

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D239/54

A61K 31/505

A61P 31/18



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02805458. X

[45] 授权公告日 2005 年 12 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1231472C

[22] 申请日 2002. 1. 25 [21] 申请号 02805458. X

[30] 优先权

[32] 2001. 1. 29 [33] FR [31] 01/01165

[32] 2001. 6. 19 [33] FR [31] 01/08052

[86] 国际申请 PCT/EP2002/000839 2002. 1. 25

[87] 国际公布 WO2002/060880 法 2002. 8. 8

[85] 进入国家阶段日期 2003. 8. 25

[71] 专利权人 日内瓦大学

地址 瑞士日内瓦

共同专利权人 马约利·施平德勒公司

[72] 发明人 J·M·J·特龙谢

审查员 刘元霞

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 王 杰

权利要求书 6 页 说明书 35 页 附图 1 页

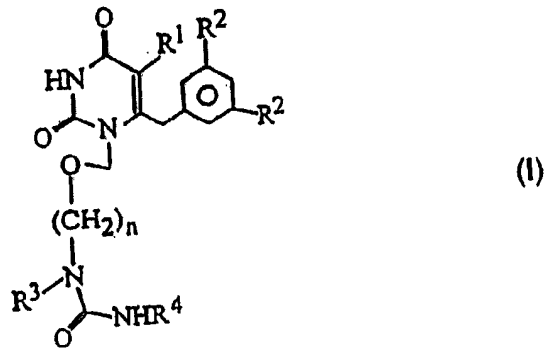
[54] 发明名称 嘧啶无环核苷衍生物、其制备方法及其用途

[57] 摘要

具有通式(I)的化合物：式中 n 等于 3；R¹代表乙基或异丙基；每个 R²基团彼此独立地代表氢原子、C₁-C₃烷基或卤素原子，R³和 R⁴基团之一代表氢原子，而其中另一个基团代表 -OH 或 -OR₅基团，其中 R⁵是 C₂-C₇酰基、C₁-C₆烷基氨基羰基、在芳基上任选取代的芳基 C₁-C₆烷基氨基羰基、任选取代的芳基羰基或杂芳基氨基羰基。这种化合物特别适用作抗病毒剂，尤其适用作抗 HIV-1 剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、具有下述通式 I 的化合物或它们在药学上可接受的盐：



式中：

n 等于 3；

R^1 代表乙基或异丙基，

每个 R^2 基团彼此独立地代表氢原子、 C_1-C_3 烷基或卤素原子，

R^3 和 R^4 基团之一代表氢原子，而其中另一个基团代表 $-OH$ 或 $-OR^5$ 基团，其中 R^5 是羟基保护基团，该基团是 C_2-C_7 酰基、 C_1-C_6 烷基氨基羰基、在芳基上任选取代的芳基 C_1-C_6 烷基氨基羰基、任选取代的芳基羰基或杂芳基氨基羰基。

2、权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐，其中 R^1 代表异丙基。

3、权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐，其中每个 R^2 代表甲基。

4、权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐，其中 R^3 代表 $-OR^5$ 基团， R^4 代表氢原子。

5、权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐，其中 R^3 代表 $-OH$ 基团， R^4 代表氢原子。

6、权利要求 1-4 中任一项的化合物或它们在药学上可接受的盐，其中 R^5 代表酰基。

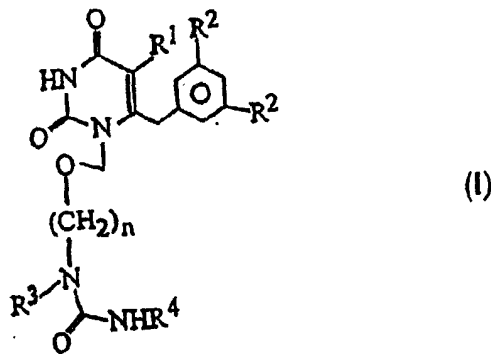
7、权利要求 4 的化合物或它们在药学上可接受的盐，其中 R^5 代表叔戊酰基。

8、权利要求 1 的化合物或它们在药理学上可接受的盐，它是 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶。

9、权利要求 1 的化合物或它们在药理学上可接受的盐，它是 1-(3-N¹-乙酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶。

10、权利要求 1 的化合物或它们在药理学上可接受的盐，它是 1-(3-N¹-叔戊酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶

11、下述通式 I 的化合物的制备方法：



式中：

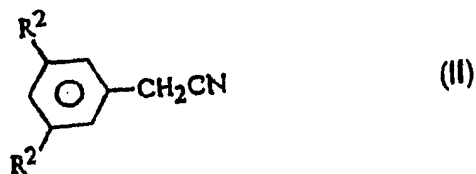
n 等于 3；

R¹ 代表乙基或异丙基，

每个 R² 基团彼此独立地代表氢原子、C₁-C₃ 烷基或卤素原子，

R³ 和 R⁴ 基团之一代表氢原子，而其中另一个基团代表 -OH 或 -OR⁵ 基团，其中 R⁵ 是 C₂-C₇ 酰基、C₁-C₆ 烷基氨基羰基、在芳基上任选取代的芳基 C₁-C₆ 烷基氨基羰基、任选取代的芳基羰基或杂芳基氨基羰基；它包括下述步骤：

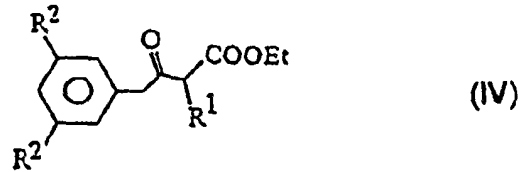
a) 在 Zn 存在下，让下式 II 化合物与下式 III 的化合物进行反应得到下式 IV 化合物：



