

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



PCT



(10) 国际公布号

WO 2011/069322 A1

(43) 国际公布日
2011 年 6 月 16 日 (16.06.2011)

(51) 国际专利分类号:
C07F 9/40 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2010/000902

(22) 国际申请日: 2010 年 6 月 21 日 (21.06.2010)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
200910252161.9 2009 年 12 月 10 日 (10.12.2009) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 中国人民解放军军事医学科学院毒物药物研究所 (INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY ACADEMY OF MILITARY MEDICAL SCIENCES P. L. A. CHINA) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路 27 号, Beijing 100850 (CN)。

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 仲伯华 (ZHONG, Bohua) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路 27 号, Beijing 100850 (CN)。何新华 (HE, Xinhua) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路 27 号, Beijing 100850 (CN)。王勇广 (WANG, Yongguang) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路 27 号, Beijing 100850

(CN)。刘河 (LIU, He) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路 27 号, Beijing 100850 (CN)。

(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 (CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市阜成门外大街 2 号万通新世界广场 8 层, Beijing 100037 (CN)。

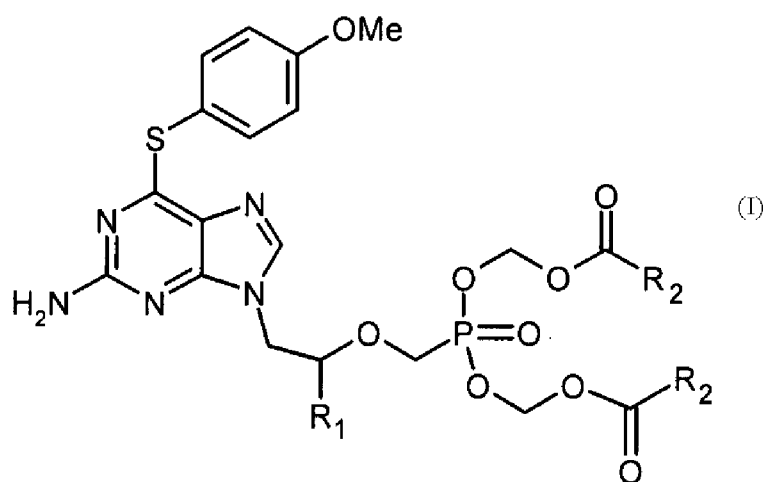
(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,

[见续页]

(54) Title: ACYCLIC NUCLEOSIDE PHOSPHONATE DERIVATIVE AND MEDICINE USE THEREOF

(54) 发明名称: 无环核苷磷酸酯衍生物及其医药用途



(57) Abstract: An acyclic nucleoside phosphonate derivative and medicine use thereof are provided. In detail, an acyclic nucleoside phosphonate derivative shown in formula I is provided, which has potent antiviral activity (such as hepatitis B virus activity) and less cytotoxicity, and pharmaceutically-acceptable salts, isomers, hydrates or solvates thereof, where, R₁ is selected from H or methyl; each R₂ is independently selected from -R₃ or -OR₃; and each R₃ is independently selected from C₁-C₈ alkyl or C₃-C₈ cycloalkyl. A preparation method of the compounds shown in formula I, a pharmaceutical composition containing the compounds, and a medical application thereof are also provided. The acyclic nucleoside phosphonate derivative is effective for antiviral, such as hepatitis B virus, and is good in vivo behavior attributes.

[见续页]

WO 2011/069322 A1



CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, 本国际公布:
TG)。

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(57) 摘要:

本发明涉及无环核苷磷酸酯衍生物及其医药用途。具体地, 本发明涉及具有强效抗病毒例如乙肝病毒活性和较低细胞毒性的式 I 所示的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物: 其中, R_1 选自 H 或甲基; 各 R_2 各自独立地选自 $-R_3$ 或 $-OR_3$; 各 R_3 各自独立地选自 C_1-C_8 烷基、 C_3-C_8 环烷基。本发明还涉及式 I 化合物的制备方法, 包含它们的药物组合物以及它们的医药用途。本发明的无环核苷磷酸酯衍生物可以有效地抗病毒例如乙肝病毒活性并且具有良好的体内行为特征。

无环核苷磷酸酯衍生物及其医药用途

技术领域

本发明涉及具有强效抗病毒例如乙肝病毒活性和较低细胞毒性的无环核苷磷酸酯衍生物，其制备方法及其用于制备治疗病毒感染例如乙肝病毒感染的药物的用途。

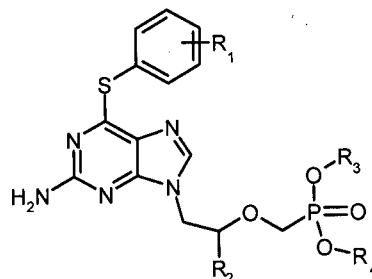
背景技术

病毒性肝炎例如乙型病毒性肝炎是威胁人民生命健康的重大疾病，治疗乙肝的根本途径是抗病毒治疗。目前临床有效的抗乙肝病毒药物主要为干扰素和拉米夫定。但是干扰素治疗的有效率只有 30-50%，而且具有剂量限制性的毒副作用。拉米夫定具有确切的抗乙肝病毒作用，但是长期使用易产生耐药性，连续用药 2 年后，耐药性的发生率高达 40-50%，由此可引发肝炎的急性发作等严重后果。

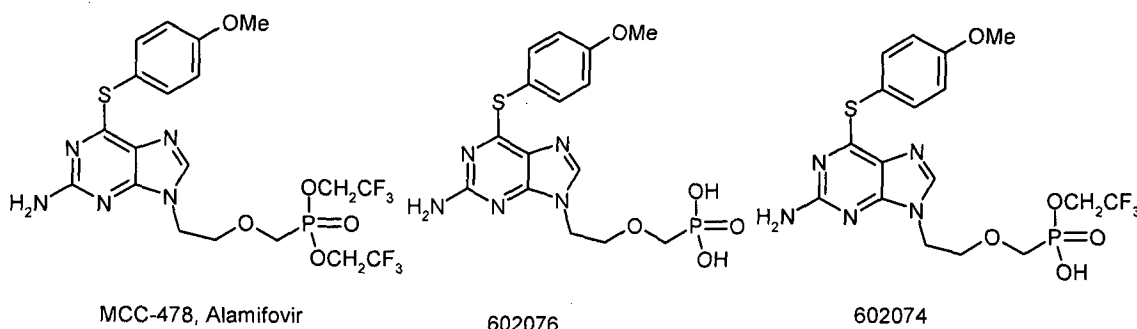
核苷酸类似物在细胞内无需磷酸化，因此能够克服拉米夫定的耐药性，而且自身不产生耐药性。其代表性药物阿德福韦酯已在欧美获准上市。但是，阿德福韦酯有一定的细胞毒性，临床应用能够产生肾脏毒性；而且，与拉米夫定相似，阿德福韦酯治疗在停药后，会出现乙肝病毒复制的反跳，引起乙肝的复发。

根据抗 HIV 药物研究的成功经验，通过联合用药的 COCKTAIL 的疗法，能够有效克服抗药性，加快病毒的清除。乙肝感染的人数是 HIV 感染人数的 10 多倍，但是与抗 HIV 药物相比，临床有效的抗乙肝病毒药物还屈指可数。

欧洲专利 EP0785208 公开了结构如下的一系列无环核苷磷酸酯化合物：



其中, R_1 代表烷氧基, 烷基等单取代基; R_2 代表氢或烷基, R_3 和 R_4 代表氢, 烷基等。其中化合物 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-[2-[双(2,2,2-三氟乙基氧基)磷酸基甲氧基]丙基]-嘌呤 (MCC-478, Alamifovir) 已经进入临床研究。



MCC-478是新结构类型的核苷酸类的抗乙肝病毒新药。在化学结构上, 与目前已知的核苷类抗乙肝药物不同, MCC-478分子除了对糖基结构进行改造外, 在核苷碱基母核的6位为苯硫基取代; 在药理学性质上MCC-478也表现出与其它抗HBV药物不同的特性, 通过抑制蛋白合成的启动反应和组装反应, 从而抑制病毒的复制 (Clark Chan, et al. Clinical Pharmacokinetics of Alamifovir and Its Metabolites. Antivicrob Agents Chemother,2005, 49(5):1813-1822); 它对HBV具有高度选择性的抑制作用, 体外活性高达拉米夫定的20-80倍, 为阿德福韦(adeфовir)的10-20倍; 但是, 它对HIV、HSV等其它逆转录病毒没有作用 (Kamiya N, et al. Antiviral activities of MCC-478, a novel and specific inhibitor of hepatitis B Virus. Antimicrob Agents Chemother 2002 ;46(9):2872), 显示出独特的药理学性质; MCC-478对抗拉米夫定的HBV耐药株也有抑制作用 (Suzane Kioko Ono-Nita, Ono-Nita SK, et al. Novel Nucleoside analogue MCC-478 (LY582563)is effective against wild-type or lamivudine-resistant hepatitis B virus. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:2602-2605)。

作为核苷酸类似物的前药, MCC-478进入体内后水解释放出游离酸(602076)发挥抗病毒作用; 但是药代动力学研究结果表明, MCC-478在人体内的主要代谢产物为核苷酸单酯(602074),

游离酸602076的血药浓度只有单酯602074的1/10(Clark Chan, et al. Clinical Pharmacokinetics of Alamifovir and Its Metabolites. Antiviral Agents Chemother, 2005, 49(5):1813-1822), 而单酯602074的细胞毒性($CC_{50}=548\mu M$)显著高于MCC-478和602076(CC_{50} 均 $>1000\mu M$)(Kamiya N, et al. Antiviral activities of MCC-478, a novel and specific inhibitor of hepatitis B Virus. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(9):2872).

