

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем химико-энергетических технологий
Сибирского отделения Российской академии наук

На правах рукописи

Сонина Екатерина Георгиевна

РАЗРАБОТКА РАЦИОНАЛЬНОГО СПОСОБА СИНТЕЗА
ФОСФАТА ОСЕЛЬТАМИВИРА
02.00.03 – органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель,
доктор химических наук
Сысолятин Сергей Викторович

Бийск-2018

СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	4
1	Получение фосфата осельтамивира (Литературный обзор)	9
1.1	Получение фосфата осельтамивира на основе (-)-шикимовой кислоты	11
1.2	Получение фосфата осельтамивира на основе других природных соединений	22
1.3	Получение фосфата осельтамивира с применением несимметричной циклизации по Дильсу-Альдеру	31
1.4	Другие способы получения фосфата осельтамивира	36
1.5	Способы получения фосфата осельтамивира реализованные в промышленности	40
1.6	Анализ литературных данных	42
2	Разработка рационального метода синтеза фосфата осельтамивира и получения промежуточных продуктов	46
2.1	Поиск пути синтеза фосфата осельтамивира	46
2.2	Влияние природы катализатора на получение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-тригидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилата 23	52
2.2.1	Подготовка реагентов	58
2.2.1.1	Очистка (-)-шикимовой кислоты	58
2.2.1.2	Регенерация (-)-шикимовой кислоты из остатков после этерификации	59
2.2.1.3	Сушка этанола цеолитами NaA	61

2.3	Получение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата 34	62
2.4	Получение этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметил-сульфонилоксациклогекс -1-ен-1-карбоксилата 35	65
2.5	Получение этил(3S,4S,5R)-4-диалкилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилатов 37	68
2.5.1	Регенерация пентанола-3.....	73
2.6	Получение этил(3S,4S,5R)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата	75
2.7	Получение этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси) циклогекс-1-ен-1-карбоксилата 43	78
2.8	Получение этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси) циклогекс-1-ен-1-карбоксилата фосфата (осельтамивира фосфата)	82
3	Экспериментальная часть	88
	Выводы	105
	Приводимые сокращения	107
	Список литературы	108
Приложение А	Разработка опытно-промышленной технологии получения фосфата осельтамивира	119

Введение

Актуальность темы:

Вирус птичьего гриппа (H5N1) представляет угрозу для населения как потенциальный источник пандемии. На сегодняшний день не зафиксировано случая передачи H5N1 от человека к человеку. Однако в сентябре 2011 г на конгрессе в Мальте было представлено сообщение о появлении в медицинском центре Роттердама более опасной модификации вируса A(H5N1) способного передаваться воздушно капельным путем. Поэтому очень важным становится вопрос о быстром создании производства средств защиты от этого опасного вируса.

Фосфат осельтамивира относится к классу ингибиторов нейраминидазы и является эффективным пероральным лекарством против вируса гриппа. Данный препарат в настоящее время является наиболее эффективным способом защиты согласно Всемирной организации здравоохранения.

Методы синтеза фосфата осельтамивира являются многостадийными (от 10 до 30 стадий) и основываются как на натуральном, так и на синтетическом сырье. Во многих методах выделение промежуточных продуктов проводится с использованием препаративной хроматографии с суммарным выходом конечного продукта от 4 до 25 %. В настоящее время это средство выпускает швейцарская фирма «F.Hoffman-La Roche». Для предотвращения возможной пандемии вируса гриппа H5N1 необходима разработка эффективной отечественной технологии и создание производства фосфата осельтамивира. Поэтому разработка рационального пути синтеза фосфата осельтамивира с возможностью организации производства на серийном оборудовании из доступного сырья является актуальной задачей.

Целью работы является разработка рационального пути синтеза фосфата осельтамивира.

Работа включает в себя решение следующих взаимосвязанных задач:

1. Выбор схемы синтеза фосфата осельтамивира;
2. Исследование влияния природы кислотного катализатора на этерификацию (-)-шикимовой кислоты и разработка способа получения этилового эфира шикимовой кислоты;
3. Определение оптимальных температурно-временных параметров для введения мезильных групп в молекулу этилового эфира шикимовой кислоты в положениях С-3, С-4 и С-5. Подбор условий для получения и выделения этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонилциклогекс-1-ен карбоксилата в кристаллическом виде;
4. Поиск оптимальных условий и азидирующего агента для получения этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметил-сульфонилоксациклогекс-1-ен-1-карбоксилата с целью увеличения выхода продукта и сокращения количества примесей;
5. Исследование взаимодействия этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксацикло-гекс-1-ен-1-карбоксилата с триалкилфосфитами по реакции Штаудингера. Исследование влияние алкильного заместителя в триалкилфосфите на свойства продуктов реакции раскрытия азиридинового цикла при взаимодействии с пентанолом-3. Разработка метода регенерации пентанола-3;
6. Исследование различных восстанавливающих агентов в реакции получения осельтамивира-основания.

Научная новизна:

Впервые разработан способ этерификации (-)-шикимовой кислоты этиловым спиртом в присутствии кислотного катализатора – катионита КУ-2-8 с осушением конденсата этанола по ходу реакции через слой цеолитов NaA.

Впервые установлено влияние различных алкилфосфитов в цепочке реакций получения этил(3R,4S,5R)-4-(диалкоксифосфориламино)-5-метансульфонилокси-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен карбоксилата на скорость, свойства и выход продуктов реакции.

Впервые получены, выделены в чистом виде и охарактеризованы этил(3R,4S,5R)-4-(диметоксифосфориламино)-5-метансульфонилоки-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен карбоксилат и этил(3R,4S,5R)-4-(диизопропоксифосфориламино)-5-метансульфонилоки-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен карбоксилат.

Практическое значение работы:

Проведена рационализация пути синтеза фосфата осельтамивира, позволяющая отказаться от сложной очистки промежуточных и конечного продуктов, проводить все процессы на стандартном оборудовании и увеличить выход целевого фосфата осельтамивира по сравнению с действующей технологией с 21 % до 31 %.

Разработанный способ синтеза положен в основу технологии получения лекарственной субстанции фосфата осельтамивира, позволяющей осуществлять все стадии синтеза с высокими выходами и получать лекарственную субстанцию высокого качества. Разработан комплект нормативно-технической документации производства препарата.

Положения и результаты, выносимые на защиту:

1. Способ получения субстанции фосфата осельтамивира;
2. Результаты исследования процесса этерификации (-)-шикимовой кислоты и способ получения этилового эфира шикимовой кислоты;
3. Разработка метода синтеза этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата;
4. Результаты исследования реакции азидирования этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата;
5. Результаты применения различных алкилфосфитов в реакции получения этил(3R,4S,5R)-4-(диалкоксифосфориламино)-5-метансульфонилоки-3-(пент-3-илокси)циклогекс-1-ен карбоксилатов;

6. Результаты исследования процесса восстановления азидной группы в этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилате.

Апробация работы:

Результаты работы были обсуждены на IV научно-технической конференции молодых ученых «Перспективы создания и применения конденсированных высокоэнергетических материалов» г. Бийск, 27–28 сентября 2012 г; II Всероссийской научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Высокие технологии в современной науке и технике» г. Томск, 27–29 марта 2013 г; 6-й Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» г. Бийск, 22–24 мая 2013 г., V Всероссийской научной молодежной школы-конференции «Химия под знаком сигма: исследования, инновации, технологии» г. Омск 15-20 мая 2016 г.

Публикация работы:

Основные результаты работы опубликованы в 5 статьях рекомендованных ВАК, 4 тезисах докладов на конференции и представлены в 3 научно-технических отчетах.

Личный вклад автора:

При выполнении работы автор участвовал в постановке задач, решаемых в рамках диссертационной работы, самостоятельно проводил все описанные эксперименты, а также интерпретацию данных физико-химических методов исследования полученных веществ. Все статьи, опубликованные по материалам работы, подготовлены при непосредственном участии автора.

Структура диссертации:

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы (96 наименований) и приложения А. Работа содержит 43 рисунка и 15 таблиц.

1 Получение фосфата осельтамивира (литературный обзор)

Фосфат осельтамивира – этил(3R,4R,5S)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат фосфат – представляет собой фармацевтический препарат способный к ингибированию нейраминидазы вируса гриппа группы А и В.

При ингибировании нейраминидазы нарушается способность вирусных частиц проникать внутрь клетки, а также блокируется выход вирионов из инфицированной клетки, что приводит к ограничению распространения инфекции в организме. Первым соединением способным к ингибированию нейраминидазы стала 2-дезокси-2,3-дегидро-N-ацетилнейраминовая кислота (ДАНК, **1**, Рисунок 1), впервые описанная в 1974 [4-6].

Определение рентгено-кристаллической структуры нейраминидазы вируса гриппа группы А и В и их комплексов с сиаловой кислотой в 1980 г помогли определить характер взаимодействия между функциональными группами соответствующего лекарственного средства и активным участком вируса [7-9]. Это привело к созданию гораздо более мощных ингибиторов путем замены гидроксильной группы по позиции кольца С-4 на более основные группы, такие как амино- или гуанидинокислоты. Как следствие, были обнаружены занамивир (**2**) и осельтамивир (**3**) и на сегодняшний день только эти два лекарства являются утвержденными ВОЗ в борьбе с гриппом А и В (Рисунок 1) [10].

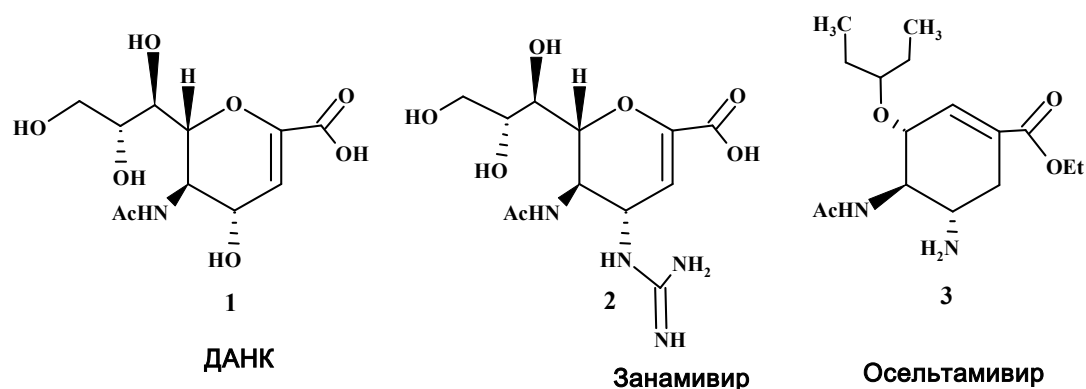


Рисунок 1 – Структура ДАНК, занамивира и осельтамивира

Как занамивир, так и осельтамивир были разработаны в качестве аналогов промежуточного оксокарбона **6** для имитации состояния перехода предлагаемого механизма ферментативного гидролиза сиалилгликозида (Рисунок 2) с образованием сиаловой кислоты **7** [11, 12]. Конкурентное блокирование нейраминидазы предотвращает расщепление сиаловой кислоты, и, как следствие, затрудняется выход вируса и последующее его распространение [13-15].

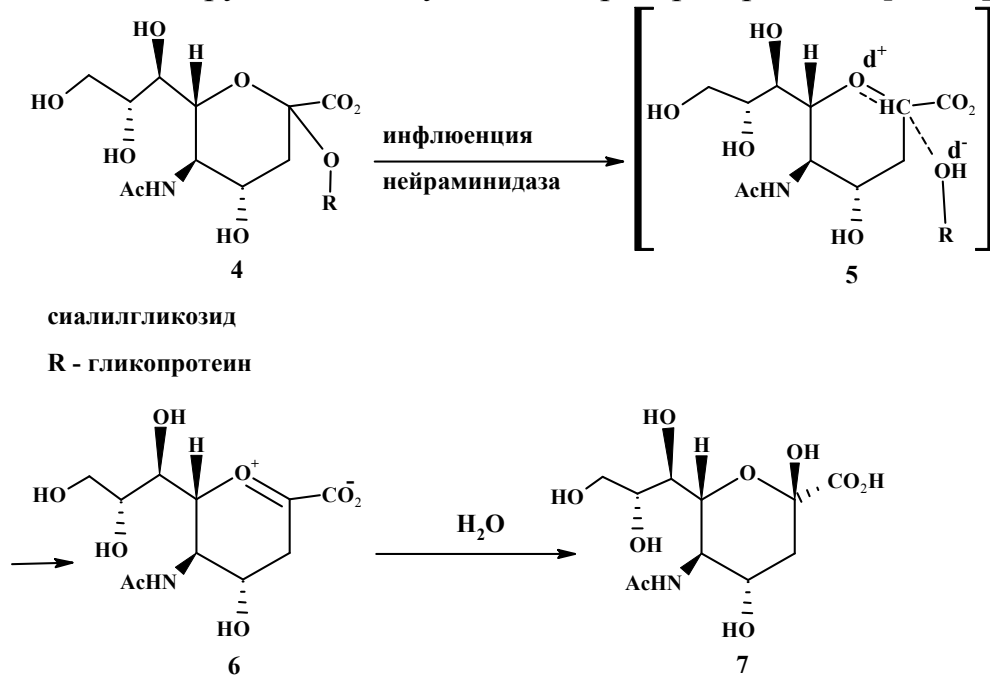


Рисунок 2 – Возможный механизм ферментативного гидролиза сиалилгликозида.

Вследствие низкой биодоступности занамивира (меньше 5%) он эффективен и используется в форме аэрозольной ингаляции или интраназального спрея [16], что обеспечивает его доставку к месту непосредственной репликации вируса в клетках респираторного тракта. Однако это может ограничивать его назначение людям пожилого возраста и детям, имеющим проблемы с вдыханием препарата из-за дискомфорта в носоглоточной полости [17]. Кроме того, существует опасение возможности развития спазма у пациентов, страдающих бронхиальной астмой [18]. Были сделаны попытки применять занамивир внутривенно, но в клинической практике эта методика не используется [19].

Также в Японии были разработаны еще два ингибитора нейраминидазы – перамивир и ланинамивир. Перамивир используется для внутривенного введения, а ланинамивир – для ингаляций [20]. Широкого применения эти препараты не получили.

Осельтамивир (**3**) был разработан Gilead Sciences и запатентован в 1995 г. [21]. В 1996 г. был подписан контракт с F. Hoffmann-La Roche Ltd. о соразработке препарата и после двух с половиной лет подана заявка о новом препарате в Соединенных Штатах [22]. Препарат был запущен в коммерческую эксплуатацию в ноябре 1999 года как соль фосфорной кислоты. Открытие осельтамивира пришло как результат поиска более полярной молекулы, чем ДАНК **1** или занамивир **2**, которая могла бы применяться как орально активный препарат [23-25]. Это было достигнуто путем замены высокополярного глицерола в боковой цепи менее полярной группой, такой как пентанол-3. Кроме того, было установлено, что позиция двойной связи имеет особенное значение для активности лекарства [26, 27].

Водорастворимый фосфат осельтамивира, распадается в сыворотке крови около 3 ч и является пролекарством соответствующего этилового эфира, гидролизующегося в печени путем печеночных эстераз в активную форму осельтамивира карбоксилата [28].

Этил(3R,4R,5S)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата фосфат имеет определенную пространственную структуру, его оптические изомеры не обладают теми же ингибирующими способностями, что сильно осложняет разработку его промышленного способа получения [29].

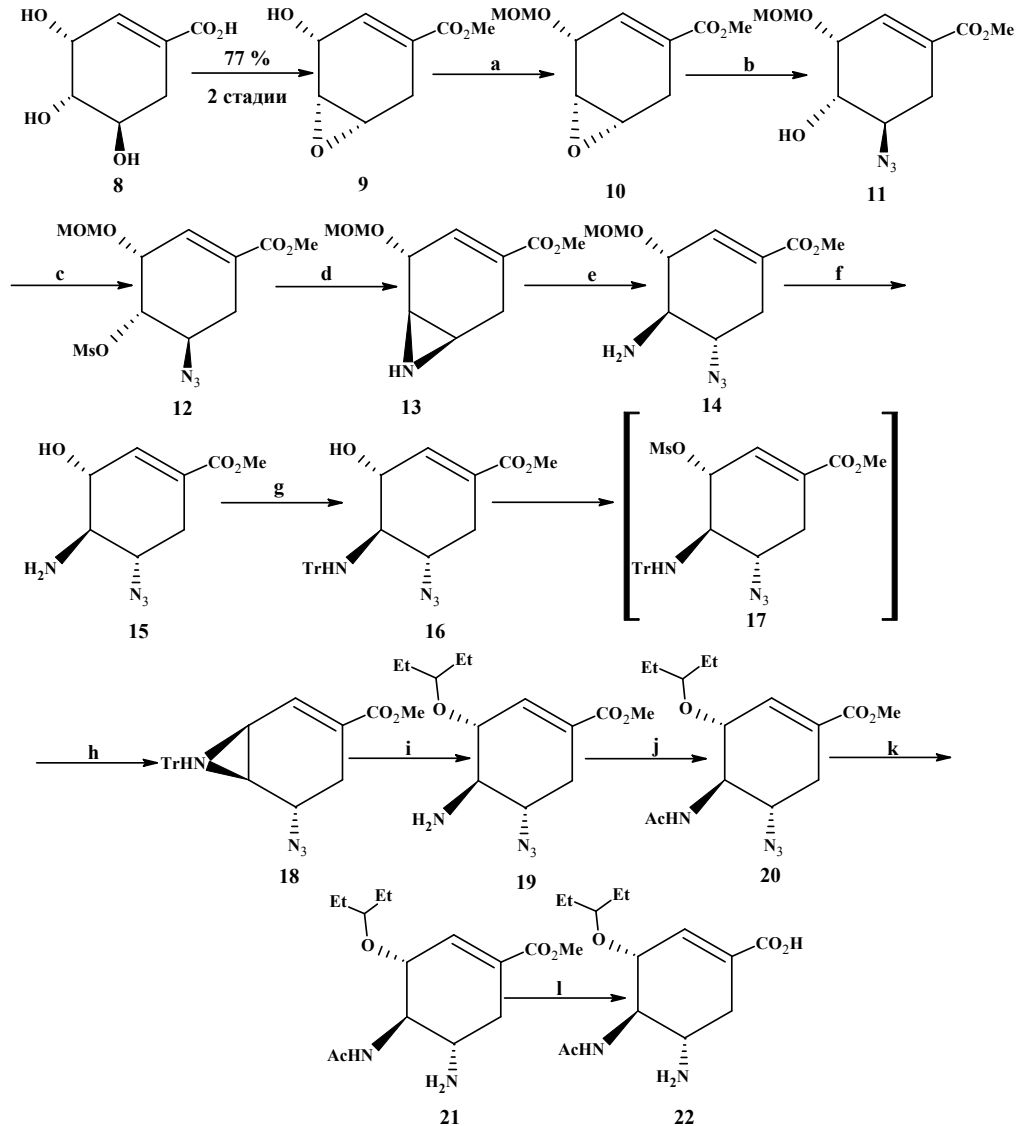
1.1. Получение фосфата осельтамивира на основе (-)-шикимовой кислоты

Кислота **22** была первой молекулой, полученной учеными компании Gilead [21-26], как пролекарство фосфата осельтамивира. В конечном итоге в качестве кандидата на клинические испытания был выбран соответственный этиловый

эфир **23**, на его основе была определена мощная *in vitro* и *in vivo* деятельность и хорошая биодоступность при пероральном приеме. Схема синтеза кислоты **22** из (-)-шикимовой кислоты **8** приведена на рисунке 3.

Выбор (-)-шикимовой кислоты **8** в качестве исходного материала в этом процессе оказался очевидным благодаря присутствию карбоциклической системы [30-32]. Вначале в (-)-шикимовой кислоте **8** в эпоксидный цикл были заключены две гидроксильные группы по позиции С-4 и С-5. Оставшаяся гидроксильная группа переведена в метоксиметильную, а затем после обработки азидом натрия в азидоспирт **11**. Раскрытие эпоксидного кольца регио- и стереоспецифическое, возможно из-за электроотрицательности эфира и индуктивного эффекта метоксиметильной группы. Азиридин **13** был получен в две стадии – мезилирование **11** и восстановление азида **12** трифенилфосфином.

Азиридиновое кольцо раскрывали обработкой азидом натрия и получали азидоамин **14**. MOM-защитную группу снимали в кислой среде, чтобы получить спирт **15**. Аминогруппу в **15** защищали обработкой тритилхлоридом, затем мезилировали гидроксильную группу, чтобы получить промежуточный **17**, из которого *in situ* циклизацией получали защищенный азиридин **18**. Обработкой **18** пентанолом-3 в присутствии эфирата трехфтористого бора раскрывали азиридиновое кольцо, с получением амина **19**. Синтез кислоты **22** был завершён ацелированием аминогруппы, восстановлением азидогруппы трифенилфосфином, и гидролизом метилового эфира в соответствии с основными условиями [21].



Реагенты и условия: (a) MeOCH_2Cl , ДИПЭА, CH_2Cl_2 , кипячение, 3,5 ч, 97 %. (b) NaN_3 , NH_4Cl , $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, кипячение, 15 ч, 86 %. (c) MeSO_2Cl , Et_3N , CH_2Cl_2 , от 0 °C до rt, 15 мин, 99 %. (d) (i) Ph_3P , ТГФ, от 0 °C до rt, 3 ч. (ii) Et_3N , H_2O , rt, 12 ч, 78 %. (e) NaN_3 , NH_4Cl , ДМФА, 65–70 °C, 21 ч, 77 %. (f) HCl , MeOH , rt, 4 ч, 99 % (g) TrCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , от 0 °C до rt, 3 ч (h) MeSO_2Cl , Et_3N , CH_2Cl_2 от 0 °C до rt, 22 ч, 86 % (на 2 стадии). (i) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 3-пентанол, 70–75 °C, 2 ч. (j) Ac_2O , ДМАП, пиридин, rt, 18 ч, 69 % (на 2 стадий). (k) Ph_3P , ТГФ/ H_2O , 50 °C, 10 ч, 90 %. (l) (i) KOH , ТГФ, rt, 40 мин (ii) Dowex 50WX8 , 75 %.

Рисунок 3. – Синтез кислоты 22 как предполагаемого ингибитора нейраминидазы разработанный компанией Gilead Sciences

В этом первом синтезе близкого родственника осельтамивира показаны некоторые особенности найденных в последующем подходов, таких как введение аминогруппы по С-5 положению, раскрытие кольца азиридина и использование кислот Льюиса для введения 3-пентилэфирной группы в положении С-3. Общий

выход для этого 14-стадийного пути 15 %. Метод был реализован в лабораторных условиях.

Хотя по рассмотренному выше пути в последующем было создано промышленное производство препарата, было отмечено два недостатка: использование азидосодержащих производных обладающих потенциальными взрывчатыми свойствами; качество и выход получаемых продуктов сильно зависят от качества исходной (-)-шикимовой кислоты.

Другой метод фармацевтической компании "Roshe" получил промышленную реализацию (Рисунок 4) [33]. Используемая фирмой (-)-шикимовая кислота растительного происхождения содержала значительное количество трудноудаляемых примесей, фактически содержание основного вещества составляло 85 %.

(-)-Шикимовая кислота (**8**) была этерифицирована этанолом в присутствии тионилхлорида при кипячении с получением этилового эфира **23**. Цис-диол группу защищали 2,2-диметоксипропаном и *n*-толуолсульфокислотой в качестве катализатора с получением кетала **24**. Мезилирование **24** при стандартных условиях с последующей транскетализацией в пентаноне-3 дает кеталь **25**, который может быть конвертирован в эпоксид **27**.

Интересно и раскрытие эпоксидного цикла с введением аминогруппы безазидным способом в положении С-5. Его проводят с применением этаноламина с последующим гидрированием до амина **29**. В дальнейшем аминогруппу защищают иминбензольной группой **30**. Заменой гидроксильной группы на мезильную в положении С-5 получают мезилат **31**, который затем преобразуют в ацетиламин **33**. После стадий ацетилирования амина **32** по С-4 и восстановления амина **33** по С-5, получают осельтамивир, из которого обработкой фосфорной кислотой получают фосфат осельтамивири. Впоследствии, эта схема была доработана [34]. На стадии раскрытия эпоксидного цикла вместо аллиламина использован трет-бутиламин. Удаление этой группы проходило достаточно легко кислотным гидролизом [35].

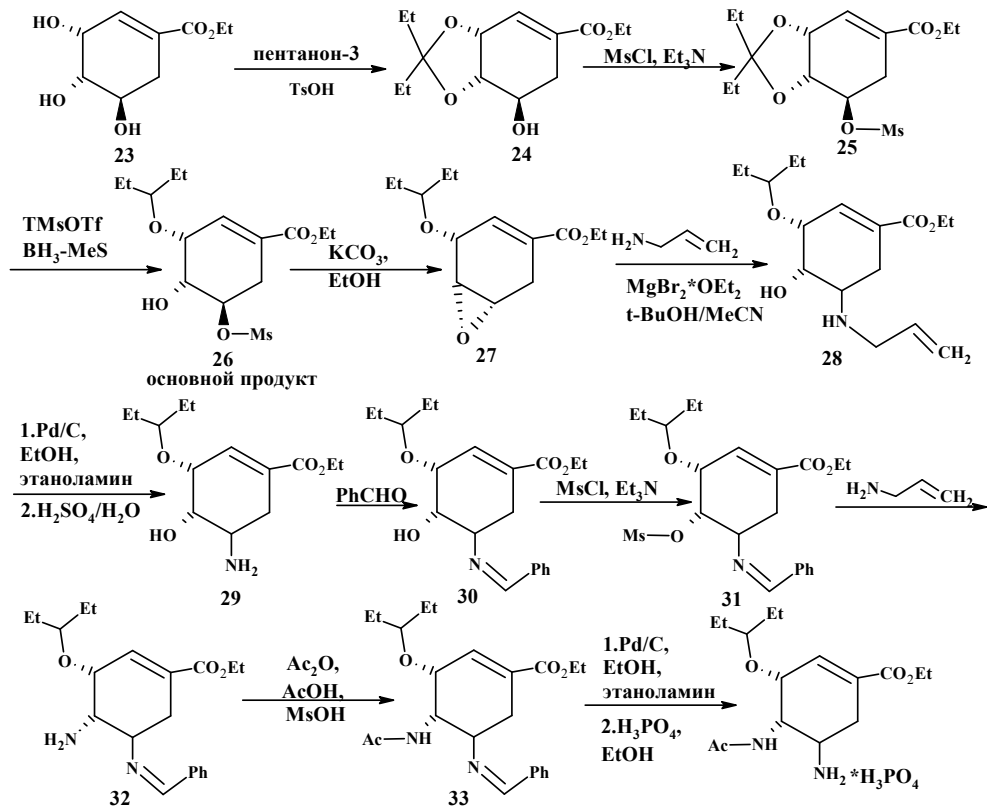


Рисунок 4. – Промышленный способ получения фосфата осельтамивира разработанный Roche

В 2008 году Роше была разработана схема, проходящая через тримезильное производное этилового эфира шикимовой кислоты (рисунок 5) [36].

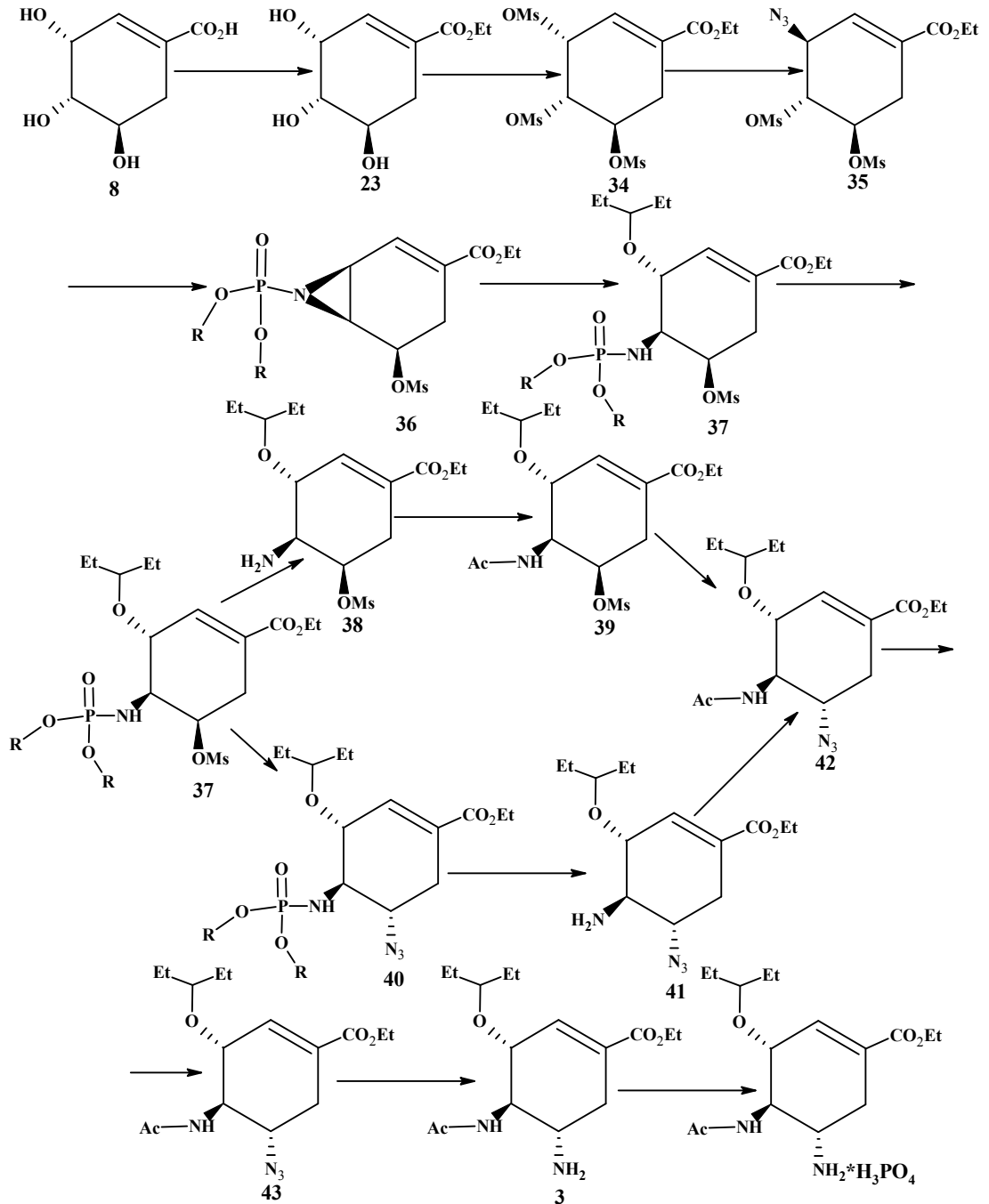


Рисунок 5 – Схема синтеза фосфата осельтамивира через этил (3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилат **34**.

Этот путь начинается с этилшикимата **23** и проходит через стадию мезилирования по трем гидроксильным группам с получением **34**. При введении азидогруппы в положение С-3 конфигурация в **35** меняется с S на R положение. На третьей стадии по реакции Штаудингера с использованием триэтилфосфита получают азиридины **36**. Введение пентоксигруппы в положение С-3 и раскрытие

азиридинового цикла проходит в среде пентанола-3 в присутствии эфирата трехфтористого бора. В первом случае одновременное удаление диалкоксифосфорильной группы (38) и ацетилирование полученного амина (39) катализируется кислотой Льюиса. После чего мезильная группа в положении С-5 замещается на азидную с получением 42.

Второй путь предполагает обработку соединения 37 азидом натрия с замещением мезильной группы по С-5 на азидную. В дальнейшем диалкоксифосфорильную группу удаляют в среде этанола в присутствии каталитического количества серной кислоты с получением 41, из которого затем ацетилированием получают 42.

После восстановления до амина по С-5, получают осельтамивир, из которого обработкой фосфорной кислотой – фосфат осельтамивира.

Выход продукта на отдельных стадиях процесса не превышает 45 %, тем не менее, предложенная схема значительно упрощает процесс получения фосфата осельтамивира.

Широкие исследования по методам синтеза фосфата осельтамивира на основе (-)-шикмовой кислоты были проведены в Китайском Университете Науки и Технологии [37-40].

Синтез [37] начинающийся с кетала 44 состоит из последовательных 11 химических стадий. Сообщается, что выход полупродуктов на каждой стадии процесса от 84 % до 98 % (рисунок 6). На гидроксильную группу по положению С-5 ставят бензоильную защиту 45. После раскрытия кетала 46, гидроксильные группы по С-3 и С-4 заменяют на мезильные 47. В положение С-3 с помощью азидата натрия вводят азидную группу 48, которую затем восстановлением с трифенилфосфином заключают в азиридиновый цикл 49 и ацетируют 50. При раскрытии азиридинового цикла в положение С-3 вводят пент-3-оксильную группу 51 взаимодействием с пентанолом-3 в присутствии эфирата трехфтористого бора. После снятия бензильной защиты 51, введения азидогруппы

43, ее восстановления и взаимодействия с фосфорной кислотой получают фосфат осельтамивира.

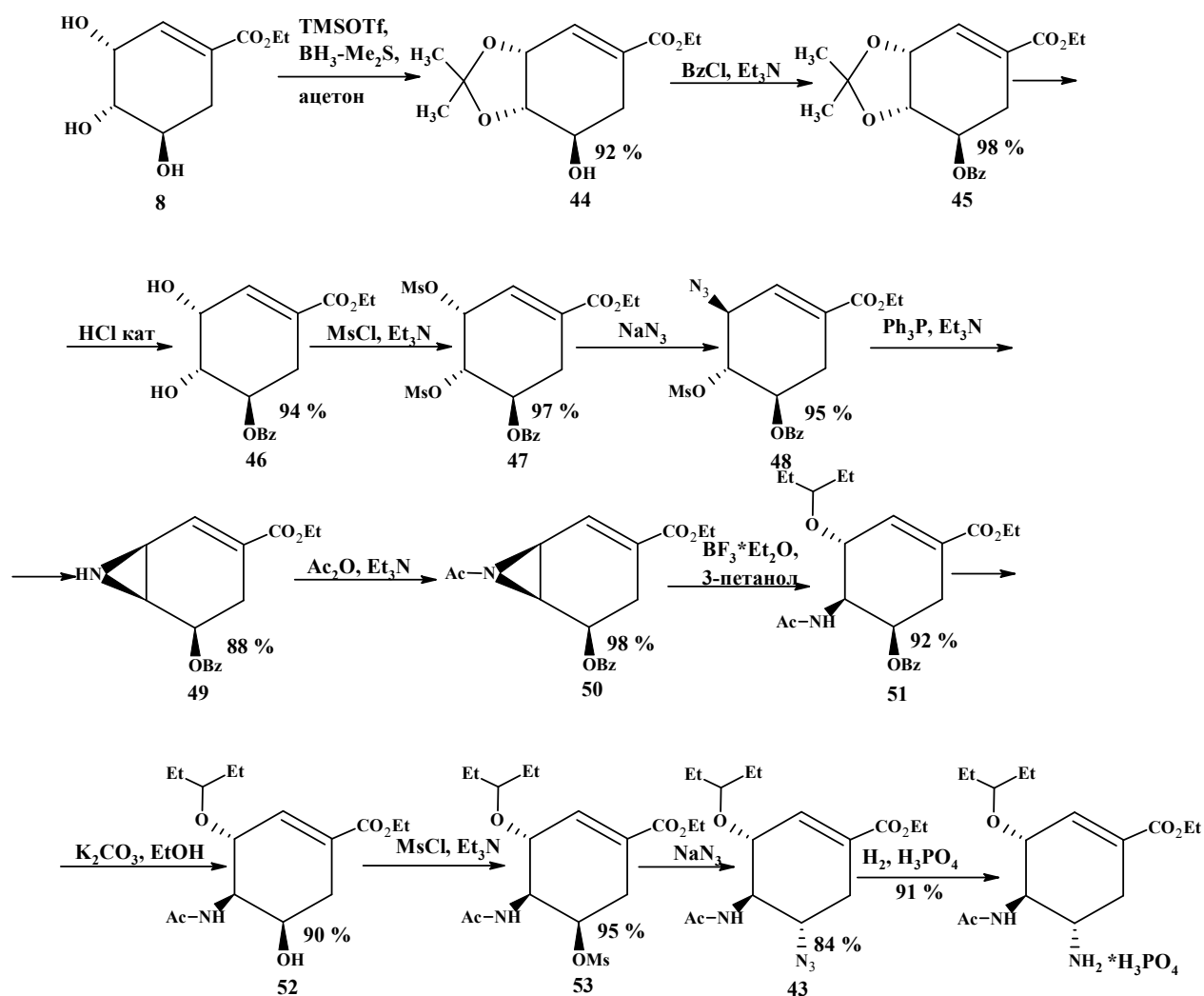


Рисунок 6 – Синтез фосфата осельтамивира разработанный в Китайском Университете Науки и Технологии через кеталь этилового эфира шикимовой кислоты **44**.

В работе сообщается, что суммарный выход продукта в пересчете на (-)-шикимовую кислоту составляет 40 %. В этом варианте синтеза также не используются дефицитные и дорогостоящие реактивы. Авторы [37] предполагают развить указанную схему до промышленного применения.

Также интересен путь, разработанный этой группой исследователей через тримезильное производное этилового эфира шикимовой кислоты (рисунок 7) [38].

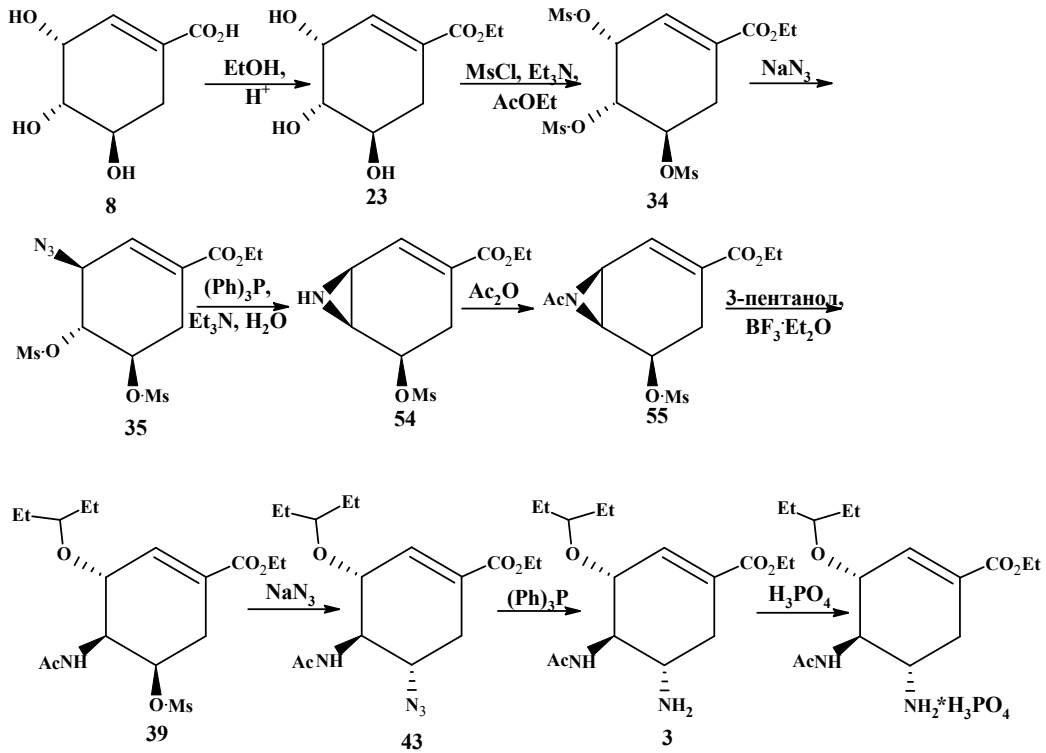


Рисунок 7 – Синтез фосфата осельтамивира разработанный в Китайском Университете Науки и Технологии через тримезильное производное **34**

Из этилового эфира шикимовой кислоты **23** обработкой метансульфонилхлоридом в присутствии триэтиламина было получено тримезилпроизводное **34**, из которого обработкой азидом натрия получают азид **35**. Затем **35** взаимодействует с трифенилфосфином в присутствии триэтиламина и большого количества воды для получения азиридина **54**, который сразу подвергается ацелированию уксусным ангидридом до ацетилазиридина **55**. Раскрытие азиридинового цикла с одновременным введением пент-3-окси группы проходит в среде пентанола-3 в присутствии эфира трехфтористого бора. Дальнейшие манипуляции проводятся, как описано в методе, приведенном выше. Метод включает в себя 8 стадий, выход фосфата осельтамивира в пересчете на (-)-шикимовую кислоту 47 %. Метод проведен на миллиграммовом масштабе.

