(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117343101 A
(43)申请公布日 2024.01.05

(21)申请号 202311252160.0
(22)申请日 2012.10.03
(30)优先权数据
61/544,950 2011.10.07 US
(62)分案原申请数据
201280048965.7 2012.10.03
(71)申请人 吉利德科学公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 丹尼斯·A·科尔比
安德鲁·安东尼·马丁斯
本杰明·詹姆斯·罗伯茨
罗伯特·威廉·斯科特
妮科尔·S·怀特
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平
(51)Int.Cl.
C07F 9/6561(2006.01)

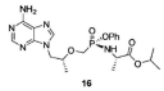
权利要求书3页 说明书8页

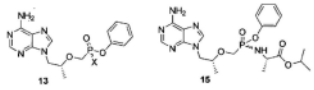
(54)发明名称

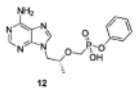
制备抗病毒核苷酸类似物的方法

(57)摘要

本发明涉及分离9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物16)的方法;以高非对映异构体纯度制备中间体化合物13和15的方法;和制备中间体化合物12的方法。9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤具有抗病毒性质。







CN 117343101 A

1.一种方法,其包含使包含以下的溶液经历提供9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤的选择性结晶的条件:

a)适宜溶剂;

b)适宜碱;和

c)9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述溶液进一步包含9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤的一种或多种晶种。

3.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述溶剂包含非质子性有机溶剂。

4.根据权利要求1到3中任一权利要求所述的方法,其中所述溶剂包含乙酸乙酯、乙酸甲酯、乙酸丙酯、乙酸异丙酯、二乙醚、二异丙醚、四氢呋喃、二氯甲烷、丙酮、甲基乙基酮、甲基叔丁基醚、甲苯或乙腈或其混合物。

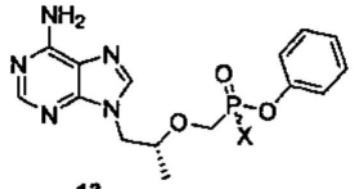
5.根据权利要求4所述的方法,其中所述溶剂包含乙腈。

6.根据权利要求1到5中任一权利要求所述的方法,其中所述碱为1,5-重氮双环[4.3.0]壬-5-烯、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯、7-甲基-1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯、四甲基胍、维可碱(Verkade base)、金属碳酸盐、金属酚盐或PhOTMS与氟离子源的组合或其混合物。

7.根据权利要求6所述的方法,其中所述碱为1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯。

8.根据权利要求1到7中任一权利要求所述的方法,其中所述溶液进一步包含苯酚。

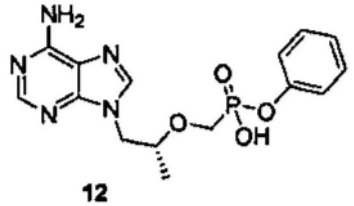
9.一种制备为至少约90%非对映异构体纯的化合物13的方法,



13

,

其中X为卤基,所述方法包含用适宜卤化剂在提供至少约90%非对映异构体纯的化合物13的条件下处理化合物12:



12

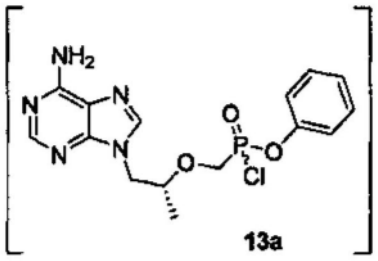
。

10.根据权利要求9所述的方法,其中所述卤化剂为亚硫酰氯($SOCl_2$)、草酰氯($C_2O_2Cl_2$)、三氯化磷(PCl_3)、氯三苯基膦盐、亚硫酰溴($SOBr_2$)、草酰溴($C_2O_2Br_2$)、三溴化磷(PBr_3)或溴三苯基膦盐。

11.根据权利要求9或10所述的方法,其中在包含以下的溶剂中用所述卤化剂处理化合物12:四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈、甲苯、氯苯、1,2-二氯乙烷、1,4-二噁烷、环丁砜或三氯乙烯或其混合物。

12.根据权利要求9到11中任一权利要求所述的方法,其中在约-20℃到约110℃范围内的温度下用所述卤化剂处理化合物12。

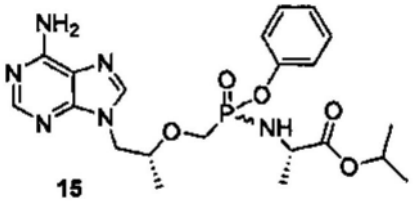
13.根据权利要求9所述的方法,其中在约22℃到约110℃的温度下在甲苯中用亚硫酰氯处理化合物12,以提供化合物13a:



