(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

(43) 国际公布日
2014 年 1 月 3 日 (03.01.2014)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2014/000541 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 487/04 (2006.01) *A61P 31/18* (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01) *A61P 31/20* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2013/076066

(22) 国际申请日: 2013 年 5 月 22 日 (22.05.2013)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201210220153.8 2012 年 6 月 29 日 (29.06.2012) CN

(71) 申请人: **四川好医生攀西药业有限责任公司 (SICHUAN GOODDOCTOR PANXI PHARMACEUTICAL CO., LTD)** [CN/CN]; 中国四川省凉山彝族自治州西昌市机场路林庆华, Sichuan 615000 (CN)。
四川大学 (SI CHUAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段 24 号谢永美, Sichuan 610065 (CN)。

(72) 发明人: **谢永美 (XIE, Yongmei)**; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段 24 号, Sichuan 610065 (CN)。 **魏于全 (WEI, Yuquan)**; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段 24 号, Sichuan 610065 (CN)。 **李炯 (LI, Jiong)**; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段 24 号, Sichuan 610065 (CN)。 **耿福能 (GENG, Funeng)**; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段 24 号, Sichuan 610065 (CN)。

(74) 代理人: **成都希盛知识产权代理有限公司 (SISUN INTELLECTUAL PROPERTY AGENG CO., LTD.)**; 中国四川省成都市高新区创业路 16 号火炬大厦 1 栋 905 室武森涛, Sichuan 610041 (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, BN, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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。

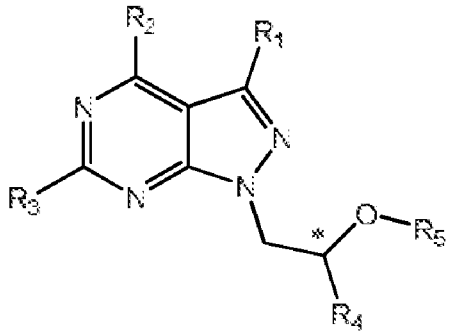
(84) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI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

根据细则 4.17 的声明:
— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
— 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则 4.17(iii))

[见续页]

(54) **Title**: ACYCLIC NUCLEOTIDE ANALOGUE, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND APPLICATION THEREOF

(54) **发明名称**: 无环核苷酸类似物及其制备方法和应用



(I)

(57) **Abstract**: The present invention relates to the technical field of chemically synthesized drugs, and in particular, to an acyclic nucleotide analogue, a preparation method therefor, and an application thereof in an antiviral drug. A technical problem to be solved by the present invention is to provide a novel acyclic nucleotide analogue, having a structure represented by formula (I). The acyclic nucleotide analogue of the present invention has an antiviral efficacy and provides a new choice for the development of antiviral drugs.

(57) **摘要**: 本发明属于化学合成药物技术领域，特别涉及无环核苷酸类似物及其制备方法和在抗病毒药物中的应用。本发明所要解决的技术问题是提供一类新的无环核苷酸类似物，结构如式（I）所示，本发明的无环核苷酸类似物具有抗病毒的药效，为抗病毒药物的开发提供新的选择。

WO 2014/000541 A1

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

无环核苷酸类似物及其制备方法和应用

技术领域

本发明属于化学合成药物技术领域，特别涉及无环核苷酸类似物及其制备方法和在抗病毒药物中的应用。

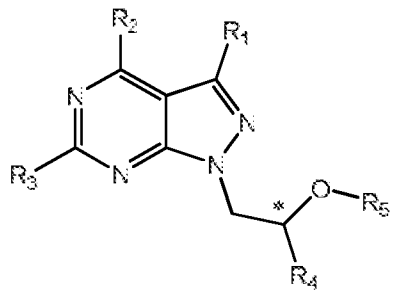
背景技术

病毒性肝炎和艾滋病等由病毒感染所致的疾病是严重威胁人类健康的重大疾病。国际上抗病毒药物的研究已经取得重要的进展，发现了一些临床有效的抗病毒药物，如干扰素、拉米夫定、替比夫定、克拉夫定、恩替卡韦、阿德福韦酯、替诺福韦酯、齐多夫定、司他夫定、奈韦拉平、茚地那韦和伐昔洛韦等。开环核苷类化合物作为核苷类抗病毒药物的重要一族，具有低毒、耐受性好和广谱抗 DNA 病毒活性，对耐药菌株有强烈的杀伤作用，在抗病毒治疗领域占有重要地位，其中以替诺福韦酯和阿德福韦酯为代表的无环核苷酸类抗病毒药是近年研究的热点（Tang YB, Peng ZG, Liu ZY, et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17(22): 6350-6353）。研究表明，阿德福韦二匹伏酯和替诺福韦酯富马酸盐（TDF）均对拉米夫定耐药株有效，而替诺福韦酯对 DNA 聚合酶的抑制常数是阿德福韦的 5 倍。在体外，TDF 可有效对抗多种病毒，包括那些对核苷类逆转录酶抑制剂耐药的毒株。替诺福韦酯分别于 2001 年和 2008 年被 FDA 批准上市，用于治疗 HIV 和 HBV 感染，近年研究发现，替诺福韦酯对 HCV 感染也有良好的治疗作用（Tuma P, Vispo E, Barreiro P, Soriano V. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008, 26(Suppl 8): 31-37）。与其他抗逆转录病毒药物一样，TDF 也会引起病毒耐药。在体外 MT-2 细胞株中逐渐增加 TDF 浓度，会产生能在 2μM TDF 中存活的病毒株。此外，替诺福韦酯能引起急性肾功能衰竭，Fanconi 综合症，蛋白尿或肾小管坏死等。

综上所述，尽管开环核苷类药物已经得到长足的发展，但仍然存在耐药性和毒副作用大等问题，因此，探索和开发新的抗病毒药物仍然是一项紧迫的研究课题。

发明内容

本发明所要解决的第一个技术问题是提供一类新的无环核苷酸类似物，结构如式 I 所示：



I

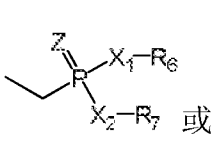
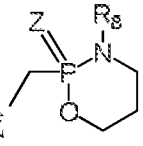
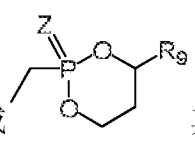
其中

R_1 为氢、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、腈基、氟代甲基中的一种；

R_2 为氢、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、腈基，氟代甲基、直链或支链或环状 C_1～C_6 烷基氨基、直链或支链 C_1～C_6 烷氧基、取代芳香基氧基或取代芳香基硫基中的一种；

R_3 为氢、氘、卤素、氨基、硝基、腈基、氟代甲基、直链或支链 C_1～C_6 烷基氨基中的一种；

R_4 为氢、氘、环丙基、直链或支链或环状 C_1～C_6 烷基、氟代甲基、羟甲基中的一种；

R_5 为  或  或  其中，

Z 为 O、S 或 Se；X_1、X_2 独立的为 O、S 或 NH；

R_6、R_7 独立地为氢、氘、烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R_6、R_7 独立地是被 1－3 个选自烷基氨基、烷基氨基烷基、二烷基氨基烷基、二烷基氨基、羟基、氧代、卤素、氨基、烷硫基、烷氧基烷基、芳氧基、芳氧基烷基、芳氧基氧基、芳基烷氧基烷基、卤代烷基、硝基、硝基烷基、叠氮基、叠氮基烷基、烷酰基、烷酰基烷基，羧基或烷酰基氨基的取代基取代的烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基；

R_8 为氢、氘、芳香基、直链或支链 C_1-C_6 烷基、直链或支链 C_1-C_6 卤代烷基、苄基。

R_9 为直链或支链或环状 C_1～C_6 烷、取代芳香基中的一种。

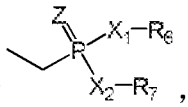
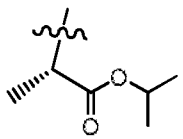
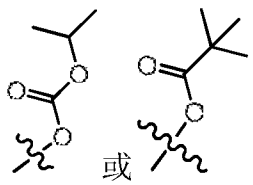
作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_1 为氢、氘、卤素、氨基、腈基；优选的是，氢、氘、卤素，最优的是氢和氘。

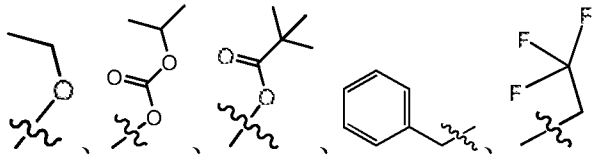
作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_2 为氢、氘、卤素、氨基、羟基；优选的是氢、氨基、羟基；最优的是氨基。

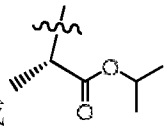
作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_3 为氢、氘、卤素、氨基；优选的是氢和卤素。

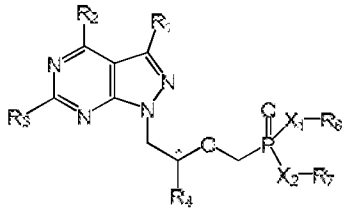
作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_4 为氢、氘、甲基或羟甲基；优选的是氢、氘、甲基；最优的是甲基。

