

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 6 月 11 日 (11.06.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/081867 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07H 19/073 (2006.01) *A61K 31/7068* (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/093005
- (22) 国际申请日: 2014 年 12 月 4 日 (04.12.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201310646358.7 2013 年 12 月 4 日 (04.12.2013) CN
- (71) 申请人: 杭州民生药物研究院有限公司 (HANG-ZHOU MINSHENG INSTITUTES FOR PHARMA RESEARCH CO., LTD) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市余杭区文一西路 1378 号 F 座 8 层 801-807, Zhejiang 311121 (CN)。 杭州民生药业有限公司 (HANG-ZHOU MINSHENG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [US/US]; 中国浙江省杭州市余杭经济技术开发区临平大道 36 号, Zhejiang 311100 (CN)。
- (72) 发明人: 吴耀东 (WU, Yaodong); 中国浙江省杭州市余杭区文一西路 1378 号 F 座 8 层 801-807, Zhejiang 311121 (CN)。 单佳祺 (SHAN, Jiaqi); 中国浙江省杭州市余杭区文一西路 1378 号 F 座 8 层 801-807, Zhejiang 311121 (CN)。 沈锡明 (SHEN, Ximing); 中国浙江省杭州市余杭区文一西路 1378 号 F 座 8 层 801-807, Zhejiang 311121 (CN)。 吴春霞 (WU,

Chunxia); 中国浙江省杭州市余杭区文一西路 1378 号 F 座 8 层 801-807, Zhejiang 311121 (CN)。 黄滨南 (HUANG, Binnan); 中国浙江省杭州市余杭区文一西路 1378 号 F 座 8 层 801-807, Zhejiang 311121 (CN)。

(74) 代理人: 上海专利商标事务所有限公司 (SHANG-HAI PATENT & TRADEMARK LAW OFFICE, LLC); 中国上海市桂平路 435 号, Shanghai 200233 (CN)。

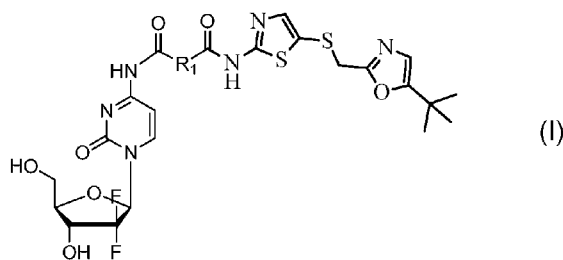
(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,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

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

[见续页]

(54) Title: GEMCITABINE DERIVATIVE, COMPOSITION CONTAINING THE DERIVATIVE AND PHARMACEUTICAL USE OF THE DERIVATIVE

(54) 发明名称: 吉西他滨衍生物、含该衍生物的组合物及所述衍生物的制药用途



(57) Abstract: The present invention provides a gemcitabine derivative of formula (I) and a method for preparing the same. The present invention further relates to a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically effective dose of the gemcitabine derivative and a pharmaceutically acceptable excipient or additive. The present invention further provides an application of the derivative in preparing antineoplastic drugs. The compound designed in the present invention is innovative in structure, and has a notable antineoplastic activity. Compound preparation raw materials involved in the present invention are wide in source and are easily obtained, the preparing method is simple and convenient, and easy in operation, and the product yield is high, which facilitates industrial mass production.

(57) 摘要: 本发明提供了式 (I) 吉西他滨衍生物及其制备方法。本发明还涉及包含药物有效量的所述吉西他滨衍生物以及药学上可接受的赋形剂或添加剂的药物组合物。本发明进一步提供了所述衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。本发明设计的化合物结构新颖, 具有显著的抗肿瘤活性。本发明涉及的化合物制备原料来源广泛易获取, 制备方法简便易操作, 产物的收率高, 利于工业化规模生产。



WO 2015/081867 A1

RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。 **本国际公布:**
— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

吉西他滨衍生物、含该衍生物的组合物及所述衍生物的制药用途

技术领域

本发明属于医药领域，具体涉及一种吉西他滨衍生物、含该类化合物的组合物及所述化合物的在制药，特别是制备抗肿瘤药物中的应用。

背景技术

肿瘤是严重威胁人类健康的一类疾患，得益于近三十年来生命科学研究技术的进步及对肿瘤病理学的深入认识，抗肿瘤药物的研发获得突破性的进展，各种类型的新型分子靶向抗肿瘤药物的研发成功在提高肿瘤治疗水平上发挥了重要作用。现阶段，肿瘤耐药是肿瘤治疗的难点所在，肿瘤的异质性及易于突变的特点是其容易产生耐药的主要原因，因此针对肿瘤耐药作用机制的药物研究和开发具有非常重要的临床意义。

抗代谢类药物是抗肿瘤药物重要组成部分，2010 年在整个抗肿瘤药物医院市场中抗代谢药占据 15.75% 的市场份额，居第 3 位。抗代谢类抗肿瘤药物主要由核苷类药物组成，其中，吉西他滨、阿糖胞苷、地西他滨、氮杂胞苷、克拉屈滨、氟达拉滨、奈拉滨等最为常用。

吉西他滨(Gemcitabine)为氟胞苷类似物，属于周期特异性抗肿瘤药物；主要作用于 DNA 合成期，也可阻断肿瘤细胞周期由 DNA 合成前期向 DNA 合成期的进展；吉西他滨在脱氧胞苷激酶的作用下被转化为具有活性的吉西他滨二磷酸盐及三磷酸盐，通过影响 DNA 合成和修复，从而抑制肿瘤细胞分裂，诱导肿瘤细胞凋亡；适用于治疗中、晚期非小细胞肺癌，局部晚期或已转移的胰腺癌。

吉西他滨可用于紫杉醇及蒽醌类耐药的乳腺癌治疗，有研究表明耐药基因 P-gp 及 MRP 的过表达是相关耐药肿瘤细胞对吉西他滨敏感的重要原因，其可能的机制为：多药耐药引起脱氧胞苷激酶的表达升高，从而增加肿瘤细胞内吉西他滨三磷酸盐(dFdCTP)的积累，并可促进吉西他滨结合到肿瘤细胞 DNA 链，由此提高耐药肿瘤细胞的药物敏感性。

目前对吉西他滨及其衍生物的研究，主要通过胞嘧啶环上胺基的修饰、改造，来合成出具有高抗肿瘤活性的化合物，但其不足之处在于：仅针对抑制肿瘤细胞 DNA 合成这样的单一靶点作用，限于客观的技术难度并未考虑多靶点作用机制的方式，以合成出具有高抗肿瘤活性的化合物。

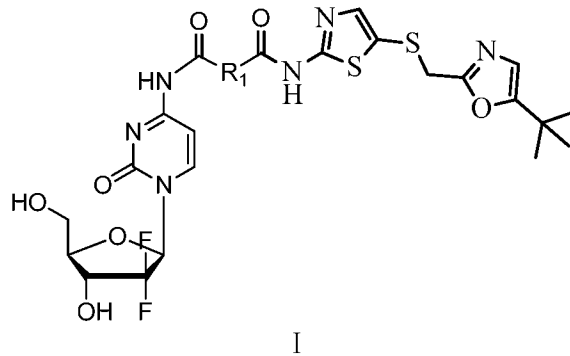
发明内容

本发明迥异于现有的吉西他滨修饰或改造思路，以吉西他滨为先导化合物，引入多靶点多作用机制协同起效并同时保护吉西他滨活性药效基团的合成思路，通

过结构优化引入新的具有特定分子靶向作用的活性基团，从而制备得到一类结构新颖、CDK 抑制和 DNA 合成抑制双靶点作用的吉西他滨类化合物，尤其能进一步提高吉西他滨类化合物对耐药肿瘤细胞增殖抑制活性的目的。

