32

更正

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
A61K 31/706
A61K 31/505 A61P 37/02

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99126580.7

[45] 授权公告日 2004 年 6 月 23 日

[11] 授权公告号 CN 1154500C

[22] 申请日 1991.4.30 [21] 申请号 99126580.7
分案原申请号 94109429.4
[30] 优先权
[32] 1990. 5. 2 [33] GB [31] 9009861.7
[71] 专利权人 希雷生物化学有限公司
地址 加拿大魁北克
[72] 发明人 乔纳森·A·V·科茨
伊恩·M·马顿 查尔斯·R·佩恩
里查德·斯拖勒
查里斯托弗·威廉森
审查员 邓声菊

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 陈季壮

权利要求书 1 页 说明书 34 页

[54] 发明名称 1,3-氧硫环戊烷核苷类似物药物组合物的制备方法

[57] 摘要

公开了(-)-4-氨基-1-(2-羟甲基-1,3-氧硫环戊烷-5-基)-(1H)-嘧啶-2-酮，它的药用衍生物及其药用组合物。还公开了制备这类化合物及其衍生物和药物组合物的制备方法，以及作为抗病毒剂的用途。

ISSN1008-4274

1. 一种制备包括（－）－顺－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮或其药用盐，酯或所述酯的盐活性成分及其药用载体的药物组合物的方法，它包括混合该活性成分和该载体.

2. 按照权利要求1所述的方法，其中（－）－顺－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮中（＋）对映体含量不高于5%（W/W）.

3. 按照权利要求1所述的方法，其中（－）－顺－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮中（＋）对映体含量不高于2%（W/W）.

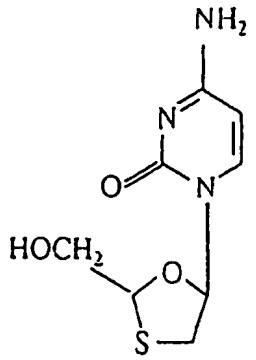
4. 按照权利要求1所述的方法，其中（－）－顺－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮中（＋）对映体含量不高于1%（W/W）.

# 1,3—氧硫环戊烷核苷类似物

# 药物组合物的制备方法

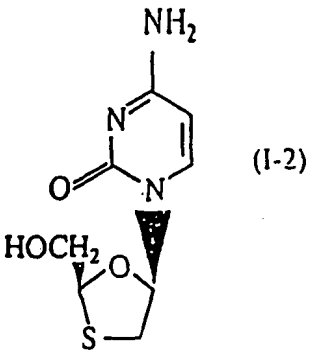
本发明涉及核苷类似物及其在医药中的用途。更确切地说，本发明涉及1，3—氧硫环戊烷核苷类似物，其药物组合物及其治疗病毒性感染的用途。

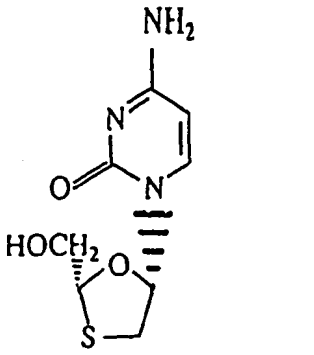
下式（Ⅰ）的化合物



(I)

（亦称作BCH—189或 NGPB—21）被认为是具有抗病毒活性，特别是抗爱滋病致病因素——人体免疫力缺陷病毒（HIV'S）（见5th Anti—Aids Conference, Montreal, Canada 5th—9th June 1989: Abstracts T.C.O.1 and M.C.P.63; European Patent Application Publication NO.0382562）。式（Ⅰ）化合物是一种下式（Ⅰ—1）和（Ⅰ—2）两种对映体的外消旋混合物：


(I-2)


(I-1)

而且以其外消旋盐的形式进行了说明和检测。目前批准用于治疗由HIV造成的病症的唯一化合物是3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷（AZT，zidovudine，BW 509U）。但是，这种化合物具有显著的付作用，所以或者不能使用，或者用后多数患者必须排出。因此，仍需要提供能有效地抗HIV、同时治疗指数要好得多的化合物。

本发明人令人惊异地发现，式（I）化合物的对映体等效地抗HIV，但对映体之一〔（-）对映体〕比另一对映体具有低得多的细胞毒性。所以，在本发明的第一方面提供了式（I）化合物的（-）（或左旋）对映体及其药用衍生物。

（-）对映体的化学名称为（-）4-氨基-1-（2-羟甲基-1，3-氧硫环戊烷-5-基）-（1H）-嘧啶-2-酮（以下称作化合物（A））。它具有式（I—1）化合物的绝对立体化学构型，其名称为（2R，顺）-4-氨基-1-（2-羟甲基-1，3-氧硫环戊烷-5-基）-（1H）-嘧啶-2-酮。

最好提供基本上无相应的（+）对映体的化合物（A），即存在不高于约5%（W／W）的（+）对映体，优选不高于约2%，特别

是低于约1％（W／W）。

所谓“药用衍生物”意指化合物（A）的任何药用盐、酯或这种酯的盐，或给受体服用后能直接或间接地提供化合物（A）或抗病毒活性代谢物或其残余物的任何其它化合物。

本领域普通技术人员都知道，在氧硫环戊烷环的碱部分中的官能团或羟基上对化合物（A）进行改性，可提供其药用衍生物。所有这些官能团的改性均包括在本发明的范围内。但是，特别关注的是由氧硫环戊烷环的2－羟甲基改性得到的药用衍生物。

优选的化合物（A）的酯包括其2－羟甲基的氢用酰基官能团 $R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$ 取代的化合物〔其中该酯的非羰基部分R选自氢，直链或支链烷基（如甲基，乙基，正丙基，叔丁基，正丁基），烷氧基烷基（如甲氧基甲基），芳烷基（如苄基），芳氧基烷基（如苯氧基甲基），芳基（如可取代有氢、$C_{1-4}$烷基或$C_{1-4}$烷氧基的苯基）〕；磺酸酯，例如烷基－或芳烷基磺酰基（如甲磺酰基）；氨基酸酯（如L－异戊氨酰基或L－亮氨酰基）和一－、二－或三－磷酸酯。

就上述酯而言，除非另外注明，在这类酯中存在的任何烷基部分最好含1～16个碳原子，特别是1～4个碳原子。在这类酯中存在的任何芳基部分含一个苯基。

具体地说，所述酯可以是$C_{1-16}$烷基酯，未取代的苄基酯或由至少一个卤素（溴，氯，氟或碘）、$C_{1-6}$烷基、$C_{1-6}$烷氧基、硝基或三氟甲基取代了的苄基酯。

