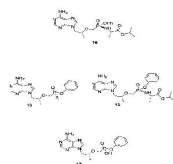


DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

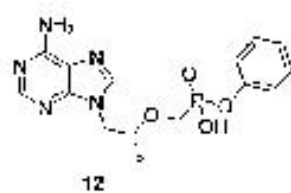
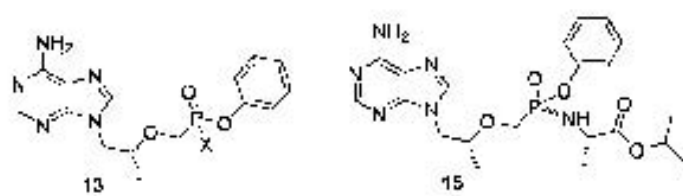
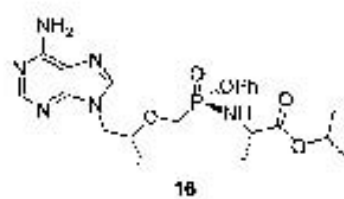


1	Título de la Invención (200 caracteres o espacios máximos)		
METODOS PARA PREPARAR ANALOGOS NUCLEOTIDICOS ANTIVIRALES			
2	Datos del Solicitante / Titular		
Nombre:	GILEAD SCIENCES, INC.	Dirección Electrónica:	sic@castellanosyco.co
Dirección:	333 Lakeside Drive, Foster City, California 94404, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - CALIFORNIA - FOSTER CITY
Identificación:			
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT	

Número: 90004807006-															
3	Solicitantes														
<table><tr><td>Apellidos - Nombres o Razón Social</td><td>Tipo</td><td colspan="2">Identificación</td></tr><tr><td>1. GILEAD SCIENCES, INC.</td><td>NN</td><td colspan="2">90004807006</td></tr></table>				Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación		1. GILEAD SCIENCES, INC.	NN	90004807006					
Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación													
1. GILEAD SCIENCES, INC.	NN	90004807006													
4	Datos del Inventor														
Nombre:		DENISE A. COLBY	Dirección Electrónica: sic@castellanosyco.co												
Dirección:		460 Monterey Boulevard, Apt. # 201, San Francisco, California 94127, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Domicilio/País de constitución: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - CALIFORNIA - SAN FRANCISCO												
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT ☒ No Aplica Número: -															
5	Inventor(es)														
<table><tr><td>Apellidos - Nombres</td><td>Domicilio</td></tr><tr><td>1. COLBY DENISE A.</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA</td></tr><tr><td>2. ROBERTS BENJAMIN JAMES</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA</td></tr><tr><td>3. SCOTT ROBERT WILLIAM</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA</td></tr><tr><td>4. MARTINS ANDREW ANTHONY</td><td>CANADA</td></tr><tr><td>5. WHITE NICOLE S.</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA</td></tr></table>				Apellidos - Nombres	Domicilio	1. COLBY DENISE A.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	2. ROBERTS BENJAMIN JAMES	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	3. SCOTT ROBERT WILLIAM	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	4. MARTINS ANDREW ANTHONY	CANADA	5. WHITE NICOLE S.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
Apellidos - Nombres	Domicilio														
1. COLBY DENISE A.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA														
2. ROBERTS BENJAMIN JAMES	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA														
3. SCOTT ROBERT WILLIAM	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA														
4. MARTINS ANDREW ANTHONY	CANADA														
5. WHITE NICOLE S.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA														
6	Datos Inventor(es)														

País de Residencia		Departamento/Estado		Ciudad	Dirección
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	CALIFORNIA		SAN FRANCISCO	460 Monterey Boulevard, Apt. # 201, San Francisco, California 94127, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	CALIFORNIA		SAN MATEO	49 36th Avenue, Apt. 22, San Mateo, California 94403, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
3.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	CALIFORNIA		SAN MATEO	449 W. Ellsworth Court, San Mateo, California 94401, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
4.	CANADA	ALBERTA		EDMONTON	124 Carlson Close, Edmonton, Alberta T6R 2J7, CANADA
5.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	CALIFORNIA		SAN MATEO	1919 Alameda De Las Pulgas, Apt.26, San Mateo, California 94403, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
7	Datos del Representante Legal / Apoderado				
Nombre:		MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO		Dirección Electrónica:	sic@castellanosyco.co
Dirección:		CALLE 94A 7A 09		Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT Número: 39779654-					
Presentación de Poder					

Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		PCT/US2012/000441	Fecha Solicitud:	03/10/2012
Número Publicacion:		WO 2013/052094	Fecha Publicacion:	11/04/2013
9	Declaraciones de prioridad		☒ SI ☐ NO	
1.	(33) País de origen ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	Codigo del país US	(31) No. Solicitud 61/544,950	(32) Fecha 07/10/2011
10	Reivindicaciones			
Número reivindicaciones:		20	Pago Reivindicaciones:	Si
11	Reducción de tasas.			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
12	Documentos Anexos			
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☐ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias ☒ Artes finales 12 x 12 cm ☒ Poderes, si fuere el caso ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad ☒ Otros Anexos				



MÉTODOS PARA PREPARAR ANÁLOGOS NUCLEOTÍDICOS ANTIVIRALES

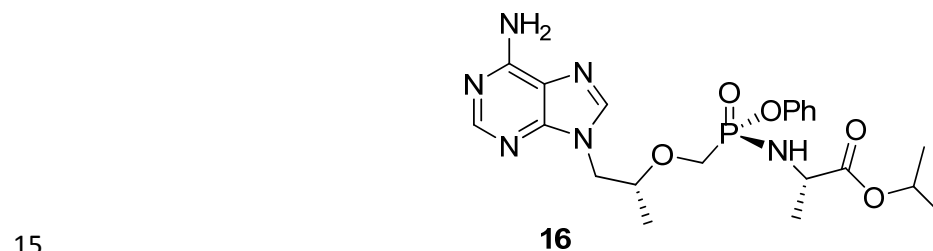
Referencia cruzada a Solicitud Relacionada

Esta solicitud reclama el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisoria de
 5 Patente de Estados Unidos No. 61/544.950, presentada el 7 de octubre, 2011, cuyo
 contenido se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Descripción de la Técnica Relacionada

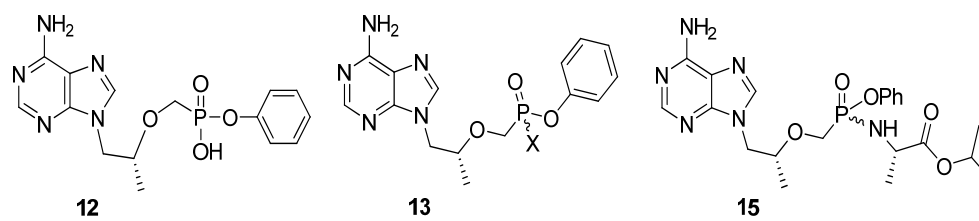
10 Las Patentes de Estados Unidos Nos. 7.390.791 y 7.803.788 (el contenido de
 cada una de ellas se incorpora a modo de referencia a la presente en su totalidad)
 describen ciertos profármacos de análogos nucleotídicos de fosfonato que son útiles en
 terapia. Un profármaco de ese tipo es 9-[(R)-2-[(S)-[(S)-1-
 (isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil]adenina (compuesto **16**):



Este compuesto es también conocido por el nombre del
 Chemical Abstract L-alanina, N-[(S)-[(1R)-2-(6-amino-9H-purin-9-yl)-1-
 metiletoxi]metil]fenoxifosfinil]-1-metiletil éster. Las Patentes de Estados Unidos Nos.
 20 7.390.791 y 7.803.788 también describen una forma de monofumarato de este compuesto
 y su método de preparación (ver, por ej., Ejemplo 4).

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

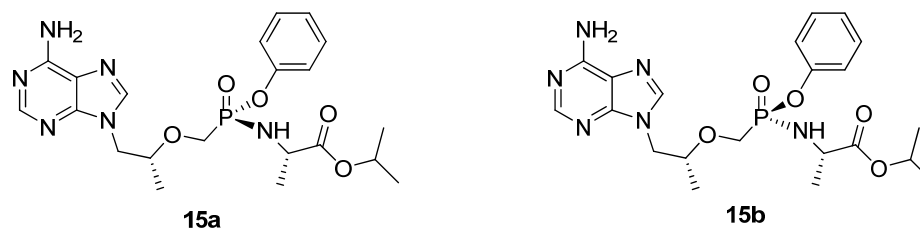
228128



son compuestos intermedios sintéticos que son útiles para preparar el compuesto

5 **16**. El compuesto **15** es ilustrado como una mezcla de diastereómeros en el centro de fósforo. Los dos diastereómeros que forman la mezcla de compuesto **15** son mostrados aquí como compuestos **15a** y **15b**. El isómero **15a** es idéntico en estructura al compuesto **16**.

10



Actualmente, existe la necesidad de métodos mejorados para preparar los compuestos **12**, **13**, **15**, y **16**. En particular, existe la necesidad de métodos mejorados para preparar los compuestos **13**, **15**, y **16** con pureza diastereomérica elevada. Dichos métodos mejorados pueden proporcionar rendimientos más elevados, pueden ser más fáciles de llevar a cabo, o pueden utilizar reactivos menos costosos o menos tóxicos que los métodos actualmente disponibles.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

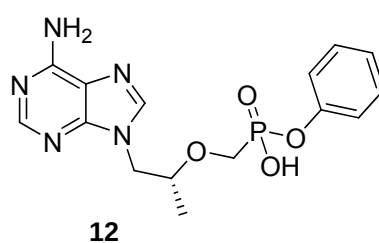
Se describe un método mejorado para aislar 9-((R)-2-(((S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil]adenina (compuesto **16**)

utilizando resolución dinámica inducida por cristalización; métodos mejorados para preparar los compuestos **13** y **15** con pureza diastereomérica elevada; y un método mejorado para preparar el compuesto **12**.

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

En otra realización, se proporciona un método para preparar el compuesto **13** el cual es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro mediante el tratamiento de una solución de tolueno de compuesto **12**:

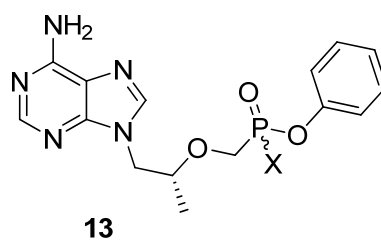
15



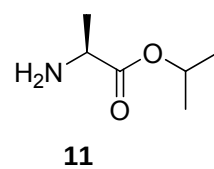
con cloruro de tionilo para proporcionar el compuesto **13**, donde X = Cl.

En otra realización, se proporciona un método para preparar 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**) que es el compuesto por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro **16**, que comprende tratar el compuesto **13**:

20



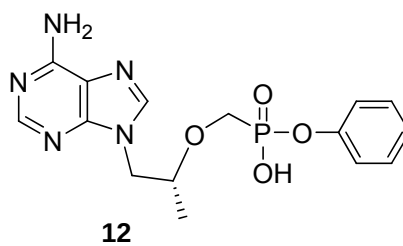
(donde X es halo) que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro con la amina **11**:



5

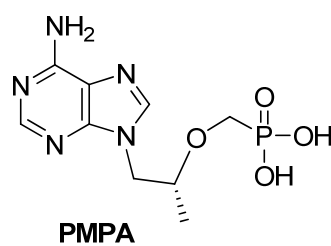
bajo condiciones que proporcionan el compuesto **15** que es el compuesto por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro **16** (es decir, isómero **15a**).

