



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108368148 B

(45) 授权公告日 2021.11.05

(21) 申请号 201680072731.4

A61K 31/706 (2006.01)

(22) 申请日 2016.07.27

A61P 7/06 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 35/00 (2006.01)

申请公布号 CN 108368148 A

A61P 43/00 (2006.01)

(43) 申请公布日 2018.08.03

(30) 优先权数据

(56) 对比文件

2016-085145 2016.04.21 JP

CN 101282986 A, 2008.10.08

PCT/JP2016/065660 2016.05.27 JP

WO 2004/050666 A1, 2004.06.17

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

WO 2013/036846 A2, 2013.03.14

2018.06.12

CN 103619864 A, 2014.03.05

CN 102010455 A, 2011.04.13

WO 2016/057828 A1, 2016.04.14

(86) PCT国际申请的申请数据

Pawel Siedlecki, et al..

PCT/JP2016/072010 2016.07.27

“Establishment and functional validation of a structural homology model for human DNA methyltransferase 1”.《Biochemical and Biophysical Research Communications》.2003,第306卷第558-563页.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02017/183217 JA 2017.10.26

RAMON GÜIMIL GARCÍA, et al.. “Synthesis of Oligonucleotide Inhibitors of DNA (Cytosine-C5) Methyltransferase Containing 5-Azacytosine Residues at Specific Sites”.《ANTISENSE & NUCLEIC ACID DRUG DEVELOPMENT》.2001,第11卷第369-378页.

(73) 专利权人 大原药品工业株式会社

地址 日本国滋贺县

(72) 发明人 酒向孙市 杉山晋平

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司

公司 11285

代理人 侯婧 钟守期

审查员 邱李

(51) Int.Cl.

C07H 19/12 (2006.01)

权利要求书1页 说明书19页

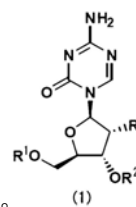
(54) 发明名称

5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物

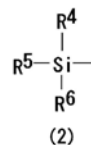
(57) 摘要

本发明提供对代谢酶胞苷脱氨酶具有高稳定性的5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷的前药,以替代临床上作为包括骨髓增生异常综合征在内的各种骨髓肿瘤的治疗剂而使用的注射剂(5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷)。上述技术问题通过化学式(1)表示的化合物或其盐来解决(在所述化学式中,R是OR<sup>3</sup>基或氢原子,R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自是氢原子或由化学式(2)表示的甲硅烷基(在所述化学式中,R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>各自是任选地具有

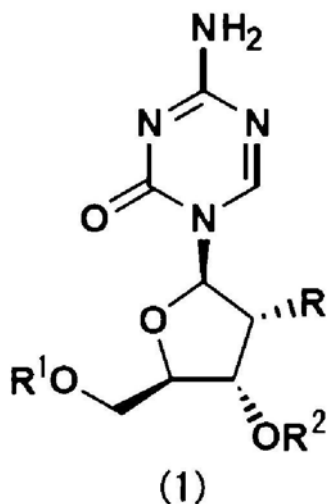
取代基的烷基、任选地具有取代基的芳基或任选地具有取代基的芳基烷基)。并且,R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>不同



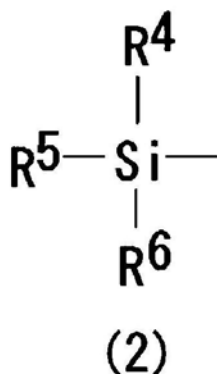
时是氢原子)。



1. 一种由化学式 (1) 表示的化合物或其盐，  
化学式 (1)：



- 其中，R是氢原子，R<sup>1</sup>是由化学式 (2) 表示的甲硅烷基：  
化学式 (2)：



其中，R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>各自独立地是乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基或叔丁基，并且R<sup>2</sup>是氢原子。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其盐，其中，R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>是乙基。
3. 5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷或其盐。
4. 一种药物组合物，其含有权利要求1至3中任一项所述的化合物或其盐。
5. 一种骨髓瘤的治疗剂，其含有5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷或其盐。
6. 白血病或白血病前期的治疗剂，其含有5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷或其盐。
7. 急性髓细胞性白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、脊髓发育不良或镰状细胞贫血的治疗剂，其含有5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷或其盐。

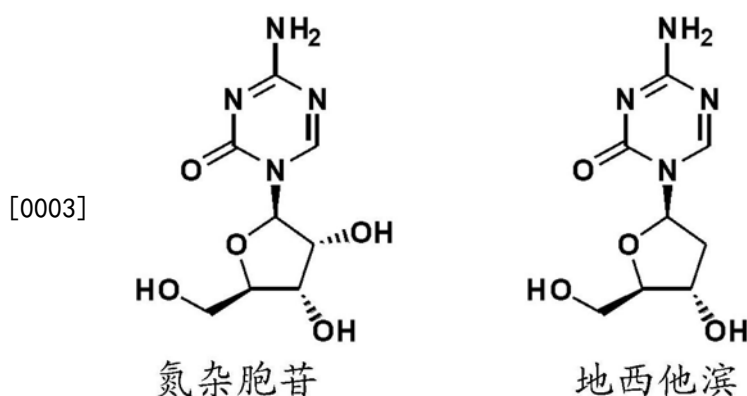
## 5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及对胞苷脱氨酶(一种代谢水解酶)具有显著稳定性且可以用作抗骨髓瘤剂5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷的前药的化合物。

### 背景技术

[0002] 5-氮杂胞苷(又称为氮杂胞苷或者Vidaza®的产品名称)和2'-脱氧-5-氮杂胞苷(又称为地西他滨或Dacogen®的产品名称)分别具有以下化学结构。它们在本说明书中有时统称为“氮杂胞苷或5-氮杂胞苷”。已知这些氮杂胞苷通过在频繁分裂的细胞中在核酸生物合成期间掺入RNA或DNA中来抑制蛋白质合成和一些酶,并示出细胞毒性(专利文献1、2和非专利文献1)。



[0004] 当掺入细胞的DNA中时,氮杂胞苷与DNA甲基转移酶不可逆地结合而引起酶抑制,在抑癌基因启动子区域确认形成有大量的胞嘧啶环5-甲基化体的高风险性骨髓增生异常综合征中,所述转移酶与胞嘧啶环的5-甲基化相关。结果是,促进抑癌基因的再活化并且因而已经在临床上用作对高风险性骨髓增生异常综合征显示出显著作用的治疗剂(5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷)(非专利文献2、3)。

[0005] 然而,这些氮杂胞苷中的每一种均容易被胞苷脱氨酶(血液和肝脏中的一种代谢水解酶)失活(半衰期不到30分钟,非专利文献4)。作为目前的临床表现,它们难以有效地用作患有高风险性骨髓增生异常综合征的患者的治疗剂。因此,亟需相应的对策。

[0006] 另一方面,羟基的甲硅烷基醚化预期能够降低化合物的沸点,因此在分析化学领域中用作气相色谱的样品的预处理方法(特别是羟基部分的三甲基甲硅烷基醚化,例如非专利文献5等)。此外,由于在温和条件下脱甲硅烷基化是可能的,因此也可以在有机合成化学中用作羟基的简单保护方法(非专利文献6~11)。

[0007] 作为羟基的甲硅烷基醚化保护的应用,可以举出以下例子。即,为了将酰基选择性地引入5-氮杂胞苷的4-氨基中,首先,在三乙胺或吡啶等的存在下,使糖部分的所有羟基被三甲基甲硅烷基氯醚化成三甲基甲硅烷基。然后,使4-氨基被羧酸酐或酰氯酰化。之后,用含有乙酸的甲醇或者醇处理(非专利文献12、13),从而将糖部分的三甲基甲硅烷基保护基团去除。

[0008] 此外,在寻找药物的前药中对羟基的甲硅烷基醚化研究的实例可以给出如下。使在表面上具有羟基的有机聚合物与在分子内具有羟基的药物(如喜树碱、达沙替尼、吉西他滨等)通过二烷基甲硅烷基而交联,从而可以在酸性生理条件下,游离出相应的药物,而能够作为DDS (Drug Delivery System, 药物递送系统) 产品(非专利文献14) 进行利用。此外,披露了如果对抗肿瘤剂多西他赛的2'-羟基进行烷基甲硅烷基醚化并形成纳米颗粒,则在酸性的生理条件下,能够作为游离出多西他赛的DDS产品而进行利用(非专利文献15)。

[0009] 然而,在寻找5-氮杂胞苷的前药中,并没有研究糖部分羟基的甲硅烷基醚化的实例。此外,没有实例显示通过对胞苷的糖部分羟基进行甲硅烷基醚化而使其对胞苷脱氨酶(一种代谢水解酶)变得稳定。

[0010] 关于胞苷的糖部分羟基的甲硅烷基醚化,已经报道了针对Ara-C或吉西他滨的糖部分羟基的各种烷基甲硅烷基醚化。然而,这些衍生物的稳定性和反应性尚未被披露,并且没有关于它们用作化学治疗剂的详细披露的实例(专利文献3、4)。

[0011] [现有技术文献]

[0012] [专利文献]

[0013] 专利文献1:美国专利号3816619的说明书

[0014] 专利文献2:德国专利号1922702的说明书

[0015] 专利文献3:WO 2004/050665的说明书

[0016] 专利文献4:WO 2004/050666的说明书

[0017] [非专利文献]