В 2012 году была представлена еще одна схема получения фосфата осельтамивира основанная на (-)-шикимовой кислоте (Рисунок 8) [39].

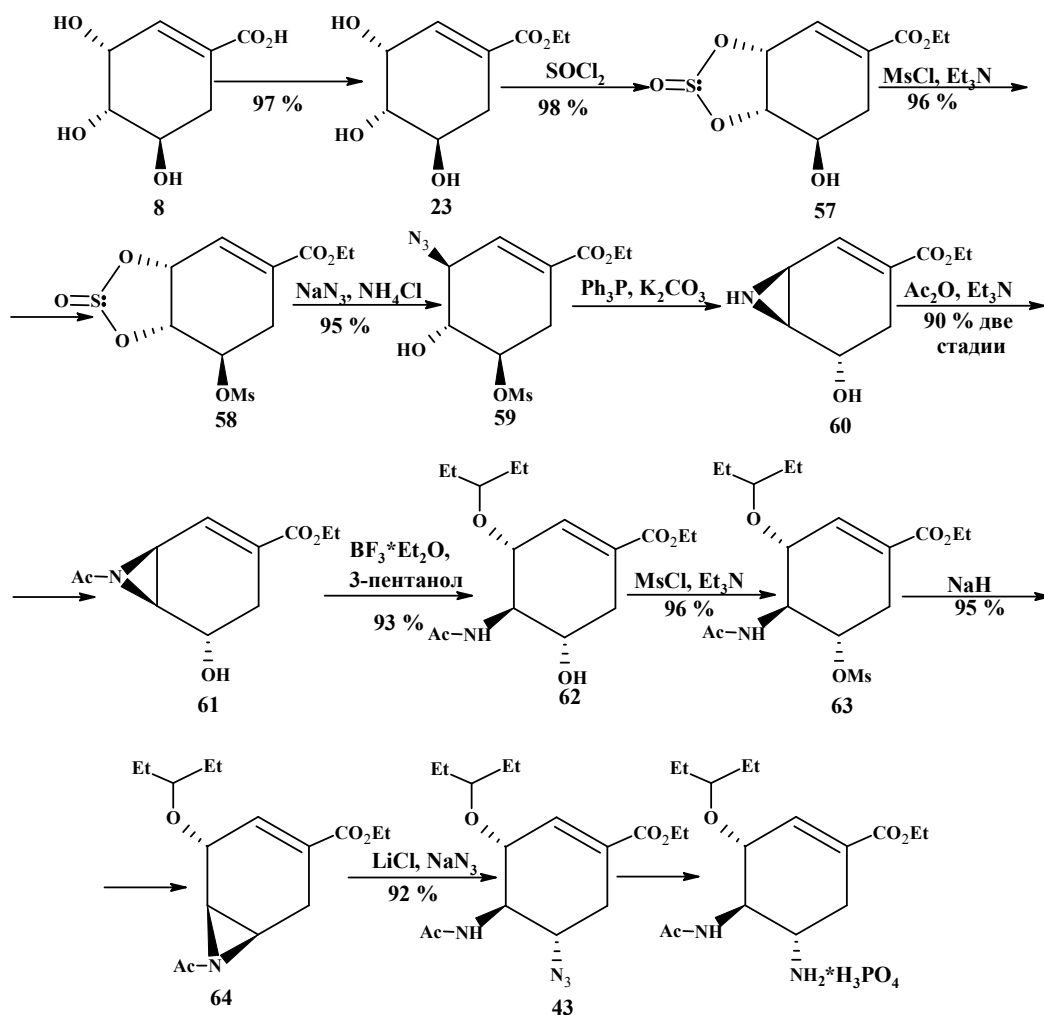


Рисунок 8. – Путь через сульфитное производное этилового эфира шикимовой кислоты.

Основное соединение получено с общим выходом 55 % в 11 стадий синтеза, начиная с (-)-шикимовой кислоты, взятой в большом избытке. По этому методу этиловый эфир шикимовой кислоты обрабатывают тионилхлоридом с получением циклосульфита **57** с выходом 98 %. Затем гидроксильная группа по положению С-5 замещается на мезильную с образованием **58** с выходом 96 %. Последующая обработка **58** 1,6 экв. азид натрия и 2,0 экв. хлорида аммония при комнатной температуре в водном N,N-диметилформамиде (ДМФА/Н₂О = 5:1) приводит к регио- и стереоспецифическому раскрытию кольца в аллильной позиции с получением азида **59** с выходом 95 %. Преобразование азида **59** в азиридин **60** проводилось в один этап через цепочку реакций. Последовательная обработка **59**

1,0 экв трифенилфосфина и 1,0 экв. сухого карбоната калия в смеси этанола с небольшим количеством воды ($\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH} = 1:100$ v/v), не дает азиридин **60** требуемой чистоты, поскольку наряду с основным продуктом образуется трифенилфосфиноксид. Полученный азиридин **60** хорошо растворим в воде, поэтому после растворения смеси азиридина и трифенилфосфиноксида в воде, последний удаляется фильтрацией. N-ацетилирование соединения **60** проводят с 1,5 экв. уксусного ангидрида и 2,0 экв. триэтиламина в двухфазной системе ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O} = 1:1$) при 0 °С с получением соединения **61** с выходом 90 % (в пересчете на **59**), в то же время гидроксильная группа в С-5 позиции остается неизменной. Впоследствии проводят мягкое региоселективное и стереоспецифическое раскрытие кольца N-ацетилазиридина **61** с каталитическим количеством эфирата трехфтористого бора в пентаноле-3 с получением соединения **62** с выходом 93 %. Соединение **62** затем подвергается обработке 1,5 экв. метансульфонилхлорида и 2,0 экв. триэтиламина в этилацетате в присутствии каталитического количества ДМАП (0,1 экв). Таким образом, получают метансульфонат **63** с выходом 96 %. Далее, из мезилата **63** с 4,0 экв. гидроксида натрия в сухом ТГФ по $S_{\text{N}2}$ механизму получают N-ацетилазиридин **64** с выходом 95 %. Обработкой **63** 4,2 экв. хлорида лития и 4,0 экв. азидата натрия в ДМФА при 80 °С вызвало раскрытие азиридинового кольца с получением соединения **3** с выходом 92 %. Затем обработкой фосфорной кислотой в среде этанола был получен фосфат осельтамивира с выходом 91 %.

Представленный синтез характеризуется некоторыми преимуществами, например, простая очистка хорошо растворимого в воде промежуточного азиридина от трифенилфосфиноксида, использование недорогих реагентов, отсутствие токсичных тяжелых металлов, мягкие условия реакции и высокие выходы на всех стадиях. Метод проведен на граммовых количествах, масштабирование этого процесса авторами не описано.

В ранее представленной публикации по получению фосфата осельтамивира через сульфитное производное шикимовой кислоты [40] в отличие от синтеза,

представленного на рисунке 8, гидроксильная группа в положении С-5 защищалась бензоильной и ацетильной группой. Однако к увеличению выхода на стадии образования азиридинового цикла и стабильности получаемого продукта это не привело.

1.2. Получение фосфата осельтамивира на основе других природных соединений

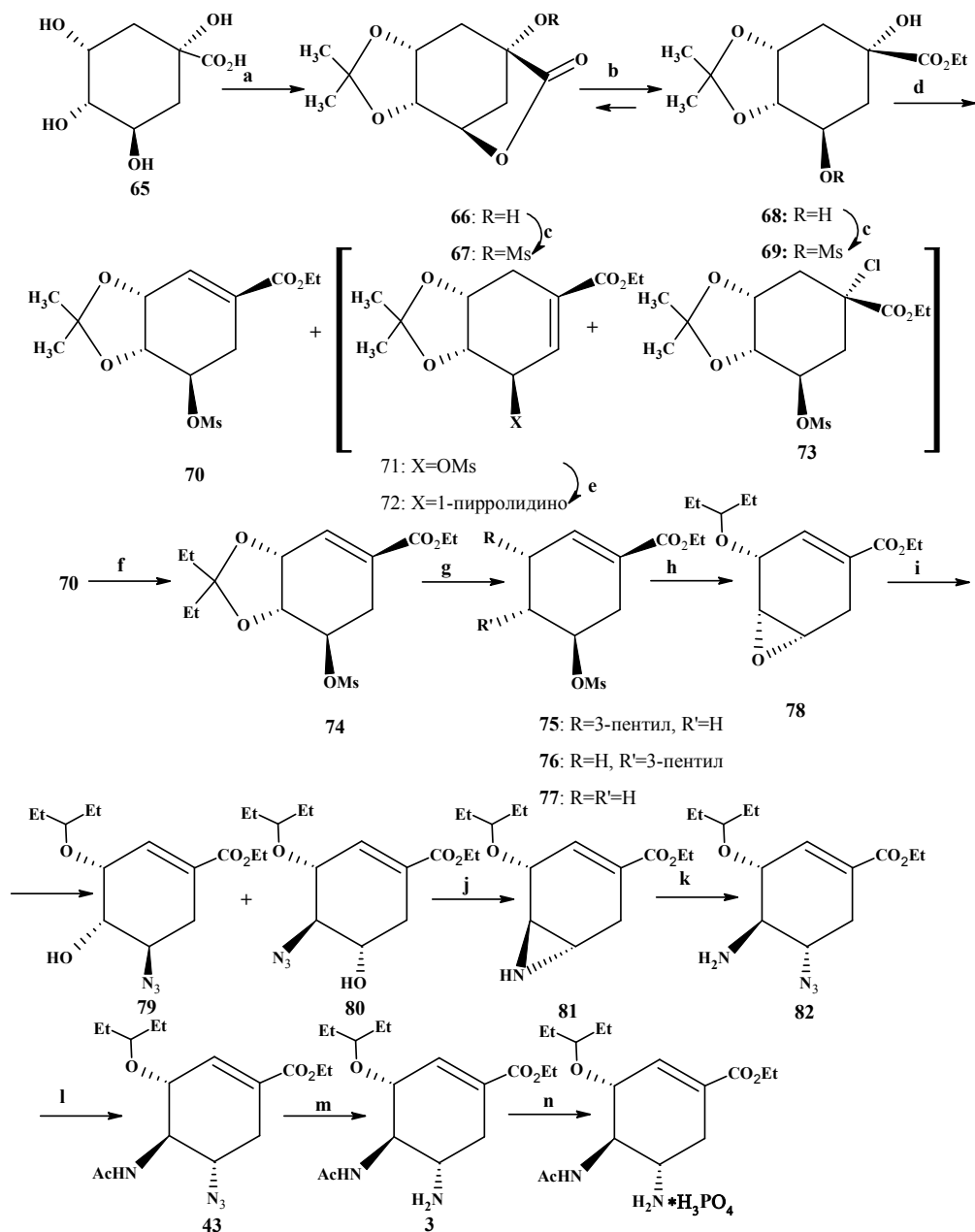
В связи с ограниченной доступностью (-)-шикимовой кислоты исследована возможность синтеза препарата на основе других материалов растительного происхождения: (-)-хинной кислоты, L-серина, D-ксилозы или D-глюкозы [11, 41-53].

Одним из первых претендентов на замену (-)-шикимовой кислоты в синтезе фосфата осельтамивира стала (-)-хинная кислота [11]. Ее применение связано с меньшей стоимостью и большей доступностью для производства фармацевтической субстанции в производственном масштабе (Рисунок 9) [41, 53].

Эффективный подход получения кетала **70** из легко доступной (-)-хинной кислоты **65** приведен в литературе [42, 43]. Лактон ацетонида **68** был получен с выходом 90 % из **66**, и затем преобразован в равновесную смесь лактона:оксиэфира **66:68** как 1:5 в безводном этаноле с каталитическим количеством этоксида натрия. Разделение **66:68** смеси путем дробной кристаллизации оказалось неэффективным на килограммовом масштабе. Вместо этого смесь **66:68** обрабатывают метансульфонилхлоридом (1,1 экв.) в хлорметиле в присутствии триэтиламина, с получением моноэзилатов **67:69** в соотношении 1:5.

Кристаллический лактон мезилата **66** легко удаляется с помощью фильтрации этилацетатной суспензии, а **68** получают с выходом 69 % в пересчете на **65**. Дегидратация **68** приводящая к ненасыщенному “шикимовому” кольцу проводится в системе сульфурилхлорида и пиридина в метиленхлориде при -20 °С

[44]. Смесь 1,2-1,6-олефинов региоизомеров **70:71** (4:1) получают с выходом 60 % наряду с 10-15 % соединения **73**.



Реагенты и условия: (а) 2,2-диметокси пропан, *n*-TsOH, ацетон, кипячение, 2 ч (b) NaEtO, EtOH (абс), rt, **66:67** ратио 1:5 (c) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0-5 °C, 1,5 ч, выход **68** 69 % (3 стадии) (d) SO₂Cl₂, CH₂Cl₂, от -20 до -30 °C **66:67:68** ратио 4:1:1 (e) **69:70:71** смесь, пирролидин, (PPh₃)₄Pd, EtOAc, 35 °C, 3,5 ч, выход **72** 30 % на **65** (f) 3-пентанон, HClO₄, 40 °C, 25 мм рт ст, 95 % (g) TMSOTf, BF₃·Me₂S, CH₂Cl₂, от -10 до -20 °C, 45 мин **71:72:73** ратио 10:1:1, 75 % (h) KHCO₃, EtOH/H₂O, 55-65 °C, 1 ч, 96 % (i) NaN₃, NH₄Cl, EtOH/H₂O, 70-75 °C, 12-18 ч, **79:80** ратио 10:1, 85 % (j) Me₃P, MeCN, <38 °C, 2 ч, 97 % (k) NaN₃, NH₄Cl, ДМФА, 70-80 °C, 12-18 ч (l) Ac₂O, NaHCO₃, гексан/CH₂Cl₂, 1 ч, 44 % (2 стадии) (m) H₂ (1 атм), Ra-Ni, EtOH 10-16 ч (n) H₃PO₄, EtOH, от 55-60 °C до 0 °C, 3-24 ч, 75 % (2 стадии)

Рисунок 9 – Первый крупномасштабный синтез фосфата осельтамивира из (-)-хинной кислоты.

Обработка смеси **70:71:73** пирролидином и каталитическим количеством тетракис-(трифенилфосфин)-палладия в этилацетате приводит к селективному преобразованию нежелательного 1,6-олефина (аллильного мезилата) **71** в продукт замещения пирролидина **72** [45, 46]. Чистый изомер 1,2-олефина **70** был выделен кристаллизацией из смеси этилацетат/гексан с выходом 30 % от **65**. Синтез продолжили транскетализацией из ацетонида **70** с пентаном-3 и хлорной кислотой в качестве катализатора. Получали кеталь **74** [47, 48].

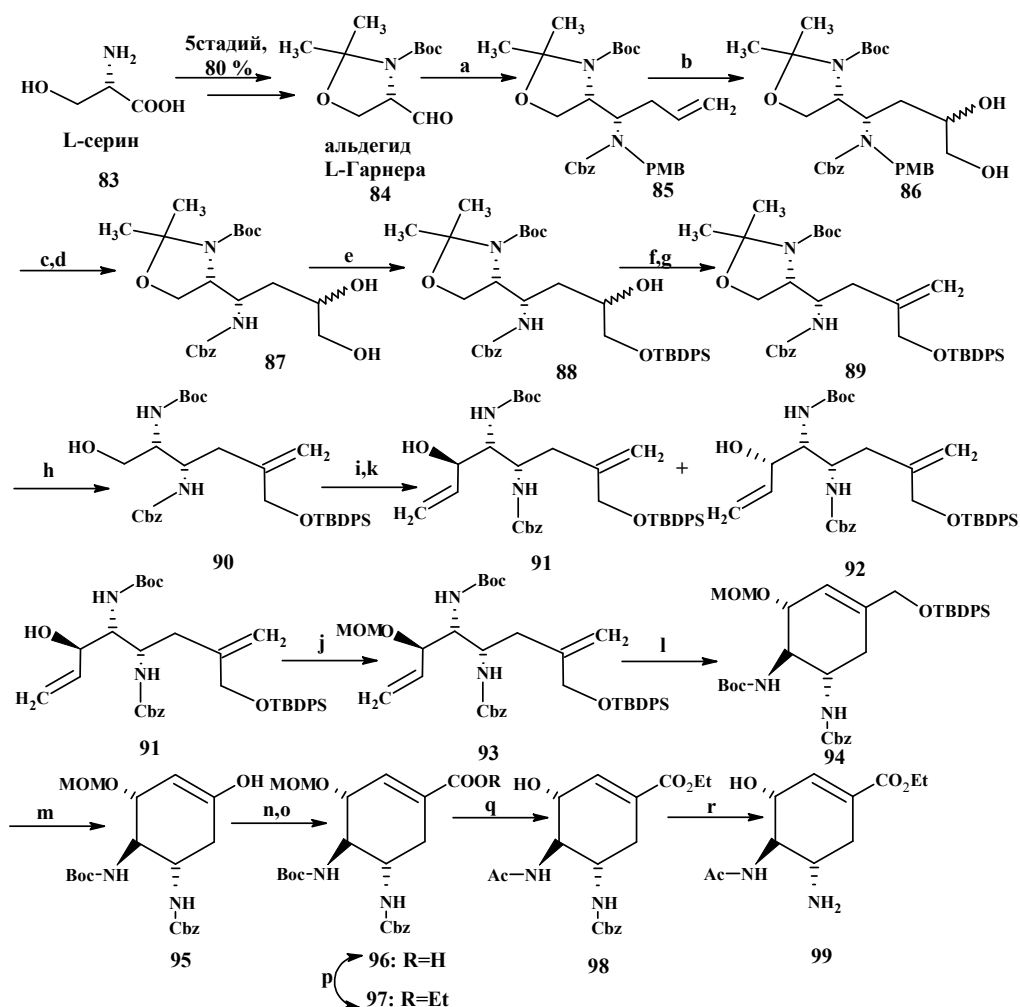
Кеталь **74** раскрывался с помощью каталитического количества хлорной кислоты в пентаноне-3 при комнатной температуре с непрерывной вакуумной отгонкой ацетона. Маслянистый 3,4-пентилиден кеталь **75** выделяют с почти количественным выходом. Обработка **74** триметилсилил-трифторметансульфонатом и боранметилсульфидным комплексом в дихлорметане приводит к смеси изомеров **75:76:77** в соотношении 10:1:1 соответственно с выходом 75 %. Кипячение смеси в водном этаноле в присутствии бикарбоната калия выборочно преобразует **75** в водорастворимый эпоксид **78**, в кристаллическом виде после обработки гептаном (60 % от кетала **74**). Эпоксид **78** нагревали до 70 °С с азидом натрия и хлоридом аммония в водном этаноле, чтобы получить смесь изомерных азидоспиртов **79:80** в соотношении 10:1. Внутримолекулярная восстановительная циклизация смеси **79:80** с триметилфосфином в безводном ацетонитриле при 35 °С дает азиридин **81** с выходом 70 %. Раскрытие азиридинового цикла проходит гладко при 80 °С с азидом натрия и хлоридом аммония в N,N-диметилформамиде с получением азидоамина **82**, который непосредственно ацилируется с уксусным ангидридом. В результате азидоацетамид **43** был выделен после перекристаллизации с выходом 37 %, в пресечете на эпоксид **78**. Из-за его стабильности и высокой степени кристалличности азидоацетамид **43** зарекомендовал себя как отличный продукт для фармацевтической субстанции синтеза фосфата осельтамивира. Синтез фосфата осельтамивира был завершён восстановлением азидоацетамида **43** водородом (1 атм.) на никеле Ренея [49-51]. Как альтернатива восстановлению

азиды на никеле Ренея, может быть применен триметилфосфин во влажном тетрагидрофуране [52]. Добавлением фосфорной кислоты получают фосфат осельтамивира.

Этот синтетический подход представляет собой масштабируемый процесс, что было продемонстрировано на опытно-промышленном производстве с общим выходом 4,4 %. Позднее фармацевтическая компания "Roche" провела оптимизацию отдельных стадий синтеза [53]. Это соответствует выходу фосфата осельтамивира на уровне 17-18 % в пересчете на исходную (-)-хинную кислоту.

В 2006 г. Яо и Конг описали синтез потенциального промежуточного продукта **99** для производства осельтамивира, начиная с *L*-серина (Рисунок 10) [54, 55].

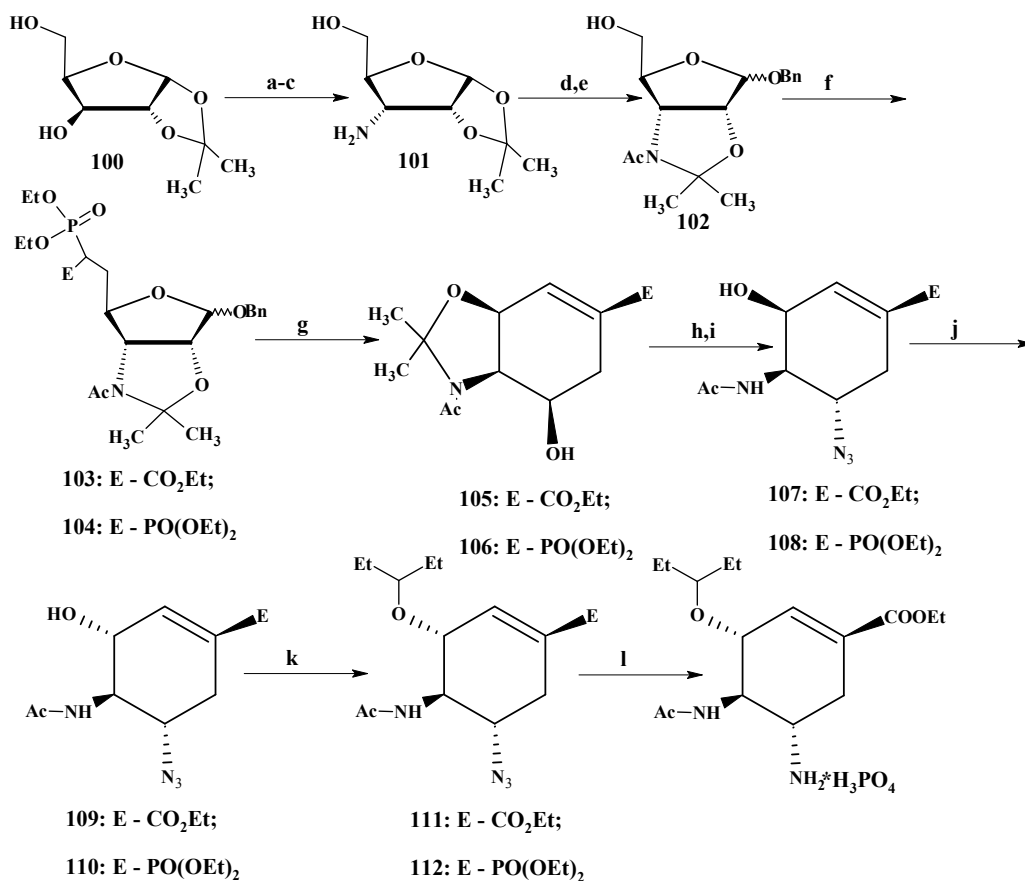
Вначале за 5 стадий из *L*-серина получали альдегид *L*-Гарнера [56]. После последовательных 15-ти химических стадий получали этил(3*S*,4*R*,5*S*)-4-ацетамидо-5-бензоксикарбамидо-3-гидроксицикло-гекс-1-ен-1-карбоксилат **98**. Хотя в синтезе и используется распространенный *L*-серин, этот синтез довольно долгий, а *C*-3 стереоиндукция не является эффективной.



Реагенты и условия: (a) PMBNHOH, MgSO₄, CH₂Cl₂, rt, 18 ч (b) OsO₄, ММО, ацетон/Н₂О 5:1, 89 %; (c) Pd(OH)₂/H₂/CH₃OH, 35 °С; (d) CbzCl, NaHCO₃, H₂O/EtOAc v/v) 1:1, 86 % (2 стадии); (e) TBDPSCl, имид., CH₂Cl₂, rt, 96 %; (f) (COCl)₂, DMSO, CH₂Cl₂, Et₃N, -78 °С; (h) Ph₃PCH₃Br, *n*-BuLi, ТГФ, -78 °С rt, 86 % (2 стадии); (i) BiBr₃ (20 моль-%), MeCN, rt, 89 %; (k) (COCl)₂, DMSO, CH₂Cl₂, Et₃N, -78 °С; (j) vinylMgBr (3,0 экв.), ZnBr₂ (1,0 экв.), ТГФ, от -78 °С до -30 °С, **91** (56 %), **92** (19 %); (l) MOMCl, ДИПЭА, CH₂Cl₂, rt, 98 %; CH₂Cl₂, rt, 98%; (m) ФТБА, ТГФ, rt, 96 %; (n) PCC, 4 Å sieve, CH₂Cl₂, rt; (o) NaClO₂, K₂HPO₄, 2,3-диметилбута-1,3-диен, *t*-BuOH/ТГФ/Н₂О (v/v/v 4:1:1), от 10 °С до rt, 88 % (2 стадии); (p) EtOH, НОВт, ЭКГХ, ДИПЭА, CH₂Cl₂, rt, 85 %; (q) AcCl, Na₂CO₃, EtOH, от 0 °С до rt, 83 % (2 стадии); (r) Pd(OAc)₂, Et₃SiH, Et₃N, CH₂Cl₂, от 0 °С до rt, 92 %.

Рисунок 10 – Схема синтеза полупродукта осельтамивира из *L*-серина

В 2007 году появилось сообщение о синтезе осельтамивира и его аналогов (превосходящих его по ингибирующей активности) исходя из D-ксилозы или D-глюкозы (Рисунок 11) [57].

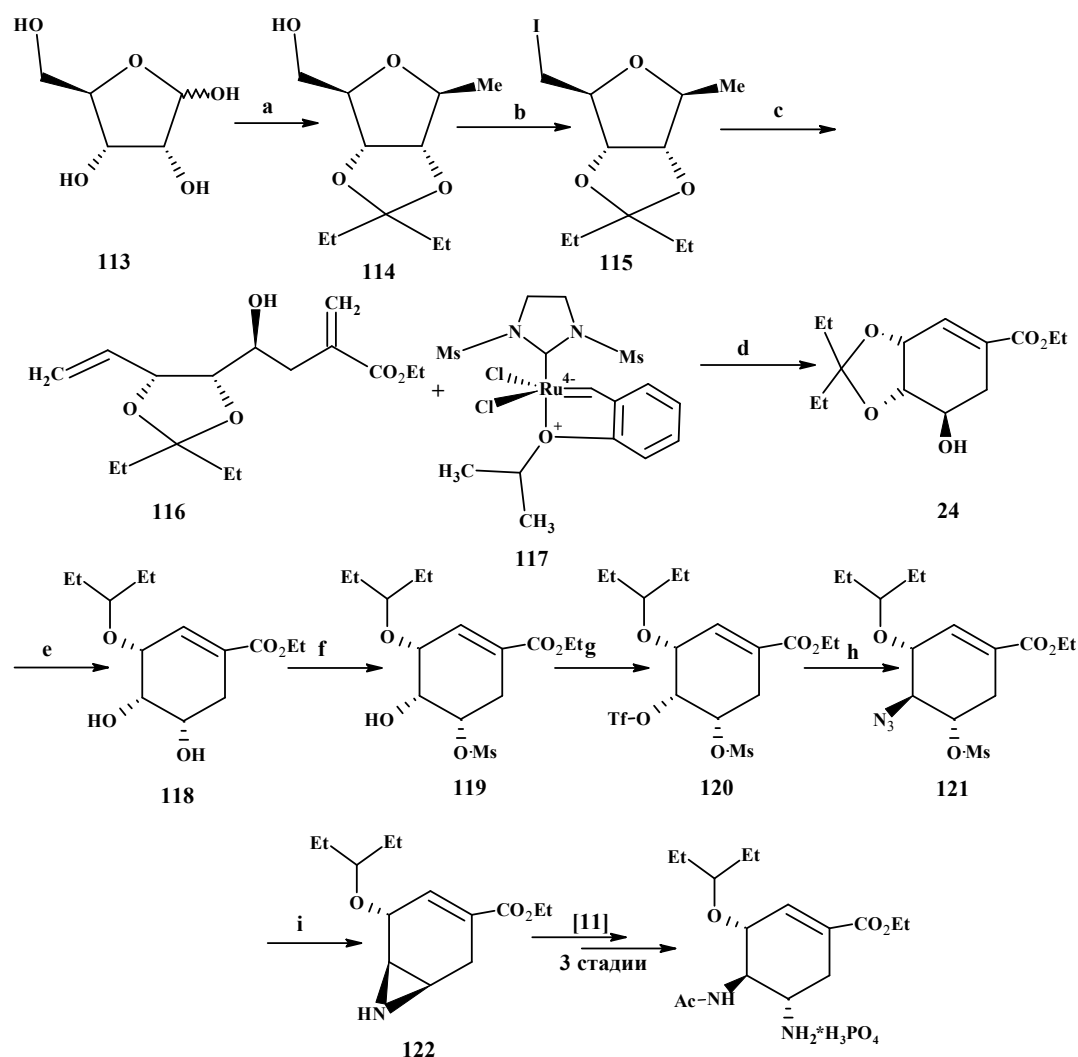


Реагенты и условия: (a) Me₃CCOCl, пиридин, 0 °С, 8 ч; 89 % (b) PDC, Ac₂O, кипячение, 1,5 ч; HONH₂-HCl, пиридин, 60 °С, 24 ч; 82 % (c) LiAlH₄, ТГФ, 0 °С, кипячение 1,5 ч; 88 % (d) Ac₂O, пиридин, 25 °С, 3 ч; HCl/1,4-диоксан (4 М), BnOH, толуол, 0-25 °С, 24 ч; 85 % (e) 2,2-диметоксипропан, толуол, *p*-TsOH каталитическое количество, 80 °С, 4 ч; 90 % (f) Tf₂O, пиридин, CH₂Cl₂, -15 °С, 2 ч; EtO₂CCH₂PO(OEt)₂ или H₂C[PO(OEt)₂]₂, NaNH, 15-краун-5 каталитическое количество, ДМФА, 25 °С, 24 ч; **103** – 80 % и **104** – 73 % (g) H₂, Pd/C, EtOH, 25 °С, 24 ч; NaNH, ТГФ, 25 °С, 1 ч, **105** -83 % ; или NaOEt, EtOH, 25 °С, 5 ч, **106** – 80 %. (h) (PhO)₂PON₃, (*i*-Pr)NdCdN(*i*-Pr), PPh₃, ТГФ, 25 °С, 48 ч. (i) HCl, EtOH, кипячение 1 ч; **107** - 83% и **108** – 74 % . (j) Tf₂O, пиридин, CH₂Cl₂, от -15 °С до -10 °С, 2 ч; KNO₂, 18-краун-6, ДМФА, 40 °С, 24 ч; **109** - 70% и **110** – 71 %. (k) Cl₃CC(=NH)OCHEt₂, CF₃SO₃H, CH₂Cl₂, 25 °С, 24 ч; **111** - 78% и **112** - 82%. (l) H₃PO₄, EtOH, 40 °С, 1 ч; 91 %

Рисунок 11 - Схема синтеза фосфата осельтамивира из D-ксилозы или D-ГЛЮКОЗЫ

После селективной защиты первичной гидроксигруппы пивалоильной частью, вторичную гидроксигруппу преобразовали в α-аминогруппу через окисление, образование оксима и восстановление. Путем дальнейших последовательных операций получили осельтамивир. В синтезе использованы дефицитные органические соединения фосфора и ряд труднодоступных реагентов. Сам путь труден в аппаратурном исполнении и его масштабирование не представляется возможным [58, 59].

Исследования в этом направлении проводятся дальше. В 2010 году появилось сообщение о синтезе кетала **24** из D-рибозы (рисунок 12) [60].



Реагенты и условия: (а) пентанон-3, MeOH/HCl, HC(OMe)₃, кипячение, 89 %; (b) I₂, PPh₃, CH₃CN/PhMe (1:1), кипячение, 90 % (с) Zn, ТГФ/Н₂O (2:1), кипячение 3 ч, этил 2-(бромметил)акрилат, кипячение, 78 % (d) 117, CH₂Cl₂, кипячение, 99 % (e) AlCl₃, CHCl₃, ультразвук, Et₃SiH, от -50 до 0 °С, 67 % (f) MsCl, Et₃N, -20 °С, 92 % (g) Tf₂O, пиридин, от -10 до 0 °С (h) NaN₃, ацетон/Н₂O, 86 % на 2 стадии (i) n-Bu₃P, ТГФ, Et₃N, Н₂O, 84 %

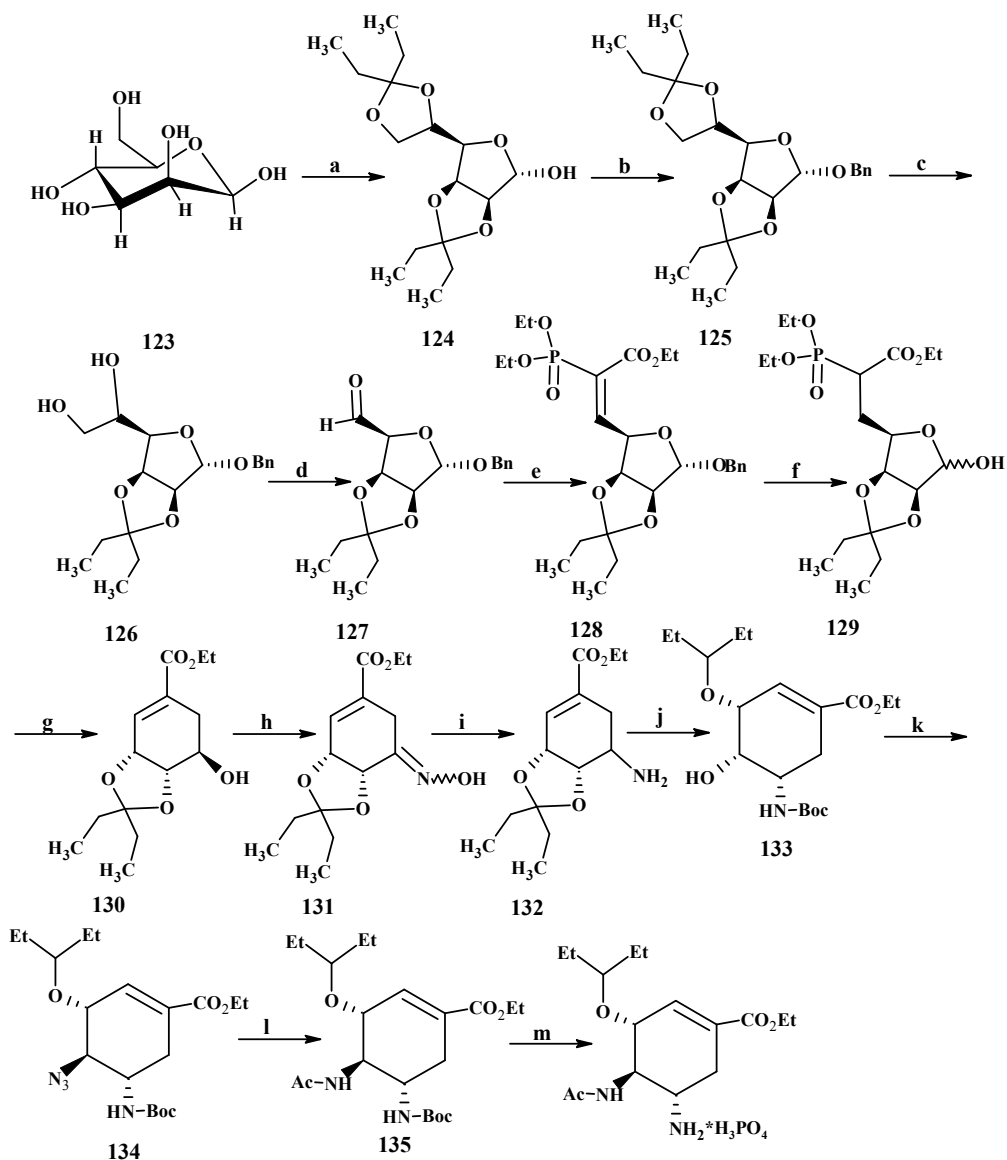
Рисунок 12 – Схема синтеза фосфата осельтамивира из D-рибозы

По этому пути D-рибозу преобразуют в 3-пентилдиенкеталь **114**, из которого затем получали йодпроизводное рибозы **115**. После получали промежуточный альдегид, который без выделения аллилировали этил-2-(бромметил)-акрилатом в **116**. Затем при помощи катализатора **117** замыкают **116** в производное 5-эпишикимовой кислоты **24**, который раскрывают при помощи треххлористого алюминия и триэтилсилана в **118** и мезилируют в **119**.

Обработкой мезилата **119** трифторметансульфоновым ангидридом получают мезилокситрифталат **120**, который затем при взаимодействии с азидом натрия переходит в азидомезилат **121**. Восстановлением **121** с трибутилфосфином получают азиридин **122** [61], из которого в несколько шагов известным способом [11] получают фосфат осельтамивира.

Этот путь состоит из 12 стадий и выход фосфата осельтамивира в пересчете на D-рибозу составляет 28 %.

В 2012 году появилась публикация о синтезе фосфата осельтамивира из D-маннозы **123** (рисунок 13) [62]. Синтез начинается с защиты 2,3- и 3,4-дигидрокси групп через 3-пентилдиенкеталь **124**. Аномерная гидроксильная группа в положении C-5 была заменена на бензоильную **125**. При дальнейшей обработке слабой кислотой получили 2,3-O-изопентилдиен- α -D-маннофуранозид **126** с хорошим выходом. Окисление этого соединения периодатом натрия приводит к промежуточному альдегиду **127**, который затем конденсируется с диэтоксифосфорилацетатом в **128** с выходом 51 % [63]. При гидрогенизации двойной связи уходит бензоильная защитная группа с получением лактола **129**, который обрабатывали гидридом натрия до получения производного шикимовой кислоты **130** [64]. Гидроксильная группа была преобразована в аминогруппу последовательным окислением с TEMPO, TCCA до оксима **131** и восстановлением его боргидридом натрия до кетала **132** с хорошим выходом. Защита аминогруппы Вос-группой после раскрытия кетала в **132** приводит к продукту **133**, который достаточно легко очищается при помощи колоночной хроматографии [65]. Гидроксильная группа **133** была преобразована в азидогруппу **134** и затем в ацетамид **135** с выходом 44 % в пересчете на **133** [66]. Наличие колоночной хроматографии для очистки промежуточных соединений и труднодоступных реактивов делают этот способ трудным в масштабировании.



