

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/675

C07F 9/09 A61P 31/10



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 01803858.1

[45] 授权公告日 2004 年 12 月 8 日

[11] 授权公告号 CN 1178665C

[22] 申请日 2001.1.16 [21] 申请号 01803858.1

[30] 优先权

[32] 2000.1.20 [33] US [31] 60/177,169

[32] 2000.11.20 [33] US [31] 60/249,969

[86] 国际申请 PCT/US2001/001284 2001.1.16

[87] 国际公布 WO2001/052852 英 2001.7.26

[85] 进入国家阶段日期 2002.7.18

[71] 专利权人 布里斯托尔-米尔斯·斯奎布公司

地址 美国新泽西

[72] 发明人 Y·乌达 J·D·马逊斯科拉

J·格里克 T·W·哈狄玛

陈中冰

审查员 郭 婷

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

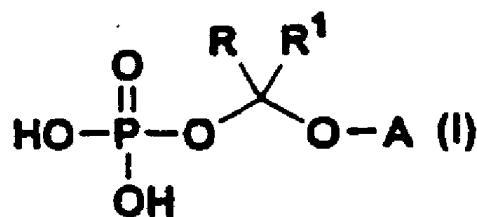
代理人 李华英

权利要求书 6 页 说明书 20 页

[54] 发明名称 唑系化合物的水溶性前药

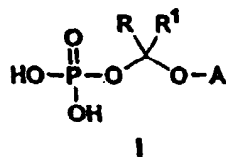
[57] 摘要

本发明提供了带有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的水溶性前药。更具体地讲,本发明提供了通式(I)的新的水溶性三唑抗真菌化合物,其中 A 是含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分, R 和 R¹如说明书中所定义。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

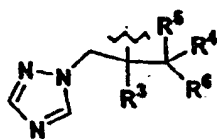
1. 下式化合物或其可药用盐:



其中A是含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分, R和R'彼此独立地是氢或(C₁-C₆)烷基。

2. 权利要求1的化合物, 其中A表示含有叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分。

3. 权利要求2的化合物, 其中A是下式的基团



其中R³表示被一个或多个卤原子取代的苯基;

R⁴表示氢或CH₃;

R⁵表示氢, 或与R⁴合在一起可以表示=CH₂;

R⁶表示5或6元含氮的环, 该环可以选择性地被一个或多个选自下列的基团取代: 卤素、=O、被一个或多个选自CN、(C₆H₄)-OCH₂CF₂CHF₂和CH=CH-(C₆H₄)-OCH₂CF₂CHF₂的基团取代的苯基或被一个或多个选自卤素和甲基吡唑基的基团取代的苯基。

4. 权利要求3的化合物, 其中R³是2,4-二氟苯基。

5. 权利要求4的化合物, 其中R⁴是甲基并且R⁵是氢。

6. 权利要求5的化合物, 其中R⁶是4-(4-氟基苯基)噻唑-2-基。

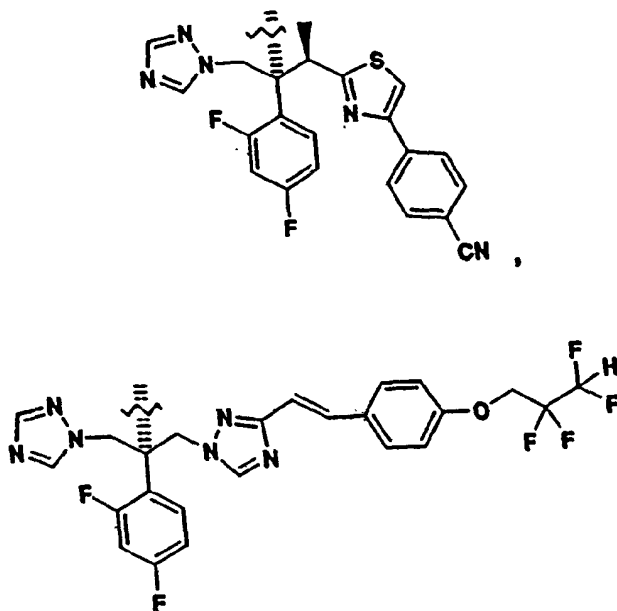
7. 权利要求6的化合物或其可药用盐, 其中R和R¹均是氢。

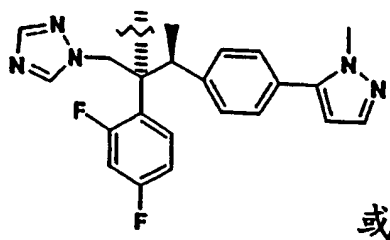
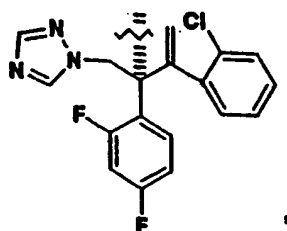
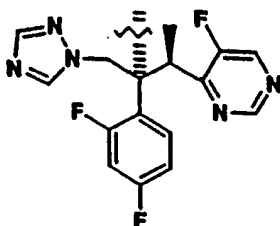
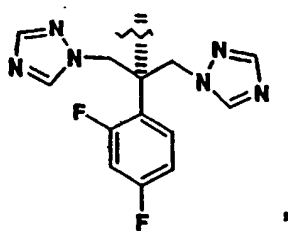
8. 化合物(2R, 3R)-3-[4-(4-氟基苯基)噻唑-2-基]-2-(2, 4-二氟苯基)-1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酰氧基)甲氧基]丁烷或其可药用盐。

9. (2R, 3R)-3-[4-(4-氟基苯基)噻唑-2-基]-2-(2, 4-二氟苯基)-1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酰氧基)甲氧基]丁烷的结晶二赖氨酸盐。

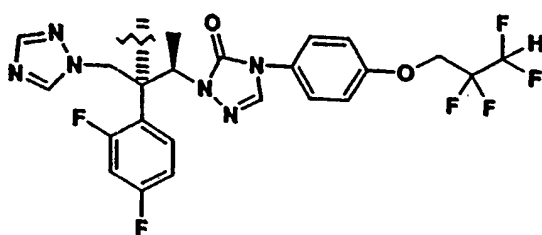
10. (2R, 3R)-3-[4-(4-氟基苯基)噻唑-2-基]-2-(2, 4-二氟苯基)-1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酰氧基)甲氧基]丁烷的结晶叔丁基胺盐。

