

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 789

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/7072 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
C07F 9/24 (2006.01)
C07F 9/6521 (2006.01)
C07F 9/6558 (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01)
C07H 19/10 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

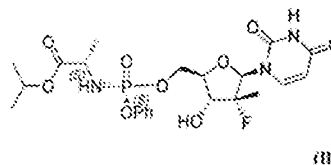
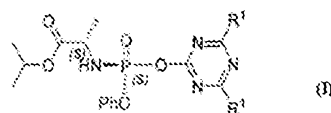
(21) Číslo přihlášky: **2014-259**
(22) Přihlášeno: **15.04.2014**
(40) Zveřejněno: **29.10.2015**
(Věstník č. 43/2015)
(47) Uděleno: **27.03.2019**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **09.05.2019**
(Věstník č. 19/2019)

(56) Relevantní dokumenty:
Lewandowska M. et al.: "Synthesis of 3'-azido-2',3'-dideoxy-5-fluoruridine phosphoramidates and evaluation of their anticancer activity" European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 67, 188-195, ISSN: 0223-5234.
WO 2011/123 645 A2; WO 2014/047 117 A1; WO 2014/164 533 A1; WO 2015/097 605 A1.

(73) Majitel patentu:
Zentiva, k.s., Praha 10 - Dolní Měcholupy, CZ

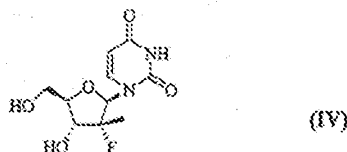
(72) Původce:
Martin Štefko, 85101 Bratislava, SK
Stanislav Man, Nezdenice, CZ
Stanislav Rádl, Květnice, CZ

(74) Zástupce:
ROTT, RŮŽIČKA & GUTTMANN Patentové,
známkové a advokátní kanceláře, Ing. Jana
Fuchsová, patentový zástupce, Vinohradská 37,
120 00 Praha 2



(54) Název vynálezu:
**Způsob výroby biologicky účinných
fosforamidátových léčiv**

(57) Anotace:
Řešení se týká způsobu výroby sofosbuviru vzorce II, který spočívá v reakci sloučeniny vzorce IV aktivované vhodným činidlem se sloučeninou vzorce I, ve kterém R¹ a R² mohou být nezávisle H, C1-C6 rozvětvený nebo nerozvětvený alkyl, C1-C6 rozvětvená nebo nerozvětvená alkoxy skupina, C1-C6 rozvětvená nebo nerozvětvená alkylsulfanyl skupina, C1-C6 rozvětvená nebo nerozvětvená monoalkylamino- nebo dialkylaminoskupina, pyrrolidinoskupina, piperidinoskupina nebo morfolinoskupina.



Způsob výroby biologicky účinných fosforamidátových léčiv

Oblast techniky

Vynález se týká nového typu 1,3,5-triazin-2-yl fosforamidátů obecného vzorce I s absolutní konfigurací (*S*) na atomu fosforu – *S_p*-diastereoizomer,



kde Ph je fenyl, R¹ a R² mohou být nezávisle H, C1–C6 (ne)rozvětvený alkyl, C1–C6 (ne)rozvětvená alkoxy skupina, C1–C6 (ne)rozvětvená alkylsulfanyl skupina, C1–C6 (ne)rozvětvená monoalkylamino– nebo dialkylamino skupina, včetně cyklických amino skupin, například pyrrolidino, piperidino nebo morfolino skupiny, a jejich využití k výrobě biologicky účinných fosforamidátových pro léčiv, zejména pak sofosbuviru vzorce II.



Sofosbuvir II je nukleotidový inhibitor RNA polymerázy používaný k léčbě žloutenky typu C ve formě pro léčiva, uvolňující v organismu aktivní protivirovou látku 2'-deoxy-2'-fluor-β-D-ribofuranosyl-5'-trifosfát.

Dosavadní stav techniky

Dosud nejvýhodnější popsané metody přípravy sofosbuviru II jsou založené na reakci spočívající v reakci fosforamidátového prekursoru (*S_p* diastereoizomer III) s fluorovaným derivátem IV. Reakce probíhá stereospecificky tzv. S_N2 mechanismem s inverzí konfigurace na chirálním atomu fosforu. Právě díky tomuto S_N2 mechanismu lze reakcí diastereomerně čistého intermediátu III (*S_p* diastereoizomerů) možné připravit diastereomerně čistý sofosbuvir II.

V literatuře byla popsána řada vhodných odstupujících skupin (LG) prekursoru III, zahrnující halogeny (Cl, Br, I), sulfonáty (např. mesylát, tosylát, triflát, kafsulfonát) a aryloxyskupiny, s výhodou nesoucí alespoň jednu elektrony přitahující skupinu (WO 2008/121634, WO 2010/135569, WO 2011/123645, WO 2012/012465, WO 2014/008236). Jako nejčastěji využívané odstupující skupiny jsou zmiňovány 4-nitrofenoxi, 2-nitrofenoxi, 2,4-dinitrofenoxi, 2-chlor-4-nitrofenoxi a pentafluorfenoxyskupina (*J. Org. Chem.* 2011, 76, 8311). Obecné schéma přípravy sofosbuviru II za použití fosforamidátového prekursoru obecného vzorce III je uvedeno ve schématu 1.

Fosforamidátový prekurzor

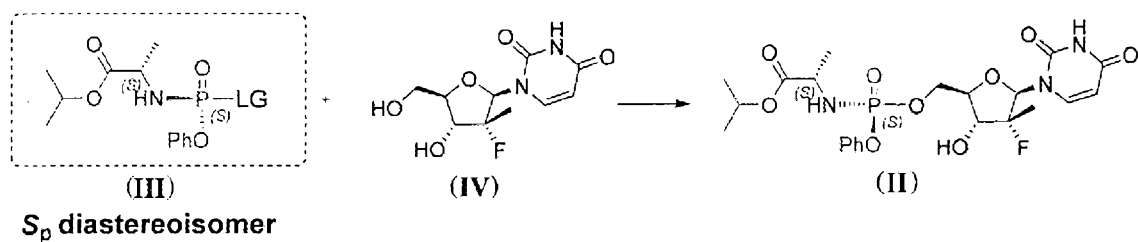


Schéma 1. : Syntéza sofosbuviru II

5

Pro většinu odstupujících skupin se příslušný Sp diastereoizomer fosforamidátového prekurzoru obecného vzorce III izoluje z ekvimolární (1:1) směsi diastereoizomerů štěpením (WO 2010/135569) nebo chromatograficky. V případě fosforamidátů majících jako odstupující skupinu (LG) aryloxyskupinu, lze příslušný Sp diastereoizomer získat krystalizací. Patentová
 10 přihláška WO 2010/135569 popisuje přípravu směsi 4-nitrofenoxys fosforamidátů obohacenou o Sp diastereomer. Surová reakční směs obsahující směs Sp a Rp diastereomery (IIIa a IIIb) v poměru 1:1 byla rozpuštěna ve vhodném rozpouštědle (dichlormethan – DCM/isopropylether – IPE) a očkovaná čistým Sp diastereomerem. Produkt získaný následnou krystalizací obsahoval převážně požadovaný Sp diastereoizomer příslušného fosforamidátů IIIa (Sp : Rp 48:1; schéma 2).

15

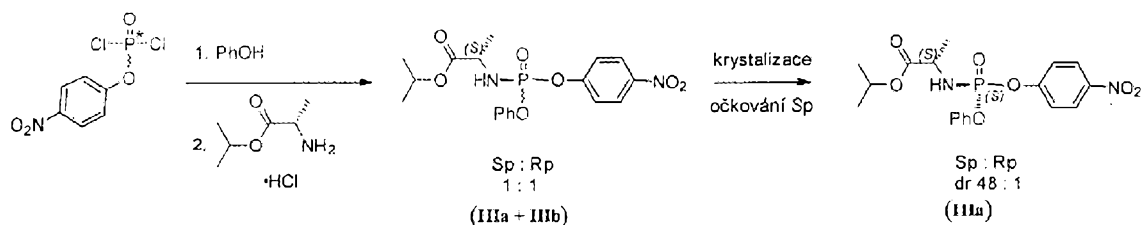


Schéma 2.

Obdobný postup, tentokrát popsáný pro pentafluorfenoxys substituovaný fosforamidát, byl popsán v patentové přihlášce WO 2011/123645. V uvedeném dokumentu byl příslušný opticky čistý Sp diastereomer IIIc (de >99 %) získán v 37% celkovém výtěžku krystalizací ze surové reakční směsi, která obsahovala oba diastereomery (IIIc a IIId) v poměru 1:1 (Sp:Rp 1:1) (schéma 3).

25

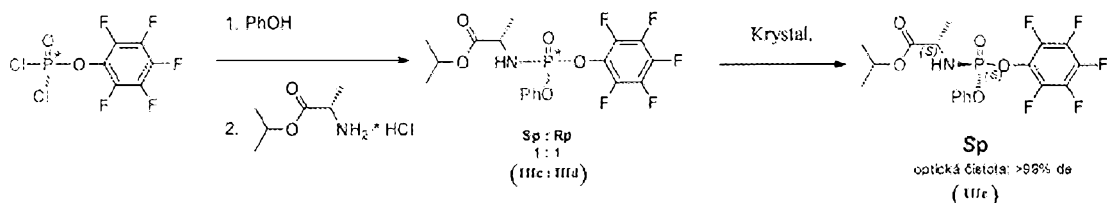
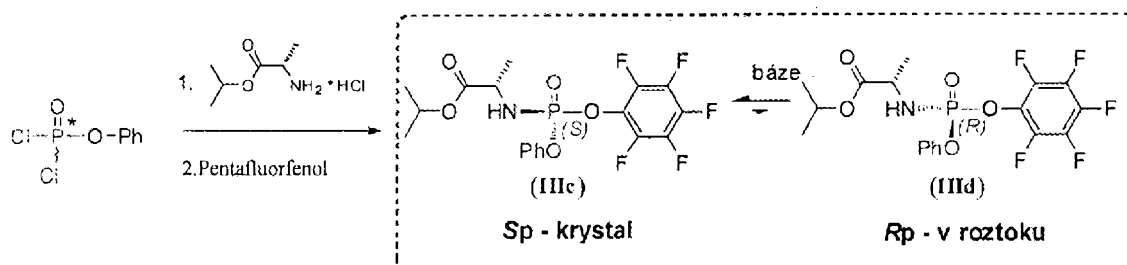


Schéma 3

Další poměrně rozsáhlá studie se zabývala vlivem odstupující fenoxys skupiny na reaktivitu fosforamidátů v reakci s modifikovanou nukleobází (fluoro cukr), jakož i možností získat diastereomerně čistý fosforamidát Sp pomocí krystalizace. Je to již výše zmíněná práce publikovaná v *J. Org. Chem.* 2011, 76, 8311, zabývající se zejména fenoxyskupinami typu 2,4-dinitrofenol, pentafluorfenol, 2-chlor-4-nitrofenol, 2-nitrofenol, 4-nitrofenol, 2,4-dichlorfenol. Jednou z možností jak dosáhnout zvýšení výtěžku Sp diastereoizomerů fosforamidátového
 35 prekurzoru je krystalizací indukovaná dynamická resoluce. Tento postup byl poprvé popsán v

WO 2011/123645, kde byla s výhodou využita pentafluorofenoxy odstupující skupina umožňující zvýšit celkový výtěžek Sp diastereomeru IIIc na 53 % (schéma 4).