式中 R² 如前面所定义，

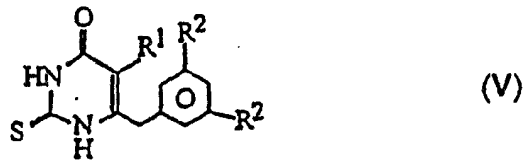


式中 R^1 如前面所定义,



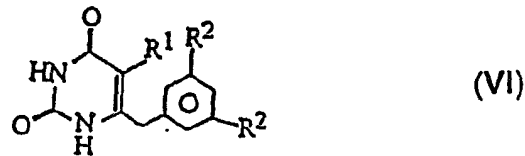
式中 R^1 和 R^2 如前面所定义;

b) 在碱性醇介质中, 让前面步骤 a) 得到的式 IV 化合物与硫脲进行反应, 得到下式 V 硫脲嘧啶:



式中 R^1 和 R^2 如前面所定义;

c) 让前面步骤 b) 得到的式 V 的硫脲嘧啶与有机酸进行反应, 得到下式 VI 化合物:

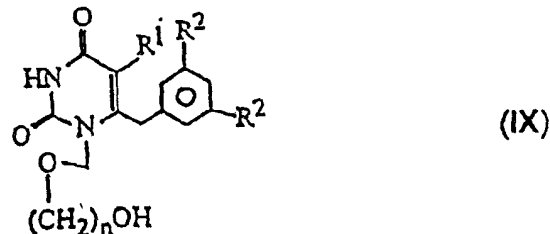


式中 R^1 和 R^2 如前面所定义;

d) 让前面步骤 c) 得到的式 VI 化合物与下式 VII 化合物进行替化反应:

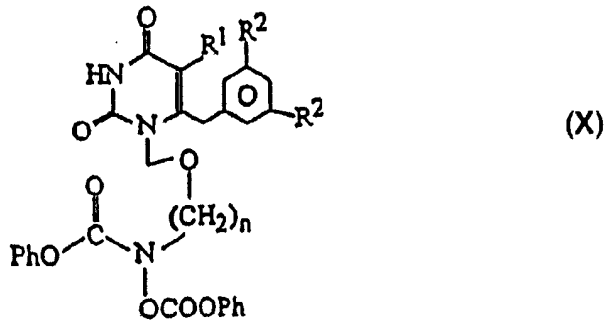


式中 n 等于 3, 得到一种酯, 然后使该酯溶剂分解得到下式 IX 的醇:



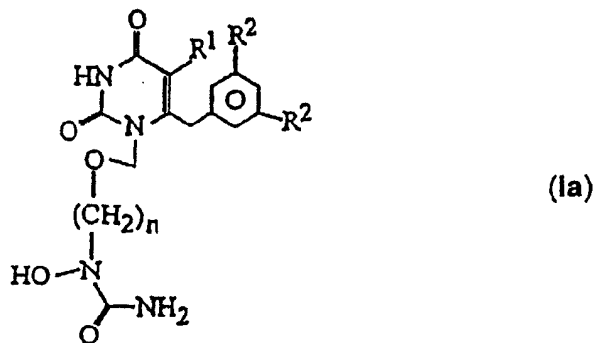
式中 n 、 R^1 和 R^2 如前面所定义;

e) 使用 N, O-双(苯氧基羰基)羟基胺作为亲核试剂, 让前面步骤 d) 得到的式 IX 的醇进行 Mitsunobu 反应, 得到下式 X 化合物:



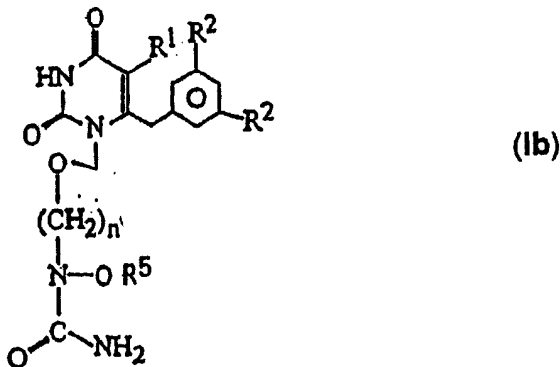
式中 n 、 R^1 和 R^2 如前面所定义；

f) 让在前面步骤 e) 中得到的式 X 化合物进行氨基分解，得到本发明的下式 Ia 化合物：



式中 n 、 R^1 和 R^2 如前面所定义；以及

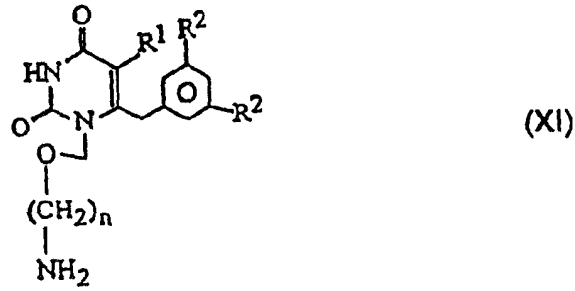
9) 如果必要，通过 O-酰基化反应或通过 O-氨基甲酰基化反应，用 R^5 基团保护在前面步骤 f) 中得到的式 Ia 化合物的 -OH 基团，得到本发明的下式 Ib 化合物：