11. 权利要求1的化合物, 其中A是



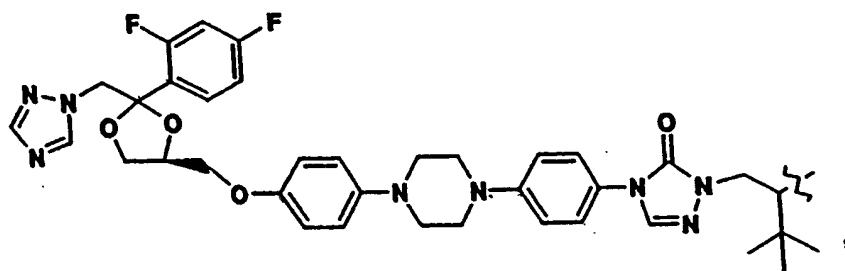
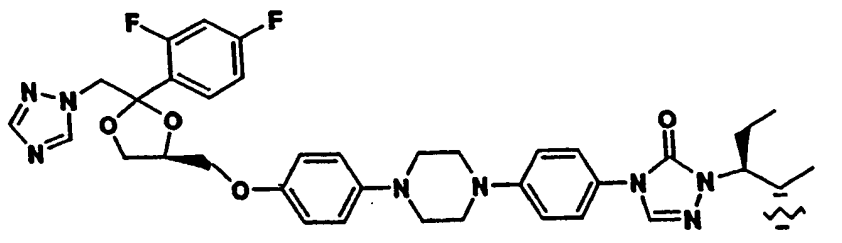
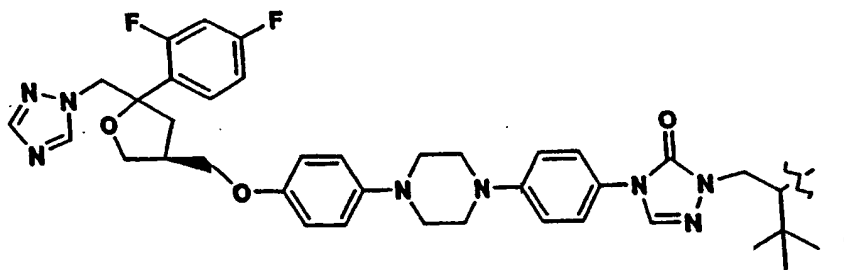
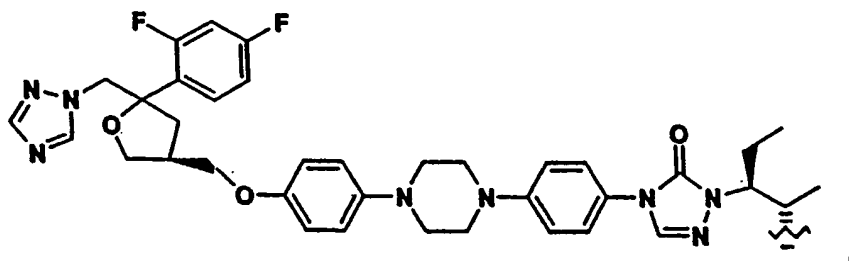


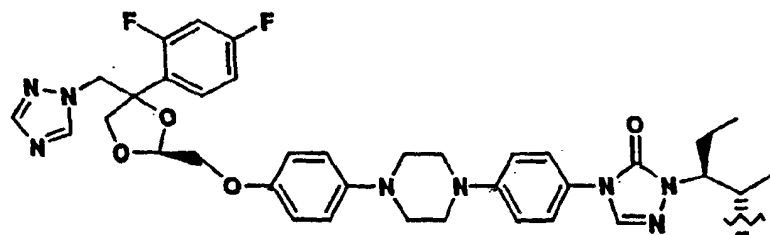
或



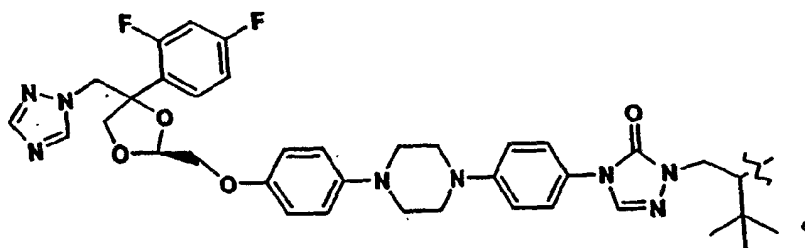
12. 根据权利要求1的化合物，其中A是含有仲羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分，R和R¹可以彼此独立地是氢或(C₁-C₆)烷基。

13. 权利要求12的化合物，其中A是：





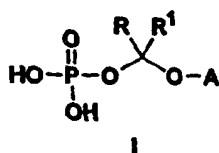
或



14. 权利要求1的化合物或其可药用盐用于制备治疗真菌感染的药物的用途。

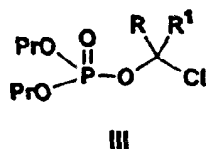
15. 药物组合物，其含有权利要求1的化合物或其可药用盐，与可药用辅剂、稀释剂或载体相混合。

16. 制备下式的水溶性前药或其可药用盐的方法

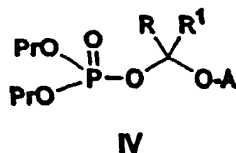


其中A是含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分，R和R'彼此独立地是氢或(C₁-C₆)烷基，该方法包括

(a) 将式A-OH的化合物，其中A是含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分，与下式化合物

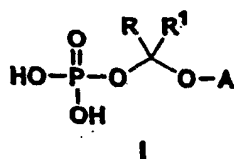


其中R和R¹如上所定义，Pr表示羟基保护基，在惰性有机溶剂中、在碱的存在下于20℃至50℃的温度下反应形成下式的中间体



其中Pr、A、R和R¹如上所定义，和

(b) 通过常规方法除去保护基Pr得到下式的化合物



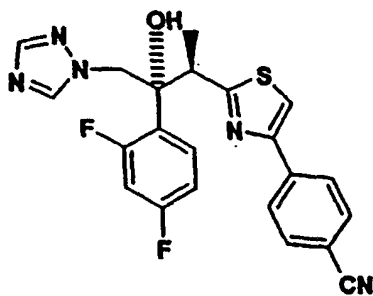
然后，如需要，将所述的化合物I通过常规方法转化成其可药用盐。

17. 权利要求16的方法，其中的保护基Pr是叔丁基。

18. 权利要求16的方法，其中在步骤(a)中所用的溶剂是四氢呋喃。

19. 权利要求16的方法，其中在步骤(a)中所用的碱是氢氧化钠。

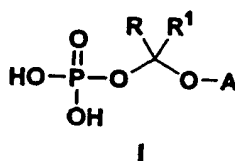
20. 权利要求16的方法，其中的原料A-OH是



唑系化合物的水溶性前药

发明背景

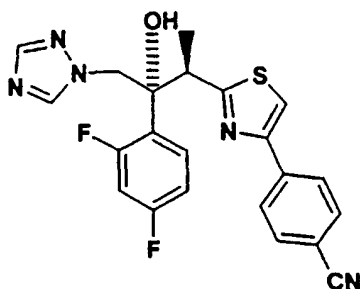
本发明涉及用于治疗严重的全身性真菌感染并且适于口服以及、特别是适于胃肠外给药的新的水溶性唑系化合物。更具体地讲，本发明涉及具有如下通式的新的水溶性前药或其可药用盐：



其中A是含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分，R和R¹彼此独立地是氢或(C₁-C₆)烷基。

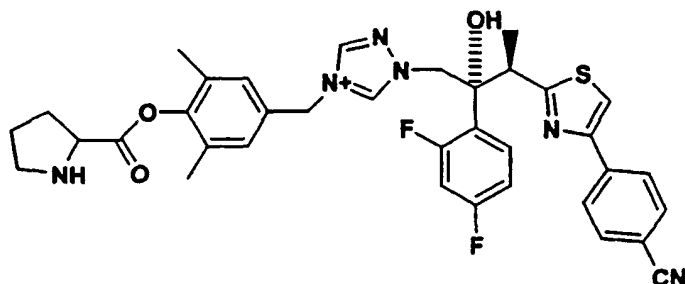
现有技术的描述

三唑抗真菌化合物是现有技术中公知的。在已知的多种类型中，一种特别有效的类型含有叔羟基。例如，美国专利5,648,372公开了(2R,3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-丁-2-醇具有抗真菌活性。