化合物（A）的药用盐包括那些由药用无机酸和有机酸和碱得到的盐。合适的酸的例子有盐酸，氢溴酸，硫酸，硝酸，高氯酸，富马酸，马来酸，磷酸，羟基乙酸，乳酸，水扬酸，琥珀酸，对甲苯磺

酸，酒石酸，乙酸，柠檬酸，甲磺酸，甲酸，苯甲酸，丙二酸，萘－2－磺酸和苯磺酸。其它酸（如草酸）即使本身不能药用，但可用作制备本发明的化合物及其药用酸加成盐的中间体。

由合适的碱得到的盐包括碱金属（如钠）、碱土金属（如镁）、铵和$NR_4^+$（其中R是$C_{1-4}$烷基）的盐。

以下参考的本发明化合物包括化合物（A）及其药用衍生物。

本发明的化合物既可以本身具有抗病毒活性，也可以是这类化合物的代谢物。具体地说，这些化合物能有效地抑制逆病毒的复制，包括人体逆病毒在内，例如导致AIDS病因的人体免疫力缺陷病毒（HIV'S）。

所以，本发明的另一方面提供用作活性治疗剂、特别是用作抗病毒剂（如治疗逆病毒感染）的化合物（A）或其药用衍生物。

在又一方面中，提供一种治疗病毒感染、特别是包括人体在内的哺乳动物中因逆病毒（如HIV）造成的感染的方法，该方法包括服用有效量的化合物（A）或其药用盐。

在又一方面中，还提供化合物（A）或其药用衍生物在制造用于治疗病毒感染的药物中的用途。

本发明的化合物还可用于治疗与爱滋病有关的病症，例如与爱滋病有关的复征（ARC），逐渐形成的淋巴结病（PGL），与爱滋病有关的神经病症（如痴呆或热带轻截瘫），抗HIV抗体阳性和HIV阳性病症，卡波济氏肉瘤，血小板减少的紫癜和伴生的机会致感染（如卡氏肺囊虫）。

本发明的化合物还可用于防治抗HIV抗体或HIV抗原阳性的病人的疾病和预防HIV的暴露。

化合物（A）或其药用衍生物还可用于预防生理流体的病毒感染（例如血液或体内精液）。

本领域普通技术人员可以理解，这里参考治疗方法可以拓展到预防以及治疗成例感染或病症。

本领域普通技术人员可以理解，用于治疗所需的本发明化合物的量不仅随所选的特定化合物而变化，而且还随给药途径、治疗病症的性质以及患者的年龄和体征而变化，最终将根据药剂师或护理医师的判断而定。但一般来说。合适的剂量是每千克体重每天约0.1—约750mg／kg，优选为0.5～60mg／kg／天，最佳为1～20mg／kg／天。

所需剂量可以一次服用，也可以在合适的间隔内（如每天两次、三次、四次或多次）分剂量服用。

化合物以单位剂量形式给药较为方便。例如每单位剂量形式含10～1500mg、优选20～1000mg、最佳50～700mg活性成份。

活性成分应最好能达到活性化合物的峰值血浆浓度约1～约75μm、优选约2～50μm、最佳约3～约30μm给药。举例来说。通过静脉注射0.1～5%活性成分和选加盐水的溶液、或采用含约1～约100mg活性成分的团块口服，可达到这一目的。通过连续注入约0.01～约5.0mg／kg／小时活性成分或间断注入含约0.4～约15mg／kg的活性成分，可使血含量达到所需水平。

尽管对于治疗来说可以原料化合物的形式服用本发明的化合物，但优选以药物组合物的形式提供活性成分。

因此，本发明还提供一种含化合物（Ⅰ）或其药用衍生物以及一种或多种药用载体和选加的其它治疗和／或理疗成分的药物组合物。所用载体在能与配方中其它成分相容的意义上须是可接受的，而且对其赋形剂无害。

药物组合物包括适用于口、直肠、鼻、皮肤表面（包括颊和舌下在内）、阴道或肠胃外（包括肌内，表皮下和静脉内）给药或适用于吸入法给药形式的配方。合适的话，药物组合物可以具体剂量单位存在，也可以采用制药领域公知的方法加以制备。所有方法包括使活性化合物与液体载体或细分散固体载体或这两种载体接触，然后需要的话将产物成型为所需配方。

适用于口服的药物组合物可以具体剂量单位存在，例如胶囊、扁囊剂或片剂，各含有预定量的活性成分；也可以粉末或颗粒、溶液、悬浮液或乳浊液形式存在。活性成分也可以团块、干药糖剂或糊膏的形式存在。口服用的片剂和胶囊可含有常用的赋形剂，例如粘合剂、填料、润滑剂、崩解剂或湿润剂。片剂可按照本领域公知方法包衣。口服液体制剂可以是例如水或油悬浮液、溶液、乳液、糖浆或酏剂形式，也可以干产物的形式在用前与水或其它合适的媒体混合而成。这种液体制剂可含有常用的添加剂，例如悬浮剂、乳化剂、非水媒体（可包括食用油）或保存剂。

本发明的化合物也可配制成肠胃外给药（例如采用注射，象团块注射或连续注入等方法），而且可以安瓶、预填充注射器、小体积浸注的单位剂量形式提供，或加有保存剂的多剂量容器形式提供。组合物可以呈以下形式，例如悬浮液，溶液或油或水媒体的乳浊液，而且可含有配制剂，例如悬浮剂、稳定剂和／或分散剂。另外，活性成分

也可以呈由灭菌固体的无菌化或由与合适的媒体（如灭菌的无热源水）构成的溶液在使用前经低压冻干法得到的干粉末形式。

对于局部表皮给药，本发明的化合物可配制成油膏、乳膏或洗剂，或配制成贯通表皮的被片。举例来说，油膏或乳膏可以用水或油基质加合适的增稠剂和／或凝胶剂配制。洗剂可以用水或油基物质配制，而且一般还含有一种或多种乳化剂、稳定剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂或着色剂。

适用于口中表皮给药的配方包括在香味基料（一般为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶）中含活性成分的糖锭；在惰性基料（如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶）中含活性成分的软锭剂；和在合适的液体载体中含活性成分的漱口水。

适用于直肠给药的药物组合物（其中载体是固体）最优选地是呈单位剂量的栓剂形式。合适的载体是可可油和其它本领域常用的物质。将活性化合物与软化的或熔融的载体混合，然后在模具中急冷和成型，可便利地形成栓剂。

