



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102725302 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 06

(21) 申请号 201080062516. 9

(22) 申请日 2010. 11. 16

(30) 优先权数据

61/281, 342 2009. 11. 16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 07. 11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/056808 2010. 11. 16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/060408 EN 2011. 05. 19

(73) 专利权人 乔治亚大学研究基金公司

地址 美国佐治亚州

(72) 发明人 钟凯楚 王佳宁

(74) 专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有

限公司 44205

代理人 张海文

(51) Int. Cl.

C07H 19/06(2006. 01)

C07H 19/16(2006. 01)

A61K 31/7064(2006. 01)

A61K 31/7076(2006. 01)

A61P 31/20(2006. 01)

(56) 对比文件

US 2007/0042990 A1, 2007. 02. 22,

CN 1431907 A, 2003. 07. 23,

US 4396623, 1983. 08. 02,

审查员 于治萍

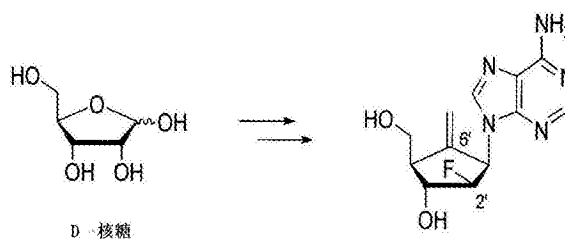
权利要求书4页 说明书33页 附图6页

(54) 发明名称

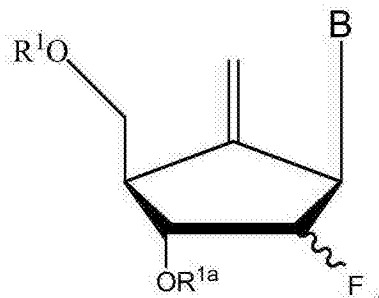
2'-氟-6'-亚甲基碳环核苷和治疗病毒感染的方法

(57) 摘要

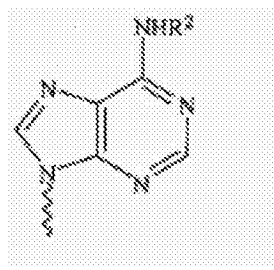
本发明涉及2'-氟-6'-亚甲基碳环核苷, 含有这些核苷的药用组合物, 以及它们在许多病毒感染及其继发疾病状态和情况的治疗或预防中的使用, 这些病毒感染及其继发疾病状态和情况特别包括乙型肝炎病毒(HBV)及其继发性疾病状态和情况(肝硬化和肝癌)、丙型肝炎病毒(HCV)、单纯性疱疹病毒I和II(HSV-1和HSV-2)、巨细胞病毒(CMV)、水痘带状疱疹病毒(VZV)和Epstein Barr(EBV)及其继发性癌症(淋巴瘤、鼻咽癌), 还包括这些病毒的耐药(特别包括拉米夫定(lamivudine)和/或阿德福韦(adeфовir)耐药)和其他这些病毒的突变形式。



1. 一种具有如下结构的核苷化合物：



其中 B 为



R^1 和 R^{1a} 各自独立地为：H、酰基官能团、 C_1 - C_{20} 烷基或醚官能团、D 或 L 氨基酸残基、磷酸盐、二磷酸盐、三磷酸盐、磷酸二酯或磷酰胺官能团或 OR^1 和 OR^{1a} 一起形成碳双酯或磷酸二酯官能团；

R^2 为 H、酰基、 C_1 - C_{20} 烷基或醚官能团或 D 或 L 氨基酸残基；

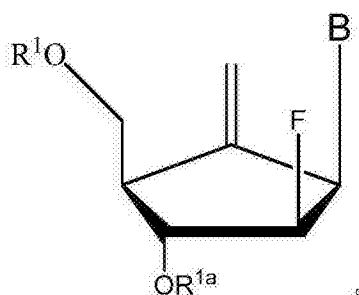
或其药学上可接受的盐或其对映异构体。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 R^{1a} 为 H。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中 R^1 和 R^2 各自独立地为 H 或 C_2 - C_{20} 酰基官能团。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 R^1 为 H 或磷酰胺官能团、 R^{1a} 为 H 以及 R^2 为 H 或 C_2 - C_{20} 酰基官能团。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中，所述化合物用如下化学结构表示：



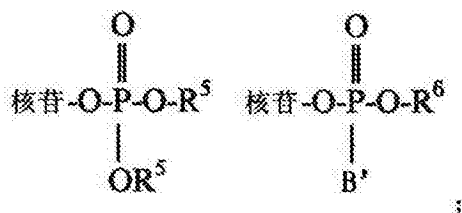
6. 根据权利要求 5 所述的化合物，其中 R^1 、 R^{1a} 和 R^2 各自独立地为 H 或 C_2 - C_{20} 酰基官能团。

7. 根据权利要求 1、5 或 6 中任一项所述的化合物，其中 R^{1a} 为 H， R^1 和 R^2 各自独立地为 H 或 C_2 - C_{20} 酰基官能团。

8. 根据权利要求 1、2 或 5 中任一项所述的化合物，其中 R^1 为磷酰胺官能团、酰基官能团、磷酸盐、磷酸二酯官能团。

9. 根据权利要求 1、2 或 5 中任一项所述的化合物，其中 R^1 和与其连接的核苷形成具有

如下结构的官能团：



其中 R^5 和 R^6 独立地选自 H 、 $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ 线性的或支化的或环状的烷基官能团、烷氧基烷基、芳氧基烷基、芳基、烷氧基或烷氧基羰基氧基官能团，所有这些官能团都可任选取代，限制性条件是至少一个 R^5 官能团不同于 H ，或两个 R^5 官能团一起形成五元或六元杂环官能团；



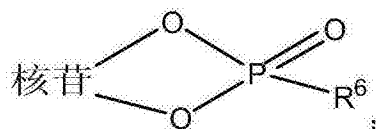
其中 i 为 0、1、2 或 3；

R^7 为 $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ 的线性的、支化的或环状的烷基或酰基、烷氧基烷基、芳氧基烷基或芳基，这些官能团都可任选取代；

R^8 为氨基酸的侧链；和

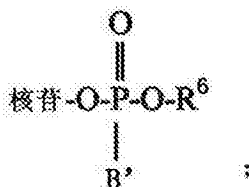
每个 R'' 独立地为 $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ 的线性的、支化的或环状的烷基或苯基或杂芳基官能团，每种官能团都可任选取代。

10. 根据权利要求 1-2 或 5 中任一项所述的化合物，其中 R^1 和 R^{1a} 一起与那些官能团连接的核苷形成如下结构的官能团：

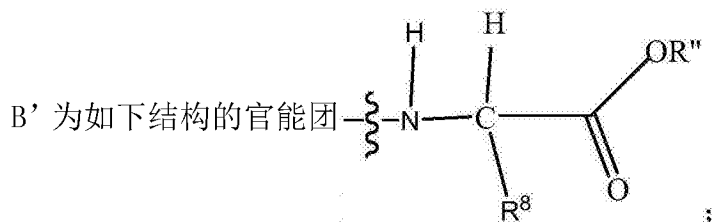


其中 R^6 选自 H 、 $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ 的线性的、支化的或环状的烷基官能团、烷氧基烷基、芳氧基烷基、芳基和烷氧基。

11. 根据权利要求 1-2 或 5 中任一项所述的化合物，其中 R^1 与其连接的核苷一起形成如下结构的官能团：



其中， R^6 是为 $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ 烷基或可任选取代的苯基官能团；

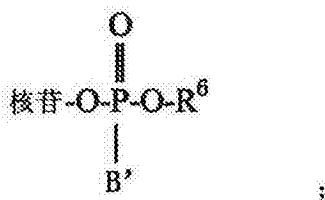


其中 R^8 为 C_1 - C_3 线性的或支化的烷基官能团 ; 和

R'' 为 C_1 - C_{20} 线性的、环状的或支化的烷基官能团或可任选取代的苯基官能团。

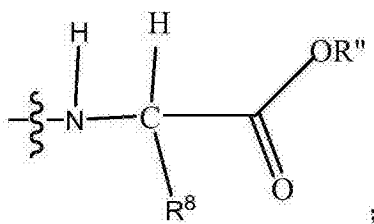
12. 根据权利要求 1 或 5 中任一项所述的化合物, 其中 R^2 和 R^{1a} 各自独立地为 H 或 C_2 - C_{20} 酰基官能团 ;

R^1 , 与其连接的核苷一起为如下结构的官能团 :



其中 R^6 为可任选取代的苯基官能团 ; 和

B' 为如下结构的官能团 :



其中 R^8 为甲基 ; 和

R'' 为 C_1 - C_3 线性的或支化的烷基官能团。

13. 一种药用组合物, 该组合物包含有效量的根据权利要求 1-12 中任一项所述的化合物, 可任选地与药学上可接受的载体、添加剂或赋形剂组合。

14. 根据权利要求 13 所述的药用组合物, 其包含有效量的辅助抗病毒试剂。

15. 根据权利要求 14 所述的组合物, 其中所述辅助抗病毒试剂为阿昔洛韦、泛昔洛韦、更昔洛韦、伐昔洛韦、阿糖腺苷、利巴韦林、带状疱疹 - 免疫球蛋白 (ZIG)、拉米夫定、阿德福韦酯、恩替卡韦、替比夫定、克拉夫定、替诺福韦及其混合物。

16. 根据权利要求 14 所述的组合物, 其中所述辅助抗病毒试剂选自阿德福韦酯、拉米夫定、恩替卡韦、替比夫定、替诺福韦、恩曲他滨、克拉夫定、Valtoricitabine、氨多索韦、普拉德福韦、Racivir、硝唑尼特、Bay41-4109、EHT899、日达仙 (胸腺肽 α -1)、NM 283、VX-950 (特拉匹韦)、SCH 50304、TMC435、VX-500、SCH 503034、ITMN-191 (R7227)、R7128、MK-7009、MK-0608、A-837093、GS 9190, 及其混合物。

17. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中所述辅助抗病毒试剂选自 NM 283、VX-950 (特拉匹韦)、SCH 50304、TMC435、VX-500、SCH503034、ITMN-191 (R7227)、R7128、MK-7009、MK-0608、A-837093、GS 9190 及其混合物。

18. 根据权利要求 13-17 中任一项所述的组合物, 所述组合物还与至少一种抗癌试剂

组合。

19. 根据权利要求 18 所述的组合物,其中所述抗癌试剂选自奥沙利铂、5-氟尿嘧啶、吉西他滨或其混合物。

20. 根据权利要求 18 所述的组合物,其中所述抗癌试剂为抗代谢物、拓扑异构酶 I 或 II 的抑制剂、烷化剂或微管抑制剂。

21. 根据权利要求 18 所述的组合物,其中所述抗癌试剂选自阿地白介素;阿仑单抗;阿利维 A 酸;别嘌呤醇;六甲蜜胺;阿米福汀;阿纳托(司)唑;三氧化二砷;天门冬酰胺酶;卡介苗(BCG Live);蓆萨罗丁胶囊;蓆萨罗丁凝胶;博来霉素;静脉马利兰;口服马利兰;卡鲁唑酮;卡培他滨;卡铂;卡氮芥;卡氮芥与聚苯丙生 20 植入物;塞来考昔;苯丁酸氮芥;顺铂;克拉屈滨;环磷酰胺;阿糖胞苷;阿糖胞苷脂质体;氮烯唑胺;更生霉素;放线菌素 D;阿法达贝泊汀干扰素;柔红霉素脂质体;柔毛霉素,柔红霉素;地尼白介素;右丙亚胺;多西他赛;阿霉素;阿霉素脂质体;丙酸屈他雄酮丙酸酯;埃利奥特 B 溶液;表柔比星;阿法依泊汀雌莫司汀;依托泊苷磷酸酯;依托泊苷(VP-16);依西美坦;非格司亭;氟尿苷;氟达拉滨;氟尿嘧啶(5-FU);氟维司群;吉妥单抗;醋酸戈舍瑞林;羟基脲;替伊莫单抗;伊达比星;异环磷酰胺;甲磺酸伊马替尼;干扰素 α -2a;干扰素 α -2b;伊立替康;来曲唑;亚叶酸;左旋咪唑;洛莫司汀(CCNU);二氯甲基二乙胺(氮芥);醋酸甲地孕酮;美法仑(L-PAM);巯嘌呤(6-MP);巯乙磺酸钠;甲氨喋呤;甲氧沙林;丝裂霉素 C;米托坦;米托蒽醌;正男性酮;若莫单抗;L-0-双脱氧胞嘧啶核苷(L0ddC);奥普瑞白介素;奥沙利铂;紫杉酚;帕米麟酸盐;培加酶;培门冬酶;乙二醇化非格司亭;喷司他丁;溴丙哌嗪;普卡霉素;光辉霉素;吡吩姆钠;甲基苄肼;奎纳克林;拉布立酶;利妥昔单抗;沙莫司亭;链佐星;替比夫定(LDT);滑石粉;它莫昔芬;替莫唑胺;替尼泊苷(VM-26);睾内酯;硫鸟嘌呤(6-TG);塞替派;拓扑替康;托瑞米芬;托西莫单抗;曲妥单抗;维甲酸(ATRA);乌拉莫司汀;戊柔比星;伐托他滨(monoval LDC);长春花碱;长春瑞滨;唑来膦酸;及其混合物。

22. 根据权利要求 13-17 任一项的组合物在制备治疗乙型肝炎病毒(HBV)所致病毒感染的药物中的用途。

23. 根据权利要求 22 所述的用途,其中所述 HBV 为 HBV 的耐药菌株。

24. 根据权利要求 23 所述的用途,其中所述 HBV 菌株为 rtM204V、rtM204I、rtL180M、rtLM/rtMV 或 rtN236T。

25. 根据权利要求 23 所述的用途,其中所述 HBV 抗拉米夫定和/或阿德福韦。

26. 根据权利要求 13-17 任一项的组合物在制备用于降低有风险的患者体内的乙型肝炎病毒(HBV)所致病毒感染可能性的药物中的用途。

27. 根据权利要求 13-21 任一项的组合物在制备治疗需要治疗的患者体内的继发于 HBV 感染的肝纤维化、肝硬化或癌症的药物中的用途。

28. 根据权利要求 27 所述的用途,其中所述癌症为肝细胞癌。

29. 根据权利要求 13-17 任一项的组合物在制备降低患者体内 HBV 感染恶化为继发于所述感染的肝纤维化、肝硬化或肝癌的可能性的药物中的用途。

30. 根据权利要求 29 所述的用途,其中所述组合物与至少一种抗癌试剂联合施用。

2'-氟-6'-亚甲基碳环核苷和治疗病毒感染的方法

[0001] 优先权和政府权利要求

[0002] 本申请要求于 2009 年 11 月 16 日提交的题为“2'-氟-6'-亚甲基碳环核苷和治疗病毒感染的方法”的 61/281,342 号美国临时申请的优先权益,该申请整体内容作为参考并入本文中。

[0003] 本专利申请的工作由国家过敏研究所(the National Institute of Allergy)的美国公共健康研究授权(U.S.Public Health Search Grant)第 AI25899 号支持。因此,该政府保留本发明的某些权利。

技术领域

[0004] 本发明涉及 2'-氟-6'-亚甲基碳环核苷,含有这些核苷的药用组合物及它们在对许多病毒感染及继发疾病状态和情况的治疗或预防中的使用,其中包括乙型肝炎病毒(HBV)及其继发疾病状态和情况(肝硬化和肝癌),包括肝癌、丙型肝炎病毒(HCV)、单纯疱疹病毒 I 和 II(HSV-1 和 HSV-2)、细胞巨化病毒(CMV)、水痘一带状疱疹病毒(VZV)和 Epstein Barr 病毒(EBV),还包括这些病毒的耐药(特别包括拉米夫定(lamivudine)和/或阿德福韦(adeфовir)耐药)及其它突变形式。2'-氟-6'-亚甲基碳环腺苷(FMCA,化合物 15 或 18)及其单磷酸盐前药(磷酸胺(phosphoamidate),化合物 15P)表现极好的对抗 HBV 活性,及特别的,HBV 耐药性,特别是抗 HBV 抑制剂拉米夫定和/或阿德福韦的 HBV 耐药菌株。特别是没有预期到,这种前药形式对 HBV 耐药特别有效。

背景技术

[0005] 乙型肝炎病毒(HBV)感染是全球主要健康问题之一。¹尽管大多数成年人体内的原发性 HBV 感染是自限性的,但 3-5% 的该感染没有消退,发展为慢性感染,该比率在感染 HBV 的婴幼儿中更高。²全世界慢性乙型肝炎(CHB)携带者的估计数字约为 3.5-4 亿,每年死于肝硬化、肝衰竭和肝细胞癌者超过一百万人。

[0006] 当前可用于治疗 HBV 感染的试剂分为两种主要类别:免疫调节剂和核苷/核苷酸类似物。虽然代表性免疫调节剂:INF α 的疗效已为大量研究所证实,但 INF α 的临床应用一直为低总有效率、副作用和高成本所累。^{3,4}核苷/核苷酸类似物在抗 HBV 治疗方面依然占优势。目前至少有六种核苷/核苷酸用于临床,包括拉米夫定(lamivudine)(Epivir-HBV[®], GlaxoSmithKline)、阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil)(Hepsera[®], Gilead)、恩替卡韦(entecavir)(Baraclude[®], Bristol-Myers Squibb)、替比夫定(telbivudine)(Tyzeka[®], Idenix/Novartis)、克拉夫定(clevudine)(韩国的 levovir[®], 美国 III 阶段, Bukwang/Pharmasset)和最近的泰诺福韦(tenоfovir)(Viread[®], Gilead)(见图 1)。这些试剂显著地将 HBV DNA 的复制抑制至尽可能低的水平,由此产生了良好的临床效果,并预防了进一步的肝后遗症。实际上,这些口服核苷/核苷酸的引入是抗 HBV 治疗方面的重大成就。曾报道因核苷抗 HBV 试剂的广泛应用,美国注册肝移植的患者已减少 30%。⁵

[0007] 还没有确凿证据证明当前的核苷/核苷酸治疗对 HBV 共价闭合环状 DNA(cccDNA)

有直接作用,该 DNA 具有长半衰期,被认为只要该治疗终止,⁶便充当转录模板,引起该病毒 DNA 反弹。因此,需要长期、高效的抗病毒治疗以防止伴随该治疗终止而引起的病毒复发。⁷不幸的是,长期的核苷/核苷酸治疗总是与显著损害疗效的耐药突变体的发展相关联。HBV 聚合酶的性质外加高复制率导致在某些抗病毒试剂存在下具有生存优势的 HBV 突变体出现。⁸首先获准的抗 HBV 核苷:拉米夫定(lamivudine)当前的使用已受限于高频率拉米夫定耐药性(最通常为 rtL180M±rtM204V/I)。体外研究表明,rtL180M+rtM204V/I 突变导致病毒对拉米夫定(lamivudine)的感药性降低>1000 倍,而聚合酶功能无显著削弱。^{9,10}在临床实践中,拉米夫定(lamivudine)耐药性的近似比率:治疗 1 年后约为 20%,治疗 5 年后约为 70%。¹¹⁻¹⁴另一种 L-核苷(左旋核苷):替比夫定(Telbivudine),其与拉米夫定(lamivudine)交叉耐药,表现在 YMDD 基序变异的 rtM204I 的主要突变。治疗一年后,与拉米夫定相比较,具有较低的耐药率(在 HbeAg 阳性患者中约为 5%),然而二年后该比率跃升至 22%。¹⁵这些数据表明在更长的替比夫定治疗期内可能会有高耐药比率。阿德福韦(Adefovir)属于无环磷化物。具有不同无环的糖基的该核苷与 L-核苷不交叉耐药。然而,在第 181 位密码子(rtA181T)和第 236 位密码子(rtN236T)处有 2 种主要的阿德福韦(adefovir)耐药突变,导致半数有效浓度增加 2 倍至 9 倍。¹⁶⁻¹⁸虽然增加的倍数适中,但报告显示,三例突变发展患者与阿德福韦(adefovir)治疗的无响应相关。^{19,20}阿德福韦(adefovir)治疗的耐药性发展速率也相当高,2 年后约 3%,5 年后约 29%。²¹另一有效的抗 HBV 核苷:恩替卡韦(entecavir)对耐药性具有高基因屏障。然而,在已存在拉米夫定(lamivudine)耐药突变的患者中,恩替卡韦(entecavir)耐药性的可能性由 1 年后的 1% 增至 5 年后的 51%。^{22,23}

