

На правах рукописи

Сонина Екатерина Георгиевна

**РАЗРАБОТКА РАЦИОНАЛЬНОГО СПОСОБА СИНТЕЗА
ФОСФАТА ОСЕЛЬТАМИВИРА**

02.00.03 – Органическая химия

Автореферат
Диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск-2018

Работа выполнена в лаборатории химии азотсодержащих соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (г. Бийск).

Научный руководитель

доктор химических наук, профессор
Сысолятин Сергей Викторович

Официальные оппоненты:

Иванов Андрей Викторович доктор химических наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, директор
Товбис Михаил Семенович
доктор химических наук, профессор, ФГБОУВО «Сибирский государственный университет науки и технологии им. академика М.В. Решетнева», профессор кафедры органической химии и технологии органических веществ

Ведущая организация

ФГБУН Институт Органического Синтеза им. И.Я. Постовского УО РАН

Защита состоится «7» ноября 2018 года в 16:30 часов на заседании диссертационного совета Д 212.269.04 на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 43а, 2-й корпус ТПУ.

С диссертацией можно ознакомиться в Научно-технической библиотеке федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск, ул. Белинского, 55 и на сайте <http://portal.tpu.ru/council/911/worklist>.

Автореферат разослан «___» _____ 2018 года.

И.о. _____ ученого _____ секретаря
диссертационного совета Д.212.269.04



Г.Б. Слепченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 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-триметилсульфонил-циклогекс-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 этанолом в присутствии катионита КУ-2-8 в качестве кислотного катализатора 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-метансульфонилокси-3-(пент-3-

илокси)-циклогекс-1-ен карбоксилат и этил(3R,4S,5R)-4-(диизопропоксифосфориламино)-5-метансульфонилоки-3-(пент-3-илокси)-цикло-гекс-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 и опробация работы: Основные результаты работы опубликованы в 5 статьях рекомендованных ВАК, 5 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.

Основное содержание диссертационной работы:

1 Методы получения фосфата осельтамивира.

В первой главе диссертации приведен литературный обзор известных способов получения фосфата осельтамивира и промежуточных соединений. Описаны методы получения фосфата осельтамивира, как на основе природных

источников сырья, так и на основе синтетических соединений. Проведен сравнительный анализ методов.

2. Разработка метода синтеза фосфата осельтамивира и получение промежуточных продуктов.

2.1 Поиск пути синтеза фосфата осельтамивира

Среди всего многообразия предлагаемых методов наиболее приемлемым остается метод получения фосфата осельтамивира основанный на (-)-шикимовой кислоте. Первоначально была исследована схема синтеза, приведенная на рисунке 1. Наибольшую сложность в этом процессе представляет введение пентоксигруппы в положение С-3 с нужной конфигурацией – получение неустойчивого продукта **6** оказалось плохо воспроизводимым.

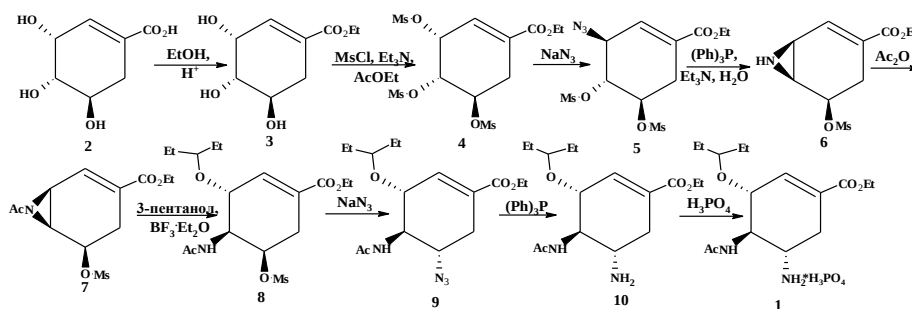


Рисунок 1 - Синтез фосфата осельтамивира разработанный в Китайском Университете науки и технологии.

Выбранный нами путь синтеза фосфата осельтамивира (рисунок 2) включает 10 химических стадий. Выход фосфата осельтамивира по разработанной схеме в пересчете на (-)-шикимовую кислоту составляет 31 % с содержанием основного вещества 99,9 % по данным ВЭЖХ.

