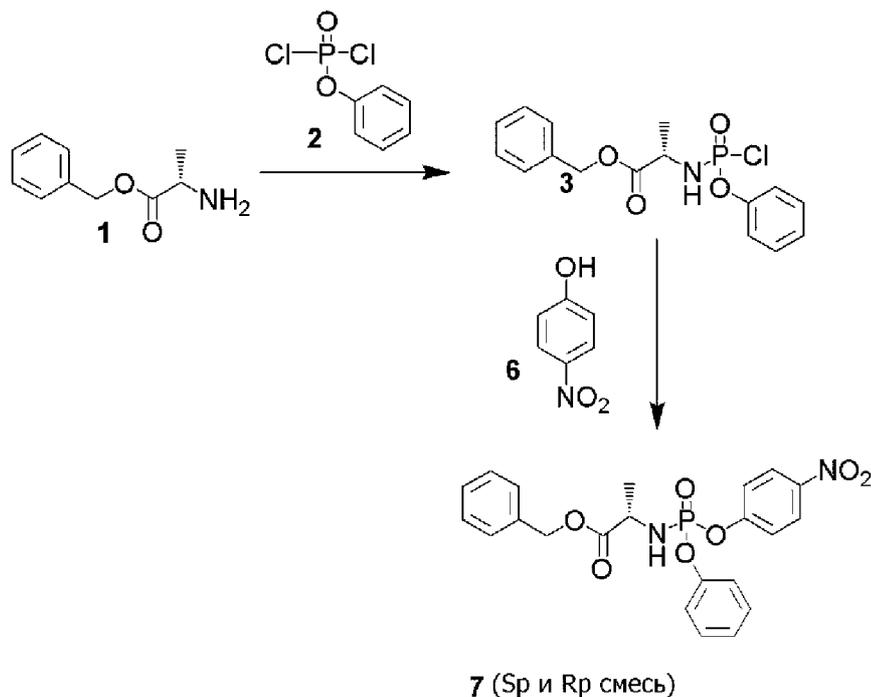
Хиральная чистота по ВЭЖХ (% площадь): 91,29: 8,71% (*S_p*: *R_p*)

Полученную выше *R_p* и *S_p*-диастереоизомерную смесь бензилового эфира 2-[(2,3,4,5,6-пентафторфеноксифенокси)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 часа 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*)

Пример 4: получение диастереоизомерной смеси бензилового эфира 2-[(4-нитрофеноксифенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты **7** (иллюстративный пример соединения формулы Шв)



К перемешиваемой смеси гидрохлорида бензилового эфира L-аланина **1** (50 г) в хлористом метиле (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 часа при той же температуре. Температуру реакционной массы повышали до 25–35°C и перемешивали в течение 2 часов. 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(бензокси-L-аланинил)фосфорхлоридат **3**. Полученное соединение растворяли в хлористом метиле (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 часов. 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-нитрофеноксифосфорилиламино)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)

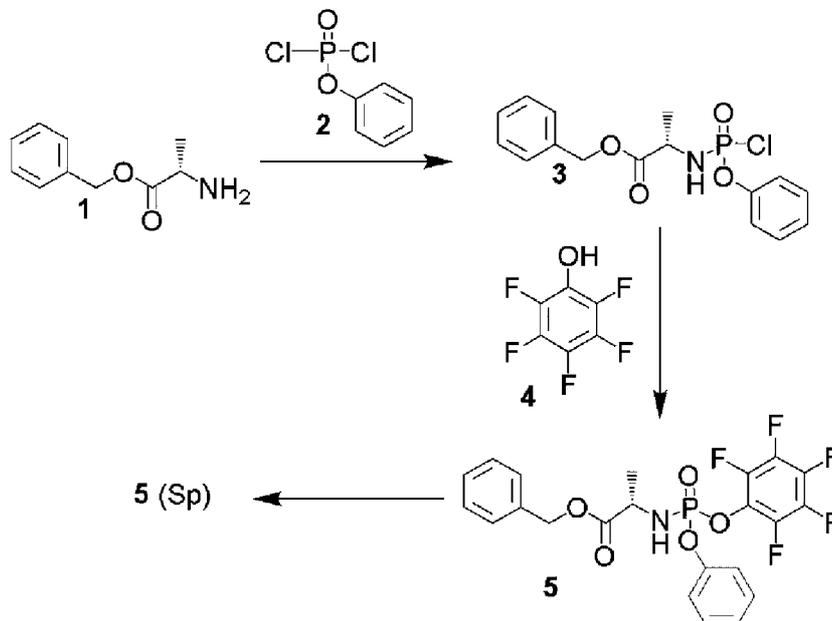
R_p -диастереоизомер: 6 г,

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3): 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

Пример 5: получение бензилового эфира (Sp)-2-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)феноксифосфориламино]пропионовой кислоты **5** (иллюстративный пример соединения формулы IIb)



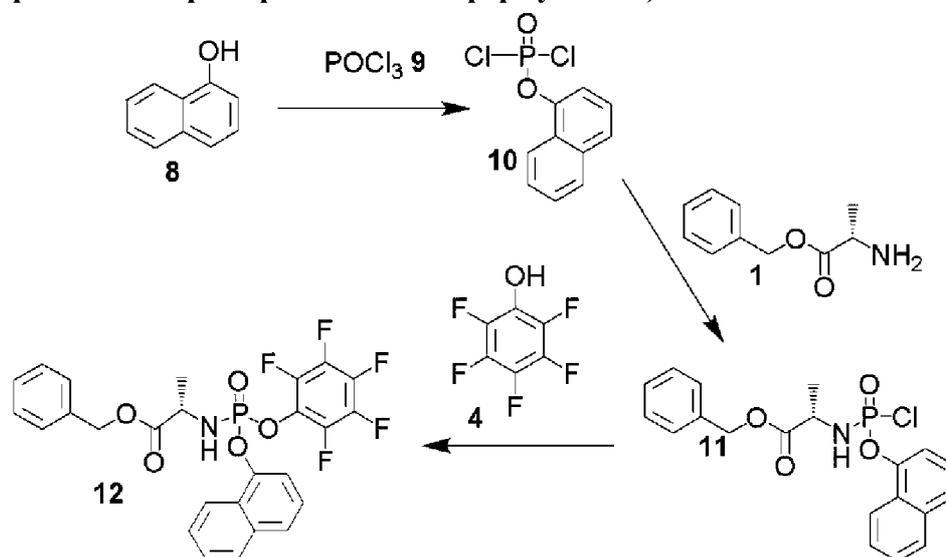
К перемешиваемой смеси гидрохлорида бензилового эфира L-аланин **1** (100 г) в 1000 мл хлористого метилена добавляли фенилдихлорфосфат **2** (97,8 г) в реакционную массу при 30 °С. Смесь охлаждали до –20 °С и добавляли медленно триэтиламин (93,8 г), поддерживая температуру равной –20 °С. Реакцию перемешивали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