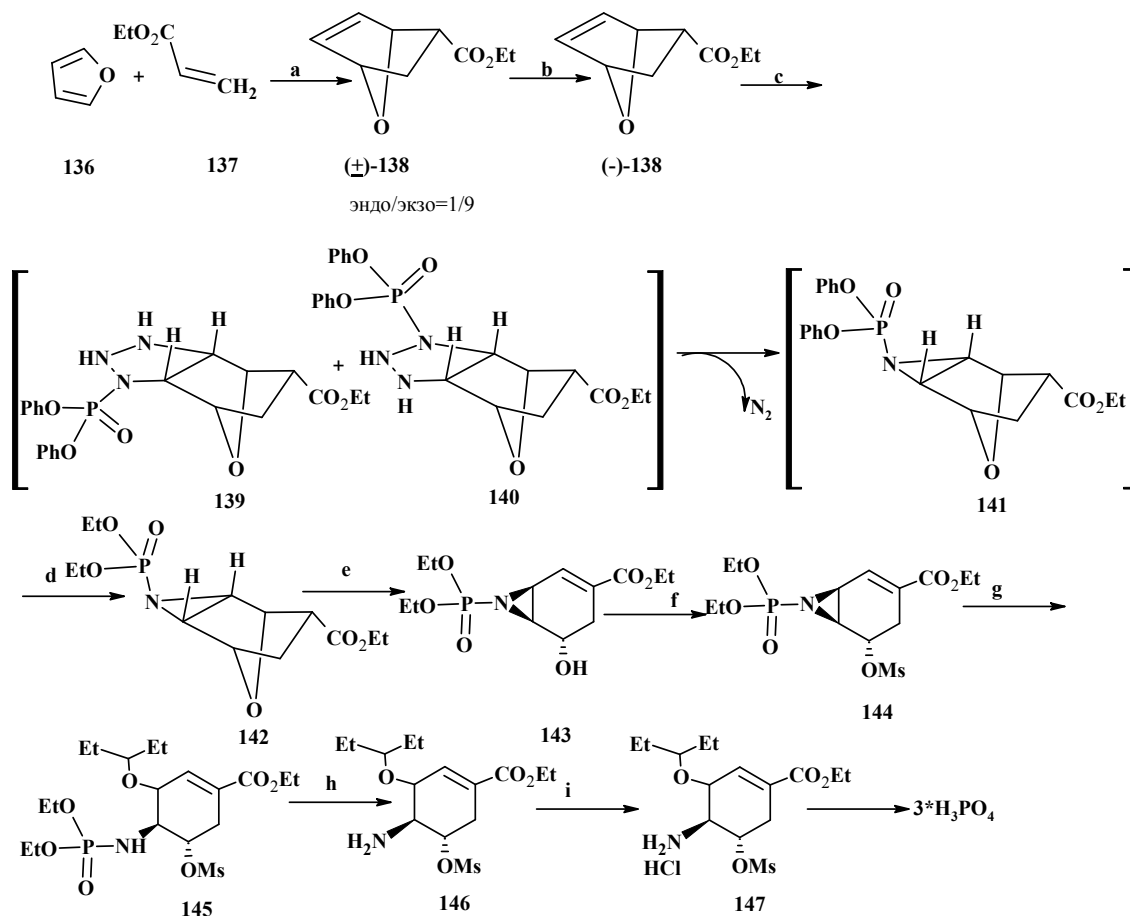
Реагенты и условия: (a) пентанон-3, ДМФА, H_2SO_4 , rt, 24 ч (b) NaH , BnCl , ДМФА, rt, 4 ч (c) HCl , MeOH , H_2O , от 0 °C до rt, 4 ч (d) NaIO_4 , EtOH , H_2O , rt, 1 ч, 30 % на 4 стадии (e) TiCl_4 , Et_3N , CH_2Cl_2 , $(\text{EtO})_2(\text{O})\text{PCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, 0 °C, 2 ч, 51 % (f) H_2 , Pd-C , rt, 4 дня (g) ТГФ, NaH , от 0 °C до rt, 30 мин, 52 % на 2 стадии (h) 1. TEMPO , TCCA , CH_2Cl_2 , 2. NH_2OH , HCl , EtOH , пиридин, 72 % на 2 стадии (i) NaBH_4 , MoO_3 , MeOH , rt, 45 мин, 92 % (j) 1. Et_3SiH , TiCl_4 , CH_2Cl_2 , от -78 до -10 °C, 16 ч 2. Woc_2O , MeOH , rt, 2 ч, 66 % на 2 стадии (k) 1. Tf_2O , CH_2Cl_2 , пиридин, -10 °C 2. NaN_3 , ацетон/ H_2O 9:1, rt (l) AcSH , 2,6-лютидин, CHCl_3 , кипячение, 44 % на 3 стадии (m) 1. TFA , CH_2Cl_2 , rt 2. H_3PO_4 , EtOH , 55 °C, 75 %

Рисунок 13 – Схема синтеза фосфата осельтамивира из D-маннозы

1.3 Получение фосфата осельтамивира с применением несимметричной циклизации по Дильсу-Альдеру

Первыми успешный путь получения осельтамивира фосфата без использования растительного сырья разработали исследователи фармацевтической компании "Roshe" [23, 67].

Взаимодействием фурана с этиловым эфиром акриловой кислоты (Рисунок 14) в присутствии хлорида цинка получен бициклический продукт **138**, в котором термодинамически более стабильный продукт *exo*- является основным. Энзимное расщепление позволяет получать нужный изомер с чистотой 97 % при общем выходе 20 %. На следующей стадии обработкой дифенилфосфорилазидом получают продукт **142**, термическая обработка которого приводит к азиридину **143**. После щелочной обработки, мезилирования, раскрытия азиридинового кольца в присутствии пентанола-3, кислотного гидролиза фосфорильной группы получают амин **147** [68], на основе которого известными методами можно синтезировать фосфат осельтамивира.



Реагенты и условия: (a) очищенный $ZnCl_2$, 50 °C, 72 ч, 77 % (b) (i) Чиразим L-2, метилциклогексан, водный буфер pH 8, 1 °C (ii) дистилляция, 97 %, конверсия от 20 % до 75 % (c) ДФФА, PhMe, 70 °C, 18 ч (d) NaOEt, EtOH, rt, 1 ч, 53 % (e) NaHMDS, ТГФ, -60 °C, 15 ч, 94 % (f) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, rt (g) пентанол-3, BF₃·OEt₂, CH₂Cl₂, 62 %, (2 стадии) (h) 20 %, H₂SO₄, EtOH, 70 °C, 22 ч (i) HCl, EtOH, 68 % (2 стадии)

Рисунок 14 – Подход к синтезу фосфата осельтамивира через реакцию Дильса-Альдера

В 2006 году появилось сообщение о энантоселективной циклизации бутадиена с трифторэтилакрилатом [69]. Схема синтеза приведена на рисунке 15. Для получения целевого рацемата циклизация проводится в присутствии 10 моль-% энантоселективного оксазаборолидинового (хирального) катализатора. В результате с выходом 97 % и энантиомерной чистотой 97 % (*ee*) получают дифторэтиловый эфир циклогексенкарбоновой кислоты **150**.

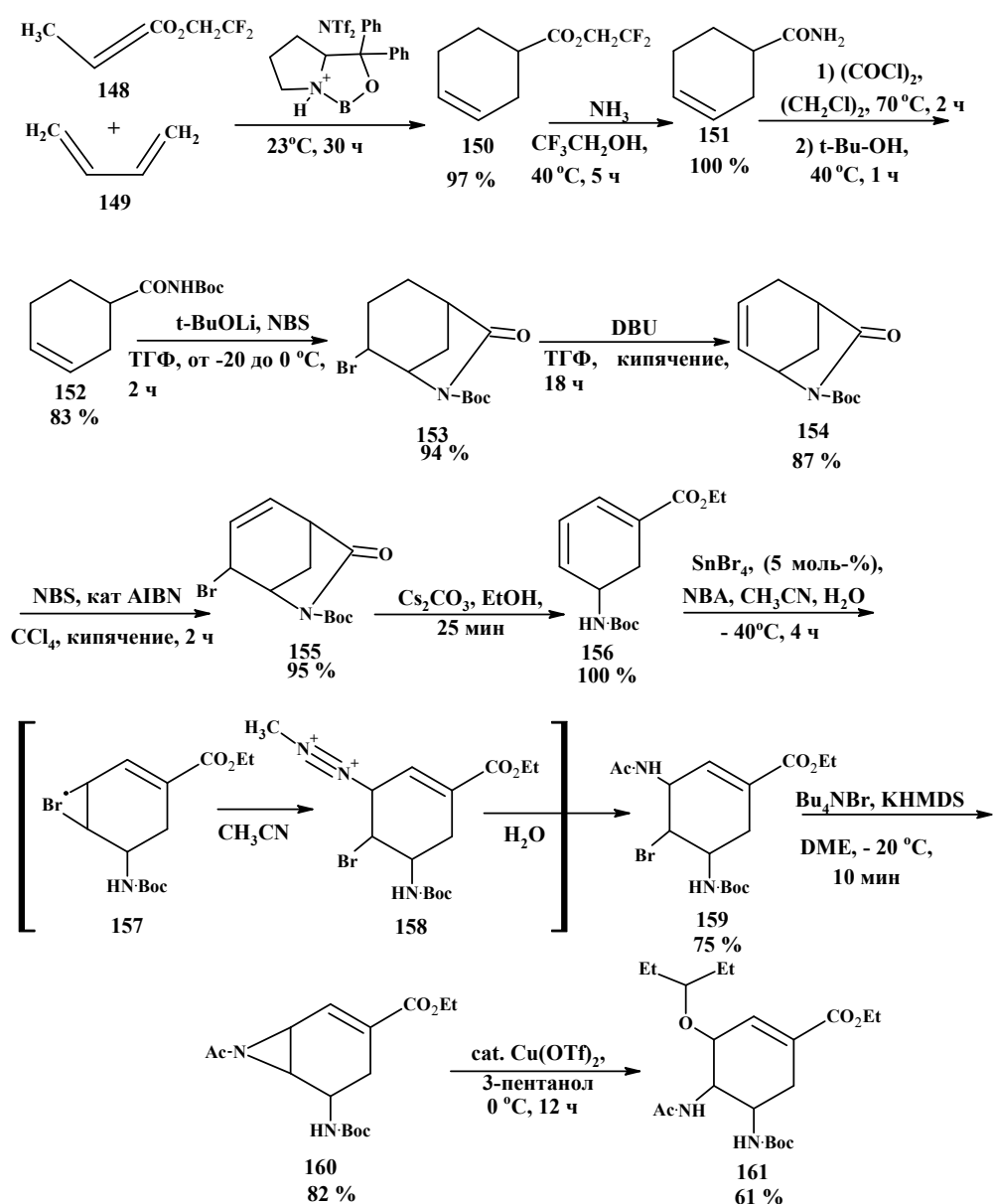


Рисунок 15 – Схема синтеза осельтамивира циклизацией бутадиена с трифторэтилакрилатом

Ряд оригинальных последовательных стадий (аммонолиз, перевод обработкой оксалилхлоридом в третбутилимид, получение лактама и др.) позволяют получить ацетилазиридин **160** и перевести его в осельтамивир. Разработанная схема синтеза включает 12 химических стадий. Она также как предыдущая трудна в исполнении и включает в себя использование дорогостоящих реактивов.

Другой удачный пример (Рисунок 16) использования реакции Дильса-Альдера – реакция триметилсилоксибутадиена с хлорангидридом fumarовой кислоты [70]. Реакция приводит к смеси (2:1 *endo/exo*) диастереоизомеров **164**, однако *exo*-изомер селективно разлагается в процессе кислотной обработки. После последовательных стадий: перегруппировки Курциуса, селективного гидролиза циклического карбоната и окисления спиртовой группировки до кетона, тоже получают два изомера **167**, которые разделяют хиральной хроматографией. В результате следующих трех стадий получают промежуточный продукт, который традиционными способами можно перевести в фосфат осельтамивира.

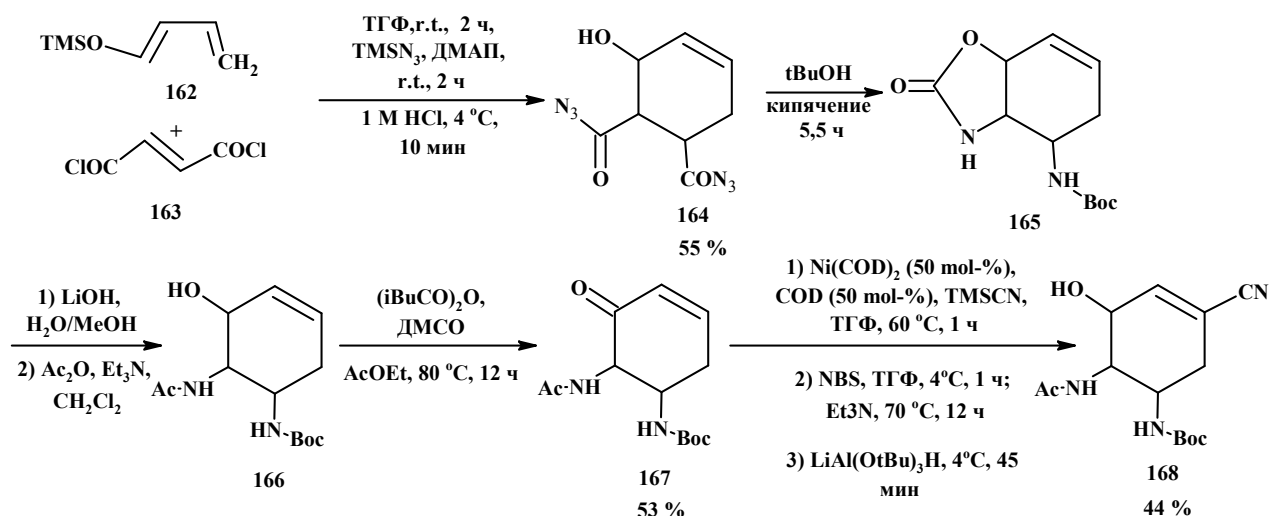


Рисунок 16 – Схема синтеза осельтамивира циклизацией триметилсилоксибутадиена с хлорангидридом fumarовой кислоты.

Еще один пример, представляющий интерес, приведен на рисунке 17. В качестве исходного соединения используется пиридин, который восстанавливают в присутствии бензилхлорформиата до дигидропиридина [71]. Полученный продукт вводят в реакцию циклизации с акролеином и сразу окисляют до

соответствующей кислоты. После обработки кислоты бромом получают лактон **173**, который легко может быть очищен кристаллизацией из метанола до чистоты 99 % (*ee*-изомер).

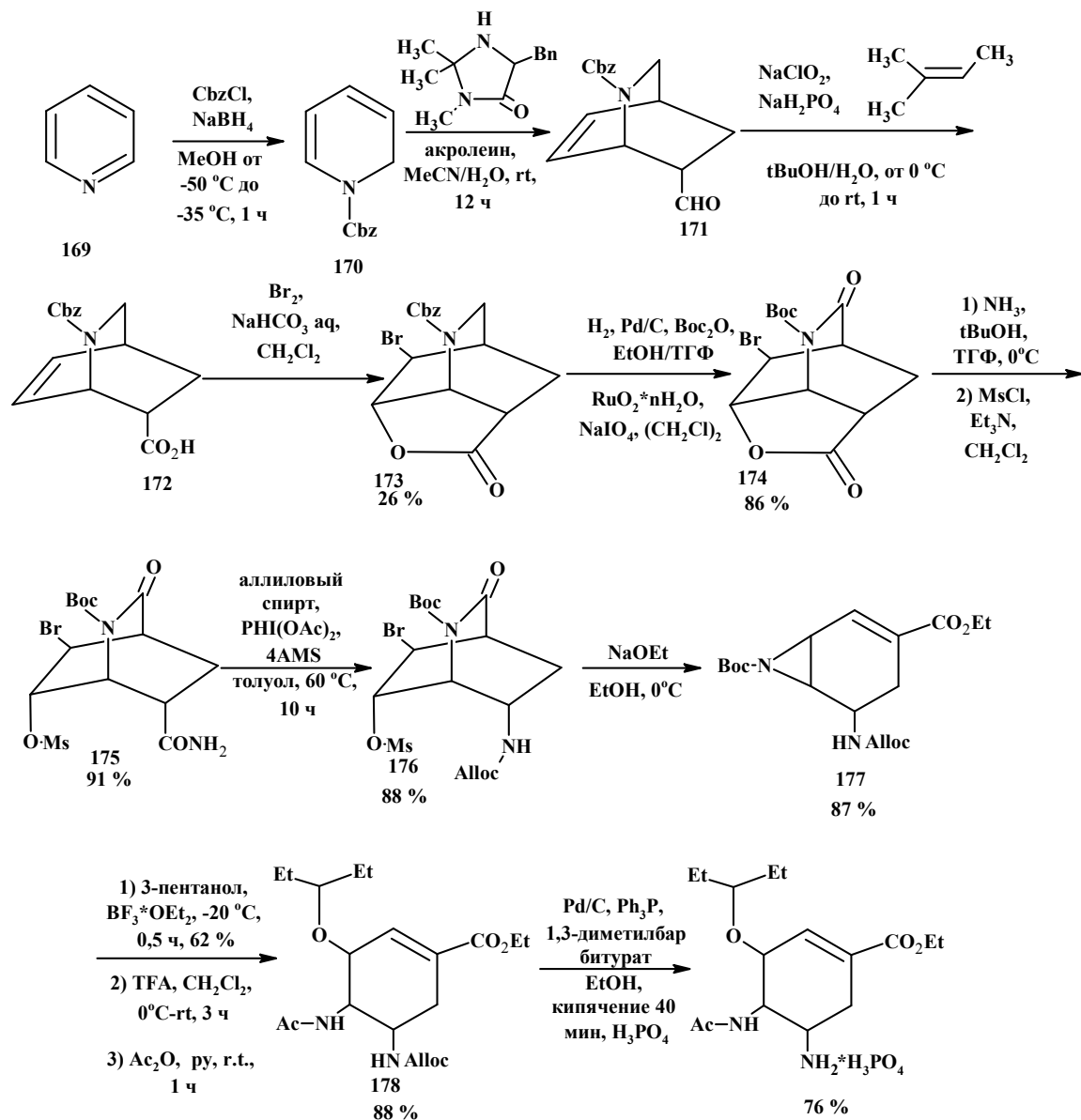


Рисунок 17 – Синтез фосфата осельтамивира из пиридина

На следующей стадии гидрированием в среде ангидрида *t*-бутилкарбоновой кислоты бензоксикарбонильную группу замещают на *t*-бутилкарбоксылную, затем окислением над окисью рутения получают трициклический продукт, содержащий лактонную и лактамную группировки **174**. В результате дальнейшей цепи превращений получают фосфат осельтамивира. Четырнадцать химических

стадий приводят к тому, что выход в пересчете на бензилхлорформиат составляет 5,6 %. Однако, несомненными достоинствами предложенной схемы является использование общедоступных реагентов и минимизация стадий очистки с препаративной хроматографией, что значительно сокращает расход растворителей.

1.4 Другие способы получения фосфата осельтамивира

Исследованиями "Roshe" рассмотрена возможность получения осельтамивира из 2,6-диметоксифенола [72]. Схема, приведенная на рисунке 18, предусматривает последовательное бромирование и этоксикарбонилирование исходного соединения до **180**. На следующей стадии при давлении 100 бар и в присутствии рутениевого катализатора проводят гидрирование бензольного кольца и получают производное циклогексана **181**. Особенность рассматриваемой схемы – использование энзимов для гидролиза только одной из карбоксиэтильных групп.

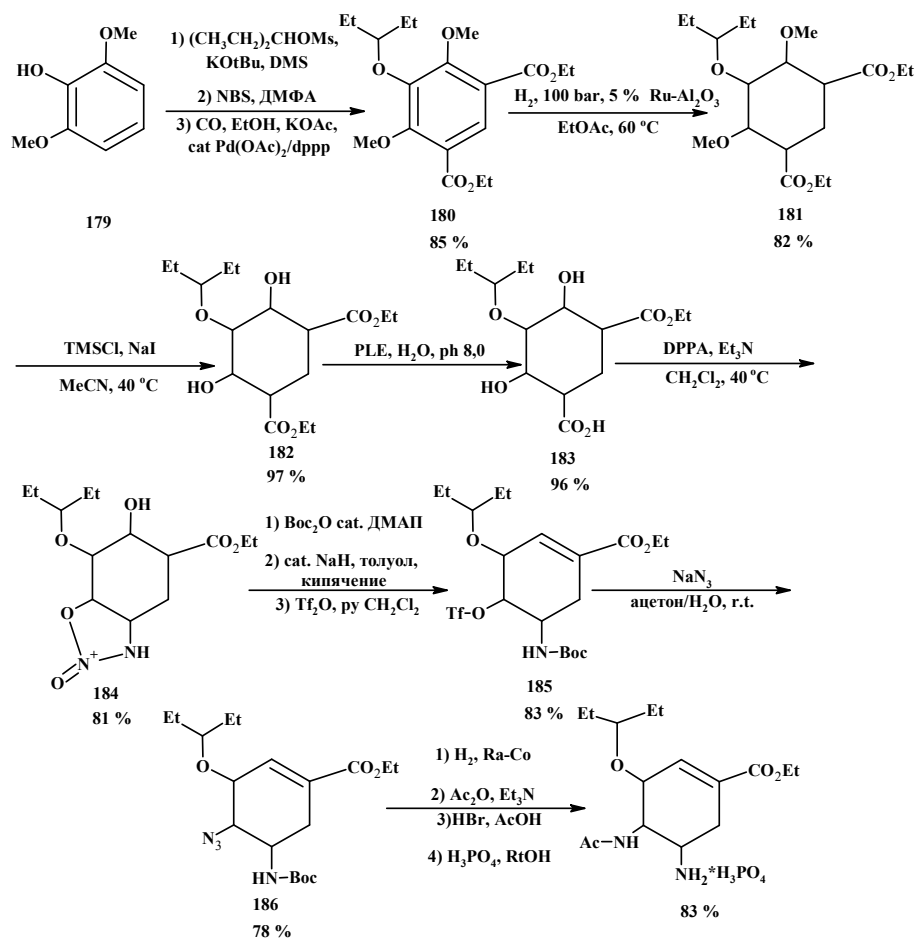
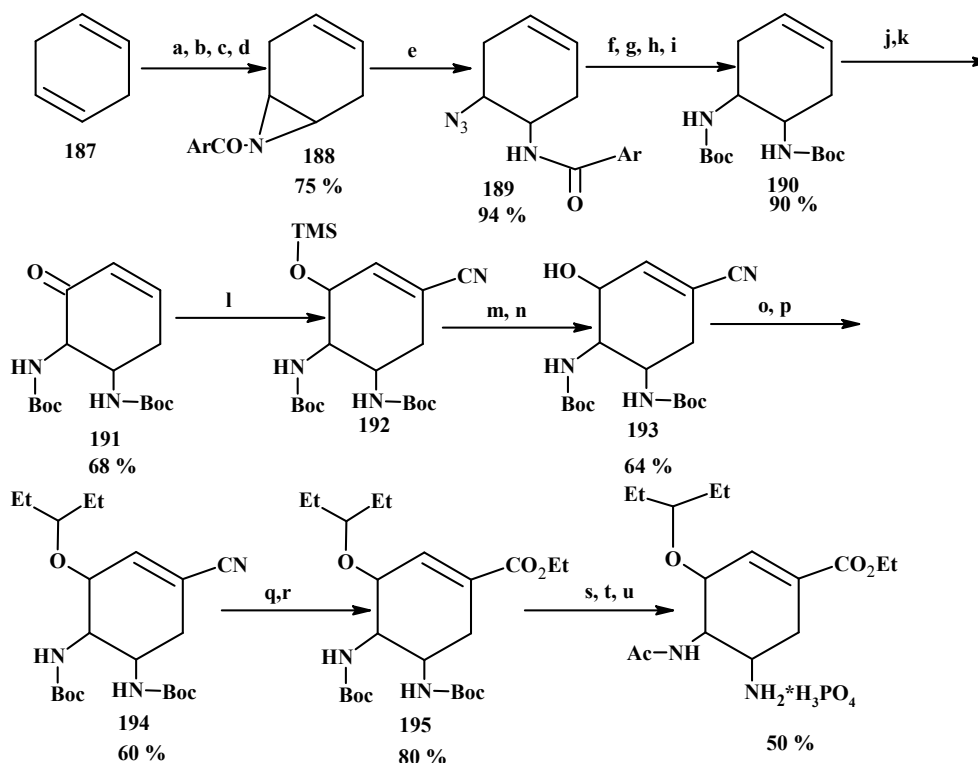


Рисунок 18 – Синтез фосфата осельтамивира из 2,6-диметоксифенола

В целом схема синтеза включает 15 химических стадий и, по-видимому, не может конкурировать с другими разработками.

В другой работе в качестве исходного соединения рассматривается циклогекса-1,4-диен (Рисунок 19) [73, 74]. Для получения транс-1,2-диамина использована традиционная схема предусматривающая: моноэпоксирирование, раскрытие эпоксидного кольца с использованием азида аммония, синтез азиридина и его ацилирование. На стадии раскрытия азиридинового кольца в качестве ассиметричного катализатора использовано комплексное соединение иттрия, в результате образуется аминоксид с содержанием нужного изомера 89 %. Катализатор может быть регенерирован экстракцией (степень извлечения 81 %).

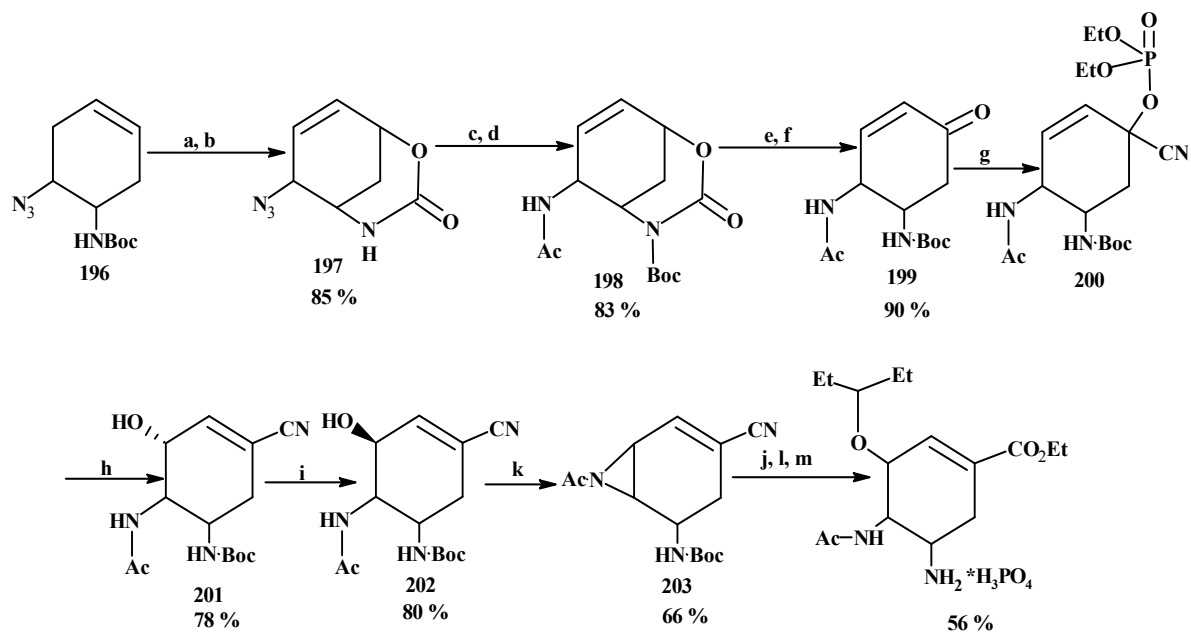


Реагенты и условия: (a) мСРВА, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , от 0°C до rt , 2 ч (b) NaN_3 , NH_4Cl , $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$, 60°C , 13 ч, 75 % (c) Ph_3P , CH_3CN , 60°C , 2 ч (d) 3,5-динитробензилхлорид, Et_3N , CH_3CN , от -30°C до -10°C , 1 ч (e) TMSN_3 , 2,6-диметилфенол, EtCN , rt , 12 ч (f) Voc_2O , ДМАП, CH_3CN , rt , 1 ч (g) 4 М NaOH , rt , 1 ч, 98 % (h) PH_3P , CH_3CN , 50°C , 3 ч, H_2O , 40°C , 2 ч (i) Voc_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 , rt (k) SeO_2 , ДМП, диоксан, 80°C , 12 ч (j) ДМП, CH_2Cl_2 , 4°C (l) $\text{Ni}(\text{ЦОД})_2$, (10 моль-%), ЦОД (10 моль-%), TMSCN , ТГФ, 60°C , 2 ч (m) БСИ, ТГФ, 10 мин; Et_3N , 4°C , 68 % (n) $\text{LiAlH}(\text{OtBu})_3$, ТГФ, 4°C , 39 мин (o) ДЭАК, Ph_3P , ТГФ, 4°C , 1 ч, 87 % (p) пентанол-3, $\text{VF}_3\cdot\text{OEt}_2$, 4°C , 1 ч (q) 4 М HCl , EtOH , rt , 24 ч; H_2O , rt , 2 ч; NH_4OH , rt , 10 ч (r) Voc_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 , 4°C , 30 мин (s) AcCl , Et_3N , ТГФ, 55°C , 2 мин (t) 4 М, HCl/AcOEt , rt , 3 мин, 82 % (u) H_3PO_4 , EtOH

Рисунок 19 – Синтез фосфата осельтамивира из циклогекса-1,4-диена

В следующих стадиях проводят восстановление азида до амина, вводят защитные третбутильные группы и с использованием SeO_2 вводят дополнительный атом кислорода. Для ввода кислотной функции используют нитрильную группу (в присутствии никелевого комплекса-катализатора), которую впоследствии гидролизуют.

С целью исключения использования труднодоступных и дефицитных реагентов, представленная схема была частично переработана (Рисунок 20) [75].

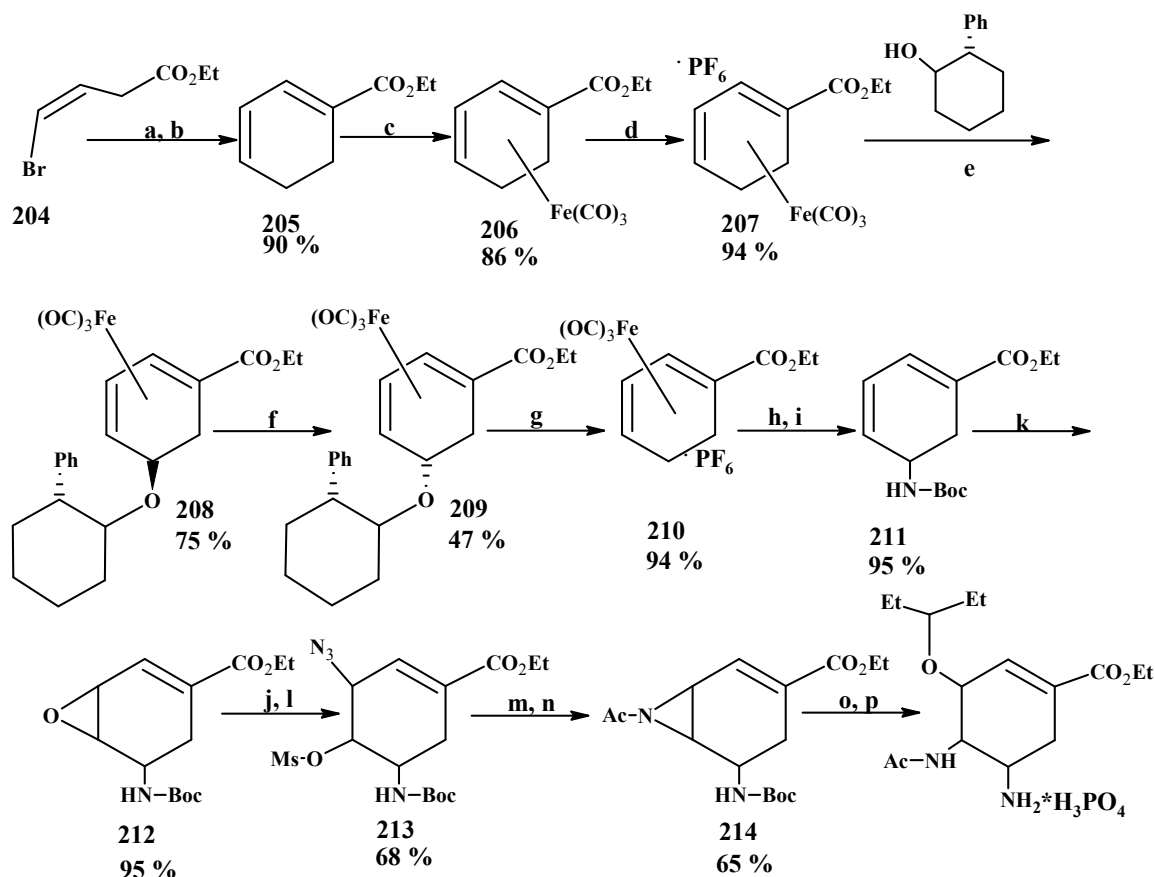


Реагенты и условия: (a) I_2 , K_2CO_3 , KI, $CHCl_3$, $60^\circ C$, 15 ч (b) ДБУ, CH_2Cl_2 , rt, 4 ч (c) Boc_2O , Et_3N , ДМАП, CH_2Cl_2 , rt, 2 ч 99 % (d) $AcSH$, 2,6-лютидин, $CHCl_3$, $60^\circ C$, 19 ч (e) CS_2CO_3 (30 mol-%), $BuOH$, от $0^\circ C$ до rt, 16 ч, 86 % (f) ДМП, CH_2Cl_2 , от $0^\circ C$ до rt, 15 мин (g) $(EtO)_2P(O)CN$, LiCN, ТГФ, $-20^\circ C$, 4 ч (h) толуол, $140^\circ C$, 40 мин; NH_4Cl , aq. rt, 3 ч (i) Ph_3P , ДЭАК, п-нитробензойная кислота, ТГФ, $4^\circ C$, 15 мин; 1 М LiOH aq., ТГФ/ H_2O , $-20^\circ C$, 2,5 ч (k) ДЭАК, Ph_3P , ТГФ, $-20^\circ C$, 2 ч (j) пентанол-3, $BF_3 \cdot OEt_2$, $-20^\circ C$, 5 ч (l) HCl, EtOH, rt, 24 ч (m) H_3PO_4

Рисунок 20 – Усовершенствованная схема синтеза осельтамивира из циклогекса-1,4-диена.

Однако общее количество химических стадий достигает 20, а схема синтеза представляет больше научный интерес, чем практический.

На следующей схеме (Рисунок 21) в качестве исходного соединения применялось производное гексациклодиена, которое получается в результате реакции этилового эфира 4-бром-2-ен-бутановой кислоты и акролеина [76]. Для стереоселективного аминирования использован комплекс диен- $Fe(CO)_3$.



Реагенты и условия: (a) Ph_3P , толуол, rt , 48 ч (b) акролеин, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , rt , 72 ч (c) $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$, толуол, 55°C , 19 ч (d) Ph_3CPF_6 , CH_2Cl_2 , rt , 6 ч (e) $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 0°C , 20 мин + rt , 30 мин (f) HPLC хроматография (g) HPF_6 , Et_2O , 0°C (h) $\text{BocNH}_2/\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 0°C , 86% (i) H_2O_2 , NaOH , EtOH , 0°C (k) м-ХПБК, CH_2Cl_2 , от -70°C до rt , 4 ч (j) NaN_3 , NH_4Cl , ДМФА/ $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$, 0°C 1 ч + rt , 2 ч (l) MsCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 0°C , 1 ч (m) Ph_3P , ТГФ, rt , 80 мин; H_2O , Et_3N , rt , 15 ч (n) Ac_2O , пиридин, CH_2Cl_2 , 0°C , 10 мин (o) $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, пентанол-3, 0°C (p) H_3PO_4 , EtOH , 48%.

Рисунок 21 – Синтез фосфата осельтамивира из этилового эфира 4-бром-2-ен-бутановой кислоты и акролеина

Предлагаемая схема синтеза предусматривает использование соединений гексафторида фосфора, разделение диастереомеров методом колоночной хроматографии и поэтому не представляет практического интереса.

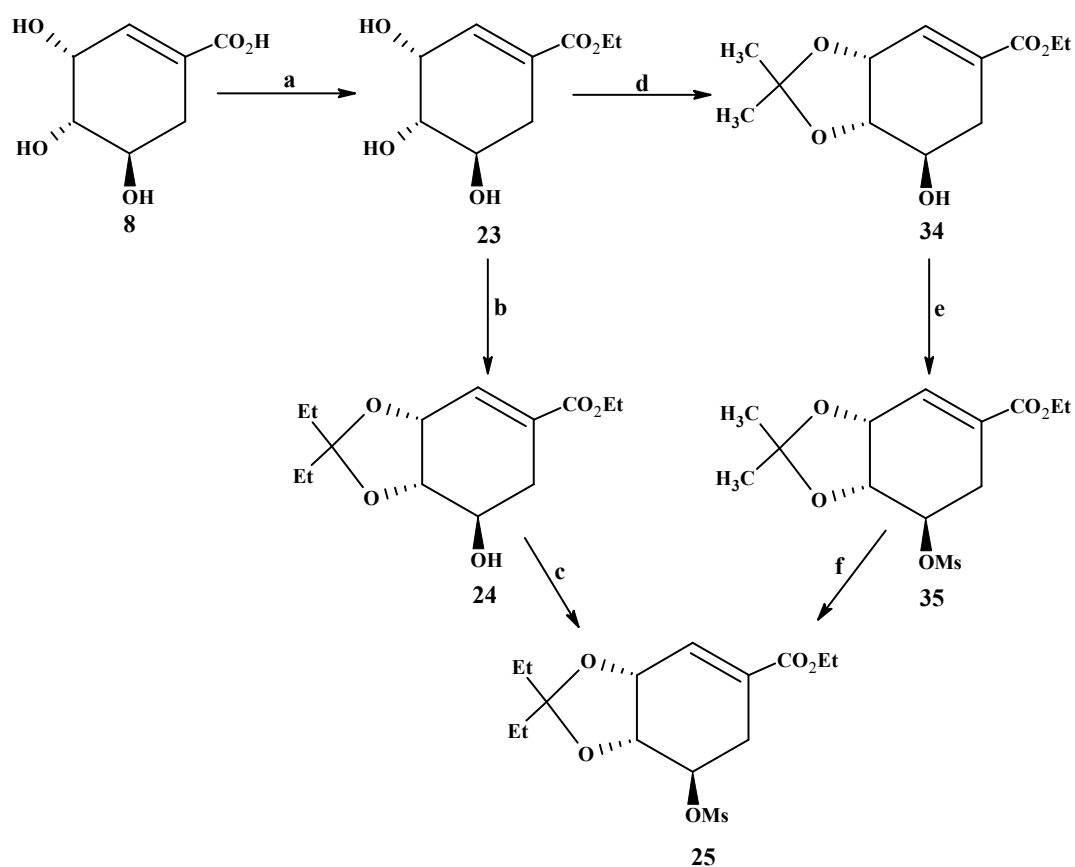
1.5 Способы получения фосфата осельтамивира реализованные в промышленности

В настоящее время единственной компанией обладающей правом производства Тамифлю является компания Hoffman-La Roche. Путь получения фосфата осельтамивира по технологии, разработанной в этой компании,

начинается с (-)-шикимовой кислоты, а как альтернативный путь – с (-)-хинной [11, 21, 22].

Оптимизированный подход получения фосфата осельтамивира из (-)-хинной кислоты позволил удвоить выход эпоксида **78**, уменьшить общую стоимость и увеличить производительность.

Путь от (-)-шикимовой кислоты (рисунок 22) имеет преимущество в том, что в исходном соединении двойная связь уже находится в нужном положении.



Реагенты и условия: (a) SOCl_2 , EtOH, кипячение, 3.5 ч, 97 % (b) пентанон-3, $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ 97 % (c) MsCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 0-5 °C, 95 % (d) $\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$, $\text{p-TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$, EtOAc, 30-35 °C, 150-200 mbar, 95 % (e) MsCl , Et_3N , EtOAc, от 0-5 до 20 °C, 30 мин, 85 % (f) пентанон-3, $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ 98 %

Рисунок 22 – Путь синтеза кетала **25** из (-)-шикимовой кислоты по F.Hoffmann-La Roche

Были исследованы два разных пути в получении кетала **25**. Путь через интермедиат **24** предпочтительнее, из-за того, что это соединение хорошо кристаллизуется и может быть легко очищено. Альтернативный путь короче на одну стадию, но полупродукты были выделены в виде масел, и весь синтез

проходил без каких-либо очисток. Полностью путь, начинающийся с (-)-шикимовой кислоты приведен выше (рисунок 9).

1.6 Анализ литературных данных

В литературе приводится около 30 способов и различных модификаций получения осельтамивира. Описанные способы исходят из различного сырья и включают от 8 до 25 технологических стадий. Выход продукта зависит от стадийности синтезов, сырья и составляет от 5 % до 57 %. Основные способы получения продукта приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Способы получения фосфата осельтамивира

№	Лит. Источник	Кол-во стадий	Исходный реагент	Выход	Краткая характеристика способа
				%	
1	2	3	4	5	6
1	[41]	10	(-)-шикимовая кислота	21	Использование на отдельных стадиях труднодоступных реагентов. Впервые использовался в промышленности.
2		12	(-)-хинная кислота	4,4	Лабораторный метод, низкий выход конечного продукта.
3	[29, 33]	17	(-)-хинная кислота	9-10	Доступные реагенты, очистка промежуточных соединений кристаллизацией, реализован на опытном производстве, низкий выход, большое количество стадий.
4		15	(-)-шикимовая кислота	20-22	Доступные реагенты, очистка промежуточных соединений кристаллизацией, реализован в производстве, большое количество стадий.
5	[29, 34]	12	(-)-хинная кислота	16	Доступные реагенты, очистка промежуточных соединений кристаллизацией, реализован на опытном производстве, низкий выход, большое количество стадий.
6		10	(-)-шикимовая кислота	28	Доступные реагенты, очистка промежуточных соединений кристаллизацией, реализован в производстве.
7	[36]	10	этиловый эфир шикимовой кислоты	12	Доступные реагенты, очистка промежуточных продуктов препаративной хроматографией.
	20			Доступные реагенты, очистка промежуточных соединений кристаллизацией.	