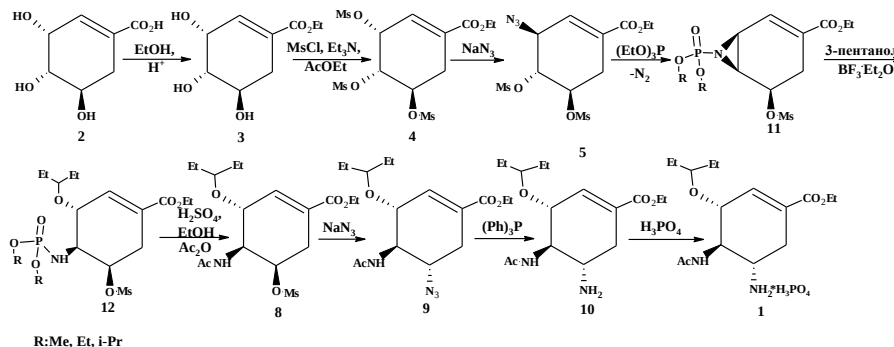
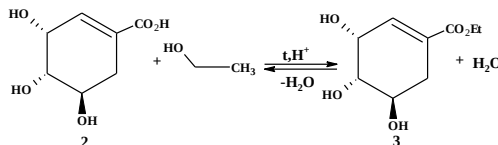


Рисунок 2. – Схема синтеза фосфата осельтамивира.

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

На первой стадии производится этерификация (-)-шикимовой кислоты этанолом, катализируемая сильными кислотами.



При использовании толуолсульфокислоты **3** получен в виде аморфных кристаллов, загрязненных толуолсульфокислотой с выходом 60 % (таблица 1).

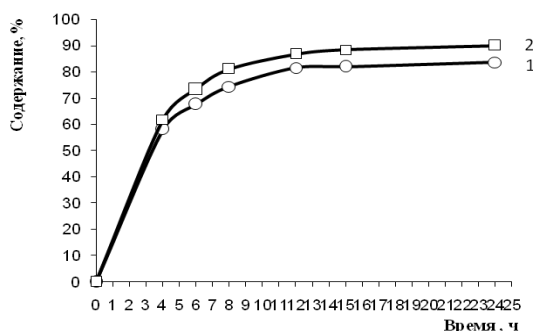
Использование тионилхлорида приводит к увеличению выхода основного продукта до 77 %, однако чистота продукта остается недостаточной.

Таблица 1 – Зависимость выхода этилового эфира шикимовой кислоты от природы кислотного катализатора

Кислотный катализатор	Время синтеза, ч	Конверсия 2 , %	Этилшикимат 3	
			Содержание по ВЭЖХ, %	Выход, %
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

Для удобства выделения продукта из реакционной массы был применен гетерогенный катализатор – КУ-2-8 в Н форме. По данным ВЭЖХ степень конверсии (-)-шикимовой кислоты при применении данного катализатора достигает 90 % (рисунок 3), в то же время этилшикимат был получен с выходом около 80 %.



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

Рисунок 3 – Зависимость содержания этилового эфира шикимовой кислоты в реакционной массе от продолжительности синтеза при

использовании катионита (соотношение катионит:(-)-шикимовая кислота 1:1) по ВЭЖХ.

При использовании для удаления выделяющейся воды триэтилортоформиата (1 моль на 1 моль исходной (-)-шикимовой кислоты) равновесие устанавливается через 30 ч при степени конверсии исходной кислоты 98,6 % (рисунок 4). Однако выделенный кристаллический продукт имеет содержание основного вещества 92,6 % по данным ВЭЖХ.

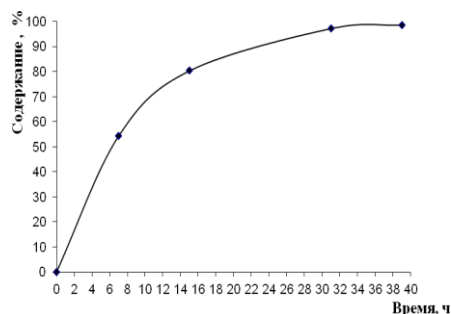
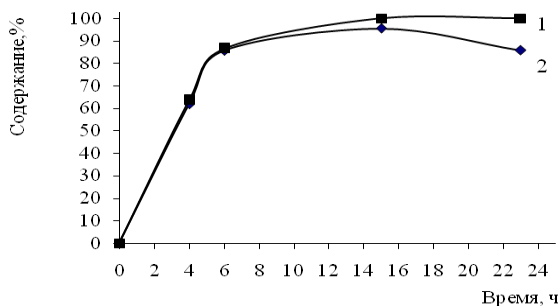


Рисунок 4 – Изменение содержания этилового эфира шикимовой кислоты во времени в синтезе с КУ-2-8 (соотношение КУ-2-8 : (-)-шикимовая кислота – 1:2) и триэтилортоформиатом.