适用于阴道给药组合物可以是阴道栓剂、塞、乳膏、凝胶、糊膏、泡沫或喷剂，它们除了含有活性成分之外，还含有本领域公知的合适的载体。

对于鼻内给药，本发明的化合物可以液体喷雾剂或分散性粉末或滴剂形式使用。

滴剂可用水或非水基料配制，这种基料也含有一种或多种分散剂、增溶剂或悬浮剂。液体喷雾剂用加压塞输送较为方便。

对于吸入法给药，本发明的化合物用吹入法、喷雾法或加压塞或其它能输送气溶胶喷雾的便利装置输送较为方便。加压塞可含有一种

合适的推进剂，如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟甲烷、二氧化碳或其它合适的气体。在加压气溶胶的情况下，可通过提供一个输送剂量阀确定单位剂量。

另外，对于吸入法给药，本发明的化合物可呈干粉组合物的形式，例如化合物和合适的粉基料（如乳糖或淀粉）构成的混合粉。粉末组合物可呈单位剂量形式，例如在胶囊或扁胶囊或例如明胶或气孔塞（借助于吸入器给药）中。

若需要时，上述配方可采用缓释的形式输送活性成分。

本发明的药物组合物也可含有其它活性成分，例如抗微生物剂或保存剂。

本发明的化合物也可与其它治疗剂（如其它抗感染剂）混用。具体地说，本发明的化合物可与公知的抗病毒剂混用。

因此，本发明又一方面提供一种含化合物（A）或其药用衍生物和另一种治疗活性剂（特别是抗病毒剂）的混合物。

上述混合物以药物组合物形式使用比较方便，所以这种含上述混合物和药用载体的药物组合物构成了本发明的又一方面。

用于这种混合物的合适的治疗剂包括无环核苷类，例如阿昔洛维或甘昔洛维，干扰素，例如α，β或γ－干扰素；肾分泌抑制剂，例如丙磺舒；核苷输送抑制剂，例如潘生丁；2′，3′－二脱氧核苷，例如AZT，2′，3′－二脱氧胞苷，2′，3′－二脱氧腺苷，2′，3′－二脱氧肌苷，2′，3′－二脱氧胸苷，2′，3′－二脱氧－2′，3′－二脱氢胸苷和2′，3′－二脱氧－2′，3′－二脱氢胞苷，免疫调节剂，例如内白细胞杀菌素Ⅱ（IL2）和粒性白细胞巨噬细胞菌落刺激素（GM－CSF），促

红素，安普力芹，胸莫度林，胸腺素，磷甲酸，二氮唑核苷和结合到$CD_4$受体（如可溶$CD_4$，$CD_4$片段，$CD_4$杂交分子）的HIV抑制剂，糖基化抑制剂，例如2－脱氧－D－葡糖，卡洛波明，和1－脱氧野尻霉素等等。

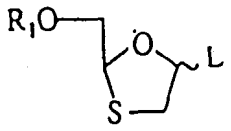
这种混合物的各组分在单独或合并的药物组合物中既可连续给药也可同时给药。

当化合物（A）或其药用衍生物与第二种抑制同种病毒的治疗活性剂混用时，各化合物的剂量既可与单独使用化合物时的效量相同，也可不同。本领域专业人员可以很容易确定合适的剂量。

化合物（A）及其药用衍生物可以按制备类似结构的化合物的本领域任何公知方法加以制备（例如参见欧洲专利申请公开号0382562）。

本领域普通专业人员将会知道，对于下述某些方法，既可从旋光性纯的原料开始得到化合物（A）的所需立体化学构型，也可通过在合成中任何合适的阶段拆分消旋混合物而得之。在所有方法中，通过再溶解各反应目的产物可得到旋光纯的所需产物。

在一个这样的方法（A）中，使式（Ⅷ）的1，3－氧硫环戊烷




(VIII)

（其中异头基L是一个可取代的基团）与一种合适的碱反应。合适的L基包括－OR基，其中R是烷基，例如$C_{1-6}$烷基（如甲基）或R是酰基，例如乙酰基或卤素的$C_{1-6}$烷基，卤素的例子是碘，溴或氯。

在一种相容的溶剂（例如二氯甲烷）中使用Lewis酸（如四氯化钛，锡（Ⅳ）化合物如$SnCl_4$，或三甲基甲硅烷基三氟酸盐），式Ⅷ的化合物可方便地与胞嘧啶或合适的嘧啶碱前体反应(预先用甲硅烷化试剂如六甲基二甲硅烷甲硅烷化）。

将式（Ⅶ）的醛与式（Ⅵ）的硫基乙缩醛在相溶有机溶剂，如甲苯中于酸催化剂，如路易斯酸，如氯化锌存在下进行反应，即可制成式（Ⅷ）的1，3－氧硫环戊烷。

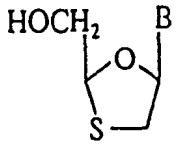
$HSCH_2CH(OC_2H_5)_2$ (VI)

$C_6H_5CO_2CH_2CHO$ (VII)

式（Ⅵ）的硫基乙缩醛可按已知方法，如G.Hesse和I.Jorder，Chem Ber 85，924～932（1952）所述方法制得。

式（Ⅶ）醛可按本领域已知方法，如E.G.Hallofuist和H.Hibbert，Can.J.Research，8，129～136（1933）所述方法制得。式（Ⅶ）醛粗产品转化成结晶亚硫酸氢盐加合物后再转化成游离醛即可将其提纯。

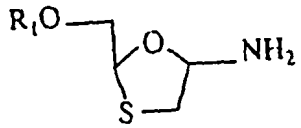
在第二方法（B）中，化合物（A）制法是将式（Ⅸ）化合物进行碱基转化




(IX)

其中B为可转化成胞嘧啶的碱基。这种转化既可为简单化学转化（如尿嘧啶转化成胞嘧啶），也可为脱氧核糖转移酶进行的酶转化。碱基转化的方法和条件在核苷化学领域已众所周知。

在第三方法（C）中，通过将异头$NH_2$基按核苷化学领域已知方法转化成胞嘧啶碱基，可将式（XI）化合物转化成化合物（A）。



(XI)

上述许多反应已在核苷合成文献中作了广泛报道〔见Nucleoside Aralogs—Chemistry, Biology and Medical Applications, R.T.Waker et al., eds, Plenum Press, New York（1979）, pp. 165～192和Chemisty of Necleosides and Nucleotides, Vol.I, T.Ueda, I. B Townsend ed., Plenum Press, New York（1988）, pp. 165～192〕，其公开内容均引用于此供参考。