Продолжение Таблицы 1

1	2	3	4	5	6
8	[38]	8	(-)-шикимовая кислота	40	Короткий процесс, доступные реактивы, выделение большинства промежуточных соединений с применением препаративной хроматографии, маловоспроизводим..
9	[67]	9	фуран и этилакрилат	3,2	Разделение энантиомеров, жесткие требования по соблюдению температурного режима и рН среды, реализован в микроколичествах, низкий выход конечного продукта.
10		14	1,6-диметоксифенол, 1-этилпропил метансульфонат	28	Сравнительно доступные реагенты, применение энзимов для несимметричного гидролиза, каталитическое гидрирование при давлении 100 атм.
11	[70]	11	1,3-бутадиен, 2,2,2-трифторэтилакрилат	27	Циклизация Дильса-Алдера в присутствии энантоселективного катализатора, сравнительно доступные реагенты.
12	[72]	7	N-нозил-3-гидрокси-2-пиридон, этилакрилат	11	Применение препаративной хиральной хроматографии для разделения смеси рацематов.
13	[75]	20	7-(3,5-динитробензоил)-7-азабицикло-[4.1.0]гепт-3-ен	16	Труднодоступные реагенты, большое количество стадий, метод не стереоселективен.
14	[71]	12	1-(триметилсилокси)-1,3, бутадиен, фумарил хлорид	16	Сравнительно доступные реагенты, применение препаративной хиральной хроматографии для разделения смеси рацематов.
15	[78]	25	L-серин	8	Сравнительно доступные реагенты, большое количество стадий и длительность, очистка большинства промежуточных продуктов препаративной хроматографией.
16	[55]	14	пиридин	5,6	Циклизация Дильса-Алдера в присутствии энантоселективного катализатора, доступные реагенты, полупродукты легко очищаются кристаллизацией.
17	[75]	16	D-ксилоза	14	Сравнительно доступные реагенты, большое количество стадий и длительность, очистка большинства промежуточных продуктов препаративной хроматографией.
18	[60]	11	(1S,2S)-3-бром-3,5-циклогексадиен-1,2-диол	26	Малодоступные реагенты, очистка большинства промежуточных продуктов препаративной хроматографией.
19	[79]	14	этиловый эфир циклогексадиеновой кислоты	5	Малодоступные реагенты, очистка отдельных промежуточных продуктов препаративной хроматографией.
20	[80]	8	6-оксабицикло[3.2.1]окт-3-ен-7-он	30	Малодоступные реагенты, использование платиновых и родийорганических катализаторов.
21	[81]	9	(1-этилпропоксид) ацетальдегид, трет-бутилнитроакрилат	57	Выход приведен на осельтамивир-основание. Малодоступные реагенты, выделение промежуточных соединений с применением препаративной хроматографии

Продолжение Таблицы 1

1	2	3	4	5	6
22	[82]	18	D-маннитол	7,5	Многостадийный процесс, низкий выход
23	[83]	18	L-метионин	7,5	Многостадийный процесс, низкий выход

В большинстве случаев исследователи пытаются исходить из природных соединений со строго определенной конфигурацией таких как (-)-шикимовая кислота, (-)-хинная кислота, L-серин, D-ксилоза, D-маннит, L-метионин. Такой подход облегчает получение необходимого оптического изомера. Однако есть немало работ по синтезу препарата из широкодоступных соединений таких как: 1,3-бутадиен, фуран, пиридин, 1,6-диметоксифенол. Эти методы основываются на циклизации Дильса-Алдера в присутствии энантиоселективного катализатора. Полупродукты, образующиеся в этих синтезах, как правило, представляют собой смесь оптических изомеров с преобладанием нужного изомера. Промышленное применение нашли только способы, разработанные компаниями «Gilead Sciences Inc.» и «Roche».

Наилучшие результаты достигнуты с применением (-)-шикимовой кислоты, как исходного материала для получения фосфата осельтамивира. Ее преимущество заключается в том, что двойная связь уже находится в нужном положении. Еще одним преимуществом (-)-шикимовой кислоты является получение на ее основе производных с правильным положением различных групп в пространстве.

Применение (-)-хинной кислоты также приводит к получению стереоселективных продуктов. Однако введение в цикл двойной связи значительно удлиняет всю цепочку реакций и снижает суммарный выход фосфата осельтамивира.

Метод с применением L-серина опробован на миллиграммовых количествах и конечным продуктом в этом пути является этил(3R,4R,5S)-4-ацетиламино-5-

амино-3-гидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилат. Вызывает сомнение, что из этого продукта может быть получен осельтамивир.

Путь, в котором начальным материалом для получения фосфата осельтамивира является D-ксилоза, включает в себя 18 химических стадий. В данном методе используются редкие и дорогостоящие реактивы.

По методам, основанным на реакции циклизации по Дильсу-Алдеру, в полупродуктах реакции и конечных продуктах зачастую образуются смеси трудноразделимых энантиомеров, что делает эти методы мало приемлемыми для промышленного применения. Еще одним недостатком данных методов является использование редких и дорогих реактивов.

Синтезы, основанные на различных гексациклических продуктах, таких как циклогекса-1,4-диен, 2,6-диметоксифенон и т.д., очевидно, приводят к смеси энантиомерных продуктов, отличаются сложностью исполнения и наличием труднодоступных реактивов.

Из стартовых материалов как основа крупномасштабного производства фосфата осельтамивира, наиболее приемлемой остается (-)-шикимовая кислота. Несмотря на трудности связанные с ее выделением из растительного сырья, получение продуктов стерически правильной структуры, наличие двойной связи в определенном положении цикла значительно сокращает технологическую схему и удешевляет весь процесс получения фосфата осельтамивира в сравнении с другими методами.

2 РАЗРАБОТКА РАЦИОНАЛЬНОГО МЕТОДА СИНТЕЗА ФОСФАТА ОСЕЛЬТАМИВИРА И ПОЛУЧЕНИЯ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Из анализа литературных данных видно что, среди всего многообразия предлагаемых методов наиболее приемлемым остается метод получения фосфата осельтамивира основанный на (-)-шикимовой кислоте. (-)-Шикимовая кислота может легко получаться в биотехнических процессах, а также в генетической инженерии, ферментативно [84]. Она имеет ряд преимуществ перед другими исходными соединениями: наличие двойной связи в цикле, требуемая ориентация заместителей в пространстве. Поэтому для дальнейших исследований был выбран путь синтеза на основе этого природного материала.

2.1 Поиск пути синтеза фосфата осельтамивира

В качестве основы для исследований была выбрана схема синтеза, разработанная исследователями из Китайского Университета Науки и Технологии (рисунок 23) [38].

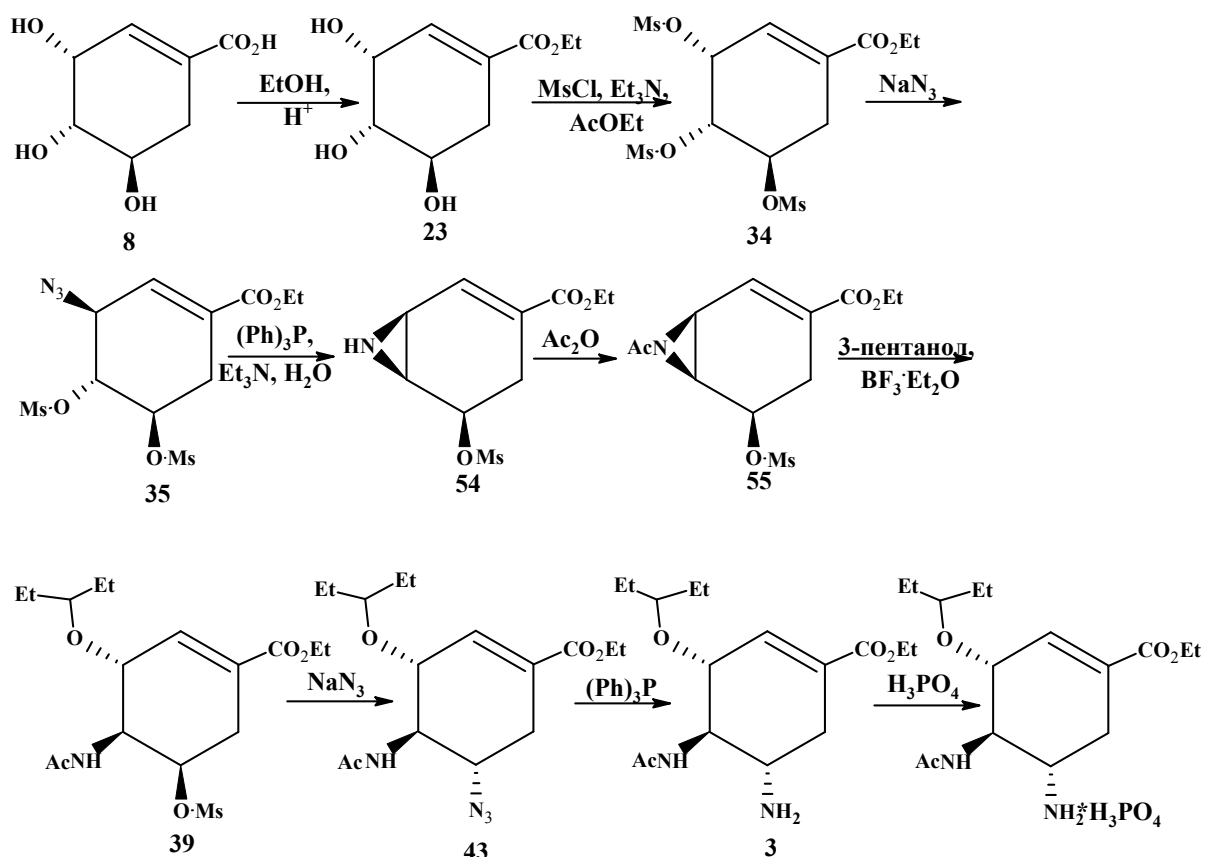
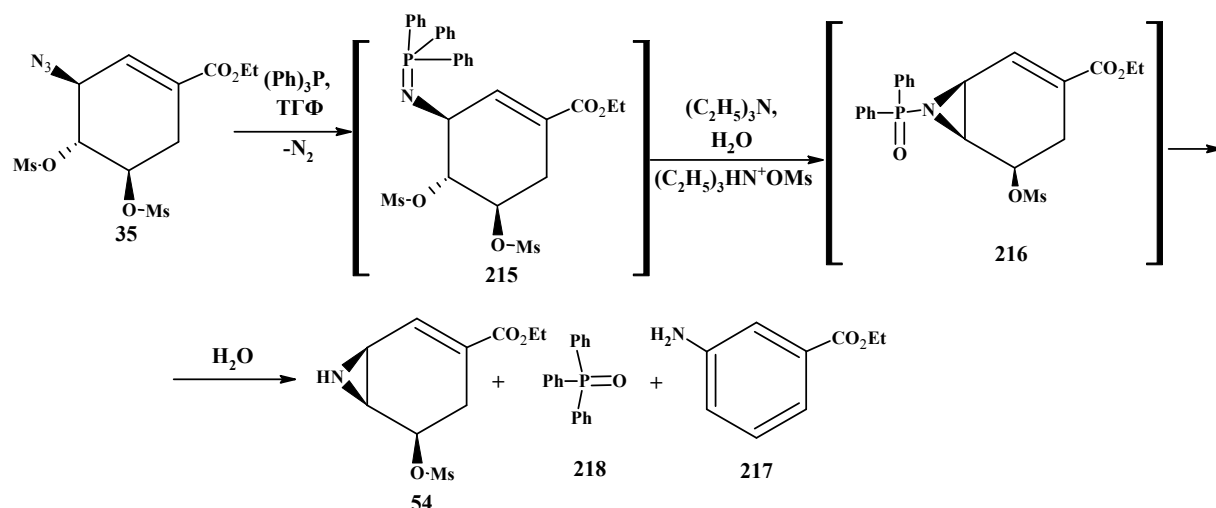


Рисунок 23 – Синтез фосфата осельтамивира разработанный в Китайском Университете Науки и Технологии.

Экспериментальная проверка показала, что первые три стадии (этерификация, мезилирование и азидирование) в приведенном способе не представляют особой сложности в исполнении и выделении промежуточных продуктов. Наибольшую сложность во всем процессе представляет введение пентоксигруппы в положение С-3 с нужной конфигурацией.



Для этого применяется реакция Штаудингера, по классическому механизму которой фосфоэфир, присоединяясь к азиду, образует фосфоазид [85, 86]. Уже при комнатной температуре происходит отщепление молекулярного азота, в результате чего образуется иминофосфоран **215**. Реакция проходит с экзоэффектом в течение 1-2 ч. В дальнейшем, при нагревании реакционной массы в течение 4-6 ч, происходит отщепление алкоксимезилата и образование азиридина **54**.

При экспериментальной проверке происходило быстрое образование иминофосфина **215**. Однако дальнейшая циклизация с образованием азиридина **54** сильно зависит от природы растворителя. При проведении синтеза в среде водного тетрагидрофурана в соотношении 1:4 (таблица 2) в присутствии триэтиламина выход продукта составил 10-11 %. В качестве основных продуктов были выделены трифенилфосфооксид **218** и этиловый эфир *мета*-аминобензойной кислоты **217**. Предположительно, применение основных реагентов трифенилфосфина и триэтиламина вызывает образование ароматических соединений. Уменьшение количества воды до соотношения тетрагидрофуран:вода – 1:10 выход продукта увеличивается до 71 %, а содержание ароматических примесей снижается. При отсутствии в реакционной массе воды образование азиридина составляло до 70 %, а содержание основного вещества по данным ВЭЖХ анализа достигло 86 %. В смеси бензола с водой в качестве основного продукта был получен продукт ароматизации – амин **217**.

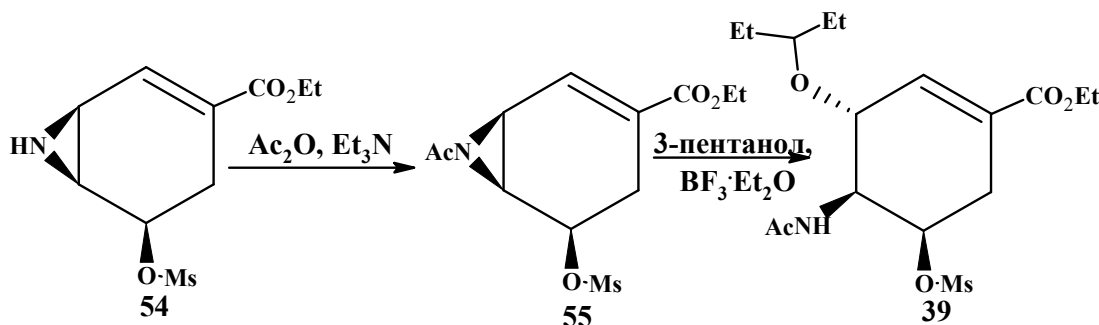
Проведение синтеза в водном ацетонитриле приводит к образованию продукта на уровне 87-98 % в виде вязкой жидкости.

Таблица 2 – Условия проведения синтеза азиридина **54**

№	Растворитель	Вода: растворитель (по объему)	Время, ч	Выход, %	Содержание 54 по ВЭЖХ, %
1	Тetraгидрофуран	1:4	28-40	10-11	51
		1:10	23-30	71	80
		-	30-31	68-70	86
2	Ацетонитрил	1:4	4	87-98	96
3	Бензол *	1:12	3	74	15

* – основной продукт ароматизации **217**

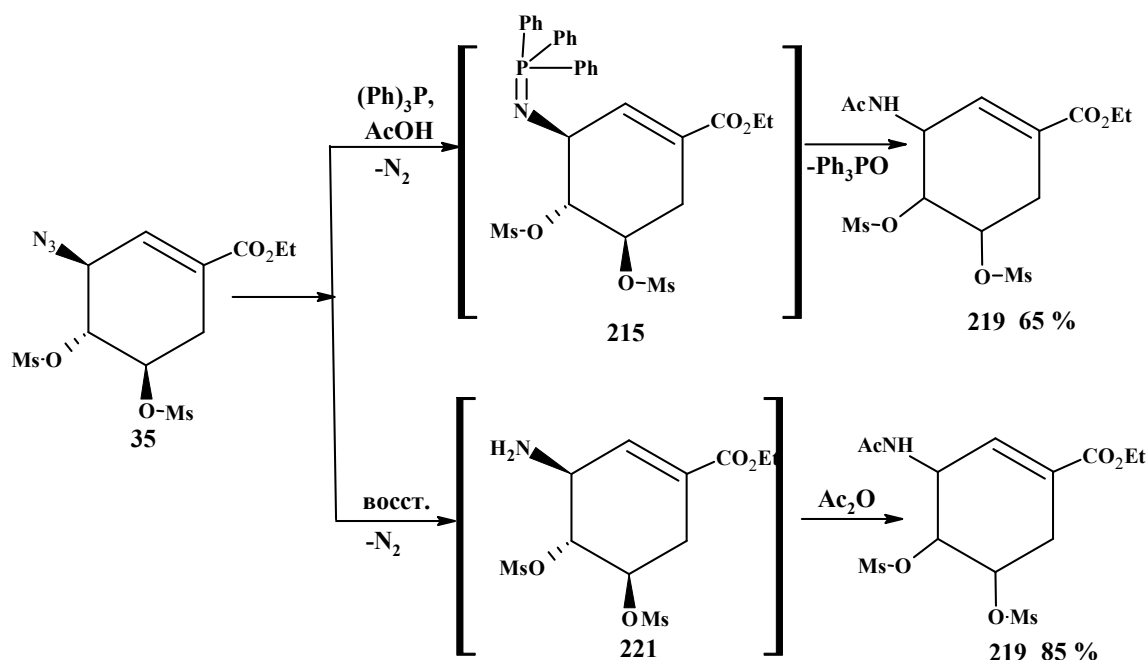
Дальнейшая обработка **54** уксусным ангидридом в присутствии триэтиламина приводит к образованию ацетилазиридина **55**. Раскрытие азиридинового цикла в среде пентанола-3 в присутствии эфира трехфтористого бора происходит с образованием ацетамида **39**. Выход данного продукта в пересчете на **55** в литературе [38] составляет 86 %.



Однако, при воспроизведении известной методики [38] из-за малой стабильности азиридина **54** ацетилазиридин получен с выходом не выше 62 %, при этом содержание основного вещества по данным ВЭЖХ не превышало 50 %. Выход ацетамида **39** при раскрытии азиридинового цикла в среде пентанола-3 в присутствии эфира трехфтористого бора составляет 30 %, продукт получен в виде желтого масла. Поэтому были исследованы другие способы получения ацетилазиридина **55**.

Попытка проведения реакции получения ацетилазиридина из азида **35** в среде уксусной кислоты за счет гидролиза и ацилирования приводит в основном к

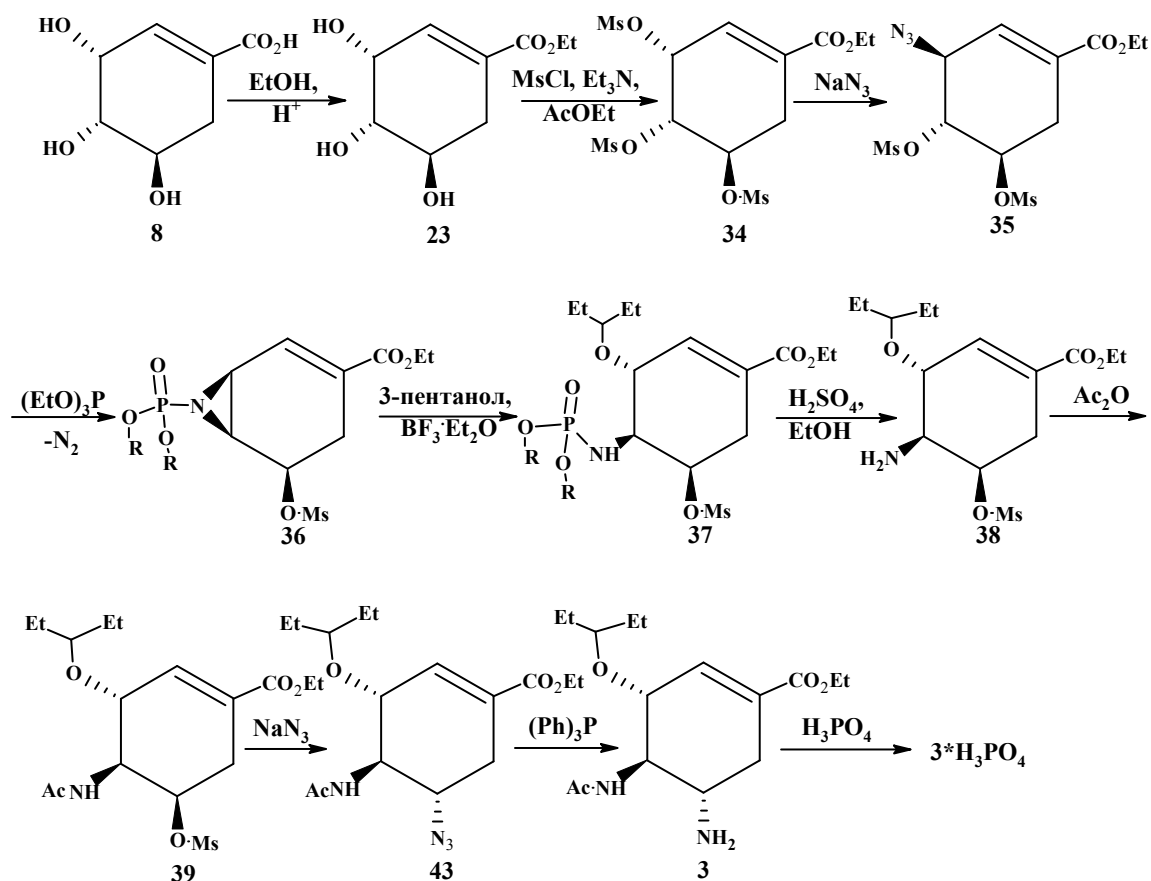
получению этил-3-ацетида-4,5-диметилсульфонил-оксациклогекс-1-ен-1-карбоксилата **219**.



Использование восстановителей (NaBH_4 , $\text{H}_2\text{-Pd/C}$) приводит к восстановлению азидной группы, однако циклизации орто-аминомезилата **221** в азиридин не отмечено. После обработки продуктов реакции уксусным ангидридом был выделен только ацетида **219**.

Из всего выше изложенного видно, что путь через получение азиридина **54** является мало приемлемым для масштабирования, т.к. раскрытие азиридинового цикла с получением ацетида **56** и раскрытие ацетилазиридинового цикла с образованием ацетида **39** проходит с низким выходом. Попытки получить ацетилазиридин **55** при взаимодействии с трифенилфосфином в среде уксусной кислоты и при использовании различных водородсодержащих восстановителей к образованию азиридина не приводят.

Более эффективно использование алкилфосфитов [87, 88]. Поэтому как путь получения фосфата осельтамивира нами была разработана и исследована схема, приведенная на рисунке 24.



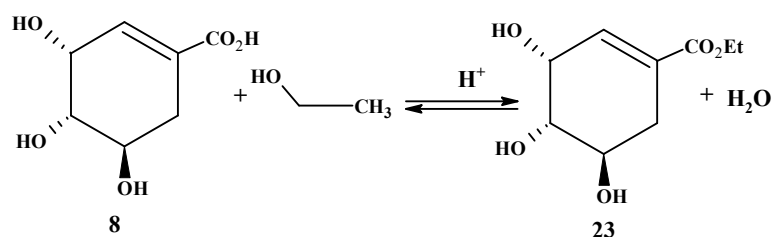
R: Me, Et, i-Pr

Рисунок 24 – Схема синтеза фосфата осельтамивира

Этот путь синтеза включает 10 химических стадий. Все промежуточные продукты по данному методу выделены с достаточной чистотой без использования препаративной хроматографии и выходом выше, чем в описанных в литературе методах [36-40]. Все стадии процесса воспроизводимы и могут быть реализованы на стандартном оборудовании. Выход фосфата осельтамивира по разработанной схеме в пересчете на (-)-шикимовую кислоту составляет 31 % с содержанием основного вещества 99,9 % по данным ВЭЖХ. Путь синтеза, разработанный компанией Roshe и используемый в технологическом производстве до настоящего времени, имеет выход фосфата осельтамивира 21 % в пересчете на исходную (-)-шикимовую кислоту [33].

2.2 Влияние природы катализатора на получение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-тригидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилата **23**

Этерификация (-)-шикимовой кислоты этиловым спиртом подразумевает применение кислотного катализатора, поскольку карбоксильная группа в (-)-шикимовой кислоте малоактивна.



При воспроизведении описанного в литературе [55] способа этерификации с применением *n*-толуолсульфокислоты получена смесь этилшикимата, исходной (-)-шикимовой кислоты и *n*-толуолсульфокислоты (таблица 3). Попытки выделить этиловый эфир шикимовой кислоты кристаллизацией из различных растворителей (этилацетат, толуол, ацетон и т.д.) приводят к продукту с низкой температурой плавления 196-198 °С. Выход кристаллического продукта, полученного по данному способу, не превышал 60 %.

Таблица 3 – Зависимость выхода этилового эфира шикимовой кислоты от природы кислотного катализатора

Кислотный катализатор	Время синтеза, ч	Конверсия 8 , %	Этилшикимат 23	
			Содержание по ВЭЖХ, %	Выход, %
1	2	3	4	5
TsOH	15	88	90	60
SOCl ₂	15	93	93	77
КУ-2-8	15	90	90	80
		99,5*	99*	94*

*-удаление воды цеолитом NaA

В литературе [29] приводится метод получения этилшикимата с использованием тионилхлорида. Сообщается, что после 3 ч кипячения выход

продукта по приведенной методике составлял 90 %. Наши исследования кинетики реакции методом ВЭЖХ показывают, что реакция протекает гораздо медленнее. Так при использовании этанола с содержанием воды менее 1 % через 3-5 ч содержание этилшикимата в реакционной смеси достигает 70 %, а (-)-шикимовой кислоты – остается на уровне 20 %. Равновесие в системе устанавливается через 15-17 ч. Степень конверсии (-)-шикимовой кислоты при проведении этерификации составила 94 %, а содержание основного вещества в выделенном продукте по данным ВЭЖХ – 93 %. Использование этанола с содержанием воды 6 % изменяет положение равновесия: вначале процесса присутствие воды ускоряет реакцию, так через 5 ч реакция прошла на 80 %. Окончательно равновесие при таких условиях устанавливается через 8–10 ч. (-)-Шикимовая кислота в этом случае прореагировала на 87 %, а содержание исходного продукта в целевом этилшикимате составило 8 % кислоты (таблица 3). В процессе этерификации обнаружено образование не идентифицированной примеси в количестве 3–3,5 %. Зависимость содержания этилшикимата в реакционной массе от продолжительности реакции приведена на рисунке 25. Литературные данные [39] подтверждают полученные результаты.

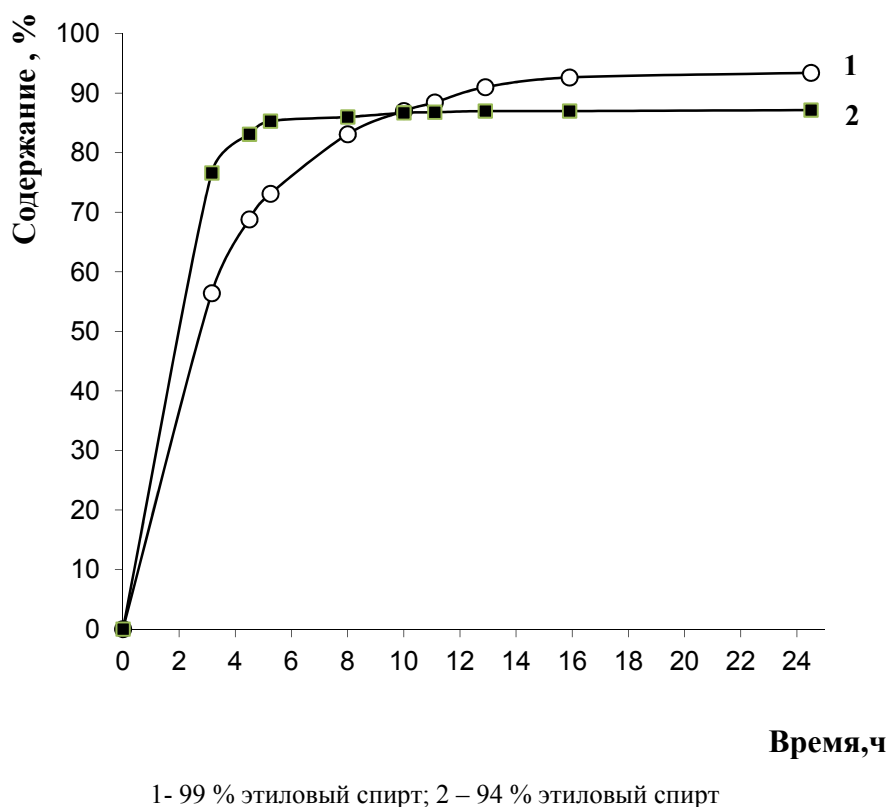
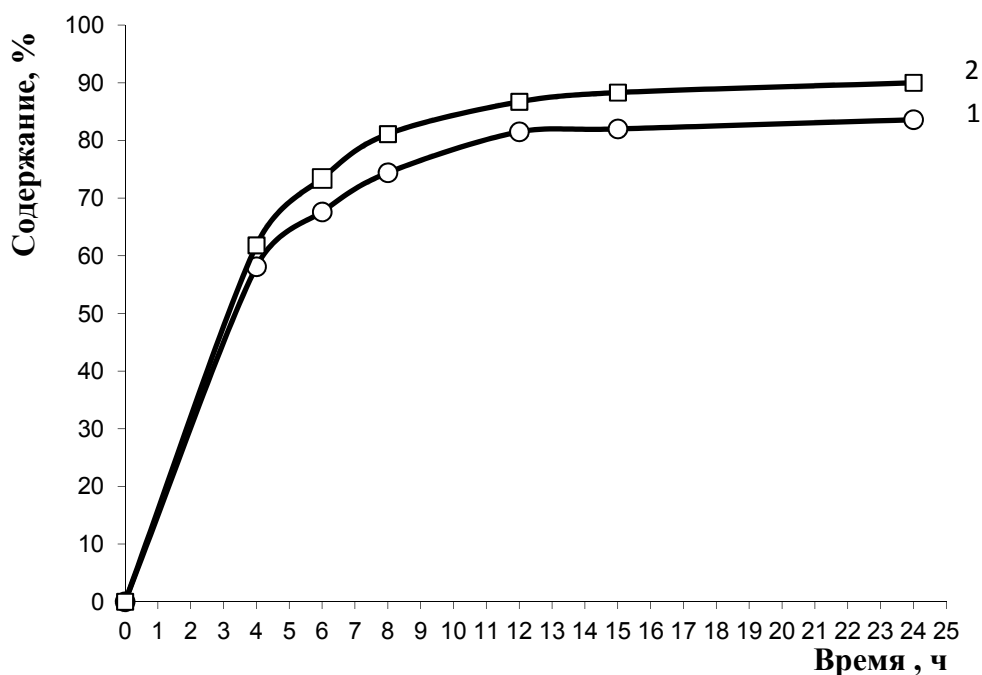


Рисунок 25 — Зависимость содержания этилшикимата в реакционной массе от продолжительности синтеза при использовании тионилхлорида по данным ВЭЖХ

Для удобства выделения продукта из реакционной массы была исследована возможность применения гетерогенного катализатора. В качестве такого катализатора использовали катионит КУ-2-8 в H^+ форме. По данным ВЭЖХ доля прореагировавшей (-)-шикимовой кислоты при применении данного катализатора достигает 90 % (рисунок 26), в то же время этилшикимат был получен с выходом около 80 %. Выделяющаяся в ходе реакции вода сдвигает равновесие в сторону исходной (-)-шикимовой кислоты, что приводит к ее неполной конверсии и затрудняет выделение этилшикимата из реакционной массы. Это показывает необходимость удаления воды из реакционной массы.

В качестве водоотнимающего агента был рассмотрен триэтилортоформиат и методы азеотропной отгонки воды из реакционной массы с бензолом и хлороформом, а также удаление воды из паров этанола с помощью цеолитов NaA.



1-содержание этилшикимата; 2 – доля прореагировавшей (-)-шикимовой кислоты

Рисунок 26 – Зависимость содержания этилового эфира шикимовой кислоты в реакционной массе от продолжительности синтеза при использовании катионита (соотношение катионит:(-)-шикимовая кислота 1:1) по ВЭЖХ.

Попытка применения в качестве водоотнимающего агента триэтилортоформиата (рисунок 27) в соотношении 1 моль на 1 моль исходной (-)-шикимовой кислоты) равновесие устанавливается через 30 ч при степени конверсии исходной кислоты 98,6 %. Однако выделенный кристаллический продукт имеет содержание основного вещества 92,6 % по данным ВЭЖХ, а остаточное содержание (-)-шикимовой кислоты составляет 1,4 %.

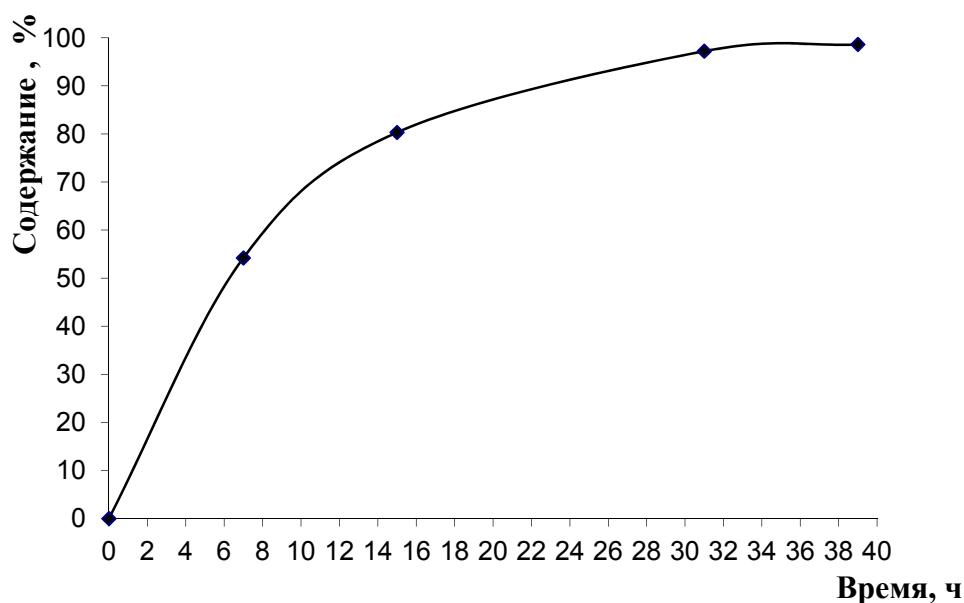
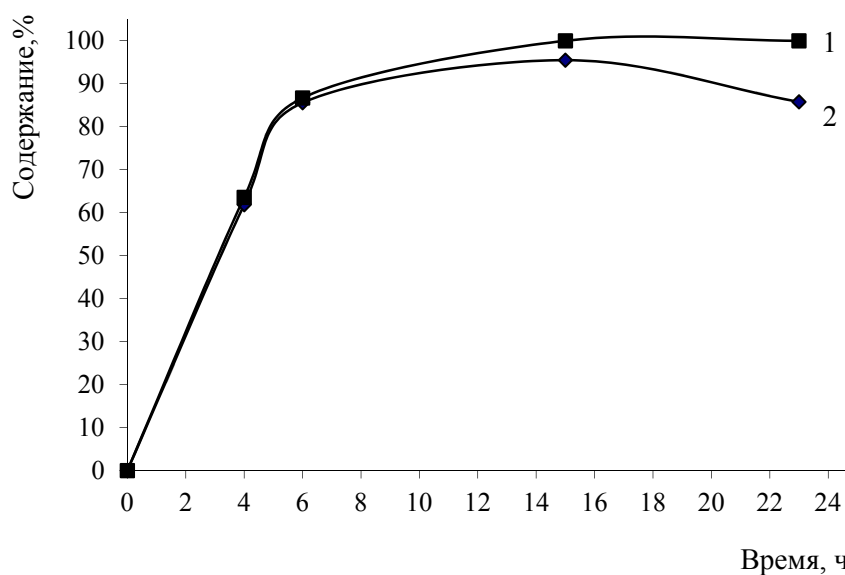


Рисунок 27 – Изменение содержания этилового эфира шикимовой кислоты во времени в синтезе с КУ-2-8 (соотношение КУ-2-8 : (-)-шикимовая кислота –1:2) и триэтилортоформиатом.

При удалении воды во время синтеза азеотропной отгонкой с бензолом содержание (-)-шикимовой кислоты в готовом продукте составило 30 %. Аналогичными оказались результаты при попытке удаления воды из реакционной массы методом азеотропной отгонки с хлороформом.

Лучшие результаты обеспечивало удаление воды из реакционной массы при возврате конденсата этанола через колонку с цеолитом NaA. Для проведения экспериментов было выбрано соотношение (-)-шикимовая кислота: КУ-2-8 1:1 и 1:0,5. Увеличение количества катионита приводит к ухудшению перемешивания реакционной массы и требует использования большего количества этанола. Исследование реакции образования этилшикимата методом ВЭЖХ при соотношении (-)-шикимовая кислота: катионит КУ-2-8 – 1:1 показывает (рисунок 28), что для установления равновесия достаточно 13–15 ч. За это время 99,5 % (-)-шикимовой кислоты вступает в реакцию. Увеличение времени проведения реакции до 23 ч приводит к увеличению образования побочных продуктов, однако

к изменению содержания (-)-шикимовой кислоты в реакционной массе не приводит (рисунок 28).



1 – доля прореагировавшей (-)-шикимовой кислоты; 2 – содержание этилшикимата

Рисунок 28 – Зависимость содержания этилшикимата в реакционной массе от продолжительности синтеза с применением катионита КУ-2-8 (соотношение КУ-2-8: (-)-шикимовая кислота – 1:1) и цеолитом NaA в качестве осушителя.

Уменьшение количества ионообменной смолы до соотношения 0,5:1 от веса (-)-шикимовой кислоты приводит к увеличению длительности процесса до 24-30 ч, что в свою очередь приводит к увеличению в реакционной массе количества побочных продуктов.

Впервые в качестве кислотного катализатора для реакции этерификации (-)-шикимовой кислоты этанолом использовали ионообменную смолу КУ-2-8 в паре с водоотнимающим агентом – цеолитом NaA. Этот метод имеет следующие преимущества: гетерогенный катализатор, в отличие от толуолсульфокислоты и хлористого тионила, легко удаляется из реакционной массы фильтрованием; соблюдение оптимальных временных условий делает этот метод селективным. При постепенном удалении воды, выделяющейся в ходе реакции, пропусканием конденсата этилового спирта через слой цеолитов NaA конверсия (-)-шикимовой кислоты составляет 99,5 %, а выход продукта увеличился по сравнению с другими

методами [29, 55] с 60-77 % до 94 %. Соответственно улучшилось и качество продукта, по данным ВЭЖХ содержание основного вещества в выделенном кристаллическом продукте составляет 99,5 %.

2.2.1 Подготовка реагентов

Проведенные исследования показали, что катионит КУ-2-8 может быть использован в синтезе многократно (не менее 12 раз). В то же время использование технической (-)-шикимовой кислоты приводит к загрязнению гетерогенного катализатора продуктами осмоления. Поскольку разработанный метод предназначен для промышленной реализации для обеспечения ресурсоэффективности были проведены исследования по очистке исходной (-)-шикимовой кислоты, подготовке этанола и регенерации остатков от кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты.

2.2.1.1 Очистка (-)-шикимовой кислоты

Исходная (-)-шикимовая кислота выделяется из растительного сырья (околоплодники звездчатого аниса) и потому содержит небольшое количество окрашенных примесей, которые необратимо сорбируются на катионите КУ-2-8. Кроме того в процессе перекристаллизации обнаружены примеси (предположительно растительные сахара), которые не обнаруживаются методом ВЭЖХ с УФ-детектором. Все эти примеси мешают выделению этилового эфира шикимовой кислоты в кристаллическом виде непосредственно из реакционной массы и приводят к загрязнению катионита КУ-2-8, что осложняет его повторное использование. Поэтому для сокращения количества примесей и сохранения качества КУ-2-8 была отработана очистка исходной (-)-шикимовой кислоты.

(-)-Шикимовую кислоту очищали обработкой горячего водного раствора активированным углем и последующей кристаллизацией. Полученный маточник дважды упаривали наполовину и выделяли дополнительную порцию продукта.