[0018] 非专利文献1:Oncology,1974,vol.30,No.5,p.405-422。

[0019] 非专利文献2:Expert Opinion on Pharmacotherapy,2013,vol.14,No.9,p.1255-1268。

[0020] 非专利文献3:The Journal of Clinical Investigation,2014,vol.124,No.1,p.40-46。

[0021] 非专利文献4:The Journal of Clinical Investigation,1974,vol.53,p.922-931。

[0022] 非专利文献5:分析(ぶんせき),2008,vol.7,p.332-336。

[0023] 非专利文献6:Journal of American Chemical Society,1972,vol.94,p.6190-6191。

[0024] 非专利文献7:Tetrahedron Letters,1981,vol.22,p.3455-3458。

[0025] 非专利文献8:Synthesis,1996,p.1031-1069。

[0026] 非专利文献9:Protective Groups in Organic Synthesis,1999。

[0027] 非专利文献10:Tetrahedron,2004,vol.60,p.5833-5871。

[0028] 非专利文献11:Tetrahedron,2013,vol.69,p.2383-2417。

[0029] 非专利文献12:Collectin of Czechoslovak Chemical Communication,1996,vol.61,S23-S25。

[0030] 非专利文献13:Biochemical and Biophysical Research Communication,2003,vol.306,p.558-563。

[0031] 非专利文献14:Journal of American Chemical Society,2012,vol.134,

p.7978-7982。

[0032] 非专利文献15:Nano Letters,2014,vol.14,No.3,p.1472-1476。

## 发明内容

[0033] [发明要解决的技术问题]

[0034] 本发明的目的在于提供5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷的衍生物(参照化学式(1)),其对胞苷脱氨酶(一种代谢水解酶)具有显著稳定性,并且在生理条件下可以逐渐地游离出相应的5-氮杂胞苷而可以用作抗骨髓瘤剂5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷的前药的化合物。

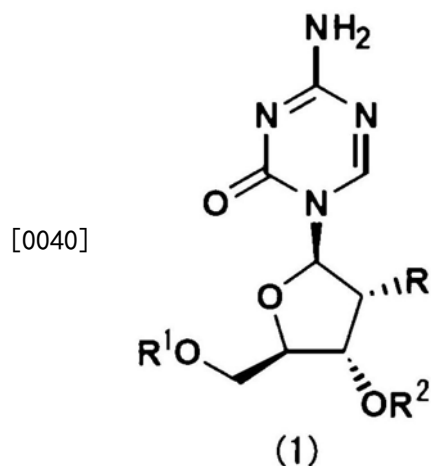
[0035] [解决技术问题的手段]

[0036] 为了提供用于治疗包括骨髓增生异常综合征在内的各种骨髓瘤的更有用的药物,诸位发明人已经认真进行了寻找新颖化合物的研究,这些新颖化合物既具有能够掺入体内核酸生物合成途径中的优异的药理学作用,又具有优异的物理化学性质,并且对胞苷脱氨酶(一种代谢水解酶)具有显著的稳定性。因此,诸位发明人合成了5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物并研究了它们的化学反应性。结果是诸位发明人发现,具有特定结构的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物出乎意料地显示出对胞苷脱氨酶(一种代谢水解酶)显著的稳定性和优异的物理化学性质等,具有作为药物的优异特性,从而最终完成了本发明。

[0037] 即,以上问题已经通过在如下[1]~[14]中所述的本发明而解决。

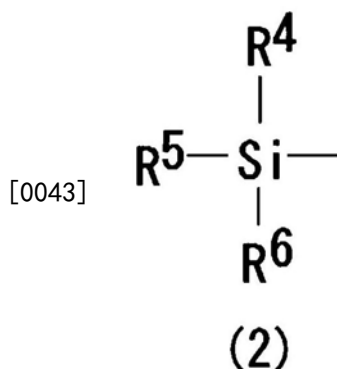
[0038] [1]一种由化学式(1)表示的化合物或其盐,

[0039] 化学式(1):



[0041] 其中,R是OR<sup>3</sup>基或氢原子,R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢原子或由化学式(2)表示的甲硅烷基:

[0042] 化学式(2):



[0044] 其中,  $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^5$ 和 $\text{R}^6$ 各自独立地是可以具有取代基的烷基、可以具有取代基的芳基或可以具有取代基的芳基烷基,并且 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 不同时是氢原子。

[0045] [2]根据[1]中所述的化合物,其中, $\text{R}^1$ 是由化学式(2)表示的甲硅烷基, $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 是氢原子。

[0046] [3]根据[1]中所述的化合物,其中, $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^2$ 各自独立地是由化学式(2)表示的甲硅烷基, $\text{R}^3$ 是氢原子。

[0047] [4]根据[1]中所述的化合物,其中, $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 各自独立地是由化学式(2)表示的甲硅烷基。

[0048] [5]根据[1]中所述的化合物,其中, $\text{R}^1$ 是氢原子, $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 各自独立地是由化学式(2)表示的甲硅烷基。

[0049] [6]根据[1]中所述的化合物,其中, $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^5$ 和 $\text{R}^6$ 各自独立地是可以具有取代基的 $\text{C}_1$ 至 $\text{C}_8$ 烷基、可以具有取代基的 $\text{C}_6$ 至 $\text{C}_{10}$ 芳基或可以具有取代基的 $\text{C}_7$ 至 $\text{C}_{14}$ 芳基烷基。

[0050] [7]根据[6]中所述的化合物,其中, $\text{C}_6$ 至 $\text{C}_{10}$ 芳基是苯基或萘基。

[0051] [8]根据[6]中所述的化合物,其中, $\text{C}_7$ 至 $\text{C}_{14}$ 芳基烷基是苄基、苯乙基或萘基甲基。

[0052] [9]一种制备[1]中所述的化合物或其盐的方法,包括:使5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷与甲硅烷基卤反应。

[0053] [10]一种药物组合物,其含有[1]至[8]中任一项所述的化合物或其盐。

[0054] [11]根据[10]中所述的药物组合物,其是骨髓瘤细胞的增殖抑制剂。

[0055] [12]根据[10]中所述的药物组合物,其是用于预防或治疗包括骨髓增生异常综合征在内的各种骨髓瘤的药剂。

[0056] [13]一种抑制哺乳动物中骨髓瘤细胞的增殖的方法,包括:将[1]至[8]中任一项所述的化合物或其盐以有效量给予至哺乳动物。

[0057] [14]一种用于预防或治疗哺乳动物中包括骨髓增生异常综合征在内的各种骨髓瘤的方法,包括:将[1]至[8]中任一项所述的化合物或其盐以有效量给予至哺乳动物。

[0058] [发明效果]

[0059] 根据本发明,通过对5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷的糖部分羟基进行甲硅烷基醚化,它们变得高度疏水,因此可用于口服给药。在肠部被吸收后,它们插入频繁分裂的肿瘤细胞中而不受胞苷脱氨酶(血液或肝脏中的一种代谢水解酶)的影响,然后在生理条件下(例如,37℃和约pH 5~7)逐渐被非酶促地水解并以合适的速度有效地游离出相应的5-氮杂胞苷。结果是它们通过核酸生物合成途径而掺入RNA和DNA中,从而抑制蛋白质合成和一些酶,并示出细胞毒性。另一方面,预期它们通过抑制包括骨髓增生异常综合征在内的骨

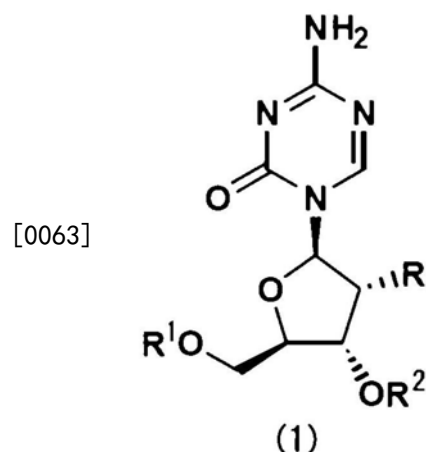
髓瘤细胞增殖而作为各种骨髓瘤的治疗剂。

### 具体实施方式

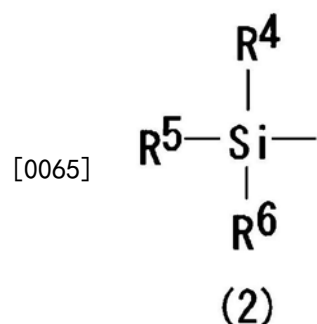
[0060] 除非另外指出,在本说明书和权利要求中使用的术语具有以下含义。

[0061] 本发明的化合物或其盐

[0062] 本发明的化合物由如下化学式 (1) 表示,



[0064] 其中,R是OR<sup>3</sup>基或氢原子,R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢原子或由化学式 (2) 表示的甲基硅烷基:



[0066] 其中,R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>各自独立地是可以具有取代基的烷基、可以具有取代基的芳基或可以具有取代基的芳基烷基,并且R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>不同时是氢原子。