Лучшие результаты обеспечивало удаление воды из реакционной массы при возврате конденсата этанола через колонку с цеолитом NaA. Исследование кинетики образования этилшикимата методом ВЭЖХ при соотношении (-)-шикимовая кислота: КУ-2-8 – 1:1 показывает (рисунок 5), что для установления равновесия достаточно 13–15 ч. За это время 99,5 % (-)-шикимовой кислоты вступает в реакцию. При дальнейшем кипячении реакционной массы за счет побочных реакций происходит снижение выхода целевого продукта.



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

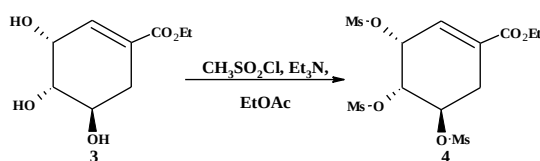
Рисунок 5 – Зависимость содержания этилшикимата в реакционной массе от продолжительности синтеза с применением катионита КУ-2-8 (соотношение КУ-2-8: (-)-шикимовая кислота – 1:1) и цеолитом NaA в качестве осушителя.

Таким образом, для оптимизации процесса получения этилового эфира шикимовой кислоты был проведен комплекс исследований и подобраны оптимальные условия. Разработанный метод 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, что значительно увеличивает выход и чистоту целевого продукта и полупродуктов на следующих стадиях.

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

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 **4** получают в полужидком виде, либо проводят реакцию в присутствии 4-диметиламинопиридина и получают кристаллический продукт длительной обработкой остатка водным метанолом.



Проведенные нами исследования с использованием ВЭЖХ показали, что применение 4-диметиламинопиридина не существенно увеличивает выход и полноту протекания реакции. Гораздо большее значение имеет соблюдение температурного режима при дозировке реагентов и в ходе прохождения реакции.

В качестве реакционной среды было проверено несколько растворителей: этилацетат, изопропилацетат, бутилацетат (таблица 2). Было установлено, что

применение менее полярных растворителей изопропилацетата и бутилацетата приводит к неполному протеканию реакции. Наиболее эффективным оказалось проведение реакции в среде этилацетата, так как в этом случае кристаллический продукт достаточной чистоты получают непосредственно из реакционной массы с содержанием основного вещества не ниже 98 % и выходом 88-89 %.

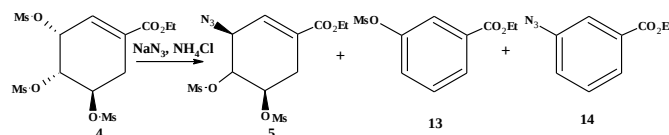
Таблица 2 – Зависимость выхода тримезилата **4** от растворителя

Растворитель	Выход 4 , %	Тпл, °С
EtOAc	89	98-99
i-PrOAc	78	98-99
BuOAc	70	98-99

В результате исследований определены температурно-временные условия проведения реакции, позволяющие упростить выделение этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата **4** в кристаллическом виде и повысить выход продукта до 89 %.

2.4 Получение этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметил-сульфонил-оксациклогекс-1-ен-1-карбоксилата.

Этил(3S,4R,5R)-3-азидо-4,5-диметилсульфонилоксацикло-гекс-1-ен-1-карбоксилат **5** образуется при обработке тримезилата **4** азидом натрия. 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 **13** и **14**.



При проведении реакции в водном ацетоне при температуре не выше 0 °С помимо основного продукта образовывалось около 10 % примесей. При исследовании влияния других растворителей: метанола, этанола, диоксана на содержание этих примесей находилось в пределах 8-12 %. В случае использования основного растворителя, N,N-диметилформамида, в качестве основных продуктов образуются ароматические соединения. Замена азид

натрия на азид аммония (получают из азидата натрия и хлорида аммония *in situ*) и проведение реакции в метаноле позволило снизить содержание побочных продуктов до уровня 3-5 % (таблица 3).

Полученный азид **5** используется на следующей стадии без дополнительной очистки. Поэтому основное требование к чистоте **5** – отсутствие остатков метанола и воды. Подбор эффективного осушителя показал достаточно высокую эффективность использования безводных MgSO_4 и CaCl_2 . при длительности сушки толуольного раствора **5** не менее 48 часов.