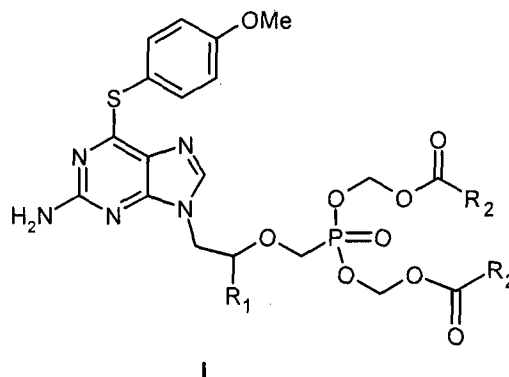
目前仍然需要寻找新型的有效特别是生物利用度高的抗病毒活性的药物例如抗乙肝病毒的药物以供临床应用。

发明内容

本发明的目的是提供具有抗病毒活性的新型的有效特别是生物利用度高的化合物。本发明发现了一类新颖结构的化合物, 其不但具有良好的抗病毒活性, 而且具有令人惊奇的优良体内行为特征。本发明基于上述发现而得以完成。

发明概述:

本发明第一方面提供了以下式 I 所示的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物:



其中,

R_1 选自 H 或甲基;

各 R_2 各自独立地选自 $-R_3$ 或 $-OR_3$;

各 R_3 各自独立地选自 C_1-C_8 烷基、 C_3-C_8 环烷基。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物, 其中 R_1

为 H。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中 R_1 为甲基。

5 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中两个 R_2 相同。

10 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中两个 R_2 不同。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中 R_2 为 $-R_3$ 。

15 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中 R_2 为 $-OR_3$ 。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中一个 R_2 为 $-R_3$ ，另一个 R_2 为 $-OR_3$ 。

20 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中每次出现的 R_3 各自独立地选自 C_1 - C_6 烷基或 C_3 - C_6 环烷基。

25 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中每次出现的 R_3 各自独立地选自 C_2 - C_6 烷基或 C_4 - C_6 环烷基。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中所述的烷基(例如 C_1 - C_8 烷基)为含有指定数目的直链或支链烷基(例如含有 1-8 个碳原子的烷基)。

30 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中所述

的环烷基(例如 C₃-C₈ 环烷基)为含有指定数目的环烷基或环烷基烷基(例如, 含有 3-8 个碳原子的环烷基; 或者, 例如, 含有 3-8 个碳原子的环烷基烷基, 例如环丙基甲基或环己基甲基)。

5 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物, 其中每次出现的 R₃ 各自独立地选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、特丁基、正戊基、异戊基、新戊基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、-CH(CH₂CH₃)₂ 等。

10 根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物, 其中每次出现的 R₃ 各自独立地选自乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、异戊基、新戊基、环戊基、环己基、-CH(CH₂CH₃)₂ 等。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物, 其选自:

15 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

20 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

25 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

30 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

5 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

10 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

15 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

20 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

25 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

30 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(戊基-3-氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤; 和

5 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷膦酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物, 其选自:

10 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₁);

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₂);

15 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₃);

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₄);

(R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(I₅);

20 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₆);

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₇);

25 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₈);

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₉);

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₁₀);

30 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(戊基-3-氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₁₁);

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)磷酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I₁₂);

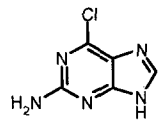
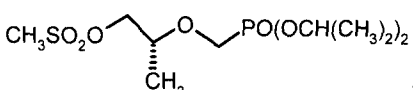
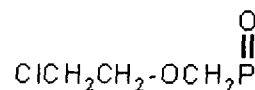
(R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)磷酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(I₁₃); 和

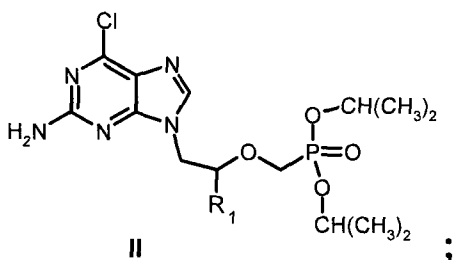
2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)磷酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(I₁₄)。

根据本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其选自本发明实施例的化合物。

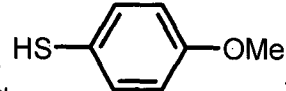
本发明第二方面提供制备本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物的方法，其包括以下步骤：

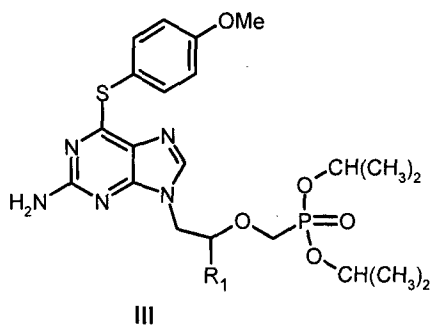
(i)在适宜的溶剂(例如 DMF)中，在适宜的试剂(例如 DBU(即二环脒，Bicyclic amidine)，特别是在 R₁ 为氢时)或碳酸钾(特别是在 R₁ 为甲基时)存在下，在高温下(例如 60~140℃，例如

80-120℃，或例如 80-100℃)下，使式  化合物与  化合物或式  化合物反应，得到以下式 II 化合物：

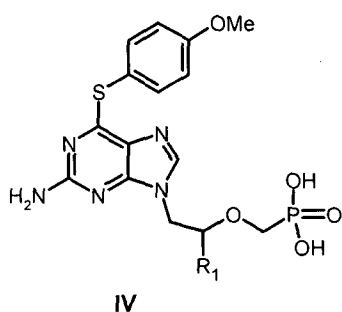


ii)在适宜的溶剂(例如 DMF)中，在有机碱(例如三乙胺)存在下，在高温下(例如 50~120℃，例如 60-100℃)下，使式 II 化合物

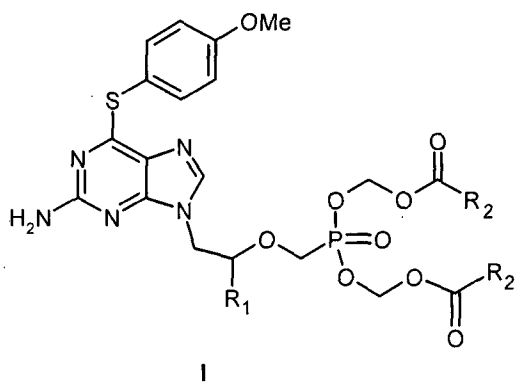
与式  化合物反应，得到以下式 II 化合物：



iii) 在 10~40℃ (例如室温) 下, 使式 III 化合物与烷基卤硅烷 (例如三甲基溴硅烷) 反应, 得到以下式 IV 游离酸化合物:



iv) 在 10~40℃ (例如室温) 下, 使式 IV 化合物与烷酰氧基甲基卤化物或烷氧羰基氧基甲基卤化物 (例如氯化物, 如 $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$) 反应, 得到以下式 I 化合物:



v) 使所得式 I 化合物进行分离、纯化、形成药学上可接受的盐、形成水合物或溶剂合物的步骤,

其中, R_1 和 R_2 如本发明第一方面任一项所述定义。

本发明第三方面提供了一种药物组合物, 其包含治疗和/或预防有效量的本发明第一方面任一项所述的无环核苷磷酸酯衍

生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物的方法，以及任选的一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。本发明的药物组合物可以是溶液剂、片剂、胶囊或注射剂；这些药物组合物可以通过注射途径给药或口服给药。在本发明第三方面的一个实施方案中，本发明的式 I 化合物或其药物组合物优选通过口服给药。

本发明第四方面提供了本发明第一方面任一项所述的无环核苷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物或者本发明第三方面任一项所述药物组合物在制备用于治疗 and/或预防与病毒感染相关的疾病的药物中的用途。根据本发明第四方面任一项的用途，其中所述的病毒是肝炎病毒，例如乙肝病毒。根据本发明第四方面任一项的用途，其中所述的与病毒感染相关的疾病是肝炎，例如乙型肝炎。

本发明第五方面提供了一种在有需要的哺乳动物中治疗和/或预防与病毒感染相关的疾病的方法，该方法包括给有需要的哺乳动物施用治疗和/或预防有效量的本发明第一方面任一项所述的无环核苷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物或者本发明第三方面任一项所述药物组合物。根据本发明第五方面任一项的方法，其中所述的病毒是肝炎病毒，例如乙肝病毒。根据本发明第五方面的方法，其中所述的与病毒感染相关的疾病是肝炎，例如乙型肝炎。

本发明第六方面涉及用于治疗 and/或预防与病毒感染相关的疾病的化合物，所述化合物如本发明第一方面任一项所述。根据本发明第四方面任一项的化合物，其中所述的病毒是肝炎病毒，例如乙肝病毒。根据本发明第六方面的化合物，其中所述的与病毒感染相关的疾病是肝炎，例如乙型肝炎。

本发明任一方面或该任一方面的任一项所具有的特征同样适用于其它任一方面或该其它任一方面的任一项。在本发明中，例如，提及“本发明第一方面任一项”时，该“任一项”是指本发明第一方面的任一子方面；在其它方面以类似方式提及时，亦具有相同含义。

发明详述:

下面对本发明的各个方面和特点作进一步的描述。

5 本发明所引述的所有文献，它们的全部内容通过引用并入本文，并且如果这些文献所表达的含义与本发明不一致时，以本发明的表述为准。此外，本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义，即便如此，本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释，提及的术语和短语如有与公知含义不一致的，以本发明所表述的含义为准。

