(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 746 859**

(51) Int. Cl.:
C07F 9/6561 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2012 E 18153951 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2019 EP 3333173**

(54) Título: **Métodos para la preparación de análogos de nucleótidos antivirales**

(30) Prioridad:

07.10.2011 US 201161544950 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.03.2020

(73) Titular/es:

GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City, CA 94404, US

(72) Inventor/es:

COLBY, DENISE, A.;
MARTINS, ANDREW, ANTHONY;
ROBERTS, BENJAMIN, JAMES;
SCOTT, ROBERT, WILLIAM y
WHITE, NICOLE, S.

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 746 859 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

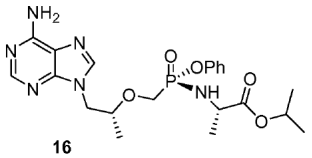
DESCRIPCIÓN

Métodos para la preparación de análogos de nucleótidos antivirales

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Descripción de técnica relacionada

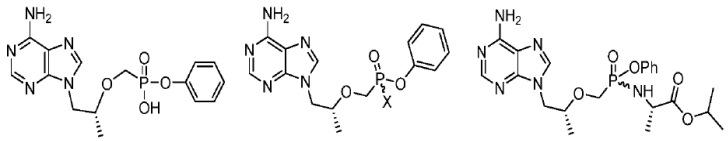
Las patentes de Estados Unidos Nº 7.390.791 y 7.803.788 describen ciertos profármacos de análogos de nucleótidos de fosfonato que son útiles en terapia. Un profármaco es 9-{(R)-2-[((S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **16**):



16

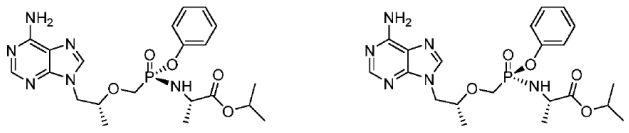
Este compuesto es también conocido por el nombre del Chemical Abstract éster L-alanina,N-[(S)-[[(1R)-2-(6-amino-9H-purin-9-il)-1-metiletoxi]metil]fenoxifosfinil],-1metiletil. Las patentes de Estados Unidos Nº 7.390.791 y 7.803.788 también desvelan una forma monofumarato de este compuesto y su método de preparación (véase, por ejemplo, Ejemplo 4).

El compuesto **12**, compuesto **13** (donde X es halo) y compuesto **15**:



12 **13** **15**

son intermediarios sintéticos que son útiles para preparar el compuesto **16**. El compuesto **15** se representa como una mezcla de diastereómeros en el centro fosforoso. Los dos diastereómeros que forman la mezcla del compuesto **15** se muestran aquí como compuestos **15a** y **15b**. El isómero **15a** es idéntico en estructura al compuesto **16**.



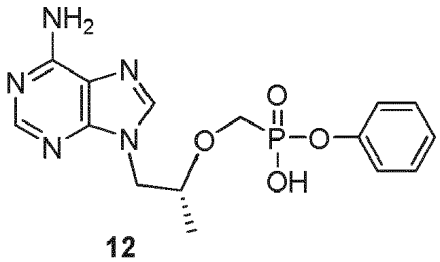
15a **15b**

Actualmente, existe la necesidad de métodos mejorados para preparar compuestos **12, 13, 15** y **16**. En particular, existe la necesidad de métodos mejorados para preparar compuestos **13, 15** y **16** en alta pureza diastereomérica. Tales métodos mejorados pueden proporcionar mayores producciones, ser más sencillos de realizar o usar reactivos menos costosos o tóxicos que los métodos actualmente disponibles.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

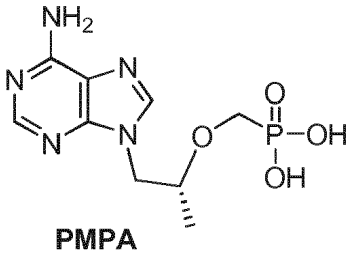
Se describe un método mejorado para aislar 9-{(R)-2-[((S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **16**) usando resolución dinámica inducida por cristalización; métodos mejorados para preparar compuestos **13** y **15** en alta pureza diastereomérica; y un método mejorado para preparar el compuesto **12**.