作为本发明优选的方案是，上述化合物中，Z 为 O、S 或 Se；优选为 O 和 S；最优选为 O。

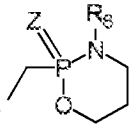
作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_5 为  ，R_6、R_7 独立地为氢、氘、  、带有取代基的 C_1～C_4 烷基；所述取代基为-H、卤素、芳香基、-OH、$-CF_3$、$-OCF_3$、  ；

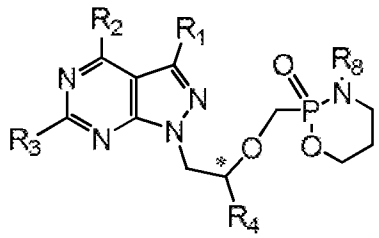
进一步优选的是，R_6 、R_7 独立地为氢、氘、  、 、 、

或  ；优选 Z 为 O，结构式如下：

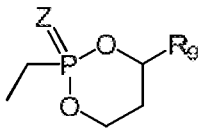


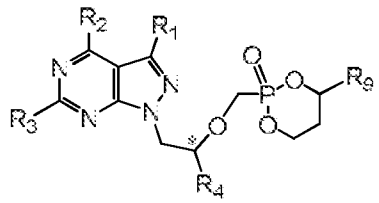
II

作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_5 为  ；R_8 为氢、氘、芳香基、直链或支链 C_1-C_6 烷基、直链或支链 C_1-C_6 卤代烷基、苄基，更优选的是，芳香基；优选 Z 为 O，结构式如下：



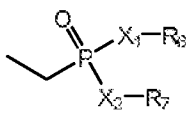
III

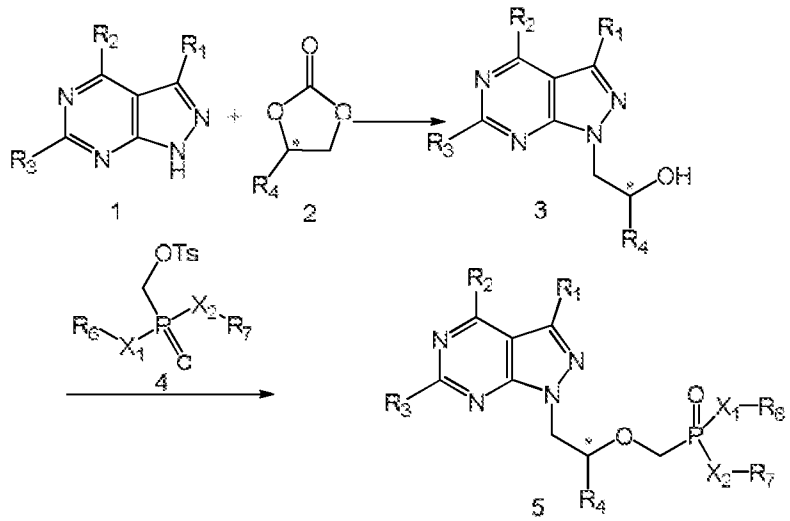
作为本发明优选的方案是，上述化合物中，R_5 为  ，R_9 为直链或支链或环状 C_1～C_6 烷、取代芳香基中的一种；优选为取代芳香基；优选 Z 为 O，结构式如下：



IV 。

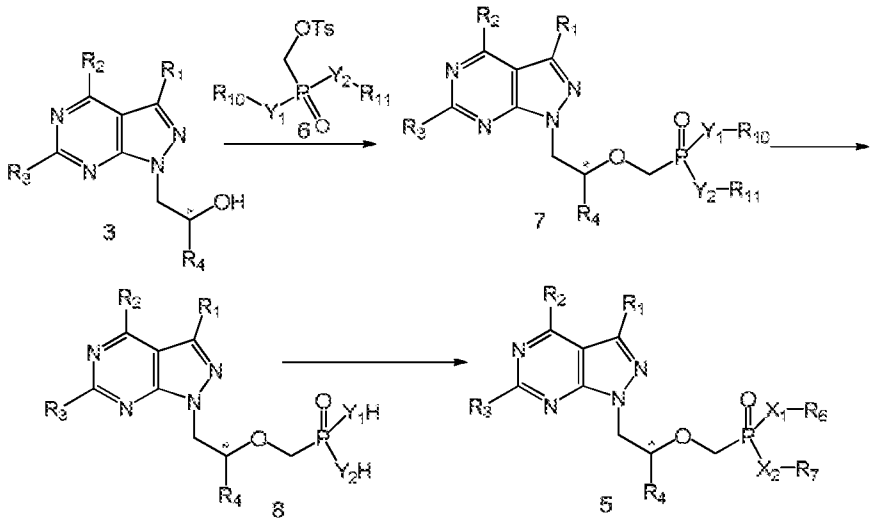
本发明还提供了式 I 所示无环核苷酸类似物的制备方法：

当 R_5 为  时，路线如下所示：

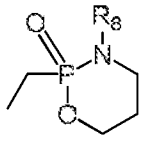


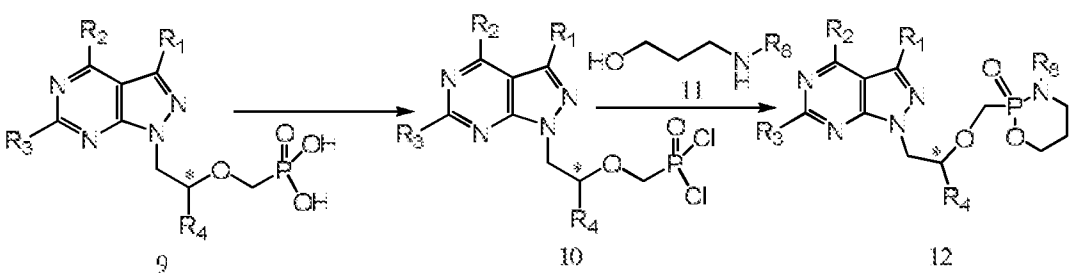
化合物 1 和化合物 2 在碱性条件下缩合，得到化合物 3，化合物 3 和化合物 4 在碱性条件下发生烷基化反应直接得到化合物 5；或

化合物 3 先和化合物 6 反应得到化合物 7，然后脱保护得到化合物 8，化合物 8 与卤代烃、酚类或胺类反应，得到化合物 5：

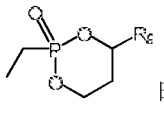


R_{10}、R_{11} 独立的为烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基；X_1、X_2、Y_1、Y_2 独立的为 O、S 或 NH；

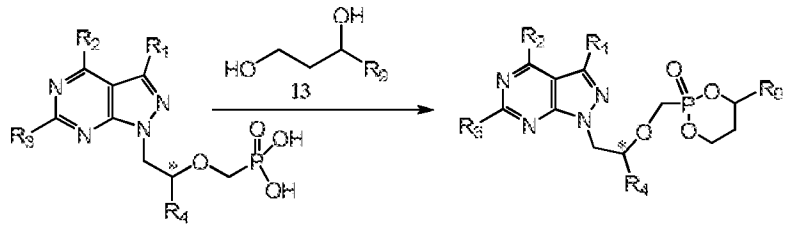
当 R_5 为  时，路线如下所示：



化合物 9 与酰氯化试剂反应得到膦酰氯化合物 10，化合物 10 在有机碱性条件下与化合物 11 反应，得到化合物 12；

当 R_5 为  时，路线如下所示：

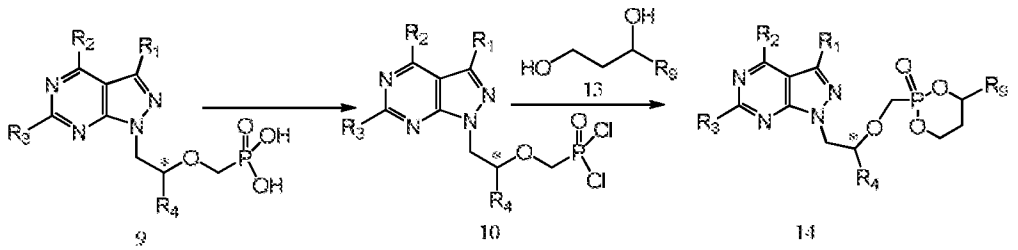
路线 A：



9 14

在溶剂中加入化合物 9 和化合物 13，有机碱和脱水剂反应后，加入乙酸乙酯，用水，碳酸氢钠，饱和食盐水洗涤，干燥，过滤，减压浓缩，柱层析得到化合物 14；

路线 B：



9 10 14

化合物 9 与酰氯化试剂反应得到膦酰氯化合物 10，化合物 10 在有机碱性条件下与化合物 13 反应，得到化合物 14。

本发明还提供了上述无环核苷酸类似物在制备治疗慢性乙型肝炎、丙型肝炎或艾滋病中的用途。

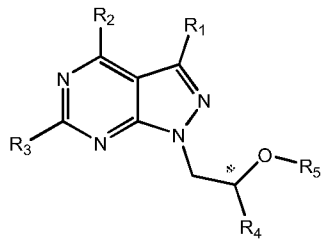
药物组合物，是由活性成分添加药物常用辅料制备而成；所述活性成分为上述无环核苷酸类似物的可药用盐、水合物或它们的溶剂合物中的至少一种；