Раствор пентафторфенола **4** (85,3 г) в 100 мл хлористого метилена медленно добавляли при 10 °С, с последующим добавлением триметиламина (46,8 г), который добавляли медленно, поддерживая температуру равной 10 °С. Медленно добавляли 46,9 г триэтиламина в реакционную массу при 10 °С (10±5) в атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение 2 ч при 10 °С перед прекращением реакции медленным добавлением 0,5 N HCl раствора, поддерживая температуру равной 10 °С. 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 *n*-гептане при 25 °С. Добавляли триэтиламин (12,2 г), и смесь перемешивали при 25 °С. 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 *n*-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 IIa)



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 бензилового 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 минут. 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)

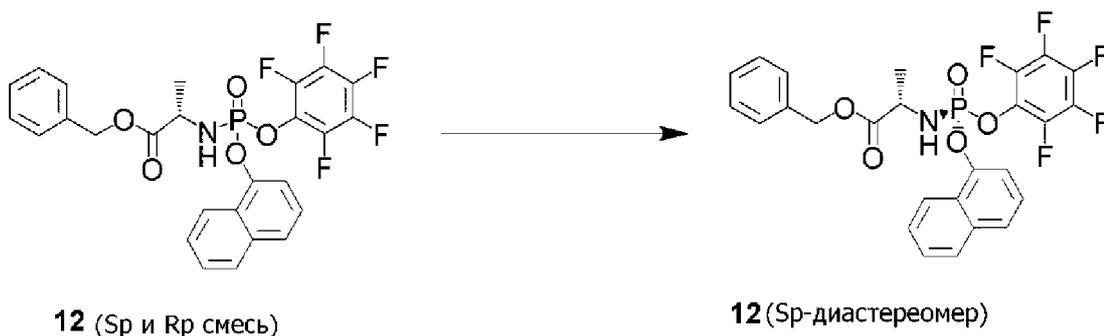
Ремарка: изомеры называли как быстро элюирующийся (**FE**) и медленно элюирующийся (**SE**), исходя из времени удерживания на C18 (обращено-фазовом) картридже и ВЭЖХ аналитической колонке.

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=12,96.

Медленно элюирующийся изомер (считают S_p диастереоизомером): ³¹P ЯМР (202

МГц, CDCl_3): $\delta_{\text{P}}-1,36$; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ_{H} 8,14–8,11 (1H, м, $H\text{-Ar}$), 7,90–7,87 (1H, м, $H\text{-Ar}$), 7,74 (1H, д, $J=8,0$ Гц, $H\text{-Ar}$), 7,60 (1H, д, $J=8,0$ Гц, $H\text{-Ar}$), 7,58–7,55 (2H, м, $H\text{-Ar}$), 7,44 (1H, т, $J=8,0$ Гц, $H\text{-Ar}$), 7,34–7,30 (5H, м, $H\text{-Ar}$), 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, $\lambda=254$, $t_{\text{R}}=14,48$.

Пример 7: обогащение S_{P} -диастереоизомером бензилового эфира 2–[(2,3,4,5,6–пентафторфенокси)нафт–1–оксифосфориламино]пропионовой кислоты **12** (иллюстративный пример соединения формулы **12b**)



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 °C в течение 12 ч.

Результат:

вес соединения: 17 г

выход: 68%

ВЭЖХ чистота : 97,66%

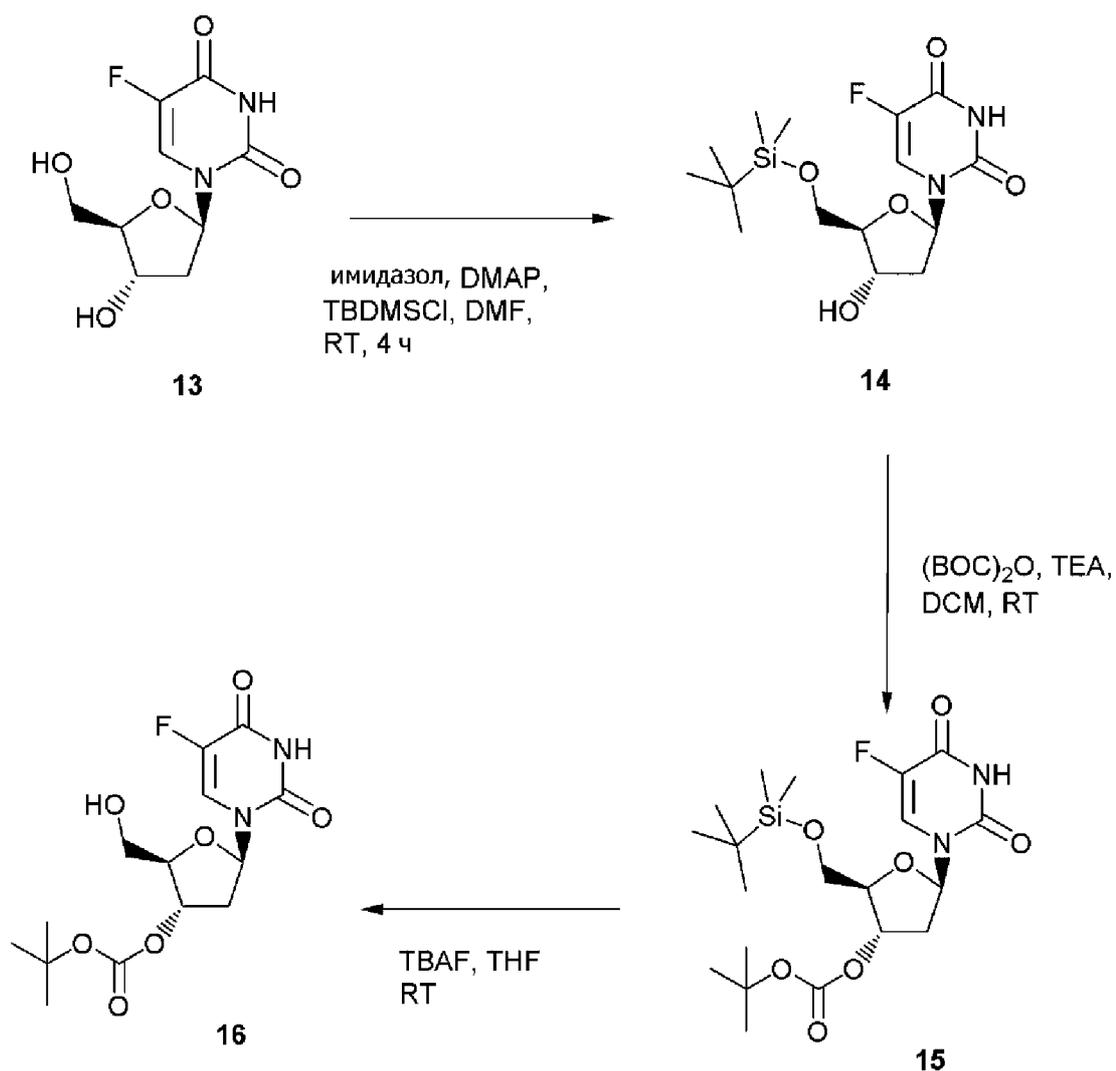
Медленно элюирующийся изомер (считают S_{P} -диастереоизомером): ^{31}P ЯМР (202 МГц, CDCl_3): $\delta_{\text{P}}-1,36$; ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ_{H} 8,14–8,11 (1H, м, $H\text{-Ar}$), 7,90–7,87 (1H, м, $H\text{-Ar}$), 7,74 (1H, д, $J=8,0$ Гц, $H\text{-Ar}$), 7,60 (1H, д, $J=8,0$ Гц, $H\text{-Ar}$), 7,58–7,55 (2H, м, $H\text{-Ar}$), 7,44 (1H, т, $J=8,0$ Гц, $H\text{-Ar}$), 7,34–7,30 (5H, м, $H\text{-Ar}$), 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, $\lambda=254$, $t_{\text{R}}=14,48$.

Стереохимию (R_{P} относительно S_{P}) 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,

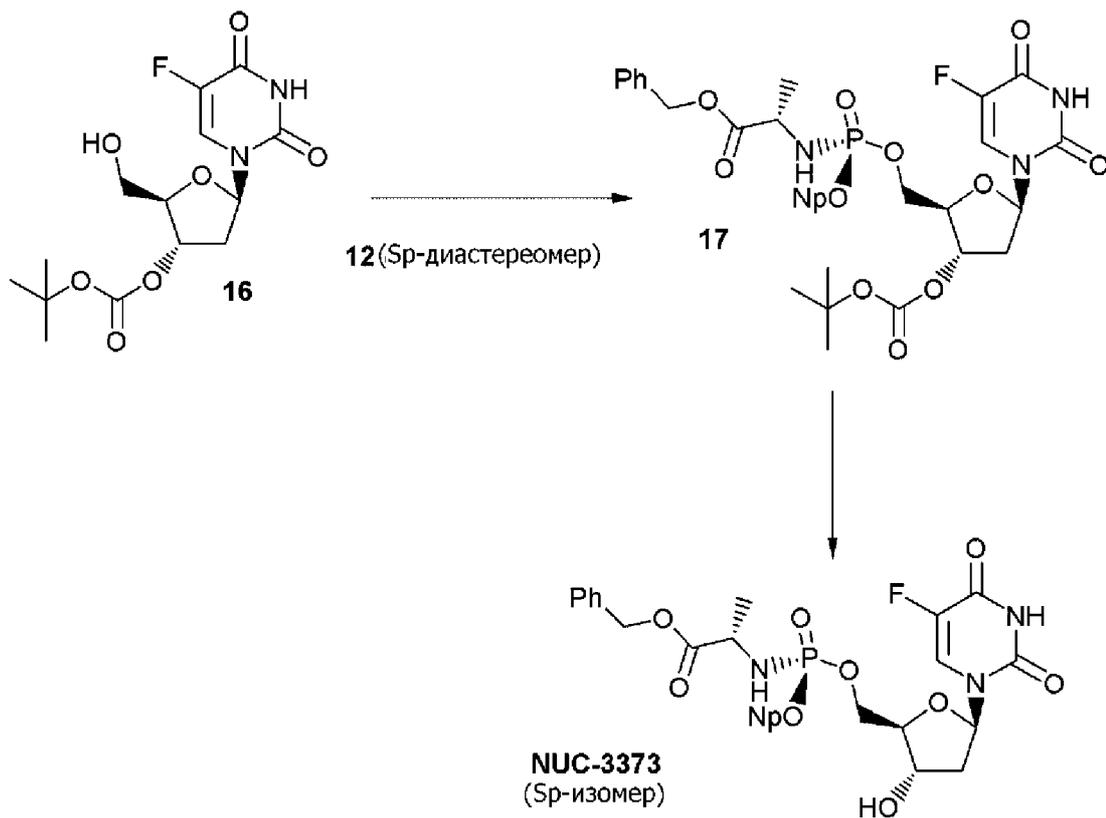
применяя изомеры соединения 12, с данными показателями других ProTides, известных в литературе. Как упоминается выше, стереохимия фосфатного стереоцентра обращается в способе настоящего изобретения, поэтому (Sp)-диастереоизомер соединения формулы 12 будет образовывать (Sp)-диастереоизомер NUC-3373, и, 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'-BOC защищенный FUDR 16 можно получить согласно следующей схеме.