5 Schéma 4. Využití krystalizací indukované dynamické resoluce při syntéze Sp diastereomeru

Podstata vynálezu

10 Předmětem tohoto vynálezu je nový vylepšený způsob výroby biologicky účinných fosforamidátových proléčiv, zejména sofosbuviru vzorce II. Tato nová syntetická strategie využívá snadné dostupnosti diastereoizomerně čistých fosforamidátových prekurzorů typu I jako klíčových intermediátů při průmyslové výrobě sofosbuviru vzorce II (Schéma 5).

15 Fosforamidátový prekurzor

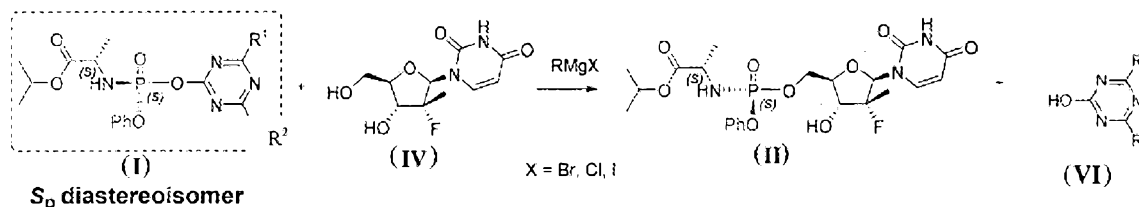
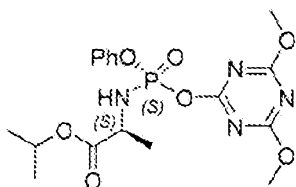


Schéma 5. Syntéza sofosbuviru II s využitím alkyloxy-1,3,5-triazin-2-yl fosforamidátů I

20 Tento vynález je založen na překvapivém pozorování, že náhradou aryloxyskupiny ve vzorci III za vhodně substituovanou 1,3,5-triazin-1-yloxyskupinu struktury vzorce I, kde R^1 a R^2 mohou být nezávisle H, C1–C6 nerozvětvený nebo rozvětvený alkyl, C1–C6 nerozvětvená nebo rozvětvená alkoxy skupina, C1–C6 nerozvětvená nebo rozvětvená alkylsulfanyl skupina, C1–C6 nerozvětvená nebo rozvětvená monoalkylamino- nebo dialkylamino skupina, pyrrolidino skupina, piperidino skupina, nebo morfolino skupina, dále jejich stereoisomery, soli, solváty, hydráty a krystalické a amorfnní formy, lze docílit jak vylepšené regioselektivní substituce (problém nastíněný v dokumentu WO 2010/135569), tak zvýšení výtěžků a zjednodušení čištění finálních produktů. Vhodnou volbou skupin R^1 , R^2 lze kromě reaktivity výrazně ovlivnit rozpustnost 1,3,5-triazinů vzorce VI ve vodě a organických rozpouštědlech a tím právě usnadnit izolaci a čištění finálních produktů. 1,3,5-Triazin-2-yl substituované krátkými alkylovými skupinami C1–C2 – methoxy, ethoxy či dimethylamino – nebo nesoucí polární skupiny, jako například N-methylpiperazino nebo trialkylamoniovou, jsou poměrně dobře rozpustné ve vodě a dají se po ukončení reakce odstranit z reakčních směsí prostým vytřepáním z organického rozpouštědla do vody bez použití dalších činidel. Dalšími předměty předloženého vynálezu jsou následující sloučeniny:

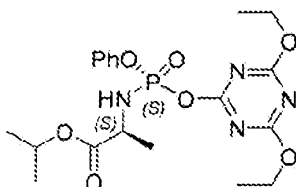
a) Sloučenina mající strukturu vzorce Ia a jejíž název je isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxysforfylamino]propionát



(Ia)

b) Sloučenina mající strukturu vzorce Ib a jejíž název je isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diethoxy-1,3,5-triazin-2-oxo)fenoxifyfosforylamino]propionát

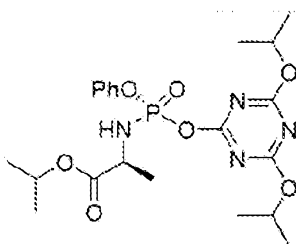
5



(Ib)

c) Sloučenina mající strukturu vzorce Ic a jejíž název je isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxo)fenoxifyfosforylamino]propionát

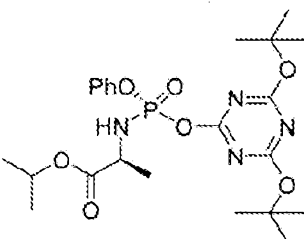
10



(Ic)

d) Sloučenina mající strukturu vzorce Id a jejíž název je isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-di-terc-butoxy-1,3,5-triazin-2-oxo)fenoxifyfosforylamino]propionát

15



(Id)

Vhodně zvolené uspořádání experimentu – vhodné substituenty – pak umožňuje při vodném zpracování reakční směsi převést vedlejší produkt reakce – hydroxytriazin vzorce VI do vodné fáze, zatímco produkt vzorce II zůstává v organické vrstvě, která představuje vstupní surovinu do dalšího technologického stupně – krystalizace (schéma 5).

20

Pokud jsou však 1,3,5-triaziny vzorce VI substituované substituenty s delšími (C3–C6) nebo rozvětvenými alkylovými řetězci (např. propoxy, isopropoxy, allyloxy, butoxy, isobutoxy, *tert*-butoxy, diethylamino), jsou pak výrazně lipofilní, a proto se dobře rozpouštějí v organických rozpouštědlech. Pokud však při přípravě sofosbuviru vzorce II vzniká takovýto lipofilní triazin vzorce VI, ten poté při zpracování a promývání naopak nepřechází nebo přechází jen částečně do vodné fáze. Výše zmíněné lipofilní triaziny vzorce VI se oproti ve vodě rozpustným vzorce VI snadno odstraňují od vzorce II krystalizací, právě díky jejich vysoké rozpustnosti v organických rozpouštědlech. Toto je právě další z překvapivých výhod hydroxytriazinů vzorce VI. Hydroxytriaziny vzorce VI totiž ve srovnání s pentafluorfenolem jako odstupující skupinou poskytují v obou případech (použití lipofilního i hydrofilního) finální produkt čistší, než při

30

použití zmíněného pentafluorfenolu. Při použití pentafluorfenolu tento totiž v produktu stále zůstává, ať se již použije čištění krystalizací či vytřepáváním. Nejvýhodnějšími skupinami R^1 , R^2 substituovaných hydroxytriazinů vzorce VI jsou alkokyskupiny, s výhodou mající zejména $R^1 = R^2$ je methoxy, ethoxy, propoxy, allyloxy, isopropoxy nebo *tert*-butoxyskupiny.

5

Podle způsobu popsaného v tomto vynálezu byly triaziny vzorce VI připraveny ve vysokých výtěžcích z příslušných 2,4,6-trialkoxy-1,3,5-triazinů vzorce VII získaných reakcí příslušných alkoholů s kyanurchloridem. Přípravu vzorce VI z kyanurchloridu lze uskutečnit nejenom jako dvoustupňový proces, ale s výhodou lze tyto látky připravit "one-pot" procesem. Vysoce selektivní substituci pouze jedné alkokyskupiny za hydroxy skupinu je možné provádět působením hydroxidů v příslušném alkoholu, *tert*-butanolu anebo ve vodě (schéma 6).

10

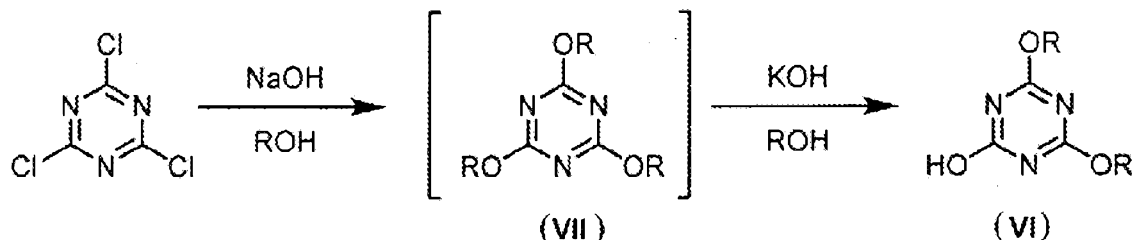


Schéma 6. : one-pot příprava hydroxytriazinů VI

15

Hlavní výhodou popsaného postupu je nízká cena výchozích surovin, což je jedno z klíčových kritérií pro průmyslové využití tohoto postupu. Mezi další nesporné výhody patří velmi snadná manipulace s triaziny vzorce VI, které jsou ve srovnání s fenolickými substráty netěkavé, nedráždivé a pevné krystalické látky bez zápachu. Z hlediska technologického postupu a jejich použití pro výrobu sofosbuviru vzorce II, představují příslušné triaziny vzorce VI vedlejší produkt reakce (schéma 5). Díky jejich unikátním fyzikálně-chemickým vlastnostem je lze lehce oddělit z reakční směsi a následně snadno rozložit působením minerálních kyselin na netoxickou kyanurovou kyselinu. Navíc se tyto triaziny případně dají bez zbytečných rizik bezpečně spalovat. Tento postup a jejich využití pak představuje „zelenou“ alternativu k původním postupům popsaným v literatuře, používající fenolické deriváty.

