

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D473/00



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 98810219.6

C07D473/18 C07D473/32

C07H 19/16 C07H 19/167

C07H 19/173 A61K 31/52

A61K 31/70

[45] 授权公告日 2003 年 12 月 10 日

[11] 授权公告号 CN 1130362C

[22] 申请日 1998.8.14 [21] 申请号 98810219.6

[30] 优先权

[32] 1997.8.15 [33] SE [31] 9702957-3

[32] 1997.11.12 [33] SE [31] 9704147-9

[32] 1998.2.13 [33] SE [31] 9800452-6

[86] 国际申请 PCT/SE98/01467 1998.8.14

[87] 国际公布 WO99/09031 英 1999.2.25

[85] 进入国家阶段日期 2000.4.14

[71] 专利权人 美迪维尔公司

地址 瑞典胡丁厄

[72] 发明人 周晓雄 N·-G·约翰松

H·瓦林

审查员 王勤耕

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

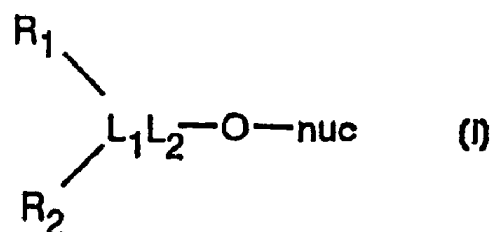
代理人 罗宏 谭明胜

权利要求书 2 页 说明书 71 页 附图 2 页

[54] 发明名称 核苷类似物,这些化合物作为包括乙型肝炎病毒(HBV)的逆转录病毒的逆转录酶及 DNA 聚合酶抑制剂的抗病毒药

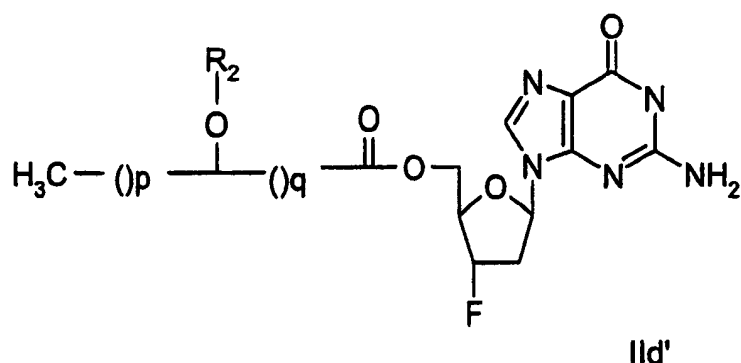
[57] 摘要

式 I 化合物;其中 nuc 为通过它的一个羟基在环或无环糖基团上连接的核苷类残基; R₁ 为羟基,氨基或羧基; 任选酯化/酰胺化的饱和或不饱和的 C₄-C₂₂ 的、任选取代的脂肪酸或醇,或脂族 L-氨基酸; R₂ 为脂族 L-氨基酸残基; L₁ 为三官能连接基团; L₂ 为空或双官能连接基团; 及其药学上可接受的盐具有良好药学性质和抗病毒活性。



ISSN 1008-4274

1. 式 IId' 的化合物 及其可药用盐



5 其中, R_2 是脂族 L 氨基酸的残基,

P 是 0, 1, 2-20, 其中, 任选包括一双键, 且 q 是 0.

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 R_2 定义为异亮氨酸或缬氨酸衍生物.

3. 权利要求 2 的化合物及其可药用盐, 所述化合物选自:

- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]鸟苷,
- 10 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-己酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-辛酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-癸酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十二烷酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十四烷酰]鸟苷,
- 15 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十六烷酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十八烷酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-二十烷酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-二十二烷酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]鸟苷,
- 20 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-辛酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-癸酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十二烷酰]鸟苷,
- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十四烷酰]鸟苷,
- 25 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十六烷酰]鸟苷,

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十八烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-二十烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-二十二烷酰]鸟苷。

4. 权利要求 1 的化合物及其可药用盐, 其中 p 是 0。

5. 权利要求 4 的化合物及其可药用盐, 所述化合物是, 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]鸟苷, 及 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]鸟苷, 其中, 丙酰部分被定义为 L 乳酸衍生物。

6. 权利要求 4 的化合物及其可药用盐, 所述化合物是, 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]鸟苷, 其中, 丙酰部分被定义为 L 乳酸衍生物。

7. 权利要求 1 的化合物在制备用于病毒感染的预防或治疗的药物中的应用, 其中病毒感染由乙型肝炎病毒或反转录病毒引起。

8. 权利要求 2 的化合物在制备用于病毒感染的预防或治疗的药物中的应用, 其中病毒感染由乙型肝炎病毒或反转录病毒引起。

9. 权利要求 3, 5 和 6 之任一的化合物在制备用于病毒感染的预防或治疗的药物中的应用, 其中病毒感染由乙型肝炎病毒或反转录病毒引起。

10. 权利要求 4 的化合物在制备用于病毒感染的预防或治疗的药物中的应用, 其中病毒感染由乙型肝炎病毒或反转录病毒引起。

核苷类似物，这些化合物作为包括乙型肝炎病毒（HBV）的逆转录病毒的逆转录酶及 DNA 聚合酶抑制剂的抗病毒药

5 技术领域

本发明涉及核苷类似物，这些化合物作为包括乙型肝炎病毒（HBV）的逆转录病毒的逆转录酶及 DNA 聚合酶抑制剂的抗病毒素。本发明提供了具有良好药效参数的新型化合物、其制备方法、含这些化合物的药物组合物以及用它们抑制包括 HBV 和 HIV 的病毒和瘤的方法。

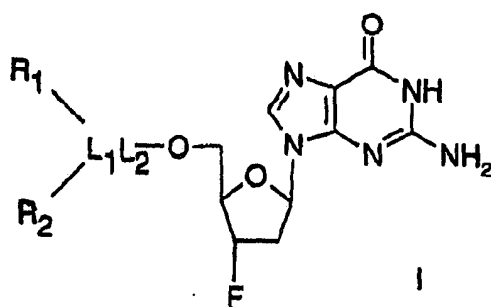
背景技术

国际专利申请 W088/00050 描述了一系列 3'-氟核苷，包括化合物 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷（FLG）和 3'-氟胸苷（FLT）的抗逆转录病毒和抗-HBV 的活性。作为抗-HIV 剂，对后一化合物进行了临床鉴定，尽管其抗病毒活性和药物动力学良好，但它显示了意想不到的毒性（Flexner 等，J Inf Dis 170(6) 1394-403(1994)）。前一化合物 FLG 在体外具有良好的活性，但是本发明人已经检测到其生物可利用率非常低，约 4%，致使该化合物在活体内的用途至今仍限于腹膜内或皮下用药的动物模型中。

美国专利 4,963,662 公开了一系列 3'-氟核苷类及相应的三磷酸盐化合物，并具体描述了 FLT 的 5'-O-棕榈酰衍生物，但没有报导生物可利用率的任何改进。国际专利申请 WO 93 13778 描述了在基质的 6 位上改性的 FLG 衍生物，特别是用正丙氧基、环丁氧基、环丙基氨基、哌啶基或吡咯烷基改性。国际专利申请 93 14103 描述了在鸟嘌呤 6 位上的氧被氨基、醚、卤素或磺酸酯取代的 FLG 衍生物。

发明内容

本发明一方面提供了式 I 所示的化合物：



其中:

R_1 选自羟基、氨基或羧基; 任选在其上酯化/酰胺化的饱和或不饱和的 C_4-C_{22} 的、任选取代的脂肪酸或醇, 或脂族 L-氨基酸;

5 R_2 为脂族 L-氨基酸的残基;

L_1 为三官能连接基团;

L_2 为不存在或双官能连接基团;

及其药学上可接受的盐。

10 本发明还提供了含有式 I 化合物或其盐的药物组合物及药学上可接受的载体或稀释剂。本发明另一方面提供了抑制 HBV 和逆转录病毒如 HIV 的方法, 包括将式 I 化合物或盐与逆转录病毒或 HBV 接触, 例如将有效量的化合物或盐注入受逆转录病毒或 HBV 感染的人中。本发明也提供了式 I 化合物或盐的用途, 例如用于制备治疗逆转录病毒或 HBV 感染的药物。

15 在治疗由逆转录病毒如 HIV 或 HBV 引起的病症中, 式 I 化合物或盐优选每天以 50~1500 毫克的量一次、两次或三次给药, 优选每天二到三次以 100~700 毫克的量给药。希望活性代谢物的血清浓度达到 0.01~100 微克/毫升的, 优选 0.1~5 微克/毫升。

20 当 R_1 为脂肪酸残基, 优选总共具有偶数个碳原子, 有利的是癸酰 (C_{10})、月桂酰 (C_{12})、肉豆蔻酰 (C_{14})、棕榈酰 (C_{16})、

硬脂酰 (C_{18})、二十烷酰 (C_{20}) 或山嵛酰 (C_{22})。脂肪酸优选总共具有 10~22 个碳原子, 更优选 16~20 个碳原子, 特别是 18 个碳原子。脂肪酸可以为不饱和并具有一个至三个双键, 特别是一个双键。不饱和脂肪酸优选属于 n-3 或 n-6 系列。常用的不饱和 R_1 基团包括衍
25 生自一元不饱和羧酸肉豆蔻脑酸、肉豆蔻反油酸 (myristelaidic)、棕榈油酸、棕榈反油酸 (palmitelaidic)、n6-十八碳烯酸、油酸、

反油酸、gandoic、芥酸、巴西烯酸或衍生自多元不饱和脂肪酸如亚油酸、 γ -亚麻酸、花生四烯酸和 α -亚麻酸。但是，当这些化合物要具有更强的稳定性和适用期时，作为脂肪酸的 R_1 优选为饱和的。

5 作为脂肪醇的 R_1 残基优选对应于上述脂肪酸。脂肪醇也可含有短链醇，如甲醇、乙醇或丙醇的残基。

R_1 为饱和或不饱和脂肪酸或醇时，可任选被至多五个相同或不同的取代基取代，取代基分别选自羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷氧基 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷基酰基、氨基、卤素、氰基、叠氨基、氧代、巯基和硝基等。

10 适于 R_2 和 R_1 （如果存在 R_1 的话）的脂族氨基酸包括 L-丙氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸，最优选 L-缬氨酸。为便于合成，优选 R_2 和 R_1 均为脂族氨基酸残基，优选为相同的残基。

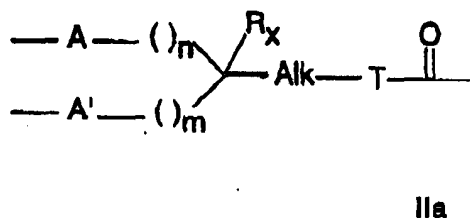
第一个连接基团 L_1 所表述的三官能是指连接基团具有至少三个官能团，包括至少两个衍生自相应的羟基、氨基或羧基。其中氨基和羟基官能团是用于与 R_1 和 R_2 的羧基官能团酯化/酰胺化；连接基团中的羧基官能团是用于与 R_2 中游离的 α -氨基，或视情况而定与 R_1 中游离的 α -氨基酰胺化；或 R_1 为脂肪醇时，与 R_1 发生酯化。当 R_1 本身定义为羟基、氨基或羧基时，其中羟基为三者中最适宜的，这时三官能连接基上某个官能团就是该羟基、氨基或羧基。

20 三官能连接基还含有第三个官能团，该官能团与下面将详述的任选的第二个连接基团 L_2 相连或母体核苷的 5' 位上的羟基相连，如 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷。合适的第三个官能团取决于任选的连接基团 L_2 （如果存在的话）上相连官能团的性质，且可包括氨基、羟基、羧基、磺酰基、磷酰基、膦酰基、氨基甲酰基等。如果没有 L_2 ，第一个连接基团 L_1 上的第三个官能团一般含有可与核苷类似物的 5'-O 基团酯化的羧基。

与 R_1 和 R_2 相连的三官能连接基上的官能团优选为羟基官能团，并且该连接是与 R_1 脂肪酸（如果是的话）和 R_2 的羧基官能团的酯连接。进一步优选的实施方案是连接基上有一个游离的羟基作为 R_1 ，以及一个与 R_2 的羧基酯化的羟基官能团。另一个实施方案是连接基上含有一个（任选被保护）的羧基 R_1 ，以及一个与 R_2 的羧基酯化的羟基官能团。

有用的三官能 L_1 基团，特别是能直接与核苷酯化的基团，包括式

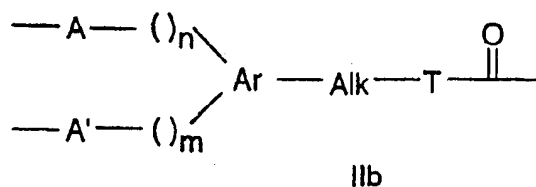
IIa 或 IIb 所示的连接基:



- 其中, A 和 A' 定义为在连接基上的羟基与 R_1 或 R_2 的羧基之间不同的酯连接, 或为在连接基上的羧基与脂肪醇 R_1 的羟基之间的酯连接, 或为在连接基上的氨基和在 R_1 或 R_2 的羧基之间的酰胺连接, 或为在连接基的羧基与 R_1 或 R_2 的氨基之间的酰胺连接, 或当 R_1 本身为游离的羟基、氨基或羧基时, A 和 A' 之一如上定义, 另一为羟基、氨基或羧基, R_x 为 H 或 C_1 - C_3 烷基,
- 5 T 为键、-O-或-NH-;
- Alk 为不存在、 C_1 - C_4 烷基或 C_2 - C_4 链烯基, 任选如上所述是被取代的;
- 以及
- m 和 n 独立地为 0、1 或 2.

- 在本发明该方面的一个优选的实施方案中, R_1 或 R_2 基团分别与式
- 15 IIa 最左边的不同的功能性羟基酯化 (通过 A 和 A'), 同时右边的羰基部分任选通过第二个连接基团 L_2 , 与核苷的 5'-O-基酯化.

L_1 基团也可含有式 IIb 所示的连接基:



- 20 其中 Ar 为饱和或不饱和, 优选 5 或 6 个环原子的单碳环或杂环;
- A、A'、T、Alk、m 和 n 如上定义.

式 IIb 中, Ar 优选为芳基, 如吡啶或特别为苯基, 作为芳基部分其中带 R_1 和 R_2 的臂, 相对于连接基的剩余部分分别为对和邻、间和邻、

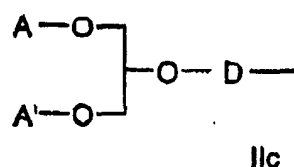
都为邻、或优选对和间、均为对或均为间位。

式 IIa 和 IIb 中, 下列 m、n 和 Alk 的组合是有利的:

m	n	Alk
1	0	亚甲基
1	0	1,2-亚乙基
1	1	不存在
1	1	亚甲基
1	1	1,2-亚乙基
1	1	1,2-亚丙基
1	2	不存在
1	2	亚甲基
1	1	1,2-亚乙基
1	1	1,2-亚丙基

由于 R_1 和 R_2 具有不同的结构, 很明显许多 L_1 基团, 特别是式 IIa 的基团, 将定义为手性结构。因此本发明包括所有的对映体, 如消旋体或 >80% 对映纯, 优选 >95% 对映纯的化合物制剂。

特别优选的三官能连接基含有式 IIc 所示的甘油衍生物

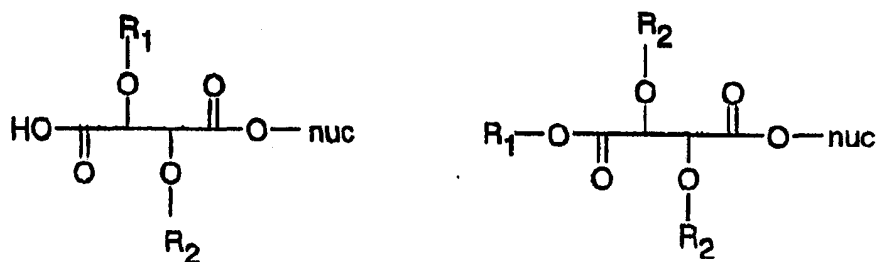


- 其中, A 为氢、脂族 L-氨基酸酯的酰基残基、或脂肪酸酯的酰基残基, A' 为脂族氨基酸残基的酰基残基, D 为饱和或不饱和 C_2-C_6 二元羧酸残基。式 IIc 所示的三官能连接在活体内水解或分解以释放性能不变的化合物如甘油、L-氨基酸、脂肪酸 (如果是的话) 和二元羧酸, 每一种通常均在身体安全地新陈代谢和/或排泄。A 和 A' 优选均为脂族氨基酸残基, 最优选为相同的残基, 特别是 L-缬氨酸或 L-异亮氨酸的残基。
- 当式 IIc 衍生物的二元羧酸部分直接与核苷的 5' 羟基官能团 (或等同物) 酯化时, 可解析地将甘油部分定义为三官能连接 L_1 , 二元羧酸部分定义为二官能连接 L_2 。

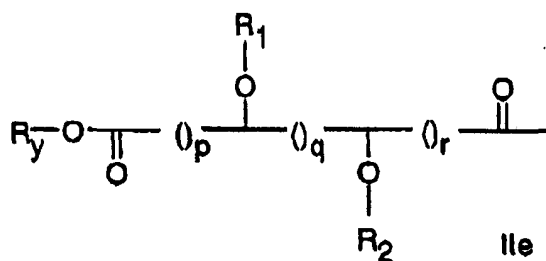
- 特别优选的二元羧酸残基包括从草酸、丙二酸、丙醇二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、戊二酸、戊烯二酸、柠康酸、衣康酸、亚乙基丙二酸、中康酸、己二酸、烯丙基丙二酸、亚丙基丙二酸、氯化粘康酸、焦辛可酸和粘康酸等衍生的。二元羧酸残基可任
- 5 选被取代，例如被上述关于脂肪酸 R_1 所列的取代基取代。羟基取代基可进一步与另一个 L-氨基酸或脂肪酸残基酯化。

- 一些上述二元羧酸本身可定义为三官能连接基。例如，羟基取代的二元羧酸如酒石酸或马来酸提供了在本发明范围内的许多构型。以酒石酸为例，羧基官能团可与核苷的 5'-羟基官能团酯化（任选通过双
- 10 官能连接基 L_2 ）。羟基官能团可与 R_2 和 R_1 脂肪酸或氨基酸上不同的羧基进行酯化，同时剩余的羧基可为游离或任选被保护，例如用常用的药学上可接受的酯如甲酯或乙酯进行保护。可选的游离羧酸官能团的保护是与 R_1 脂肪醇形成的酯，该酯含有一个或两个与 R_2 酯化的羟基官能团：

15

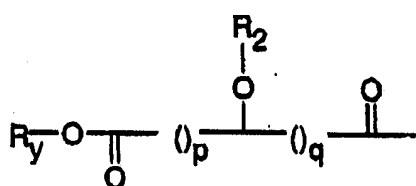


上述酒石酸系列中有利的连接基通常如式 IIe 所述：



- 20 以及其中 R_1 和 R_2 互换的异构体，其中 R_1 和 R_2 如上所示， p 、 q 和 r 分别为 0~5，优选 0 或 1，且 R_y 是游离酸， R_1 酯或常用的药学上可接受的羧基保护基，如甲酯、苄酯或特别是乙酯。

马来酸系列的有利的连接具有式 IIIf:



IIIf

其中, R_y 、 p 、 q 和 R_2 如上定义, 优选 p 和 q 为零。

5 本发明该方面优选的化合物包括:

5'-O-[3-甲氧基羧基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[3-苄氧基羧基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[3-甲氧基羧基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

10 5'-O-[3-苄氧基羧基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[4-甲氧基羧基-2, 3-二缬氨酰氧基-丁酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[4-苄氧基羧基-2, 3-二缬氨酰氧基-丁酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

15 5'-O-[4-甲氧基羧基-2, 3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[4-苄氧基羧基-2, 3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

20 特别优选衍生自 L-马来酸和 L-酒石酸的化合物; 以及相应地能在末端羧基官能团上构成常用的药学上可接受的酯的衍生物。

特别有利的化合物包括:

5'-O-[3-乙氧基羧基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[3-乙氧基羧基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

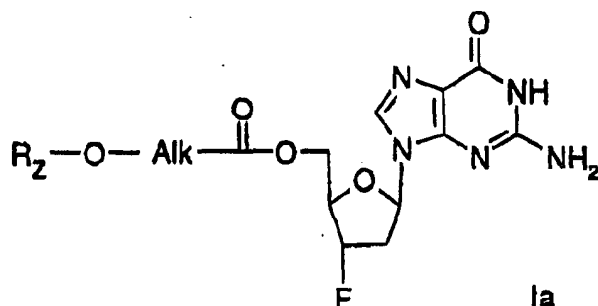
25 5'-O-[4-乙氧基羧基-2, 3-二缬氨酰氧基-丁酰]-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

5'-O-[4-乙氧基羧基-2,3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷,

特别是衍生自 L-马来酸和 L-酒石酸的异构体。

在本发明另一相关方面中, R_1 和 R_2 的一个可被删除。

5 本发明该方面典型的化合物包括式 Ia:



其中 Alk 为任选取代的 C_1 - C_4 烷基或 C_2 - C_4 链烯基, R_2 为上述 R_1 和 R_2 定义的脂族 L-氨基酸的酯残基或脂肪酸的酯残基。本发明该方面中的连接基可从 α -羟基 ω -羧酸如碳酸、乙醇酸、羟丙酸、羟丁酸、羟戊酸或羟己酸方便地制备。

式 Ia 的典型化合物包括:

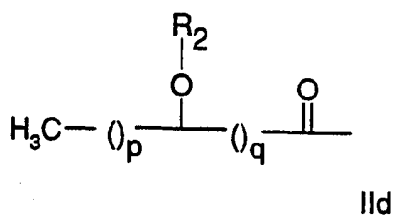
2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]鸟苷,
 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-戊酰]鸟苷,
 15 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[6-(L-缬氨酰氧基)-己酰]鸟苷,
 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]鸟苷,
 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-异亮氨酰氧基)-戊酰]鸟苷,
 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[6-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]鸟苷,
 及其药学上可接受的盐。

20 特别有利的式 Ia 化合物包括:

2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]鸟苷, 和
 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[4-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]鸟苷, 及其药学上可接受的盐。在活体内这些化合物中 R_2 基团水解及脱除, 遗留下活性端基, 该端基能环化并促进母体核苷的有效释放。

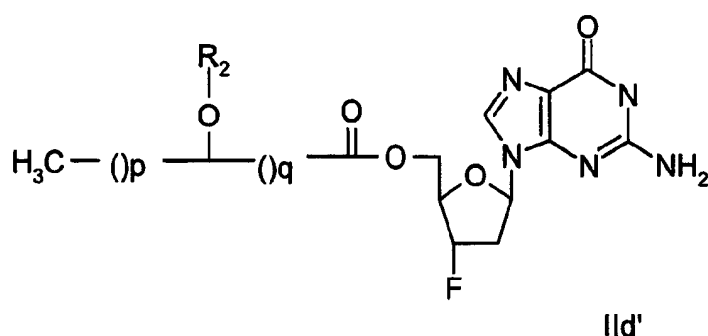
25 在本发明涉及的一方面中, 脂肪酸残基 R_1 本身能用作连接基, 将 R_2 的脂族 L-氨基酸残基相连在脂肪酸烷基链的氨基、羟基或羧基上进行