En otra realización, se proporciona un método para preparar el compuesto **12**:



10

que comprende tratar PMPA:



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

Se proporcionan además procesos novedosos y compuestos intermedios descritos en esta invención.

5

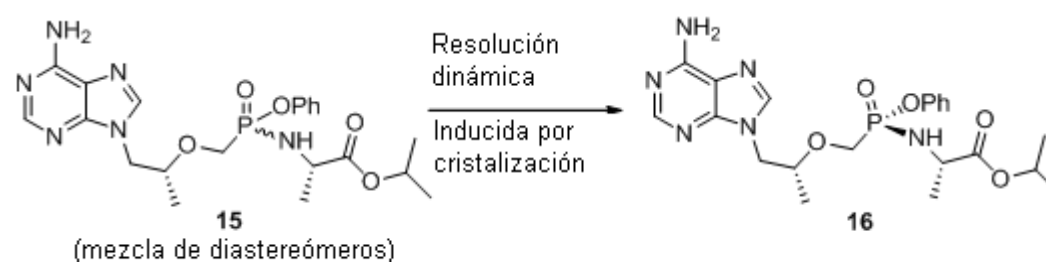
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

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

10 La preparación del Compuesto **16** mediante Resolución Dinámica inducida por Cristalización

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

15



para proporcionar 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]-amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **16**). El método comprende someter

20 una solución que comprende: a) un solvente adecuado; b) una base adecuada; c) 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}-fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina; y, opcionalmente, d) uno o más cristales semilla de 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-

(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)-metoxi]propil}adenina, a condiciones que proporcionan la epimerización del centro de fósforo, bajo condiciones que también proporcionan cristalización selectiva de 9-[(R)-2-[[[(S)-[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil]-adenina.

5 La cristalización puede llevarse a cabo en cualquier solvente adecuado. Por ejemplo, puede llevarse a cabo en un solvente orgánico aprótico, o en una mezcla del mismo. Por ejemplo, el solvente orgánico aprótico puede comprender acetato de etilo, acetato de metilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, dietil éter, diisopropil éter, tetrahidrofurano, diclorometano, acetona, metil etil cetona, metil *tert*-butiléter, tolueno, o
10 acetonitrilo, o una mezcla de los mismos. En una realización, el solvente comprende acetonitrilo.

La resolución puede llevarse a cabo en presencia de cualquier base adecuada. Por ejemplo, la resolución puede llevarse a cabo en presencia de una base seleccionada entre 1,5-diazobiciclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
15 (DBU), 7-metil-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (MTBD), tetrametilguanidina, una base Verkade (por ej., 2,8,9-triisopropil-2,5,8,9-tetraaza-1-fosfabicyclo[3.3.3]undecano, y 2,8,9-triisobutil-2,5,8,9-tetraaza-1-fosfabicyclo[3.3.3]undecano), un carbonato de metal (por ej., M_xCO_3), un fenóxido de metal ($M^+ ^-OPh$), y PhOTMS en combinación con una
20 fuente de ión fluoruro (por ej., $R_4N^+ ^-F$, TASF (difluorotrimetilsilicato de tris(dimetilamino)sulfonio), o TBAT (trifenildifluorsilicato de tetrabutilamonio), y sus mezclas, donde cada M es un metal adecuado tal como un metal alcalino o un metal alcalinotérreo, y cada R es, por ejemplo, un alquilo (C_1-C_6). En una realización específica, la base es DBU.

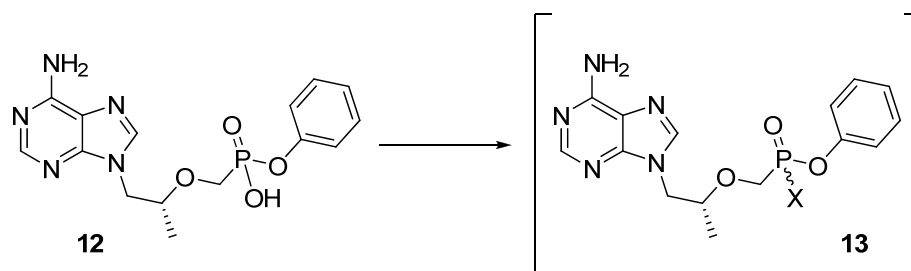
La resolución también puede llevarse a cabo a cualquier temperatura adecuada,
25 por ejemplo, una temperatura en el rango entre aproximadamente 0 °C y

aproximadamente 50 °C. En una realización específica, la resolución se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20 °C.

En una realización específica, la resolución se lleva a cabo en presencia de fenol.

El porcentaje de compuesto **16** en la mezcla diastereomérica de partida puede ser cualquiera dentro del rango entre aproximadamente 0% y aproximadamente 99%. En una realización de la invención, el porcentaje de compuesto **16** en la mezcla diastereomérica de partida está dentro del rango entre aproximadamente 0% y aproximadamente 20%. En una realización, el porcentaje de compuesto **16** en la mezcla diastereomérica de partida está dentro del rango entre aproximadamente 20% y aproximadamente 99%. En una realización, el porcentaje de compuesto **16** en la mezcla diastereomérica de partida está dentro del rango entre aproximadamente 50% y aproximadamente 99%. En una realización, el compuesto final **16** es por lo menos aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 97%, o aproximadamente 99% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto final **16** contiene menos del 1% de cualquier impureza diastereomérica. En una realización, el compuesto final **16** está libre de cualquier impureza diastereomérica detectable.

Preparación de Compuesto **13** que tiene Pureza Diastereomérica Elevada

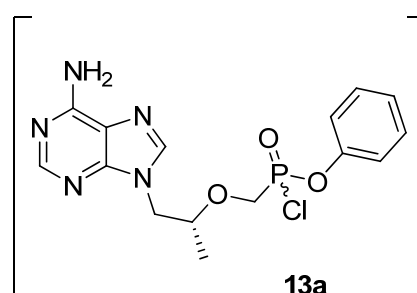


20

El compuesto **13** (donde X es halo) que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro se puede preparar mediante tratamiento del compuesto **12**

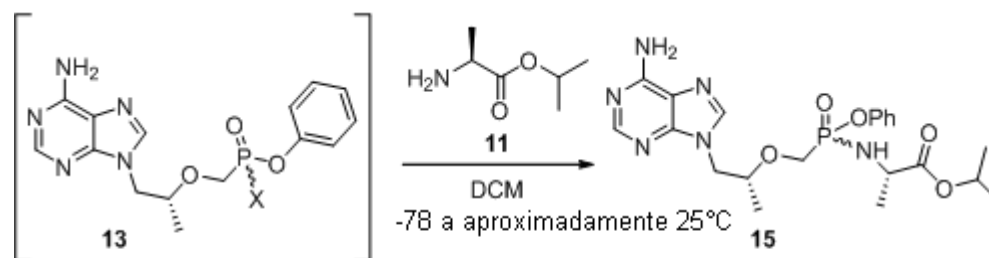
con un agente halogenante adecuado. Por ejemplo, el compuesto **13** se puede preparar mediante tratamiento del compuesto **12** con un agente halogenante tal como, por ejemplo, cloruro de tionilo (SOCl_2), cloruro de oxalilo ($\text{C}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$), tricloruro de fósforo (PCl_3), una sal de clorotrifetilfosforano, bromuro de tionilo (SOBr_2), bromuro de oxalilo ($\text{C}_2\text{O}_2\text{Br}_2$),
 5 tribromuro de fósforo (PBr_3), o una sal de bromotrifetilfosforano. La reacción puede llevarse a cabo en un solvente orgánico adecuado a una temperatura adecuada (por ej., una temperatura en el rango entre aproximadamente $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y aproximadamente $100\text{ }^\circ\text{C}$). Los solventes adecuados incluyen tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, diclorometano, acetonitrilo, tolueno, clorobenceno, 1,2-dicloroetano, 1,4-dioxano,
 10 sulfolano, y tricloroetileno, y sus mezclas.

En una realización, el compuesto **12** es tratado con cloruro de tionilo en tolueno a una temperatura entre aproximadamente $22\text{ }^\circ\text{C}$ y aproximadamente $110\text{ }^\circ\text{C}$ para proporcionar el compuesto **13a**:



15

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

Preparación de compuesto **15** con Pureza Diastereomérica Elevada

5 El compuesto **15** puede ser preparado tratando el compuesto **13** (donde X es halo) que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro con amina **11** bajo condiciones que proporcionan el compuesto **15** que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro en el isómero específico **15a**, también representado en esta invención como compuesto **16**. Por ejemplo, el compuesto **15**

10 puede ser preparado tratando el compuesto **13** con amina **11** en un solvente orgánico adecuado a una temperatura adecuada (por ej., una temperatura en el rango entre aproximadamente -78°C y aproximadamente 25°C). Los solventes adecuados incluyen solventes orgánicos tales como tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano, diclorometano, 1,2-dicloroetano, tricloroetileno, 1,4-dioxano, acetonitrilo, tolueno, clorobenceno, sulfolano, y acetato de isopropilo, y sus mezclas. La reacción puede llevarse a cabo, convenientemente, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, trietilamina $((\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N})$, *N,N*-diisopropiletilamina $([(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_2\text{NC}_2\text{H}_5)$, o 1,8-bis(dimetilamino)-naftaleno (esponja de protones, $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2$). Luego de la reacción, el material resultante puede lavarse con una solución acuosa que contiene un reactivo de

15 lavado adecuado, tal como, por ejemplo, fosfato sódico monobásico (NaH_2PO_4), bicarbonato potásico (KHCO_3), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), o bicarbonato sódico (NaHCO_3). La

20

solución orgánica resultante puede secarse sobre un agente de secado adecuado, por ejemplo, sulfato sódico, sulfato de magnesio, o cloruro de calcio para proporcionar el compuesto **15** que es el compuesto **16** por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro.

5 En una realización, el compuesto **13** que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro (donde X es cloro) es tratado con la amina **11** en diclorometano a una temperatura de -25°C a 25°C en presencia de trietilamina. Luego, la mezcla de reacción resultante se lava con una solución acuosa que contiene fosfato sódico monobásico (NaH_2PO_4) y bicarbonato de potasio (KHCO_3) y se seca sobre sulfato sódico para proporcionar el compuesto **15** que es el compuesto **16** por lo menos
10 aproximadamente 90% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto de partida **13** y el compuesto resultante **15** son por lo menos aproximadamente 95% o 97% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto final **15** contiene el compuesto **16** por lo menos aproximadamente 90%, aproximadamente 95%,
15 aproximadamente 97%, o aproximadamente 99% diastereoméricamente puro. En una realización, el compuesto final **15** contiene menos del 1% de cualquier impureza diastereomérica.