20

25

Způsob výroby se vyznačuje tím, že se provede krystalizací indukovaná dynamická resoluce, avšak bez předchozí izolace krystalů S_p diastereoizomerů I, přičemž se získají S_p diastereoizomery I ve formě jediného podílu s chirální čistotou 99 % a vyšší.

30

Syntéza diastereoizomerně čistých fosforamidátů vzorce I je založena na reakci (*S*)-isopropyl 2-aminopropanoátu (isopropylesteru *L*-alaninu) s fenyl dichlorfosfátem v přítomnosti vhodné báze ve vhodných rozpouštědlech, a následné reakci vzniklého intermediátu vzorce V s vhodným triazinem vzorce VI (schéma 7). Jako báze vhodné pro tento reakční krok se použijí zejména báze z řady aminů, jako jsou triethylamin (Et_3N), *N,N*-diisopropylethylamin (DIPEA), 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan (DABCO), 1-methylmorfolin, 1-ethylpiperidin, dále pak karbonáty a hydrogenkarbonáty jako Na_2CO_3 , K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , $NaHCO_3$, $KHCO_3$, případně acetáty $NaOAc$ a $KOAc$ v celé řadě rozpouštědel a jejich směsí. Ve výhodném provedení se pro tento reakční krok použijí triethylamin nebo DIPEA. Jako vhodná rozpouštědla pro tuto reakci se osvědčily zejména dichlormethan, chloroform, tetrahydrofuran, 2-methyltetrahydrofuran, cyklopentylmethylether, dimethoxyethan, *tert*-butylmethyl ether (MTBE), toluen, trifluortoluen (TFT). Ve výhodném provedení se tato reakce provádí v dichlormethanu, tetrahydrofuranu, 2-methyltetrahydrofuranu, cyklopentylmethyletheru. Uvedený reakční krok se provádí při teplotách od -70 do 20 °C, ve výhodném provedení v rozmezí od -40 do 0 °C. Meziprodukt vzorce V při přípravě sloučeniny vzorce I není třeba izolovat a s výhodou se generuje *in situ*. Následnou reakcí sloučeniny vzorce V s vhodně zvoleným triazinem vzorce VI se obvykle získává ekvimolární směs diastereoizomerů S_p : R_p vzorce IX v poměru 1:1. V závislosti na zvolených podmínkách však

35

40

45

mohou vznikat i jiné poměry diastereoizomerů $S_p:R_p$ vzorce IX. Tato reakce se provádí při teplotách -10 až 10 °C, ve výhodné provedení s výhodou při 0 °C.

- 5 Hlavní výhodou postupu uvedeného výše je přímá separace cílového S_p diastereoizomerů vzorce I pomocí krystalizace. Tímto postupem je možné získat S_p diastereoizomer fosforamidátového prekurzoru vzorce I v dobrých celkových výtěžcích (>50 %) a výborné optické čistotě (>99 % de) ze surové reakční směsi (schéma 7). Nejvýhodnějšími skupinami R^1 , R^2 sloučenin vzorce I jsou alkoxy skupiny, s výhodou mající zejména $R^1 = R^2$ je methoxy, ethoxy, propoxy, allyloxy, isopropoxy nebo *tert*-butoxy skupiny.

10

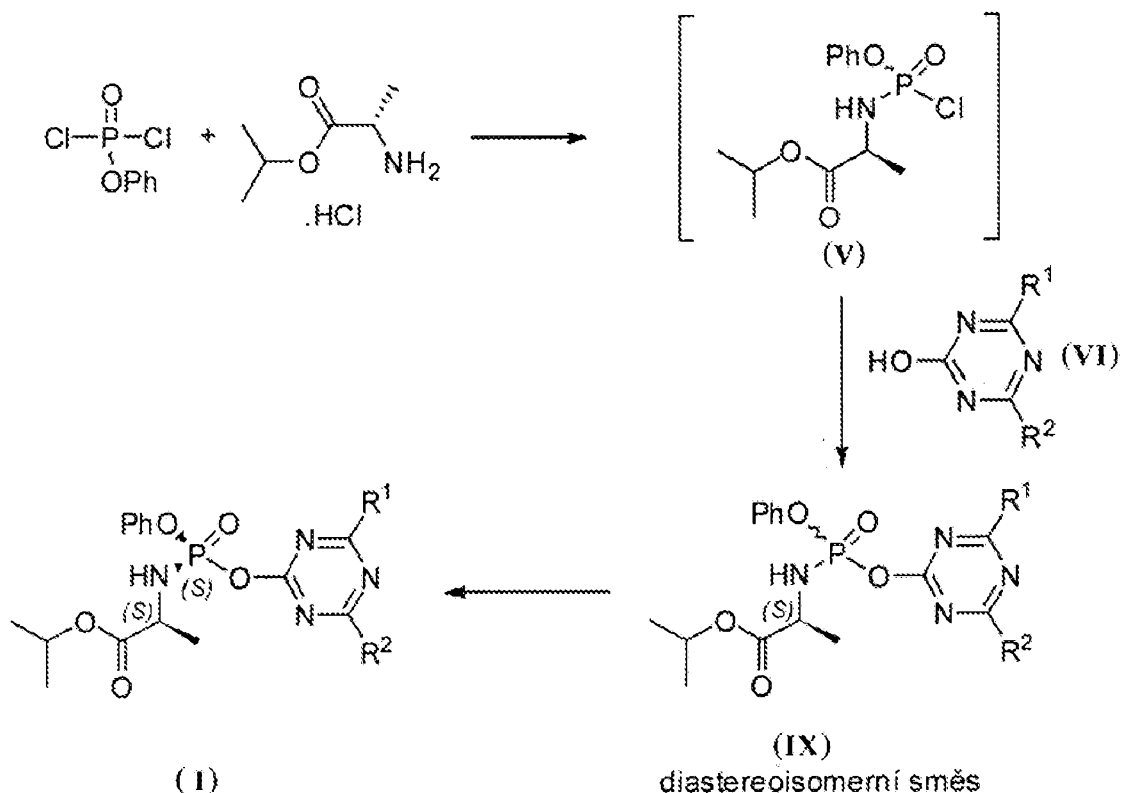


Schéma 7. : Syntéza diastereoizomerně čistých fosforamidátů I

- 15 Způsob výroby se vyznačuje tím, že se po separaci chirálně velmi čistých krystalů S_p diastereoizomerů I podrobí získané matečné louhy krystalizací indukované dynamické resoluci, a získá se další podíl krystalů S_p diastereoizomerů s chirální čistotou 99 % a vyšší.

- 20 Způsob výroby se vyznačuje tím, že se provede krystalizací indukovaná dynamická resoluce popsaná výše, avšak bez předchozí izolace krystalů S_p diastereoizomerů I, přičemž se získají S_p diastereoizomery I ve formě jediného podílu s chirální čistotou 99 % a vyšší.

- Navíc bylo překvapivě zjištěno, že tyto triazinové fosforamidáty podléhají též krystalizací indukované dynamické resoluci, takže výtěžek přímo získaného produktu vzorce I tímto způsobem lze ještě nadále zvýšit. Čistý S_p diastereomer prekurzoru vzorce I se dá připravit z R_p distereomeru, kdy se vychází z čistého R_p izomeru nebo z libovolné směsi $S_p : R_p$ distereomerů vzorce IX, přednostně ze směsi obsahující více R_p izomeru. Působením bází jako Et_3N , DIPEA, DABCO, DBU, imidiazol, 1,2-bis(dimethylamino)ethan, 1,2-bis(diethylamino)ethan, 1,3-bis(dimethylamino)propan, 1,3-bis(diethylamino)propan na R_p nebo libovolné směsi $S_p : R_p$ lze dosáhnout změny absolutní konfigurace na atomu P ve vhodných rozpouštědlech, ve výhodném provedení se jako báze použije Et_3N nebo DIPEA. Mezi vhodná rozpouštědla pro krystalizaci indukovanou dynamickou resolucí patří zejména ethylacetát (EtOAc), isopropyl acetát (*i*-PrOAc), 2-methyltetrahydrofuran, tetrahydrofuran (THF), dioxan, dimethoxyethan,

diethoxyethan, *tert*-butylmethylether (MTBE), cyklopentylmethylether, diethylether, toluen, methylethylketon (MEK), aceton, dále nepolární rozpouštědla zejména uhlovodíky obecně – pentan, hexan, heptan, cyklohexan, dekalin, methylcyklohexan, 2-methylbutan, 2-methylpentan, triethylmethan, isooktan, aromatická rozpouštědla – toluen, xylen, mesitylen, benzen, trifluortoluen (TFT) a kombinace výše uvedených rozpouštědel. Ve výhodném provedení se použije EtOAc, *i*-PrOAc, 2-methyltetrahydrofuran (2-MeTHF), tetrahydrofuran, hexan, heptan, cyklohexan a jejich směsi. Po separaci chirálně velmi čistých krystalů Sp diastereoizomerů I se podrobí získané matečné louhy krystalizací indukované dynamické resoluci, a získá se další podíl krystalů Sp diastereoizomerů s chirální čistotou 99 % a vyšší, kdy lze indukovanou dynamickou resoluci provádět bez předchozí izolace krystalů Sp diastereoizomerů I, přičemž se získají Sp diastereoizomery I ve formě jediného podílu s chirální čistotou 99 % a vyšší.