- 酯化/酰胺化，例如在 β 碳上。在该实施方案中， R_1 脂肪酸直接与核苷的5'-羟基（或等同物）酯化，通常此核苷具有已经酯化/酰胺化的 R_2 基团。官能化的脂肪酸（羧基/羟基/氨基官能团被适当地保护）也可首先酯化到核苷上，然后在与 R_2 偶联前脱保护。根据该方面优选的
- 5 实施方案中的连接基具有式 IIId 所示结构：



其中 R_2 为脂族 L-氨基酸残基， p 为 0, 1 或 2-20（任选包括双键）， q 为 0-5，优选为 0。

- 10 优选为式 IIId' 的化合物



其中， R_2 是脂族 L 氨基酸的残基，

p 是 0, 1, 2-20, 其中，任选包括一双键，且 q 是 0。

- 15 典型的化合物包括：

2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]鸟苷，

2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-己酰]鸟苷，

2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-辛酰]鸟苷，

2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-癸酰]鸟苷，

- 20 2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十二烷酰]鸟苷，

2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十四烷酰]鸟苷，

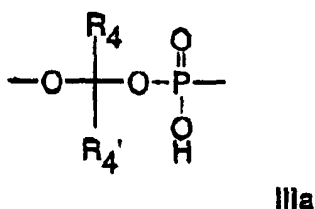
- 2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十六烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-十八烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-二十烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-二十二烷酰]鸟苷,
5 2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-辛酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-癸酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十二烷酰]鸟苷,
10 2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十四烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十六烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-十八烷酰]鸟苷,
2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-二十烷酰]鸟苷,

2', 3'-双脱氧-3'-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-二十二烷酰]鸟苷,
以及相应的 n-3 和 n-6 一元不饱和类似物, 如 6 或 9-十八烯酰基衍生物。

在式 IIId 中, p 和 q 优选为 0, 因此定义为乳酸衍生物, 优选 L-
5 乳酸衍生物, 如

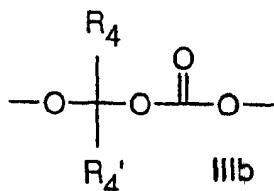
2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]鸟苷; 和
2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-0-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]鸟苷及其药学上可接受的盐, 其分解产物, 乳酸和氨基酸均为生理上可很好接受的。

在第二连接基团 L_2 所表述的双官能是指具有两个官能团的连接
10 基, 使得其在第一个连接基团 L_1 和核苷的 5'-O-基团之间作为间隔区或桥。例如任选的基团 L_2 可含有式 IIIa 所示的连接基:



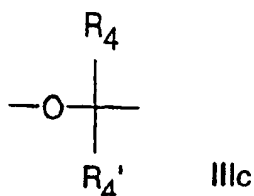
其中 R_4 和 R_4' 为氢或 C_1 - C_4 烷基。式 IIIa 中, R_4 优选氢、甲基、乙基
15 或异丙基, R_4' 为氢。由于多种核苷类, 如 FLG 母体化合物在其抑制病毒聚合酶之前, 必须首先通过细胞酶磷酸化, 式 IIIa 的连接基是有利的。本发明化合物的初级或其后的水解可在活体内释放出一元磷酸化核苷, 其能迅速转化为二和三磷酸盐。

任选的双官能连接基团 L_2 也可含有式 IIIb 所示的结构:
20



其中 R_4 和 R_4' 分别为 H 或 C_1 - C_4 烷基。

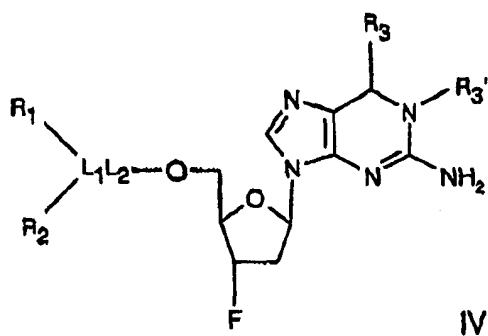
双官能连接基的另一个基团具有式 IIIc 所示的结构:



- 5 如上所述, 优选的双官能连接的基团含有 α, ω -二羧酸 C_2-C_6 烷基衍生物, 如琥珀酸, 它们是任选取代的 (例如用上述为脂肪酸 R_1 定义的取代基) 和/或为任选一元或多元不饱和, 如 $n-3$ 或 $n-6$ 一元不饱和的。此类优选的基团如上所述。

尽管上述公开的内容集中在与二元羧酸 L_2 基团相连的甘油 L_1 基团, 不难理解, 大量的三官能连接基适用于和二羧酸 L_2 基团一起, 例如上述没有最右端羧基的式 IIa 和 IIb 所示的结构。

- 10 本发明还包括含有常用的 FLG 前药的 $R_1(R_2)L_1L_2$ -衍生物的双重前药, 该常用的前药可在活体内释放 FLG, 如在 FLG 鸟苷基质的 2 和 6 位上的前药衍生物。这种常用的 FLG 前药的例子包括式 IV 所示的化合物:



15

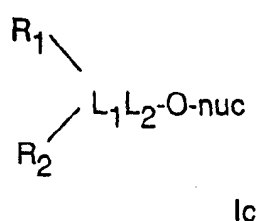
其中 R_1 、 R_2 、 L_1 和 L_2 如上定义; 和

R_3 为 H、 N_3 、 NH_2 或 OH 或其药学上可接受的醚或酯; 和
 R_3' 为芳键或氢。

- 20 R_3 中有可能的药学上可接受的酯包括上述 R_1 相关的脂肪酸, 如硬脂酰酯或油酰酯等或更短的酯, 如乙酰酯或丁酰酯。其它有可能的酯包括 R_2 的氨基酸衍生物或磷酸酯, 如一磷酸酯。酯也可包括相应的脂肪酸或烷基芳基碳酸酯、氨基甲酸酯或磺酸酯。

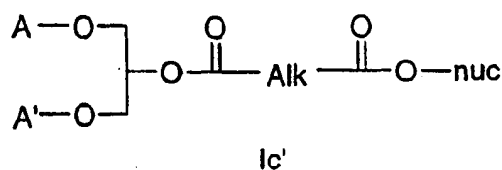
R_3 中合适的药学上可接受的醚包括 C_1-C_6 烷基、环烷基、 C_6-C_{12} 烷基芳基如苄基或甲基吡啶基，任何这些醚可被上述 R_1 所述的取代基取代。有利的醚包括在上述 W093 13778 中提及的醚，如正丙氧基、环丁氧基、环丙基氨基、哌啶子基或吡咯烷基等。

- 5 本发明主要参照一羟基化核苷 FLG 来描述，但是，很显然相应的衍生物可从其它一羟基化核苷类似物制备，特别是该羟基对应于核苷的 5'羟基官能团的情形。因此本发明的另一方面提供了式 Ic 化合物：



- 10 其中， R_1 、 R_2 、 L_1 和 L_2 如上定义， $-O-nuc$ 为带 D-或 L-核苷类似物的一羟基的残基。根据本发明这方面典型的核苷类包括无环核苷类似物如无环鸟苷，和环核苷类似物如 ddI (2', 3'-双脱氧肌苷)、ddC (2', 3'-双脱氧胞苷)、d4T (2', 3'-双脱氧胸苷)、FTC、拉米夫定，2'-脱氧-3'-硫代胞苷 (-) 对映体 (3TC)、1592U89 (4-[2-氨基-6-(环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇)、AZT (叠氮胸苷)、DAPD (D-2, 6-二氨基嘌呤二氧戊环)、F-ddA 等，每一种均是核苷领域已知的。大量的一羟基 L-核苷类正处于发展中，本发明也发现了这些化合物的用途。本发明这方面的化合物将具有母体化合物所显示的相应用途，例如疱疹病毒感染对应于无环鸟苷衍生物，HIV 对应于 ddI、双
- 15 脱氧胸苷、ddC、拉米夫定、AZT&1592U89，HBV 对应于拉米夫定、FTC
- 20 等。

有利的式 Ic 子群含有式 Ic' 所示的一羟基核苷类的衍生物：



其中 A、A'、Alk 和 O-nuc 如上定义。上述式 Ic' 描述了 A 和 A' 在甘油部分的 1 和 3 位上, 且 L₂ 在甘油的 2 位的化合物。可能的异构体为 A 和 A' 分别在甘油 1 和 2 位上或 2 和 3 位上, L₂ 分别为 3 或 2 位上。

本发明这方面典型的化合物包括:

- 5 4'-O-[3-((2,3-二-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷 (acyclovir),
4'-O-[3-((2-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
4'-O-[3-((2,3-二-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
4'-O-[3-((2-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
- 10 4'-O-[3-((1,3-二-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
4'-O-[3-((1-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
4'-O-[3-((1,3-二-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
4'-O-[3-((1-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]无环鸟苷,
5'-O-[3-((2,3-二-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
- 15 5'-O-[3-((2-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
5'-O-[3-((2,3-二-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
5'-O-[3-((2-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
5'-O-[3-((1,3-二-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
5'-O-[3-((1-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
- 20 5'-O-[3-((1,3-二-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
5'-O-[3-((1-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]拉米夫定,
5'-O-[3-((2,3-二-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
5'-O-[3-((2-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
5'-O-[3-((2,3-二-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
- 25 5'-O-[3-((2-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
5'-O-[3-((1,3-二-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
5'-O-[3-((1-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
5'-O-[3-((1,3-二-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
5'-O-[3-((1-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]DAPD,
- 30 5'-O-[3-((2,3-二-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,
5'-O-[3-((2-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧

肌苷,

5'-O-[3-((2,3-二-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,

5'-O-[3-((2-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,

5'-O-[3-((1,3-二-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,

5'-O-[3-((1-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,

10 5'-O-[3-((1,3-二-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,

5'-O-[3-((1-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]-2',3'-双脱氧肌苷,

5'-O-[3-((2,3-二-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

15 5'-O-[3-((2-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

5'-O-[3-((2,3-二-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

5'-O-[3-((2-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

20 5'-O-[3-((1,3-二-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

5'-O-[3-((1-羟基-3-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

5'-O-[3-((1,3-二-L-异亮氨酰氧基)-2-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

5'-O-[3-((1-羟基-3-L-异亮氨酰氧基)-1-丙氧羰基)丙酰]双脱氧胸苷,

25 4-[2-氨基-6-(环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇相应的衍生物及其药学上可接受的盐。

本发明这方面化合物的子集也可含有式 Id 所示的化合物:



Id

其中 R_2 和 Alk 如式 Ia 中所定义的, O-nuc 如上定义。

式 Id 典型的化合物包括:

- 4'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]无环鸟苷,
- 5 4'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-戊酰]无环鸟苷,
- 4'-O-[6-(L-缬氨酰氧基)-己酰]无环鸟苷,
- 4'-O-[4-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]无环鸟苷,
- 4'-O-[5-(L-异亮氨酰氧基)-戊酰]无环鸟苷,
- 4'-O-[6-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]无环鸟苷,
- 10 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]ddI,
- 5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-戊酰]ddI,
- 5'-O-[6-(L-缬氨酰氧基)-己酰]ddI,
- 5'-O-[4-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]ddI,
- 5'-O-[5-(L-异亮氨酰氧基)-戊酰]ddI,
- 15 5'-O-[6-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]ddI,
- 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]双脱氧胸苷,
- 5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-戊酰]双脱氧胸苷,
- 5'-O-[6-(L-缬氨酰氧基)-己酰]双脱氧胸苷,
- 5'-O-[4-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]双脱氧胸苷,
- 20 5'-O-[5-(L-异亮氨酰氧基)-戊酰]双脱氧胸苷,
- 5'-O-[6-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]双脱氧胸苷,
- 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]DAPD,
- 5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-戊酰]DAPD,
- 5'-O-[6-(L-缬氨酰氧基)-己酰]DAPD,
- 25 5'-O-[4-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]DAPD,
- 5'-O-[5-(L-异亮氨酰氧基)-戊酰]DAPD,
- 5'-O-[6-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]DAPD,
- 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]拉米夫定,

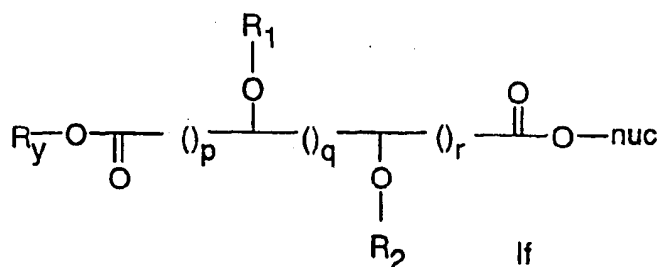
- 5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-戊酰]拉米夫定,
 5'-O-[6-(L-缬氨酰氧基)-己酰]拉米夫定,
 5'-O-[4-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]拉米夫定,
 5'-O-[5-(L-异亮氨酰氧基)-戊酰]拉米夫定,
 5 5'-O-[6-(L-异亮氨酰氧基)-己酰]拉米夫定,
 以及 4-[2-氨基-6-(环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇相
 应的衍生物。

式 Id 特别优选的化合物包括:

- 4'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]无环鸟核,
 10 4'-O-[3-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]无环鸟核,
 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]ddI,
 5'-O-[3-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]ddI,
 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]双脱氧胸苷,
 5'-O-[3-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]双脱氧胸苷,
 15 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]DAPD,
 5'-O-[3-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]DAPD,
 5'-O-[4-(L-缬氨酰氧基)-丁酰]拉米夫定,
 5'-O-[3-(L-异亮氨酰氧基)-丁酰]拉米夫定,
 以及 4-[2-氨基-6-(环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇相
 20 应的衍生物, 及其药学上可接受的盐。

这些化合物中 R_2 基团在活体内水解并脱除后, 遗留下的活性端基可环化并促进母体核苷的有效释放。

同样本发明提供式 If 所示的化合物:



25

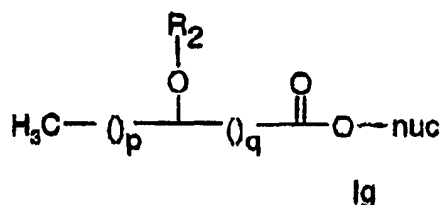
其中 R_1 、 R_2 、 R_y 、 p 、 q 、 r 和 $o-nuc$ 如上定义。

本发明这方面有利的化合物包括:

- 5'-O-[3-乙氧羰基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-ddI,
 5'-O-[3-乙氧羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-ddI,
 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二缬氨酰氧基-丁酰]-ddI,
 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-ddI,
 5 4'-O-[3-乙氧羰基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-无环鸟苷,
 4'-O-[3-乙氧羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-无环鸟苷,
 4'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二缬氨酰氧基-丁酰]-无环鸟苷,
 4'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-无环鸟苷,
 5'-O-[3-乙氧羰基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-DAPD,
 10 5'-O-[3-乙氧羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-DAPD,
 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二缬氨酰氧基-丁酰]-DAPD,
 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-DAPD,
 5'-O-[3-乙氧羰基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-双脱氧胸苷,
 5'-O-[3-乙氧羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-双脱氧胸苷,
 15 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二缬氨酰氧基-丁酰]-双脱氧胸苷,
 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-双脱氧胸苷,
 5'-O-[3-乙氧羰基-2-缬氨酰氧基-丙酰]-拉米夫定,
 5'-O-[3-乙氧羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酰]-拉米夫定,
 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二缬氨酰氧基-丁酰]-拉米夫定,
 20 5'-O-[4-乙氧羰基-2,3-二异亮氨酰氧基-丁酰]-拉米夫定,
 以及 4-[2-氨基-6-(环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇相
 应的苹果酸和酒石酸衍生物, 及其药学上可接受的盐; 在每种情况下,
 衍生自 L-酒石酸和 L-苹果酸的异构体是优选的。

本发明提供了式 Ig 所示的化合物:

25



其中 R₂、p、q 和 O-nuc 如上定义。

优选的式 Ig 化合物包括:

- 4'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]无环鸟苷,
 4'-O-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]无环鸟苷,
 5'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]ddI,
 5'-O-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]ddI,
 5 5'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]双脱氧胸苷,
 5'-O-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]双脱氧胸苷,
 5'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]拉米夫定,
 5'-O-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]拉米夫定,
 5'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)-丙酰]DAPD,
 10 5'-O-[2-(L-异亮氨酰氧基)-丙酰]DAPD,
 以及 4-[2-氨基-6-(环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇相
 应的衍生物, 及其药学上可接受的盐。这些化合物分解产物, 乳酸和
 氨基酸, 均为生理上可良好接受的。

- 本发明的化合物可形成盐, 从而构成本发明的另一方面。合适的
 15 式 I 化合物的药学上可接受的盐包括有机酸盐, 特别是羧酸盐, 包括
 但不限于乙酸盐、三氟乙酸盐、乳酸盐、葡萄糖酸盐、柠檬酸盐、酒
 石酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、泛酸盐、羟乙基磺酸盐、己二酸盐、
 藻酸盐、门冬酸盐、苯甲酸盐、丁酸盐、二葡萄糖酸盐、环戊酸盐、
 葡萄糖庚糖酸盐、磷酸甘油盐、草酸盐、庚酸盐、己酸盐、延胡索酸盐、
 20 烟酸盐、棕榈酸盐、果胶酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、
 丙酸盐、酒石酸盐、乳糖酸盐、pivolate、樟脑酸盐、十一烷酸盐和
 琥珀酸盐, 有机磺酸盐如甲磺酸盐、乙磺酸盐、2-羟乙基磺酸盐、樟
 脑磺酸盐、2-萘磺酸盐、苯磺酸盐、对氯苯磺酸盐和对甲苯磺酸盐;
 以及无机酸盐如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、
 25 半硫酸盐、硫氰酸盐、过硫酸盐、磷酸盐和磺酸盐。有时, 式 I 化
 合物可以水合物分离。

- 此处所用的术语“N 保护基团”或“N 保护”是指那些用来保护氨
 基酸或肽的 N-末端, 或是在合成过程中, 保护氨基不发生不希望的
 反应的基团。常用的 N 保护基团公开在 Greene, “有机合成中的保护
 30 基” (John Wiley & Sons, 纽约, 1981), 在此引作参考。N 保护
 基团包括酰基如甲酰基、乙酰基、丙酰基、新戊酰基、叔丁基乙酰基、
 2-氯乙酰基、2-溴乙酰基、三氟乙酰基、三氯乙酰基、邻苯二甲酰基、

邻硝基苄氧基乙酰基、 α -氯丁酰基、苯甲酰基、4-氯苯甲酰基、4-溴苯甲酰基、4-硝基苯甲酰基等；磺酰基如苯磺酰基、对甲苯磺酰基等，形成氨基甲酸酯的基团如苄氧基羰基、对氯苄氧基羰基、对甲氧基苄氧基羰基、对硝基苄氧基羰基、2-硝基苄氧基羰基、对溴苄氧基羰基、3,4-二甲氧基苄氧基羰基、4-甲氧基苄氧基羰基、2-硝基-4,5-二甲氧基苄氧基羰基、3,4,5-三甲氧基苄氧基羰基、1-(对联苯基)-1-甲基乙氧基羰基、 α,α -二甲基-3,5-二甲氧基苄氧基羰基、二苯甲基氧基羰基、叔丁氧基羰基、二异丙基甲氧基羰基、异丙氧基羰基、乙氧基羰基、甲氧基羰基、烯丙氧基羰基、2,2,2-三氯乙氧基羰基、苄氧基羰基、4-硝基苄氧基羰基、苄基-9-甲氧基羰基、环戊氧基羰基、金刚烷氧基羰基、环己氧基羰基、苄基硫羰基等；烷基如苄基、三苯基甲基、苄氧基甲基等；以及甲硅烷基如三甲基甲硅烷基等。较好的 N 保护基团包括甲酰基、乙酰基、烯丙基、F-moc、苯甲酰基、新戊酰基、叔丁基乙酰基、苯磺酰基、苄基、叔丁氧基羰基 (BOC) 和苄氧基羰基 (Cbz)。

在 Green 上述文献中也广泛论述了羟基和/或羧基保护基，包括醚如甲基醚，取代甲醚基如甲氧基甲醚、甲硫基甲醚、苄氧基甲醚、叔丁氧基甲醚、2-甲氧基乙氧基甲醚等，硅醚如三甲基硅醚 (TMS)、叔丁基二甲基硅醚 (TBDMS)、三苄基硅醚、三苯基硅醚、叔丁基二苯基硅醚、三异丙基硅醚等，取代乙基醚如 1-乙氧基甲乙醚、1-甲基-1-甲氧基乙醚、叔丁基乙醚、烯丙基乙醚、苄乙醚、对甲氧基苄甲基乙醚、二苯基甲乙醚、三苯基甲乙醚等，芳烷基如三苯甲基和 pixyl (9-羟基-9-苯基咕吨衍生物，特别是氯化物)。酯羟基保护基包括甲酸酯、甲酸苄酯、氯乙酸酯、甲氧基乙酸酯、苄氧基乙酸酯、新戊酸酯、金刚烷羧酸酯、苯甲酸酯等。碳酸酯羟基保护基包括甲基酯、乙烯基酯、烯丙基酯、肉桂基酯、苄基酯等。

为了与逆转录病毒和 HBV 抑制剂的常规用法保持一致，同时服用一至三种或更多的抗病毒素是有利的，如在 HIV 情况下服用 AZT、ddI、ddC、d4T、3TC、H2G、替甲酸、ritonavir、indinavir、沙硅那韦、奈韦拉平、delaviridine、Vertex VA478 或 Agouron AG1343 等，或在 HBV 情况下服用拉米夫定、干扰素、泛昔洛韦等。这些额外的抗病毒素将以大致能反映它们各自的治疗价值的剂量给药。相对于式 I 化

合物或盐，摩尔比通常为 100:1~1:100，特别是 25:1~1:25 较为有利。对于治疗疱疹感染的抗病毒核苷类，同时使用其它抗毒素并不常见。

5 尽管活性剂可以单独给药，优选作为药物制剂中的组分。这种制剂包括上述定义的活性剂以及一种或多种可接受的载体/赋形剂，以及任选的其它治疗成分。载体必须与制剂中其它成分相容并对受体无害。

10 制剂包括那些适于直肠、鼻、局部（包括口和舌下）、鞘或肠胃外（包括皮下、肌肉内、静脉内和表皮内）给药的制剂，但优选口服制剂。制剂通常以单位剂量形式存在，如片剂和缓释胶囊，并可通过药学领域任何已知的方法制备。

15 这些方法包括将上述定义的活性剂与载体结合，通常制备制剂的方法是，首先均匀紧密地将活性剂与液态载体或细碎的固态载体或两者结合，然后，如果需要的话，定型产物。本发明提供了制备药学组合物的方法，包括将式 I 化合物或其药学可接受的盐与药学可接受的载体或赋形剂结合或混合。如果制剂的制造涉及盐式活性组分与药物赋形剂的密切混合，则常优选使用非碱性赋形剂，即酸性或中性赋形剂。

20 本发明中的口服制剂可以离散的单元存在，如胶囊、扁囊剂或片剂，每一种均含有预定量的活性剂；可以粉剂或颗粒剂存在；可以活性剂在水或非水液体中的溶液或悬浮液形式存在；或以水包油乳液或油包水乳液及丸剂等形式存在。