13a

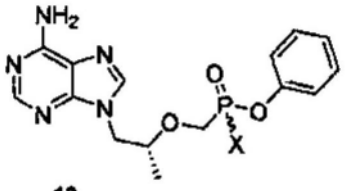
所述化合物13a为至少约90%非对映异构体纯。

14.一种制备为至少约90%非对映异构体纯的化合物16的化合物15的方法,



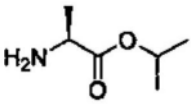
15

所述方法包含将至少约90%非对映异构体纯的化合物13:



13,

其中X为卤基;在提供为至少约90%非对映异构体纯的化合物16的化合物15的条件下用胺11处理:

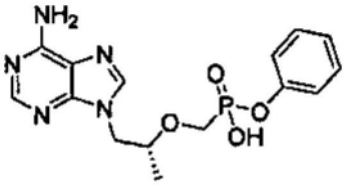


11。

15.根据权利要求14所述的方法,其中X为氯。

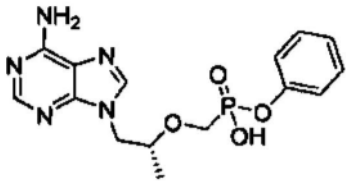
16.根据权利要求14或15所述的方法,其中在-78℃到25℃的温度下在三乙胺存在下在适宜溶剂中用胺11处理化合物13。

17.根据权利要求14所述的方法,其进一步包含通过用适宜卤化剂处理化合物12来制备化合物13:



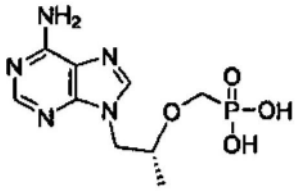
12。

18.一种制备化合物12的方法,



12

其包含在适宜碱存在下用亚磷酸三苯酯处理PMPA：



PMPA

以提供化合物12。

19.根据权利要求18所述的方法,其中在三乙胺和二甲基氨基吡啶存在下在适宜溶剂中用亚磷酸三苯酯处理PMPA以提供化合物12。

20.根据权利要求18或19所述的方法,其中在约20℃到约82℃范围内的温度下在乙腈中用亚磷酸三苯酯处理PMPA。

制备抗病毒核苷酸类似物的方法

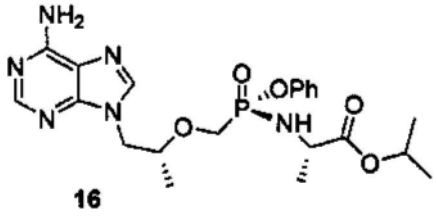
[0001] 本申请是申请日为2012年10月3日、申请号为201280048965.7、发明名称为“制备抗病毒核苷酸类似物的方法”,以及申请日为2012年10月3日、申请号为2017103655155、发明名称为“制备抗病毒核苷酸类似物的方法”的中国发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案交叉参考

[0003] 本申请案主张于2011年10月7日提出申请的美国临时专利申请案第61/544,950号的优先权权益,其全部内容以引用方式并入本文中。

背景技术

[0004] 美国专利第7,390,791号和第7,803,788号(每一专利的全部内容均以引用方式并入本文中)描述了可用于疗法中的某些膦酸酯核苷酸类似物前药。一种此类前药是9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物16):

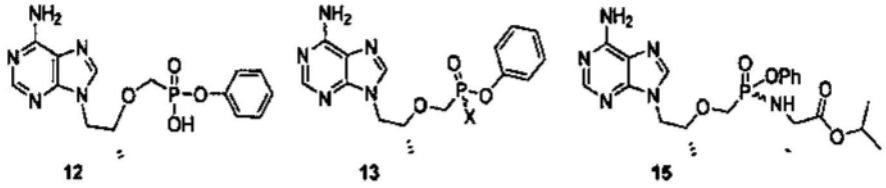
[0005] 