Podmínky pro přípravu čistých Sp diastereoizomerů vzorce I dle tohoto vynálezu jsou jednoduché a vedou k vysokým výtěžkům chirálně velmi čistých produktů. Tento vynález také popisuje výhodné provedení, kde byla bez separace čistých Sp diastereoizomerů vzorce I z reakční směsi provedena krystalizací indukovaná dynamická resoluce a až následně byly tyto Sp diastereoizomery vzorce I izolovány. Nové triazinové fosforamidáty obecného vzorce I popsáné v tomto patentu jsou stabilní, dostatečně reaktivní, selektivní a obecně celkově průmyslově využitelné k výrobě biologicky účinných fosforamidátových proléčiv, zejména pak sofosbuviru vzorce II. Nejvýhodnějšími skupinami R^1 , R^2 sloučenin vzorce I jsou alkoxy skupiny, s výhodou mající zejména $R^1 = R^2$ je methoxy, ethoxy, propoxy, allyloxy, isopropoxy nebo *tert*-butoxyskupiny.

Tento vynález také zahrnuje použití nových triazinových fosforamidátů obecného vzorce I při výrobě sofosbuviru vzorce II. Při tomto postupu lze provést aktivaci intermediátu vzorce IV působením prakticky libovolného Grignardova činidla (schéma 5). Obecně lze použít libovolné primární, sekundární a terciární magnezium chloridy, bromidy a jodidy, jako jsou *tert*-butyl magnezium chlorid, benzylmagneziumchlorid, benzylmagneziumchlorid, cyklohexylmagnezium chlorid, cyklohexylmagnezium bromid, heptylmagnezium chlorid, *tert*-butyl magnezium chlorid. Ve výhodném provedení podle tohoto vynálezu se použije Grignardovo činidlo : intermediátu vzorce IV v poměrech 1,1:1 až 2,9:1 molárních ekvivalentů, ve výhodném provedení v poměrech 1,8:1 až 2,2:1. Mezi vhodná rozpouštědla či jejich směsi patří zejména THF, 2-MeTHF, dioxan, MTBE, cyklopentylmethylether, Et₂O, dimethoxyethan, diethoxyethan, dimethoxypropan, diethoxypropan, ve výhodném provedení se použije THF, 2-MeTHF a cyklopentylmethylether. Dále bylo překvapivě zjištěno že pro dosažení vysoké konverze a regioselektivity není nutné, aby byl výchozí intermediát vzorce IV před přidáním Grignardova činidla zcela rozpuštěn v použitém rozpouštědle či jejich směsi. Z průmyslového hlediska může být velkou praktickou a bezpečnostní výhodou použití takových Grignardových činidel, které uvolňují při reakci výše vroucí uhlovodíky (např. toluen, cyklohexan, heptan, oktan). Triazinové fosforamidáty vzorce I reagují velmi dobře s intermediátem vzorce IV po aktivaci Grignardovým činidlem při teplotách -20 až 20 °C, ve výhodném provedení při teplotách -10 až 10 °C. Podle postupu výroby uvedeného v tomto vynálezu reagují triazinové fosforamidáty vzorce I s intermediátem vzorce IV v molárních poměrech 10:1 až 1:10, ve výhodném provedení 2:1 až 1:2. Tento postup a použití triazinových fosforamidátů vzorce I při výrobě sofosbuviru vzorce II poskytuje výborné výtěžky spolu s excelentní chemickou a optickou čistotou získaného sofosbuviru. Tyto vlastnosti dávají celému procesu zjevný potenciál při průmyslové výrobě sofosbuviru vzorce II v kvalitě použitelné přímo pro výrobu finální lékové formy.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady, které ilustrují zlepšení postupu podle vynálezu, mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezuje.

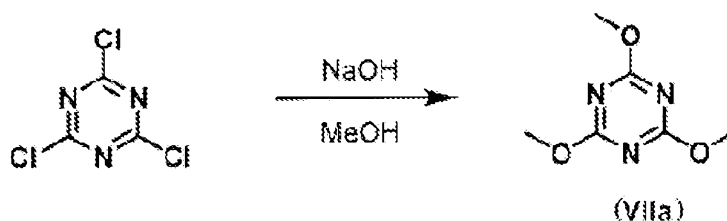
Příklady uskutečnění vynálezu

Reakce byly rutinně sledovány pomocí HPLC Agilent 1100 s UV (PDA) detektorem vybavené kolonou Ascentis Express C18 (2,7 μ m) (100 x 4,6 mm), při průtoku 1 ml/min, mobilní fázi A: fosfátový pufr (pH ~ 3) a fázi B: acetonitril (0 až 2 min 10 % MeCN, 2 až 18 min gradient 10 → 90 % MeCN). ^1H , ^{13}C a ^{31}P NMR spektra byla zaznamenána na spektrometrech NMR Bruker Avance 250 nebo 500 MHz.

2,4,6-Trialkoxy-1,3,5-triaziny

Příklad 1

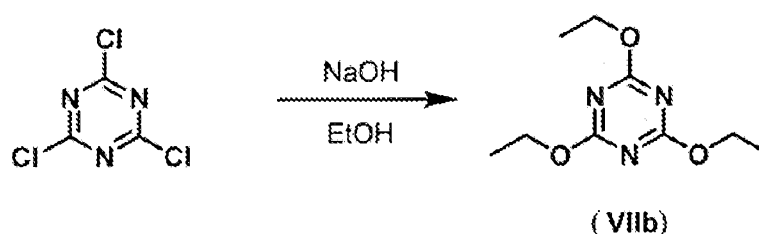
2,4,6-Trimethoxy-1,3,5-triazin vzorce VIIa



Kyanurchlorid (92 g, 0,5mol) byl v malých porcích přidán do směsi NaOH (60 g, 1,5 mol) a MeOH (500 ml), při teplotě 0 až 5 °C. Po přidání veškerého kyanurchloridu byla směs míchána 2 h při 20 °C. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a destilační zbytek byl suspendován v H₂O (500 ml). Produkt byl odsát, promyt H₂O (2x 40 ml) a sušen za teploty místnosti a tlaku. 2,4,6-Trimethoxy-1,3,5-triazin vzorce VIIa byl získán jako pevná bezbarvá látka (79 g, 92 %). ^1H -NMR (250 MHz, DMSO- d_6): 3,92 (s, 9H; OCH₃) ppm. ^{13}C -NMR (63 MHz, DMSO- d_6): 173,1, 55,1 ppm. HPLC (200 nm): R_t = 6,072 min.

Příklad 2

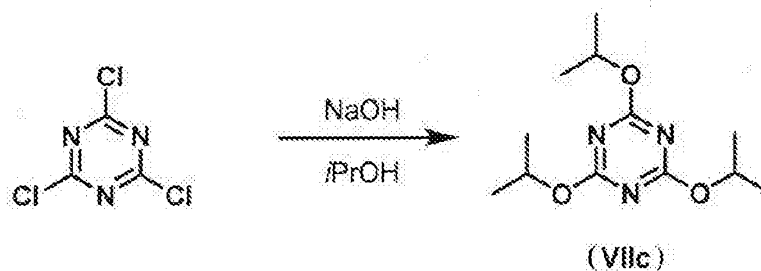
2,4,6-Triethoxy-1,3,5-triazin vzorce VIIb



Postupem popsaným v Příkladu 1 byl získán v 93% výtěžku 2,4,6-triethoxy-1,3,5-triazin vzorce VIIb jako pomalu krystalizující bezbarvý olej (99 g, 93 %). ^1H -NMR (250 MHz, DMSO- d_6): 4,34 (q, J = 7,1, 6 H; OCH₂), 1,30 (t, J = 6,2, 18 H; CH₃) ppm. ^{13}C -NMR (63 MHz, DMSO- d_6): 172,5, 63,6, 14,0 ppm. HPLC (200 nm): R_t = 11,383 min.

Příklad 3

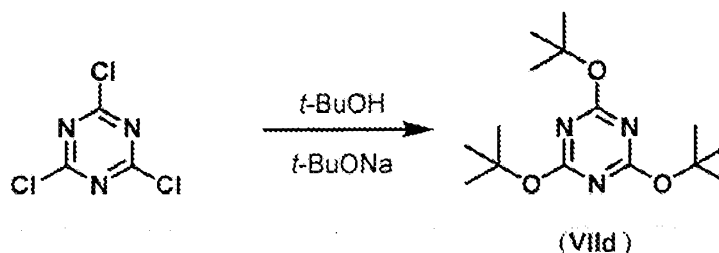
2,4,6-Triisopropoxy-1,3,5-triazin vzorce VIIc



Postupem popsaným v Příkladu 1 byl získán v 69% výtěžku 2,4,6-triisopropoxy-1,3,5-triazin vzorce VIIc jako pevná bezbarvá látka. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): 5,35 (sept, $J = 6,2$, 3 H; OCH), 1,37 (d, $J = 6,2$, 18 H; CH_3) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO-d_6): 172,6, 71,3, 21,8 ppm. HPLC (200 nm): $R_t = 14,625$ min.

Příklad 4

2,4,6-Tri(*tert*-butoxy)-1,3,5-triazin vzorce VIId

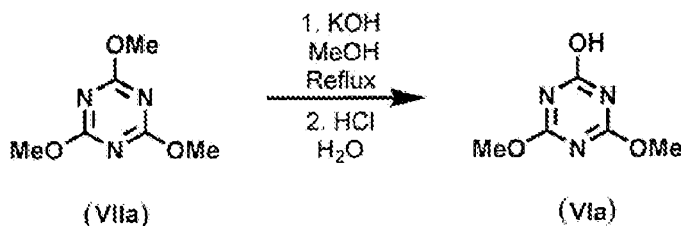


K roztoku kyanurchloridu (1,84 g, 0,01 mol) v THF (7 ml) byl přikapán roztok *t*BuOK v THF (1 M, 32 ml) v průběhu 90 min při 20 °C. Reakční smě byla míchána 4 h při 20 °C a následně koncentrována za vakua. Odparek byl suspendován v H_2O (20 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, promyt vodou (3x 10 ml) a následně sušen při tlaku 0,1 kPa a teplotě 20 °C. Triazin vzorce VIId byl získán jako bezbarvá pevná látka v 87% (2,58 g) výtěžku. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): 1,53 (s, 27 H; CH_3) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO-d_6): 171,2, 81,8, 27,9 ppm. HPLC (200 nm): $R_t = 16,815$ min.