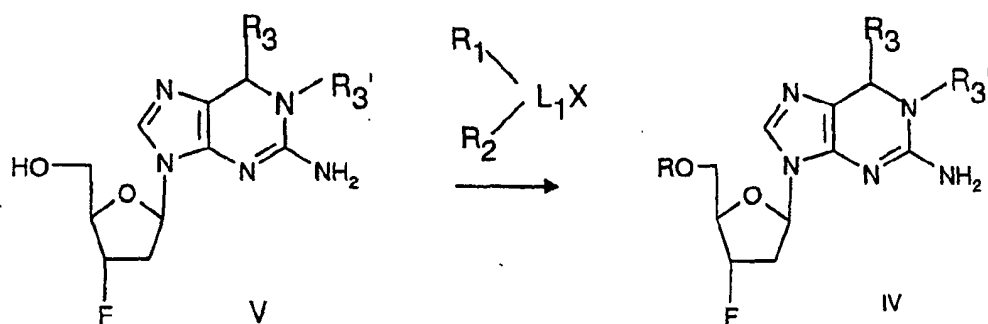
25 对于口服组合物（如片剂和胶囊），合适的术语“载体”包括载体如普通的赋形剂，如粘合剂，例如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨醇、黄蓍胶、聚乙烯吡咯烷酮（Povidone）、甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素钠盐、羟丙基甲基纤维素、蔗糖和淀粉；填料和载体，如玉米淀粉、明胶、乳糖、蔗糖、微晶纤维素、高岭土、甘露糖醇、磷酸二钙、氯化钠和藻酸；以及润滑剂如硬脂酸镁、硬脂酸钠和其它硬脂酸金属盐，硬脂酸甘油酯、硬脂酸、聚硅氧烷流体、滑石、石蜡、油和胶态硅石，调味剂如薄荷、冬青油、樱桃调味剂等也可采用。需
30 要的话，或加入一种使制剂易于辨认的着色剂。片剂也可通过本领域已知方法包衣。

片剂可以通过压制或模塑法制备，任选带有一种或多种辅助组份。

- 压片可通过在合适的机器中，压制以任意流动形式（如粉末或粒状）存在的活化剂来制备，任选与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂混合。塑片可通过在合适的机器中，将惰性液体稀释剂润化的粉状混合物成型来制备。片剂可任选被包衣或标记，且
- 5 配成后能达到缓慢释放或受控释放活性剂。

其它适用口服的制剂包括：含有在调味基质中的活性剂的锭剂，调味基质通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶；含有在惰性基质中的活化剂的软锭剂，惰性基质如明胶和甘油，或蔗糖和阿拉伯胶，以及含有在合适液体载体中的活性剂的漱口药。

- 10 本发明另一方面提供了一种制备式 I 或 Ic 化合物的方法，该方法包括核苷的酰化，此处为分子式 V 所示的 FLG，一般在 5' 羟基



- 其中， $R_1(R_2)L_1X$ 代表活化酸，如式 IIa 或 IIb 所示的羧酸衍生物，其中 R_1 、 R_2 和 L_1 如上定义或其被保护的衍生物。另外，活化酸也可包括式 $R_1(R_2)$ 甘油-D-X 的化合物，其中 R_1 、 R_2 和 D 如式 IIc 定义，或者在制备 Ia 化合物的情况下，活化酸包括活化的 $R_z-O-Alk-C(=O)X$ 衍生物。在后者中，连接基可通过下述方法依次构建：首先将适度保护的 D 或 ω -羟基羧酸酯化至核苷上，将末端羧基或羟基脱保护，然后酯化其上
- 15 适度保护的甘油或 R_z 部分。

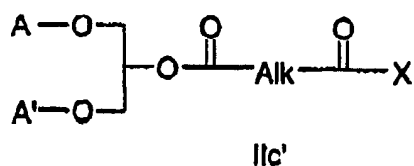
- 酰化反应中所用的活化衍生物含有例如酰卤、酸酐、活化酸酯或以偶联剂存在的酸，例如二环己基碳化二亚胺。典型的活化酸衍生物包括酰卤，烷氧基羰基卤化物衍生的酐，如异丁氧基羰基氯化物等，N-羟基琥珀酰胺衍生的酯，N-羟基酞酰亚胺衍生的酯，N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二酞亚胺衍生的酯，2,4,5-三氯苯酚衍生的酯等。活化酸
- 25 还可包括分子式为 RX 的化合物，其中 X 代表 OR' 部分，其中 R 如 R_z 所

定义, R'为例如 COCH_3 、 COCH_2CH_3 或 COCF_3 , 或者 X 为苯并三唑。

当本发明用于其它一元羟基化核苷类时, 可应用相应的方法, 即活化衍生物相应地酯化至一元羟基核苷类的游离 5'羟基上(或等同物), 一元羟基核苷类如无环鸟苷、ddI、FTC、拉米夫定、1592U89、

5 DAPD、F-ddA 等。

上述方法中所用的中间体本身定义了新的化合物, 特别是那些式 IIc' 所示的化合物:

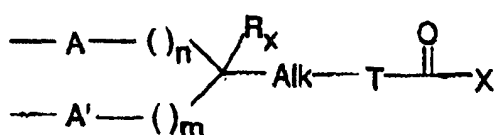


10 其中 A、A'和 Alk 如上定义(A 和 A'优选常用的保护基保护), X 代表游离酸或上述活化酸。

式 IIc'的典型化合物包括:

- 丙二酸 2,3-二-(L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 丙二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 15 丙二酸 2,3-二-(N-Fmoc-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 丙二酸 2,3-二-(N-Boc-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 丙二酸 2,3-二-(L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 丙二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 丙二酸 2,3-二-(N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 20 丙二酸 2,3-二-(N-Boc-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(N-Fmoc-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(N-Boc-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
- 25 丁二酸 2,3-二-(L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 丁二酸 2,3-二-(N-Boc-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
- 戊二酸 2,3-二-(L-缬氨酰氧基)-丙基酯

- 戊二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
 戊二酸 2,3-二-(N-Fmoc-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
 戊二酸 2,3-二-(N-Boc-L-缬氨酰氧基)-丙基酯
 戊二酸 2,3-二-(L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
 5 戊二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
 戊二酸 2,3-二-(N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
 戊二酸 2,3-二-(N-Boc-L-异亮氨酰氧基)-丙基酯
 及其相应的酰卤,特别是酰氯、酸酐和上述各化合物的二酯,例如
 丁二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙基酯,4-甲氧基苄酯
 10 丁二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙基酯,1,1-二甲基乙酯,
 中间体优选的基团还含有式 IIa' 基团:



IIa'

- 其中 Rx、Alk、m、n 和 T 如上所述, A 和 A' 代表与连接基上羟基酯化的 L'-脂族氨基酸(如果需要,保护 N)的酰基残基,或者 A 和 A' 之一为酰基残基,另一为游离羟基, X 代表上述的游离酸或活化酸, A 和 A' 优选为相同的氨基酸残基。

其它新的中间体包括式 Ia 所示化合物的游离或活化酸前体,如:

- 3-N-Boc-L-缬氨酰氧基丙酸、3-N-Fmoc-L-缬氨酰氧基丙酸、3-N-
 20 N-CBZ-L-缬氨酰氧基丙酸、3-N-Boc-L-异亮氨酰氧基丙酸、3-N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基丙酸、3-N-CBZ-L-异亮氨酰氧基丙酸、4-N-Boc-L-缬氨酰氧基丁酸、3-N-Fmoc-L-缬氨酰氧基丁酸、4-N-CBZ-L-缬氨酰氧基丁酸、4-N-Boc-L-异亮氨酰氧基丁酸、3-N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基丁酸、3-N-CBZ-L-异亮氨酰氧基丁酸等,以及活化衍生物,
 25 如酰卤。

新的中间体还包括上述式 IIe 和 II f 所示化合物的前体,特别是那些从“天然”构型(如 L-苹果酸和 L-酒石酸)衍生的化合物,例如:

3-乙氧基羰基-2-缬氨酰氧基-丙酸

3-乙氧基羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酸

4-乙氧基羰基-2,3-二-缬氨酰氧基-丁酸

4-乙氧基羰基-2,3-二-异亮氨酰氧基-丁酸

5 3-苄氧基羰基-2-缬氨酰氧基-丙酸

3-苄氧基羰基-2-异亮氨酰氧基-丙酸

4-苄氧基羰基-2,3-二-缬氨酰氧基-丁酸

4-苄氧基羰基-2,3-二-异亮氨酰氧基-丁酸等;

和相应的活化衍生物,如酸酐。

10 新的中间体还包括对应于式 IIId 所示结构的前体,如:

2-(L-缬氨酰氧基)丙酸、2-(N-Boc-L-缬氨酰氧基)丙酸、2-(N-Fmoc-L-缬氨酰氧基)丙酸、2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)丙酸、2-(L-异亮氨酰氧基)丙酸、2-(N-Boc-L-异亮氨酰氧基)丙酸、2-(N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基)丙酸、N-(CBZ-L-异亮氨酰氧基)丙酸、2-(L-缬氨酰氧基)丁酸、2-(N-Boc-L-缬氨酰氧基)丁酸、2-(N-Fmoc-L-缬氨酰氧基)丁酸、2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)丁酸、2-(L-异亮氨酰氧基)丁酸、2-(N-Boc-L-异亮氨酰氧基)丁酸、2-(N-Fmoc-L-异亮氨酰氧基)丁酸、N-(CBZ-L-异亮氨酰氧基)丁酸等;及其活化衍生物,如酰卤。

20 3'氟核苷如式 V 化合物的制备方法已经由 Herdiwijn 等在《核苷和核苷酸》8(1), 65-96(1989)详细论述,该文献在此引作参考。其它一元羟基核苷如无环鸟苷、ddI(2',3'-双脱氧肌苷)、ddC(2',3'-双脱氧胞苷)、d4T(2',3'-双脱氧胸苷)、FTC、拉米夫定(3TC)、1592U89(4-[2-氨基-6-(环丙氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇)、AZT(叠氮胸苷)、DAPD(D-2,6-二氨基嘌呤二氧戊环)、F-ddA 等是已知的,并在该文献中详细论述。

25 $R_1(R_2)L_1L_2X$ 基团的活性衍生物可以预先制备或通过用试剂如二环己基碳化二亚胺(DDDC)或 O-(1H-苯并三唑-1-基)N,N,N',N'四甲基脲四氟硼酸盐(TBTU)在原位生成。当使用酰卤,如酰氯时,叔胺催化剂,如三乙胺、N,N'-二甲基苯胺、吡啶或二甲氨基吡啶可加到反应混合物中,与释放出的氢卤酸结合。

30 反应优选在非反应性溶剂如 N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二噁烷、乙腈或卤代烃如二氯甲烷中进行,如果需要的话,上述提及的任

何一种叔胺催化剂均可作为溶剂，只需注意保持适当的过量。反应温度一般在 0~60℃ 内变化，但优选保持在 5~50℃。1~60 小时后，反应通常基本上完成，然后用薄层色谱 (TLC) 和合适的溶剂体系跟踪反应过程，通常当用 TLC 确定反应完成时，用有机溶剂萃取产物并用色谱纯化和/或用合适的溶剂体系重结晶。

核苷基质上发生酰化反应所产生的副产物可用色谱法分离，但是这种错位的酰化作用可通过控制反应条件而使之最小。例如通过控制试剂浓度或加料速率，特别是酰化剂；通过降低温度或通过选择溶剂可达到控制条件。用 TLC 跟踪反应以监测控制条件。用常用的保护基保护基质上的 6-氧基，特别是 2-氨基，可以防止错位的酰化作用。

R_3 为氢时，式 IV 所示的化合物可按下述方法制备：用一种活化基如卤素将式 I 所示相应的鸟嘌呤化合物在 6 位活化（其中 R_2 氨基酸残基中裸露的氨基官能团任选用常用的 N 保护基团保护）。得到的活化 6-嘌呤随后还原为嘌呤，例如用钨催化剂，然后脱去保护得到所需的式 IV 或式 V 化合物。

R_3 为 R_1 或其它的酯的化合物可通过相应的式 I 或式 IV 羟基化合物的酯化（类似于上述的酯化反应）来制备，任选在 R_2 和/或 R_3 氨基酸残基中裸露的氨基官能团被 N 保护之后。 R_3 为醚时的化合物可通过类似于上述 W09313778 公开的方法制备，同样任选裸露氨基的 N 保护。当 R_3 为叠氮化物时，如 W09709052 所述的方法制备。

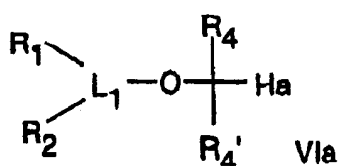
式 IIId 所示的中间体可使用适当活化的及 N 保护的 R_2 衍生物，如 N-CBZ 缬氨酰基或异亮氨酰基衍生物结合常用偶联剂如 DMAP/DCC；或者使用氨基酸酰氯，将羧基-保护的羟基链烷酸酰化，一般是 2-羟基-1-链烷酸来制备。然后除去羧基保护基，例如通过酸解。得到的中间体按上述方法活化，或者游离酸和偶联剂一起在常用的酯化条件下酯化核苷。

式 Ia 化合物通常可用前一段所述的方法制备，即羧基保护的 α -羟基、 ω -羧酸如乙醇酸、乳酸、羟基丁酸等和合适的 N 保护的 R_2 衍生物酯化。也可用游离酸和偶联剂一起或活化的酸，如相应的酰卤。除去羧基保护基，将得到的中间体用上述方法和核苷进行酯化。

含有式 IIe 或 IIIf 结构的化合物可通过一般的羧基保护基团如苯甲酰基，对不同的二元羧酸，如 L-酒石酸或 L-苹果酸，的末端羧基进

行羧基保护来制备。然后游离的羟基用普通的酯化技术来酯化, 如在 DMF 中 DMAP & DCC, 用适当的 N 保护的 R_2 氨基酸, 如 N-Boc-L-缬氨酸或 N-Boc-L-异亮氨酸酯化。除去苯甲酰基羧基保护基, 并用常规的方法, 如实施例中的方法, 将得到的产物与一羟基核苷的 5'-羟基官能团酯化。最后, 游离的羧基官能团与 R_1 基团酯化, 或更优选酯化为常用的药学上可接受的酯 - 如乙酯。

含有磷酸化部分 III 的化合物可通过 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟嘌呤-5-一磷酸盐与式 VIa 化合物反应制备,

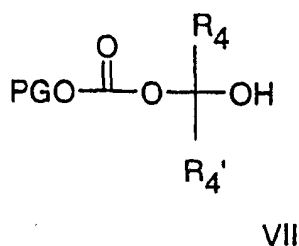


10

其中 Ha 为卤素, 如氯、碘或溴, 条件类似于那些在 US 4 337 201、US 5 227 506、WO 94/13682 & WO94/13324, Starret 等在 J Med Chem 37 1857-1864(1994)和 Iyer 等在 Tetrahedron Lett 30 7141-7144(1989)所描述的条件, 这些文献在此引作参考。一磷酸盐可通过常用的 FLG 的磷酸化作用制备, 例如, 在 Herdwyn 等上述文献所述的。相应的技术将用于其它一元羟基核苷的一磷酸盐。

15

另一种得到磷酸酯的酯化反应也可分两个步骤进行, 包括第一步在 FLG-一磷酸酯与式 VII 化合物之间的反应



20

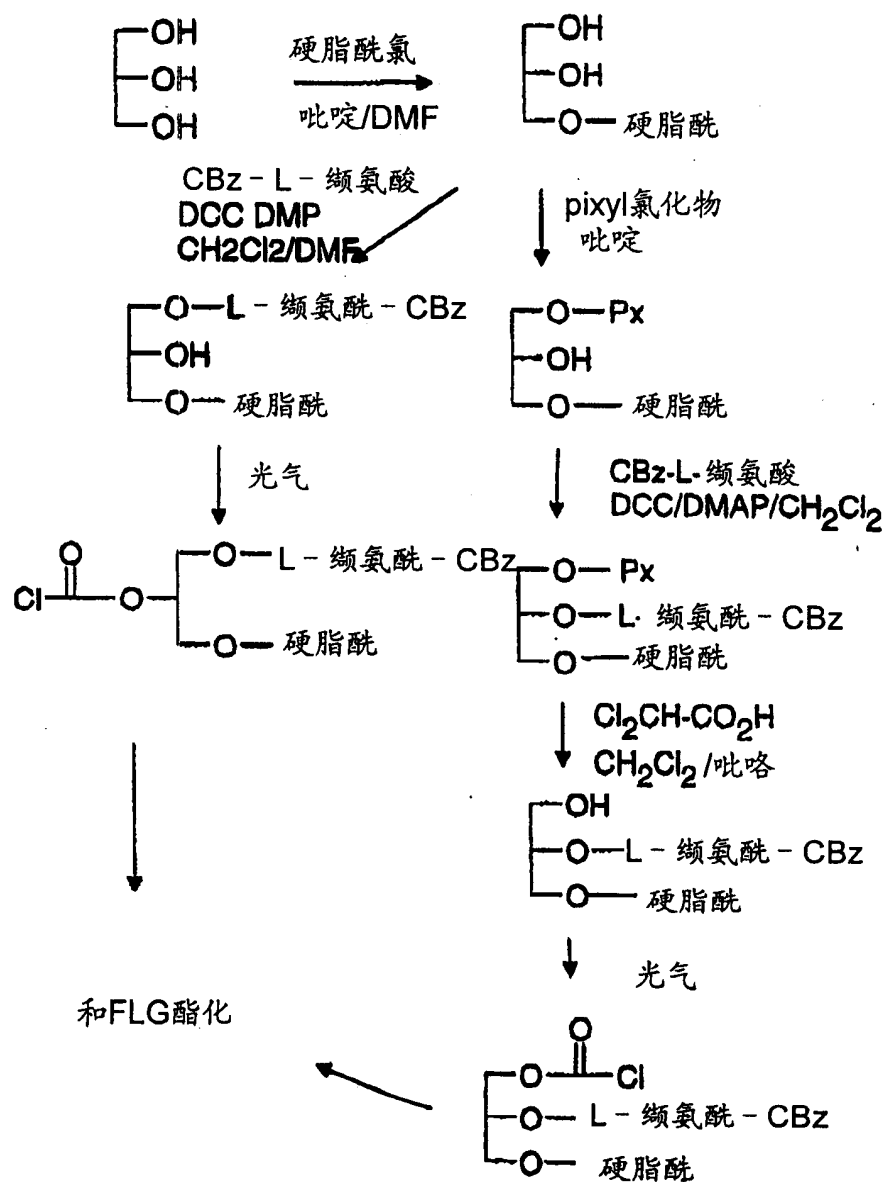
其中 R_4 和 $R_{4'}$ 如上定义, PG 为如上所述的常规羧基保护基, 然后脱保护并与第三个, 最右端官能团为羟基的连接基 L_1 酯化。这种连接基团的两个例子如下线路图 1 (每系列中倒数第二个化合物) 所述。在该实施方案中, 式 Va 最左边的羧基与式 IIa 连接的连接基的羧基相同。

含有任选连接基 L_2 的化合物也可通过两步法制备。特别是式 $ClC(=O)OC(R_4)(R_4')Cl$ 的化合物可与 FLG 的 5'羟基（任选在基质上用常用保护基保护）发生反应，这在头孢菌素领域是已知的。得到的 $FLG-5'-O-C(=O)OC(R_4)(R_4')$ 盐酸盐随后与 R_1 以及带三官能团连接基的 R_2 进行反应，其中第三个官能团含有羧基官能团，如钾盐。

应当理解，式 IIa 的三官能 L_1 基团，其中 n 和 m 为 1， Alk 为不存在时，可如下线路图 1 所示，参见硬脂酰/L-缬氨酰基的组合，经区域选择性酯化反应从甘油制备。简而言之， R_1 和 R_2 选择性与甘油的 1 和 3 位酯化，然后 2 位转化为合适的 $-T-C(=O)-$ 基团，该基团随后与氯核苷的 5'位酯化，或与 L_2 （未标出）的协同基团酯化。甘油衍生物的 2 位上的羟基也可以与在其左手端含协同羧基官能团的 L_2 基团进行酯化。

式 IIa 的 L_1 基团，其中 m 为 1， n 为 0， Alk 为亚甲基时，也可以通过区域选择性地将 R_1 和 R_2 酯化至甘油的 1 和 2 位上而制备，如下线路图 1 所示，然后 3 位的羟基转化为合适的 $-T-C(=O)-$ 基团。线路图 1 中最右端的一系列反应显示了 R_1 与甘油的 1 位酯化以及 R_2 与 2 位酯化的情况。其中 R_1 与 2 位酯化， R_2 与 1 位酯化的相应排列可通过下述方法得到：首先用 $CBz-L$ -缬氨酸/DCC/DMAP/DMF 处理甘油，然后在脂肪酸 R_1 与甘油的 2 位酯化前，用 $pixyl$ 氯化物保护 3 位，最后脱保护，如果需要的话，转化 3 位。

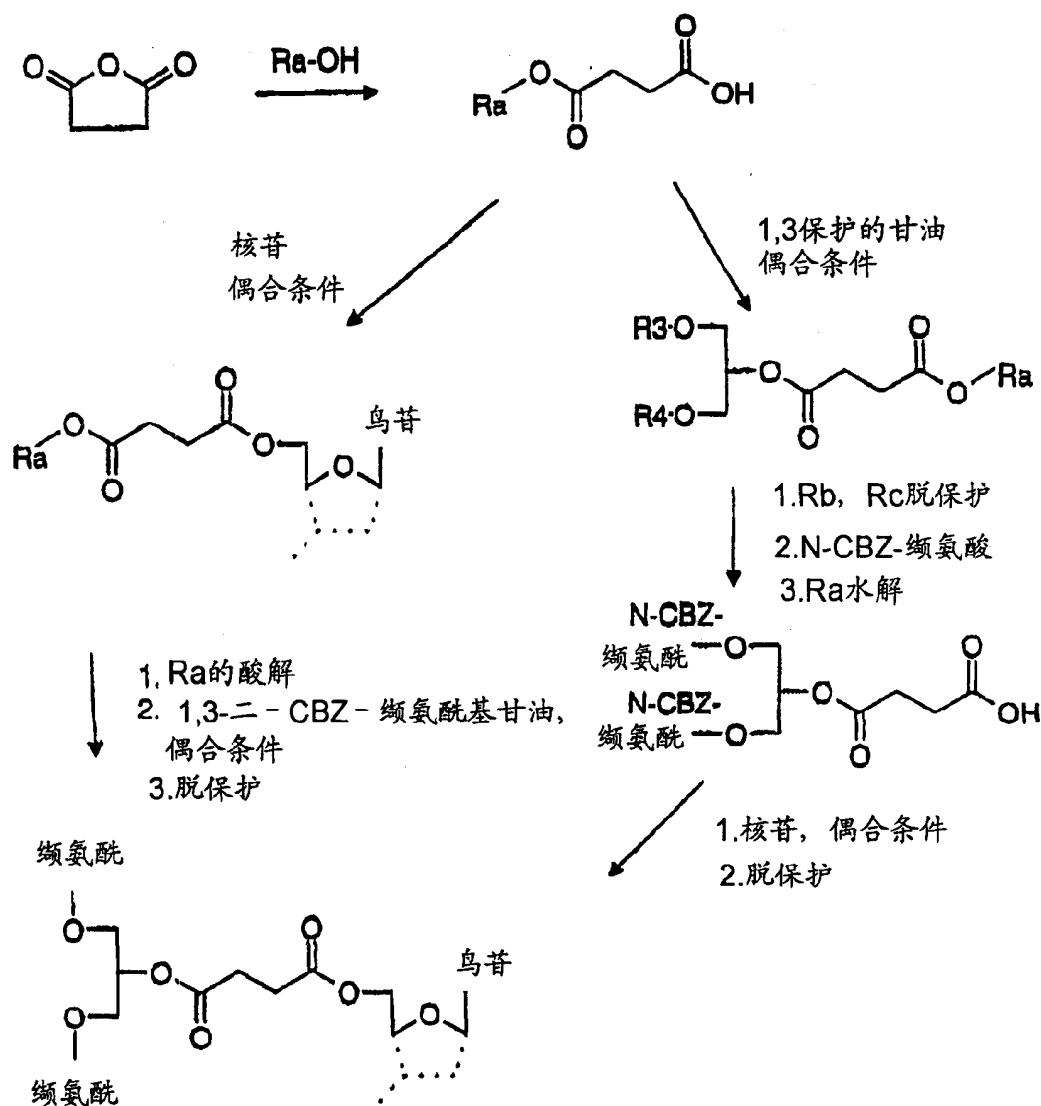
SCHEME I



尽管线路 1 已经通过参考 R_1 为硬脂酰, R_2 为 L-缬氨酰基的组合而进行阐明, 可认为这种基本的框图也可适用于其它氨基酸, 其中可使用其它脂肪酸; 或采用常规保护基团, 也适用于 R_2 为氨基酸衍生物, R_1 为羟基的组合。当 T 含有一个-NH-基团时, 连接基可通过类似的区域选择性酯化反应进行制备, 然后将游离的羟基转化为氨基, 再还原为叠氮化物, 最后与光气反应以生成相应的氨基甲酰氯。