本发明通过如下技术方案实现：

本发明提供一种吉西他滨衍生物，具有如下结构通式 I：



式中

R_1 选自未取代或取代的 C_{1-10} 烷基、未取代或取代的 C_{2-10} 烯基、未取代或取代的 C_{2-10} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基，其中所述的取代基选自卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基羰基和 $-NH-$ 中的一种或几种；

或者 R_1 为任选取代的芳基，其中所述的取代基选自氢、羟基、羧基、硝基、卤原子、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基中的一种或几种。

优选的，任选取代的芳基为苯基、苄基或萘基。

在一个实施方案中， R_1 优选自未取代或取代的 C_{3-10} 烷基、未取代或取代的 C_{3-10} 烯基、未取代或取代的 C_{3-10} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基，或是任选取代的选自苯基、苄基或萘基的芳基；其中，所述的取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基羰基、 $-NH-$ 中的一种或几种。

优选的，卤原子为 F、Cl、Br 或 I。

在另一个实施方案中， R_1 优选自未取代或取代的 C_{4-9} 烷基、未取代或取代的 C_{4-9} 烯基、未取代或取代的 C_{4-9} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基；所述取代基选自 F 和 Cl。

本发明最优的化合物以编号 GI-01 到 GI-09 依次命名：

编号 GI-01：N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)草酰胺；

编号 GI-02: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)丙二酰胺;

编号 GI-03: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)琥珀酰胺;

编号 GI-04: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)戊二酰胺;

编号 GI-05: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)己二酰胺;

编号 GI-06: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)庚二酰胺;

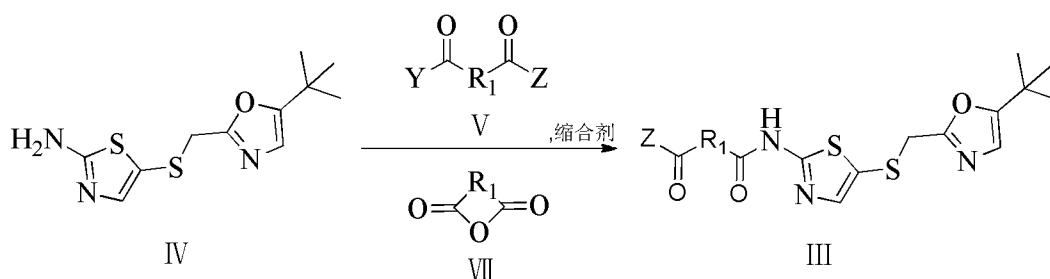
编号 GI-07: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)辛二酰胺;

编号 GI-08: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)壬二酰胺;

编号 GI-09: N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)癸二酰胺。

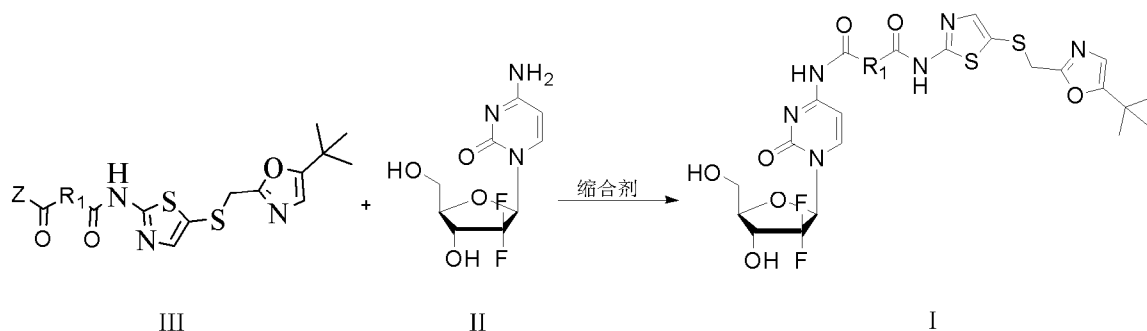
本发明还提供了一种吉西他滨衍生物的制备方法, 包括如下步骤:

(1) 在缩合剂存在下, 将下式IV的化合物与式V或式VII的化合物混合, 经酰胺化反应后得到式III的中间产物, 条件是, 当式IV化合物与式VII化合物反应时, 所得的式III化合物中Z为OH。反应式如下:



(2) 在缩合剂存在下, 使中间产物III与式II的化合物混合, 经酰胺化反应后

得到式 I 的目标产物，反应式如下：



其中，Y、Z 各自独立地代表-OH、-F、-Cl、-Br 或-I；

R_1 选自未取代或取代的 C_{1-10} 烷基、未取代或取代的 C_{2-10} 烯基、未取代或取代的 C_{2-10} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基，其中，所述的取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基羰基、-NH-中的一种或几种；或者 R_1 是任选取代的芳基，其中所述的取代基选自氢、羟基、羧基、硝基、卤原子、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基中的一种或几种；

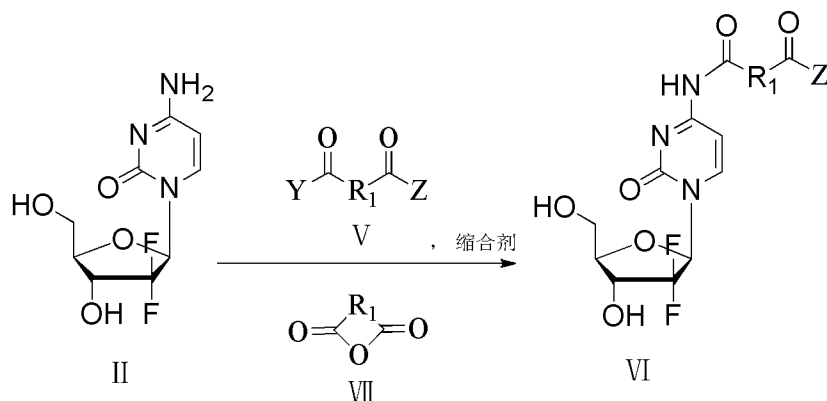
步骤（1）和步骤（2）的反应温度为 0°C 到 150°C ；优选 20°C - 120°C 。

步骤（1）和步骤（2）的缩合剂为 1-羟基苯并三唑、1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑、3-羟基-1,2,3-苯并三嗪-4(3H)-酮、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺、N,N-二环己基碳二亚胺、N,N-二异丙基碳二亚胺中的一种或几种；优选 1-羟基苯并三唑、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺中的一种或其组合；

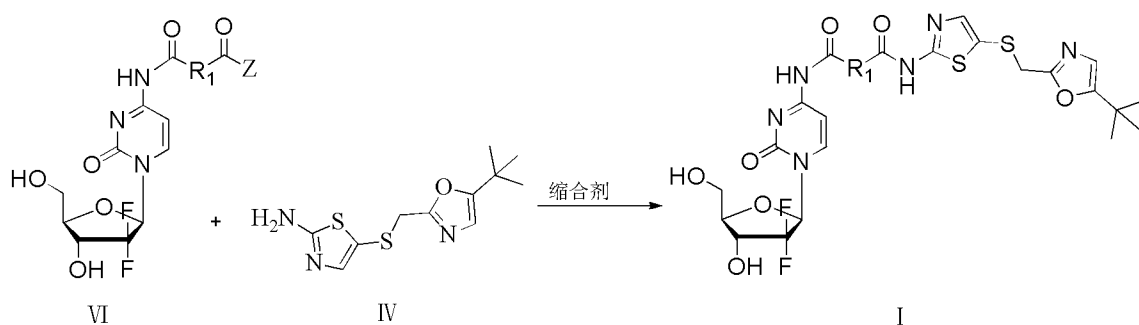
步骤（1）和步骤（2）的反应溶剂为苯、甲苯、氯仿、正己烷、环己烷、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、甲基叔丁基醚、四氯化碳、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯、甲醇、乙醇、丙酮、四氢呋喃、乙醚、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种。

本发明还提供了另一种制备吉西他滨衍生物的方法，包括如下步骤：

（1）在缩合剂存在下，使式 II 化合物与式 V 化合物或式 VII 化合物混合，经酰胺化反应后得到式 VI 的中间产物，条件是，当式 II 化合物与式 VII 化合物反应时，所得的式 VI 化合物中 Z 为 OH。反应式如下：