10 术语“卤”、“卤素”、“Hal”或“卤代”是指氟、氯、溴、和碘。

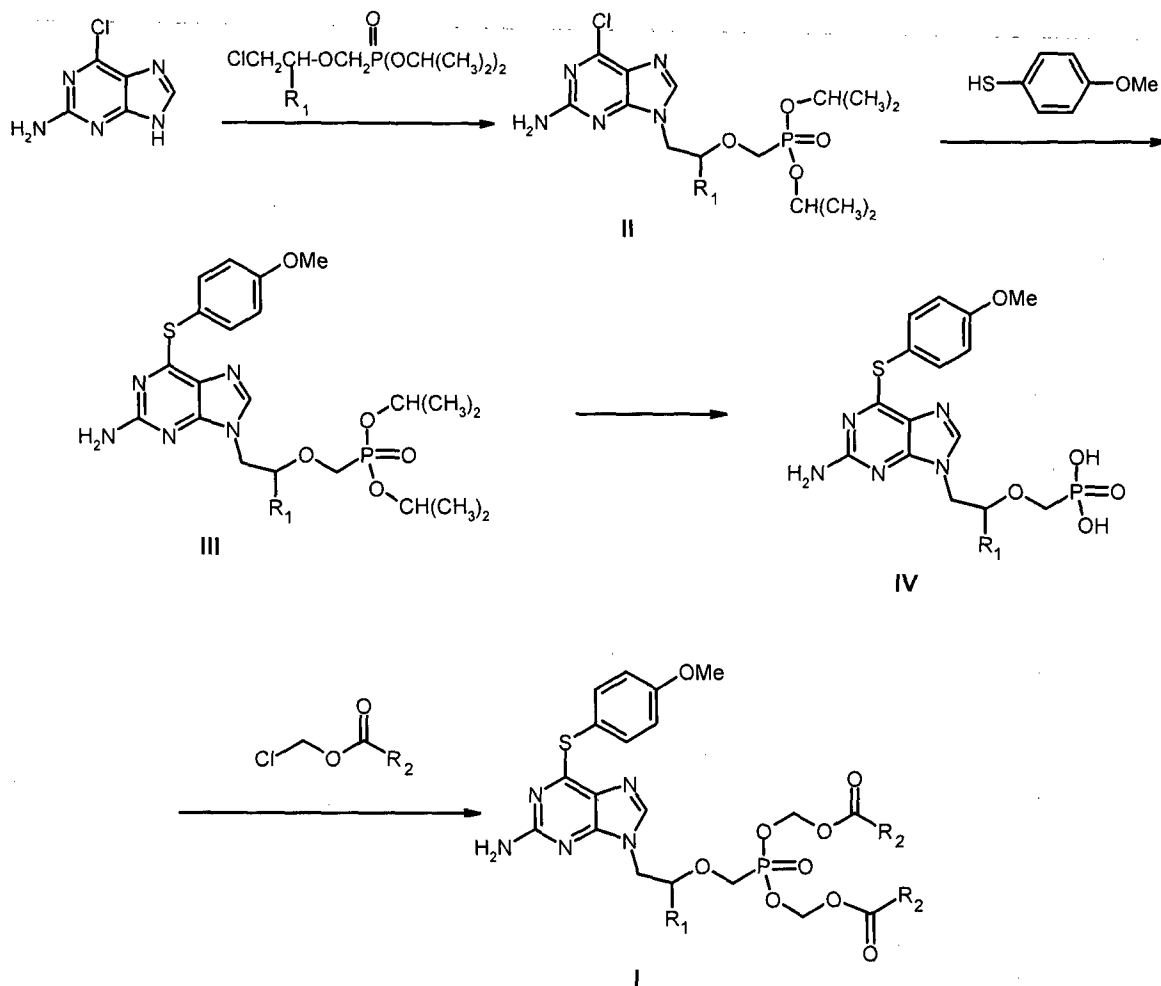
本发明中所采用的术语“烷基”、“链烯基”和“炔基”具有本领域公知的一般含义，它们是直链或支链的烃基基团，例如但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、烯丙基、丙烯基、丙炔基等，并且所述的“烷基”、“链烯基”和“炔基”
15 可以统称为“烃基”或“链烃基”。

如本文使用的，短语“C₁-C₈ 烷基”是指具有指定数目碳原子的取代或未取代的烷基基团，并且其可包括其子集例如 C₁₋₇ 烷基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₅ 烷基、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₃ 烷基、C₂₋₇ 烷基、C₂₋₆ 烷基、C₂₋₅ 烷基等，还可包括其具体的基团，例如但不限于：甲
20 基、乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、戊基、新戊基。

如本文使用的，短语“C₃-C₈ 环烷基”是指具有指定数目碳原子的取代或未取代的环状烷基，并且其可包括其子集例如 C₃₋₇ 烷基、C₃₋₆ 烷基、C₄₋₇ 烷基、C₄₋₆ 烷基等，还可包括其具体的基团，例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

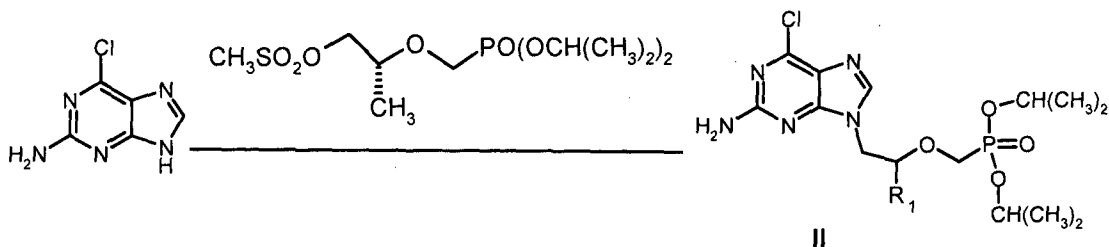
25 根据本发明的详细教导以及已有的合成化常知识，本领域技术人员可以容易地合成本发明的式 I 化合物。

在一个实施方案中，当 R₁=H 时，结构式 I 所示的目标化合物可以按照如下所示的一种示例性的合成路线来制备：



示例性的合成步骤为，将 2-氨基-6-氯-嘌呤和双-(异丙基)-
 亚磷酰基乙基氯溶于 DMF，在 DBU 作用下于 80℃-100℃ 搅拌反
 应，得到中间体 II；将 II 和对甲氧基苯硫酚溶于 DMF，在三乙
 胺作用下于 60℃-100℃ 搅拌反应得到对甲氧基苯硫基取代衍生
 物 III；III 与三甲基溴硅烷在室温搅拌反应，使异丙酯水解，得
 到游离酸 IV，IV 再与烷酰氧基甲基氯或烷氧羰基氧基甲基氯在室
 温反应，即可得到目标化合物 I。

在另一个实施方案中，当 $R_1 = \text{CH}_3$ 时，结构式 I 所示的目标
 化合物可以按照如下所示的一种示例性的合成路线来制备：



将 2-氨基-6-氯-嘌呤和(R)-{1-甲基-2-[(1-甲磺酰氧基)乙氧基]甲基}磷酸二异丙酯溶于 DMF, 在碳酸钾作用下于 80°C-120°C 搅拌反应, 得到中间体 II。接着, 参照上文关于 $R_1=H$ 的式 I 化合物合成路线进行后续操作。

5 在本发明合成式 I 化合物的方法中, 反应所用的各种原材料是本领域技术人员根据已有知识可以制备得到的, 或者是可以通过文献公知的方法制得的, 或者是可以通过商业购得的。以上反应方案中所用的中间体、原材料、试剂、反应条件等均可以根据本领域技术人员已有知识可以作适当改变的。或者, 本领域技术人员也可以根据本发明第二方面方法合成本发明未具体列举的其它式 I 化合物。

10 本发明式 I 化合物既可以其本身也可以其药学可接受的盐或溶剂合物的形式使用。式 I 化合物的药学可接受的盐包括与药学上可接受的无机酸或有机酸、或者无机碱或有机碱形成的常规盐。合适的酸加成盐的例子包括与盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸、高氯酸、富马酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、羟基乙酸、甲酸、乳酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、扑酸、丙二酸、羟基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、富马酸、甲苯磺酸、甲磺酸、萘-2-磺酸、苯磺酸、羟基萘甲酸、氢碘酸、苹果酸、鞣酸等形成的盐。

15 药用盐包括其无机或有机酸盐, 其中包括但不限于: 氢碘酸盐、硫酸氢盐、磷酸氢盐、丁酸盐、草酸盐、三甲基乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、苦味酸盐、天冬氨酸盐、葡糖酸盐、乙磺酸盐、对甲苯磺酸盐、双羟萘酸盐、丙酮酸盐、乙醇酸盐、三氟乙酸盐、对氨基水杨酸盐、扑酸盐和抗坏血酸盐等。合适的碱加成盐的例子包括与钠、锂、钾、镁、铝、钙、锌、N,N'-二苄基乙二胺、氯代普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、N-甲基葡糖胺和普鲁卡因等形成的盐。本文中涉及到本发明化合物时, 包括式 I 化合物及其药学可接受的盐或溶剂合物。本发明化合物的游离碱形式与它们各自的盐形式在某些物理性质(如在极性溶剂中的溶解度)上

20

25

稍有不同，但对于本发明目的，各酸式盐与它们各自的游离碱形式相当。(参见例如 S. M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66: 1-19 (1977), 其通过引用并入本文。本发明化合物或其药学上可接受的盐可以形成溶剂化物，例如水合物、醇合物等。

根据本发明，本发明式 I 化合物可用于制备治疗肝炎病毒(例如乙肝病毒)感染的药物。

本文所用的术语“组合物”意指包括包含指定量的各指定成分的产品，以及直接或间接从指定量的各指定成分的组合产生的任何产品。根据本发明，所述的“组合物”是指“药物组合物”。

本发明式 I 化合物还包括其异构体、消旋体、对映体、非对映体、对映体富集物、溶剂合物、和酯，本发明式 I 化合物以及它的异构体、消旋体、对映体、非对映体、对映体富集物、溶剂合物、和酯还可以形成溶剂合物，例如水合物、醇合物等。上述化合物还可以是前药或可在体内代谢变化后释放出所述活性成分的形式。选择和制备适当的前药衍生物是本领域技术人员公知技术。一般来说，对于本发明的目的，与药学可接受的溶剂如水、乙醇等的溶剂合物形式与非溶剂合物形式相当。