所述化合物的药用盐为无机盐或有机盐，如盐酸盐、硫酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐、磺酸盐等。

本发明的无环核苷酸类似物具有抗病毒的药效，为抗病毒药物的开发提供新的选择。

具体实施方式

本发明所要解决的第一个技术问题是提供一类新的无环核苷酸类似物，结构如式 I 所示：



I

其中

R_1 为氢、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、腈基、氟代甲基中的一种；

优选的是氢、氘、卤素、氨基、腈基，更优选的是氢、氘、卤素，最优的是氢和氘。

R_2 为氢、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、腈基，氟代甲基、直链或支链或环状 C_1～C_6 烷基氨基、直链或支链 C_1～C_6 烷氧基、取代芳香基氧基或取代芳香基硫基中的一种；

优选的是氢、氘、卤素、氨基、羟基，更优选的是氢、氨基、羟基，最优的是氨基。

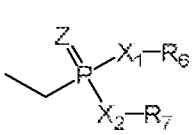
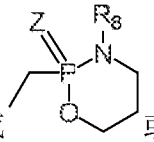
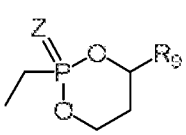
R_3 为氢、氘、卤素、氨基、硝基、腈基、氟代甲基、直链或支链 C_1～C_6 烷基氨基中的一种；

优选的是氢、氘、卤素、氨基，更优选的是氢和卤素。

R_4 为氢、氘、环丙基、直链或支链或环状 C_1～C_6 烷基、氟代甲基、羟甲基中的一种；

优选的是氢、氘、甲基或羟甲基，更优选的是氢、氘、甲基，最优的是甲基。

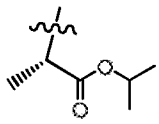
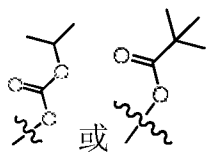
*表示化合物可以是消旋体，R 型或 S 型。

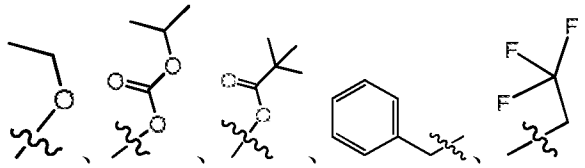
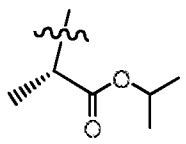
R_5 为  或  或  其中，

X_1、X_2 独立的为 O、S 或 NH；

Z 为 O、S 或 Se；优选为 O 和 S；最优选为 O；

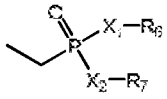
R_6、R_7 独立地为氢、氘、烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R_6、R_7 独立地是被 1—3 个选自烷基氨基、烷基氨基烷基、二烷基氨基烷基、二烷基氨基、羟基、氧代、卤素、氨基、烷硫基、烷氧基烷基、芳氧基、芳氧基烷基、芳氧基氧基、芳基烷氧基烷基、卤代烷基、硝基、硝基烷基、叠氮基、叠氮基烷基、烷酰基、烷酰基烷基，羧基或烷酰基氨基的取代基取代的烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基。

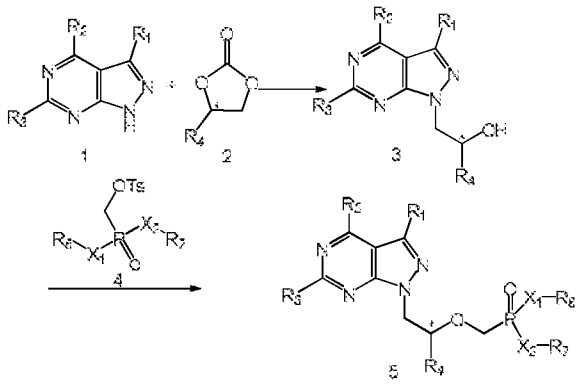
优选的是，R_6、R_7 独立地为氢、氘、、带有取代基的 C_1～C_4 烷基；所述取代基为-H、卤素、芳香基、-OH、-CF_3、-OCF_3、 或 。

进一步优选的是，R_6 、R_7 独立地为氢、氘、、 。

R_8 为氢、氘、芳香基、直链或支链 C_1-C_6 烷基、直链或支链 C_1-C_6 卤代烷基、苄基。

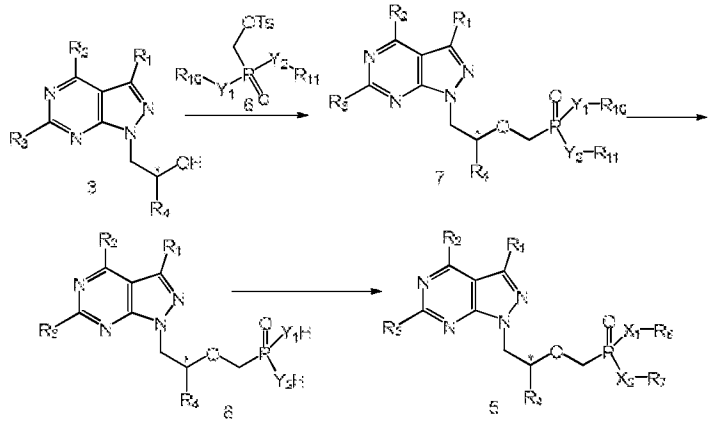
R_9 为直链或支链或环状 C_1～C_6 烷、取代芳香基中的一种；优选为取代芳香基。

当 R_5 为  时，式 I 所示无环核苷酸类似物的制备方法，路线如下所示：



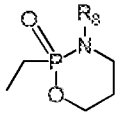
化合物 1 和化合物 2 在碱性条件下缩合，得到化合物 3，化合物 3 和化合物 4 在碱性条件下发生烷基化反应直接得到化合物 5。

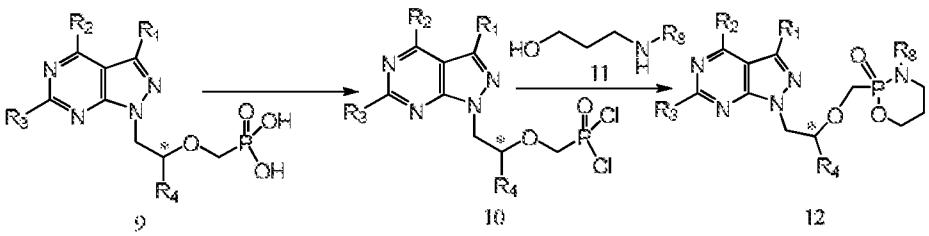
进一步的，化合物 3 可以先和简单易得的原料化合物 6 反应得到化合物 7，然后脱保护得到化合物 8，化合物 8 在一定的条件下与卤代烃、酚类或胺类反应，得到化合物 5。



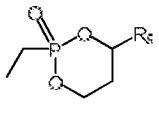
R_{10}、R_{11} 独立的为烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基。

X_1、X_2、Y_1、Y_2 独立的为 O、S 或 NH。

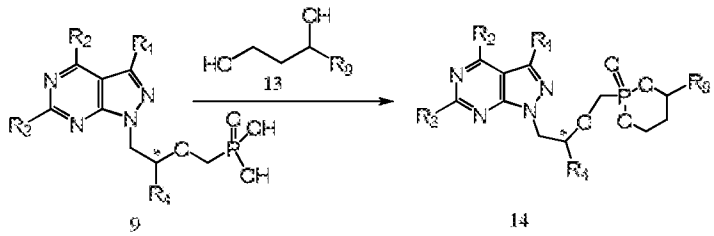
当 R_5 为  时，式 I 所示无环核苷酸类似物的制备方法，路线如下所示：



化合物 9 与酰氯化试剂反应得到膦酰氯化合物 10，化合物 10 在有机碱性条件下与化合物 11 反应，得到化合物 12；

当 R_5 为  时，式 I 所示无环核苷酸类似物的制备方法，路线如下所示：

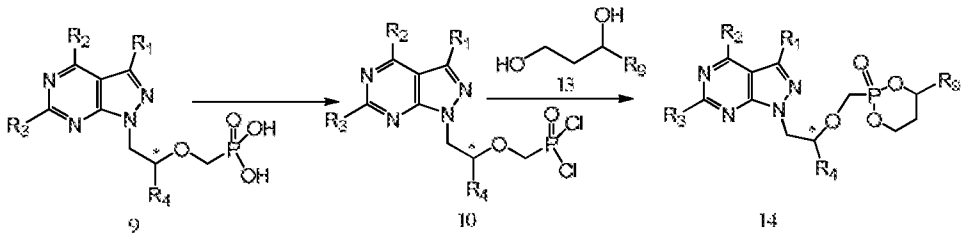
路线 A：



9 14

在溶剂中加入化合物 9 和化合物 13，有机碱和脱水剂，反应一定时间后，加入乙酸乙酯，用水，碳酸氢钠，饱和食盐水洗涤，干燥，过滤，减压浓缩，柱层析得到化合物 14。反应溶剂选自 N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、二甲基亚砜、N-甲基吡咯烷酮等；有机碱选自 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯、4-二甲氨基吡啶、N,N-二异丙基乙胺、三乙胺等；脱水剂选自二环已基碳二亚胺(DCC)、N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIC)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)、HATU-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯（HATU）、1H-苯并三唑-1-基氧三吡咯烷基六氟磷酸盐（PyBOP）、N,N'-羰基二咪唑(DCI)等。