(2) 在缩合剂存在下, 使中间产物VI与式IV的化合物混合, 经酰胺化反应后得到式I的目标产物, 反应式如下:



其中, Y、Z 各自独立地代表-OH、-F、-Cl、-Br 或-I;

R_1 选自未取代或取代的 C_{1-10} 烷基、未取代或取代的 C_{2-10} 烯基、未取代或取代的 C_{2-10} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基, 其中, 所述的取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基羰基、-NH-中的一种或几种; 或者 R_1 是任选取代的芳基, 其中所述的取代基选自氢、羟基、羧基、硝基、卤原子、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基中的一种或几种;

步骤(1)和步骤(2)的反应温度为 0°C 到 150°C ; 优选 20°C – 120°C 。

步骤(1)和步骤(2)的缩合剂为 1-羟基苯并三唑、1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑、3-羟基-1,2,3-苯并三嗪-4(3H)-酮、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺、N,N-二环己基碳酰二亚胺、N,N-二异丙基碳酰二亚胺中的一种或几种; 优选 1-羟基苯并三唑、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺中的一种或其组合;

步骤(1)和步骤(2)的反应溶剂为苯、甲苯、氯仿、正己烷、环己烷、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、甲基叔丁基醚、四氯化碳、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯、甲醇、乙醇、丙酮、四氢呋喃、乙醚、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种。

在一个实施方案中, 步骤(1)和步骤(2)的缩合剂为 1-羟基苯并三唑、1-

乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺中的一种或其组合；步骤（1）中反应溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺，步骤（2）中反应溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或其组合。

上述两种制备方法中所涉及的式 VII 化合物，可以通过市售获得，例如，可购自阿法埃莎（Alfa Aesar）。所述的式 VII 化合物还可以自行制备得到，制备方法如下：将适量的二 C₁₋₆ 烷氧基羰基类化合物溶解于乙酸酐中，升温回流 4 小时，浓缩反应液后，在浓缩液中加入适量二甲苯，浓缩干燥即得。

本发明还提供了一种药物组合物，它包含药物有效量的通式 I 的吉西他滨衍生物以及药学上可接受的赋形剂或添加剂。药物组合物的形式可以是常用制剂形式。

本发明还提供了式 I 化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

在一个实施方案中，所述的肿瘤为耐药肿瘤。术语“肿瘤耐药”是指：抗肿瘤药物直接或间接治疗无效或原先有效的药物用于治疗肿瘤复发或转移病症无效。

具体而言，本发明式 I 化合物主要是用于制备治疗因肿瘤细胞对细胞毒药物、靶向小分子药物、大分子抗体类及免疫调节剂类抗肿瘤药物产生的肿瘤耐药疾患的药物。

进一步的是，本发明还提供了通式结构 I 的吉西他滨衍生物作为前药在制备抗肿瘤药物中的应用。即，本发明所提供的吉西他滨衍生物，可通过前药的方式经口服途径给药用于吉西他滨适应症相关的肿瘤治疗。

本发明还提供了一种治疗肿瘤的方法，包括对需要的对象给予本发明的式（I）化合物。

在一个实施方案中，所述的肿瘤为耐药肿瘤。

本发明进一步提供了一种治疗因肿瘤细胞对细胞毒药物、靶向小分子药物、大分子抗体类及免疫调节剂类抗肿瘤药物产生的肿瘤耐药疾患的方法，包括对需要的对象给予本发明的式（I）化合物。

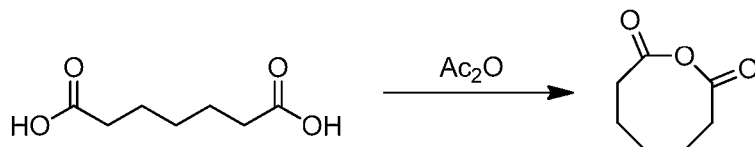
本发明以吉西他滨为先导化合物，通过对其结构修饰，得到了一系列结构新颖的化合物，并对这些化合物进行活性筛选，发现多数化合物具有显著的抗肿瘤活性，而且抑制耐药肿瘤细胞活性的作用远优于吉西他滨，毒性也极低，效果惊人。

总之，本发明的化合物结构设计合理，优化筛选的化合物兼具 CDK 抑制和 DNA 合成抑制的双靶点作用机制，制备原料来源广泛易获取，制备方法简便易操作，反应条件温和，产物的收率高，利于工业化规模生产。

具体实施方式

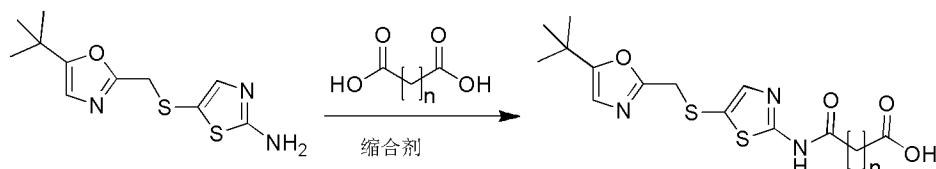
下面结合具体实施例对本发明进行进一步说明，但本发明的保护范围不囿于如下实施例公开的范围，需要说明的是，下述实施例不能作为对本发明保护范围的限制，在本发明基础上做出的任何改进都不违背本发明的精神。

制备例：制备式Ⅶ的化合物（如庚二酸酐）

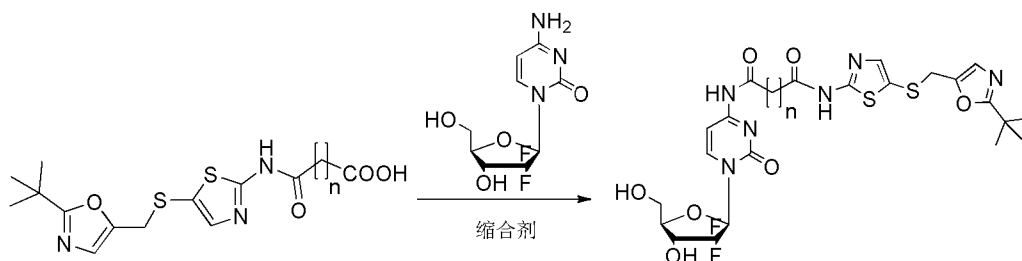


将 3.2 g 庚二酸溶解于 65 mL 乙酸酐中，升温回流 4 小时，将反应液浓缩，向浓缩液中加入二甲苯 20 mL，浓缩至干，定量得到粉色固体。

本发明中，编号为 GI-01 到 GI-03 的化合物，可以通过如下反应路线合成：
步骤 1：



步骤 2：



其中，n 为 0 或 1 或 2

实施例 1：制备编号为 GI-01 的化合物

步骤 1：将 5-(((5-叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-胺 (1.35 g, 9.5 毫摩尔, 1.1 当量)、乙二酸 (0.774 g, 8.6 毫摩尔, 1 当量)、1-羟基苯并三唑一水合物 (1.46 g, 9.5 毫摩尔)、N-甲基吗啉 (0.961 g, 9.5 毫摩尔) 溶解于 15 mL N,N-二甲基甲酰胺中，加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (2.154 g, 11.2 毫摩尔, 1.3 当量)，氮气保护，室温搅拌 2 小时。向反应液中加入 40 mL 饱和食盐水淬灭反应，二氯甲烷 (50 mL×5) 萃取，合并有机层，无水硫酸钠干燥，浓缩，硅胶柱层析 (石油醚:乙酸乙酯 = 10:1 到 2:1) 得 1.41 g 白色固体，7-((5-(((2-叔丁基)氧杂唑-5-基)甲基)硫)噻唑-2-基)氨基-7-氧代乙酸，收率 82%。

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): 7.27(s, 1H), 6.61(s, 1H), 3.89(s, 2H), 1.26(s,

9H). HRMS (ESI) $[\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2\text{-H}]^+$ 的计算值: 342.4133, 测定值: 342.4129.