Por consiguiente, la invención proporciona un método para preparar el compuesto **12** :



12

que comprende tratar PMPA:

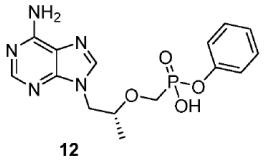


PMPA

con trifenilfosfito en presencia de una base adecuada para proporcionar el compuesto **12** .

También se divulga un método que comprende someter una solución que comprende: a) un solvente adecuado; b) una base adecuada; c) la mezcla diastereomérica 9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina; y, opcionalmente, d) uno o más cristales de semilla de 9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina, a condiciones que proporcionan la cristalización selectiva de 9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina.

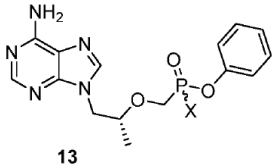
También se proporciona un método para preparar el compuesto **13** que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro al tratar una solución de tolueno del compuesto **12**:



12

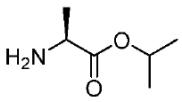
con cloruro de tionilo para proporciona el compuesto **13**, donde X=Cl.

También se divulga un método para preparar 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto 15) que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro compuesto **16**, que comprende tratar el compuesto **13**:



13

(donde X es halo) que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro con amina **11**:



11

bajo condiciones que proporcionan el compuesto **15** que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro compuesto **16** (esto es, isómero **15a**).

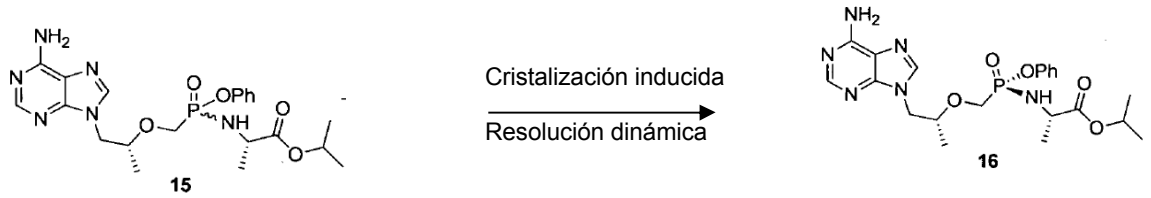
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

Los valores específicos enumerados más abajo para radicales, sustituyentes y rangos son solamente ilustrativos; no excluyen otros valores definidos u otros valores dentro de rangos definidos para los radicales y sustituyentes.

Preparación de Compuesto **16** mediante resolución dinámica inducida por cristalización

En una realización, se proporciona un método para la resolución dinámica inducida por cristalización de 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**) :



(mezcla de diastereómeros)

para proporcionar 9-{(R)-2-[((S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **16**). El método comprende someter una solución que comprende: a) un disolvente adecuado; b) una base adecuada; c) 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina; y, opcionalmente, d) uno más cristales semillas de 9-{(R)-2-[((S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina, a condiciones que proporcionan la epimerización del centro fosforoso, bajo condiciones que también proporcionan cristalización selectiva de 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina.

La cristalización puede realizarse en cualquier disolvente adecuado. Por ejemplo, puede realizarse en un disolvente orgánico aprótico, o en una mezcla del mismo. Por ejemplo, el disolvente orgánico puede comprender acetato de etilo, acetato de metilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, éter dietílico, éter diisopropílico, tetrahidfuranoro, diclorometano, acetona, metiletilcetona, metil tert-butil éter, tolueno o acetonitrilo, o una mezcla de los mismos. En una realización, el disolvente comprende acetonitrilo.