Таблица 3 – Условия азидирования этил(3R,4S,5R)-3,4,5-о-триметилсульфонил-циклогекс-1-ен карбоксилата

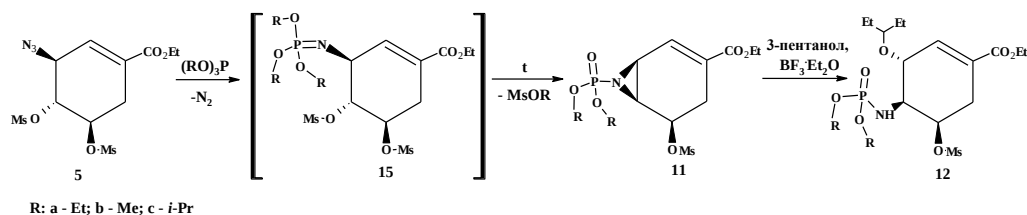
Растворитель	Продукты реакции с NaN_3 , %		Продукты реакции с NH_4N_3 , %	
	Содержание 13, 14	Выход 5	Содержание 13, 14	Выход 5
Ацетон:вода	57,4	37,8	14	64,5
Этанол	-	-	10	65,7
Диоксан	-	-	12	73,9
ДМФА	-	-	70	28,8
Метанол	5,8	86,3	3	95

Таким образом, определены условия, при которых азид **5** образуется с выходом 98 %, а содержание ароматических примесей не превышает 5 %. Установлено, что важное значение для проведения синтеза имеет полярность растворителя и основность среды. Проведен подбор эффективного осушителя и определены условия сушки толуольного раствора **5**, что является важным для проведения следующих стадий, чувствительных к присутствию воды. Полученный по разработанной методике продукт может быть использован на следующей стадии без дополнительной очистки.

2.4 Получение этил(3S,4S,5R)-4-диалкилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата.

Введение изопентильной группы в положение С-3 с конфигурацией **R** проводили по реакции Штаудингера при обработке азидата **5** триалкилфосфитом. В исследовании были использованы триметилфосфит, триэтилфосфит и триизопропилфосфит. Реакция протекает в две стадии: вначале происходит образование диалкоксифосфоазиридина **11**, а затем при обработке пентанолом-3 в присутствии эфира трехфтористого бора одновременное раскрытие

азиридинового цикла и введение изопентильной группы со сменой конфигурации с *S* на *R* и образованием фосфоамин **12**.



Образование промежуточного иминофосфита **15** проходит при комнатной температуре довольно быстро с выделением азота. Скорость реакции при этом уменьшается с увеличением молярной массы алкильного заместителя. (таблица 3). Для образования фосфоазиридина **11** достаточно 4-6 ч кипячения толуольного раствора иминофосфита **15**. Полученные диалкилфосфоазиридины **11 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 (таблица 4).

Диалкилфосфориламины **12 а-с** получали обработкой раствора алкилфосфоазиридинов **11 а-с** в смеси пентанола-3 и этилацетата эфиром трехфтористого бора. Анализ реакционной массы методом ВЭЖХ показывает, что содержание **12 а-с** в продуктах реакции находится на уровне 80–95 % (таблица 4).

Таблица 4 – Состав реакционной массы в синтезе фосфоазиридина **11** при использовании различных триалкилфосфитов

Соединение	Время реакции, ч		Состав продукта реакции по ВЭЖХ, %		
	T = 25 °C	T=112°C	11	5	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

Свойства и селективность образования диалкилфосфитов зависят от алкильного заместителя.

Диметилфосфориламид **12 в** удалось выделить в твердом виде кристаллизацией из гексана, однако выход очищенного кристаллического продукта очень мал. Диизопропилфосфориламид **12с** образуется в виде жидкости с содержанием основного вещества около 70–80 %. Продукт

растворяется практически во всех доступных растворителях, поэтому его очистка затруднительна. Диэтилфосфориламин **12a** достаточно легко кристаллизуется из реакционной массы. Для этого применяли раствор 5 %-ного водного бикарбоната натрия для отмывки от эфирата трехфтористого бора без 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 (таблица 5).

Таблица 5 – Зависимость выхода алкилфосфоамидов **12** от алкильного заместителя

Соединения	Содержание основного вещества по ВЭЖХ, %	Выход в пересчете на 4, %
12a	95	69,5
12b	95	31,5
12c	82	57

В качестве побочной была обнаружена реакция взаимодействия пентанола-3 с эфиром BF_3 , в результате которой по данным масс-спектрологии основным продуктом является 3-этоксипентан. Эти данные были учтены при разработке метода регенерации пентанола-3.

Структура полученных фосфоамидов **12** доказана с применением современных спектральных методов анализа (таблица 6).