[0067] 除非另外限定,“烷基”是指饱和脂肪族烃基,如C<sub>1</sub>至C<sub>20</sub>直链或支链的烷基。实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、1-甲基己基、5-甲基己基、1,1-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、4,4-二甲基戊基、1-乙基戊基、2-乙基戊基、1,1,3-三甲基丁基、1,2,2-三甲基丁基、1,3,3-三甲基丁基、2,2,3-三甲基丁基、2,3,3-三甲基丁基、1-丙基丁基、1,1,2,2-四甲基丙基、辛基、1-甲基庚基、3-甲基庚基、6-甲基庚基、2-乙基己基、5,5-二甲基己基、2,4,4-三甲基戊基、1-乙基-1-甲基戊基、壬基、1-甲基辛基、2-甲基辛基、3-甲基辛基、7-甲基辛基、1-乙基庚基、1,1-二甲基庚基、6,6-二甲基庚基、癸基、1-甲基壬基、2-甲基壬基、6-甲基壬基、1-乙基辛基、1-丙基庚基、正壬基、正癸基等,优选C<sub>1</sub>至C<sub>8</sub>烷基。C<sub>1</sub>至C<sub>8</sub>烷基的优选实例是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、1-甲基己基、5-甲基己基、1,1-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、4,4-二甲基戊基、1-乙基戊基、2-乙基戊基、1,1,3-三甲基丁基、1,2,2-三甲基丁基、1,3,3-三甲基丁基、2,2,3-三甲基丁基、2,3,3-三甲基丁基、1-丙基丁基、1,1,2,2-四甲基丙基、辛基

等。

[0068] “芳基”是指单环或双环芳族烃,优选 $C_6$ 至 $C_{10}$ 芳基,如苯基和萘基等,更优选苯基。

[0069] “芳基烷基”是指被芳基取代的烷基,优选苯基 $C_1$ 至 $C_6$ 烷基。苯基 $C_1$ 至 $C_6$ 烷基的实例包括但不限于苄基、1-苯基乙基、2-苯基乙基、3-苯基丙基、4-苯基丁基、5-苯基戊基、6-苯基己基等。

[0070] “可以具有取代基的烷基、可以具有取代基的芳基或可以具有取代基的芳基烷基”意指甲硅烷基可以具有取代基,也可以不具有取代基。在具有取代基的情况下,在所述烷基、芳基或芳基烷基的可取代的位置处的取代基可以是1至5个,优选为1至3个。当取代基的数目是2或更多时,取代基可以相同,也可以不同。取代基的实例包括烷基、卤素原子、氰基、硝基等。优选实例包括烷基或卤素。

[0071] “卤素原子”是指氟原子、氯原子、溴原子、碘原子等。优选实例是氟原子和氯原子。

[0072] 本发明的化合物(1)的盐可以是药学上可接受的任何盐。化合物(1)的盐的实例包括但不限于酸加成盐等,诸如无机盐(例如,盐酸盐、硫酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐等)和有机盐(例如,乙酸盐、三氟乙酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、丙酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、草酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐等)等。

[0073] 本发明的化合物(1)可以是晶体。它可以呈单晶形式或多种结晶形式的混合物。可以根据常规方法通过结晶来制备晶体。

[0074] 此外,本发明的化合物(1)可以是溶剂合物(例如,水合物等)。溶剂合物和非溶剂合物(例如,非水合物等)二者都包括在化合物(1)中。

[0075] 本发明的化合物(1)的制备方法

[0076] 例如,可以根据以下方法或其他类似方法来制备本发明的化合物(1)(例如,甲硅烷基醚化方法,披露于Corey, E. J. et al., J. Am. Chem. Soc., 94, 6190, 1972; Morita, T. et al., Tetrahedron Lett., 21, 835, 1980; Y. Kita, et al., Tetrahedron Lett., 4311, 1979 etc.; 作为综述, 参照Lalonde, M., Chan, T. H., Synthesis, 817-845, 1985 etc.)。

[0077] 可以根据常规方法或其类似方法来制备化合物(1)或其盐。例如,使可商购的5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷与甲硅烷基卤(silyl halide)化合物在适当的溶剂中并且在碱的存在下进行反应。能够获得作为目标化合物的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物。

[0078] 甲硅烷基卤化合物

[0079] 甲硅烷基卤化合物的种类没有特殊限制。本领域中使用的任何甲硅烷基卤均可用于本发明的方法。例如,可以使用三烷基甲硅烷基卤、单烷基二芳基甲硅烷基卤、三芳基甲硅烷基卤化合物等。在甲硅烷基卤化合物具有烷基的情况下,作为烷基可以使用例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基或叔丁基等。其中,甲基或乙基是优选的。在甲硅烷基卤化合物具有芳基的情况下,可以使用苯基等。作为构成甲硅烷基卤化合物的卤素原子,可以使用氯原子、溴原子或碘原子,优选氯原子。甲硅烷基卤化合物的更具体实例包括三甲基甲硅烷基氯(其又被称为三甲基氯硅烷,这同样适用于以下化合物)、三乙基甲硅烷基氯、叔丁基二甲基甲硅烷基氯、叔丁基二苯基甲硅烷基氯、三苯基甲硅烷基氯等。

[0080] (碱)

[0081] 所使用的碱包括有机碱和无机碱。有机碱的实例包括但不限于三乙胺、N,N-二异



丙基乙胺、咪唑、吡啶、4-二甲基氨基吡啶 (DMAP)、正丁基锂和叔丁醇钾,优选咪唑和吡啶。无机碱的实例包括但不限于氢化钠、碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾或碳酸铯。优选地,所使用的碱的量为起始材料的量的1当量以上。此外,通常可以举例出,基于1mol起始材料的1.0至10.0mol的范围,优选2.0至6.0mol的范围,更优选2.0至4.0mol的范围。

[0082] (溶剂)

[0083] 从反应顺利进行等观点来看,优选的是,本发明的反应在溶剂中进行。只要反应能够进行,任何溶剂可以用于本发明的反应中。

[0084] 用于本发明的反应的溶剂的实例包括但不限于胺(如N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMAC)、N,N-二乙基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮(NMP)等,优选N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMAC)和N-甲基吡咯烷酮(NMP),更优选N,N-二甲基甲酰胺(DMF))和亚砷(如二甲基亚砷(DMSO))等。只要反应能够进行,溶剂可以以任何量使用。用于本发明的反应的溶剂的量可以由本领域技术人员适当地调整。

[0085] (反应温度)

[0086] 本发明的反应温度没有特殊限制。从提高产率、副产物控制、经济效率等观点来看,可以在一个实施方案中作为实例提及:-20℃至50℃(负20℃至正50℃)的范围,优选-10℃至30℃(负10℃至正30℃)的范围。

[0087] (反应时间)

[0088] 本发明的反应时间没有特殊限制。从提高产率、副产物控制、经济效率等观点来看,可以在一个实施方案中作为实例提及:0.5至120小时的范围,优选1至72小时的范围,更优选1至48小时的范围,甚至更优选1至24小时的范围。然而,本发明的反应时间可以由本领域技术人员适当地调整。

[0089] 本发明的药物组合物

[0090] 本发明的化合物(1)作为安全药物可以直接地、或者根据常规方法与药学上可接受的载体混合形成药物组合物而用于哺乳动物(如人类、猴、猫、猪、马、牛、小鼠、大鼠、豚鼠、狗、家兔等)。

[0091] 关于药学上可接受的载体,可以使用各种常规有机或无机物质作为配制材料。实例包括:固体制剂(如赋形剂、润滑剂、粘结剂和崩解剂)、液体制剂(如溶剂、增溶剂、悬浮剂、张度剂和缓冲剂)等。此外,根据需要可以使用配制添加剂,如防腐剂、抗氧化剂、着色剂、甜味剂等。

[0092] 关于药物组合物的剂型,作为实例可以提及:口服制剂,如片剂、胶囊剂(包括软胶囊剂和微胶囊剂)、颗粒剂、粉剂、糖浆剂、乳剂、悬浮剂、缓释制剂等。这些可以经口安全地给予。然而,不限于这些实例,因为也可以是液体制剂。

[0093] 可以根据制剂技术领域中的常规方法制备药物组合物。例如,可以使用日本药典等中描述的方法。

[0094] 本发明的化合物(1)的用途

[0095] 本发明的化合物(1)可以以多种治疗和预防方式使用。在优选实施方案中,本发明的化合物(1)用于治疗对胞苷类似物或衍生物(如地西他滨或氮杂胞苷)的治疗敏感的多重疾病。可以用本发明的化合物(1)治疗的优选症状包括:伴有不希望或不受控的细胞分裂的症状,包括血液学异常、良性肿瘤、各种类型的癌症(如原发性肿瘤和转移性肿瘤)、再狭

窄(如冠状动脉、颈动脉和脑动脉中的病灶)、对内皮细胞的异常刺激(动脉粥样硬化)、由外科手术引起的体组织的损伤、伤口愈合异常、血管生成异常、引起组织纤维化的疾病、重复性运动障碍、高度血管发育不良以及伴随器官移植的增殖性应答。

[0096] 关于血液学异常,包括可能引起血细胞发育异常的血球异常增殖以及血液学恶性病(如各种类型的白血病)。作为实例,包括急性髓细胞性白血病、急性早幼粒细胞白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、脊髓发育不良和镰状细胞贫血。然而,不限于这些实例。