[0008] 因此,不推荐将恩替卡韦(entecavir)作为有 YMDD 突变的患者的单一疗法。虽然目前还没有发现使用泰诺福韦(tenofovir)或克立夫定(clevudine)进行临床连续治疗后产生耐药性的确凿证据,但延长治疗后的结果有待确定。

[0009] 抗病毒耐药性的发展通常伴随较差的临床结果。⁸例如,耐药性的发展抵消了拉米夫定(lamivudine)治疗的疗效。²⁴与没有耐药性证据的患者相比较,已发展了耐药性的患者不太可能显示出组织学改善(44% 对 77%),而更有可能表明肝恶化(15% 对 5%)。²⁴具体地,曾报道患者中的肝炎突发和肝衰竭(hepatic decomposition)随抗病毒耐药性的发展而发展。²⁵因此,抗病毒耐药性的认真管理在抗 HBV 治疗中极为重要。添加(与不同的核苷或干扰素组合)治疗和转换至替代核苷单一疗法是对初始单一核苷治疗未达到最理想反应的患者的两种主要选择。虽然目前还不清楚耐药性管理中哪一种方式最有效,但提供具有高基因屏障的辅助/替代试剂且与初始药物具有不同的耐药性是关键。目前的抗 HBV 库(anti-HBV arsenal)是有限的。因此,开发有效抵抗不仅是野生型(WT)还是已存在的 HBV 耐药突变体新核苷类似物是重要的。

[0010] 在我们的药物发现程序进行过程中,将氟原子引至糖基上产生了许多具有有趣生物意义的新型核苷。²⁶⁻³⁵因此,探索氟原子在具有 6'-外-环烯烃(6'-亚甲基)的碳环核苷上的替代物是极有趣的。本文中,我们将报告令人感兴趣的氟化碳环核苷的发明,该核苷抗 HBV-WT 以及拉米夫定(lamivudine)耐药突变体和阿德福韦(adefovir)耐药突变体是有效。

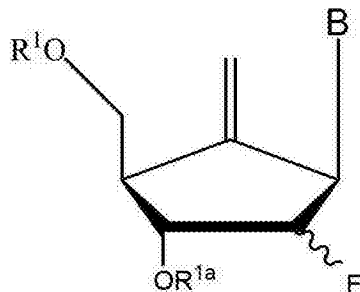
[0011] 搜索乙肝病毒、丙肝病毒、单纯性疱疹病毒 I 和 II(HSV I 和 II)、巨细胞病毒(CMV)、水痘-带状疱疹病毒(VZV)和人类疱疹病毒第四型(Epstein Barr Virus)的抗病毒

试剂治疗是一个持续的过程,本发明针对那些病毒疾病的状态。

发明内容

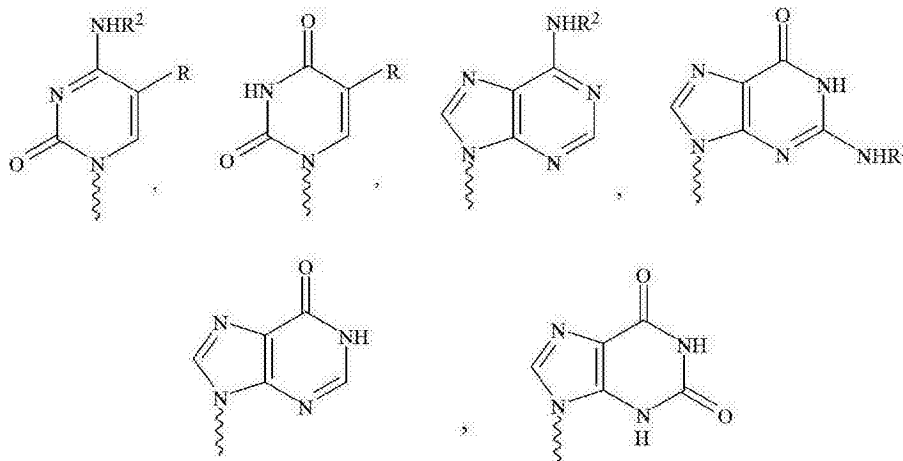
[0012] 本发明涉及如下结构的碳环核苷化合物:

[0013]



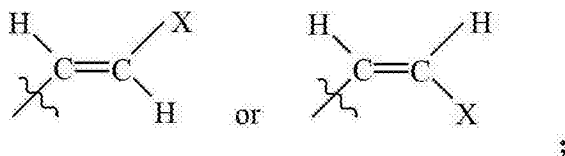
[0014] 其中 B 为:

[0015]



[0016] 其中 R 为 H、F、Cl、Br、I、C₁-C₄烷基(优选 CH₃)、-C≡N、-C≡C-R_a、

[0017]



[0018] X 为 H、C₁-C₄烷基(优选 CH₃)、F、Cl、Br 或 I;

[0019] R_a为 H 或 -C₁-C₄烷基官能团;

[0020] R¹和 R^{1a}各自独立地为:H、酰基官能团、C₁-C₂₀烷基或醚官能团、氨基酸残基(D 或 L)、磷酸盐、二磷酸盐、三磷酸盐,磷酸二酯或磷酰胺(phosphoamidate)官能团或 R¹和 R^{1a}一起形成具有结合氧原子的碳双酯(carbodiester)、磷酸二酯或磷酰胺(phosphoamidate)官能团;

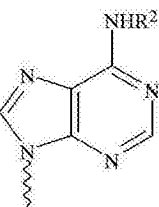
[0021] R²为 H、酰基、C₁-C₂₀烷基或醚官能团或氨基酸残基(D 或 L);

[0022] 或其药学上可接受的盐、对映异构体,及其水合物或溶剂化物。

[0023] R^{1a}优选为 H。R¹和 R²还优选各自独立地为 H 或 C₂-C₂₀酰基官能团,更优选都为 H。在某些方面,R¹为磷酰胺(phosphoamidate)官能团。

[0024]

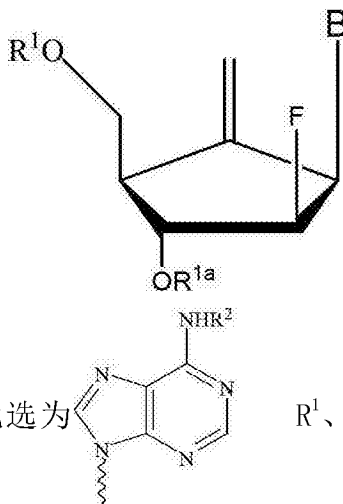
B 优选为



[0025]

在替代的优选方面,该化合物的化学结构表示为:

[0026]



[0027]

其中 B 为如上所述,优选为

R¹、R¹ᵃ和 R²如上文另行所述。注意

在 2' 位置处的氟官能团(该官能团位于本发明化合物的 α 或 β 构象中)优选位于所述的 β (向上)构象中。本发明的优选化合物为前药形式,其中 R¹ᵃ为本文另行所述的磷酰胺(phosphoramidate)官能团,优选由本文另行所述的氨基酸衍生的磷酰胺(phosphoramidate)官能团。

[0028] 本发明还涉及包含如上所述有效量的化合物的药用组合物,任选与药学可接受载体、添加剂或赋形剂组合。药用组合物的替代实施方案包含本文另行所述的与辅助抗病毒试剂组合的有效量碳环核苷化合物。优选的抗病毒试剂包括,例如阿昔洛韦(acyclovir)、泛昔洛韦(famciclovir)、更昔洛韦(ganciclovir)、伐昔洛韦(valaciclovir)、阿糖腺苷(vidaribine)、利巴韦林(ribavirin)、带状疱疹-免疫球蛋白(zoster-immune globulin) (ZIG)、拉米夫定(lamivudine)、阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine),克拉夫定(clevudine)、替诺福韦(tenofovir)及其混合物。

[0029] 治疗方法进一步提出了本发明的实施方案。在该方面,治疗或减少病毒感染的可能性的方法包括对需要治疗或存在感染风险需要治疗的患者施用有效量的如下另行所述的化合物,其中的该病毒感染是因乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、单纯疱疹病毒 I (HSV I)、单纯疱疹病毒 II (HSV II)、巨细胞病毒(CMV)、水痘带状疱疹病毒(VZV) 或 Epstein Barr 病毒(EBV) 所致。

[0030] 在优选的方法中,本发明涉及治疗包括 HBV 感染耐药(还包括多重耐药)的 HBV 感染的方法,其中该耐药性是针对目前使用的抗 HBV 试剂中的任一种或多种,包括阿德福韦(adeфовir)和 / 或拉米夫定(lamivudine) 耐药性等。

[0031] 使用与辅助抗病毒试剂组合的本发明化合物的组合治疗提出了本发明的其他

方面。优选的抗病毒试剂包括,例如阿昔洛韦(acyclovir)、泛昔洛韦(famciclovir)、更昔洛韦(ganciclovir)、伐昔洛韦(valaciclovir)、阿糖腺苷(vidaribine)、利巴韦林(ribavirin)、带状疱疹-免疫球蛋白(zoster-immune globulin) (ZIG)、拉米夫定(lamivudine)、阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine)、克拉夫定(clevudine)、替诺福韦(tenofovir)及其混合物,还包括本文另行所述的其他试剂。治疗或减少继发于病毒感染的肝纤维化、肝癌或肝硬化的发展可能性的方法,提出了本发明的其它方面,该病毒感染包括耐药病毒感染(特别包括HBV和/或HCV)。

附图说明

[0032] 图1给出一些当前的抗HBV核苷/核苷酸;

[0033] 图2给出(a)采用2'-内型, Southern构象的模型化的核苷16(以蓝色表示)的低能量构象。虽然该构象异构体非全局最小值,但他们之间的能障低至0.5kJ/mol。(b)16和15叠合的结构表明两个分子构象之间的相似性。(c)氟化碳环核苷15(C:灰色, N:蓝色, O:红色, F:绿色, H:白色)还优选2'-内型, Southern构象;

[0034] 图3给出了合成方案1, 该方案提供一系列合成步骤以生成糖合成子中间体10。使用如下试剂和条件:(a)参考文献33、34、40;(b) i) LDA, Echenmoser盐, THF, -78°C; ii) MeI, 室温; iii) 饱和NaHCO₃溶液, 室温;(c) NaBH₄/CeCl₃·7H₂O, THF, -78°C;(d) NaH, BnBr, TBAI, THF, 室温;(e) 3N HCl, MeOH, 90°C;(f) TIPDSCl, 吡啶(Py), -30°C至室温;(g) DAST, CH₂Cl₂, 室温;(h) i) Tf₂O, 吡啶(Py), -30°C至室温, ii) CeOAc, 18-冠-6, 苯, 50°C; iii) NaOMe, MeOH, 室温;(i) i) TBAF/HOAc, THF, 室温; ii) BzCl, 吡啶(Py), 室温;(j) BCl₃, CH₂Cl₂, -78°C;

[0035] 图4给出合成方案2, 它提供一系列生成核苷化合物15的合成步骤。使用如下试剂和条件:(a) DIAD, Ph₃P, 6-氯嘌呤, THF, 室温;(b) NH₃, MeOH, 100°C或NaN₃, DMF以及H₂O;(c) i) OsO₄/NMO, 丙酮/H₂O, 室温; ii) NaN₃, DMF, 140°C; iii) H₂/Pd/C, EtOH, 室温;(d) i) 2-乙酰氧基异丁酰溴, 乙腈, -30°C-室温; ii) Zn/HOAc, DMF, 室温;(e) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78°C;

[0036] 图5给出替代方案2, 该方案提供了一系列生成化合物18的合成步骤, 该化合物在对抗如实施例部分所描述的野生型突变体和HBV突变体的测试中使用。使用下列试剂和条件:(a) 参见Jin, et al., J. Org. Chem., 2003, 68, 9012-9018 (b) i) LDA, Eshenmoser盐, THF, -78°C; ii) MeI, 室温; iii) 饱和NaHCO₃溶液, 室温;(c) NaBH₄/CeCl₃·7H₂O, MeOH, -78°C;(d) NaH, BnBr, DMF, 0°C;(e) TFA/H₂O (2:1), 50°C;(f) TIPDSCl₂/咪唑, DMF, 0°C;(g) DAST, CH₂Cl₂, 室温;(h) TBAF/AcOH, THF, 室温;(i) BzCl, 吡啶, 室温;(j) BCl₃, CH₂Cl₂, -78°C;

[0037] 图6给出本说明书另行公开的化学方案粗略示意图, 该合成提供了如图所示的自D-核糖合成本发明化合物的方法;

[0038] 图7给出, 通过细胞内HBV DNA的复制检测, 化合物18抗拉米夫定(lamivudine)和阿德福韦(adeфовir)耐药突变体的体外抗HBV活性。表1附图说明如下:^artLM/rtMV=rt180M/rtM204V双突变体。^b抑制50%的HBV-DNA所需的有效浓度。^c减少90%的传染性病毒滴度所需的浓度。^d该“>”号表示在所测得的最高浓度下未达到50%的抑制作用。^e3天后, 通过50%未治疗的对照, 减少由MTT检测所确定的细胞活力而需要的药物浓度。

具体实施方式

[0039] 用如下定义描述本发明。如术语未在本文中特别定义,该术语的给定意思是本领域普通技术人员在该术语使用范围内给予该术语的意思。

[0040] 本文所用术语“化合物”,除另有说明,是指本文公开的任意具体化合物,一般指 β -D 核苷类似物,但在范围内,可包括互变异构体、区域异构体、几何异构体、端基异构体,和这些化合物的适用旋光异构体(对映异构体),及其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或多晶型物。在其使用范围内,术语“化合物”一般指单一化合物,但还可包括例如立体异构体、区域异构体和/或旋光异构体(包括外消旋混合物)的其他化合物,以及所公开化合物的特定对映异构体或富对映体的混合物。需注意的是,如为化合物提供了碳范围,则该范围表明每一个碳单独视为该范围的一部分。例如一 C_1 - C_{20} 官能团描述了官能团具有单个碳原子、两个碳原子,3个碳原子,4个碳原子等,直至20个碳原子。

[0041] 全说明书使用术语“患者”或“研究对象”描述通过本发明的组合物向其提供包括预防性治疗的动物,优选人类。针对那些对于例如人类患者的特定动物的特定感染、情况或疾病状态的治疗时,术语“患者”指该特定动物。通常,在本发明中,如不另行声明,术语“患者”指人类患者。本发明中,除人类外,通常还可治疗家养动物(如牛,马,狗,猫等)。

[0042] 术语“乙肝病毒”或“HBV”用于描述感染包括人类的人科(hominidae)的肝脏,并引发称为肝炎的炎症的病毒。最初称为“血清性肝炎”,该疾病在亚洲和非洲部分地区已引发过流行病,在中国其现为地方病。约三分之一的世界人口,超过20亿人,已感染乙型肝炎病毒。这个数字包括3.5亿该病毒的慢性携带者。乙型肝炎病毒的传播是因接触传染性血液或含血液的体液而引起的。该急性病导致肝脏发炎、呕吐、黄疸,以及罕见地,死亡。慢性乙型肝炎可最终导致肝硬化和肝癌——一种对目前化疗反应很差的致命性疾病。

[0043] 乙型肝炎病毒为嗜肝DNA病毒,其中hepa自hepatotrophic和dna的hepa,因它为DNA病毒,具有由部分双链DNA组成的环形基因组。该病毒以逆转录形式通过RNA中间体复制,在该方面,它们与逆转录病毒相类似。虽然复制发生在肝内,但该病毒扩散至受感染人体内发现有病毒特异性蛋白及其相应抗体的血液。针对这些蛋白质和抗体的血液测试用于诊断该感染。

[0044] 肝硬化和肝癌可随乙肝病毒感染发生。乙肝病毒主要通过肝脏细胞(称为肝细胞)内复制干扰肝功能。该主要传播方式反映了慢性HBV感染在特定地区的流行。在例如美国大陆和西欧的低流行区域,小于2%的人口是慢性感染的,尽管其他因素可能是重要的,但注射药物滥用和不安全性行为是主要方式。在包括东欧,俄罗斯和日本的中度流行区域,2-7%的人口是慢性感染的,该疾病主要在儿童中蔓延。在例如中国和东南亚的高流行区域,分娩过程中的传播是最常见的,尽管在例如非洲的其他区域,但是儿童时期的传播是重要的因素。慢性乙肝病毒感染在某些地区的流行可至少8%。

[0045] 乙型肝炎病毒的传播是因接触传染性血液或含血液的体液而引起的。可能传播的形式包括(但不限于此)无保护的性接触、输血、污染针头和注射器的重复使用,以及分娩时由母亲至孩子的垂直传播。

[0046] 化合物已表明在治疗和/或抑制HBV感染中是有用的,可与本发明用于HBV感染治疗的2'-氟核苷化合物组合,包括例如,Hepsera(阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil))、

拉米夫定(lamivudine)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine)、替诺福韦(tenofovir)、恩曲他滨(emtricitabine)、克拉夫定(clevudine)、Valtorecitabine、氨多索韦(amdoxovir)、帕拉德福韦(pradefovir)、Racivir、BAM 205、硝唑尼特(nitazoxanide)、UT231-B、Bay41-4109、EHT899、日达仙(zadaxin)(胸腺肽 $\alpha-1$)及其混合物。术语 HBV 的“耐药”或“耐药突变体”包括抵抗上述引用的抗 HBV 试剂中的一种或多种(包括多重耐药菌株)的所有 HBV 菌株。这些菌株包括,例如 HBV 菌株 rtM204V、rtM204I、rtL180M、rtLM/rtMV(其为 rt180M/rtM204V 的双突变体)和 rtN236T 等等。本发明的化合物对于所有耐药 HBV 菌株,包括多重耐药菌株均有效。

[0047] 术语“丙型肝炎病毒”或“HCV”用于描述致肝传染性疾病的丙型肝炎感染的病毒。该感染经常无症状,但一旦确立,慢性感染可发展为肝脏疤痕(纤维化),晚期疤痕(advanced scarring)(肝硬化)通常在许多年后才明显。在某些情况下,患肝硬化的那些人将继续发展为肝功能衰竭或包括肝癌的其他肝硬化并发症。

[0048] 丙型肝炎病毒(HCV)是通过血液与血液的接触进行传播的。大多数人在初期感染后,即使有症状也很少,但病毒仍留存于约 85% 的感染者的肝脏中。发展为肝硬化或肝癌的那些人需要肝脏移植,移植后该病毒普遍复发。

[0049] 全球估计有 2.7-3 亿人感染丙型肝炎。严格说,丙型肝炎是人类疾病。虽然它不能自动物感染或感染任何动物,但是在黑猩猩上的实验是可能的。急性丙型肝炎指感染 HCV 后的前 6 个月。60%至 70% 的受感染人在急性阶段不发展症状。经历急性阶段症状的少数患者,他们的症状通常是轻微的且非特异性,很少导致丙型肝炎的特异性诊断。急性丙型肝炎感染的症状包括食欲下降、疲劳、腹痛、黄疸,瘙痒及类似流感的症状。感染后的一至三周内,通过 PCR 通常可在血液中检测到丙型肝炎病毒,并在 3 至 15 周内可检测到病毒抗体。自发性病毒清除率高度可变,10%至 60% 的感染有丙型肝炎病毒的人在急性阶段清除其身体病毒,表现为肝酶的正常化(丙氨酸转氨酶(ALT)& 谷草转氨酶(AST))以及血浆 HCV-RNA 清除(称为自发性病毒清除)。然而,持续感染是常见的,大多数患者发展为慢性丙型肝炎,即感染持续时间超过 6 个月。以往的实践是不治疗急性感染者以观察其是否会自发性清除;最近的研究表明,基因 I 型感染的急性阶段内治疗具有大于 90% 的成功率,所需治疗时间为慢性感染所需治疗时间的一半。

[0050] 慢性丙型肝炎定义为丙型肝炎病毒存留时间超过六个月的感染。临床上,它通常是无症状的(没有症状),主要为意外发现的。慢性丙型肝炎的自然病程由一个人至另一个人变化显著。虽然几乎所有感染有丙型肝炎病毒的人在肝活组织检查时有出现炎症的迹象,但肝脏疤痕(纤维化)进展率显示出个体间的显著差异性。因为对该病毒的有效测试的时间有限,时间风险的准确估计很难确定。最近的数据表明,大约三分之一的未经治疗患者在 20 年内发展为肝硬化。另外三分之一在 30 年内发展为肝硬化。其余的患者进展缓慢以至他们在有生之年不太可能发展为肝硬化。与此相反,NIH 共识指南声明经 20 年时间发展为肝硬化的危险是 3-20%。