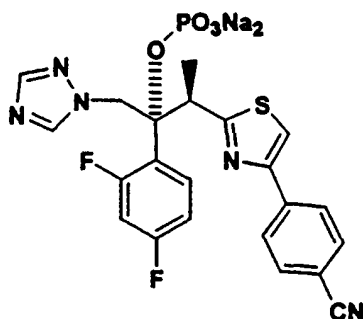


该类型化合物的应用受到了其水溶性低的限制。例如，上述三唑化合物在pH 6.8的水中的溶解度为0.0006mg/mL。这大大妨碍了开发适宜的胃肠外剂量形式。

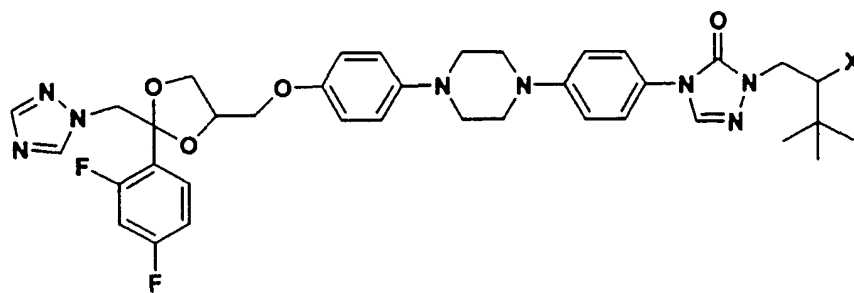
欧洲专利申请829478中公开了一种解决该问题的方法, 其中通过在分子的唑系部分连接氨基酸增加了唑系抗真菌药物的水溶性。



另外, WO 97/28169公开了可将磷酸酯部分直接与抗真菌化合物的叔羟基部分相连, 例如下式的化合物

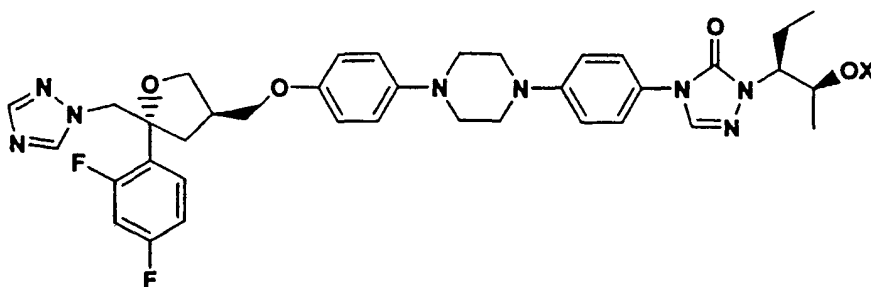


美国专利5, 707, 977和WO 95/19983公开了具有如下通式的水溶性前药



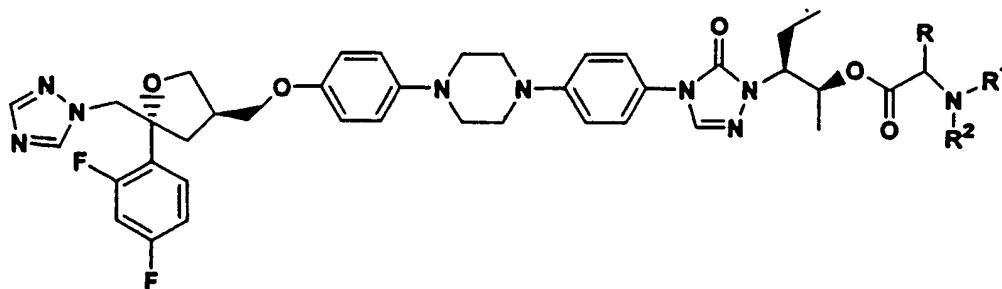
其中X是 $OP(O)(OH)_2$ 或易于水解的酯 $OC(O)R^1R^2$ 。

WO 95/17407公开了如下通式的水溶性唑系前药

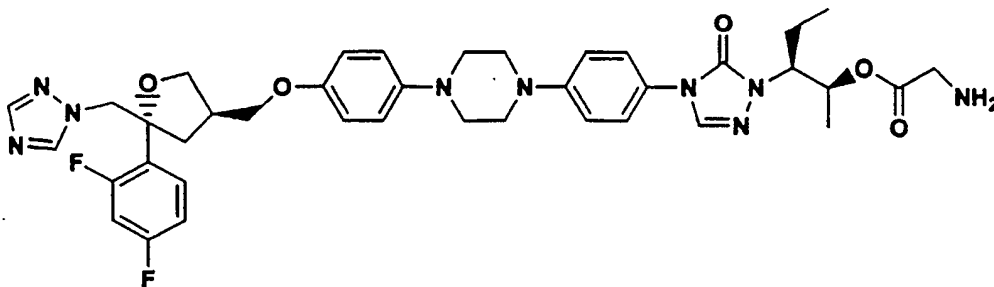


其中 X 是 $P(O)(OH)_2$ 、 $C(O)-(CHR^1)_n-OP(O)(OH)_2$ 或 $C(O)-(CHR^1)_n-(OCHR^1CHR^1)_mOR^2$ 。

WO 96/38443公开了如下通式的水溶性唑系前药

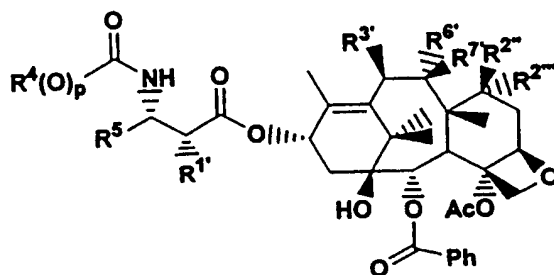


美国专利5,883,097公开了水溶性氨基酸唑系前药例如甘氨酸酯



向含有羟基的药物中引入磷酸氧基甲基部分是已知的制备含羟基药物的水溶性前药的方法。

欧洲专利申请604910公开了如下通式的磷酸氧基甲基紫杉烷衍生物

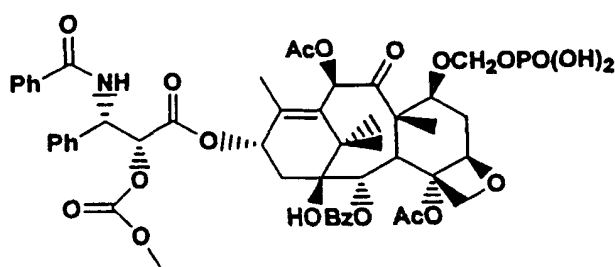


其中 $R^{1'}$ 、 $R^{2''}$ 、 $R^{3'}$ 、 $R^{6'}$ 或 $R^{7'}$ 中至少有一个是 $OCH_2OP(O)(OH)_2$ 。

欧洲专利申请639577公开了式 $T-[OCH_2(OCH_2)_mOP(O)(OH)_2]_n$ 的磷酸氧基甲基紫杉烷衍生物及其可药用盐，其中 T 是在 C13 碳原子上带有取代的 3-氨基-2-羟基丙酰氧基的紫杉烷部分；n 是 1、2 或 3；m 是 0 或 1 至 6 的整数，包括端值。

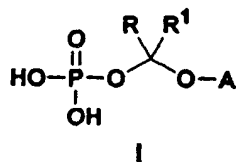
WO 99/38873公开了二芳基1,3,4-恶二唑酮钾通道开放剂的O-磷酸氧基甲基醚前药。

Golik, J. 等, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1996, 6: 1837-1842公开了紫杉酚的新的水溶性前药, 例如



发明概述

现已发现, 含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物、包括(2R, 3R)-3-[4-(4-氰基苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-丁-2-醇通过连接基连接含磷酸酯的部分可以转化成前药, 其性质优于以前公开的前药。具体地讲, 本发明包括下式化合物或其可药用盐:



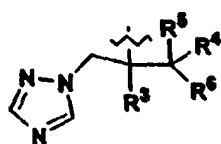
其中A是含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分, R和R'彼此独立地是氢或(C₁-C₆)烷基。