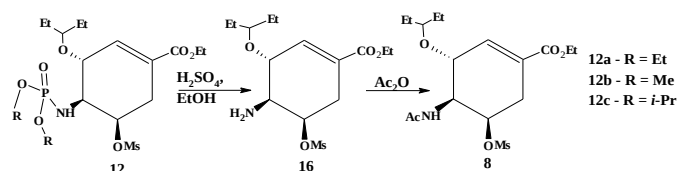
Таблица 6 – Спектральные характеристики полученных фосфоамидов **12 a-c**

	ЯМР ^1H CDCl_3 , δ м.д.	ЯМР ^{13}C CDCl_3 , δ м.д.
12a	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, 3 CH_3), 0,86 (к, 6 H, 2 CH_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)
12 b	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, 2 CH_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)
12c	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)

Таким образом, в результате проведенных исследований впервые были получены и идентифицированы диметилфосфориламин **12 в** и диизопропилфосфориламин **12 с**. Был разработан простой метод получения и выделения диэтилфосфориламина **12 а** в кристаллическом виде. Установлен состав примесей и разработан метод регенерации пентанола-3, что позволило 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.

Получение ацетамида **8** проводится в две стадии: гидролиз диалкилфосфоамида **12** и ацетилирование полученного амина **16**. Реакция проходит с сохранением исходной конфигурации диалкилфосфоамида **12**.



Реакцию гидролиза **12** проводили кипячением в смеси этанола с серной кислотой, что обеспечивает сохранность эфирной связи при прохождении гидролиза амидной группы. Для полного прохождения реакции достаточно 14-16 ч нагрева при температуре кипения. Изменение состава реакционной массы во времени при гидролизе **12 а** приведено на рисунке 6.

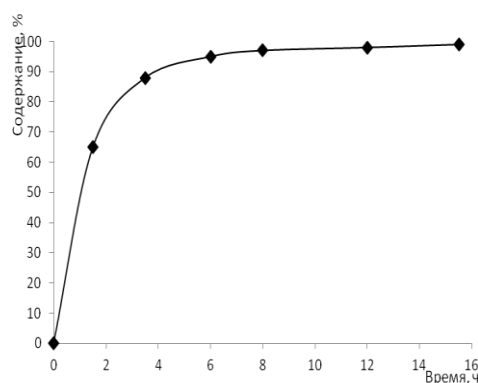


Рисунок 6 – Изменение содержания амина **16** во времени при гидролизе этилфосфоамида **12 а**.

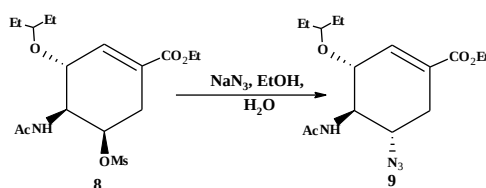
Ацетилирование проводят уксусным ангидридом без выделения промежуточного амина **16** из реакционной массы. Установлено, что

использование раствора карбоната натрия для поддержания слабощелочной реакционной среды во время дозировки уксусного ангидрида обеспечивает полное прохождение реакции. Реакция проходит достаточно легко при использовании 1,5 молей уксусного ангидрида и 30 мин выдержки.

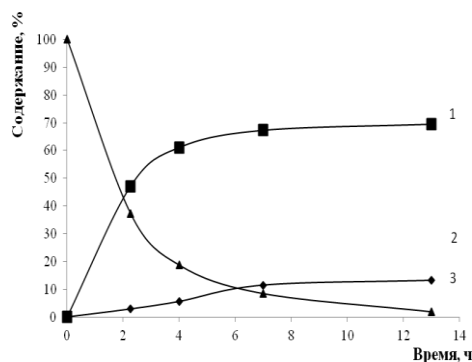
Выход ацетамида **8** из диэтилфосфориламида **12a** составил 82,8 %. При применении неочищенных диметилфосфориламида **12b** и диизопропилфосфориламида **12c** с содержанием примесей около 25 % выход ацетамида **8** в кристаллическом виде составил 49 % и 35 % соответственно.

Таким образом, исследована возможность применения при получении диметилфосфориламида **12 b** и диизопропилфосфориламида **12 c**. Разработан способ ацетилирования амина **16** в мягких условиях, позволяющий повысить выход и качество продукта.

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



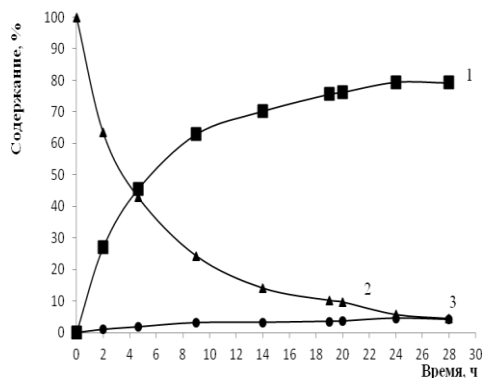
Нуклеофильное замещение мезильной группы на азидную проходит селективно по положению С-5 и сопровождается инверсией атома углерода с *R*-конфигурации на *S*-конфигурацию. Реакция проходит в среде этанола со значительной скоростью только при высокой температуре. Для полного протекания реакции требуется большой избыток азиды натрия. Так при проведении реакции при температуре кипения в этаноле и 3 молями NaN_3 на 1 моль ацетамида **8** степень конверсии 95 % достигается за 13 ч (рисунок 7).