[0051] 曾报道影响 HCV 疾病进展率的因素包括年龄(随年龄增加,进展更快)、性别(男性比女性具有更快的疾病进展)、饮酒(与疾病进展率提高相关),HIV 共感染(与疾病进展率明显提高相关)以及脂肪肝(肝细胞内存在脂肪已与疾病进展率提高相关)。

[0052] 在肝脏发生实质性结疤之前,通常不存在肝脏疾病的明确提示症状。然而,丙型肝炎

炎是系统疾病,在晚期肝脏疾病发展之前,患者可能会经历大范围临床表现由无症状至更多症状的疾病。与慢性丙型肝炎相关的广泛病征和症状包括:疲劳、类似流感的症状、关节疼痛、瘙痒、睡眠障碍、食欲改变,恶心和抑郁。

[0053] 一旦慢性丙型肝炎进展至肝硬化,可出现一般因肝功能下降或肝循环压力增加(一种已知的情况是门静脉高血压)所致的病征和症状。肝硬化可能的病征和症状包括:腹水(液体积存于腹部)、淤伤和出血倾向、静脉曲张(静脉扩大,特别是在胃和食道处)、黄疸,以及称为肝性脑病的认知障碍综合症。肝性脑病是因为通常由健康的肝脏清除掉的氨和其他物质的积累所致。

[0054] 在肝试验中,感染丙型肝炎的肝脏在肝脏检查中显示出不定的 ALT 和 AST 升高。它们可周期性地显示正常的结果。通常凝血酶原和白蛋白的结果是正常的,但一旦肝硬化已发展,可能变得异常。肝测试的升高水平不与活组织检查的肝损伤量密切相关。病毒基因型和病毒载量也不与肝损伤量相关。肝活组织检查是确定疤痕和炎症水平的最好试验。例如超声或 CT 扫描的放射学研究在相当晚期前,不总是显示出肝损伤。然而,非侵入性检测(血样)出现了,利用 FibroTest 和 ActiTest 分别估算肝纤维症和坏死炎症(necrotico-inflammation)。这些试验已被确认,并在欧洲推荐使用(在美国 FDA 程序已启动)。

[0055] 超过其他形式的肝炎,慢性丙型肝炎与丙型肝炎病毒存在相关的肝外表现相关,如迟发性皮肤卟啉症、冷球蛋白血症(一种小血管炎)和肾小球性肾炎(肾脏的炎症),特别是膜增生性肾小球肾炎(MPGN)。丙型肝炎还很少与干燥综合征(一种自身免疫性障碍)、血小板减少症、扁平苔藓、糖尿病和 B 细胞淋巴增生性疾病相关。

[0056] 化合物已表明在治疗和/或抑制 HCV 感染中是有用的,可与本发明用于 HCV 感染治疗的 2'-氟核苷化合物组合包括例如 NM 283、VX-950 (特拉匹韦)、SCH 50304、TMC435、VX-500、BX-813、SCH503034、R1626、ITMN-191 (R7227)、R7128、PF-868554、TT033、CGH-759、GI 5005、MK-7009、SIRNA-034、MK-0608、A-837093、GS 9190、ACH-1095、GSK625433、TG4040 (MVA-HCV)、A-831、F351、NS5A、NS4B、ANA598、A-689、GNI-104、IDX102、ADX184、GL59728、GL60667、PSI-7851、TLR9 激动剂、PHX1766、SP-30 及其混合物,以及本文确认的其他抗病毒化合物。

[0057] 术语“单纯疱疹病毒”、“单纯疱疹病毒-1”(HSV-1)、“单纯疱疹病毒-2”(HSV-2),是两种致人感染的属疱疹病毒科的疱疹病毒家族。如其他疱疹病毒科一样,单纯疱疹病毒产生终身感染。也称它们为人类疱疹病毒 1 和 2 (HHV-1 和 HHV-2),是亲神经性病毒和神经侵入性(neuroinvasive)病毒;因它们进入和隐藏于人类神经系统内,这使它们在人体内持久存在。尽管两种 HSV 菌株中的每种菌株通常可在与另一种菌株 HSV 相关的地区中发现,但 HSV-1 通常与称作唇疱疹或热性疱疹的面部疱疹爆发相关,而 HSV-2 更经常与生殖器疱疹相关。

[0058] 单纯疱疹病毒感染的标志是以嘴、唇或生殖器的皮肤或粘膜内的水泡。通过疱疹性疾病的结痂,损伤愈合。然而,该感染是持久的,当原感染部位附近痛处发作时,症状可周期性复发。初期或最初感染之后,HSV 潜伏在该区域内的神经细胞体内。一些受感染的人经历病毒再活化的偶发性发作后,病毒通过神经轴突输送至皮肤,在此进行复制和脱落。如果携带者正在产生和脱落病毒,该疱疹为传染性。这在发作过程中是特别可能的,但在其它

时期也是可能的。目前还没有解决办法,但有减少病毒脱落可能性的治疗。

[0059] 术语“巨细胞病毒”、“CMV”人类巨细胞病毒,“HCMV”用于描述疱疹病毒群的一个疱疹病毒属:在人类中通常将其称为 HCMV 或人类疱疹病毒 5 (HHV-5)。CMV 属于疱疹病毒科的 β 疱疹病毒亚科,疱疹病毒科还包括玫瑰疹病毒属。其他疱疹病毒都归入 α -疱疹病毒亚科(包括 HSV1 和 2 以及水痘)或丙型疱疹病毒亚科(包括 Epstein-Barr 病毒)。^[1]所有疱疹病毒共同具有在身体内长期潜伏的特性能力。

[0060] 虽然全身都可发现 HCMV 感染,但 HCMV 感染经常与唾液腺有关。HCMV 感染可危及免疫功能低下的患者生命(例如 HIV 患者、器官移植接受者或新生儿)。^[1]在一些哺乳动物物种中发现了其他的 CMV,但根据基因组结构,由动物分离出的物种与 HCMV 不同,且不曾报道过致人疾病。

[0061] 在所有地域和社会经济群体中均发现了 HCMV,如根据总人口中大多数人体内出现的抗体所示,美国成年人中的 50%至 80%感染有该病毒(全球 40%)。血清阳性率取决于年龄:6 岁及以上的个体中的 58.9%感染有 CMV,年龄在 80 岁及以上的个体中 90.8%的 HCMV 为阳性。HCMV 还是最经常遗传给发育中的胎儿的病毒。HCMV 感染在发展中国家和具有较低社会经济状况的社会中传播更广泛,并且是引起工业化国家出生缺陷的最重要病毒代表。

[0062] 出生后感染有 HCMV 的大多数健康人没有症状。他们中的一些发展为伴有长期发热以及轻微的肝炎的传染性单核细胞增多/类腺热综合征(glandular fever-like syndrome)。常见咽炎。感染后,该病毒终生潜伏在体内。如免疫力不因药物、感染或老龄受抑制,该疾病很少外显。经常无症状的初期 HCMV 感染,伴随着长期而隐性的感染,在此期间该病毒驻留在细胞内,而不引起可检测到的损伤或临床疾病。

[0063] 传染性 CMV 可在任何受感染的人的体液内脱落,并可在尿液、唾液、血液、泪液、精液和母乳中发现。病毒脱落可间歇性发生,没有任何可察觉的征兆或症状。

[0064] 术语“水痘带状疱疹病毒”或“VZV”用于描述已知感染人类(和其他脊椎动物)的八种疱疹病毒中的一种。VZV 通常导致儿童水痘及成人带状疱疹和带状疱疹后遗神经痛。带状疱疹病毒有许多名称,包括:水痘(chickenpox)病毒、水痘(varicella)病毒,带状疱疹病毒和人类疱疹病毒 3 (HHV-3)。初期的 VZV 感染导致水痘(chickenpox)(varicella),但很少引起包括脑炎或肺炎的并发症。即使已解决了水痘(chickenpox)的临床症状,VZV 仍潜伏在感染者(病毒潜伏期)的神经系统中,在三叉神经和背根神经节内。在约 10-20%的病例中,VZV 在以后的生活中再活化,产生称作带状疱疹(herpes zoster)或带状疱疹(shingles)的疾病。严重的带状疱疹并发症包括带状疱疹后遗神经痛、多重带状疱疹、脊髓炎、眼部疱疹或无疱型带状疱疹。

[0065] VZV 与单纯疱疹病毒(HSV)密切相关,共有很多同源性基因组。许多已知的 VZV 包膜糖蛋白与 HSV 中的一致。与 HSV 不同的是,VZV 未能产生在建立 HSV 潜伏物(单纯性疱疹病毒)中发挥重要作用的 LAT (潜伏相关转录体)。该病毒很易受特别是次氯酸钠的消毒剂影响。在人体内,可连同本发明的化合物与许多药物和治疗试剂一同进行治疗,包括阿昔洛韦(acyclovir)、带状疱疹免疫球蛋白(ZIG)和阿糖腺苷,。

[0066] 术语“Epstein-Barr 病毒”或“EBV”,也称作人类疱疹病毒 4 (HHV-4),是疱疹家族中的一种病毒,是人类最常见的病毒之一。大多数人感染 EBV 后,经常无症状,但感染通常会导致传染性单核细胞增多症(也称腺热)。Epstein-Barr 病毒在全球范围内传播。大多数

人在其生命中的某一时间感染 EBV, 因此获得适应性免疫, 通过 EBV 抗体防止再感染而反复生病。在美国, 多达 95% 的 35 至 40 岁年龄的成年人曾受感染。母源抗体保护(与生俱来)一旦消失, 婴儿就容易感染 EBV。当 EBV 感染发生在青春期或成年早期时, 在 35% 至 69% 的时间里会导致传染性单核细胞增多症。

[0067] 全说明书中使用的术语“瘤形成”或“癌症”指癌性的或恶性的肿瘤形成和成长的病理过程, 即因细胞增生引起的不正常组织生长, 该生长经常在引发该新生长的刺激结束后比正常组织生长更快且不断生长。恶性肿瘤表现出部分或完全的缺失结构组织以及与正常组织进行功能配合, 并大多侵入周围组织, 转移至多个部位, 如不进行充分治疗, 可能在尝试性清除后复发, 并导致患者死亡。本文用术语“瘤形成”描述所有癌性疾病状态, 包含或包括与恶性血、腹水和固体肿瘤相关的病理过程。代表性癌症包括, 例如胃癌、结肠癌、直肠癌、肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、子宫宫颈癌、子宫体癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、膀胱癌、肾癌、脑或中枢神经系统(CNS)癌、头颈癌、喉癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、白血病、黑素瘤、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、尤因氏肉瘤、小细胞肺癌、绒膜癌、横纹肌肉瘤、肾母细胞瘤、神经母细胞瘤、毛细胞白血病、口或咽癌、鼻咽癌、食道癌、喉癌、肾癌和淋巴瘤等, 这些癌症可通过本发明的一种或多种化合物进行治疗。在本发明的某些方面, 术语肿瘤或癌症指肝细胞癌、淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma), 霍奇金淋巴瘤和鼻咽癌, 这些癌症经常继发于乙肝病毒(HBV)、丙肝病毒(HCV)和/或 Epstein-Barr 病毒(EBV)感染。

[0068] 术语“肿瘤”用于描述恶性或良性的生长或肿胀。

[0069] 术语“抗癌化合物”或“抗癌剂”用于描述任何可用于治疗癌症的化合物。本发明使用的抗癌化合物可与本发明化合物中的一种或多种联合施用以治疗病毒感染存在时或继发于病毒感染的癌症。本发明使用的与本发明化合物联合施用的实施例性抗癌化合物包括许多广泛的以抗代谢物、拓扑异构酶 I 和 II 的抑制剂、烷化剂和微管抑制剂(如紫杉醇)为特征的化合物。本发明所使用的抗癌化合物包括, 例如阿地白介素; 阿仑单抗; 阿利维 A 酸; 别嘌呤醇; 六甲蜜胺; 阿米福汀; 阿纳托(司)唑; 三氧化二砷; 天门冬酰胺酶; 卡介苗(BCG Live); 蓓萨罗丁胶囊; 蓓萨罗丁凝胶; 博来霉素; 静脉马利兰; 口服马利兰; 卡鲁睾酮; 卡培他滨; 卡铂; 卡氮芥; 卡氮芥与聚苯丙生 20 植入物; 塞来考昔; 苯丁酸氮芥; 顺铂; 克拉屈滨; 环磷酰胺; 阿糖胞苷; 阿糖胞苷脂质体(cytarabine liposomal); 氮烯唑胺; 更生霉素; 放线菌素 D; 阿法达贝泊汀干扰素; 柔红霉素脂质体; 柔毛霉素, 柔红霉素; 地尼白介素, 右丙亚胺; 多西他赛; 阿霉素; 阿霉素脂质体; 丙酸屈他雄酮丙酸酯; 埃利奥特 B 溶液; 表柔比星; 阿法依泊汀雌莫司汀; 依托泊苷磷酸酯; 依托泊苷(VP-16); 依西美坦; 非格司亭; 氟尿苷(动脉); 氟达拉滨; 氟尿嘧啶(5-FU); 氟维司群; 吉妥单抗; 醋酸戈舍瑞林; 羟基脲; 替伊莫单抗; 伊达比星; 异环磷酰胺; 甲磺酸伊马替尼; 干扰素 α -2a; 干扰素 α -2b; 伊立替康; 来曲唑; 亚叶酸; 左旋咪唑; 洛莫司汀(CCNU); 二氯甲基二乙胺(Mechlorethamine)(氮芥); 醋酸甲地孕酮; 美法仑(L-PAM); 巯嘌呤(6-MP); 巯乙磺酸钠; 甲氨喋呤; 甲氧沙林; 丝裂霉素 C; 米托坦; 米托蒽醌; 正男性酮; 若莫单抗; LoddC; 奥普瑞白介素; 奥沙利铂; 紫杉酚; 帕米膦酸盐(pamidronate); 培加酶; 培门冬酶; 乙二醇化非格司亭; 喷司他丁; 溴丙哌嗪; 普卡霉素; 光辉霉素; 吡吩姆钠; 甲基苄肼; 奎纳克林; 拉布立酶; 利妥昔单抗; 沙莫司亭; 链佐星; 替比夫定(LDT); 滑石粉; 它莫昔芬; 替莫唑胺; 替尼泊苷(VM-26); 睾内酯; 硫鸟嘌呤

呤(6-TG);塞替派;拓扑替康;托瑞米芬;托西莫单抗;曲妥单抗;维甲酸(ATRA);乌拉莫司汀;戊柔比星;伐托他滨(monoval LDC);长春花碱;长春瑞滨;唑来膦酸(zoledronate);以及其混合物等。

[0070] 全说明书中使用的术语“药学上可接受的盐”用于描述本文所述化合物的一种或多种于文中适用的盐形式,提出这些盐形式是为了增加该化合物在患者胃肠道胃液中的溶解度以促进该化合物的溶解和生物药效率。药学上可接受的盐包括那些适用的衍生自药学可接受的无机或有机碱和酸的盐。合适的盐包括那些衍生自例如钾和钠的碱金属,例如钙,镁和铵盐的碱土金属,以及许多其他的在制药领域中广为人知的酸。钠盐和钾盐特别优选作为本发明的磷酸盐的中和盐。

[0071] 全说明书中使用的术语“药学上可接受的衍生物”用于描述任何药学可接受的前药形式(例如酯,醚或酰胺或其他前药官能团),在给患者施用,该前药形式直接或间接地提供本发明化合物或本发明化合物的活性代谢物。

[0072] 术语“烷基”在其范围内应意为 C_1 - C_{20} ,优选 C_1 - C_{10} 线性的、支化的或环状完全饱和烃基,可任选取代该烃基。需要注意的是,如提供了碳范围,该范围表示可认为每个碳都是该范围的一部分。例如, C_1 - C_{20} 官能团描述了具有单个碳原子、2个碳原子、3个碳原子、4个碳原子等的官能团。术语“醚”应意为任选替代的 C_1 至 C_{20} 的由氧和烃基官能团形成的醚官能团,或者,还可在该烃基或亚烃基链内包含至少一个氧。

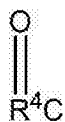
[0073] 术语“芳香族的”或“芳基的”在其范围内应意为取代或未取代的单价碳环芳基,该芳基具有单环(如:苯)或多个稠环(如:萘、蒽、菲)。其他实施例包括任选取代的环内具有一个或多个氮、氧,或硫原子的杂环芳族环官能团(“芳杂环”或“杂芳基”),优选包括五元或六元杂芳基官能团,例如咪唑、呋喃基、吡咯、呋喃、噻吩(thiophene)、噻唑、吡啶、吡嗪、三唑,恶唑等,但也可包括例如咪唑官能团等的稠环杂芳基官能团。本发明化合物内的优选芳基官能团为苯基或取代苯基官能团。

[0074] 术语“杂环”应意为任选取代的环状的部分,不同于碳原子,包含例如氮、硫,氧或其他原子的至少一种原子,其环可为饱和的和/或不饱和的。

[0075] 术语“未取代的”应意为仅用氢原子取代。术语“取代的”在所定义化合物的化学范围内应意为取代基(每个取代基自身可被取代),选自烷基(可被其自身取代,优选用任选的取代烷基或氟代官能团等进行取代),优选为烷基(通常,在长度上不大于约3个碳单元),该取代基包括 CF_3 、任选取代的芳基、卤素(F、Cl、Br、I)、硫醇、羟基、羧基, C_1 - C_3 烷氧基、烷氧羰基、氯乙酰基(CN)、硝基或任选取代的胺(例如,亚烷基胺(alkyleneamine)或 C_1 - C_3 单烷基或二烷基胺)。各种任选取代部分可为3个或更多个取代基取代,优选不多于3个取代基,并优选1或2个取代基。

[0076] 全说明书中的术语“酰基”用于描述该核苷类似物的5'或3'位置上(即在该碳环部分的自由羟基位置处)或在该核苷碱基的环外氮上的官能团,该核苷碱基含有 C_1 至 C_{20} 的线性的、支化的或环状的烷基链。该酰基官团与羟基官能团组合产生酯,该酰基官能团与环外氨基官能团组合产生酰胺,施用后,可被分解产生本发明的自由核苷形式。本发明的酰基官能团用如下结构表示:

[0077]

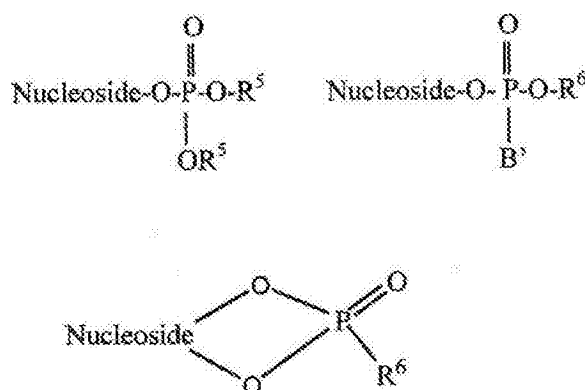


[0078] 其中 R^4 为 C_1 至 C_{20} 的线性的、支化的或环状的烷基官能团, 烷氧基烷基 (包括端部为自由羟基官能团或 C_1 - C_{10} 烷基官能团的环氧乙烷链, 且分子量约为 50 至约 40000 或约 200 至约 5000), 例如苯氧甲基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基氧基 (alkoxycarbonyloxy) 官能团 (例如, [(异丙氧基羰基) (isopropoxycarbonyl) 氧基]-甲氧基)、芳氧基烷基 (aryloxyalkyl) 等, 如上所述, 所有这些官能团都可被任选取代。优选的酰基官能团为那些其内的 R^4 为 C_1 至 C_{12} 烷基的官能团。本发明的酰基官能团还包括, 例如, 那些衍生自苯甲酸及其相关酸、3-氯苯甲酸、琥珀酸、癸酸和己酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸, 硬脂酸和油酸基等许多其它酸的酰基官能团, 还可包括例如甲磺酸官能团的磺基官能团这样的相关官能团。所有官能团在本文另行所述的范围内都可适当取代。本领域普通技术人员将确认用于本发明的酰基官能团, 或合成该目标药用化合物, 或作为本发明的核苷药用前体。

