

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03810977.8

[51] Int. Cl.

C07D 209/34 (2006.01)

C07F 9/572 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 4 月 30 日

[11] 授权公告号 CN 100384820C

[22] 申请日 2003.3.20 [21] 申请号 03810977.8

[30] 优先权

[32] 2002.3.20 [33] US [31] 60/366,010

[86] 国际申请 PCT/US2003/008613 2003.3.20

[87] 国际公布 WO2003/080047 英 2003.10.2

[85] 进入国家阶段日期 2004.11.15

[73] 专利权人 布里斯托尔-迈尔斯斯奎布公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 K·W·吉尔曼 P·赫瓦瓦萨姆

W·D·施密茨 O·D·罗佩兹

J·E·斯塔雷特

D·P·普罗文卡尔

[56] 参考文献

US 5602169 A 1997.2.11

审查员 任怡

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝

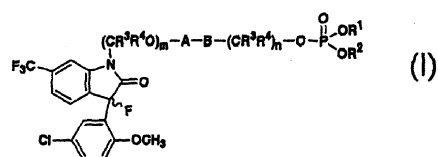
权利要求书 3 页 说明书 51 页

[54] 发明名称

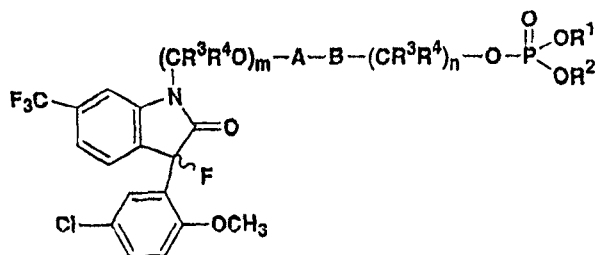
氟羟吡啶的磷酸酯前体药物

[57] 摘要

本发明提供具有通式(I)的新型磷酸酯衍生物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物,其中波浪键(b)代表外消旋体、(R)-对映体或(S)-对映体;而A、B、R¹、R²、R³、R⁴、m和n如本发明说明书中定义;所述化合物可用于治疗对钾通道开放有反应的疾病。



1. 一种式 I 化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物,



其中

波浪键(～)代表外消旋体、(R)-对映体或(S)-对映体;

A 为化学键或 C=O;

B 为化学键、氧或-NH-;

m 为 0 或 1;

n 为 1、2 或 3;

R^1 和 R^2 各自独立地为氢或可水解酯基团; 或当 R^1 为氢时, R^2 为 $-P(O)OR^5OR^6$;

R^3 和 R^4 各自独立地为氢或 C_{1-4} 烷基; 且

R^5 和 R^6 各自独立地为氢或可水解酯基团。

2. 权利要求 1 的化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物, 其中波浪键(～)代表外消旋体、(R)-对映体或(S)-对映体; A 为化学键或 C=O; B 为化学键或氧; m 为 0 或 1; n 为 1、2 或 3; R^1 和 R^2 各自独立地为氢或可水解酯基团; 或当 R^1 为氢时, R^2 为 $-P(O)OR^5OR^6$; R^3 和 R^4 各自独立地为氢或 C_{1-4} 烷基; 且 R^5 和 R^6 各自独立地为氢或可水解酯基团。

3. 权利要求 2 的化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物, 所述化合物选自:

- 1) (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯;
- 2) (R)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢

- 吡啶-1-基甲基]单酯;
- 3) (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-甲酸 2-磷酸氧基-丙酯;
- 4) (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-甲酸 2-磷酸氧基-乙酯;
- 5) (S)-(2-磷酸氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯;
- 6) (S)-磷酸氧基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯;
- 7) (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-甲酸磷酸氧基甲酯;
- 8) (S)-3-磷酸氧基-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯;
- 9) (S)-焦磷酸[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯];
- 10) (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯]甲酯; 和
- 11) (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯]乙酯。

4. 权利要求 3 的化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物, 所述化合物是(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯。

5. 权利要求 4 的化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物, 其中所述化合物的无毒的药学上可接受的盐是(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 双[三(羟甲基)甲铵]盐。

6. 一种药用组合物, 所述组合物用于治疗对大电导钙激活型钾通道开放剂有反应的疾病, 所述组合物包含治疗有效量的权利要求 1 中定义的化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物以及药学上可

接受的载体或稀释剂。

7. 权利要求1中定义的化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于治疗有需要的哺乳动物的对大电导钙激活型钾通道开放有反应的疾病的药物中的用途。

8. 权利要求7的用途，其中所述疾病是局部缺血、中风、惊厥、癫痫、哮喘、过敏性肠综合征、偏头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、一氧化碳中毒、性功能障碍和尿失禁。

9. 权利要求8的用途，其中所述疾病是中风。

10. 权利要求8的用途，其中所述疾病是创伤性脑损伤。

11. 权利要求8的用途，其中所述疾病是颅内压升高。

氟羟吲哚的磷酸酯前体药物

发明领域

本发明涉及氟羟吲哚化合物的新型磷酸酯衍生物，所述衍生物是大电导钙激活型钾(BK)通道的调节剂，因此，可用于保护神经元细胞，预防由于细胞膜极化和电导功能障碍而引起的疾病。本发明也提供一种使用新型取代氟羟吲哚衍生物的治疗方法以及包含所述衍生物的药用组合物。

发明背景

目前，中风在美国和欧洲被认为是成人病残和死亡的第三大主要原因。近十年内，已开发出几种用于使中风相关脑损伤减至最低的治疗方法，包括 AMPA/红藻氨酸抑制剂、N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)抑制剂和腺苷重摄取抑制剂。本发明的目的是提供可调节钾通道、特别是调节大电导钙激活型钾(BK)通道的新型化合物，所述化合物可用于减轻中风发作时局部缺血期间的神经元损伤。

钾通道在调节细胞膜电位以及调节细胞兴奋性方面起关键性的作用。钾通道本身还受到电压、细胞代谢、钙离子和受体介导过程的调节。[Cook, N.S., Trends in Pharmacol. Sciences, 9, 第 21-28 页(1988); Quast, U.和 Cook, N.S., Trends in Pharmacol. Sciences, 10, 第 431-435 页(1989)]。钙激活型钾(K_{Ca})通道是一组多种多样的离子通道，其活性全都依赖于细胞内的钙离子。 K_{Ca} 通道的活性受到细胞内 $[Ca^{2+}]$ 、膜电位和磷酸化作用的调节。根据 K_{Ca} 通道在对称 K^+ 溶液中的单通道电导， K_{Ca} 通道可分为三个亚型：大电导(BK)型 > 150 pS；中等电导型 50-150 pS；小电导型 < 50 pS。("pS"表示电导单位皮西门子(picosiemen))。大电导钙激活型钾(BK)通道存在于许多可兴奋细胞

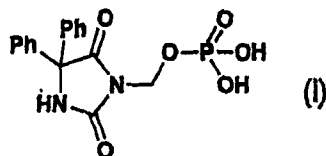
中, 包括神经元、心肌细胞和各种类型的平滑肌细胞。[Singer, J.J.和Walsh, J.V., *Pflügers Archiv.*, 408, 第 98-111 页(1987); Baró, I.和Escande, D., *Pflügers Archiv.*, 414 (增刊 1), 第 S168-S170 页(1989); 和Ahmed, F.等, *Br. J. Pharmacol.*, 83, 第 227-233 页(1984)]。

钾离子在控制大多数可兴奋细胞中的静息膜电位以及在维持跨膜电压接近 K^+ 平衡电位(E_K)约为-90 mV 中起主要作用。已经表明, 钾通道的开放使细胞膜电位朝向平衡钾膜电位(E_K)移动, 导致细胞超极化。[Cook, N.S., *Trends in Pharmacol. Sciences*, 9, 第 21-28 页(1988)]。超极化细胞表现出对潜在损伤去极化刺激的反应降低。既受电压调节又受胞内 Ca^{2+} 调节的 BK 通道用于限制去极化作用和钙进入, 这可能对阻断损伤性刺激特别有效。因此, 通过 BK 通道开放使细胞超极化可以在局部缺血条件下起到对神经元细胞的保护作用。

S. Trivedi 等在以下文献中讨论了钾通道在人膀胱平滑肌手术中的作用: *Biochemical and Biophysical Research Communications*, (1995), 213, 第 2 期, 第 404-409 页。

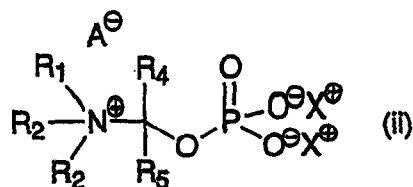
各种各样的具有 BK 开放活性的合成和天然存在的化合物已有报道。采用脂质双层技术[国际专利申请 WO 93/08800, 于 1993 年 5 月 13 日公布], 已鉴定出作为 BK 通道开放剂的、从 *avena sativa*-普通燕麦中提取的燕麦吡喃酮。已经发现使用外向外膜片, 类黄酮即根皮素可影响 Ca^{2+} 激活型钾通道在有爪非洲蟾蜍(*Xenopus laevis*)的有髓神经纤维中的开放[Koh, D-S.等, *Neuroscience Lett.*, 165, 第 167-170 页(1994)]。

Varia, S.A.等公开了磷酸甲氧基衍生物(i)作为乙内酰脲苯妥英前体药物的用途(*J. Pharm. Sci.* 73, 第 1068-1073 页(1984))。

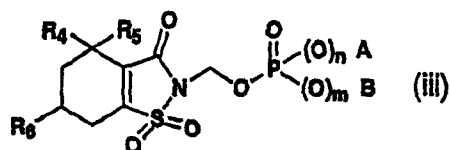


Stella, V.等在 1999 年 7 月 8 日公布的国际申请 WO 99/33846 中

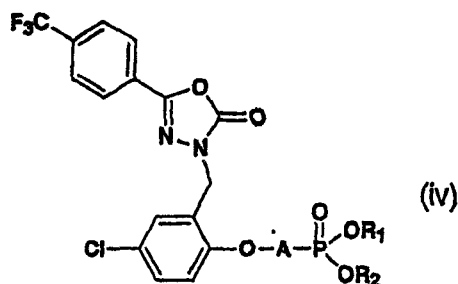
公开了作为含胺药物的前体药物的季胺磷酸酯(ii)。



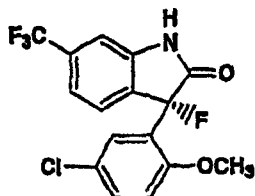
Desai, R.C.等在1993年2月16日授权的US 5,187,173中公开了磷酸甲基糖类衍生物(iii)可用作蛋白水解酶抑制剂。



Starrett 等在1999年8月17日授权的US 5,939,405中公开了作为二芳基 1,3,4-噁二唑酮的有用前体药物的磷酸酯衍生物(iv)，该化合物是大电导钙激活型钾(BK)通道调节剂。



Hewawasam 等在1997年2月11日授权的US 5,602,169中证明了(3S)-(+)-(5-氯-2-甲氧基苯基)-1,3-二氢-3-氟-6-(三氟甲基)-2H-吲哚-2-酮(式(S)-II 化合物)是大电导钙激活型钾(BK)通道调节剂，可用于治疗局部缺血。



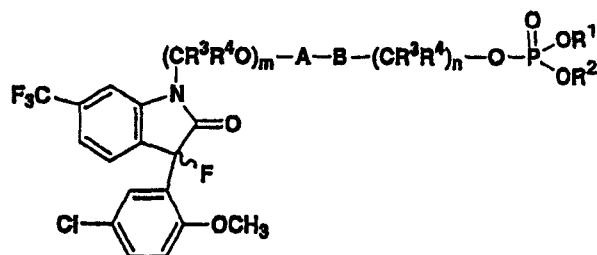
式(S)-II 化合物

Hewawasam 等在US 5,602,169中描述了式(S)-II化合物的合成及其治疗对钾通道开放敏感的疾病(包括脑缺血和创伤性脑损伤)的用途。由于式(S)-II化合物的水溶性差，因此必须使用诸如二甲亚砜和

丙二醇等添加剂,以便制备适合于静脉注射的式(S)-II 化合物溶液剂(Gribkoff 等, *Nature Medicine*, 2001, 7, 471-477)。

发明概述

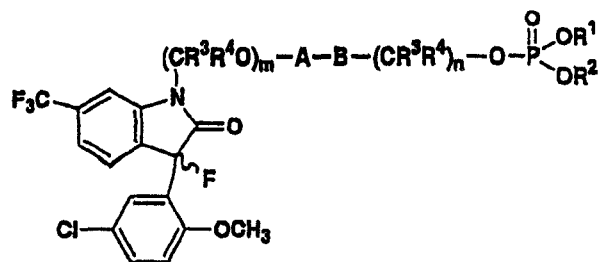
本发明提供具有以下通式的 3-氟羟吲哚的新型磷酸酯衍生物、或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物,



其中波浪键(~)代表外消旋体、(R)-对映体或(S)-对映体,而 A、B、R¹、R²、R³、R⁴、m 和 n 如下定义。本发明的磷酸酯能增加 3-氟羟吲哚的水溶性,从而减少需要给予静脉剂量的所述羟吲哚的添加剂用量。就系统给药而论,所述羟吲哚衍生物转化后释放出系统水平的所述氟羟吲哚。本发明也提供包含所述磷酸酯衍生物的药用组合物以及对钾通道开放活性敏感的疾病的治疗方法,所述疾病例如局部缺血、中风、惊厥、哮喘、癫痫、过敏性肠综合征、偏头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、性功能障碍、一氧化碳中毒和尿失禁。

发明详述

本发明提供作为有效的大电导钙激活型 K⁺-通道(BK 通道)开放剂的 3-(5-氯-2-甲氧基苯基)-1,3-二氢-3-氟-6-(三氟甲基)-2H-吲哚-2-酮(式 II 化合物)的外消旋体、(R)-对映体和(S)-对映体的新型磷酸酯衍生物,本发明的新型衍生物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物具有通式 I,



其中波浪键(~~)代表外消旋体、(R)-对映体或(S)-对映体;

A 为化学键或(C=O);

B 为化学键、氧或氮;

m 为 0 或 1;

n 为 1、2 或 3;

R^1 和 R^2 各自独立地为氢或可水解酯基团; 且当 R^1 为氢时, R^2 也可以为 $-P(O)OR^5OR^6$ 或杂芳基;

R^3 和 R^4 各自独立地为氢或 C_{1-4} 烷基; 且

R^5 和 R^6 各自独立地为氢或可水解酯基团。

本发明也提供一种治疗或预防有需要的哺乳动物的由大电导钙激活型 K^+ 通道(BK 通道)开放介导的疾病的方法, 所述方法包括给予所述哺乳动物治疗有效量的式 I 化合物或其无毒的药学上可接受的盐。优选式 I 化合物可用于治疗局部缺血、中风、癫痫、惊厥、哮喘、过敏性肠综合征、偏头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、性功能障碍、一氧化碳中毒和尿失禁以及其它对 BK 通道激活活性敏感的疾病。