Затем, соединение 16 конденсируют с соединением формулы Па.



Соединение **16** (1 г) и *Sr* 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 перемешивали 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 (2 X 5 мл), 7% раствором бикарбоната натрия (2 X 5 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, OCH_2Ph), 4,35–4,33 (м, 2H, 2 x *H*-5'), 4,30–4,28 (м, 1H, *H*-3'), 4,14–4,08 (м, 1H, CHCH_3), 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, CHCH_3);

^{13}C -ЯМР (125 МГц, MeOD): δ_{C} 174,92 (д, $^3J_{\text{C-P}}=3,75$ Гц, C=O, эфир), 159,37 (д, $^2J_{\text{C-F}}=25,9$ Гц, C=O, основание), 150,54 (д, $^4J_{\text{C-F}}=4,0$ Гц, C=O, основание), 147,99 (д, $^2J_{\text{C-P}}=7,1$ Гц, C-Ar, Naph), 141,75 (д, $^1J_{\text{C-F}}=232,1$ Гц, CF-основание), 137,18, 136,29 (C-Ar), 129,59, 129,36, 128,90, 127,91 (CH-Ar), 127,83 (д, $^3J_{\text{C-P}}=5,4$ Гц, C-Ar, Naph), 127,59, 126,52, 126,50, 126,18 (CH-Ar), 125,54 (д, $^2J_{\text{C-F}}=34,1$ Гц, CH-основание), 122,64 (CH-Ar), 116,29 (д, $^3J_{\text{C-P}}=2,75$ Гц, CH-Ar, Naph), 86,95 (C-1'), 86,67 (д, $^3J_{\text{C-P}}=8,1$ Гц, C-4'), 72,12 (C-3'), 68,05 (OCH_2Ph), 67,85 (д, $^2J_{\text{C-P}}=5,3$ Гц, C-5'), 51,96 (CHCH_3), 40,84 (C-2'), 20,52 (д, $^3J_{\text{C-P}}=7,5$ Гц, CHCH_3).

^{31}P -ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_{P} 4,62;

^{19}F 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 XRs 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, OCH_2Ph), 4,35–4,25 (м, 3H, 2 x *H*-5', *H*-3'), 4,14–4,08 (м, 1H, CHCH_3), 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, CHCH_3);

^{13}C -ЯМР (125 МГц, MeOD): δ_{C} 174,58 (д, $^3J_{\text{C-P}}=5,0$ Гц, C=O, ester), 159,38 (д, $^2J_{\text{C-F}}=26,3$ Гц, C=O), 150,48 (C=O основание), 147,80 (д, $^2J_{\text{C-P}}=6,5$ Гц, C-Ar, Naph), 141,67 (д, $^1J_{\text{C-F}}=232,5$ Гц, CF-основание), 137,15, 136,26 (C-Ar), 129,62, 129,40, 129,36, 128,96, 127,89 (CH-Ar), 127,84 (д, $^3J_{\text{C-P}}=5,5$ Гц, C-Ar, Naph), 127,59, 126,57, 126,55, 126,21 (CH-Ar), 125,61 (д, $^2J_{\text{C-F}}=34,0$ Гц, CH-основание), 122,62 (CH-Ar), 116,55 (д, $^3J_{\text{C-P}}=3,75$ Гц, CH-Ar, Naph), 86,97 (C-1'), 86,66 (д, $^3J_{\text{C-P}}=7,5$ Гц, C-4'), 72,01 (C-3'), 68,07 (OCH_2Ph), 67,84 (д, $^2J_{\text{C-P}}=5,0$ Гц, C-5'), 51,83 (CHCH_3), 40,89 (C-2'), 20,42 (д, $^3J_{\text{C-P}}=7,5$ Гц, CHCH_3).

^{31}P -ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_{P} 4,27;

^{19}F ЯМР (470 МГц, MeOD): δ_{F} -167,27;

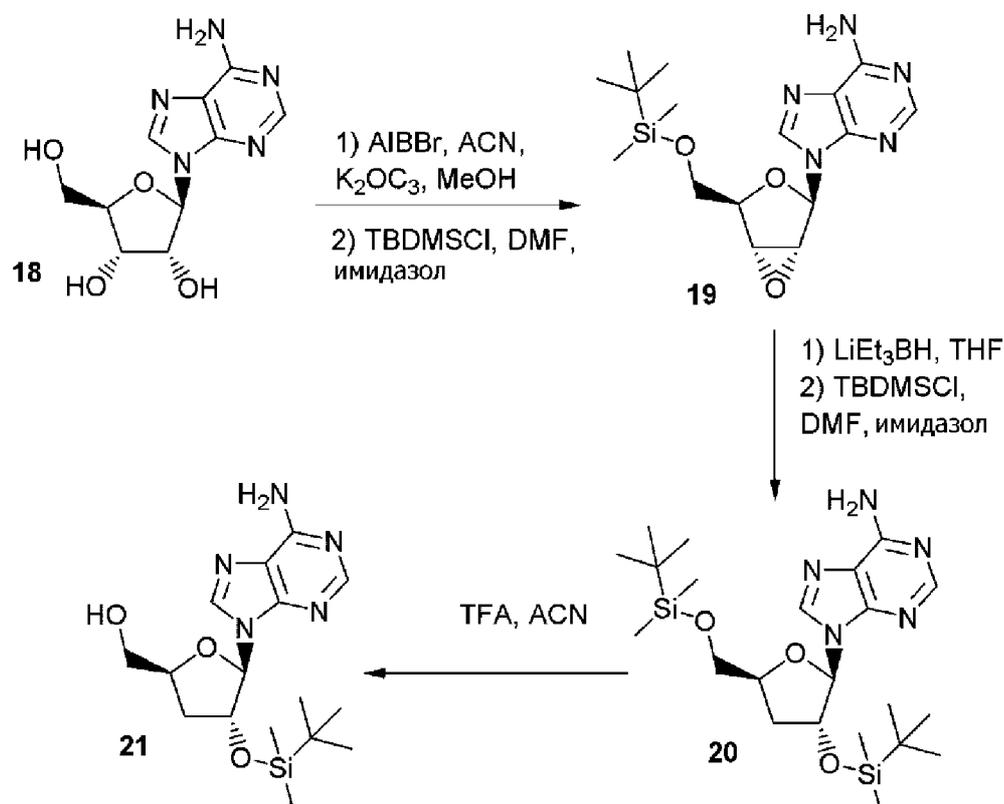
(ES+) m/z: найденная: (M+Na⁺) 636,1520. C₂₉H₂₉N₃O₉FNaP требуемая: (M⁺), 613,15.