[0079] 术语“氨基酸”或“氨基酸残基”应意为一定范围内的 D-氨基酸基团或 L-氨基酸基团, 其通过该氨基酸的羧酸部分, 在胞嘧啶碱基的 4' 环外胺位置或该糖合成子 (R^2 、 R^1 或 R^{1a}) 的 5'-或 3'-OH 位置, 共价结合到核苷类似物, 由此分别形成的酰胺或酯官能团将该核苷连接至该氨基酸。氨基酸还可用于提供如本发明另行所述的核苷化合物内的磷酸胺 (phosphoamidate) 官能团。代表性的氨基酸都包括天然的和非天然的氨基酸, 优选包括, 例如, 丙氨酸、 β -丙氨酸、精氨酸、天门冬酰胺、天门冬氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸等。

[0080] 说明书中的术语“磷酸酯”或“磷酸二酯” (该术语包括一定范围内的磷酸三酯官能团和磷酸胺 (phosphoamidate) 官能团) 用于描述该碳环糖合成子 5' 位置上的单磷酸盐官能团, 对其进行单酯化或双酯化 (或对磷酸胺 (phosphoamidate) 进行酰胺化和任选酯化) 以便该磷酸盐官能团带负电荷或呈电中性, 即具有中性电荷。本发明中使用的磷酸酯、磷酸二酯和 / 或磷酸胺 (phosphoamidate) 官能团包括如下结构表示的那些官能团:

[0081]



[0082] (Nucleoside=核苷)

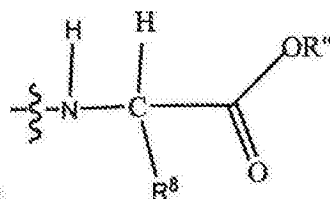
[0083] 其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自 H、 C_1 至 C_{20} 线性的、支化的或环状的烷基官能团、烷氧基烷基、如苯氧甲基的芳氧基烷基、任选取代的芳基和烷氧基等, 包括烷氧基羰基氧基官能团 (例如, [(异丙氧基羰基) (isopropoxycarbonyl) 氧基]-甲氧基), 每种官能团

都可任选取代(例如,苯基或其他官能团可如本文另行描述进行任选取代,或优选进行一取代至三取代、 C_1 - C_6 的烷基官能团、优选为F、Cl或Br的卤素、硝基、氰基或 C_2 - C_6 羧酸酯(carboxyester)官能团的取代),限制性条件是至少一个 R^5 官能团不同于H,或两个 R^5 官能团一起形成五元或六元杂环官能团;



氨基酸,例如丙氨酸、 β -丙氨酸、精氨酸、天门冬酰胺、天门冬氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸,色氨酸或酪氨酸等),以优选提供如下结构的官能团:

[0085]



[0086] 其中 i 为 0、1、2 或 3 (优选 0);

[0087] R^7 为 C_1 至 C_{20} 的线性的、支化的或环状的烷基或酰基官能团、烷氧基烷基、如苯氧甲基的芳氧基烷基、任选取代的芳基官能团(如上所述)和烷氧基等,每种官能团都可任选取代;

[0088] R^8 为氨基酸侧链,优选为选自丙氨酸、 β -丙氨酸、精氨酸、天门冬酰胺、天门冬氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸,色氨酸或酪氨酸(优选 R^8 衍生自丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或苏氨酸)的氨基酸侧链,和

[0089] R'' 是 C_1 至 C_{20} 的线性的、支化的或环状的烷基或苯基或杂芳基官能团,每种官能团都可任选取代。

[0090] 本发明前药形式所用的优选单磷酸酯为其中的 R^5 为 C_1 至 C_{20} 的线性的或支链烷基官能团,更优选为 C_1 至 C_3 烷基官能团的那些单磷酸酯,所有这些官能团都可任选取代。

[0091] 术语“有效量”应意为本发明化合物的量或浓度,该量或浓度在其施用或使用范围内是有效的,可进行抑制、预防和/或治疗。在一定范围内,本发明中使用的所有活性化合物均以有效量使用。本发明的化合物还涉及都为有效量的所用化合物的组合,无论该组合在效果上是辅助性的或协同性的,化合物组合的整体效果将抑制生长,减少患者病毒感染的可能性或治疗患者的病毒感染。

[0092] 本发明范围内使用的术语“D-构型”指本发明核苷化合物的构型,该构型模拟糖部分中与天然产生的核苷或“L”构型相反的天然构型。术语“ β ”或“ β 端基异构体”用于描述本发明的核苷类似物,其中该核苷碱基在该化合物的碳环部分的平面之上构型(放置)。

[0093] 全说明书中的术语“富对映体”用于描述包括至少约 95%，优选至少约 96%，更优选至少约 97%，甚至更优选至少约 98%，甚至更优选至少约 100% 或更多的单一核苷对映体的核苷。本发明的碳环核苷化合物一般为 β -D- 核苷化合物。当本发明说明书中指出本发明化合物时，除另有说明，假定该核苷具有 D- 核苷构型且为富对映体（优选，约 100% 的该 D- 核苷）。

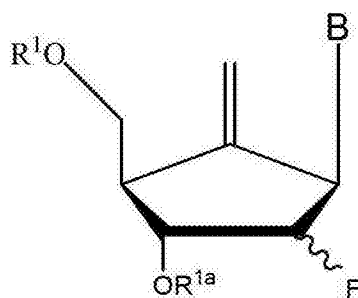
[0094] 术语“联合施用”和“联合施药”用于同义描述施用至少一种本发明核苷化合物时，组合使用至少一种其他的试剂，优选至少一种辅助抗病毒试剂，该试剂包括本文特别公开的，认为同时或大约同时其用量或浓度是有效量的其他核苷抗病毒试剂。当优选在相同时间施用联合施用的试剂时，试剂可在这个时候施用：两种（或更多种）试剂的有效浓度同时在该患者体内出现存在至少短期的时间时。替代地，在本发明的某些方面，可使每种联合施用的试剂在患者体内于不同时间显示其抑制效果，最终抑制病毒和治疗了上述感染。当然，当一种以上的病毒或其他感染或其他条件存在时，本发明化合物可与治疗其他感染或条件所需的试剂组合。在某些优选组合物和方法中，本发明的碳环核苷类化合物与至少一种辅助抗病毒试剂共合成和 / 或联合施用，优选地，其中该抗病毒试剂为阿昔洛韦(acyclovir)、泛昔洛韦(famciclovir)、更昔洛韦(ganciclovir)、伐昔洛韦(valaciclovir)、阿糖腺苷(vidaribine)、利巴韦林(ribavirin)、带状疱疹免疫球蛋白(ZIG)、拉米夫定(lamivudine)、阿德福韦酯(adefovir dipivoxil)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine)、克拉夫定(clevudine)，替诺福韦(tenofovir)及其混合物。在 HBV 感染病例中，本发明的 2'- 氟碳环核苷化合物可以优选与另一种抗 HBV 试剂联合施用，例如阿德福韦酯(阿德福韦酯(adefovir dipivoxil))、拉米夫定(lamivudine)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine)、替诺福韦(tenofovir)、恩曲他滨(emtricitabine)、克拉夫定(clevudine)、Valtoricitabine、氨多索韦(amdoxovir)、帕拉德福韦(pradefovir)、Racivir、BAM 205、硝噻醋柳胺、UT231-B、Bay41-4109、EHT899，日达仙(zadaxin)（胸腺肽 α -1）及其混合物。在 HCV 感染病例中，本发明的 2'- 氟碳环核苷化合物可以优选与另一个抗 HCV 试剂联合施用，例如，NM283、VX-950（特拉匹韦(telaprevir)）、SCH50304、TMC435、BX-813、SCH503034、R1626、ITMN-191 (R7227)、R7128、PF-868554、TT033、CGH-759、GI 5005、MK-7009、SIRNA-034、MK-0608、A-837093、GS 9190、ACH-1095、GSK625433、TG4040 (MVA-HCV)、A-831、F351、NS5A、NS4B、ANA598、A-689、GNI-104、IDX102、ADX184、GL59728、GL60667、PSI-7851、TLR9 激动剂、PHX1766，SP-30 及其混合物。

[0095] 在替代方案中，特别是在 HBV、HCV 或 Epstein-Barr 治疗病例中，本发明的化合物还可与抗癌试剂联合施用。

[0096] 术语“独立地”在本文中用于表示独立适用的变量在各应用之间独立变化。

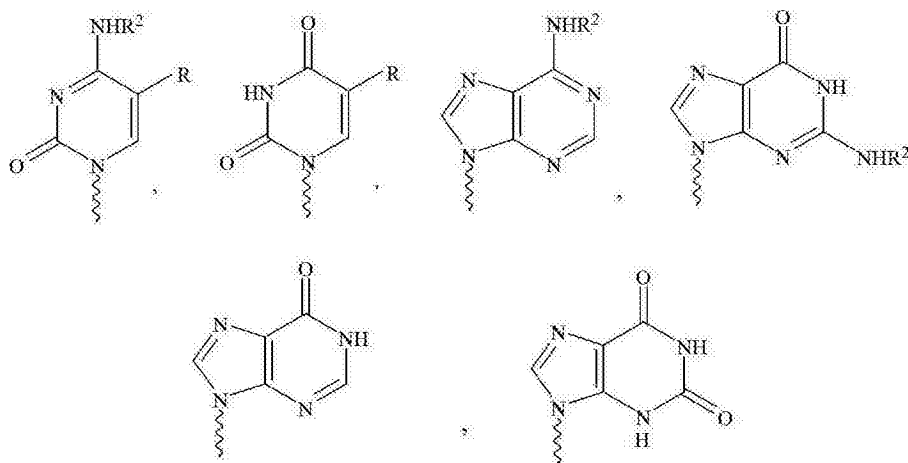
[0097] 本发明涉及以下结构的碳环核苷化合物：

[0098]



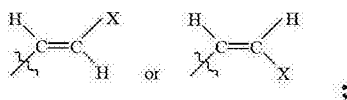
[0099] 其中 B 为：

[0100]



[0101] 其中 R 为 H、F、Cl、Br、I、C₁-C₄烷基 (优选 CH₃)、-C≡N、-C≡C-R_a、

[0102]



[0103] X 为 H、C₁-C₄烷基 (优选 CH₃)、F、Cl、Br 或 I；

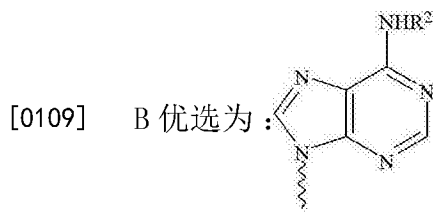
[0104] R_a 为 H 或 -C₁-C₄烷基官能团；

[0105] R¹和 R^{1a}各自独立地为 H、酰基团、C₁-C₂₀烷基或醚官能团、氨基酸残基 (D 或 L)、磷酸盐、二磷酸盐、三磷酸盐、磷酸二酯或磷酰胺 (phosphoamidate) 官能团或 R¹和 R^{1a}一起形成碳双酯 (carbodiester)、磷酸二酯或具有结合氧原子的磷酰胺 (phosphoamidate) 官能团；

[0106] R²为 H、酰基官能团、C₁-C₂₀烷基或醚官能团或氨基酸残基 (D or L)；

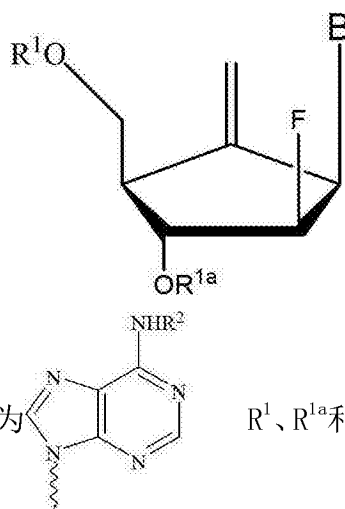
[0107] 或其药学上可接受的盐、对映体，及其水合物或溶剂化物。

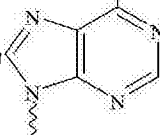
[0108] 优选 R^{1a}为 H。R¹和 R²还优选都为 H 或 C₂-C₂₀酰基官能团，更优选为 H。



[0110] 在替代优选方面，该化合物用如下化学结构表示：

[0111]



[0112] 其中 B 如上所述, 优选为  R¹、R¹ᵃ和 R²如上另行所述。

[0113] 本发明还涉及包含有效量的如上所述化合物的药用组合物, 任选与药学上可接受的载体、添加剂或赋形剂组合。在替代实施方案中, 药用组合物还可包含一种或多种与添加剂、载体或赋形剂组合的本文另行所述的辅助抗病毒试剂。

[0114] 治疗方法提出了本发明其他实施方案。在这方面, 治疗或降低病毒感染或其继发性疾病的状态或情况的方法包括施用所述有效量的如上另行所述的化合物, 具体地, 病毒感染来自需要治疗, 或有感染风险或处于其继发疾病状态或条件的患者体内的 HBV、HCV、HSV-1、HSV-2、CMV (包括 HCMV)、VZV 或 EBV 感染。替代实施方案将与辅助抗病毒试剂组合的本发明化合物联合施用给所述患者。

[0115] 基于本发明的核苷化合物的药用组合物, 包括一种或多种用于治疗或减少病毒感染可能性的有效量的上述化合物, 该病毒感染为需要治疗的患者体内的 HBV、HCV、HSV-1、HSV-2、CMV(HCMV)、VZV 或 EBV 感染, 该组合物任选与药学上可接受的添加剂、载体或赋形剂组合。本领域普通技术人员可认识到治疗的有效量将随待治疗的感染或条件、感染的严重性、待采用的治疗方案、所用试剂的药物动力学, 以及待治疗的患者或研究对象(动物或人)变化。

[0116] 在本发明的药用方面, 本发明化合物优选与药学上可接受的载体混合配制。通常, 优选采用口服型施用该药物组合物, 但某些剂型可通过肠外注射、静脉注射、肌肉注射、经皮、颊、皮下、栓剂或其他途径施用。静脉和肌肉剂型优选通过无菌生理盐水施用。在某些情况下, 可优选经皮施用。当然, 本领域普通技术人员在不导致本发明组合物不稳定或损害其治疗活性的情况下, 可在本说明书教导的范围内改进该配方以提供许多用于特定施用途径的配方。具体地, 改进本发明化合物使其更易溶于水或其他赋形剂, 例如可通过本领域普遍的技能细微改进(盐配方、酯化等)容易地完成。同样, 也可在常规职员的技术范围内改进施用途径和特定化合物的剂量方案以控制本化合物的药物动力学, 为在患者体内得到最大的有益效果。

[0117] 在某些药用剂型中, 优选特别包括本发明化合物的酰化(乙酰化或其他)和醚(烷基及其相关)的衍生物, 磷酸酯和各种盐的形式的前药形式。本领域普通技术人员可认识到如何容易地将本化合物改进为前药形式, 以利于活性化合物输至宿主生物体或患者体内的靶标部位。本领域普通技术人员还将利用该前药形式有利的药物动力学参数, 在适用处通过将本发明化合物输至宿主生物体或患者体内的靶标部位, 以最大化该化合物的预期效

果。

[0118] 包括在本发明活性配方内的化合物数量是用于治疗特别为本文另行所述的病毒感染的感染或情况的有效量。通常,本发明化合物的药用剂型的药用有效量一般为患者每日服用约 0.05mg/kg 至约 100mg/kg 或更多,更优选地,患者每日服用略少于约 1mg/kg 至约 25mg/kg 或甚至更多,该有效量取决于所用化合物、治疗情况或感染以及施用途径。本发明的活性核苷化合物优选以每日约 0.5mg/kg 至约 25mg/kg 的量施用给患者,该量取决于该试剂在患者体内的药物动力学。该剂量范围通常产生活性化合物的有效血药浓度,该浓度在该患者体内约 0.05mg/cc 血液至约 100mg/cc 血液。本发明的目的是,本发明组合物的预防性或防护性有效量(即有效降低患者感染病毒的风险可能性的量)在如上提出的药学有效量的相同浓度范围内,且通常与药学有效量相同。

[0119] 该活性化合物的施用包括连续(静脉滴注)施用,和每日分次口服施用(例如,每日四次(Q. I. D.))或透皮施用,并可包括口服、局部、胃肠外、肌肉注射、静脉注射、皮下、经皮(可包括渗透性增强试剂)、口腔和栓剂施用,及其他施用途径。肠溶口服片剂还可用于增强经口服途径施用的化合物的生物药效率。最有效的剂型将取决于所选特定试剂的生物药效率/药物动力学以及患者体内疾病的严重性。特别优选口服剂型,因为其易于施用,具有预期良好的患者依从性。

[0120] 为制备本发明药用组合物,优选根据常规药品调配技术,将药用有效量的一种或多种本发明化合物与药学上可接受的载体充分混合以生产制剂。载体可采用多种形式,该形式取决于例如口服或肠外注射的施用所需的制备形式。在制备口服剂型的药物组合物时,可使用任何常规药用介质。因此,对于例如悬浮液、酏剂和溶液的液体口服制剂,可以使用包括水、甘醇、油、酒精、调味剂、防腐剂、着色剂等合适载体和添加剂。对于如粉末、片剂、胶囊的固体口服制剂和如栓剂的固体制剂,可使用包括淀粉、糖载体(如葡萄糖、甘露醇、乳糖和相关载体)、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等合适载体和添加剂。如果需要,可通过标准技术制成肠溶或缓释的片剂或胶囊。使用这些剂型可显著增强该化合物在患者体内的生物药效率。

[0121] 对于肠外剂型,该载体通常包括无菌水或氯化钠水溶液,但也可包括那些含有助分散成分的其他成分。当然,无菌水在无菌的情况下使用和保存,该组合物和载体也必须消毒。还可制备可注射悬浮液,在这种情况下,可使用适当的液体载体,悬浮剂等。

[0122] 还可通过常规方法制备脂质体悬浮液(包括靶向病毒抗原的脂质体)以生产药学上可接受的载体。这适于输送本发明核苷化合物的自由核苷、酰基/或烷基核苷或磷酸酯前药形式。

[0123] 具体地,本发明优选实施方案是使用该化合物和组合物治疗、预防或延缓如本文另行所述的病毒感染(HBV、HCV、HSV-1、HSV-2、CMV、VZV 和/或 EBV)的发生。优选地,为治疗、预防或延缓这些感染的发生或继发于这些病毒感染的疾病状态和/或情况(特别为肝硬化,肝纤维化和/或继发于 HBV 和/或 HCV 病毒感染的肝癌),该组合物口服剂型的施用量自约 250mg 升至约 500mg 或更多,每天至少一次,优选地,升至每天四次。本发明化合物优选口服施用,但也可通过肠外、局部或栓剂形式施用。

[0124] 在本发明化合物与另一种化合物组合用于治疗病毒感染进行联合施用的情况下,该病毒感染具体地如 HBV、HCV、HSV-1、HSV-2、CMV、VZV 和/或 EBV 感染等,本发明碳环核

昔化合物的量为约 1mg/kg (患者) 至约 500mg/kg (患者) 或更多, 或甚至更多, 该量取决于待联合施用的第二种试剂及其抵御每种待抑制的病毒感染的效力, 治疗情况或治疗的感染, 以及施用途径。在联合施用情况下, 其他抗病毒试剂优选的施用量为约 100ug/kg (微克每千克) 至约 500mg/kg。在某些优选实施方案中, 这些化合物优选施用量为约 1mg/kg 至约 50mg/kg 或更多 (通常升至约 100mg/kg), 该量通常取决于两种试剂在患者体内的药物动力学。这些剂量范围通常在患者体内产生活性化合物的有效血药浓度。可与本发明化合物联合施用的常规抗病毒试剂包括阿昔洛韦(acyclovir)、泛昔洛韦(famciclovir)、更昔洛韦(ganciclovir)、伐昔洛韦(valaciclovir)、阿糖腺苷(vidaribine)、利巴韦林(ribavirin)、带状疱疹-免疫球蛋白(zoster-immune globulin) (ZIG)、拉米夫定(lamivudine)、阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine)、克拉夫定(clevudine)、替诺福韦(tenofovir) 及其混合物。在治疗 HBV 感染的病例中, 与本发明 2'-氟碳环核苷化合物组合的优选化合物包括, 例如 Hepsera (阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil)), 拉米夫定(lamivudine)、恩替卡韦(entecavir)、替比夫定(telbivudine)、替诺福韦(tenofovir)、恩曲他滨(emtricitabine)、克拉夫定(clevudine)、Valtoricitabine、氨多索韦(amdoxovir)、帕拉德福韦(pradefovir)、Racivir、BAM 205、硝唑尼特(nitazoxanide)、UT231-B、Bay 41-4109、EHT899、日达仙(zadaxin) (胸腺肽 α -1) 及其混合物。在 HCV 感染的病例中, 本发明的 2'-氟碳环核苷化合物可优选与另一种抗 HCV 试剂联合施用, 例如, NM283、VX-950 (特拉匹韦)、SCH50304、TMC435、VX-500、BX-813、SCH503034、R1626、ITMN-191 (R7227)、R7128、PF-868554、TT033、CGH-759、GI5005、MK-7009、SIRNA-034、MK-0608、A-837093、GS9190、ACH-1095、GSK625433、TG4040 (MVA-HCV)、A-831、F351、NS5A、NS4B、ANA598、A-689、GNI-104、IDX102、ADX184、GL59728、GL60667、PSI-7851、TLR9 激动剂、PHX1766、SP-30 和其混合物。