可改变本发明药物组合物中各活性成分的实际剂量水平，以便所得的活性化合物量能有效针对具体患者、组合物和给药方式得到所需的治疗反应。剂量水平须根据具体化合物的活性、给药途径、所治疗病况的严重程度以及待治疗患者的病况和既往病史来选定。但是，本领域的做法是，化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始，逐渐增加剂量，直到得到所需的效果。

当用于上述治疗和/或预防或其他治疗和/或预防时，治疗和/或预防有效量的一种本发明化合物可以以纯形式应用，或者以药学可接受的酯或前药形式(在存在这些形式的情况下)应用。或者，所述化合物可以以含有该目的化合物与一种或多种药物可接受赋形剂的药物组合物给药。词语“治疗和/或预防有效量”的本发明化

合物指以适用于任何医学治疗和/或预防的合理效果/风险比治疗障碍的足够量的化合物。但应认识到，本发明化合物和组合物的总日用量须由主诊医师在可靠的医学判断范围内作出决定。对于任何具体的患者，具体的治疗有效剂量水平须根据多种因素而定，所述因素包括所治疗的障碍和该障碍的严重程度；所采用的具体化合物的活性；所采用的具体组合物；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食；所采用的具体化合物的给药时间、给药途径和排泄率；治疗持续时间；与所采用的具体化合物组合使用或同时使用的药物；及医疗领域公知的类似因素。例如，本领域的做法是，化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始，逐渐增加剂量，直到得到所需的效果。一般说来，本发明式I化合物用于哺乳动物特别是人的剂量可以介于0.001~1000 mg/kg 体重/天，例如介于0.01~100 mg/kg 体重/天，例如介于0.01~10 mg/kg 体重/天。

本发明化合物或其药学上可接受的盐可以单独或以药物组合物的形式给药。本发明药物组合物可根据给药途径配成各种适宜的剂型。使用一种或多种生理学上可接受的载体，包含赋形剂和助剂，它们有利于将活性化合物加工成可以在药学上使用的制剂。适当的制剂形式取决于所选择的给药途径，可以按照本领域熟知的常识进行制造。

因此，运用本领域技术人员熟悉的药物载体可以制备成含有有效剂量的本发明化合物的药物组合物。因此本发明还提供包含与一种或多种无毒药物可接受载体配制在一起的本发明化合物的药物组合物。所述药物组合物可特别专门配制成以固体或液体形式供口服给药、供胃肠外注射或供直肠给药。

给药途径可以是口服、非肠道或局部给药，优选口服和注射形式给药。可以口服的药物制剂包括胶囊剂和片剂等。病人吞咽有困难时，也可以采用舌下片或者其他非吞咽的方式给药。本发明化合物也可以配制用于肠胃外给药或者透皮给药或者经粘膜给药。本领域技术人员可以理解，本发明化合物可以采用合适的药物释放系统(DDS)以得到更有利的效果。

具体地，本发明的药物组合物可通过口服、直肠、胃肠外、池内、阴道内、腹膜内、局部(如通过散剂、软膏剂或滴剂)、口腔给予人类和其他哺乳动物，或者作为口腔喷雾剂或鼻腔喷雾剂给予。本文所用术语“胃肠外”指包括静脉内、肌肉内、腹膜内、
5 胸骨内、皮下和关节内注射和输液的给药方式。

适合于胃肠外注射的组合物可包括生理上可接受的无菌含水或非水溶液剂、分散剂、混悬剂或乳剂，及供重构成无菌可注射溶液剂或分散剂的无菌散剂。合适的含水或非水载体、稀释剂、溶剂或媒介物的实例包括水、乙醇、多元醇(丙二醇、聚乙二醇、
10 甘油等)、植物油(如橄榄油)、可注射有机酯如油酸乙酯及它们的合适混合物。

这些组合物也可含有辅料，如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。通过各种抗菌剂和抗真菌剂，例如尼泊金酯类、三氯叔丁醇、苯酚、山梨酸等，可确保防止微生物的作用。还期望包括
15 等渗剂，例如糖类、氯化钠等。通过使用能延迟吸收的物质，例如单硬脂酸铝和明胶，可达到可注射药物形式的延长吸收。

混悬剂中除活性化合物外还可含有悬浮剂，例如乙氧基化异十八醇、聚氧乙烯山梨醇和聚氧乙烯失水山梨糖醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄蓍胶或者这些物质的混合物等。
20

在一些情况下，为延长药物的作用，期望减慢皮下或肌肉注射药物的吸收。这可通过使用水溶性差的晶体或无定形物质的液体混悬剂来实现。这样，药物的吸收速度取决于其溶解速度，而溶解速度又可取决于晶体大小和晶型。或者，胃肠外给药的药物
25 形式的延迟吸收通过将该药物溶解于或悬浮于油媒介物中来实现。

可注射贮库制剂形式可通过在生物可降解聚合物如聚丙交酯-聚乙交酯(poly(lactide-polyglycolide))中形成药物的微胶囊基质来制备。可根据药物与聚合物之比和所采用的具体聚合物的性质，
30 对药物释放速度加以控制。其他生物可降解聚合物的实例包括聚原酸酯类(poly(orthoesters))和聚酐类(poly(anhydrides))。可注射

贮库制剂也可通过将药物包埋于能与身体组织相容的脂质体或微乳中来制备。

可注射制剂可例如通过用滤菌器过滤或通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂来灭菌，所述固体组合物可在临用前溶解或分散于无菌水或其他无菌可注射介质。

本发明化合物或其组合物可用口服方法或非胃肠道给药方式。口服给药可以是片剂、胶囊剂、包衣剂，肠道外用制剂有注射剂和栓剂等。这些制剂是按照本领域的技术人员所熟悉的方法制备的。为了制造片剂、胶囊剂、包衣剂所用的辅料是常规用的辅料，例如淀粉、明胶、阿拉伯胶，硅石，聚乙二醇，液体剂型所用的溶剂如水、乙醇、丙二醇、植物油(如玉米油、花生油、橄榄油等)。含有本发明化合物的制剂中还有其它辅料，例如表面活性剂，润滑剂，崩解剂，防腐剂，矫味剂和色素等。在片剂、胶囊剂、包衣剂、注射剂和栓剂中含有本发明式 I 化合物的剂量是以单元剂型中存在的化合物量计算的。在单元剂型中本发明式 I 化合物一般含量为 1-5000mg，优选的单元剂型含有 10-500mg，更优选的单元剂型含有 20-300mg。具体地说，本发明可以提供的供口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在此类固体剂型中，活性化合物可与至少一种惰性的药物可接受赋形剂或载体如柠檬酸钠或磷酸二钙和/或以下物质混合：a)填充剂或增量剂如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸；b)粘合剂如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯树胶；c)保湿剂如甘油；d)崩解剂如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠；e)溶液阻滞剂如石蜡；f)吸收加速剂如季铵化合物；g)湿润剂如鲸蜡醇和甘油单硬脂酸酯；h)吸附剂如高岭土和膨润土以及 i)润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠和它们的混合物。在胶囊剂、片剂和丸剂的情况下，所述剂型中也可包含缓冲剂。

相似类型的固体组合物使用赋形剂例如乳糖及高分子量聚乙二醇等，也可用作软胶囊和硬胶囊中的填充物。

片剂、糖衣丸剂(dragees)、胶囊剂、丸剂和颗粒剂的固体剂型可与包衣和壳料如肠溶衣材和医药制剂领域公知的其他衣材一起制备。这些固体剂型可任选含有遮光剂，且其组成还可使其只是或优先地在肠道的某个部位任选以延迟方式释放活性成分。可以使用的包埋组合物的实例包括高分子物质和蜡类。如果适合，活性化合物也可与一种或多种上述赋形剂配成微囊形式。

供口服给药的液体剂型包括药学可接受的乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂。液体剂型除含有活性化合物外还可含有本领域常用的惰性稀释剂，例如水或其他溶剂，增溶剂和乳化剂例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油类(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇(tetrahydrofurfuryl alcohol)、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯及它们的混合物。口服组合物除包含惰性稀释剂外还可包含辅料，例如湿润剂、乳化和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香味剂。

供直肠或阴道给药的组合物优选是栓剂。栓剂可通过将本发明化合物与合适的非刺激性赋形剂或载体例如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡混合来制备，它们在室温下为固体，但在体温下则为液体，因此可在直肠腔或阴道腔内融化而释放出活性化合物。

本发明的化合物及其组合物还考虑用于局部给药。供局部给予本发明化合物的剂量形式包括散剂、喷雾剂、软膏剂和吸入剂。在无菌条件下将活性化合物与药学可接受的载体和任何所需的防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。眼用制剂、眼软膏剂、散剂和溶液剂也被考虑在本发明范围内。

本发明化合物也可以脂质体形式给药。如本领域所公知，脂质体通常用磷脂或其他脂类物质制得。脂质体由分散于含水介质中的单层或多层水化液晶所形成。任何能够形成脂质体的无毒、生理上可接受和可代谢的脂质均可使用。脂质体形式的本发明组合物除含有本发明化合物外，还可含有稳定剂、防腐剂、赋形剂等。优选的脂类是天然和合成的磷脂和磷脂酰胆碱(卵磷脂)，它们可单独或者一起使用。形成脂质体的方法是本领域公知的。参

见例如 Prescott, Ed., Methods in Cell Biology, Volume XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976), p. 33.