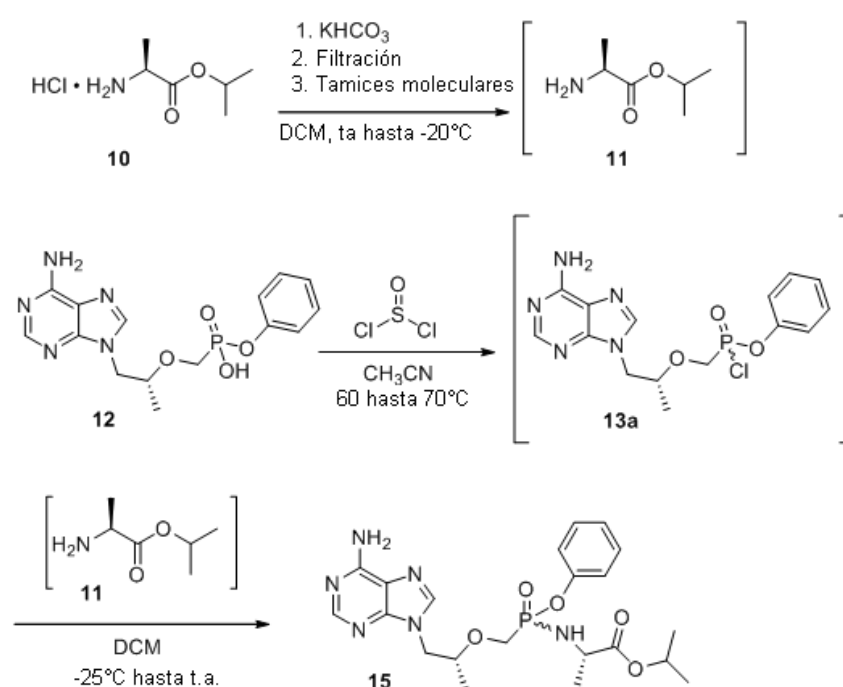
Preparación de compuesto **12**

El compuesto **12** puede ser preparado según lo descrito en, por ej., la Patente de
20 Estados Unidos No. 7.390.791, o se puede preparar según lo descrito en esta invención. En una realización, se proporciona un método para preparar el compuesto **12** que comprende tratar PMPA con trifenilfosfito en presencia de una base adecuada para proporcionar el compuesto **12**. Convenientemente, la reacción se puede llevar a cabo en un solvente adecuado, tal como, por ejemplo, acetonitrilo, N-metilpirrolidona (NMP),
25 dicloroetano, piridina, un acetato de alquilo (por ej., acetato de etilo), o un dialquil éter (por ej., dietil éter), o una mezcla de los mismos. La reacción también puede llevarse a cabo,

convenientemente, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, una trialkilamina (por ej., trietilamina), 2-metilimidazol, dimetilaminopiridina (DMAP), 1,5-diazobicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), o piridina, o una mezcla de los mismos. La reacción también puede llevarse a cabo, convenientemente, a una temperatura adecuada, tal como, por ejemplo, una temperatura entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 120 °C (por ej., entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 82 °C). En una realización específica, PMPA se trata con trifenilfosfito en presencia de trietilamina y dimetilaminopiridina en acetonitrilo a aproximadamente 80 °C para proporcionar el compuesto **12**.

Lo que sigue son Ejemplos ilustrativos no limitativos.

Ejemplo 1: Preparación de Mezcla Diastereomérica 9-((R)-2-(((R,S)-((S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (Compuesto **15**)



a. Preparación de compuesto 11. Se agitaron el clorhidrato de éster de Isopropil L-alanina (compuesto **10**) (1 kg, 5,97 mol, 1,0 equiv) y bicarbonato potásico (1,45 kg, 14,5 mol, 2,43 equiv) en DCM (4 kg) durante 10 a 14 horas con agitación máxima, manteniendo la temperatura del recipiente entre 19 °C y 25°C. Luego, la mezcla
5 se filtró y se enjuagó con DCM (2 kg). El líquido filtrado se secó sobre un lecho de tamices moleculares 4 Å hasta que el contenido de agua de la solución era $\leq 0,05\%$. La solución inicial resultante que contenía el compuesto **11** luego se enfrió hasta una temperatura del recipiente de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se mantuvo para posterior uso.

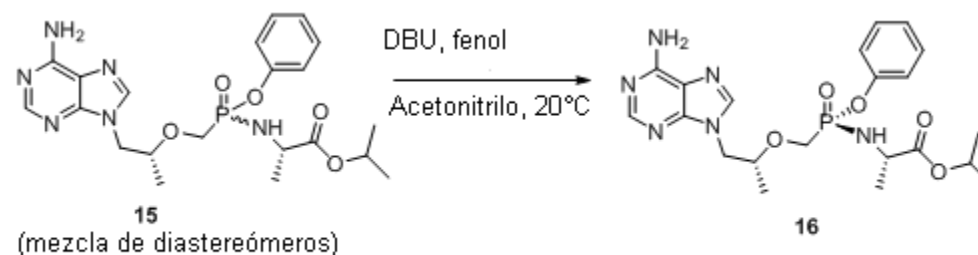
b. Preparación de compuesto 13a. A una solución de cloruro de tionilo (0,72 kg, 6,02 mol, 2,19 equiv) en acetonitrilo (5,5 kg) a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le agregó el compuesto **12** (1 kg, 2,75 mol, 1,00 equiv) en 10 porciones iguales durante 2 horas. Luego, la temperatura del recipiente se ajustó hasta $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó durante 1 a 3 horas hasta que se consideró que la reacción se había completado. Luego, la temperatura del recipiente se ajustó hasta $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se aplicó vacío. La mezcla se destiló hasta sequedad, manteniendo una
15 temperatura máxima de camisa de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. A continuación, el residuo seco se absorbió en diclorometano (30 kg) y la temperatura del recipiente se ajustó hasta $19\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. La suspensión resultante que contenía el compuesto **13a** se mantuvo para posterior uso.

c. Preparación de compuesto 15. A la solución inicial de éster de isopropil L-alanina **11** (4,82 equiv) a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le agregó suspensión que contiene el compuesto **13a**
20 (1,0 equiv) durante un mínimo de 2 horas, manteniendo la temperatura del recipiente $\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$. A continuación, la mezcla se mantuvo a una temperatura $\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante por lo menos 30 minutos, luego se controló el pH utilizando papel de pH humedecido con agua. Si el pH era < 4 , se realizaba el ajuste con trietilamina hasta pH 4–7. Luego, la temperatura del recipiente se ajustó hasta temperatura ambiente ($19\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$). En un
25 recipiente separado, se preparó una solución de fosfato sódico monobásico (2,2 kg, 18 mol, 6,90 equiv) en agua (16 kg). Se cargó la mitad de la solución monobásica de

fosfato sódico al reactor de fosfonamidato, y se agitó vigorosamente. Las capas se
 asentaron y partitionaron. La capa orgánica se lavó nuevamente con la mitad remanente
 de solución monobásica de fosfato sódico. En un recipiente separado, se preparó una
 solución de bicarbonato potásico (1,1 kg, 11 mol, 4,22 equiv) en agua (5,5 kg). Se cargó la
 5 mitad de la solución de bicarbonato potásico a la fase orgánica y se agitó con vigor. Las
 capas se asentaron y repartieron. La capa orgánica se lavó nuevamente con la mitad
 remanente de la solución de bicarbonato potásico, seguido por un lavado de agua final
 (3,3 kg). A continuación, la fase orgánica fue retenida y destilada hasta un volumen de
 aproximadamente 6 L. La solución resultante se analizó para determinar el contenido de
 10 agua. Si el contenido de agua era > 1,0%, DCM podría cargarse y repetirse la destilación
 hasta aproximadamente 6 L. Cuando el contenido de agua de la solución era inferior a o
 aproximadamente 1,0%, la temperatura del recipiente se ajustó hasta 19 °C hasta 25 °C
 con anterioridad a la descarga de la solución inicial en DCM para proporcionar la mezcla
 diastereomérica $9\text{--}\{(R)\text{--}2\text{--}[(R,S)\text{--}\{(S)\text{--}1\text{--}$
 15 $(\text{isopropoxycarbonil)etil}[\text{amino}\}\text{fenoxifosfinil}]\text{metoxi}\}\text{propil}\}\text{adenina}$ (compuesto **15**). ^1H
 RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,20 – 1,33 (m, 12H), 3,62 – 3,74 (m, 1H), 3,86 – 4,22 (m, 5H),
 4,30 – 4,44 (m, 1H), 4,83 – 5,10 (m, 1H), 6,02 (br s, 3H), 7,18 – 7,34 (m, 5H), 7,98 – 8,02
 (m, 1H), 8,32 – 8,36 (m, 1H); ^{31}P RMN (162 MHz, CDCl_3): δ , 21,5, 22,9.

Ejemplo 2: Resolución Dinámica inducida por Cristalización de Mezcla Diastereomérica

9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}-fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (Compuesto **15**) para proporcionar 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}-fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (Compuesto **16**)



5

Una solución de 22 %p de 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}-fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**) en acetonitrilo (solución de 2,3 kg, 0,51 kg compuesto **15**, 1,1 mol, 1 equiv) fue cargada a un recipiente equipado con un agitador superior, aparato de destilación y entrada de nitrógeno. La mezcla se concentró por destilación a 100 hasta 300 mbar en un rango de temperatura de 45 °C a 55 °C hasta una concentración final de 30 a 35% p. Luego, se retiró el aparato de destilación y la solución se enfrió hasta 20 °C. La solución se sembró con 2,0% de compuesto **16** y se dejó agitar durante una hora a 20 °C. Se agregaron fenol (9,9 g, 0,11 mol, 0,1 equiv) y DBU (16 g, 0,11 mol, 0,1 equiv) y la mezcla se agitó durante 24 horas adicionales, o hasta que el porcentaje en peso del compuesto **16** que queda en solución era menos del 12%. Luego, la suspensión se enfrió hasta 0 °C y se agitó durante 18 horas adicionales a 0 °C. La suspensión se filtró y se lavó con una solución 1:1 de acetato de isopropilo: acetonitrilo (1,5 L) a 0 °C. Los sólidos se secaron en un horno de vacío a 50 °C para dar 0,40 kg de compuesto **16** (80% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,21 (m, 9H), 1,28 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 3,65 (dd, J=

13,1, 10,7, 1H) 4,00 (m, 4H), 4,33 (dd, $J=14,4, 3,1$ Hz, 1H), 5,00 (m, 1H) 6,00 (bs, 2H), 6,99 (m, 2H), 7,07 (m, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,97 (s, 1H), 8,33 (s, 1H). ^{31}P RMN (162 MHz, CDCl_3): δ . 20,8.

Ejemplo 3: Preparación de compuesto **13a** con Pureza Diastereomérica Elevada

5 A una suspensión de compuesto **12** (10,0 g, 27,5 mmol, 1,00 equiv) en tolueno (60 mL) a temperatura ambiente se agregó cloruro de tionilo (3,0 mL, 41 mmol, 1,5 equiv). La suspensión se calentó hasta 70 °C y se agitó durante 48 a 96 horas hasta que la reacción y el enriquecimiento diastereomérico se consideraron completos por HPLC (Objetivo: > 97.0% conversión de compuesto **12** en compuesto **13a** y relación
10 diastereomérica > 90:10 de compuesto **13a**). La mezcla se concentró hasta sequedad por destilación al vacío, y el residuo seco se absorbió en tolueno (50 mL). La suspensión resultante que contiene el compuesto **13a** se mantuvo a temperatura ambiente para el uso posterior.