[0097] 在若干实施方案中,使用本发明的化合物(1)对包括遗传性血液学异常和/或血红蛋白病(如镰状细胞贫血)在内的血液学异常进行治疗。在一些其他实施方案中,还可以用本发明的化合物(1)治疗包括白血病、白血病前期和其他骨髓瘤相关癌症(如伴有骨髓增生异常综合征(MDS)的肺癌和非小细胞肺癌(NSCL))等癌症。NSCL可以包括表皮样癌或鳞状细胞癌、腺癌和大细胞癌。MDS可以包括顽固性贫血、具有过量转化母细胞的顽固性贫血、以及粒单核细胞白血病。

[0098] 在本发明中使用的药物组合物包含有效量的活性成分,这样的有效量使得可以实现治疗和/或防止症状(例如,血液学异常(如镰状细胞贫血)、MDS和/或癌症(例如,NSCL))的目的。

[0099] 在本发明中使用的药物组合物被提供为用于口服给药的剂型。在本说明书中提供的药物组合物可以以固体、半固体或液体形式用于口服给药,包括经颊、经舌和舌下给予。用于口服给药的合适的剂型包括但不限于片剂、胶囊剂、丸剂、锭剂、医疗糖果、芳香化制剂、扁囊剂、粒剂(pellet)、含药口香糖、颗粒剂、散装粉剂、发泡制剂、非发泡粉剂或颗粒剂、溶液剂、乳剂、悬浮液、溶液剂、薄片(wafer)、喷洒剂(sprinkle)、酏剂和糖浆剂。除一种或多种活性成分之外,药物组合物还可以含有粘结剂、填充剂、稀释剂、崩解剂、润湿剂、润滑剂、助流剂、着色剂、色素迁移抑制剂、甜味剂以及调味剂。此外,它们还可以含有不受限于这些实例的一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0100] 在本发明的药物组合物或剂型中的化合物(1)的量可以是例如以下范围中的任一个:约1至2,000mg、约10至2,000mg、约20至2,000mg、约50至1,000mg、约100至500mg、约150至500mg或约150至250mg。

[0101] 当使用本发明的化合物作为抗癌剂时,其有效剂量可以根据癌症的特点和阶段、治疗方针、转移程度、肿瘤的量、体重、年龄、性别、患者的基因种族背景等进行适当选择。药学上有效的剂量通常根据如临床观察到的症状、癌症的阶段等因素来确定。关于每日剂量,在给予人类的情况下,作为实例可以提及:约0.01至10mg/kg(对于体重60kg的成人,约0.5至500mg),优选约0.05至5mg/kg,更优选约0.1至2mg/kg的范围。此外,它们可以一次给予或分多次给予。

[0102] 针对上面获得的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物,研究了其在胞苷脱氨酶的存在下的稳定性。结果发现,在本发明的衍生物中,具有5'-甲硅烷基醚基团(在化学式(1)中, $R^1$ 是三取代的甲硅烷基)的衍生物即使在胞苷脱氨酶的存在下也都非常稳定。确认了这些5-氮杂胞苷-5'-甲硅烷基醚衍生物难以被胞苷脱氨酶(一种在血液或肝脏中存在的酶)水解。另一方面,5-氮杂胞苷或2'-脱氧-5-氮杂胞苷(参照化学式(1))的5'-羟基形式则在上述条件下在30分钟内分解。

[0103] 此外,研究了上面获得的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物(参照化学式(1))在与生理条件类似的环境中(例如,在37℃的PBS溶液中)的稳定性。结果确认了在本发明的衍生物中,对与甲硅烷基直接连接的取代基(R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>)进行适当选择而获得的衍生物可以以适当的速度水解并有效地提供相应的5-氮杂胞苷。此外,确认了以适当的速度水解的、5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物还显示出对骨髓瘤的抑制活性(例如,抑制淋巴瘤细胞瘤细胞的增殖)。

[0104] 因此,本发明的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物(参照化学式(1))对水解代谢酶具有显著的稳定性、且在生理条件下具有适当的水解反应性,有可能成为包括骨髓增生异常综合征在内的各种骨髓瘤的治疗剂的前药。

[0105] 以下将示出关于5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物(参照化学式(1))的制备方法、对胞苷脱氨酶(一种代谢水解酶)的稳定性、在PBS溶液中的水解反应性以及抗骨髓瘤活性的实验细节。

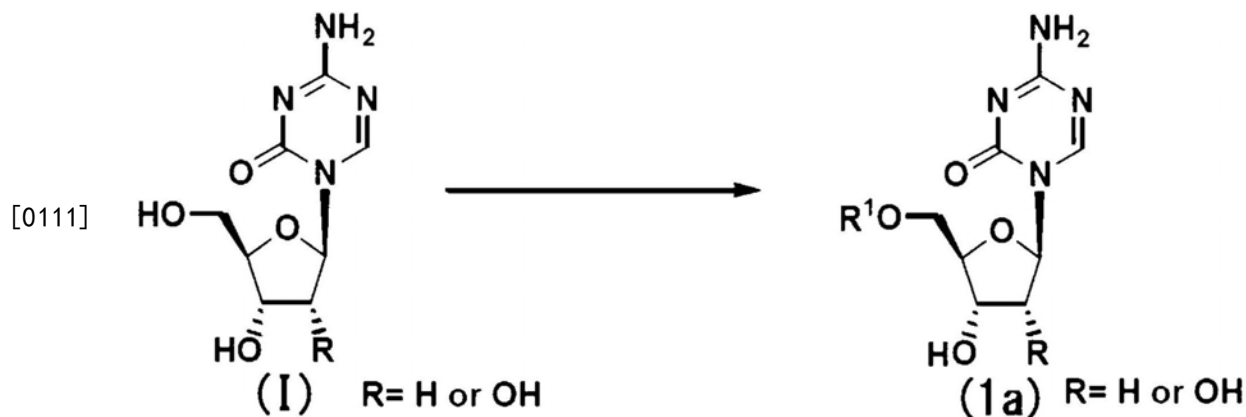
[0106] 实施例

[0107] 以下提供的实施例进一步说明本发明。应理解,本发明的范围不限于以下实施例的范围。

[0108] 在以下实施例中,室温是指约15℃至30℃。<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR的测定用JNM-ECZ 400R仪器(JEOL)进行,并使用CDCl<sub>3</sub>、DMSO-d<sub>6</sub>或CD<sub>3</sub>OD作为溶剂,以ppm示出从四甲基硅烷(内标物)的化学位移(δ)。在本说明书中使用的其他标号具有以下含义。s:单峰;d:二重峰;t:三重峰;m:多重峰;br:宽峰;br s:宽单峰;J:J耦合常数。此外,各化合物的质量测定均使用Yamazen Smart Flash MS系统进行。

[0109] 实施例1

[0110] 5'-(三取代的)甲硅烷氧基-5-氮杂胞苷(5'-(trisubstituted) silyloxy-5-azacytidines, 1a)的合成

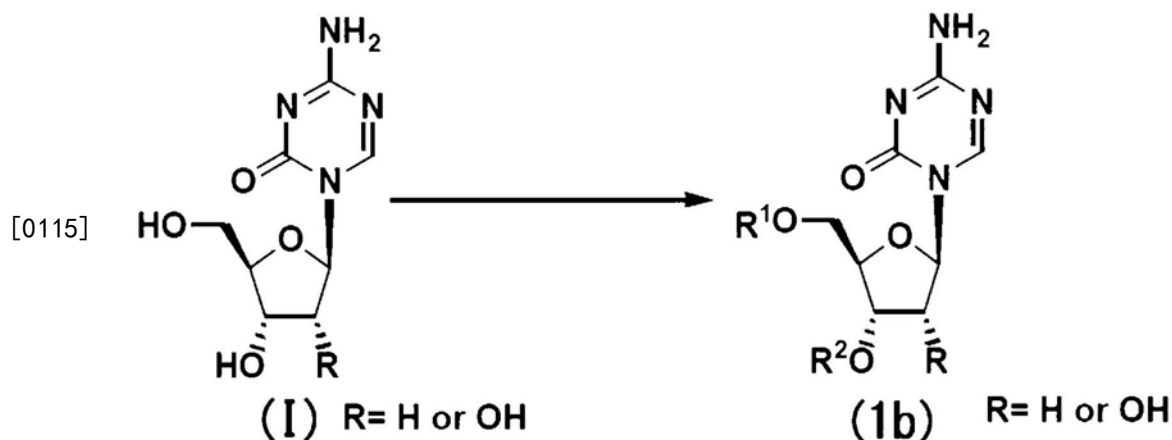


[0112] 向5-氮杂胞苷(I) (1mM) 的无水N,N-二甲基甲酰胺(3mL) 悬浮液中添加咪唑(1.5mM),然后在冰浴下滴加相应的甲硅烷基氯(1.2mM) 约10分钟。接着搅拌约1至17小时直至逐渐升至室温且原料消失为止。将反应溶液注入50mL的乙酸乙酯/饱和盐水(2:1)的混合液中并用乙酸乙酯萃取。将萃取物用饱和盐水(10mL) 洗涤两次,并经无水硫酸钠干燥。将去除了不可溶物质后的萃取物在减压下浓缩至干燥。将获得的油状残余物用硅胶柱(Yamazen Smart Flash MS系统) 分离并纯化,从而获得呈白色粉末的目标化合物5-氮杂胞苷的5'-甲硅烷基醚衍生物(化学式(1a) 中,R是羟基或氢原子,R<sup>1</sup>是三取代的甲硅烷基的化合物)。这