16

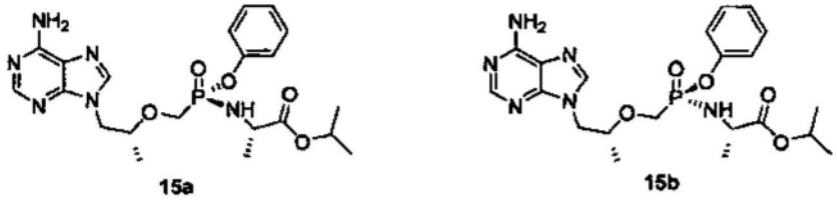
。

[0006] 此化合物也由化学文摘(Chemical Abstract)命名为N-[(S)-[[(1R)-2-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1-甲基乙氧基]甲基]苯氧基氧膦基]-L-丙氨酸1-甲基乙基酯。美国专利第7,390,791号和第7,803,788号还揭示了此化合物的单富马酸形式和其制备方法(例如,参见实例4)。

[0007] 化合物12、化合物13(其中X为卤基)和化合物15:

[0008] 

[0009] 是可用于制备化合物16的合成中间体。化合物15描绘为在磷中心处的非对映异构体的混合物。组成化合物15的混合物的两种非对映异构体在此处示为化合物15a和15b。异构体15a在结构上与化合物16相同。

[0010] 

[0011] 当前,业内需要制备化合物12、13、15和16的改进方法。具体来说,需要以高非对映异构体纯度制备化合物13、15和16的改进方法。所述改进方法可提供较高产率,更容易执

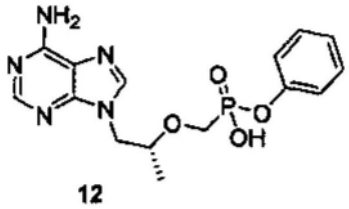
行,或使用成本或毒性低于现行方法的试剂。

发明内容

[0012] 本发明描述使用结晶诱导性动态拆分来分离9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物16)的改进方法;以高非对映异构体纯度制备化合物13和15的改进方法;和制备化合物12的改进方法。

[0013] 因此,在一个实施例中,提供一种方法,其包含使包含以下的溶液经历提供9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤的选择性结晶的条件:a)适宜溶剂;b)适宜碱;c)非对映异构体混合物9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤;和任选地,d)9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤的一种或多种晶种。

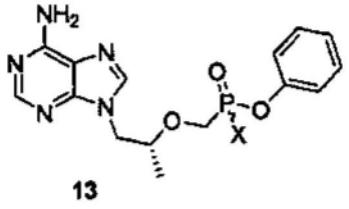
[0014] 在另一实施例中,提供一种通过以下方式制备为至少约90%非对映异构体纯的化合物13的方法:用亚硫酰氯处理化合物12的甲苯溶液:

[0015] 

12

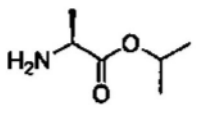
[0016] 以提供化合物13,其中X=Cl。

[0017] 在另一实施例中,提供一种制备为至少约90%非对映异构体纯的化合物16的9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)的方法,所述方法包含将至少约90%非对映异构体纯的化合物13:

[0018] 

13

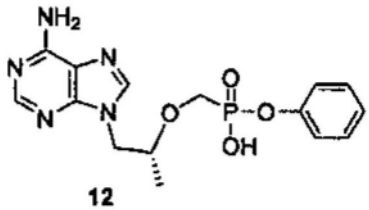
[0019] (其中X为卤基);在提供为至少约90%非对映异构体纯的化合物16(即,异构体15a)的条件下用胺11处理:

[0020] 

11

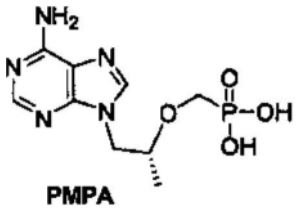
。

[0021] 在另一实施例中,提供制备化合物12的方法:

[0022] 

12

[0023] 其包含在适宜碱存在下用亚磷酸三苯酯处理PMPA：

[0024] 

PMPA

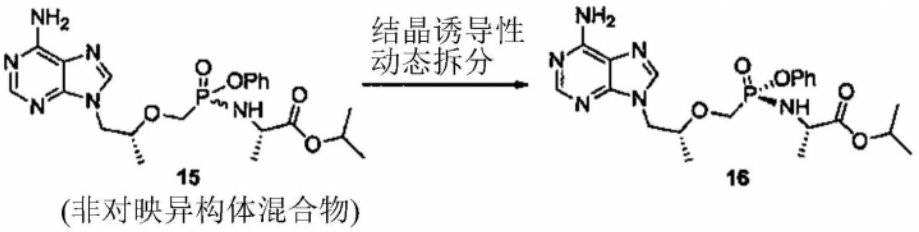
[0025] 以提供化合物12。

[0026] 本发明还提供本文所揭示的新颖方法和中间体。

具体实施方式

[0027] 下文针对基团、取代基和范围所列示的具体值只是为了进行说明;其不排除其它定义值或在针对所述基团和取代基所定义范围内的其它值。

[0028] 通过结晶诱导性动态拆分制备化合物16

[0029] 在一个实施例中,提供结晶诱导性动态拆分9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)以提供9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物16)的方法 