La resolución puede realizarse en presencia de cualquier base adecuada. Por ejemplo, la resolución puede realizarse en presencia de una base seleccionada de 1,5-diazobiciclo[4.3.0]non-5-ene (DBN), 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), 7-metil-1,5,7-triazabiciclo[4.4.0]dec-5-ene (MTBD), tetrametilguanadina, una base Verkade (por ejemplo, 2,8,9-triisopropil-2,5,8,9-tetraaza-1-fosfabiciclo[3.3.3]undecano, y 2,8,9-triisobutil-2,5,8,9-tetraaza-1-fosfabiciclo[3.3.3]undecano), un carbonato de metal (por ejemplo, M_xCO_3), un fenóxido de metal (M^+ $^-$OPh), y PhOTMS en combinación con una fuente de ion de fluoruro (por ejemplo, R_4N^+ $^-$F, TASF (tri(dimetilamonio)sulfonio difluorortirmetilsilicato), o TBAT (tetrabutilamonio trifenildifluorosilicato), y mezclas de los mismos, donde cada M es un metal adecuado como metal alcalino o metal alcalinotérreo, y cada R es, por ejemplo, un alquilo (C1-C6). En una realización específica, la base es DBU.

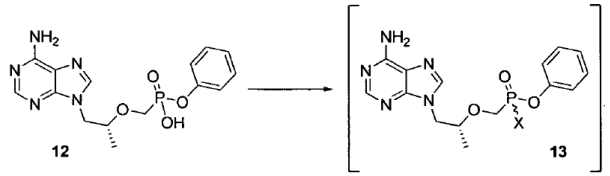
La resolución puede también realizarse a cualquier temperatura adecuada, por ejemplo, una temperatura en el rango de aproximadamente 0 ºC a aproximadamente 50 ºC. En una realización específica, la resolución puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 20 ºC.

En una realización específica, la resolución se realizar en presencia de fenol.

El porcentaje de compuesto **16** en la mezcla diastereomérica inicial puede ser cualquiera en el rango de desde aproximadamente 0% a aproximadamente 99%. En una realización de la invención, el porcentaje del compuesto **16** en la mezcla diastereomérica inicial está en el rango de desde aproximadamente 0% a aproximadamente 20%. En una realización, el porcentaje del compuesto **16** en la mezcla diastereomérica inicial está en el rango de desde aproximadamente 20% a aproximadamente 99%. En una realización, el porcentaje del compuesto **16** en la mezcla diastereomérica inicial está en el rango de desde aproximadamente 50% a aproximadamente 99%. En una realización, el compuesto final **16** es al menos aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 97% o aproximadamente 99% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto final **16** contiene menos del 1% de cualquier impureza diastereomérica. En una

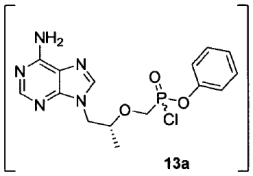
realización, el compuesto final **16** está libre de cualquier impureza diastereomérica detectable.

Preparación de compuesto **13** que tiene alta pureza diastereomérica



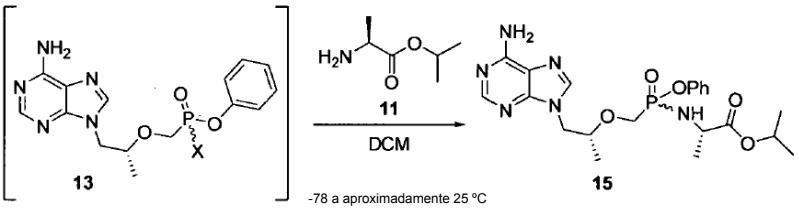
El compuesto **13** (donde X es halo), que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro, puede prepararse tratando el compuesto **12** con un agente halogenante. Por ejemplo, el compuesto **13** puede prepararse tratando el compuesto **12** con un agente halogenante como, por ejemplo, cloruro de tionilo ($SOCl_2$), cloruro de oxalilo ($C_2O_2Cl_2$), tricloruro de fósforo (PCl_3), una sal clorotrifenilfosforano, bromuro de tionilo ($SOBr_2$), bromuro de oxalilo ($C_2O_2Br_2$), tribromuro de fósforo (PBr_3) o una sal bromotrifenilfosforano. La reacción puede realizarse en un disolvente orgánico adecuado a una temperatura adecuada (por ejemplo, una temperatura en el rango de desde aproximadamente -20 º1C a aproximadamente 100 ºC). Los disolventes adecuados incluyen tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, diclorometano, acetonitrilo, tolueno, clorobenceno, 1,2-dicloroetano, 1,4-dioxano, sulfolano, tricloroetileno y mezclas de los mismos.