本发明人惊奇地发现, 结构式 I 所示的无环核苷磷酸酯衍生物具有良好的抗病毒例如抗肝炎病毒特别是抗乙型肝炎病毒的活性, 并且具有令人惊奇的体内行为特征。

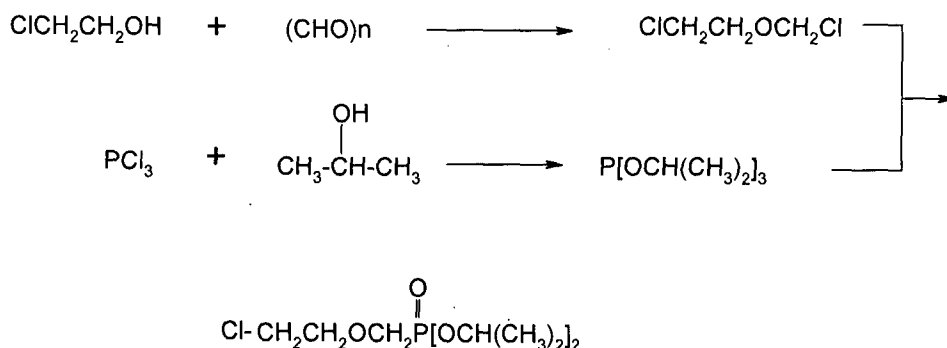
具体实施方式

通过下面的实施例可以对本发明进行进一步的描述, 然而, 本发明的范围并不限于下述实施例。本领域的专业人员能够理解, 在不背离本发明的精神和范围的前提下, 可以对本发明进行各种变化和修饰。

本发明对试验中所使用到的材料以及试验方法进行一般性和/或具体的描述。虽然为实现本发明目的所使用的许多材料和操作方法是本领域公知的, 但是本发明仍然在此作尽可能详细描述。

实施例 1、2-(二异丙基-磷酰基甲氧基)-乙基氯的制备

合成路线如下:



在 150 ml 三口瓶中, 加入 84.6 g (70.5 ml, 1.05 mol) 2-氯乙醇及 31.6 g (1.09 mol) 粉碎的多聚甲醛, 搅拌下通入干燥的氯化氢气体, 持续 24 小时。停止搅拌后反应液分为两层; 分出下层, 以氯化钙干燥。过滤后, 将滤液减压分馏, 收集沸程为 80-84 °C/28-30 mmHg 的馏分, 得氯甲基-2-氯乙基醚 74.3 g。

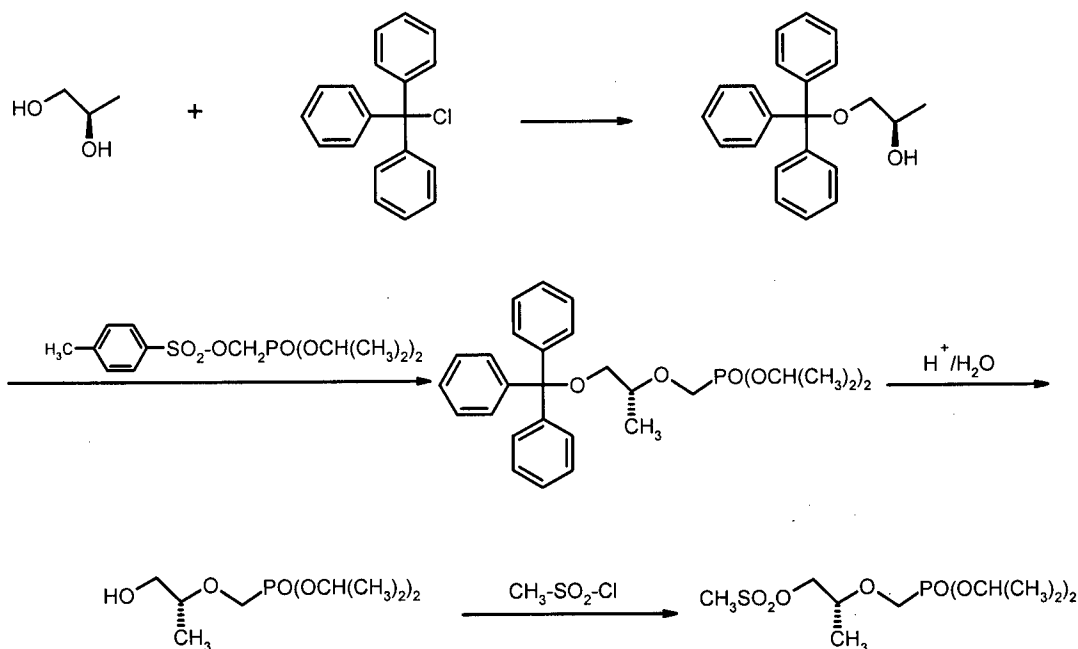
在 300 mL 反应瓶中, 加入 18 g (0.3 mol) 异丙醇、23.7 g (0.3 mol) 吡啶及 100 ml 石油醚, 冰浴冷却。剧烈搅拌下滴加 13.8 g (0.1 mol) 三氯化磷于 40 ml 石油醚的溶液。加完后, 于 50 °C 油浴中搅

拌反应 1 小时，滤去固体，将滤液减压蒸去溶剂，残留物减压蒸馏，收集 106-108°C/60 mmHg 的馏分，得三异丙基亚磷酸酯 15.8 g。

将 8.3 g (0.064 mol) 氯甲基-2-氯乙基醚加于 100ml 三口瓶中，在 90°C 油浴中加热搅拌，滴加 15.8 g (0.076 mol) 异丙基亚磷酸酯。加完后，于 125°C 油浴中继续搅拌反应 4 小时，硅胶薄层检测反应完全(展开剂：乙酸乙酯， $R_f=0.6$)。减压蒸馏，收集 118-122°C/1.5 mmHg 的馏分，得 2-(二异丙基-磷酰基甲氧基)-乙基氯 13.5 g。

实施例 2、(R)-{1-甲基-2-[(1-甲磺酰氧基)乙氧基]甲基}磷酸二异丙酯的制备

合成路线如下：



在 1000ml 烧瓶中加入 24.0g (0.315mol)(R)-1,2-丙二醇、0.25g N,N-二甲氨基吡啶、350mL 二氯甲烷和 46.0g(0.45mol)三乙胺，冰水浴冷却，磁力搅拌。分批加入 88.7g(0.315mol)三苯基氯甲烷，约 1 小时加完，1.5 小时去掉冰水浴，升至室温后反应约 15 小时(TLC 检测，至三苯基氯甲烷消失为止)。加入蒸馏水(100mL)以溶解反应生成的三乙胺盐酸盐，转入分液漏斗分

层，油相依次用 5%碳酸氢钠溶液(2×100mL)、蒸馏水(100mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸掉溶剂，得(R)-1-O-三苯甲基-1,2-丙二醇粗品 96.6g，直接用于下步反应。

将 96.6g(约 0.30mol)(R)-1-O-三苯甲基-1,2-丙二醇粗品加于、500mL 无水四氢呋喃中，磁力搅拌，冰水浴冷却。分批加入 11.3g(70%，0.33mol)氢化钠，约 40 min 加完。0.5 小时后去掉冰水浴，升至室温后反应约 2 小时，再加热微回流 3 小时左右，至无气体产生。降温至 5℃以下，滴加 106.2g(0.30mol)对甲苯磺酰基氧甲基膦酸二异丙酯的无水四氢呋喃(200mL)溶液，约 0.5 小时加完，1 小时后去冰水浴，升至室温后反应约 30 小时。反应结束后，旋转蒸发溶剂，加入乙酸乙酯(250mL)和蒸馏水(200mL)搅拌至残余固体物溶解，转入分液漏斗分层，水相再用乙酸乙酯(2×70mL)萃取，合并有机层，无水硫酸钠干燥。过滤，滤液减压除去溶剂，残余物经柱层析分离(柱层析条件：硅胶 200 ~ 300 目；洗脱剂为石油醚：乙酸乙酯=10:1 到 5:1)，得(R)-[(2-三苯甲氧基-1-甲基乙氧基)甲基]膦酸二异丙酯的黄色透明油状物 90.6g。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz)δ : 7.22-7.48 (m, 15H), 4.51-4.67 (m, 2H), 3.62-3.88 (m, 3H), 2.99 (dd, 1H), 2.92 (dd, 1H), 1.12-1.28 (m, 12H), 1.07 (d, 3H)。

将(R)-[(2-三苯甲氧基-1-甲基乙氧基)甲基]膦酸二异丙酯的黄色透明油状物 90.6g(0.182mol)和 80%乙酸溶液(380mL)搅拌成均相溶液，置于 85℃油浴中加热搅拌反应 20 分钟，冰水浴冷却过夜，使副产物三苯基甲醇充分析出。过滤，滤饼用 80%乙酸溶液(3×15mL)洗涤，合并滤液，减压除去乙酸和水，残余物加入乙酸乙酯(250mL)，饱和盐水(2×50mL)洗涤，分得油层，经无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压下除去溶剂，残余物经柱层析分离(柱层析条件：硅胶 200 ~ 300 目；洗脱剂二氯甲烷：甲醇=50:1 到 10:1)，得到(R)-[(2-羟基-1-甲基乙氧基)甲基]膦酸二异丙酯的淡黄色透明油状产物 24.1g。

将 22.9g(90mmol)(R)-[(2-羟基-1-甲基乙氧基)甲基]膦酸二异丙酯加于 150mL 二氯甲烷中，加入三乙胺 18.4g(180mmol)，磁

力搅拌,冰水浴冷却。通过恒压漏斗滴加 12.6g(0.108mol)甲磺酰氯,约 1 小时加完,半小时后去掉冰水浴,升至室温后反应过夜。加入蒸馏水(70mL)溶解掉反应生成的三乙胺盐酸盐,转入分液漏斗分层,水相再用二氯甲烷(70mL)萃取,合并油层,经无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压除去溶剂,残余物经柱层析分离(柱层析条件:硅胶 200-300 目;洗脱剂二氯甲烷:甲醇=60:1 到 20:1),得到(R)-{1-甲基-2-[(1-甲磺酰氧基)乙氧基]甲基}膦酸二异丙酯的浅橙色透明油状产物 27.1g。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz)δ: 4.72-4.78 (m, 2H), 4.24 (dd, 1H), 4.18 (dd, 1H), 3.73-3.90 (m, 3H), 3.09(s, 3H), 1.33-1.37 (m, 12H), 1.24 (d, 3H)。