(非对映异构体混合物) 所述方法包含在还提供9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤的选择性结晶的条件下使包含以下的溶液经历提供磷中心的差向异构化的条件:a)适宜溶剂;b)适宜碱;c)9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤;和任选地,d)9-{(R)-2-[((S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤的一种或多种晶种。

[0030] 结晶可在任一适宜溶剂中实施。例如,其可在非质子性有机溶剂中或在其混合物中实施。例如,非质子性有机溶剂可包含乙酸乙酯、乙酸甲酯、乙酸丙酯、乙酸异丙酯、二乙醚、二异丙醚、四氢呋喃、二氯甲烷、丙酮、甲基乙基酮、甲基叔丁基醚、甲苯或乙腈或其混合物。在一个实施例中,所述溶剂包含乙腈。

[0031] 拆分可在任一适宜碱存在下实施。例如,拆分可在选自以下的碱存在下实施:1,5-重氮双环[4.3.0]壬-5-烯(DBN)、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(DBU)、7-甲基-1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯(MTBD)、四甲基胍、维可碱(Verkade base)(例如,2,8,9-三异丙基-2,5,8,9-四氮杂-1-磷杂双环[3.3.3]十一烷和2,8,9-三异丁基-2,5,8,9-四氮杂-1-磷杂双环[3.3.3]十一烷)、金属碳酸盐(例如,M_XCO_3)、金属酚盐($M^{+-}OPh$)和PhOTMS与氟离子源(例如,$R_4N^{+-}F$、TASF(二氟三甲基硅酸三(二甲基氨基)锍)或TBAT(三苯基二氟硅酸四丁基铵))的组合和其混合物,其中每一M为适宜金属,例如碱金属或碱土金属,并且每一R为例如(C_1-C_6)烷基。在一个特定实施例中,碱为DBU。

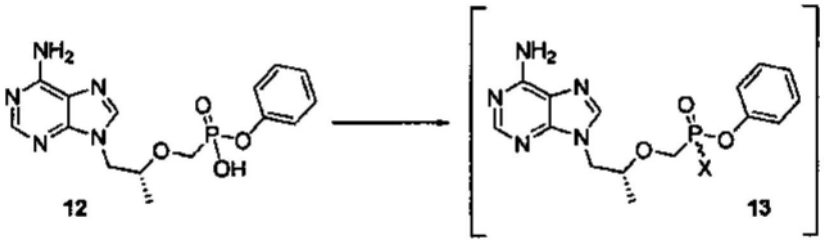
[0032] 拆分还可在任一适宜温度(例如,在约0℃到约50℃范围内的温度)下实施。在一个

特定实施例中,拆分在约20℃的温度下实施。

[0033] 在一个特定实施例中,拆分在苯酚存在下实施。

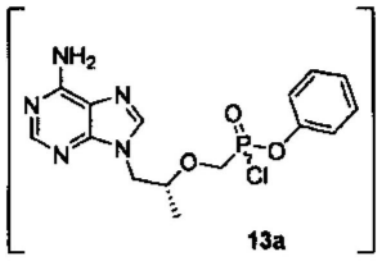
[0034] 起始非对映异构体混合物中的化合物16的百分比可为在约0%到约99%范围内的任何值。在本发明的一个实施例中,起始非对映异构体混合物中的化合物16的百分比在约0%到约20%范围内。在一个实施例中,起始非对映异构体混合物中的化合物16的百分比在约20%到约99%范围内。在一个实施例中,起始非对映异构体混合物中的化合物16的百分比在约50%到约99%范围内。在一个实施例中,最终化合物16为至少约90%、约95%、约97%或约99%非对映异构体纯。在一个实施例中,最终化合物16含有小于1%的任何非对映异构体杂质。在一个实施例中,最终化合物16不含任何可检测的非对映异构体杂质。

[0035] 具有高的非对映异构体纯度的化合物13的制备

[0036] 