En una realización, el compuesto **12** se trata con cloruro de tionilo en tolueno a una temperatura de desde aproximadamente 22 ºC a aproximadamente 110 ºC para proporcionar el compuesto **13a**:



que es al menos 90% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto final 13a es al menos aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 97% o aproximadamente 99% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto **13a** contiene menos del 1% de cualquier impureza diastereomérica. En una realización, el compuesto final **13a** está libre de cualquier impureza diastereomérica detectable.

Preparación del compuesto **15** en alta pureza diastereomérica



El compuesto **15** puede prepararse tratando el compuesto **13** (donde X es halo) que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro con amina **11** baja condiciones que proporcionan el compuesto **15** que es al menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro en el isómero específico **15a**, también representado aquí como compuesto **16**. Por ejemplo, el compuesto **15** puede prepararse tratando el compuesto **13** con amina **11** en un disolvente orgánico adecuado a una temperatura adecuada (por ejemplo, temperatura en el rango de desde aproximadamente -78 ºC a aproximadamente 25 ºC). Los disolventes adecuados incluyen disolventes orgánicos como tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, diclorometano, 1,2-dicloroetano, tricloroetileno, 1,4-dioxano, acetonitrilo, tolueno, clorobenceno, sulfolano y acetato de isopropilo, y mezclas de los mismos. La reacción se realiza de manera conveniente en presencia de una base adecuada, como, por ejemplo, trietilamina

($(C_2H_5)_3N$), N,N-diisopropiletilamina ($[(CH_3)_2CH]_2NC_2H_5$) o 1,8-bis(dimetilamino)-naftaleno (esponja de protón, $C_{14}H_{18}N_2$). Después de la reacción, el material puede lavarse con un material acuoso que contiene un reactivo de lavado adecuado como, por ejemplo, fosfato sódico monobásico (NaH_2PO_4), bicarbonato potásico ($KHCO_3$), ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) o bicarbonato sódico ($NaHCO_3$). La solución orgánica resultante puede secarse sobre un agente de secado adecuado, por ejemplo, sulfato sódico, sulfato de magnesio o cloruro de calcio para proporcionar el compuesto **15** que es al menos 90% diastereoméricamente puro compuesto **16**.

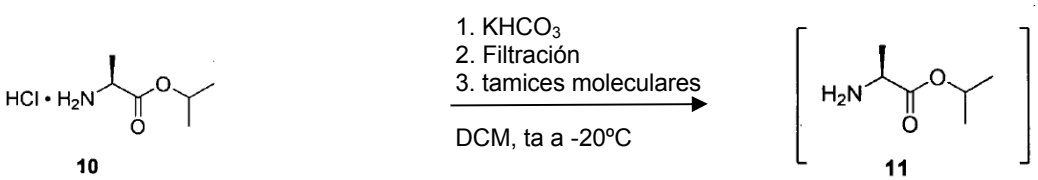
En una realización, el compuesto **13** que es al menos 90% diastereoméricamente puro (donde X es cloro) se trata con amina **11** en diclorometano a una temperatura de -25 ºC a 25 ºC en presencia de trietilamina. La mezcla de reacción resultante se lava después con una solución acuosa que contiene fosfato sódico monobásico (NaH_2PO_4) y bicarbonato potásico ($KHCO_3$) y se secó sobre sulfato de sodio para proporcionar el compuesto **15** que es al menos 90% diastereoméricamente puro compuesto **16**. En una realización, el compuesto inicial **13** y el compuesto resultante **15** son al menos 95% o 97% diastereoméricamente puros. En una realización, el compuesto final **15** contiene al menos aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 97% o aproximadamente 99% diastereoméricamente puro compuesto **16**. En una realización, el compuesto final **15** contiene menos del 1% de cualquier impureza diastereomérica.