上述反应可能要求采用，或者说可方便地应用于带保护官能团的原料，而且可能要求中间或最终步骤脱保护基以得到所需化合物。官能团受保护或脱保护均按常见方法进行。例如，氨基可用选自芳烷基（如苄基），酰基或芳基(如2,4-二硝基苯基或甲硅烷基)的基团保护，然后必要时在常规条件下经水解或氢解脱保护基。羟基可用任何常见羟基保护基进行保护，如参见以下文献〔Protective Groups

in Organic Chemistry, Ed. J.F.W.McOmie (Plenum Press, 1973) or 'Protective Groups in Organic Synthesis', Theodora W. Greene (John Wiley and Sons, 1981)]。适宜的羟基保护基例子包括选自烷基(如甲基，叔丁基或甲氧甲基)，芳烷基(如苄基，二苯基甲基或三苯基甲基)，杂环基，如四氢吡喃基，酰基(如乙酰基或苯甲酰基)以及甲硅烷基，如三烷基甲硅烷基(如叔丁基二甲基甲硅烷基)的基团。羟基保护基可用常规技术脱除。例如，烷基，甲硅烷基，酰基和杂环基可在酸或碱性条件下经溶剂分解，如水解而去除。芳烷基，如三苯基甲基也可类似地在酸性条件下经溶剂分解，如水解而去除。用$BF_3$／醚合物和乙酸酐处理后去除合成过程适当步骤中形成的乙酸根，即可使芳烷基，如苄基裂解。甲硅烷基还可用氟离子源，如四正丁基氟化铵而方便地脱除。

在上述方法中，化合物(A)一般是以顺式和反式异构体混合物得到的，其中顺式异构体为要求化合物。

这些异构体分离方法可采取物理方式，如硅胶色谱法或分馏结晶法，既可直接分离，也可以其合适衍生物，如乙酸盐(如用乙酸酐制得)分离后再转化成母体产品(如用甲醇氨液脱乙酰)。

本发明化合物药用盐制法还见于USP 4，383，114，其公开内容引用于此供参考。例如，要求制成化合物(A)的酸加成盐时，上述任一方法的产品可用合适的酸按常规方法处理形成的游离碱基而转化成盐。将母体化合物与合适酸(必要时在适当溶剂，如酯(如乙酸乙酯)或醇(如甲醇，乙醇或异丙醇)存在下)反应而制成药用酸加成盐。将游离碱基与合适的碱，如醇盐(如甲醇钠)(必要时在

溶剂，如醇（如甲醇）存在下）反应即可制成无机碱性盐。还可按常用方法用化合物（A）的其它盐，包括用其它药用盐制成药用盐。

化合物（A）与磷酰化剂，如$POCl_3$或合适的酯化剂，如酰卤或酸酐反应即可将其转化成药用磷酸盐或酯化合物A的酯或盐通过水解可转化成母体化合物。

最终产物或其中间产物或原料的拆分可用任何适宜的已知方法进行：〔例如'Stereochemistry of Carbon Compounds' E.L.Eliel（McGraw Hill，1962）和'Tables of Resolving Agewts' S.H.Wilen〕。

例如，化合物（A）可用手性HPLC得到，其中采用合适的固定相，如乙酰化β-环糊精或三乙酸纤维素以及合适的溶剂，如醇，如乙醇或乙醇三乙铵水溶液。另一方面，用合适的酶，如胞嘧啶核苷脱氨基酶进行酶解对映体选择性分解代谢或用5'-核苷酸酶使合适衍生物进行选择性酶降解，即可拆分出这些化合物。用酶进行拆分时，可用酶溶液，更方便是用固定化酶。酶可用任何已知方法固定，如用树脂，如Eupergit C吸附法。

下述实例详述本发明，但并不以任何方式限制本发明，其中所有温度指摄氏度。

中间体1

5-甲氧基-1，3-氧硫环戊烷-2-甲醇，苯甲酸盐

将氯化锌（1.6g）的热甲醇（15ml）溶液加入硫基乙醛，二甲基乙缩醛（34.2g）和苯甲酰氧基乙醛（48.3g）的甲苯（1300ml）溶液中，同时进行搅拌，然后氮气中加热回流50分钟。混合物冷却后浓缩，用一些甲苯稀释后用Kiesulguhn过滤。滤液和甲苯合并后用饱和碳酸氢钠水溶液（×2）和盐水洗涤，

干燥（$MgSO_4$）后蒸发成油，硅胶柱色谱（2kg，Merck 93.85，氯仿作洗脱液）分析得油状标题化合物（45.1g），即一种异头异构体混合物（ca 1：1）；1H NMR（DMSO—$d_6$）3.1～3.3（4H），3.42（6H），4.4－4.6（4H），5.41（1H），5.46（1H），5.54（H），5.63（1H），7.46（4H），7.58（2H），8.07（4H）；$r_{max}(CHBr_3)$ 1717.6 $cm^{-1}$。

中间体2

（±）－顺式－1－（2－苯甲酰氧甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2，4－二酮

细粒尿嘧啶（9.62g），六甲基二硅氮烷（50ml）和硫酸铵（30mg）的混合物氮气中回流加热，直至得到透明液为止。冷却后蒸发得无色油，再将其氮气中溶于乙腈（100ml）。该溶液搅拌加入冰冷的5－甲氧基－1，3－氧硫环戊烷－2－甲醇，苯甲酸盐（中间体1）（19.43g）的乙腈（600ml）溶液中，然后加入三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯（14.7ml）。去除冰浴，溶液在氮气中回流加热45分钟。冷却并蒸发后，剩余物用氯仿／甲醇9：1作洗脱剂的1kg硅胶（Merck 9385）柱色谱法提纯。将适用成分冷却并蒸发而得剩余粗产品。用最少量的热甲醇（C. 1200ml）分级结晶而得标题化合物白色晶体（6.32g）。1H NMR（$d^6$DMSO）δ11.36（1H，bs），7.50－8.00（6H，m），6.20（1H，t），5.46（2H，m），4.62（2H，m），3.48（1H，m），3.25（1H，m）。

中间体3

（±）－（顺式）－4－氨基－1－（2－苯甲酰氧甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮

方法（a）

胞嘧啶（20.705g）和硫酸铵（小mg）的六甲基二硅氮烷（110ml）的悬浮液在氮气中搅拌并回流加热2.5小时。蒸除溶剂后剩余固体溶于无水乙腈（350ml）中。氮气中用挠性针技术将该溶液转移到搅拌的冰冷的5－甲氧基－1，3－氧硫环戊烷－2－甲醇，苯甲酸盐（中间体1）（43.57g）的乙腈（650ml）溶液之中，加入三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯（33ml），溶液回到室温后（2.5小时）回流加热过夜。剩余混合物浓缩，用饱和碳酸氢钠水溶液（500ml）稀释后用乙酸乙酯（3×500ml）萃取。萃取液合并后用水（2×250ml）和盐水（250ml）洗涤，干燥（$MgSO_4$）后蒸发成泡沫，硅胶柱色谱（600g，Merck 7734，乙酸乙酯--甲醇混合物作洗脱液）提纯而得异头异构体混合物（约1：1，31.59g）。混合物用水（45ml）和乙醇（9.0ml）结晶而得固体（10.23g），乙醇（120ml）加水（30ml）重结晶而得标题产品白色固体（9.26g），$\lambda_{max}$（MeOH）229.4mm（$E^{1\%}_{1cm}$610）；272.4mm（$E^{1\%}_{1cm}$293）；$^1H$ NMR（DMSO $d_6$）δ 3.14（1H），3.50（1H），4.07（2H），5.52（1H），5.66（1H），6.28（1H），7.22（2H），7.56（2H），7.72（2H），8.10（2H）。