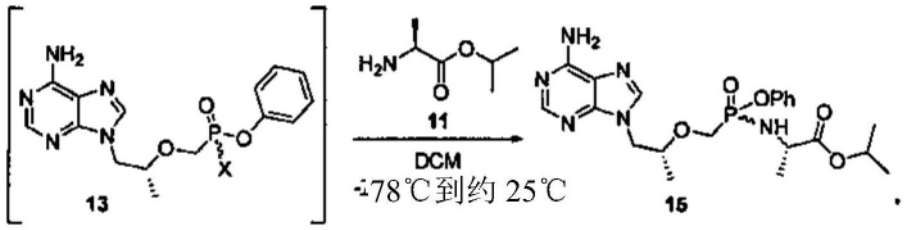
[0037] 为至少约90%非对映异构体纯的化合物13(其中X为卤基)可通过用适宜卤化剂处理化合物12来制备。例如,化合物13可通过用卤化剂(例如,亚硫酰氯($SOCl_2$)、草酰氯($C_2O_2Cl_2$)、三氯化磷(PCl_3)、氯三苯基膦盐、亚硫酰溴($SOBr_2$)、草酰溴($C_2O_2Br_2$)、三溴化磷(PBr_3)或溴三苯基膦盐)处理化合物12来制备。所述反应可在适宜温度(例如,在约-20℃到约100℃范围内的温度)下在适宜有机溶剂中实施。适宜溶剂包括四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈、甲苯、氯苯、1,2-二氯乙烷、1,4-二噁烷、环丁砜和三氯乙烯和其混合物。

[0038] 在一个实施例中,在约22℃到约110℃的温度下在甲苯中用亚硫酰氯处理化合物12以提供化合物13a:

[0039] 

[0040] 所述化合物13a为至少约90%非对映异构体纯。在一个实施例中,最终化合物13a为至少约90%、约95%、约97%或约99%非对映异构体纯。在一个实施例中,最终化合物13a含有小于1%的任何非对映异构体杂质。在一个实施例中,最终化合物13a不含任何可检测的非对映异构体杂质。

[0041] 以高非对映异构体纯度制备化合物15

[0042] 

[0043] 化合物15可通过在提供化合物15的条件下用胺11处理为至少约90％非对映异构体纯的化合物13(其中X为卤基)来制备,所述化合物15为至少约90％非对映异构体纯的的特定异构体15a,在本文中也表示为化合物16。例如,化合物15可通过在适宜温度(例如,在约-78℃到约25℃范围内的温度)下在适宜有机溶剂中用胺11处理化合物13来制备。适宜溶剂包括有机溶剂,例如四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、三氯乙烯、1,4-二噁烷、乙腈、甲苯、氯苯、环丁砜和乙酸异丙酯和其混合物。所述反应可方便地在适宜碱存在下实施,所述适宜碱是例如三乙胺($(C_2H_5)_3N$)、N,N-二异丙基乙基胺($[(CH_3)_2CH]_2NC_2H_5$)或1,8-双(二甲基氨基)-萘(质子海绵(proton sponge),$C_{14}H_{18}N_2$)。在所述反应后,可用含有适宜洗涤试剂的水溶液洗涤所得材料,所述适宜洗涤试剂是例如磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)、碳酸氢钾($KHCO_3$)、柠檬酸($C_6H_8O_7$)或碳酸氢钠($NaHCO_3$)。所得有机溶液可经适宜干燥剂(例如,硫酸钠、硫酸镁或氯化钙)干燥以提供化合物15,所述化合物15为至少约90％非对映异构体纯的化合物16。