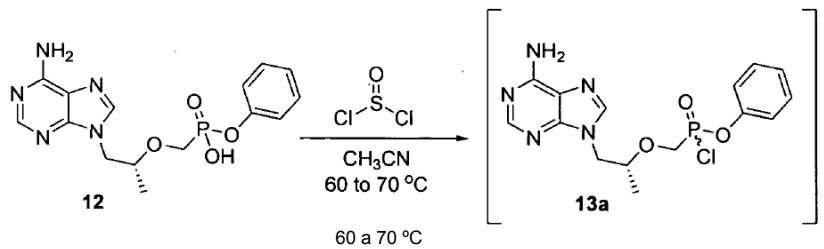
Preparación de Compuesto **12**

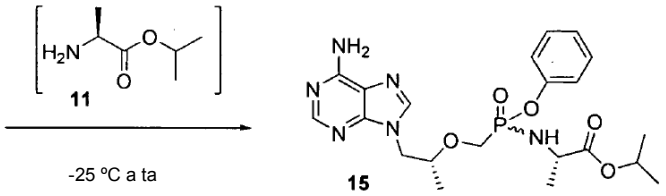
El Compuesto **12** puede prepararse como se ha descrito, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos Nº 7.391.791, o puede prepararse como se describe en la presente. En una realización de la invención, se proporciona un método para preparar compuesto **12** que comprende tratar PMPA con trifenilfosfito en presencia de cualquier base para proporcionar el compuesto **12**. La reacción se realiza convenientemente en un disolvente adecuado, como, por ejemplo, acetonitrilo, N-metilpirrolidina (NMP), dicloroetano, piridina, un acetato de alquilo (por ejemplo, acetato de etilo), o un éter dialquilo (por ejemplo, éter dietilo) o una mezcla de los mismos. La reacción se realiza convenientemente en presencia de una base adecuada, como, por ejemplo, un trialquilamina (por ejemplo, trietilamina9, 2-metilimidazol, dimetilaminopiridina (DMAP), 1,5-diazobiciclo[4.3.0]non-5-ene (DBN), 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) o piridina, o una mezcla de los mismos. La reacción también puede realizarse convenientemente a una temperatura adecuada, como, por ejemplo, desde aproximadamente 20 ºC a aproximadamente 120 ºC (por ejemplo, desde aproximadamente 20 ºC a aproximadamente 82 ºC). En una realización específica, PMPA se trata con trifenilfosfito en presencia de trietilamina y dimetilaminopiridina en acetonitrilo a aproximadamente 80 ºC para proporcionar el compuesto **12**.

Los siguientes ejemplos 1-4 no forman parte de la invención.

Ejemplo 1: Preparación de mezcla diastereomérica 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**)





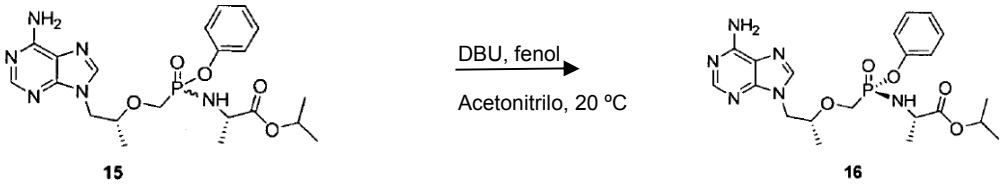


a. Preparación de Compuesto 11. Isopropil L-alanina éter hidrocloruro (compuesto **10**) (1 kg, 5,97 mol, 1,0 equiv) y bicarbonato de potasio (1,45 kg, 14,5 mol, 2,43 equiv) se agitaron en DCM (4 kg) durante 10 a 14 horas con agitación máxima, manteniendo la temperatura del recipiente entre 19 ºC y 25 ºC. La mezcla después se filtró y se enjuagó con DCM (2 kg). El filtrado se secó sobre una cama de tamices moleculares 4 Å hasta que el contenido de agua de la solución fue ≤ 0,05%. La solución común resultante que contenía el compuesto **11** después se enfrió a la temperatura del recipiente de -20 ºC y se guardó para uso posterior.