式中 n 、 R^1 、 R^2 和 R^5 如前面所定义；

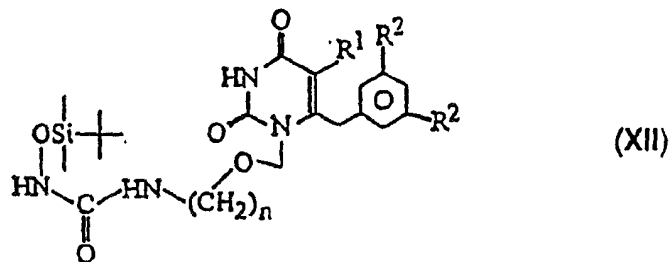
或

h) 使用邻苯二甲酰亚胺作为亲核试剂，让在前面步骤 c) 得到的式 IX 醇进行 Mitsunobu 反应，得到下式 XI 胺：



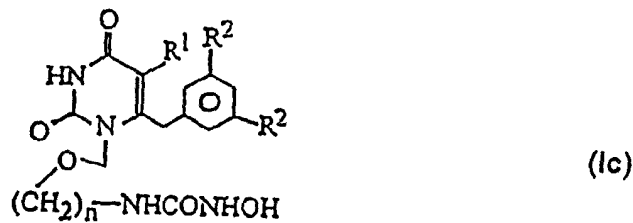
式中 n 、 R^1 和 R^2 如前面所定义；

i) 用羰基二咪唑和 *O*-叔丁基二甲基甲硅烷基羟基胺处理在前面步骤 h) 得到的式 XI 胺，得到下式 XII 化合物：



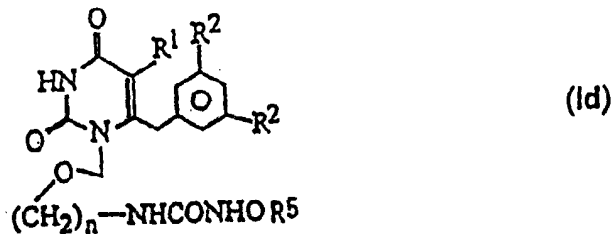
式中 n 、 R^1 和 R^2 如前面所定义；

j) 使在前面步骤 i) 得到的式 XII 化合物脱除甲硅烷基，得到下式 Ic 化合物：



式中 n 、 R^1 和 R^2 如前面所定义；

k) 如果必要，通过 *O*-酰基化反应或通过 *O*-氨基甲酰基化反应，用 R^5 基团保护在前面步骤 j) 中得到的式 Ic 化合物的 -OH 基团，得到下式 Id 化合物：



式中 n 、 R^1 、 R^2 和 R^5 如前面所定义。

12、药物组合物，它含有至少一种权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐作为活性组分。

13、药物组合物，它含有抗病毒有效量的权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐。

14、权利要求 12 或 13 的药物组合物，其中该组合物被用作抗 HIV-1 药物。

15、权利要求 1 的化合物或它们在药学上可接受的盐在生产抗病毒药物中的用途。

16、权利要求 15 的用途，用于生产抗 HIV-1 药物。

嘧啶无环核苷衍生物、其制备方法及其用途

技术领域

本发明涉及作为 HIV-1 的反转录酶非核苷抑制剂的活性嘧啶无环核苷衍生物，它们的制备方法与它们的应用。

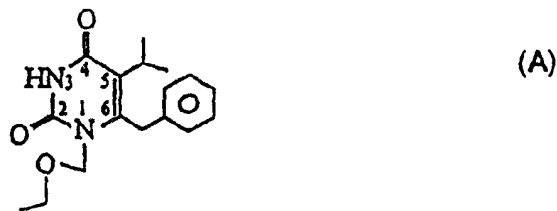
现有技术

在爱滋病的治疗过程中，目前的趋势是利用不再包括抗蛋白酶的多疗法，这种抗蛋白酶的副作用是令人不快的，其用药方式对患者造成不便。

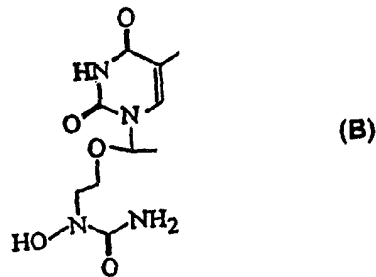
推荐的多疗法因此包括一种或两种核苷抑制剂，与其配合的是一种或两种非核苷抑制剂 [G. J. Moyle, *Infect. Med.* 17(6)442-455(2000)]。

因此，重要的是研制反转录酶的新变构抑制剂，这些抑制剂具有高特效活性和低毒性。

例如在专利申请 EP-A-0 449 726、WO-A-97/43266、WO-A-97/30979、WO-A-96/16675、WO-A-95/18109、EP-A-0 631 783、EP-A-0 420 763 中描述过具有无环核苷结构的反转录酶变构抑制剂，其中最为熟知的实例是具有下式 A 的 EMIVIRINE:



这些具有无环核苷结构的反转录酶变构抑制剂在纳摩尔浓度下起作用，并且它们的缺陷是非常快地选择抗性突变体。另外，J. M. J. Tronche, M. Zsély, M. Iznaden, F. Barbalat-Rey, M. Geoffroy & G. Bernardinelli, *Carbohydr. Lett.* 2, 101-108(1996)曾经通过下式 B 所示化合物之间的关系



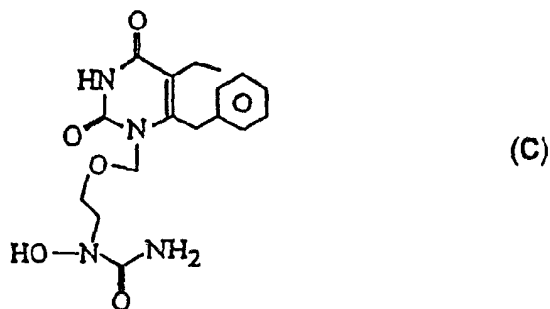
表明被固定在胸腺嘧啶 N-1 所携带的基团上 ω 位的 N-羟基脲基残基如同在该晶体中与其它分子的核碱基建立两个氢键(通过其 CONH_2 基团)的《假-核碱基》发挥作用, 而 N-OH 基团对醇的氧原子起着氢键给予体的作用。