[0125] 采用本发明化合物有利于预防性地防止或减少病毒感染的可能性, 或防止或减少与该病毒感染相关的临床症状发生的可能性、或防止或减少病毒感染传播给他人的可能性。因此, 本发明还包括 HBV、HCV、HSV-1、HSV-2、CMV、VZV 和 / 或 EBV 病毒感染的预防性治疗方法。在本发明的这个方面, 本发明组合物可用于预防或降低病毒感染发生或与病毒相关的疾病状态或情况 (例如, 肝硬化、肝纤维化和 / 或肝癌症) 或传播感染给其他人的可能性, 或延缓其发生。该预防性方法包括施药给需要该治疗或有 HBV、HCV、HSV-1、HSV-2、CMV、VZV 和 / 或 EBV 感染发展风险的患者, 该方法包括与病毒相关的疾病状态或条件, 或希望防止或减少将病毒感染传播给他人可能性的受感染患者, 单独或与其他抗病毒试剂组合施用以减轻、防止或延缓该病毒感染发生的本发明化合物的有效量。在本发明的预防性治疗中, 优选的是所用抗病毒化合物应对患者低毒, 优选无毒。本发明的该方面特别优选的是, 所用化合物应有最高抗病毒效力且对患者表现出最小的毒性。在用于预防性治疗病毒感染的本发明化合物实施例中, 这些化合物作为预防试剂可在相同的治疗剂量范围 (即约 250mg 升至约 500mg 或更多, 口服剂型, 每天一至四次) 内用药, 以防止该病毒感染扩散, 或者, 拖延患者表现出自身临床症状的病毒感染的发生或减少其可能性。

[0126] 此外, 本发明化合物单独或与包括本发明其他化合物的其他试剂组合施用。本发明的某些化合物, 可通过降低其他化合物的新陈代谢、分解代谢或钝化, 有效增强本发明的某些试剂的生物活性, 因此联合施用以取得该预期效果。

[0127] 化学合成

[0128] 通常,本发明的组合物很容易地自方案 I、II 和替代方案 II 的 D-核糖合成,这些方案见附图 3、4 及 5。在该方案中, D-核糖首先通过一系列化学步骤转换至如图 3 方案 I (化合物 10)所示的受保护的五元碳环。依据方案 I,随后将化合物 10 转换为本发明化合物 (化合物 15),具体是通过核苷碱与 6-氯腺嘌呤缩合(见该图)以产生化合物 11,随后该化合物 11 转换为所示的胺基官能团以产生化合物 15。在替代方案 II (图 5)中,使用替代方案 II (图 5)中所示的替代方法,由化合物 10 合成化合物 15 (在该方案中标记为化合物 18)。本发明的每种化合物都可按照图 3、4 及 5 所示的一般化学方案类推产生。

[0129] 利用标准合成化学将各种官能团引至碳环部分的 2'、3' 和 / 或 5' 的羟基位上或者替代地,引至该胞嘧啶碱部分的 4-位的该环外胺处的羟基位,可将以上每种碳环核苷化合物容易地转换制备为本发明的前药形式或替代形式(例如本文另行所述的,酰化、磷酸盐或磷酸二酯衍生物等)。通过本领域所熟知的合成方法(酰酐,酰卤等)进行酰化,并使用本领域所熟知的标准化学技术完成磷酸化。利用本文提供的特定化学步骤或类似方法,使用文献所载化学步骤及类似方法,本领域普通技术人员可容易地合成本发明的化合物。

[0130] 在碳环核苷的合成中,获得所需碳环结构不错的收率和规模经常是棘手的。仅有几份针对性地通过 6'-外-环烯烃制备碳环核苷的报告,包括由 Bristol-Meyer Squibb 合成恩替卡韦(entecavir),或通过该自由基环化反应的方案。³⁶⁻³⁹然而,这些方法在该碳环的 2' 位的改性不是很适合的。最近,关键中间体 1 高效、实用的合成方法也已由我们团队完成。^{33,34,40}因此,已开发了制备 2'-氟-6'-甲基碳环核苷的替代途径(方案 1 和 2)。

[0131] 更具体地,根据已知程序^{33,34,40}制备环戊酮 1。环戊酮 1 的烯醇化物与二甲基亚甲基碘化铵(Eschenmoser's salt)的反应将 N,N-二甲基氨基官能团放在该酮的 α -位置上。经霍夫曼消除反应(Hofmann elimination)后,得到不错收率的 6'-亚甲基。由于 α -面上的空间位阻,通过典型的 Luche 还原反应条件还原 α , β -不饱和酮 2 以得到唯一的 α -羟基化合物 3。通过苄基保护烯丙醇,顺利地自环戊酮 1 生成具有 43%收率的化合物 4。同时,丙酮化合物和叔丁基官能团在酸性条件下进行脱保护进而生成具有 85%收率的三元醇 5。在吡啶中,用 1,3-二氯-1,1,3,3-四异丙基二硅氧烷(dichlorotetraisopropylidisiloxane) (TIPDSCI) 处理三元醇 5,得到高收率的 3',5'-脱保护的化合物 6。化合物 6 中的 2'- α -OH 自由基易于发生氟化反应。此外,当化合物 6 经过包括三氟甲磺酰化(triflation)反应, S_N2 取代反应及脱乙酰作用的三步方案,得到 81%收率的 2'- β -羟基化合物 7,该化合物 7 可用于制备'- α -氟异构体。化合物 6 与(二乙胺基)三氟化硫(DAST)反应收得为 2'- β -氟化合物 7 的主产品。然而,在 Birch 还原或 Lewis 酸的条件下,存在甲硅烷基官能团时,随后的脱苄基作用未能成功。因此,通过标准程序用苯甲酰基官能团取代甲硅烷基官能团,以提供 10。然后,在 -78°C 下使化合物 10 与三氯化硼(BCl_3)作用,成功地产生了已全面描述的中间体 11,其收率为 89% (方案 1)。

[0132] 通过典型 Mitsunobu 条件^{33,34},在四氢呋喃(THF)中,三苯基膦和偶氮二甲酸二异丙酯存在下,于 0°C 至室温下,用 6-氯嘌呤处理 11,经 1 小时得到核苷 12 的结构。不幸地是,直接将氯原子胺化至氨基官能团,并同时通过甲醇氨水解苯甲酰基官能团未能成功。通过 1H -NMR 和 ^{19}F -NMR 证实在这种条件下消除了一分子的氟化氢(HF)。有趣地,即使在很温和的条件下,如施陶丁格反应(Staudinger Reaction),也不能获得转换。推测是 6'-亚甲基官

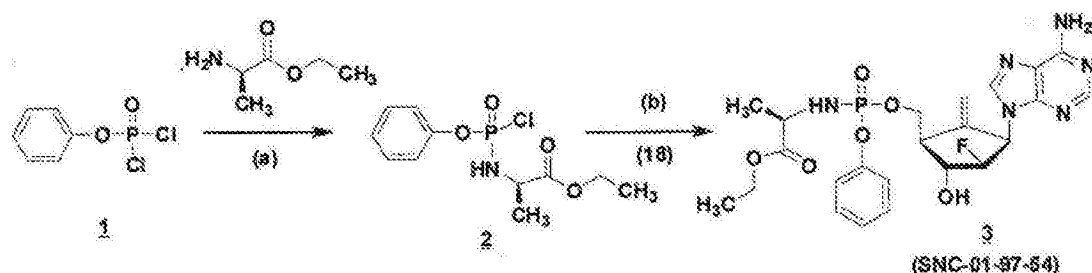
能团激活了 1'-质子,经反式消除反应,形成了稳定的二烯。为避开 6'-亚甲基官能团的影响,优选进行临时性保护。使用四氧化锇 /NMO 完成外环烯烃的双羟化以提供非对映异构体 12 的混合物。正如所料,通过与叠氮化钠反应,然后用 H_2 进行还原,顺利地将非对映异构体 12 转换为腺嘌呤衍生物 13,其收率为 62%。接下来,研究自二元醇再生该烯烃的几种条件。用 1,3-二甲基-2-苯基-1,3,2-二氮磷啶(1,3-dimethyl-2-phenyl-1,3,2-diazaphospholidine)对 1,3-二氧戊环-2-硫酮(1,3-dioxolane-2-thiones)进行脱硫的科里(Corey)烯烃合成,因其温和有效而众所周知。⁴¹然而,当我们将该条件应用于化合物 13 时,只得到复杂的反应混合物。另一种在乙酸酐中加热 2-甲氧基-1,3-二氧戊环衍生物的通常方法,在本实施例中也未成功,可能是因为高的反应温度。⁴²最后,我们在 2',3'-双脱氧-2',3'-二氢核苷或 2',3'-双脱氧核苷的合成中采用广泛使用的还原消除反应方案。⁴³⁻⁴⁵二元醇 13 在 -30℃ 至室温下,与 2-乙酰氧基异丁酰溴反应,随后在 DMF 中,室温下,催化量的醋酸存在下,利用活化的金属锌,反应 8 小时。采用两个步骤,得到了所需的具有 6'-亚甲基官能团的核苷 14,其收率为 68%。基于以往的经验,当 6'-亚甲基官能团和 2'-F 同时存在于该分子中时,基本条件将不适合 14 解除苯甲酰官能团。因此,应用还原裂解方法。在 -78℃,用二异丁基氢化铝(DIBAL-H)在 CH_2Cl_2 中处理 14,经 30 分钟后,最终获得收率为 76% 的目标腺苷类似物 15 (方案 2)。通过 NMR、元素分析、高分辨质谱及 UV 光谱完成新合成的核苷结构的排布。

[0133] 也可采用替代方法产生化合物 15 (在图 5 的替代方案 II 中标记为化合物 18),使用作为替代化学合成法(图 5)的合成步骤进行合成。采取了几种方法以产生化合物 18 (与图 4 的化合物 15 相同)。在标准 Mitsunobu 条件下,化合物 10 与 6-氯嘌呤缩合,得到收率为 76% 的 11。然而,试图通过甲醇氨胺化 11 以获得相应的腺嘌呤衍生物 13 未成功。只分离出可能在碱性条件下失去氟化氢(HF)形成的副产物 12。推测消去产物 12 的稳定性,即共轭二烯,是促进该副反应的驱动力。因此,需要对环外双键进行暂时保护。因此用四氧化锇 /NMO 处理化合物 11 以提供收率为 41% 的 14。用 NaN_3 处理,随后用 H_2 还原,产生 62% 的腺嘌呤衍生物 15a。用 2-乙酰氧基异丁酰溴还原消除 15a,随后在催化量的醋酸存在下通过活化锌提供收率为 68% 的所需核苷 13。

[0134] 由于途径 1 的多重合成步骤以及 13 的低收率,最近该发明者们将该合成修改为途径 2。根据文献中报道的方案¹⁵,合成了 N-叔丁氧羰基(N-Boc)保护的腺嘌呤 16,并与 10 进行缩合,获得收率为 76% 的 17。通过 TFA 对叔丁氧羰基(Boc)官能团进行脱保护,提供收率为 82% 的 13。最终,用二异丁基氢化铝(DIBAL-H)处理 13 产生收率为 76% 的目标化合物 18 (化合物 15)。化合物 15/18 的分析数据在下述实施例部分给出。

[0135] 这里给出将该自由核苷(如上所述的化合物 15/18)转换为磷酰胺(phosphoramidate)前药:2'-脱氧-2'-氟-3'-羟基-4'-(羟甲基)-5'-亚甲基-碳环腺苷(2'-FMCA)单磷酸盐前药,的合成实施例。试剂与条件如下:(a)三乙胺($(Et)_3N$), -78℃, CH_2Cl_2 ;(b)化合物 18, NMI (N-甲基咪唑),四氢呋喃(THF),室温。

[0136]



[0137] 抗 HBV-WT 和突变菌株的抗病毒活性

[0138] 拉米夫定(Lamivudine)是第一个授权的抗 HBV 核苷,其引起了 HBV 治疗领域的突破。与安慰剂对照组相比,使用拉米夫定(Lamivudine)治疗患者经常伴有血清 HBV DNA 水平显著减少和血清学转变及组织学改善。^{11,46}然而,拉米夫定(Lamivudine)耐药突变率相对高(治疗 5 年后为 70%),这限制了拉米夫定(Lamivudine)的临床效果。¹¹⁻¹⁴该主要突变为 rtM204V/I 和补偿性突变包括 rtV173L、rtL180M 和 rtL80I。^{9,10}从结构看,该 rtM204V/I 通过 Val/Ile204 的侧链和拉米夫定(lamivudine)的 L- 糖环之间的空间位阻引起该耐药性。^{47,48}考虑该相同的 L- 构型,替比夫定(telbivudine)必然与例如 rtM204I 的拉米夫定(lamivudine)耐药菌株交叉耐药。¹⁵另一个重要的临床 HBV 突变为 rtN236T,其与阿德福韦(adeфовир)治疗相关,治疗 5 年后的耐药突变率高达 29%。¹⁶⁻¹⁸分子模拟研究表明,在第 236 位密码子上的天冬氨酸(Asp)变异成苏氨酸(Thr)的突变导致阿德福韦-二磷酸的 γ -磷酸盐和原 Asp236 之间的氢键断裂,亲和力下降,因此损害了阿德福韦(adeфовир)抗 rtN236T 突变体的抗病毒活性。^{49,50}

[0139] 鉴于拉米夫定(lamivudine-) 耐药突变和阿德福韦(adeфовир-) 耐药突变在抗 HBV 治疗的临床应用中的显著性,对该合成核苷 15 进行抗 HBV WT 以及拉米夫定(lamivudine-) 耐药突变体和阿德福韦(adeфовир-) 耐药突变体的测试。所筛选数据汇总于表 1。利用 1.5 μ M 的 50%有效浓度(EC_{50})和 4.5 μ M 的 90%有效浓度(EC_{90}),核苷 15 表现出对 HBV WT 的强抗病毒活性。有趣的是,核苷 15 还对包括 rtM204V/I $\pm$ rtL180M 的拉米夫定(lamivudine-)耐药突变体起作用。(其抗病毒活性)倍数增加约 1.0-1.2,与阿德福韦(adeфовир-)的抗病毒活性相当。此外,使用 4.6 μ M 的 EC_{90} 值的化合物 15 也未损失对阿德福韦(adeфовир)突变体(rtN236T)的活性。

[0140] 除 2'- 位置上具有一个额外的 β -氟原子外,化合物 15(与图 5 中的化合物 18 相同,替代地称为化合物 15/18)的结构类似于已批准的抗 HBV 核苷,恩替卡韦(entecavir)。如我们的模拟研究(参见下文)所表明的,两种核苷的低能量构象异构体的构型也是相似的。然而,氟化的核苷 15 并不与所有已测试的拉米夫定(lamivudine)耐药突变体都交叉耐药,而恩替卡韦(entecavir)失去 8 倍活性。⁵⁰虽然该详细机理仍不清楚,但该 2'- 氟取代是很重要的。

[0141] 对该合成核苷 15/18 进行抗野生型 HBV 及耐药突变体的体外抗病毒活性评估,该结果汇总于下表 1 中。因化合物 15/18 是腺嘌呤类似物的衍生物,尽管鸟嘌呤类似物阿德福韦(adeфовир)的碳环部分与恩替卡韦(entecavir)活性相似,但发明者们将该抗病毒活性与阿德福韦(adeфовир)进行比较,而不是恩替卡韦(entecavir)。根据该抗 HBV 的评估,使用 1.5 μ M 的 EC_{50} 值的化合物 15/18 对野生型 HBV 表现出显著的抗 HBV 活性。该抗病毒效力类似于阿德福韦(adeфовир),然而 7 倍小于拉米夫定(lamivudine)的效力。抑制 90%

(EC₉₀)的野生型 HBV DNA 所需的化合物浓度为 4.5 μM,其 1.5 倍超过阿德福韦(7.1 μM)的效力。

[0142] 化合物 15/18 还显示出抗拉米夫定和阿德福韦相关的 HBV 突变体的优异活性。已发现化合物 15/18 给予 4.5 倍增强 EC₅₀值(1.7 μM)和 7.8 倍更有利的 EC₉₀值(4.6 μM)以抵抗阿德福韦(adeфовир)突变体 rtN236T。对于 rtM204V 和 rtM204I,化合物 18 分别显示出 1.8 μM 和 1.0 μM 的 EC₅₀值。对于 rtM204V 突变体,阿德福韦(adeфовир)和化合物 15/18 的效力相近,但对 rtM204I,化合物 15/18 在 EC₅₀以及 EC₉₀值上比阿德福韦(adeфовир)更有效力。对于 rtL180M 突变体,化合物 15/18 在 EC₅₀值上与拉米夫定(lamivudine)的抗病毒效力相似(2.1 对 1.5),但在 EC₉₀值上化合物 15/18 的抗病毒活性增加 4.3 倍(5.1 对 22.0)。对于相同的突变体,化合物 15/18 在 EC₅₀和 EC₉₀值上比阿德福韦(adeфовир)更有效力。

[0143] 测试化合物 15/18 抗双突变 rtL180M/rtM204V 的效力,该测试表明 2.2 μM 的 EC₅₀值与阿德福韦(adeфовир)相同,而 15/18 的 EC₉₀值(5.5 μM)比阿德福韦(adeфовир)(8.5 μM)更有效。

[0144] 分子模拟

[0145] 鉴于核苷 15/18 和恩替卡韦(entecavir)的化学结构类似而耐药特征有区别的事实,我们进行分子模拟研究试图了解可能的机理。在我们的构象搜索中,将恩替卡韦(entecavir)模型成其腺嘌呤类似物 16,与同为腺嘌呤衍生物的合成核苷 15 相比较。在 GB/SA 连续水模型中使用分子力场(MMFF)以模拟真正的生物环境,进行蒙特卡罗(Monte-Carlo)构象搜索。使用 PROSIT 计算出详细的假回转参数。⁵¹

[0146] 根据该计算,化合物 15 采用了具有反式碱式排列(anti base disposition)的 Southern 构象,为 2'-内型糖构象(图 2 中的结构 15)。在模型化的化合物 16 的实例中,还优选 Southern 构象,为 2'-内型糖构象,当其全局最小构象异构体具有顺式碱式排列时(未显示在图 2 结构中),易于以 0.5kJ/mol 的低能耗转换至反式排列(图 2 中的结构 16)。表 2 中列有详细的构象参数值。糖构象分析表明,化合物 16 的 Southern 构象 2'-内型和 Northern 构象 3'-内型之间的能差为 4.8kJ/mol,而对于核苷 15 仅为 4.0kJ/mol,这可能部分地归因于 2'-F 取代的影响。因此,由于 Southern 构象和 Northern 构象之间较低的能垒,故对于氟化的核苷 15,这两种构象之间的互换比 16(表 2)更容易。某种灵活的构象可允许 15 在该聚合酶活性部位内微调其位置,以在突变发生时保持紧密结合,这可解释 15 保持抗拉米夫定(lamivudine-)和阿德福韦(adeфовир-)耐药突变体的活性。实际上,氟替代的影响已在同为 2'-F 核苷的克拉夫定(clevudine)实例中观察到。⁵²

[0147] 现通过如下实施例仅例证性描述本发明。本领域普通技术人员将理解这些实施例为非限制性,在不背离本发明主旨和范围的情况下可进行各种细节变化。

[0148] 实施例

[0149] 实验(化学合成)

[0150] 一般方法:通过 Mel-temp II 设备测定熔点,未修正。以四甲基硅烷作为内标,用 Varian Mercury400 分光计记录 ¹H NMR (400MHz)和 ¹³C NMR (100MHz),或 Varian Inova 500 分光计记录 ¹H NMR (500MHz)和 ¹³C NMR (125MHz)的核磁共振光谱。将化学位移(δ)记为 s(单峰)、d(双重峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、m(多重峰)或 bs(宽峰)。用 Beckman