Ejemplo 4: Preparación de 9-[(R)-2-[[[(R,S)-[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil]adenina (Compuesto **15**) con
15 Pureza Diastereomérica Elevada

A una solución de isopropil L-alanina éster **11** (4,50 equiv) en DCM (80 mL) a – 25 °C se le agregó una suspensión que contiene el compuesto **13a** (1,00 equiv) que es por lo menos 90% diastereoméricamente puro en tolueno (50 mL) durante un mínimo de
20 45 minutos, manteniendo la temperatura interna ≤ -20 °C. Luego, la mezcla se mantuvo a una temperatura ≤ -20 °C durante por lo menos 30 minutos, y se controló el pH utilizando papel de pH humedecido con agua. Si el pH era < 4, el mismo se ajustó con trietilamina hasta pH 4 hasta 7. La temperatura del recipiente se ajustó hasta temperatura ambiente (19 °C a 25 °C). La mezcla fue transferida a un embudo separador y se lavó
25 consecutivamente con solución acuosa al 10% p/v de fosfato sódico monobásico (2 x 50 mL), solución acuosa al 15% p/v de bicarbonato potásico (2 x 20 mL), y

agua (50 mL). La capa orgánica final se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró, y concentró *in vacuo* hasta obtener un aceite color ámbar viscoso. El aceite se disolvió en tolueno/acetonitrilo (4:1) (50 mL), y la solución se sembró con 9-{{(R)-2-[[{(R,S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (aproximadamente 1 mg, 5 relación diastereomérica 99:1) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La suspensión resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con tolueno/acetonitrilo (4:1) (15 mL) y se secó en un horno de vacío a 40 °C durante 16 horas para dar el producto, 9-{{(R)-2-[[{(R,S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)metoxi]propil}adenina (compuesto **15**), como un sólido blanco (10,0 g, 76,4%, 97,5:2,5 relación diastereomérica 10 en favor de compuesto **16**). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,20 – 1,33 (m, 12H), 3,62 – 3,74 (m, 1H), 3,86 – 4,22 (m, 5H), 4,30 – 4,44 (m, 1H), 4,83 – 5,10 (m, 1H), 6,02 (br s, 3H), 7,18 – 7,34 (m, 5H), 7,98 – 8,02 (m, 1H), 8,32 – 8,36 (m, 1H); ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃): δ, 21,5, 22,9.

Ejemplo 5: Preparación de compuesto **12**

15 Se cargó PMPA (100,0 g, 0,35 mol, 1 equiv) a un recipiente equipado con un agitador superior, condensador de reflujo, y entrada de nitrógeno, seguido por acetonitrilo (800 mL). Al recipiente se le agregó trietilamina (71,0 g, 0,70 mol, 2 equiv) seguido por DMAP (42,6 g, 0,35 mol, 1 equiv) y trifenilfosfito (162,1 g, 0,52 mol, 1,5 equiv). La mezcla se calentó hasta 80 °C y se agitó durante ≥ 48 horas a 80 °C o hasta completarse la 20 reacción por ³¹P RMN. (Se toma una muestra directamente de la reacción y se agrega un inserto que contiene 10% H₃PO₂ en D₂O. El compuesto intermedio formado es el anhídrido de PMPA y está a 7 hasta 8 ppm; el producto está a 12,3 hasta 12,6 ppm. La reacción es considerada completa cuando hay menos del 5% de anhídrido). La mezcla de reacción se destiló hasta aproximadamente 1,5 volúmenes de acetonitrilo y se diluyó con 25 acetato de etilo (200 mL) y agua (300 mL). La capa acuosa se separó y se lavó con acetato de etilo (200 mL) dos veces. La capa acuosa se recargó en el recipiente y se pH

se ajustó hasta pH 3 usando HCl 12.1 M (21,0 mL). Luego, la reacción se sembró con 0,05% de compuesto **12** y se dejó agitando a 25 °C. Se agregó HCl 12.1 M adicional en el transcurso de 20 minutos (7,0 mL) hasta que se logró un pH 2. La cristalización se dejó agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se enfrió hasta 10 °C durante 2 horas. Una vez a 10 °C, la cristalización se dejó agitar durante 2,5 horas a 10 °C. La suspensión se filtró y se lavó con pH 1,5 de agua (200 g). Luego del secado en el horno de vacío, se obtuvo 102,2 g de compuesto **12** (81% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ 1,31 (d, J= 6,1 Hz, 3H), 3,59 (dd, J = 14,0, 9,0 Hz, 1H), 3,85 (dd, J= 14,0, 9,0 Hz, 1H), 4,1 (m, 1H), 4,3 (dd, J= 15,0, 9,0 Hz, 1H), 4,5 (dd, J= 15,0, 2 Hz, 1H), 6,75 (d, J= 7 Hz, 2H), 7,15 (t, J= 7 Hz, 1H), 7,25 (t, J= 7 Hz, 2H), 8,26 (s, 1H), 8,35 (s, 1H). ³¹P RMN (162 MHz, D₂O): δ. 14,8.

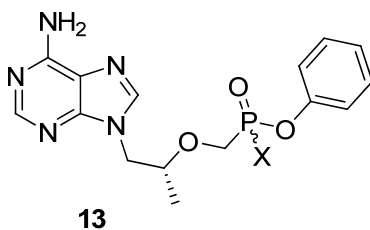
Todas las publicaciones, patentes y documentos de patente quedan incorporados a la presente a modo de referencia, como si se incorporaran en forma individual por referencia. La invención ha sido descrita con referencia a diversas realizaciones y técnicas específicas y preferidas. Sin embargo, debería entenderse que pueden efectuarse muchas variaciones y modificaciones permaneciendo al mismo tiempo dentro del espíritu y alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

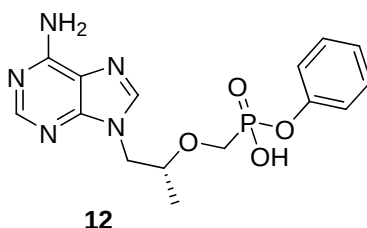
1. Un método que comprende someter una solución que comprende:
 - a) un solvente adecuado;
 - b) una base adecuada; y
 - c) 9-{{(R)-2-[[{(R,S)-[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil]-metoxi]propil}adenina, a condiciones que proporcionan la cristalización selectiva de 9-{{(R)-2-[(S)-[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)-metoxi]-propil}adenina.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde la solución comprende además uno o más cristales semilla de 9-{{(R)-2-[(S)-[(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil)-metoxi]propil}adenina.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el solvente comprende un solvente orgánico aprótico.
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el solvente comprende acetato de etilo, acetato de metilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, éter dietílico, diisopropil éter, tetrahidrofurano, diclorometano, acetona, metil etil cetona, metil *terc*-butiléter, tolueno, o acetonitrilo, o una mezcla de los mismos.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, donde el solvente comprende acetonitrilo.
6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la base es 1,5-diazobiciclo[4.3.0]non-5-eno; 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno; 7-metil-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno; tetrametilguanidina; una base Verkade; un carbonato de metal; un fenóxido de metal; o PhOTMS en combinación con una fuente de ión fluoruro; o una mezcla de los mismos.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, donde la base es 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno.

8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–7, donde la solución comprende además fenol.

9. Un método para preparar el compuesto **13**:



donde X es halo, que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro, que comprende tratar el compuesto **12**:



con un agente halogenante adecuado bajo condiciones que proporcionan el compuesto **13** que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro.

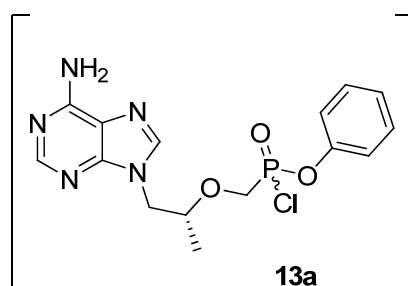
10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, donde el agente halogenante es cloruro de tionilo (SOCl_2), cloruro de oxalilo ($\text{C}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$), tricloruro de fósforo (PCl_3), una sal de clorotrifetilfosforano, bromuro de tionilo (SOBr_2), bromuro de oxalilo ($\text{C}_2\text{O}_2\text{Br}_2$), tribromuro de fósforo (PBr_3), o una sal de bromotrifetilfosforano.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, donde el compuesto **12** es tratado con el agente halogenante en un solvente que comprende tetrahidrofurano, 2–

metiltetrahidrofurano, diclorometano, acetonitrilo, tolueno, clorobenceno, 1,2-dicloroetano, 1,4-dioxano, sulfolano, o tricloroetileno, o una mezcla de los mismos.

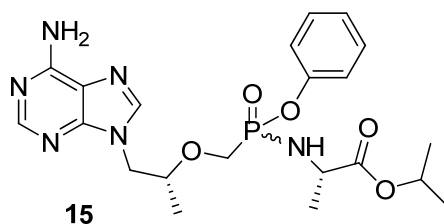
12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9–11, donde el compuesto **12** es tratado con el agente halogenante a una temperatura en el rango entre aproximadamente –20 °C y aproximadamente 110 °C.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 9, donde el compuesto **12** es tratado con cloruro de tionilo en tolueno a una temperatura de entre aproximadamente 22 °C y aproximadamente 110 °C para proporcionar el compuesto **13a**:

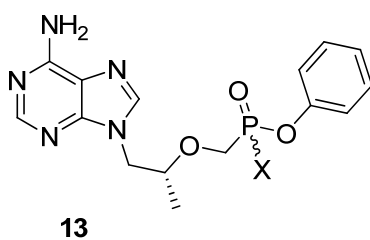


que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro.

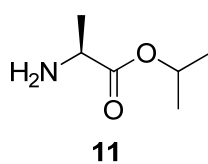
14. Un método para preparar el compuesto **15**:



que es el compuesto **16** por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro que comprende tratar el compuesto **13**:



donde X es halo, que es por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro, con la amina **11**:

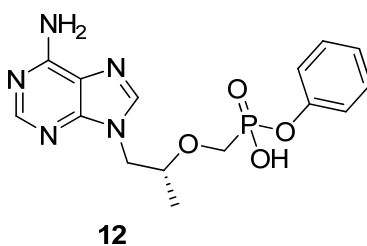


bajo condiciones que proporcionan el compuesto **15** que es el compuesto 16 por lo menos aproximadamente 90% diastereoméricamente puro.

15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, donde X es cloro.

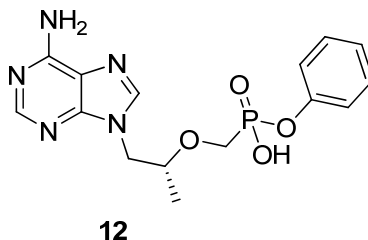
16. El método de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, donde el compuesto **13** es tratado con la amina **11** en un solvente adecuado a una temperatura de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ en presencia de trietilamina.

17. El método de acuerdo con la reivindicación 14, el cual comprende además preparar el compuesto **13** mediante el tratamiento del compuesto **12**:

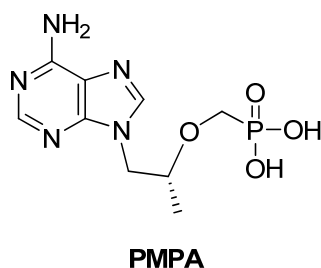


con un agente halogenante adecuado.

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



que comprende tratar PMPA:



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

19. El método de acuerdo con la reivindicación 18, donde PMPA es tratado con trifenilfosfito en presencia de trietilamina y dimetilaminopiridina en un solvente adecuado para proporcionar el compuesto **12**.