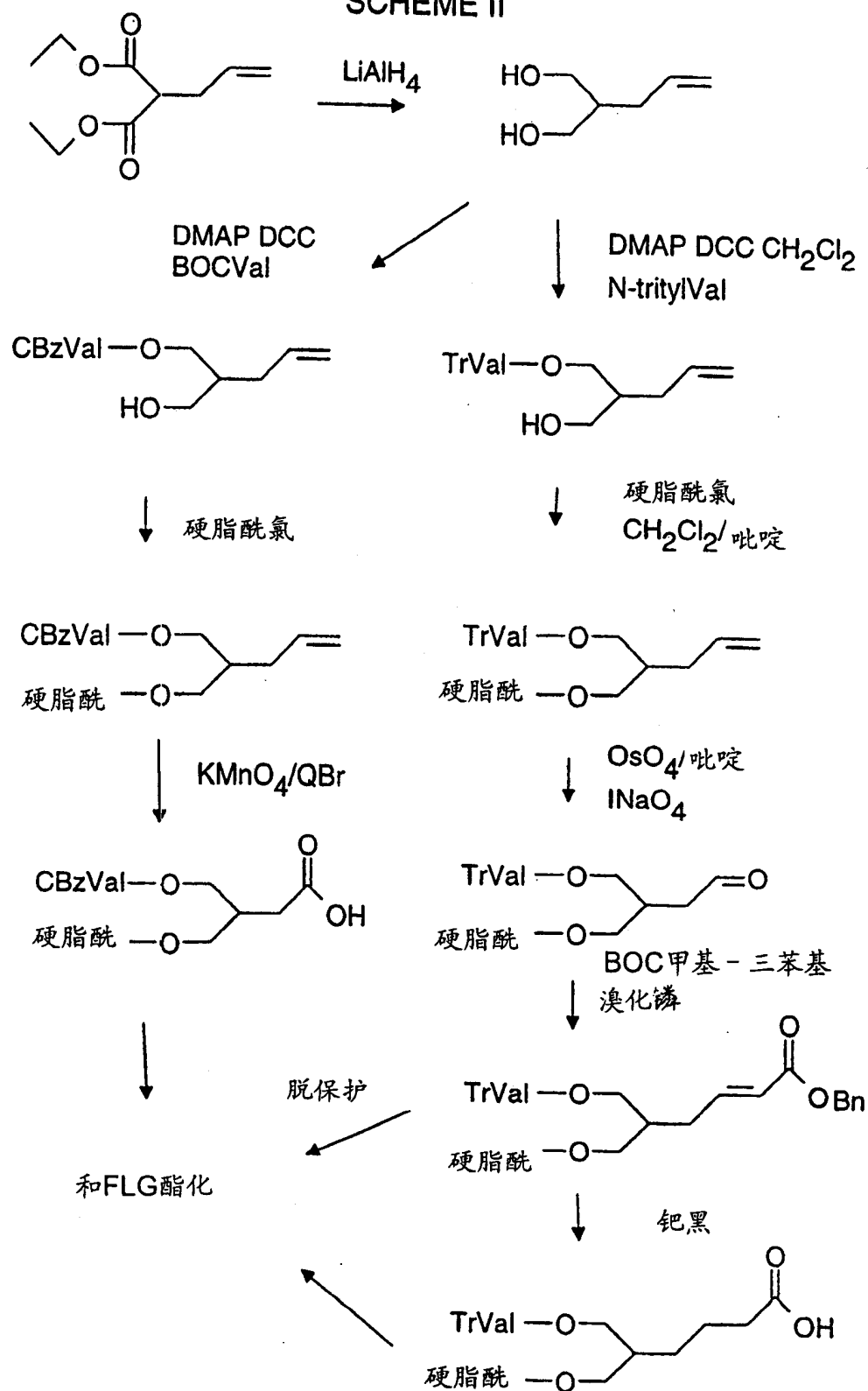
改变线路图 I 可制备式 IIc 所示的连接基。在这种改动中, 上述光气反应步骤用与活化二元羧酸如琥珀酸酐进行的反应来代替。这样得到甘油三酯(含(任选保护的) R_1 酯, 保护的 R_2 酯和二元羧酸的酯), 然后将二元羧酸上的游离羧基活化并按常用方式酯化到核苷上。式 IIc 所示的连接基也可在核苷原位生成, 在这种改动中, 二元羧酸酯化到被适当保护的甘油衍生物上。这种琥珀酸单酯随后按常用的方式酯化到核苷的 5'-羟基官能团上。最终甘油部分中一个或二个保护基被 L-氨基酸酯代替。另外, 如果存在的话, 剩余的保护基被脂肪酸酯所代替, 或被除去而余下游离羟基。线路图 IA 所示说明了一个实施例, 其中核苷是环鸟苷(虚影表示 FLG), 二元羧酸为琥珀酸, R_1 和 R_2 都为 CBZ-保护的缬氨酰基, 当然它也可应用到式 Ic 的其它变化。在每一种情况下, 偶联条件是指常规酯化条件, 如偶联剂 DMAP、DCC 等或把相关的羧基官能团转化为活性衍生物如酰氯, 或者活化的琥珀酸部分中含有酸酐。

SCHEME IA



在线路图 IA 的一种改动, 是将琥珀酸酐直接与核苷反应, 从而避免了第一步保护和脱保护过程。另一种方法是用 N 保护的氨基酸部分来区域选择性地酯化甘油部分, 一般同时将偶联到核苷的羟基予以保护, 然后将该羟基脱保护并和核苷偶联。

SCHEME II



m 和 n 为 1, Alk 为亚烷基或亚烯基, T 为单键时, 连接基可如上述线路图 II 所示的方法制备。式 IIa 的三官能连接基团 L_1 中的 m、n、Alk 和各种官能团的其它组合方式可用相应的原料, 通过类似于上述的方法制备。原料如 1, 2, 4-三羟基丁烷 (CA 登记号 3968-00-6)、3, 4-二羟基丁酸 (1518-61-2&22329-74-4)、(S)-3, 4-二羟基丁酸 (51267-44-8)、(R)-3, 4-二羟基丁酸 (158800-76-1)、1, 2, 5-戊三醇 (51064-73-4&14697-46-2)、(S)-1, 2, 5-戊三醇 (13942-73-9)、(R)-1, 2, 5-戊三醇 (171335-70-9)、4, 5-二羟基戊酸 (66679-29-6&129725-14-0)、1, 3, 5-戊三醇 (4328-94-3) 和 3-(2-羟乙基)-1, 5-戊二醇 (53378-75-9)。每一种原料的制备方法参照各自的登记号。Ohsawa 等在 Chem. Pharm. Bull. 41 (11) 1906-1909 (1993) 中和 Terao 等在 Chem. Pharm. Bull. 39 (3) 823-825 (1991) 中描述了用脂肪酶 P 控制三官能连接基的立体化学。

R_2 的氨基酸衍生物和 R_1 (如果存在的话) 也可以通过 2-氧杂-4-氮杂-环烷-1, 3-二酮法酯化到连接基上, 该方法在国际专利申请 WO 94/29311 中描述, 该文献在此引作参考。

通过常用的肽化学, 将 R_1 和/或 R_2 的羧基官能团连接到连接基衍生的氨基上, 一般同时用常用的 N 保护基保护 α -氨基。在连接基的羧基和 R_2 的 α -氨基之间, 通过常用的肽化学形成酰胺键, 一般同时进行 α -羧基官能团的保护。脂肪醇 R_1 酯化到连接基上的羧基官能团的类似于上述 R_1 为脂肪酸的的酯化方法, 但是酯化是反方向的。

附图说明

现在举例说明本发明的各个方面, 以下实施例及其附图仅作为参考, 其中:

图 1 所示为经过治疗和未经治疗的血清病毒-DNA 浓度, 感染 DHBV 的鸭子作为时间函数, 如生物实施例 3 所示;

图 2 所示为经过治疗的体重增值, 感染 DHBV 的鸭子作为时间函数, 如生物实施例 3 所示。

具体实施方式

实施例 1

2-(硬脂酰氧基甲基)-2-(N-(苄基甲氧基羰基)-L-缬氨酰氧基甲基)-丙酸

向 2, 2-二(羟甲基)丙酸 (28.16 克, 210 毫摩尔) 的水 (50 毫升)

溶液中加入氢氧化钾 (11.78 克, 210 毫摩尔)。5 分钟后, 在真空中蒸发溶液, 并用无水 DMF 共蒸发残余物三次。然后将残余物溶解在 DMF (500 毫升) 中, 向该溶液中加入苯甲酰溴 (3.57 毫升, 30 毫摩尔)。搅拌 30 分钟后, 通过 Celite 过滤反应混合物, 倒入碳酸氢钠水溶液中, 并用二氯甲烷萃取。收集有机相, 然后用碳酸氢钠的水溶液洗涤。随后在真空中蒸发得到 2,2-二(羟甲基)丙酸苄酯 (4.37 克),
¹H-NMR(CDCl₃): 7.35(s, 5H), 5.20(d, 2H), 3.91-3.71(m, 4H), 1.10(s, 3H).

在 40 分钟时间, 向 2,2-二(羟甲基)丙酸苄酯 (4.37 克, 19.5 毫摩尔) 的吡啶 (50 毫升) 溶液中滴加硬脂酰氯 (4.13 克, 13.6 毫摩尔) 的二氯甲烷溶液。然后反应保持 16 小时, 并倒入碳酸氢钠水溶液中, 用二氯甲烷萃取。收集有机相并在真空中蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物 2-(羟乙基)-2-(硬脂酰氧基甲基)丙酸苄酯 (1.97 克),
¹H-NMR(CDCl₃): 7.34(s, 5H), 5.17(d, 2H), 4.28(dd, 2H), 3.69(dd, 2H), 2.24(t, 2H), 1.57(m, 2H), 1.25(s, 28H), 1.22(s, 3H), 0.87(t, 3H).

将 2-(羟乙基)-2-(硬脂酰氧基甲基)丙酸苄酯 (1.86 克, 3.8 毫摩尔) 溶解在吡啶 (30 毫升) 中。向溶液中加入甲苯磺酸 (73 毫克, 0.39 毫摩尔)、N-苄基甲氧基羰基-L-缬氨酸 (3.94 克, 11.6 毫摩尔) 和 DCC (3.58 克, 17.4 毫摩尔)。反应在 4℃ 保持 16 小时, 然后通过 Celite (硅藻土) 过滤。将滤液倒入碳酸氢钠水溶液中, 并用二氯甲烷萃取。收集有机相并在真空中蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物 2-(N-苄基-甲氧基羰基)-L-缬氨酰氧基甲基)-2-(硬脂酰氧基甲基)丙酸苄酯, 产量 2.38 克,
¹H-NMR(CDCl₃): 7.78-7.25(m, 13H), 5.29(m, 1H), 5.15(d, 2H), 4.38-4.23(m, 7H), 2.19(t, 2H), 2.10(m, 1H), 1.55(m, 2H), 1.24(m, 31H), 0.94-0.83(m, 9H).

向 THF/甲醇 (16 毫升/8 毫升) 混合溶剂中的 2-(N-苄基-甲氧基羰基)-L-缬氨酰氧基甲基)-2-(硬脂酰氧基甲基)丙酸苄酯 (1.86 克, 3.8 毫摩尔) 溶液中加入甲酸铵 (376 毫克, 6 毫摩尔)、甲酸 (1.87 毫升) 和钨黑 (40 毫克)。反应在室温中保持 16 小时, 然后通过 Celite 过滤。蒸发后, 通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 1.05 克。

实施例 2

1-0-硬脂酰-2-0-(N-CBz-L-缬氨酰)甘油

a) 制备 1-0-硬脂酰甘油

向溶解在 DMF (300 毫升) 中的甘油 (30 克, 326 毫摩尔) 和吡啶 (25 毫升) 混合物中滴加溶解在 DMF (100 毫升) 中的硬脂酰氯 (10 克, 33 毫摩尔)。混合物在冰浴上冷却直至滴加完成。反应在 N_2 气氛下保持过夜。15 小时后加入 CH_2Cl_2 (300 毫升) 和饱和的 $NaHCO_3$ (水溶液)。分相并用水 (50 毫升) 洗涤有机相, Na_2SO_4 干燥并在真空下蒸发溶剂和吡啶, 在二氧化硅柱上进行色谱分离 (CH_2Cl_2 -MeOH, 20:1) 粗产物并重结晶 (CH_2Cl_2 -乙醚), 产量约 7 克。

10 b) 制备 pixyl 氯化物

将乙酰氯 (150 毫升, 2.1 摩尔) 加入到磁力搅拌下的 9-羟基-9-苯基咕吨 (20 克, 72 毫摩尔) 的苯悬浮液中。得到均匀的深红色溶液, 该溶液在 20℃ 搅拌 30 分钟。在减压下除去挥发性物质。仔细加入乙醇, 中和过量的 $AcCl$ 。残余物和甲苯 (2×30 毫升) 及环己烷 (2×30 毫升) 共蒸发, 得到结晶残余物, 该残余物密闭保存。也可从 Aldrich 买到 Pixyl 氯化物。

c) 制备 1-0-硬脂酰, 3-0-pixyl 甘油

混合从上述 a) 得到的产物 (2.28 克) 和吡啶 (25 毫升), 并加热直至溶解。在冰浴中冷却后加入从步骤 b) 中得到的 pixyl 氯化物 (1.92 克)。搅拌下, 氮气气氛下在冰浴中保持混合物半小时, 然后在室温下保持 1.5 小时。在真空下蒸发吡啶, 残余物溶解在 CH_2Cl_2 (70 毫升) 中并用 0.5M 柠檬酸洗涤以除去剩余吡啶。用 Na_2SO_4 干燥残余物, 蒸发并色谱分离 (乙醚-己烷 1:3), 得到 1.25 克纯产物, TLC Rf 约 0.2。

25 d) 制备 1-0-硬脂酰, 2-0-(N-CBz-L-缬氨酰), 3-0-pixyl 甘油

步骤 c) 的产物 (237 毫克, 0.39 毫摩尔)、CBz-L-缬氨酸 (116 毫克, 0.46 毫摩尔)、DCC (96 毫克, 0.46 毫摩尔) 和 DMAP (4.7 毫克, 0.04 毫摩尔) 溶解在 CH_2Cl_2 (4 毫升) 中。在搅拌下, 氮气气氛中混合物保持过夜。18 小时后用玻璃过滤器过滤混合物, 通过硅胶柱 (乙醚-己烷 1:4) 色谱分离得到产率为 230 毫克, TLC Rf 为 0.2。

e) 制备 1-0-硬脂酰-2-0-(N-CBz-L-缬氨酰)甘油

用实施例 3 描述的方法, 通过选择性脱保护除去步骤 d) 的产物中

的 pixyl 基团得到标题化合物,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 7.35 (m, 5H), 5.3–4.9 (m, 4H), 4.35–4.25 (m, 3H), 3.8–3.6 (m, 2H), 2.31–2.25 (m, 2H), 2.20–2.10 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.02–0.86 (m, 9H).

5 实施例 3

1-0-(N-CBz-L-缬氨酰)-2-0-硬脂酰甘油

a) 制备 1-0-(N-CBz-L-缬氨酰)甘油

在室温下, 将 CBz-L-缬氨酸 (4.35 克, 17.3 毫摩尔)、二环己基碳化二亚胺 (4.29 克, 20.8 毫摩尔) 和 4-二甲基氨基吡啶 (0.212 克) 一起加入到五倍过量的甘油中 (8 毫升, 86.9 毫摩尔)。搅拌过夜后, 过滤悬浮液, 在真空中从滤液中除去 DMF。将残余物溶解在 CH_2Cl_2 中, 连续用饱和 NaHCO_3 、盐水和水洗涤, 然后干燥。粗产物在硅胶上以 4/1 EtOAc-己烷作为洗脱液进行色谱纯化, 产量为 2.465 克, Rf (4/1 EtOAc-己烷) 0.17, (20/1 CH_2Cl_2 -甲醇) 0.12。

15 b) 制备 1-0-(N-CBz-L-缬氨酰)-3-0-pixyl 甘油

在氮气下, 将步骤 a) 的产物 (0.672 克, 20.1 毫摩尔) 溶解在干的吡啶 (3.5 毫升) 中。加入 9-氯-9-苯基咕吨 (如上制备的 pixyl 氯化物, 0.65 克, 22.0 毫摩尔, 1.1 当量), 混合物在室温下搅拌 1.5 小时。加入 MeOH (1.5 毫升), 将混合物在 10 毫升 Et_2O 和 10 毫升饱和 NaHCO_3 之间分配。水层用更多的乙醚萃取, 合并有机层, 干燥并用甲苯浓缩数次, 得到白色固体。粗产物在硅胶上以 3/1 己烷-EtOAc 作为洗脱液进行色谱纯化, 得到 0.681 克。

pixyl 基团也可通过 Gaffney 等, 在 Tetrahedron Lett 1997, 38, 2539–2542 描述的步骤用 PxOH 和乙酸载上。

25 c) 制备 1-0-(N-CBz-L-缬氨酰)-2-0-硬脂酰-3-0-pixyl 甘油

在冰浴, 氮气中, 搅拌下向步骤 b) 的产物 (0.658 克, 1.13 毫摩尔) 的 11 毫升吡啶溶液中滴加在 1.5 毫升 CH_2Cl_2 中的硬脂酰氯 (496 毫升, 1.3 当量)。15 分钟后, 混合物在室温下搅拌过夜。混合物用 20 毫升 Et_2O 稀释, 并用 10 毫升饱和 NaHCO_3 洗涤。用更多的 Et_2O 萃取水层, 合并有机层, 用盐水 (20 毫升) 洗涤, Na_2SO_4 干燥, 并用甲苯浓缩数次。粗产物 (1.37 克) 在 130 克硅胶上以 6/1 己烷-EtOAc 进行色谱纯化。第一段取 500 毫升, 随后各取 100 毫升, 所需的物质

在 2-5 段中洗脱, 产量 0.748 克。

d) 制备 1-O-(N-CBz-L-缬氨酰)-2-O-硬脂酰甘油

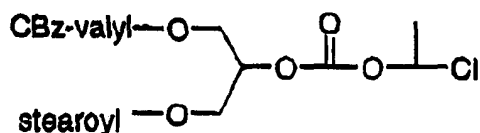
- 在室温下, 向溶解在 35 毫升中的 CH_2Cl_2 的步骤 c) 的产物 (0.748 克, 872 毫摩尔) 的 0.025M 溶液中加入吡咯 (16.5 摩尔当量) 和二氯乙酸 (5.5 摩尔当量)。5 分钟后 TLC 显示反应完成。混合物用 300 毫升 CH_2Cl_2 稀释, 并用 30 毫升饱和 NaHCO_3 洗涤。水层用更多的 CH_2Cl_2 萃取。合并有机相, 用盐水 (30 毫升) 洗涤, Na_2SO_4 干燥并浓缩。粗产物用硅胶以 2/1 己烷-EtOAc (含 0.3% 乙酸) 作为洗脱液进行色谱纯化, 产量 0.363 克, R_f (2/1 己烷-EtOAc) 0.21,
- ^1H NMR (CDCl_3) δ ppm 0.86-0.99 (m, 9H), 1.25 (s, 28H), 1.61 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 2.32 (m, 2H), 3.74 (br s, 2H), 4.28-4.44 (m, 3H), 5.09 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.22 (d, 1H), 7.36 (m, 5H)。

实施例 4

1-O-硬脂酰-3-O-(N-CBz-L-缬氨酰)甘油

- 实施例 2 部分 a) 的产物 (2.86 克, 7.99 毫摩尔)、DCC (0.9 克, 4.36 毫摩尔)、4-(N,N-二甲基)氨基吡啶 (DMAP) (0.048 克, 0.39 毫摩尔) 和 N-CBz-L-缬氨酸 (1 克, 3.98 毫摩尔) 溶解在 CH_2Cl_2 (60 毫升) 和 DMF (6 毫升) 中。反应在环境温度下放置 18 小时, 然后过滤, 在减压下蒸发溶剂, 残余物溶解在 CH_2Cl_2 (100 毫升) 中并过滤。粗标题化合物用色谱 [SiO_2 , 乙醚/己烷 (1:2)] 纯化, 得到 1.3 克所需产物。未反应的 1-硬脂酰甘油可用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20:1) 洗脱回收,
- ^1H -NMR (CDCl_3): δ 5.25 (d, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.30-4.05 (m, 6H), 2.65 (d, 1H), 2.35 (t, 2H), 2.06 (m, 1H), 1.62 (m, 2H), 1.26 (s, 28H), 1.00-0.84 (m, 9H)。

25 实施例 5



向冰冷却的氯甲酸 1-氯乙基酯 (1.89 克, 13.2 毫摩尔) 的无水 CH_2Cl_2 (5 毫升) 的溶液中加入在 CH_2Cl_2 (20 毫升) 中的实施例 4 化

合物, 然后加入无水吡啶 (1.2 毫升, 29.6 毫摩尔)。在氩气气氛中冷却下搅拌反应混合物, 直至 TLC (乙醚/己烷 1:2) 表明原料耗尽。

1.5 小时后, 混合物用水 (3×5 毫升)、饱和 NaHCO_3 (5 毫升) 洗涤并干燥 (Na_2SO_4)。用色谱 [SiO_2 , 乙醚/己烷 (1:2)] 纯化, 得到标题化合物

5 物 (4.0 克),

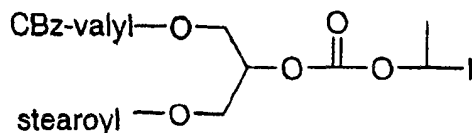
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.36–7.32 (m, 5H), 6.40 (m, 1H), 5.24 (m, 1H),