路线 B：



9 10 14

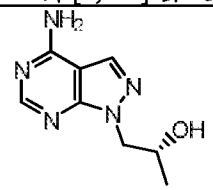
化合物 9 与酰氯化试剂反应得到膦酰氯化合物 10，化合物 10 在有机碱性条件下与化合物 13 反应，得到化合物 14。

本发明还提供式 I 所示无环核苷酸类似物在治疗慢性乙型肝炎、丙型肝炎或艾滋病中的用途。

药物组合物，是由活性成分添加药物常用辅料制备而成；所述活性成分为式 I 所示化合物的可药用盐、水合物或它们的溶剂合物中的至少一种。

所述化合物的药用盐为无机盐或有机盐，如盐酸盐、硫酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐、磺酸盐等。

实施例 1 （R）-1-（2-羟丙基）-4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶的制备

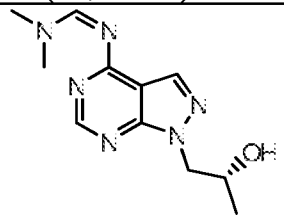


在 250 mL 圆底烧瓶中加入 5.26 g 4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶，再加入 200 mL DMF 和 83 mg 氢氧化钠，将反应液加热到 140℃，缓慢逐滴加入 3.90 mL R-碳酸丙烯酯，加完后

140℃反应 16 小时。TLC（DCM:MeOH= 8:1）检测至反应完全。减压蒸馏除去溶剂，硅胶柱层析分离，得到白色固体 5.55 g，收率为 74.7%。

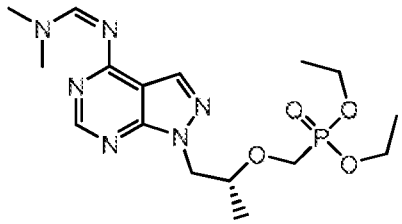
^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 Hz) δ 8.16 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.63 (s, 2H), 4.28-4.22 (m, 1H), 4.13 (d, 2H, J=5.6 Hz), 3.37 (s, 1H), 1.03 (d, 3H, J=5.6 Hz)。

实施例 2 （R）-N4-二甲氨基亚甲基-1 - (2-羟丙基) -吡唑并[3,4-d]嘧啶的制备



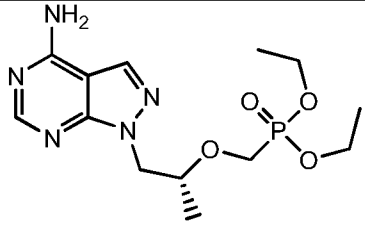
在 100 mL 烧瓶中，加入 11.24 g (R) - 1 - (2-羟丙基) -4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶、23.5 mL N，N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛（DMF-DMA），再加入 50 mL 氯仿。氮气保护，室温搅拌过夜。TLC 检测（DCM:MeOH= 9:1）至反应完全。减压蒸馏除去溶剂，得到淡黄色油状物，硅胶柱层析分离，得到白色固体 11.4g，收率为 78.9%。

实施例 3 （R）-N4-二甲氨基亚甲基-1- [2-二（乙基膦酰甲氧基）丙基] -吡唑并[3,4-d]嘧啶的制备



在 500 mL 烧瓶中，加入 11.4 g （R）-N^4-二甲氨基亚甲基-1 - (2-羟丙基) -吡唑并[3,4-d]嘧啶和 14.1 mL 对甲苯磺酰氧甲基膦酸二乙酯，然后加入 300mL 甲苯，冰盐浴下加入 5.51g NaH。氮气保护，室温搅拌过夜。TLC 检测（DCM:MeOH= 10:1）至反应完全。减压蒸馏除去溶剂，将固体溶解于 100ml 二氯甲烷，搅拌下逐滴滴加冰乙酸，调节 pH 至 8-9。用二氯甲烷萃取三次，无水硫酸镁干燥，减压蒸馏，得到黄色油状物。硅胶柱层析分离，得到白色固体 11.01g，收率为 60.2%。^{1}HNMR ($CDCl_3$, 400Hz) δ 8.79 (s,1H), 8.44(s,1H), 8.05(s,1H), 4.53-4.47(m,1H), 4.29-4.25(m,1H), 4.10-4.05(m,1H), 4.00-3.86(m,4H), 3.71-3.57(m,2H), 3.15(d,6H,J=9.2Hz), 1.19-1.12(m,9H)。

实施例 4 （R）- 1- [2-二（乙基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶的制备

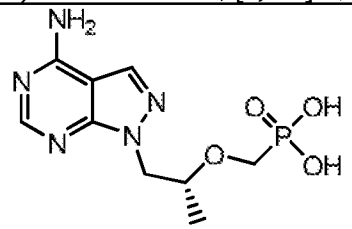


在 100mL 圆底烧瓶中，加入 2.12g （R）-N^4-二甲氨基亚甲基-1- [2-二（乙基膦酰甲氧基）丙基] -吡唑并[3,4-d]嘧啶、50mL 80%的醋酸，加热回流 2 小时。TLC 检测（DCM:MeOH= 10:1）至反应完全。减压蒸馏除去溶剂，得到淡黄色油状物，加入 20mL 水、30mL 乙酸乙酯，三乙胺调节 pH 至 7。用乙酸乙酯萃取三次，饱和氯化钠洗有机层。

无水硫酸钠干燥，抽滤，减压蒸馏，得到淡黄色固体。硅胶柱层析分离，得到白色固体 1.74g，收率为 95%。

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400Hz) δ8.35(s,1H), 8.01(s,1H), 7.52(s,2H), 4.58-4.53 (m,1H), 4.36-4.331(m,1H), 4.17-4.13(m,1H), 4.09-3.96(m,4H), 3.81-3.65(m,2H), 1.27-1.21 (m,9H)。

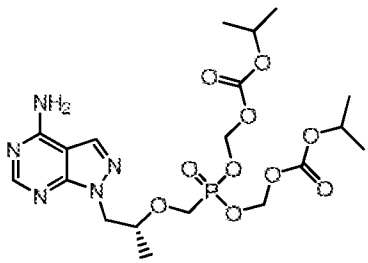
实施例 5　(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)- 4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶的制备



在 100mL 圆底烧瓶中，加入 9.18g （R）- 1- [2-二（乙基膦酰甲氧基）丙基] -4一氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶和 50mL 乙腈。搅拌下加入 17mL 三甲基溴硅烷。室温搅拌反应过夜。TLC 检测（DCM:MeOH= 10:1）至反应完全。减压蒸馏除去溶剂，得到淡黄色固体。加入 10mL 水溶解，pH 约为 1，加入氨水调节 pH 值 8-9，减压蒸馏。先用阳离子交换树脂分离，用水洗脱至流出液为中性后换 10%氨水洗脱出产品，减压蒸馏得白的固体 6.3g。再用阴离子交换树脂分离，用水洗脱至流出液为中性换 10%冰醋酸洗脱除产品，减压蒸馏蒸馏，得白色固体 3.46g。总收率为 52.3%。

^{1}H NMR (DMSO-d_6,400Hz) δ10.27 (s,2H), 8.41(s,1H), 8.05(s,1H), 8.25(d,2H,J=8.8Hz), 4.43-4.25(m,2H), 4.03-3.99(m,1H), 3.50(d, 2H, J=9.2Hz), 1.07 (d,3H,J=6.4Hz)。

实施例 6　(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)－4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶－二(异丙氧羰基氧甲基)酯的制备