1 - азид **9**; 2 – «примесь»; 3 – ацетамид **8**

Рисунок 7 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **9**. Мольное соотношение **8** : NaN₃ = 1:3.

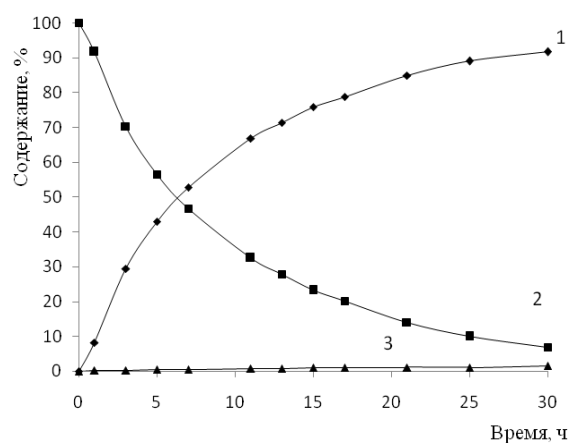
При сокращении количества азидата натрия до 2 молей для достижения этой же степени конверсии требуется около 30 ч (рисунок 8). Выход азидата **9** составил 72 %.



1 - азид **9**; 2 – ацетамид **8**; 3 – «примесь»

Рисунок 8 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азидата **9**. Мольное соотношение **8** : NaN₃ = 1:2

Использование вместо азидата натрия в качестве азидирующего агента при прочих равных условиях азидата аммония, получаемого непосредственно в реакционной массе из азидата натрия и хлорида аммония, также приводит к увеличению времени проведения реакции. При мольном соотношении ацетамида **8** 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 9).



1 - азид 9; 2 – ацетамид 8; 3 – «примесь»

Рисунок 9 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **9** с использованием азид аммония. Мольное соотношение **8** : $\text{NH}_4\text{N}_3 = 1:3$

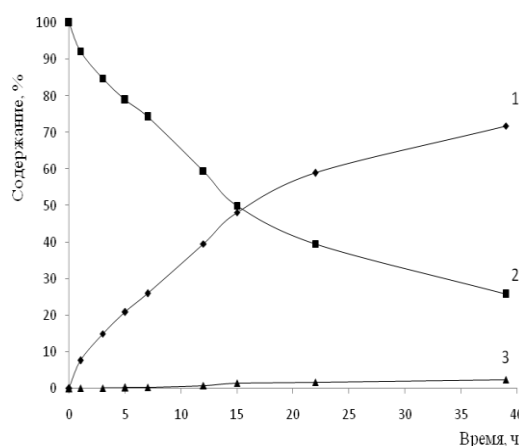


Рисунок 10 – Изменение состава реакционной массы во времени при получении азида **9** с использованием азид аммония. Мольное соотношение **8** : $\text{NH}_4\text{N}_3 = 1:2$

Уменьшение количества азид аммония до соотношения **8** : $\text{NH}_4\text{N}_3 = 1:3$ приводит к значительному увеличению времени реакции (рисунок 10). Конверсия ацетамида **8** по данным ВЭЖХ составила 73 % за 39 ч.

Таким образом, исследовано влияние мольного соотношения и природы азидирующего агента на процесс получения азида **9**. Оптимальным азидирующим агентом для данного процесса является азид натрия в мольном соотношении **8** : $\text{NaN}_3 = 1:3$. Образующаяся при этом примесь достаточно легко отделяется при кристаллизации продукта. Замена азид натрия на азид аммония приводит к увеличению времени прохождения реакции с 13 ч до 30 ч при

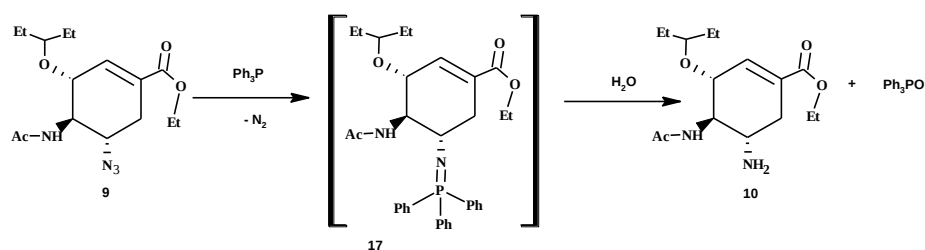
прочих равных условиях, но снижает содержание основной примеси с 10 % до 1,5 % по данным ВЭЖХ.