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

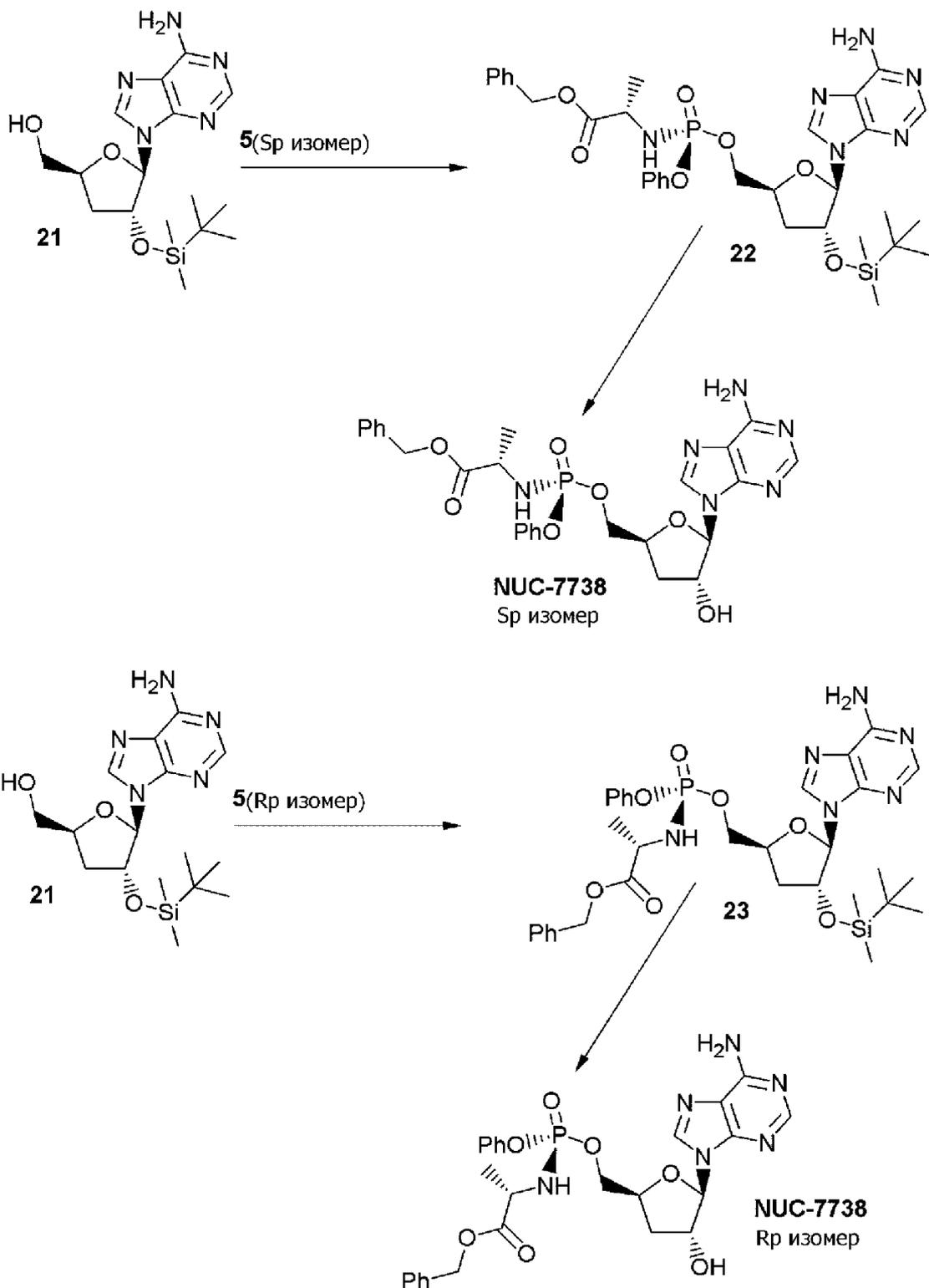
Стереохимию (Rp относительно Sp) двух NUC–3373 изомеров, описанных выше, приписывали ориентировочно, исходя из сравнения ³¹P химического сдвига, ¹H ЯМР спектров и ВЭЖХ времени удерживания с данными показателями ProTides, известных в литературе. Стереохимию соединения 12 приписывали ориентировочно, исходя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

Пример 9: получение Sp и Rp изомеров NUC–7738

2'-TBDMS защищенный 3'-дезоксиаденозин **21** можно получить согласно следующей схеме.