在下文中称为合成方法A。

[0113] 实施例2

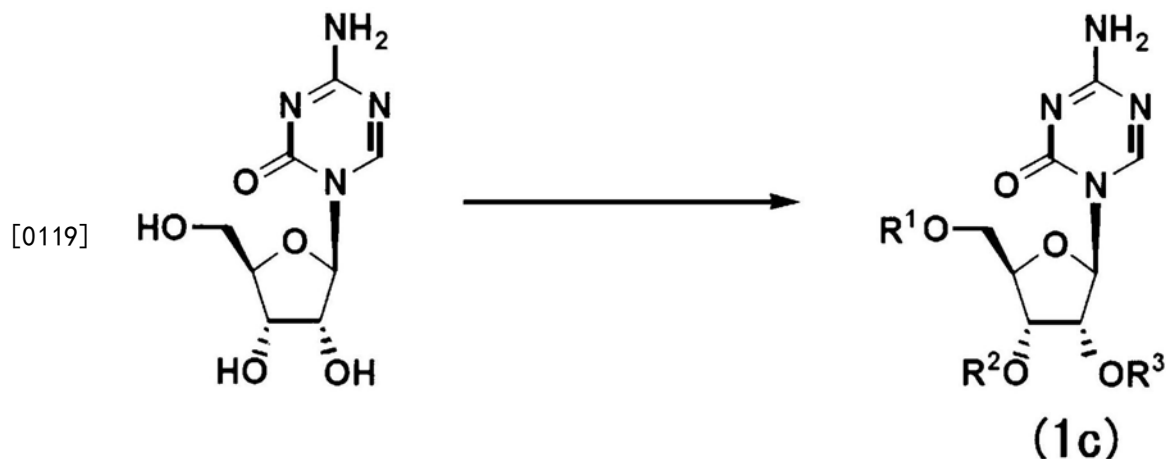
[0114] 3',5'-二(三取代的)甲硅烷氧基-5-氮杂胞苷(3',5'-di(trisubstituted)silyloxy-5-azacytidines,1b)的合成



[0116] 向5-氮杂胞苷(I) (1mM)的无水N,N-二甲基甲酰胺(3mL)悬浮液中添加咪唑(2mM),然后在冰浴下滴加相应的甲硅烷基氯(1.5mM)约10分钟。将混合物搅拌几个小时直至逐渐升温至室温且原料消失为止。将反应溶液注入50mL的乙酸乙酯/饱和盐水(2:1)的混合液中并用乙酸乙酯萃取。将萃取物用饱和盐水(10mL)洗涤两次,并经无水硫酸钠干燥。将去除了不可溶物质后的萃取物在减压下浓缩至干燥。将获得的油状残余物用硅胶柱(Yamazen Smart Flash MS系统)分离并纯化,从而获得呈白色粉末的目标化合物5-氮杂胞苷的3',5'-二甲硅烷基醚衍生物(在化学式(1b)中,R是羟基或氢原子,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>是三取代的甲硅烷基)。这在下文中称为合成方法B。

[0117] 实施例3

[0118] 2',3',5'-三(三取代的)甲硅烷氧基-5-氮杂胞苷(2',3',5'-tri(trisubstituted)silyloxy-5-azacytidines,1c)的合成



[0120] 向5-氮杂胞苷(1mM)的无水N,N-二甲基甲酰胺(2mL)悬浮液中添加咪唑(4mM),然后在冰浴下滴加相应的甲硅烷基氯(3.5mM)约10分钟。将混合物搅拌几个小时直至逐渐升温至室温且原料消失为止。将反应溶液注入50mL的乙酸乙酯/饱和盐水(2:1)的混合液中并用乙酸乙酯萃取。将萃取物用饱和盐水(10mL)洗涤两次,并经无水硫酸钠干燥。将除去了不

可溶物质后的萃取物在减压下浓缩至干燥。将获得的油状残余物用硅胶柱 (Yamazen Smart Flash MS系统) 分离并纯化, 从而获得呈白色粉末的目标化合物5-氮杂胞苷的2', 3', 5'-三甲硅烷基醚衍生物 (在化学式 (1c) 中,  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^3$  是三取代的甲硅烷基)。这在下文中称为合成方法C。

[0121] 以下示出与本研究获得的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物相关的反应时间、分离系统、分离产率和仪器分析获得的数据。

[0122] (化合物A): 5'-O-三甲基甲硅烷基-5-氮杂胞苷 (5'-O-Trimethylsilyl-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $R=OH$ ,  $R^1$ =三甲基甲硅烷基)

[0123] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 14%)

[0124]  $^1H$ -NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.53 (s, 1H), 6.20 (br, 1H), 5.81 (d,  $J=3.2$ Hz, 1H), 5.69 (br, 1H), 5.30 (br, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.87 (d,  $J=10.8$ Hz, 1H), 3.72 (d,  $J=10.8$ Hz, 1H), 3.45 (br, 1H) 以及 0.09 (s, 9H) ppm。

[0125]  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.7, 155.9, 155.5, 93.3, 87.8, 78.1, 72.6, 62.1 以及 -0.82ppm。

[0126] 质量: 317.2 ( $M^++1$ ) (对  $C_{11}H_{20}N_4O_5Si$  计算,  $MW=316.39$ )。

[0127] (化合物B): 5'-O-三甲基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (5'-O-Trimethylsilyl-2'-deoxy-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $R=H$ ,  $R^1$ =三甲基甲硅烷基)

[0128] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇)

[0129]  $^1H$ -NMR (400MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 8.66 (s, 1H), 6.13 (t,  $J=6.0$ Hz, 1H), 4.35-4.42 (m, 1H), 3.67-4.02 (m, 9H), 2.34-2.50 (m, 1H), 2.20-2.32 (m, 1H) 以及 0.14 (s, 9H) ppm。

[0130]  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.3, 156.0, 154.1, 87.6, 86.8, 71.6, 62.3, 42.6 以及 0.1ppm。

[0131] 质量: 301.3 ( $M^++1$ ) (对  $C_{11}H_{20}N_4O_4Si$  计算,  $MW=300.13$ )。

[0132] (化合物C): 5'-O-乙基二甲基甲硅烷基-5-氮杂胞苷 (5'-O-Ethylidimethylsilyl-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $R=OH$ ,  $R^1$ =乙基二甲基甲硅烷基)

[0133] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 12%)

[0134]  $^1H$ -NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.56 (s, 1H), 6.61 (br, 1H), 5.94 (br, 1H), 5.83 (d,  $J=4.0$ Hz, 1H), 4.31-4.34 (m, 1H), 4.23-4.28 (m, 2H), 3.91 (dd,  $J=11.6$ 和 $2.4$ Hz, 1H), 3.74 (dd,  $J=11.6$ 和 $2.4$ Hz, 1H), 0.92 (t,  $J=8.0$ Hz, 3H), 0.56 (t,  $J=8.0$ Hz, 2H), 0.09 (s, 3H) 以及 0.08 (s, 3H) ppm。

[0135]  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.5, 155.7, 155.6, 92.8, 87.3, 72.0, 62.0, 7.6, 6.6 以及 -3.03ppm。

[0136] 质量: 331.2 ( $M^++1$ ) (对  $C_{12}H_{22}N_4O_5Si$  计算,  $MW=330.41$ )。

[0137] (化合物D): 5'-O-(异丙基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷 (5'-O-(i-Propylidimethylsilyl)-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $R=OH$ ,  $R^1$ =异丙基二甲基甲硅烷基)

[0138] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 13%)

[0139]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.56 (s, 1H), 6.81 (br, 1H), 6.08 (br, 1H), 5.85 (d,  $J=3.6\text{Hz}$ , 1H), 5.62 (br, 1H), 4.31-4.33 (m, 1H), 4.24-4.28 (m, 2H), 3.92 (dd,  $J=11.6$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.76 (dd,  $J=11.6$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.72 (br, 1H), 0.93 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H), 0.79-0.88 (m, 1H), 0.07 (s, 3H) 以及 0.06 (s, 3H) ppm。

[0140]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.4, 155.6, 155.4, 92.4, 87.0, 71.7, 62.2, 16.8, 16.7, 14.1, -4.7 以及 -4.8 ppm。

[0141] 质量: 345.2 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW}=344.44$ )。

[0142] (化合物 E): 5'-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷 (5'-O-(t-Butyldimethylsilyl)-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R}=\text{OH}$ ,  $\text{R}^1$ =叔丁基二甲基甲硅烷基)

[0143] 合成方法: 方法 A (反应时间: 约 3 小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 12%)

[0144]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.50 (s, 1H), 6.32 (br, 1H), 5.81 (d,  $J=3.6\text{Hz}$ , 1H), 5.76 (br, 1H), 5.45 (br, 1H), 4.35 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 4.24-4.29 (m, 2H), 3.93 (dd,  $J=12.0$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.78 (dd,  $J=12.0$ 和 $2.0\text{Hz}$ , 1H), 3.54 (br, 1H), 0.86 (s, 9H) 以及 0.06 (s, 6H) ppm。

[0145]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.2, 156.4, 156.0, 93.6, 88.2, 78.1, 72.8, 63.7, 26.5, 18.9, -5.0 以及 -5.1 ppm。