当进行体内给药时, 作为前药的通式I化合物可以在碱性磷酸酶的存在下转化成生物学活性的母体唑系化合物。

优选的式I化合物是其中R和R'均是氢的化合物。

在一个优选的实施方案中, A表示含有叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分。

在上述类型化合物的更优选的实施方案中, A可以是



其中 R^3 表示被一个或多个(优选1-3个)卤原子取代的苯基;

R^4 表示H或 CH_3 ;

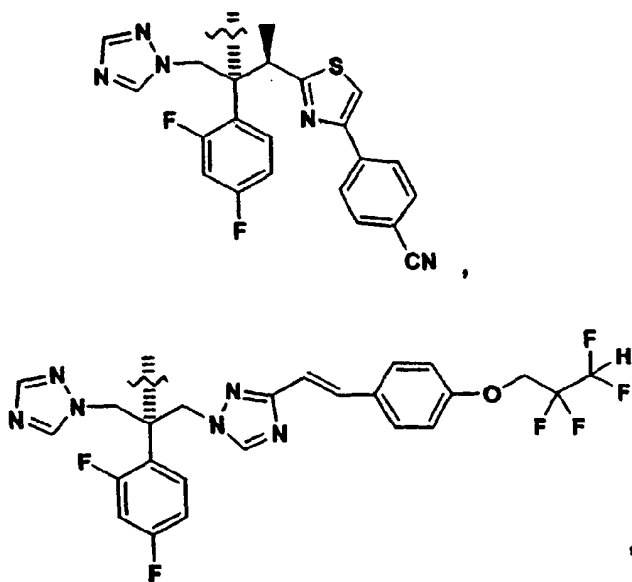
R^5 表示H或与 R^4 合在一起可以表示 $=CH_2$;

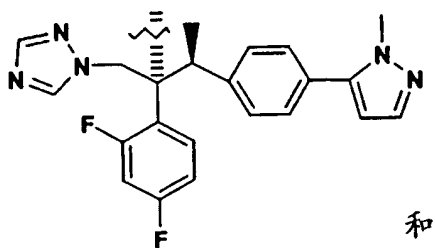
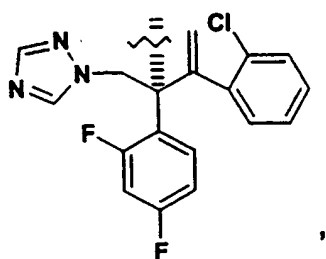
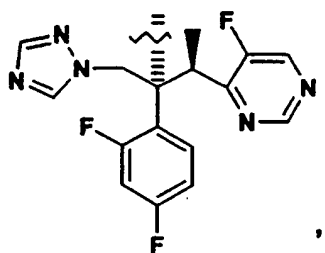
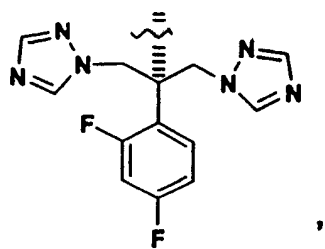
R^6 表示5或6元含氮的环, 该环可以选择性地被一个或多个选自下列的基团取代: 卤素、 $=O$ 、被一个或多个选自CN、 $(C_6H_4)-OCH_2CF_2CHF_2$ 和 $CH=CH-(C_6H_4)-OCH_2CF_2CHF_2$ 的基团取代的苯基或被一个或多个选自卤素和甲基吡唑基的基团取代的苯基。

R^6 所表示的含氮杂环包括三唑基、嘧啶基和噻唑基。

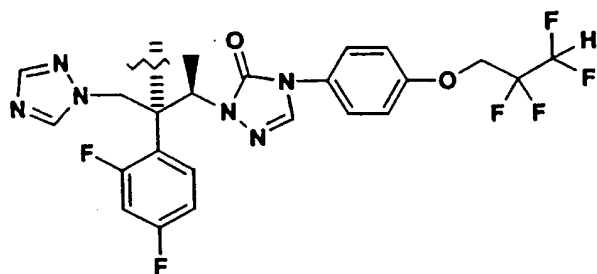
优选地, 在上述化合物中 R^3 表示2, 4-二氟苯基, 更优选其中 R^4 是甲基并且 R^5 是氢, 进一步优选 R^6 是4-(4-氟基苯基)噻唑-2-基。

A的具体例子包括但不限于:

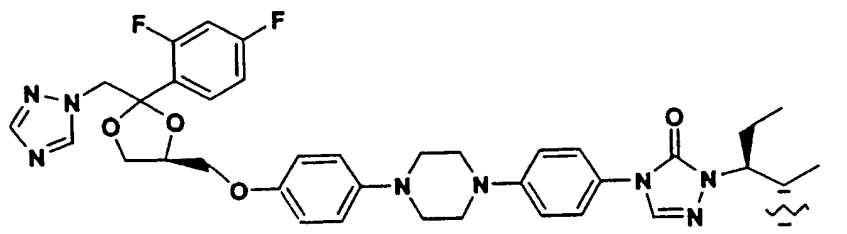
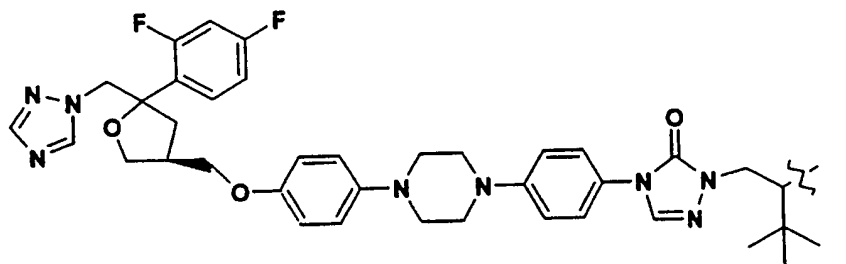
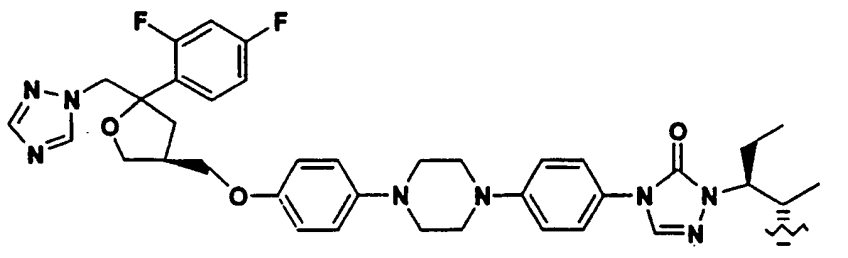


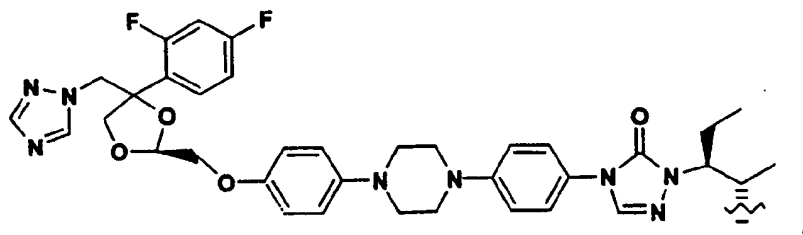
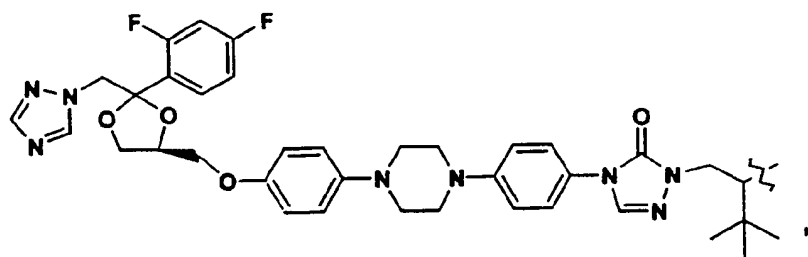