Остаток упаривали досуха и экстрагировали горячим этанолом. После охлаждения из этанольного раствора получали еще одну порцию (-)-шикимовой кислоты. Выход очищенного продукта составил 94,2 %. Чистота продукта по данным ВЭЖХ составила 99,5 %.

2.2.1.2 Регенерация (-)-шикимовой кислоты из остатков после этерификации

В случае получения загрязненного продукта этилшикимат получают кристаллизацией из этилацетата. Потери при кристаллизации достигают 10 %. Анализ методом ВЭЖХ показывает наличие в остатке от кристаллизации до 20 % (-)-шикимовой кислоты и до 20 % неидентифицированных примесей (рисунок 29).

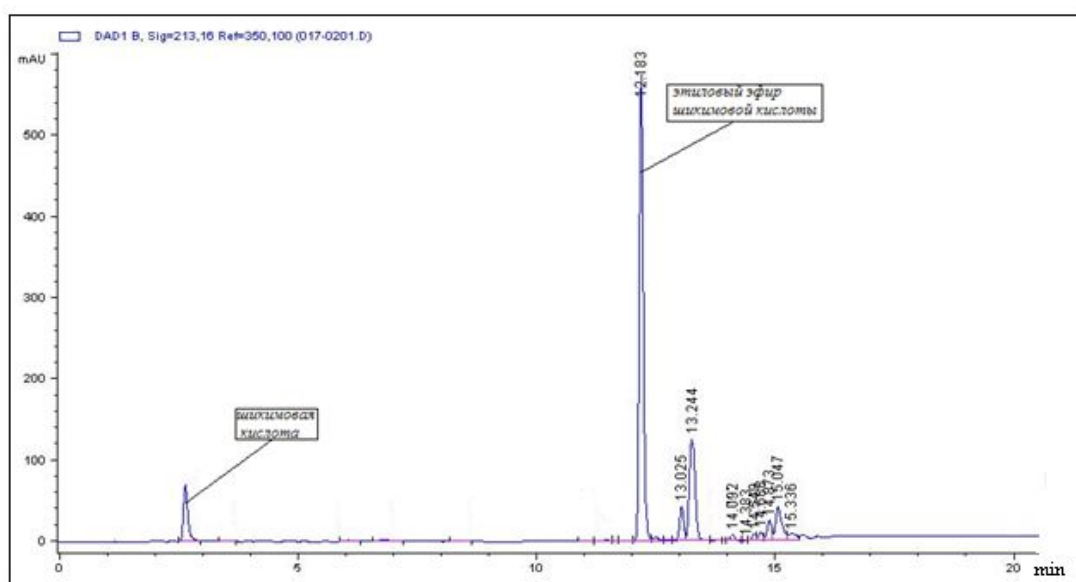
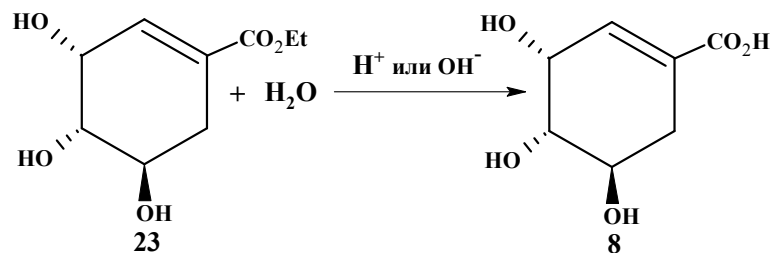


Рисунок 29 – Хроматограмма остатка от кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты

Поскольку выделить этилшикимат из такой смеси достаточно сложно, были исследованы методы регенерации загрязненного продукта в исходную (-)-шикимовую кислоту с помощью щелочного и кислотного гидролиза.



Щелочной гидролиз проходит достаточно быстро. При обработке остатка от кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты 10 %-ным раствором щелочи при температуре не выше 20 °С уже через 4 ч весь этилшикимат переходит в натриевую соль шикимовой кислоты. Часть не гидролизующихся примесей удаляется экстракцией толуолом. После подкисления из раствора выпадает 5-7 % от исходного количества используемой в синтезе (-)-шикимовой кислоты, которая пригодна для повторного использования.

Кислотный гидролиз проходит значительно медленнее. Остаток от кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты растворяли в воде, подкисляли соляной кислотой и кипятили 12 ч. Хроматограмма реакционной массы после 4 ч кипячения приведена на рисунке 30. Горячий раствор фильтровали от нерастворимого остатка и после охлаждения происходит выпадение до 10 % от исходного количества (-)-шикимовой кислоты взятого в реакцию этерификации.

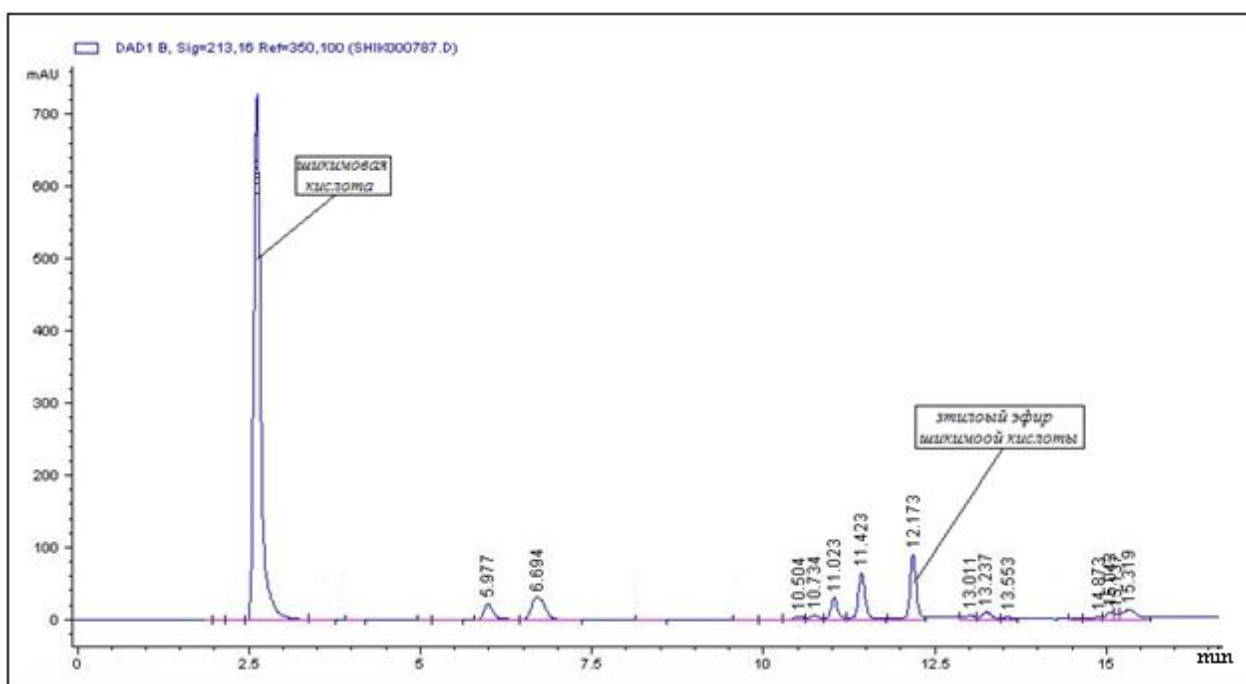


Рисунок 30 – Хроматограмма раствора остатка этилшикимата после 4 ч кипячения с соляной кислотой

Разработанный метод регенерации (-)-шикимовой кислоты позволяет на 5-10 % повысить выход этилового эфира шикимовой кислоты.

2.2.1.3 Сушка этанола цеолитами NaA

Приведенные выше исследования по получению этилового эфира шикимовой кислоты показывают необходимость использования этанола с минимальным содержанием воды. Поэтому был отработан доступный метод обезвоживания этанола с применением цеолита NaA. Результаты показывают возможность обезвоживания этанола до концентрации более 99,0 % (Таблица 4). Для достижения максимальной емкости цеолита NaA продолжительность сушки в каждом цикле должна быть не менее 24 ч. Потери этанола после четырех циклов сушки составили 9,4 %, а содержание воды снизилось до 0,8 %.

Метод сушки этанола цеолитами NaA является простым в исполнении и не требует дополнительного оборудования.

Таблица 4 – Результаты циклической сушки этанола цеолитом NaA (соотношение этанол/цеолит NaA для каждого цикла – 10,7/1)

№ цикла	Время сушки	Емкость цеолита NaA по воде	Содержание воды
	ч	г/г	%
исходный этанол	–	–	6,2
1	24	0,149	4,8
2	24	0,143	3,4
	48	0,164	3,2
3	48	0,127	1,9
4	24	0,102	0,9
	48	0,122	0,8

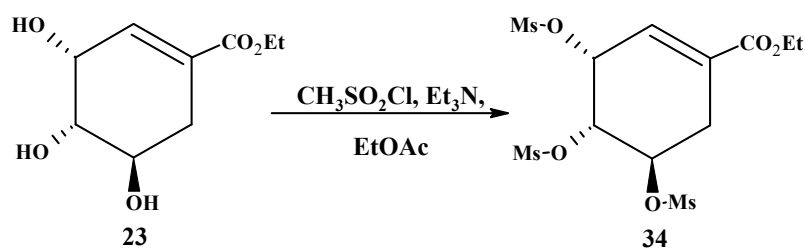
Примечание – используют цеолит NaA предварительно высушенный в течение 12 часов при 270°C.

Таким образом, для оптимизации процесса получения этилового эфира шикимовой кислоты был проведен комплекс исследований и подобраны условия. Разработанный метод, впервые примененный для получения этилового эфира шикимовой кислоты с использованием катионита КУ-2-8 в качестве кислотного катализатора и цеолита NaA в качестве водоотнимающего агента, является малотоксичным и позволяет сократить количество отходов. Этиловый эфир шикимовой кислоты получают в кристаллическом виде с выходом 95 % и чистотой по данным ВЭЖХ не ниже 99,5 %, что значительно увеличивает выход и чистоту продуктов на следующих стадиях.

2.3 Получение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата **34**

Триметилсульфонилпроизводное **34** образуется при обработке этилшикимата хлорангидридом метансульфокислоты в присутствии триэтиламина. Введение трех мезильных групп в положения С-3, С-4 и С-5 проходит с сохранением конфигурации исходного этилового эфира шикимовой кислоты. В литературе приведены методики, в которых тримезилат **34** получают в полужидком виде [35], либо проводят реакцию в присутствии 4-

диметиламинопиридина и получают кристаллический продукт упариванием реакционной массы и длительной обработкой остатка водным метанолом [33].



Проведенные нами исследования с использованием ВЭЖХ показали, что применение 4-диметиламинопиридина не существенно увеличивает выход и полноту протекания реакции, а также мало влияет на чистоту тримезилата **34**, поэтому в его использовании нет никакой необходимости.

Гораздо большее значение имеет соблюдение температурного режима при дозировке реагентов и в ходе прохождения реакции. Так получение кристаллического продукта в этилацетате из реакционной массы возможно при соблюдении температурного режима (не выше +5 °С) и дозировке триэтиламина не менее 2–2,5 ч. Увеличение температуры дозировки триэтиламина на 10 °С приводит к снижению выхода до 55 %, а скачок температуры до 30 °С (экзотермический эффект) приводит к тому, что выделение продукта в кристаллическом виде оказывается невозможным (таблица 5).

Еще одним условием успешного проведения синтеза является интенсивное перемешивание, так как реакция проходит в гетерофазе: исходный этиловый эфир шикимовой кислоты малорастворим в реакционной массе при охлаждении до +5 °С и в ходе реакции наблюдается выделение солей.

Таблица 5 – Зависимость выхода тримезилата **34** от температуры дозировки триэтиламина

Температура дозировки Et ₃ N, °С	Выход кристаллического продукта 34 с T _{пл} = 98-99 °С, %
0 - +2	89
+10-+15	55
+30	Кристаллический продукт не образуется

В качестве реакционной среды было проверено несколько растворителей: этилацетат, изопропилацетат, бутилацетат. Было установлено, что применение менее полярных растворителей приводит к неполному протеканию реакции. Так, при проведении синтеза в изопропилацетате получен продукт с пониженной точкой плавления 86-88 °С и выходом 97 %. После обработки полученного низкоплавкого продукта метанолом, выход кристаллического продукта с температурой плавления 98–99 °С составил 78 %. Проведение реакции в бутилацетате приводит к более низкому выходу кристаллического продукта с нужной чистотой на уровне 70 % (таблица 6).

Таблица 6 – Зависимость выхода тримезилата **34** от растворителя

Растворитель	Выход 34 , %	Тпл, °С
EtOAc	89	98-99
i-PrOAc	78	98-99
BuOAc	70	98-99

Наиболее эффективным оказалось проведение реакции в среде этилацетата, так как в этом случае кристаллический продукт достаточной чистоты получают непосредственно из реакционной массы методом дробной кристаллизации. Ступенчатое упаривание реакционной массы после выпадения очередной порции кристаллического продукта исключает дополнительную водно-метанольную обработку и значительно время обработки реакционной массы при получении тримезилата **34**. Каждый цикл кристаллизации-упаривания составляет 2-4 ч, количество циклов доходит до 4. Кристаллический продукт по этому методу получают с содержанием основного вещества не ниже 98 % и выходом 88-89 %.

Остаток от выделения (10-12 % в пересчете на исходный этилшикимат) представляет собой вязкую жидкость с содержанием тримезила **34** около 70 % (Рисунок 31). Тем не менее, выделить кристаллический продукт при обработке остатка различными растворителями (метанол, изопропанол и т.д.) не удалось.

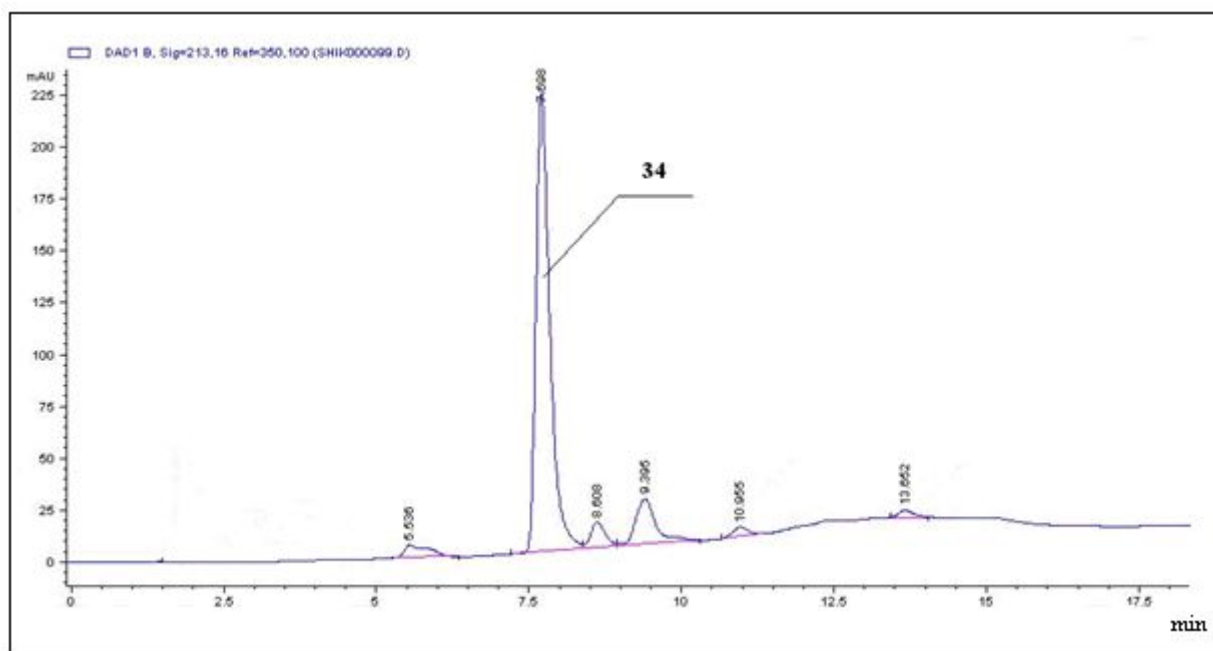


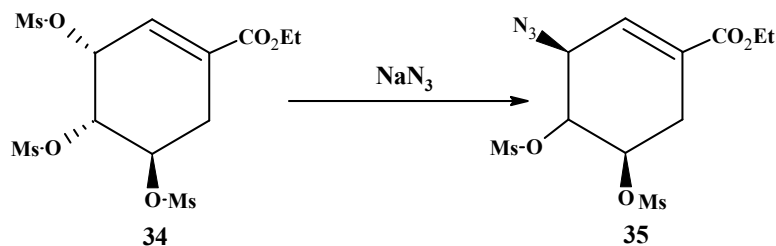
Рисунок 31 – Хроматограмма остатка от кристаллизации этилового эфира (3R,4S,5R)-3,4,5-триметансульфоксициклогекс-1-еновой кислоты.

В результате исследований определены оптимальные температурно-временные условия проведения реакции, позволяющие упростить выделение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата **34** в кристаллическом виде с выходом 89 %, чистота продукта при этом составляла 99 % по данным ВЭЖХ анализа. В отличие от способа, приведенного в статьях [35] и [38], кристаллический продукт нами выделен непосредственно из реакционной массы без дополнительной длительной кристаллизации в водном метаноле. Реакция проходит без использования ДМАП при соотношении $\text{Et}_3\text{N}:\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}=2:1$ (литературное [38] – 10:1).

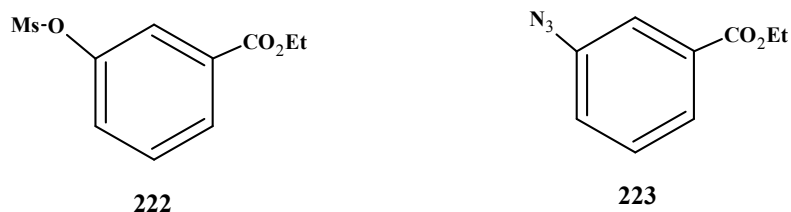
2.4 Получение этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилокса-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **35**.

По известному методу [38] этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксациклогекс-1-ен-1-карбоксилат **35** образуется при обработке триметилсульфонилпроизводного **34** азидом натрия в среде водного

ацетона. При этом происходит стереоселективное нуклеофильное замещение метилсульфонильной группы по аллильному С-3 положению и обращение конфигурации углерода с *R* на *S*.



В качестве побочных продуктов обнаружены ароматические соединения: этиловый эфир 3-метансульфонилоксибензойной кислоты **222** и этиловый эфир 3-азидобензойной кислоты **223** [38].



При проведении реакции как описано в литературе [38] в водном ацетоне при температуре не выше 0 °С и использовании в качестве азидирующего агента NaN_3 помимо основного продукта образовывалось около 60 % ароматических примесей. Использование более полярной среды (водный метанол) ускоряет основную реакцию и приводит к получению азида **35** с выходом 86 %, содержание ароматических примесей при этом снизилось до 6 % (таблица 7).

Основная примесь **223** образуется из-за высокой основности азиды натрия. Применение менее основного азидирующего агента NH_4N_3 при тех же условиях в водном ацетоне позволяет снизить количество примесей до 14 %. При исследовании влияния других растворителей: метанола, этанола, диоксана на содержание этих примесей находилось в пределах 8-12 %. В случае использования основного растворителя, *N,N*-диметилформаида, в качестве основных продуктов образуются ароматические соединения. В результате нами были подобраны оптимальные условия для получения целевого азиды **35** – это проведение процесса в среде безводного метанола при пониженной температуре

(+5-+10 °С) с азидом аммония, получаемом непосредственно в реакционной массе из азидата натрия и хлорида аммония (таблица 7). В этом случае выход целевого продукта находится на уровне 95 %, а содержание ароматических примесей составляет 3 %.

Таблица 7 – Условия азидирования этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметил-сульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата **34**

Растворитель	Продукты реакции с NaN ₃ , %		Продукты реакции с NH ₄ N ₃ , %	
	Содержание 223, 224	Выход 35	Содержание 223, 224	Выход 35
Ацетон: вода	57,4	37,8	14	64,5
Этанол	-	-	10	65,7
Этанол: вода			10	73
Диоксан	-	-	12	73,9
ДМФА	-	-	70	28,8
ТГФ	-	-	30	47
Метанол	-	-	3	95
Метанол:вода	5,8	86,3	-	-

Полученный азид **35** используется на следующей стадии без дополнительной очистки. Поэтому основное требование к чистоте **35** – отсутствие остатков метанола и воды. Поскольку азид **35** выделяют упариванием промытого водой и сушеного толуольного раствора, присутствие метанола в продукте маловероятно. Применение метода сушки азеотропной отгонкой воды с бензолом позволяет значительно уменьшить долю побочной реакции. Недостатком этого метода является частичное разложение исходного азидата **35** в процессе сушки, что приводит образованию значительного количества примесей на следующей стадии.

Подбор эффективного осушителя показал достаточно высокую эффективность использования безводных MgSO₄ и CaCl₂. Однако, они эффективны только при длительности сушки толуольного раствора **35** не менее 48 ч. Эффективность осушения имеет большое значение на следующей стадии процесса, присутствие воды приводит образованию побочного продукта **225 а**. При прочих равных условиях проведение синтеза с азидом **35**, толуольный раствор которого был просушен в течение 24 ч, выход целевого фосфоамина **37 а**

составляет 49 %, а при осушении толуольного раствора азида **35** в течение 48 ч выход **37 а** повышается до 69 % (таблица 8). При использовании безводного Na_2SO_4 в течение 48 ч выход фосфоamina **37 а** составил 53 %.

Таблица 8 – Зависимость выхода диэтилфосфоamina **37 а** от времени сушки толуольного раствора азида **35** и осушителя.

№	Осушитель	Выход диэтилфосфоamina 37 а , %	
		24 ч сушки	48 ч сушки
	MgSO_4	49	69
	CaCl_2	49	69
	Na_2SO_4	40	53

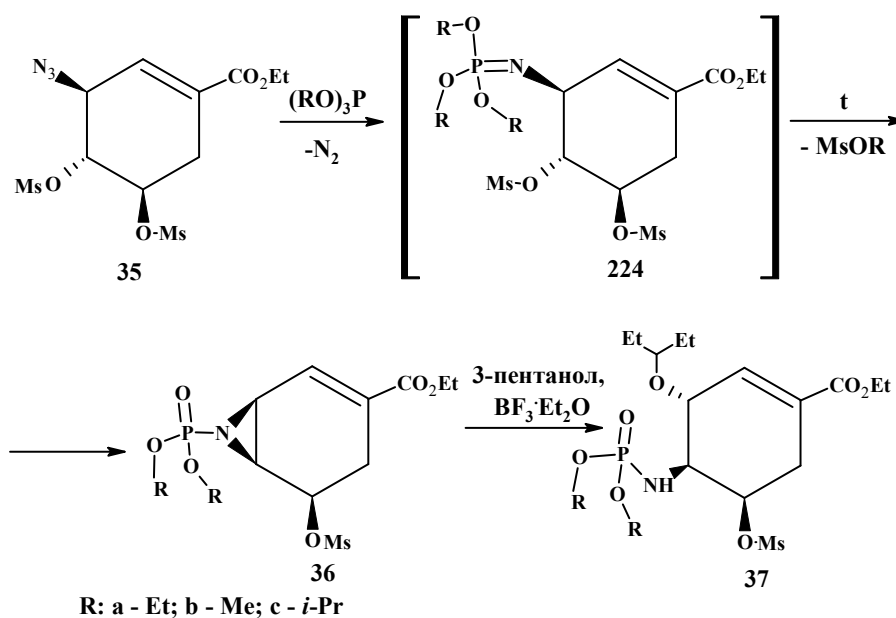
Таким образом, определены условия, при которых этил(3*S*,4*R*,5*R*)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксацикло-гекс-1-ен-1-карбоксилат образуется с выходом 95 %, а содержание ароматических примесей не превышает 5 %. Установлено, что определяющими факторами для успешного проведения синтеза является полярность растворителя и основность среды, т.к. при использовании основного растворителя реакция образования побочных продуктов является доминирующей.

Подбор эффективного осушителя и условий сушки толуольного раствора этил(3*S*,4*R*,5*R*)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксацикло-гекс-1-ен-1-карбоксилата показал, что оптимальными осушителями являются сульфат магния и хлорид кальция, а время сушки должно быть не менее 48 ч. Эти условия являются важным для проведения следующих стадий, чувствительных к присутствию воды. Полученный по разработанной методике продукт может быть использован на следующей стадии без дополнительной очистки.

2.5 Получение этил(3*S*,4*S*,5*R*)-4-диалкилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилатов **37**

Введение изопентильной группы в положение С-3 с конфигурацией *R* является одним из проблемных моментов в синтезе фосфата осельтамивира. Осуществить его оказалось возможным по реакции Штаудингера при обработке азида **35** триалкилфосфитом. Для исследований были выбраны триалкилфосфиты

с различными алкильными заместителями: триметилфосфит, триэтилфосфит и триизопропилфосфит [86]. Реакция проходит в две стадии. Вначале происходит образование этил(1*S*,5*R*,6*S*)-7-(диалкилоксифосфорил)-7-метансульфонилокси-7-аза-бицикло-[4.1.0]-гепт-2-ен-3 карбоксилата **36**. Затем при обработке пентанолом-3 в присутствии эфирата трехфтористого бора происходит одновременное раскрытие азиридинового цикла и введение изопентильной группы со сменой конфигурации с *S* на *R* с образованием этил(3*S*,4*S*,5*R*)-4-диалкилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **37** [35].



Образование промежуточного иминофосфита **224** проходило при комнатной температуре довольно быстро с выделением азота. Скорость реакции при этом уменьшается с увеличением молярной массы алкильного заместителя. Так наибольшая скорость образования **224** отмечена при использовании триметилфосфита, а медленнее всего – триизопропилфосфита (таблица 9).

Для образования фосфоазиридина **36** достаточно 4-6 ч кипячения толуольного раствора иминофосфита **224**. Полученные диалкилфосфоазиридины **36 а-с** – малостойкие жидкие продукты, которые могут быть выделены в чистом виде только с помощью препаративной хроматографии и используются на следующей стадии, без какой-либо очистки, однако по данным ВЭЖХ видно, что

они образуются в количестве достаточном для дальнейших преобразований (таблица 9).

Таблица 9 – Состав реакционной массы в синтезе фосфоазиридина **36** при использовании различных триалкилфосфитов

Триалкилфосфит	Время реакции, ч		Состав продуктов реакции по ВЭЖХ, %		
	224 T = 25 °C	36 T=112°C	36	35	Примеси
триэтилфосфит (а)	1	6	87,1	2,3	10,6
триметилфосфит (b)	0,75	4	85,9	2,6	11,5
триизопропилфосфит (с)	2	6	85,3	0	14,7

Этил(3*R*,4*S*,5*R*)-4-(диалкоксифосфориламино)-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилаты **37 а-с** получали обработкой раствора алкилфосфоазиридинов **36 а-с** пентаноле-3 эфиром трехфтористого бора. Анализ реакционной массы методом ВЭЖХ показывает, что реакция проходит достаточно полно, а содержание **37 а-с** в продуктах реакции находится на уровне 80–95 % (таблица 10).

Свойства и селективность образования этил(3*R*,4*S*,5*R*)-4-(диалкоксифосфориламино)-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилатов зависят от алкильного заместителя.

Диметилфосфориламид **37 б** образуется в виде незастывающей жидкости. Продукт удалось выделить в твердом виде кристаллизацией из гексана. Температура плавления образца составила 97–98 °C, однако выход очищенного кристаллического продукта очень мал (таблица 10).

Таблица 10 – Зависимость выхода алкилфосфоамидов от алкильного заместителя

Соединения	Выход в пересчете на 35 , %	Содержание основного вещества по ВЭЖХ, %
37 а	69,5	95
37 б	31,5	95
37 с	57	82

Диизопропилфосфориламид **37 с** образуется в виде жидкости с содержанием основного вещества около 80-85 %. Продукт представляет собой жидкость растворимую практически во всех доступных растворителях, что сильно осложняет выделение его в чистом виде. Для аналитических целей данный продукт был выделен в чистом виде с помощью препаративной хроматографии при использовании элюента состава этилацетат-гексан в соотношении 3:2.

Структура полученных соединений **37 б** и **37 с** полученных впервые доказана с помощью современных спектральных методов анализа (таблица 11).

В отличие от двух других диалкилфосфориламинов диэтилфосфориламин **37 а** достаточно легко кристаллизуется. Для этого как описано в литературе [29] реакционную массу разбавляют этилацетатом и промывают водой, затем после сушки из органической фазы отгоняют растворитель, а остаток обрабатывают метилтретбутиловым эфиром. По такому методу выход диэтилфосфоамина **37 а** в кристаллическом виде составил 54 %.

В ходе исследований удалось найти условия, при которых основная часть **37 а** (таблица 10) выделяется в кристаллическом виде из реакционной массы. Это было достигнуто применением для отмывки от эфирата трехфтористого бора 5 %-ного водного раствора бикарбоната натрия. При применении данного способа нет необходимости в разбавления реакционной массы этилацетатом. Кристаллизация происходит при охлаждении в течение 2-4 ч. Кристаллический продукт, выделенный таким способом, не нуждается в дополнительной очистке для использования на следующей стадии.

Содержание **37 а** в остатке после кристаллизации по данным ВЭЖХ составляет от 20 до 40 %. В качестве основной примеси обнаружен диэтилфосфоамид **226 а**. Этот продукт был специально получен при проведении синтеза в присутствии воды. Структура **226 а** подтверждена методом ЯМР спектроскопии).

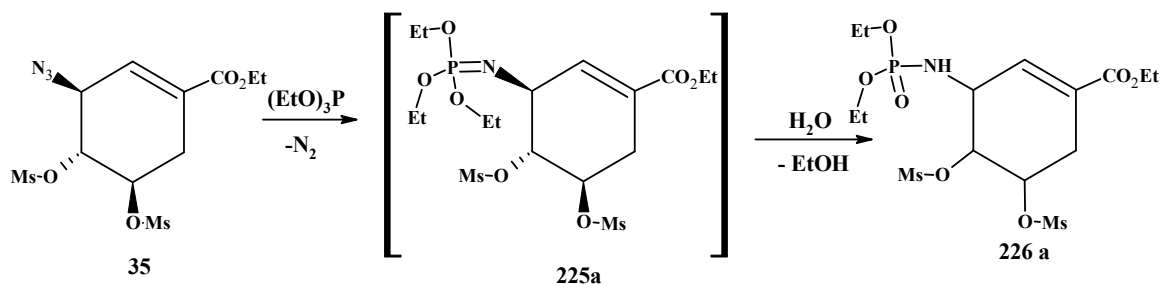


Таблица 11 – Спектральные характеристики фосфоамидов **37 а-с** и побочного продукта **226**

	ЯМР 1H, CDCl ₃ , δ м.д.	ЯМР 13C, CDCl ₃ , δ м.д.
37a	6,75 (с, 1 H, CH), 4,98 (с, 1 H, CH), 4,13 (кв, 2 H, CH ₂ , J=7,2), 4,00 (м, 5 H, 2 CH ₂ , CH), 3,61 (м, 1 H, CH), 3,33 (м, 2 H, CH, NH), 3,03 (с, 3 H, CH ₃), 2,68 (с, 2 H, CH ₂), 1,47 (м, 4 H, 2 CH ₂), 1,26 (кв, 9 H, 3CH ₃), 0,86 (к, 6 H, 2CH ₃ , J=7,2)	165,4 (C=O); 135,1 (CH); 128,2 (C); 81,2 (CH); 77,7 (CH ₃); 77,2 (CH ₂); 73,3 (2 CH); 62,4 (CH ₂); 60,8 (CH ₂); 53,3 (CH); 38,0 (CH ₃); 28,5 (CH ₂); 25,9 (CH ₂); 25,5 (CH ₂); 15,9 (CH ₃); 15,8 (CH ₃); 9,4 (CH ₃); 9,1 (CH ₃)
37b	6,85 (с, 1 H, CH), 5,01 (с, 1 H, CH), 4,22 (к, 2 H, CH ₂ , J=6,9), 4,04 (с, 1 H, CH), 3,77 (секст, 6 H, 2CH ₃ , J=10,5), 3,50 (к, 1 H, CH, J=6,7), 3,41 (т, 1 H, CH, J=5,6), 3,25 (т, 1 H, CH ₂ , J=10,1), 3,10 (с, 3 H, CH ₃), 2,73 (д.д, 1 H, CH ₂ , J=7,4, J=10,6), 1,55 (м, 4 H, 2 CH ₂), 1,33 (т, 3 H, CH ₃ , J=8,3), 0,96 (к, 6 H, 2 CH ₃ , J=7,1)	165,5 (C=O), 135,3 (CH), 128,6 (C), 81,6 (CH), 77,8 (CH), 73,7 (CH), 61,1 (CH ₂), 53,6 (CH), 38,4 (CH ₃), 28,8 (CH ₂), 26,2 (CH ₂), 25,9 (CH ₂), 25,5 (CH ₂), 14,2 (CH ₃), 9,7 (CH ₃), 9,4 (CH ₃)
37c	6,715 (с, 1 H, CH), 5,08 (т, 1 H, CH, J=10,2), 4,87 (м, 1 H, CH), 4,51 (м, 2 H, 2 CH), 4,18 (к, 2 H, CH ₂ , J=7,0), 3,99 (м, 1 H, CH), 3,40 (с, 1 H, NH), 3,32 (м, 1 H, CH), 3,24 (м, 3 H, CH ₃), 2,71 (д.д, 1 H, CH ₂ , J=5,9, J=13,5), 2,65 (д.д, 1 H, CH ₂ , J=5,9, J=11,8), 1,48 (м, 4 H, 2 CH ₂), 1,24 (м, 15 H, 5 CH ₃), 0,86 (к, 6 H, 2 CH ₃ , J=7,1)	166,2 (C=O), 135,0 (CH), 129,1 (C), 81,1 (CH), 74,4 (CH), 71,1 (CH), 70,1 (2 CH), 60,9 (CH ₂), 53,6 (CH), 38,1 (CH ₃), 28,5 (CH ₂), 25,6 (2 CH ₂), 24,1 (CH ₃), 25,5 (CH ₂), 14,5 (CH ₃), 9,7 (CH ₃), 9,4 (CH ₃)
226 а	6,59 (с, 1H, CH); 5,54 (т, 1H, CH, J=2,5); 5,07 (м, 1H, CH); 4,69 (т, 1H, CH, J=3,5); 4,18 (м, 3H, CH ₃); 3,98 (м, 4H, 2CH ₂); 3,32 (м, 9H, CH ₂ , 2CH ₃ , ½ CH ₂); 3,01 (дд, 1H, ½ CH ₂ , J=4,3, J=3,9); 1,25 (м, 9H, 3 CH ₃)	165,07 C=O; 139,34 CH; 126,39 C; 81,38 CH; 75,65 CH; 62,49 CH ₂ ; 61,34 CH ₂ ; 53,12 CH; 52,94 CH; 37,91 CH ₃ ; 30,97 CH ₂ ; 16,62 CH ₃ ; 16,32 CH ₃ ; 14,65 CH ₃ ; 14,48 CH ₃

2.5.1 Регенерация пентанола-3

Для снижения расхода дорогостоящего реактива пентанола-3 была рассмотрена возможность его регенерации. Пентанол-3, используемый в процессе получения этил(3*R*,4*S*,5*R*)-4-(диалкоксифосфориламино)-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфо-нилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата, имеет содержание основного вещества 99,5 %. ГЖХ анализ показывает, что пентанол-3 полученный при концентрировании раствора диэтоксифосфорилamina **37 а**, 0,3-0,5 % этанола, до 2 % толуола, до 1,8 % не идентифицированной примеси и небольшое количество примесей, характерных для исходного продукта.

Учитывая, что простая перегонка приводит к получению кислого продукта, нельзя было исключить изомеризацию пентанола-3. Анализ полученных отгонов ГХ с масс-детектором показал отсутствие продуктов изомеризации пентанола-3. Основной примесью по данным масс-спектропии является 3-этоксипентан, образующийся при взаимодействии пентанола-3 с эфиром трехфтористого бора (рисунок 32).

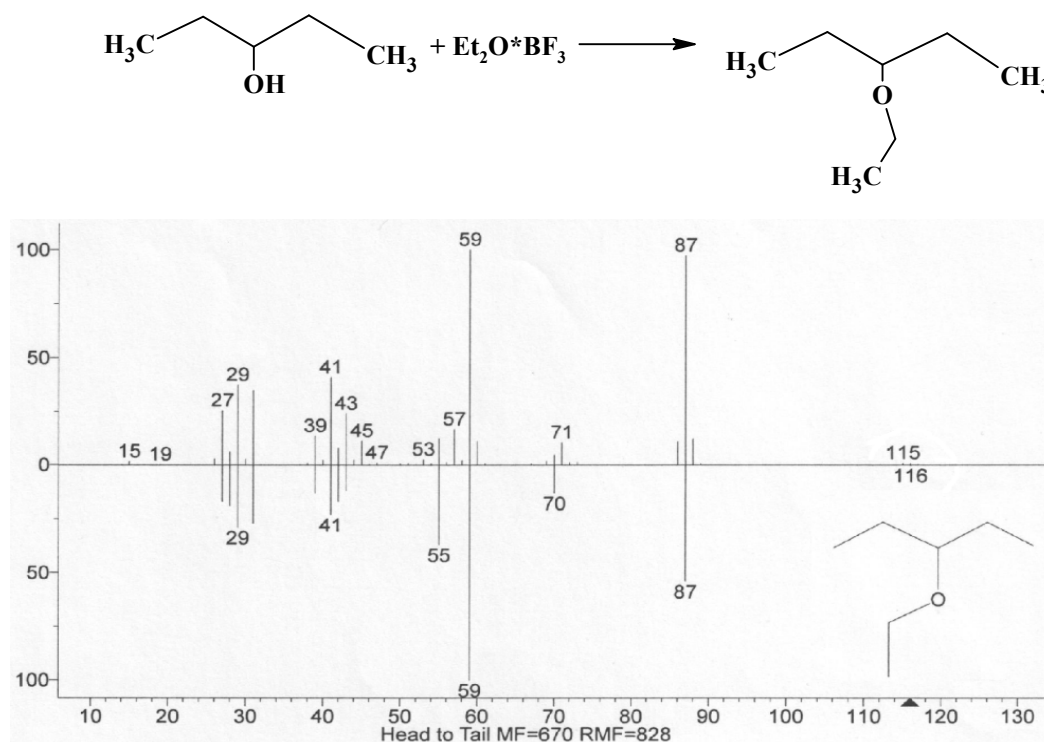


Рисунок 32 – Масс-спектр 3-этоксипентана

Для удаления примесей использовался метод ректификации с короткой насадочной колонкой, имеющей эффективность 6 теоретических тарелок. Вначале процесса ($T_{\text{кип.}} = 84\text{--}95\text{ }^{\circ}\text{C}$) отгоняется водный гетероазеотроп, органический слой которого содержит 8-10 % 3-этоксипентана, 10-12 % толуола и около 1,5 % других примесей. Затем отгоняется промежуточная фракция с $T_{\text{кип.}} = 95\text{--}114\text{ }^{\circ}\text{C}$. В своем составе фракция содержит растворенную воду, 2-3 % толуола и 1-1,5 % 3-этоксипентана. Пентанол-3 отбирают при $T_{\text{кип.}} = 114\text{--}115\text{ }^{\circ}\text{C}$. По данным ГЖХ фракция пентанола-3 содержит до 1,5 % примесей, основную часть которых занимает толуол (примерно 1,2 %). В случае получения продукта с содержанием остальных примесей более 0,6 % продукт подвергают повторной ректификации.

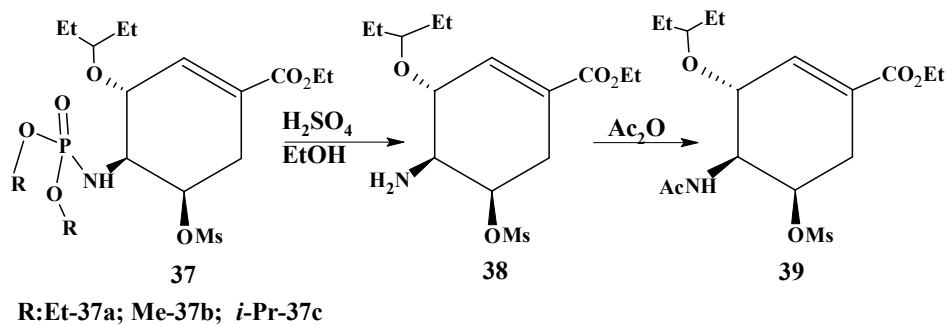
Проведением повторной ректификации первых двух фракций удается выделить дополнительное количество пентанола-3. Потери пентанола-3 на стадиях синтеза и регенерации достигают 30 % от исходной загрузки.