20. El método de acuerdo con la reivindicación 18 o 19, donde PMPA es tratado con trifenilfosfito en acetonitrilo a una temperatura en el rango entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 82°C.

ADVANCE E-MAIL

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

BOLIN, Kimberly A.
Morrison & Foerster LLP
755 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1018
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 18 March 2014 (18.03.2014)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 724312004440	
International application No. PCT/US2012/000441	
International filing date (day/month/year) 03 October 2012 (03.10.2012)	

1. The following indications appeared on record concerning:

☐ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address SOLOMON, Nicole, S. 1919 Alameda De Las Pulgas, Apt.26 San Mateo, CA 94403 United States of America	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address WHITE, Nicole, S. 1919 Alameda De Las Pulgas, Apt.26 San Mateo, CA 94403 United States of America	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned
	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Carrié Christine e-mail pt04.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 04
---	--

Facsimile No. +41 22 338 89 95

Form PCT/IB/306 (January 2009)

1/PT2SUTQY749EX0

(51) International Patent Classification:
C07F 9/6561 (2006.01)(21) International Application Number:
PCT/US2012/000441(22) International Filing Date:
3 October 2012 (03.10.2012)

(25) Filing Language: English

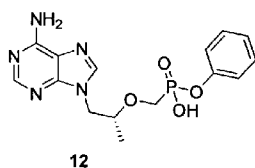
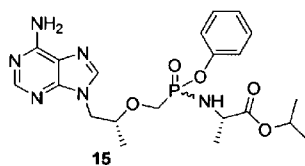
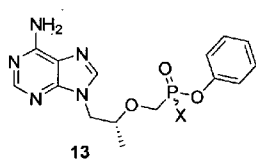
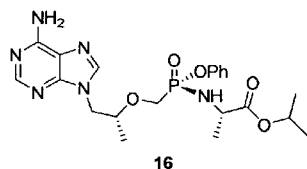
(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/544,950 7 October 2011 (07.10.2011) US(71) Applicant: GILEAD SCIENCES, INC. [US/US]; 333
Lakeside Drive, Foster City, CA 94404 (US).(72) Inventors: COLBY, Denise, A.; 460 Monterey Boulevard,
Apt.#201, San Francisco, CA 94127 (US). MARTINS,
Andrew, Anthony; 124 Carlson Close, Edmonton, Al-
berta, T6R 2J7 (CA). ROBERTS, Benjamin, James; 49
36th Avenue, Apt. 22, San Mateo, CA 94403 (US).
SCOTT, Robert, William; 449 W. Ellsworth Court, San
Mateo, CA 94401 (US). SOLOMON, Nicole, S.; 1919Alameda De Las Pulgas, Apt.26, San Mateo, CA 94403
(US).(74) Agents: PERRY, Lawrence, S. et al.; Fitzpatrick, Cella,
Harper & Scinto, 1290 Avenue of the Americas, New
York, NY 10104-3800 (US).(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,

[Continued on next page]

(54) Title: METHODS FOR PREPARING ANTI-VIRAL NUCLEOTIDE ANALOGS

(57) Abstract: Methods for isolating 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-



(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino} phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine." (compound 16): a method for preparing, in high diastereomeric purity, intermediate compounds 13 and 15: method for preparing intermediate compound 12: 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino} phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine has anti-viral properties.



TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— *without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))*

- 1 -

TITLE

**METHODS FOR PREPARING ANTI-VIRAL
NUCLEOTIDE ANALOGS**

Cross-reference to Related Application

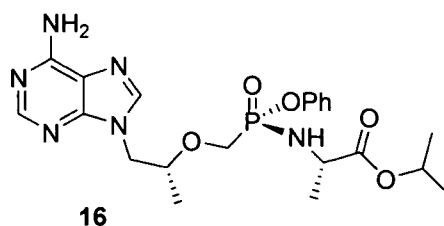
[0001] This application claims the benefit of priority from U.S. Provisional Patent Application No. 61/544,950, filed October 7, 2011, the content of which is hereby incorporated by reference herein in its entirety.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Description of Related Art

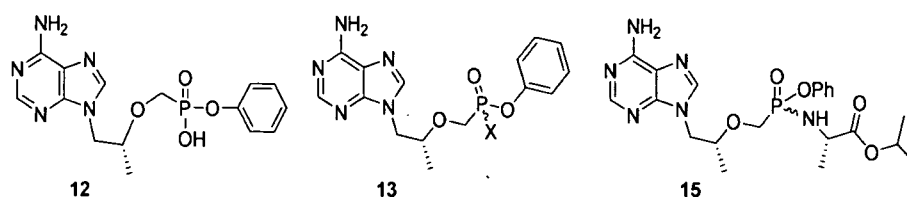
[0002] U.S. Patent Nos. 7,390,791 and 7,803,788 (the content of each of which is incorporated by reference herein in its entirety) describe certain prodrugs of phosphonate nucleotide analogs that are useful in therapy. One such prodrug is 9-{(R)-2-[[[(S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **16**):

- 2 -



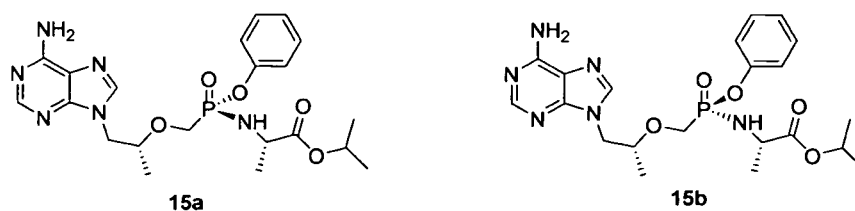
[0003] This compound is also known by the Chemical Abstract name L-alanine, N-[(S)-[[(1R)-2-(6-amino-9H-purin-9-yl)-1-methylethoxy]methyl]phenoxyphosphinyl],-1-methylethyl ester. U.S. Patent Nos. 7,390,791 and 7,803,788 also disclose a monofumarate form of this compound and its preparation method (see, e.g., Example 4).

[0004] Compound **12**, compound **13** (wherein X is halo), and compound **15**:



are synthetic intermediates that are useful for preparing compound **16**.

Compound **15** is depicted as a mixture of diastereomers at the phosphorus center. The two diastereomers that make up the mixture of compound **15** are shown here as compounds **15a** and **15b**. Isomer **15a** is identical in structure to compound **16**.



[0005] Currently, there is a need for improved methods for preparing compounds **12**, **13**, **15**, and **16**. In particular, there is a need for improved methods for preparing compounds **13**, **15**, and **16** in high diastereomeric purity.

- 3 -

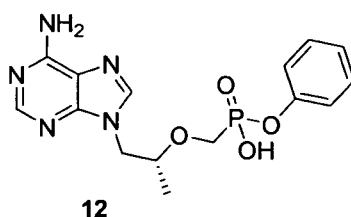
Such improved methods may provide higher yields, be easier to perform, or use less costly or toxic reagents than currently available methods.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0006] Described are an improved method for isolating 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **16**) using crystallization-induced dynamic resolution; improved methods for preparing compounds **13** and **15** in high diastereomeric purity; and an improved method for preparing compound **12**.

[0007] Accordingly, in one embodiment, there is provided a method comprising subjecting a solution comprising: a) a suitable solvent; b) a suitable base; c) the diastereomeric mixture 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine; and, optionally, d) one or more seed crystals of 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine, to conditions that provide for the selective crystallization of 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine.

[0008] In another embodiment, there is provided a method for preparing compound **13** that is at least about 90% diastereomerically pure by treating a toluene solution of compound **12**:

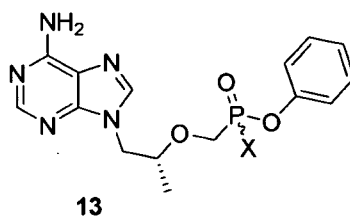


with thionyl chloride to provide compound **13**, where X = Cl.

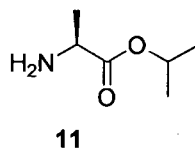
[0009] In another embodiment, there is provided a method for preparing 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine

- 4 -

(compound **15**) that is at least about 90% diastereomerically pure compound **16**, comprising treating compound **13**:

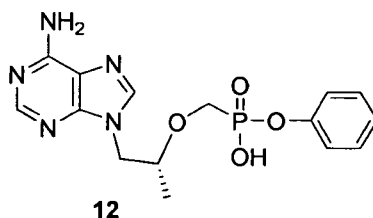


(wherein X is halo) that is at least about 90% diastereomerically pure with amine **11**:

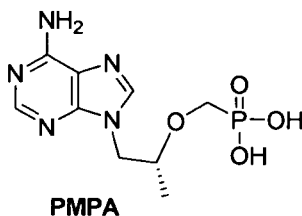


under conditions that provide compound **15** that is at least about 90% diastereomerically pure compound **16** (i.e., isomer **15a**).

[0010] In another embodiment, there is provided a method for preparing compound **12**:



comprising treating PMPA:



with triphenylphosphite in the presence of a suitable base to provide compound **12**.

- 5 -

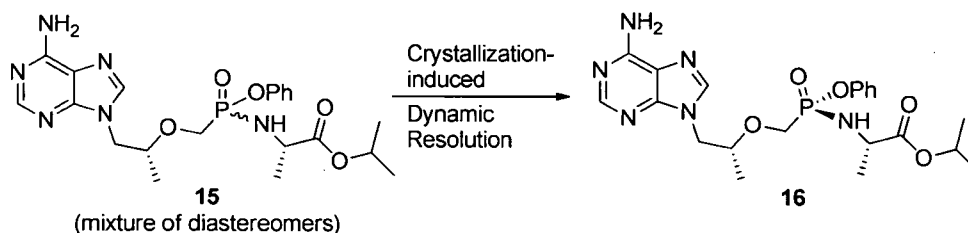
[0011] Also provided are novel processes and intermediates disclosed herein.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0012] Specific values listed below for radicals, substituents, and ranges, are for illustration only; they do not exclude other defined values or other values within defined ranges for the radicals and substituents.

Preparation of Compound **16** by Crystallization-induced Dynamic Resolution

[0013] In one embodiment, there is provided a method for the crystallization-induced dynamic resolution of 9-{(R)-2-(((R,S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **15**):



to provide 9-{(R)-2-(((S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **16**). The method comprises subjecting a solution comprising: a) a suitable solvent; b) a suitable base; c) 9-{(R)-2-(((R,S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine; and, optionally, d) one or more seed crystals of 9-{(R)-2-(((S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine, to conditions that provide for the epimerization of the phosphorus center, under conditions that also provide selective crystallization of 9-{(R)-2-(((S)-{[(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine.

[0014] The crystallization can be carried out in any suitable solvent. For example, it can be carried out in an aprotic organic solvent, or in a mixture

- 6 -

thereof. For example, the aprotic organic solvent may comprise ethyl acetate, methyl acetate, propyl acetate, isopropyl acetate, diethyl ether, diisopropyl ether, tetrahydrofuran, dichloromethane, acetone, methyl ethyl ketone, methyl *tert*-butylether, toluene, or acetonitrile, or a mixture thereof. In one embodiment, the solvent comprises acetonitrile.