步骤 2: 将 7-((5-(((2-叔丁基)氧杂唑-5-基)甲基)硫)噻唑-2-基)胺基-7-氧代乙酸 (1.50 g, 4.4 毫摩尔, 1 当量)、吉西他滨 (1.32 g, 4.4 毫摩尔, 1 当量)、1-羟基苯并三唑一水合物 (0.674 g, 4.4 毫摩尔)、N-甲基吗啉 (0.445 g, 4.4 毫摩尔) 溶解于 6 mL N,N-二甲基甲酰胺/二甲基亚砷 (3:1) 的混合溶剂中, 加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (1.096 g, 5.7 毫摩尔, 1.3 当量), 氩气保护, 升温至 55°C, 搅拌 19 小时。向反应液中加入 20 mL 饱和食盐水淬灭反应, 二氯甲烷(50 mL×5)萃取, 合并有机层, 依次饱和碳酸钠水溶液、水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析 (二氯甲烷:甲醇 = 50:1 到 10:1) 得 712 mg 的 GI-01 化合物, 为白色固体, 收率 27%。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 12.29(s, 1H), 10.88(s, 1H), 8.23(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.34(s, 1H), 7.26(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.70(s, 1H), 6.31(d, $J=6.4$ Hz, 1H), 6.19(t, $J=7.3$, 1H), 5.31(t, $J=5.2$, 1H), 4.18(m, 1H), 4.09(s, 2H), 3.91(d, $J=8.2$, 1H), 3.82(d, br, 1H), 3.65(m, 1H), 1.33(s, 9H). HRMS (ESI) $[\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2\text{-H}]^+$ 计算值: 587.5962, 测定值: 587.5960。

实施例 2: 制备编号为 GI-02 的化合物

按实施例 1 的方法制备标题化合物, 但步骤 1 中以丙二酸为原料替换乙二酸, TLC 跟踪反应至终点, 得淡黄色固体即为编号 GI-02 的化合物。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 12.24(s, 1H), 10.93(s, 1H), 8.25(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.36(s, 1H), 7.23(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.77(s, 1H), 6.33(d, $J=6.4$ Hz, 1H), 6.16(t, $J=7.3$, 1H), 5.31(t, $J=5.2$, 1H), 4.13(m, 1H), 4.02(s, 2H), 3.91(d, $J=8.2$, 1H), 3.84(d, br, 1H), 3.66(m, 1H), 1.28(s, 2H), 1.34(s, 9H). HRMS (ESI) $[\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2\text{-H}]^+$ 计算值: 601.6227, 测定值: 601.6230。

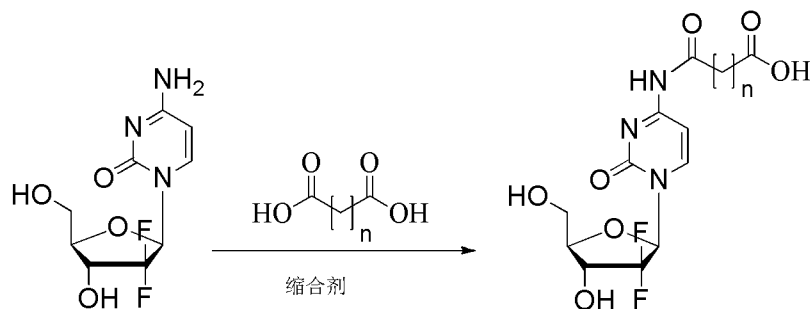
实施例 3: 制备编号为 GI-03 的化合物

按照实施例 1 的方法制备标题化合物, 但步骤 1 中以丁二酸为原料替换乙二酸, TLC 跟踪反应至终点, 得淡黄色固体即为编号 GI-03 的化合物。

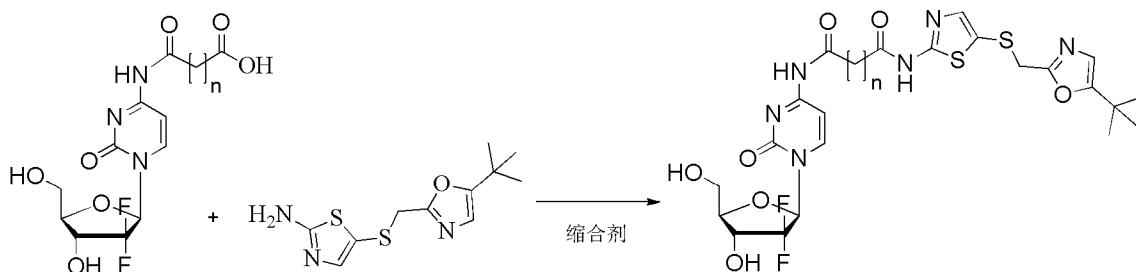
^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 12.25(s, 1H), 10.91(s, 1H), 8.22(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.33(s, 1H), 7.21(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.79(s, 1H), 6.32(d, $J=6.4$ Hz, 1H), 6.15(t, $J=7.3$, 1H), 5.38(t, $J=5.2$, 1H), 4.12(m, 1H), 4.12(s, 2H), 3.81(d, $J=8.2$, 1H), 3.85(d, br, 1H), 3.69(m, 1H), 1.28(m, 4H), 1.34(s, 9H). HRMS (ESI) $[\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2\text{-H}]^+$ 计算值: 615.6493, 测定值: 615.6499。

本发明中, 编号为 GI-04 和 GI-05 的化合物, 可以通过如下反应路线合成:

步骤 1:



步骤 2:



其中 n 为 3 或 4

实施例 4: 制备编号为 GI-04 的化合物

步骤 1: 将戊二酸 (0.32 g, 2.42 毫摩尔, 1.1 当量)、吉西他滨 (0.66 g, 2.2 毫摩尔, 1 当量)、1-羟基苯并三唑一水合物 (0.337 g, 2.2 毫摩尔)、N-甲基吗啉 (0.223 g, 2.2 毫摩尔) 溶解于 4 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.548 g, 2.8 毫摩尔, 1.3 当量), 氮气保护, 室温搅拌 3 小时。向反应液中加入 20 mL 饱和食盐水淬灭反应, 二氯甲烷 (10 mL×5) 萃取, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1 到 2:1) 得 0.89 g 白色固体, 5-((1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)氨基)-5-氧代戊酸, 收率 94%。

HRMS (ESI) [C₁₄H₁₇F₂N₃O₇-H]⁺ 计算值: 378.3049, 测定值: 378.3055。

步骤 2: 将 5-((1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)氨基)-5-氧代戊酸 (1.51 g, 4 毫摩尔, 1.0 当量)、5-(((5-叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-胺 (1.08 g, 4 毫摩尔, 1.0 当量)、1-羟基苯并三唑一水合物 (0.613 g, 4.0 毫摩尔)、N-甲基吗啉 (0.404 g, 4.0 毫摩尔) 溶解于 6 mL N,N-二甲基甲酰胺/二甲基亚砜 (3:1) 的混合溶剂中, 加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (1.00 g, 5.2 毫摩尔, 1.3 当量), 氮气保护, 升温至 55℃, 搅拌 16 小时。向反应液中加入 20 mL 饱和食盐水淬灭反应, 二氯甲烷 (50 mL×5) 萃取, 合并有机层, 依次饱和碳酸钠水溶液、水、饱和

食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 50:1 到 10:1) 得 811 mg 的标题化合物, 为白色固体, 收率 32%。

HRMS (ESI) $[\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2-\text{H}]^+$ 计算值: 629.6759, 测定值 629.6762。