除非上下文中另有说明, 在本说明书和权利要求书中所用的术语“ C_{1-4} 烷基”和“ C_{1-6} 烷基”是指直链或支链烷基, 例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、戊基、己基。这些基团最好含有 1-2 个碳原子。在本说明书和权利要求书中所用的术语“杂芳基”意指包括吡啶基、苯硫基、嘧啶基、噻唑基、咪唑基、异噻唑基等。

除非另有说明, 在本说明书和权利要求书中所用的术语“可水解酯基团”意指包括生理上可接受的和可水解的酯基团, 例如 C_{1-6} 烷基、苄基、4-甲氧基苄基、(低级)-烷酰氧基(低级)烷基(如乙酰氧基甲

基、丙酰氧基甲基或新戊酰氧基甲基)、(低级)烷氧基羰基氧基(低级)烷基(如甲氧基羰基氧基甲基或乙氧基羰基氧基甲基)、(低级)-烷氧基羰基(低级)烷基(如甲氧基羰基甲基或叔丁氧基羰基甲基)、2-甲氧基-羰基氧基乙基、(5-甲基-2-氧代-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基、二羟基丙基等。

在本说明书和权利要求书中所用的术语“无毒的药理学上可接受的盐”意指包括与无机碱或有机碱所形成的无毒的碱加成盐。在本文中可以由 $M^{\oplus}$ 表示的化合物 I 的盐包括一价阴离子盐、二价阴离子盐和三价阴离子盐,例如一钠盐、二钠盐和三钠盐。合适的无机碱例如碱金属碱和碱土金属碱包括钠、钾、锂、镁、钙等金属阳离子。合适的有机碱包括胺,例如铵、烷基胺、二烷基胺、三烷基胺、四烷基铵、吡啶、二苄基胺、乙醇胺、N-甲基葡糖胺、哌啶、N-甲基哌啶、N-甲基吗啉、脯氨酸、甘氨酸、赖氨酸、精氨酸、三(羟甲基)氨基甲烷及其它可用来形成羧酸盐和磷酸盐的胺。

一般而言,本发明药理学上可接受的盐是其中相反离子不显著影响所述盐的毒性或药理学活性的那些盐。在某些情况下,它们的物理特性使其对于药物制剂更为理想,所述物理特性例如溶解度,缺乏吸湿性,相对于片剂制剂而言的可压缩性、以及与其它成分(所述物质可能有药用目的)的相容性。通过将其中 R^1 和 R^2 为氢的式 I 化合物与所选碱进行混合,最好使其在使用过量的常用惰性溶剂例如水、乙醚、乙腈、二噁烷、二氯甲烷、异丙醇、甲醇、乙醇、乙酸乙酯和乙腈的溶液中接触,可常规制备所述盐。它们也可以通过用离子交换树脂在以下条件进行置换或处理来制备:其中在允许诸如通过从溶液中沉淀或萃取到溶剂中或者从离子交换树脂中洗脱出来或保留在离子交换树脂上而可以分离出所需要的各种物质的条件下,使式 I 化合物中物质的盐的合适离子被另一离子置换。

本发明的某些化合物(包括其药理学上可接受的盐)可以为溶剂化形式,包括水合形式,例如一水合物、二水合物、半水合物、三水合

物、四水合物等。产物可以是真溶剂合物，而在其它情况下，产物可能只保留了外来的溶剂，或者可能是溶剂合物加上某些外来溶剂的混合物。本领域技术人员将会认识到，溶剂化形式等同于非溶剂化形式，全都包括在本发明范围内。

在本发明的方法中，术语“治疗有效量”是指组合物中各活性成分足以表现出对患者有益即使其特征是大电导钙激活型 K^+ 通道开放剂的急性病症治愈或提高所述病症治愈率的总剂量。当用于单独给药时的一种活性成分时，该术语仅指一种成分。当用于联合给药时，无论是联合用药、连续用药还是同时用药，该术语是指各活性成分产生治疗效果的联合用药量。在本说明书和权利要求书中所用的术语“治疗”是指预防或缓解细胞膜极化和电导功能障碍相关性疾病、组织损伤和/或症状。

另一方面，本发明提供在 US 5,602,169 中描述的 3-(5-氟-2-甲氧基苯基)-1,3-二氢-3-氟-6-(三氟甲基)-2H-吲哚-2-酮的外消旋体、(R)-对映体和(S)-对映体化合物的水溶性前体药物。本文所用的“前体药物”是指给药后被转化成活性药物的所述活性药物的衍生物。更具体地讲，该术语是指酯部分能够进行水解或所述酯被氧化性切割以便释放活性游离药物的 3-氟羟吲哚药物的磷酸酯衍生物。例如，所述磷酸酯可以被宿主体内的磷酸酶水解，产生更具活性形式的所需 3-氟羟吲哚。生理上可水解基团也用作可在体内被水解而产生母体药物本身的前体药物，因此，对于母体药物给药，优选本发明的水溶性前体药物。

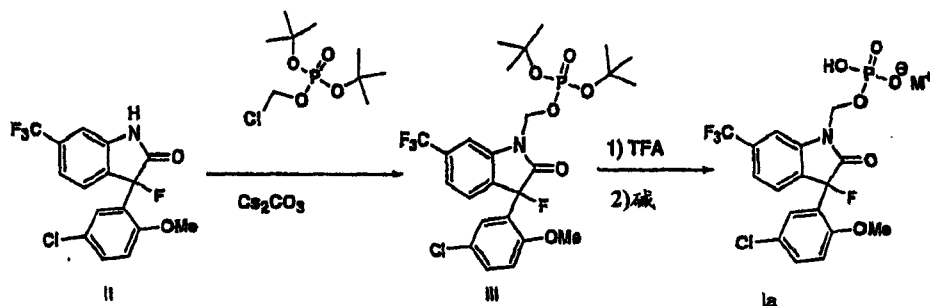
再一方面，本发明提供治疗或预防有需要的哺乳动物的由大电导钙激活型 K^+ 通道(BK 通道)开放介导的疾病的方法，所述方法包括给予所述哺乳动物治疗有效量的式 I 化合物或其无毒的药理学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。式 I 化合物优选用于治疗局部缺血、中风、惊厥、癫痫、哮喘、过敏性肠综合征、偏头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、一氧化碳中毒、尿失禁和性功能障碍(对男性

而言是勃起功能障碍，例如由于糖尿病、脊髓损伤、根治性前列腺切除术、心理性病因或任何其它原因引起的勃起功能障碍；而对女性而言是改善外阴部的血流，尤其是改善阴蒂海绵体的血流)以及其它对 BK 通道激活活性敏感的疾病。式 I 化合物最优选用于治疗脑缺血/中风。

又一方面，本发明提供包含至少一种式 I 化合物以及药用辅料、载体或稀释剂的药用组合物。

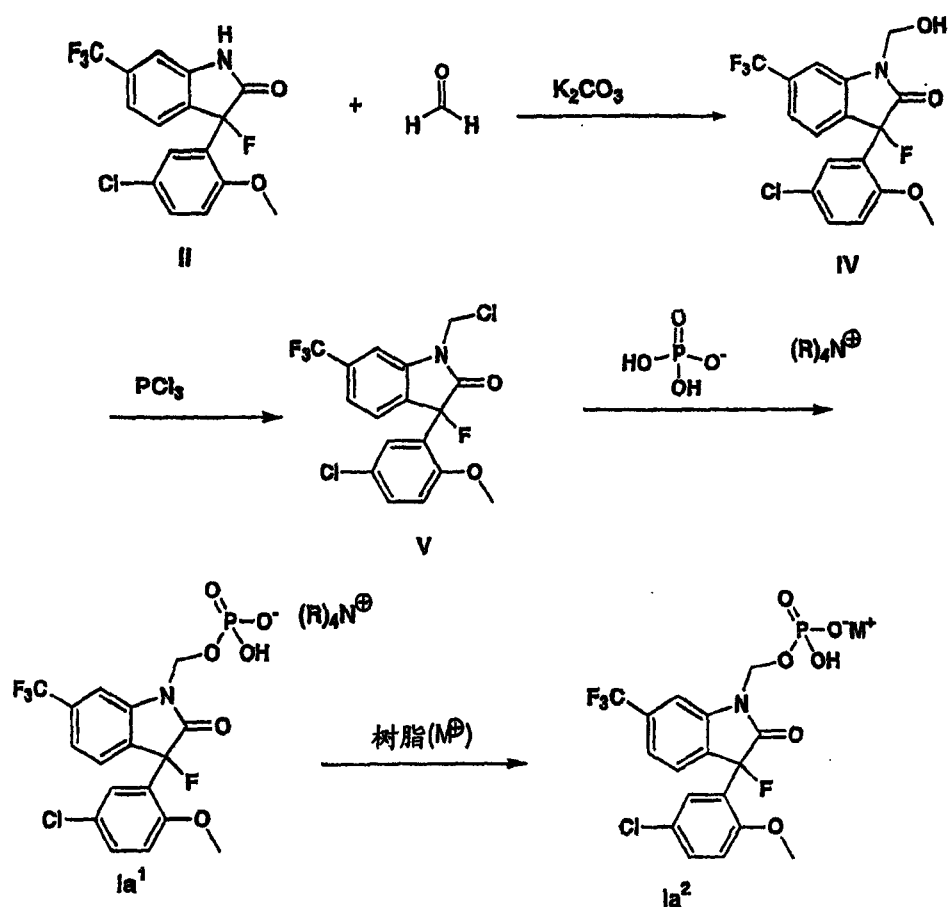
式 I 化合物可以按照本领域技术人员熟知的各种方法例如本说明书实施例、反应流程中说明的那些方法及其改进方法来制备。可以从式 II 的活性药物有利地制备式 I 的各种前体药物化合物，式 II 本身可以按照 US 5,602,169 中介绍的通用方法来制备并且可用作反应流程 1-9 说明性方法中的原料。

反应流程 1

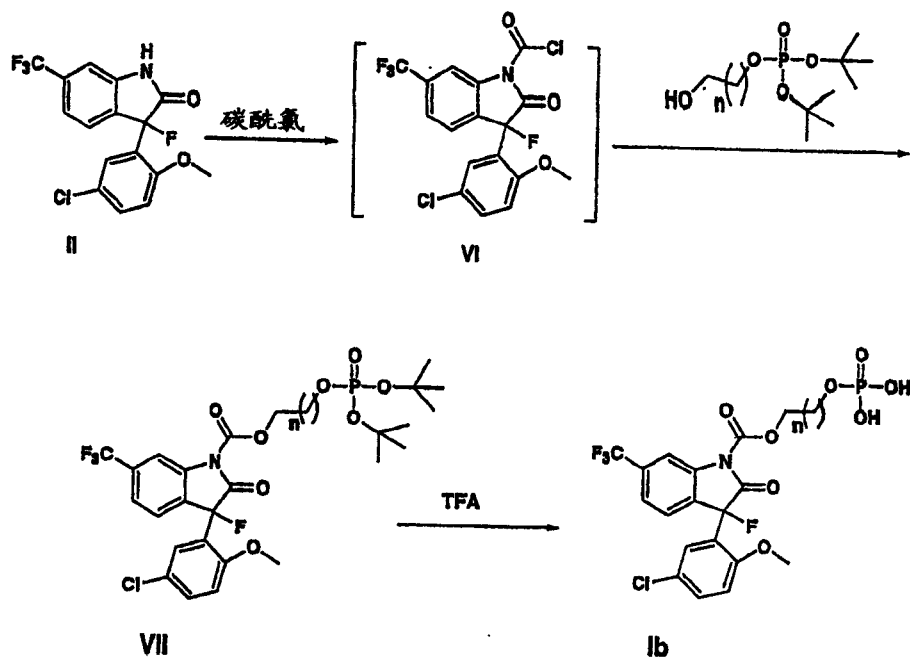


式 Ia 的 3-氟羟吲哚的制备在反应流程 1 中说明，其中 $M^{\oplus}$ 如本文中定义。本领域技术人员将会认识到，如果需要，使用 2 摩尔的碱，将会得到式 Ia 化合物的二价阴离子盐。式 II 化合物用磷酸氯甲酯和碱例如碳酸铯在溶剂例如乙腈中处理，产生式 III 的相应磷酸酯中间体。通过用酸例如三氟乙酸进行处理以及用碱处理所得磷酸酯，有利地实现叔丁基保护基的除去，得到式 Ia 化合物。

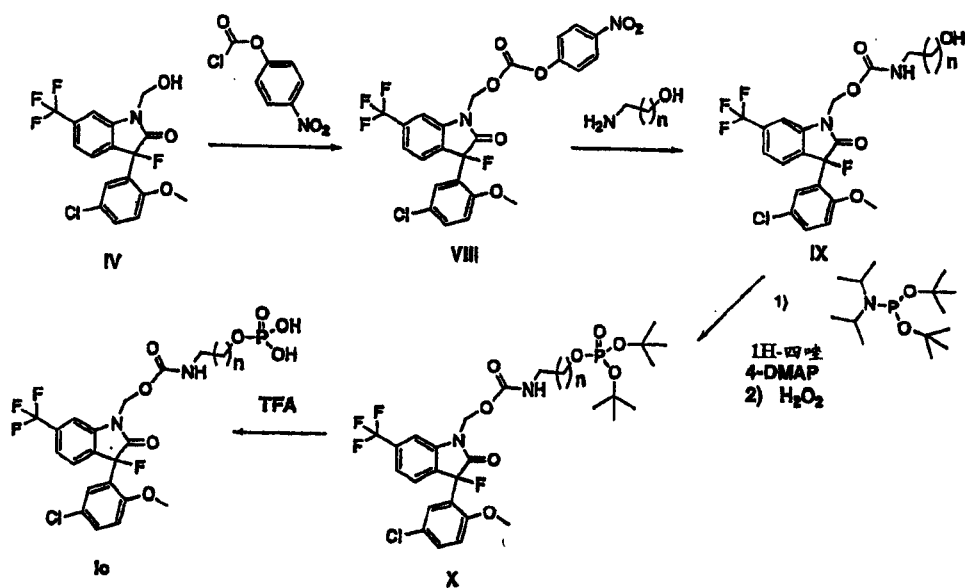
反应流程 2



式 Ia 化合物的替代合成法示于反应流程 2, 其中 R 为 C_{1-4} 烷基, 而 M^+ 如本文中定义, 所述合成法中相反离子可以按便捷方式变化。式 II 化合物被酰化剂例如甲醛酰化, 得到式 IV 的羟甲基加合物。该羟基被卤化剂例如三氯化磷置换, 得到式 V 的氯甲基内酰胺。用磷酸铵磷酸化, 得到式 Ia¹ 的磷酸铵。使用预先加载有所需相反离子的离子交换树脂, 得到式 Ia² 化合物, 其中 M^+ 最好是钠阳离子或钾阳离子。