DU-650 分光光度计记录 UV 光谱。用 Jasco DIP-370 数字旋光仪测定旋光度。用 Micromass Autospec 高分辨率质谱仪记录高分辨率质谱。薄层色谱法(TLC)采用购自 Analtech 有限公司的 Uniplates (硅胶)进行。针对快速层析使用硅胶 -60 (220-440 目),或针对真空快速柱层析使用硅胶 G (TLC 级, >440 目)进行柱层析。美国乔治亚州诺克斯市的 Atlantic Microlab 股份有限公司进行元素分析。

[0151] (-)-(3aR, 4S, 6R, 6aR)-4-(苄氧基)-6-(叔-丁氧甲基)-2, 2-二甲基-5-亚甲基四氢-3aH-环戊二烯并[d][1, 3]间二氧杂环戊烯(4)的合成

[0152] 将二异丙基胺基锂(2.0M 溶液, 19.1mL, 38.1mmol)溶液在 -78℃ 下缓慢加入到化合物 1 的 THF 混合物中(8.4g, 34.6mmol)。^{33, 34, 40}相同温度下搅拌 3 小时后, 加入一份 Eshenmoser 盐(25.9g, 138.4mmol)。相同温度下再搅拌该混合物 3 小时, 于室温下过夜。然后, 加入碘代甲烷(108.8mL, 1.73mol), 并在室温下搅拌 4 小时, 随后用 10% 的 NaHCO₃水溶液(100mL)猝灭(quenching)。搅拌混合物 1 小时后, 用乙醚(2×400mL)萃取。合并的乙醚萃取物用 10% 的 NaHCO₃水溶液洗涤, 然后盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄干燥, 真空过滤和浓缩。残留物通过真空硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:30 至 1:10)纯化, 得到溶解于 MeOH 的油(4.6 克), 并用 CeCl₃·7H₂O (7.5g, 19.6mmol)在室温下处理 10 分钟。冷却至 -78℃ 后, 缓慢加入 NaBH₄ (0.75g, 20.0mmol)。相同温度下反应 20 分钟并用乙酸猝灭。在真空中除去溶剂, 将该残留物溶于乙酸乙酯, 并用水及盐水洗涤, Na₂SO₄上干燥。减压除去该溶剂, 并通过真空硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:30 至 1:10)纯化该残留物, 得到直接用于下一步的白色固体(4.0g)。将自上一步的白色固体(8.0g, 31.2mmol)溶解于 THF 中, 并用 NaH (60%, 1.62g, 40.5mmol)在室温下处理 15 分钟。随后加入苄基溴(4.81mL, 40.5mmol)和四丁基碘化铵(TBAI), 在 40℃ 下搅拌该混合物 3.5 小时。用冰/水猝灭后, 将该混合物放入乙醚中, 并用水及盐水洗涤, Na₂SO₄上干燥。减压除去该溶剂, 用真空硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:30 至 1:20)纯化该残留物, 得到所需化合物 4 (9.7g, 43% (自 1))。[α]_D²⁴-121.09° (c 0.83, CHCl₃); ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 7.43-7.26(m, 5H), 5.28(d, J = 1.0Hz, 1H), 5.07(t, J = 1.0Hz, 1H), 4.83(d, J = 12.0Hz, 1H), 4.68(d, J=13.0Hz, 1H), 4.56(t, J = 5.5Hz, 1H), 4.44(t, J = 1.0Hz, 1H), 4.32-4.30(m, 1H), 3.42(dd, J = 4.0and 8.5Hz, 1H), 3.21(dd, J = 5.0and 8.5Hz, 1H), 2.59-2.57(m, 1H), 1.46(s, 3H), 1.34(s, 3H), 1.02(s, 9H); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) δ 150.6, 138.6, 128.3, 127.8, 127.6, 110.8, 108.9, 81.3, 79.7, 78.5, 72.6, 71.8, 64.5, 49.9, 27.3, 26.9, 25.3; HR-MS Calcd. for (C₂₁H₃₀O₄+H)⁺347.2222, found 347.2225。

[0153] (-)-(1S, 2S, 3S, 5R)-3-(苄氧基)-5-(羟甲基)-4-亚甲基环戊烷-1, 2-二醇(5)的合成

[0154] 将化合物 4 (450mg, 1.3mmol)溶解于 MeOH, 在回流温度下用 3N HCl 处理 3.5 小时。与固体 NaHCO₃中和后, 除去该溶剂, 用真空硅胶柱层析法(MeOH:CH₂Cl₂=1:30 至 1:10)纯化残留物, 得到白色固体的三元醇 5 (280mg, 85%)。熔点 122-124℃; [α]_D²⁴-123.05° (c 0.37, MeOH); ¹H NMR(500MHz, CD₃OD) δ 7.46-7.30(m, 5H), 5.34(dd, J = 1.0and 3.0Hz, 1H), 5.21(s, 1H), 4.77(d, J = 12.0Hz, 1H), 4.62(d, J = 12.5Hz, 1H), 4.17-4.14(m, 2H), 3.95-3.93(m, 1H), 3.82-3.73(m, 2H), 2.69-2.66(m, 1H); ¹³C NMR(125MHz, CD₃OD) δ 148.9, 138.3, 128.0, 127.6, 127.3, 109.1, 80.8, 71.7, 71.0, 70.8, 61.8, 49.6; HR-MS Calcd.

for (C₁₄H₁₈O₄+H)⁺251.1283, found 251.1281。

[0155] (-)-(6aR,8S,9R,9aR)-8-(苄氧基)-2,2,4,4-四异丙基-7-亚甲基全氢化环戊二烯并[f][1,3,5,2,4]trioxadisilocin-9-醇(6)的合成

[0156] 在-30℃下,将1,3-二氯-1,1,3,3-四异丙基二甲硅氧烷(tetraisopropyldisiloxane)(5.5mL,16.8mmol)滴入三元醇5(4.0g,16.0mmol)的无水吡啶溶液中。该反应混合物逐渐升温至室温,在相同温度下保持2小时。真空中除去吡啶后,将该残留物溶解于乙酸乙酯,并用水及盐水洗涤,硫酸镁干燥,在真空中过滤和浓缩。用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:30至1:5)纯化该残留物,收得浆状乙醇6(6.5g,82%)。[α]_D²⁴-105.94°(c 0.58,CHCl₃);¹H NMR(500MHz,CDCl₃) δ 7.41-7.26(m,5H),5.36(t,J=2.5Hz,1H),5.11(t,J=2.5Hz,1H),4.77(d,J=12.0Hz,1H),4.62(d,J=12.5Hz,1H),4.18-4.14(m,2H),4.05(dd,J=4.5and 12.0Hz,1H),3.78(dd,J=8.0and 12.0Hz,1H),2.90-2.88(m,1H),1.08-0.97(m,27H);¹³C NMR(125MHz,CDCl₃) δ 147.3,138.1,128.4,127.6,127.5,111.1,80.2,74.2,71.2,71.1,64.9,50.1,17.6,17.5,17.4,17.3,17.2,17.1,17.0。Anal. Calcd. for C₂₆H₄₄O₅Si₂:C,63.37;H,9.00。Found:C,63.64;H,9.05。

[0157] (-)-(6aR,8S,9R,9aR)-8-(苄氧基)-2,2,4,4-四异丙基-7-亚甲基全氢化环戊二烯并[f][1,3,5,2,4]trioxadisilocin-9-醇(7)的合成

[0158] 在-78℃下,用三氟甲磺酸(trifluoromethanesulfonic)酐(0.94mL,5.6mmol)处理化合物6(2.1g,4.3mmol)与无水CH₂Cl₂(20mL)吡啶(1.05mL,12.6mmol)的溶液。反应混合物逐步升温至室温,相同温度下保持20分钟。真空中除去该溶剂后,将该残留物溶解于乙酸乙酯,并用水及盐水洗涤,硫酸镁干燥,真空中过滤和浓缩。将该残留物溶解于无水苯(40毫升),加入18-冠-6(2.25g,8.6mmol)和醋酸铯(2.47g,12.6mmol)。在50℃加热该悬浮液30分钟,冷却至室温。除去该溶剂后,将该残留物溶解于MeOH,用甲醇钠在室温下处理3小时后,真空中浓缩。用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:10至1:3)纯化该残留物,得到7(1.7g,81%(自6))。[α]_D²⁴-76.47°(c 0.82,CHCl₃);¹H NMR(500MHz,CDCl₃) δ 7.41-7.26(m,5H),5.34(t,J=2.5Hz,1H),5.16(t,J=2.0Hz,1H),4.80(q,J=12.0Hz,2H),4.12-3.89(m,5H),2.60(m,1H),1.09-0.94(m,27H);¹³C NMR(125MHz,CDCl₃) δ 144.4,138.6,128.5,127.7,127.6,111.5,82.4,82.3,77.3,77.0,76.8,76.2,71.8,62.7,49.4,17.6,17.5,17.4,17.3,17.2,17.1,17.0,13.6,13.4,12.8,12.6。HR-MS Calcd. for (C₂₆H₄₄O₅Si₂+H)⁺493.2806, found 493.2736。

[0159] (-)-(6aR,8S,9R,9aR)-8-(苄氧基)-9-氟-2,2,4,4-四异丙基-7-亚甲基全氢化环戊二烯并[f][1,3,5,2,4]trioxadisilocin(8)的合成

[0160] 在室温下,将(二乙胺)三氟化硫(DAST,1.84mL,13.9mmol)缓慢加入到无水CH₂Cl₂乙醇6(6.5g,13.2mmol)溶液。20分钟后,用冰水猝灭反应混合物。收集该有机层,并用二氯甲烷萃取该水相。然后合并该有机层,在硫酸镁上干燥,真空中过滤和浓缩。该粗制残留物立即用于接下来的脱保护步骤。使用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:100至1:20)进行纯化得到8的分析样品。[α]_D²⁴-104.08°(c 0.51,CHCl₃);¹H NMR(500MHz,CDCl₃) δ 7.39-7.26(m,5H),5.36(t,J=2.5Hz,1H),5.20(dd,J=2.5and 5.0Hz,1H),4.92(ddd,J=6.0,7.5and 55.0Hz,1H),4.78(d,J=11.5Hz,1H),4.65(d,J=11.5Hz,1H),4.31-4.26(m,1H),4.23-4.16(m,1H),4.01-3.92(m,1H),1.08-0.94(m,27H);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃)

δ 142.6 (d, $J = 9.2$ Hz), 137.9, 128.4, 127.8, 127.7, 112.7, 103.4 (d, $J=189.0$ Hz), 80.4 (d, $J = 21.3$ Hz), 73.8 (d, $J=19.8$ Hz), 71.3, 61.6, 48.8 (d, $J = 5.3$ Hz), 17.5, 17.4, 17.1, 17.0, 16.9, 16.8, 13.4, 13.3, 12.7, 12.5. HR-MS Calcd. for $(C_{26}H_{43}FO_4Si_2+H)^+$ 495.2762, found 495.2769.

[0161] (-)-[(1R, 2Ri3R, 4R)-2-(苯酰氧基)-4-(苄氧基)-3-氟-5-亚甲基环戊基] 苯甲酸甲酯(9)的合成

[0162] 将粗制氟化化合物 8 (直接来自上一步) 溶解于 THF, 并先用醋酸(3.2mL, 53.0mmol), 再用四丁基氟化铵(TBAF) (40mL, 40.0mmol) 在室温下处理 1 小时。真空中除去该溶剂后, 将该残留物溶解于异丙醇 / 氯仿(4:1) 助溶剂, 并用水洗涤。收集该有机层, 在硫酸镁上干燥, 真空中过滤和浓缩。用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:4 至 1:1) 纯化该溶液得到二元醇。将二元醇(1.0g, 4.0mmol) 溶解于在无水吡啶, 并用苯甲酰氯(1.88mL, 16.0mmol) 在室温下处理。4 小时后, 真空中除去吡啶, 并将该残留物溶解于乙酸乙酯。用水及盐水洗涤该溶液, 硫酸镁干燥, 真空中过滤和浓缩。用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:20 至 1:3) 纯化该残留物, 得到 9 (1.8 克, 61%)。 $[\alpha]_D^{24} -52.71^\circ$ (c0.55, $CHCl_3$); 1H NMR(500MHz, $CDCl_3$) δ 8.03-7.26 (m, 15H), 5.68-5.61 (m, 1H), 5.49 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.34 (dd, $J = 2.5$ and 4.5 Hz, 1H), 5.20 (td, $J = 6.0$ and 53.0 Hz, 1H), 4.82 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 4.62 (dd, $J = 5.0$ and 10.5 Hz, 1H), 4.55-4.50 (m, 2H), 3.24-3.23 (m, 1H); ^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) δ 166.3, 165.7, 142.8 (d, $J = 7.6$ Hz), 137.5, 133.4, 133.0, 129.8, 129.6, 129.5, 129.3, 128.5, 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 114.3, 99.9 (d, $J = 189.9$ Hz), 81.2 (d, $J = 22.0$ Hz), 76.2 (d, $J = 23.8$ Hz), 71.7, 64.9, 45.0 (d, $J = 4.5$ Hz). HR-MS Calcd. for $(C_{28}H_{25}FO_5+H)^+$ 461.1764, found 461.1756.

[0163] (-)-[(1R, 2R, 3R, 4R)-2-(苯酰氧基)-3-氟-4-羟基-5-亚甲基环戊基] 苯甲酸甲酯(10)的合成

[0164] 在 $-78^\circ C$ 下用三氯化硼(9.1mL 1M 的溶液加入到 CH_2Cl_2 中, 9.1mmol) 处理无水 CH_2Cl_2 化合物 9 (1.4g, 3.0mmol)。相同温度下搅拌 30 分钟后, 再加入部分三氯化硼(6.1mL 1M 的溶液加入到 CH_2Cl_2 中, 6.1mmol)。15 分钟后, 在 $-78^\circ C$ 中用 MeOH 猝灭该反应, 并在真空中浓缩。用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:10 到 1:3) 纯化该残留物得到浆状物 10 (1.0g, 89%)。 $[\alpha]_D^{26} -53.55^\circ$ (c 0.25, $CHCl_3$); 1H NMR(500MHz, $CDCl_3$) δ 8.03-7.32 (m, 10H), 5.66 (td, $J = 6.8$ and 16.4 Hz, 1H), 5.49 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 5.32 (dd, $J = 2.0$ and 4.4 Hz, 1H), 4.96 (td, $J = 6.8$ and 54.4 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.64-4.52 (m, 2H), 3.21 (m, 1H), 2.66 (d, $J = 7.0$ Hz, D_2O exchangeable, 1H); ^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) δ 166.3, 165.8, 144.4 (d, $J = 8.4$ Hz), 133.4, 133.1, 129.8, 129.6, 129.2, 128.4, 128.3, 113.1, 99.9 (d, $J = 191.3$ Hz), 75.3, 75.2, 75.1, 75.0, 65.4, 44.8 (d, $J=3.8$ Hz). Anal. Calcd. for $C_{21}H_{19}FO_5$: C, 68.10; H, 5.17. Found: C, 67.78; H, 5.27.

[0165] (1R, 3R, 4R, 5R)-5-(苯酰氧基)-3-(6-氯代-9H-9-嘌呤基)-4-氟-2-羟基-2-(羟甲基)环戊基] 苯甲酸甲酯(12)的合成

[0166] 在 $0^\circ C$ 下, 5 分钟内将三苯基膦(TPP, 1.13g, 4.33mmol) 和含 6-氯嘌呤(0.67g, 4.33mmol) 的无水四氢呋喃(20mL) 以及偶氮二异丁腈(diisopropyl azodicarboxylate) (DIAD, 0.89mL, 4.33mmol) 加入化合物 10 的溶液(1.07g, 2.89mmol) 中。反应升温至室温,

并保持 1 小时。加入 MeOH (1mL) 猝灭反应,真空中蒸发。用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=1:4 至 1:2)纯化该残留物,得到被还原的 DIAD 类物质污染的偶联核苷混合物 11。将该粗制化合物 11 (660mg) 溶于丙酮/H₂O (15mL/2.5mL) 中,并用四氧化锇(1.3mL, 5% H₂O 溶液)/NMO (480mg) 处理 24 小时。用饱和硫代硫酸钠水溶液猝灭该反应混合物。真空中除去该有机溶液,并用异丙醇/氯仿(4:1) 复合溶剂萃取该水相。收集该有机层,并在 Na₂SO₄ 上干燥和过滤。真空中浓缩该滤液,并用硅胶柱层析法(MeOH:CH₂Cl₂=1:60 至 1:40) 纯化该残留物,得到化合物 12 的非对映异构体混合物(640mg, 41% (自 10))。主要异构体:¹H NMR(500MHz, CD₃OD) δ 8.80 (d, J = 5.0Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.95–7.11 (m, 10H), 6.10 (ddd, J = 3.0, 12.5 and 17.5Hz, 1H), 5.80 (dd, J = 10.0 and 35.0Hz, 1H), 5.38 (ddd, J = 3.0, 10.5 and 67.5Hz, 1H), 4.80 (m, 2H), 3.73 (d, J = 14.5Hz, 1H), 3.40 (d, J = 14.5Hz, 1H), 3.00 (m, 1H); ¹³C NMR(100MHz, CDCl₃) δ 166.4, 165.6, 153.1, 151.8, 151.7, 149.9, 148.2, 148.1, 129.4, 129.1, 128.2, 127.9, 93.1 (d, J = 193.1Hz), 80.8, 79.3 (d, J = 26.2Hz), 62.8, 61.9 (d, J = 5.0Hz), 60.2 (d, J = 13.4Hz), 48.6 (d, J = 5.6Hz). HR-MS Calcd. for (C₂₆H₂₂ClFN₄O₆+H)⁺ 541.1290, found 541.1290。

[0167] [(1R, 3R, 4R, 5R)-3-(6-氨基-9H-9-嘌呤基)-5-(苯酰氧基)-4-氟-2-羟基-2-(羟甲基)环戊基] 苯甲酸甲酯(13) 的合成

[0168] 在 70–80 °C 下,用叠氮化钠(750mg, 11.5mmol) 处理无水 DMF 中的核苷 12 (620mg, 1.15mmol) 1.5 小时。真空中除去挥发物,并将残留物溶解于异丙醇/氯仿(4:1) 复合溶剂中,用 H₂O 洗涤, Na₂SO₄ 上干燥,蒸干。将得到的粗制叠氮化合物溶解于乙醇中,在 40 °C,氢气气氛下用钯碳(Pd/C, 200mg) 处理 3 小时。除去该固体后,蒸发该滤液,并用硅胶柱层析法(MeOH:CH₂Cl₂=1:40 至 1:20) 纯化该残留物,得到所需的腺苷类似物的非对映异构体混合物 13 (370mg, 62%)。主要异构体:UV (MeOH) λ_{max} 259.0nm; ¹H NMR(500MHz, CD₃OD) δ 8.43 (d, J = 4.0Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.99–7.16 (m, 10H), 6.11 (ddd, J = 2.5, 9.5 and 14.5Hz, 1H), 5.59 (dd, J = 8.0 and 29.0Hz, 1H), 5.35 (ddd, J = 2.5, 8.5 and 43.5Hz, 1H), 4.89 (m, 2H), 3.72 (d, J = 11.0Hz, 1H), 3.50 (d, J = 11.0Hz, 1H), 3.00 (m, 1H); ¹³C NMR(100MHz, CDCl₃) δ 166.4, 165.6, 156.0, 152.4, 150.5, 142.8, 142.7, 133.1, 132.7, 129.4, 129.1, 128.2, 127.8, 117.7, 93.3 (d, J = 193.1Hz), 80.8, 79.4 (d, J = 26.2Hz), 63.0, 61.9 (d, J = 17.6Hz), 60.3, 48.9 (d, J = 5.2Hz). HR-MS Calcd. for (C₂₆H₂₅FN₅O₆+H)⁺ 522.1789, found 522.1774。

[0169] (+)-[(1R, 3R, 4R, 5R)-3-(6-氨基-9H-9-嘌呤基)-5-(苯甲酰氧基)-4-氟-2-亚甲基环戊基] 苯甲酸甲酯(14) 的合成

[0170] 将化合物 13 (260mg, 0.50mmol) 溶解于湿的乙腈中(9 μL 的水加入 10mL 的无水乙腈中),冷却至 -30 °C。将过量的 2-乙酰氧基异丁酰溴(0.54mL, 3.68mmol) 滴入该混合物,并升温至室温。在室温下搅拌 1 小时后,将该反应混合物再冷却至 -30 °C,并再加入 2-乙酰氧基异丁酰溴(0.2mL, 1.47mmol)。加入碎冰猝灭该反应,并用饱和 NaHCO₃ 溶液(20mL) 中和,用乙酸乙酯(100mL×2) 萃取。用盐水洗涤该合并的有机层,在 Na₂SO₄ 上干燥,过滤。真空中浓缩该滤液,将该残留物溶解于无水 DMF,并用活化锌(约 2.0g) 和乙酸(0.2 毫升) 处理,并在室温下搅拌 8 小时。真空中除去该挥发物,将该残留物溶解于异丙醇/氯仿(4:1) 复合溶剂,并用饱和 NaHCO₃ (15mL) 溶液、水及盐水洗涤。收集

该有机层,在 Na_2SO_4 上干燥,过滤。真空中浓缩该滤液,并用硅胶柱层析法(乙酸乙酯:己烷=2:1至4:1)纯化该残留物得到白色固体的外-环烯烃核苷14(165.0mg,68%)。mp:195-198 °C (dec.) $[\alpha]_D^{25}+77.66^\circ$ (c0.27, CHCl_3);UV(MeOH) $\lambda_{\max}$ 231.0, 259.0nm; ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 8.40(s, 1H), 8.12-8.06(m, 2H), 7.94(d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 7.65-7.44(m, 3H), 6.0(dd, $J=2.4$ and 33.2Hz , 1H), 5.86(br, 2H, D_2O exchangeable), 5.75(d, (d, $J=14.8\text{Hz}$, 1H), 5.50(s, 1H), 5.21(dd, $J=4.0$ and 50.8Hz , 1H), 4.98(d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 4.82-4.64(m, 1H), 4.66-4.61(m, 1H), 3.42(m, 1H); ^{13}C NMR(100MHz, CDCl_3) δ 166.4, 165.0, 155.5, 153.2, 150.5, 144.4, 140.9, 140.8, 133.8, 133.3, 130.0, 129.7, 129.6, 128.7, 128.6, 128.5, 118.8, 113.2, 93.6(d, $J=184.4\text{Hz}$), 75.8(d, $J=29.0\text{Hz}$), 64.4(d, $J=3.1\text{Hz}$), 58.3(d, $J=17.5\text{Hz}$), 46.5. HR-MS Calcd. for $(\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{FN}_5\text{O}_4+\text{H})^+$ 488.1734, found 488.1731.