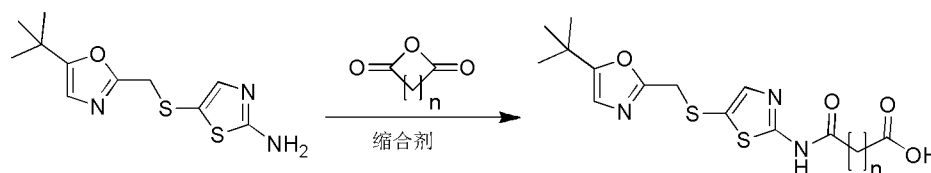
实施例 5: 制备编号为 GI-05 的化合物

按照实施例 4 的方法, 但步骤 1 中以己二酸为原料替换戊二酸, TLC 跟踪反应至终点, 得淡黄色固体即为编号 GI-05 的化合物。

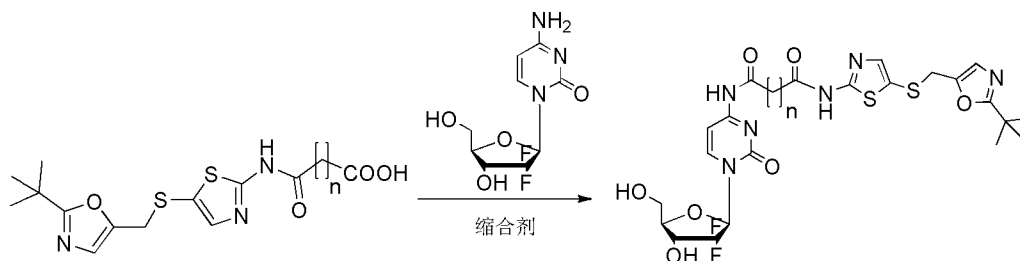
HRMS (ESI) $[\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2-\text{H}]^+$ 计算值: 643.7025, 测定值: 643.7030。

本发明中, 编号为 GI-06 到 GI-07 的化合物, 可以通过如下反应路线合成:

步骤 1:



步骤 2:



其中 n 为 5 或 6

实施例 6: 制备编号为 GI-06 的化合物

步骤 1: 将庚二酸酐 (2.33 g, 8.6 毫摩尔, 1 当量) 和 5-(((5-叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-胺 (1.35 g, 9.5 毫摩尔, 1.1 当量) 溶解于 15 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 升温至 100°C, 16 小时后向反应液中加入 30 mL 水淬灭反应液, 乙酸乙酯 (50 mL × 4) 萃取, 合并有机层, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1 到 2:1) 得 1.8 g 淡黄色固体, 7-((5-(((2-叔丁基)氧杂唑-5-基)甲基)硫)噻唑-2-基)胺基-7-氧代庚酸, 收率 51%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): 7.25(s, 1H), 6.60(s, 1H), 3.96(s, 2H), 2.50(五重峰, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.38(t, $J=7.2$ Hz, 1H), 2.09(s, 2H), 1.79(五重峰, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.69(五重峰, $J=8.1$ Hz, 1H), 1.46(五重峰, $J=7.0$ Hz, 2H), 1.26(s,

9H)。HRMS (ESI) $[C_{18}H_{25}N_3O_4S_2-H]^-$ 计算值: 410.1214, 测定值: 410.1219。

步骤 2: 将 7-((5-((2-叔丁基)氧杂唑-5-基)甲基)硫)噻唑-2-基)胺基-7-氧代庚酸 (1.815 g, 4.4 毫摩尔, 1 当量)、吉西他滨 (1.32 g, 4.4 毫摩尔, 1 当量)、1-羟基苯并三唑一水合物 (0.674 g, 4.4 毫摩尔)、N-甲基吗啉 (0.445 g, 4.4 毫摩尔) 溶解于 6 mL N,N-二甲基甲酰胺/二甲基亚砜 (3:1) 的混合溶剂中, 加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (1.096 g, 5.7 毫摩尔, 1.3 当量), 氩气保护, 升温至 55°C, 搅拌 19 小时。向反应液中加入 20 mL 饱和食盐水淬灭反应, 二氯甲烷 (50 mL×5) 萃取, 合并有机层, 依次饱和碳酸钠水溶液、水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 50:1 到 10:1) 得 608 mg 的标题化合物, 为白色固体, 收率 21%。

1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 12.20(s, 1H), 10.98(s, 1H), 8.25(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.38(s, 1H), 7.29(d, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.71(s, 1H), 6.32(d, $J=6.4$ Hz, 1H), 6.18(t, $J=7.3$, 1H), 5.30(t, $J=5.2$, 1H), 4.17(m, 1H), 4.06(s, 2H), 3.90(d, $J=8.2$, 1H), 3.82(d, br, 1H), 3.66(m, 1H), 2.42(t, $J=7.1$ Hz, 4H), 1.58(m, 4H), 1.28(m, 2H), 1.3(s, 9H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75MHz): 174.42, 171.98, 163.33, 161.67, 161.32, 159.17, 154.68, 145.48, 145.16, 123.45, 120.51, 118.97, 96.40, 81.54, 69.17, 68.89, 68.56, 59.27, 36.69, 35.06, 34.44, 31.36, 28.74, 28.36, 24.84, 24.48。LC-MS(Q-TOF, 100 μ g/mL) m/z $[M+H]^+$ 测定值: 657.19635。

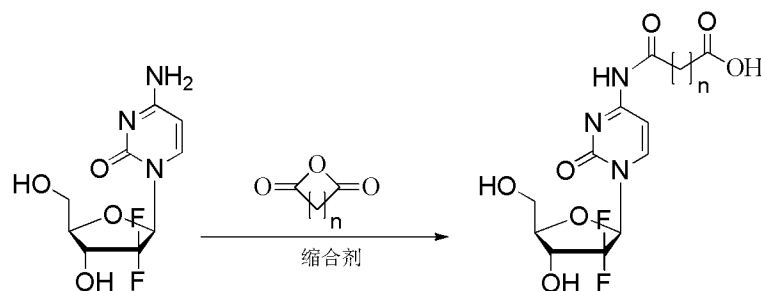
实施例 7: 制备编号为 GI-07 的化合物

按照实施例 6 的方法制备, 但步骤 1 中以辛二酸为原料替换庚二酸, TLC 跟踪反应至终点, 得白色固体即为编号 GI-07 的化合物。

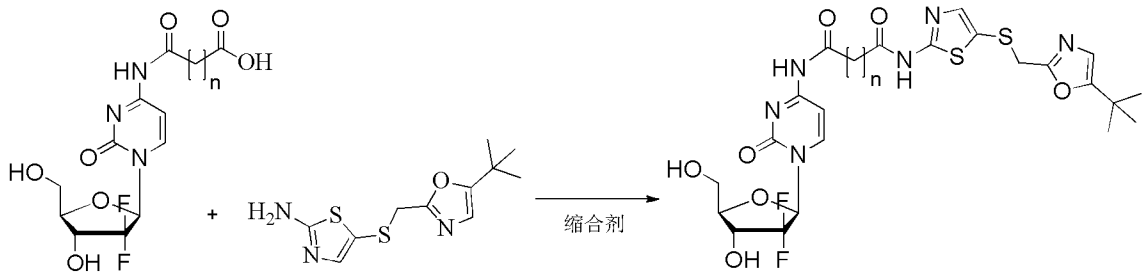
HRMS (ESI) $[C_{28}H_{36}F_2N_6O_7S_2-H]^+$ 的计算值: 671.7556, 测定值: 671.7560。

本发明中, 编号为 GI-08 到 GI-09 的化合物, 可以通过如下反应路线合成:

步骤 1:



步骤 2:



其中, n 为 7 或 8。

实施例 8: 制备编号为 GI-08 的化合物

步骤 1: 将壬二酸酐 (0.376 g, 2.0 毫摩尔, 1 当量)、吉西他滨 (0.66 g, 2.2 毫摩尔, 1.1 当量) 溶解于 15 mL N,N -二甲基甲酰胺中, 升温至 100°C , 19 小时后向反应液中加入 30 mL 水淬灭反应液, 乙酸乙酯 (50 mL $\times$ 4) 萃取, 合并有机层, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1 ~ 2:1) 得 796 mg 淡黄色固体, 5-((1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)氨基)-5-氧代壬酸, 收率 91%。