2-Hydroxy-4,6-dialkoxy-triaziny

Příklad 5

4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-ol vzorce VIa

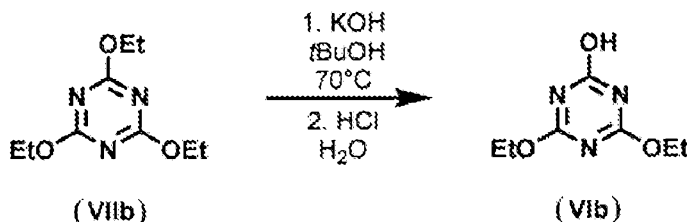


Směs 2,4,6-trimethoxy-1,3,5-triazinu vzorce VIIa (34 g, 0,2 mol) a KOH (14 g, 0,25 mol) v MeOH (150 ml) byla zahřívána k varu 20 h. Po ochlazení na teplotu místnosti, rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a destilační zbytek byl dán do vody (50 ml). Směs byla okyselena AcOH na pH ~6 při teplotě pod 15 °C. Vyloučený produkt odsát, promyt H_2O (2x 35 ml) a sušen za teploty místnosti a tlaku. 2-Hydroxy-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin vzorce VIa byl získán jako bezbarvá

krystalická látka (27 g, 87 %). $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): 12,42 (bs, 1 H), 3,86 (s, 6 H; OCH_3) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO-d_6): 168,1, 157,3, 55,2 ppm. HPLC (200 nm): $R_t = 1,475$ min.

5 Příklad 6

4,6-Diethoxy-1,3,5-triazin-2-ol vzorce VIb



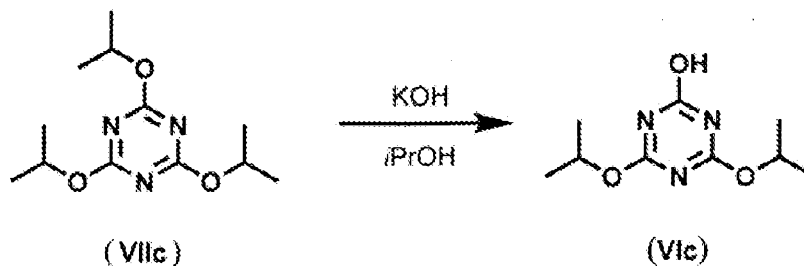
10

Směs 2,4,6-triethoxy-1,3,5-triazinu vzorce VIIb (21 g, 0,1 mol) a KOH (7,7 g, 0,137 mol) v *t*BuOH (100 ml) byla zahřívána na 70 °C 2 h. Po ochlazení na teplotu místnosti, rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a destilační zbytek byl dán do vody (100 ml). Směs byla okyselena koncentrovanou vodnou kyselinou chlorovodíkovou na pH ~3 při teplotě pod 15 °C. Vyloučený produkt odsát, promyt H_2O (2x 25 ml) a sušen za teploty místnosti a tlaku. 2-Hydroxy-4,6-diethoxy-1,3,5-triazin vzorce VIb byl získán jako bezbarvá krystalická látka (15,3 g, 84 %). $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): 12,31 (bs, 1 H), 4,31 (q, $J = 7,1$, 4 H; CH_2), 1,27 (t, $J = 7,1$, 6 H, CH_3) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO-d_6): 168 (bs), 157,1, 64,1, 14,0 ppm. HPLC (200 nm): $R_t = 5,154$ min.

20

Příklad 7

4,6-Diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-ol vzorce VIc



25

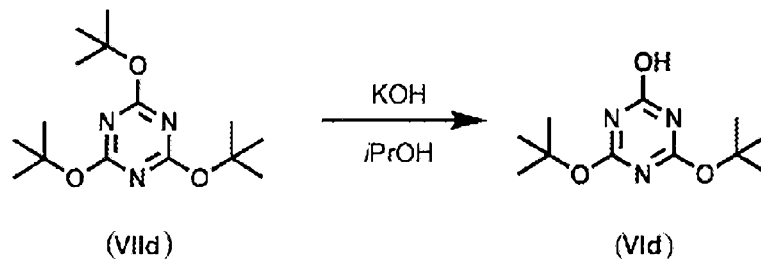
Směs 2,4,6-triisopropoxy-1,3,5-triazinu vzorce VIIc (88 g, 0,345 mol) a KOH (24 g, 0,43 mol) v *i*PrOH (260 ml) byla zahřívána k varu 2 h. Po ochlazení na teplotu místnosti, rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a destilační zbytek byl dán do vody (260 ml). Směs byla okyselena koncentrovanou vodnou kyselinou chlorovodíkovou na pH ~3 při teplotě pod 15 °C. Vyloučený produkt odsát, promyt H_2O (3x 150 ml) a sušen za teploty místnosti a tlaku. 2-Hydroxy-4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin vzorce VIc byl získán jako bezbarvá krystalická látka (64 g, 87 %). $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): 12,19 (bs, 1H), 5,18 (sept, $J = 6,2$, 2 H; OCH), 1,27 (d, $J = 6,2$, 12 H; CH_3) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO-d_6): 167 (bs), 157,1, 71,7, 21,4 ppm. HPLC (200 nm): $R_t = 7,883$ min.

35

Příklad 8

4,6-Di(*tert*-butoxy)-1,3,5-triazin-2-ol vzorce VIId

40

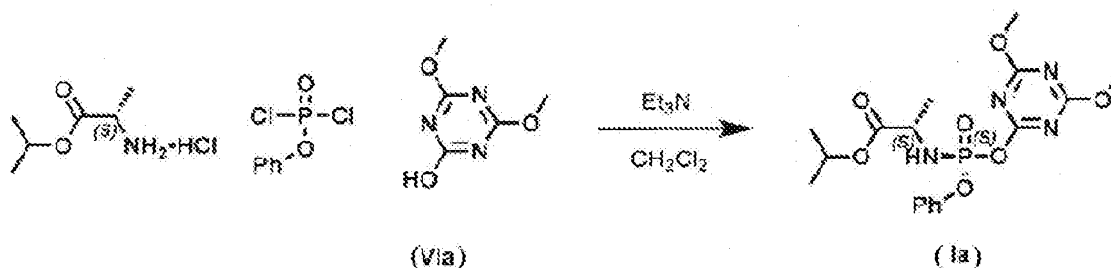


Směs 2,4,6-tri(*tert*-butoxy)-1,3,5-triazinu vzorce VIIId (0,6 g, 2 mmol) a KOH (0,14 g, 2,5 mmol) v *t*BuOH (260 ml) byla zahřívána na 70 °C 5 h. Po ochlazení na 20 °C, směs byla
 5 zahuštěna za vakua. Odparek byl smíchán s H₂O (5 ml) a okyselen na pH ~ 6 vodným roztokem kyseliny octové (10%). Vyloučený pevný produkt byl odsát, promyt vodou (3x 5 ml) a sušen za vakua (0,1 kPa) při 20 °C. Produkt vzorce VIId byl získán jako světle žlutá pevná látka v 55% (0,27 g) výtěžku. ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-*d*₆): 11,99 (bs, 1H), 1,54 (s, 18 H; CH₃) ppm. ¹³C-NMR (63 MHz, DMSO-*d*₆): 167 (bs), 156,5, 84 (bs), 27,8 ppm.

Fosforové intermediáty

Příklad 9

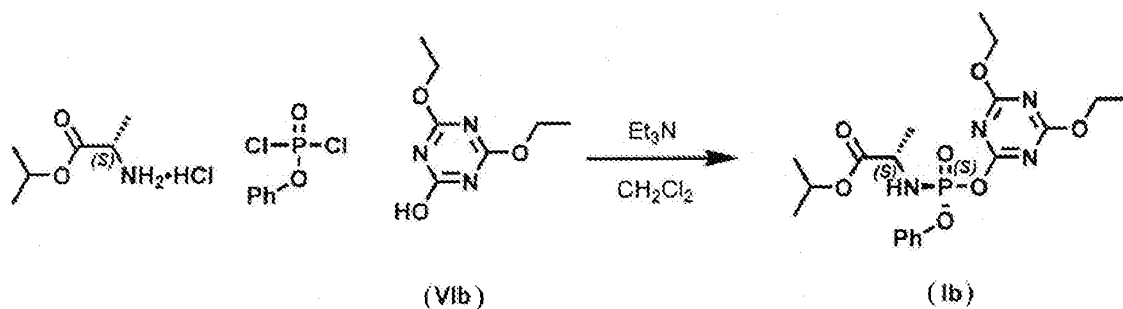
15 Isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxyfosforylamino]propionát vzorce Ia



20 Roztok Et₃N (55 g, 0,55 mol) v CH₂Cl₂ (300 ml) byl přikapán ke směsi isopropyl alaninu.HCl (44 g, 0,26 mol) a fenyl dichlorofosfátu (57 g, 0,27 mol) v CH₂Cl₂ (300 ml) při teplotě -50 až -60 °C. Po 30 min míchání při teplotě -50 až -60 °C, byla reakční směs zahřátá za 2 h na -5 °C. Do reakční směsi byl přikapán roztok 2-hydroxy-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-ol vzorce VIa (41 g, 0,26 mol) a Et₃N (29 g, 0,29 mol) v CH₂Cl₂ (160 ml) při teplotě -10 až 0 °C. Reakční směs
 25 byla míchána při teplotě -10 až 0 °C 16 h. Reakční směs byla promyta H₂O (4x 300 ml). Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a produkt byl krystalován ze směsi diethyletheru a cyklohexanu. isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)-fenoxy-fosforylamino] propionát (Ia) byl získán jako světle žlutá krystalická látka (21 g, 19 %). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): 7,41 (t, *J* = 7,9, 2 H; Ph), 7,27 (d, *J* = 7,3, 1 H; Ph), 7,23 (t, *J* = 7,4, 1 H; Ph), 6,55 (dd, *J* = 13,0, *J* = 10,1, 1 H; NH), 4,81 (sept, *J* = 6,3, 1 H; OCH), 4,11 – 4,00 (m, 1 H; NH-CH), 3,96 (s, 6 H; OCH₃), 1,24 (d, *J* = 7,1, 3 H; NHCHCH₃), 1,14 (d, *J* = 6,3, 3 H; OCHC_aH₃), 1,11 (d, *J* = 6,3, 3 H; OCHC_bH₃) ppm. ³¹P-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): -3,24 ppm. ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): 173,3, 172,2 (d, *J* = 5,3), 168,3 (d, *J* = 2,5), 150,0 (d, *J* = 6,1), 129,8, 125,1, 120,2 (d, *J* = 4,9), 72,0, 68,0, 50,0 (d, *J* = 1,1), 21,26, 21,25, 19,9 (d, *J* = 6,6) ppm.
 35 HPLC (210 nm): *R*_t = 12,295 min.