5.11 (s, 2H), 4.30 (m, 6H), 2.32 (m, 2H), 2.15 (m, 1H), 1.82 (m, 3H),

1.60 (m, 2H), 1.25 (br s, 28H), 0.97 (m, 3H), 0.86 (m, 6H)。

实施例 6

10



向实施例 5 的化合物 (3.4 克, 4.87 毫摩尔) 的无水乙腈 (47 毫升) 溶液中加入碘化钠 (3.65 克, 24.3 毫摩尔)。得到的溶液在氩气气氛下回流直至 NMR 表明原料耗尽。4.5 小时后, 加入乙醚 (50 毫升) 并过滤混合物。蒸发除去溶剂, 粗产物溶解在乙醚 (50 毫升) 中。

15 乙醚溶液用水 (2×10 毫升) 洗涤并干燥 (Na_2SO_4), 在减压下蒸发。

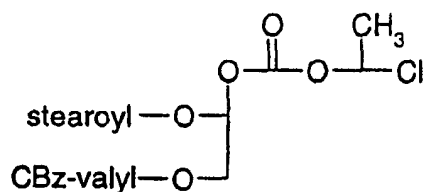
用色谱 [SiO_2 , 乙醚/己烷 (1:2)] 纯化, 得到标题化合物 (2.15 克),

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.37 (m, 5H), 6.75 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.15 (s, 1H),

4.3 (m, 6H), 2.32 (m, 1H), 2.22 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.25 (s, 28H),

20 0.95 (m, 9H)。

实施例 7

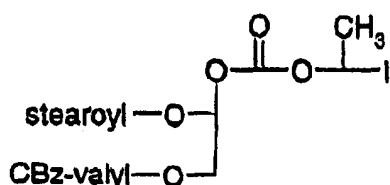


在冰浴, 氩气中, 搅拌下冷却实施例 3 化合物 (810 毫克, 1.37 毫摩尔) 的 2.2 毫升无水二氯甲烷溶液。加入氯甲酸 1-氯乙基酯 (298

微升, 2.74 毫摩尔), 再滴加 2.5 毫升二氯甲烷中的吡啶 (665 微升, 8.22 毫摩尔)。2.5 小时后, 混合物用 25 毫升二氯甲烷稀释, 并连续用 10 毫升水和 10 毫升盐水洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥并用甲苯浓缩数次得到黄色油。用闪蒸塔色谱在硅胶上以 40/1 二氯甲烷-二乙醚纯化得到油状标题化合物 (96 毫克, 定量收率)。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3): \delta\text{ppm}$ 0.85-0.98 (m, 9H), 1.25 (s, 28H), 1.60 (m, 2H), 1.83 (d, 3H, $J=5.8\text{Hz}$), 2.17 (m, 1H), 2.31 (t, 2H), 4.19-4.48 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 5.22 (d, 1H), 5.27 (m, 1H), 6.38-6.43 (m, 1H), 7.36 (m, 5H)。

10 实施例 8



在氮气下, 实施例 7 的化合物 (1.896 克, 2.71 毫摩尔) 和碘化钠 (1.80 克, 12.0 毫摩尔) 的乙腈溶液 (27 毫升) 在 80℃ 回流。4.5 小时后, 反应混合物用 100 毫升 1/1 己烷-二乙醚稀释, 并用 25 毫升水洗涤。水相用更多溶剂 (25 毫升) 萃取, 合并有机相, 连续用 5% 硫代硫酸钠水溶液 (25 毫升) 和盐水 (25 毫升) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 并在真空下浓缩。用闪蒸塔色谱在硅胶上以 80/1 二氯甲烷-甲醇作为洗脱液纯化得到含有 90% 标题化合物和 10% 实施例 7 化合物的油 (1.45 克),

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3): \delta\text{ppm}$ 0.85-0.99 (m, 9H), 1.25 (s, 28H), 1.60 (m, 2H), 2.17 (m, 1H), 2.23 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$), 2.31 (t, 2H), 4.16-4.49 (m, 5H), 5.10 (s, 2H), 5.20-5.29 (m, 2H), 6.69-6.79 (m, 1H), 7.36 (m, 5H)。

实施例 9

25 4-苄氧基-2-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-1-硬脂酰氧基丁烷
a) 合成二乙基-2-(2-苄氧基乙基)丙二酸酯

向新制备的钠 (0.95 克, 41.4 毫摩尔) 的 50 毫升乙醇溶液中加入丙二酸二乙酯 (6.4 克, 40 毫摩尔) 的 10 毫升乙醇溶液, 混合物

搅拌 15 分钟。然后滴加入 2-苄氧基-1-碘乙烷 (11.5 克, 41.35 毫摩尔) 溶液。混合物回流 4 小时, 在真空中蒸发。加入 100 毫升的水, 混合物用 50 毫升的二乙醚萃取三次, 有机相用硫酸钠干燥, 并在真空中蒸发, 用硅胶柱色谱分离产物, 产率: 8.6 克,

5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.26 (m, 6H) 2.26 (m, 2H) 3.54 (m, 3H) 4.16 (m, 4H) 4.57 (s, 2H) 7.32 (m, 5H).

b) 合成 4-苄氧基-2-羟甲基-丁醇-1.

在约 15℃, 向搅拌的氯化铝锂 (3.0 克, 80 毫摩尔) 的 100 毫升二乙醚的悬浮液中滴加二乙基-2-(2-苄氧基乙基)丙二酸酯 (8.5 克, 28.8 毫摩尔) 的 20 毫升二乙醚溶液。混合物回流 2 小时, 冷却下滴加约 4 毫升水, 过滤混合物并用二噁烷洗涤。在减压下蒸发滤液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 3.4 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.60 (m, 2H) 1.82 (m, 1H) 3.00 (m, 2H) 3.56 (t, 2H) 3.69 (m, 4H) 4.50 (s, 2H) 7.32 (m, 5H).

15 c) 合成 4-苄氧基-2-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-丁醇-1

向 N-三苯甲基-L-缬氨酸 (4.66 克, 13 毫摩尔) 和 4-苄氧基-2-羟甲基-丁醇-1 (3.3 克, 15.6 毫摩尔) 的 50 毫升二氯甲烷溶液中加入 DCC (3.0 克, 14.5 毫摩尔) 和 DMAP (0.18 克, 1.45 毫摩尔)。混合物搅拌三天, 混合物冷却至 5℃, 过滤尿烷。溶液在减压下蒸发, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 2.5 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.00 (m, 6H) 1.55 (m, 4H) 1.72 (m, 1H) 2.18 (m, 1H) 2.70 (m, 1H) 3.27 (m, 2H) 3.43 (m, 3H) 4.50 (s, 2H) 7.26 (m, 20H).

d) 合成 4-苄氧基-2-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-1-硬脂酰氧基丁烷

25 向 4-苄氧基-2-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-丁醇-1 (2.4 克, 4.35 毫摩尔) 的 50 毫升二氯甲烷溶液中加入吡啶 (1.72 克, 21.7 毫摩尔)。溶液冷却至 10℃, 在 10~15℃ 之间滴加硬脂酰氯 (2.64 克, 8.7 毫摩尔) 的 10 毫升二氯甲烷溶液。在室温下混合物搅拌过夜。加入 100 毫升 5% 碳酸氢钠溶液, 混合物搅拌 30 分钟。分离有机相, 用二氯甲烷萃取水相两次。合并的有机相用硫酸钠干燥, 并在真空中浓缩。用硅胶柱色谱分离产物, 产量 3.0 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.98 (m, 9H) 1.26 (m, 28H) 1.54 (m, 2H) 1.94 (m, 1H)

2.25 (m, 2H) 3.23 (m, 2H) 3.44 (m, 2H) 3.58 (m, 1H) 3.91 (m, 2H) 4.10 (m, 1H)
4.47 (s, 2H) 7.28 (m, 20H).

实施例 10

5-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-6-硬脂酰氧基己酸

5 a 制备 2-烯丙基 1,3-丙二醇

在 0℃ 将在无水乙醚 (100 毫升) 中的烯丙基丙二酸二乙酯 (20 毫升, 101 毫摩尔) 滴加至搅拌的氢化铝锂 (9.6 克, 253 毫摩尔) 溶液中。反应加热至室温, 并保持 5 小时。冷却至 0℃, 仔细滴加水 (12 毫升)。搅拌 30 分钟后, 通过 Celite 过滤混合物, 然后用乙醇 (2×500 毫升) 洗涤, 在真空下干燥溶液得到 9.5 克产物,

¹H-NMR(CDCl₃): 5.78 (m, 1H), 5.03 (m, 2H), 3.78 (m, 2H), 3.69 (m, 2H),
2.06 (t, 2H), 1.87 (m, 1H).

b) 制备 1-O-(N-三苯甲基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-1,3-丙二醇

向 N-三苯甲基-L-缬氨酸 (5.5 克, 15.2 毫摩尔)、2-烯丙基-1,3-丙二醇 (4.4 克, 38 毫摩尔)、N,N-二甲基氨基吡啶 (183 毫克, 1.5 毫摩尔) 的二氯甲烷 (120 毫升) 溶液中加入 DCC (3.5 克, 16.7 毫摩尔)。反应在回流下保持过夜。用 Celite 过滤后, 有机相用碳酸氢钠水溶液洗涤并干燥。硅胶柱色谱得到 4.6 克中间体 1-O-(N-三苯甲基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-1,3-丙二醇。

20 c) 制备 1-O-(N-三苯甲基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-3-硬脂酰-1,3-丙二醇

在 0℃, 向 1-O-(N-三苯甲基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-1,3-丙二醇 (1.83 克, 4 毫摩尔) 的二氯甲烷 (40 毫升) 和吡啶 (3.2 毫升, 40 毫摩尔) 溶液中滴加在二氯甲烷中的硬脂酰氯 (3.62 克, 12 毫摩尔)。溶液加热至室温并保持 3 小时, 用碳酸氢钠水溶液洗涤并干燥, 用硅胶柱色谱分离产物 1.9 克,

¹H-NMR(CDCl₃): 7.30 (m, 15H), 5.70 (m, 1H), 4.99 (m, 2H), 3.93 (m, 2H),
3.55 (m, 1H), 3.27 (m, 2H), 2.68 (m, 1H), 2.30 (m, 2H), 2.33 (m, 1H), 2.01
(m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.62 (m, 2H), 1.3 (m, 28H), 0.98 (dd, 6H), 0.91 (t,
3H).

30 d) 制备 3-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁醛

将 1-O-(N-三苯甲基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-3-硬脂酰-1,3-丙二醇 (580 毫克, 0.8 毫摩尔) 溶解在二噁烷 (5 毫升) 中。向溶液中加入

四氧化钨(20毫克, 0.08毫摩尔)和吡啶(0.05毫升, 0.64毫摩尔)。将过碘酸钠的水(3.5毫升)溶液加入至反应混合物中。反应保持过夜, 然后冷却至 0℃。加入亚硫酸氢钠水溶液, 用二氯甲烷萃取混合物。干燥有机相并用硅胶柱色谱纯化, 产率 250 毫克,

- 5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 9.68 (s, 1H), 7.25 (m, 15H), 3.92 (m, 2H), 3.58 (m, 1H), 2.32 (m, 2H), 2.68 (m, 1H), 2.34 (m, 7H), 1.58 (m, 2H), 1.53 (m, 28H), 0.96 (dd, 6H), 0.86 (t, 3H).

f) 制备 3-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基己烯-2-酸苄酯

- 10 向 3-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁醛(15.8克, 21.8毫摩尔)的二氯甲烷溶液中加入(苄氧基羰基甲基)三苯基溴化磷(10.7克, 21.8毫摩尔)和三乙胺(2.21克, 21.8毫摩尔)。反应在室温下保持过夜并蒸发混合物。向残余物中加入二乙醚(200毫升), 并在 4℃保持两小时。然后过滤, 蒸发滤液, 产物用硅胶柱
- 15 色谱纯化, 产量 10 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.30 (m, 20H), 6.89 (m, 1H), 5.88 (d, 1H), 5.19 (d, 2H), 3.95 (m, 2H), 3.57 (m, 1H), 3.29 (2H), 2.68 (m, 1H), 2.23 (m, 5H), 1.93 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.32 (m, 28H), 0.95 (dd, 6H), 0.89 (t, 3H).

g) 制备 3-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基己酸酯

- 20 向 3-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基己烯-2-酸苄酯(70毫克, 0.08毫摩尔)的甲醇(3毫升)和乙酸乙酯(1毫升)溶液中加入碳酸氢钠(10毫克)和钨黑(20毫克)。反应在氢气, 大气压下保持 2 小时。过滤混合物并蒸发。将残余物溶解在二氯甲烷中并连续用 EDTA 水溶液和冷的 2% 柠檬水溶液洗涤, 蒸发有机相得到 61
- 25 毫克产物,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.30 (m, 15H), 3.93 (m, 2H), 3.57 (m, 1H), 3.25 (m, 2H), 2.30 (dt, 4H), 2.20 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.62 (m, 4H), 1.30 (m, 28H), 0.95 (dd, 6H), 0.87 (t, 3H).

实施例 11

- 30 3-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁酸

a) 制备 1-O-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-1,3-丙二醇

向 2-烯丙基-1,3-丙二醇(4.6克, 40毫摩尔)和 N-苄氧基羰基

-L-缬氨酸 (5.02 克, 20 毫摩尔) 的二氯甲烷溶液中加入二甲基氨基吡啶 (244 毫克, 2 毫摩尔) 和 DCC (4.5 克, 22 毫摩尔)。两小时后, 用 Celite 过滤混合物, 蒸发, 分离产物 1-O-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-1,3-丙二醇, 产量 5.01 克。

- 5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.36 (m, 5H), 5.78 (m, 1H), 5.26 (d, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.06 (d, 2H), 4.22 (m, 3H), 3.59 (m, 2H), 2.13 (m, 3H), 1.98 (m, 2H), 0.94 (dd, 6H).

b) 制备 1-O-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-3-O-硬脂酰-1,3-丙二醇

- 10 在冰浴中, 向 1-O-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-1,3-丙二醇 (4.46 克, 12.7 毫摩尔) 的二氯甲烷 (70 毫升) 和吡啶 (6.1 毫升, 76 毫摩尔) 溶液中加入硬脂酰氯 (7.8 克, 26 毫摩尔)。反应混合物加热至室温并保持一小时。然后倒入碳酸氢钠水溶液中, 干燥有机相, 用硅胶柱色谱纯化产物 1-O-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-3-O-硬脂酰-1,3-丙二醇 6.7 克,

- 15 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.34 (m, 5H), 5.77 (m, 1H), 5.30 (d, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.08 (d, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.10 (m, 4H), 2.29 (t, 2H), 2.13 (m, 4H), 1.62 (m, 3H), 1.25 (m, 28H), 0.90 (m, 9H).

c) 制备 3-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁酸

- 20 将高锰酸钾 (756 毫克, 4.8 毫摩尔) 溶解在水 (7.5 毫升) 中。该溶液在剧烈搅拌下保持 10 分钟。加入在苯 (5 毫升) 中的 1-O-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-2-烯丙基-3-O-硬脂酰-1,3-丙二醇 (1 克, 1.6 毫摩尔) 和溴化四丁铵 (77 毫克, 0.24 毫摩尔) 溶液。浆液搅拌 1.5 小时, 加入二氯甲烷。将酸式亚硫酸钠水溶液加入到浆液中直至混合物褪色。有机相用乙酸酸化, 并用水洗涤。蒸发后, 用硅胶柱色谱分离产物 3-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁酸 (390 毫克),

- 25 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.33 (m, 5H), 5.38 (d, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.14 (m, 5H), 2.60 (m, 1H), 2.45 (m, 2H), 2.29 (t, 2H), 2.18 (m, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.25 (m, 28H), 0.90 (m, 9H).

实施例 12

2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基甲基)-6-硬脂酰氧基己酰

基]鸟苷

a) 制备 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-6-硬脂酰氧基己酰基]鸟苷

向 5-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-6-硬脂酰氧基己酸 (462 毫克, 0.6 毫摩尔) 和 2'3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (340 毫克, 1.25 毫摩尔) 的 DMF (3 毫升) 溶液中加入二甲基氨基吡啶 (7 毫克, 0.06 毫摩尔) 和 DCC (136 毫克, 0.66 毫摩尔)。反应在室温下保持过夜, 然后在 40℃ 保持 2 小时。用 Celite 过滤反应混合物, 并倒入二氯甲烷中, 用碳酸氢钠水溶液洗涤。通过硅胶柱色谱分离产物 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(N-三苯甲基-L-缬氨酰氧基甲基)-6-硬脂酰氧基己酰基]鸟苷 (93 毫克),

¹H-NMR (DMSO d-6): 7.88 (s, 1H), 7.29 (m, 15H), 6.52 (s, 2H), 6.17 (dd, 1H), 5.45 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.20 (m, 2H), 3.82 (m, 2H), 3.50 (m, 5H), 2.30 (m, 4H), 2.10 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.50 (m, 4H), 1.22 (m, 28H), 0.85 (m, 9H)。

b) 制备 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基甲基)-6-硬脂酰氧基己酰基]鸟苷

在室温下, 通过用 80% 乙酸 (5 毫升) 处理 30 分钟, 以脱去步骤 b) 的化合物 (90 毫克, 0.088 毫摩尔) 的 N 保护。蒸发, 产物用硅胶柱色谱纯化, 得到标题化合物 72 毫克,

¹H-NMR (DMSO d-6): 7.88 (s, 1H), 6.54 (s, 2H), 6.18 (dd, 1H), 5.48 (dd, 1H), 4.27 (dt, 1H), 4.19 (m, 2H), 3.98 (m, 4H), 3.17-2.55 (m, 4H), 2.29 (m, 4H), 1.95 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.50 (m, 4H), 1.21 (m, 28H), 0.84 (m, 9H)。

25 实施例 13

2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基丁酰基]鸟苷

a) 制备 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基丁酰基]鸟苷

向 2'3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (113 毫克, 0.42 毫摩尔) 和 3-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁酸 (140 毫克, 0.21 毫摩尔) 的 DMF (2 毫升) 溶液中加入二甲基氨基吡啶 (3 毫克, 0.02

毫摩尔)和DCC(52毫克,0.25毫摩尔)。两天后,加入二氯甲烷(10毫升)和数滴乙酸,用Celite过滤有机相。滤液用碳酸氢钠水溶液洗涤,用硅胶柱色谱分离产物 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁酰]鸟苷,产量51毫克,

5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.79(d, 1H), 7.26(m, 5H), 6.38(s, 2H), 6.23(t, 1H), 5.44(m, 2H), 5.08(s, 2H), 4.50-4.10(m, 8H), 3.15-2.40(m, 5H), 2.30(t, 2H), 2.14(m, 1H), 1.58(m, 2H), 1.24(m, 28H), 0.87(m, 9H)。

b) 制备 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基丁酰]鸟苷

10 步骤a)的产物(76毫克,0.084毫摩尔)溶解在甲醇(3毫升)、乙酸乙酯(0.5毫升)和乙酸(0.01毫升)的混合溶剂中。向该溶液中加入钨黑(10毫克),2小时后,再加入10毫克钨黑。3小时后,过滤混合物并蒸发,将残余物溶解在二氯甲烷中并用EDTA水溶液洗涤。干燥有机相并和甲苯共蒸发得到标题化合物的乙酸盐,产量65毫克,

15 $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO } d_6 + \text{D}_2\text{O})$: 7.87(s, 1H), 5.16(dd, 1H), 5.37(dd, 1H), 4.24(m, 3H), 4.01(m, 4H), 3.10-2.60(m, 3H), 2.40(m, 2H), 2.24(t, 2H), 1.70(m, 1H), 1.48(m, 2H), 1.25(m, 28H), 0.82(m, 9H)。

实施例 14

20 氯甲酸 3-[1-(N-CBz-L-缬氨酰)-2-硬脂酰]丙基酯

1-(N-CBz-L-缬氨酰)-2-硬脂酰甘油(300毫克,0.5毫摩尔)溶解在20%光气的甲苯(15毫升)中。18小时后,蒸发溶液,残余物和甲苯共蒸发数次,定量得到了标题产物。该产物和目标核苷用常规方法生成碳酸酯,例如在0℃,10:1 DMF/吡啶溶液中反应3-24小时,注入至 NaHCO_3 溶液中,用二氯甲烷萃取。氨基酸脱保护,例如用钨黑的甲醇、乙酸乙酯、乙酸溶液,以得到核苷-0-[1-(L-缬氨酰)-2-硬脂酰-3-丙氧基羰基],

25 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 7.40(m, 5H), 5.28(m, 2H), 5.10(s, 2H), 4.35(m, 5H), 2.35(m, 2H), 2.17(m, 1H), 1.56(m, 2H), 1.30(m, 28H), 0.95(m, 9H)。

30 实施例 15

5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酸

a) 4,5-二羟基-2-戊烯酸苄酯

DL-甘油醛 (4.5 克, 50 毫摩尔) 和 (苄氧基羰基甲基)-三苯基-溴化磷 (24.57 克, 50 毫摩尔) 的 100 毫升 1,2-环氧丁烷的混合物回流过夜。在真空下蒸发混合物, 用硅胶柱色谱分离产物, 产率 8 克 = 71 % ,

- 5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 2.50 (s, 1H) 2.96 (s, 1H) 3.54 (m, 1H) 3.70 (m, 1H) 4.38 (m, 1H) 5.12 (s, 2H) 6.14 (m, 1H) 6.90 (m, 1H) 7.30 (m, 5H).

b) 5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-羟基-2-戊烯酸苄酯

- 10 4,5-二羟基-2-戊烯酸苄酯 (4.4 克, 20 毫摩尔)、N-FMOC-L-缬氨酸 (5.8 克, 17 毫摩尔) 和 DMAP (0.21 克, 1.7 毫摩尔) 的 100 毫升二氯甲烷混合物冷却至约 10℃。在相同温度下滴加 DCC (4.2 克, 20 毫摩尔) 的 25 毫升二氯甲烷溶液, 混合物在室温下搅拌过夜。将混合物冷却至 5℃, 过滤尿烷。在减压下蒸发滤液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产率: 6.6 克 = 71 % ,

- $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.91 (m, 6H) 2.12 (m, 1H) 4.38 (m, 5H), 5.14 (s, 2H) 15 5.24 (m, 1H) 6.20 (m, 1H) 6.92 (m, 1H) 7.30 (m, 13H).

c) 5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-2-戊烯酸苄酯

- 在 10℃, 向 5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-羟基-2-戊烯酸苄酯 (6.5 克, 12 毫摩尔) 和吡啶 (2.0 克, 25 毫摩尔) 的 100 毫升二氯甲烷溶液中滴加硬脂酰氯 (4.55 克, 15 毫摩尔) 的 25 毫升二氯甲烷溶液, 混合物搅拌过夜。加入 100 毫升 5% 碳酸氢钠溶液, 混合物搅拌 30 分钟。分离有机相, 用二氯甲烷两次萃取水相。用硫酸钠干燥合并的有机相, 并在真空下浓缩。用硅胶柱色谱分离产物。

产率: 7.8 克 = 80 % ,

- $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.88 (m, 9H) 1.25 (m, 28H) 1.58 (m, 2H) 2.14 (m, 1H) 25 2.32 (m, 2H) 4.22 (m, 5H) 5.19 (s, 2H) 5.25 (m, 1H) 6.12 (m, 1H) 6.85 (m, 1H) 7.35 (m, 13H).

d) 5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酸

- 室温, 常压下, 5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-2-戊烯酸苄酯 (3.8 克, 4.69 毫摩尔) 的 50 毫升乙酸乙酯溶液用 10% 钨炭 (0.5 克) 氢化 5 小时。过滤催化剂, 用乙酸乙酯和 1,4-二噁烷洗涤, 在减压下蒸发溶液, 产率 3.3 克 = 99 %

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.92 (m, 9H) 1.25 (m, 28H) 1.54 (m, 2H) 1.98 (m, 2H)

2. 18 (m, 1H) 2. 28 (m, 2H) 2. 41 (m, 2H) 4. 32 (m, 5H) 5. 13 (m, 1H) 5. 33 (m, 1H) 7. 50 (m, 8H).