[0015] The resolution can be carried out in the presence of any suitable base. For example, the resolution can be carried out in the presence of a base selected from 1,5-diazobicyclo[4.3.0]non-5-ene (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), 7-methyl-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-ene (MTBD), tetramethylguanidine, a Verkade base (e.g., 2,8,9-triisopropyl-2,5,8,9-tetraaza-1-phosphabicyclo[3.3.3]undecane, and 2,8,9-triisobutyl-2,5,8,9-tetraaza-1-phosphabicyclo[3.3.3]undecane), a metal carbonate (e.g., M_xCO_3), a metal phenoxide ($M^+ OPh^-$), and PhOTMS in combination with a fluoride ion source (e.g., $R_4N^+ F^-$, TASF (tris(dimethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate), or TBAT (tetrabutylammonium triphenyldifluorosilicate), and mixtures thereof, wherein each M is a suitable metal such as an alkali metal or an alkaline earth metal, and each R is, for example, a (C_1 - C_6) alkyl. In one specific embodiment, the base is DBU.

[0016] The resolution can also be carried out at any suitable temperature, for example, a temperature in the range of from about 0 °C to about 50 °C. In one specific embodiment, the resolution is carried out at a temperature of about 20 °C.

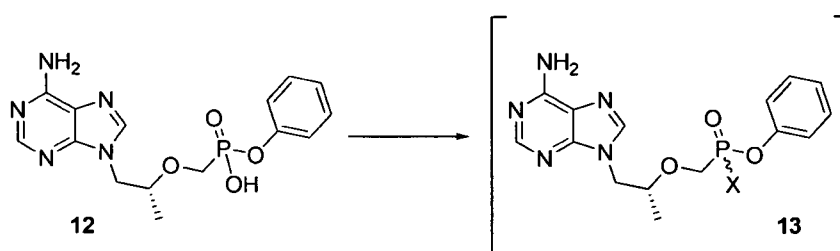
[0017] In one specific embodiment, the resolution is carried out in the presence of phenol.

[0018] The percentage of compound **16** in the starting diastereomeric mixture can be anywhere in the range from about 0% to about 99%. In one embodiment of the invention, the percentage of compound **16** in the starting diastereomeric mixture is in the range from about 0% to about 20%. In one embodiment, the percentage of compound **16** in the starting diastereomeric mixture is in the range from about 20% to about 99%. In one embodiment, the percentage of compound **16** in the starting diastereomeric mixture is in the range from about 50% to about 99%. In one embodiment, the final compound **16** is at least about

- 7 -

90%, about 95%, about 97%, or about 99% diastereomerically pure. In one embodiment, the final compound **16** contains less than 1% of any diastereomeric impurities. In one embodiment, the final compound **16** is free of any detectable diastereomeric impurities.

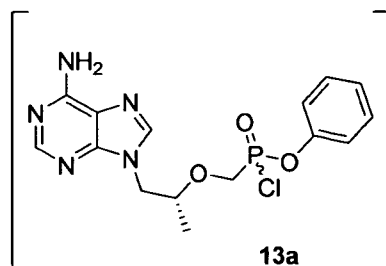
Preparation of Compound **13** that has High Diastereomeric Purity



[0019] Compound **13** (wherein X is halo) that is at least about 90% diastereomerically pure can be prepared by treating compound **12** with a suitable halogenating agent. For example, compound **13** can be prepared by treating compound **12** with a halogenating agent such as, for example, thionyl chloride (SOCl_2), oxalyl chloride ($\text{C}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$), phosphorus trichloride (PCl_3), a chlorotriphenylphosphorane salt, thionyl bromide (SOBr_2), oxalyl bromide ($\text{C}_2\text{O}_2\text{Br}_2$), phosphorus tribromide (PBr_3), or a bromotriphenylphosphorane salt. The reaction can be carried out in a suitable organic solvent at a suitable temperature (e.g., a temperature in the range from about $-20\text{ }^\circ\text{C}$ to about $100\text{ }^\circ\text{C}$). Suitable solvents include tetrahydrofuran, 2-methyltetrahydrofuran, dichloromethane, acetonitrile, toluene, chlorobenzene, 1,2-dichloroethane, 1,4-dioxane, sulfolane, and trichloroethylene, and mixtures thereof.

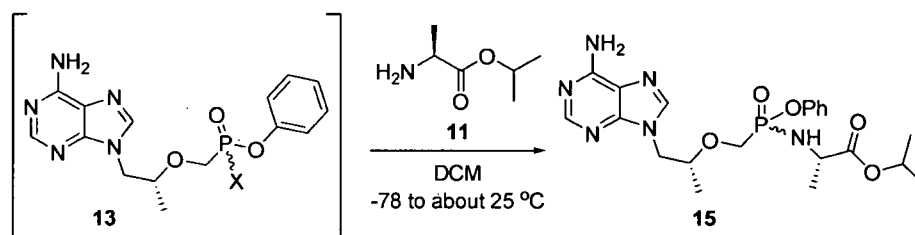
[0020] In one embodiment, compound **12** is treated with thionyl chloride in toluene at a temperature of from about $22\text{ }^\circ\text{C}$ to about $110\text{ }^\circ\text{C}$ to provide compound **13a**:

- 8 -



that is at least about 90% diastereomerically pure. In one embodiment, the final compound **13a** is at least about 90%, about 95%, about 97%, or about 99% diastereomerically pure. In one embodiment, the final compound **13a** contains less than 1% of any diastereomeric impurities. In one embodiment, the final compound **13a** is free of any detectable diastereomeric impurities.

Preparation of Compound **15** in High Diastereomeric Purity



[0021] Compound **15** can be prepared by treating compound **13** (wherein X is halo) that is at least about 90% diastereomerically pure with amine **11** under conditions that provide compound **15** that is at least about 90% diastereomerically pure in the specific isomer **15a**, also represented herein as compound **16**. For example, compound **15** can be prepared by treating compound **13** with amine **11** in a suitable organic solvent at a suitable temperature (e.g., a temperature in the range from about -78 °C to about 25 °C). Suitable solvents include organic solvents such as tetrahydrofuran, 2-methyltetrahydrofuran, dichloromethane, 1,2-dichloroethane, trichloroethylene, 1,4-dioxane, acetonitrile, toluene, chlorobenzene, sulfolane, and isopropyl acetate, and mixtures thereof. The reaction conveniently can be carried out in the presence of a suitable base, such as, for example, triethylamine ((C₂H₅)₃N),

- 9 -

N,N-diisopropylethylamine ($[(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_2\text{NC}_2\text{H}_5$), or 1,8-bis(dimethylamino)-naphthalene (proton sponge, $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2$). Following the reaction, the resulting material can be washed with an aqueous solution containing a suitable wash reagent, such as, for example, sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4), potassium bicarbonate (KHCO_3), citric acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), or sodium bicarbonate (NaHCO_3). The resulting organic solution can be dried over a suitable drying agent, for example, sodium sulfate, magnesium sulfate, or calcium chloride to provide compound **15** that is at least about 90% diastereomerically pure compound **16**.

[0022] In one embodiment, compound **13** that is at least about 90% diastereomerically pure (wherein X is chloro) is treated with amine **11** in dichloromethane at a temperature of $-25\text{ }^\circ\text{C}$ to $25\text{ }^\circ\text{C}$ in the presence of triethylamine. The resulting reaction mixture is then washed with an aqueous solution containing sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4) and potassium bicarbonate (KHCO_3) and dried over sodium sulfate to provide compound **15** that is at least about 90% diastereomerically pure compound **16**. In one embodiment, the starting compound **13** and resulting compound **15** are at least about 95% or 97% diastereomerically pure. In one embodiment, the final compound **15** contains at least about 90%, about 95%, about 97%, or about 99% diastereomerically pure compound **16**. In one embodiment, the final compound **15** contains less than 1% of any diastereomeric impurities.

Preparation of Compound **12**

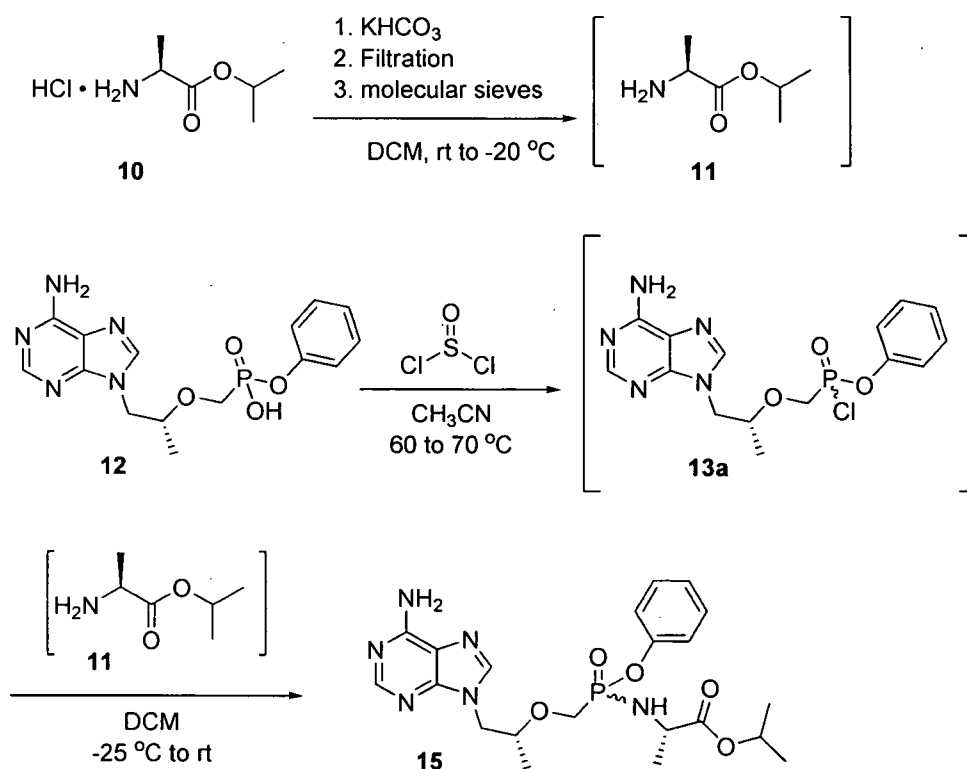
[0023] Compound **12** can be prepared as described in, e.g., U.S. Patent No. 7,390,791, or it can be prepared as described herein. In one embodiment, there is provided a method for preparing compound **12** comprising treating PMPA with triphenylphosphite in the presence of a suitable base to provide compound **12**. The reaction conveniently can be carried out in a suitable solvent, such as, for example, acetonitrile, *N*-methylpyrrolidone (NMP), dichloroethane, pyridine, an alkyl acetate (e.g., ethyl acetate), or a dialkyl ether (e.g., diethyl ether), or a mixture thereof. The reaction conveniently also can be carried out in the presence of a suitable base, such as, for example, a trialkylamine (e.g., triethylamine), 2-methylimidazole, dimethylaminopyridine (DMAP),

- 10 -

1,5-diazobicyclo[4.3.0]non-5-ene (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), or pyridine, or a mixture thereof. The reaction conveniently also can be carried out at a suitable temperature, such as, for example, a temperature from about 20 °C to about 120 °C (e.g., from about 20 °C to about 82 °C). In one specific embodiment, PMPA is treated with triphenylphosphite in the presence of triethylamine and dimethylaminopyridine in acetonitrile at about 80 °C to provide compound **12**.