b. Preparación de Compuesto 13a. A una solución de cloruro de tionilo (0,72 kg, 6,02 mol, 2,19 equivl) en acetonitrilo (5,5 kg) a 60 ºC se añadió el compuesto **12** (1 kg, 2,75 mol, 1,00 equiv) en 10 partes iguales durante 2 horas. La temperatura del recipiente se ajustó después a 70 ºC y se enjuagó durante 1 a 3 horas hasta que se consideró que la reacción estaba completa. La temperatura del recipiente se ajustó después a 40 ºC y se aplicó vacío. La mezcla se destiló hasta secarse, manteniendo una temperatura de cubierta máxima de 40 ºC. El residuo seco después se absorbió en diclorometano (30 kg) y la temperatura del recipiente se ajustó a 19 ºC – 25 ºC. El lodo resultante que contenía el compuesto **13a** se guardó para uso posterior.

c. Preparación de Compuesto 15. A la solución común de isorpropilo L-alanina éster 11 (4,82 equiv) a -25 ºC se añadió el lodo que contenía el compuesto **13a** (1,0 equiv) durante un máximo de 2 horas, manteniendo la temperatura del recipiente a ≤ -10 ºC. La mezcla después se mantuvo a una temperatura de ≤ -10 ºC durante al menos 30 minutos, después se comprobó el pH usando papel pH humedecido en agua. Si el pH era < 4, se realizó ajuste con trietilamina a pH 4-7. La temperatura del recipiente se ajustó después a temperatura ambiente (de 19 ºC a 25 ºC). En un recipiente separado, se preparó una solución de fosfato sódico monobásico (2,2 kg, 18 mol, 6,90 equiv) en agua (16 kg). La mitad de la solución de fosfato sódico monobásico se cargó en el reactor de fosfonamidato, y se agitó vigorosamente. Las capas se asentaron y dividieron. La capa orgánica se volvió a lavar con la otra mitad de solución de fosfato sódico monobásico. En un recipiente separado, se preparó una solución de bicarbonato sódico (1,1 kg, 11 mol, 4,22 equiv) en agua (5,5 kg). La mitad de la solución de bicarbonato sódico se cargó en la fas orgánica y se agitó vigorosamente. Las capas se asentaron y dividieron. La capa orgánica se volvió a lavar con la otra mitad de solución de bicarbonato sódico, seguido por un lavado final con agua (3,3 kg). La fase orgánica después se retuvo y destiló a un volumen de aproximadamente 6 L. La solución resultante se analizó para contenido de agua. Si el contenido de agua era > 1,0%, podía cargarse DCM y la destilación hasta aproximadamente 6 L se repitió. Cuando el contenido de agua en la solución era inferior a o aproximadamente 1,0%, la temperatura del recipiente se ajustó a 19 ºC-25 ºC antes de descargar la solución común en DCM para proporcionar la mezcla diastereomérica 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto 15). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,20-1,33 (m, 12H), 3,62-3,74 (m, 1H), 3,86-4,22 (m, 5H), 4,30-4,44 (m, 1H), 4,83-5,10 (m, 1H), 6,02 (br s, 3H), 7,18-7,34 (m, 5H), 7,98-8,02 (m, 1H), 8,32-8,36 (m, 1H); ^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ 21,5, 22,9.

Ejemplo 2: Resolución dinámica inducida por cristalización de mezcla diastereomérica 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**) para proporcionar 9-{(R)-2-[((S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **16**).