Регенерированный пентанол-3 был успешно использован в синтезе диэтилфосфориламида **37 а**.

Таким образом, в результате проведенных исследований было изучено влияние алкильных заместителей на скорость образования алкилфосфоазиридина, на скорость и селективность введения пентоксильной группы по положению С-3 и свойства образовавшихся продуктов. Впервые были получены и идентифицированы этил(3S,4S,5R)-4-диметилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37 б** и этил(3S,4S,5R)-4-диизопропил-фосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метан-сульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37 с**. Был разработан простой метод получения и выделения этил(3S,4S,5R)-4-диэтилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **37 а** в кристаллическом виде. Установлен состав примесей, образующихся при раскрытии азиридинового цикла, и изучено влияние воды на ход реакции. Разработан метод регенерации пентанола-3, позволяющий сократить в два раза расход дорогостоящего реактива.

2.6 Получение этил(3S,4S,5R)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **39**

Получение ацетамида **39** проводится в две стадии: гидролиз диалкилфосфоамида **37** и ацетилирование полученного амина **38**.



Реакцию гидролиза **37** проводили кипячением в смеси этанола с серной кислотой. Такие условия обеспечивают сохранность эфирной связи и селективное прохождение гидролиза амидной группы. Для полного прохождения реакции достаточно 14-16 ч нагрева при температуре кипения (рисунок 33).

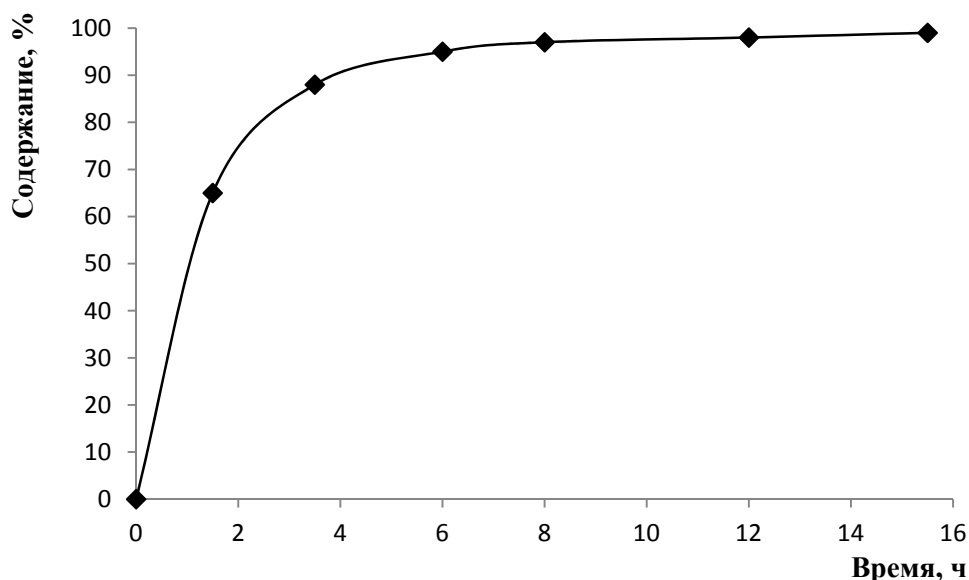


Рисунок 33 – Изменение содержания амина **38** во времени при гидролизе этилфосфоамида **37 а**.

Анализ реакционной массы методом ВЭЖХ показывает (рисунок 34) практически полное отсутствие посторонних примесей и стабильность

образующегося амина **38** в условиях гидролиза. Следующую стадию процесса проводят без выделения продукта из реакционной массы.

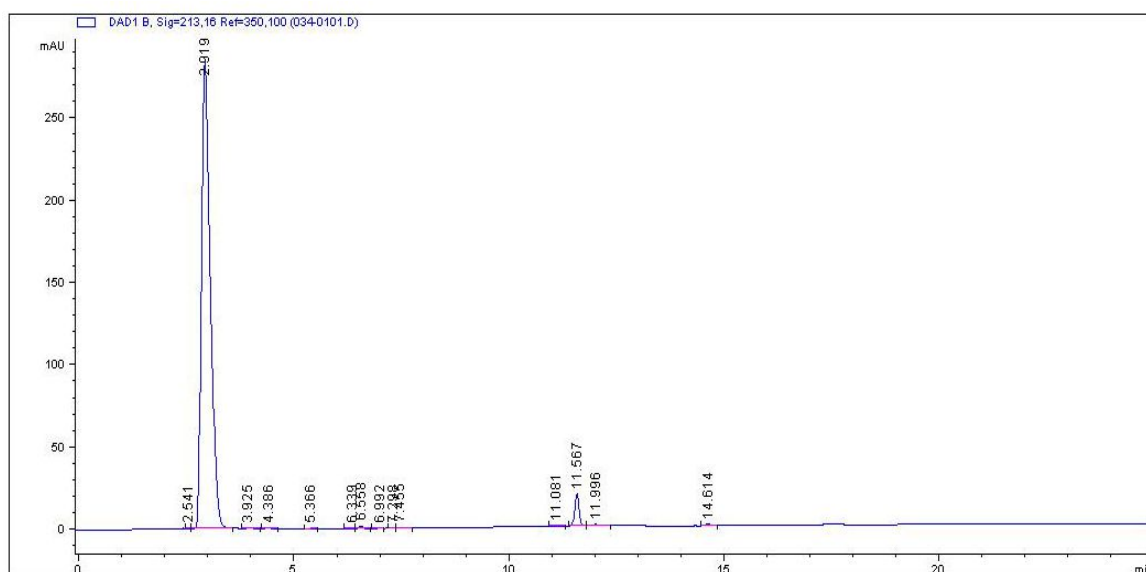


Рисунок 34 – Хроматограмма реакционной массы гидролиза этил(3S,4S,5R)-4-диэтилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилоксициклогекс-1-ен-1-карбоксилата **37 а**

На второй стадии происходит ацетилирование аминной группы в положении С-3. Ацетилирование проводят уксусным ангидридом без выделения промежуточного амина **38** из реакционной массы. Для нейтрализации, оставшейся в реакционной массе серной кислоты и поддержания щелочной среды, были исследованы водные растворы NaOH и Na₂CO₃. Установлено, что использование раствора карбоната натрия в воде и поддержание слабощелочной реакционной среды во время дозировки уксусного ангидрида обеспечивает прохождение целевой реакции и снижает количество побочных реакций. Для полного прохождения реакции достаточно использования 1,5 молей уксусного ангидрида на 1 моль диэтоксифосфоамида **37** и выдержки в течение 30 мин при комнатной температуре.

Большое влияние на качество и выход продукта оказывает алкильный заместитель в диалкилфосфоамиде **37** (таблица 12). Так при использовании диэтилфосфориламида **37а** выход ацетамида **39** составил 82,8 %. Применение

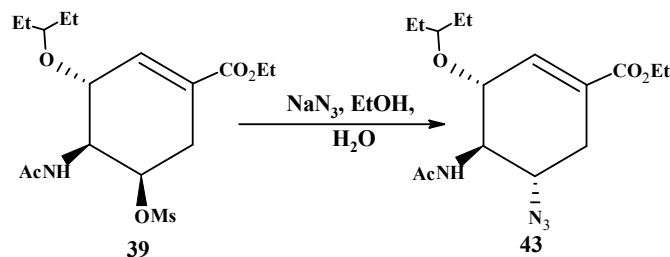
вместо **37a** неочищенных диметилфосфориламида **37b** и диизопропилфосфориламида **37c** с содержанием примесей около 25 %, сильно осложняет выделение ацетамида **39** в кристаллическом виде. Так при использовании **37c** выход ацетамида **39** составил 65,5 %, а при применении диметилфосфориламида **37b** – 35 %.

Таблица 12 – Зависимость выхода **39** от алкильного заместителя **37**

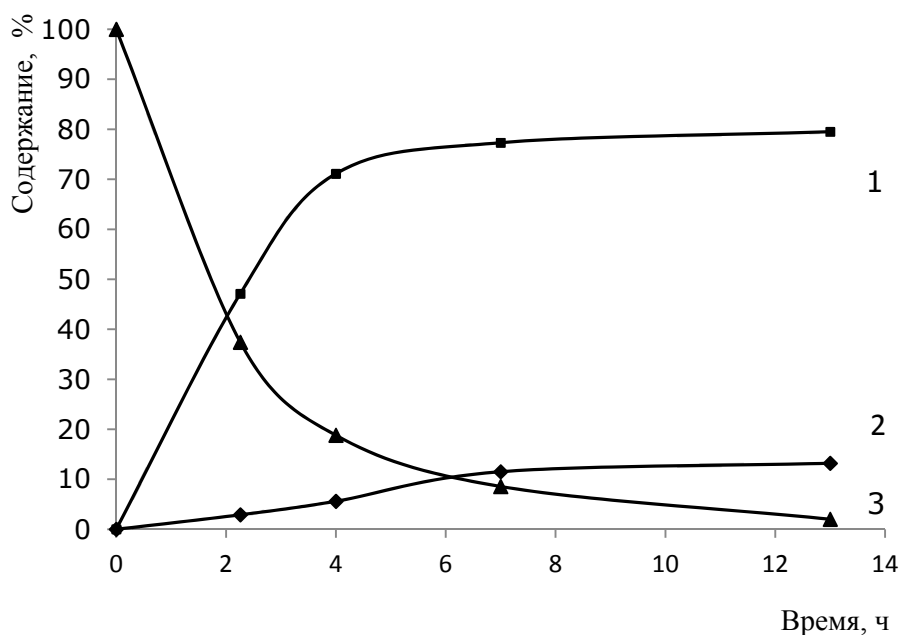
№	Фосфоамид 37	Выход 39 , %
1	Диэтилфосфоамид 37 a	82
2	Диметилфосфоамид 37 b	35
3	Диизопропилфосфоамид 37 c	65,5

Таким образом, разработан способ получения этил(3S,4S,5R)-4-амино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **38** обеспечивающий сохранность эфирной связи и селективность гидролиза амидной группы. Разработан способ ацетилирования этил(3S,4S,5R)-4-амино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **38** в мягких условиях, позволяющий повысить выход и качество этил(3S,4S,5R)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **39**. Исследована возможность применения при получении этил(3S,4S,5R)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата диметилфосфориламида **37 b** и диизопропилфосфориламида **37 c**. В результате найдено, что возможно использование диизопропил-фосфориламида **37 c**, как альтернативное диэтилфосфоамиду **37 a**.

2.7 Получение этил(3*S*,4*R*,5*S*)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **43**



Нуклеофильное замещение мезильной группы на азидную проходит селективно по положению С-5 и сопровождается инверсией атома углерода с *R*-конфигурации на *S*-конфигурацию [35]. Реакция проходит в среде этанола со значительной скоростью только при высокой температуре. Для полного протекания реакции требуется большой избыток азиды натрия. Так при проведении реакции при температуре кипения в этаноле и 3 молями NaN_3 на 1 моль ацетамида **39** степень конверсии 95 % достигается за 13 ч (рисунок 35) При проведении процесса при комнатной температуре при прочих равных условиях за 15 ч реакция по данным ВЭЖХ проходит на 2 %.

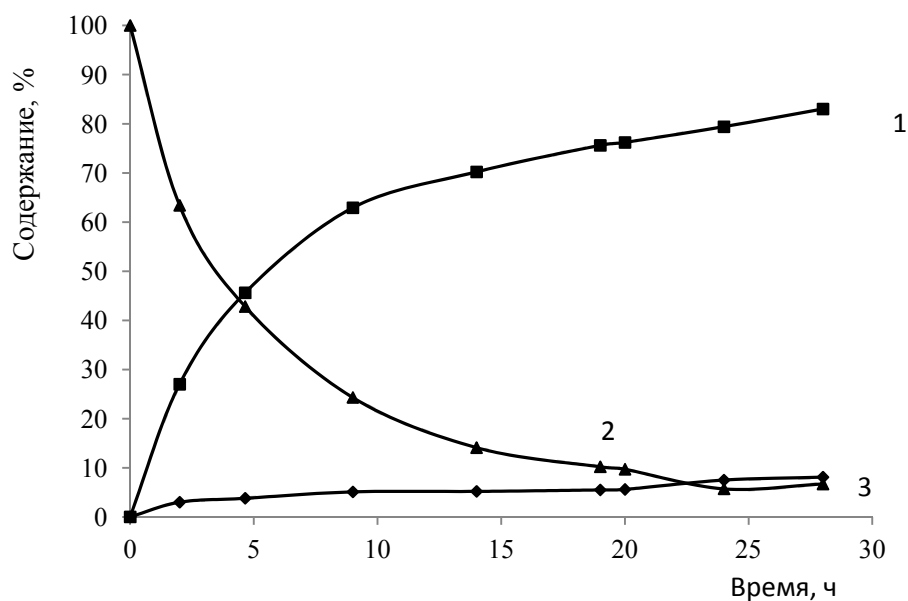


1 - азид **43**; 2 – «примесь»; 3 – ацетамид **39**

Рисунок 35 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **43**. Мольное соотношение **39** : $\text{NaN}_3 = 1:3$.

При сокращении количества азидата натрия до 2 молей на 1 моль ацетамида **39** для достижения этой же степени конверсии требуется около 30 ч (рисунок 36). Выход этил(3*R*,4*R*,5*S*)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-азидо-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **43** составил 72 %. В обоих случаях количество основной примеси достигает 10 %.

Выделение продукта из реакционной массы проводят концентрацией полученной суспензии с последующим растворением в этилацетате и промывкой водой. После этилацетатный раствор концентрируют на 70 % и получают этил(3*S*,4*R*,5*S*)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **43** в кристаллическом виде с выходом 72 % в пересчете на ацетамид **39** и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ не менее 98 %.



1 - азид 43; 2 – ацетамид 39; 3 – «примесь»

Рисунок 36 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **43**. Мольное соотношение **39** : NaN_3 = 1:2

Использование вместо азиды натрия в качестве азидирующего агента при прочих равных условиях (концентрация ацетамида **39** в реакционной массе, температура проведения реакции) азиды аммония, получаемого непосредственно в реакционной массе из азиды натрия и хлорида аммония, также приводит к увеличению времени проведения реакции. При мольном соотношении ацетамида **39** к азидирующему агенту 1:3, реакция проходит на 91,7 % за 30 ч. Однако, при этом значительно сокращается количество основной примеси, содержание которой по данным ВЭЖХ не превышает 1,5 % (рисунок 37).

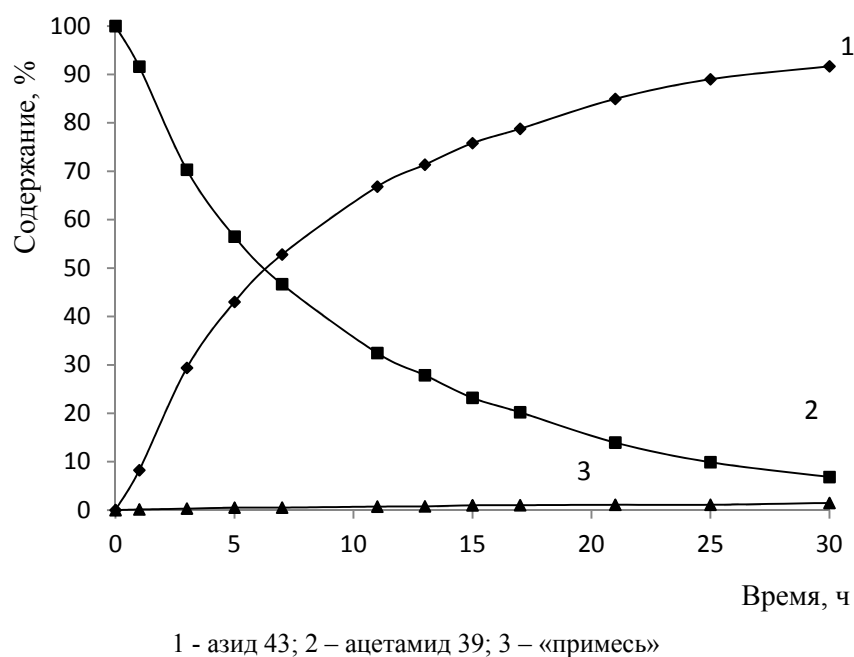


Рисунок 37 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **43** с использованием азид аммония. Мольное соотношение **39** :

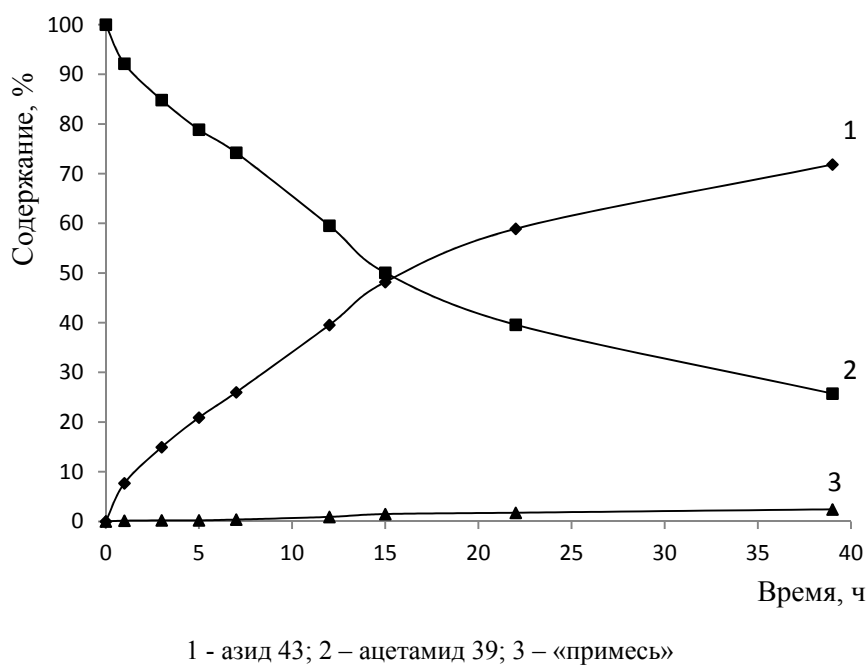
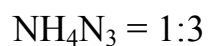
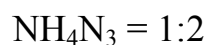


Рисунок 38 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **43** с использованием азид аммония. Мольное соотношение **39** :



Уменьшение количества азидата аммония до соотношения **39** : $\text{NH}_4\text{N}_3 = 1:3$ приводит к значительному увеличению времени реакции (рисунок 38). Конверсия ацетамида **39** по данным ВЭЖХ составила 73 % за 39 ч.

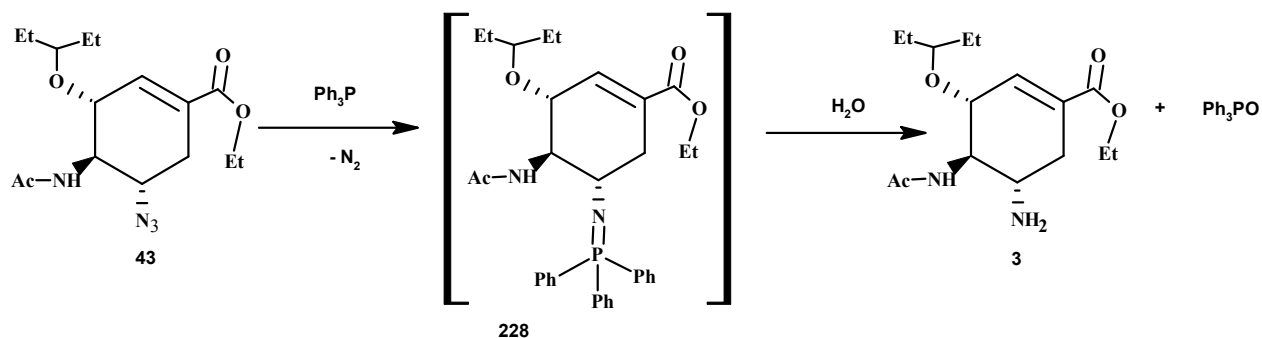
Таким образом, исследовано влияние мольного соотношения и природы азидирующего агента на процесс получения этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксила-та. Оптимальным азидирующим агентом для данного процесса является азид натрия в мольном соотношении **39** : $\text{NaN}_3 = 1:3$. Образующаяся при этом примесь достаточно легко отделяется при кристаллизации продукта. Замена азидата натрия на азид аммония приводит к увеличению времени прохождения реакции с 13 ч до 30 ч при прочих равных условиях, но снижает содержание основной примеси с 10 % до 1,5 % по данным ВЭЖХ.

2.8 Получение этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата фосфата (осельтамивира фосфата)

Осельтамивир **3** образуется в результате восстановления азидной группы в этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилате. Молекула **43** кроме азидной группы содержит двойную связь, сопряженную с карбоксильной группой. Такое расположение приводит к активации двойной связи и увеличению ее реакционной способности в реакции восстановления. Поэтому выбор восстановителей для данной реакции ограничен.

Для получения осельтамивира в виде основания проведены исследования нескольких методов восстановления азидной группы до аминной: трифенилфосфином, боргидридом натрия, водородом в присутствии катализатора.

Метод восстановления азидной группы по положению С-5 с применением в качестве восстановителя трифенилфосфина описан в литературе [31]. Механизм процесса включает три стадии. Вначале происходит образование азидофосфорана, от которого быстро отщепляется азот с получением иминофосфорана **228**.



Следующая стадия процесса – гидролиз полученного иминофосфорана **228** под действием воды. Процесс проходит достаточно долго (14 ч при температуре 45°C). Обязательное присутствие воды и достаточно высокая основность среды (все продукты являются основаниями) могут вызывать прохождение побочных реакций: гидролизу эфирной связи и ароматизации шестичленного кольца. Поэтому, был проведен ряд исследований с целью сокращения примесей и увеличению выхода основного продукта. Реакцию восстановления проводили в обводненном этаноле как описано в литературе [36]. Однако выход продукта в описанных условиях составил всего 35 %. При изменении порядка дозировки (раствор азиды **43** в этаноле постепенно добавляли к раствору трифенилфосфина) выход целевого продукта увеличился до 66 % (таблица 13). Использование метилтретбутилового эфира в качестве реакционной среды увеличивает содержание примесей. Наилучшие результаты обеспечивает проведение синтеза в среде тетрагидрофурана с последовательной дозировкой **43**, а затем воды к раствору трифенилфосфина. Добавление небольшого количества уксусной кислоты увеличивает выход целевого фосфата осельтамивира до 91 %. Замена её на фосфорную кислоту к повышению выхода не приводит, а использование фосфорной кислоты в количестве 1 моля на 1 моль азиды **43** по данным ТСХ полностью блокирует гидролиз иминофосфорана.

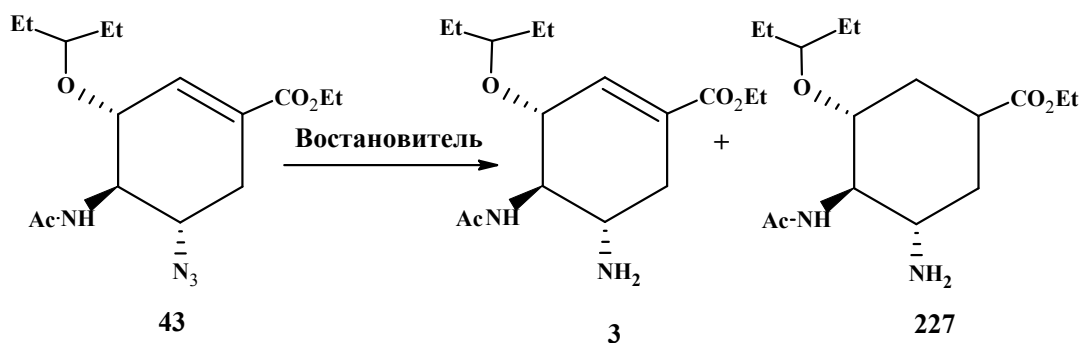
Процесс получения фосфата осельтамивира состоит в обработке осельтамивира-основания фосфорной кислотой в смеси этанола и этилацетата в соотношении 1:1. Образующийся продукт обладает низкой растворимостью в данных условиях и выпадает в осадок. После кристаллизации и промывки

ацетоном получили фосфат осельтамивира с выходом 91 % и чистотой по данным ВЭЖХ 99,9 %.

Таблица 13 – Подбор условий синтеза фосфата осельтамивира при восстановлении **43** трифенилфосфином

№	Соотношение реагентов					Порядок дозирования	Выход $3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4$, %	Тпл °С
	43 , моль	Растворитель, мл	PPh_3 , моль	Вода, мл	Кислота			
1	0,015	Этанол 50	0,013	10	-	PPh_3 к 43	35	199 - 200
2	0,015	ТГФ 150	0,022	27,5	-	PPh_3 к 43	62,4	200 - 201
3	0,015	МТБЭ 50	0,024	5	-	43 к PPh_3	52,6	200 - 201
4	0,015	Этанол 80	0,022	10	-	43 к PPh_3	66	199 - 200
5	0,015	ТГФ 50	0,0225	9	CH_3COOH 2 капли	PPh_3 к 43	75	201 - 202
6	0,015	ТГФ 40	0,0215	7,2	H_3PO_4 0,2 мл	PPh_3 к 43	58	201 - 203
7	0,015	ТГФ 35	0,0225	7	CH_3COOH 4 капли	PPh_3 к 43	72	201 - 202
8	0,53	ТГФ 1260	0,63	145	CH_3COOH 1 г	43 к PPh_3	91	201-202

Метод восстановления азидов **43** трифенилфосфином был применен при разработке технологического процесса. Однако наличие плохо удаляемого трифенилфосфооксида и токсичность трифенилфосфина приводит к поиску других методов восстановления.



Восстановление азидогруппы в молекуле **43** по положению С-5 с применением в качестве восстановителя боргидрида натрия в соотношении $\text{NaBH}_4 : \mathbf{43} = 1:1$ при комнатной температуре проходит медленно – за двое суток

на 70 % по данным ВЭЖХ анализа. В результате реакции образуется смесь продуктов, содержащая кроме ожидаемого этил(3*R*,4*R*,5*S*)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-азидо-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата **3** еще и продукт полного восстановления этил-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-азидо-циклогексан-1-карбоксилат **227** в количестве 46 % по данным ВЭЖХ.

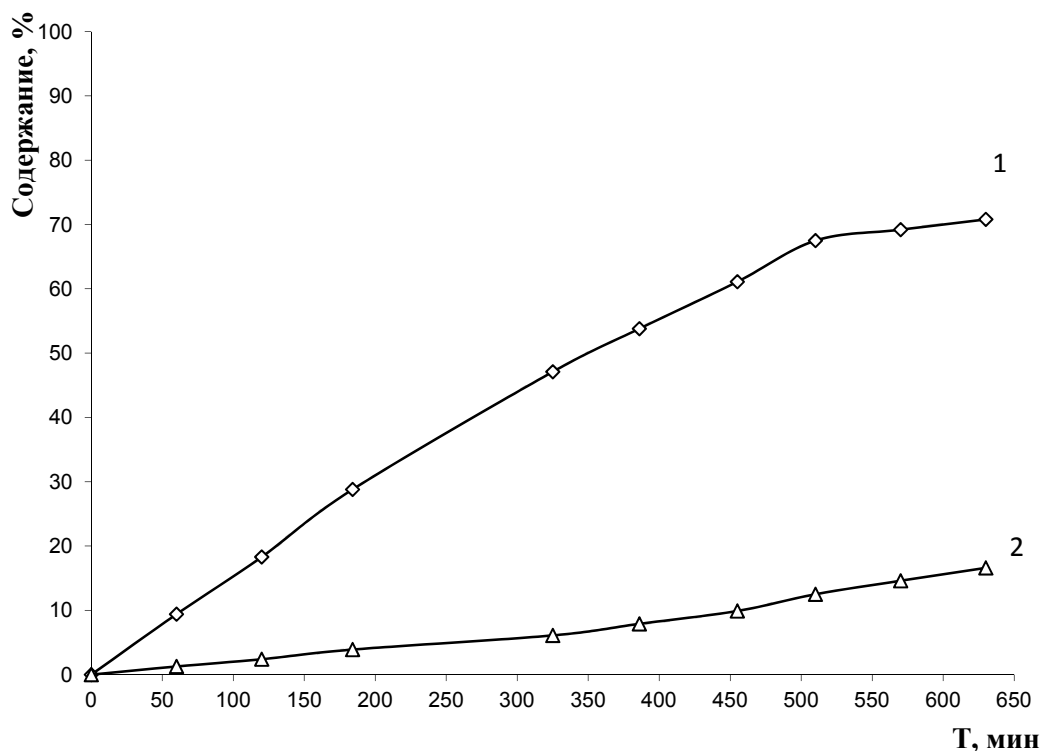
В известных методах для восстановления азидной группы водородом описано применение никеля Ренея [33] и катализатора Линдлара [32]. Поэтому были исследованы методы восстановления азида **43** газообразным водородом с применением различных гетерогенных катализаторов.

При восстановлении азида **43** в среде этанола при комнатной температуре в присутствии Pd/C (содержание Pd 5 %) в количестве 10 % от веса исходного азида **43** максимальный выход осельтамивира **3** по данным ВЭЖХ достигается через 3 ч гидрирования. При этом скорость восстановления азидной группы в шесть раз превышает скорость восстановления двойной связи. Поэтому при увеличении времени гидрирования происходит накопление продукта **227**. Для получения достоверных результатов, продукт полного гидрирования **227** был синтезирован увеличением продолжительности каталитического гидрирования до 16 ч и выделен в виде фосфорнокислой соли. Структура **227** была подтверждена методом ЯМР спектроскопии.

Этанольный раствор осельтамивира **3** обрабатывали фосфорной кислотой в мольном соотношении 1:1. Выход выделенного осельтамивира в виде кристаллической фосфорнокислой соли составил 63 %, чистота продукта по данным ВЭЖХ составила 99,5 %. Остаток от кристаллизации содержал небольшое количество исходного азида **43** и побочных продуктов реакции, а также продукт полного восстановления осельтамивира **227**.

Детальное изучение особенностей процесса при уменьшенной загрузке катализатора Pd/C (1 % от веса исходного) показывает, что гидрирование азидной группировки и двойной связи проходит одновременно (рисунок 39). Характер изменения состава реакционной массы показывает, что происходит замедление

образования осельтамивира и рост скорости образования продукта полного гидрирования **227**. Таким образом, показано, что гидрирование двойной связи происходит как у исходного азида **43**, так и у уже образовавшегося осельтамивира **3**.



1 – осельтамивир; 2 – продукт **227**

Рисунок 39 – Изменение состава реакционной массы во времени по данным ВЭЖХ при гидрировании водородом с использованием катализатора 1 % по весу Pd/C.

При восстановлении азидной группы **43** в присутствии катализатора никеля Ренея по известной методике [28] получен продукт, содержащий **227** в количестве 6 %. Выход очищенного продукта по литературным данным не превышал 85 %. Воспроизведение методики восстановления 5 % - ного раствора азида **43** в этиловом спирте с использованием катализатора никель Ренея в количестве 10 % от массы субстрата при $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ приводит по данным ВЭЖХ к образованию основного продукта в количестве 75 %. Содержание продукта полного гидрирования по данным ВЭЖХ составило 10 %.

Проведенные исследования по поиску селективного метода восстановления азидной группы в этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбо-ксилате показали, что применение трифенилфосфина при соблюдении оптимальных условий проходит селективно и приводит к получению фосфата осельтамивира с выходом 91 % и чистотой 99,9 %. Однако образующийся в ходе реакции токсичный трифенилфосфооксид нежелателен при производстве фармацевтических субстанций.

Восстановление водородом в присутствии гетерогенного катализатора устраняет эту проблему, однако активность и селективность гетерогенных катализаторов стали еще одним проблемным пунктом в восстановлении азидов **43**.

В результате проведенных исследований разработан рациональный путь синтеза, позволяющий получать фосфат осельтамивира с выходом 31 % в пересчете на исходную (-)-шикимовую кислоту и чистотой 99,9 %.

3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали на приборе «Bruker AM-400», 400 МГц (^1H) и 100 МГц (^{13}C), в качестве растворителя использовали DMSO-d_6 и CDCl_3 . ИК-спектры соединений записывали на приборе «Инфралюм ФТ-801» в таблетках с KBr . ВЭЖХ проводилась на приборе «Agilent 1200»; предварительная колонка 2.1×15 мм, сорбент – «Zorbax SB-18», фр. 3 μm ; колонка 2.1×150 мм, сорбент – «Zorbax SB-18», фр. 5 μm . Состав и качество продуктов определяли на приборе «Agilent 1200» с УФ-детектором, с использованием градиентного элюирования. Элюент А – 0,2% раствор ортофосфорной кислоты, элюент Б – ацетонитрил. Показатель удельного оптического вращения определяли на поляриметре Р 3002 KRUSS. ГЖХ проводилась на приборе Хромос ГХ-1000. ТСХ проводилась на пластинах MERCK TLC Silica gel 60 F_{254} , для препаративной хроматографии применяли Silica gel 0.060-0.200 mm, 60 А. Исходная (-)-шикимовая кислота китайского производства (Shanghai az import and export co., LTD) с содержанием основного вещества 98 %. Триэтилфосфит получали по методу, описанному в литературе [88]. Содержание воды в этаноле определяли по методу Фишера на приборе 870 FK titrino plus. Переведение катионообменной смолы в водородную форму проводили в соответствии с методикой, приведенной в литературе [89]. Работа выполнена с использованием приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования ИПХЭТ СО РАН.

3.1 Этил(3R,4S,5R)-3,4,5-тригидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилат 23

Смесь 50 г (0,287 моль) (-)-шикимовой кислоты (8), 200 мл этанола (содержание воды 0,8 %) и 50 г катионита КУ-2-8 помещают на магнитную мешалку, подсоединяют на установке аппарат Сокслета, заполненный 160 г цеолита NaA, и кипятят в течение 15 ч. Полученный раствор охлаждают, фильтруют, катионит промывают порциями этанола 3 раза по 100 мл и растворитель отгоняют под вакуумом. Остаток обрабатывают 350 мл этилацетата.

Выпавший осадок отфильтровывают и получают 56,0 г (95,0 %) 23 с $T_{пл}=97,8-99,0$ °С и содержанием основного вещества 99,0 %.

$$[\alpha]_{\lambda}^{22} = -45,4^{\circ} (\text{H}_2\text{O}).$$

Найдено (%): С 54,00; Н 7,16

Вычислено (%): С 53,46; Н 6,98.

ИК-спектр, см⁻¹: 3354, 2911, 1717, 1654, 1456, 1372, 1238, 1092, 1053, 932, 873, 837, 749

Спектр ЯМР ¹H ((CD₃)₂CO, δ м.д.): 6,77 (с, 1 H, CH), 4,37 (с, 1 H, CH), 4,18 (к, 1 H, CH, J=7,1), 3,95 (м, 2 H, CH₂), 3,68 (м, 1H, CH), 2,99 (д.д, 1 H, CH₂, J=4,1, J=12,4), 2,71 (д.д, 1 H, CH₂, J=4,6, J=12,9), 1,28 (т, 3 H, CH₃, J=7,0).

Спектр ЯМР ¹³C ((CD₃)₂CO, δ м.д.) 166,9 (C=O); 139,5 (CH); 128,8 (C); 66,3 (CH); 60,6 (CH₂); 30,5 (CH₂); 14,4 (CH₃).

3.1.1 Очистка (-)-шикимовой кислоты

В 360 мл дистиллированной воды при перемешивании и нагреве до 80 °С растворяют 60 г (-)-шикимовой кислоты с $T_{пл} = 174-177$ °С (содержание основного вещества по данным ВЭЖХ 92 %), добавляют 5 г активированного угля и перемешивают при кипении в течение 15 мин. Суспензию фильтруют в горячем виде. Фильтрат охлаждают при перемешивании до комнатной температуры и выдерживают в течение 5 ч. Выпавший осадок отфильтровывают под вакуумом, получают 35 г (-)-шикимовой кислоты с содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99,8 %, выход перекристаллизованного продукта составил 58 % масс., $T_{пл} = 180 - 181$ °С. Оставшийся водный раствор концентрируют под вакуумом на $\frac{2}{3}$, отфильтровывают выпавший осадок. Получают 24 г (40 % масс.) (-)-шикимовой кислоты с содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99,8 % с $T_{пл} = 180 - 181$ °С. Суммарный выход (-)-шикимовой кислоты с

содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99,8 % после перекристаллизации составил 98 %.

3.1.2 Кислотный гидролиз остатков после кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты

Концентрированный остаток после кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты из реакционной массы 60 г (80 % этилшикимат, 10 % (-)-шикимовой кислоты, 10 % неидентифицированных примесей по данным ВЭЖХ) растворяют в 140 мл дистиллированной воды и добавляют 8 г угля. Перемешивают при комнатной температуре в течение 30 мин, уголь отфильтровывают, промывают на фильтре дистиллированной водой.

В фильтрат добавляют 7 мл 37 % соляной кислоты. Оставляют на сутки при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывают (неидентифицированные примеси), промывают дистиллированной водой. Фильтрат кипятят с обратным холодильником в течение 16 ч. Затем добавляют 11,5 г угля и кипятят в течение 30 мин. Теплый раствор отфильтровывают, концентрируют до веса 68 г и оставляют на ночь. Выпавший осадок отфильтровывают, получают 27,7 г (40 % масс.) кристаллической (-)-шикимовой кислоты с $T_{пл} = 180-181\text{ }^{\circ}\text{C}$ и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99,8 %.

3.1.3. Щелочной гидролиз остатков после кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты.

Остаток после кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты из реакционной массы 60 г (80 % этилшикимат, 10 % (-)-шикимовой кислоты, 10 % неидентифицированных примесей по данным ВЭЖХ) растворяют в 140 мл дистиллированной воды и добавляют 8 г угля. Перемешивают при комнатной

температуре в течение 30 мин, уголь отфильтровывают, промывают на фильтре дистиллированной водой.

В фильтрат добавляют 14 г NaOH и кипятят в течение 2-3 ч. Охлаждают, обрабатывают толуолом 2x30 мл. Водный слой отделяют от органического, обрабатывают 37 % HCl, постепенно доводят до нейтральной и оставляют при перемешивании на 2-4 ч. Выпавший осадок отфильтровывают, получают 14 г (20 %) кристаллической (-)-шикимовой кислоты с $T_{пл} = 180-181\text{ }^{\circ}\text{C}$ и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99,8 %.

3.2 Этил(3*R*,4*S*,5*R*)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилат **34**

Суспензию 55,0 г этилшикимата **23** (0,27 моль) и 94 мл метансульфонилхлорида (1,2 моль) в 550 мл этилацетата охлаждают до 0 °С (лёд-соль). При интенсивном перемешивании и температуре не выше +5 °С в течение 2 ч дозируют 186 мл (2,5 моль) триэтиламина. Массу выдерживают 2 ч при 0 °С, разбавляют 200 мл 1*N* HCl, перемешивают 15 мин и разделяют слои в делительной воронке. Органический слой промывают 2 %-ным раствором Na₂CO₃ 3x100 мл и 100 мл 20 %-ного раствора NaCl. Органический слой фильтруют через бумажный фильтр, раствор концентрируют наполовину под вакуумом при 40 °С и оставляют на ночь. Выпавший продукт отфильтровывают, промывают этилацетатом. Фильтрат повторно упаривают и выделяют вторую и третью порции **34**. Всего получали 104,7 г (89 %) **34** с $T_{пл.}=99-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99 %.

$[\alpha]_{\lambda}^{22}=-110,3^{\circ}$ (EtOAc).

Найдено (%): С 32,69; Н 4,57; S 22,26;

Вычислено(%): С 33,02; Н 4,62; S 22,04.