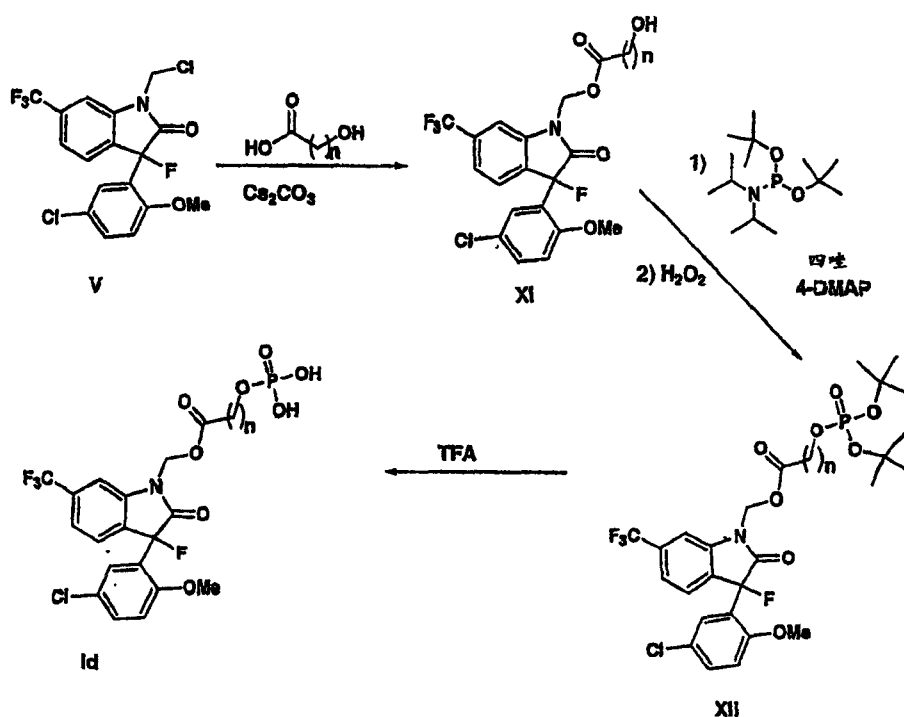
反应流程 3

当需要制备反应流程 3 中说明的式 Ib 化合物时, 式 II 化合物用酰化剂例如碳酰氯酰化, 得到式 VI 的氯甲酸酯。用磷酸羧烷基酯置换氯离去基团, 得到式 VII 化合物, 其中 n 如本文中定义。用酸例如三氟乙酸除去叔丁基, 得到式 Ib 化合物。

反应流程 4

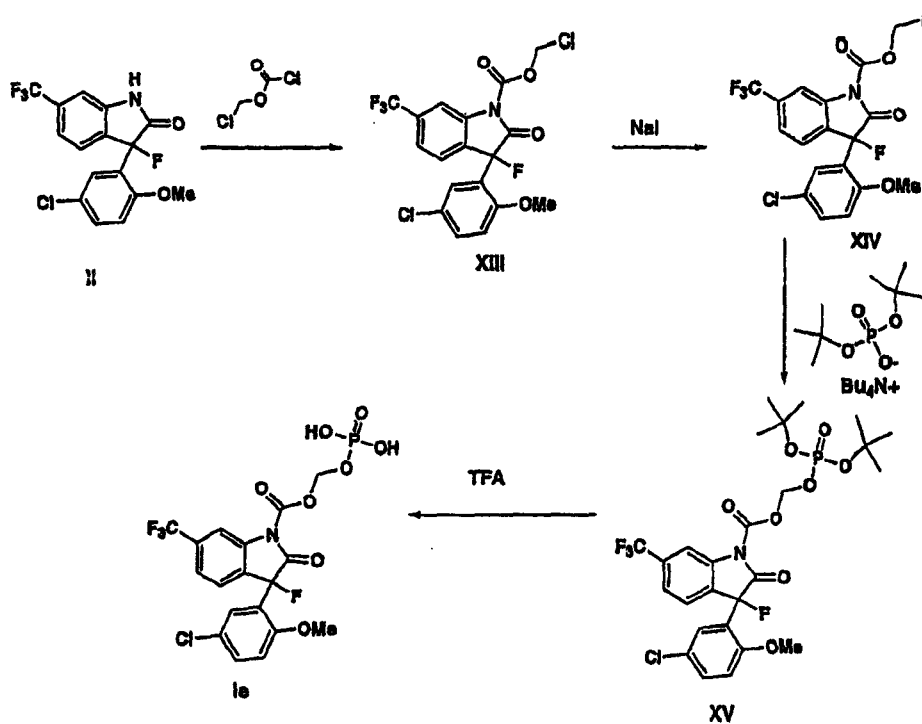
式 Ic 化合物的制备示于反应流程 4, 其中 n 如本文中定义。用氯甲酸酯使式 IV 化合物酰化, 得到式 VIII 的碳酸酯。用氨基烷基醇置换硝基苯酚离去基团, 得到式 IX 的氨基甲酸酯, 而式 IX 的氨基甲酸酯可以被氨基磷酸酯磷酸化, 然后被三价磷氧化, 得到式 X 的磷酸酯。用酸例如三氟乙酸除去叔丁基, 得到式 Ic 化合物。

反应流程 5



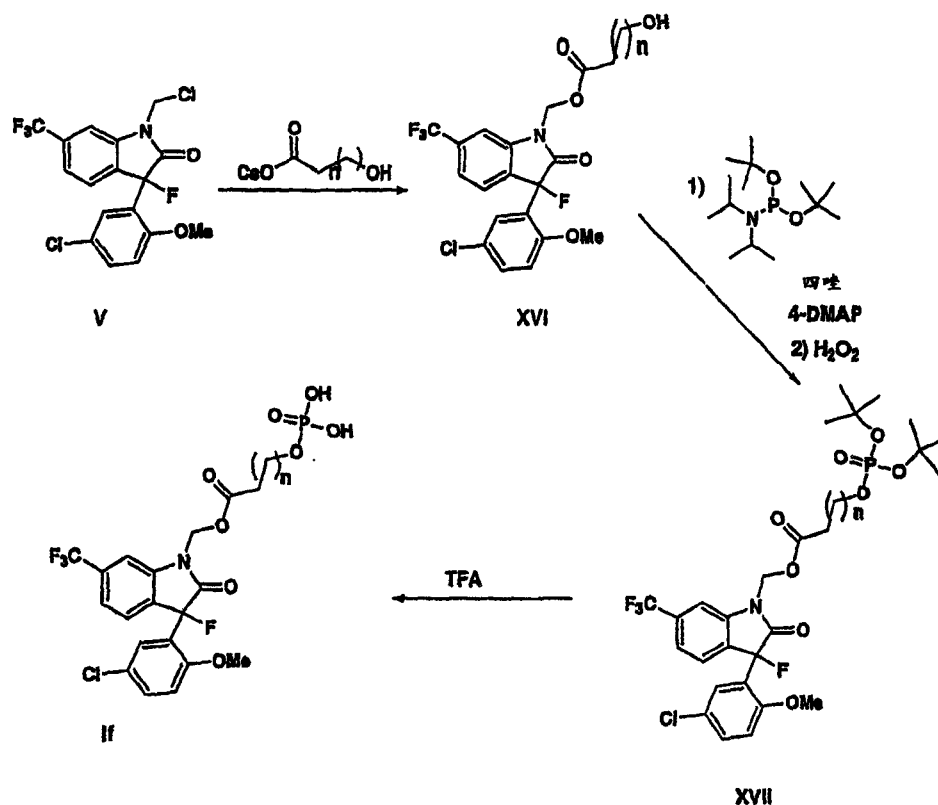
式 Id 的酯可以按照反应流程 5 所示流程进行, 其中 n 如本文中定义。用羟基烷基酸置换式 V 化合物中的氯离去基团, 得到式 XI 的酯, 式 XI 的酯可以被氨基磷酸酯磷酸化, 然后被三价磷氧化, 得到式 XII 的磷酸酯。通过用酸例如三氟乙酸使式 XII 化合物脱保护, 可得到式 Id 的磷酸酯。

反应流程 6



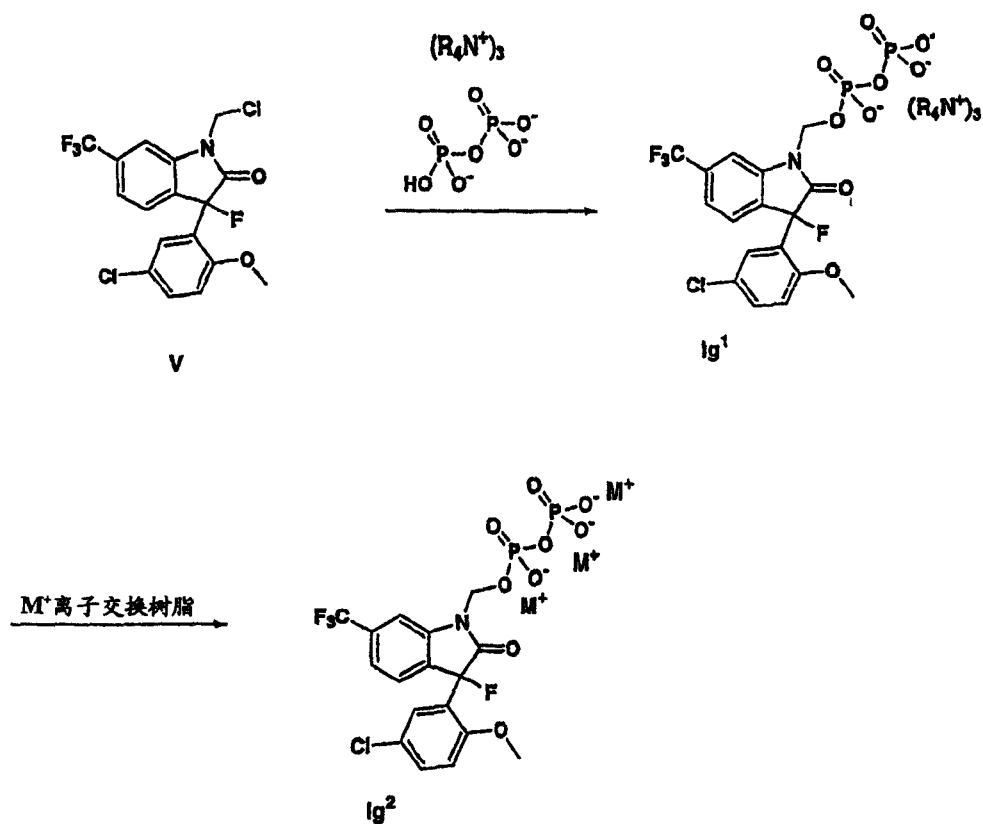
式 Ie 的氨基甲酸酯的制备在反应流程 6 中说明。用酰化剂例如氯甲酸氯甲酯使式 II 化合物酰化，得到式 XIII 的氨基甲酸卤代甲酯。用碘化钠置换氯，得到式 XIV 的氨基甲酸碘甲酯。用磷酸酯置换碘化物，得到式 XV 的被保护的磷酸酯，式 XV 的被保护的磷酸酯可以用酸例如三氟乙酸脱保护，得到式 Ie 的氨基甲酸酯。

反应流程 7



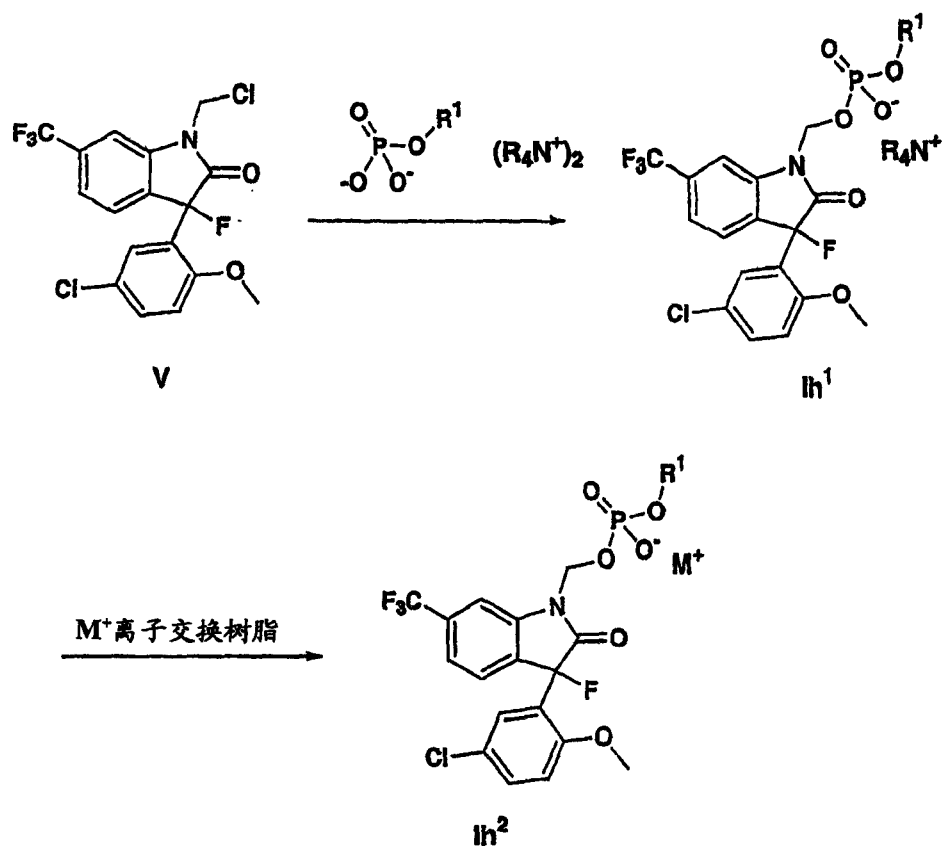
式 If 的磷酸烷基酯可以按照反应流程 7 所示流程制备，其中 n 如本文中定义。用羟基烷基酸置换式 V 化合物中的氯离去基团，得到式 XVI 的羟基烷基酯。用氨基磷酸酯使所述醇磷酸化，然后被三价磷氧化，得到式 XVII 化合物，可以用酸例如三氟乙酸使式 XVII 化合物脱保护，得到式 If 的磷酸酯。