和

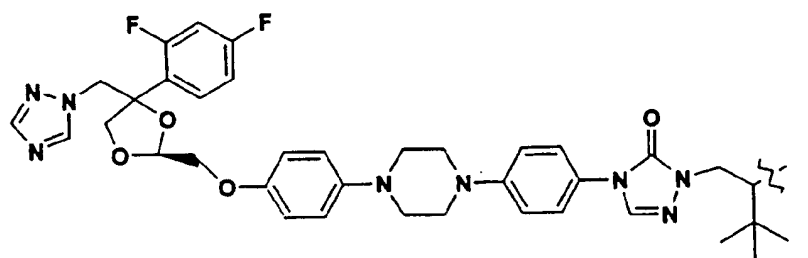


除了可将本发明用于含有叔醇的结构外，应当理解，该发现还可用于含有仲羟基的抗真菌剂。含有仲羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分的一些例子包括但不限于：





或



发明详述

本文中所用的“(C₁-C₆)烷基”是指含有1至6个碳原子的直链或支链的饱和脂肪族基团例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基等。

本文中所用的术语“可药用盐”包括与抗衡离子例如铵的磷酸盐、金属盐、与氨基酸形成的盐、与胺形成的盐以及与其它碱例如吡啶或吗啉形成的盐。术语“可药用盐”包括单盐或二盐。具体的实施方案包括铵、钠、钙、镁、铯、锂、钾、钡、锌、铝、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、甲胺、乙胺、叔丁基胺、环己基胺、N-甲基葡萄糖胺、乙二胺、甘氨酸、普鲁卡因、苯乍生(benzathene)、二乙醇胺、三乙醇胺、吡啶和吗啉。对于首选的实施方案，(2R, 3R)-3-[4-(4-氰基苯基)噻唑-2-基]-2-(2, 4-二氟苯基)-1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酸氧基)甲氧基]

丁烷，特别优选叔丁基胺和赖氨酸盐，因为它们可以以高纯度的单一的多晶型结晶固体的形式得到并具有良好的溶解度和稳定性。

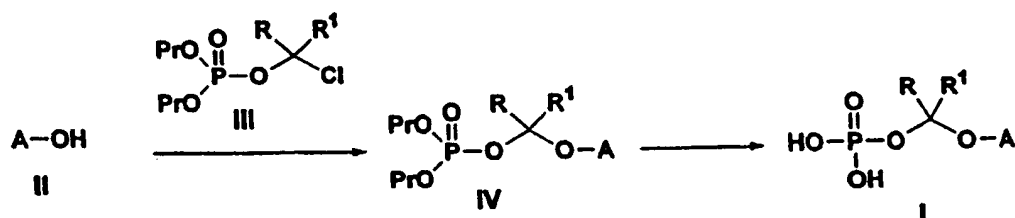
本文中所用的术语“卤素”包括氯、溴、氟和碘，优选氯或氟，首选氟。

本发明化合物可以是溶剂化的或非溶剂化的。

优选的溶剂化物是水合物。

本发明的首选的实施方案是(2R,3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酸氧基)甲氧基]丁烷或其可药用盐。该前药显示比母体化合物明显改善了的水溶性(在pH 7时>10mg/mL，在pH 4.3时5-6mg/mL)，从而使其可用于胃肠外给药以及口服给药。该化合物在溶液中是稳定的，可以以结晶的形式分离并且很容易其体内转化成母体药物。

本发明化合物可以通过如下通用反应方案制得。在该方法中，A表示含有仲或叔羟基的三唑抗真菌化合物的非羟基部分，Pr表示常规的羟基保护基例如叔丁基、苄基或烯丙基，R和R¹彼此独立地是氢或(C₁-C₆)烷基。首选R和R¹均是氢。



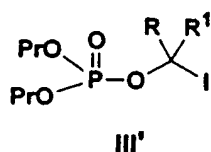
对该方法的详细说明：将抗真菌母体化合物II通过用氯化物中间体III在适宜的碱例如氢氧化钠、氢氧化钾、氨基钠、叔丁醇钠、叔丁醇钾、二(三甲基硅烷基)氨基钠、二(三甲基硅烷基)氨基钾或其组合例如氢氧化钠加二(三甲基硅烷基)氨基钠的存在下进行O-烷基化转化成磷酸酯中间体IV。该反应步骤可以在惰性有机溶剂例如四氢呋喃、甲基-四氢呋喃、甲基叔丁基醚、乙醚或二甲基乙酰胺中、在约0℃至50℃、优选约20℃至50℃，更优选约20℃至40℃、首选在约40℃下进行。首选的碱是氢氧化钠，首选的溶剂是四氢呋喃。首选的R和R¹基团是氢。

然后将酯中间体IV进行常规的脱保护步骤以除去羟基保护基Pr。在该步骤中所用的试剂取决于所用的具体羟基保护基，这是本领域技术人员熟知的。首选的羟基保护基是叔丁基，它可以用三氟乙酸、盐酸或甲酸在适宜的惰性有机溶剂中除去。该惰性溶剂可以是例如二氯甲烷、二氯乙烷、甲苯或三氟甲基苯。在二叔丁基酯的优选的脱保护步骤中，优选三氟乙酸在二氯甲烷中、在约0至40℃、首选约0-5℃的温度下进行脱保护步骤。

然后通过常规方法例如反相C-18柱色谱或溶剂萃取回收和纯化最终产物I。

当然，可以通过常规方法将终产物I转化成上述的可药用盐。

随后发现在上述反应中使用纯化的反应物III给出了非常低的中间体IV的收率(约10-35%收率)，导致产物I的总收率很低。但是，当向上述反应的O-烷基化步骤中加入碘离子源时，中间体IV的收率出人意料地增加到了约90%，因此也显著增加了最终产物I的收率。据信碘离子的加入可以导致就地形成下式的相应的碘化物中间体III'：



使用该反应物可以大大增加磷酸酯中间体IV的收率。但是，在上述反应的第一步中直接用预先形成的中间体III'代替中间体III的尝试却没有成功，因为碘化物反应物III'与氯化物中间体III相比稳定性大大降低了。另一种成功的方法涉及在O-烷基化步骤中将碘和氯化物中间体III在碱例如NaH（它也可以起到碘的还原剂的作用）的存在下一起使用。据信碘被还原成了碘离子，然后该碘离子将氯化物中间体III就地转化成碘化物中间体III'而促进该步骤的进行。以下举例说明的实施例描述了使用元素碘的O-烷基化步骤，这是完成该反应得到中间体IV的优选方法。

通过加入碘离子源或通过将碘和试剂III在强碱的存在下反应就地形成碘化物反应物III'，大大增加了磷酸酯IV的收率，从而使最终产物I的

收率也大大增加。

碘离子源优选是碘化钠，但也包括碘化锂、碘化铯、碘化镭、碘化钴、碘化铜、碘化铷、碘化钡、碘化铟和碘化钙。每当量母体化合物A-OH通常使用约2-3当量的碘化物盐。

当在偶联步骤中使用元素碘时，每当量母体化合物A-OH通常使用约0.1至1.0当量的碘，优选0.5当量。

当使用碘或碘离子时，所用的碱和溶剂与使用反应物III本身时所描述的那些相同。

应当理解，当上述反应中所用的取代基中含有某些可能引起不利副反应的对反应敏感的功能基例如氨基或羧基时，可将这些基团通过本领域技术人员已知的常规保护基进行保护。关于适宜保护基及其脱除方法的描述可以参见例如Protective Groups in Organic Synthesis, Theodora W. Greene (John Wiley & Sons, 1991)。这些“保护”的中间体和终产物均包括在本发明的公开和权利要求的范围内。