方法（b）

磷酰氯（7.0ml）滴加入搅拌冰冷的1，2，4－三唑

（11.65g）的乙腈（120ml）悬浮液中，内部温度保持在15℃以下再滴加入三乙胺（22.7ml）。10分钟后缓慢加入（±）－顺式－1－（2－苯甲酰氧甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2，4－二酮（中间体2）（6.27g）的乙腈（330ml）溶液。室温搅拌过夜。冰浴冷却混合物后缓慢加入三乙胺（30ml），再加水（21ml）。所得溶液蒸发后剩余物分配到饱和碳酸氢钠溶液（400ml）和氯仿（3×200ml）之间。合并的氯仿萃取液干燥（$MgSO_4$）后过滤和蒸发得剩余粗产品（9.7g）。剩余物溶于1，4－二噁烷（240ml）中，加入浓氨水溶液（s.g 0.880，50ml）。1.5小时后蒸发溶液并将剩余物溶于甲醇中。这会沉淀出固体，将其滤除。母液用硅胶（Merck 9385，600g）柱色谱提纯。合适成分沉淀后蒸发而得到标题化合物浅黄褐色固体（2.18g），同于方法（a）所得产品。

实例1

（±）－（顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮

（顺式）－4－氨基－1－（2－苯甲酰氧甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮（中间体3）（8.19g）和Amberlite IRA－400（OH）树脂（8.24g）在甲醇（250ml）中的悬浮液搅拌并加热回流1.25小时。滤除固体后用甲醇洗涤。蒸发合并的滤液。剩余物用乙酸乙酯（80ml）研磨。所得白色固体过滤收集而得标题产品（5.09g），1H NMR（DMSO－$d_6$）3.04（1H），3.40

(1H), 3.73(2H), 5.18(1H), 5.29(1H), 5.73(1H), 6.21(1H), 7.19(2H), 7.81(1H)。

实例2

手性HPLC分离(±)-(顺式)-4-氨基-1-(2-羟甲基-1,3-氧硫环戊烷-5-基)-(1H)-嘧啶-2-酮对映体

(A)实例1的外消旋产物在下列条件下进行制备HPLC分析:

柱: Merck Hibar三乙酸纤维素, 250×10mm, 10μ

洗脱液: 乙醇;

流速: 3ml/min;

检测: UV, 270nm;

温度: 室温

蒸发合适沉淀成分得到(2R, 顺式)-4-氨基-1-(2-羟甲基-1,3-氧硫环戊烷-5-基)-(1H)-嘧啶-2-酮(6.8mg, e.e.约100%)和(2S, 顺式)-4-氨基-1-(2-羟甲基-1,3-氨硫环戊烷-5-基)-(1H)-嘧啶-2-酮(3.6mg, e.e.约90%)。

(B)实例1的外消旋产品(26mg)在下列条件下进行制备HPLC分析:

柱: ASTEC环键I乙酰基, 250×4.6mm;

洗脱液: 0.2%乙酸三乙铵(将冰醋酸加入0.2%三乙胺水溶液中直至最终pH7.2而制得);

流速：2ml／min；

检测：UV，300nm；

温度：室温。

蒸发合适成分而得（2R，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮（25mg）粗产品和（2S，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮（17mg）粗产物。这些成分再于下列条件下进行制备HPLC分析：

柱：ASTEC环键I乙酰基，250×4.6mm；

洗脱液：15mM乙酸铵，pH6.8；

流速：0.5ml／min；

检测：UV，300nm；

温度：5℃。

蒸发合适沉淀成分得到（2R，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮（5.0mg，e．e．约91％）和（2S，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮（7.6mg，e．e．约96％）。

实例3

（一）顺式－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮

（1）（±）－顺式－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－酮，　　二氢磷酸铵盐

（±）－顺式－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮（1.00g）（实例1）的无水磷酸三甲酯（20ml）悬浮液冷却（0℃）搅拌条件下用磷酰氯（2.44ml）处理，混合物0℃搅拌35分钟后冰水（60g）骤冷。加N－氢氧化钠水溶液将冷混合物调至pH2.5，然后送入炭柱（10g，DARCO），用水和乙醇－氨水洗脱。含单磷酸酯成分合并浓缩。所得溶液送入含25gDEAE Sephadex A－25（$HCO_3$－式）的柱中。用水（120ml）至0.1M $NH_4HCO_3$（240ml）的梯度，然后是0.2，0.3和4M $NH_4HCO_3$（分别为120，240，400ml）进行洗脱。合适成分合并后浓缩。剩余液用水（40ml）稀释后冻干而得标题化合物白色固体（1.37g）；$\lambda_{max}$（pH6缓冲液），271.0nm（$E^{1\%}_{1cm}$ 190）；$^1$H NMR（D2O）δ3.23（1H），3.55（1H），4.0－4.2（2H），5.43（1H），6.07（1H），6.33（1H），8.08（1H）。

（ii）（2R，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮和（2S，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮

将5'－核苷酸酶（来自crotalus atrox毒液）〔EC 3.1.3.5〕（60mg，17单位／mg）加入到（±）－顺式－4－氨基－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮，6'－二氢磷酸，铵盐（1.35g）的缓冲液（30ml，由甘油（526mg）和氯化镁（190mg）在水

（100ml）中制得）溶液中，混合物37℃保温2.5小时。再加酶（20ml），并再持续保温3.5小时。所得混合物送入DEAE Sephadex A－25（$HCO_3$－式）柱中。用水（160ml），0.1，0.2，0.3和0.4 M $NH_4HCO_3$（每次200ml）进行洗脱。含第一洗脱成分的各合适组分合并后蒸发，剩余物进行硅胶（60g，Merck 7734）柱色谱提纯，用氯仿，甲醇混合物洗脱。从甲醇－乙酸乙酯中分出的合适成分蒸发而得（2R，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮白色固体（0.30g）－〔α〕$D^{21}$＋137°（C. 1.04 MeOH）；$^1$H NMR（DMSO）δ 3.04（1H），3.40（1H），3.73（2H），5.18（1H），5.29（1H），5.73（1H），6.21（1H），7.19（2H），7.81（1H）。