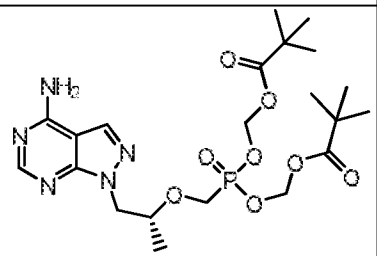
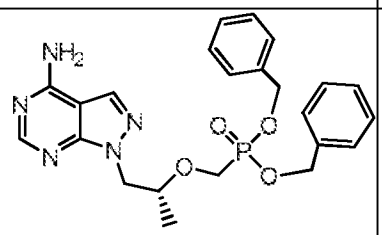
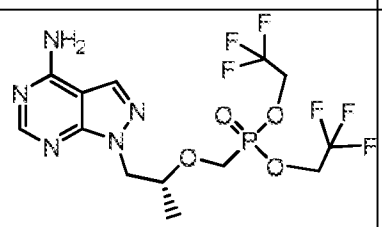
在 10mL 烧瓶中加入 200mg　(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)- 4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶、3mL N-甲基吡咯烷酮（NMP），反应体系加热至 45℃，加入 0.282g 三乙胺（TEA），待固体全部溶解后，加入 0.225g 四丁基溴化铵（TBAB），升温至 50℃，加入 0.531g 氯甲基异丙基碳酸酯（9），在该温度下反应 4 小时。TLC 检测（DCM:MeOH= 10:1）至反应完全。冷却至室温，加入 40mL 乙酸乙酯、20mL 水，分出有机层，水层用乙酸乙酯洗三次（15mL×3）。合并有机层，用饱和氯化钠洗，无水硫酸钠干燥，抽滤，减压蒸馏，得到淡黄色固体。硅胶柱层析分离，得到白色固体 329mg，收率为 91%。

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 Hz) δ 8.385 (s, 1H), 7.945 (s, 1H), 5.730 (s, 2H),5.547 (m, 4H), 4.996-4.888(m, 4H), 4.569-4.512 (m,2H), 4.387 (m,2H), 4.158-4.097 (m,1H), 1.316 (d,12H, J=6.4Hz), 1.269 (d,3H, J=8.8Hz)。

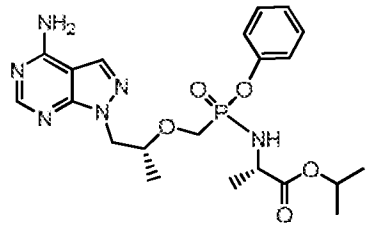
实施例 7－9

除卤代烃不同外，化合物投料比和其他操作与实施例 6 相同，得到化合物见表 1。

表 1

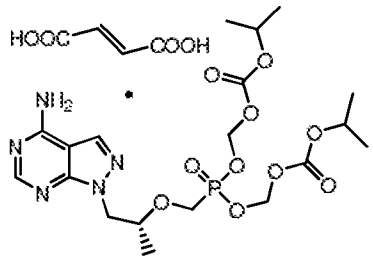
化合物名称	收率（%）	结构式	^{1}H NMR
1-[2-[双(新戊酰氧基)甲氧基]磷酰甲氧基] 丙基-4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶	87		^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 Hz) δ 8.35 (s, 1H), 7.98 (s,1H),7.16 (s,2H) 5.63-5.54 (m,4H), 4.57-4.51 (m, 1H), 4.37-4.33 (m,1H), 4.16-4.12 (m,1H), 3.88-3.76 (m, 2H),1.25 (d, 3H,J=4 Hz), 1.22 (d,18H, J= 11.6 Hz)
（R）-1- [2-二（苄基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶	75		^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 Hz) δ 8.34(s, 1H), 7.86(s,1H), 7.38-7.26 (m, 12H), 5.55 (s, 2H), 4.98-4.91 (m, 4H), 4.55-4.50 (m, 1H), 3.83-3.77 (m, 2H), 1.20 (d,3H, J=6.4Hz)
（R）-1- [2-二（(2,2,2-三氟乙基)膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶	84		

实施例 10 1- [(R)-2-[[(S)-[[(S)-1-(异丙氧羰基)乙基]氨基]苯氧基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶的制备



取 2.87g(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)- 4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶，1.88g 苯酚和 20ml N-甲基吡咯烷酮，加热到 80℃，然后加入 1.7ml 三乙胺。将 3.4g 二环己基碳二亚胺溶解于 10ml N-甲基吡咯烷酮，滴加到上面的溶液中，然后回流反应 20 小时，冷却，过滤除去沉淀，浓缩干后柱层析，得到 2.5g 中间体。在中间体中加入 20ml 乙腈，低于 40℃下加入 2ml 氯化亚砜，然后 75℃搅拌直到固体溶解，反应完成后，浓缩干，加入 30ml 二氯甲烷，冷却到－20℃，将 1.8g L-丙氨酸异丙酯溶解于 20ml 二氯甲烷，滴加到反应体系，然后加入 2ml 三乙胺，升到室温。反应完成后，用碳酸氢钠溶液洗涤溶液，硫酸钠干燥，浓缩干，柱层析，得到 1.9g 化合物 1- [(R)-2-[[(S)-[[(S)-1-(异丙氧羰基)乙基]氨基]苯氧基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶，总收率 39.9%。

实施例 11 (R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)－4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶－二(异丙氧羰基氧甲基)酯富马酸盐

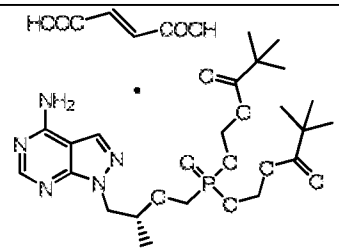
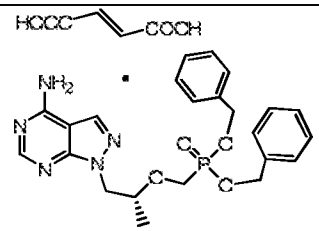
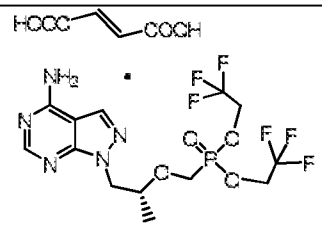
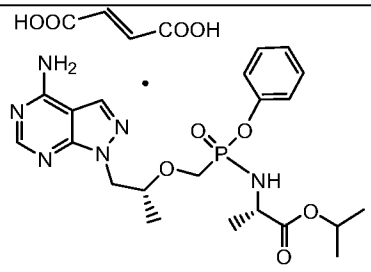


在 10mL 圆底烧瓶中，加入 1.04g 实施例 6 制备的化合物(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)－4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶－二(异丙氧羰基氧甲基)酯、4mL 异丙醇、255.2mg 富马酸。加热至 50℃，搅拌反应 2 小时。缓慢降温至 0℃，析出白的固体。抽滤，用异丙醇重结晶，得到 1.1g 目标产物(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)－4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶－二(异丙氧羰基氧甲基)酯富马酸盐，收率 86.5%。

实施例 12－15

根据实施例 11 的操作，将实施例 7－10 制备的化合物与富马酸在异丙醇中反应，得到化合物见表 2。

表 2

化合物名称	结构式	收率（%）
1-[2-[双(新戊酰氧基)甲氧基]磷酰甲氧基]丙基-4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐		82.1
（R）-1- [2-二（苄基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐		75.3
（R）-1- [2-二（(2,2,2-三氟乙基)膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐		81.7
1- [(R)-2-[[(S)-[[(S)-1-(异丙氧羰基)乙基]氨基]苯氧基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐		94.6

试验例 1 体外抗 HBV 活性

a. 对 HBV DNA 的抑制作用

取对数生长期的 HepG2.2.15 细胞，用含 10%胎牛血清的 DMM 培养液调细胞浓度为 1×10^4/ml，于 96 孔培养板中加入 100μL 单细胞悬液，于 37℃，5%CO_2 条件下培养，细胞长至汇合时实验组加入不同浓度的化合物 100μL/孔。阳性对照组加不同浓度的替比夫定，继续培养。于 3 天和 6 天取出培养液，同时补充同等体积的药液，于第 9 天取出培养液，置于－20℃待用。同时补充同等体积的培养基，用于测定 MTT，考查各实验浓度下药物是否对细胞有毒性。

b. 细胞毒性实验

表 3 化合物对 HBV DNA 的抑制作用

化合物	对 HepG 2.2.15 细胞分泌 HBV DNA 的 EC_{50}（μM）	对 HepG 2.2.15 细胞的 CC_{50}（μM）	选择指数
(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)- 4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶	1.8	65.8	37
(R)-1-(2-膦酸甲氧基丙基)－4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶－二(异丙氧羰基氧甲基)酯富马酸盐	0.032	436.1	13628
1-[2-[双(新戊酰氧基)甲氧基]磷酰甲氧基] 丙基-4-氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐	0.51	852.6	1671
（R）-1- [2-二（苄基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐	`1.25	2019.1	1615
（R）-1- [2-二（(2,2,2-三氟乙基)膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐	0.17	920.4	5414
1- [(R)-2-[[(S)-[[(S)-1-(异丙氧羰基)乙基]氨基]苯氧基膦酰甲氧基）丙基] -4－氨基吡唑并[3,4-d]嘧啶富马酸盐	0.008	527.4	65925
替诺福韦酯	0.033	305.5	9257