因此, N-羟基脲基基团可以是与反转录酶的变构位点建立新键并且任选地在该位点外与用酶《处理》的核酸的核碱基建立新键的令人感兴趣的候选者。

另外, 从产品的细胞毒性来看, N-羟基脲基基团也显示是一个良好的候选者, 因为活性无环核苷对 HIV-1 的结构-活性研究表明, 被固定在核碱基上 N-1 位的亲水基团应降低该化合物的细胞毒性[J. M. J. Tronchet, M. Grigorov, N. Dolatshahi, F. Moriaud & J. Weber, *Eur. J. Med. Chem.*, 32, 279-299(1997)]。

因此, 通过在 C-4 和 C-5 位被取代的嘧啶的 N-1 处固定的链的 ω 位加入 N-羟基脲基基团, 可以期望改善已知类似产品的抗 HIV-1 活性。

但是, N-羟基脲基基团显得还不足以保证活性, 因为第一个制备的化合物, 即具有上式 B 的化合物, 显示出对 HIV-1 完全无活性, 第二个制备的化合物, 即具有下式 C 的化合物[J. M. J. Tronchet, M. Iznaden, & N. Iarozze, *Carbohydr. Lett.*, 2, 313-320(1997)]非常温和地显示出活性(CI_{50} 70 纳摩尔)。

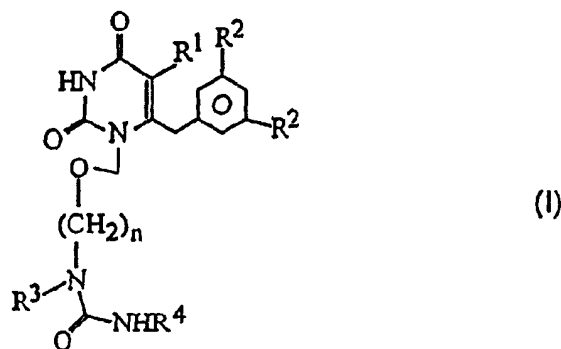


基于这些事实，本发明人进行研究并且令人惊奇地发现，通过将位于核碱基与 N-羟基脲基基团之间的碳原子链从两个碳原子链延长到三个碳原子链，可以得到一种无毒的、在与迄今为止使用已知类似产品所达到的浓度相比低得多的浓度下对 HIV-1 具有活性的无环核苷，而对具有用于替代 N-羟基脲基基团的羟基的式 C 化合物类似物进行同样均化[参见 N, Laroze, 日内瓦大学, 第 3212 号论文(2000)]显著地降低了活性。

基于这些结果完成了本发明。

发明内容

本发明涉及下述通式化合物：



式中：

- n 等于 3;
- R¹ 代表乙基或异丙基;
- 每个 R² 基团彼此独立地代表氢原子、C₁-C₃ 烷基或卤素原子;
- R³ 和 R⁴ 基团之一代表氢原子，而其中另一个基团代表 -OH 或 -OR⁵ 基团，其中 R⁵ 可以是 C₂-C₇ 酰基、C₁-C₆ 烷基氨基羰基、在芳基上任选地取代的芳基 C₁-C₆ 烷基氨基羰基、任选地被取代的芳基羰基或杂芳基氨基羰基，或该化合物在药学上可接受的盐。

本发明还涉及：

- 如前面定义的式 I 化合物作为药物的应用;
- 如前面定义的式 I 化合物作为抗病毒剂，特别作为抗 HIV-1 剂的应用;
- 如前面定义的式 I 化合物的制备方法;
- 含有如前面定义的至少一种式 I 化合物作为活性组分的药物组合物;

因此, R^5 基团选自 C_2-C_7 酰基、 C_1-C_6 烷基氨基羰基、在芳基上任选取代的芳基 C_1-C_6 烷基氨基羰基、任选取代的芳基羰基或杂芳基氨基羰基, 其条件是酰基和 C_1-C_6 烷基氨基羰基和芳基 C_1-C_6 烷基氨基羰基的烷基可以是支化的或非支化的。

C_2-C_7 酰基实例包括乙酰基、丙酰基、丁酰基或叔戊酰基, 但并非仅限于此。

C_1-C_6 烷基氨基羰基实例包括甲基氨基羰基、乙基氨基羰基、丙基氨基羰基、异丙基氨基羰基、丁基氨基羰基、戊基氨基羰基或己基氨基羰基, 但并非仅限于此。

在芳基上任选取代的芳基 C_1-C_6 烷基氨基羰基实例包括苄基氨基羰基、苯乙基氨基羰基、苯基-3-丙基氨基羰基、苯基-4-丁基氨基羰基、苯基-5-戊基氨基羰基或苯基-6-己基氨基羰基, 以及上述芳基 C_1-C_6 烷基氨基羰基, 其中芳基带有 1 或 2 个取代基, 该取代基选自卤素如氯、溴、氟或碘; C_1-C_3 烷基如甲基、乙基、丙基或异丙基; C_1-C_3 烷氧基如甲氧基、乙氧基、丙氧基或异丙氧基, 但并非仅限于此。