从Sephadex柱中分出的含第二洗脱组分的合适成分合并后蒸发。剩余物溶于水（30ml）中。用碱性磷酸酯酶（用Escherichia coli制得）〔EC 3.1，3.1〕（1.5ml，416单位／ml）处理，然后37°保温1小时。蒸除溶剂后剩余物进行硅胶（60g，Merck 7734）提纯，用氯仿－甲醇混合物洗脱。从甲醇－乙酸乙酯中分出的合适成分蒸发而得（2S，顺式）－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮白色固体（0.32g）；〔α〕$D^{21}$－132°（C. 1.08 MeOH）；$^1$H NMR（DMSO）δ 3.04（1H），3.40（1H），3.73（2H），5.18（1H），5.29（1H），5.73（1H），6.21（1H），7.19（1H），7.8

（1H）。

实例4

（－）－顺式－4－氨基－1－（2－羟甲基－1，3－氧硫环戊烷－5－基）－（1H）－嘧啶－2－酮

（i）三个50ml营养肉汁（Oxoid Ltd）烧瓶均接种1铂环量Escherichia coli（ATCC23848），它是从Nutrient Agar板上刮下的。烧瓶250rpm摇动过夜后每一烧瓶用来在7l发酵罐中接种4l CDD培养基（谷氨酸，3g／l $MgSO_4$，0.2g／l；$K_2SO_4$，2.5g／l；NaCl，2.3g／l；$Na_2HPO_4\ 2H_2O$，1.1g／l；$NaH_2PO_4\ 2H_2O$，0.6g／l和胞嘧啶核苷，1.2g／l）。培养物进行发酵，其中750rpm，37℃，通气4l／min。生长24小时后细胞离心法（5000g，30分钟）收集起来，得72g湿重。再将细胞丸悬浮于300ml的20mM Tris HCl缓冲液（pH7.5）中并进行超声破碎（4×45秒）。离心法（30000g，30分钟）去除细胞碎屑并加入75%饱和硫酸铵使上层清液中的蛋白质沉淀。该沉淀离心法（30000g，30分钟）收集起来并将丸再悬浮于25ml HEPES缓冲液（100mM，pH7.0）中，其中含硫酸铵（75%饱和）。12000rpm离心分离30分钟而得酶溶液。上层清液去除后将丸溶于Tris HCl缓冲液（pH7.0；100mM）中，并使其达到原来的体积。

（ii）实例1的产品（115mg）溶于水（100ml）中并进行搅拌。加入酶溶液（0.5ml），持续加HCl（25mM）使混合物保持恒定pH。手性HPLC监控转化，表明底物的（＋）

对映体优先脱氨基。２２小时后，底物（＋）对映体（ＲＴ　１２.５分钟）完全去除，加浓氢氧化钠将溶液调至ｐＨ１０.５。

上面得到的溶液经过ＱＡＥ Sephadex（Ａ２５；Parmacia，３０Ｘ１.６ｃｍ）预平衡至ｐＨ１１的柱而加以洗脱。该柱用水（２００ml）后用ＨＣｌ（０.１Ｍ）洗涤。取出合适成分（４０ml）并用反相ＨＰＬＣ分析。含有底物未反应（－）对映体的成分５～１３综合后用ＨＣｌ调至ｐＨ７.５。含有脱氨基产品的成分４７用稀NaOH调至ｐＨ７.５。手性ＨＰＬＣ分析表明，该物料为混合物，由一种作主要成分的对映体（ＲＴ１０.２min）和另一种作为次要成分的对映体（ＲＴ８.５min）构成。

（ｉｉｉ）以更大规模重复上述步骤（ｉｉ）。实例１化合物（３６３mg）的２５０ml水溶液用步骤（ｉ）中制成的酶溶液（０.５ml）培育。１８和４７小时后再加等分量（０.５ml）酶。反应混合物搅拌７０小时，然后放置６４小时。手性ＨＰＬＣ分析表明，底物的（＋）对映体已完全脱氨基，所得溶液用NaOH调至ｐＨ１０.５。

上述溶液送到相同ＱＡＥ柱上，如同步骤（ｉ）进行洗脱。含剩余底物和脱氨基产品的成分２－６组合起来。含剩余底物（（－）对映体）的成分７－１３组合起来后调至ｐＨ７.５。含脱氨基产品的成分２５－２６组合后进行中和。

上述成分２－６再经ＱＡＥ柱洗脱。该第二柱分出的成分３－１１含未反应底物（（－）对映体）。成分７０含脱氨基产品。

（ｉｖ）第（ｉｉ）和（ｉｉｉ）步的再溶解底物成分组合后调至ｐＨ７.５。该溶液经过ＸＡＤ－１６（４０Ｘ２.４ｃｍ）洗脱，

其中充水。该柱用水洗涤，再用丙酮：水（1：4，V／V）洗脱。

含BCH189的（－）对映体的成分组合冻干得白色粉末（190mg）。

上述应用的HPLC法如下：

1．反相分析HPLC

柱：Capital Cartridge

Spherisorb ODS－2（5μM）

150×4.6mm

洗脱剂：二氢磷酸铵（50mM）＋5%MeCN

流速：1.5ml／min

检测：UV，270nm

保持时间：BCH189 5.5分钟

脱氨基BCH－189 8·1分钟

2．手性分析HPLC

柱：环键I乙酰基

250×4.6mm

洗脱剂：0.2%乙酸三乙胺（pH7.2）

流速：1.0ml／min

检测：UV，270nm

保持时间：BCH189 11.0和12.5分钟

脱氨基BCH－189 8.5和10.2分钟

（生物转化后12.5分钟监测峰值损失，10.2分钟产品收集）。

实施例 5

(-) -顺式-4-氨基-1-(2-羟甲基-1,3-氧硫环戊烷-5-基)-(1 H)-嘧啶 -2-酮

一铂环量从生长良好的营养琼脂板上刮下的E . coli B 细胞(ATCC32848)用来接种两个平底烧瓶,其中每个含 250ml 营养泡沫.培养物37°c培育18小时, 同时使瓶摆动 (250 rpm,移动5cm)。然后将其用于70 l发酵罐中用胞嘧啶核苷接种40L CDD 培养基。

发酵条件如下: 40L/min 冲气,750rpm搅拌, 温度37°c, 发酵罐中装有3个Rushton推进器。进行18小时发酵后用 Sharples连续离心分离机收集物料。细胞糊 (150g净重) -20°c冷冻后再分裂。

| CDD培养基 | g/L |
|---|---|
| L-古氨酸 | 3 |
| $MgSO_4$ | 0.2 |
| $K_2SO_4$ | 2.5 |
| NaCl | 2.3 |
| $Na_2HPO_4$ | 1.1 |
| $NaH_2PO_4$ | 0.6 |