除药物浓度不同外，其他操作步骤与 a 部分相同，用于测定药物对细胞的半数毒性浓度（CC_{50}）。结果如表 3 所示：

药物抗 HBV 活性用选择指数(Selectivity Index，SI)进行评价，SI 根据下式计算：

$$SI=CC_{50}/EC_{50}$$

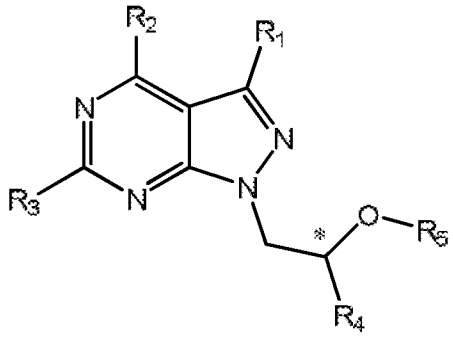
当 SI＞2 时，表明药物有效低毒；当 1≤SI≤2 时，提示药物有效有毒；当 SI＜1 时，则表明药物有毒性作用。SI 值越大，表明化合物对 HBV 的抑制作用越强，细胞毒性越小。

由表 3 中结果可知，所得核苷类似物对 HBV2.2.15 细胞分泌 HBV DNA 具有良好的抑制作用，选择指数均远大于 2，且其中部分化合物的选择指数远大 于上市药物替诺福韦酯的选择指数。

本发明通过实验得出实施例制备得到的化合物具有较好的抗乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、艾滋病病毒和疱疹病毒等效果，具有较好的应用前景。

权利要求书

1、无环核苷酸类似物，其结构式如式Ⅰ：



Ⅰ

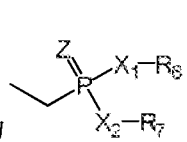
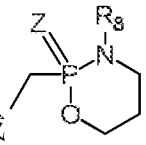
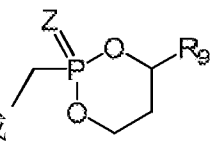
其中

R_1 为氢、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、腈基、氟代甲基中的一种；

R_2 为氢、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、腈基，氟代甲基、直链或支链或环状 C_1～C_6 烷基氨基、直链或支链 C_1～C_6 烷氧基、取代芳香基氧基或取代芳香基硫基中的一种；

R_3 为氢、氘、卤素、氨基、硝基、腈基、氟代甲基、直链或支链 C_1～C_6 烷基氨基中的一种；

R_4 为氢、氘、环丙基、直链或支链或环状 C_1～C_6 烷基、氟代甲基、羟甲基中的一种；

R_5 为  或  或  其中，

Z 为 O、S 或 Se；X_1、X_2 独立的为 O、S 或 NH；

R_6、R_7 独立地为氢、氘、烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R_6、R_7 独立地是被 1－3 个选自烷基氨基、烷基氨基烷基、二烷基氨基烷基、二烷基氨基、羟基、氧代、卤素、氨基、烷硫基、烷氧基烷基、芳氧基、芳氧基烷基、芳氧基氧基、芳基烷氧基烷基、卤代烷基、硝基、硝基烷基、叠氮基、叠氮基烷基、烷酰基、烷酰基烷基，羧基或烷酰基氨基的取代基取代的烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基；

R_8 为氢、氘、芳香基、直链或支链 C_1-C_6 烷基、直链或支链 C_1-C_6 卤代烷基、苄基；

R_9 为直链或支链或环状 C_1～C_6 烷、取代芳香基中的一种。

2、根据权利要求 1 所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：R_1 为氢、氘、卤素、氨基、腈基；优选的是，氢、氘、卤素，最优的是氢和氘。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：R_2 为氢、氘、卤素、

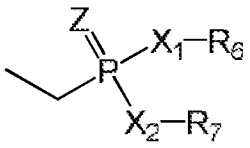
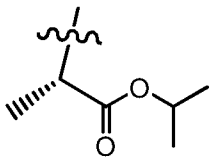
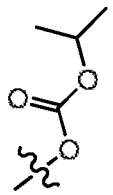
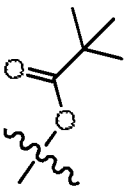
氨基、羟基；优选的是氢、氨基、羟基；最优的是氨基。

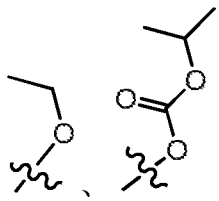
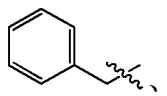
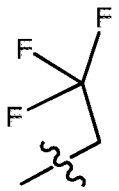
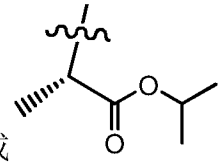
4、根据权利要求 1-3 任一项所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：R_3 为氢、氘、卤素、氨基；优选的是氢和卤素。

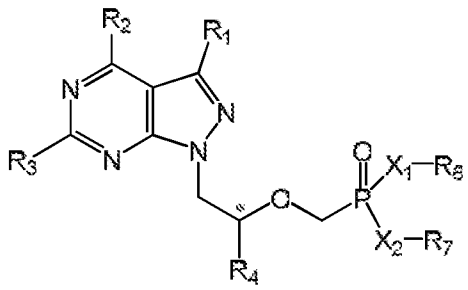
5、根据权利要求 1-4 任一项所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：R_4 为氢、氘、甲基或羟甲基；优选的是氢、氘、甲基；最优的是甲基。

6、根据权利要求 1-5 任一项所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：Z 为 O、S 或 Se；优选为 O 和 S；最优选为 O。

7、根据权利要求 6 所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：

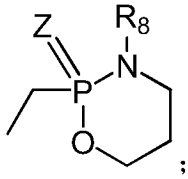
R_5 为 ，R_6、R_7 独立地为氢、氘、、带有取代基的 C_1～C_4 烷基；所述取代基为-H、卤素、芳香基、-OH、$-CF_3$、$-OCF_3$、或；

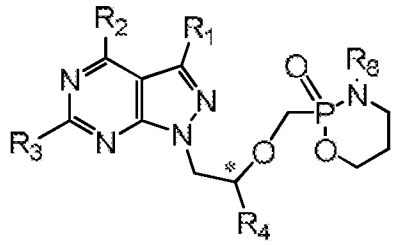
进一步优选的是，R_6 、R_7 独立地为氢、氘、、、或；优选 Z 为 O，结构式如下：



II

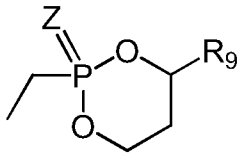
或

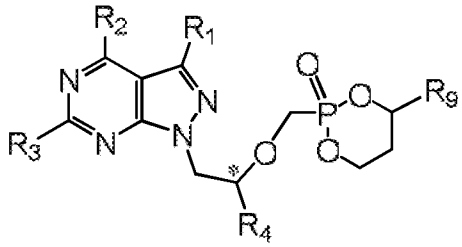
R_5 为  ；R_8 为氢、氘、芳香基、直链或支链 C_1-C_6 烷基、直链或支链 C_1-C_6 卤代烷基、苄基，更优选的是，芳香基；优选 Z 为 O，结构式如下：



III

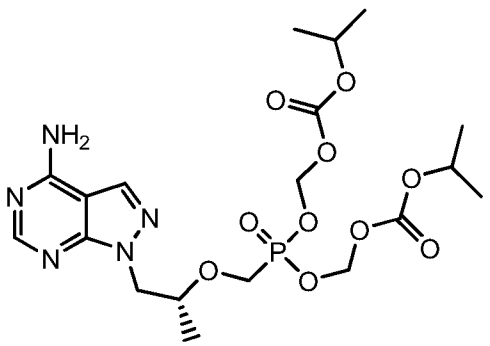
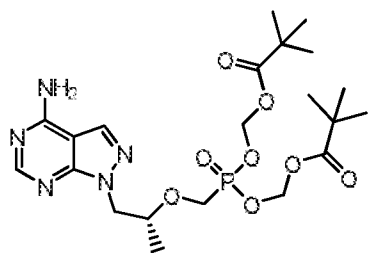
或

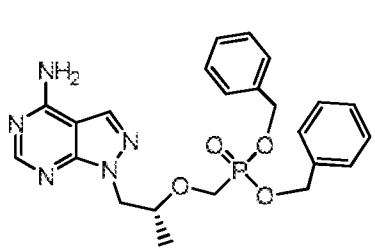
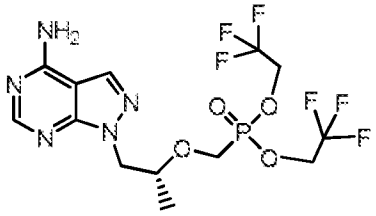
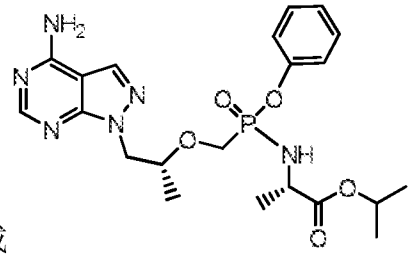
R_5 为  ，R_9 为直链或支链或环状 C_1～C_6 烷、取代芳香基中的一种；优选为取代芳香基；优选 Z 为 O，结构式如下：