[0024] The following are nonlimiting, illustrative Examples.

Example 1: Preparation of Diastereomeric Mixture 9- $\{[(R,S)\text{-}\{(S)\text{-}1\text{-}(\text{isopropoxycarbonyl)ethyl}\}\text{amino}\}\text{phenoxyphosphinyl}\}\text{methoxy}\}\text{propyl}\}\text{adenine}$ (Compound **15**)



[0025] a. **Preparation of Compound 11.** Isopropyl L-alanine ester hydrochloride (compound **10**) (1 kg, 5.97 mol, 1.0 equiv) and potassium bicarbonate (1.45 kg, 14.5 mol, 2.43 equiv) were agitated in DCM (4 kg) for

- 11 -

10 to 14 hours with maximum agitation, maintaining the pot temperature between 19 °C and 25 °C. The mixture was then filtered and rinsed forward with DCM (2 kg). The filtrate was dried over a bed of 4 Å molecular sieves until the water content of the solution was $\leq 0.05\%$. The resultant stock solution containing compound **11** was then cooled to a pot temperature of -20 °C and held for further use.

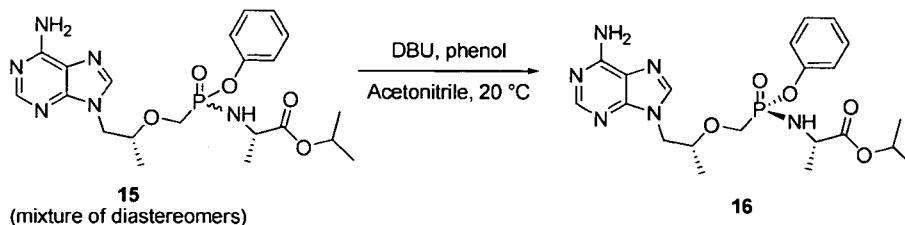
[0026] b. Preparation of Compound 13a. To a solution of thionyl chloride (0.72 kg, 6.02 mol, 2.19 equiv) in acetonitrile (5.5 kg) at 60 °C was added compound **12** (1 kg, 2.75 mol, 1.00 equiv) in 10 equal portions over 2 hours. The pot temperature was then adjusted to 70 °C and stirred for 1 to 3 hours until the reaction was deemed complete. The pot temperature was then adjusted to 40 °C and vacuum applied. The mixture was distilled to dryness, maintaining a maximum jacket temperature of 40 °C. The dry residue was then taken up in dichloromethane (30 kg) and the pot temperature adjusted to 19 °C to 25 °C. The resultant slurry containing compound **13a** was held for further use.

[0027] c. Preparation of Compound 15. To the stock solution of isopropyl L-alanine ester **11** (4.82 equiv) at -25 °C was added slurry containing compound **13a** (1.0 equiv) over a minimum of 2 hours, maintaining the pot temperature ≤ -10 °C. The mixture was then held at a temperature ≤ -10 °C for at least 30 minutes, then the pH checked using water wet pH paper. If the pH was < 4 , adjustment with triethylamine to pH 4–7 was performed. The pot temperature was then adjusted to room temperature (19 °C to 25 °C). In a separate vessel, a solution of sodium phosphate monobasic (2.2 kg, 18 mol, 6.90 equiv) in water (16 kg) was prepared. Half of the sodium phosphate monobasic solution was charged to the phosphoramidate reactor, and vigorously stirred. The layers were settled and partitioned. The organic layer was washed again with the remaining half of sodium phosphate monobasic solution. In a separate vessel, a solution of potassium bicarbonate (1.1 kg, 11 mol, 4.22 equiv) in water (5.5 kg) was prepared. Half of the potassium bicarbonate solution was charged to the organic phase, and vigorously stirred. The layers were settled and partitioned. The organic layer was washed again with the remaining half of the potassium bicarbonate solution, followed by a final water (3.3 kg) wash. The

- 12 -

organic phase was then retained and distilled to a volume of approximately 6 L. The resultant solution was analyzed for water content. If the water content was > 1.0%, DCM could be charged and the distillation to approximately 6 L repeated. When the solution water content was less than or about 1.0%, the pot temperature was adjusted to 19 °C to 25 °C prior to discharge of the stock solution in DCM to provide the diastereomeric mixture 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **15**). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.20 – 1.33 (m, 12H), 3.62 – 3.74 (m, 1H), 3.86 – 4.22 (m, 5H), 4.30 – 4.44 (m, 1H), 4.83 – 5.10 (m, 1H), 6.02 (br s, 3H), 7.18 – 7.34 (m, 5H), 7.98 – 8.02 (m, 1H), 8.32 – 8.36 (m, 1H); ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃): δ. 21.5, 22.9.

Example 2: Crystallization-induced Dynamic Resolution of Diastereomeric Mixture 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (Compound **15**) to Provide 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (Compound **16**)



[0028] A 22 wt% solution of 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **15**) in acetonitrile (2.3 kg solution, 0.51 kg compound **15**, 1.1 mol, 1 equiv) was charged to a vessel equipped with an overhead stirrer, distillation apparatus, and nitrogen inlet. The mixture was concentrated by distillation at 100 to 300 mbar over a temperature range of 45 °C to 55 °C to a final concentration of 30 to 35 wt%. The distillation apparatus was then removed and the solution was cooled to 20 °C. The solution was seeded with 2.0% compound **16** and allowed to stir for one hour at 20 °C. Phenol (9.9 g, 0.11 mol, 0.1 equiv) and DBU (16 g, 0.11 mol, 0.1 equiv) were added and the mixture was

- 13 -

stirred for an additional 24 hours, or until the weight percent of compound **16** remaining in solution was less than 12%. The slurry was then cooled to 0 °C and stirred for an additional 18 hours at 0 °C. The slurry was filtered and washed with a 1:1 solution of isopropyl acetate:acetonitrile (1.5 L) at 0 °C. The solids were dried in a vacuum oven at 50 °C to give 0.40 kg of compound **16** (80% yield) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.21 (m, 9H), 1.28 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.65 (dd, *J* = 13.1, 10.7, 1H), 4.00 (m, 4H), 4.33 (dd, *J* = 14.4, 3.1 Hz, 1H), 5.00 (m, 1H), 6.00 (bs, 2H), 6.99 (m, 2H), 7.07 (m, 1H), 7.19 (m, 2H), 7.97 (s, 1H), 8.33 (s, 1H). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃): δ. 20.8.

Example 3: Preparation of Compound **13a** in High Diastereomeric Purity

[0029] To a slurry of compound **12** (10.0 g, 27.5 mmol, 1.00 equiv) in toluene (60 mL) at ambient temperature was added thionyl chloride (3.0 mL, 41 mmol, 1.5 equiv). The slurry was heated to 70 °C and agitated for 48 to 96 hours until reaction and diastereomeric enrichment were deemed complete by HPLC (Target: > 97.0% conversion of compound **12** to compound **13a** and > 90:10 diastereomeric ratio of compound **13a**). The mixture was concentrated to dryness by vacuum distillation, and the dry residue was taken up in toluene (50 mL). The resultant slurry containing compound **13a** was held at ambient temperature for further use.

Example 4: Preparation of 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl}amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (Compound **15**) in High Diastereomeric Purity

[0030] To a solution of isopropyl L-alanine ester **11** (4.50 equiv) in DCM (80 mL) at -25 °C was added a slurry containing compound **13a** (1.00 equiv) that is at least 90% diastereomerically pure in toluene (50 mL) over a minimum of 45 minutes, maintaining the internal temperature ≤ -20 °C. The mixture was then held at a temperature ≤ -20 °C for at least 30 minutes, and the pH checked using water wet pH paper. If the pH was < 4, it was adjusted with triethylamine to pH 4 to 7. The pot temperature was adjusted to room temperature (19 °C to 25 °C). The mixture was transferred to a separatory funnel and washed sequentially with 10% w/v aqueous solution of sodium phosphate monobasic

- 14 -

(2 x 50 mL), 15% w/v aqueous solution of potassium bicarbonate (2 x 20 mL), and water (50 mL). The final organic layer was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and concentrated *in vacuo* to a viscous amber oil. The oil was dissolved in toluene/acetonitrile (4:1) (50 mL), and the solution was seeded with 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (about 1 mg, 99:1 diastereomeric ratio) and stirred for 2 hours at ambient temperature. The resultant slurry was filtered and the filter cake was washed with toluene/acetonitrile (4:1) (15 mL) and dried in a vacuum oven at 40 °C for 16 hours to give the product, 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl]amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine (compound **15**), as a white solid (10.0 g, 76.4%, 97.5:2.5 diastereomeric ratio in favor of compound **16**). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.20 – 1.33 (m, 12H), 3.62 – 3.74 (m, 1H), 3.86 – 4.22 (m, 5H), 4.30 – 4.44 (m, 1H), 4.83 – 5.10 (m, 1H), 6.02 (br s, 3H), 7.18 – 7.34 (m, 5H), 7.98 – 8.02 (m, 1H), 8.32 – 8.36 (m, 1H); ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃): δ. 21.5, 22.9.

Example 5: Preparation of Compound **12**

[0031] PMPA (100.0 g, 0.35 mol, 1 equiv) was charged to a vessel equipped with an overhead stirrer, reflux condenser, and nitrogen inlet, followed by acetonitrile (800 mL). To the vessel was added triethylamine (71.0 g, 0.70 mol, 2 equiv) followed by DMAP (42.6 g, 0.35 mol, 1 equiv) and triphenylphosphite (162.1 g, 0.52 mol, 1.5 equiv). The mixture was heated to 80 °C and agitated for ≥ 48 hours at 80 °C or until the reaction was complete by ³¹P NMR. (A sample directly from the reaction is taken and an insert containing 10% H₃PO₂ in D₂O is added. The intermediate formed is the PMPA anhydride and is at 7 to 8 ppm; the product is at 12.3 to 12.6 ppm. The reaction is deemed complete when less than 5% anhydride is present). The reaction mixture was distilled to approximately 1.5 volumes of acetonitrile and diluted with ethyl acetate (200 mL) and water (300 mL). The aqueous layer was separated and washed with ethyl acetate (200 mL) twice. The aqueous layer was recharged to the vessel and pH adjusted to pH 3 using 12.1 M HCl (21.0 mL). The reaction was then seeded with 0.05%

- 15 -

of compound **12** and allowed to stir at 25 °C. An additional 12.1 M HCl was added over 20 minutes (7.0 mL) until pH 2 was achieved. The crystallization was allowed to stir at ambient temperature for 30 minutes and then cooled to 10 °C over 2 hours. Once at 10 °C, the crystallization was allowed to stir for 2.5 hours at 10 °C. The slurry was filtered and washed with pH 1.5 water (200 g). After drying in the vacuum oven, 102.2 g of compound **12** (81% yield) was obtained as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 1.31 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H), 3.59 (dd, *J* = 14.0, 9.0 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 14.0, 9.0 Hz, 1H), 4.1 (m, 1H), 4.3 (dd, *J* = 15.0, 9.0 Hz, 1H), 4.5 (dd, *J* = 15.0, 2 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 7 Hz, 2H), 7.15 (t, *J* = 7 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7 Hz, 2H), 8.26 (s, 1H), 8.35 (s, 1H). ³¹P NMR (162 MHz, D₂O): δ. 14.8.