任选取代的芳基羰基实例包括苯甲酰基、对-氯苯甲酰基、对-甲氧基苯甲酰基或对-硝基苯甲酰基, 但并非仅限于此。

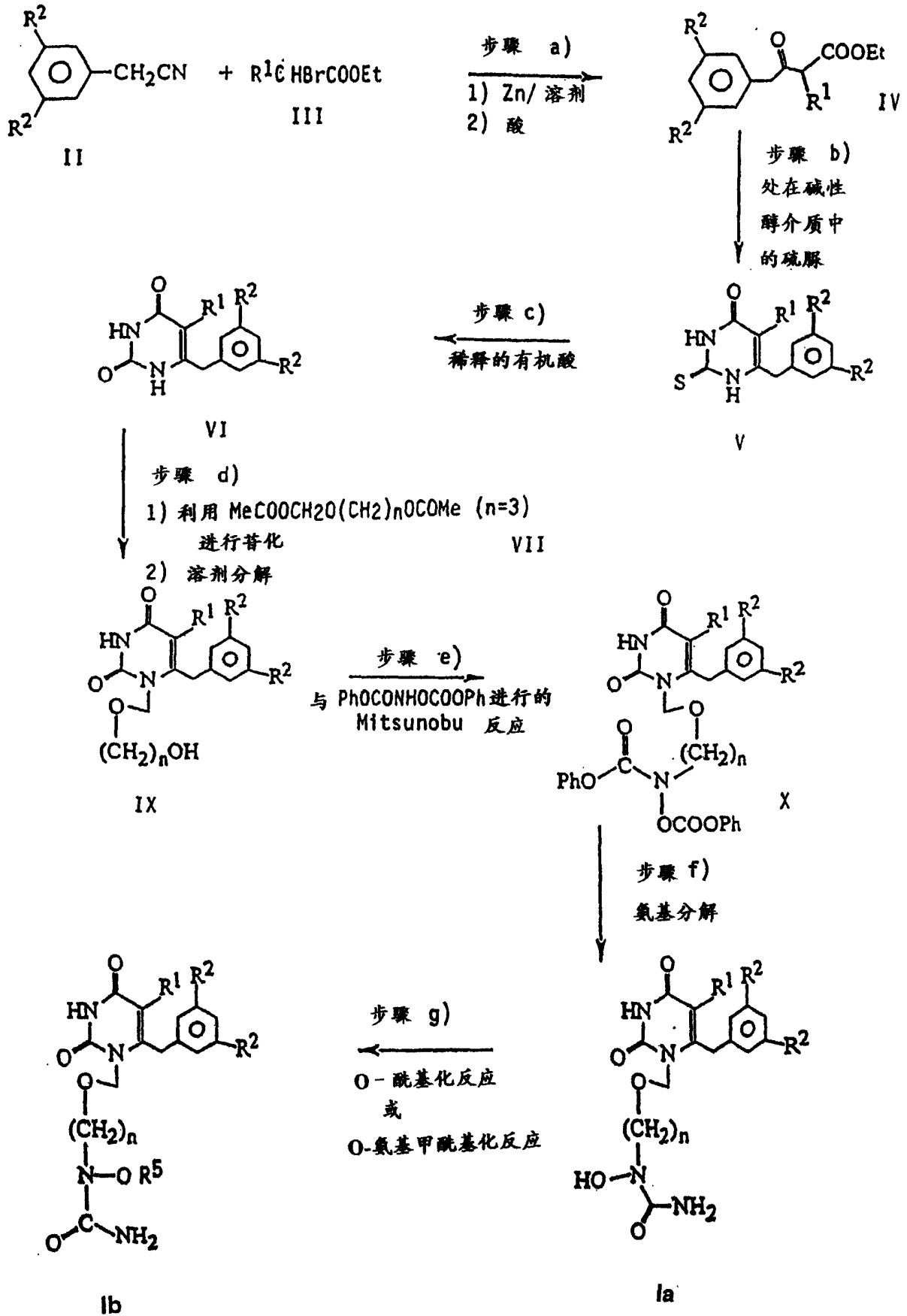
杂芳基氨基羰基实例包括异噁唑-3-基氨基羰基、异噁唑-4-基氨基羰基、异噁唑-5-基氨基羰基、吡啶-2-基氨基羰基或吡啶-3-基氨基羰基, 但并非仅限于此。

本发明式 I 的这些化合物可以是其常规药学上可接受盐的形式。

可以按照下述反应流程制备本发明的化合物, 其中 n 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 具有与前面相同的意义。

下述反应流程 1 表明了本发明式 I 化合物的制备方法步骤, 其中 R^3 是 $-OH$ 基团或 $-OR^5$ 基团, R^4 是氢原子:

反应流程 1



用上面式 V 和 VI 表示的核碱基是已知的, 它们通常采用亲电取代反应制备[例如参见 Y. S. Lee & Y. H. Kim, *Synth. Commun.* 29(9)1503-17(1999)].

不过, 在本发明的方法中, 根据在 S. M. Hannick & Y. Kishi, 有机化学杂志(*J. Org. Chem.*), 48, 3833-3835(1983)中描述的技术原理, 通过缩合作用制备改性的式 V 和 VI 核碱基嘧啶环, 这样能够得到许多种 R^1 和 R^2 基团性质不同的碱基。

因此, 该方法的第一个步骤, 即步骤 a), 是在适当的溶剂, 例如诸如四氢呋喃之类醚中, 在适当的温度如回流温度下, 在 Zn 存在下式 II 的苯基乙腈与式 III 化合物进行反应, 然后用酸如盐酸处理得到的混合物, 得到式 IV 化合物。

其次, 在步骤 b) 中, 在碱性醇介质如钠/乙醇(Na/EtOH)介质中, 在适当温度如回流温度下, 这种式 IV 化合物与硫脲进行反应, 得到式 V 的硫脲嘧啶。

然后在步骤 c) 中, 式 V 的硫脲嘧啶用适当的稀有机酸, 例如 10% 氯乙酸处理, 可转化成式 VI 的尿嘧啶。

在步骤 d) 中, 例如在六甲基二硅氮烷(HMDS)、氯三甲基硅烷(TMSCl)和四氯化锡(SnCl_4)存在下, 通过与其中 n 等于 3 的式 VII 化合物进行常规昔化反应, 将该链固定在式 VI 所示核碱基的 N^1 上, 接着所得到的酯例如在甲醇/三乙胺(MeOH/ Et_3N)介质中进行溶剂分解, 得到式 IX 的醇。