ИК-спектр, см⁻¹: 3033, 2942, 1714, 1658, 1348, 1260, 1180, 1105.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ м.д.) 6,76 (с, 1 H, CH), 5,46 (т, 1 H, CH, $J=4,1$), 5,04 (м, 1 H, CH), 4,95 (д.д, 1 H, CH, $J=4,3$, $J=3,9$), 4,20 (м, 2 H, CH_2), 3,12 (д, 9 H, 3CH_3 , $J=4,3$), 3,07 (с, 1 H, CH_2) 2,67 (д.д, 1 H, CH_2 , $J=6,2$ $J=12,8$), 1,26 (т, 3 H, CH_3 , $J=7,1$).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м.д.) 164,27 (CO); 132,83 (C); 129,84 (CH); 74,40 (CH); 72,80 (CH); 72,75 (CH); 61,63 (CH_2); 38,53 (CH_3); 37,76 (CH_3); 30,18 (CH_2); 16,47 (CH_3); 13,90 (CH_3)

3.3 Этил(3*S*,4*R*,5*R*)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксацикло-гекс-1-ен-1-карбоксилат **35**

В колбу с мешалкой загружают 60,0 г (0,14 моль) **34**, добавляют 22,2 г (0,42 моль) хлорида аммония в 210 мл метанола при интенсивном перемешивании и температуре не выше +10 °С небольшими порциями в течение 1,5 ч загружают 14,4 г (0,22 моль) азиды натрия. Реакционную массу выдерживают 5 ч без охлаждения, разбавляют 210 мл толуола, выпавшие соли отделяют фильтрованием, промывают на фильтре 100 мл толуола и оставшийся раствор упаривают под вакуумом на роторном испарителе. Остаток растворяют в 200 мл толуола и обрабатывают 60 мл воды. Слои разделяют на делительной воронке, органическую фазу сушат над MgSO_4 в течение 48 ч. Затем раствор отфильтровывают от осушителя и упаривают под вакуумом на роторном испарителе при температуре 45 °С. Получают 52,5 г (98 %) **35** в виде густой жидкости с содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 97 %. Для аналитических целей продукт очищают препаративной хроматографией: элюент – этилацетат:гексан – 1:1.

$$[\alpha]_D^{22} = +48.1 \text{ (с 1.0, EtOAc)}$$

Найдено (%): С 34,83; Н 4,47; N 10,96; S 16,73.

Вычислено (%): С 34,46; Н 4,47; N 10,96; S 16,73.

ИК-спектр, cm^{-1} : 2940, 2108, 1717, 1661, 1446, 1358, 1253, 1176, 1075, 1016

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ м.д.) 6,65 (с, 1 H, CH), 4,80 (м, 1 H, CH), 4,68 (м, 1 H, CH), 4,30 (т, 1 H, CH, $J=3,9$), 4,19 (к, 2 H, CH_2 , $J=7,2$), 3,14 (с, 3 H, CH_3), 3,06 (с, 3 H, CH_3), 2,63 (м, 2 H, CH_2), 1,25 (м, 3 H, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м. д.) 164,08 (C=O); 131,9 (CH); 130,1 (C); 78,9 (CH); 73,8 (CH); 61,6 (CH_2); 60,9 (CH); 39,2 (CH_3); 38,8 (CH_3); 30,9 (CH_2); 14,0 (CH_3).

3.4 Этил (1S,5R,6S)-5-метансульфонилоксо-7-азобикакло[4.1.0]циклогепт-2-ен-3-карбоксилат **54**.

К раствору 1,00 г (2,61 ммоль) азида **35** в 10 мл ацетонитрила при перемешивании порциями добавляют 0,75 г (2,87 ммоль) трифенилфосфина. Реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч, добавляют 1,08 мл (7,83 ммоль) триэтиламина и 1 мл воды и дополнительно перемешивают в течение 20 ч. Органическую фазу удаляют под вакуумом, остаток растворяют в толуоле. Органическую фазу промывают 3x50 мл 5 %-ным водным раствором бисульфата натрия. Объединенный водный слой нейтрализуют до pH 9-10 осторожным добавлением карбоната калия и экстрагируют 3x40 мл этилацетатом. Органический слой сушат MgSO_4 в течение 24 ч и после фильтрации от осушителя, концентрируют. В остатке получают 0,48 г (71 %) продукта **54** в виде масла с содержанием основного вещества 96 %. Для аналитических целей продукт очищают препаративной хроматографией: элюент – этилацетат:гексан – 1:1.

ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д., J , Гц): 1.26 (т, 3H, CH_3 , J 7.3), 2.39 (м, 1H, CH), 2.74 (с, 1H, CH), 3.02 (м, 2H, 2CH), 3.09 (с, 3H, CH_3), 4.17 (кв., 2H, CH_2 , J 7.0), 5.06 (с, 1H, NH), 7.13 (с, 1H, CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м. д.) 165,54 C=O; 136,77 CH; 127,29 C; 81,95 CH; 78,18 CH; 72,12 CH; 71,00 CH_2 ; 51,54 CH; 38,02 CH_3 ; 14,00 CH_3 ; 9,21 CH_3

3.4.1 Этил (1S,5R,6S)-7-Ацетил-5-метансульфонилокси-7-азобикакло-
[4.1.0]гепт-2-ен-3-карбоксилат **55**.

К раствору 1,00 г (3,83 ммоль) азиридина **54** и 1,16 г (11,48 ммоль) триэтиламина в 10 мл этилацетата при 0°C в течение 15 минут по каплям добавляют 0,78 г (7,65 ммоль) уксусного ангидрида. Реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин., разбавляют 10 мл 15 % водного раствора карбоната калия. Органическую фазу отделяют от водной, промывают водой, насыщенным водным раствором NaCl и сушат над MgSO₄ в течение 24 ч. Отфильтровывают от осушителя, концентрируют на роторном испарителе, в остатке получают 1,04 г (90%) ацетилазиридина в виде масла с содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 58 %. Для аналитических целей продукт очищают препаративной хроматографией: элюент – этилацетат:гексан – 1:1.

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ м.д.): 1,27 (т, 3H, CH₃, J= 7,0), 2,19 (с, 3H, CH₃), 2,37 (д.д.д., 1H, CH, J=16,1; 10,0; 3,4), 3,06 (д.д.д. 1H, CH, J= 16,1; 6,6; 2,0), 3,15 (с., 3H, CH₃), 3,22 (д.д., 1H, CH, J=6,0; 4,8), 3,35 (д.т. 1H, CH J= 6,1; 2,2), 4,19 (кв, 2H, CH₂, J= 7.0), 5,00 (д.д.д., 1H, CH, J=10,0; 6,5; 2,2), 7,05 (д.д., 1H, CH, J= 4,7; 3,4).

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ м. д.) 170,6 C=O; 165,54 C=O; 136,77 CH; 127,29 C; 81,95 CH; 78,18 CH; 72,12 CH; 71,00 CH₂; 51,54 CH; 38,02 CH₃; 22,95 CH₃; 14,00 CH₃; 9,21 CH₃

3.4.2. Этил (3R,4S,5R)-7-ацетиламид-3-(1-этилпропилокси)-5-метан-
сульфонилоксициклогекс-1-ен-1-карбоксилат **39**.

К раствору 1,00 г (3,29 ммоль) N-ацетилазиридина в 10 мл 3-пентанола при -6 °C (лед + соль) в течение 15 минут по каплям добавили 0,49 мл (3,95 ммоль) BF₃*OEt₂ в 6 мл 3-пентанола. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при -6°C (лед + соль), разбавили 20 мл этилацетата, добавили 10 мл 15 % водного раствора карбоната калия. Органический слой отделили, последовательно

промыли водой и насыщенным водным раствором NaCl и сушили MgSO₄. Растворитель удалили под вакуумом, остаток пропустили через силикагель (элюент хлороформ). Выделили 0,39 г (30 %) ацетамида **39** в виде масла (аналитические данные приведены ниже п. 3.8).

3.4.3 Этил-3-ацетиламид-4,5-диметилсульфонилоксацикло-гекс-1-ен-1-карбоксилат **219**

а) В 56 мл бензола растворяют 5,1 г (13,3 ммоль) азида **35** и охлаждают до 0 °С. Постепенно через капельную воронку добавляют раствор 4,2 г трифенилфосфина в 6 мл бензола и 4 мл воды, выдерживают при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Реакционную массу концентрируют на роторном испарителе, остаток обрабатывают диэтиловым эфиром. Получают продукт **219** с выходом 59 % в кристаллическом виде с T_{пл} = 156-161 °С. Фильтрат отгоняют на роторном испарителе и получают 15 % азиридина **54** в виде вязкой жидкости с содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 89 %.

б) В 56 мл тетрагидрофурана растворяют 0,82 г (2,14 ммоль) азида **35**, раствор охлаждают до 0 °С. Постепенно добавляют холодный раствор NaBH₄ в 1,8 мл воды. Реакционную массу выдерживают при комнатной температуре в течение 8 ч. Затем водный слой отделяют от органического. Из органического слоя на роторном испарителе отгоняют растворитель при T=40 °С. Получают продукт **219** с выходом 70 % в кристаллическом виде с T_{пл} = 156-161 °С.

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, м.д., J, Гц): 6,79 (с, 1H, CH), 6,37 – 6,35 (д, 1H, CH), 5,09 – 5,06 (м, 1H, NH), 4,22 – 4,12 (м, 3H, CH₃), 4,01 – 3,99 (д, 1H, CH), 3,32 – 3,29 (м, 1H, CH), 2,73 – 2,70 (м, 2H, CH₂), 1,93 (м, 3H, CH₃), 1,25 – 1,21 (т., 2H, CH₂), 0,84 – 0,80 (м, 6H, 2CH₃).

3.5 Этил(3*R*,4*S*,5*R*)-4-(диэтоксифосфориламино)-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37a**

К раствору 47,5 г (0,12 моль) **35** в 124 мл толуола добавляют 23,5 мл (22,6 г, 0,14 моль) триэтилфосфита, выдерживают 1 ч при комнатной температуре и 7 ч при кипении с обратным холодильником. Реакционную массу охлаждают и упаривают под вакуумом на роторном испарителе. Получают 54,9 г остатка содержащего в основном диэтилфосфоазирин **36 а**.

Остаток, содержащий диэтилфосфоазирин **36 а**, растворяют в 120 мл пентанола-3 и в течение 1 ч добавляют 17,3 мл (19,5 г, 0,14 моль) эфирата трехфтористого бора при температуре 0-3 °С. Реакционную массу оставляют на ночь без охлаждения. Добавляют 50 мл воды и перемешивают в течение 15 мин. Смесь разделяют на делительной воронке, органический слой промывают 2x30 мл 5 %-ным раствором NaHCO₃ нагретым до 50 °С, затем промывают дистиллированной водой 2x30 мл и органическую фракцию помещают в холодильник. Через 2-4 ч выпавший продукт отфильтровывают, промывают на воронке 50 мл этанола. Получают 35,5 г **37 а** в виде белого кристаллического продукта с T_{пл}=102-104 °С. Фильтрат концентрируют под вакуумом на роторном испарителе при температуре бани 55 °С, остаток растворяют в 50 мл диэтилового эфира и оставляют на несколько дней. После выпадения кристаллического продукта отфильтровывают вторую порцию. Всего получают 40,0 г (66,2%) **37а** с T_{пл} = 102-104 °С и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 95 %.

$[\alpha]_{\lambda}^{22} = -54^{\circ}(\text{EtOAc})$.

Найдено (%): С 46,53; Н 7,35; N 3,01; S 7,03.

Вычислено (%): С 47,00; Н 7,47; N 2,88; S 6,60.

ИК-спектр, см⁻¹: 3238, 1714, 1356, 1175, 1101, 1032

Спектр ЯМР¹Н (CDCl₃, δ м.д.) 6,75 (с, 1 Н, СН), 4,98 (с, 1 Н, СН), 4,13 (кв, 2 Н, СН₂, J=7,2), 4,00 (м, 5 Н, 2 СН₂, СН), 3,61 (м, 1 Н, СН), 3,33 (м, 2 Н, СН, NH), 3,03 (с, 3 Н, СН₃), 2,68 (с, 2 Н, СН₂), 1,47 (м, 4 Н, 2 СН₂), 1,26 (кв, 9 Н, 3СН₃), 0,86 (к, 6 Н, 2СН₃, J=7,2)

Спектр ЯМР ¹³С (CDCl₃, δ м.д.) 165,4 (C=O); 135,1 (СН); 128,2 (С); 81,2 (СН); 77,7 (СН₃); 77,2 (СН₂); 73,3 (2 СН); 62,4 (СН₂); 60,8 (СН₂); 53,3 (СН); 38,0

(CH₃); 28,5 (CH₂); 25,9 (CH₂); 25,5 (CH₂); 15,9 (CH₃); 15,8 (CH₃); 9,4 (CH₃); 9,1 (CH₃).

3.5.1 Этил-5-(диэтоксифосфиламино)-3,4-диметансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **226**

Получен аналогично продукту **37 а**, с добавлением к пентанолу-3 10 мл воды. Продукт выделен в виде вязкой жидкости темно-желтого цвета.

Спектр ЯМР ¹H: (CDCl₃, δ м.д.) 6,59 (с, 1H, CH); 5,54 (т, 1H, CH, J=2,5); 5,07 (м, 1H, CH); 4,69 (т, 1H, CH, J=3,5); 4,18 (м, 3H, CH₃); 3,98 (м, 4H, 2CH₂); 3,32 (м, 9H, CH₂, 2CH₃, ½ CH₂); 3,01 (дд, 1H, ½ CH₂, J=4,3, J=3,9); 1,25 (м, 9H, 3 CH₃).

Спектр ЯМР ¹³C: (CDCl₃, δ м.д.) 165,07 (C=O); 139,34 (CH); 126,39 (C); 81,38 (CH); 75,65 (CH); 62,49 (CH₂); 61,34 (CH₂); 53,12 (CH); 52,94 (CH); 37,91 (CH₃); 30,97 (CH₂); 16,62 (CH₃); 16,32 (CH₃); 14,65 (CH₃); 14,48 (CH₃).

3.6 Этил(3R,4S,5R)-4-(диметоксифосфиламино)-5-метан-сульфонилокси-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37 b**

Получен аналогично соединению **37 а** из 20,4 г (0,14 моль) триметилфосфита и 47,5 г (0,12 моль) соединения **35**. После концентрирования промытой реакционной массы получают 63,5 г вязкого продукта с содержанием соединения **37b** 83 % (по данным ВЭЖХ). Для аналитических целей образец очищают препаративной хроматографией (элюент – этилацетат). В результате получают соединение **37b** в виде бесцветных кристаллов, T_{пл} = 97–98 °С.

Найдено (%): С 44,72, Н 6,98, N 2,94, S 7,11

Вычислено (%): С 44,63, Н 7,05, N 3,06, S 7,01

ИК-спектр ν/см⁻¹: 3196, 2963, 1712, 1660, 1466, 1359, 1340, 1306, 1264, 1234, 1178, 1105, 971, 909

Спектр ЯМР¹H (CDCl₃, δ м.д.) 6,85 (с, 1 H, CH), 5,01 (с, 1 H, CH), 4,22 (к, 2 H, CH₂, J=6,9), 4,04 (с, 1 H, CH), 3,77 (секст, 6 H, 2CH₃, J=10,5), 3,50 (к, 1 H, CH, J=6,7), 3,41 (т, 1 H, CH, J=5,6), 3,25 (т, 1 H, CH₂, J=10,1), 3,10 (с, 3 H, CH₃), 2,73

(д.д, 1 Н, CH₂, J=7,4, J=10,6), 1,55 (м, 4 Н, 2 CH₂), 1,33 (т, 3 Н, CH₃, J=8,3), 0,96 (к, 6 Н, 2 CH₃, J=7,1)

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ м.д.) 165,5 (C=O), 135,3 (CH), 128,6 (C), 81,6 (CH), 77,8 (CH), 73,7 (CH), 61,1 (CH₂), 53,6 (CH), 38,4 (CH₃), 28,8 (CH₂), 26,2 (CH₂), 25,9 (CH₂), 25,5 (CH₂), 14,2 (CH₃), 9,7 (CH₃), 9,4 (CH₃)

3.7 Этил(3*R*,4*S*,5*R*)-4-(диизопропоксифосфориламино)-5-метан-сульфонил-окси-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37с**

Получен аналогично соединению **37а** из 26,0 г (0,14 моль) триизопропилфосфита и 47,5 г (0,12 моль) соединения **35**. При упаривании промытой реакционной массы получают 67,5 г вязкого продукта с содержанием соединения **37с** (81 % по данным ВЭЖХ). Для аналитических целей образец очищают препаративной хроматографией (элюент – этилацетат). Получают соединение **37с** в виде жидкости светло-желтого цвета.

Найдено (%): С 49,21, Н 7,75, N 2,75, S 6,13

Вычислено (%): С 49,11, Н 7,85, N 2,73, S 6,24

ИК-спектр ν/см⁻¹: 2978, 2937, 1715, 1658, 1464, 1356, 1233, 1174, 1142, 1102, 982, 907, 836, 798, 749

Спектр ЯМР¹H (CDCl₃, δ м.д.) 6,715 (с, 1 Н, CH), 5,08 (т, 1 Н, CH, J=10,2), 4,87 (м, 1 Н, CH), 4,51 (м, 2 Н, 2 CH), 4,18 (к, 2 Н, CH₂, J=7,0), 3,99 (м, 1 Н, CH), 3,40 (с, 1 Н, NH), 3,32 (м, 1 Н, CH), 3,24 (м, 3 Н, CH₃), 2,71 (д.д, 1 Н, CH₂, J=5,9, J=13,5), 2,65 (д.д, 1 Н, CH₂, J=5,9, J=11,8), 1,48 (м, 4 Н, 2 CH₂), 1,24 (м, 15 Н, 5 CH₃), 0,86 (к, 6 Н, 2 CH₃, J=7,1)

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ м.д.) 166,2 (C=O), 135,0 (CH), 129,1 (C), 81,1 (CH), 74,4 (CH), 71,1 (CH), 70,1 (2 CH), 60,9 (CH₂), 53,6 (CH), 38,1 (CH₃), 28,5 (CH₂), 25,6 (CH₂), 24,1 (CH₃), 25,5 (CH₂), 14,5 (CH₃), 9,7 (CH₃), 9,4 (CH₃).

3.8 Этил(3*R*,4*S*,5*R*)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-метан-сульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **39**

К раствору 40,0 г **37 а** в 190 мл этанола добавляют 36,5 мл H₂SO₄(конц.) и выдерживают 16 ч при 78 °С. Массу разбавляют 380 мл этилацетата и 80 мл воды и нейтрализуют 20 %-ным раствором Na₂CO₃ до pH=6,5-7,0. Затем добавляют 7,7 мл (0,08 моль) уксусного ангидрида. Через 0,5 ч добавляют еще 3,8 мл (0,04 моль) уксусного ангидрида, поддерживая pH=6,5-7,0. Массу выдерживают 0,5 ч, переносят в делительную воронку и разделяют слои. Водный слой экстрагируют 240 мл этилацетата. Объединенный органический слой промывают 90 мл 5 %-ного раствора NaHCO₃, сушат над Na₂SO₄ в течение суток, отфильтровывают от осушителя и концентрируют под вакуумом на роторном испарителе до образования густой суспензии. Суспензию разбавляют 35 мл МТБЭ, выпавший кристаллический продукт отфильтровывают, промывают на фильтре МТБЭ. Получают 19,1 г ацетамида **39**. Фильтрат повторно концентрируют, обрабатывают МТБЭ и выделяют вторую порцию продукта (2,6 г). Фильтрат концентрируют, и остаток кристаллизуют из смеси МТБЭ – этилацетат (5,5:1). Всего получают 26,5 г (82,1%) **39** с T_{пл}=138-139 °С и содержанием основного вещества 98 %.

$$[\alpha]_{\lambda}^{22} = -85^{\circ} (\text{CHCl}_3).$$

Найдено (%): С 52,53; Н 7,96; N 3,22; S 7,83.

Вычислено (%): С 52,16; Н 7,47; N 3,58; S 8,19.

ИК-спектр: 3307, 1716, 1656, 1536, 1346, 1255, 1177, 1098, 1051 см⁻¹

Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ м.д.) 6,77 (с, 1 H, CH), 6,75 (м, 1 H, NH), 5,00 (с, 1 H, CH), 4,12 (м, 3 H, CH, CH₂), 3,99 (д, 1 H, CH, J=5,4), 3,28 (к, 1 H, CH, J=6,2), 2,97 (с, 3 H, CH₃), 2,69 (с, 2 H, CH₂), 1,90 (с, 3 H, CH₃), 1,42 (м, 4 H, 2 CH₂), 1,20 (т, 3 H, CH₃, J=6,9), 0,78 (т, 6 H, 2 CH₃, J=6,2),

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м.д.) 171,8 (C=O); 165,0 (C=O); 136,1 (CH); 127,6 (C); 78,2 (2 CH); 75,1 (2 CH); 61,2 (CH_2); 50,1 (CH_3); 48,7 (CH_2); 47,8 (CH_2); 38,3 (CH_3); 38,0 (CH_3); 30,0 (CH_2); 22,0 (CH_3); 13,6 (CH_3).

3.9 Этил(3R,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **43**

К 23,5 г (0,06 моль) **39** в 260 мл этанола добавляют раствор 11,7 г (0,18 моль) NaN_3 в 36 мл воды и выдерживают 24 ч при кипении. Реакционную смесь концентрируют под вакуумом, обрабатывают 200 мл этилацетата и 20 мл воды. Органический слой промывают 15 мл 20 % раствора NaCl и сушат над MgSO_4 в течение суток. Раствор фильтруют и упаривают под вакуумом до образования густой суспензии. Суспензию фильтруют, промывают МТБЭ 3x25 мл и выделяют первую порцию продукта (12,1 г). Фильтрат упаривают на половину и получают вторую порцию продукта (2,1 г). Фильтрат концентрируют полностью, остаток кристаллизуют из метилтретбутилового эфира и получают дополнительно 1,1 г **43**. Порции продукта (15,3 г) объединяют, кристаллизуют из 75 мл смеси метилтретбутиловый эфир – этилацетат (1 : 6,5, по объему). Получают 14,6 г (72,0 %) **43** с $T_{\text{пл.}}=137-138$ °С и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 98 %.

$[\alpha]_{\lambda}^{22} = -51,5^\circ$ (CHCl_3).

Найдено (%):. С 56.54; Н 7.52; N 16.62.

Вычислено (%):. С 56.79; Н 7.74; N 16.56.

ИК-спектр: 3270, 2972, 2105, 1716, 1660, 1563, 1375, 1332, 1254, 1079 cm^{-1}

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ) 7,15 (д, 1 H, CH, $J=8,4$), 6,7 (с, 1 H, CH), 4,03 (д, 1 H, CH, $J=8,0$), 3,91 (м, 1 H, CH), 3,80 (к, 2 H, CH_2 , $J=7,0$), 3,65 (д.д, 1 H, CH, $J=10,5$, $J=9,0$), 3,29 (т, 1 H, NH, $J=5,5$), 2,78 (д.д, 1 H, CH_2 , $J=5,5$, $J=12,5$), 2,18 (м, 1 H, CH_2), 1,97 (с, 3 H, CH_3), 1,44 (м, 4 H, 2 CH_2), 1,24 (т, 3 H, CH_3 $J=7,2$), 0,83 (м, 6 H, 2 CH_3)

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ м.д.) 171,2 (C=O); 165,7 (C=O); 138,1(CH); 127,8 (C); 82,1 (CH); 74,3 (CH); 60,9 (CH₂); 58,0 (CH); 56,3 (CH); 30,2 (CH₂); 26,0 (CH₂); 25,4 (CH₂); 23,3 (CH₃); 14,0 (CH₃); 9,3 (CH₃); 9,0 (CH₃).

3.10 Этил(3*R*,4*R*,5*S*)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат фосфат (осельтамивира фосфат)

В суспензию 13,0 г (0,05 моль) трифенилфосфина в 100 мл тетрагидрофурана при комнатной температуре последовательно добавляют 14,2 г (0,04 моль) **43** и 12 мл воды подкисленной двумя каплями уксусной кислоты. Смесь перемешивают без нагрева до прекращения теплового эффекта и затем нагревают до 45 °С и выдерживают при этой температуре и перемешивании в течение 16 ч. Реакционную массу концентрируют на роторном испарителе, остаток растворяют в 20 мл этанола и повторно концентрируют. Остаток, содержащий осельтамивир (**3**) и оксид трифенилфосфина, растворяют в смеси 24 мл этанола и 24 мл этилацетата. Полученный раствор медленно прикапывают в нагретый до 50-55 °С раствор 2,84 мл (6,12 г, 0,05 моль) 85 % H_3PO_4 в смеси 70 мл этанола и 70 мл этилацетата. При медленном охлаждении в течение 4-5 ч происходит кристаллизация фосфата осельтамивира. По истечении времени выдержки полученный кристаллический продукт фильтруют и промывают на фильтре ацетоном 4x10 мл. После сушки на воздухе получают 14,4 г (83,6 %) фосфата осельтамивира с $T_{\text{пл.}}=201-202$ °С, содержанием основного вещества 99,8 % по данным ВЭЖХ.

Фильтрат упаривают на роторном испарителе под вакуумом, остаток растворяют в этаноле и обрабатывают промывным ацетоном при интенсивном перемешивании. Полученную суспензию фильтруют, осадок промывают ацетоном 4 раза по 10 мл. После сушки на воздухе получают 1,9 г (10 %) фосфата осельтамивира с содержанием основного вещества 90,0 % по данным ВЭЖХ.

$$[\alpha]_{\lambda}^{22} = -34,2^{\circ} (\text{H}_2\text{O}).$$

Найдено (%): С 47.21; Н 7.42; N 6.76.

Вычислено (%): С 46.94; Н 7.39; N 6.84.

ИК-спектр: 3351, 3160, 2967, 2939, 2878, 1721, 1660, 1552, 1374, 1337, 1294, 1246, 1129, 1069, 1032, 951, 875, 731 cm^{-1}

Спектр ЯМР¹H (CDCl_3 , δ м.д.) 7,15 (д, 1 H, CH, $J=8,4$), 6,69 (с, 1 H, CH), 4,03 (д, 1 H, CH, $J=8,0$), 3,80 (кв, 2 H, CH_2 , $J=7,0$), 3,91 (м, 1 H, CH), 3,65 (д.д, 1 H, CH, $J=10,5$, $J=9,0$), 3,29 (т, 1 H, NH, $J=5,5$), 2,78 (д.д, 1 H, CH_2 , $J=5,5$, $J=12,5$), 2,18 (м, 1 H, CH_2), 1,97 (с, 3 H, CH_3), 1,44 (м, 4 H, 2CH_2), 1,24 (т, 3 H, CH_3 , $J=7,2$), 0,83 (м, 6 H, 2CH_3)

Спектр ЯМР¹³C (CDCl_3 , δ) 171,2 (C=O); 165,7 (C=O); 138,1 (CH); 127,8 (C); 82,1 (CH); 74,3 (CH); 60,9 (CH_2); 58,0 (CH); 56,3 (CH); 30,2 (CH_2); 26,0 (CH_2); 25,4 (CH_2); 23,3 (CH_3); 14,0 (CH_3); 9,3 (CH_3); 9,0 (CH_3).

3.10.1 Восстановление этил(3R,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата на катализаторе Pd/C

На плитку с магнитной мешалкой устанавливают водяную баню, в которую ставят плоскодонную колбу объемом 500 мл. В колбу загружают 1 г (0,03 моль) азида **43**, 0,1 г катализатора и приливают 50 мл спирта. Вакуумируют колбу, продувают 2 раза азотом, набирают водород. Включают перемешивание и нагревают, открывают кран для подачи водорода в колбу. Выдерживают в среде водорода в течение 15 ч при атмосферном давлении и температуре реакционной массы 50 °С. После чего реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, фильтруют под вакуумом. Получают осельтамивир-основание в виде раствора с содержанием основного вещества 76 % по данным ВЭЖХ. Фильтрат концентрируют под вакуумом на роторном испарителе. Остаток, содержащий осельтамивир-основание (**3**) растворяют в смеси этанола и этилацетата (10 мл, 1:1об.). Полученный раствор медленно прикапывают в нагретый до 50-55 °С раствор 0,17 мл (0,3 г) 85 %-ной H_3PO_4 в смеси этанола и

этилацетата (10 мл, 1:1). Суспензию продукта медленно охлаждают в течение 4-5 ч, полученный кристаллический продукт отфильтровывают и промывают на фильтре ацетоном (2×10 мл). После сушки на воздухе получают 1,26 г (60 %) фосфата осельтамивира с $T_{пл} = 201-202\text{ }^{\circ}\text{C}$ и содержанием основного вещества по данным ВЭЖХ 99,9 %.

$$[\alpha]_{\lambda}^{22} = -34,2^{\circ} (\text{H}_2\text{O}).$$

Найдено (%): С 47.21; Н 7.42; N 6.76.

Вычислено (%): С 46.94; Н 7.39; N 6.84.

ИК-спектр: 3351, 3160, 2967, 2939, 2878, 1721, 1660, 1552, 1374, 1337, 1294, 1246, 1129, 1069, 1032, 951, 875, 731 cm^{-1}

Спектр ЯМР¹H (CDCl_3 , δ м.д.) 7,15 (д, 1 H, CH, $J=8,4$), 6,69 (с, 1 H, CH), 4,03 (д, 1 H, CH, $J=8,0$), 3,80 (кв, 2 H, CH_2 , $J=7,0$), 3,91 (м, 1 H, CH), 3,65 (д.д, 1 H, CH, $J=10,5$, $J=9,0$), 3,29 (т, 1 H, NH, $J=5,5$), 2,78 (д.д, 1 H, CH_2 , $J=5,5$, $J=12,5$), 2,18 (м, 1 H, CH_2), 1,97 (с, 3 H, CH_3), 1,44 (м, 4 H, 2CH_2), 1,24 (т, 3 H, CH_3 , $J=7,2$), 0,83 (м, 6 H, 2CH_3)

Спектр ЯМР¹³C (CDCl_3 , δ) 171,2 (C=O); 165,7 (C=O); 138,1 (CH); 127,8 (C); 82,1 (CH); 74,3 (CH); 60,9 (CH_2); 58,0 (CH); 56,3 (CH); 30,2 (CH_2); 26,0 (CH_2); 25,4 (CH_2); 23,3 (CH_3); 14,0 (CH_3); 9,3 (CH_3); 9,0 (CH_3).

3.10.2 Этил(3*R*,4*R*,5*S*)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси)-циклогексан-1-карбоксилат фосфат (**227**).

Синтез проводят аналогично представленному в п.3.10.1 с 5 % Pd/C с увеличением времени гидрирования до 12 ч. Повторное заполнение колбы водородом (для удаления выделяющегося азота) приводит к поглощению 340 мл водорода и образованию продукта полного гидрирования. Длительным упариванием полученного спиртового раствора (после добавления H_3PO_4) на роторном испарителе под вакуумом получают 6,3 г кристаллического продукта **211**, т.пл. 216–217 $^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР¹H (CDCl₃, δ м.д., J/Гц) 4.09 (м, 2 H, CH₂, J = 7.1), 3.53 (м, 1 H, CH, J = 9.3), 3.35 (т, 1 H, CH, J = 9.3), 3.33 (т, 1 H, CH, J = 5.3), 3.09 (т, 1 H, CH, J = 8.9), 2.50 (с, 2 H, NH₂), 2.20 (т, 2 H, CH₂, J = 12.9), 1.87 (с, 3 H, CH₃), 1.37 (м, 5 H, 2 CH₂, CH, J = 12.9, J = 6.7), 1.19 (м, 4 H, CH₃, NH, J = 7.1), 0.79 (м, 6 H, 2CH₃, J = 7.6).

Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃, δ м.д.) 173.6 (C=O), 171.0 (C=O), 80.7 (CH), 75.5 (CH), 60.7 (CH₂), 55.7 (CH), 51.2 (CH), 37.8 (CH), 35.0(CH₂), 31.8 (CH₂), 26.0 (CH₂), 25.7 (CH₂), 23.8 (CH₃), 14.5 (CH₃), 9.9 (CH₃), 9.3 (CH₃).

Выводы:

- 1 Разработан рациональный метод синтеза фосфата осельтамивира, включающий 10 стадий позволяющий получать продукт с выходом 31 % в пересчете на (-)-шикимовую кислоту. Оптимизированы методы получения промежуточных и конечного продуктов;
- 2 Проведен комплекс исследований по влиянию природы кислотного катализатора на полноту прохождения реакции этерификации (-)-шикимовой кислоты этанолом. Впервые разработан способ получения этилового эфира шикимовой кислоты с использованием кислотного катализатора КУ-2-8 в паре с осушающим агентом цеолитом NaA, позволяющий получать этилового эфира шикимовой кислоты в кристаллическом виде с выходом 94 % и чистотой 99,5 % по данным ВЭЖХ.
- 3 Оптимизированы температурно-временные условия получения этилового эфира (3R,4S,5R)-3,4,5-триметансульфоксициклогекс-1-еновой кислоты и подобран оптимальный растворитель, что позволило получать кристаллический продукт непосредственно из реакционной массы.
- 4 Исследован процесс азидирования этилового эфира (3R,4S,5R)-3,4,5-триметансульфоксициклогекс-1-еновой кислоты. Установлено, что определяющими факторами для успешного проведения синтеза является полярность растворителя и основность среды. Проведение синтеза в метиловом спирте с применением азид аммония в качестве азидирующего агента приводит к получению этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксацiclo-гекс-1-ен-1-карбоксилата с выходом 95 % и содержанием ароматических примесей не выше 5 %;
- 5 Исследовано влияние алкильных заместителей на скорость образования алкилфосфоазиридина и свойства образовавшихся продуктов. Впервые были получены и идентифицированы этил(3S,4S,5R)-4-

- диметилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37 б** и этил(3S,4S,5R)-4-диизопропил-фосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37 с**. Разработан простой метод получения и выделения этил(3S,4S,5R)-4-диэтилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-цикло-гекс-1-ен-1-карбоксилата **37 а** в кристаллическом виде, установлен состав примесей;
- 6 Разработан способ получения этил(3S,4S,5R)-4-амино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата обеспечивающий сохранность эфирной связи и селективность гидролиза амидной группы. Разработан способ ацетилирования этил(3S,4S,5R)-4-амино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонил-окси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата в мягких условиях, позволяющий повысить выход до 89 %. Показана возможность применения диизопропилфосфориламидного производного, как альтернативного диэтилфосфоамидному производному.
- 7 Проведены исследования по поиску селективного метода восстановления азидной группы в этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилате. При применении трифенилфосфина восстановление проходит селективно и приводит к получению фосфата осельтамивира с выходом 91 % и чистотой 99,9 %.

Приводимые сокращения

ДАНК	2-дезоксидезокси-2,3-дегидро-N-ацетилнейраминавая кислота
МОМ	метилоксиметильная группа
ТГФ	тетрагидрофуран
ДМФА	N,N-диметилформаид
ДИПЭА	диизопропилэтиламин
ДМАП	4-диметиламинопиридин
ММО	4-метилморфолин N-оксид
ФТБА	фторид третбутиламмония
ЭКГХ	N-(3-метиламинопропил)-N'-этилкарбодииид гидрохлорид
ДФФА	дифенилфосфориламин
БСИ	N-бромосукцинимид
ЦОД	циклооктадиен
ДМП	Десс-Мартин периодинан
ДЭАК	диэтилазидокарбоксилат
м-ХПБК	м-хлорпербензойная кислота
ДБУ	1,8-диазабицикло[5.4.0]ундек-7-ен
TM ₃ OTf	триметилсилил трифторметансульфонат
BH ₃ · MeS	боран метилсульфид
ТССА	трихлоризоциановая кислота
ТЕМРО	(2,2,6,6-тетраметилперидин-1-ил)оксил
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЖХ	газо-жидкостная хроматография
ИК	инфракрасная хроматография
ЯМР	ядерно-магнитный резонанс
Rt	комнатная температура

Список литературы

- 1 Kelvin, K.W. Avian influenza A H5N1 virus: a continuous threat to humans / K.W. Kelvin, Tak-Lun Que, Jacky M.C. Chan, Kay-Yan Tsang, et al. // *Emerging Microbes and Infection*. – 2012. – Vol.1. – P.1-12.
- 2 Fischetti, M. Flue vaccine preparing for battle / M. Fischetti // *Sci. Am.* – 2001. – Vol. 284. – P. 82-83.
- 3 Laver, W. G. The origin and control of pandemic influenza / W. G. Laver, N. Bischofberger., R. G. Webster // *Perspect. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 43. – P. 173-192.
- 4 Meindl, P. Inhibition of neuraminidase activity by derivatives of 2-deoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid / P. Meindl, G. Bodo, P. Palese., J. Schulman et al. // *Virology*. – 1974. – Vol. 58. – P. 457-463.
- 5 Palese, P. Inhibition of influenza virus replication in tissue culture by 2-deoxy-2,3-dehydro-N-trifluoroacetylneuraminic acid (FANA): mechanism of action / P. Palese, R. W. Compans // *J. Gen. Virol.* – 1976. – Vol. 33 – P.159-163.
- 6 Palese, P. Inhibition of influenza and parainfluenza virus replication in tissue culture by 2-deoxy-2,3-dehydro-N-trifluoroacetylneuraminic acid (FANA) / P. Palese, J. L. Schulman, G. Bodo, P. Meindl // *Virology*. – 1974. – Vol. 59. – P. 490-498.
- 7 Varghese, J. N. Structure of the influenza virus glycoprotein antigen neuraminidase at 2.9 Å resolution / J. N. Varghese, W. G. Laver, P. M. Colman // *Nature*. – 1983. – Vol. 303. – P. 35-40.
- 8 Colman, P. M. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase / P. M. Colman, J. N. Varghese, W. G. Laver // *Nature*. – 1983. – Vol. 303. – P. 41-44.
- 9 Burch, J. Prescription of anti-influenza drugs for healthy adults: a systematic review and meta-analysis. / J. Burch, M. Corbett, C. Stock, K. Nicholson, et al. // *The Lancet. Infectious diseases*. — 2009. — Vol. 9, № 9. — P. 537–545.

10 Magano, J. Synthetic Approaches to the Neuraminidase Inhibitors Zanamivir (Relenza) and Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) for the Treatment of Influenza / J. Magano // Chem. Rev. – 2009. – Vol.10. – P. 4398–4438.

11 Rohloff, J. C. Total Synthesis of the Anti-Influenza Drug GS-4104 / John C. Rohloff, Kenneth M. Kent, Michael J. Postich et al // J. Org. Chem. – 1998. – Vol.63. – P 4545-4550.

12 Abdel-Magid, A. F. Synthesis of influenza neuraminidase inhibitors / A. F. Abdel-Magid, C. A. Maryanoff, S. J. Mehrman // Curr. Opin. Drug Discovery Dev. – 2001. – Vol.4. – P.776.

13 Wilson, J. C. Recent strategies in the search *for* new anti-influenza therapies / J. C. Wilson, M.von Itzstein // Curr Drug Targets. –2003. – Vol. 4(5):– P. 389–408.

14 Laver, W.G. The origin and control of pandemic influenza / W.G. Laver, N. Bischofberger, R.G. Webster // Perspectives in Biology and Medicine. – 2000. – Vol. 43. – P. 173-192.

15 Laver, W.G. Disarming flu viruses / W.G. Laver, N. Bischofberger, R.G. Webster // Sci. Am. – 1999. – Vol. 280 – P. 78-87

16 Girard M.P., Cherian T., Pervikov Y., Kieny M.P. A review of vaccine research and development: human acute respiratory infections. Vaccine 2005; 23, 5708-24.

17 Shah N.S., Greenberg J.A., McNulty M.C. et al. Severe Influenza in 33 US Hospitals, 2013-2014: Complications and Risk Factors for Death in 507 Patients. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 2015; 36, 1251-60.

18 WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic Influenza A (H1N1) and other Influenza Viruses. 2009. Part I: Recommendations. February 2010. – [Электрон ресурс]. – Режим доступа: http://www.who.int/csr/resources/publications/Data_dostupa: 12.07.2014. swineflu/h1n1_use_antivirals_20090820/en/.

19 WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic Influenza A (H1N1) and other Influenza Viruses. 2009. Part II: Review of evidence. February 2010. – [Электрон. ресурс]. – Режим доступа:

<http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/>Дата доступа: 12.07.2014.
h1n1_use_antivirals_20090820/en/.

20 Dawood F.S., Iuliano A.D., Reed C. et al. Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2012. № 12. P. 687–695.

21 Пат. 5763483 Соединенные Штаты Америки. Carbocyclic Compounds / Norbert W. Bischofberger at all; Gilead Sciences, Foster city, California заявлено 29.12.1995; опубл. 9.06.1998, Бюл № 774345. — 74 с: ил.

22 Пат. 5952375 Соединенные Штаты Америки. Compounds and methods for synthesis and therapy / Norbert W. Bischofberger, Choung U. Kim, Willard Lew, at all заявлено 26.02.1996; опубл. 14.09.1999 Бюл. 08/606624 — 157 с: ил.

23 Abrecht, S. The Synthetic Development of the Anti-Influenza Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir Phosphate (Tamiflu): A Challenge for Synthesis & Process Research / S. Abrecht, P. Harrington, H. Iding, M. Karpf, at all // *Chimia.* — 2004. — Vol. 58. — P. 621-629.