反应流程 8



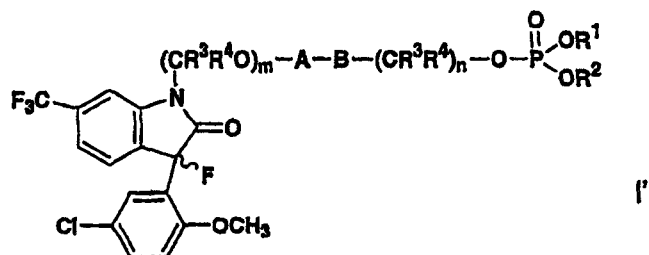
反应流程 8 描绘了式 Ig 的焦磷酸酯的制备方法，其中 R 和 M[®] 如本文中定义。用焦磷酸铵置换式 V 化合物的氯离去基团，得到式 Ig¹ 的焦磷酸铵，式 Ig¹ 的焦磷酸铵可以用离子交换树脂处理，得到式 Ig² 的焦磷酸酯。

反应流程 9



如反应流程 9 所示, 用磷酸酯置换式 V 化合物的氯基团, 得到式 Ih¹ 的烷基磷酸铵, 其中 R、R¹ 和 M⁺ 如本文中定义。磷酸铵用离子交换树脂处理, 得到式 Ih² 的磷酸烷基酯。

在本发明的一个优选实施方案中, 所述化合物或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物具有式 I',



其中波浪键 (~) 代表外消旋体、(R)-对映体或(S)-对映体;

A 为化学键或(C=O);

B 为化学键或氧;

m 为 0 或 1;

n 为 1、2 或 3;

R^1 和 R^2 各自独立地为氢或可水解酯基团; 而当 R^1 为氢时, R^2 也可以为 $-P(O)OR^5OR^6$;

R^3 和 R^4 各自独立地为氢或 C_{1-4} 烷基; 且

R^5 和 R^6 各自独立地为氢或可水解酯基团。

在本发明的一个更优选实施方案中, 波浪键 ($\sim$) 代表式 I 化合物中的 (S)-对映体。

在本发明的另一个优选实施方案中, 式 I 化合物选自:

- 1) (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯;
- 2) (R)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯;
- 3) (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-磷酸氧基-丙酯;
- 4) (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-磷酸氧基-乙酯;
- 5) (S)-(2-磷酸氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯;
- 6) (S)-磷酸氧基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯;
- 7) (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸磷酸氧基甲酯;
- 8) (S)-3-磷酸氧基-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯;
- 9) (S)-焦磷酸[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯];

10) (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯]甲酯; 和

11) (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯]乙酯;

或其无毒的药学上可接受的盐或溶剂合物。

在另一个实施方案中, 本发明包括药用组合物, 所述组合物包含至少一种式 I 化合物以及药用辅料、载体或稀释剂。

在再一个实施方案中, 本发明涉及一种治疗或预防有需要的哺乳动物的对钾通道开放有反应的疾病的方法, 所述方法包括给予所述哺乳动物治疗有效量的式 I 化合物或其无毒的药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。

在又一个实施方案中, 本发明涉及一种用于治疗有需要的哺乳动物的以下疾病的方法: 局部缺血、惊厥、癫痫、哮喘、过敏性肠综合征、偏头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、一氧化碳中毒、男性和女性的性功能障碍、尿失禁、尤其是中风, 所述方法包括给予所述哺乳动物治疗有效量的式 I 化合物或其无毒的药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。

生物学活性

钾(K^+)通道是细胞中普遍存在的、结构和功能上均不同的 K^+ -选择性通道蛋白家族, 说明它们在调节各种各样的关键性细胞功能中的重要作用[Rudy, B., *Neuroscience*, 25, 第 729-749 页(1988)]。尽管广泛地分布为一个类别, 但是 K^+ 通道在该类各个成员或家族中的分布有差异。[Gehlert, D.R.等, *Neuroscience*, 52, 第 191-205 页(1993)]。一般而言, K^+ 通道在细胞、特别是在可兴奋细胞例如神经元和肌细胞中的活化, 导致细胞膜的超极化, 或者就去极化细胞而言, 导致复极化。除了作为内源膜电压钳之外, K^+ 通道还可以对重要的细胞事件例如胞内 ATP 浓度或胞内钙(Ca^{2+})浓度的变化有反应。 K^+ 通道在调

节许多细胞功能中的重要作用使其成为治疗性研发的极其重要的靶。[Cook, N.S., Potassium channels: Structure, classification, function and therapeutic potential (钾通道: 结构、分类、功能和治疗潜力). Ellis Horwood, Chinchester (1990)]。一类 K^+ 通道即大电导 Ca^{2+} 激活型 K^+ 通道(BK 或 BK 通道)受到跨膜电压、胞内 Ca^{2+} 和各种各样的其它因素例如通道蛋白的磷酸化状态的调节。[Latorre, R.等, *Ann. Rev. Physiol.*, 51, 第 385-399 页(1989)]。一种大通道-电导(一般 > 150 pS)且对 K^+ 有高度特异性的 BK 通道说明, 许多小通道可能会显著影响膜电导和细胞兴奋性。另外, 开放概率也随着胞内 Ca^{2+} 的增加而增加, 说明 BK 通道参与调节依赖 Ca^{2+} 的现象, 例如分泌和肌肉收缩。[Asano, M.等, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 267, 第 1277-1285 页(1993)]。

BK 通道开放剂通过增加这些通道的开放概率而发挥其细胞作用 [McKay, M.C.等, *J. Neurophysiol.*, 71, 第 1873-1882 页(1994); 和 Olesen, S.-P., *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 3, 第 1181-1188 页(1994)]。不同 BK 通道开放的这种增加共同导致细胞膜的超极化, 尤其是在去极化细胞中, 表现为整个细胞 BK 介导的电导的显著增加。

在电压-钳条件下, 采用以下方法评价式 II 化合物使 BK 通道开放并增加整个细胞向外(K^+) BK-介导的电流的能力, 即测定所述化合物增加克隆哺乳动物(mSlo 或 hSlo) BK-介导的向外电流在非洲蟾蜍属(*Xenopus*)卵母细胞中异源表达的能力 [Butler, A.等, *Science*, 261, 第 221-224 页(1993); 和 Dworetzky, S.I.等, *Mol. Brain Res.*, 27, 第 189-193 页(1994)]。所用的两种 BK 构建体是结构上几乎相同的同源蛋白, 并且在我们的实验中已经证明其药理学活性也相同。为了从天然(背景, 非 BK)电流分离出 BK 电流, 使用超大浓度(50 nM)的特别有效的 BK 通道-阻断毒素伊比蝎毒素(iberitoxin) (IBTX) [Galvez, A.等, *J. Biol. Chem.*, 265, 第 11083-11090 页(1990)]。通过从所有其它实验条件中获得的电流分布型(对照、药物和洗涤液)减去 IBTX (无 BK 电流)存在下的剩余电流, 测定 BK 通道电流对总向外电流的相对贡献。已确

定, 在所测浓度下, 所测化合物并没有影响卵母细胞内的非 BK 天然电流。已表明, 在至少 5 个卵母细胞中, 浓度为 10 μM 的式 II 化合物增加 BK 电流至对照 IBTX 敏感性电流的 170%。采用标准双电极电压钳技术[Stuhmer, W.等, *Methods in Enzymology*, 207, 第 319-339 页(1992)]完成记录; 电压-钳方案包括 500-750 ms 持续时间的分步去极化, 这些去极化步骤是在 20 mV 步骤中, 保持电位从 -60 mV 至 +140 mV。实验介质(改良的 Barth 氏溶液)包含 NaCl (88mM)、 NaHCO_3 (2.4mM)、KCl (1.0mM)、HEPES (10mM)、 MgSO_4 (0.82mM)、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0.33mM)、 CaCl_2 (0.41mM); pH 7.5。

将式(S)-II 化合物或式 I 的前体药物按靶剂量相当于 1 mg/kg 式(S)-II 化合物大剂量静脉内给予雄性 Sprague-Dawley 大鼠($n = 3$ 只大鼠/时间点)。在给药后 $T = 0.25$ 小时、1 小时和 2 小时, 收集全血样品, 然后用乙腈抽提。通过 LC/MS/MS 分析血提取物中的式(S)-II 化合物含量。表 1 显示或者给予式 II 化合物或者给予式 I 的前体药物后, 式(S)-II 化合物的截头 0.25-2 小时 AUC 估计值的比较。例如, 如表 1 所示, 给予式 I 的前体药物后, 检测所述大鼠模型血中的式(S)-II 化合物含量。

表 1. 给予前体药物后大鼠血中的化合物(S)-II 含量

实施例	截头血 $\text{AUC}_{(0.25-2 \text{ hr})}$ (ng*hr/ml) 式(S)-II 化合物
式(S)-II 化合物	261
5	106
2	188
10	135

为了测定本发明化合物降低由于神经元局部缺血引起的细胞损失的能力, 通过使 Wistar 大鼠中脑左动脉(MCA)和颈总动脉(CCA)永久性闭塞, 并且使右 CCA 闭塞 1 小时, 诱发标准局灶性脑缺血。采

用 A. Tamura 等的颞下方法[J. Cereb. Blood Flow Metab., 1, 第 53-60 页, (1981)]及其改进方法[K. Osborne 等, J. Neurol Neurosurg. Psychiatry, 50, 第 402-410 页(1987)和 S. Menzies 等, Neurosurgery, 31, 第 100-107 页, (1992)], 进行外科手术。

在 Wistar 大鼠的局灶性中风模型中, 对式 II 化合物进行评价, 所述模型包括左 MCA (MCAO)和 CCA (CCAO)的永久性闭塞以及右 CCA 的暂时性闭塞[Gribkoff 等, Nature Med. 7, 第 471-477 页(2001)]。所述方法得到通过对 MCAO 后 24 小时的全脑连续薄切片的活体染料排除法所测量的可靠大新皮质梗塞体积。在本实验中, 闭塞后 2 小时, 采用静脉内(i.v.)或腹腔内(i.p.)给药途径, 给予化合物。例如, 在所述模型中, 当中脑动脉闭塞后 2 小时, 采用一次大剂量静脉内注射给药(0.3 mg/kg)时, 与溶媒治疗的对照相比, 式 II 化合物显著缩小皮质梗塞体积约 28%。

为了测定本发明化合物减少头部损伤后神经元损伤量的能力, 使用标准创伤性脑损伤模型。用大鼠创伤性脑损伤(TBI)模型来评价化合物逆转或防止震荡样损伤的有害效应的有效性。一般而言, 将该模型中的大鼠麻醉, 施行颅骨切开术(用外科手术开颅), 然后将盐水注射到开口内, 产生精确脉冲的颅内压升高(通常称为流体冲击损伤)。创伤后 15 分钟, 给予动物规定剂量的化合物。TBI 后 48 小时, 对动物施行安乐死。

用流体冲击装置诱导中度弥散性脑损伤(根据 McIntosh 等定义, Neuroscience, 28: 233-44 (1989))。该装置通过将盐水脉冲[~2.1 至 2.7 个大气压(atm)]在恒定持续时间(21-23 毫秒)快速注射到闭锁颅腔内而产生挫伤。该盐水脉冲导致下面的皮质的短暂移位和变形。据认为该模型模拟了患者经历特征为短暂神经病学上和系统性生理机能改变而没有严重结构损伤的震荡样损伤的临床情况。该流体冲击装置在没有直接冲击脑的情况下产生脑损伤。由于释放来自预定高度的已称重的(4.8 kg)金属摇锤(McIntosh 等, 1989), 进而在装满等渗盐水

的 Plexiglass 圆柱形贮罐端撞击软木盖活塞,造成弥散性脑损伤。将不同体积的盐水注射到闭锁颅腔内,产生的脉冲使颅内压(ICP)升高。不同的摇锤高度控制着不同的损伤程度。

在本实验中,颅内压脉冲可通过位于损伤装置中的传感器在颅外测量。在诱导麻醉后,使损伤性螺钉与流体冲击装置紧紧地连在一起,根据 McIntosh 等(1989)建立的标度,诱导中等严重程度的损伤[~2.1 至 2.7 atm]。记录自摇锤降落而触发的光电存储示波器上的脉冲。在流体冲击后,将由损伤性螺钉即不锈钢螺钉产生的颅盖和颅塑料胶粘剂(cranioplastic cement)全部去除,伤口用不可吸收缝线(3-0)缝合。损伤后,对窒息超过 60 秒的动物立即施行安乐死。将大鼠保持在水再循环加热垫上,直到其呼吸恢复正常为止,然后让其走动。对动物施行安乐死,取出脑组织,按照先前介绍的方法(McIntosh 等, 1989),通过测量含水量来评价 48 小时的水肿情况。

先前已经表明,式(S)-II 化合物表现出在冲击带附近的若干个区域内显著减少水肿[Cheney 等, J. Cer. Blood Flow & Metab. 21: 396-403 (2001)]。当将本发明式 Ia 化合物和式(S)-II 化合物两者以等摩尔当量的剂量给予创伤性脑损伤的相同动物模型时,与式(S)-II 化合物的表现相比,本发明式 Ia 化合物表现出显著减少相邻皮质内的水肿。

在一个可供选择的方法中,通过颅内压(ICP)测量评价流体冲击后不同时间间隔至至多 24 小时的脑损伤严重程度。简而言之,在流体冲击之前,距矢状缝合处 1 mm、距人字缝尖 5 mm 处右顶骨皮质上方中央、距前囟 5 mm 处钻一小孔。在流体冲击损伤后,去除损伤颅盖和颅塑料胶粘剂。为了获得适当的 ICP 值,尽管尚处于麻醉中,但是仍在流体冲击后将颅骨切开盖重新插入到其原始位置。将预先切好的无菌箔片也置于颅骨切开盖上,将颅塑料胶粘剂置于箔片上,以封闭脑腔。在整个实验过程中,为了获得连续的 ICP 测量值,将探针插入到钻孔内并用颅塑料胶粘剂固定,然后将动物的伤口缝合(使用 3-0 号缝线),将大鼠放入 Hopper 笼内,在实验期间让其自由活动。

接着, 将 ICP 传感器与 Codman ICP 监测器连接, 供 TBI 后或假损伤后至多 24 小时的连续 ICP 测量用。在这段时间内, 动物有规律地得到水和食物。TBI 后 24 小时, 结束实验, 通过注射过量的戊巴比妥钠(130 mg/kg; i.p.)对施行动物安乐死。