Příklad 10

40 Isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-diethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxyfosforylamino]propionát vzorce Ib

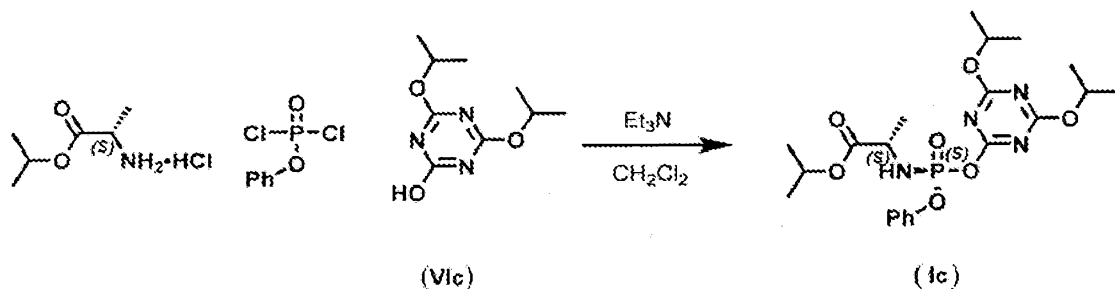


Postupem popsaným v příkladu 9 byl získán ve 38% výtěžku isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyosforylamino]propionát vzorce Ib jako bezbarvá krystalická látka.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 7,41 (t, *J* = 7,9, 2 H; Ph), 7,26 (d, *J* = 8,6, 1 H; Ph), 7,23 (d, *J* = 7,4, 1 H; Ph), 6,54 (dd, *J* = 13,2, *J* = 10,0, 1 H; NH), 4,81 (sept, *J* = 6,4, 1 H; OCH), 4,39 (q, *J* = 7,1; 4 H, OCH₂), 4,07 – 3,97 (m, 1 H; NH-CH), 1,32 (t, *J* = 7,1, 6 H; 2 x OCH₂CH₃), 1,23 (d, *J* = 7,1, 3 H; NHCHCH₃), 1,13 (d, *J* = 6,3, 3 H; OCHC_aH₃), 1,11 (d, *J* = 6,2, 3 H; OCHC_bH₃) ppm. ³¹P-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): -3,34 ppm. ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆): 172,7, 172,2 (d, *J* = 5,4), 168,2 (d, *J* = 2,3), 150,0 (d, *J* = 6,1), 129,8, 125,1, 120,2 (d, *J* = 4,9), 68,1, 64,4, 50,1 (d, *J* = 1,5), 21,31, 21,26, 19,9 (d, *J* = 6,7), 13,9 ppm. HPLC (210 nm): *R*_t = 13,954 min.

Příklad 11

Isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyosforylamino]propionát vzorce Ic

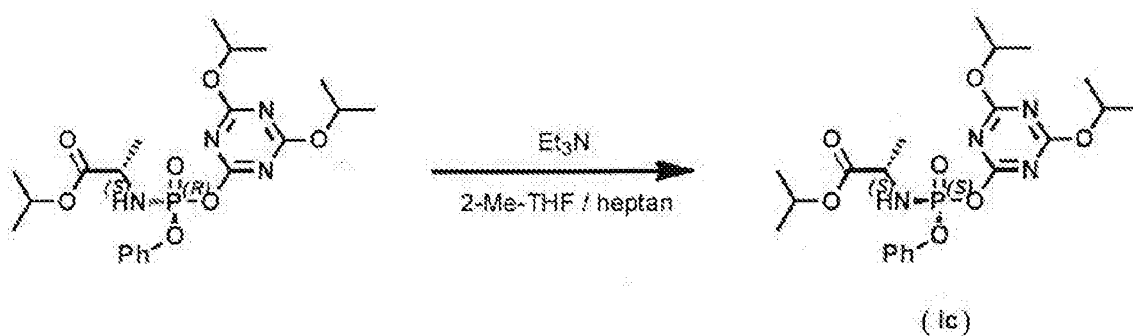


Postupem popsaným v příkladu 9 byl získán ve 47% výtěžku isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyosforylamino]propionátu vzorce Ic jako bezbarvá krystalická látka.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): 7,41 (t, *J* = 7,9, 2 H; Ph), 7,25 (d, *J* = 8,6, 1 H; Ph), 7,22 (t, *J* = 7,5, 1 H; Ph), 6,52 (dd, *J* = 13,4, *J* = 10,0, 1 H; NH), 5,21 (sept, *J* = 6,2, 1 H; N=C-OCH), 4,82 (sept, *J* = 6,3, 1 H; O=C-OCH), 4,05 – 3,95 (m, 1 H; NH-CH), 1,312 (d, *J* = 6,1, 6 H; N=C-OCHC_aH₃), 1,310 (d, *J* = 6,3, 6 H; N=C-OCHC_bH₃), 1,24 (d, *J* = 7,1, 3 H; NHCHCH₃), 1,13 (d, *J* = 6,2, 3 H; O=C-OCHC_aH₃), 1,10 (d, *J* = 6,2, 3 H; O=C-OCHC_bH₃) ppm. ³¹P-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): -3,45 ppm. ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆): 172,3, 172,1 (d, *J* = 5,6), 168,3 (d, *J* = 2,5), 150,0 (d, *J* = 6,1), 129,8, 125,1, 120,2 (d, *J* = 4,9), 72,0, 68,2, 50,0 (d, *J* = 1,1), 21,38, 21,36, 21,34, 21,24, 19,9 (d, *J* = 6,6) ppm. HPLC (210 nm): *R*_t = 15,272 min.

Příklad 12

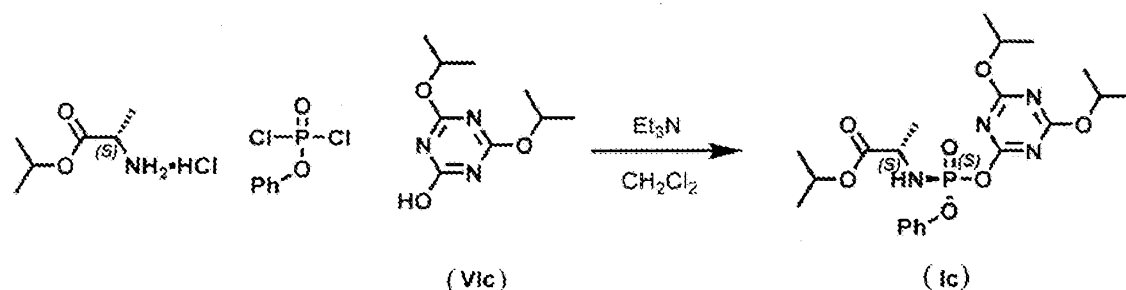
Isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyosforylamino]propionát vzorce Ic



Isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyfosforylamino]propionát (1 g) (R_p S_p > 80 : 20) byl rozpuštěn v 2-methyltetrahydrofuranu (1 ml). K roztoku byl přidán heptan (5 ml) a DIPEA (0,2 ml). Směs byla míchána za teploty místnosti 4 d. Vyloučený produkt byl odsát a promyt směsí 2-methyltetrahydrofuranu / heptanu. Byl získán ve 45% výtěžku (0,454 g) isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyfosforylamino]propionát vzorce Ic jako bezbarvá krystalická látka.

Příklad 13

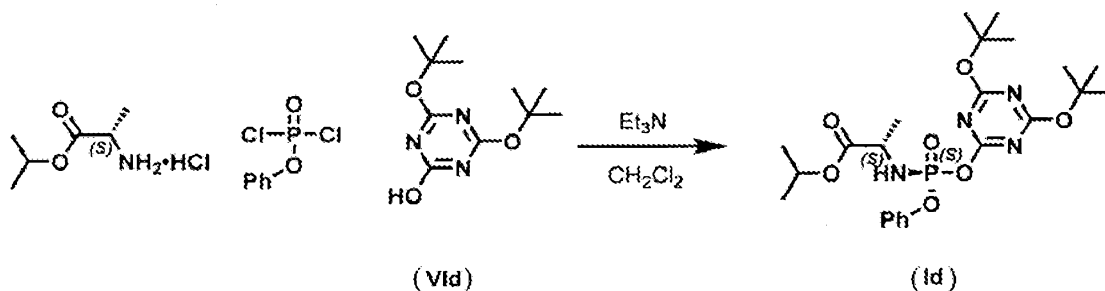
Isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyfosforylamino]propionát vzorce Ic



Postupem popsaným v příkladu 9 byl získán v 46% (57 g) výtěžku isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyfosforylamino]propionát vzorce Ic jako bezbarvá krystalická látka. Matečné louhy, obsahující směs S_p : R_p ~ 13 : 87, byly zahuštěny za vakua a opětovně rozpuštěny v EtOAc (51 ml). K roztoku byl pomalu přidán cyklohexan (255 ml) a následně Et_3N (10 ml). Směs byla míchána 2 dny za teploty místnosti. Vyloučený produkt byl odsát a promyt směsí EtOAc / cyklohexan a sušen za vakua s výtěžkem 27 % (34 g) druhého podílu krystalického isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifyfosforylamino]propionátu vzorce Ic.