实施例 16

3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基丙酸

5 a) 2, 3-二羟基丙酸苄酯

D, L-甘油酸钙盐二水合物 (2. 9 克, 10 毫摩尔) 和苄基溴 (3. 8 克, 22 毫摩尔) 的 25 毫升 DMF 混合物在 60℃ 搅拌过夜. 在减压下蒸发混合物, 用硅胶柱色谱分离产物, 产率 4 克 = 100%,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 3. 26 (s, 1H) 3. 90 (m, 2H) 4. 32 (m, 1H) 5. 25 (s, 2H)

10 7. 28 (m, 5H).

b) 3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-羟基丙酸苄酯

2, 3-二羟基丙酸苄酯 (4. 0 克, 20 毫摩尔)、N-FMOC-L-缬氨酸 (5. 4 克, 16 毫摩尔) 和 DMAP (0. 2 克, 1. 6 毫摩尔) 的 80 毫升二氯甲烷溶液冷却至约 10℃. 在相同温度下滴加 DCC (4. 12 克, 20 毫摩尔) 的 25 毫升二氯甲烷溶液, 混合物在室温下搅拌过夜. 将混合物冷却至 5℃, 过滤尿烷. 在减压下蒸发溶液, 用硅胶柱色谱分离产物. 产率 4. 7 克=45%

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0. 88 (m, 6H) 2. 05 (m, 1H) 4. 40 (m, 6H) 5. 23 (m, 3H)

7. 50 (m, 13H)

20 c) 3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基丙酸苄酯

向搅拌的 3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-羟基丙酸苄酯 (4. 6 克, 8. 89 毫摩尔) 和吡啶 (1. 41 克, 17. 8 毫摩尔) 的 80 毫升二氯甲烷溶液中滴加硬脂酰氯 (3. 64 克, 12 毫摩尔) 的 20 毫升二氯甲烷溶液, 混合物在室温下搅拌过夜. 加入 100 毫升 5% 碳酸氢钠溶液, 混合物

25 搅拌 30 分钟. 分离有机相, 用二氯甲烷两次萃取水相. 用硫酸钠干燥合并的有机相, 并在真空浓缩. 用硅胶柱色谱分离产物, 产率 6. 1 克=87%,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0. 88 (m, 9H) 1. 26 (m, 28H) 1. 56 (m, 2H) 2. 06 (m, 1H)

2. 34 (m, 2H) 4. 36 (m, 6H) 5. 19 (s, 2H) 5. 32 (m, 1H) 7. 50 (m, 13H)

30 d) 3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基丙酸

室温, 常压下, 3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基丙酸苄酯 (0. 78 克, 1 毫摩尔) 的 20 毫升乙酸乙酯溶液用 10% 钯炭 (0. 2

克) 氢化 3 小时。过滤催化剂, 用乙酸乙酯和 1,4-二噁烷洗涤。在减压下蒸发溶液, 产率 0.63 克 = 90%,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 0.88 (m, 9H) 1.24 (m, 28H) 1.40 (m, 2H) 2.12 (m, 3H)
4.30 (m, 5H) 5.16 (m, 1H) 5.60 (m, 1H) 7.40 (m, 8H).

5 实施例 17

1-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基甲基)-2-硬脂酰氧基乙氧基羰基氯化物

室温, 搅拌下将碳酸二(三氯甲基)酯 (160 毫克, 0.54 毫摩尔) 加入至 1-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰)-3-硬脂酰甘油/1-(N-苄氧基羰基-L-缬氨酰氧基)-3-硬脂酰氧基-2-丙醇/实施例 4 制备的 (660 毫克, 1.12 毫摩尔) 和三乙胺 (200 毫克, 2.0 毫摩尔) 的二氯甲烷 (5 毫升) 溶液中。1 小时后, 加入正己烷 (10 毫升), 经短硅胶柱滤掉沉淀的盐酸三乙胺, 产物再用正己烷洗脱, 在真空中蒸发溶剂, 得到 650 毫克 (89%) 的标题化合物,

15 $^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3, 62.975\text{MHz})$: δ 172.8 (stea-COO), 171.2 (Val-COO), 155.9 (CONH), 154.1 (COC1), 136.0 (Ph-C1-Val), 128.1-127.7 (Ph), 67.2 (CHOH), 66.7 (PH CH₂), 63.1 (ValCOOCH₂), 61.8 (stea-COOCH₂), 58.7 (Val- α C), 33.7 (stea -C2), 31.6 (stea -C16), 31.0 (Val- β C), 29.3-28.8 (stea -C4-15), 24.5 (stea -C3), 18.6 和 17.1 (Val 2 CH₃),
20 13.8 (stea -C18).

实施例 18

氯甲酸 3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基丁基酯

a) 3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基丁醇

在 10°C 下, 向搅拌的 4-硬脂酰氧基-3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基甲基丁醛 (按类似于实施例 6 的方法制备, 步骤 d 用 CBz 保护缬氨酸) (2.0 克, 3.2 毫摩尔) 的 25 毫升甲醇溶液中少量分次地加入硼氢化钠 (0.6 克, 16 毫摩尔)。混合物搅拌 30 分钟, 然后用乙酸酸化。混合物用水稀释并用二氯甲烷萃取三次。用硫酸钠干燥有机相并在真空中浓缩。产物用硅胶柱色谱分离。产率 1.5 克 = 75%,
25 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ 0.88 (m, 9H) 1.25 (m, 28H) 1.52 (m, 4H) 2.24 (m, 3H)
3.68 (m, 2H) 4.12 (m, 1H) 4.24 (m, 1H) 5.08 (s, 2H) 5.22 (m, 1H) 7.36 (m, 5H)
30)

b) 氯甲酸 3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基丁基酯

步骤中间体 a) 在 20 毫升 20% 光气的甲苯溶液中搅拌过夜。混合物在减压下蒸发得到标题化合物, 产率 1.5 克 = 97%,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.88 (m, 9H) 1.28 (m, 28H) 1.58 (m, 2H) 1.72 (m, 2H)

5 2.15 (m, 1H) 2.31 (m, 2H) 4.08-4.42 (m, 5H) 5.10 (s, 2H)

5.22 (m, 1H) 7.36 (m, 5H).

实施例 19

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[1-(L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-3-丙氧基羰基]鸟苷

10 a) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[1-(N-CBz-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-3-丙氧基羰基]鸟苷

在 0℃, 向 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (270 毫克, 1 毫摩尔) 的 DMF (10 毫升) 和吡啶 (1 毫升) 溶液中加入氯甲酸 3-{1-(N-CBz-L-缬氨酰)-2-硬脂酰}丙酯 (619 毫克, 0.5 毫摩尔)。3 小时后, 反应混合物倒入碳酸氢钠溶液中, 并用二氯甲烷萃取。有机相在真空中干燥, 用硅胶柱色谱分离 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[1-(N-CBz-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-3-丙氧基羰基]鸟苷 (195 毫克),

15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7.69 (s, 1H), 7.31 (m, 5H), 6.50 (m, 2H), 6.32 (m, 1H), 5.3 (m, 2H), 5.09 (m, 2H), 4.35 (m, 7H), 2.60 (m, 2H), 2.31 (t, 2H), 2.20 (m, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.23 (m, 28H), 0.92 (m, 9H).

20 b) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[1-(L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-3-丙氧基羰基]鸟苷

将 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[1-(N-CBz-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-3-丙氧基羰基]鸟苷 (190 毫克) 溶解在甲醇 (6 毫升)、乙酸乙酯 (2 毫升) 和乙酸 (1 毫升) 的混合溶剂中。向该溶液中加入钨黑 (30 毫克), 反应混合物在氢气下保持 2 小时, 然后过滤, 蒸发滤液, 用硅胶柱色谱分离标题产物 110 毫克,

25 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): 7.86 (ds, 1H), 6.51 (s, 2H), 6.17 (dd, 1H), 5.48 (m, 1H), 5.20 (m, 1H), 4.25 (m, 7H), 2.70 (m, 2H), 2.27 (m, 2H), 30 1.72 (m, 1H), 1.47 (m, 2H), 1.22 (m, 28H), 0.84 (m, 9H).

实施例 20

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酰基]

鸟苷

向 2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (0.27 克, 1 毫摩尔) 和 5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基戊酸 (0.94 克, 1.3 毫摩尔) 的 30 毫升 DMF 溶液中加入 DMAP (16 毫克, 0.13 毫摩尔)、HOBT (0.176 克, 1.3 毫摩尔) 和 DCC (0.248 克, 1.2 毫摩尔)。在室温下搅拌混合物三天。加入 4 克硅胶, 在真空中蒸发混合物。用硅胶柱色谱分离产物 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酰基]鸟苷, 产量 0.45 克,

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- δ_6): 0.88 (m, 9H) 1.20 (m, 28H) 1.45 (m, 2H) 1.78 (m, 2H) 2.18 (m, 2H) 2.36 (m, 1H) 2.62 (m, 2H) 3.88 (m, 1H) 4.22 (m, 6H) 4.92 (m, 1H) 5.45 (m, 1H) 6.19 (m, 1H) 6.52 (s, 2H) 7.26-7.88 (m, 8H)。

被保护的中间体如上述方法脱保护得到标题化合物。

实施例 20

2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-丙酰基]鸟苷

向搅拌的 3-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基丙酸 (0.61 克, 0.88 毫摩尔) 的 5 毫升无水二乙醚混合物的加入一滴 DMF 和亚硫酸氯 (0.52 克, 4.4 毫摩尔)。混合物回流两小时, 然后在减压下蒸发。产物溶解在无水二氯甲烷中并滴加 2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (0.215 克, 0.8 毫摩尔) 和吡啶 (0.35 克, 4.4 毫摩尔) 的 20 毫升 DMF 溶液中。溶液搅拌过夜。加入两克硅胶, 混合物在真空中蒸发。用硅胶柱色谱分离产物, 产率 0.19 克=25%,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃): 0.88 (m, 9H) 1.25 (m, 28H) 1.62 (m, 2H) 2.12 (m, 1H) 2.38 (m, 2H) 2.58 (m, 2H) 4.12-4.76 (m, 6H) 5.32 (m, 2H) 6.12 (m, 1H) 6.26 (m, 1H) 6.44 (m, 1H) 7.12-7.78 (m, 8H)。

实施例 21

丁二酸 1-(N-CBz-L-缬氨酰)-3-硬脂酰-2-丙基单酯

1-(N-CBz-L-缬氨酰)-3-硬脂酰甘油 (886 毫克, 1.5 毫摩尔) 和丁二酸酐 (450 毫克, 4.5 毫摩尔) 溶解在 DMF (15 毫升) 和吡啶 (1 毫升) 的混合溶剂中。反应在室温下保持 3 小时, 然后在 60℃ 保持 5 小时。反应混合物倒入乙酸和水的溶液中, 并用二氯甲烷萃取。用水洗涤有机相, 并蒸发, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 900 毫克,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 7.43 (m, 5H), 5.27 (m, 1H), 5.09 (m, 2H), 4.21 (m, 5H), 2.54 (m, 4H), 2.29 (t, 2H), 2.13 (m, 1H), 1.59 (m, 2H), 1.25 (m, 28H), 0.90 (m, 9H).

实施例 22

5 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-{3-[1-(L-缬氨酰氧基)-3-硬脂酰氧基-2-丙氧基羰基]-丙酰基}鸟苷

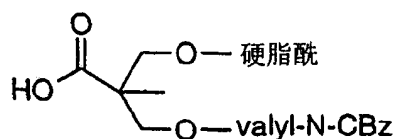
向 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (351 毫克, 1.3 毫摩尔) 和丁二酸 1-(N-CBz-L-缬氨酰)-3-硬脂酰-2-丙基单酯 (900 毫克, 1.3 毫摩尔) 的 DMF (15 毫升) 溶液中加入二甲基氨基吡啶 (24 毫克, 0.2 毫摩尔)、
10 1-羟基苯并三唑 (175 毫克, 1.3 毫摩尔)、DCC (321 毫克, 1.56 毫摩尔)。48 小时后, 过滤反应混合物, 滤液倒入碳酸氢钠溶液中, 并用二氯甲烷萃取。用硅胶柱色谱分离产物 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-{3-[1-(N-CBz-L-缬氨酰)-3-硬脂酰-甘油氧基羰基]-丙酰基}鸟苷 780 毫克,

15 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): 7.89 (s, 1H), 7.34 (m, 5H), 6.50 (s, 2H), 6.17 (dd, 1H), 5.46 (m, 1H), 5.38 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.22 (m, 7H), 3.32 (s, 4H), 2.80 (m, 2H), 2.57 (m, 2H), 2.31 (t, 2H), 2.05 (m, 1H), 1.48 (m, 2H), 1.21 (m, 28H), 0.84 (m, 9H).

向 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-{3-[1-(N-CBz-L-缬氨酰)-3-硬脂酰-2-丙氧基羰基]-丙酰基}鸟苷 (460 毫克, 0.5 毫摩尔) 的甲醇 (10 毫升)、乙酸乙酯 (3 毫升) 和乙酸 (2 毫升) 的混合溶剂的溶液中加入钯黑 (50 毫克)。在氢气气氛下反应 2 小时后, 过滤混合物, 干燥滤液, 用硅胶柱色谱分离目标产物 360 毫克,

25 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): 7.89 (s, 1H), 6.51 (s, 2H), 6.16 (dd, 1H), 5.48 (m, 1H), 5.17 (m, 1H), 4.28 (m, 7H), 2.90 (m, 2H), 2.58 (m, 4H), 2.28 (t, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.49 (m, 2H), 1.22 (m, 28H), 0.85 (m, 9H).

实施例 23



- 在室温下, 将硬脂酰氯 (12.1 克, 40 毫摩尔, 1.0 当量) 的 CH_2Cl_2 (100 毫升) 溶液缓慢地 (1 小时) 加入到 2,2-二(羟甲基)丙酸 (26.8 克, 200 毫摩尔, 5.0 当量) 的吡啶 (400 毫升) 溶液中. 反应混合物在室温下搅拌过夜, 然后在真空下浓缩 (100 毫升). 反应混合物慢慢用饱和 NaHCO_3 (400 毫升) 处理, 然后用 CH_2Cl_2 (3×300 毫升) 萃取. 合并有机相, 用盐水洗涤, Na_2SO_4 干燥, 并在真空中浓缩. 粗产物在硅胶上 (500 克) 以 19/1~4/1 CH_2Cl_2 -MeOH 作为洗脱剂进行色谱分离, 得到硬脂酸单酯, R_f (9/1 CH_2Cl_2 -MeOH) 0.33, 产率 12.5 克 (78%).
- 10 将 N-Cbz-L 缬氨酸 (18.85 克, 75 毫摩尔, 2.4 当量) 和 DMAP (855 毫克, 7 毫摩尔, 0.22 当量) 的 CH_2Cl_2 (800 毫升) 溶液冷却至 0°C , 并用 DCC (14.4 克, 70 毫摩尔, 2.2 当量) 处理. 反应混合物在室温下搅拌 30 分钟, 然后慢慢地 (1 小时) 用上述硬脂酸单酯 (12.5 克, 31.2 毫摩尔, 1 当量) 的 CHCl_3 (200 毫升, 不含醇) 溶液处理. 搅拌
- 15 过夜后, 过滤悬浮液, 用盐水洗涤滤液, Na_2SO_4 干燥, 并在真空中浓缩. 粗产物在硅胶上 (500 克) 以 19/1~4/1 CH_2Cl_2 -MeOH 作为洗脱剂进行色谱纯化, 得到上述二酯, R_f (9/1 CH_2Cl_2 -MeOH) 0.46, 产率 13.8 克 (70%),
- $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): δ 7.35-7.3 (m, 5H, ArH), 5.32 (d, 1H, CH),
- 20 5.10 (s, 2H, CH_2Ph), 4.33-4.18 (m, 4H, CH_2), 2.28 (t, 2H, CH_2), 2.22-2.05 (m, 1H, CH), 1.65-1.50 (m, 2H, CH_2), 1.35-1.15 (m, 31H), 1.00-0.82 (m, 9H, Me).

实施例 24

25 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酰基]鸟苷

a) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酰基]鸟苷

- 2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (269 毫克, 1.0 毫摩尔)、5-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酸 (940 毫克, 1.3 毫摩尔)、DMAP (16 毫克, 0.13 毫摩尔) 和 HOBT (176 毫克, 1.3 毫摩尔) 和 DMF 共蒸发
- 30 二次, 减至 30 毫升. 加入 DCC (248 毫克, 1.2 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜. 过滤混合物, 在减压下蒸发溶液. 加入乙酸乙酯 (50

毫升), 用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两遍。用硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。用硅胶柱色谱分离产物。产量 450 毫克,

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.88 (m, 9H) 1.22 (m, 28H) 1.45 (m, 2H) 1.83 (m, 2H)
2.21 (m, 2H) 2.37 (m, 1H) 3.90 (m, 1H) 5.36-5.58 (m, 1H) 6.18 (m, 1H)

5 6.50 (s, 2H) 7.28-7.91 (m, 10H).

b) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酰基]鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-4-硬脂酰氧基-戊酰基]鸟苷 (300 毫克, 0.308 毫摩尔) 的 5 毫升 N,N-二异丙基
10 乙胺和 5 毫升 DMF 的混合物在室温下搅拌三天。加入乙酸 (5 毫升), 混合物在减压下蒸发, 用硅胶柱色谱以乙酸盐形式分离产物, 产量 90 毫克,

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.88 (m, 9H) 1.24 (m, 28H) 1.55 (m, 2H) 1.91 (m, 2H)
2.31 (m, 2H) 2.44 (m, 1H) 2.56-3.08 (m, 2H) 3.15 (m, 1H) 4.00-
15 4.49 (m, 5H) 5.08 (m, 1H) 5.40-5.62 (m, 1H) 6.24 (m, 1H)
6.54 (s, 2H) 7.96 (s, 1H).

实施例 25

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-丙酰基]鸟苷

20 a) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-丙酰基]鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (404 毫克, 1.5 毫摩尔)、3-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-丙酸 (1.06 克, 1.75 毫摩尔)、DMAP (24 毫克, 0.2 毫摩尔) 和 HOBT (264 毫克, 1.82 毫摩尔) 的混合物与 DMF
25 共蒸发二次, 减至约 30 毫升。加入 DCC (372 毫克, 1.8 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜。过滤混合物, 在减压下蒸发溶液。加入乙酸乙酯 (50 毫升), 用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤有机相两遍, 用硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发, 通过用硅胶柱色谱分离产物, 产率 0.73 克,

30 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.82 (m, 9H) 1.22 (m, 28H) 1.48 (m, 2H) 2.31 (m, 2H)
2.50-3.00 (m, 2H) 3.91 (m, 1H) 4.18-4.52 (m, 5H) 5.00 (s, 2H) 5.30-
5.61 (m, 2H) 6.16 (m, 1H) 6.50 (s, 2H) 7.32 (m, 5H) 7.71 (m, 1H)

7.92 (s, 1H) 10.18 (s, 1H).

b) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-丙酰基]鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基)-2-硬脂酰氧基-丙酰基]鸟苷 (350 毫克, 0.4 毫摩尔) 的乙酸乙酯 (25 毫升)、甲醇 (5 毫升) 和乙酸 (5 毫升) 的溶液用钨黑 (300 毫克) 在常压下氢化三小时。滤掉催化剂, 用乙酸乙酯和甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 用硅胶柱色谱以乙酸盐形式分离产物, 产量 120 毫克,

¹H-NMR (DMSO d-6) 0.84 (m, 9H) 1.22 (m, 28H) 1.50 (m, 2H) 2.32 (m, 2H)
10 2.50-3.00 (m, 2H) 3.07 (m, 1H) 4.21-4.59 (m, 5H) 5.38 - 5.59 (m, 2H)
6.17 (m, 1H) 6.0 (s, 2H) 7.90 (s, 1H).

实施例 26

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3, 3-二(L-缬氨酰氧基甲基)-丙酸]鸟苷

a) 合成 4, 4-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)-丁-1-烯

15 向 2-烯丙基-1, 3-丙二醇 (2.32 克, 20 毫摩尔)、N-CBZ-L-缬氨酸 (10.06 克, 40 毫摩尔) 和 DMAP (0.488 克, 4 毫摩尔) 的 120 毫升二氯甲烷溶液中分批加入 DCC (9.08 克, 44 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜, 将混合物冷却至 5℃, 滤掉尿烷。蒸发滤液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 9.0 克,

20 ¹H-NMR (CDCl₃) 0.89 (m, 12H) 5.11 (s, 2H) 5.73 (m, 1H)

b) 合成 3, 3-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)丙酸

向冷却的 4, 4-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)-丁-1-烯 (14.6 克, 25 毫摩尔) 和四丁基溴化铵 (1.3 克, 4 毫摩尔) 的 120 毫升苯溶液中加入 100 毫升水。剧烈搅拌下分批加入高锰酸钾 (15.8 克, 100 毫
25 摩尔), 混合物在 15-20℃ 间搅拌 2 小时。向浆液中加入酸式亚硫酸盐溶液直至混合物褪色。混合物用 2N 盐酸酸化, 并用乙酸乙酯萃取四次。用水洗涤有机相两次, 碳酸钠干燥并在减压下蒸发。产物用硅胶柱色谱分离, 产量 7.5 克,

¹H-NMR (CDCl₃) 0.89 (m, 12H) 2.05 (m, 2H) 2.46 (m, 2H) 2.62 (m, 1H)
30 4.20 (m, 6H) 5.11 (s, 4H) 5.30 (m, 2H) 7.35 (m, 10H)

c) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3, 3-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)-丙酰]鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (1.35 克, 5 毫摩尔)、3, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)-丙酸 (3.6 克, 6 毫摩尔)、DMAP (0.061 克, 0.5 毫摩尔) 和 HOBT (0.81 克, 6 毫摩尔) 的溶液与 DMF 共蒸发二次, 减至约 120 毫升。加入 DCC (1.24 克, 6 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜。过滤混合物, 在减压下蒸发溶剂。加入乙酸乙酯 (200 毫升), 用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤有机相两遍。用硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。用硅胶柱色谱分离产物。产量 2.7 克。

¹H-NMR (DMSO d-6) 0.88 (m, 12H) 2.00 (m, 2H) 2.50-3.00 (m, 2H)
3.90-4.43 (m, 10H) 5.08 (s, 4H) 5.32-5.59 (m, 1H) 6.17 (m, 1H)
6.50 (s, 2H) 7.28 (m, 10H) 7.72 (m, 2H) 7.90 (s, 1H)

d) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3, 3-二(L-缬氨酰氧基甲基)-丙酸]鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3, 3-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)-丙酰]鸟苷 (2.6 克, 3.1 毫摩尔) 的 80 毫升乙酸乙酯、20 毫升甲醇和 20 毫升乙酸的溶液用钨黑 (0.3 克) 在常压下氢化两小时。滤掉催化剂, 用乙酸乙酯和甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 用硅胶柱色谱以二乙酸盐形式分离产物, 产量 1.2 克。

¹H-NMR (DMSO d-6) 0.90 (m, 12H) 1.78 (m, 2H) 2.50-3.00 (m, 2H)
3.09 (m, 2H) 4.02-4.45 (m, 8H) 5.34-5.59 (m, 1H) 6.17 (m, 1H)
6.62 (s, 2H) 7.88 (s, 1H).