实施例 3、2-氨基-6-氯-9-{2-[双(异丙氧基)-膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(II 1)的制备

于 120mL DMF 中加入 DBU 29.3g, 2-氨基-6-氯嘌呤 32.45g(0.191mol), 80℃搅拌 30 分钟, 然后加入 2-(二异丙氧基)-膦酰基甲氧基)-乙基氯 50g (0.193mol), 100℃反应 8 小时, 冷却, 减压除去 DMF, 加入水和乙酸乙酯, 分层, 水相用乙酸乙酯提取二次, 合并有机层, 干燥, 用硅胶柱层析分离, 用 MeOH:CH₂Cl₂ =1:30 洗脱, 得 II₁ 46 克。

实施例 4、(R)-2-氨基-6-氯-9-{2-[双(异丙氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(II 2)的制备

在 500mL 烧瓶(配备 CaCl₂ 干燥管)中加入(R)-{1-甲基-2-[(1-甲磺酰氧基)乙氧基]甲基}膦酸二异丙酯 26.6g(80.0mmol)、二甲基甲酰胺 200mL、2-氨基-6-氯嘌呤 16.8g(96.0mmol)和无水碳酸钾 16.8g(120mmol), 磁力搅拌, 于 95℃油浴中加热反应。4 小时后去掉油浴, 降至室温后过滤, 滤饼用二甲基甲酰胺(2×30mL)洗涤, 合并滤液, 经旋转蒸发器减压蒸掉溶剂(45℃, 2-5mmHg), 残余物冷却后加入乙酸乙酯 250mL 和饱和盐水 100mL 搅拌溶解, 转入分液漏斗分层, 油层再用饱和盐水(2×50mL)洗涤, 油层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液经旋转蒸发器减压蒸掉溶剂,

粗品经柱层析分离(柱层析条件: 硅胶 200~300 目; 洗脱剂二氯甲烷: 甲醇=100:1 到 50:1 到 15:1), 柱层析后所得产物进一步用乙酸乙酯-石油醚重结晶, 过滤、干燥得白色固体产物; 母液经旋转蒸发器减压蒸干, 再次按上面精制粗品的方法得到第二批产物。共计得产物 27.1g, 熔点: 130~132℃, 比旋光度: $[\alpha]_D^{23} = -44.09$ (二氯甲烷, $c=1.002$)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ : 7.95 (s, 1H), 5.21 (br s, 2H), 4.64-4.75 (m, 2H), 4.22 (dd, 1H), 4.07 (dd, 1H), 3.85-3.97 (m, 1H), 3.81 (dd, 1H), 3.78 (dd, 1H), 1.12-1.23 (m, 15H)。

实施例 5、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-(2-膦酰基甲氧基乙基)-嘌呤-(IV1)的制备

室温下, 于 30ml DMF 中依次加入 5g (12.8mmol) II_1 , 2.6g (25.6mmol) 三乙胺及 2.7g (19.2mmol) 对甲氧基苯硫酚, 在充氮气保护下, 于 70℃ 反应 4 小时, 冷却, 减压除去 DMF, 加入乙酸乙酯, 水搅拌, 分层, 水层用乙酸乙酯提取两次, 合并有机层, 干燥, 用硅胶柱层析分离, 用 $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2=1:30$ 洗脱, 得 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(III_1)的粘稠液体 3.98 克。

将 3.98g (8mmol) III_1 溶于 30ml 乙腈中, 室温下加入 7.25ml (48mmol) 三甲基溴硅烷, 反应过夜, 然后加入 5.5ml 乙醇搅拌 2 小时, 析出淡黄色固体, 过滤, 真空干燥, 得到 IV_1 的黄色固体 3.3 克, 熔点: 81.5~82.5℃。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz) δ : 8.51 (s, 1H), 7.54 (d, 2H), 7.06 (d, 2H), 4.265 (t, 2H), 3.86 (t, 2H), 3.84 (3, 3H), 3.62 (d, 2H)。

实施例 6、(R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(IV2)的制备;

参照实施例 5 的方法, 用 II_2 代替 II_1 在三乙胺作用下与甲氧基苯硫酚反应, 用硅胶柱层析分离, 得 R-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(III_2), 产率

68%。

参照实施例 5 的方法, 将 III₂ 用三甲基溴硅烷脱保护, 得到 IV₂, 产率 73%。熔点: 178°C(dec.)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz)δ: 8.08 (s, 1H), 7.51 (d, 2H), 7.02 (d, 2H), 4.14(dd, 1H), 4.05 (dd, 1H), 3.84-3.93 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.50-3.64(m, 2H), 1.05(d, 3H)。

实施例 7、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)磷酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 1)的制备

将 IV₁ 0.41g(1mmol)、无水 DMF5.0mL 和三乙胺 0.2g (2mmol)加入烧瓶中, 氮气保护下于常温搅拌 10 分钟, 加入丙酸氯甲酯 0.46g(4mmol), 氮气保护下于常温搅拌反应 35 小时。转入分液漏斗, 加入水(60mL), 用乙酸乙酯(3×40mL)萃取, 合并有机层, 用饱和盐水(3×40mL)洗涤。油层经无水硫酸钠干燥, 滤去干燥剂, 滤液经旋转蒸发器常温减压浓缩, 残留物经柱层析分离(柱层析条件: 硅胶 200~300 目; 洗脱剂二氯甲烷: 甲醇=80:1 到 40:1), 得 I₁ 0.185g。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz)δ: 7.78 (s, 1H), 7.54(dd, 2H), 6.96 (dd, 2H), 5.65-5.70 (m, 4H), 4.84 (br s, 2H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.92 (m, 2H), 2.37(q, 4H), 1.12(t, 6H)。

实施例 8、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)磷酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 2)的制备

参照实施例 7 的方法, 用异丁酸氯甲酯代替丙酸氯甲酯与 IV₁ 反应, 反应产物经硅胶柱层析分离, 得到 I₂, 收率 31%。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz)δ: 7.78 (s, 1H), 7.54(dd, 2H), 6.96 (dd, 2H), 5.65-5.70 (m, 4H), 4.84 (br s, 2H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.92 (m, 2H), 2.53(m, 2H), 1.13(d, 12H)。

实施例 9、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)磷酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 3)的制备

参照实施例 7 的方法,用新戊酸氯甲酯代替丙酸氯甲酯与 IV₁ 反应,反应产物经硅胶柱层析分离,得到 I₃,收率 35%。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz)δ: 7.78 (s, 1H), 7.54(dd, 2H), 6.96 (dd, 2H), 5.65-5.70 (m, 4H), 4.84 (br s, 2H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.92 (m, 2H), 1.23 (s, 9H), 1.22(s, 9H)。

实施例 10、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 4)的制备

参照实施例 7 的方法,用环己甲酸氯甲酯代替丙酸氯甲酯与 IV₁ 反应,反应产物经硅胶柱层析分离,得到 I₄,收率 35%。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz)δ: 7.78 (s, 1H), 7.54(dd, 2H), 6.96 (dd, 2H), 5.65-5.70 (m, 4H), 4.84 (br s, 2H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.92 (m, 2H), 2.27(m, 2H), 1.91(m, 4H), 1.66(m,4H); 1.39-1.47 (m, 12H)。

实施例 11、(R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(I 5)的制备

参照实施例 7 的方法,用 IV₂ 与特戊酸氯甲酯反应,反应产物经硅胶柱层析分离,得到 I₅,收率 36.5%。¹H-NMR (CDCl₃, 400MHZ)δ_H: 7.78 (s, 1H), 7.54(dd, 2H), 6.96 (dd, 2H), 5.65-5.70 (m, 4H), 4.84 (br s, 2H), 4.18(dd, 1H), 4.01 (dd, 1H), 3.69-3.96 (m, 6H), 1.23 (s, 9H), 1.22(s, 9H), 1.19 (d, 3H)。

实施例 12、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 6)的制备

室温下,将 IV₁ 1.64g(4mmol)、三乙胺 0.8g(8mmol)加于 12ml N-甲基吡咯烷酮中,搅拌 30 分钟,然后加入氯甲基乙基碳酸酯 2.2g(16mmol),于 70℃搅拌反应 2 小时,冷却,加入 300ml 1%柠檬酸水溶液和 500ml 乙醚,搅拌,分层,水层用乙醚提取两次,合并有机层,干燥,用硅胶柱层析分离,用 MeOH: CH₂Cl₂=1:30 洗脱,得 I₆ 0.92 克。¹H-NMR (DMSO-d₆,

400MHz) δ : 7.86 (s, 1H), 7.50(d, 2H), 7.02(d, 2H), 6.30(s, 2H, NH₂), 5.47-5.78(m, 4H), 4.24(m, 4H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H), 1.30(m, 6H)。

5 实施例 13、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 7)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基丙基碳酸酯代替氯甲基乙基碳酸酯与 IV₁ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₇, 产率 32%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ : 7.86 (s, 1H), 7.50(d, 2H), 7.02(d, 2H), 6.30(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.28(t, 2H), 4.22(m, 4H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H), 1.62(m, 4H), 0.98 (m, 6H)。

15 实施例 14、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 8)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基异丙基碳酸酯代替氯甲基乙基碳酸酯与 IV₁ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₈, 产率 27%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ : 7.86 (s, 1H), 7.50(d, 2H), 7.02(d, 2H), 6.30(s, 2H, NH₂), 5.47-5.78(m, 4H), 4.83(m, 2H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H), 1.26(s, 6H), 1.24 (s, 6H)。