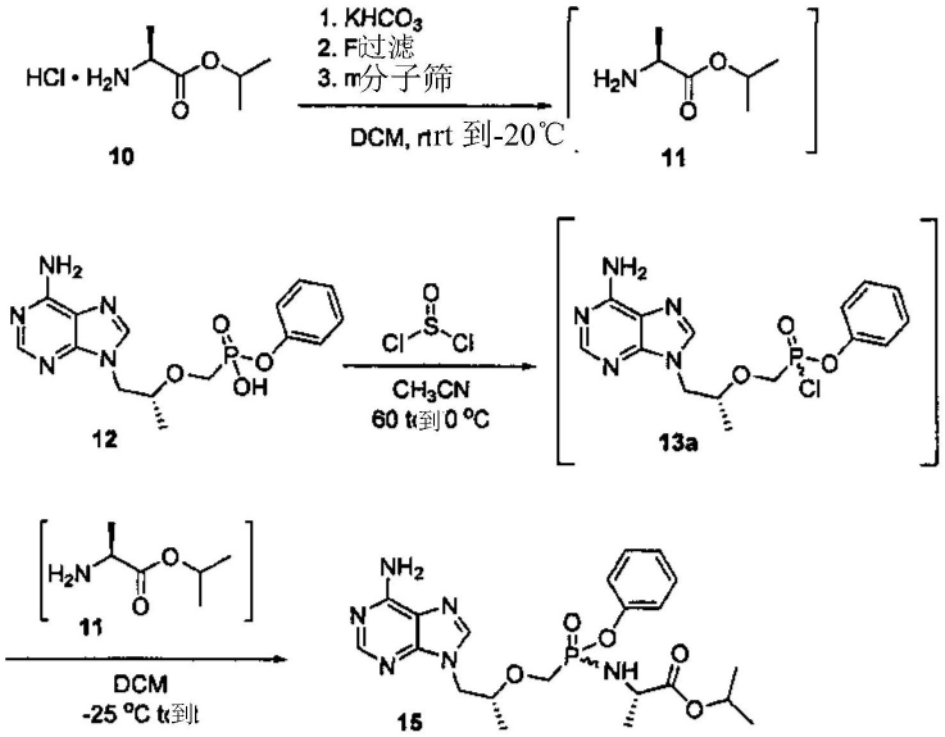
[0044] 在一个实施例中,在-25℃到25℃的温度下在三乙胺存在下在二氯甲烷中用胺11处理为至少约90％非对映异构体纯的化合物13(其中X为氯)。然后用含有磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)和碳酸氢钾($KHCO_3$)的水溶液洗涤所得反应混合物并且经硫酸钠干燥以提供化合物15,所述化合物15为至少约90％非对映异构体纯的化合物16。在一个实施例中,起始化合物13和所得化合物15为至少约95％或97％非对映异构体纯。在一个实施例中,最终化合物15含有至少约90％、约95％、约97％或约99％非对映异构体纯的化合物16。在一个实施例中,最终化合物15含有小于1％的任何非对映异构体杂质。

[0045] 化合物12的制备

[0046] 化合物12可如例如美国专利第7,390,791号中所述制备,或其可如本文所述制备。在一个实施例中,提供制备化合物12的方法,其包含在适宜碱存在下用亚磷酸三苯酯处理PMPA以提供化合物12。所述反应可方便地在适宜溶剂中实施,所述适宜溶剂是例如乙腈、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二氯乙烷、吡啶、乙酸烷基酯(例如,乙酸乙酯)或二烷基醚(例如,二乙醚)或其混合物。所述反应还可方便地在适宜碱存在下实施,所述适宜碱是例如三烷基胺(例如,三乙胺)、2-甲基咪唑、二甲基氨基吡啶(DMAP)、1,5-重氮双环[4.3.0]壬-5-烯(DBN)、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(DBU)或吡啶或其混合物。所述反应方便地还可在适宜温度(例如,约20℃到约120℃(例如,约20℃到约82℃)的温度)下实施。在一个特定实施例中,在约80℃下在三乙胺和二甲基氨基吡啶存在下在乙腈中用亚磷酸三苯酯处理PMPA以提供化合物12。

[0047] 以下为非限制性说明性实例。

[0048] 实例1:非对映异构体混合物9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)的制备

[0049] 

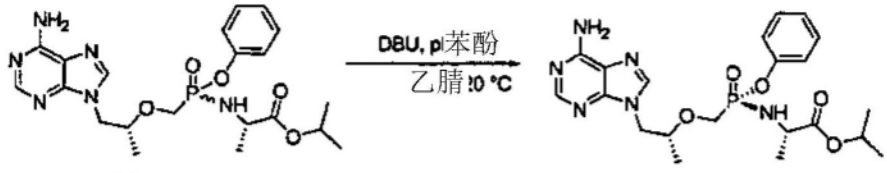
[0050] a.化合物11的制备.将L-丙氨酸异丙酯盐酸盐(化合物10)(1kg,5.97mol,1.0当量)和碳酸氢钾(1.45kg,14.5mol,2.43当量)于DCM(4kg)中以最大搅动搅动10到14小时,将罐温度维持在19℃与25℃之间。然后将混合物过滤并且进一步用DCM(2kg)冲洗。在4Å分子筛床上干燥滤液直到溶液的水含量≤0.05%。然后将含有化合物11的所得母液冷却到-20℃的罐温度并且保持以供进一步使用。