实施例 27

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁氧基羰基]鸟苷

a) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁氧基羰基]鸟苷

向 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (269 毫克, 1.0 毫摩尔) 的绝对 DMF 溶液中加入吡啶 (198 毫克, 2.5 毫摩尔) 和 3-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁氧基羰基氯化物 (750 毫克, 1.1 毫摩尔) 的 5 毫升二氯甲烷溶液。混合物在室温下搅拌三天, 在减压下蒸发溶液。用硅胶柱色谱分离产物, 产量 120 毫克。

¹H-NMR (DMSO d-6) 0.88 (m, 9H) 1.24 (m, 28H) 5.08 (s, 2H) 6.24 (m, 1H)
8.00 (s, 1H).

b) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁氧基羰基]鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(N-CBz-L-缬氨酰氧基甲基)-4-硬脂酰氧基-丁氧基羰基]鸟苷的 15 毫升乙酸乙酯、2 毫升甲醇和 2 毫升乙酸的混合物用钨黑 (40 毫克) 在常压下氢化两小时。滤掉催化剂, 用乙酸乙酯和甲醇洗涤, 在减压下蒸发溶液, 产物以乙酸盐形式用硅胶柱色谱分离, 产量 78 毫克,

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.87 (m, 9H) 1.22 (m, 28H) 1.48 (m, 2H) 1.68 (m, 2H) 2.12 (m, 1H) 2.26 (m, 2H) 2.50-3.00 (m, 2H) 4.00-4.42 (m, 10H) 5.34-5.58 (m, 1H) 6.18 (m, 1H) 6.52 (s, 2H) 7.82 (s, 1H).

实施例 28

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)硬脂酰]鸟苷

a) 合成 2-羟基硬脂酸苄酯

向搅拌的 DL-2-羟基硬脂酸 (3.0 克, 10 毫摩尔) 的 20 毫升无水 DMF 溶液中加入叔丁醇钾 (1.23 克, 11 毫摩尔), 混合物在 60℃ 搅拌一小时, 加入苄基溴 (2.14 克, 12.5 毫摩尔), 混合物在 80℃ 搅拌六小时, 在减压下蒸发混合物并加入 100 毫升乙酸乙酯。分离有机相并用水洗涤四次, 用硫酸钠干燥有机相并在真空中浓缩, 通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 3.3 克,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.88 (m, 3H) 1.26 (m, 28H) 1.62 (m, 2H) 4.20 (m, 1H) 5.20 (s, 2H) 7.36 (m, 5H).

b) 合成 2-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)硬脂酸苄酯

向 2-羟基硬脂酸苄酯 (3.2 克, 8.2 毫摩尔)、N-FMOC-L-缬氨酸 (3.4 克, 10 毫摩尔) 和 DMAP (0.12 克, 1 毫摩尔) 的 80 毫升二氯甲烷溶液中加入 DCC (2.5 克, 12 毫摩尔) 溶液, 混合物在室温下搅拌过夜, 将混合物冷却至 5℃, 并滤掉尿烷。蒸发滤液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 4.5 克,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.90 (m, 6H) 1.26 (m, 6H) 1.82 (m, 2H) 2.16 (m, 1H) 4.21 (m, 1H) 4.36 (m, 2H) 5.10 (m, 1H) 5.18 (s, 2H) 5.28 (m, 1H) 7.20-7.80 (m, 13H).

c) 合成 2-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)硬脂酸

2-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)硬脂酸苄酯 (4.4 克, 6.2 毫摩尔) 的

50 毫升乙酸乙酯溶液用 10% 的钯炭 (0.5 克) 在常压下氢化两小时。滤掉催化剂, 用乙酸乙酯和 1,4-二噁烷洗涤。在减压下蒸发溶液, 产物以乙酸盐形式通过硅胶柱色谱分离, 产量 3.4 克,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.88 (m, 6H) 1.26 (m, 28H) 1.82 (m, 2H) 2.28 (m, 1H)

5 4.20 (m, 1H) 4.40 (m, 2H) 5.00 (m, 1H) 5.41 (m, 1H) 7.26-7.82 (m, 8H).

d) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[2-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)硬脂酰]鸟苷

2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (404 毫克, 1.5 毫摩尔)、2-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)-硬脂酸 (1.24 克, 2 毫摩尔)、DMAP (24 毫克, 0.2 毫摩尔) 和 HOBT (264 毫克, 1.95 毫摩尔) 的混合物与 DMF 共蒸发二次, 减至约 30 毫升。加入 DCC (372 毫克, 1.8 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜。过滤混合物, 在减压下蒸发溶液。加入乙酸乙酯 (50 毫升), 用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤有机相两次, 用硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发, 产物以乙酸盐形式通过硅胶柱色谱分离, 产量 1.2 克,

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO } d_6$) 0.80-0.90 (m, 9H) 1.22 (m, 28H) 2.12 (m, 1H)

2.50-3.00 (m, 2H) 3.98 (m, 1H) 4.96 (m, 1H) 6.17 (m, 1H) 6.50 (s, 2H)

7.32-7.95 (m, 10H)

e) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[2-(L-缬氨酰氧基)硬脂酰]鸟苷

20 向 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[2-(N-FMOC-L-缬氨酰氧基)硬脂酰]鸟苷 (800 毫克, 0.89 毫摩尔) 的 15 毫升 DMF 溶液中加入 DBU (1.35 克, 8.9 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌 5 分钟。加入乙酸 (2 毫升), 混合物在减压下蒸发。加入水 (20 毫升), 混合物用二氯甲烷萃取三次。用硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发, 通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 165 毫克,

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO } d_6$) 0.87 (m, 9H) 1.22 (m, 28H) 1.70 (m, 2H) 1.88 (m, 1H)

2.50-3.00 (m, 2H) 3.20 (m, 1H) 4.32 (m, 3H) 4.94 (m, 1H) 5.32-

5.54 (m, 1H) 6.14 (m, 1H) 6.49 (s, 2H) 7.89 (s, 1H)

实施例 29

30 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-3-[1,3-二-(L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基丙酰基]鸟苷

a) 合成丁二酸 1,3-二苄氧基-2-丙基单酯

在 60℃ 下, 1,3-二苄氧基丙-2-醇 (6.8 克, 25 毫摩尔) 和丁二酸酐 (7.5 克, 75 毫摩尔) 和 DMAP (12.2 克, 100 毫摩尔) 搅拌一小时。混合物在减压下蒸发, 用 2N HCl 酸化并用乙酸乙酯萃取两次。用水洗涤合并的有机相三次, 用硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发, 通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 7.8 克,

b) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(1,3-二苄氧基-2-丙氧基羰基)丙酰基]鸟苷

2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (1.61 克, 6 毫摩尔)、HOBT (0.972 克, 7.2 毫摩尔)、DMAP (73.3 毫克, 0.6 毫摩尔) 和丁二酸单 1,3-二苄氧基-2-丙酯 (2.68 克, 7.2 毫摩尔) 的混合物与 DMF 共蒸发二次, 减至约 150 毫升。加入 DCC (1.55 克, 7.5 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌 72 小时。过滤混合物, 在减压下蒸发溶剂。加入乙酸乙酯 (200 毫升), 用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤有机相两遍, 硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发, 通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 3.3 克。

c) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(1,3-二羟基-2-丙氧基羰基)丙酰基]鸟苷

2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(1,3-二苄氧基-2-丙氧基羰基)丙酰基]鸟苷 (3.2 克, 5.13 毫摩尔) 的 50 毫升乙酸乙酯、50 毫升甲醇和 10 毫升乙酸溶液用钨黑 (0.6 克) 在 40psi 压力下氢化过夜。滤掉催化剂, 用甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 1.64 克。

d) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-{3-[1,3-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷

2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(1,3-二羟基-2-丙氧基羰基)丙酰基]鸟苷 (1.93 克, 2.93 毫摩尔)、N-CBZ-L-缬氨酸 (1.76 克, 7 毫摩尔)、HOBT (0.95 克, 7 毫摩尔) 和 DMAP (85.5 毫克, 0.7 毫摩尔) 的混合物与 DMF 共蒸发二次, 减至约 60 毫升。加入 DCC (1.55 克, 7.5 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜, 混合物在 60℃ 保温四小时, 然后冷却至 10℃。过滤混合物, 在减压下蒸发溶剂。加入乙酸乙酯 (150 毫升), 用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤有机相两次, 硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发, 通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 1.6 克。

e) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-{3-[1,3-二(L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷

基羰基]丙酰基}鸟苷

- 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1, 3-二(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷 (1.6 克, 1.75 毫摩尔) 的 80 毫升乙酸乙酯、20 毫升甲醇和 20 毫升乙酸溶液用钨黑 (0.3 克) 在室温和常压
5 下氢化两小时。滤掉催化剂, 用甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 产物以二乙酸盐形式用硅胶柱色谱分离, 产量 1.02 克,
 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.84 (m, 12H) 1.85 (m, 2H) 2.58 (m, 4H) 2.60-3.10 (m, 2H)
3.11 (m, 2H) 3.61-4.39 (m, 7H) 5.19 (m, 1H) 5.35-5.56 (m, 1H)
10 6.16 (m, 1H), 6.62 (s, 2H) 7.89 (s, 1H).

实施例 30

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1-(L-缬氨酰氧基)-3-羟基-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷

- a) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-3-羟基-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷
15

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-(1, 3-羟基-2-丙氧基羰基)丙酰基]鸟苷 (1.3 克, 2.93 毫摩尔)、N-CBZ-L-缬氨酸 (1.00 克, 4 毫摩尔)、HOBT (0.54 克, 4 毫摩尔) 和 DMAP (48.8 毫克, 0.4 毫摩尔) 的混合物与 DMF 共蒸发两次, 减至约 60 毫升。加入 DCC (0.91 克, 4.4 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌 72 小时。过滤混合物, 在减压下蒸发溶液。
20 加入乙酸乙酯 (150 毫升), 有机相用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两次, 硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 0.99 克。

- b) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1-(L-缬氨酰氧基)-3-羟基-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷
25

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-3-羟基-2-丙氧基羰基]丙酰基}鸟苷 (0.82 克, 1.21 毫摩尔) 的 30 毫升乙酸乙酯、15 毫升甲醇和 15 毫升乙酸溶液用钨黑 (0.15 克) 在室温和常压
30 下氢化两小时。滤掉催化剂, 用甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 产物以乙酸盐形式通过硅胶柱色谱分离, 产量 0.5 克,

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.84 (m, 6H) 1.86 (m, 1H) 2.58 (m, 4H) 2.63-3.02 (m, 2H)

3. 10-4. 38 (m, 9H) 5. 34-5. 55 (m, 1H) 6. 16 (m, 1H) 6. 56 (s, 2H)
7. 90 (s, 1H).

实施例 31

5'-L-缬氨酰-2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷

- 5 向 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (810 毫克, 3 毫摩尔) 和 4-二甲基氨基吡啶 (73 毫克, 0.6 毫摩尔)、N-CBz-L 缬氨酸 (1.5 克, 6 毫摩尔) 和 1-羟基苯并三唑 (810 毫克, 6 毫摩尔) 的 DMF (20 毫升) 溶液中加入 DCC (1.36 克, 6.6 毫摩尔)。72 小时后, 过滤反应混合物, 在真空中浓缩。用硅胶柱色谱分离 5'-(N-CBz-L-缬氨酰)-2', 3'-双脱氧-
10 3'-氟鸟苷 (1.15 克)。

将该中间体 (503 毫克, 1 毫摩尔) 溶解在乙酸乙酯 (10 毫升)、甲醇 (20 毫升) 和乙酸 (2 毫升) 的混合溶剂中。向混合物中加入钨黑 (100 毫克), 在氢气中, 常压下保持反应混合物 3 小时。过滤和浓缩后, 用硅胶柱色谱分离目标产物 (370 毫克),

- 15 ¹H-NMR (DMSO d-6) 7.94 (s, 1H), 6.52 (s, 2H), 6.17 (dd, 1H), 5.47 (dd, 1H), 4.15 (m, 3H), 3.15 (d, 1H) 3.01-2.62 (m, 2H) 1.80 (m, 1H) 0.82 (dd, 6H).

实施例 32

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5-O- [2-(L-缬氨酰氧基) 丙酰基] 鸟苷

- 20 a) 合成 2-羟基丙酸 4-甲氧基苄酯

- 向搅拌的 DL-2-羟基丙酸 (9.0 克, 100 毫摩尔) 的 100 毫升无水 DMF 溶液中加入叔丁醇钾 (12.34 克, 110 毫摩尔), 在 60℃ 下搅拌混合物一小时。加入 4-甲氧基苯甲酰氯 (18.8 克, 120 毫摩尔), 在 60℃ 下搅拌混合物 8 小时。混合物在减压下蒸发, 加入 250 毫升乙酸
25 乙酯。用水洗涤有机相四次, 硫酸钠干燥并在真空中浓缩, 产量 16.8 克,

¹H-NMR (CDCl₃) 1.40 (m, 3H) 3.81 (s, 3H) 4.26 (m, 1H) 5.14 (s, 2H) 6.90 (d, 2H) 7.28 (d, 2H).

b) 合成 2-(N-CBZ-L 缬氨酰氧基) 丙酸 4-甲氧基苄酯

- 30 向 2-羟基丙酸 4-甲氧基苄酯 (4.2 克, 20 毫摩尔)、N-CBZ-L 缬氨酸 (5.02 克, 20 毫摩尔) 和 DMAP (0.24 克, 2 毫摩尔) 的 100 毫升二氯甲烷溶液中加入 DCC (4.54 克, 22 毫摩尔) 溶液, 混合物在室

温下搅拌过夜，将混合物冷却至 5℃，滤掉尿烷。蒸发滤液并用硅胶柱色谱分离产物，产量 7.9 克，

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.88 (m, 6H) 1.50 (m, 3H) 2.26 (m, 1H) 3.81 (s, 3H) 4.34 (m, 1H) 5.04–5.30 (m, 6H) 6.88 (d, 2H) 7.26 (m, 7H)。

5 c) 合成 2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙酸

向 2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)丙酸 4-甲氧基苄酯 (7.8 克, 17.5 毫摩尔) 的二氯甲烷 (100 毫升) 溶液中加入三氟乙酸 (10 毫升)，在室温下搅拌溶液一小时。在减压下蒸发溶液，用硅胶柱色谱分离产物，产量 5.0 克，

10 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.94 (m, 6H) 1.56 (d, 3H) 2.30 (m, 1H) 4.42 (m, 1H) 5.12–5.30 (m, 4H) 7.28 (m, 5H)。

d) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O- [2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基) 丙酰基] 鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (404 毫克, 1.5 毫摩尔)、2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)丙酸 (0.582 克, 1.8 毫摩尔)、DMAP (22 毫克, 0.18 毫摩尔) 和 HOBt (243 毫克, 1.8 毫摩尔) 的混合物与 DMF 共蒸发两次，减至约 30 毫升。加入 DCC (412 毫克, 2.0 毫摩尔)，混合物在室温下搅拌过夜。过滤混合物，在减压下蒸发溶液。加入乙酸乙酯 100 毫升，有机相用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两次，硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物，产量 0.72 克，

20 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO } d-6$) 0.92 (m, 6H) 1.40 (d, 3H) 2.10 (m, 1H) 2.50–3.06 (m, 2H) 4.03 (m, 1H) 4.20–4.44 (m, 3H) 5.04 (s, 2H) 5.12 (m, 1H) 5.44–5.58 (m, 1H)

25 6.18 (t, 1H) 6.52 (s, 2H) 7.36 (m, 5H) 7.70 (d, 2H) 7.92 (s, 1H)

e) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O- [2-(L-缬氨酰氧基) 丙酰基] 鸟苷

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O- [2-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基) 丙酰基] 鸟苷 (0.6 克, 1.04 毫摩尔) 的 20 毫升乙酸乙酯、10 毫升甲醇和 10 毫升乙酸溶液用钨黑 (0.1 克) 在室温和常压下氢化两小时。滤掉催化剂，用甲醇洗涤，在减压下蒸发溶液，得到乙酸盐形式的标题化合物，产量 0.5 克，

30 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO } d-6$) 0.88 (m, 6H) 1.40 (d, 3H) 1.92 (m, 4H) 2.52–3.04

(m, 2H)

3.18 (m, 1H) 4.18-4.42 (m, 3H) 5.06 (m, 1H) 5.32-5.58 (m, 2H)
6.18 (m, 1H)
6.52 (s, 2H) 7.90 (s, 1H).

5 实施例 33

2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-3-[2,3-二-(L-缬氨酰氧基)-1-丙氧基羰基]丙酰基鸟苷

a) 合成丁二酸 4-甲氧基苄基单酯

向丁二酸酐 (75 克, 750 毫摩尔) 和 4-甲氧基苄醇 (69.1 克, 500 毫摩尔) 的 1,4-二噁烷 (300 毫升) 混合物中加入吡啶 (79.1 克, 1000 毫摩尔), 混合物在 80℃ 搅拌 5 小时。在减压下蒸发混合物, 加入 600 毫升乙酸乙酯和 60 毫升乙酸。用水洗涤有机相三次, 硫酸钠干燥并在减压下蒸发。产物用甲苯进行重结晶, 产量 104 克,

¹H-NMR (DMSO d-6) 2.48 (m, 4H) 3.72 (s, 3H) 5.00 (s, 2H) 6.90 (d, 2H)
15 7.28 (d, 2H).

b) 合成丁二酸 2,3-二羟基-丙酯, 4-甲氧基苄酯

向甘油 (23.0 克, 250 毫摩尔)、丁二酸 4-甲氧基苄基单酯 (5.96 克, 25 毫摩尔) 和 DMAP (0.36 克, 3 毫摩尔) 的 DMF (200 毫升) 溶液中加入 DCC (6.2 克, 30 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜, 在减压下蒸发混合物, 加入 150 毫升二氯甲烷。过滤混合物, 溶液用水洗涤两次。水相用二氯甲烷萃取两次, 合并的有机相用硫酸钠干燥。溶液在减压下蒸发, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 3.0 克,

¹H-NMR (CDCl₃) 2.65 (m, 4H) 3.61 (m, 2H) 3.80 (s, 3H) 3.90 (m, 1H)
4.18 (m, 2H) 5.05 (s, 2H) 6.89 (d, 2H) 7.26 (d, 2H).

25 c) 合成丁二酸 2,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙酯, 4-甲氧基苄酯

向搅拌的丁二酸 2,3-二羟基-丙酯, 4-甲氧基苄酯 (2.9 克, 9.28 毫摩尔)、N-CBZ-L-缬氨酸 (5.03 克, 20 毫摩尔) 和 DMAP (0.244 克, 2 毫摩尔) 的二氯甲烷 (60 毫升) 溶液中加入 DCC (4.5 克, 22 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜, 过滤混合物, 溶液在减压下蒸发, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 2.5 克,

¹H-NMR (CDCl₃) 0.90 (m, 12H) 2.16 (m, 2H) 2.62 (m, 4H) 3.80 (s, 3H)
30 4.32 (m, 4H) 5.05-5.52 (m, 9H) 6.89 (d, 2H) 7.30 (m, 12H).

d) 合成丁二酸 2, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-丙酯

向上述中间体 (2.3 克, 2.95 毫摩尔) 的二氯甲烷 (25 毫升) 溶液中加入三氟乙酸 (2.5 毫升), 溶液在室温下搅拌两小时。在减压下蒸发溶液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 1.8 克,

- 5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ 0.92 (m, 12H) 2.12 (m, 2H) 2.64 (m, 4H) 4.32 (m, 4H)
5.10 (s, 4H) 5.22-5.50 (m, 3H) 7.34 (m, 10H).

e) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[2, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-1-丙氧基羰基] 丙酰基} 鸟苷

- 2', 3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (0.538 克, 2 毫摩尔)、HOBT (0.327
10 克, 2.42 毫摩尔)、DMAP (29.3 毫克, 0.24 毫摩尔) 和丁二酸 2, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-1-丙酯 (1.6 克, 2.42 毫摩尔) 的混合物与 DMF 共蒸发两次, 减至约 50 毫升。加入 DCC (0.536 克, 2.6 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌 72 小时。过滤混合物, 在减压下蒸发溶液。加入乙酸乙酯 100 毫升, 有机相用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两
15 次, 硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 0.65 克,

- $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO } d-6)$ 0.88 (m, 12H) 2.08 (m, 2H) 2.58-3.04 (m, 6H)
3.92 (m, 2H) 4.10-4.46 (m, 7H) 5.00 (s, 4H) 5.22 (m, 1H) 5.32-
5.56 (m, 1H)
20 6.17 (m, 1H) 6.50 (s, 2H) 7.32 (m, 10H) 7.70 (d, 2H) 7.92 (s, 1H).

f) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[2, 3-二-(L-缬氨酰氧基)-1-丙氧基羰基] 丙酰基} 鸟苷

- 上述中间体 (0.57 克, 0.626 毫摩尔) 的 20 毫升乙酸乙酯、10
25 毫升甲醇和 10 毫升乙酸溶液用钨黑 (0.1 克) 在室温和常压下氢化两小时。滤掉催化剂, 用甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 用硅胶柱色谱分离产物, 产物溶解在二氯甲烷中, 并加入 1M 盐酸的乙醚溶液 (1.1 毫升)。混合物在减压下蒸发, 在真空中干燥得到二盐酸盐形式的标题化合物, 产量 0.37 克,

- $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO } d-6)$ 0.92 (m, 12H) 2.12 (m, 2H) 2.58-3.04 (m, 6H)
30 3.75 (m, 2H) 4.16-4.50 (m, 7H) 5.19-5.60 (m, 2H) 6.18 (m, 1H)
6.76 (s, 2H) 7.92 (s, 1H).