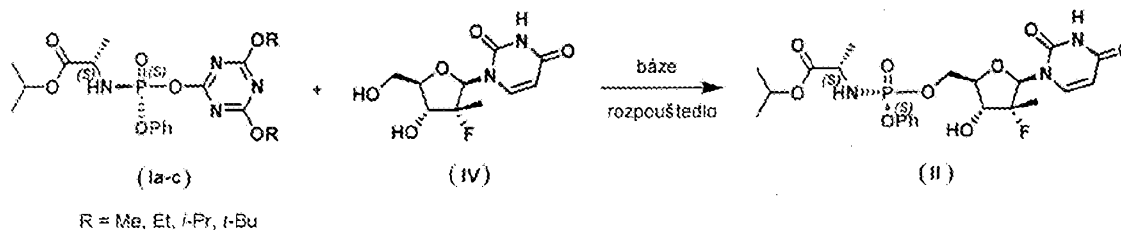
Příklad 14

Isopropyl 2-(S)-[(S)-[4,6-di(*tert*-butoxy)-1,3,5-triazin-2-oxy]fenoxifyfosforylamino]propionát vzorce Id



Postupem popsaným v příkladu 9 byl získán v 14% výtěžku isopropyl 2-(S)-{[(S)-[4,6-di(*tert*-butoxy)-1,3,5-triazin-2-yl]fenoxyfosforylamino}propionát (Id) jako bezbarvá krystalická látka. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): 7,40 (t, *J* = 7,9, 2 H; Ph), 7,28 (d, *J* = 7,3, 1 H; Ph), 7,23 (t, *J* = 7,4, 1 H; Ph), 6,54 (dd, *J* = 13,0, *J* = 10,1, 1 H; NH), 4,81 (sept, *J* = 6,3, 1 H; OCH), 4,11 – 4,00 (m, 1 H; NH-CH), 1,53 (s, 18 H; C(CH₃)₃), 1,24 (d, *J* = 7,1, 3 H; NHCHCH₃), 1,14 (d, *J* = 6,3, 3 H; OCHC_aH₃), 1,12 (d, *J* = 6,3, 3 H; OCHC_bH₃) ppm. ³¹C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): – 3,48 ppm. ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): 172,9, 172,2 (d, *J* = 5,3), 168,2 (d, *J* = 2,5), 150,5 (d, *J* = 6,1), 129,8, 125,1, 120,2 (d, *J* = 4,9), 81,8, 68,0, 50,3 (d, *J* = 1,4), 27,8, 21,30, 21,25, 19,9 (d, *J* = 6,7) ppm.

Cílové látky



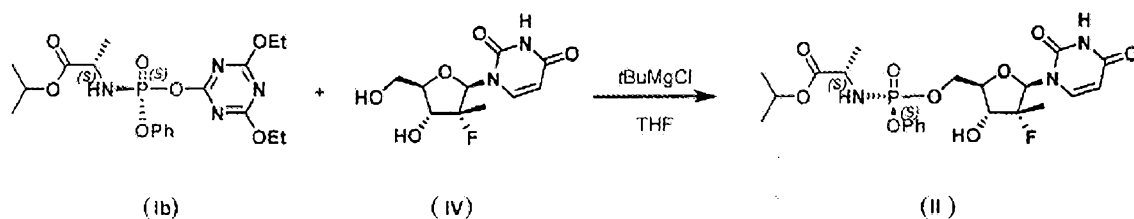
K roztoku vzorce IV (2,15 g, 8,26 mmol) v THF (66 ml) byl v průběhu 1 h přikapán roztok *tert*-BuMgCl (17,35 ml, 17,35 mmol, 2,1 ekv. 1M roztok v THF) při teplotě –15 °C. Reakční směs byla míchána při –15 °C 1 h, v průběhu 30 min ohřátá na –5 °C a míchána další 2 h. Následně byl přikapán roztok 2-(S)-[(S)-[4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-yl]fenoxyfosforylamino]propionátu vzorce Ic (3,99 mg, 8,26 mmol, 1 ekv.) v THF (16 ml), a reakční směs míchána při –5 °C. Po 48 h byla do reakční směsi přidána v průběhu 30 min 2M HCl (100 ml) a následně EtOAc (100 ml). Organická vrstva byla propláchnuta 2M HCl (50 ml), 22x 30 ml 2,5 % Na₂CO₃, vodou (50 ml), solankou (50 ml) a vysušena nad Na₂SO₄. Po oddestilování rozpouštědla za sníženého tlaku, bylo získáno 3,38 g surového produktu ve formě bílé pěny. Surový produkt byl za teploty místnosti rozpuštěn v směsi DCM/toluen (20 ml), přidána očka II a směs vymíchána po dobu 12 h. Produkt byl odsán na fritě, promyt studeným DCM a sušen ve vakuové sušárně (40 °C, 200 Pa) po dobu 8 h, čímž se získalo 3,02 g (69 %) sofosbuviru vzorce II ve formě bílého prášku, (čistota 99,5 %, optická čistota >99,9 %)

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 11,50 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,33–7,36 (m, 2H), 7,18–7,21 (m, 2H), 7,117–7,20 (m, 1H), 6,03 (dd, *J* = 12,7, 10,4 Hz, 1H), 5,83 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 5,51 (dd, *J* = 8,1, 1,6 Hz, 1H), 5,51 (dd, *J* = 8,1, 1,6 Hz, 1H), 4,85 (hept, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,33 (dd, *J* = 11,1, 5,7 Hz, 1H), 4,20 (dt, *J* = 11,6, 6,0 Hz, 1H), 3,97 (dd, *J* = 9,1, 4,7 Hz, 1H), 3,85 – 3,76 (m, 1H), 1,25 (d, *J* = 22,6 Hz, 1H), 1,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,15 (dd, *J* = 6,3, 0,8 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 172,64 (d, *J* = 5,1 Hz), 162,78 (s), 150,71 (d, *J* = 6,3 Hz), 150,47 (s), 129,67 (s), 124,63 (s), 120,09 (d, *J* = 4,9 Hz), 102,28 (s), 101,04 (s), 99,60 (s), 79,47 (s), 71,51 (s), 68,02 (s), 64,66 (s), 49,79 (s), 26,86 (s), 21,42 (d, *J* = 4,3 Hz), 19,81 (d, *J* = 6,5 Hz), 16,56 (d, *J* = 25,2 Hz). ³¹P NMR (101 MHz, DMSO) δ 3,80 (s). HPLC (210 nm): *R*_t = 9,853 min.

Příklad 16

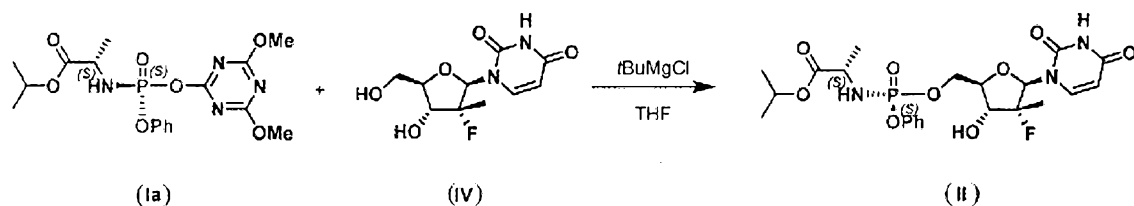
Sofosbuvir vzorce II



Postupem popsaným v Příkladu 15 s použitím isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-diethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifosforylamino]propionátu vzorce Ib byl získán v 63% výtěžku sofosbuvir vzorce II.

Příklad 17

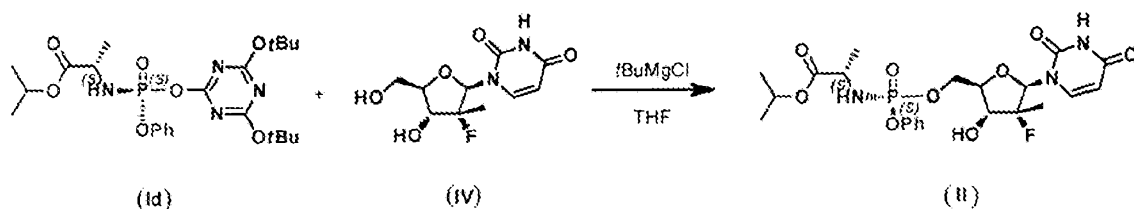
Sofosbuvir vzorce II



Postupem popsaným v Příkladu 15 s použitím isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifosforylamino]propionátu vzorce Ia byl získán v 63% výtěžku sofosbuvir vzorce II.

Příklad 18

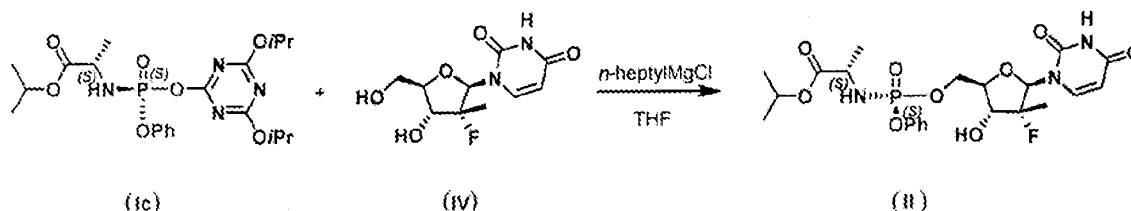
Sofosbuvir vzorce II



Postupem popsaným v Příkladu 15 s použitím isopropyl 2-(S)-[(S)-(4,6-di-*tert*-butyl-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxifosforylamino]propionátu vzorce Id byl získán v 57% výtěžku sofosbuvir vzorce II.

Příklad 19

Sofosbuvir vzorce II



K roztoku vzorce IV (344 mg, 1,32 mmol) v THF (10 ml) byl v průběhu 1 h přikapán roztok *n*-heptylmgCl (2,7 ml, 2,71 mmol, 2,05 ekviv. 1M roztok v THF) při teplotě -15°C . Reakční směs byla míchána při -15°C 1 h, v průběhu 30 min ohřátá na -5°C a míchaná další 2 h. Následně byl přikapán roztok 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxylfosforylamino]propionátu vzorce Ic (606 mg, 1,26 mmol, 0,95 ekviv.) v THF (2,6 ml), a reakční směs míchána při -5°C . Po 48 h byla do reakční směsi přidána v průběhu 30 min 2M HCl (15 ml) a následně EtOAc (15 ml). Organická vrstva byla propláchnuta 2M HCl (5 ml), 22x 3 ml 2,5 % Na_2CO_3 , vodou (5 ml), solankou (5 ml) a vysušena nad Na_2SO_4 . Po oddestilování rozpouštědla za sníženého tlaku, bylo získáno 489 mg surového produktu ve formě bílé pěny. Surový produkt byl za teploty místnosti rozpuštěn v směsi DCM/toluen (5 ml), přidána očka II a směs vymíchána po dobu 6 h. Produkt byl odsán na fritě, promyt studeným DCM a sušen ve vakuové sušárně (40°C , 200 Pa) po dobu 4 h čímž se získalo 426 mg (61 %) sofosbuviru vzorce II ve formě bílého prášku, (čistota 99,1 %, optická čistota $>99,9\%$).