[0171] (+)-(1R, 2R, 3R, 5R)-3-(6-氨基-9H-9-嘌呤基)-2-氟-5-(羟甲基)-4-亚甲基环戊烷-1-醇(15)的合成

[0172] 在-78°C下,将二异丁基氢化铝(DIBAL-H, 1.6mL, 1.0M 甲苯中)缓慢加入到化合物14(160.0mg, 0.33mmol)的无水 CH_2Cl_2 溶液。相同温度保持30分钟后,用异丙醇/氯仿(4:1)复合溶剂(30mL)稀释该反应,并加入饱和酒石酸钾钠溶液(10mL)。室温下搅拌该混合物2小时,并收集该有机层。用异丙醇/氯仿(4:1)复合溶剂($3\times 10\text{mL}$)萃取该水层,合并有机层,在 Na_2SO_4 中干燥,过滤。真空中浓缩该滤液,用硅胶柱层析法($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2=1:20$ 至 $1:10$)纯化该残留物,得到为白色固体的腺苷类似物15(70.0mg, 76%)。215-218°C (dec.) $[\alpha]_D^{25}+151.80^\circ$ (c0.23, CHCl_3) UV(H_2O) $\lambda_{\max}$ 259.0nm (ϵ 13998, pH 2), 260.0nm (ϵ 15590, pH 7), 260.0nm (ϵ 15579, pH 11); ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 8.22(s, 1H), 8.06(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 5.86(dd, $J=2.4$ 和 25.6Hz , 1H), 5.42(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.93(td, $J=3.2$ 和 52.4Hz , 1H), 4.92(s, 1H, 部分埋在水的峰内), 4.40(td, $J=3.2$ 和 10.8Hz , 1H), 3.88-3.76(m, 2H), 2.78(m, 1H); ^{13}C NMR(100MHz, CDCl_3) δ 156.0, 152.5, 149.9, 146.1(d, $J=1.0\text{Hz}$), 141.1(d, $J=5.2\text{Hz}$), 117.9, 111.8, 95.9(d, $J=186.0\text{Hz}$), 72.9(d, $J=22.9\text{Hz}$), 61.8(d, $J=3.4\text{Hz}$), 57.6(d, $J=17.2\text{Hz}$), 51.1. Anal. Calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{FN}_5\text{O}_2$: C, 51.61; H, 5.05; N, 25.08. Found: C, 51.74; H, 5.09; N, 24.92.

[0173] 化合物18(图5)的合成

[0174] 按附图5给出的一种或多种方法合成化合物18(与方案2的化合物15相同,但采用图5表示的替代途径合成)。化合物18的选择分析数据与化合物15相同,见上。

[0175] 抗病毒测定

[0176] 如前所述进行药物敏感性检测。如前所述,在PBM、CEM和Vero细胞中进行细胞毒性检测。两种化合物用于测试,第一种为该分子(化合物15/18)糖部分上的 R^1 和 R^{1a} 处含有羟基官能团的腺嘌呤核苷类似物,以及第二种为基于化合物15/18的前药核苷,其 R^6 为苯基团的 R^1 (R^{1a} 为H)上含有磷酰胺(phosphoramidate)官能团, B' 为衍生自丙氨酸的氨基酸团,其中 R^8 为甲基, R'' 为甲基官能团,二者形成甲酯。在Dr. Brent Korba实验室对这些化合物进行标准HBV测定。得到以下结果。应注意在本测定中,所测试的本发明化合物效力比拉米夫定(3TC)大1000倍。该前药化合物(测试的第二化合物,其中 R^1 为磷酰胺(phosphoramidate)官能团, R^6 为苯基,而 B' 衍生自丙氨酸并含有甲酯(R^8 为甲基, R'' 是甲基))比其中的 R^1 和 R^{1a} 均为H的化合物活跃10倍以上。

[0177] HBV 测定结果

[0178]

测试编号	CC50	EC50	EC90	SI	对照: 3TC (μM) EC50
1	>300	0.548	6	>50	2421
2	>300	0.062	0.462	>649	2421

[0179] 如前所述,还对化合物 15/18 抗野生型的 HBV 和 HBV 的耐药体的效力进行了测试。该测试如上所述,结果列于表 1 中,在其附图 7 中给出。

[0180] 分子模拟研究

[0181] 构象搜索:通过 MACROMODEL[®], 8.5 版(Schrodinger 股份有限公司)中的 Builder 模块构造化合物 15/18 和恩替卡韦(entecavir)类似物 16 的初始构象。在 MACROMODEL[®]中的使用 MMFFs 力场的 GB/SA 水模型中,5000 步以内完成 Monte Carlo 构象搜索。

[0182] 假回转分析:使用在线假回转分析工具 PROSIT (<http://cactus.nci.nih.gov/prosit/>) 计算所有假回转参数。⁵¹

[0183] 参考文献

[0184] 1. Mast, E. E. ;Alter, M. J. ;Margolis, H. S. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections:a global perspective. Vaccine 1999, 17, 1730-3.

[0185] 2. Lee, W. M. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med 1997, 337, 1733-45.

[0186] 3. Perrillo, R. P. ;Schiff, E. R. ;Davis, G. L. ;Bodenheimer, H. C. , Jr. ;Lindsay, K. ;Payne, J. ;Dienstag, J. L. ;O' Brien, C. ;Tamburro, C. ;Jacobson, I. M. ;et al. A randomized, controlled trial of interferon alfa-2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B. The Hepatitis Interventional Therapy Group. N Engl J Med 1990, 323, 295-301.

[0187] 4. Wong, D. K. ;Cheung, A. M. ;O' Rourke, K. ;Naylor, C. D. ;Detsky, A. S. ;Heathcote, J. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. Ann Intern Med 1993, 119, 312-23.

[0188] 5. Kim, W. R. ;Benson, J. T. ;Hindman, A. ;Brosgart, C. ;Fortner-Burton, C. Decline in the need for liver transplantation for end stage liver disease secondary to hepatitis B in the US. Hepatology 2007, 46 (Suppl), 238A.

[0189] 6. Tuttleman, J. S. ;Pourcel, C. ;Summers, J. Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. Cell 1986, 47, 451-60.

[0190] 7. Zoulim, F. Mechanism of viral persistence and resistance to nucleoside and nucleotide analogs in chronic hepatitis B virus infection. Antiviral Res 2004, 64, 1-15.

- [0191] 8. Ghany, M. G. ; Doo, E. C. Antiviral resistance and hepatitis B therapy. *Hepatology* 2009, 49, S174-84.
- [0192] 9. Ono, S. K. ; Kato, N. ; Shiratori, Y. ; Kato, J. ; Goto, T. ; Schinazi, R. F. ; Carrilho, F. J. ; Omata, M. The polymerase L528M mutation cooperates with nucleotide binding-site mutations, increasing hepatitis B virus replication and drug resistance. *J Clin Invest* 2001, 107, 449-55.
- [0193] 10. Allen, M. I. ; Deslauriers, M. ; Andrews, C. W. ; Tipples, G. A. ; Walters, K. A. ; Tyrrell, D. L. ; Brown, N. ; Condey, L. D. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. *Lamivudine Clinical Investigation Group. Hepatology* 1998, 27, 1670-7.
- [0194] 11. Dienstag, J. L. ; Schiff, E. R. ; Wright, T. L. ; Perrillo, R. P. ; Hann, H. W. ; Goodman, Z. ; Crowther, L. ; Condey, L. D. ; Woessner, M. ; Rubin, M. ; Brown, N. A. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999, 341, 1256-63.
- [0195] 12. Lai, C. L. ; Chien, R. N. ; Leung, N. W. ; Chang, T. T. ; Guan, R. ; Tai, D. I. ; Ng, K. Y. ; Wu, P. C. ; Dent, J. C. ; Barber, J. ; Stephenson, S. L. ; Gray, D. F. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. N Engl J Med* 1998, 339, 61-8.
- [0196] 13. Marcellin, P. ; Lau, G. K. ; Bonino, F. ; Farci, P. ; Hadziyannis, S. ; Jin, R. ; Lu, Z. M. ; Piratvisuth, T. ; Germanidis, G. ; Yurdaydin, C. ; Diago, M. ; Gurel, S. ; Lai, M. Y. ; Button, P. ; Pluck, N. Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2004, 351, 1206-17.
- [0197] 14. Yuen, M. F. ; Seto, W. K. ; Chow, D. H. ; Tsui, K. ; Wong, D. K. ; Ngai, V. W. ; Wong, B. C. ; Fung, J. ; Yuen, J. C. ; Lai, C. L. Long-term lamivudine therapy reduces the risk of long-term complications of chronic hepatitis B infection even in patients without advanced disease. *Antivir Ther* 2007, 12, 1295-303.
- [0198] 15. Lai, C. L. ; Gane, E. ; Liaw, Y. F. ; Hsu, C. W. ; Thongsawat, S. ; Wang, Y. ; Chen, Y. ; Heathcote, E. J. ; Rasenack, J. ; Bzowej, N. ; Naoumov, N. V. ; Di Bisceglie, A. M. ; Zeuzem, S. ; Moon, Y. M. ; Goodman, Z. ; Chao, G. ; Constance, B. F. ; Brown, N. A. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2007, 357, 2576-88.
- [0199] 16. Angus, P. ; Vaughan, R. ; Xiong, S. ; Yang, H. ; Delaney, W. ; Gibbs, C. ; Brosgart, C. ; Colledge, D. ; Edwards, R. ; Ayres, A. ; Bartholomeusz, A. ; Locarnini, S. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology* 2003, 125, 292-7.
- [0200] 17. Qi, X. ; Xiong, S. ; Yang, H. ; Miller, M. ; Delaney, W. E. t. In vitro susceptibility of adefovir-associated hepatitis B virus polymerase mutations to other antiviral agents. *Antivir Ther* 2007, 12, 355-62.

[0201] 18. Villeneuve, J. P. ;Durantel, D. ;Durantel, S. ;Westland, C. ;Xiong, S. ;Brosgart, C. L. ;Gibbs, C. S. ;Parvaz, P. ;Werle, B. ;Trepo, C. ;Zoulim, F. Selection of a hepatitis B virus strain resistant to adefovir in a liver transplantation patient. *J Hepatol* 2003, 39, 1085-9.

[0202] 19. Curtis, M. ;Zhu, Y. ;Borrito-Esoda, K. Hepatitis B virus containing the I233V mutation in the polymerase reverse-transcriptase domain remains sensitive to inhibition by adefovir. *J Infect Dis* 2007, 196, 1483-6.

[0203] 20. Schildgen, O. ;Sirma, H. ;Funk, A. ;Olotu, C. ;Wend, U. C. ;Hartmann, H. ;Helm, M. ;Rockstroh, J. K. ;Willems, W. R. ;Will, H. ;Gerlich, W. H. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med* 2006, 354, 1807-12.

[0204] 21. Hadziyannis, S. J. ;Tassopoulos, N. C. ;Heathcote, E. J. ;Chang, T. T. ;Kitis, G. ;Rizzetto, M. ;Marcellin, P. ;Lim, S. G. ;Goodman, Z. ;Ma, J. ;Brosgart, C. L. ;Borrito-Esoda, K. ;Arterburn, S. ;Chuck, S. L. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006, 131, 1743-51.

[0205] 22. Sherman, M. ;Yurdaydin, C. ;Sollano, J. ;Silva, M. ;Liaw, Y. F. ;Cianciara, J. ;Boron-Kaczmariska, A. ;Martin, P. ;Goodman, Z. ;Colonna, R. ;Cross, A. ;Denisky, G. ;Kreter, B. ;Hindes, R. Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2006, 130, 2039-49.

[0206] 23. Tenny, D. J. ;Pokornowski, K. A. ;Rose, B. E. 等. Entecavir at five years shows long-term maintenance of high genetic barrier to hepatitis B virus resistance. *Hepatology* 2008, 47, 302-303.

[0207] 24. Dienstag, J. L. ;Goldin, R. D. ;Heathcote, E. J. ;Hann, H. W. ;Woessner, M. ;Stephenson, S. L. ;Gardner, S. ;Gray, D. F. ;Schiff, E. R. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology* 2003, 124, 105-17.

[0208] 25. Lok, A. S. ;Lai, C. L. ;Leung, N. ;Yao, G. B. ;Cui, Z. Y. ;Schiff, E. R. ;Dienstag, J. L. ;Heathcote, E. J. ;Little, N. R. ;Griffiths, D. A. ;Gardner, S. D. ;Castiglia, M. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003, 125, 1714-22.

[0209] 26. Choi, Y. ;Lee, K. ;Hong, J. H. ;Schinazi, R. F. ;Chu, C. K. Synthesis and anti-HIV activity of L-2'-fluoro-2',3'-unsaturated purine nucleosides. *Tetrahedron Lett* 1998, 39, 4437-4440.

[0210] 27. Chong, Y. ;Choo, H. ;Choi, Y. ;Mathew, J. ;Schinazi, R. F. ;Chu, C. K. Stereoselective synthesis and antiviral activity of D-2',3'-dideoxy-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides. *J Med Chem* 2002, 45, 4888-98.

[0211] 28. Chong, Y. ;Gumina, G. ;Mathew, J. S. ;Schinazi, R. F. ;Chu, C. K. 1-2',3'-Dideoxy-2',3'-dideoxy-3'-fluoronucleosides : synthesis, anti-HIV activity, chemical and enzymatic stability, and mechanism of resistance. *J Med Chem* 2003, 46, 3245-56.

- [0212] 29. Choo, H. ; Chong, Y. ; Choi, Y. ; Mathew, J. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. Synthesis, anti-HIV activity, and molecular mechanism of drug resistance of L-2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides. *J Med Chem* 2003, 46, 389-98.
- [0213] 30. Chu, C. K. ; Ma, T. ; Shanmuganathan, K. ; Wang, C. ; Xiang, Y. ; Pai, S. B. ; Yao, G. Q. ; Sommadossi, J. P. ; Cheng, Y. C. Use of 2'-fluoro-5-methyl-beta-L-arabinofurano syluracil as a novel antiviral agent for hepatitis B virus and Epstein-Barr virus. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39, 979-81.
- [0214] 31. Lee, K. ; Choi, Y. ; Gullen, E. ; Schlueter-Wirtz, S. ; Schinazi, R. F. ; Cheng, Y. C. ; Chu, C. K. Synthesis and anti-HIV and anti-HBV activities of 2'-fluoro-2', 3'-unsaturated L-nucleosides. *J Med Chem* 1999, 42, 1320-8.
- [0215] 32. Lee, K. ; Choi, Y. ; Gumina, G. ; Zhou, W. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. Structure-activity relationships of 2'-fluoro-2', 3'-unsaturated D-nucleosides as anti-HIV-1 agents. *J Med Chem* 2002, 45, 1313-20.
- [0216] 33. Wang, J. ; Jin, Y. ; Rapp, K. L. ; Bennett, M. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. Synthesis, antiviral activity, and mechanism of drug resistance of D- and L-2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxy-2'-fluorocarbocyclic nucleosides. *J Med Chem* 2005, 48, 3736-48.
- [0217] 34. Wang, J. ; Jin, Y. ; Rapp, K. L. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. D- and L-2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxy-3'-fluoro-carbocyclic nucleosides: synthesis, anti-HIV activity and mechanism of resistance. *J Med Chem* 2007, 50, 1828-39.
- [0218] 35. Zhou, W. ; Gumina, G. ; Chong, Y. ; Wang, J. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. Synthesis, structure-activity relationships, and drug resistance of beta-d-3'-fluoro-2', 3'-unsaturated nucleosides as anti-HIV Agents. *J Med Chem* 2004, 47, 3399-408.
- [0219] 36. Bisacchi, G. S. ; Chao, S. T. ; Bachard, C. ; Daris, J. P. ; Innaimo, S. ; Jacobs, G. A. ; Kocy, O. ; Lapointe, P. ; Martel, A. ; Merchant, Z. ; Slusarchyk, W. A. ; Sundeen, J. E. ; Young, M. G. ; Colonna, R. ; Zahler, R. BMS-200475, a novel carbocyclic 2'-deoxyguanosine analog with potent and selective anti-hepatitis B virus activity in vitro. *Bioorg Med Chem Lett* 1997, 7, 127-132.
- [0220] 37. Gaudino, J. J. ; Wilcox, C. S. A concise approach to enantiomerically pure carbocyclic ribose analogs. Synthesis of (4S, 5R, 6R, 7R)-7-(hydroxymethyl)spiro[2.4]heptane-4, 5, 6-triol 7-O-(dihydrogen phosphate). *J Am Chem Soc* 1990, 112, 4374-4380.
- [0221] 38. Takagi, C. ; Sukeda, M. ; Kim, H. S. ; Wataya, Y. ; Yabe, S. ; Kitade, Y. ; Matsuda, A. ; Shuto, S. Synthesis of 5'-methylenearisteromycin and its 2-fluoro derivative with potent antimalarial activity due to inhibition of the parasite S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Org Biomol Chem* 2005, 3, 1245-51.
- [0222] 39. Ziegler, F. E. ; Sarpong, M. A. Radical cyclization studies directed

toward the synthesis of BMS-200475' entecavir ' :the carbocyclic core. Tetrahedron 2003, 59, 9013-9018.

[0223] 40. Wang, P. ;Agrofoglio, L. A. ;Newton, M. G. ;Chu, C. K. Chiral Synthesis of Carbocyclic Analogues of L-riboforanosides. J Org Chem 1999, 64, 4173-4178.

[0224] 41. Corey, E. J. ;Winter, R. A. E. A New, Stereospecific Olefin Synthesis from 1, 2-Diols. J Am Chem Soc 1963, 85, 2677-2678.

[0225] 42. Ando, M. ;Ohhara, H. ;Takase, K. A mild and stereospecific conversion of vicinal diols into olefins via 2-methoxy-1, 3-dioxolane derivatives. Chem Letter 1986, 15, 879-882.