[0051] b.化合物13a的制备.在60℃下经2小时将化合物12(1kg,2.75mol,1.00当量)以10份相等部分添加到亚硫酰氯(0.72kg,6.02mol,2.19当量)存于乙腈(5.5kg)中的溶液中。然后将罐温度调节到70℃并且搅拌1到3小时直到认为反应完成。然后将罐温度调节到40℃并且施加真空。将混合物蒸馏到干燥,最高夹套温度维持在40℃。然后将干燥残余物吸收于二氯甲烷(30kg)中并且将罐温度调节到19℃到25℃。保持含有化合物13a的所得浆液以供进一步使用。

[0052] c.化合物15的制备.在-25℃下经最长2小时向L-丙氨酸异丙酯11(4.82当量)的母液中添加含有化合物13a(1.0当量)的浆液,罐温度维持≤-10℃。然后使所述混合物在≤-10℃的温度下保持至少30分钟,随后使用水润湿的pH纸检查pH。如果pH<4,那么用三乙胺调节到pH 4-7。然后将罐温度调节到室温(19℃到25℃)。在单独容器中,制备磷酸二氢钠(2.2kg,18mol,6.90当量)存于水(16kg)中的溶液。将一半的磷酸二氢钠溶液装入膦酸酰胺化物(phosphonamidate)反应器中,并且剧烈地搅拌。沉降并分配各层。再次用剩余一半的磷酸二氢钠溶液洗涤有机层。在单独容器中,制备碳酸氢钾(1.1kg,11mol,4.22当量)存于水(5.5kg)中的溶液。将一半的碳酸氢钾溶液装入有机相中,并且剧烈地搅拌。沉降并分配各层。再次用剩余一半的碳酸氢钾溶液洗涤有机层,之后进行最终水(3.3kg)洗涤。然后保留有机相并且将其蒸馏到约6L的体积。分析所得溶液的水含量。如果水含量>1.0%,那么可装入DCM并且重复蒸馏到约6L。当溶液水含量小于1.0%或为约1.0%时,将罐温度调节到19℃到25℃,然后排出存于DCM中的母液以提供非对映异构体混合物9-{(R)-2-[((R,S)-

{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ1.20-1.33(m,12H),3.62 -3.74(m,1H),3.86-4.22(m,5H),4.30-4.44(m,1H),4.83-5.10(m,1H),6.02(br s,3H),7.18-7.34(m,5H),7.98-8.02(m,1H),8.32-8.36(m,1H);^{31}P NMR(162MHz,CDCb):δ.21.5,22.9。

[0053] 实例2:对非对映异构体混合物9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)进行结晶诱导性动态拆分以提供9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物16)

[0054] 

15
(非对映异构体混合物)

16

[0055] 将9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)存于乙腈中的22wt%溶液(2.3kg溶液,0.51kg化合物15,1.1mol,1当量)中装入配备有顶置式搅拌器、蒸馏设备和氮入口的容器中。通过在100毫巴到300毫巴下在45℃到55℃的温度范围内进行蒸馏将混合物浓缩到30wt%到35wt%的最终浓度。然后去除蒸馏设备并且将溶液冷却到20℃。利用2.0%化合物16向溶液中加晶种并且在20℃下搅拌1小时。添加苯酚(9.9g,0.11mol,0.1当量)和DBU(16g,0.11mol,0.1当量)并且将混合物再搅拌24小时,或直到溶液中残留的化合物16的重量百分比小于12%。然后将浆液冷却到0℃并且在0℃下再搅拌18小时。在0℃下将浆液过滤并且用乙酸异丙酯:乙腈的1:1溶液(1.5L)洗涤。在50℃真空炉中干燥固体,得到0.40kg呈白色固体形式的化合物16(80%产率)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ1.21(m,9H),1.28(d,J=7.0Hz,3H),3.65(dd,J=13.1,10.7,1H)4.00(m,4H),4.33(dd,J=14.4,3.1Hz,1H),5.00(m,1H)6.00(bs,2H),6.99(m,2H),7.07(m,1H),7.19(m,2H),7.97(s,1H),8.33(s,1H)。^{31}P NMR(162MHz,$CDCl_3$):δ.20.8。

[0056] 实例3:以高非对映异构体纯度制备化合物13a

[0057] 在环境温度下向化合物12(10.0g,27.5mmol,1.00当量)存于甲苯(60mL)中的浆液中添加亚硫酰氯(3.0mL,41mmol,1.5当量)。将浆液加热到70℃并且搅动48到96小时直到通过HPLC认为反应和非对映异构体富集完成(目标:化合物12到化合物13a的转化率>97.0%并且化合物13a的非对映异构体比>90:10)。通过真空蒸馏将混合物浓缩干燥,并且将干燥残余物吸收于甲苯(50mL)中。在环境温度下保持含有化合物13a的所得浆液以供进一步使用。