Затем, соединение **21** конденсируют с соединением формулы Пб, 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 °С. Медленно добавляли 3,0 молярных эквивалента ацетоксиизобутирилбромид при 15°С. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 8 часов. 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 °С, 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 °С и добавляли 0,8 эквивалента TBDMSCl. Смесь перемешивали в течение 1–2 часов при 30 °С перед добавлением дополнительных 0,4 эквивалента имидазола и 0,4 эквивалента TBDMSCl. Смесь перемешивали в течение следующих 1–2 часов при 30 °С 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'-силилкордицепин 21

1 Эквивалент эпоксида 19 растворяли в смеси DMSO (5V) и THF (5V). Смесь охлаждали до 0 °С, и смесь продували азотом. Добавляли 1M триэтилборгидрид лития (1 экв.) в THF при 0(±5)°С в течение 1–2 часов. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 минут, нагревали до 30 °С и перемешивали в течение 2 часов перед тем, как медленно добавляли метанол (10 V) при 5 °С. 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 °С 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 °С. 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 часов 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 Sp-NUC-7738

5'-силилкордицепин 21 растворяли в 10 об THF и охлаждали до 0°C. Добавляли

2,0М трет–BuMgCl (2,5 эквивалента), и смесь перемешивали в течение 15 мин. *S_p* изомер соединения 5 (2,5 экв.) растворяли в 5 V THF 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 THF (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 XRs 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* 14,02 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].

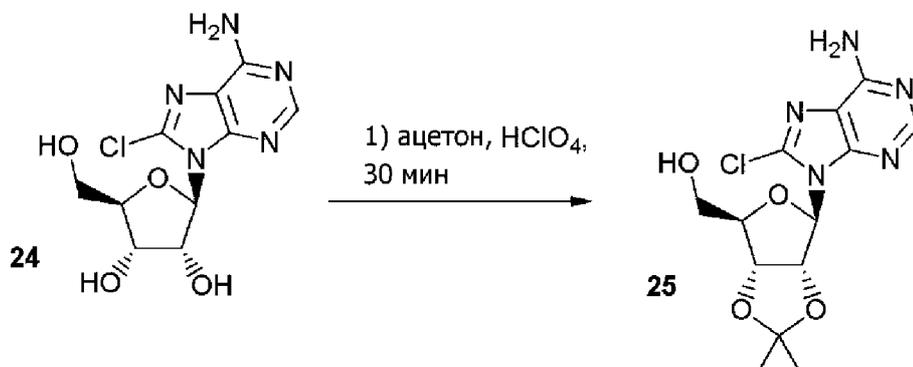
Обращено–фазовая ВЭЖХ (Varian Pursuit XRs 5 C18, 150×4,6 мм) элюируя H₂O/CH₃CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 минут, F: 1 мл/мин, λ=200 нм, показала один

пик с t_R 14,26 мин.

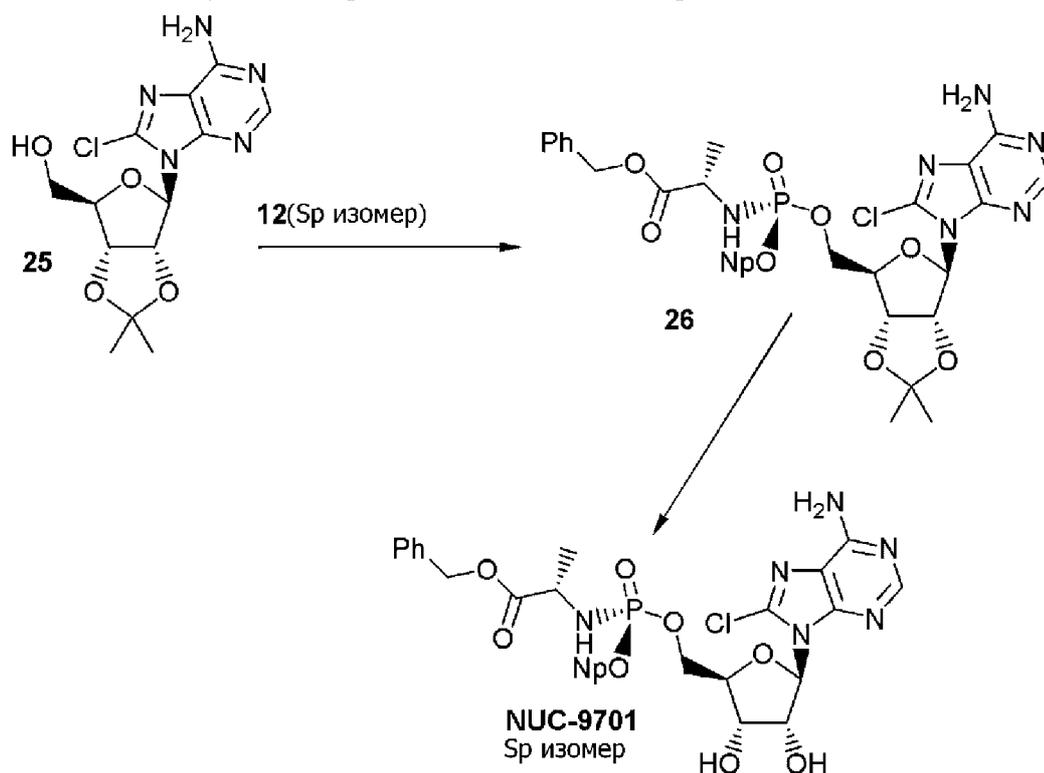
Стереохимию (R_p относительно S_p) двух NUC-7738 изомеров, описанных выше, подтверждали стандартным рентгеновским кристаллографическим анализом.

Пример 10: получение NUC-9701

Диметилацеталь **25** 8-хлораденозина **24** можно получить согласно следующей схеме (также описанной в WO2017/207989).