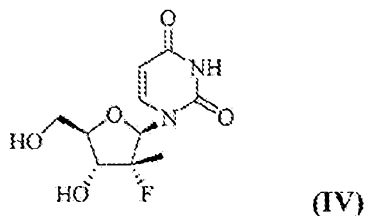
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob výroby sofosbuviru vzorce II, vyznačující se tím, že zahrnuje reakci



kde Ph je fenyl

intermediátu vzorce IV



aktivovaného vhodným činidlem, se sloučeninou vzorce I



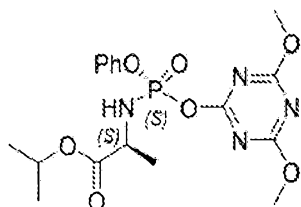
kde R^1 a R^2 jsou zvoleny nezávisle z H, C1–C6 rozvětveného nebo nerozvětveného alkyly, C1–C6 rozvětvené nebo nerozvětvené alkoxy skupiny, C1–C6 rozvětvené nebo nerozvětvené alkylsulfanyl skupiny, C1–C6 rozvětvené nebo nerozvětvené monoalkylamino– nebo dialkylaminoskupiny, pyrrolidinoskupiny, piperidinoskupiny, nebo morfolinoskupiny.

5

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že R^1 a R^2 jsou shodné alkoxyskupiny, s výhodou methoxy, ethoxy, propoxy, allyloxy, isopropoxy nebo *tert*-butoxyskupiny.

10

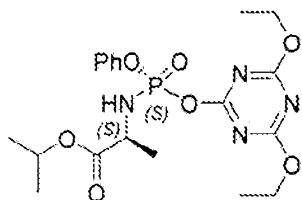
3. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že aktivovaný intermediát vzorce IV reaguje se sloučeninou vzorce Ia s názvem isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxylfosforilamino]propionát



(Ia)

15

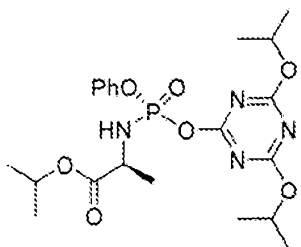
4. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že aktivovaný intermediát vzorce IV reaguje se sloučeninou vzorce Ib s názvem isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-diethoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxylfosforilamino]propionát



(Ib)

20

5. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že aktivovaný intermediát vzorce IV reaguje se sloučeninou vzorce Ic s názvem isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-diisopropoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxylfosforilamino]propionát.

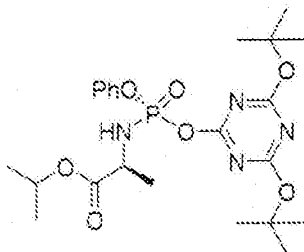


(Ic)

25

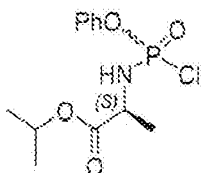
6. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že aktivovaný intermediát vzorce IV reaguje se sloučeninou vzorce Id s názvem isopropyl 2-(*S*)-[(*S*)-(4,6-di-*tert*-butoxy-1,3,5-triazin-2-oxy)fenoxylfosforilamino]propionát

30

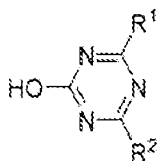


(III)

7. Způsob výroby podle nároků 1 až 6, **vyznačující se tím**, že zahrnuje přípravu sloučeniny vzorce I reakcí chlorderivátu vzorce V s triazinovými deriváty vzorce VI, která spočívá v tom, že se výchozí sloučenina vzorce V tvoří in situ reakcí (S)-isopropyl 2-aminopropanoátu s fenyl dichlorfosfátem,



(V)



(VI)

přičemž se reakce provádí za přítomnosti vhodné báze ve vhodných rozpouštědlech.

8. Způsob výroby podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že se pro reakci použije vhodná báze vybraná ze skupiny sestávající z triethylaminu, *N,N*-diisopropylethylaminu – DIPEA, 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-enu – DBU, 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu – DABCO, 1-methylmorfolinu, 1-ethylpiperidinu, Na₂CO₃, K₂CO₃, Cs₂CO₃, NaHCO₃, KHCO₃, acetátu sodného–NaOAc a acetátu draselného–KOAc, ve výhodném provedení se použije triethylamin nebo DIPEA.

9. Způsob výroby podle nároků 7 a 8, **vyznačující se tím**, že se pro reakci použije vhodné rozpouštědlo vybrané ze skupiny sestávající z dichlormethanu, chloroformu, tetrahydrofuranu, 2-methyltetrahydrofuranu, cyklopentylmethyletheru, dimethoxyethanu, methyl *tert*-butyletheru, toluenu, trifluortoluenu, ve výhodném provedení se použije dichlormethan, tetrahydrofuran, 2-methyltetrahydrofuran, cyklopentylmethylether.

10. Způsob výroby podle nároků 7 až 9, **vyznačující se tím**, že se sloučeniny vzorce I, definované v nárocích 1 až 6, vyloučí ze vzniklé směsi diastereoizomerů s chirální čistotou 99 % a vyšší ve formě krystalů Sp diastereoizomerů.

11. Způsob výroby podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se po separaci chirálně velmi čistých krystalů Sp diastereoizomerů I podrobí získané matečné louhy krystalizací indukované dynamické resoluci, a získá se další podíl krystalů Sp diastereoizomerů s chirální čistotou 99 % a vyšší.

12. Způsob výroby podle nároků 7 až 9, **vyznačující se tím**, že se provede krystalizací indukovaná dynamická resoluce shodně podle nároku 11, avšak bez předchozí izolace krystalů Sp diastereoizomerů I, přičemž se získají Sp diastereoizomery I ve formě jediného podílu s chirální čistotou 99 % a vyšší.

13. Způsob výroby podle nároků 11 a 12, **vyznačující se tím**, že se krystalizací indukovaná dynamická resoluce provádí působením vhodné báze ve vhodném rozpouštědle na směsi diastereomeru.
- 5 14. Způsob výroby podle nároku 13, **vyznačující se tím**, že se použije báze vybraná ze skupiny sestávající z triethylaminu, *N,N*-diisopropylethylaminu – DIPEA, 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu – DABCO, 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-enu – DBU, imidiazolu, 1,2-bis(dimethylamino)ethanu, 1,2-bis(diethylamino)ethanu, 1,3-bis(dimethylamino)propanu, 1,3-bis(diethylamino)propanu, ve výhodném provedení se použije triethylamin nebo DIPEA.
- 10 15. Způsob výroby podle nároků 13 a 14, **vyznačující se tím**, že se použije rozpouštědlo vybrané ze skupiny sestávající z ethylacetátu – EtOAc, isopropylacetátu – *i*-PrOAc, 2-methyltetrahydrofuranu, tetrahydrofuranu, dioxanu, dimethoxyethanu, diethoxyethanu, *tert*-butylmethyletheru, cyklopentylmethyletheru, diethyletheru, toluenu, methylethylketonu – MEK, acetonu, pentanu, hexanu, heptanu, cyklohexanu, dekalinu, methylcyklohexanu, 2-methylbutanu, 2-methylpentanu, triethylmethanu, isooktanu, toluenu, xylenu, benzenu, a jejich směsi, ve výhodném provedení se použije EtOAc, *i*-PrOAc, 2-methyltetrahydrofuran, tetrahydrofuran, hexan, heptan, cyklohexan a jejich směsi.
- 15 20 16. Způsob výroby sofosbuviru vzorce II podle kteréhokoli z předchozích nároků, **vyznačující se tím**, že aktivačním činidlem jsou Grignardova činidla.
- 25 17. Způsob výroby podle nároku 16, **vyznačující se tím**, že se použije Grignardovo činidlo vybrané ze skupiny sestávající z *tert*-butylmagnezium chloridu, benzylmagnezium chloridu, cyklohexylmagnezium chloridu, cyklohexylmagnezium bromidu, heptylmagnezium chloridu, oktylmagnezium chloridu, ve výhodném provedení se použije heptylmagnezium chlorid a *tert*-butylmagnezium chlorid.
- 30 18. Způsob výroby podle nároků 16 a 17, **vyznačující se tím**, že se použije Grignardovo činidlo : intermediátu vzorce IV v poměrech 1,1:1 až 2,9:1 molárních ekvivalentů, ve výhodném provedení v poměrech 1,8:1 až 2,2:1.
- 35 19. Způsob výroby podle nároků 16 až 18, **vyznačující se tím**, že se použije rozpouštědlo vybrané ze skupiny sestávající z tetrahydrofuranu – THF, 2-methyltetrahydrofuranu – 2-MeTHF, dioxanu, *tert*-butylmethyletheru – MTBE, cyklopentylmethyletheru, diethyletheru – Et₂O, dimethoxyethanu, diethoxyethanu, dimethoxypropanu, diethoxypropanu, ve výhodném provedení se použije THF, 2-MeTHF a cyklopentylmethylether.
- 40 20. Způsob výroby podle nároků 16 až 19, **vyznačující se tím**, že aktivovaný intermediát vzorce IV reaguje se sloučeninami vzorce I při teplotách –20 až 20 °C, ve výhodném provedení při teplotách –10 až 10 °C.
- 45 21. Způsob výroby podle nároků 16 až 20, **vyznačující se tím**, že aktivovaný intermediát vzorce IV reaguje se sloučeninami vzorce I v molárních poměrech 10:1 až 1:10, ve výhodném provedení 2:1 až 1:2.