可以理解，包括在式I范围内的某些产物可以带有能够形成光学异构体的取代基。所有这些光学异构体及其差向异构体混合物形式、即R-或S-或外消旋的形式均包括在本发明的范围内。

药物活性的本发明化合物可以单独使用或者配制成药物组合物的形式，所述药物组合物除活性成分三唑外，还含有可药用载体、辅剂或稀释剂。该化合物可以通过各种方法给药，例如通过口服、局部或胃肠外（静脉内或肌肉内注射）的途径给药。药物组合物可以是固体的形式例如胶囊、片剂、散剂等，或是液体的形式例如溶液剂、混悬剂或乳剂。注射用组合物可以制成在安瓿或多剂量容器中的单位剂量形式，并可含有添加剂例如助悬剂、稳定剂和分散剂。组合物可以是即可使用的形式或是用于在给药时用适宜的赋形剂例如无菌水重建的粉末形式。

或者，可将本发明的化合物以栓剂或阴道栓的形式给药，或者可将它们以洗剂、溶液剂或霜剂的形式局部涂抹。此外，还可将其掺入（以最高10%的浓度）由白蜡或软白蜡基质和所需的稳定剂和/或防腐剂组成的软膏中。

本发明的化合物是有用的，因为它们在动物、包括哺乳动物、特别是人中具有药理学活性。具体地讲，本发明的化合物可用于治疗或预防局部的真菌感染，包括由念珠菌属、发癣菌属、小孢子菌属或表皮癣菌属引起的感染。此外，它们还可用于治疗由白色念珠菌引起的粘膜感染。它们还可用于治疗由例如白色念珠菌、新型隐球菌、黄曲霉、烟曲霉、球孢子菌属、副球孢子菌属、组织胞浆菌属或芽生菌引起的全身性的真菌感染。

因此，根据本发明的另一方面，本发明提供了治疗真菌感染的方法，该方法包括向宿主、特别是哺乳动物宿主、尤其是人类患者施用治疗有效量的化合物。还提供了本发明化合物作为药物的用途以及本发明化合物在生产用于治疗真菌感染的药物中的用途。

给药剂量在很大程度上取决于所用的具体化合物、所配制的具体组合物、给药途径、宿主的性质和状况、所要治疗具体部位和生物体。对具体的优选剂量和施用途径的选择应由医生或兽医决定。但是，通常可将化合物以大约5mg/天至约1.0g/天的量向哺乳动物宿主胃肠外或口服给药。这些剂量是一般情况的例子，可能有个别情况需要更高或更低的剂量，这些剂量也在本发明的范围内。此外，本发明化合物的给药可以以单个或分开的剂量进行。

本发明化合物抗真菌活性的体外评估可以通过测定最低抑制浓度(MIC)来进行。MIC是可以抑制试验微生物生长的试验化合物浓度。在实践中，将含有特定浓度的试验化合物的一系列琼脂板用真菌菌株接种，然后将各平板于37℃保温48小时。检查平板是否有真菌的生长，并记录相关的浓度。可用于试验的微生物包括白色念珠菌、烟曲霉、发癣菌属、小孢子菌属、絮状表皮癣菌、粗球孢子菌和光滑球拟酵母(*Torulopsos galbrata*)。应当注意，作为前药，某些本发明化合物可能在体外试验中是无活性的。

本发明化合物的体内评估可以在一系列剂量水平下通过向接种了真菌菌种(例如白色念珠菌)的小鼠腹膜内或静脉内注射或口服给药来进行。在未治疗组的小鼠死亡后，通过将不同剂量水平下的治疗组小鼠的

存活率进行比较来测定活性。记录可以对感染的致死作用提供50%保护的试验化合物的剂量水平。

本发明的化合物大大增加了三唑抗真菌母体化合物的溶解度，并且在人类肝S9实验中证实，该化合物可以释放出生物学活性的母体化合物(即，起到前药的作用)。

说明性实施例

以下实施例举例说明了本发明，但并不是对本发明的限定。在实施例中使用的缩写是本领域技术人员公知的常规缩写。所用的一些缩写如下：

h	=	小时
rt	=	室温
mmol	=	毫摩尔
g	=	克
THF	=	四氢呋喃
ml	=	毫升
L	=	升
Et ₂ O	=	乙醚
EtOAc	=	乙酸乙酯
TFA	=	三氟乙酸
CH ₂ Cl ₂	=	二氯甲烷
CH ₃ CN	=	乙腈

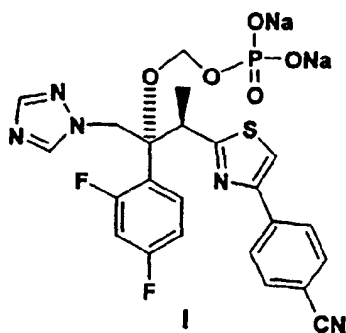
在以下实施例中，所有的温度均为摄氏度。熔点在电热仪器上测定，未校正。质子核磁共振(¹H NMR)光谱在Bruker-500、Bruker AM-300或Varian Gemini 300光谱仪上测定。所有光谱均在CDCl₃或D₂O中测定，除非另有说明。化学位移以相对于四甲基硅烷(TMS)或参考溶剂峰的δ单位(ppm)表示，质子间的偶合常数用赫兹(Hz)表示。将裂分图型指定为：s，单峰；d，二重峰；t，三重峰；q，四重峰；m，多重峰；br，

宽峰；dd，双二重峰；dt，双三重峰；app d，表观的二重峰等。质谱采用直接化学电离(DCI，异丁烯)、快原子轰击(FAB)或电子离子喷雾(ESI)在Kratos MS-50或Finnegan 4500仪器上测定。

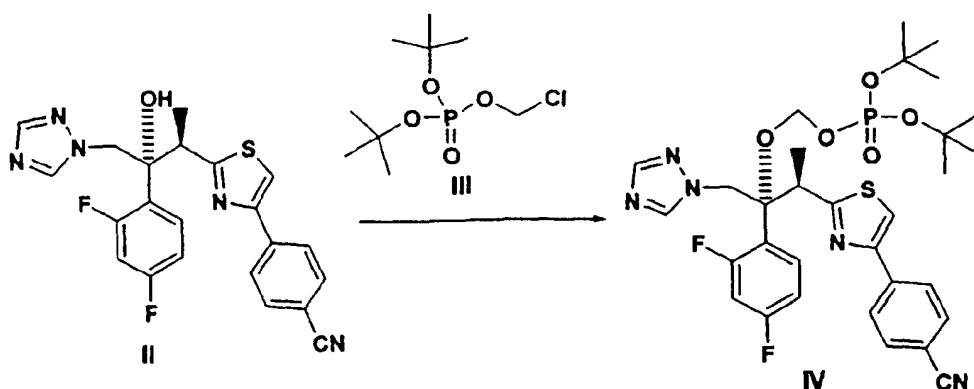
分析薄层色谱(TLC)在预先铺好的硅胶板(60F-254)上进行并用紫外光、碘蒸汽和/或通过磷钼酸/甲醇一起加热染色使其显现。反相色谱用C18硅胶(Waters Corporation Preparative C18 125A)在玻璃柱中在略高于常压的压力下进行。