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

Осельтамивир **10** образуется в результате восстановления азидной группы в азида **9**. Молекула **9** 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.

Механизм процесса восстановления азидной группы в молекуле **9** трифенилфосфином включает три стадии. Вначале происходит образование азидофосфорана, от которого быстро отщепляется азот с получением иминофосфорана **17**.



Следующая стадия процесса – гидролиз полученного иминофосфорана **17** под действием воды. Процесс проходит достаточно долго (14 ч при температуре 45°C). Обязательное присутствие воды и достаточно высокая основность среды могут вызывать прохождение побочных реакций: гидролизу эфирной связи и ароматизации шестичленного кольца. Реакцию восстановления проводили в обводненном этаноле. Однако выход продукта в этих условиях составил всего 35 %. При изменении порядка дозировки (раствор азида **9** в этаноле постепенно добавляли к раствору трифенилфосфина) выход целевого

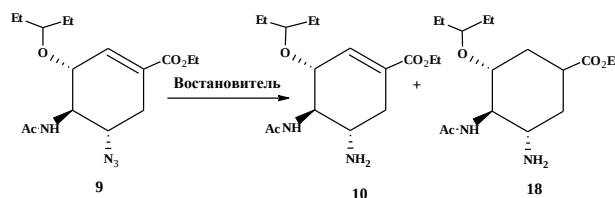
продукта увеличился до 66 %.(таблица 7). Наилучшие результаты обеспечивает проведение синтеза в среде тетрагидрофурана с последовательной дозировкой **9**, а затем воды к раствору трифенилфосфина.

Таблица 7 – Подбор условий синтеза фосфата осельтамивира при восстановлении **9** трифенилфосфином

№	Соотношение реагентов					Порядок дозировки	Выход 10*H₃PO₄ , %	Тпл °С
	9 , моль	Растворитель, мл	PPh ₃ , моль	Вода, мл	Кислота			
1	0,015	Этанол 50	0,013	10	-	PPh ₃ к 9	35	199 - 200
2	0,015	ТГФ 150	0,022	27,5	-	PPh ₃ к 9	62,4	200 - 201
3	0,015	МТБЭ 50	0,024	5	-	9 к PPh ₃	52,6	200 – 201
4	0,015	Этанол 80	0,022	10	-	9 к PPh ₃	66	199 -200
5	0,015	ТГФ 50	0,0225	9	CH ₃ COOH 2 капли	PPh ₃ к 9	75	201 -202
6	0,015	ТГФ 40	0,0215	7,2	H ₃ PO ₄ 0,2 мл	PPh ₃ к 9	58	201 – 203
7	0,015	ТГФ 35	0,0225	7	CH ₃ COOH 4 капли	PPh ₃ к 9	72	201 -202
8	0,53	ТГФ 1260	0,63	145	CH ₃ COOH 1 г	9 к PPh ₃	91	201-202

Процесс получения фосфата осельтамивира состоит в обработке осельтамивира-основания фосфорной кислотой в смеси этанола и этилацетата в соотношении 1:1. После кристаллизации и промывки ацетоном получили фосфат осельтамивира с выходом 91 % и чистотой по данным ВЭЖХ 99,9 %.

Метод восстановления азида **9** трифенилфосфином был применен при разработке технологического процесса. Однако наличие плохо удаляемого трифенилфосфооксида и токсичность трифенилфосфина приводит к поиску других методов восстановления.

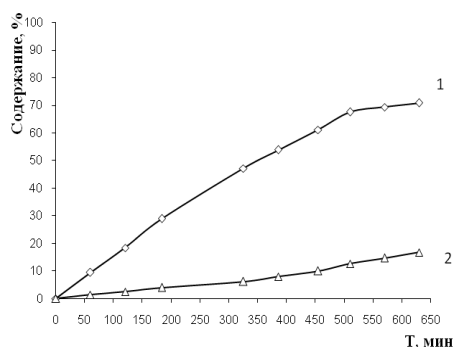


Восстановление азидогруппы в молекуле **9** с применением в качестве восстановителя боргидрида натрия в соотношении 1:1 при комнатной температуре проходит за двое суток на 70 %. В результате реакции образуется

смесь продуктов, содержащая кроме ожидаемого осельтамивира **10** продукт полного восстановления **18** в количестве 46 % по данным ВЭЖХ.