[0032] All publications, patents, and patent documents are hereby incorporated by reference herein, as though individually incorporated by reference. The invention has been described with reference to various specific and preferred embodiments and techniques. However, it should be understood that many variations and modifications may be made while remaining within the spirit and scope of the invention.

- 16 -

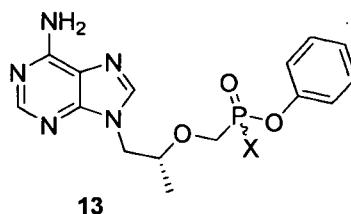
WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method comprising subjecting a solution comprising:
 - a) a suitable solvent;
 - b) a suitable base; and
 - c) 9-{(R)-2-[(R,S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl}amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine, to conditions that provide for the selective crystallization of 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl}amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine.
2. The method of claim 1, wherein the solution further comprises one or more seed crystals of 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonyl)ethyl}amino}phenoxyphosphinyl)methoxy]propyl}adenine.
3. The method of claim 1 or 2, wherein the solvent comprises an aprotic organic solvent.
4. The method of any one of claims 1-3, wherein the solvent comprises ethyl acetate, methyl acetate, propyl acetate, isopropyl acetate, diethyl ether, diisopropyl ether, tetrahydrofuran, dichloromethane, acetone, methyl ethyl ketone, methyl *tert*-butylether, toluene, or acetonitrile, or a mixture thereof.
5. The method of claim 4, wherein the solvent comprises acetonitrile.
6. The method of any one of claims 1-5, wherein the base is 1,5-diazobicyclo[4.3.0]non-5-ene; 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene; 7-methyl-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-ene; tetramethylguanidine; a Verkade base; a metal carbonate; a metal phenoxide; or PhOTMS in combination with a fluoride ion source; or a mixture thereof.
7. The method of claim 6, wherein the base is 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene.

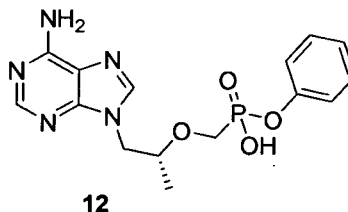
- 17 -

8. The method of any one of claims 1-7, wherein the solution further comprises phenol.

9. A method for preparing compound **13**:



wherein X is halo, that is at least about 90% diastereomerically pure, comprising treating compound **12**:



with a suitable halogenating agent under conditions that provide compound **13** that is at least about 90% diastereomerically pure.

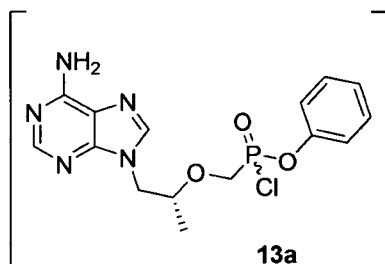
10. The method of claim 9, wherein the halogenating agent is thionyl chloride (SOCl₂), oxalyl chloride (C₂O₂Cl₂), phosphorus trichloride (PCl₃), a chlorotriphenylphosphorane salt, thionyl bromide (SOBr₂), oxalyl bromide (C₂O₂Br₂), phosphorus tribromide (PBr₃), or a bromotriphenylphosphorane salt.

11. The method of claim 9 or 10, wherein compound **12** is treated with the halogenating agent in a solvent comprising tetrahydrofuran, 2-methyltetrahydrofuran, dichloromethane, acetonitrile, toluene, chlorobenzene, 1,2-dichloroethane, 1,4-dioxane, sulfolane, or trichloroethylene, or a mixture thereof.

- 18 -

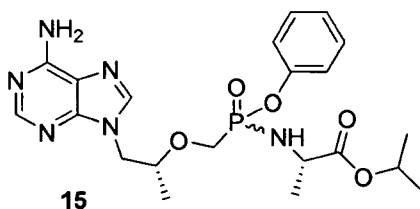
12. The method of any one of claims 9-11, wherein compound **12** is treated with the halogenating agent at a temperature in the range from about -20 °C to about 110 °C.

13. The method of claim 9, wherein compound **12** is treated with thionyl chloride in toluene at a temperature of from about 22 °C to about 110 °C to provide compound **13a**:

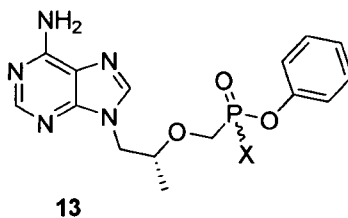


that is at least about 90% diastereomerically pure.

14. A method for preparing compound **15**:

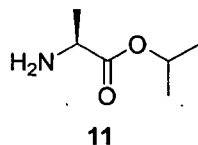


that is at least about 90% diastereomerically pure compound **16** comprising treating compound **13**:



- 19 -

wherein X is halo, that is at least about 90% diastereomerically pure, with amine **11**:

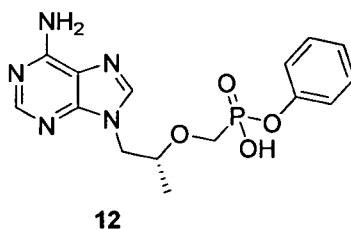


under conditions that provide compound **15** that is at least about 90% diastereomerically pure compound **16**.

15. The method of claim 14, wherein X is chloro.

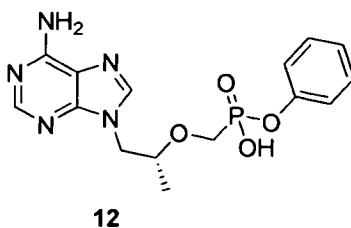
16. The method of claim 14 or 15, wherein compound **13** is treated with amine **11** in a suitable solvent at a temperature of -78 °C to 25 °C in the presence of triethylamine.

17. The method of claim 14, further comprising preparing compound **13** by treating compound **12**:



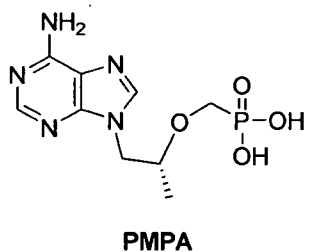
with a suitable halogenating agent.

18. A method for preparing compound **12**:



- 20 -

comprising treating PMPA:



with triphenylphosphite in the presence of a suitable base to provide compound **12**.

19. The method of claim 18, wherein PMPA is treated with triphenylphosphite in the presence of triethylamine and dimethylaminopyridine in a suitable solvent to provide compound **12**.

20. The method of claim 18 or 19, wherein PMPA is treated with triphenylphosphite in acetonitrile at a temperature in the range of from about 20 °C to about 82 °C.

COLOMBIA

PODER

El (los) **GILEAD SCIENCES, INC.**

domiliados en 333 Lakeside Drive, Foster City,
CALIFORNIA 94404, EE.UU.

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o
MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la
Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia para

y para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad
Industrial e intelectual y con este fin autorizamos a dichos
apoderados para que nos representen ante cualesquiera
autoridades o personas de los órdenes administrativo,
contencioso -administrativo y judicial en todo lo relacionado
con los siguientes actos y gestiones:

- a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos
industriales; registro de marcas de fabrica, de servicio,
colectivas o defensivas y de denominaciones de origen,
depósito de nombres y enseñas comerciales; su
renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de
nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de
licencias de uso de esos derechos;
- b) Para la obtención de registros sanitarios;
- c) Para la obtención de registros de derechos de autor.
- c) Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad,
medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales,
administrativos o contencioso - administrativos que
promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados
sustituir éste mandato entre los apoderados, transigir, desistir,
recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar
apoderados judiciales y extra-judiciales. .

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y
solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado
los apoderados en relación con las facultades anteriormente
enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy

en

por

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned **GILEAD SCIENCES, INC.**

of 333 Lakeside Drive, Foster City, CALIFORNIA 94404,
U.S.A.

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS
A. and for MARGARITA CASTELLANOS** a. attorneys residing
at Calle 94A No. 7A-09, Bogotá- Colombia, to
and to obtain the protection of my (our) Intellectual Property, for
which purpose we authorize the said attorneys to represent us
before any authorities, or persons, specially those,
administrative, contentious and judicial, in all matters concerning
the following:

- a) Obtainment of patents, models and designs, registration of
trademarks, service, collective and defensive marks, and of
designations of origin; the deposit of trade names and
ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments,
change of name or domicile, voluntary cancellation, and the
registration of licenses of use of the above rights;
- b) For the obtainment of Sanitary registrations;
- c) For the obtainment of copyright registrations

Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement,
granting of licenses; and in general the civil, criminal and
administrative suits related to those rights; actions and suits
instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of
attorney within the appointed attorneys, compromise, cancel,
receive, withdraw, renounce, accept notifications and appoint
attorneys in fact in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and
applications made by the representatives in the name of the
signatory of this power of attorney, with regard to the faculties
above given, before the execution of the present power of
attorney.

Given and signed this 5th day of February 2014

in Foster City, California, USA

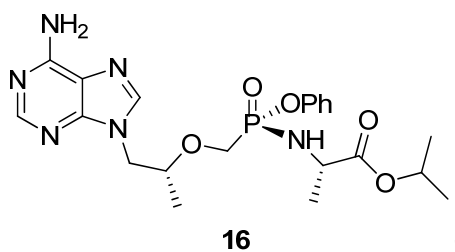
by Brandon S. Boss
Associate General Counsel, Intellectual Property
Gilead Sciences, Inc.

CASTELLANOS & Co.
INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM

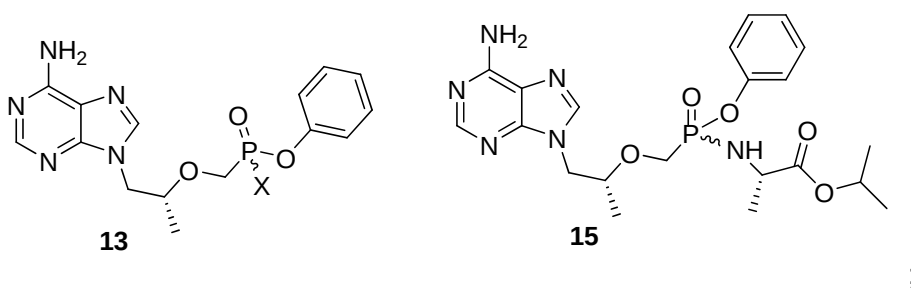
CALLE 94 A No. 7 A - 09 / P.O. BOX 6349
PHONE (57 1) 756 07 70 / FAX (57 1) 755 01 58
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
info@castellanosyco.co

RESUMEN

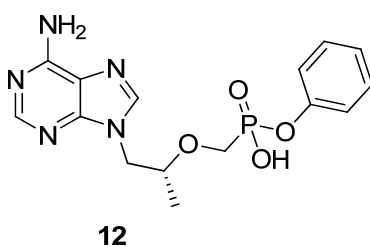
Métodos para aislar 9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}-fenoxifosfinil]metoxi}propil}adenina (compuesto **16**):



un método para preparar, con pureza diastereomérica elevada, los compuestos intermedios **13** y **15**:



y un método para preparar el compuesto intermedio **12**:



9-{(R)-2-[(S)-{(S)-1-(isopropoxycarbonil)etil]amino}fenoxifosfinil]metoxi}-propil}adenina tiene propiedades antivirales.