Затем, соединение **25** можно конденсировать с соединением формулы **12a**, применяя условия способа конденсации, описанные в примере 8. Для получения NUC-9701, диметилацеталь можно удалять, применяя 1:1 TFA:вода при $0^\circ C$ 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 $0^\circ C$ перед медленным добавлением трет-бутилмагнийхлорида (76,8 мл 2,0 М в THF; 1,75 эквивалента), поддерживая температуру равной $0^\circ C$, и смесь перемешивали в течение 4 часов. Добавляли к реакционной смеси 300 мл (10 объемов) 10% раствора хлорида аммония, поддерживая температуру ниже $15^\circ C$. 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–*d*4): 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, $J_{\text{AB}}=12,3$ 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).

^{31}P ЯМР (202 МГц, MeOD–*d*4): 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, $\lambda=254$ нп, показала пик с $t_{\text{R}}=16,43$ мин.

Rp–NUC–9701:

^1H –ЯМР (500 МГц; MeOD–*d*4): 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, $J_{\text{AB}}=12,2$ 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).

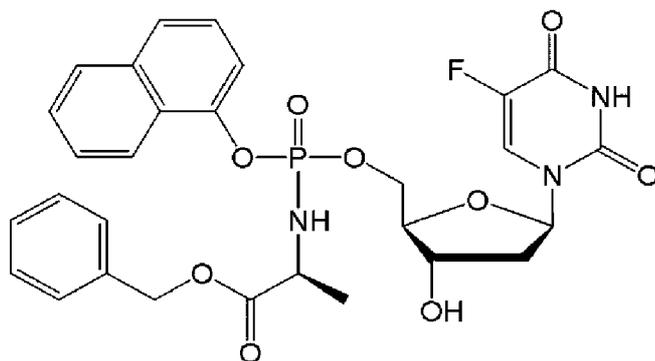
^{31}P ЯМР (202 МГц, MeOD–*d*4): δ_{P} 3,83 (1P, с).

Обращено–фазовая ВЭЖХ, элюируя H₂O/CH₃CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин; 1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, показала пик с $t_{\text{R}}=16,59$ мин.

Стереохимию (*R*_p относительно *S*_p) двух NUC–9701 изомеров, описанных выше, относили ориентировочно, исходя из сравнения ^{31}P химического сдвига, ^1H ЯМР спектров и ВЭЖХ времени удерживания с данными показателями других ProTides, известных в литературе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

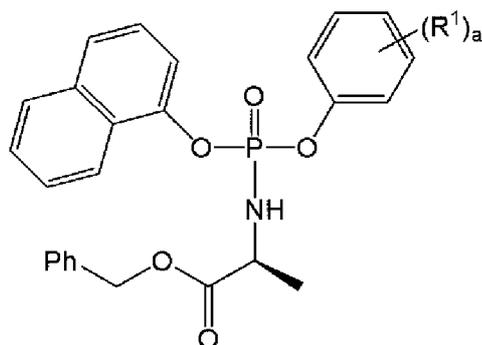
1. Способ получения NUC-3373 (формула Ia):



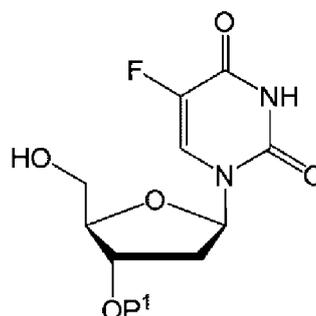
Формула Ia

включающий стадию а) и, если P¹ представляет собой защитную группу, необязательно стадию б):

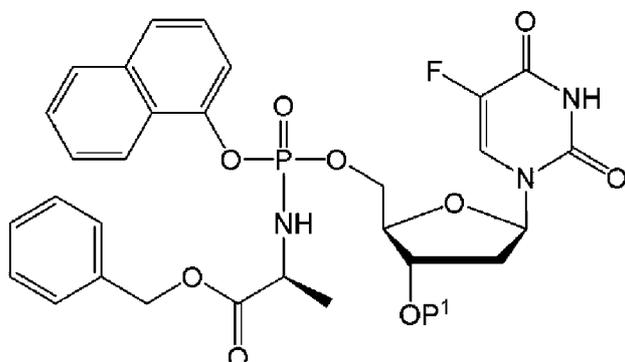
а) реакцию соединения формулы IIa, где R¹ представляет собой электроноакцепторную группу, и а представляет собой целое число от 1 до 5, с соединением формулы IIIa в присутствии основания (B1), с получением соединения формулы IVa; где P¹ независимо выбран из водорода и защитной группы;



Формула IIa



Формула IIIa



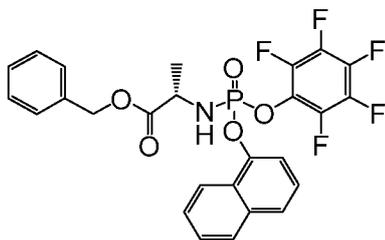
Формула IVa

; и

б) удаления защитной группы P¹ из соединения формулы IVa с получением соединения NUC-3373.

2. Способ по п. 1, где P¹ представляет собой -C(O)O^tBu.

3. Способ по п. 1 или п. 2, где В1 представляет собой реагент Гриньяра.
4. Способ по п. 3, где В1 представляет собой $t\text{BuMgCl}$.
5. Способ по любому из п.п. 1–4, где стадию а) проводят в эфирном растворителе.
6. Способ по п. 5, где стадию а) проводят в THF.
7. Способ по любому из предшествующих пунктов, где стадию б) проводят с использованием $\text{C}_1\text{-C}_4\text{-спирта}$ и/или воды.
8. Способ по п.7, где стадию б) проводят с использованием смеси изопропилового спирта и воды.
9. Способ по любому из предшествующих пунктов, где соединение формулы IIa представляет собой соединение 12:



10. Способ по любому из предшествующих пунктов, где соединение формулы IIIa получают путем защиты 5'-гидроксильной группы флоксуридина защитной группой, ортогональной к R^1 ; одновременной или последующей защиты 3'-гидроксильной группы флоксуридина группой R^1 ; и удаления защиты 5'-гидроксильной группы с получением соединения формулы IIIa.