(mezla de diastereómeros)

Un 22% de peso de solución de 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**) en acetonitrilo (2,3 kg solución,

0,51 kg compuesto **15**, 1,1 mol, 1 equiv) se cargó en un recipiente equipado con un agitador superior, aparato de destilación y entrada de nitrógeno. La mezcla se concentró mediante destilación a 100-300 mbar en un rango de temperatura de 45 ºC a 55 ºC hasta una concentración final de 30 a 35% de peso. El aparato de destilación después se retiró y la solución se enfrió a 20 ºC. La solución se sembró con 2,0% de compuesto **16** y se agitó durante una hora a 20 ºC. Se añadieron fenol (9,9 g, 0,11 mol, 1,1 equiv) y DBU (16 g, 0,11 mol, 0,1 equiv) y la mezcla se agitó durante 24 horas más, o hasta que el porcentaje de peso del compuesto **16** que quedaba en la solución fue inferior al 12%. El lodo después se enfrió a 0 ºC y se agitó durante 18 horas más a 0 ºC. El lodo se filtró y lavó con una solución 1:1 de acetato de isopropilo:acetonitrilo (1,5 L) a 0 ºC. Los sólidos se secaron en un horno de vacío a 50 ºC para da 40 kg de compuesto **16** (80% de producción) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,21 (m, 9H), 1,28 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 3,65 (dd, J = 13,1, 10,7, 1H), 4,00 (m, 4H), 4,33 (dd, J = 14,4, 3,1 Hz, 1H), 5,00 (m, 1H), 6,00 (bs, 2H), 6,99 (m, 2H), 7,07 (m, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,97 (s, 1H), 8,33 (s, 1H). ^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ 20,8.

Ejemplo 3: Preparación de compuesto **13a** en alta pureza diastereomérica

A un lodo del compuesto **12** (10, 0 g, 27,5 mmol, 1,00 equiv) en tolueno (60 mL) a temperatura ambiente se añadió cloruro de tionilo (3,0 mL, 41 mmol, 1,5 equiv). El lodo se calentó a 70 ºC y se agitó de 48 a 96 horas hasta que se consideró que la reacción y el enriquecimiento diastereomérico se había completado mediante HPLC (Objetivo: > 97,0% conversión del compuesto **12** a compuesto **13a** y >90:10 proporción diastereomérica de compuesto 13a). La mezcla se concentró para secarse mediante destilación con vacío, y el residuo seco se absorbió en tolueno (50 mL). El lodo resultante que contenía el compuesto 13a se guardó a temperatura ambiente para uso posterior.

Ejemplo 4: Preparación de 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**) en alta pureza diastereomérica

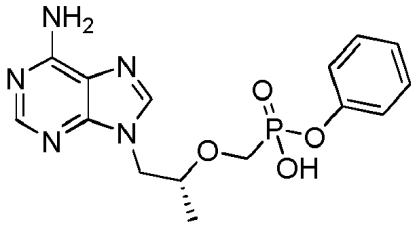
A una solución de isopropilo L-alanina éster 11 (4,50 equiv) en DCM (80 mL) a -25 ºC se añadió un lodo que contenía **13a** (1,00 equiv) que es al menos 90% diastereoméricamente puro en tolueno (50 mL) durante un mínimo de 45 minutos, manteniendo la temperatura interna a ≤ -20 ºC. La mezcla después se mantuvo a una temperatura de ≤ -20 ºC durante al menos 30 minutos, y el pH se comprobó usando papel pH humedecido en agua. Si el pH era < 4, se ajustó con trietilamina a pH 4 a 7. La temperatura del recipiente se ajustó a temperatura ambiente (de 19 ºC a 25 ºC). La mezcla se transfirió a un embudo y se lavó secuencialmente con 10% p/v solución acuosa de fosfato sódico monobásico (2, 50 mL), 15% p/v solución acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 20 mL), y agua (50 mL). La capa orgánica final se secó sobre sulfato sódico anhidro, filtró y concentró *in vacuo* hasta un aceite ámbar viscoso. El aceite se disolvió en tolueno/acetonitrilo (4:1) (50 mL), y la solución se sembró con 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (aproximadamente 1 mg, 99:1 proporción diastereomérica) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El lodo resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con tolueno/acetonitrilo (4:1) (15 mL) y secó en un horno de vacío a 40 ºC durante 16 horas para dar el producto 9-{(R)-2-[((R,S)-{[S)-1(isopropoxicarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto 15), como un sólido blanco (10,0 g, 76,4%, 97,5:2,5 proporción diastereomérica en favor del compuesto 16). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,20 – 1,33 (m, 12H), 3,62-3,74 (m, 1H), 3,86 – 4,22 (m, 5H), 4,30 – 4,44 (m, 1H), 4,83 – 5,10 (m, 1H), 6,02 (br s, 3H), 7,18 – 7,34 (m, 5H), 7,98 – 8,02 (m, 1H), 8,32 – 8,36 (m, 1H); ^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ 21,5, 22,9.