HRMS (ESI) $[\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_7\text{-H}]^+$ 计算值: 434.4112, 测定值: 434.4120。

步骤 2: 制备方法同实施例 4 中步骤 2, 以 5-((1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)氨基)-5-氧代壬酸为原料替换 5-((1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)氨基)-5-氧代戊酸, TLC 跟踪反应至终点, 得白色固体即为编号 GI-08 的化合物。

HRMS (ESI) $[\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2\text{-H}]^+$ 计算值: 685.7822, 测定值: 685.7830。

实施例 9: 制备编号为 GI-09 的化合物

本实施例的制备方法同实施例 8, 步骤 1 中以癸二酸为原料替换壬二酸, TLC 跟踪反应至终点, 得淡黄色固体即为编号 GI-09 的化合物。

HRMS (ESI) $[\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_2\text{-H}]^+$ 计算值: 699.8088, 测定值: 699.8090。

实施例 10: 吉西他滨及其衍生物对肿瘤耐药细胞株的细胞毒活性的影响试验

实验目的: 对比吉西他滨衍生物 (本发明实施例 1-9 的化合物) 与吉西他滨 (公知化合物, 下表中为“对比例”) 对肿瘤耐药细胞株的细胞毒活性差异。

材料及方法: 人乳腺癌阿霉素耐药细胞株 MCF-7-ADR 培养于含 5% 胎牛血清的 1640 培养基中; 吉西他滨及衍生物 GI-06 溶解于 DMSO 中, -20°C 冻存, 临用前以

含 5%胎牛血清的 1640 培养基稀释至相应浓度, DMSO 终浓度为 0.5%; 活性测试: 取处于对数生长阶段的 MCF-7-ADR 细胞, 按 3×10^3 每孔接种于 96 孔培养板, 孵育 24 小时后更换培养液, 加入不同浓度的供试品溶液, 对照组加入含 0.5%的 DMSO 培养液, 继续孵育 48 小时后, MTT 法测定细胞活性。抑制率 (%) = $(1 - (\text{空白对照组的吸光度} - \text{给药组的吸光度}) / \text{空白对照组的吸光度}) \times 100\%$; IC₅₀ 的计算方法: 采用 Bliss 法。

实验结果: 见表 1

表 1 吉西他滨及其衍生物对耐药肿瘤细胞活性的影响

	样品名	MCF-7-ADR (IC ₅₀ μ M)
对比例	吉西他滨	>10
实施例 1	GI-01	5.56
实施例 2	GI-02	4.77
实施例 3	GI-03	6.13
实施例 4	GI-04	3.15
实施例 5	GI-05	2.46
实施例 6	GI-06	1.38
实施例 7	GI-07	3.55
实施例 8	GI-08	3.29
实施例 9	GI-09	2.66

从表 1 可以看出, 相对于吉西他滨, 本发明提供的编号 GI-01 到 GI-09 的吉西他滨衍生物对人乳腺癌耐药细胞株 MCF-7-ADR 的增殖抑制活性明显增强; 尤其是编号 GI-06 的化合物, 抗肿瘤活性最强。

实施例 11: 测试化合物对 HCT-116 结肠癌裸小鼠皮下移植瘤生长影响的实验研究

实验目的: 四个化合物对 HCT-116 结肠癌裸小鼠皮下移植瘤生长的影响

材料及方法:

供试样品: GI-04、GI-05、GI-06、GI-09;

阳性对照: 盐酸吉西他滨。

实验动物: 裸小鼠, 雌性, 4-5 周龄, 60 只

细胞株：HCT-116 结肠癌细胞。

造 模：实验前采用细胞悬液接种法接种 5 只种鼠，经裸鼠体内传代 4 次后，采用肿瘤块插块法接种皮下造模。

分 组：造模至肿瘤体积生长至 100mm^3 左右，选取符合标准的裸小鼠随机分为 6 组，分别为溶剂对照组、盐酸吉西他滨组，GI-04、GI-05、GI-06、GI-09。

给药剂量：对照药盐酸吉西他滨给药剂量为 160mg/kg ；GI-04、GI-05、GI-09 组给药剂量为 15mg/kg ；GI-06 高剂量组给药剂量为 15mg/kg ，GI-06 中剂量组给药剂量为 10mg/kg ，GI-06 低剂量组给药剂量为 5mg/kg ，“溶剂对照”给予 GI-06 的对应溶剂（0.1%吐温 80 加 0.9%羟丙甲基纤维素水溶液）。

给药途径：盐酸吉西他滨采用腹腔注射给药，其余各组采用口服灌胃给药。

给药体积： $0.1\text{ml} / 10\text{g}$

给药频率：盐酸吉西他滨第一周给药 2 次(D1 和 D4)，共给药 2 次；GI-04、GI-05、GI-09 组每周连续给药 5 天，停药 2 天，共给药 10 次；GI-06 高剂量组每周连续给药 5 天，停药 2 天，共给药 10 次。GI-06 中剂量组第一周给药 7 天，第二周由于动物状态原因给药 5 天，共给药 12 次。GI-06 低剂量给药频率与 GI-06 中剂量组相同。

观察时间：给药开始后连续观察 15 日，每周测量肿瘤体积 2 次。第 15 天停止给药。

统计方法：Excel 统计软件包，单因素方差分析法。

实验结果：见表 2

表 2、测试化合物对 HCT-116 结肠癌裸小鼠移植瘤生长影响的实验研究

组别	动物数 (只)		体重 (g)		瘤体积 (mm ³)			T/C (%)		动物死亡时 间
	D 1	D15	D 1	D15	D 1	D15	D15	D15	D15	
溶剂对照	6	6	19.5±1.1	18.7±1.0	95.08±16.21	1664.30±355.06		/		/
盐酸吉西他 滨	5	5	19.5±0.8	20.0±1.5	97.89±10.39	99.90±55.92☆		5.83		/
GI-06 低剂量	5	5	19.4±1.0	17.2±0.8*	93.82±30.42	451.72±214.92 ☆		27.50		/
GI-06 中剂量	5	5	18.9±0.7	17.5±1.1	97.09±15.71	222.43±113.48 ☆		13.09		/
GI-06 高剂量	6	4	19.4±0.6	18.0±1.5	94.08±11.32	208.14±80.53☆		12.64		D7、D8
GI-04	5	5	19.2±1.0	19.9±1.2	94.55±22.52	1008.78±174.29		60.9		/
GI-05	5	4	18.9±0.9	18.1±1.2	95.18±17.56	935.14±130.33		56.14		D8
GI-09	5	5	19.3±1.1	18.6±1.4	95.69±25.47	724.50±158.19		43.26		/

注：* $p<0.05$ ；☆ $p<0.01$ 。

实验结果显示四个化合物中 GI-06 在 5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg 对 HCT-116 结肠癌裸鼠移植瘤均具有显著性抑制肿瘤生长作用，T/C 分别为 27%、13%和 12%，而对照药盐酸吉西他滨采用腹腔注射 160mg/kg，给药 2 次后也有显著生长抑制作用，T/C 为 5.8%。

本次实验结果显示即使低剂量组 5mg/kg，采用连续给药的方式也能获得较好的抑制肿瘤生长的作用，提示下批实验还可以再降低剂量，以获得最低起效剂量。

实施例 12：GI-06 化合物对 A2780 卵巢癌裸小鼠皮下移植瘤生长影响的实验研究

实验目的：GI-06 化合物对 A2780 卵巢癌裸小鼠皮下移植瘤生长的影响。

材料和方法：

供试样品：GI-06；阳性对照：盐酸吉西他滨

实验动物：裸小鼠，雌性，4-5 周龄，40 只。

细胞株：A2780 卵巢癌细胞购于上海细胞所。

造模：实验前采用细胞悬液接种法接种 5 只种鼠，并经裸鼠体内传代 2 次后，采用肿瘤块插块法接种皮下造模。

分组：造模至肿瘤体积生长至 100mm³左右，选取符合标准的裸小鼠随机分为 5 组，分别为溶剂对照组（溶剂对照）、盐酸吉西他滨组，GI-06 高、中、低 三个剂量组，每组 6 只动物。