这些实验包括假溶媒组(SV)、TBI 溶媒组(TV)、假药物治疗组(SD; 0.08 mg/kg 实施例 14 的化合物[剂量相当于 0.05 mg/kg 式(S)-II 化合物])和 TBI 药物治疗组(TD; 0.08 mg/kg 实施例 14 的化合物)。每个假组用作相应 TBI 组的对照。所有动物都经历麻醉和手术。在 TBI 组中, 采用外侧流体冲击模型, 诱发脑损伤。药物治疗在 TBI 后或假损伤后 15 分钟开始。在任一给定时间点, 与其相应的假损伤组相比, 如果化合物显著降低 ICP, 则认为所述化合物有效(与相应的假组相比, ANOVA 有显著性; t-检验有显著性)。损伤后 5 分钟, 与 SV 动物相比, 在 TV 动物中, 绝对 ICP (原始数据)增加了 6.8 mmHg 单位(SV-5.55 vs. TV-12.35)。在 TBI 后的下一个 30 分钟内, ICP 值减少, 最终分别稳定在 8.55 mmHg (TV)和 5 mmHg (SV)。在 TBI 后 45 分钟、60 分钟、2 小时、3 小时、4 小时和 24 小时, TD 与 TV 有显著差异, 在损伤后 60 分钟或药物注射后 45 分钟有最大显著性减少(3.1 mmHg 单位)(TV-8.15 vs. TD-5.05 mmHg)。评价动物内平均 ICP 降低, 与 TV 相比, TD 显著性降低, 结果为: 损伤后 30 分钟(-2.85 vs. -1.15 mmHg)、损伤后 45 分钟(-3.95 vs. -1.35)、损伤后 60 分钟(-4.5 vs. -1.55)、损伤后 2 小时(-4.3 vs. -1.95)、损伤后 3 小时(-4.3 vs. 1.8)、损伤后 4 小时(-4.15 vs. -1.3)和损伤后 24 小时(-3.05 vs. -0.9), 其中在损伤后 60 分钟(或给药后 45 分钟)观察到最大降低。直到假损伤后 4 小时, SD 值与 SV 值仍没有显著性差异(-1.5 [SV] vs. -2.1 [SD] mmHg), 然而, 在给药后 24 小时, 各组间所观察到的 ICP 降低已减弱。

上述实验结果表明, 本发明的新型羟吡啶化合物可用于治疗人类由细胞膜极化和电导功能障碍引起的疾病, 最好是用于治疗以下疾病: 局部缺血、中风、惊厥、癫痫、哮喘、过敏性肠综合征、偏

头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、一氧化碳中毒、性功能障碍和尿失禁以及其它对 BK 通道激活活性敏感的疾病。式 I 化合物最优选用于治疗脑缺血/中风、创伤性脑损伤和颅内压升高。

式 I 化合物或其药用组合物可用于治疗、缓解或消除与 BK 通道相关的疾病或其它疾病。这些疾病包括局部缺血、中风、惊厥、癫痫、哮喘、过敏性肠综合征、偏头痛、创伤性脑损伤、颅内压升高、脊髓损伤、一氧化碳中毒、性功能障碍和尿失禁以及其它对钾通道开放剂敏感的疾病。

对于治疗应用，式 I 的药理学活性化合物通常将作为药用组合物给予，所述药用组合物包含作为必需活性成分的至少一种这样的化合物以及固体或液体药学上可接受的载体和任选的标准常规技术所用的药学上可接受的辅料和赋形剂。

所述药用组合物包括适合于口服、胃肠外(包括皮下、肌内、皮内和静脉内)支气管或鼻腔给药的剂型。因此，如果使用固体载体，则可以将所述制剂压片、以粉末或小丸形式充填在硬明胶胶囊剂内或者制成药片或锭剂。所述固体载体可以包括常用赋形剂，例如粘合剂、填充剂、制片润滑剂、崩解剂、润湿剂等。如果需要，片剂可以通过常规技术包薄膜衣。如果使用液体载体，则所述制剂可以为糖浆剂、乳剂、软明胶胶囊剂、注射用无菌溶媒、水性或非水性液体混悬剂的形式，或者可以为用于临用前用水或其它合适溶媒重建的干燥制品。液体制剂可以含有常用添加剂，例如悬浮剂、乳化剂、润湿剂、非水性溶媒(包括食用油)、防腐剂以及矫味剂和/或着色剂。对于胃肠外给药，尽管可以使用盐溶液、葡萄糖溶液等，但是溶媒通常包含无菌水，至少大部分为无菌水。也可以使用注射用混悬剂，在这种情况下，可以使用常用悬浮剂。也可以将常用防腐剂、缓冲剂等加入到胃肠外剂型中。特别有用的是式 I 化合物直接以胃肠外制剂给药。通过适合于含有适量的活性成分即本发明的式 I 化合物的所需制剂的常规技术来制备所述药用组合物。参见例如 Remington's

Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, 第 17 版, 1985。

达到治疗效果的式 I 化合物的剂量不仅取决于诸如患者的年龄、体重和性别以及给予模式等因素, 而且取决于所需要的钾通道激活活性程度和待用具体化合物针对所涉及疾病的具体病症的疗效。也考虑了可以以单位剂型给予具体化合物的疗法和剂量, 因此所述单位剂型将由本领域技术人员进行调节, 以反映出活性的相对水平。所用具体剂量(及每天的给药次数)的决定在主治医师的权力范围内, 并且可以根据本发明具体情况的剂量大小而变化, 以达到所需的治疗效果。

对于患有或可能患有本文所述任何病症的哺乳动物, 包括人类, 式 I 化合物或其药用组合物的合适剂量是约 0.1 ng/kg 体重至 10 mg/kg 体重的活性成分剂量。对于胃肠外给药, 在静脉内给药的剂量可以在 0.1 ng/kg 体重至 10 mg/kg 体重范围内。所述活性成分最好采用以下方式给药: 大剂量注射; 或者先大剂量注射给药, 然后连续输注给药; 连续输注给药; 或者等剂量输注给药, 每天 1-4 次。

然而, 人们知道, 实际给予的化合物剂量将由主治医师根据包括待治疗病症、所选待给予的化合物、所选的给药途径、各个患者的年龄、体重和反应、患者症状的严重程度等在内的有关情况来确定。

给出下面的实施例用以说明本发明, 而决不应认为是用来以任何方式限制本发明, 因此本发明的许多变化可在本发明目的范围内。

具体实施方案的描述

在下面的实施例中, 所有温度都为摄氏温度。在 Gallenkamp 毛细管上记录熔点, 对熔点装置温度不进行校正。在 Bruker AC 300 上记录质子磁共振(^1H NMR)。所有谱都在指定溶剂中测定, 化学位移以内标四甲基甲硅烷(TMS)的 δ 单位低磁场表示, 而质子间偶合常数

以赫兹(Hz)表示。裂解模式如下指定: s, 单峰; d, 双重峰; t, 三重峰; q, 四重峰; m, 多重峰; br, 宽峰; dd, 二个双重峰; bd, 宽双重峰; dt, 三个双重峰; bs, 宽单峰; dq, 四个双重峰。使用溴化钾(KBr)的红外(IR)光谱在 4000 cm^{-1} 至 400 cm^{-1} 的 Perkin Elmer 781 分光计上测定, 校准至聚苯乙烯薄膜的 1601 cm^{-1} 吸收, 并以厘米的倒数(cm^{-1})表示。低分辨率质谱(MS)和表观分子(MH^+)或(M-H)⁻在 Finnigen TSQ 7000 上测定。高分辨率质谱在 FAB 型的 Kratos MS50 上且用碘化铯/甘油作为内标来测定。元素分析以重量计的百分比表示。

下面的制备举例说明本发明中间体的制备方法以及本发明产物的制备方法。本领域技术人员也将显而易见的是, 对本文所公开的材料和方法的合适取代将会产生下文举例说明的实施例, 这些全都包括在本发明范围内。

实施例 1

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 二叔丁基铵盐; (S)-Ia:

步骤 A. 磷酸二叔丁酯 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯((S)-III)

向装有(3S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮((S)-II) (按照美国专利 5,808,095 制备) (2.00 g, 5.57 mmol)的 250 ml 烧瓶中加入 20 ml 无水乙腈、碳酸铯(2.35 g, 7.24 mmol)和二叔丁基磷酸氯甲酯(2.16 g, 8.36 mmol)。将反应物在室温下搅拌 24 小时, 然后真空蒸发溶剂。所得粗残余物经快速色谱纯化(硅胶; 4:1 己烷:EtOAc), 得到为白色固体的标题化合物(2.12 g, 65%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 400 MHz): δ

= 7.78 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.34-7.31 (m, 2H), 7.25 (d, 1H, $J = 7\text{ Hz}$), 6.74 (d, 1H, $J = 7\text{ Hz}$), 5.71 (dd, 1H, $J = 12.0, 6.8\text{ Hz}$), 5.59 (dd, 1H, $J = 12.0$,

6.8 Hz), 3.53 (s, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.51 (s, 9H)。

步骤 B. (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯, 二叔丁基铵盐; (S)-Ia

向装有磷酸二叔丁酯 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-III) (0.500 g, 0.860 mmol)的 100 ml 烧瓶中加入 10 ml 无水二氯甲烷和三氟乙酸(0.196 g, 1.72 mmol)。将反应物在室温下搅拌 24 小时。真空蒸发二氯甲烷, 粗制泡沫状物经反相色谱纯化(C_{18} 2:1 $CH_3CN:H_2O$), 然后将所分离的游离磷酸酯溶于乙酸乙酯中, 加入叔丁胺(0.251 g, 3.44 mmol)并真空蒸发溶剂, 得到为白色粉末的标题化合物(0.100 g, 19%)。

1H NMR

(D_2O 500 MHz): δ = 7.89 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.50 (m, 2H), 7.41 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 7.03 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 5.63 (dd, 1H, J = 12.0, 6.8 Hz), 5.56 (dd, 1H, J = 12.0, 6.8 Hz), 3.56 (s, 3H), 1.36 (s, 18H); ^{31}P NMR (D_2O 202 MHz) δ = 1.68; LRMS [M-H]⁻ 467.9。

实施例 2

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐; (S)-Ia¹

步骤 A. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-羟甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-IV)

向(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-II) (60.0g, 0.167 mol)和 K_2CO_3 (27.7g, 0.20 mol)的 THF (600 ml)混合物中加入甲醛(37%的水溶液, 240 ml, 3.2 mol), 然后加入 H_2O (300 ml)。将略微混浊的混合物在室温下搅拌 3 小时, 然后用乙醚(1000 ml)稀释。分离有机层。水层用乙醚(200 ml X 2)洗涤。合并的有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥。蒸发溶剂, 得到为白色干燥泡沫状物的

标题化合物(64.5 g, 收率 99%)。LC/MS m/e: 390 (MH⁺), 纯度 96%。

¹H NMR (CDCl₃): δ 3.50 (s, 3H), 5.28 (m, 1H), 5.45 (m, 1H), 6.75 (dd, J=1.5, 6.5 Hz, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.34 (m, (m, 3H), 7.79 (dd, J=1.0, 3.0 Hz, 1H)。

步骤 B. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-V)

在氮气下, 在 50 分钟内, 向(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-羟甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-IV) (64.5g, 0.166 mol)的 CH₂Cl₂ (700 ml)溶液中于 0℃ 滴加 PCl₃ (2.0 M 的 CH₂Cl₂ 溶液, 255.0 ml, 0.510 mol)。将所得混合物升温至室温, 并继续搅拌过夜(16 小时)。混合物在 0℃ 用冰猝灭, 将所得混合物剧烈搅拌 30 分钟。分离有机层, 水层用 CH₂Cl₂ 洗涤。合并的有机层用盐水洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥。经色谱纯化(硅胶, EtOAc/己烷), 得到为白色干燥泡沫状物的标题化合物(42.0 g, 收率 62%)。

¹H NMR (CDCl₃): δ 3.55 (s, 3H), 5.39 (d, J=10.5 Hz, 1H), 5.95 (d, J=11.0 Hz, 1H), 6.76 (dd, J=1.5, 9.0 Hz, 1H), 7.28 (m, 2H), 7.35 (dd, J=1.5, 9.0 Hz, 1H), 7.40 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.78 (dd, J=1.0, 2.5 Hz, 1H)。

步骤 C. (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐; (S)-Ia¹

通过在 28℃ 蒸发而除去市售磷酸二氢四丁铵(Aldrich, 1.0 M, 1000 ml, 1.0 mol)中的 H₂O 并在高真空下干燥过夜。将残余物再溶于无水乙腈(4Å, 2500 ml)中。在氮气下, 在 30 分钟内, 向该溶液中于 0℃ 滴加(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-V) (42.0g, 0.103 mol)的 CH₃CN (200 ml)溶液。将反应混合物在 0℃ 再搅拌 30 分钟。在室温下继续搅拌 2.5 小时, 然后除

去溶剂。将残余物溶于 CH_2Cl_2 (1200 ml) 中, 用 H_2O (4 X 200 ml) 洗涤并经 Na_2SO_4 干燥。经色谱纯化(硅胶, $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$), 得到为白色固体的标题化合物(28.0g, 收率 38%)。LC/MS m/e: 470 (MH^+), 纯度 99%。

^1H NMR (D_2O): δ 0.89 (t, $J=7.4$

Hz, 12H), 1.29 (m, 8H), 1.58 (m, 8H), 3.11 (t, $J=7.3$ Hz, 8H), 3.44 (s, 3H), 5.48 (m, 1H), 5.59 (m, 1H), 6.80 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.71 (s, 1H)。

实施例 3

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 一钠盐; (S)-Ia²

Dowex-50wx8-100 树脂(1350g)依次用 H_2O 、 MeOH 、 H_2O 洗涤, 然后用氢氧化钠溶液(1.0M)碱化至 $\text{pH} > 10$ 。然后用 H_2O 洗涤至 $\text{pH} \sim 7$, 将树脂分成 3 个部分(各 $\sim 450\text{g}$)。将一部分树脂($\sim 450\text{g}$)加入到 (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐; (S)-Ia¹: (27g, 0.038 mol) 的 500 ml H_2O 溶液中。将所得混合物搅拌 10 分钟, 过滤并用 H_2O 洗涤。向合并的滤液中加入另一部分树脂。将所得混合物搅拌 10 分钟, 过滤并用 H_2O 洗涤。向该滤液中加入最后一部分树脂。将所得混合物搅拌 10 分钟, 过滤并用 H_2O 洗涤。合并的滤液经 C-18 反相硅胶的短柱(1cm) 过滤, 然后用 H_2O 洗涤。蒸发出合并滤液中的溶剂。将残余物溶于乙腈中, 然后过滤。蒸发乙腈, 将残余物再溶于 CH_2Cl_2 中, 向该溶液中加入己烷。蒸发溶剂, 得到为白色微细粉末的标题化合物(15.4g, 收率 87%)。MS m/e: 468.0 ($\text{M}-\text{H}^-$)。LC/MS m/e: 470 (MH^+), 纯度 98%。 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClF}_4\text{NO}_6\text{PN} \cdot 1.05\text{Na} \cdot 0.18\text{H}_2\text{O}$ 的分析计算值: C, 41.15; H, 2.51; N, 2.82, Na, 4.89。实测值: C, 41.54; H, 2.50; N, 2.70; Na, 4.97。