[0146] 质量: 359.2 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW}=358.47$ )。

[0147] (化合物 F): 5'-O-苄基二甲基甲硅烷基-5-氮杂胞苷 (5'-O-Benzyl dimethylsilyl-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R}=\text{OH}$ ,  $\text{R}^1$ =苄基二甲基甲硅烷基)

[0148] 合成方法: 方法 A (反应时间: 约 17 小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 23%)

[0149]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.45 (s, 1H), 7.19-7.25 (m, 2H), 7.06-7.10 (m, 1H), 6.98-7.00 (m, 2H), 6.18 (br, 1H), 5.77 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 1H), 5.67 (br, 1H), 5.27 (br, 1H), 4.31-4.32 (m, 1H), 4.10-4.16 (m, 2H), 3.84 (dd,  $J=8.0$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.68 (dd,  $J=11.6$ 和 $1.6\text{Hz}$ , 1H), 3.38 (br, 1H), 2.16 (s, 2H), 0.12 (s, 3H) 以及 0.11 (s, 3H) ppm。

[0150]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.6, 155.9, 155.4, 138.1, 128.5, 128.3, 124.7, 93.1, 87.5, 72.3, 62.5, 26.3, -2.53 以及 -2.58 ppm。

[0151] 质量: 393.2 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW}=392.48$ )。

[0152] (化合物 G): 5'-O-(正辛基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷 (5'-O-(n-Octyldimethylsilyl)-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R}=\text{OH}$ ,  $\text{R}^1$ =正辛基二甲基甲硅烷基)

[0153] 合成方法: 方法 A (反应时间: 约 1 小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 18%)

[0154]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.78 (s, 1H), 5.79 (d,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H), 4.13-4.19 (m, 2H), 4.07 (dt,  $J=6.8$ 和 $2.0\text{Hz}$ , 1H), 4.03 (dd,  $J=12.0$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.82 (dd,  $J=12.0$ 和 $2.0\text{Hz}$ , 1H), 1.22-1.42 (m, 8H), 0.86-0.93 (m, 4H), 0.62-0.72 (m, 3H), 0.15 (s, 6H) 以及 0.14-0.18 (m, 2H) ppm。

[0155]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 156.6, 156.0, 155.2, 90.8, 84.1, 75.2, 68.5, 60.5, 33.2, 31.8, 29.1, 29.0, 22.9, 22.4, 15.5, 13.1, -3.6 以及 -3.7 ppm。

[0156] 质量: 415.4 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW} = 414.23$ )。

[0157] (化合物H): 5'-O-(正辛基二甲基甲硅烷基)-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (5'-O-(n-Octyldimethylsilyl)-2'-deoxy-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R} = \text{H}$ ,  $\text{R}^1 =$  正辛基二甲基甲硅烷基)

[0158] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 24%)

[0159]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.65 (s, 1H), 6.12 (t,  $J = 5.6\text{Hz}$ , 1H), 4.34-4.37 (m, 1H), 4.00-4.02 (m, 1H), 3.91-3.95 (m, 1H), 3.76-3.79 (m, 1H), 2.45 (ddd,  $J = 13.6, 6.4$  和  $4.4\text{Hz}$ , 1H), 2.24 (m, 1H), 1.27-1.34 (m, 8H), 0.87-0.89 (m, 4H), 0.61-0.63 (m, 3H) 以及 0.12 (s, 6H)。

[0160]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 156.2, 155.8, 155.1, 87.9, 86.7, 70.5, 61.8, 41.6, 33.2, 31.8, 29.1, 22.4, 15.6, 13.1, -1.38, -2.96, -3.73 以及 -3.83 ppm。

[0161] 质量: 399.3 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$  计算,  $\text{MW} = 398.23$ )。

[0162] (化合物I): 5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷 (5'-O-(t-Butyldiphenylsilyl)-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R} = \text{OH}$ ,  $\text{R}^1 =$  叔丁基二苯基甲硅烷基)

[0163] 合成方法: 方法A (反应时间: 约2小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 48%)

[0164]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.63 (s, 1H), 7.69-7.72 (m, 4H), 7.38-7.47 (m, 6H), 5.81 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.32 (dd,  $J = 7.2$  和  $5.2\text{Hz}$ , 1H), 4.23 (dd,  $J = 5.2$  和  $2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.03-4.09 (m, 2H), 3.82 (dd,  $J = 11.6$  和  $2.8\text{Hz}$ , 1H) 以及 1.08 (s, 9H) ppm。

[0165]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 166.4, 155.5, 155.0, 135.4, 135.2, 132.5, 132.3, 129.6, 127.5, 90.8, 83.9, 74.7, 68.7, 62.5 以及 26.0 ppm。

[0166] 质量: 483.4 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW} = 482.60$ )。

[0167] (化合物J): 5'-O-三乙基甲硅烷基-5-氮杂胞苷 (5'-O-Triethylsilyl-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R} = \text{OH}$ ,  $\text{R}^1 =$  三乙基甲硅烷基)

[0168] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 10%)

[0169]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.77 (s, 1H), 5.80 (d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 4.22 (dd,  $J = 6.8$  和  $4.8\text{Hz}$ , 1H), 4.15 (dd,  $J = 4.8$  和  $2.0\text{Hz}$ , 1H), 4.03-4.10 (m, 2H), 3.85 (dd,  $J = 11.6$  和  $2.0\text{Hz}$ , 1H), 1.00 (t,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 9H) 以及 0.67-0.74 (m, 6H) ppm。

[0170]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 163.0, 152.3, 151.5, 87.1, 80.4, 71.6, 64.7, 57.1, 2.07 以及 0.00 ppm。

[0171] 质量: 359.2 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW} = 358.47$ )。

[0172] (化合物K): 5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (5'-O-Triethylsilyl-2'-deoxy-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R} = \text{H}$ ,  $\text{R}^1 =$  三乙基甲硅烷基)

[0173] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 81%)

[0174]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.62 (s, 1H), 6.26 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 1H), 6.25 (br, 1H), 5.58 (br, 1H), 4.47-4.51 (m, 1H), 4.09-4.11 (m, 1H), 3.93 (dd,  $J=10.8$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 3.82 (dd,  $J=11.6$ 和 $2.0\text{Hz}$ , 1H), 2.64-2.70 (m, 1H), 2.66 (br, 1H), 2.23 (dt,  $J=12.0$ 和 $6.4\text{Hz}$ , 1H), 0.96 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 9H) 以及 0.63 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0175]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.3, 156.0, 154.1, 87.6, 86.8, 71.6, 62.3, 42.6, 6.7 以及 4.1 ppm。

[0176] 质量: 343.3 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$  计算,  $\text{MW}=342.47$ )。

[0177] (化合物L): 5'-O-(异丙基二乙基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷 (5'-O-(i-Propyldiethylsilyl)-5-azacytidine): (在化学式 (1a) 中,  $\text{R}=\text{OH}$ ,  $\text{R}^1$ =异丙基二乙基甲硅烷基)

[0178] 合成方法: 方法A (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 21%)

[0179]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.56 (s, 1H), 7.04 (br, 1H), 6.21 (br, 1H), 5.85 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 5.70 (br, 1H), 4.28 (s, 3H), 3.98 (d,  $J=11.2\text{Hz}$ , 1H), 3.81 (d,  $J=11.2\text{Hz}$ , 1H), 3.79 (br, 1H), 0.93-0.99 (m, 13H) 以及 0.61-0.65 (m, 4H) ppm。

[0180]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.4, 155.6, 155.5, 92.2, 87.0, 71.5, 62.5, 17.3, 17.2, 12.5, 7.0, 3.0 以及 2.9 ppm。

[0181] 质量: 373.3 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$  计算,  $\text{MW}=372.49$ )。

[0182] (化合物M): 3', 5'-二(O-三甲基甲硅烷基)-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (3', 5'-Di (O-trimethylsilyl)-2'-deoxy-5-azacytidine): (在化学式 (1b) 中,  $\text{R}=\text{H}$ ,  $\text{R}^1=\text{R}^2$ =三甲基甲硅烷基)

[0183] 合成方法: 方法B (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/甲醇, 分离产率: 70%)

[0184]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.69 (s, 1H), 6.17 (dd,  $J=6.4$ 和 $4.4\text{Hz}$ , 1H), 5.89 (br s, 1H), 5.44 (br s, 1H), 4.36 (q,  $J=5.6\text{Hz}$ , 1H), 3.94-3.96 (m, 1H), 3.88 (dd,  $J=11.6$ 和 $2.8\text{Hz}$ , 1H), 3.71 (dd,  $J=12.0$ 和 $2.4\text{Hz}$ ), 2.50 (q,  $J=6.8\text{Hz}$ , 1H), 2.17-2.23 (m, 1H), 0.16 (s, 9H) 以及 0.12 (s, 9H) ppm。

[0185]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.4, 156.2, 154.0, 87.6, 86.6, 69.7, 60.8, 42.2, 0.10 以及 -0.69 ppm。

[0186] 质量: 373.3 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}_2$  计算,  $\text{MW}=372.16$ )。

[0187] (化合物N): 3', 5'-二(O-正辛基二甲基甲硅烷基)-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (3', 5'-Di (O-n-octyldimethylsilyl)-2'-deoxy-5-azacytidine): (在化学式 (1b) 中,  $\text{R}=\text{H}$ ,  $\text{R}^1=\text{R}^2$ =正辛基二甲基甲硅烷基)