Ejemplo 5: Preparación de Compuesto **12**

Se cargó PMPA (100,0 g, 0,35 mol, 1 equiv) en un recipiente equipado con un agitador superior, condensador de reflujo y entrada de nitrógeno, seguido de acetonitrilo (800 mL). Al recipiente se añadió trietilamina (71,0 g, 0,70 mol, 2 equiv) seguido de DMAP (42, 6 g, 0,35 mol, 1 equiv) y trifenilfosfito (162,1 g, 0,52 mol, 1,5 equiv). La mezcla se calentó a 80 ºC y se agitó durante ≥ 48 horas a 80 ºC o hasta que la reacción se completó por ^{31}P NMR. (Se toma una muestra directamente de la reacción y se añade una inserción que contenía 10% H_3PO_2 en D2O. El intermediario formado es el PMPA anhidro y está a 7-8 ppm; el producto está en 12,3 – 12,6 ppm. Se considera la reacción completa cuando menos del 5% de anhidro está presente). La mezcla de la reacción se destiló a aproximadamente 1,5 volúmenes de acetonitrilo y se diluyó en acetato de etilo (200 mL) y agua (300 mL). La capa acuosa se separó y lavó con acetato de etilo (200 mL) dos veces. La capa acuosa se volvió a cargar en el recipiente y el pH se ajustó a pH 3 usando 12,1 M HCl (21,0 mL). La reacción después se sembró con 0,05% de compuesto 12 y se agitó a 25 ºC. Se añadió 12,1 M HCl adicional durante 20 minutos (7,0 mL) hasta que se consiguió pH 2. La cristalización se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se enfrió a 10 ºC durante 2 horas. Una vez a 10 ºC, la cristalización se agitó durante 2,5 horas a 10 ºC. El lodo se filtró y lavó con pH 1,5 agua (200 mg). Después del secado en un horno de vacío, se obtuvieron 102,2 g de compuesto 12 (81% de producción) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 1,31 (d, J = 6,1 Hz, 3H), 3,59 (dd, J = 14,0, 9,0 Hz, 1H), 3,85 (dd, J = 14,0, 9,0 Hz, 1H), 4,1 (m, 1H), 4,3 (dd, J = 15,0, 9,0 Hz, 1H), 4,5 (dd, J = 15,0, 2 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,15 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,25 (t, J = 7 Hz, 2H), 8,26 (s, 1H), 8,35 (s, 1H). ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O): δ 14,8.

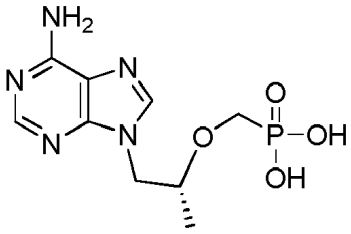
REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar el compuesto **12** :



12

que comprende tratar PMPA:



PMPA

con trifenilfosfito en presencia de una base adecuada para proporcionar el compuesto **12** .

2. El método de la reivindicación 1, en el que el PMPA se trata con trifenilfosfito en presencia de trietilamina y dimetilaminopiridina en un solvente adecuado para proporcionar el compuesto **12**.

3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que el PMPA se trata con trifenilfosfito en acetonitrilo a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 20º C a aproximadamente 82º C.