^1H NMR (D_2O): δ 3.52 (s, 3H), 5.56 (m, 1H), 5.65 (m, 1H), 6.94 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.43 (dd, $J=1.5, 9.0$ Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.79 (s, 1H). ^{13}C NMR (D_2O): δ 58.79, 67.99 94.23 110.52 116.42 124.01 126.38, 128.04, 128.35, 128.49, 128.74, 131.48, 133.52, 135.98, 145.96, 156.38, 175.98. ^{19}F NMR (D_2O): δ -63.2, -164. ^{31}P NMR (D_2O): δ 0.12. IR (KBr, cm^{-1}): 3433, 1756, 1319, 1131, 1026. $[\alpha]^{20}(\text{H}_2\text{O}) +131.95$ 。

手性毛细管电泳(CE)分析显示 99%以上的(S)-异构体。

实施例 4

(R)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯，一钠盐；(R)-Ia²

从(R)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((R)-II) (按照美国专利 5,602,169 制备)开始，采用实施例 2 和实施例 3 中描述的通用方法，制备标题化合物。 $[\alpha]^{20}(\text{H}_2\text{O})-104.42$ 。手性毛细管电泳(CE)分析显示 89% (R)-异构体和 10% (S)-异构体以及 1% 未鉴定的物质。

实施例 5

(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-磷酸氧基-丙酯；(S)-Ib, n=2

步骤 A. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-丙酯((S)-VII, n=2)

向(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-II) (720 mg, 2 mmol)的二氯甲烷溶液中滴加碳酰氯(2.2 ml, 20% 的甲苯溶液, 4 mmol)和吡啶(0.6 ml)。在氮气氛下，将所得氯甲酸(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-碳酰氯((S)-VI)在室温下搅拌过夜。向该反应混合物中再滴加 0.6 ml 吡啶，然后加入磷酸二叔丁酯 3-羟基-丙酯(1.55 g, ~5.78 mmol)，其制备在下

文给出。将所得混合物在室温下再搅拌 1 小时，用二氯甲烷稀释，然后用水洗涤。有机层经 Na_2SO_4 干燥并通过蒸发器浓缩。残余物在用乙酸乙酯:己烷(v/v, 4:1)填充的并用乙酸乙酯:己烷(v/v, 4:1~2:1)洗脱的硅胶快速柱上经色谱纯化，得到标题化合物(818 mg, 63%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ

10.06 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.78 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.35 (dd, 1H), 7.27 (d, 1H), 6.76 (dd, 1H), 4.59 (m, 2H), 4.16 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 2.18 (m, 2H), 1.48 (s, 18H); LC-MS, 654.1 (MH^+)。

磷酸二叔丁酯 3-羟基-丙酯的制备

向 100 ml 烧瓶中加入磷酸四正丁基铵二叔丁酯盐(3.08 g, 6.8 mmol)、乙二醇二甲醚(10 ml)和 3-溴-1-丙醇(从碳酸钾中新蒸馏的)。将反应混合物加热至回流达 2.5 小时。冷却至室温后，反应混合物用乙醚(60 ml)稀释，然后放到冰箱中冷却，直到沉淀出白色固体。所得固体通过 Celite 过滤，真空蒸发滤液，得到为透明油状物的标题化合物(1.85 g, ~100%)。

^1H

NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 4.10 (m, 2H), 3.73 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.46 (s, 18H)。

步骤 B. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-甲酸 2-磷酸氧基-丙酯; (S)-Ib, n=2

将(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-甲酸 2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-丙酯((S)-VII, n=2) (540 mg, 0.82 mmol)的二氯甲烷(30 ml)溶液与三氟乙酸(0.6 ml)一起在室温下搅拌 3 小时。LC-MS 显示反应完成。除去溶剂后，将残余物溶于甲醇中，粗产物经制备型 HPLC 纯化，冻干后得到 255 mg (57%)为白色固体的标题化合物。

¹H NMR

(CDCl₃, 500 MHz) δ 8.27 (s, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.27 (d, 1H), 6.75 (d, 1H), 4.50 (b, 6H, 含有一些 H₂O 作为溶剂), 4.54 (m, 2H), 4.17 (b, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.1 (m, 2H); MS (m/e) 539.92 (M⁺-1); LC-MS, 542 (MH⁺, 98.5%); ³¹P NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 2.03; ¹⁹F NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ -63.4, 153.8;

C₂₀H₁₇ClF₄NO₈P 的分析计算值: C = 44.34%, H = 3.16%, N = 2.58%; 实测值: C = 44.01%, H = 3.11%, N = 2.45%。

实施例 6

(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-磷酸氧基-乙酯; (S)-Ib, n=1)

步骤 A. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-乙酯((S)-VII, n=1)

采用与(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-丙酯((S)-VII, n=2)同样的制备方法, 使用磷酸二叔丁酯 2-羟基-乙酯, 制备标题化合物(收率 52%)。

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.29 (s, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.27 (d, 1H), 6.75 (d, 1H), 4.67 (m, 2H), 4.31 (m, 2H), 3.53 (s, 3H), 1.47 (s, 18H); LC-MS, 640.15 (MH⁺, 96); ³¹P NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ -8.71; ¹⁹F NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ -63.3, 153.6。

步骤 B. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-磷酸氧基-乙酯; (S)-Ib, n=1)

用(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-乙酯((S)-VII, n=1)作为原料, 采用与(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸 2-磷酸氧基-丙酯; (S)-Ib, n=2)同样的制备方法, 制备标题化合物(收率 83%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.23 (s, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.28 (d, 1H), 6.75 (d, 1H), 4.59 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 3.51 (s, 3H); MS (m/e) 525.95 ($\text{M}^+ - 1$); ^{31}P NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 1.87; ^{19}F NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ -63.25, 153.8;

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClF}_4\text{NO}_8\text{P} \cdot 1.159\text{H}_2\text{O}$ 的分析计算值: C = 41.60%, H = 3.18%, N = 2.55%; 实测值: C = 41.57%, H = 2.92%, N = 2.51%。

实施例 7

(S)-(2-磷酸氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯; (S)-Ic, n=1)

步骤 A. (S)-(2-羟基-乙基)-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯((S)-IX, n=1)

向装有(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-羟甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮((S)-IV) (0.397 g, 1.02 mmol)的 25 ml 圆底烧瓶中加入 5ml 无水二氯甲烷、三乙胺(0.204 g, 2.04 mmol)和氯甲酸 4-硝基苯酯(0.246 g, 1.22 mmol)。将反应物在室温下搅拌过夜, 得到碳酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯 4-硝基-苯酯(VIII), 此后, 加入 2-氨基乙醇(0.186 g, 3.05 mmol), 将反应物再搅拌 24 小时。真空除去溶剂, 粗残余物经柱色谱纯化(硅胶; 1:1 Hex:EtOAc 至 4:1EtOAc:Hex), 得到 0.250g (51%)标题化合物。

^1H

NMR (CDCl_3 400 MHz): δ = 7.78 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.33 (d, 2H, J = 7 Hz), 7.22 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.74 (d, 1H, J = 7 Hz), 5.88 (d, 1H, J = 12 Hz), 5.83 (d, 1H, J = 12 Hz), 3.75 (m, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.39 (m, 2H, J = 7Hz)。

步骤 B. (S)-[2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-乙基]-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯((S)-X, n=1)

向装有(S)-(2-羟基-乙基)-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-

2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-IX, n=1) (0.250 g, 0.526 mmol)的 25 ml 梨形烧瓶中加入 3 ml 无水二氯甲烷、1H-四唑 (0.110 g 1.58 mmol)、4-DMAP (0.026 g, 0.21 mmol)和二叔丁基-二异丙基亚磷酰胺(0.291 g, 1.05 mmol)。将反应物在室温下搅拌 2 小时, 然后冷却至 0℃, 加入 30%过氧化氢水溶液(0.7ml), 将反应物再搅拌 1 小时。分离有机层, 干燥(Na_2SO_4)并真空蒸发。粗制油状物经快速色谱纯化(硅胶 1:1 EtOAc:Hex 至 2:1 EtOAc:Hex), 得到 0.280 g (80%) 标题化合物。

^1H NMR (CDCl_3 400 MHz): δ = 7.78 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.32 (d, 2H, J = 7 Hz), 7.25 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.74 (d, 1H, J = 7 Hz), 5.84 (dd, 2H, 12Hz), 4.05 (m, 2H), 3.51 (s, 3H), 3.48 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.45 (s, 9H)。

步骤 C. (S)-(2-磷酸氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯; (S)-Ic, n=1

向装有酯(S)-[2-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-乙基]-氨基甲酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-X, n=1) (0.280 g, 0.419 mmol)的 25 ml 梨形烧瓶中加入 5 ml 无水二氯甲烷和三氟乙酸(0.143 g, 1.26 mmol)。将反应物在室温下搅拌 3 小时。真空蒸发有机层, 将粗制泡沫状物置于高真空下过夜。所得白色粉末经反相色谱纯化(C_{18} ; 1:1 $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$), 得到为白色粉末的标题化合物(0.134 g, 58%)。

^1H NMR (D_2O 400 MHz):
 δ = 7.88 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.50 (m, 2H), 7.40 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.00 (d, 1H, J = 7 Hz), 5.99 (d, 1H, J = 12Hz), 5.77 (d, 1H, J = 12Hz), 3.90 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.39 (m, 2H); LRMS $[\text{M}-\text{H}]^-$ 554.91, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 574.0。

实施例 8

(S)-磷酸氧基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯; (S)-Id, n=1)

步骤 A. (S)-羟基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯((S)-XI)

向装有(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮((S)-V) (0.200 g, 0.489 mmol)的 10 ml 烧瓶中加入 3 ml 无水乙腈、乙醇酸(0.045 g, 0.588 mmol)和碳酸铯(0.079 g, 0.245 mmol)。将反应物在室温下搅拌 36 小时, 然后有机层用 5ml 乙醚稀释, 倾去固体氯化铯中的有机溶液。真空蒸发溶剂, 所得白色泡沫状物经快速色谱纯化(硅胶, 4:1 己烷:丙酮), 得到为白色粉末的标题化合物(0.126 g, 58%)。

^1H NMR (CDCl_3 400 MHz):

δ = 7.79 (s, 1H), 7.38-7.33 (m, 3H), 7.26 (d, 1H, J = 7Hz), 6.75 (d, 1H, J = 7 Hz), 5.99 (d, 1H, J = 12 Hz), 5.91 (d, 1H, J = 12Hz), 4.26 (s, 2H), 3.49 (s, 3H)。

步骤 B. (二叔丁氧基-磷酸氧基)-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯((S)-XII)

向装有(S)-羟基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯((S)-XI) (0.126 g, 0.282 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 3 ml 无水二氯甲烷、1H-四唑(0.059 g, 0.846 mmol)、4-二甲氨基吡啶(0.0138 g, 0.113 mmol)和二叔丁基-二异丙基亚磷酰胺(0.156 g, 0.560 mmol)。将反应物在室温下搅拌 2 小时, 然后让反应物冷却至 0℃, 加入 30%过氧化氢(0.8ml), 将反应物再剧烈搅拌 2 小时。分离有机层, 用蒸馏水洗涤, 干燥(Na_2SO_4)并真空蒸发。粗制泡沫状物经快速色谱纯化(硅胶, 4:1 己烷:EtOAc), 得到为白色粉末的标题化合物(0.144 g, 80%)。

^1H NMR (CDCl_3 400 MHz):

$\delta = 7.78$ (s, 1H), 7.36-7.33 (m, 3H), 7.26 (d, 1H, $J = 7\text{Hz}$), 6.75 (d, 1H, $J = 7\text{Hz}$), 5.99 (d, 1H, $J = 12\text{Hz}$), 5.89 (d, 1H, $J = 12\text{Hz}$), 4.58 (d, 2H, $J = 8.6\text{Hz}$), 3.52 (s, 3H), 1.47 (s, 18H)。

步骤 C. (S)-磷酸氧基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯; (S)-Id, n=1

向装有(S)-羟基-乙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-XI) (0.144 g, 0.225 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 4 ml 无水二氯甲烷和三氟乙酸(0.077 g, 0.675 mmol)。将反应物在室温下搅拌 3 小时。真空蒸发二氯甲烷, 粗制泡沫状物经反相色谱纯化(C_{18} 1:1 $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$), 得到为白色粉末的标题化合物(0.075 g, 63%)。

^1H NMR

(CD_3OD 400 MHz): $\delta = 7.73$ (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.43-7.40 (m, 2H), 7.33 (d, 1H, $J = 7\text{Hz}$), 6.95 (d, 1H, $J = 7\text{Hz}$), 6.05 (d, 1H, $J = 11.2\text{Hz}$), 5.96 (d, 1H, $J = 11.2\text{Hz}$), 4.62 (d, 2H, $J = 9.6\text{Hz}$), 3.52 (s, 3H); ^{31}P NMR (CD_3OD 162 MHz) $\delta = 0.89$; ^{19}F NMR (CD_3OD 376 MHz) $\delta = -64.7$, -160.9; LRMS $[\text{M}-\text{H}]^-$ 525.84, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 545.0。

实施例 9

(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸磷酸氧基甲酯; (S)-Ie

步骤 A. (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸氯甲酯, ((S)-XII)

向装有(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮(S)-II (0.400 g, 1.1 mmol)的 10 ml 烧瓶中加入 6 ml 无水二氯甲烷、三乙胺(0.167 g, 1.67 mmol)和氯甲酸氯甲酯(0.171 g, 1.33 mmol)。将反应物在室温下搅拌 24 小时, 然后有机层用 75 ml 乙醚

稀释，通过 Celite 滤除所得固体三乙胺盐酸盐。真空蒸发溶剂，所得标题化合物(0.414 g, 83%)无需纯化就可直接用于后续反应。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.36 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.49 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.36 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.34 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.77 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.10 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 5.96 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 3.56 (s, 3H)。

步骤 B: 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸碘甲基酯((S)-XIV)

向装有(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸氟甲酯((S)-XII) (0.633 g, 1.40 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 6 ml 无水丙酮和碘化钠(0.314 g, 2.10 mmol)。将反应物加热至回流并搅拌 4 小时，然后让反应物冷却至室温，真空蒸发溶剂。将粗制油状物溶于二氯甲烷中，然后用 1%硫代硫酸钠水溶液洗涤。分离有机层，干燥(Na_2SO_4)并真空蒸发，得到标题化合物(0.640 g, 84%)，无需纯化就可直接用于后续反应。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.38 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.48 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.36 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.31 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.77 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.28 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 6.18 (d, 1H, J = 6.4 Hz), 3.56 (s, 3H)。

步骤 C: (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸二叔丁氧基-磷酸氧基甲酯((S)-XV)

向装有 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸碘甲基酯((S)-XIV) (0.200 g, 0.368 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 5 ml 无水四氢呋喃和二叔丁基磷酸四丁基铵(0.199 g, 0.441 mmol)。将反应物加热至回流并搅拌 1 小时。然后让反应物冷却至室温，真空蒸发溶剂。粗制泡沫状物经快速色谱纯化(硅胶，4:1 己烷:EtOAc)，得到为无色透明油状物的标题化合物(0.110 g, 48%)。