然后, 式 IX 所示醇进行 Mitsunobu 反应, 用随后可得到 N-羟基脲基基团的含氮基团置换其-OH 基团。

于是, 使用 N,O-双(苯氧基羰基)羟基胺作为亲核试剂(步骤 e), 在常规的 Mitsunobu 反应条件下处理式的 IX 醇, 得到式 X 化合物, 该化合物在适当的溶剂中, 例如用氨或氨基化物常规氨解(步骤 f)后, 得到本发明的式 Ia 化合物, 该化合物带有末端 N^1 -羟基脲基基团, 即其中 R^3 代表-OH 基和 R^4 代表氮原子的本发明式 I 化合物。

然后, 可以通过 O-酰基化作用或 O-氨基甲酰基化作用(步骤 g)将

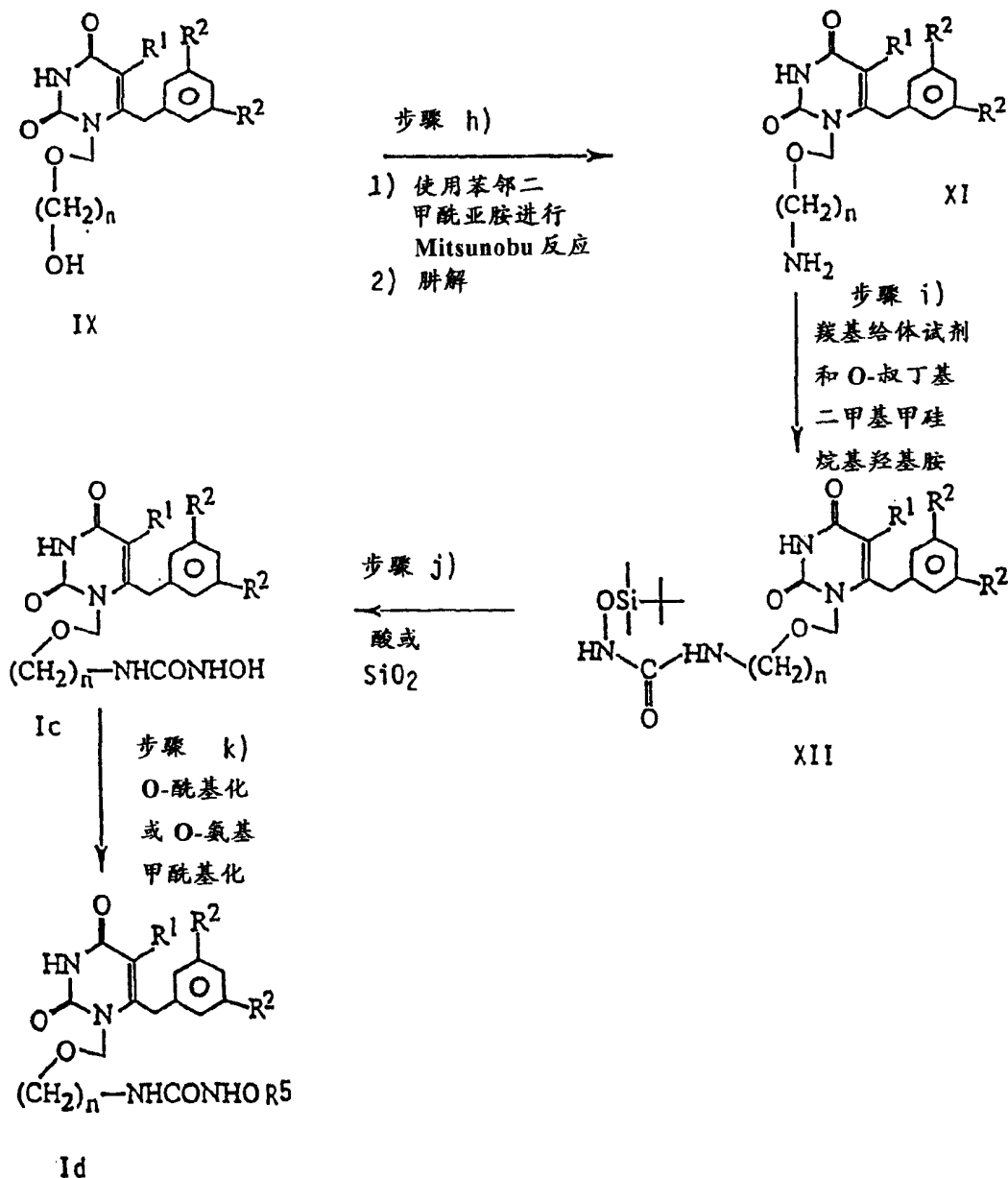
式 Ia 化合物转成本发明的式 Ib 化合物，即其中 R^3 代表 $-OR^5$ 基团和 R^4 代表氢原子的本发明式 I 化合物，其转化方法如下。

本发明的式 Ia 化合物可以进行常规 O-酰基化反应，例如采用通式 $X-CO-R^6$ (式中 R^6 是支化或非支化的 C_1-C_6 烷基，或任选取代的芳基，X 例如可以是卤素原子或 R^6COO- 基团，X 并非仅限于此) 的常规酰基化剂进行这种反应，得到其中 R^5 是 C_2-C_7 酰基或任选取代的芳基羰基的本发明式 Ib 所示单酰基化化合物，该化合物的亲油性比其前体 Ia 更强，并且其中 N-OH 基团得到保护以防止被氧化。

本发明的式 Ia 化合物还可以进行常规 O-氨基甲酰基化反应，例如利用通式 $X-CO-NH-R^7$ (式中 R^7 是支化或非支化的 C_1-C_6 烷基、在芳基上任选取代的并且其中烷基可以是支链或非支链的芳基 C_1-C_6 烷基、或杂芳基，X 例如可以是卤素原子，但 X 并非仅限于此) 的常规氨基甲酰基化剂进行这个反应，得到本发明的式 Ib 化合物，其中 R^5 是 C_1-C_6 烷基氨基羰基，在芳基上任选取代的芳基 (C_1-C_6) 烷基氨基羰基，或杂芳基氨基羰基，该化合物的亲油性比其前体 Ia 更强，并且其中 N-OH 基团得到保护以防止被氧化。