[0058] 实例4:以高非对映异构体纯度制备9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)

[0059] 在-25℃下经最少45分钟向L-丙氨酸异丙酯11(4.50当量)存于DCM(80mL)中的溶液中添加含有至少90%非对映异构体纯的化合物13a(1.00当量)存于甲苯(50mL)中的浆液,内部温度维持≤-20℃。然后使混合物在≤-20℃的温度下保持至少30分钟,并且使用水润湿的pH纸检查pH。如果pH<4,那么用三乙胺将其调节到pH 4到7。将罐温度调节到室温(19

℃到25℃)。将混合物转移到分液漏斗并且依序用10％w/v磷酸二氢钠水溶液(2×50mL)、15％w/v碳酸氢钾水溶液(2×20mL)和水(50mL)洗涤。经无水硫酸钠干燥最终有机层,进行过滤并且在真空中浓缩成粘稠琥珀色油状物。将油状物溶解于甲苯/乙腈(4:1)(50mL)中,并利用9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(约1mg,99:1非对映异构体比)向溶液中加晶种并且在环境温度下搅拌2小时。将所得浆液过滤并用甲苯/乙腈(4:1)(15mL)洗涤滤饼并且在40℃真空炉中干燥16小时,得到呈白色固体形式的产物9-{(R)-2-[((R,S)-{[(S)-1-(异丙氧基羰基)乙基]氨基}苯氧基氧膦基)甲氧基]丙基}腺嘌呤(化合物15)(10.0g,76.4％,97.5:2.5非对映异构体比,有利于化合物16)。^{1}HNMR(400MHz,$CDCl_3$):δ1.20-1.33(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}PNMR(162MHz,$CDCl_3$):δ.21.5,22.9。

[0060] 实例5:化合物12的制备

[0061] 将PMPA(100.0g,0.35mol,1当量)装入配备有顶置式搅拌器、回流冷凝器和氮入口的容器中,之后装入乙腈(800mL)。向所述容器中添加三乙胺(71.0g,0.70mol,2当量),之后添加DMAP(42.6g,0.35mol,1当量)和亚磷酸三苯酯(162.1g,0.52mol,1.5当量)。将混合物加热到80℃并且在80℃下搅动≥48小时或直到通过^{31}P NMR确定反应完成。(直接从所述反应取样品并且添加含有存于D_2O中的10％ H_3PO_2的插入物。所形成的中间体为PMPA酸酐并且为7ppm到8ppm;产物为12.3ppm到12.6ppm。当存在小于5％的酸酐时,认为反应完成)。将反应混合物蒸馏到约1.5体积的乙腈并且用乙酸乙酯(200mL)和水(300mL)稀释。分离水层并且用乙酸乙酯(200mL)洗涤两次。将水层再次装入容器中并且使用12.1M HCl(21.0mL)将pH调节到pH 3。然后利用0.05％化合物12向反应物中加晶种并且在25℃下进行搅拌。经20分钟添加额外12.1M HCl(7.0mL)直到实现pH 2。在环境温度下将结晶搅拌30分钟并且然后经2小时冷却到10℃。一旦达到10℃,那么在10℃下将结晶搅拌2.5小时。将浆液过滤并用pH 1.5水(200g)洗涤。在真空炉中干燥后,获得102.2g呈白色固体形式的化合物12(81％产率)。^{1}HNMR(400MHZ,D_2O):δ1.31(d,J＝6.1Hz,3H),3.59(dd,J＝14.0,9.0Hz,1H),3.85(dd,J＝14.0,9.0Hz,1H),4.1(m,1H),4.3(dd,J＝15.0,9,0Hz,1H),4.5(dd,J＝15.0,2Hz,1H),6.75(d,J＝7Hz,2H),7.15(t,J＝7Hz,1H),7.25(t,J＝7Hz,2H),8.26(s,1H),8.35(s,1H)。^{31}PNMR(162MHz,D_2O):δ.14.8。

[0062] 所有出版物、专利和专利文献均以引用方式并入本文中,如同个别地以引用方式并入一般。已参照各具体和优选的实施例和技术描述了本发明。然而,应理解,可作出许多变化和修改,同时仍保持属于本发明的精神和范围内。