用蒸馏水制成 。121°c灭菌30分钟。胞嘧啶核苷 (1.2g/L) 过滤灭菌并加料后接种。

冻细胞糊溶化后悬浮于 750ml 的 100mM Hepes (N-[2- 羟乙基]哌嗪-N'-[2-乙磺酸])缓冲液 (PH 7.5) (其中含有1mM 乙二铵四乙酸钠盐 )。让悬浮液经过 MantonGaulin 均化器 (7500 psi下操作) 而使细胞分裂。这样进行3次, 每次经过均化器后冷至大约5°c。均化物离心法澄清 (1400g,60分钟)。胞嘧啶核苷脱氨基酶活性吸附到 Q-琼脂糖凝胶柱上 (490mg床层体

积），已用含1mM-氯化钠的50mM 三（羟甲基 ）甲基胺（PH 7. 5 ）预平衡 。沉淀细胞物（210ml ）加入苯基-琼脂糖凝胶柱中（490ml床体积），已用含有3.2M 硫酸铵的缓冲液样品预平衡。结合酶用浓度梯度减少硫酸铵液洗脱 。含有胞嘧啶核苷脱氨基酶活性的成分然后用80% 硫酸铵沉淀。离心分离（1400g; 60分钟）后，丸粒再悬浮于54ml上述贮存于4° c 的上层清液中。

将6.2ml该溶液离心分离 （18000g，90分钟）并将丸粒溶于24ml的0 。5M磷酸钾缓冲液（PH7.5）。悬浮液用1M 磷酸钾缓冲液 （PH7.5）渗析过夜。残留部分（ 20ml ） 然后用等体积蒸馏水稀释。向 35ml 该溶液中加干燥的 Eupergit C珠（1g） 并让混合物室温下放置150-300小时 （由测试溶液中剩余脱氨基酶活性而确定 ）。固定酶用 100mM Tris/Hcl缓冲液(PH7.0)洗涤，缓冲液中含1mM EDTA, 1mM DTT, 0.5M NaCl 和500 ppm对羟基苯甲酸乙脂贮存缓冲液 ）.固定酶(2.7g净重) 贮4 c存于该缓冲液中，直到要求生物转化为止.

实施例1产品(3g)溶于500ml蒸馏水中，在 1L磁性搅拌烧瓶中进行. 32 c下固定PH进行生物转化。加1M 乙酸使PH保持恒定。净重1g 的固定酶珠用蒸馏水洗涤后再进行反应。转化过程由手性-HPLC监控，其中表明底物的（+） 对映体优先脱氨基。反应结束时（72小时），滤出酶珠，滤液用来分离要求的（-）.对映体。

反应混合物的PH用氨水（1M）调至 PH10.5， 溶液送入OH循环Duolite A11 超级树脂中（50ml；0.4床体积/小时）。树脂上尚存的任何 （-）对映体用0.04%氨水(2床层体积； 流速0.8床层体积/小时）洗涤而去除。

废液和洗涤液（600ml）的PH用浓硫酸调为PH7.0，溶液送入XAD16树脂中（50ml；流速1.4床层体积/小时）。柱用蒸馏水洗涤 （2.5床层体积、流速2床层体积/小时），而（-）对映体用丙酮：水（1:3）混合物洗脱（流速1.5床层体积/小时）。

大部分含（-）对映体的成分（4床层体积）用Buchi 蒸发器浓缩而得小体积后让滤液通过No.3玻璃烧结器 。过滤液冻干而得1。2g标题化合物，同于实例4所得化合物。

实例6

片剂配方

A．用普洛维顿（Providone）水溶液将各成分湿法造粒，干燥过筛、加硬脂酸镁并压制而得到以下配方。

| | mg／片 |
|---|---|
| （a）活性成分 | 250 |
| （b）乳糖B．P． | 210 |
| （c）普洛维顿B．P． | 15 |
| （d）淀粉甘醇酸钠 | 20 |
| （e）硬脂酸镁 | 5 |
| | 500 |

B．直接压制成以下配方，乳糖为直接压制类物料。

| | mg／片 |
|---|---|
| 活性成分 | 250 |
| 乳糖 | 145 |
| 阿维塞尔 | 100 |
| 硬脂酸镁 | 5 |
| | 500 |

C．（缓解配方）

用普洛维顿水溶液将各成分（如下）湿法造粒，干燥并筛分后加硬脂酸镁并压制而得该配方。

| | mg／片 |
|---|---|
| （a）活性成分 | 500 |
| （b）羟丙甲基纤维素 (Methocel K4M Premium) | 112 |
| （c）乳糖B. P. | 53 |
| （d）普洛维顿B. P. | 28 |
| （e）硬脂酸镁 | 7 |
| | 700 |

实例7

胶囊配方

将下列各成分混合后填入双组分硬明胶胶囊中，得到胶囊配方。

| | mg／片 |
|---|---|
| 活性成分 | 125 |
| 乳糖 | 72.5 |
| 阿维塞尔 | 50 |
| 硬脂酸镁 | 2.5 |
| | 250 |

实例8

注射液配方

活性成分

氢氧化钠溶液，0.1 Mg.s. 至约pH 11

蒸馏水 qs. 至10 ml

活性成分悬浮在一些水中（水可加热），用氢氧化钠将pH调为约11。配料再加水至要求体积并经无菌级膜过滤器过滤而进入10

ml 无菌玻璃管瓶中，用无菌瓶塞和外包装密封。

实例9

| | mg／栓剂 |
|---|---|
| 活性成分 | 250 |
| 硬脂肪B．P． | 1770 |
| | 2020 |

硬脂肪的五分之一最高45℃熔于蒸汽封锅中。活性成分过200μm筛后混入熔融基质中，其中采用高剪力搅拌器，直至达到均匀分散。混合物维持45℃，剩余硬脂肪加入悬浮液后搅拌，以保证均匀混合。全部悬浮体经过250μm不锈钢筛，其中持续进行搅拌，再让其冷至40℃。38℃－40℃下将2.02g混合物填入2ml合适的塑料模中。再让栓剂冷至室温。