[0188] 合成方法: 方法B (反应时间: 约2小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/正己烷, 分离产率: 54%)

[0189]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.61 (s, 1H), 6.10 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 1H), 4.46 (dd,  $J=10.0$ 和 $4.8\text{Hz}$ , 1H), 3.97 (dd,  $J=6.4$ 和 $2.8\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (dd,  $J=11.6$ 和 $3.2\text{Hz}$ , 1H), 3.76 (dd,  $J=11.2$ 和 $2.4\text{Hz}$ , 1H), 2.41 (dt,  $J=13.6$ 和 $6.0\text{Hz}$ , 1H), 2.24 (dt,  $J=13.6$ 和 $5.6\text{Hz}$ , 1H), 1.29-1.34 (m, 24H), 0.87-0.91 (m, 6H), 0.61-0.68 (m, 4H), 0.14 (s, 6H) 以及 0.12 (s, 6H) ppm。



[0190]  $^{13}\text{C}$ -NMR $\delta$ :166.7,155.8,155.0,88.0,86.5,70.8,61.2,41.6,33.3,31.8,29.16,29.12,29.11,23.0,22.9,22.4,16.0,15.6,13.2,-.2.78,-2.89,-3.57以及-3.75ppm。

[0191] 质量:569.5 ( $\text{M}^+$ +1) (对 $\text{C}_{28}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}_2$ 计算,MW=568.38)。

[0192] (化合物P):3',5'-二(0-三乙基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(3',5'-Di(0-triethylsilyl)-5-azacytidine):(在化学式(1b)中, $\text{R}=\text{OH}$ , $\text{R}^1=\text{R}^2$ =三乙基甲硅烷基)

[0193] 合成方法:方法B(反应时间:约1小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:25%)

[0194]  $^1\text{H}$ -NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :8.58(s,1H),6.43(br,1H),5.92(d, $J=3.2\text{Hz}$ ,1H),5.58(br,1H),4.34(t, $J=5.2\text{Hz}$ ,1H),4.12(br,1H),4.08(dt, $J=6.0$ 和 $2.0\text{Hz}$ ,1H),3.98(dd, $J=11.6$ 和 $2.4\text{Hz}$ ,1H),3.75(dd, $J=11.2$ 和 $2.4\text{Hz}$ ,1H),3.09(br,1H),0.97(dt, $J=8.0$ 和 $5.2\text{Hz}$ ,18H)以及0.61-0.70(m,12H)ppm。

[0195]  $^{13}\text{C}$ -NMR( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :166.2,156.1,154.0,90.3,84.9,76.0,70.2,61.1,6.73,6.64,4.62以及4.10ppm。

[0196] 质量:473.4 ( $\text{M}^+$ +1) (对 $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_2$ 计算,MW=472.73)。

[0197] (化合物Q):3',5'-二(0-三乙基甲硅烷基)-2'-脱氧-5-氮杂胞苷(3',5'-Di(0-triethylsilyl)-2'-deoxy-5-azacytidine):(在化学式(1b)中, $\text{R}=\text{H}$ , $\text{R}^1=\text{R}^2$ =三乙基甲硅烷基)

[0198] 合成方法:方法B(反应时间:约2小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:54%)

[0199]  $^1\text{H}$ -NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :8.67(s,1H),6.19(dd, $J=6.4$ 和 $4.8\text{Hz}$ ,1H),5.61(br,1H),5.38(br,1H),4.41(q, $J=4.8\text{Hz}$ ,1H),3.96-3.98(m,1H),3.91(dd, $J=11.6$ 和 $2.8\text{Hz}$ ,1H),3.76(dd, $J=11.6$ 和 $2.0\text{Hz}$ ,1H),2.51(dt, $J=13.2$ 和 $6.0\text{Hz}$ ,1H),2.15-2.21(m,1H),0.92-0.99(m,18H)以及0.56-0.68(m,12H)ppm。

[0200]  $^{13}\text{C}$ -NMR( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :166.4,156.2,154.0,88.0,86.6,70.2,61.5,42.7,6.8,4.7以及4.2ppm。

[0201] 质量:457.4 ( $\text{M}^+$ +1) (对 $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}_2$ 计算,MW=456.73)。

[0202] (化合物R):2',3',5'-三(0-三甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(2',3',5'-Tri(0-trimethylsilyl)-5-azacytidine):(在化学式(1c)中, $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3$ =三甲基甲硅烷基)

[0203] 合成方法:方法C(反应时间:约1小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:64%)

[0204]  $^1\text{H}$ -NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :8.82(s,1H),6.23(br,1H),5.70(s,1H),5.49(br,1H),4.09-4.16(m,3H),4.01(dd, $J=12.0$ 和 $1.2\text{Hz}$ ,1H),3.70(dd, $J=11.6$ 和 $1.2\text{Hz}$ ,1H),0.20(s,9H),0.19(s,9H)以及0.13(s,9H)ppm。

[0205]  $^{13}\text{C}$ -NMR( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :166.5,156.4,153.9,91.2,82.7,76.4,68.3,59.3,0.4,0.2以及-0.7ppm。

[0206] 质量:461.3 ( $\text{M}^+$ +1) (对 $\text{C}_{17}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_3$ 计算,MW 460.75)。

[0207] (化合物S):2',3',5'-三(0-乙基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(2',3',5'-Tri(0-ethyldimethylsilyl)-5-azacytidine):(在化学式(1c)中, $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3$ =二甲基乙基甲硅烷基)

[0208] 合成方法:方法C(反应时间:约1小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:67%)

[0209]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :8.80 (s, 1H), 6.27 (br, 1H), 5.71 (d,  $J=0.8\text{Hz}$ , 1H), 5.49 (br, 1H), 4.08-4.16 (m, 3H), 4.01 (dd,  $J=12.0$ 和 $0.8\text{Hz}$ , 1H), 3.72 (dd,  $J=11.6$ 和 $0.8\text{Hz}$ , 1H), 0.90-1.01 (m, 9H), 0.57-0.74 (m, 6H), 0.19 (s, 3H), 0.16 (s, 9H), 0.10 (s, 3H) 以及 0.09 (s, 3H) ppm。

[0210]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :166.5, 156.3, 153.9, 91.1, 82.8, 68.4, 59.6, 8.6, 8.3, 7.7, 6.8, -1.8, -1.9, -2.1, -2.8 以及 -3.0 ppm。

[0211] 质量:503.4 ( $\text{M}^++1$ ) (对  $\text{C}_{20}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_3$  计算,  $\text{MW}=502.83$ )。

[0212] (化合物T):2', 3', 5'-三(0-异丙基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(2', 3', 5'-Tri(0-i-propyldimethylsilyl)-5-azacytidine):(在化学式(1c)中,  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3$ =异丙基二甲基甲硅烷基)

[0213] 合成方法:方法C(反应时间:约1小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:74%)

[0214]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :8.76 (s, 1H), 6.68 (br, 1H), 5.71 (d,  $J=1.2\text{Hz}$ , 1H), 5.55 (br, 1H), 4.09-4.17 (m, 3H), 4.03 (d,  $J=12.0\text{Hz}$ , 1H), 3.74 (d,  $J=11.6\text{Hz}$ , 1H), 0.92-1.02 (m, 21H), 0.18 (s, 3H), 0.14 (s, 3H), 0.12 (s, 3H), 0.11 (s, 3H) 以及 0.07 (s, 6H) ppm。

[0215]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :166.5, 156.2, 153.9, 90.9, 83.0, 76.4, 68.7, 59.9, 17.0, 16.9, 14.9, 14.6, 14.3, -3.4, -3.5, -3.9, -4.1, -4.5 以及 -4.8 ppm。

[0216] 质量:545.4 ( $\text{M}^++1$ ) (对  $\text{C}_{23}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_3$  计算,  $\text{MW}=544.91$ )。

[0217] (化合物U):2', 3', 5'-三(0-叔丁基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(2', 3', 5'-Tri(0-t-butyldimethylsilyl)-5-azacytidine):(在化学式(1c)中,  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3$ =叔丁基二甲基甲硅烷基)

[0218] 合成方法:方法C(反应时间:约15小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:67%)

[0219]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :8.73 (s, 1H), 6.46 (br, 1H), 5.73 (d,  $J=2\text{Hz}$ , 1H), 5.45 (br, 1H), 4.17 (dd,  $J=3.6$ 和 $1.6\text{Hz}$ , 1H), 4.06-4.13 (m, 3H), 3.80 (d,  $J=1.2\text{Hz}$ , 0.5H), 3.77 (d,  $J=1.6\text{Hz}$ , 0.5H), 0.96 (s, 9H), 0.91 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.21 (s, 3H), 0.15 (s, 3H), 0.13 (s, 3H), 0.11 (s, 3H) 以及 0.06 (s, 3H) ppm。

[0220]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :171.9, 161.7, 159.4, 95.9, 88.7, 81.5, 74.6, 66.3, 31.7, 31.4, 24.2, 23.6, 23.5, 1.45, 1.31, 0.52, 0.44 以及 0.22 ppm。

[0221] 质量:587.5 ( $\text{M}^++1$ ) (对  $\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_3$  计算,  $\text{MW}=586.99$ )。