По доверенности

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2018/051638

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07H1/02 C07H19/10 C07H19/20 C07F9/24 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07H C07F		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	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 <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> ----- -/-- </div>	1-16, 42-45
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. </div>		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search <div style="text-align: center; font-weight: bold;">20 December 2018</div>	Date of mailing of the international search report <div style="text-align: center; font-weight: bold;">07/01/2019</div>	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer <div style="text-align: center; font-weight: bold;">Gohlke, Pascale</div>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2018/051638

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	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 -----	1-16,44, 45
Y	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 -----	42,43
A	the whole document In particular compound 7m -----	1-7
A	MICHAELA SERPI ET AL: "Synthetic Approaches for the Preparation of Phosphoramidate Prodrugs of 2'-Deoxypseudoisocytidine", 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) -----	1-7
X	WO 2016/030335 A1 (MEDIVIR AB [SE]) 3 March 2016 (2016-03-03)	42
Y	page 52, line 1 - page 53, line 14	8-16,
A	page 53; table 1; compounds I-44	43-45
A	page 26, line 19 - page 27, line 4; compounds 3a, 3b -----	1-7
A	WO 2016/083830 A1 (NUCANA BIOMED LTD [GB]) 2 June 2016 (2016-06-02) cited in the application page 60, line 17 - page 61, line 18 -----	1-7
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2018/051638

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	<p>WO 2017/207989 A1 (NUCANA BIOMED LTD [GB]) 7 December 2017 (2017-12-07) cited in the application page 82, line 19 - page 84, line 28; compound D page 58 - page 59; example 4; compound D -----</p>	1-7
Y A	<p>WO 2016/098123 A2 (LAURUS LABS PRIVATE LTD [IN]) 23 June 2016 (2016-06-23) the whole document claims 1, 14 page 6, line 1 - page 7, line 18; compounds I, Ia Table: specific compounds of formula I; in particular first compound on page 10 and third compound on page 12 page 9, lines 36-39 pages 10-16 -----</p>	8-16, 42-45 1-7
X	<p>WO 2017/087517 A1 (DEMETER THERAPEUTICS LLC [US]) 26 May 2017 (2017-05-26) page 37; example 1; compound 1025 -----</p>	42
Y		43

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2018/051638

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

1-16, 42-45

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-7

Process for the preparation of NUC-3373 (Ia) in diastereomerically pure form

2. claims: 46, 47(completely); 52(partially)

(Sp)-NUC-3373 and (Rp)-NUC-3373 and a pharmaceutical formulation comprising (Sp)-NUC-3373 or (Rp)-NUC-3373

3. claims: 17-25

Process for the preparation of NUC-9701 (Ic) in diastereomerically pure form

4. claims: 50, 51(completely); 52(partially)

(Sp)-NUC-9701 and (Rp)-NUC-9701 and a pharmaceutical formulation comprising (Sp)-NUC-9701 or (Rp)-NUC-9701

5. claims: 26-41

Process for the preparation of NUC-7738 (Ib) in diastereomerically pure form

6. claims: 48, 49(completely); 52(partially)

(Sp)-NUC-7738 and (Rp)-NUC-7738 and a pharmaceutical formulation comprising (Sp)-NUC-7738 or (Rp)-NUC-7738

7. claims: 8-16, 44, 45

Process for the preparation of 2-[(substituted-phenoxy)-naphthalenyloxy-phosphorylamino] propionic acid benzyl ester, wherein the substituent represents one or more suitable electron withdrawing groups (IIa) in diastereomerically enriched form, and the thus obtained diastereoisomers (Sp) and (Rp) of compound 12 (pentafluorophenoxy derivative).

8. claim: 42

Compound IIa:
2-[(substituted-phenoxy)-naphthalenyloxy-phosphorylamino] propionic acid benzyl ester, wherein the substituent

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

represents one or more suitable electron withdrawing groups
as a mixture of diastereoisomers

9. claim: 43

Compound 12 : mixture of diastereoisomers of
2-[(pentafluoro-phenoxy)-naphthalenyloxy-phosphorylamino]
propionic acid benzyl ester

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2018/051638

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016030335 A1	03-03-2016	AU 2015308988 A1	23-02-2017
		AU 2018201980 A1	12-04-2018
		BR 112017003898 A2	05-12-2017
		CA 2956251 A1	03-03-2016
		CN 107074826 A	18-08-2017
		EA 201890648 A2	31-08-2018
		EP 3186244 A1	05-07-2017
		JP 2017526677 A	14-09-2017
		KR 20170046736 A	02-05-2017
		PH 12017500184 A1	28-06-2017
		SG 11201701172S A	30-03-2017
		US 2017267705 A1	21-09-2017
		WO 2016030335 A1	03-03-2016
WO 2016083830 A1	02-06-2016	AU 2015352203 A1	27-04-2017
		BR 112017011187 A2	02-01-2018
		CA 2962373 A1	02-06-2016
		CL 2017001336 A1	15-12-2017
		CN 107207554 A	26-09-2017
		EA 201791182 A1	29-09-2017
		EP 3224268 A1	04-10-2017
		JP 2017535587 A	30-11-2017
		KR 20170087465 A	28-07-2017
		PH 12017500944 A1	20-11-2017
		SG 11201702369U A	27-04-2017
		US 2017253629 A1	07-09-2017
		WO 2016083830 A1	02-06-2016
WO 2017207989 A1	07-12-2017	AU 2017273120 A1	06-12-2018
		CA 3025435 A1	07-12-2017
		WO 2017207989 A1	07-12-2017
WO 2016098123 A2	23-06-2016	NONE	
WO 2017087517 A1	26-05-2017	AU 2016355429 A1	31-05-2018
		BR 112018009946 A2	06-11-2018
		CA 3005444 A1	26-05-2017
		CN 108431016 A	21-08-2018
		EP 3377512 A1	26-09-2018
		JP 2018533634 A	15-11-2018
		US 2018346508 A1	06-12-2018
		WO 2017087517 A1	26-05-2017