¹H NMR (CDCl₃ 400

MHz): δ = 8.35 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.48 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.34 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.30 (d, 1H, J = 7 Hz), 6.76 (d, 1H, J = 7 Hz), 5.90 (d, 1H, J = 12.4 Hz), 3.53 (s, 3H), 1.50 (s, 18H)。

步骤 D: (S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸磷酰氧基甲酯; (S)-Ie

向装有(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-甲酸二叔丁氧基-磷酰氧基甲酯((S)-XV) (0.110 g, 0.176 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 2 ml 无水二氯甲烷和三氟乙酸(0.060 g, 0.527 mmol)。将反应物在室温下搅拌 4 小时。真空蒸发二氯甲烷, 粗制泡沫状物经反相色谱纯化(C₁₈ 2:1CH₃CN: H₂O), 得到为白色粉末的标题化合物(0.070 g, 78%)。

¹H NMR

(CDCl₃ 400 MHz): δ = 8.26 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.45 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.28-7.24 (m, 2H), 6.72 (d, 1H, J = 7 Hz), 5.90-5.81 (m, 2H), 3.48 (s, 3H);
³¹P NMR (CDCl₃ 162 MHz) δ = -0.233; ¹⁹F NMR (CDCl₃ 376 MHz) δ = -63.3, -153.8; LRMS [M-H]⁻ 511.4, [M+NH₄]⁺ 530.9。

实施例 10

(S)-3-磷酰氧基-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯; (S)-If, n=1

步骤 A: (S)-3-羟基-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯, ((S)-XVI, n=1)

向装有(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮((S)-V) (0.223 g, 0.546 mmol)的 10 ml 烧瓶中加入 3 ml 无水乙腈和丙酸铯(0.182 g, 0.819 mmol)。将反应物在室温下搅拌 24 小时。真空蒸发溶剂, 所得白色泡沫状物经快速色谱纯化(硅胶, 3:1 己烷:丙酮), 得到为白色粉末的标题化合物(0.115 g, 46%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 7.79$ (s, 1H), 7.37-7.32 (m, 3H), 7.25 (d, 1H, $J = 7\text{ Hz}$), 6.75 (d, 1H, $J = 7\text{ Hz}$), 5.93 (d, 1H, $J = 12\text{ Hz}$), 5.85 (d, 1H, $J = 12\text{ Hz}$), 3.92 (t, 2H, $J = 7\text{ Hz}$), 3.51 (s, 3H), 2.66 (t, 2H, $J = 7\text{ Hz}$)。

步骤 B: (S)-3-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-XVII, $n=1$)

向装有(S)-3-羟基-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-XVI, $n=1$) (0.115 g, 0.249 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 4 ml 无水二氯甲烷、1H-四唑(0.052 g, 0.747 mmol)、4-二甲氨基吡啶(0.012 g, 0.099 mmol)和二叔丁基-二异丙基亚磷酸胺(0.138 g, 0.498 mmol)。将反应物在室温下搅拌 2 小时，然后使反应物冷却至 0°C ，加入 30%过氧化氢(0.8ml)，将反应物再剧烈搅拌 2 小时，分离有机层，用蒸馏水洗涤，干燥(Na_2SO_4)并真空蒸发。粗制泡沫状物经快速色谱纯化(硅胶，4:1 己烷:EtOAc)，得到为白色粉末的标题化合物(0.144 g, 88%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz):
 $\delta = 7.78$ (s, 1H), 7.36-7.32 (m, 3H), 7.26 (d, 1H, $J = 7\text{ Hz}$), 6.75 (d, 1H, $J = 7\text{ Hz}$), 5.90 (d, 1H, $J = 12\text{ Hz}$), 5.84 (d, 1H, $J = 12\text{ Hz}$), 4.25 (q, 2H, $J = 7.6, 6.4\text{ Hz}$), 3.51 (s, 3H), 2.77 (t, 2H, $J = 6.4\text{ Hz}$), 1.46 (s, 18H)。

步骤 C: (S)-3-磷酸氧基-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯; (S)-If, $n=1$)

向装有(S)-3-(二叔丁氧基-磷酸氧基)-丙酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲酯((S)-XVII, $n=1$) (0.144 g, 0.22 mmol)的 25 ml 烧瓶中加入 2 ml 无水二氯甲烷和三氟乙酸(0.075 g, 0.66 mmol)。将反应物在室温下搅拌 4 小时。真空蒸发二氯甲烷，粗制泡沫状物经反相色谱纯化(C_{18} 2:1 $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$)，得到为白色粉末的标题化合物(0.070 g, 59%)。

^1H NMR (CDCl_3 400 MHz): $\delta = 7.70$
 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.32-7.27 (m, 3H), 7.20 (d, 1H, $J = 6$ Hz), 6.73 (d,
 1H, $J = 8$ Hz), 5.91 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 5.73 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 4.27
 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.75 (m, 2H); ^{31}P NMR (CDCl_3 162 MHz) $\delta = 1.15$;
 ^{19}F NMR (CDCl_3 376 MHz) $\delta = -63.2, -159.4$; LRMS $[\text{M}-\text{H}]^- 539.89$,
 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+ 564.1$ 。

实施例 11

(S)-焦磷酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-
 吡啶-1-基甲酯, 三钠盐; (S)-Ig², M⁺ = Na⁺

步骤 A. (3S)-焦磷酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-
 2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯, 三(四丁基铵)盐((S)-Ig¹, R=正丁基)

将(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-
 吡啶-2-酮((S)-V) (0.45 g, 1.15 mmol)和焦磷酸氢三(四丁基铵) (1.04 g,
 1.15 mmol)的溶液在 CH_3CN (25 ml)中进行混合, 然后在室温下搅拌
 约 45 分钟。减压蒸发溶剂, 油状残余物通过用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1)洗
 脱的 C-18 反相硅胶垫过滤。真空除去溶剂, 残余物经用 $\text{iPrOH}/\text{NH}_4\text{OH}$
 (70:30)洗脱的快速色谱纯化(SiO_2), 得到为玻璃状油状物的标题化合
 物, 可直接用于后续离子交换反应中。

步骤 B. (S)-焦磷酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-
 2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯, 三钠盐((S)-Ig², M⁺ = Na⁺)

将上述所回收的玻璃状油状物((S)-焦磷酸 3-(5-氯-2-甲氧基-苯
 基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯三(四丁基铵)盐
 ((S)-Ig², R=正丁基)溶于去离子 H_2O 中, 然后加样到离子交换树脂柱
 (DOWEX 50WX8-200, Na⁺型)。将含有标题化合物的流分冻干, 得到
 其外观为大的细针状物的松散白色固体(0.34g, 48%, 经两步)。

^1H NMR (500 MHz, D_2O): δ 3.58 (s, 3 H), 5.67 (dd, $J = 6.41, 10.68$ Hz, 1 H), 5.78 (dd, $J = 7.02, 10.68$ Hz, 1 H), 7.01 (d, $J = 8.55$ Hz, 1 H), 7.41 (m, 1 H), 7.51 (m, 2 H), 7.83 (s, 1 H), 7.89 (s, 1 H). ^{31}P NMR (200 MHz, D_2O) -6.86 (d, $J = 22.05$), -11.85 (d, $J = 22.05$). ^{19}F NMR (470 MHz, D_2O) -63.0 (s), -161.7 (s) LRMS: 548 (M-3H)。

实施例 12

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯]甲酯, 一钠盐: (S)-Ih², M⁺ = Na⁺, R¹ = CH₃)

步骤 A. (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯]甲酯, 单四丁基铵盐((S)-Ih¹, R=nBu, R¹ = CH₃)

将(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氟甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮((S)-V) (1.10 g, 2.81 mmol)和双(四丁基铵)磷酸甲酯六水合物(1.97 g, 2.81 mmol (按照以下文献方法制备: Julia, M; Mestdag, H.; Roland, G. *Tetrahedron*, 1986, 42, 3841-3849)的溶液在 CH_3CN (60 ml)中进行混合, 然后在室温下搅拌约 30 分钟。减压除去溶剂, 油状残余物经用 $i\text{PrOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (95:05)洗脱的快速色谱纯化(SiO_2), 得到为玻璃状油状物的标题化合物, 可直接用于后续离子交换反应中。

步骤 B. (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯]甲酯, 一钠盐; (S)-Ih², M⁺ = Na⁺, R¹ = CH₃)

将上述铵盐即((S)-磷酸-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯甲酯单四丁基铵盐((S)-Ih¹, R=nBu, R¹ = CH₃))溶于去离子 H_2O 中, 然后加样到离子交换树脂柱(DOWEX 50WX8-200, Na⁺型)。将含有标题化合物的流分冻干, 得到白色固体 (1.02g, 72%, 经两步)。发现质子 NMR 谱是浓度依赖性的。

^1H NMR (500 MHz, D_2O , <10 mg/mL): δ 3.56 (s, 3 H), 3.57 (d, $J = 10.99$ Hz, 3 H), 5.51 (dd, $J = 7.32, 10.68$ Hz, 1 H), 5.58 (dd, $J = 7.32, 10.68$ Hz, 1 H), 7.02 (d, $J = 8.85$ Hz, 1 H), 7.44 (m, 1 H), 7.51 (dd, $J = 2.44, 8.85$ Hz, 1 H), 7.54 (d, $J = 7.33$ Hz, 1 H), 7.72 (s, 1 H) 7.90 (s, 1 H). ^1H NMR (500 MHz, D_2O , >10 mg/mL): δ 3.39 (s, 3 H), 3.46 (d, $J = 10.38$ Hz, 3 H), 5.51 (dd, $J = 7.02, 10.38$ Hz, 1 H), 5.58 (dd, $J = 7.02, 10.38$ Hz, 1 H), 6.75 (d, $J = 8.55$ Hz, 1 H), 6.92 (bs, 1 H), 7.05 (bs, 1 H), 7.24 (d, $J = 1.83, 8.55$ Hz, H), 7.60 (m, 2 H). ^{31}P NMR (200 MHz, D_2O) 0.95 (多重峰). ^{19}F NMR (470 MHz, D_2O) -63.3 (s), -160.7 (s)
LRMS: 482 (M-H).

实施例 13

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基酯]乙酯, 一钠盐; (S)-Ih², M⁺ = Na⁺, R¹ = CH₂CH₃)

步骤 A. (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基酯]乙酯, 单四丁基铵盐((S)-Ih¹, R=nBu, R¹ = CH₂CH₃)

将(S)-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮((S)-V) (1.0 g, 2.57 mmol)和双(四丁基铵)磷酸乙酯六水合物 (1.84 g, 2.57 mmol (按照以下文献方法制备: Julia, M; Mestdag, H.; Roland, G. *Tetrahedron*, 1986, 42, 3841-3849)的溶液在 CH₃CN (60 ml) 中进行混合, 然后在室温下搅拌约 30 分钟。减压除去溶剂, 油状残余物经用 iPrOH/NH₄OH (98:02)洗脱的快速色谱纯化(SiO₂), 得到为玻璃状油状物的标题化合物, 可直接用于后续离子交换反应中。

步骤 B. (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基酯]乙酯, 一钠盐; (S)-Ih², M⁺ = Na⁺, R¹ = CH₂CH₃)

将上述铵盐即((S)-磷酸-3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲酯乙酯单四丁基铵盐((S)-Ih¹, R=nBu, R¹

=CH₂CH₃))溶于去离子 H₂O 中, 然后加样到离子交换树脂柱(DOWEX 50WX8-200, Na⁺型)。将含有标题化合物的流分冻干, 得到白色固体 (0.89 g, 65%)。

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 1.20 (t, J = 7.02 Hz, 3 H), 3.56 (s, 3 H), 3.93 (m, 2 H), 5.65 (m, 2 H), 7.02 (d, J = 8.85 Hz, 1 H), 7.40 (m, 1 H), 7.51 (bd, J = 7.33 Hz, 2 H), 7.72 (s, 1 H) 7.89 (s, 1 H). ³¹P NMR (200 MHz, D₂O) 0.03 (多重峰). ¹⁹F NMR (470 MHz, D₂O) -63.1 (s), -161.1 (s) LRMS: 496 (M-H)。

实施例 14 - 24

盐制备的通用方法

按照生产商(Aldrich)的说明, Dowex-50wx8-100 树脂再次用 H₂O、MeOH、H₂O 洗涤, 用氢氧化钠(或四甲基铵)溶液(或者用氨基酸或有机胺处理)碱化至 pH>10, 然后用 H₂O 洗涤。首先将待用树脂分成 3 等份。向一份树脂中加入(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氯-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐的水溶液。将所得混合物搅拌 10 分钟, 过滤并用 H₂O 洗涤。向合并的滤液中加入另一份树脂。将所得混合物搅拌 10 分钟, 过滤并用 H₂O 洗涤。向该滤液中加入最后一份树脂。将所得混合物搅拌 10 分钟, 过滤并用 H₂O 洗涤。蒸发出合并滤液中的溶剂。将残余物溶于乙腈中, 然后过滤, 以除去痕量的不溶性物质。蒸发乙腈, 将残余物再溶于 CH₂Cl₂ 中, 加入己烷。蒸发溶剂, 得到为白色微细粉末的所需产物。

实施例 14

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氯-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 钾盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氯-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.40 g,

0.56 mmol)开始, 使用 40 g Dowex-50wx8-100 树脂, 制备 0.27 g 钾盐 (白色粉末) (收率 95%)。MS m/e: 468.0 (M-H⁻)。LC/MS m/e: 469.9 (MH⁺), 1.52 min。纯度>95%。C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.10K•0.45H₂O 的分析计算值: C, 39.27; H, 2.50; N, 2.69, K, 8.31。实测值: C, 39.41; H, 2.62; N, 2.51; K, 8.43。

¹H NMR (D₂O): δ 3.56 (s, 3H), 5.55 (m, 1H), 5.61 (m, 1H), 7.00 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.40 (d, J=7.0 Hz, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.88 (s, 1H)。¹⁹F NMR (D₂O): δ -63.1, -161.7。
³¹P NMR (D₂O): δ 1.27。

实施例 15

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 四甲基铵盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.20 g, 0.28 mmol)开始, 使用 20 g Dowex-50wx8-100 树脂, 制备 0.153 g 四甲基铵盐(白色粉末) (收率 93%)。MS m/e: 468.1 (M-H⁻)。LC/MS m/e: 470.0 (MH⁺), 1.35 min。纯度 >95%。
C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.6C₄H₁₂N•0.8H₂O 的分析计算值: C, 46.7; H, 5.50; N, 6.05。实测值: C, 47.03; H, 5.84; N, 5.74。

¹H NMR (D₂O): δ 3.14 (s, 19.2H), 3.52 (s, 3H), 5.50 (m, 1H), 5.53 (m, 1H), 6.96 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.84 (s, 1H)。IR (KBr, cm⁻¹): 3429, 1752, 1319, 1129。