При восстановлении азида **9** в среде этанола при комнатной температуре в присутствии Pd/C (содержание Pd 5 %) в количестве 10 % от веса исходного азида **9** 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 **18**. Структура **18** была подтверждена методом ЯМР спектроскопии. 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 **9** и побочных продуктов реакции, а также продукт полного восстановления осельтамивира **18**.

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 11). Таким образом, показано, что гидрирование двойной связи происходит как у исходного азида **9**, так и у уже образовавшегося осельтамивира **10**.



1 — осельтамивир; 2 — продукт **18**

Рисунок 11 — Изменение состава реакционной массы во времени по данным ВЭЖХ при гидрировании водородом с использованием катализатора 1 % по весу Pd/C.

При восстановлении азидной группы **9** в присутствии катализатора никеля Ренея по известной методике получен продукт, содержащий **18** в

количестве 6 %. Выход очищенного продукта по литературным данным не превышал 85 %. Воспроизведение методики восстановления 5 % - ного раствора азида **9** 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 **10** 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 азида **9**.

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

В третьей главе представлены результаты экспериментальной работы и аналитические данные к продуктам и полупродуктам, полученным в процессе создания фосфата осельтамивира.

Приложение А: включает в себя краткое описание разработанной технологии получения фармацевтической субстанции фосфата осельтамивира, аппаратного оформления стадий процесса, ФСП и показатели качества разработанной субстанции, нормы расхода реагентов.

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 азида 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 b** и этил(3S,4S,5R)-4-диизопропил-фосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилокси-циклогекс-1-ен-1-карбоксилат **37 c**. Разработан простой

метод получения и выделения этил(3S,4S,5R)-4-диэтилфосфориламино-3-(пент-3-илокси)-5-метансульфонилоксицикло-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-метансульфонилокси-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-метансульфонилокси-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 %.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

- 1 Сони́на, Е.Г. Поиск доступного метода синтеза фосфата осельтамивира / Е.Г. Сони́на, А. И. Калашников, С.В. Сысолятин, И.А. Сурмачева // Ползуновский вестник. – 2010. – № 4. – С. 151-157.
- 2 Сони́на, Е.Г. 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.
- 3 Сони́на, Е.Г. Алкилфосфиты в синтезе фосфата осельтамивира / А.И. Калашников, С.В. Сысолятин, Е.Г. Сони́на // Ползуновский вестник. – 2013. – № 1. – С. 19-21.
- 4 Сони́на, Е.Г. Синтез фосфата осельтамивира на основе шикимовой кислоты/ Е.Г. Сони́на, А.И. Калашников, С.В. Сысолятин, Д.В. Бочков, И. А. Сурмачева // Вестник Алтайской науки. – 2012. – № 1. – С. 105-110.

- 5 Сони́на, Е.Г. Безотходная этерификация шикимовой кислоты / Е.Г. Сони́на, С.В. Сысоля́тин, А.И. Калашников // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 136-139.
- 6 Сони́на, Е.Г. Применение реакции Штаудингера в синтезе осельтамивир фосфата / Е.Г. Сони́на, А.И. Калашников // Перспективы создания и применения конденсированных высокоэнергетических материалов: материалы докладов IV научно-технической конференции молодых ученых 27-28 сентября 2012 г. (г. Бийск, Алтайский край). – С.74-78.
- 7 Сони́на, Е.Г. Этерификация шикимовой кислоты / Е.Г. Сони́на, А.И. Калашников // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы VI Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием 22-24 мая 2013 г (г. Бийск, Алтайский край) — С.223-225.
- 8 Сони́на, Е.Г. Технологичный синтез фосфата осельтамивира/ Е. Г. Сони́на, А.И. Калашников // Высокие технологии в современной науке и технике: сборник научных трудов II Всероссийской научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Высокие технологии в современной науке и технике» 27-29 марта 2013 г. (г. Томск) – Т.2.–С. 128-130.
- 9 Сони́на, Е.Г. Технология получения фосфата осельтамивира / Е.Г. Сони́на, А.И. Калашников, А.А. Арбагозова //Химия под знаком сигма:исследования, инновации, технологии сборник тезисов V Всероссийской научно-молодежной школы конференции 15-20 мая 2016 г. (г. Омск) 2016 – С.213-216
- 10 Сони́на, Е.Г. Способы получения фосфата осельтамивира / Е.Г. Сони́на, А.И. Калашников // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы IX Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием 18-20 мая 2016 г (г. Бийск, Алтайский край) — С.377-381.