24 Williams, M. A. Structure-activity relationship of carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors / M. A Williams, W. Lew, D. B. Mendel, C. Y. Tai, at all // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 1997. — Vol.7. — P. 1837-1842.

25 Lew, W. Stereospecific synthesis of a GS 4104 metabolite: determination of absolute stereochemistry and influenza neuraminidase inhibitory activity / W. Lew, P. A. Escarpe, D. B. Mendel, D. J. Sweeny, C.U. Kim // *Bioorg Med Chem Lett.* — 1999 — Vol 9 — P. 2811-2815.

26 Kim, C. U. Influenza Neuraminidase Inhibitors Possessing a Novel Hydrophobic Interaction in the Enzyme Active Site: Design, Synthesis, and Structural Analysis of Carbocyclic Sialic Acid Analogues with Potent Anti-Influenza Activity / C. U. Kim, W. Lew, M. A. Williams, H. Liu at all // *J. Am. Chem. Soc.* — 1997. — Vol. 119. — P. 681-690.

- 27 Kim, C. U. Structure-Activity Relationship Studies of Novel Carbocyclic Influenza Neuraminidase Inhibitors / Choung U. Kim, Willard Lew, Matthew A. Williams, Huiwei Wu at all. // *J. Med. Chem.* – 1998. – Vol.41 – P. 2451-2460
- 28 Graul, A. Oseltamivir phosphate: anti-influenza, neuraminidase (sialidase) inhibitor / A. Graul, P. A. Leeson, J. Castaner // *Drugs Fut.* – 1999. – Vol. 24 – P. 1189-1202.
- 29 Federspiel, M. Industrial Synthesis of the Key Precursor in the Synthesis of the Anti-Influenza Drug Oseltamivir Phosphate (Ro 64-0796/002, GS-4104-02): Ethyl (3*R*,4*S*,5*S*)-4,5-epoxy-3-(1-ethyl-propoxy)-cyclohex-1-ene-1-carboxylate / M. Federspiel, R. Fischer, M. Hennig at all // *Org. Process Res. Dev.* – 1999. – Vol. 3. – P. 266-274.
- 30 McGowan, D. A. (-)-Methyl cis-3-hydroxy- 4,5-oxycyclohex-1-enecarboxylate: stereospecific formation from and conversion to (-)-methyl shikimate; complex formation with bis(carbomethoxy)hydrazine / D. A McGowan, G. A. Berchtold, // *J. Org. Chem.* – 1981 – Vol. 46 – P. 2381-2383.
- 31 Knop, D.R. Hydroaromatic equilibration during biosynthesis of shikimic acid / D.R. Knop, K.M. Draths, S.S. Chandran, J.L. Barker // *J Am Chem Soc.* – 2001. – Vol. 123 (42) – P. 10173-10182.
- 32 Chandran, S. S., Phosphoenolpyruvate availability and the biosynthesis of shikimic acid. / S. S. Chandran, J. Yi, K. M. Draths, R. von Daeniken, W. Weber // *Biotechnol Prog.* – 2003. – Vol 19 (3) – P. 808-814
- 33 Karpf, M. New, Azide-Free Transformation of Epoxides into 1,2-Diamino Compounds: Synthesis of the Anti-Influenza Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) / M. Karpf, R. Trussardi // *J. Org. Chem.* – 2001. – Vol.66 – P. 2044–2051.
- 34 Harrington, P. J. Research and Development of a Second-Generation Process for Oseltamivir Phosphate, Prodrug for a Neuraminidase Inhibitor / P. J. Harrington, J. D. Brown, T. Foderaro, R. C. Hughes // *Org. Process Res. Dev.* – 2004. – Vol. 8 – P. 86-91.

35 Karpf, M. Efficient Access to Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) via the O-Trimesylate of Shikimic Acid Ethyl Ester / M. Karpf, R. Trussardi // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48 – P. 5760–5762.

36 Пат. 0076296 США, МКИ C07C 29/48. Preparation of oseltamivir phosphate // R. Trussardi – № 12/284,099; заявлено 18.09.2008; опублик. 19.03.2009 — 11 с.

37 Nie, L.-D. A novel asymmetric synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) from (-)-shikimic acid / Liang-Deng Nie, Xiao-Xin Shi // *Tetrahedron:Asim.* – 2009. – Vol. 20. – P.124–129.

38 Nie, L.-D. A Short and Practical Synthesis of Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) from (-)-Shikimic Acid / Liang-Deng Nie, Xiao-Xin Shi, Kwang Hyok Ko, Wei-Dong Lu // *J. Org. Chem.* – 2009. – Vol. 74. – P. 3970–3973.

39 Nie, L.-D. A novel and high-yielding asymmetric synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) starting from (-)-shikimic acid / Liang-Deng Nie, Wei Ding, Xiao-Xin Shi, Na Quan, Xia Lu // *Tetrahedron: Asymmetry* – 2012. – Vol. 23 – P. 742–747.

40 Nie, L.-D. Novel asymmetric synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) from (-)-shikimic acid via cyclic sulfite intermediates / Liang-Deng Nie, Xiao-Xin Shi, Na Quan, Fei-Feng Wang, Xia Lu // *Tetrahedron: Asymmetry* – 2011. – Vol. 22. – P. 1692–1699.

41 Shing, T. K.M. (-)-Quinic Acid in Organic Synthesis. 1. A Facile Synthesis of 2-crotonyloxymethyl-(4R,5R,6R)-4,5,6-trihydroxycyclohex-2-enone / T. K. M. Shing, Y. Tang. // *Tetrahedron* – 1990. – Vol. 46. – P. 6575-6584.

42 Kim, C.U. Influenza neuraminidase inhibitors possessing a novel hydrophobic interaction in the enzyme active site: design, synthesis, and structural analysis of carbocyclic sialic acid analogues with potent anti-influenza activity / C.U. Kim, W. Lew, M. A. Williams, H. Liu, L. Zhang at all. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1997 – Vol. 119. – P. 681-690.

43 Shing, T. K. M. (-)-Quinic acid in organic synthesis. 2. Facile syntheses of pseudo- β -D-mannopyranose and pseudo- β -D-fructopyranose. / T. K. M. Shing, Y. Tang, // *Tetrahedron* – 1991. – Vol. 47. – P. 4571-4578.

44 Cleopax, J. Easy route to shikimic and 4-epishikimic acid derivatives / J. Cleopax, J. Leboul, D. Mercier, A. Gaudemer, S. D. Gero // Bull. Soc. Chim. Fr. – 1971. – Vol.11 – P. 2992—2995.

45 Molin, H. Regio- and stereoselective synthesis of the carbocyclic analogue of 3-deoxy- β -D-manno-2-octulopyranosonic acid (β -KDO) from (-)-quinic acid / H. Molin, B. G. Pring //Tetrahedron Lett. – 1985 – Vol. 26 – P. 677-680.

46 Wan, X. Progress towards the total synthesis trichodermamides A and B construction of the oxazine ring moiety/ X. Wan; G. Doridot; M. M. Joullie // Org. Lett. – 2007 – Vol. 9–P. 977-980.

47 Trost, B. Steric steering with supported palladium catalysts / B. M. Trost, E. Kelnan //J. Am. Chem. Soc. – 1978. – Vol. 100 – P. 7779—7781.

48 Genet, J. P. Regio-and stereoselective palladium catalyzed amination of allylic substrates. Synthesis of E-4-amino-2-alken-1-ol derivatives / J. P. Genet, M. Balabane, J. E. Backvall, J. E. Nystrom // Tetrahedron Lett. – 1983. – Vol.24 – P. 2745—2748.

49 Lewbart, M. L. Preparation and properties of steroidal 17,20- and 20,21-acetonides epimeric at C-20. I. Derivatives of 5 β -pregnan-3 α -ol / M. L Lewbart, J. J Scheneider // J. Org. Chem. – 1969. – Vol. 34 – P. 3505—3512.

50 Corey, E. J. Useful Method for the Conversion of Azides to Amines / E. J. Corey, K. C. Nicolaou, R. D. Balanson, Y. A. Machida // Synthesis – 1975. — Vol. 9 – P. 590-591.

51 Knapp, S. Synthesis of the Ezomycin Octosyl Nucleoside / S. Knapp, W.-C. Shieh, C. Jaramillo, R. V. Trilles, S. R. Nanden // J. Org. Chem. – 1994. – Vol.59 – P. 946-948.

52 Hanessian, S. Total synthesis of (-)-reserpine using the chiron approach / S. Hanessian, J. Pan, A. Carnell, H. Bouchard, L. Lesage // J.Org. Chem. – 1997. – Vol. 62 – P. 465 – 473.

53 Пат. WO 2007/074091 A2 Соединенные Штаты Америки C07C 67/08, C07C 69/757. Epoxide intermediate in the Tamiflu synthesis / F. Hofmann-La Roche A. G. заявл. 18.12.2006; опубл. 5.07.2007, Бюл. № 069800 – 27 с: ил.

54 Cong, X. Ring-Closing Metathesis-Based Synthesis of (3*R*,4*R*,5*S*)-4-Acetylamino-5-amino-3-hydroxycyclohex-1-ene-carboxylic acid ethyl ester: a functionalized cycloalkene skeleton of GS4104 / X. Cong, Z.-J. Yao. // J. Org. Chem. – 2006. – Vol. 71. – P. 5635–5638.

55 Cong, X. RCM Approaches toward the Diastereoselective Synthesis of Vicinal *trans*-Diaminocyclitols from L-Serine / X. Cong, Z.-J. Yao// J. Org. Chem. – 2004. – Vol. 69. — P. 5314–5321.

56 Grubbs, R. H. Recent advances in olefin metathesis and its application in organic synthesis /R. H. Grubbs, S.Chang // Tetrahedron – 1998 – Vol. 54 – P. 4413-4450.

57 Shie, J-J. Synthesis of Tamiflu and its Phosphonate Congeners Possessing Potent Anti-Influenza / J-J. Shie, J.-M. Fang, S.-Y. Wang, K.-C. Tsai, Y.-S. E. at all. // J. Am. Chem. Soc. – 2007. – Vol. 129. – P. 11892–11893.

58 Streicher, H. Building a successful structural motif into sialylmimetics—cyclohexenephosphonate monoesters as pseudo-sialosides with promising inhibitory properties/ H. Streicher, H. Busseb // Bioorg. Med.Chem. – 2006. – Vol. 14 – P. 1047-1057.

59 Le1 Q. M. Avian flu: Isolation of drug-resistant H5N1 virus / Q. Mai Le1, Maki Kiso, Kazuhiko Someya, Yuko T. Sakai at all // Nature – 2005. – Vol. 437 – P. 1108.

60 Osato, H. Efficient Formal Synthesis of Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) with Inexpensive D-Ribose as the Starting Material/ H. Osato, I. L. Jones, A. Chen, C. L. L. Chai. // Org. Lett. – 2010. – Vol. 12. – P.60–63.

61 Gololobov, Y. G. Recent advances in the staudinger reaction / Y. G.Gololobov; L. F. Kasukhin // Tetrahedron – 1992. – Vol. 48. – P. 1353-1406

62 Chuanopparat, N. A concise and practical synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) from D-mannose / N. Chuanopparat, N. Kongkathip, B. Kongkathip // *Tetrahedron* – 2012. – Vol. 68. – P.6803-6809.

63 Wadsworth, W. S. The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis./ W. S. Wadsworth, W. D. Emmons // *J. Am. Chem. Soc.* – 1961. – Vol. 83 – P. 1733-1738.

64 Carr, R. Streamlined process for esterification and ketalization of shicimic acid en route to the key precursor for oseltamivir phosphate (Tamiflu)/ R. Carr, F. Ciccone, R. Gabel, M. Guinn, at all // *Green Chem.* – 2008. – Vol.10. – P.743-745.

65 Akkarasamiyo, S. An efficient synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) via a metal-mediated domino reaction and ring-closing metathesis / S. Akkarasamiyo, P. Wichienukul, N. Kongkathip, B. Kongkathip // *Tetrahedron Lett.* – 2010. – Vol. 51 – P. 3208–3210

66 Shangguan, N. The reaction of thio acids with azides: a new mechanism and new synthetic applications / N. Shangguan, S. Katukojvala, R. Greenberg, L. J. Williams // *J. Am. Chem. Soc.* – 2003. – Vol.125 – P. 7754–7755.

67 Abrecht, S. The Synthetic-Technical Development of Oseltamivir Phosphate Tamiflu / S. Abrecht, M. C. Federspiel, H. Estermann, R. Fischer, at all // *Chimia* – 2007. – Vol. 61 – P. 93–99.

68 Ishikura, M. A concise access to 6-azabicyclo[3.1.0] hexanes via high-pressure promoted cycloaddition reaction of azides to ABH / M. Ishikura, S. Kudo, A. Hino, N. Ohnuki at all // *Heterocycles* – 2000. – Vol. 53 – P.1499-1504.

69 Yeung, Y.-Y. A Short Enantioselective Pathway for the Synthesis of the Anti-Influenza Neuramidase Inhibitor Oseltamivir from 1,3-Butadiene and Acrylic Acid / Y.-Y. Yeung, S. Hong, E. J. Corey. // *J. Am. Chem. Soc.* – 2006. – Vol. 128 – P. 6310–6311.

70 Yamatsugu, K. A concise synthesis of Tamiflu: third generation route via the Diels–Alder reaction and the Curtius rearrangement / K. Yamatsugu, S. Kamijo, Y. Suto, M. Kanai, at all // *Tetrahedron Lett.* – 2007 – Vol. 48 – P. 1403-1406.

71 Satoh, N. A Practical Synthesis of (–)-Oseltamivir / N. Satoh, T. Akiba, S. Yokoshima, T. Fukuyama. // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2007. – Vol. 46 – P. 5734–5736.

72 Zutter, U. New efficient synthesis of oseitamivir phosphate (Tamiflu) via enzymatic desymmetrization of a meso 1,3-cyclohexanedicarboxylic acid diester / U. Zutter, H. Iding, P. Spurr, B.J. Wirz // *Org. Chem.* – 2008. – Vol. 73 – P. 4895-4902.

73 Fukuta, Y. De Novo Synthesis of Tamiflu via a Catalytic Asymmetric Ring-Opening of meso-Aziridines with TMSN₃ / Y. Fukuta, T. Mita, N. Fukuda, M. Kanai, at all // *J. Am. Chem. Soc.* – 2006. – Vol. 128 – P. 6312–6313.

74 Mita, T. Second Generation Catalytic Asymmetric Synthesis of Tamiflu: Allylic Substitution Route / T. Mita, N. Fukuta, F. X. Roca, M. Kanai, at all. // *Org. Lett.* – 2007. – Vol. 9 – P. 259–262.

75 Bohlmann, F. Ein neue Synthese von Cyclohexadien- derivaten / F. Bohlmann, C. Zdero // *Chem. Ber.* – 1973. – Vol. 106 – P. 3779–3787.

76 Okamura, H. Efficient short step synthesis of corey's tamiflu intermediate / H. Okamura, K. Kina, T. Hamada, T. Iwagawa // *Org. Lett.* – 2008. – V.10. – P. 815-816.

77 Yamatsugu, K. A Synthesis of Tamiflu by Using a Barium-Catalyzed Asymmetric Diels–Alder-Type Reaction / K. Yamatsugu, L. Yin, S. Kamijo, Y. Kimura, M. Kanai, M. Shibasaki // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48. – P. 1070—1076

78 Shie, J.J. A Concise and Flexible Synthesis of the Potent Anti-Influenza Agents Tamiflu and Tamiphosphor / J.J. Shie, J.M. Fang, C.H. Wong // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2008. – Vol. 47. – P. 5788-5791.

79 Bromfield, K.M. An iron carbonyl approach to the influenza neuraminidase inhibitor oseltamivir / K.M. Bromfield, H.H. Grade, D.P. Hagberg, T. Olsson, N. Kann // *Chem. Commun.* – 2007. – P. 3183-3185.

80 Matveenko, M. A chemoenzymatic synthesis of the anti-influenza agent Tamiflu / M. Matveenko, M.G. Banwell, A.C. Willis // *Tetrahedron Lett.* – 2008. – Vol. 49. – P. 7018-7020.

81 Ishikawa, H. High-Yielding Synthesis of the Anti-Influenza Neuramidase Inhibitor (-)-Oseltamivir by Three “One-Pot” Operations / H. Ishikawa, T. Suzuki, Y. Hayashi // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48. – P. 1304-1307.

82 Mandai, T. Efficient asymmetric synthesis of oseltamivir from d-mannitol. / T. Mandai; T. Oshitari // *Synlett.* – 2009. – P. 783-786.

83 Chuanopparat, N. et al A concise and practical synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) from D-mannose / Nutthawat Chuanopparat, Ngampong Kongkathip, Boonsong Kongkathip// *Tetrahedron.* – Vol.68. – 2012. – P. 6803-6809.

84 Chandran, S. Sunil, Yi Jian Phosphoenolpyruvate Availability and the Biosynthesis of Shicimic Acid/Sunil S. Chandran, Jian Yi, K.M. Draths, Ralph von Daeniken, Wolfgang Weber and J.W. Frost// *Biotechnologie Progress.*–2003.– Vol 19. – № 3. – P. 808-814

85 Sommerdijk, N. A. J. M., P. J. J. A. Buynsters at all Aziridines as Precursors for Chiral Amide-Containing Surfactants/ N. A. J. M. Sommerdijk// *J. Org. Chem.* – 1997. –V. 62– P. 4955-4960.

86 Fiona L. Lin, Helen M. Hoyt at all Mechanistic Investigation of the Staudinger Ligation/ F. L. Lin, H M. Hoyt// *J. Am. Chem. Soc.* – 2005. – V.127. – P. 2686-2695

87 Калашников, А. И. Поиск доступного метода синтеза фосфата осельтамивира / А. И. Калашников, С.В. Сысолятин, Е.Г. Сони́на, И.А. Сурмачева // *Ползуновский вестник.* – 2010. – № 4. – С. 151-157.

88 Калашников, А.И. Алкилфосфиты в синтезе фосфата осельтамивира / А.И. Калашников, С.В. Сысолятин, Е.Г. Сони́на // *Ползуновский вестник.* – 2013. – № 1. – С. 19-21.

89 Отчет о НИР, этап 1 «Разработка методов синтеза и основ технологии получения производных шикимовой кислоты» по проекту V.41.1.1 «Разработка методов синтеза и технологии получения субстанций лекарственных веществ». – Бийск, 2010. – 46 с. – Инв. № О-257.

90 Лабораторный регламент получения (3R,4R,5S)-4-ацетиламино-5-амино-3-(1-этилпропокси)-1-циклогексен-1-карбоксииэтилового эфира, фосфата, № ЛР10018691.02200.00017. – Бийск, 2010. – 41 с. – Инв. № ЛР-17.

91 Опытнo-промышленный регламент получения (3R,4R,5S)-4-ацетиламино-5-амино-3-(1-этилпропокси)-1-циклогексен-1-карбоксииэтилового эфира, фосфата, № ОПР10018691.25200.00027. – Бийск, 2011. – 64 с. – Инв. № ОПР-27.

92 Опытнo-промышленный регламент получения (3R,4R,5S)-4-ацетиламино-5-амино-3-(1-этилпропокси)-1-циклогексен-1-карбоксииэтилового эфира, фосфата, № ОПР10018691.25200.00041. – Бийск, 2012. – 109 с. – Инв. № ОПР-43.

93 Kongkamnerd, J. De-Eknamkul at all Synthesis and in vitro study of novel neuraminidase inhibitors against avian influenza virus / J. Kongkamnerd // Bioorganic and Medicinal Chemistry. – 2012. – Vol. 20 – № 6. – P. 2152 – 2157.

94 Калашников, А.И. Доступный метод синтеза фосфата осельтамивира / А.И. Калашников, С.В. Сысолятин, Г.В. Сакович, Е.Г. Сони́на, И.А. Щурова // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2013. – №1. – С. 165–171.

95 А.Ф. Платэ, Б.А. Казанский Синтезы органических препаратов М.: Издательство иностранной литературы – 1953 г. –т. 4. – С. 492-493.

96 Г. Беккер, В. Бергер и др. Органикум. Практикум по органической химии М.: Мир. – 1979. – т.2. – С. 362-363.

Благодарности: Автор диссертации выражает благодарность к.х.н. Калашникову Александру Ивановичу и д.х.н., профессору Сысолятину Сергею Викторовичу за постановку стратегических и оперативных задач, а также за помощь при подготовке диссертации. А так же к.х.н. Щуровой Ирине Анатольевне за проведение анализов ВЭЖХ, старшему лаборанту Роговой Алле Ивановне за проведение элементного анализа, к.х.н. Малышину Валерию Викторовичу и м.н.с. Кулагиной Дарье Александровне за проведение анализов методом ЯМР-спектроскопии.

РАЗРАБОТКА ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ФОСФАТА ОСЕЛЬТАМИВИРА

Основными задачами при организации промышленного производства являются: достижение максимально возможного выхода конечного продукта и полупродуктов, возможность использования минимального количества оборудования, удобство загрузки и выделения продукта, минимальное количество отходов и регенерация растворителей. Простой перенос лабораторных методик на опытное производство оказывается невозможным и требует соответствующей доработки. Другой важный вопрос – определение требований и гарантированное. Поэтому методики синтеза были доработаны и проверены на опытно-промышленной установке ИПХЭТ СО РАН с выпуском опытной партии продукта. По результатам отработки были уточнены нормы расхода реагентов, выпущены фармакопейная статья предприятия на фармацевтическую субстанцию фосфата осельтамивира и опытно-промышленный регламент.

Некоторые стадии процесса получения фармацевтической субстанции фосфата осельтамивира проходят без выделения полупродуктов в чистом виде, поэтому процесс был разбит на восемь технологических стадий:

- 1 Получение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-тригидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилата;
- 2 Получение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонилоксо-циклогекс-1-ен карбоксилата;
- 3 Получение этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксо-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата;
- 4 Получение этил(3S,4S,5R)-4-(диэтоксифосфориламино)-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата и этил(3S,4S,5R)-

4-(диизопропоксифосфориламино)-3-(пент-3-ил-окси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата;

5 Получение этил(3S,4S,5R)-4-ацетиламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата;

6 Получение этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-азидо-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата;

7 Получение этил(3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-амино-3-(пент-3-илокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата (осельтамивир-основание);

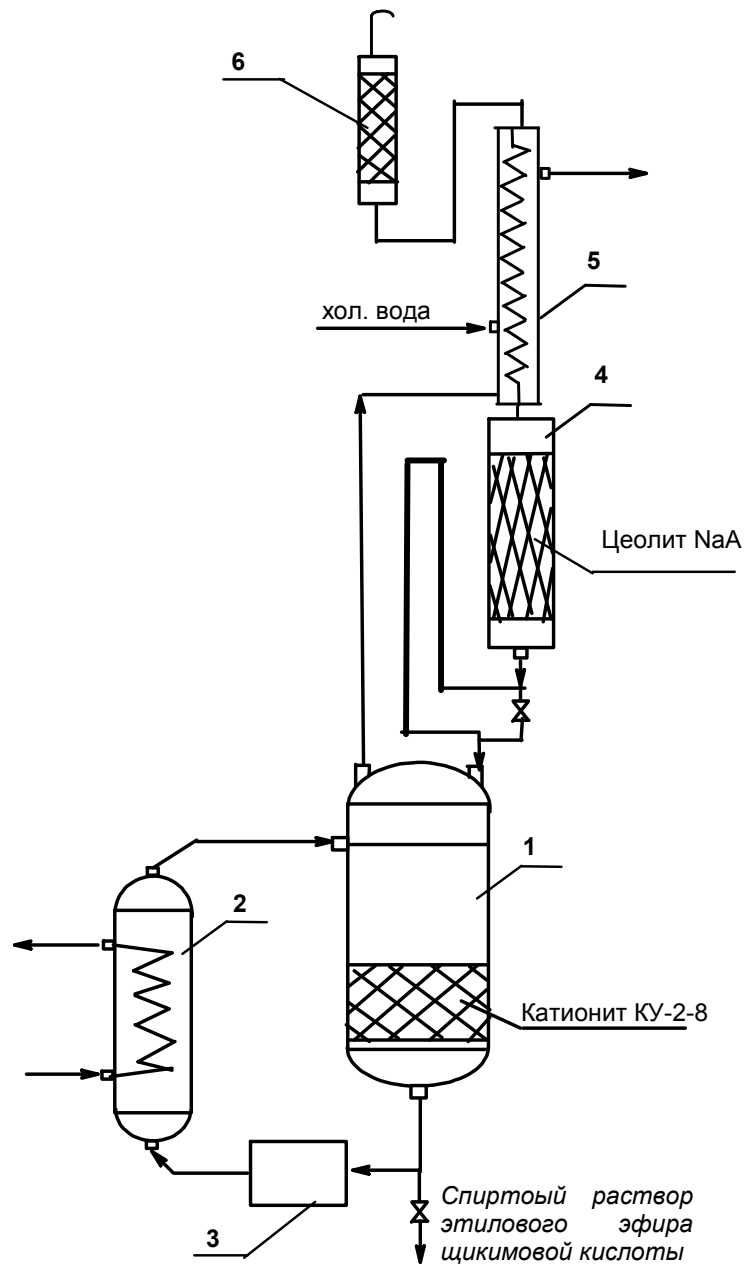
8 Получение фосфата осельтамивира.

По полученным результатам наработана опытная партия (1 кг фосфата осельтамивира) и разработана фармакопейная статья предприятия на фармацевтическую субстанцию фосфата осельтамивира.

Отработка условий получения этилового эфира шикимовой кислоты показала, что в случае проведения синтеза в реакторе с мешалкой происходит механическое измельчение катионита КУ-2-8, что осложняет его отделение от реакционной массы. При этом в лабораторных синтезах КУ-2-8 использовался многократно (до 12 циклов). необходимость проведения процесса в реакторе без механического перемешивания. Такие условия позволяют проводить процесс без истирания катионита КУ-2-8 и сохранения более длительной его работоспособности. Поэтому для промышленного производства предложена конструкция реактора с циркуляцией реакционной массы через слой катионита. В связи с чем, была предложена схема узла, приведенная на рисунке 40.

Технологический узел включает: проточный реактор 1 со слоем КУ-2-8, выносной нагреватель 2, оснащенный насосом 3 для циркуляции раствора, колонку с цеолитами NaA – 4, холодильник 5 для конденсации этанола. Для исключения попадания паров воды из воздуха сообщение установки с атмосферой осуществляется через осушительный патрон 6, заполненный цеолитами NaA. В процессе работы реакционная масса из реактора 1 с помощью насоса 3 подается в обогреватель 2, где нагревается до кипения. Пары этилового спирта поднимаются

по паровой линии и поступают на вход холодильника 5, где конденсируются и стекают через осушительную колонку 4 и возвращается в реактор 1.



1 – реактор со слоем КУ-2-8, 2 – выносной обогреватель; 3 – насос; 4 – осушительный патрон, заполненный цеолитом NaA; 5 – холодильник; 6 – осушительный патрон

Рисунок 40 — Технологическая схема узла получения этил (3R,4S,5R)-3,4,5-тригидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилата

Блок схема стадии получения этилового эфира шикимовой кислоты, представленная на рисунке 41, предусматривает повторное использование этанола и переработку остатков от кристаллизации этилового эфира шикимовой кислоты.

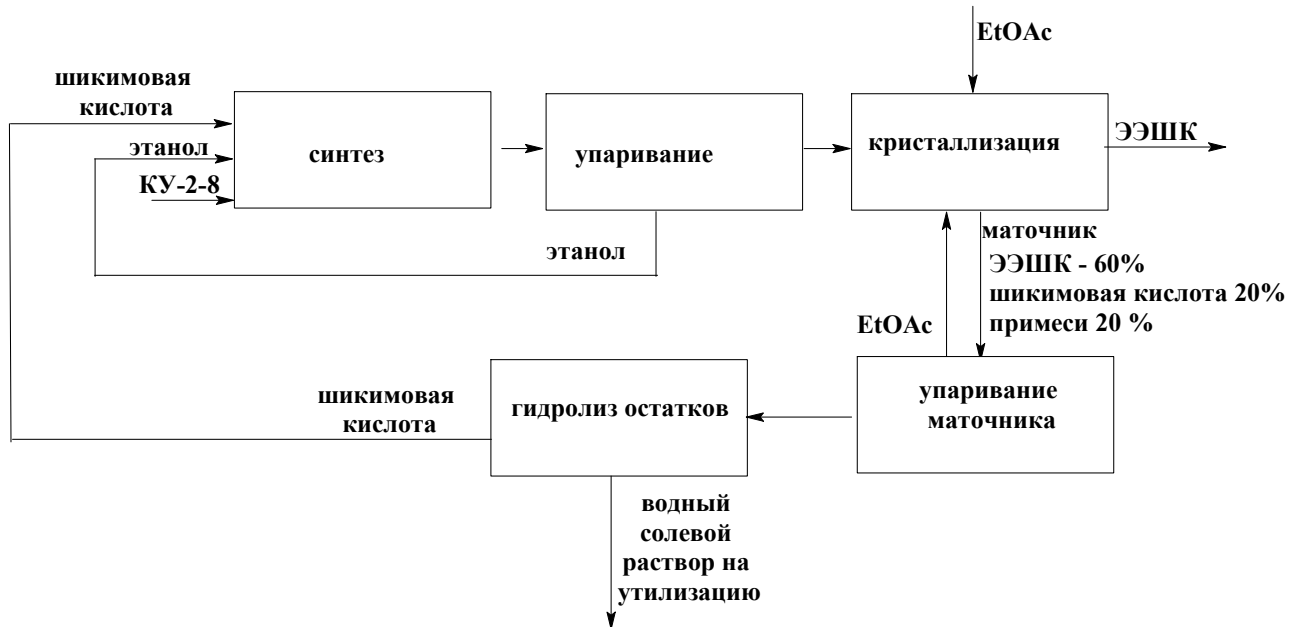
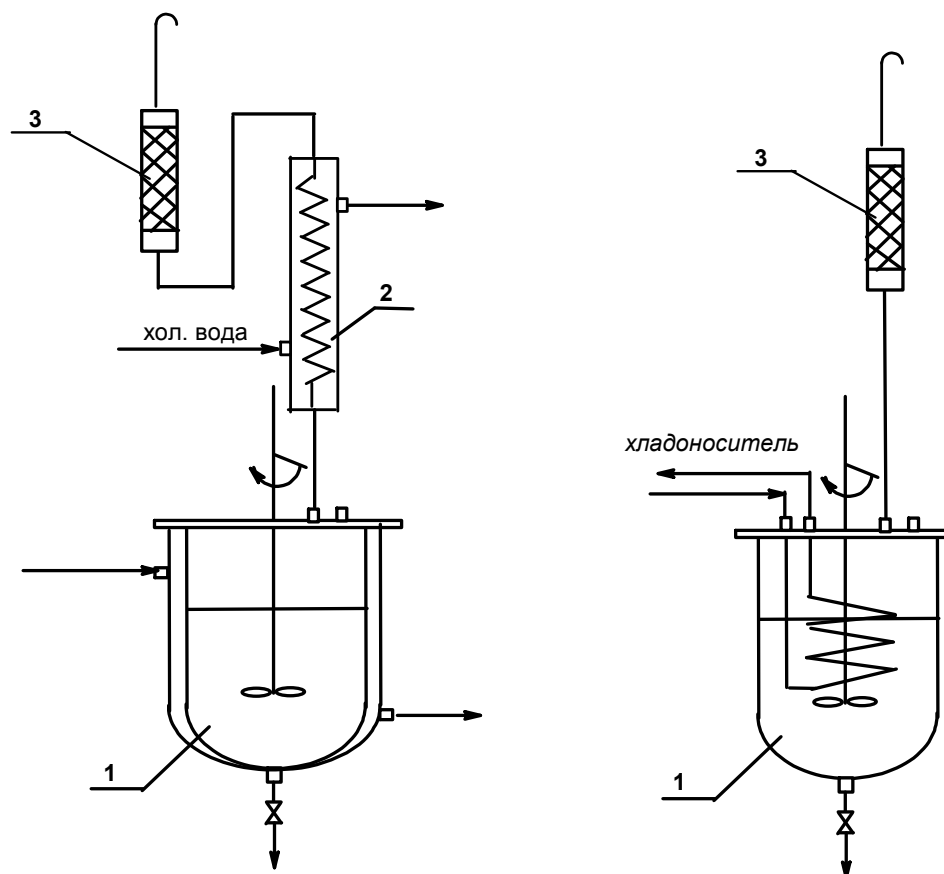


Рисунок 41 – Блок схема стадии получения этил(3R,4S,5R)-3,4,5-тригидрокси-циклогекс-1-ен карбоксилата

Для проведения всех остальных стадий процесса используются стандартные стальные или эмалированные реакторы (1) с мешалкой, оснащенные холодильником (2) для конденсации паров, осушительным патроном (3) для предотвращения попадания влаги из атмосферы и змеевиком для подачи теплоносителя (рисунок 42).



1- реактор; 2-холодильник; 3 - осушительный патрон

Рисунок 42 – Оборудование для проведения большинства стадий получения фосфата осельтамивира.

Для полного использования сырья и сокращения расхода компонентов заключительную стадию получения фосфата осельтамивира проводили в соответствии с блок-схемой (рисунок 43)

Проведение процесса согласно данной схеме предполагает растворение осельтамивира-основания в этаноле с последующей обработкой ортофосфорной кислотой в маточнике от финишной кристаллизации. Последний представляет собой смесь этилацетата и этанола в объемном соотношении 1:1 и содержанием фосфата осельтамивира 0,7-0,8 %. При медленном охлаждении в течение 4-5 ч происходит кристаллизация фосфата осельтамивира, кристаллический продукт отфильтровывают, а фильтрат упаривают. Отгон растворителей после получения кристаллического фосфата осельтамивира возвращают обратно в цикл, а остаток от упаривания обрабатывают ацетоном, для удаления остатков

трифенилфосфооксида. Этот продукт возвращают обратно в цикл кристаллизации.

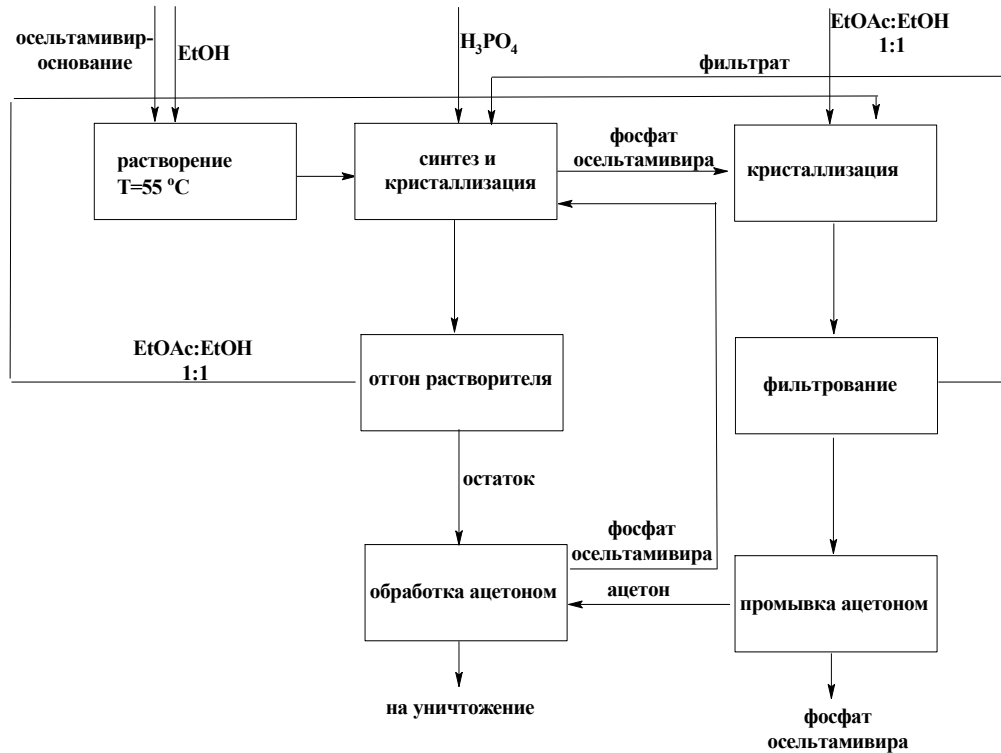


Рисунок 43 – Блок-схема получения фосфата осельтамивира

Кристаллический фосфат осельтамивира дополнительно кристаллизуют из вновь приготовленной смеси этанола и этилацетата в объемном соотношении 1:1. После фильтрации фильтрат отправляют на первую кристаллизацию, а продукт на фильтре дополнительно промывают ацетоном, который затем отправляется на обработку остатка после первой кристаллизации. В результате наработки опытной партии субстанции фосфата осельтамивира наработан 1 кг продукта с чистотой 99,9 %.

2 Разработка проекта фармакопейной статьи предприятия на субстанцию фосфата осельтамивира.

Показатели для проекта фармстатьи были выбраны в соответствии с требованиями ГФ XII и приведены в таблице 8. Определение сульфатной золы в фарфоровом тигле приводит к неполному выгоранию фосфатов и сильно завышает результаты (до 10 %). Анализ литературных данных показал что, ни в одной из фармстатей описывающих анализ субстанций содержащих соли фосфорной кислоты не определяется показатель сульфатной золы. Поэтому этот показатель исключен из ФСП.

Таблица 14 – Нормативная характеристика фосфата осельтамивира

Показатели	Требования к качеству по нормативному документу проект ФСП	Результаты анализа опытной партии
1. Описание	Белый или почти белый кристаллический порошок, без запаха или со слабым характерным запахом	соответствует
2. Растворимость	Легко растворим в воде, умеренно растворим в этаноле 96 %, практически не растворим в этилацетате	соответствует
3. Подлинность	ИК-спектр субстанции по положению полос поглощения должен соответствовать прилагаемому рисунку спектра фосфата осельтамивира	соответствует
	Характерная реакция на фосфаты	соответствует
4. Удельное вращение	От минус 30,5° до минус 39,9° в пересчете на сухое вещество (C= 10 г/л в воде)	Минус 34,2
5. Прозрачность 2 %-го раствора	2 % раствор субстанции в воде должен быть прозрачным	соответствует
6. pH 2 %-го раствора	От 4,0 до 6,0	4,4
7. Посторонние примеси: - любой единичной не идентифицированной примеси, % - суммы примесей, %	не более 0,5 не более 1,5	0,19 0,72
8. Тяжелые металлы, %	не более 0,001	менее 0,001
9. Вода, %	не более 2,0	0,7

Продолжение Таблицы 14

10. Потеря в массе при высушивании, %	не более 0,5	менее 0,1
11. Количественное определение, %	Не менее 98,0 % и не более 102,0 % в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество	100,4

3 Расходные коэффициенты по сырью на получение субстанции фосфата осельтамивира.

Расходные коэффициенты по сырью приведены в таблице 16. Значения коэффициенты рассчитаны для постоянной работы установки (наработка не менее 20 кг продукта) и соответствуют полученным при отработке на опытно промышленном производстве данным. Выход фосфата осельтамивира в пересчете на (-)-шикимовую кислоту составил 31 %.

Таблица 15 – Расходные коэффициенты по сырью

№ п/п	Наименование реагента	Расход реагента
		кг/кг
1	Азид натрия	1,419
2	Алюминия окись для хроматографии	0,279
3	Ангидрид уксусный	0,722
4	Ацетон	4,665
5	Аммоний хлористый	0,676
6	трет-Бутилметиловый эфир	16,974
7	Вода дистиллированная	67,278
8	Диэтиловый эфир	4,96
9	Кислота ортофосфорная	0,323
10	Кислота серная	3,906
11	Кислота соляная	0,564
12	Кислота уксусная	0,005
13	Метансульфонилхлорид	4,010
14	Натрия гидроокись	0,859
15	Натрий серноокислый	0,559
16	Натрий хлористый	1,094
17	Натрий углекислый	5,854
18	Натрий углекислый кислый	0,405
19	3-Пентанол	3,38
20	Спирт метиловый	9,722
21	Спирт этиловый	21,180

Продолжение Таблицы 15

22	Спирт изопропиловый	4,7*
23	Сульфат магния	2,235
25	Тетрагидрофуран	5,718
26	Толуол	20,884
27	Трифенилфосфин	0,855
28	Триэтиламин	3,935
29	Триэтилфосфит	1,318
30	Шикимовая кислота	1,676
31	Цеолит NaA	0,02
32	Этилацетат	49,981
33	Катионит КУ-2-8	0,216
34	Эфират BF ₃	1,042

Примечания *– с учетом регенерации