实施例 16

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 甘氨酸盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-

氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.20 g, 0.28 mmol)开始, 使用 20 g Dowex-50wx8-100 树脂和甘氨酸(7.5 g), 制备 0.156 g 甘氨酸盐(白色粉末) (收率 94%)。MS m/e: 468.0 (M-H⁻)。C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.42C₂H₆NO₂•0.80H₂O 的分析计算值: C, 40.31; H, 3.77; N, 5.73。实测值: C, 40.57; H, 3.59; N, 5.41。

¹H NMR (D₂O): δ 3.58 (s, 3H), 3.65 (s, 2.8 H), 5.63 (m, 1H), 5.71 (m, 1H), 7.03 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.42 (d, J=7.0, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.92 (s, 1H)。IR (KBr, cm⁻¹): 3431, 1759, 1319, 1131, 1023。

实施例 17

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氯-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯, 脯氨酸盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氯-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.20 g, 0.28 mmol)开始, 使用 20 g Dowex-50wx8-100 树脂和脯氨酸(11.3 g), 制备 0.160 g 脯氨酸盐(白色粉末) (收率 97%)。MS m/e: 468.1 (M-H⁻)。LC/MS m/e: 470.0 (MH⁺), 1.35 min。纯度 >95%。C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.0C₅H₁₀NO₂ 的分析计算值: C, 45.10; H, 3.95; N, 4.78。实测值: C, 45.19; H, 3.96; N, 4.56。

¹H NMR (D₂O): δ 1.95 (m, 2H), 2.03 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 4.11 (m, 1H), 5.55 (m, 1H), 5.61 (m, 1H), 6.94 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.34 (dd, J=2.0, 8.0, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.82 (s, 1H)。IR (KBr, cm⁻¹): 3431, 1757, 1319, 1131, 1026。

实施例 18**(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 镁盐; (S)-Ia²**

仅仅通过 $\text{Na}^+/\text{Mg}^{++}$ 置换来制备镁盐。所得产物微溶于水, 而易溶于有机溶剂。向 Mg_2SO_4 (0.130 g, 1.1 mmol) 的 H_2O (3ml) 溶液中加入 (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 一钠盐(钠盐) (0.050 g, 0.070 mmol) 的 H_2O (2 ml) 溶液。将所得混合物在室温下搅拌 10 分钟。将沉淀过滤, 用 H_2O 洗涤, 然后溶于 EtOAc 中。将蒸发溶剂后获得的残余物再溶于 CH_2Cl_2 和己烷中。蒸发溶剂, 得到为白色粉末的所需产物(0.035g, 收率 72%)。MS m/e : 468.0 (M-H^-)。LC/MS m/e : 469.9 (MH^+), 1.52 min。纯度 >95%。 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClF}_4\text{NO}_6\text{PN}\cdot 0.49\text{Mg}\cdot 1.0\text{H}_2\text{O}$ 的分析计算值: C, 40.95; H, 2.83; N, 2.81; Mg, 2.39。实测值: C, 40.87; H, 3.04; N, 2.44; Mg, 2.42。

^1H NMR (D_2O): δ 3.54 (s, 3H), 5.50 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 5.52 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 7.86 (s, 1H)。IR (KBr, cm^{-1}): 3433, 1757, 1319, 1132, 1025。

实施例 19**(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 铵盐; (S)-Ia²**

按照上述通用方法, 从 (S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(1.0g, 1.4 mmol)开始, 使用 50g Dowex-50wx8-100 树脂, 制备 0.6g 铵盐(白色粉末)(收率 87.8%)。MS m/e : 468.1 (M-H^-)。LC/MS m/e : 486.8 (MH^+), 4.54 min。纯度 >95%。 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClF}_4\text{NO}_6\text{PN}\cdot 1.0\text{NH}_4\cdot 0.35\text{H}_2\text{O}$ 的分析计算值: C, 41.43; H, 3.39; N, 5.69。实测值: C, 41.41; H, 3.32; N, 5.71。

^1H NMR (CD_3CN): 3.47 (s, 3H), 5.61 (d, $J=6.5$ Hz, 2H), 5.95(b, 2H), 6.83(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.31(d, $J=7.8\text{ hz}$, 1H), 7.96 (m, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 8.1(b, 2H)。

实施例 20

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 锂盐: (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.3g, 0.42 mmol)开始, 使用 Dowex-50wx8-100 树脂(50g), 制备 0.2g 锂盐(白色粉末)(收率 78.8%)。MS m/e : 468.1 (M-H^-)。LC/MS m/e : 486.8 [$(\text{M}^+ + \text{NH}_4)^+$], 4.48 min。纯度 >95%。C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.1Li•1.2H₂O 的分析计算值: C, 40.93; H, 2.93; N, 2.81; Li, 1.40。实测值: C, 41.01; H, 2.94; N, 2.81; Li, 1.54。

^1H NMR (D_2O): 3.52 (s, 3H), 5.55 (m, 1H), 5.62 (m, 1H), 6.96(d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.30(d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.82 (s, 1H)。

实施例 21

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 甲铵盐: (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.3g, 0.42 mmol)开始, 使用 Dowex-50wx8-100 树脂(15g), 制备 0.15g 甲铵盐(白色粉末)(收率 71.1%)。MS m/e : 468.11 (M-H^-), LC/MS m/e : 468.11 (M-H^-), 4.55 min。纯度 >95%。C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.0CH₃N•0.29H₂O 的分析计算值: C, 42.74; H, 3.68; N, 5.54。实测值: C, 42.38; H, 3.65; N, 5.49。

$^1\text{H NMR (D}_2\text{O)}$: 2.57 (s, 3H),
3.47 (s, 3H), 5.53 (m, 1H), 5.56 (m, 1H), 6.88(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.17(d,
 $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 7.31 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H); 7.37(d, $J=8.0\text{ Hz}$, 1H), 7.67 (s, 1H),
7.74 (s, 1H)。

实施例 22

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 环己基铵盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.5g, 0.70 mmol)开始, 使用 Dowex-50wx8-100 树脂(25g), 制备 0.36g 环己基铵盐(白色粉末) (收率 91.6%)。MS m/e : 487.1 $[(M^-)+\text{NH}_4]^+$ 。LC/MS m/e : 467.99 (M-H)⁻, 3.82 min。纯度>95%。 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClF}_4\text{NO}_6\text{PN}\cdot 1.0\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}$ 的分析计算值: C, 48.56; H, 4.60; N, 4.92。实测值: C, 48.80; H, 4.80; N, 4.90;

$^1\text{H NMR (D}_2\text{O)}$: 1.14 (m, 1H),
1.31 (m, 4H), 1.62 (m, 1H), 1.77 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), 3.12 (m, 1H), 3.54
(s, 3H), 5.52 (m, 1H), 5.57 (m, 1H), 6.95(d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.36(m, 1H),
7.47 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.85 (s, 1H)。

实施例 23

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 吡啶鎓盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.4g, 0.56 mmol)开始, 使用 Dowex-50wx8-100 树脂(20g), 制备 0.25g 吡啶鎓盐(白色粉末) (收率 78.2%)。MS m/e : 487.1 $[(M^-)+\text{NH}_4]^+$ 。LC/MS m/e : 467.99 (M-H)⁻, 3.65 min。纯度 >95%。 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClF}_4\text{NO}_6\text{PN}\cdot 1.0\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}\cdot 0.55\text{CH}_3\text{Cl}\cdot 0.45\text{H}_2\text{O}$ 的分析计算值: C,

43.16; H, 3.93; N, 4.46。实测值: C, 42.99; H, 4.18; N, 4.53;

$^1\text{H NMR (D}_2\text{O)}$: 1.64

(m, 2H), 1.76 (m, 4H), 3.13 (m, 2H), 3.53 (s, 3H), 5.55 (m, 1H), 5.61 (m, 1H), 6.98(d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.35(d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.47 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.85 (s, 1H)。

实施例 24

(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 二甲基铵盐; (S)-Ia²

按照上述通用方法, 从(S)-磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 单四丁基铵盐(0.3g, 0.42 mmol)开始, 使用 Dowex-50wx8-100 树脂(15g), 制备 0.20g 二甲基铵盐(白色粉末)(收率 78.9%)。MS m/e : 487.1 $[(M^-)+\text{NH}_4]^+$ 。LC/MS m/e : 468.01 $(M-H)^-$, 3.66 min。纯度 >95%。
C₁₇H₁₂ClF₄NO₆PN•1.2C₂H₈N•0.52CH₃Cl•0.26H₂O 的分析计算值: C, 40.58; H, 3.67; N, 5.23。实测值: C, 40.30; H, 3.75; N, 5.50;

$^1\text{H NMR}$

(D₂O): 2.69(s, 6H), 3.49 (s, 3H), 5.52 (m, 1H), 5.60 (m, 1H), 6.91(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.25(m, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.76 (s, 1H)。

实施例 25

磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吡啶-1-基甲基]单酯, 双[三(羟甲基)甲铵]盐
步骤 A. 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-甲硫基甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮

向配备有一个加液漏斗的 1 升三颈圆底烧瓶中加入 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮(25 g, 69.8 mmol)和无水 THF (150 ml)。将所得溶液冷却至 0℃, 在 25 分钟内加入双(三甲

基甲硅烷基)氨基钾(0.5M 的甲苯溶液, 153.6 ml, 76.8 mmol), 以便使反应温度介于 0℃至 5℃之间。反应混合物立即变成深橙色。让溶液升温至室温, 此后, 加入氯甲基·甲基硫醚(6.39 ml, 76.8 mmol)。将该深褐色反应物在回流下进行搅拌。3 小时后, 该反应混合物含有 84% (AP)的所需产物。将反应物回流过夜。在此期间不进一步发生反应(82% AP 产物, 搅拌过夜后)。然后将反应混合物冷却, 缓慢加入 1N HCl (100 ml), 以使反应温度在 30℃以下。搅拌 5 分钟后, 加入庚烷(200 ml), 然后分离各层。有机层则用饱和 NaCl (200 ml)洗涤, 经无水硫酸钠干燥并浓缩, 得到粗产物(29.3 g)。然后该粗物质从庚烷:THF (15:1)中重结晶, 得到为浅黄色粉末的 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-甲硫基甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮(19.5 g, 67%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.78 (dd, 1H, J = 2.7, 0.9 Hz), 7.32 (m, 2H), 7.21 (m, 2H), 6.73 (dd, 1H, J = 8.9, 1.2 Hz), 4.95 (d, 1H, J = 14.6 Hz), 4.79 (d, 1H, J = 14.6 Hz), 3.48 (s, 3H), 2.23 (s, 3H)。

步骤 B: 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮

向配备有搅拌器和氮气入口的圆底烧瓶中加入得自步骤 A 的 82 g (0.195 mol) 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-甲硫基甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吡啶-2-酮和二氯甲烷(500 ml)。将溶液冷却至 0℃, 把氯气以流速约 50 ml/分钟通入溶液中, 使反应混合物的温度介于 0-3℃之间。通入氯气约 90 分钟后(约 1 当量的氯气)。用内联 Raman 光谱法、HPLC 和气相质谱流量计跟踪反应的进程。反应完成后, 让混合物升温至室温, 将其用于步骤 C。

$^1\text{H NMR}$: (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.88 (s, 1H), 7.69 (d, J =2.3, 1H), 7.49 (dd, J =2.6, 8.8, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.04 (dd, J =1.2, 8.9, 1H), 5.40 (d, J =5.9, 2H), 5.25 (bs, 12H), 3.52 (s, 3H), 3.35 (s, 12H), 2.15 (s, 4.4H, 丙酮峰)。

替代方法：在室温下，将硫酰氯(135 mg, 80.2 μ l, 1 mmol)加入到装有 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-1-甲硫基甲基-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮(420 mg, 1 mmol)的二氯甲烷(10 ml)溶液且配备有氮气入口和磁力搅拌器的圆底烧瓶中。将反应混合物在室温下搅拌 20 分钟后，真空浓缩粗制溶液，得到为浅黄色溶液的 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮(425 mg, 粗产物收率 100%)。

步骤 C: 磷酸-[3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-3-氟-2-氧代-6-三氟甲基-2,3-二氢-吲哚-1-基甲基]单酯，双-[三(羟甲基)甲铵]盐

在 40℃，在约 90 分钟内，将得自步骤 B 的含有 3-(5-氯-2-甲氧基-苯基)-1-氯甲基-3-氟-6-三氟甲基-1,3-二氢-吲哚-2-酮的溶液加入到磷酸二氢四正丁基铵(801 g)的二氯甲烷(1500 ml)搅拌溶液中。所得澄清溶液在 40℃搅拌 10 分钟，以使反应完成。

将一部上述溶液(160 ml, 10.1 mmol, 0.063 M, 经 HPLC 校准法测定)加入到配备有一个蒸馏头的 250 ml 圆底烧瓶中。将溶液在油浴(70℃)中加热，通过蒸馏除去二氯甲烷，直到内温达到 60℃ (蒸馏温度 34-40℃)。冷却至室温后，加入 HCl (1 N, 140 ml, 140 mmol)和叔丁基·甲基醚(80 ml)，将所得混合物搅拌 10 分钟，直到全部固体都溶解。分离各相，水层用叔丁基·甲基醚(40 ml)反萃取。合并的叔丁基·甲基醚层用 HCl (1 N, 2 x 140 ml)和水(5 x 100 ml, 水洗涤液的 pH 分别为 0、2、4、5、6)洗涤。然后叔丁基·甲基醚层用三(羟甲基)氨基甲烷(2.58 g, 21.3 mmol)的水(20 ml)溶液萃取。向富含产物的水层中加入丙酮(70 ml)，直到溶液变为浑浊，在室温下搅拌 1.75 小时。加入丙酮(20 ml)，在室温下搅拌 16.5 小时，然后在 30 分钟内加入丙酮(100 ml)。将所得悬浮液冷却至 0℃，搅拌 2.5 小时。通过过滤收集固体，用丙酮(2 x 20 ml)洗涤。将湿的滤饼在室温下真空(25 mmHg)干燥 21 小时，得到结晶产物双-[三(羟甲基)甲铵]盐(5.08 g)，为丙酮溶剂合物

(0.7 当量)。

^1H NMR: (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.88 (s, 1H),
7.69 (d, $J=2.3$, 1H), 7.49 (dd, $J=2.6$, 8.8, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.04 (dd,
 $J=1.2$, 8.9, 1H), 5.40 (d, $J=5.9$, 2H), 5.25 (bs, 12H), 3.52 (s, 3H), 3.35 (s,
12H), 2.15 (s, 4.4H, 丙酮峰)。 ^{31}P NMR: (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ
0.11. ^{19}F NMR: (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ -67.9, -166.0。