为了得到本发明的式 I 化合物，其中 R^3 是氢原子， R^4 是 $-OH$ 基团或 OR^5 基团，可参看下述反应流程 2:

反应流程 2



参看反应流程 1, 如上述步骤 a)-d) 得到的式 IX 所示醇, 在步骤 h) 中通过使用苯邻二甲酰亚胺作为亲核试剂进行常规 Mitsunobu 反应, 接着进行常规的肼解反应, 得到式 XI 所示胺。

然后, 在步骤 i) 中, 这个式 XI 所示胺用羰基给体试剂如羰基二咪唑或光气, 和 O-叔丁基二甲基甲硅烷基羟基胺进行常规处理, 得到式 XII 所示化合物。

这个式 XII 所示化合物然后例如在酸性介质中或在 SiO_2 存在下进行 O-甲硅烷基化反应(步骤 j), 得到携带末端 N^3 -羟基脲基基团的本发明式 Ic 化合物, 即其中 R^3 是氢原子, R^4 是-OH 基团的本发明的式 I 化合物。

然后, 通过 O-酰基化作用或 O-氨基甲酰基化作用(步骤 k)可以将本发明的式 Ic 化合物转化成本发明的式 Id 化合物, 即其中 R^3 代表氢原子和 R^4 代表-OR⁵ 基团的本发明式 I 化合物, 其转化方法如下。

本发明的式 Ic 化合物然后可以进行常规 O-酰基化反应, 例如用通式 X-CO-R^6 (式中 R^6 是支化或非支化的 C_1 - C_6 烷基, 或任选取代的芳基, X 例如可以是卤素原子或 $\text{R}^6\text{COO-}$ 基团, X 并非仅限于此)的常规酰基化剂进行这种反应, 得到其中 R^5 是 C_2 - C_7 酰基或任选取代的芳基羰基的本发明式 Id 单酰基化化合物。

本发明的式 Ic 化合物还可以进行常规 O-氨基甲酰基化反应, 例如用通式 X-CO-NH-R^7 (式中 R^7 是支化或非支化的 C_1 - C_6 烷基、在芳基上任选取代的并且其中烷基可以是支链或非支链的芳基 C_1 - C_6 烷基或杂芳基, X 例如可以是卤素原子, 但 X 并非仅限于此)的常规氨基甲酰基化剂进行这个反应, 得到本发明的式 Id 化合物, 其中 R^5 是 C_1 - C_6 烷基氨基羰基, 在芳基上任选取代的芳基 C_1 - C_6 烷基氨基羰基, 或杂芳基氨基羰基, 该化合物的亲油性比其前体 Ic 更强, 并且其中 N-OH 基团得到保护以防止被氧化。

本发明的化合物还可以按照常规方式转化成其在药学上可接受的盐。

为了证明本发明化合物作为抗病毒剂, 特别地作为抗 HIV-1 剂的功效, 曾根据下述原理和操作方式进行了活体外试验。

原理

筛选的目的是评价本发明化合物和对比化合物对在周围血液单核细胞(CMSP)上培养的 HIV-1 lai 菌株的抗逆转录病毒活性。

为此, 待试验化合物与处在指数生长期的 CMSP 一起培养七天(抗 HIV 试验时间)。

然后，通过用 RetroSys TR 盒 (INNOVAGEN) 测定“反转录酶” (RT) 活性，或者通过用 Innotest HIV 抗原 mAb 筛选盒 (IMMUNOGENETICS) 测定蛋白 P24，测量在培养上清液中这些化合物抑制病毒复制的能力。

确定能够抑制 50-90% 病毒复制的测试化合物的浓度。分别涉及抑制浓度 IC_{50} 和 IC_{90} 。

与筛选同时，在同样的条件下，进行待测试化合物的细胞毒性试验。

在培养 7 天后，通过 MTT (3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-2,5-二苯基四唑溴) 证实这个试验 [J. G. Park 等, *Cancer Res.* 47(22)5875-5879 (1987)]。

这个试验能够确定降低 50% CMSP 生长与存活的产品浓度 (CC_{50})。

该化合物的治疗指数 (IT) 计算如下: $IT_{50} = (CC_{50} / IC_{50})$ 。

操作方式

如在 Ulmer 及其同事, *Immunobiology*, 166(3), 238-250 (1984) 中所描述的, 采用 Ficoll 梯度 (Nicomed PharmaAS) 由健康供体分离这些 CMSP。

这些 CMSP 用植物凝集素活化三天, 然后在 96 井板中在补充重组人白细胞介素-2 的基础介质 (RPMI) 中培养。

在整个培养期间, 这些细胞保持在 37℃、饱和湿度气氛与 5% CO_2 下。

这些 CMSP 在不浓度待试验化合物存在下预处理一小时, 然后用 100 $TCID_{50}$ 的 HIV-1-Lai 感染 [S. Wain-Hobson 及其同事, *Science* (1991), 17, 252(5008): 961-965 (1991)]。