给药剂量：对照药盐酸吉西他滨给药剂量为 160mg/kg，GI-06 高剂量组给药剂量为 12mg/kg，GI-06 中剂量组给药剂量为 8mg/kg，GI-06 低剂量组给药剂量为 4mg/kg，“溶剂对照”给予 GI-06 的对应溶剂（0.1%吐温 80 加 0.9%羟丙甲基纤维素水溶液）。

给药途径：盐酸吉西他滨采用腹腔注射给药，其余各组采用口服灌胃给药。

给药体积：0.1ml / 10g

给药频率：盐酸吉西他滨分别于第一、三周给药 2 次（D1、D4、D15、D18），共给药 4 次；GI-06 各剂量组每天给药 1 次，共给药 21 天。

观察时间：给药开始后连续观察 21 日，每周测量肿瘤体积 2 次。第 22 天处死动物，剥离肿瘤称重。

统计方法：Excel 统计软件包，单因素方差分析法。

实验结果：见表 4

表 4、GI-06 化合物对 A2780 卵巢癌裸小鼠移植瘤生长影响的实验研究

组别	动物数(只)				体重 (g)			瘤体积 (mm3)			T/C (%)		动物死亡 时间
	D 1	D22	D 1	D 22	D 1	D 22	D 1	D 22	D 1	D 22	D 22	D 22	
溶剂对照	6	6	19.5±0.7	25.9±2.3	121.07±54.05	121.07±54.05	121.07±54.05	4535.67±1745.47			/		/
盐酸吉西他滨	6	4	20.3±1.1	22.2±0.9	121.24±36.57	121.24±36.57	121.24±36.57	59.97±72.33 [☆]			1.32		D5、D8
GI-06 低剂量 (4mg/kg)	6	6	19.9±0.7	23.9±1.6	118.63±70.63	118.63±70.63	118.63±70.63	1757.57±1306.74 [☆]			39.55		/
GI-06 中剂量 (8mg/kg)	6	6	19.3±1.0	21.1±0.9	117.15±42.40	117.15±42.40	117.15±42.40	92.38±159.91 [☆]			2.11		/
GI-06 高剂量 (12mg/kg)	6	6	19.1±0.7	20.9±1.1	114.83±27.91	114.83±27.91	114.83±27.91	19.83±35.11 [☆]			0.46		/

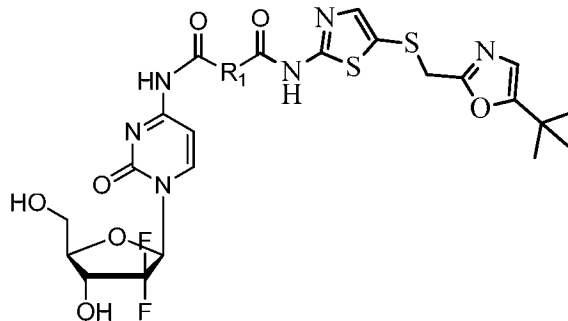
注： [☆] $p<0.01$ 。

实验采用的模型为 A2780 卵巢癌裸鼠移植瘤模型。本次实验结果显示，GI-06 给药 4mg/kg、8mg/kg 以及 12mg/kg 对 A2780 肿瘤生长的抑制作用显著，且呈剂量依赖性，T/C 分别为 39.55%、2.11%和 0.46%。而对照组吉西他滨腹腔注射组 T/C 为 1.32%。本次实验的 3 个剂量组连续给药未出现明显的毒性，对动物体重无影响。

5

权 利 要 求

1. 一种化合物，它具有如下结构通式 I：



I

式中

R_1 选自未取代或取代的 C_{1-10} 烷基、未取代或取代的 C_{2-10} 烯基、未取代或取代的 C_{2-10} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基，其中所述的取代基选自卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基羰基和 $-NH-$ 中的一种或几种；

或者 R_1 为任选取代的芳基，其中所述的取代基选自氢、羟基、羧基、硝基、卤原子、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基中的一种或几种。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述的任选取代的芳基为苯基、苄基或萘基。

3. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R_1 选自未取代或取代的 C_{3-10} 烷基、未取代或取代的 C_{3-10} 烯基、未取代或取代的 C_{3-10} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基，或是任选取代的选自苯基、苄基或萘基的芳基；其中，所述的取代基为卤原子、氰基、硝基、氨基、三氟甲基、巯基、羟基、羧基、羰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基羰基、 $-NH-$ 中的一种或几种。

4. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述的卤原子为 F、Cl、Br 或 I。

5. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 R_1 选自未取代或取代的 C_{4-9} 烷基、未取代或取代的 C_{4-9} 烯基、未取代或取代的 C_{4-9} 炔基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷基、未取代或取代的 C_{3-7} 环烷氧基；所述取代基选自 F 和 Cl。

6. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述的化合物选自下组：

N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)草酰胺；

N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)丙二酰胺;

5 N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)琥珀酰胺;

N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)戊二酰胺;

10 N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)己二酰胺;

15 N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)庚二酰胺;

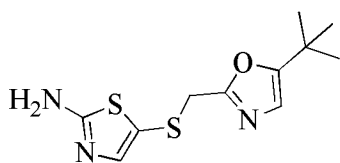
N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)辛二酰胺;

20 N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)壬二酰胺; 和

N-(5-(((5-(叔丁基)氧杂唑-2-基)甲基)硫)噻唑-2-基)-N'-(1-((2R, 4R, 5R)-3, 3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧-1, 2-二氢嘧啶-4-基)癸二酰胺。

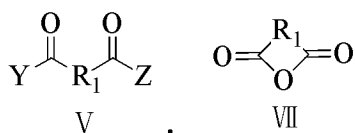
25 7. 一种制备如权利要求 1—5 任一所述化合物的方法, 包括如下步骤:

(1) 在缩合剂存在下, 将下式IV的化合物

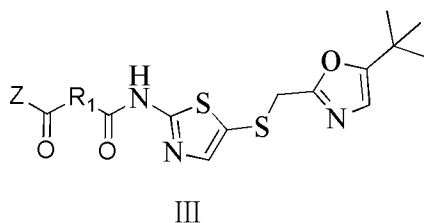


IV

与式V或式VII的化合物混合,

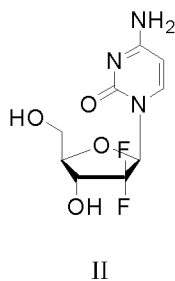


经酰胺化反应后得到式III的中间产物，



其中， R_1 、 Y 和 Z 的定义与权利要求 1-5 中任一所述的相同，条件是，当式 IV 化合物与式 VII 化合物反应时，所得的式 III 化合物中 Z 为 OH ；及

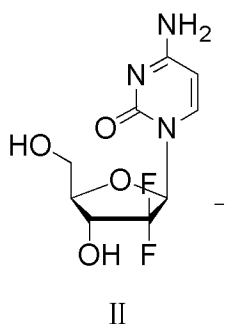
5 (2) 在缩合剂存在下，使步骤 (1) 得到的中间产物 III 与下式 II 化合物混合，