25 实施例 15、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 9)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基异丁基碳酸酯代替氯甲基乙基碳酸酯与 IV₁ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₉, 产率 20%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ : 7.86 (s, 1H), 7.50(d, 2H), 7.02(d, 2H), 6.30(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.28(t, 2H), 4.11 (d, 4H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H), 1.87 (m, 2H), 0.97(m, 12H)。

实施例 16、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊基氧基
羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 10)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基异丙基碳酸酯代替氯甲基
乙基碳酸酯与 IV₁ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₁₀, 产
率 18%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz)δ: 7.86 (s, 1H), 7.50(d,
2H), 7.02(d, 2H), 6.30(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.28(t, 2H),
4.13(s, 4H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H), 0.94 (s, 18H)。

实施例 17、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(戊基-3-氧基
羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 11)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基-(3-戊基)-碳酸酯代替氯甲
基乙基碳酸酯与 IV₁ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₁₁,
产率 15%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz)δ: 7.86 (s, 1H), 7.50(d,
2H), 7.02(d, 2H), 6.30(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.28(t, 2H),
4.11(m,2H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H), 1.52-1.62(m,
8H), 0.92 (t, 12H)。

实施例 18、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基
羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤(I 12)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基环己基碳酸酯代替氯甲基
乙基碳酸酯与 IV₁ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₁₂, 产
率 24%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz)δ: 7.86 (s, 1H), 7.50(d,
2H), 7.02(d, 2H), 6.30(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.52-4.61
(m, 2H), 4.28(t, 2H), 4.09 (t, 2H), 3.95(m,2H), 3.83 (s, 3H),
2.55(m, 2H), 1.80(m, 4H), 1.15-1.50 (m, 12H)。

实施例 19、(R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基
氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(I 13)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基异丙基碳酸酯与 IV₂ 反应,
反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₁₃, 产率 16%。¹H-NMR
(DMSO-d₆, 400MHz)δ: 7.86 (s, 1H), 7.50(d, 2H), 7.02(d, 2H),

6.30(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.83(m, 2H), 4.18(dd, 1H), 4.01 (dd, 1H), 3.85-4.06 (m, 3H), 3.81(s, 3H), 1.26(s, 6H), 1.24 (s, 6H), 1.07 (d, 3H)。

5 实施例 20、2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基)羰基氧基甲氧基]膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤(I 14)的制备

参照实施例 12 的方法, 用氯甲基环己基碳酸酯与 IV₂ 反应, 反应产物用硅胶柱层析分离, 得 I₁₄, 产率 21%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 400MHz)δ: 7.83 (s, 1H), 7.50(dd, 2H), 7.02(dd, 2H), 10 6(br s, 2H), 5.47-5.78(m, 4H), 4.52-4.61 (m, 2H), 3.82-4.15(m, 5H), 3.80(s, 3H), 1.80(m, 4H), 1.63(m, 4H), 1.15-1.50 (m, 12H), 1.05 (d, 3H)。

本领域技术根据本发明特别是以上实施例的方法的教导以及拥有的已有知识和参考文献, 还可以合成得到本发明其它未示例合成的式 I 化合物, 特别是还可以合成得到本发明上文所提出的具体化合物或者所附权利要求书中列出的具体化合物。

实验例 1、体外抗 HBV 活性测定

20 用 Hep G 2.2.15 细胞体外试验法测定了目标化合物对 HBV DNA 的抑制作用和细胞毒性。

实验方法

通过定量实时荧光 PCR 法测定目标化合物对 HBV DNA 的抑制作用: Hep G 2.2.15 细胞培养于含 10%小牛血清的 DMEM 培养液中, 在 5% CO₂ 培养箱中孵育。然后将细胞接种于 96 孔板中, 细胞数 3X10⁴, 继续培养, 当细胞密度达到 80%左右, 弃去旧培养液, 加入含不同浓度药物的新培养液, 设置 3 个平行孔; 25 每隔 2 天更换培养液。在给药后第 10 天, 取 100μl 上清, 通过定量 PCR 的方法, 测定 HBV DNA 的含量, 计算 50%抑制浓度, 即为 IC₅₀ 值。

30 通过 MTT 法测定目标化合物的细胞毒性: Hep G₂ 细胞培养于含 10%小牛血清的 DMEM 培养液中, 在 5% CO₂ 培养箱中

5 孵育。然后将细胞接种于 96 孔板中, 细胞数 5×10^4 , 继续培养 3 天, 加入含不同浓度药物的新培养液, 设置 3 个平行孔; 在给药后第 3 天, 加入 MTT 至 7.5mg/ml, 继续培养 2 小时, 弃去上清, 加入含 10%吐温 X-100 异丙醇, 120 μ l/孔, 再加入 0.4 μ l/孔, 用酶联仪测定 540nm 处的吸收, 计算 50%抑制浓度, 即为 CC_{50} 值。结果见表 1。

表 1、本发明部分示例化合物的 IC_{50} 值和 CC_{50} 值

化合物	IC_{50} (μ M)	CC_{50} (μ M)
MCC-478	0.016	>1000
I ₂	0.020	>1000
I ₃	0.015	>1000
I ₄	0.012	>1000
I ₅	0.006	>1000
I ₈	0.005	>1000
I ₉	0.021	>1000
I ₁₂	0.011	>1000
I ₁₃	0.054	>1000

10 本发明其它实施例化合物以及本发明上文所提出的具体化合物或者所附权利要求书中列出的具体化合物也可以得到与上表 1 中本发明实施例化合物的 IC_{50} 值和 CC_{50} 值基本上相同的结果。

实验例 2、口服生物利用度的比较

15 SD 雄性大鼠, 体重为 180 至 220 g, 每组 3 只。所有动物给药前禁食 12 小时。将待测样品配成浓度为 10mg/ml 的 1%羧甲基纤维素钠的悬浮液, 灌胃给药, 给药剂量相当于 20 毫克/公斤的 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-(2-磷酸基甲氧基乙基)-嘌呤 (IV₁, 602076); 将 602076 配成 10mg/ml 的生理盐水溶液, 尾静脉注射给药, 给药剂量 10 毫克/公斤。于给药前和给药后 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 6.0, 12.0, 24.0 小时, 于大鼠眼底静脉丛采血 0.5 mL, 参考文献 (Clark Chan, et al.Clinical Pharmacokinetics of Alamifovir and Its Metabolites Antiviral Agents Chemother, 2005, 49(5):1813-1822.)的方法, 测定不同时

20

间点血液中 602076 的浓度。

5 将血药浓度-时间数据输入计算机，采用非室模型法计算药物动力学参数，用梯形法计算 $AUC_{0-\infty}$ 值，由受试大鼠分别口服受试样品与静注 602076 后所测定的 602076 的平均血药浓度-时间曲线下面积($AUC_{0-\infty}$)，计算出大鼠口服各前体化合物后活性代谢物 602076 的绝对生物利用度(F)。

$$F = AUC_{0-\infty}(\text{口服}) / AUC_{0-\infty}(\text{静注}) \times 100\% \times 2$$

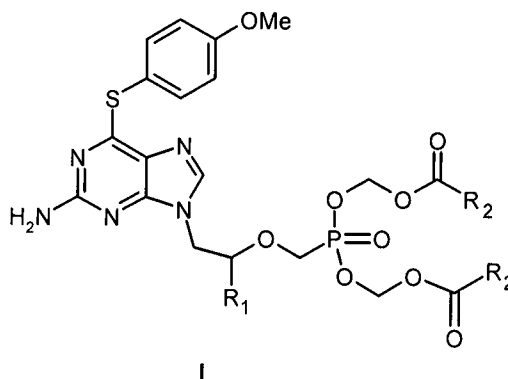
10 表 2、大鼠口服给予本发明部分示例化合物后的生物利用度比较，以 602076 计

化合物	生物利用度(%, 以 602076 计)
MCC-478	5.6
I ₂	43.0
I ₃	42.6
I ₄	38.4
I ₈	37.2
I ₉	34.2
I ₁₂	26.8

15 本发明其它实施例化合物以及本发明上文所提出的具体化合物或者所附权利要求书中列出的具体化合物也可以得到与上表2中本发明实施例化合物的生物利用度值基本上相同的结果。

权 利 要 求

1、式 I 所示的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物：



其中，

R_1 选自 H 或甲基；

各 R_2 各自独立地选自 $-R_3$ 或 $-OR_3$ ；

各 R_3 各自独立地选自 C_1-C_8 烷基、 C_3-C_8 环烷基。

2、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中两个 R_2 相同；或者，其中两个 R_2 不同。

3、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其特征在于以下任一项或多项：

i) R_2 为 $-R_3$ ；

ii) R_2 为 $-OR_3$ ；

iii) 一个 R_2 为 $-R_3$ ，另一个 R_2 为 $-OR_3$ 。

4、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中每次出现的 R_3 各自独立地选自 C_1-C_6 烷基或 C_3-C_6 环烷基；优选地，每次出现的 R_3 各自独立地选自 C_2-C_6 烷基或 C_4-C_6 环烷基。

5 5、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其中每次出现的 R_3 各自独立地选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、特丁基、正戊基、异戊基、新戊基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 等；优选地，每次出现的 R_3 各自独立地选自乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、异戊基、新戊基、环戊基、环己基、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 等。

10 6、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物，其选自：

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

15 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

20 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

25 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

30 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤；

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

5 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

10 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

15 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

20 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

25 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

30 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(戊基-3-氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环戊基氧基羰基氧基甲

氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤; 和

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤。

5 7、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物, 其选自:

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

10 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己甲酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

15 (R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊酰氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(乙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

20 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丁基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

25 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(新戊基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(戊基-3-氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

30 2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-乙基}-嘌呤;