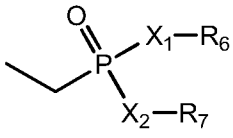
IV 。

8、根据权利要求 1 所述的无环核苷酸类似物，其特征在于：其结构式为

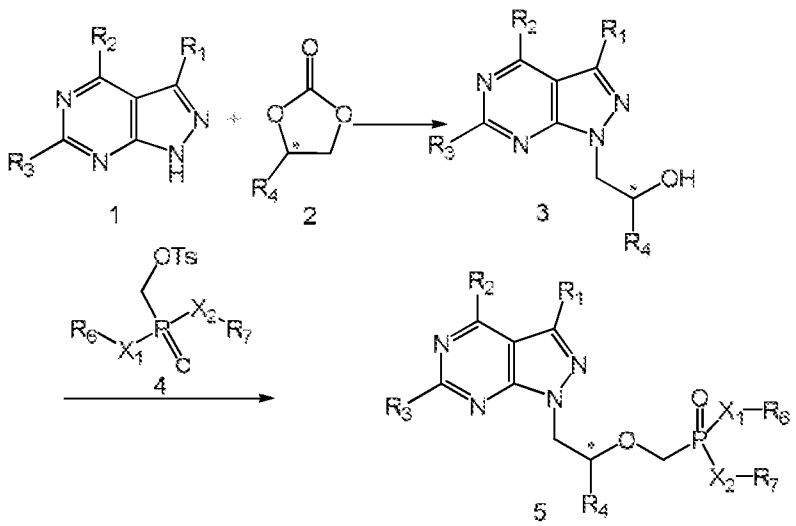
 、  、


、

或

。

9、式Ⅰ所示无环核苷酸类似物的制备方法，其特征在于：

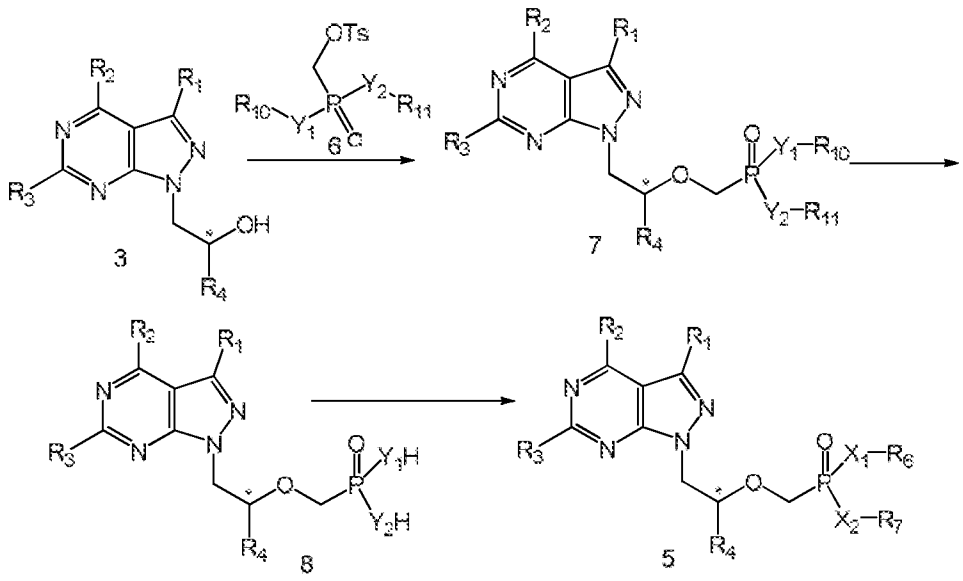


当 R_5 为 时，路线如下所示：

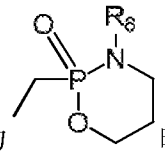


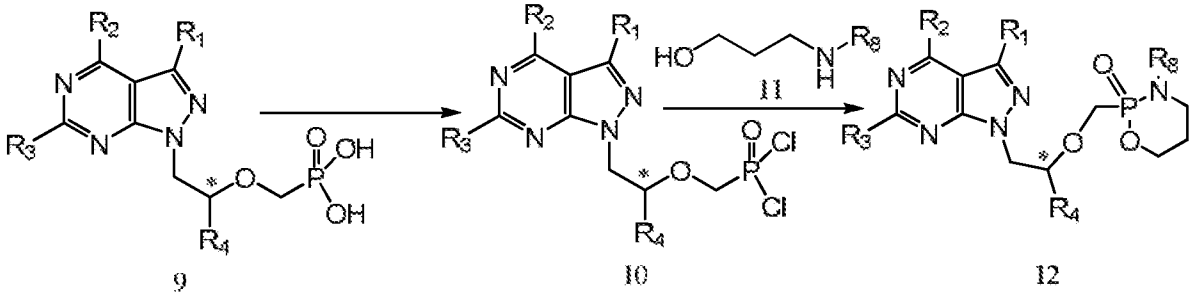
化合物 1 和化合物 2 在碱性条件下缩合，得到化合物 3，化合物 3 和化合物 4 在碱性条件下发生烷基化反应直接得到化合物 5；或

化合物 3 先和化合物 6 反应得到化合物 7，然后脱保护得到化合物 8，化合物 8 与卤代烃、酚类或胺类反应，得到化合物 5：

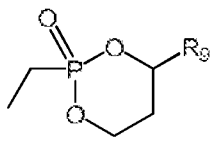


R_{10}、R_{11} 独立的为烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基；X_1、X_2、Y_1、Y_2 独立的为 O、S 或 NH；

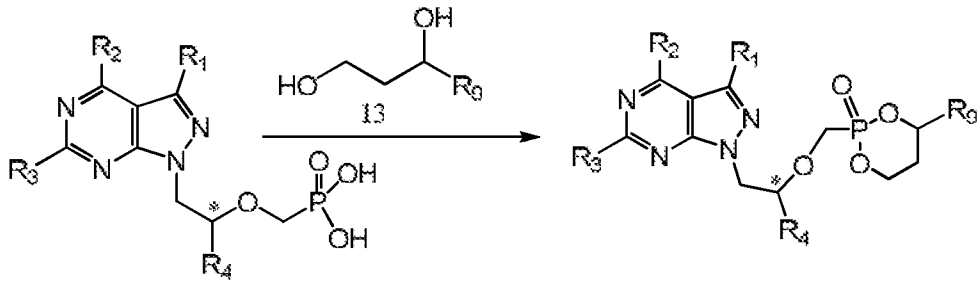
当 R_5 为  时，路线如下所示：



化合物 9 与酰氯化试剂反应得到膦酰氯化合物 10，化合物 10 在有机碱性条件下与化合物 11 反应，得到化合物 12；

当 R_5 为  时，路线如下所示：

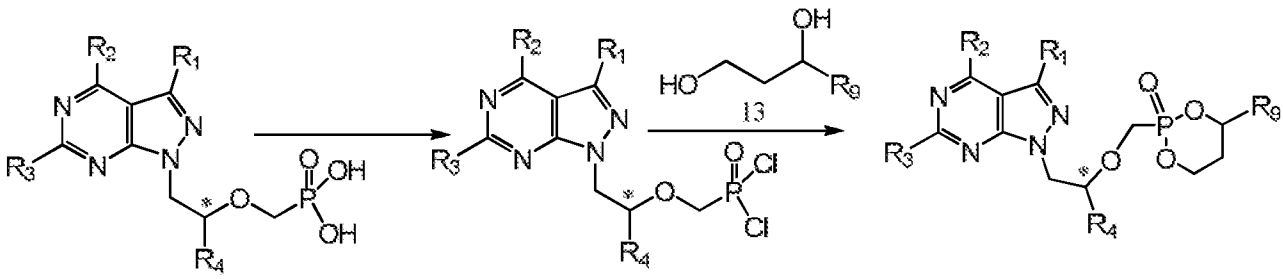
路线 A：



9 14

在溶剂中加入化合物 9 和化合物 13，有机碱和脱水剂反应后，加入乙酸乙酯，用水，碳酸氢钠，饱和食盐水洗涤，干燥，过滤，减压浓缩，柱层析得到化合物 14；

路线 B：



9 10 14

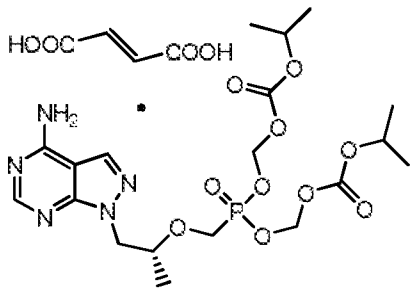
化合物 9 与酰氯化试剂反应得到膦酰氯化合物 10，化合物 10 在有机碱性条件下与化合物 13 反应，得到化合物 14。

10、权利要求 1-8 任一项所述无环核苷酸类似物在制备治疗慢性乙型肝炎、丙型肝炎或艾滋病中的用途。

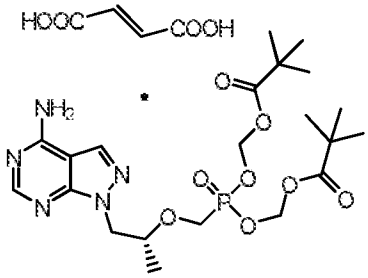
11、药物组合物，是由活性成分添加药物常用辅料制备而成；所述活性成分为权利要求 1-8 任一项所述化合物的可药用盐、水合物或它们的溶剂合物中的至少一种；