[0226] 43. Manchand, P. S. ;Belica, P. S. ;Holman, M. J. ;Huang, T. N. ;Maehr, H. ;Tam, S. Y. K. ;Yang, R. T. Syntheses of the anti-AIDS drug 2', 3'-dideoxycytidine from cytidine. J Org Chem 1992, 57, 3473-3478.

[0227] 44. Robins, M. J. ;Hansske, F. ;Low, N. H. ;Park, J. I. A mild conversion of vicinal diols to alkenes. Efficient transformation of ribonucleosides into 2'-ene and 2', 3'-dideoxynucleosides. Tetrahedron Lett 1984, 25, 367-370.

[0228] 45. Van Aerschot, A. ;Everaert, D. ;Balzarini, J. ;Augustyns, K. ;Jie, L. ;Janssen, G. ;Peeters, O. ;Blaton, N. ;De Ranter, C. ;De Clercq, E. ;et al. Synthesis and anti-HIV evaluation of 2', 3'-dideoxyribo-5-chloropyrimidine analogues: reduced toxicity of 5-chlorinated 2', 3'-dideoxynucleosides. J Med Chem 1990, 33, 1833-9.

[0229] 46. Tassopoulos, N. C. ;Volpes, R. ;Pastore, G. ;Heathcote, J. ;Buti, M. ;Goldin, R. D. ;Hawley, S. ;Barber, J. ;Condreay, L. ;Gray, D. F. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. Lamivudine Precore Mutant Study Group. Hepatology 1999, 29, 889-96.

[0230] 47. Das, K. ;Xiong, X. ;Yang, H. ;Westland, C. E. ;Gibbs, C. S. ;Sarafianos, S. G. ;Arnold, E. Molecular modeling and biochemical characterization reveal the mechanism of hepatitis B virus polymerase resistance to lamivudine (3TC) and emtricitabine (FTC). J Virol 2001, 75, 4771-9.

[0231] 48. Chong, Y. ;Chu, C. K. Understanding the molecular mechanism of drug resistance of anti-HIV nucleosides by molecular modeling. Front Biosci 2004, 9, 164-86.

[0232] 49. Yadav, V. ;Chu, C. K. Molecular mechanisms of adefovir sensitivity and resistance in HBV polymerase mutants: a molecular dynamics study. Bioorg Med Chem Lett 2004, 14, 4313-7.

[0233] 50. Langley, D. R. ;Walsh, A. W. ;Baldick, C. J. ;Eggers, B. J. ;Rose, R. E. ;Levine, S. M. ;Kapur, A. J. ;Colonno, R. J. ;Tenney, D. J. Inhibition of hepatitis B virus polymerase by entecavir. J Virol 2007, 81, 3992-4001.

[0234] 51. Sun, G. ;Voigt, J. H. ;Marquez, V. E. ;Nicklaus, M. C. Prosit, an online service to calculate pseudorotational parameters of nucleosides and

nucleotides. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2005, 24, 1029-32.

[0235] 52. Chong, Y. ; Chu, C. K. Understanding the unique mechanism of L-FMAU(clevudine) against hepatitis B virus :molecular dynamics studies. Bioorg Med Chem Lett 2002, 12, 3459-62.

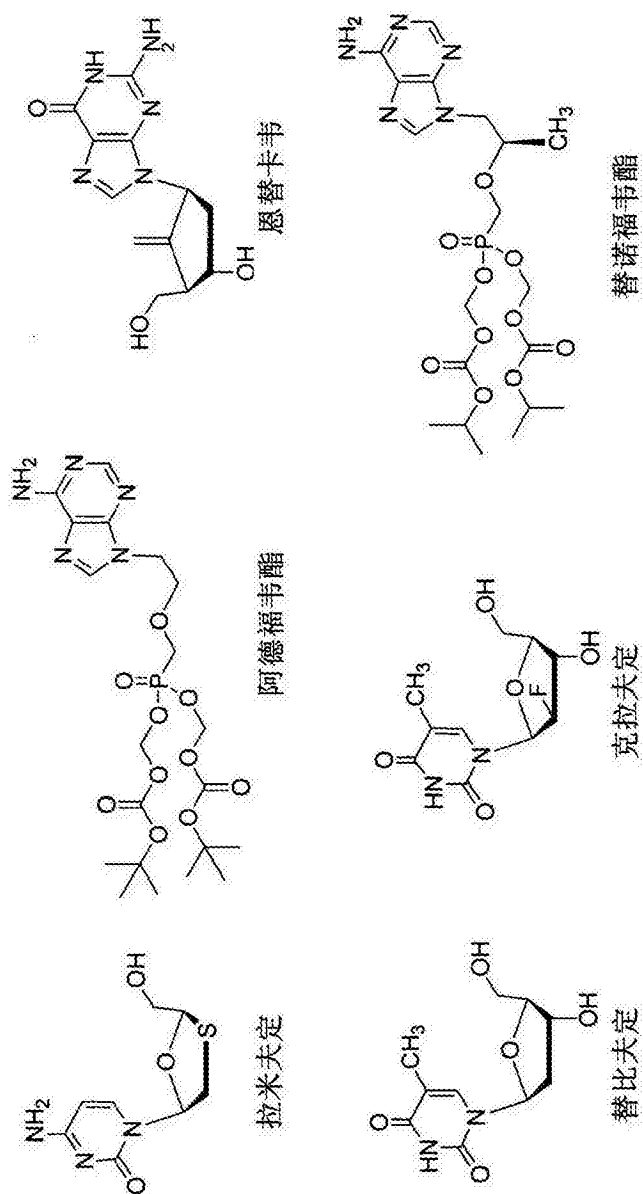


图 1

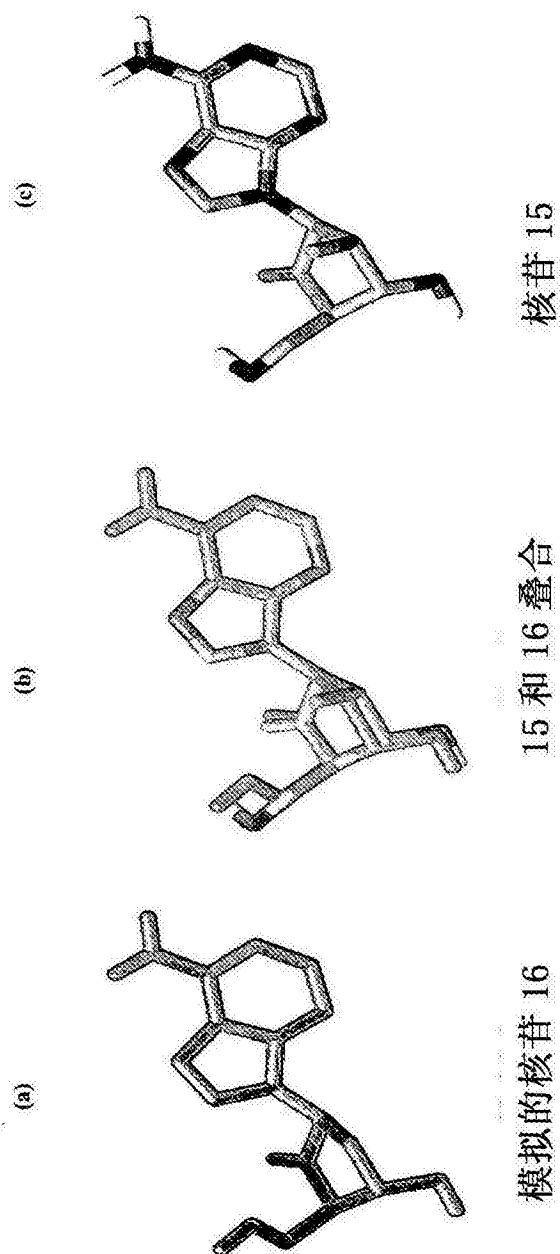


图 2

方案1

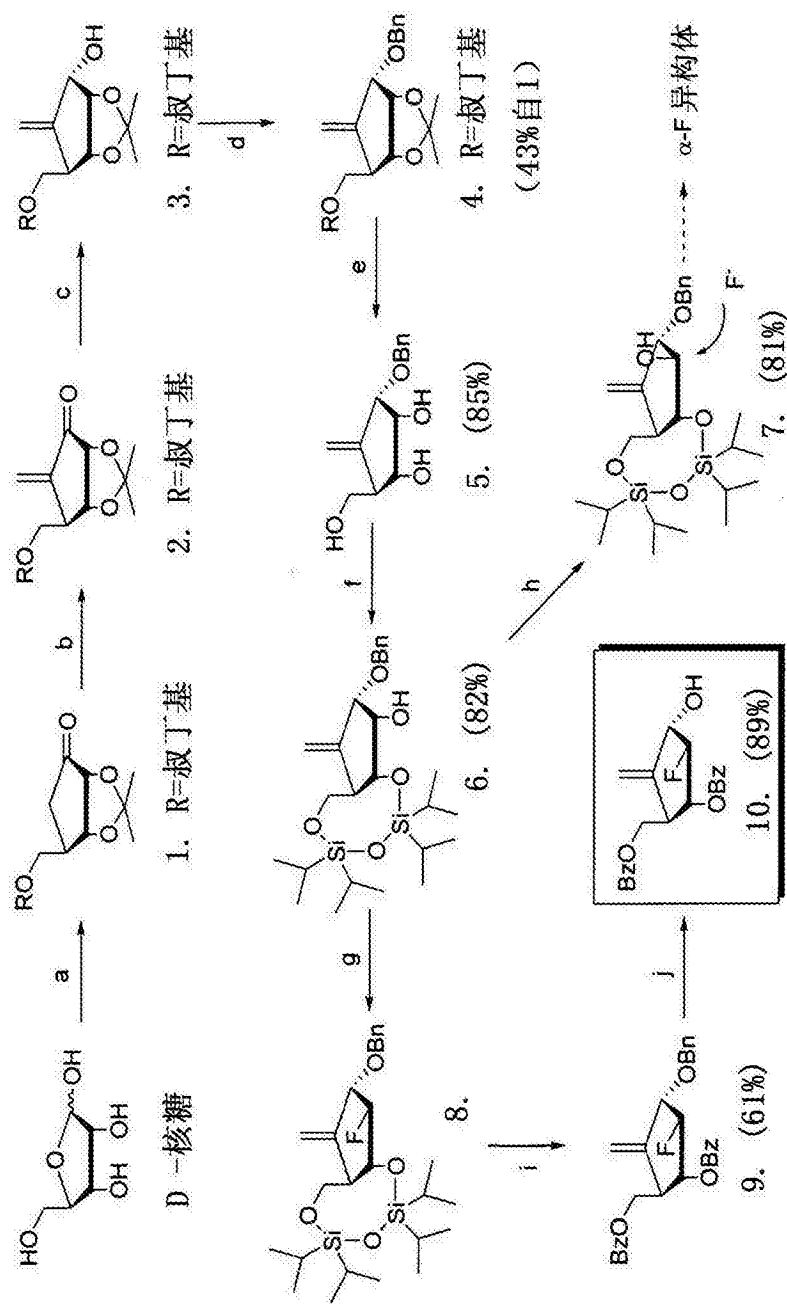


图 3

方案2

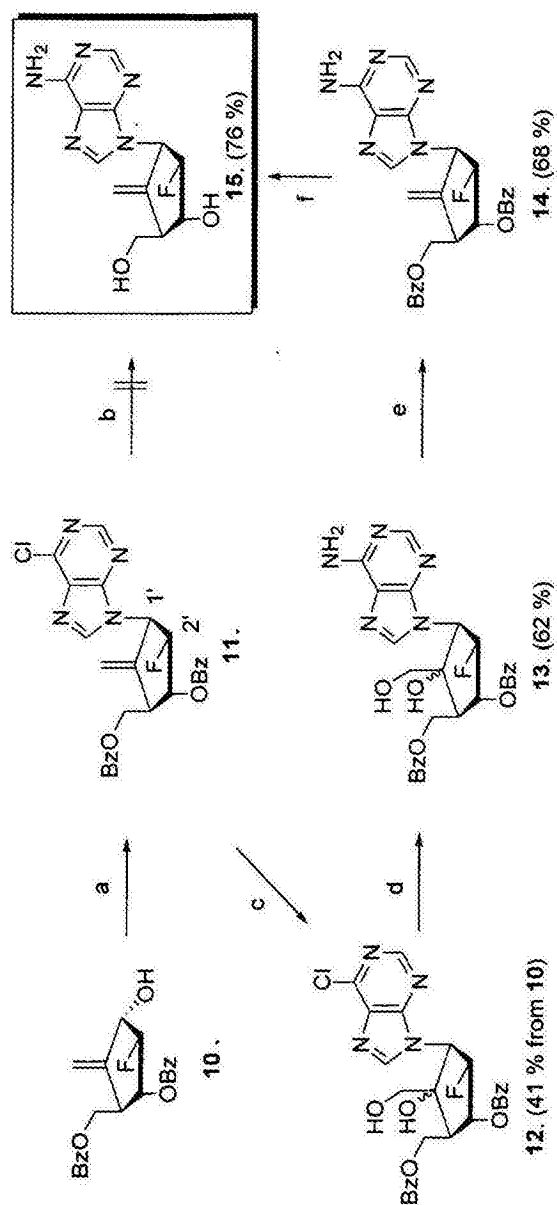


图 4

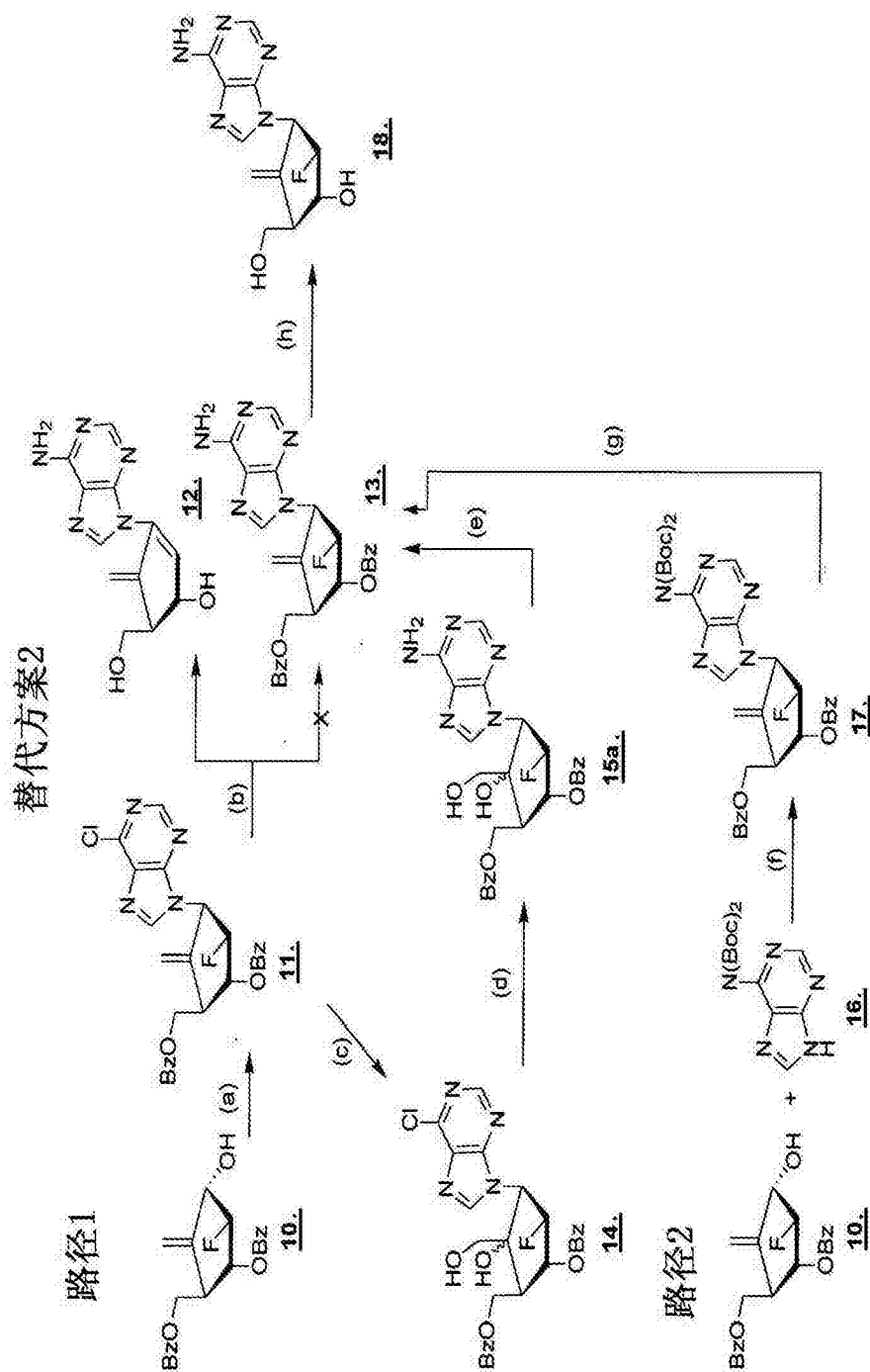


图 5

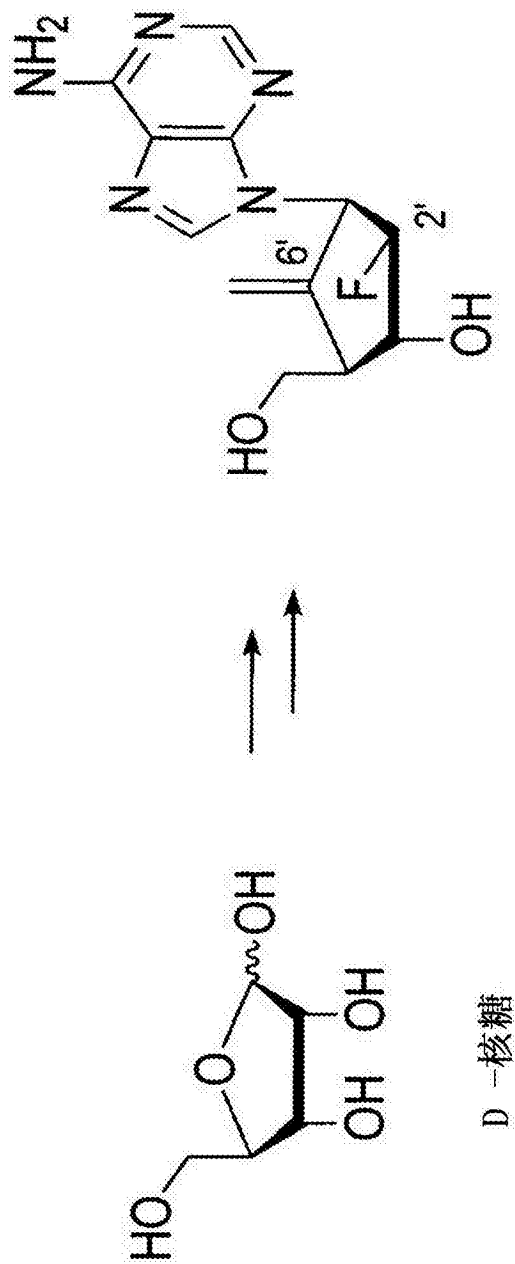


图 6

表1. 细胞内HBV DNA复制检测中，抗拉米夫定（lamivudine）和阿德福韦（adefovir）耐药突变体的体外抗HBV活性

菌株	抗HBV活性 18 (μM)		CC ₅₀ ^{d,e}	阿德福韦 (μM)		耐药倍数 (EC ₉₀)		抗拉米夫定 (μM)		耐药倍数 (EC ₉₀)	
	EC ₅₀ ^b	EC ₉₀ ^c		EC ₅₀	EC ₉₀			EC ₅₀	EC ₉₀		
野生型	1.5	4.5	>100	1.3	7.1	-	-	0.2	0.6	-	-
rtM204V	1.8	4.7	>100	1.6	7.0	1.0	1.0	>100	>100	>166	>166
rtM204I	1.0	5.0	>100	1.9	8.0	1.1	1.1	>100	>100	>166	>166
rtL180M	2.1	5.1	>100	5.5	7.7	1.1	1.1	1.5	22	36.7	36.7
rtLM/rtMV ^a	2.2	5.5	>100	2.1	8.5	1.2	1.2	>100	>100	>166	>166
rtN236T	1.7	4.6	>100	7.8	36	1.0	5.1	0.2	0.9	1.5	1.5

图 7