实施例1

(2R, 3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酸氧基)甲氧基]丁烷，钠盐



A. (2R, 3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二叔丁基磷酸氧基)甲氧基]丁烷

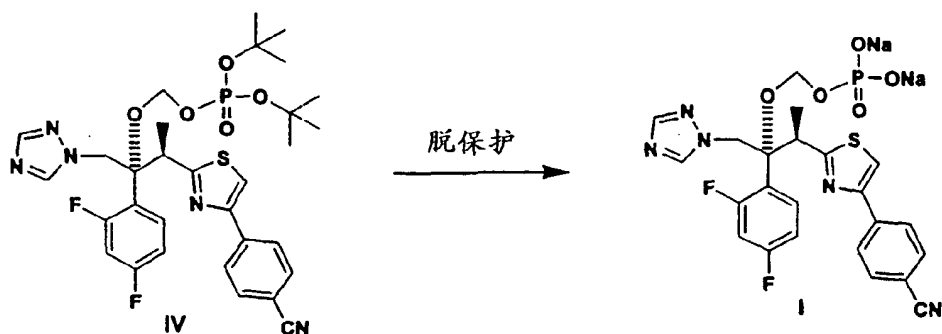


氮气氛下，向(2R, 3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)丁-2-醇(II) (8.74g, 20mmol)的THF (40ml)溶液中于室温下加入氢化钠(0.80g, 60%的油分散液，

20mmol)。将形成的混合物室温搅拌0.25小时然后加入二叔丁基氯甲基磷酸酯(III) (10.3g, 40mmol)。将反应混合物于50℃加热16小时。然后将反应混合物冷却至室温并减压浓缩。将残余物溶于Et₂O并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸镁干燥然后减压浓缩得到17.0g树脂状的粗品小标题化合物(IV)。将一小部分该粗品化合物通过反相色谱在C-18上纯化。将柱子用30% CH₃CN/H₂O、38% CH₃CN/H₂O、45% CH₃CN/H₂O然后是50% CH₃CN/H₂O洗脱。将含有产物的馏份减压浓缩除去CH₃CN。然后将得到的水层用Et₂O萃取。将Et₂O层用盐水洗涤,干燥然后减压浓缩得到白色固体状纯化的的小标题化合物(IV)。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8.35 (s, 1H), 7.98 (d, 2H, J=9), 7.76 (s, 1H), 7.71 (d, 2H, J=9), 7.63 (s, 1H), 7.36-7.27 (m, 1H), 6.86-6.78 (m, 2H), 5.53 (dd, 1H, J=28,6), 5.53 (dd, 1H, J=9,6), 5.17 (d, 1H, J=15), 5.03 (d, 1H, J=15), 4.01 (q, 1H, J=7), 1.47 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.37 (d, 3H, J=7). MS [ESI⁺ (M+H)⁺] 660.2 实测值

B. (2R, 3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酸氧基)甲氧基]丁烷, 钠盐



将粗品(2R, 3R)-3-[4-(4-氟苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二-叔丁基膦酰氧基)甲氧基]丁烷(IV) (17g)溶于CH₂Cl₂ (100ml)。向该溶液中加入TFA (50ml)然后将反应混合物室温搅拌0.25小时。然后将反应混合物减压浓缩。向残余物中加入H₂O (200ml)、Et₂O (100ml)和EtOAc (100ml)。通过加入固体碳酸钠将

水层的pH调至7.6, 然后将有机层和水层分离。然后将水层在400g C-18 上柱进行反相色谱, 用H₂O至5% CH₃CN/H₂O洗脱。将含有产物的馏份减压浓缩, 冷冻然后冷冻干燥得到1.5g白色固体状的小标题化合物(I) (1.5g, 12%, 两步)。¹H NMR (500 MHz,

D₂O) δ 8.91 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.81 (d, 2H, J=8), 7.80 (s, 1H), 7.77 (d, 2H, J=8), 7.21 (dd, 1H, J=15,9), 6.99 (ddd, 1H, J=9,9,2), 6.91 (ddd, 1H, J=9,9,2), 5.35 (dd, 1H, J=6,6), 5.29 (d, 1H, J=15), 5.21 (dd, 1H, J=6,6), 5.19 (d, 1H, J=15), 3.86 (q, 1H, J=7), and 1.35 (d, 3H, J=7); MS [(ESI⁺ (M-H)⁺ 546.1]; 计算值 C₂₃H₁₈F₂N₅O₅S₁P₁/Na₂/3.5 H₂O: C, 42.21; H, 3.85; N, 10.70; Na, 7.03. 实测值 C, 42.32; H, 3.83; N, 10.60; Na, 7.04.

二叔丁基氯甲基磷酸酯, III:

二叔丁基氯甲基磷酸酯(III)可以通过下述方法中的任一种方法制得。

方法1

将二叔丁基磷酸银(6.34g, 20mmol), 其通过将磷酸二叔丁酯(根据Zwierzak和Kluba, Tetrahedron, 1971, 27, 3163的方法从亚磷酸二叔丁酯制得)和1当量碳酸银在50%乙腈水溶液中混合然后冷冻干燥至干制得, 和氯碘甲烷(35g, 200mmol)一起加入苯中然后于室温搅拌18小时。将反应混合物过滤然后将滤液减压浓缩。将残余物进行硅胶色谱, 用2:1 己烷-乙酸乙酯洗脱。将适宜的馏份浓缩至干得到小标题化合物III (3.7g, 71%收率):

¹H NMR (CDCl₃) δ 5.63 (d, 2H, J=17), 1.51 (s, 18H); MS (MH⁺ = 259).

方法2

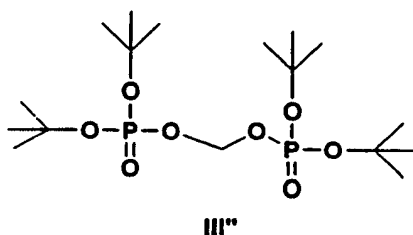
通过将磷酸二叔丁酯[20g, 94mmol (根据Zwierzak和Kluba, Tetrahedron, 1971, 27, 3163的方法从亚磷酸二叔丁酯制得)]溶于四丁基氧化铵的甲醇溶液(47ml 1M的溶液, 47mmol)制备二叔丁基磷酸四

丁基铵。反应混合物的温度为23℃，pH为4.33。在0.2小时内加入四丁基氢氧化铵的甲醇溶液(48ml 1M的溶液，48mmol)将反应混合物的pH值调至6.5-7.0。将反应混合物在约26℃下搅拌0.5小时然后在低于40℃的油浴温度下减压浓缩。通过加入甲苯(3 x 100ml)将粗品残余物共沸3次，然后将混合物减压浓缩。将粗品残余物在冷的己烷(0℃)中研磨1小时然后过滤收集固体，用最少量的冷己烷洗涤然后干燥得到第一批白色固体状的二叔丁基磷酸四丁基铵(24.0g)。将母液减压浓缩然后在冷的己烷(20ml)中研磨1小时。过滤收集固体，用最少量的冷己烷洗涤然后干燥得到第二批白色固体状的二叔丁基磷酸四丁基铵[(8.5g)，总共32.5g (77%)]。将二叔丁基磷酸四丁基铵(218g，480mmol)的苯(200ml)溶液在室温下于1.5小时内滴加到搅拌中的氯碘甲烷(800g，4535mmol)中。将反应混合物在室温下继续搅拌1.5小时然后减压浓缩。将油状残余物溶于Et₂O，然后过滤除去析出的白色固体。将有机层用饱和碳酸氢钠和H₂O/盐水(1/1)洗涤。然后将有机层用硫酸镁干燥，过滤，然后减压浓缩得到红棕色的油(320g)。将红棕色的油在硅胶(800g)上进行色谱分离，用20% EtOAc/己烷、25% EtOAc/己烷然后是30% EtOAc/己烷洗脱。将含有产物的馏份减压浓缩得到金色的油。将该油用CH₂Cl₂ (30ml)稀释，减压浓缩然后真空干燥得到小标题化合物III (61.3g，49%收率)。¹H NMR (苯-d₆) δ 5.20 (2H, d, J=15), 1.22 (18H, s)。