[0222] (化合物V):2', 3', 5'-三(0-三乙基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(2', 3', 5'-Tri(0-triethylsilyl)-5-azacytidine):(在化学式(1c)中,  $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3$ =三乙基甲硅烷基)

[0223] 合成方法:方法C(反应时间:约1小时,柱洗脱溶剂:乙酸乙酯/正己烷,分离产率:99%)

[0224]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :8.78 (s, 1H), 5.87 (br, 1H), 5.73 (d,  $J=1.2\text{Hz}$ , 1H), 4.10-4.17 (m, 3H), 4.04 (dd,  $J=11.6$ 和 $1.6\text{Hz}$ , 1H), 3.77 (dd,  $J=11.6$ 和 $1.2\text{Hz}$ , 1H), 0.92-1.01 (m, 27H) 以及 0.57-0.78 (m, 18H) ppm。

[0225]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.4, 156.3, 153.8, 90.6, 83.0, 76.4, 68.8, 60.2, 6.82, 6.80, 6.74, 4.80, 4.75 以及 4.07 ppm。

[0226] 质量: 587.5 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_3$  计算,  $\text{MW} = 586.99$ )。

[0227] (化合物W): 2', 3', 5' - 三 (0-异丙基二乙基甲硅烷基) - 5-氮杂胞苷 (2', 3', 5' - Tri- (0-i-propyldiethylsilyl) - 5-azacytidine): (在化学式 (1c) 中,  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{R}^3 =$  异丙基二乙基甲硅烷基)

[0228] 合成方法: 方法C (反应时间: 约1小时, 柱洗脱溶剂: 乙酸乙酯/正己烷, 分离产率: 74%)

[0229]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.76 (s, 1H), 6.38 (br, 1H), 5.75 (d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.47 (br, 1H), 4.07-4.22 (m, 4H), 3.81 (d,  $J = 10.4\text{Hz}$ , 1H), 0.94-1.05 (m, 36H) 以及 0.63-0.76 (m, 15H) ppm。

[0230]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.4, 156.4, 153.9, 90.3, 83.2, 69.3, 60.6, 17.4, 17.3, 13.1, 13.0, 12.4, 7.2, 7.1, 7.0, 3.9, 3.8, 3.7, 3.0 以及 2.8 ppm。

[0231] 质量: 629.5 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (对  $\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}_3$  计算,  $\text{MW} = 629.07$ )。

[0232] 实施例4

[0233] 化合物X: 2', 3' - 二 (0-叔丁基二甲基甲硅烷基) - 5-氮杂胞苷 (2', 3' - Di (0-t-butyl dimethylsilyl) - 5-azacytidine): (在化学式 (1c) 中,  $\text{R}^1 = \text{H}$ ,  $\text{R}^2 = \text{R}^3 =$  叔丁基二甲基甲硅烷基)

[0234] 将200mg的化合物U (0.34mM) 溶解于5mL的无水四氢呋喃中。在冰浴下添加0.34mL的四丁基氟化铵 (1M的四氢呋喃溶液, 0.34mM) 并搅拌2.5小时。将反应溶液用30mL的乙酸乙酯/饱和盐水 (2:1) 稀释并用乙酸乙酯萃取。将萃取物用饱和盐水 (10mL) 洗涤两次, 并经无水硫酸钠干燥。在过滤了不可溶物质后, 将萃取物在减压下浓缩。将获得的残余物用硅胶柱 (用氯仿: 甲醇 = 10:1 洗脱) 分离并纯化, 从而获得呈白色粉末的作为目标化合物的化合物X (分离产率: 37%)。

[0235]  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.22 (s, 1H), 5.45 (br, 1H), 5.30 (d,  $J = 5.6\text{Hz}$ , 1H), 4.82 (dd,  $J = 6.0$  和  $4.8\text{Hz}$ , 1H), 4.23 (dd,  $J = 4.4$  和  $3.2\text{Hz}$ , 1H), 4.11-4.13 (m, 1H), 3.92-3.95 (m, 1H), 3.78-3.80 (m, 1H), 3.66-3.71 (m, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.87 (s, 9H), 0.09 (s, 3H), 0.08 (s, 3H), 0.07 (s, 3H) 以及 0.02 (s, 3H) ppm。

[0236]  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.9, 163.3, 158.6, 100.1, 92.1, 77.4, 76.8, 66.7, 30.7, 23.0, 22.8, 4.90, 0.43, 0.24, 0.10 以及 0.00 ppm。

[0237] 测试实施例1

[0238] 5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物对胞苷脱氨酶的稳定性

[0239] 将约1mg的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物 (参照化学式 (1a)) 溶解于1mL的乙腈中。将10 $\mu\text{L}$ 的溶液用1mL的PBS稀释。在所获得的溶液中加入10 $\mu\text{L}$ 的胞苷脱氨酶的PBS溶液, 并在37 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌约1小时。将1mL的乙腈添加到该反应溶液中, 离心分离。对上清液进行HPLC分析。在表1中示出了在例如5' - 0- (叔丁基二甲基甲硅烷基) - 5-氮杂胞苷 (化合物E)、5' - 0- (三乙基甲硅烷基) - 5-氮杂胞苷 (化合物J) 和5' - 0- 三乙基甲硅烷基 - 2' - 脱氧-5-氮杂胞苷 (化合物K) 的情况下的分析结果。

[0240] 胞苷脱氨酶: CDA (1-146aa), His标记的人类重组胞苷脱氨酶 (ATGen公司)

- [0241] HPLC测定条件:
- [0242] 柱:CAPCELL PAK ADME (4.6mm×150mm,粒径:3μm)
- [0243] 洗脱:洗脱液A=含有10mM甲酸铵的纯化水
- [0244] 洗脱液B=乙腈
- [0245] 梯度模式:A:B=99:1→5:95/30分钟
- [0246] 流速:1.0mL/分钟
- [0247] 箱温:40℃
- [0248] 检测器:UV240nm
- [0249] [表1]

[0250]	起始材料	HPLC 图谱上的变化
	5-氮杂胞苷	起始材料的峰在 30 分钟后完全消失。
	2'-脱氧-5-氮杂胞苷	起始材料的峰在 30 分钟后完全消失。
	5'-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(化合物 E)	确认了甚至在 1 小时后,起始材料的峰也几乎没有变化。
	5'-O-(三乙基甲硅烷基)-5-氮杂胞苷(化合物 J)	确认了甚至在 1 小时后,起始材料的峰也几乎没有变化。
	5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷(化合物 K)	确认了甚至在 1 小时后,起始材料的峰也几乎没有变化。

[0251] 因此,本发明的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物对胞苷脱氨酶是极其稳定的。另一方面,5-氮杂胞苷和2'-脱氧-5-氮杂胞苷在上述反应条件下完全消失。

[0252] 测试实施例2

[0253] 5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物的非酶促水解

[0254] 将约1mg的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物(参照化学式(1a)),例如5'-O-三乙基甲硅烷基-5-氮杂胞苷(化合物J)溶解于1mL的乙腈中。将5μL的该溶液添加到100μL的10mM PBS溶液中,并在37℃下搅拌。通过HPLC分析追踪反应。结果确认了5-氮杂胞苷的产生。同时,没有确认到其他分解代谢物的生成。此外,在5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷(化合物K)的情况下也获得了相同的结果,确认了相应的脱氧形式(2'-脱氧-5-氮杂胞苷)的产生。

[0255] HPLC测定条件与测试实施例1中的相同。

[0256] [表2]

		5-氮杂胞苷或 2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (%)		
		4 小时之后	8 小时之后	24 小时之后
[0257]	5'-O-三乙基甲硅烷基-5-氮杂胞苷 (化合物 J)	16	22	62
	5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (化合物 K)	10	12	48

[0258] 测试实施例3

[0259] 5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物的抗骨髓瘤活性

[0260] 向含有RPMI-8226骨髓瘤细胞 (约4000个) 的溶液中添加0.0033 $\mu$ M、0.01 $\mu$ M、0.033 $\mu$ M、0.1 $\mu$ M、0.33 $\mu$ M、1 $\mu$ M、3.3 $\mu$ M、10 $\mu$ M、33 $\mu$ M、100 $\mu$ M浓度的5-氮杂胞苷的糖部分甲硅烷基醚衍生物的溶液。在RPMI-1640 (含有10%FBS和1%Penn-strep) 培养基中温育72小时后,测定细胞计数并计算IC<sub>50</sub>值作为对细胞增殖的抑制效果 (参照Journal of Clinical Pathology, 2006, 59, 947-951)。

[0261] [表3]

[0262]	化合物	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
	5'-O-三乙基甲硅烷基-5-氮杂胞苷 (化合物J)	0.656
	5'-O-三乙基甲硅烷基-2'-脱氧-5-氮杂胞苷 (化合物K)	0.27
	2'-脱氧-5-氮杂胞苷	0.03

[0263] 工业实用性

[0264] 根据本发明,可以为临床实践提供对胞苷脱氨酶 (一种代谢水解酶) 具有显著稳定性的前药化合物,能够潜在地代替临床上用作包括骨髓增生异常综合征在内的各种骨髓瘤的治疗剂的注射剂 (5-氮杂胞苷和2'-脱氧-5-氮杂胞苷)。