所述化合物的药用盐为无机盐或有机盐，如盐酸盐、硫酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐、磺酸盐等。

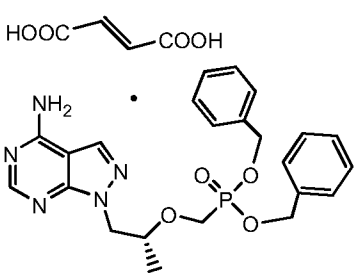
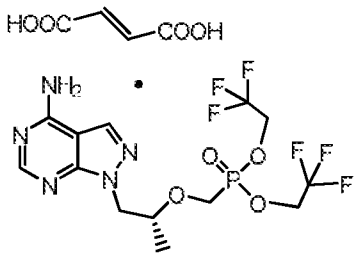
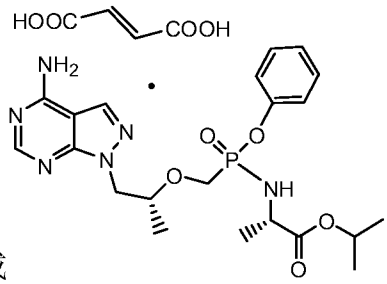
12、根据权利要求 11 所述的药物组合物，其特征在于所述化合物的药用盐为：



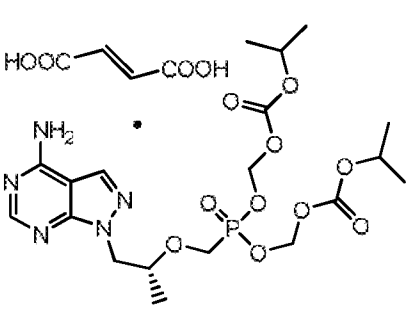
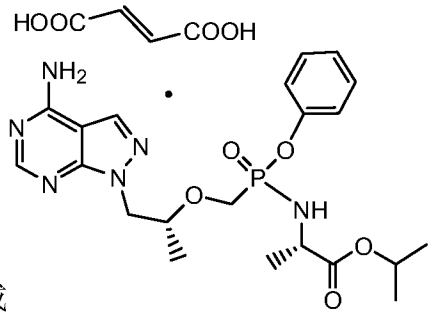
、



、


、

或

。

13、根据权利要求 12 所述的药物组合物，其特征在于所述化合物的药用盐为：


或

。

14、权利要求 12 或 13 所述的药物组合物在制备治疗慢性乙型肝炎、丙型肝炎或艾滋病中的用途。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2013/076066

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the 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: C07D 487/-; 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, CNKI, CNPAT, NCBI PubMed, GOOGLE Scholar, ISI Web of Knowledge, STN, Sichuan Good Doctor Panxi Pharmaceutical Co. , Ltd. , Sichuan University, HIV, Tenofovir Disoprox, hepatitis, 1421046-58-7

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 102887901 A (Sichuan University) 23 January 2013 (23.01.2013) claims 1-10, and description, tables 1-2	1-14
X	CN 1244200 A (Gilead Sciences, Inc.) 09 February 2000 (09.02.2000) claims 1 and 2, description, page 37, paragraph 2, page 42, embodiment 1, page 64, embodiment 16, and compound f	1-14 1-14
X	CN 101659676 A (XU, Kui) 03. March 2010 (03.03.2010) claims 1-6	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"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

"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

"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

"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

"&"document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
01 August 2013 (01.08.2013)	29 August 2013 (29.08.2013)
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer TU, Haihua Telephone No. (86-10) 62413735

Form PCT/ISA /210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2013/076066

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101781334 A (Fujian Cosunter Pharmaceutical Co., Ltd.) 21 July 2010 (21.07.2010) claims 1-6	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2013/076066

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102887901 A	23.01.2013	None	
CN 1244200 A	09.02.2000	US 6043230 A	28.03.2000
		NZ 333687 A	25.08.2000
		KR 20000029705 A	25.05.2000
		TW 470748 B	01.01.2002
		IN 200700602 I1	03.08.2007
		US 5977089 C1	25.11.2008
		WO 9804569 A1	05.02.1998
		AU 713374 B2	02.12.1999
		JP 2000515866 A	28.11.2000
		EP 0915894 B1	14.05.2003
		CN 101239989 A	13.08.2008
		AU 3897097 A	20.02.1998
		DE 69722004 D1	18.06.2003
		JP 2011016847 A	27.01.2011
		US 5922695 A	13.07.1999
		USRE 38333 E	25.11.2003
		ES 2198003 T3	16.01.2004
		CA 2261619 C	23.05.2006
		EP 0915894 A1	19.05.1999
		KR 100619298 B1	08.09.2006
		CN 101239989 B	12.12.2012
		US 5977089 A	02.11.1999
		US 6069249 A	30.05.2000
		TW 444020 B	01.07.2001
		JP 2007297406 A	15.11.2007
		CN 100384859 C	30.04.2008
		JP 4033494 B2	16.01.2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2013/076066

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		US 5922695 C1	14.10.2008
		US 6043230 C1	14.10.2008
		CN 1244200 C	01.03.2006
		CN 1297613 A	30.05.2001
		US 6060943 A	09.05.2000
		EP 1072095 A1	31.01.2001
		AU 3388899 A	01.11.1999
		WO 9953618 A1	21.10.1999
		JP 2002511692 A	16.04.2002
		JP 4280418 B2	17.06.2009
		TW 537555 U1	11.06.2003
CN 101659676 A	03.03.2010	CN 101659676 B	20.06.2012
CN 101781334 A	21.07.2010	CN 101781334 B	28.11.2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2013/076066

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 487/04 (2006.01) i

A61K 31/675 (2006.01) i

A61P 31/14 (2006.01) i

A61P 31/18 (2006.01) i

A61P 31/20 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2013/076066

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: C07D 487/-, 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, CNKI, CNPAT, NCBI PubMed, GOOGLE Scholar, ISI Web of Knowledge,STN，四川好医生攀西药业有限责任公司，四川大学，肝炎，艾滋病，替诺福韦酯，HIV, hepatitis, 1421046-58-7

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
PX	CN 102887901 A （四川大学） 23.1 月 2013 （23.01.2013） 权利要求 1-10，说明书表 1-2	1-14
X	CN 1244200 A （吉里德科学公司） 09.2 月 2000（09.02.2000） 权利要求 1-2，说明书第 37 页第 2 段，第 42 页实施例 1， 第 64 页实施例 16，化合物 f	1-14 1-14
X	CN 101659676 A （徐奎） 03.3 月 2010（03.03.2010） 权利要求 1-6	1-14
X	CN 101781334 A（福建广生堂药业有限公司） 21.7 月 2010（21.07.2010） 权利要求 1-6	1-14

☐ 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	国际检索报告邮寄日期
01.8 月 2013（01.08.2013）	**29.8 月 2013 (29.08.2013)**
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	受权官员 涂海华 电话号码：(86-10) **62413735**

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号 **PCT/CN2013/076066**

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 102887901 A	23.01.2013	无	
CN 1244200 A	09.02.2000	US 6043230 A	28.03.2000
		NZ 333687 A	25.08.2000
		KR 20000029705 A	25.05.2000
		TW 470748 B	01.01.2002
		IN 200700602 I1	03.08.2007
		US 5977089 C1	25.11.2008
		WO 9804569 A1	05.02.1998
		AU 713374 B2	02.12.1999
		JP 2000515866 A	28.11.2000
		EP 0915894 B1	14.05.2003
		CN 101239989 A	13.08.2008
		AU 3897097 A	20.02.1998
		DE 69722004 D1	18.06.2003
		JP 2011016847 A	27.01.2011
		US 5922695 A	13.07.1999
		US RE38333 E	25.11.2003
		ES 2198003T3	16.01.2004
		CA 2261619 C	23.05.2006
		EP 0915894 A1	19.05.1999
		KR 100619298 B1	08.09.2006
		CN 101239989 B	12.12.2012
		US 5977089 A	02.11.1999
		US 6069249 A	30.05.2000
		TW 444020 B	01.07.2001
		JP 2007297406 A	15.11.2007
		CN 100384859 C	30.04.2008
		JP 4033494 B2	16.01.2008
		US 5922695 C1	14.10.2008
		US 6043230 C1	14.10.2008
		CN 1244200 C	01.03.2006
		CN 1297613 A	30.05.2001
		US 6060943 A	09.05.2000
		EP 1072095 A1	31.01.2001
		AU 3388899 A	01.11.1999
		WO 9953618 A1	21.10.1999

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2013/076066

检索报告中引用的专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
		JP 2002511692 A	16.04.2002
		JP 4280418 B2	17.06.2009
		TW 537555 U1	11.06.2003
CN 101659676 A	03.03.2010	CN 101659676 B	20.06.2012
CN 101781334 A	21.07.2010	CN101781334 B	28.11.2012

A．主题的分类

C07D 487/04 (2006.01)i
A61K 31/675 (2006.01)i
A61P 31/14 (2006.01)i
A61P 31/18 (2006.01)i
A61P 31/20 (2006.01)i