实例10

生物活性

抗病毒活性

在以下细胞系中用3株HIV－1和1株HIV－2测定实例2化合物的抗病毒活性。

JM细胞，半成熟T－细胞系，从成淋巴细胞白血病患者体内分离出来，感染HIV－1株GB8。

C8166细胞，人T成淋巴细胞瘤细胞系，感染HIV－1株RF。

MT－4细胞，人T－细胞性白血病细胞系，感染HIV－1株RF。

CEM细胞，人T成淋巴细胞样细胞系，感染HIV－1株RF

和U455从.IV－2株ROD。

在C8166，JM和CEM细胞中抑制合胞体形成（Tockikura et al，Virology，164，542－546）而确定抗病毒活性，在MT－4细胞中抑制甲 转化（Baba et al；（1987） Biochem Biophys Res Commun.，142 128－134；Mossman（1983）J. Immun Meth；65，55－57）而确定抗病毒活性。也可通过分析在对映体存在和不存在时合成的HIVp24抗原量而确定抗病毒活性。

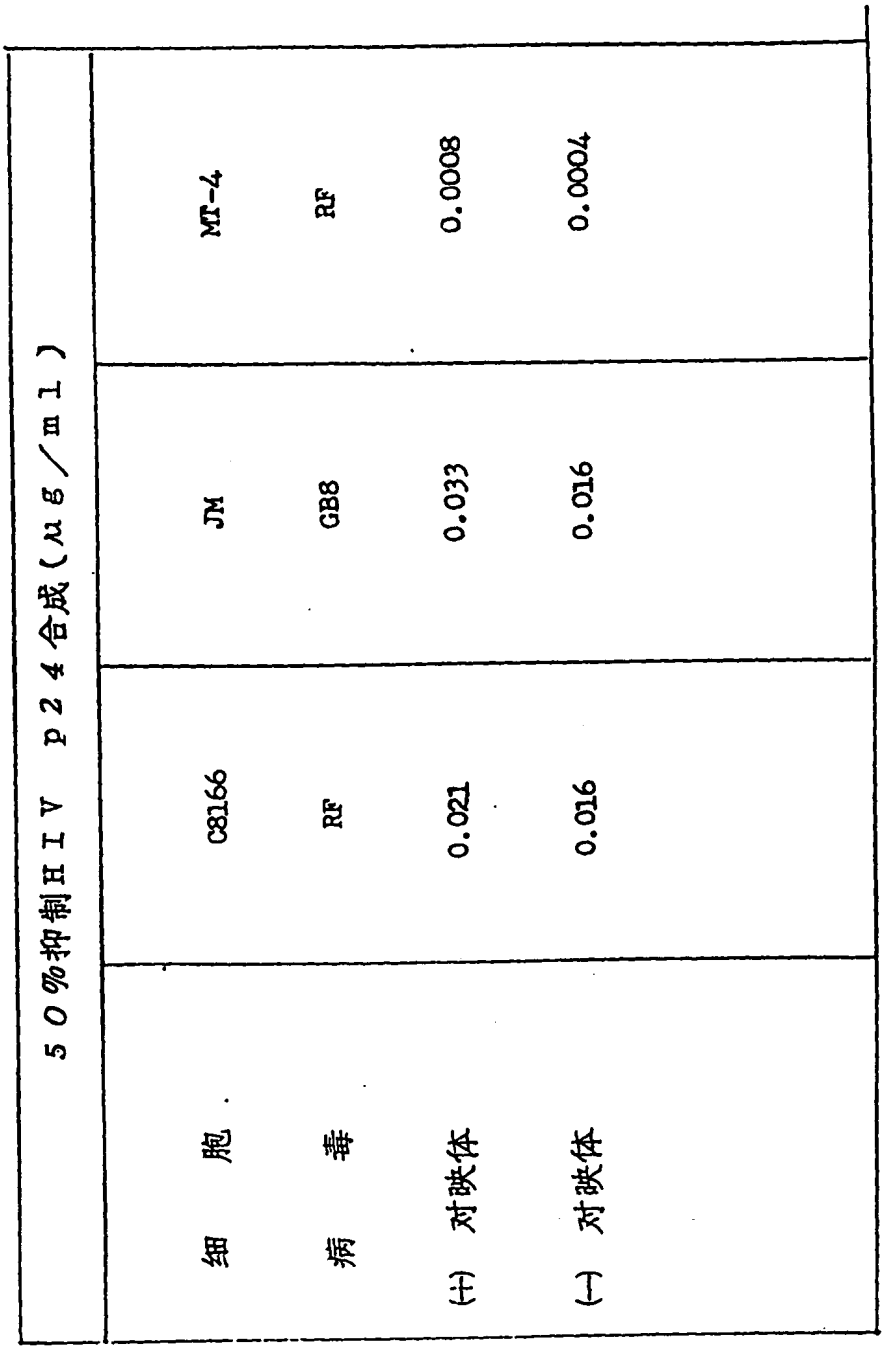
结果示于下表1和2。

表 1

| | 50%抗病毒活性（μg／ml） | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 试 验 | 甲臂 | 抑制合胞体形成 | | | | |
| 细 胞 | MT-4 | CEM | CEM | CEM | JM | C8166 |
| 病 毒 (HIV-1) | HIV-1 RF | HIV-2-ROD | HIV-1 RF | HIV-1 U455 | HIV-1GB8 | HIV-1 RF |
| (+)对映体 | 0.28 | 0.045 | 0.07 | 0.006 | 0.03 | 0.05 |
| (-)对映体 | 0.20 | 0.055 | 0.04 | 0.008 | 0.05 | 0.01 |

表 2

抑制HIV p24合成



| 细胞 / 病毒 | 50%抑制HIV p24合成(μg/ml) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | C8166 | JM | MT-4 | |
| | RF | GB8 | RF | |
| (+) 对映体 | 0.021 | 0.033 | 0.0008 | |
| (-) 对映体 | 0.016 | 0.016 | 0.0004 | |

B. 细胞毒性

在5株CD4细胞系：H9，JM，CEM，C8166和U937中测定实例2化合物，外消旋化合物（BCH－189，实例1）和两种对映体的50／50混合物的细胞毒性。

在96孔微滴定板中将试验化合物按顺序从100μg／ml稀释至0.3μg／ml（最终浓度）。在孔板中每一孔内接种$3.6\times10^4$细胞，其中包括无药对照组。37℃培育5天后，去除细胞悬浮体并在血细胞计数器中数出排除锥虫蓝的细胞数，从而确定活性细胞数。

结果列于表3。

表 3

细 胞 毒 性

| 化合物 | 50%细胞毒性（μg／ml） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | CEM细胞 | JM细胞 | H9细胞 | U937细胞 | C8166细胞 |
| (+) 对映体 | 1 | 1.5 | 2 | 4 | 35 |
| (−) 对映体 | >100 | 30 | >100 | >100 | >100 |
| BCH−189 | 3 | 3.5 | 8 | 15 | 90 |
| 1：1混合物 | 2.5 | ND* | ND | ND | ND |

ND＝不确定