(R)-2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(异丙基氧基羰基氧基

基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤; 和

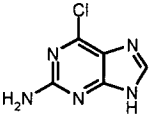
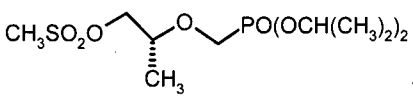
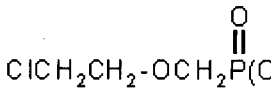
2-氨基-6-(4-甲氧基苯硫基)-9-{2-[双(环己基氧基羰基氧基甲氧基)膦酰基甲氧基]-丙基}-嘌呤。

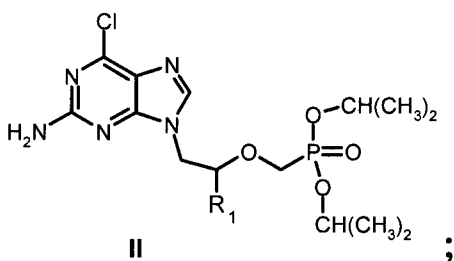
5

8、制备权利要求 1 所述的无环核苷膦酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物的方法, 其包括以下步骤:

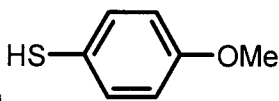
10

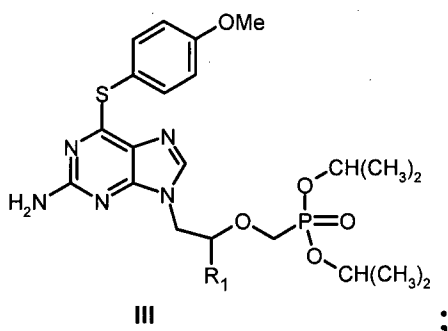
(i) 在适宜的溶剂(例如 DMF)中, 在适宜的试剂(例如 DBU(即二环脒, Bicyclic amidine), 特别是在 R₁ 为氢时)或碳酸钾(特别是在 R₁ 为甲基时)存在下, 在高温下(例如 60~140°C, 例如

80-120°C, 或例如 80-100°C)下, 使式  化合物与  化合物或式  化合物反应, 得到以下式 II 化合物:

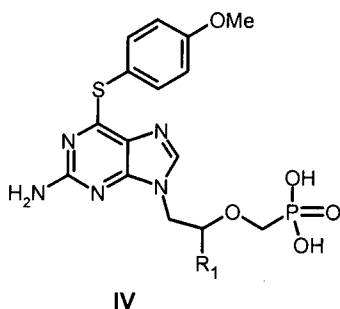


15

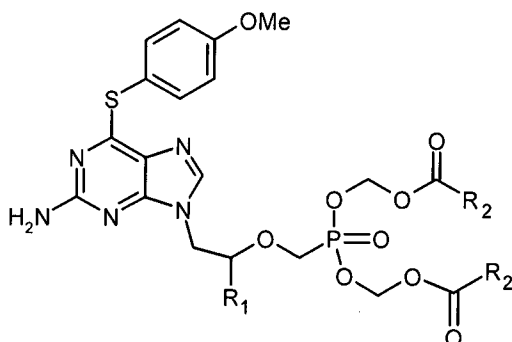
ii) 在适宜的溶剂(例如 DMF)中, 在有机碱(例如三乙胺)存在下, 在高温下(例如 50~120°C, 例如 60-100°C)下, 使式 II 化合物与式  化合物反应, 得到以下式 III 化合物:



iii) 在 10~40°C (例如室温) 下, 使式 III 化合物与烷基卤硅烷 (例如三甲基溴硅烷) 反应, 得到以下式 IV 游离酸化合物:



iv) 在 10~40°C (例如室温) 下, 使式 IV 化合物与烷酰氧基甲基卤化物或烷氧羰基氧基甲基卤化物 (例如氯化物, 如 $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$) 反应, 得到以下式 I 化合物:



; 和任选的

v) 使所得式 I 化合物进行分离、纯化、形成药学上可接受的盐、形成水合物或溶剂合物的步骤,

其中, R_1 和 R_2 如权利要求 1 所述定义。

9、一种药物组合物, 其包含治疗和/或预防有效量的权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物的方法, 以及任选的一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

10、权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物或者权利要求 9 所述药物组合物在制备用于治疗 and/或预防与病毒感染相关的疾病的药物

中的用途；优选的，其中所述的病毒是肝炎病毒，例如乙肝病毒；
优选的，其中所述的与病毒感染相关的疾病是肝炎，例如乙型肝炎。

5 11、在有需要的哺乳动物中治疗和/或预防与病毒感染相关的
的疾病的方法，该方法包括给有需要的哺乳动物施用治疗和/或
预防有效量的权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其药
学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物或者权利要求 9 所
述药物组合物。

10

 12、用于治疗 and/或预防与病毒感染相关的疾病的化合物，
所述化合物是如权利要求 1 所述的无环核苷磷酸酯衍生物或其
药学上可接受的盐、异构体、水合物或溶剂合物。

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000902

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07F 9, A61K 31, A61P 31

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CAPLUS, REG
phosphonate, phosphinic, ester, nucleoside, nucleotide, hepatitis, purine, antiviral, antiviral, antiviral, SEARCH
ACCORDING TO THE STRUCTURE OF THE COMPOUND OF CLAIM 1

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1164534 A (MITSUBISHI CHEM CORP), 12 Nov. 1997 (12.11.1997), see claims 1-19, and the description of pages 1-2 and 15-16 and 65-66	1-7, 9, 10, 12
A	the same as above	8
X	CN 1827627 A (BEIJING MEIBEITA PHARM RES CO LTD), 06 Sep. 2006 (06.09.2006), see claims 1-10 and examples 1, 27	1-7, 9, 10, 12
A	the same as above	8
A	CN 1670024 A (INST PHARM & TOXICOLOGY ACAD MILITARY), 21 Sep. 2005 (21.09.2005), see the whole document	1-10, 12

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 12 Sep. 2010 (12.09.2010)	Date of mailing of the international search report 21 Oct. 2010 (21.10.2010)
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer CHANG, Xiaoyu Telephone No. (86-10)62084403

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000902

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 11
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 11 relates to the treatment or prevention of diseases for mammal, which do not comply with the requirement of rule39.1. Because claim 10 relates to the corresponding pharmaceutical uses, the search has not been carried out with the present claim 11.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2010/000902

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1164534 A	12.11.1997	TW 369536 A	11.09.1999
		CN 1398864 A	26.02.2003
		CN 1088712 C	07.08.2002
		EP 0785208 A1	23.07.1997
		DE 69704286 D1	26.04.2001
		ES 2155219 T3	01.05.2001
		US 5840716 A	24.11.1998
		JP 3148139 B2	19.03.2001
		CN 1216060 C	24.08.2005
		JP 9255695 A	30.09.1997
		CA 2195262 A1	19.07.1997
		KR 97059181 A	12.08.1997
		KR 366727 B	15.03.2003
		CA 2195262 C	09.08.2005
		EP 0785208 B1	21.03.2001
CN 1827627 A	06.09.2006	none	
CN 1670024 A	21.09.2005	CN 100475825 C	08.04.2009

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000902

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC:

C07F 9/40 (2006.01)i

A61K 31/675 (2006.01)i

A61P 31/12 (2006.01)i

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07F 9, A61K 31, A61P 31

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CAPLUS, REG

军事医学科学院, 仲伯华+何新华+王勇广+刘河, 膦酸, 酯, 核苷, 嘌呤, 抗病毒, 乙肝, 乙型肝炎, phosphonate, phosphinic, ester, nucleoside, nucleotide, hepatitis, purine, antiviral, antiviral, antiviral, 根据权利要求 1 化合物的结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 1164534 A (三菱化学株式会社), 12.11 月 1997 (12.11.1997), 参见权利要求 1-19, 和说明书第 1-2、15-16、65-66 页	1-7、9、10、12
A	同上	8
X	CN 1827627 A (北京美倍他药物研究有限公司), 06.9 月 2006 (06.09.2006), 参见权利要求 1-10, 和实施例 1、27	1-7、9、10、12
A	同上	8
A	CN 1670024 A (中国人民解放军军事医学科学院毒物药物研究所), 21.9 月 2005 (21.09.2005), 参见全文	1-10、12

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

12.09 月 2010 (12.09.2010)

国际检索报告邮寄日期

21.10 月 2010 (21.10.2010)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

授权官员

常晓屿

电话号码: (86-10) 62084403

第II 栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第 1 页第 2 项)

根据条约第 17 条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求：11

因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

权利要求 11 要求保护治疗和/或预防疾病的方法（rule 39.1），且权利要求 10 中已经涉及相应的药物用途，因此对权利要求 11 没有进行合理的预期。

2. ☐ 权利要求：

因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：

3. ☐ 权利要求：

因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则 6.4(a)第 2 句和第 3 句的要求撰写。

第III 栏 缺乏发明单一性的意见(续第 1 页第 3 项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何附加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。具体地说，是权利要求：

4. ☐ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：

关于异议的说明：☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。

☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。

☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2010/000902

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 1164534 A	12. 11. 1997	TW 369536 A	11. 09. 1999
		CN 1398864 A	26. 02. 2003
		CN 1088712 C	07. 08. 2002
		EP 0785208 A1	23. 07. 1997
		DE 69704286 D1	26. 04. 2001
		ES 2155219 T3	01. 05. 2001
		US 5840716 A	24. 11. 1998
		JP 3148139 B2	19. 03. 2001
		CN 1216060 C	24. 08. 2005
		JP 9255695 A	30. 09. 1997
		CA 2195262 A1	19. 07. 1997
		KR 97059181 A	12. 08. 1997
		KR 366727 B	15. 03. 2003
		CA 2195262 C	09. 08. 2005
		EP 0785208 B1	21. 03. 2001
CN 1827627 A	06. 09. 2006	无	
CN 1670024 A	21. 09. 2005	CN 100475825 C	08. 04. 2009

A. 主题的分类

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

C07F 9/40 (2006.01) i

A61K 31/675 (2006.01) i

A61P 31/12 (2006.01) i