实施例 34

2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-3-[1, 3-二-(L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基]丙酰基鸟苷二盐酸盐

a) 合成丁二酸 1, 3-二溴-2-丙酯, 4-甲氧基苄酯

在约 10℃, 向 1, 3-二溴丙-2-醇 (21.8 克, 100 毫摩尔)、丁二酸 4-甲氧基苄酯 (28.6 克, 120 毫摩尔) 和 DMAP (1.22 克, 10 毫摩尔) 的二氯甲烷 (400 毫升) 溶液中分批加入 DCC (24.8 克, 120 毫摩尔)。混合物在室温下搅拌过夜, 并冷却至约 5℃。过滤混合物, 溶液在减压下蒸发。加入 600 毫升乙酸乙酯, 有机相用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两次, 硫酸钠干燥溶液, 并在减压下蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 34.8 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ 2.69 (m, 4H) 3.57 (m, 4H) 3.81 (s, 3H) 5.07 (s, 2H) 5.14 (m, 1H) 6.88 (d, 2H) 7.26 (d, 2H)。

b) 合成丁二酸 1, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙酯, 4-甲氧基苄酯

向 N-CBZ-L-缬氨酸 (58.5 克, 232.8 毫摩尔) 的无水 DMF (300 毫升) 溶液中加入叔丁醇钾 (24.68 克, 220 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌一小时。加入丁二酸 1, 3-二溴-2-丙酯, 4-甲氧基苄酯 (34 克, 77.6 毫摩尔) 的无水 DMF (50 毫升) 溶液, 混合物在 60℃ 搅拌 18 小时。滤掉溴化钾, 溶液在减压下蒸发。加入 600 毫升乙酸乙酯, 有机相用 5% 碳酸氢钠和水洗涤两次, 硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 45 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ 0.90 (m, 12H) 2.16 (m, 2H) 2.61 (m, 4H) 3.80 (s, 3H) 4.12-4.42 (m, 6H) 5.02 (s, 2H) 5.10 (s, 4H) 5.43 (m, 3H) 6.88 (d, 2H) 7.32 (m, 12H)。

c) 合成丁二酸 1, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙酯

在 5-10℃, 向上述冷却的中间体 (44.5 克, 57.1 毫摩尔) 的二氯甲烷 (500 毫升) 的溶液中加入三氟乙酸 (50 毫升), 该溶液在 10℃ 搅拌两小时。在减压下蒸发溶液, 和甲苯共蒸发两次。加入 400 毫升乙醇, 混合物在 40℃ 搅拌 30 分钟。冷却混合物, 滤掉副产物。溶液在减压下蒸发, 用硅胶柱色谱分离产物, 产量 33 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO } d-6)$ 0.88 (m, 12H) 2.04 (m, 2H) 2.46 (m, 4H), 3.94-4.40 (m, 6H) 5.02 (s, 4H) 5.18 (m, 1H) 7.32 (m, 10H) 7.74 (d, 2H)。

d) 合成 2', 3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1, 3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)

基)-2-丙氧基羰基] 丙酰基}鸟苷

2',3'-双脱氧-3'-氟鸟苷 (17.8 克, 66 毫摩尔)、HOBT (10.64 克, 78.8 毫摩尔)、丁二酸 1,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙酯 (52 克, 78.8 毫摩尔) 和 DMAP (0.96 克, 7.88 毫摩尔) 的混合物与
5 DMF 共蒸发两次, 减至约 500 毫升。加入 DCC (17.3 克, 84 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌过夜。混合物在 60℃ 保温 6 小时, 然后冷却到约 10℃。过滤混合物, 在减压下蒸发溶液。加入乙酸乙酯 1200 毫升, 有机相用 5% 乙酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两次, 硫酸钠干燥有机相并在减压下蒸发。通过硅胶柱色谱分离产物, 产量 42 克,

10 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.90 (m, 12H) 2.02 (m, 2H) 2.5-3.02 (m, 6H) 3.94 (m, 2H) 4.22 (m, 7H) 5.02 (s, 4H) 5.18 (m, 1H) 5.22-5.50 (m, 1H) 6.16 (m, 1H) 6.50 (s, 2H) 7.32 (m, 10H) 7.72 (d, 2H) 7.92 (s, 1H)。

e) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1,3-二-(L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基] 丙酰基}鸟苷二盐酸盐

15 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[3-[1,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基] 丙酰基}鸟苷 (5.0 克, 5.9 毫摩尔) 的 75 毫升乙酸乙酯和 75 毫升甲醇溶液用载在活性碳上的 10% 钨 (1 克) 在室温和常压下氢化一小时。滤掉催化剂, 用甲醇洗涤。在减压下蒸发溶液, 产物溶解在二氯甲烷中, 并在冷却下加入 1M 盐酸的乙醚溶液 (6 毫升)。

20 混合物在减压下蒸发, 产量 3.5 克,

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO d_6) 0.94 (m, 12H) 2.18 (m, 2H) 2.5-3.04 (m, 6H) 4.20-4.54 (m, 7H) 5.24 (m, 1H) 5.34-5.64 (m, 1H) 6.22 (m, 1H) 6.92 (s, 2H) 8.30 (s, 1H) 8.62 (s, 6H)。

实施例 35

25 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-3-[1,3-二-(L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基] 丙酰基}鸟苷

a) 合成丁二酸 1,3-二溴-2-丙酯, 1,1-二甲基乙酯

在约 10℃, 向 1,3-二溴丙-2-醇 (10.9 克, 50 毫摩尔)、丁二酸 1,1-二甲基乙酯 (J. Org. Chem 59(1994)4864) (10.45 克, 60 毫
30 摩尔) 和 DMAP (0.61 克, 5 毫摩尔) 的二氯甲烷 (180 毫升) 溶液中分批加入 DCC (12.4 克, 60 毫摩尔)。混合物在室温下搅拌过夜, 并冷却至约 5℃。过滤混合物, 溶液在减压下蒸发。加入 250 毫升乙酸

乙酯, 有机相用 5% 柠檬酸、5% 碳酸氢钠和水洗涤两次。用硫酸钠干燥溶液, 并在减压下蒸发。在真空中蒸馏产物 (沸点 0.5 135-140℃), 产量 16.8 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ 1.45 (s, 9H) 2.58 (m, 4H) 3.61 (m, 4H) 5.12 (m, 1H).

- 5 b) 合成丁二酸 1,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙酯, 1,1-二甲基乙基酯

向 N-CBZ-L-缬氨酸 (18.85 克, 75 毫摩尔) 的无水 DMF (100 毫升) 溶液中加入叔丁醇钾 (7.85 克, 70 毫摩尔), 混合物在室温下搅拌一小时。加入丁二酸 1,3-二溴-2-丙酯, 1,1-二甲基乙酯 (9.35 克, 25 毫摩尔) 的无水 DMF (20 毫升) 溶液, 混合物在 60℃ 搅拌 18 小时。滤掉溴化钾, 溶液在减压下蒸发。加入 300 毫升乙酸乙酯, 有机相用 5% 碳酸氢钠和水洗涤两次。用硫酸钠干燥有机相, 并在减压下蒸发。用硅胶柱色谱分离产物, 产量 14 克。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ 0.90 (m, 12H) 1.42 (s, 9H) 2.14 (m, 2H) 2.52 (m, 4H) 4.32 (m, 6H) 5.10 (s, 4H) 5.32 (m, 3H) 7.26 (m, 10H)

- 15 c) 合成丁二酸 1,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙基单酯

向上述冷却的丁二酸 1,3-二-(N-CBZ-L-缬氨酰氧基)-2-丙酯, 1,1-二甲基乙酯 (13 克, 18.18 毫摩尔) 的二氯甲烷 (100 毫升) 溶液中加入三氟乙酸 (20 毫升), 溶液在室温下搅拌六小时。在减压下蒸发溶液, 加入 200 毫升乙酸乙酯, 有机相用 5% 碳酸氢钠和水洗涤, 溶液在减压下蒸发, 产量 11.7 克,

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO } d-6)$ 0.88 (m, 12H) 2.04 (m, 2H) 2.46 (m, 4H), 3.94-4.40 (m, 6H) 5.02 (s, 4H) 5.18 (m, 1H) 7.32 (m, 10H) 7.74 (d, 2H).

- 20 d) 合成 2',3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-3-[1,3-二-(L-缬氨酰氧基)-2-丙氧基羰基] 丙酰基鸟苷

如实施例 34 步骤 b) 所示的方法, 将步骤 c) 的中间体酯化到 FLG 上, 并用常用的技术, 如实施例 35 步骤 e) 或实施例 29 步骤 e), 除去缬氨酰部分上的 N 保护基。

生物学实施例

30 药动学

在老鼠模型中可以确认本发明口服的前药在活体内释放 FLG, 该模型被认为是用于评价核苷类药物的药动力学参数的有用模型。口服组

合物可以药赋形剂给药，赋形剂包括丙二醇，或对于更易溶解的化合物，如实施例 26 或实施例 34 所述的化合物，用水给药，以 0.1 毫摩尔/千克的剂量对抗食动物重复实验。为了进行比较，一组老鼠静脉注射 0.01 毫摩尔/千克代谢物 2',3'-双脱氧-3'氟鸟苷。给药 0.5-12 小时后（对于 FLG 为 5 分钟-6 小时），通过不断地从各个动物体内收集的血清监测血清代谢物的浓度。

按类似于 Stahle 等 1995, J Pharm, Biomed. Anal, 13, 369-376 的方法，用带 254 纳米 UV 检测的 HPLC 分析代谢物，HPLC 体系基于缓冲值为 pH4.5 的含 1.2% 2-丙醇溶剂的 0.05M 磷酸二氢铵缓冲溶液，或基于缓冲值为 pH7.0 的含 2% 乙腈溶剂的 30mM 磷酸二氢钠缓冲溶液。柱子为带 7 有微米 C18 防护柱的 100×2.1 毫米 BAS C18 5 微米粒径或 150×4.6 毫米的 Zorbax SB-CN C18, 5 微米柱。本发明化合物的蛋白键合力可忽略，同样代谢物的键合力也可被忽略，Amicon 或 Microcon 30 过滤器的超滤作用对于血清样品是有用的。有利的是主峰可再进行柱色谱，以更利于提高 FLG 对低分子量血清组分的分辨率。将 iv 值乘以 10，以达到能与口服值相比的 AUC 值，。绝对口服的生物利用率以在 $^{0\rightarrow\infty}AUC_{iv}$ 和 $^{0\rightarrow\infty}AUC_{口服}$ 间的比率测定。

表 1

	6 小时后 绝对生物利用率%	12 小时后 绝对生物利用率%
FLG		9%**
实施例 22	39%	>80%*
实施例 13	37%	
实施例 12	29%	
实施例 25	81.5%	
实施例 28	47.5%	
实施例 24	60.5%	
实施例 26		67.5%
实施例 29	51%	

*测定值 **文献值

20

因此，相对于代谢物 2'3'-双脱氧-3'-氟鸟苷，本发明的化合物提

供了明显改进的口服生物利用率。特别是，化合物在血中以相对持续的方式释放，而不是以间峰(immediate peak)的方式。这意味着活性代谢物在血中的有效量能持续很多小时，从而有助于每日一次的剂量。另外，持续释放避免了化合物快速释放时产生的急性毒性问题。

- 5 尽管大鼠可认为是一种很好的用于预测人体内核苷的生物利用率的动物模型，但是本发明化合物(实施例 34)的各自的生物利用率的确定是通过 ≈ 11.5 千克雄性和雌性警犬进行的，以 0.05 毫摩尔/千克(38 毫克/千克)化合物水剂口服或以 0.005 毫摩尔/千克(1.35 毫克/千克)代谢物水剂静脉注射。血浆的收集和分析如上所述。

- 10 雄犬 12 小时后绝对生物利用率 51%
雌犬 12 小时后绝对生物利用率 74%

生物实施例 2

抗病毒活性-逆转录病毒

- 15 通过生物实施例 1 所描述的方法证明本发明的化合物在活体内释放了代谢物 2'3'-双脱氧-3'-氟鸟苷。因此，该代谢物在体外测定的抗病毒活性将反映本发明化合物的实际活性。

- 20 Koshide 等在 Antimicrob Agents Chemother 33 778-780(1989)中所述的 XTT 染料摄入分析中利用了 MT4 细胞的 XYY 染料摄入分析，，上述生物实施例 1 测定的代谢物显示了下列在体外的抗逆转录病毒活性。

表 2

HIV 或逆转录病毒菌株	IC ₅₀ *
HIV-1 _{IIIB}	1 微克/毫升
HIV-1 ²⁴⁴² AZT ^r	1 微克/毫升
HIV-1 _{IIIB} TIBO ^r	1 微克/毫升
HIV-1 ^{29/9}	0.7 微克/毫升
HIV-2 _{SBL6669}	2 微克/毫升
SIV _{SM}	1 微克/毫升

*引起 50% 抑制病毒复制的代谢物浓度。

因此很明显，摄入本发明的化合物对抗逆转录病毒 HIV-1，HIV-2
5 和 SIV 产生了强大的抗病毒活性。同时根据 HIV-1²⁴⁴¹AZT^r 和 HIV-1_{IIIB}TIBO^r 的结果，应注意到本发明化合物的抗病毒活性没有显示抗 HIV 菌株的交叉阻力，而这些菌株对其它 HIV 剂如核苷类 AZT 或非核苷逆转录酶抑制剂 TIBO 是抗药性的。

生物实施例 3

10 抗病毒活性-HBV

在鸭子体内对于鸭子的乙型肝炎病毒（DHBV）的抗病毒活性是一种验证人体内乙型肝炎病毒活性的公认的动物模型。上述生物实施例 2 中测定的活体内代谢物的活性已按照 Sherker 等在（1986）
15 Gastroenterology 91, 818-824 页所描述的 DHBV 模型进行了测定。结果如附图 1 和 2 所示，4 只对照的鸭子用磷酸盐缓冲生理盐水（PBS）处理，另 4 只鸭子以 5 毫克/千克/天的量摄入活性代谢物，当种入 DHBV 后，鸭子能活两天，而得到治疗的鸭子能活 18 天。十天内每天两次，早 8 点和下午 4 点腹膜内注射代谢物和 PBS（对照）。治疗持续 33 天，动物在治疗结束后仍活了 5 周。

20 用放射性探针，通过 DHBV DNA 的斑点印迹杂交，进行疗效跟踪，并以测定的放射性杂交的量作为 DHBV 的量。附图 1 绘制了治疗之前，期间以及之后的不同时间点血清中 DHBV DNA 的量。

如附图 1 所示，在用 PBS（对照，实线）处理期间 DHBV 的量没有降低。给予生物实施例 2 中测定的代谢物（虚线）的动物显示了在治
25 疗的前十天内，血清中 DHBV 量急剧降低，此后，在治疗的剩余时间中，

以 5 毫克/千克/天给药的 DHBV 的浓度低于检测限。以 30 和 3 毫克/千克/天剂量重复实验，在先天感染的鸭子中（未显示）也得到了同样的结果，即血清中 DHBV DNA 急剧降至检测限以下。尽管以 3 毫克/千克的低剂量，代谢物也能在活体内产生了相当大的 DHBV 抑制作用。

- 5 治疗完毕后，病毒在血清中再次出现，如附图 1 所示，在慢性乙型肝炎病毒感染的人类和动物中很早就观察到用常用的抗病毒剂短期治疗后，HBV 重新出现。

- 如附图 2 所示，鸭子的重量和对照组（用 PBS 治疗）动物同样增加。在治疗期间观察到重量从约 270 克增至约 800 克，其增重之大，使人认为，假如存在毒性的话，其生长速率会有显而易见的变化。对于接受 30 毫克/千克/天的更高剂量的鸭子也可观察到相同的生长曲线。因此该代谢物很明显是无毒的。由于本发明的化合物在活体内水解生成这种代谢物，如上述实施例 2 所述，以及与性质相同、易于代谢的脂肪酸，可以推断，给药本发明化合物不会引起长期的毒性问题。

- 15 口服给药本发明的化合物而不引起急性（短期）毒性在上述生物实施例 2 得到证实。

制剂实施例 1

片剂制剂

用 0.15 毫米的筛将下述组分过筛，并干法混合

- 20 10 克 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-3-[1,3-二-(L-缬氨酰氧基)-2 丙氧基羰基丙酰基]鸟苷
40 克 乳糖
49 克 结晶纤维素
1 克 硬脂酸镁

- 25 用压片仪将混合物压制成含 250 毫克活性组分的片剂。

制剂实施例 2

肠溶衣片剂

在片剂包衣器中用含下述组分的溶液将制剂实施例 1 的片剂喷涂包衣：

- 30 120 克 乙基纤维素
30 克 丙二醇
10 克 脱水由梨醇一油酸酯

加入 1000 毫升蒸馏水

制剂实施例 3

控释制剂

- 50 克 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基甲基)-6 硬
5 脂酰氧基己酰基]鸟苷
12 克 羟丙基甲基纤维素 (Methocell K15)
4.5 克 乳糖

干法混合, 并用聚维酮的水糊成粒。加入硬脂酸镁 (0.5 克),
混合物在压片仪中制成含 500 毫克活性剂的 13 毫米直径的片剂。

10 制剂实施例 4

软胶囊

- 50 克 2'3'-双脱氧-3'-氟-5'-O-[5-(L-缬氨酰氧基甲基)-
6 硬脂酰氧基己酰基]鸟苷
100 克 卵磷脂
15 100 克 花生油

本发明化合物分散在卵磷脂和花生油中, 并装入软凝胶的胶囊中。

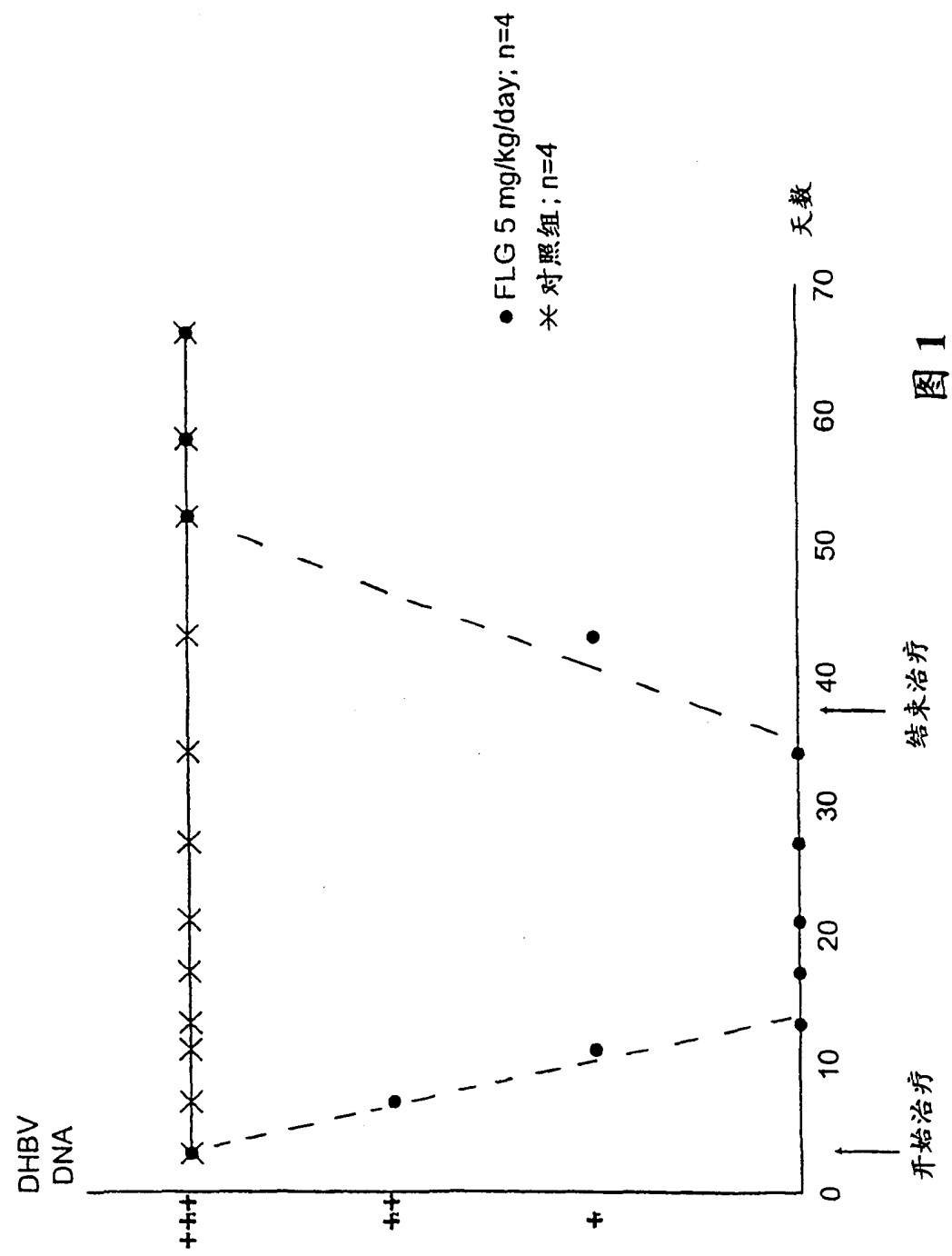


图 1

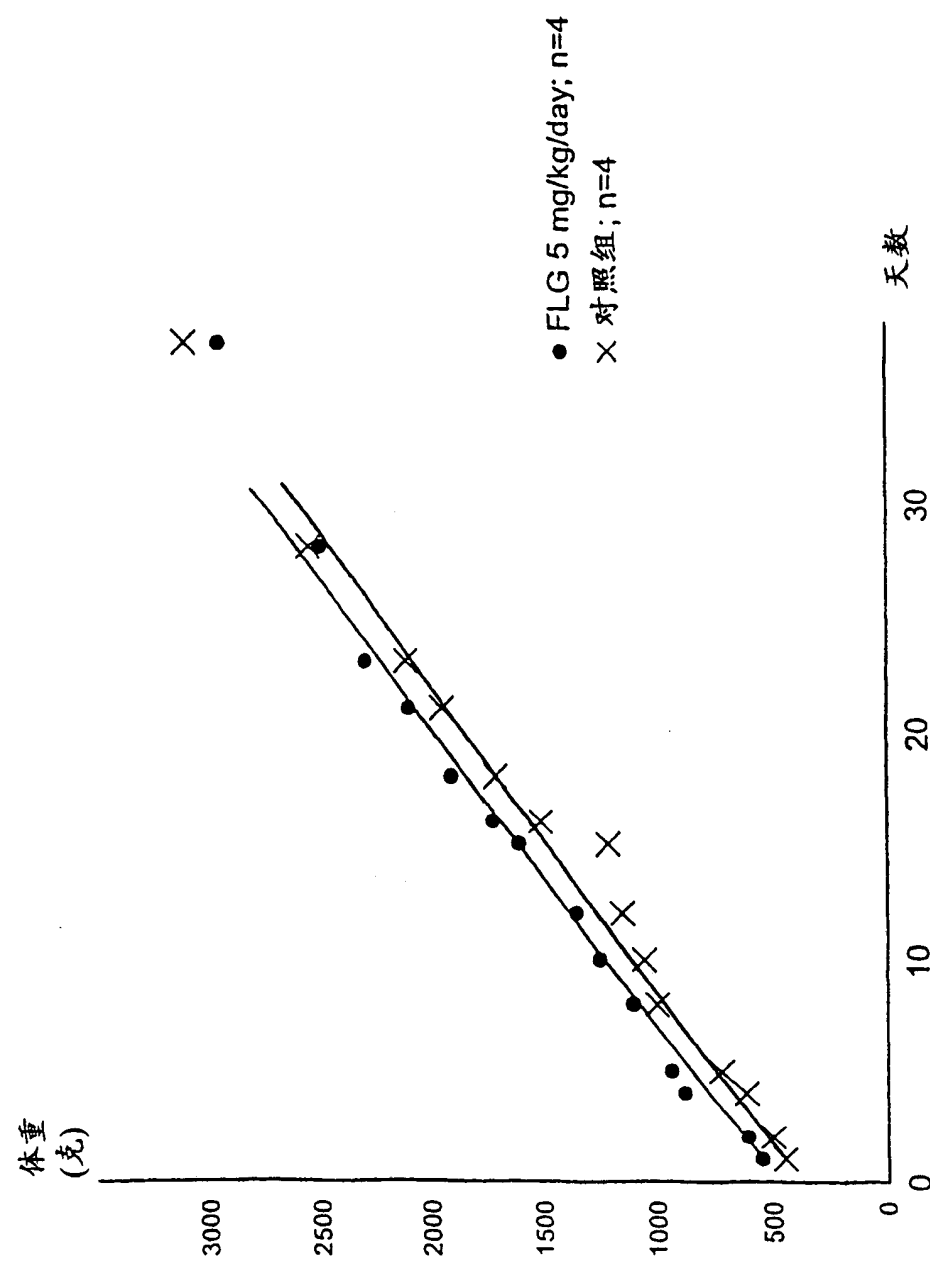


图 2