经酰胺化反应后得到权利要求 1-5 任一所述的化合物。

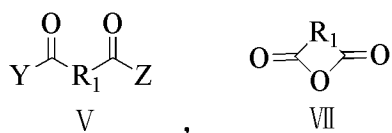
8. 一种制备如权利要求 1-5 任一所述化合物的方法，包括如下步骤：

(1) 在缩合剂存在下，使式 II 化合物

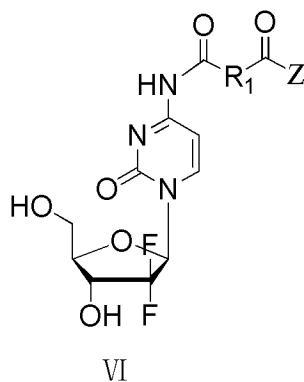


10

与式 V 化合物或式 VII 化合物混合，

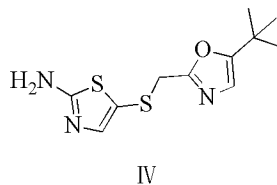


经酰胺化反应后得到式 VI 的中间产物，条件是，当式 II 化合物与式 VII 化合物反应时，所得的式 VI 化合物中 Z 为 OH ；



其中， R_1 、 Y 和 Z 的定义与权利要求 1-5 中任一所述的相同，

(2) 在缩合剂存在下，使步骤 (1) 所得的中间产物 VI 与式 IV 的化合物混合，



5 经酰胺化反应后得到如权利要求 1-5 任一所述的化合物。

9. 如权利要求 7 或 8 所述的方法，其中所述步骤 (1) 和 (2) 在 0℃ 到 150℃ 下进行反应，优选 20℃ 到 120℃。

10. 如权利要求 7 或 8 所述的方法，其中所述的缩合剂为 1-羟基苯并三唑、1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑、3-羟基-1,2,3-苯并三嗪-4(3H)-酮、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺、N,N-二环己基碳酰二亚胺、N,N-二异丙基碳酰二亚胺中的一种或几种。

11. 如权利要求 7 或 8 所述的方法，其中所述步骤 (1) 和步骤 (2) 在选自苯、甲苯、氯仿、正己烷、环己烷、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、甲基叔丁基醚、四氯化碳、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯、甲醇、乙醇、丙酮、四氢呋喃、乙醚、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或几种的溶剂中进行反应。

12. 如权利要求 10 所述的方法，其中所述缩合剂为 1-羟基苯并三唑、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺中的一种或其组合；步骤 (1) 中的反应在 N,N-二甲基甲酰胺中进行，步骤 (2) 的反应在选自 N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中的一种或其组合的溶剂中进行。

13. 一种药物组合物，它包含药物有效量的如权利要求 1-6 任一所述的化合物以及药学上可接受的赋形剂或添加剂。

14. 如权利要求 1-6 任一所述的化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

15. 如权利要求 14 所述的应用，其中所述的肿瘤为耐药肿瘤。

16. 如权利要求 1-6 任一所述的化合物在制备治疗因肿瘤细胞对细胞毒药

物、靶向小分子药物、大分子抗体类及免疫调节剂类抗肿瘤药物产生的肿瘤耐药疾患的药物中的应用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/093005**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C07H 19/073 (2006.01) i; C07H 1/00 (2006.01) i; A61K 31/7068 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H 19/-, A61K 31/-

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

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

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, REG, CAPLUS: oxa azole, gemcitabine, cytidine, pyrimidine, ribose, thiazol, oxazole, structure search according to formula I

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 1693309 A (CHENGDU ZHENGKAI BIOTECH CO., LTD.), 09 November 2005 (09.11.2005), the whole document	1-16
A	CN 101061131 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE et al.), 24 October 2007 (24.10.2007), the whole document	1-16
A	CN 102432654 A (SONG, Yunlong et al.), 02 May 2012 (02.05.2012), the whole document	1-16

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

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

Date of the actual completion of the international search 25 February 2015 (25.02.2015)	Date of mailing of the international search report 09 March 2015 (09.03.2015)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer YANG, Yi Telephone No.: (86-10) 62086352

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2014/093005

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1693309 A	09 November 2005	WO 2006111058 A1	26 October 2006
CN 101061131 A	24 October 2007	DK 1761551 T3	28 November 2011
		US 2010160249 A1	24 June 2010
		US 8044034 B2	25 October 2011
		ES 2372141 T3	16 January 2012
		ES 2371411 T3	02 January 2012
		AT 520703 T	15 September 2011
		US 7704972 B2	27 April 2010
		EP 1925624 A1	28 May 2008
		EP 055711 A1	06 May 2009
		DK 2055711 T3	12 December 2011
		CN 102335436 A	01 February 2012
		CA 2572380 A1	31 August 2006
		JP 2012102107 A	31 May 2012
		EP 1761551 B1	10 August 2011
		US 2009130214 A1	21 May 2009
		CA 2572380 C	19 November 2013
		CN 102335436 B	08 October 2014
		FR 2874016 B1	24 November 2006
		JP 2008504353 A	14 February 2008
		CN 101061131 B	05 October 2011
		PT 1761551 E	24 November 2011
		JP 4927726 B2	09 May 2012
		CA 2805761 A1	31 August 2006
		PT 2055711 E	07 December 2011
		WO 2006090029 A1	31 August 2006
		EP 2055711 B1	17 August 2011
		FR 2874016 A1	10 February 2006
		AT 519773 T	15 August 2011
		EP 1761551 A1	14 March 2007
		JP 5552473 B2	16 July 2014
CN 102432654 A	2 May 2012	WO 2013044811 A1	04 April 2013
		US 2014235568 A1	21 August 2014

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2014/093005

A. 主题的分类

C07H 19/073(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i; A61K 31/7068(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07H19/-, A61K31/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, REG, CAPLUS: 吉西他滨, 胞嘧啶, 嘧啶, 核糖, 噻唑, 恶唑, 氧杂唑, gemcitabine, cytidine, pyrimidine, ribose, thiazol, oxazol, 根据式I进行了结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 1693309 A (成都正开生物科技发展有限公司) 2005年 11月 9日 (2005 - 11 - 09) 全文	1-16
A	CN 101061131 A (国家科学研究中心 等) 2007年 10月 24日 (2007 - 10 - 24) 全文	1-16
A	CN 102432654 A (宋云龙 等) 2012年 5月 2日 (2012 - 05 - 02) 全文	1-16

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

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

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

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

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

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

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 2月 25日

国际检索报告邮寄日期

2015年 3月 9日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

授权官员

杨轶

电话号码 (86-10)62086352

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/093005

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	1693309	A	2005年 11月 9日	WO	2006111058	A1	2006年 10月 26日
CN	101061131	A	2007年 10月 24日	DK	1761551	T3	2011年 11月 28日
				US	2010160249	A1	2010年 6月 24日
				US	8044034	B2	2011年 10月 25日
				ES	2372141	T3	2012年 1月 16日
				ES	2371411	T3	2012年 1月 2日
				AT	520703	T	2011年 9月 15日
				US	7704972	B2	2010年 4月 27日
				EP	1925624	A1	2008年 5月 28日
				EP	2055711	A1	2009年 5月 6日
				DK	2055711	T3	2011年 12月 12日
				CN	102335436	A	2012年 2月 1日
				CA	2572380	A1	2006年 8月 31日
				JP	2012102107	A	2012年 5月 31日
				EP	1761551	B1	2011年 8月 10日
				US	2009130214	A1	2009年 5月 21日
				CA	2572380	C	2013年 11月 19日
				CN	102335436	B	2014年 10月 8日
				FR	2874016	B1	2006年 11月 24日
				JP	2008504353	A	2008年 2月 14日
				CN	101061131	B	2011年 10月 5日
				PT	1761551	E	2011年 11月 24日
				JP	4927726	B2	2012年 5月 9日
				CA	2805761	A1	2006年 8月 31日
				PT	2055711	E	2011年 12月 7日
				WO	2006090029	A1	2006年 8月 31日
				EP	2055711	B1	2011年 8月 17日
				FR	2874016	A1	2006年 2月 10日
				AT	519773	T	2011年 8月 15日
				EP	1761551	A1	2007年 3月 14日
				JP	5552473	B2	2014年 7月 16日
CN	102432654	A	2012年 5月 2日	WO	2013044811	A1	2013年 4月 4日
				US	2014235568	A1	2014年 8月 21日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)