方法3

将碘氯甲烷(974g，402ml，5.53mol)于25℃下用二叔丁基磷酸四丁基铵(250g，0.553mol)处理。磷酸盐于10分钟内分批加入。该异质的混合物在约15分钟后变为澄清的粉红色溶液。将该混合物搅拌3小时，然后通过旋转蒸发(油浴温度<30℃)除去碘氯甲烷。将残余物加入1L叔丁基甲基醚中并搅拌15分钟以析出四丁基碘化铵副产物。

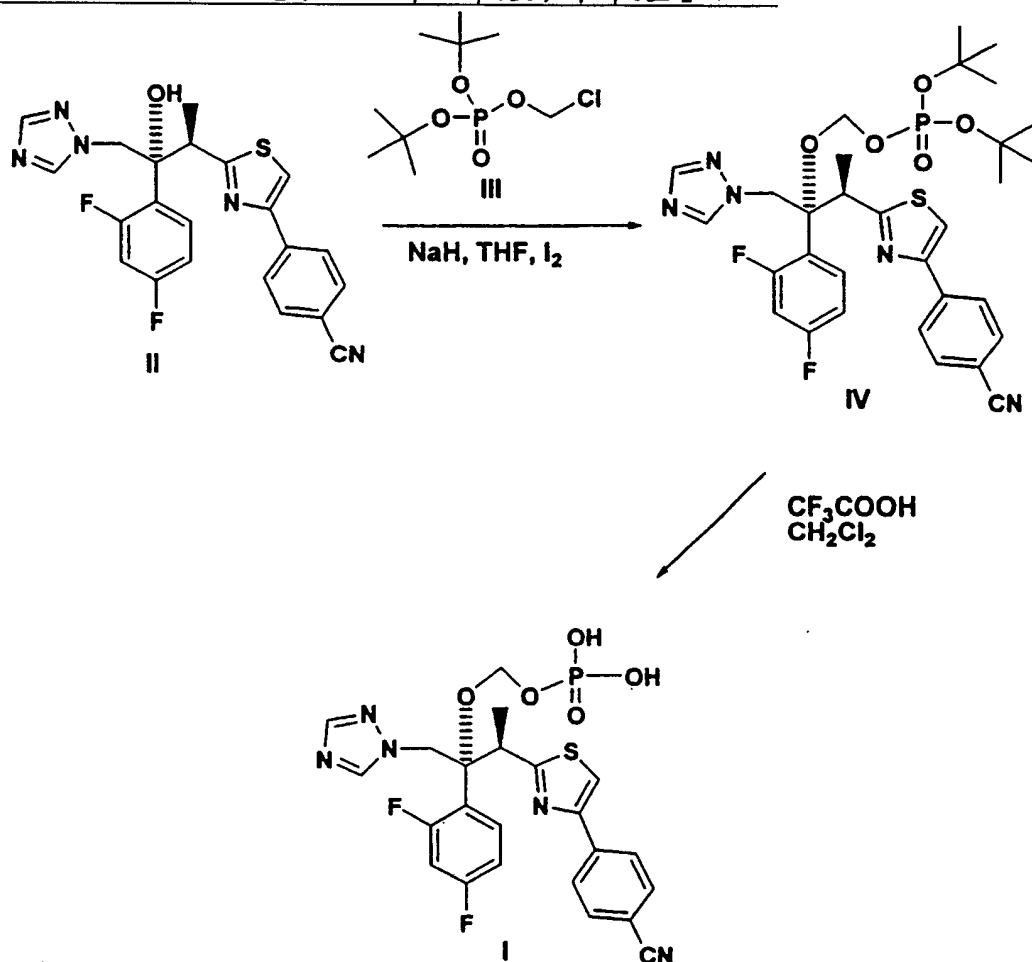
通过用烧结的玻璃漏斗真空过滤除去四丁基碘化铵。将滤液通过旋转蒸发浓缩成油，其含有III和不需要的二聚体杂质(5:1)的混合物。



该混合物可以通过硅胶色谱纯化得到油状的纯净化合物形式的III，收率约为60%。

实施例2

(2R, 3R)-3-[4-(4-氰基苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酸氧基)甲氧基]丁烷



A. 向烘箱干燥的、装有机械搅拌器、氮气入口接管、配有橡胶隔膜的衡压加液漏斗和温度计的1L圆底烧瓶中加入氢化钠(2.89g, 0.069mol, 60%)和THF (50ml)。向该搅拌中的悬浮液中于室温下在20分钟内滴加(2R, 3R)-3-[4-(4-氰基苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-

1, 2, 4-三唑-1-基)丁-2-醇(II) (10g, 0.023mol)的30ml THF溶液。搅拌45分钟后, 于10分钟内滴加碘(2.99g, 0.0115mol)的THF (30ml)溶液, 然后于15分钟内滴加化合物二叔丁基氯甲基磷酸酯(III) (13.29g, 0.035mol, 纯度约为68%)。将反应混合物于大约41℃下搅拌4小时完成反应。通过反应过程中的HPLC判断反应是否完成。将反应混合物倒入冰冷的水(100ml)中。分出水相并用乙酸乙酯(3 x 50ml)萃取, 将合并的有机萃取液用10%硫代亚硫酸钠(50ml)、水(50ml)、盐水 (50ml)洗涤, 用硫酸镁干燥然后减压浓缩得到浅黄色的油(22.8g, 反应过程中的HPLC: 纯度约为97%)。将粗产物直接用于步骤B。

B. 向装有磁搅拌器、冷却浴、pH探头和N₂入口-出口的圆底烧瓶中加入以上步骤A的产物(7.5g)的CH₂Cl₂ (23ml)溶液并冷却至0℃。向该搅拌的溶液中缓慢加入三氟乙酸(8.8ml)并搅拌3小时完成反应。通过反应过程中的HPLC判断反应是否完成。将反应混合物倒入冷的2N NaOH (64ml)溶液中。将反应混合物用乙酸叔丁酯(2 x 65ml)萃取除去所有的有机杂质。将含有二钠盐形式的标题产物的水层用活性炭(10g)处理然后用硅藻土垫过滤。将澄清的滤液用1N HCl酸化至pH 2.5。将游离酸(标题产物)用乙酸乙酯(2 x 50ml)萃取。将合成的有机层用水洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤然后将滤液减压浓缩得到3.39g粗品标题产物。

实施例3

(2R, 3R)-3-[4-(4-氟基苯基)噻唑-2-基]-2-(2, 4-二氟苯基)-1-(1H-1, 2, 4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酸氧基)甲氧基]丁烷的二赖氨酸盐

将以上实施例2得到的标题产物溶于甲醇(75ml), 向其中加入L-赖氨酸(1.8g)然后于60℃加热4.5小时。将热的反应混合物用硅藻土垫过滤。将滤液浓缩至约5ml, 与乙醇(100ml)混合然后加热至65℃使二赖氨酸盐结晶。将该盐收集在布氏漏斗上然后真空干燥得到3.71g米白色结晶固体状标题化合物。

实施例4

(2R, 3R)-3-[4-(4-氰基苯基)噻唑-2-基]-2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-[(二氢磷酰氧基)甲氧基]丁烷的叔丁基胺盐

将实施例2的标题产物溶于50ml乙酸乙酯并在氮气气氛下向其中加入叔丁基胺(5.3ml)。将反应混合物在40℃下搅拌约1小时使产物结晶。将二叔丁基胺盐收集在布氏漏斗上然后真空干燥得到2.21g米白色结晶固体状标题化合物。