在注入 HIV-1 后三天, 更换一半的培养介质, 在第 7 天, 取出上清液, 并在 -20℃ 下冻结。

然后测量病毒复制:

a) 使用 RetroSys 盒 (INNOVAGEN) 测定培养上清液中的“反转录酶” (RT) 活性。

上清液中的 RT 在溴脱氧尿苷三磷酸 (BrdUTP) 存在下, 在被固定在 96 井板的井底的基质上合成出补体 DNA 段。通过固定与碱性磷酸酶共轭的抗 BrdU 抗体可定量分析 BrdU 加入量。采用比色法测定的被结合碱性磷酸酶的活性与培养上清液中的 RT 活性成比例。

b) 用 Innotech HIV 抗原 mAb 筛选盒 (IMMUNOGENETICS) 测定处在培养上清液中的蛋白 P24。

上清液的 P24 与固定在 96 井板的井底的抗 HIV 多克隆抗体结合。抗 P24 生物素化次生抗体固定在 P24 上。然后, 该生物素固定链霉抗生物素, 采用比色法测定的链霉抗生物素的活性与培养上清液中 P24 的存在量成比例。

列出的这些结果是由至少两个不同的实验重复三次得到的。

试验的本发明化合物:

化合物 1: 1-(3-N³-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-尿嘧啶

化合物 2: 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-尿嘧啶

化合物 3: 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶

化合物 4: 1-(3-N¹-乙酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶

化合物 5: 1-(3-N¹-叔戊酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶

试验的对比化合物:

对比化合物 1: 1-(2-N¹-羟基脲基乙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-尿嘧啶

对比化合物 2: 1-(4-N¹-羟基脲基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-尿嘧啶

对比化合物 3: 1-(2-N¹-羟基脲基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基尿嘧啶(式 C 化合物)

对比化合物 4: 1-乙氧基甲基-6-苄基-5-异丙基尿嘧啶(式 A 化合物)。

如在这些实施例中所指出的, 合成本发明化合物 1~5 和试验对比化合物 1、2、3, 如文献[M. Baba, H. Tanaka, T. Miyasaka, S. Yuseda, M. Ubasawa, R. T. Walker & E. De Clerq. 核苷核苷酸 (*Nucleosides Nucleotides*), 14, 575-583(1995)]中所述合成对比化合物 4。

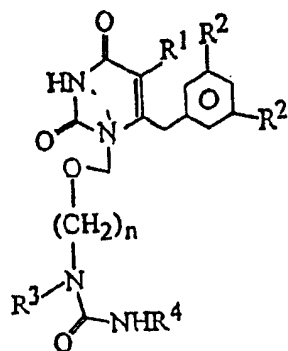
试验结果

由通过使用本发明化合物 2 和 3 和对比化合物 1 测定“反转录酶”活性和蛋白 P24 得到的试验结果列在用图表示的抗病毒图上。

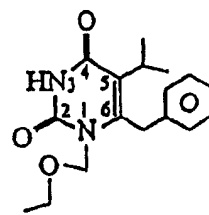
这些结果清楚地表明, 试验化合物同时抑制产生两种不同病毒标记物, 即反转录酶和蛋白 P24。

因此, 这些化合物是 HIV-1 病毒复制的抑制剂。

由测定“反转录酶”(RT)活性得到的试验结果列于下面表 1 中, 该表给出以纳摩尔表示的抗 HIV-Lai 抑制 50%(IC₅₀)和 90%(IC₉₀)的浓度, 本发明化合物 1~5 和对比化合物 1~4 的以纳摩尔表示的 50%细胞毒性浓度(CC₅₀)和治疗指数 IT₅₀(CC₅₀/ IC₅₀)。



(I)



(A)

表 1

	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	IC ₅₀ (nM)	IC ₉₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IT ₅₀
本发明化合物									
1	Et	Me	3	H	OH	2.3	9	2.6×10 ⁵	1.13×10 ⁵
2	Et	Me	3	OH	H	0.24	1.7	>3×10 ⁵	>10 ⁶
3	iPr	Me	3	OH	H	3×10 ⁻⁵	3.9×10 ⁻³	2.2×10 ⁵	7×10 ⁹
4	iPr	Me	3	OAc	H	0.03	0.6	3×10 ⁴	10 ⁵
5	iPr	Me	3	OOCCMe ₃	H	1×10 ⁻⁶		6.5×10 ⁴	6.5×10 ¹⁰
对比化合物									
1	Et	Me	2	OH	H	0.92		>5×10 ⁵	>1.1×10 ⁶
2	Et	Me	4	OH	H	2.3	15	>0.5×10 ⁵	>0.25×10 ⁵
3(式 C)	Et	H	2	OH	H	70	30	>2.5×10 ⁵	>3.5×10 ³
4(式 A)						2		>3×10 ⁴	>1.5×10 ⁴

如表 1 所示, 本发明的化合物显示出对 HIV-1 非常强的抗病毒活性, 特别是具有式 I 的化合物 3, 其中 R¹=-CHMe₂, R²=Me, R³=-OH 和 R⁴=H, 即 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶, 可以观察到该化合物的活性比其同属或其竞争者的活性高 100,000 倍, 非常特别地, 具有式 I 的化合物 5, 其中 R¹=-CHMe₂, R²=Me, R³=-OOCCMe₃ 和 R⁴=H, 即 1-(3-N¹-叔戊氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶, 可以观察到该化合物惊人的不可预料的活性, 即其活性比其同属或其竞争者的活性高 1,000,000 倍。

因此, 本发明提供一类新型无环核苷作为抗病毒剂, 尤其作为无毒的 HIV-1 反转录酶的非核苷抑制剂起作用, 在皮摩尔 (pM), 甚至飞摩尔 (fM) 浓度下, 它可能都具有活性。

另外, 当用本发明的化合物之一, 即化合物 2 进行试验时, 表明这种化合物应与 AZT(3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷)、ddI(2',3'-二脱氧肌苷)和 ddC(2',3'-二脱氧胞苷)呈现协同作用, 这意味着本发明的化合物与至少 AZT、ddI 和/或 ddC 一起使用一般是有利的。

于是, 本发明化合物或其药学上可接受的盐在药物组合物中可以

用作活性组分，该化合物可以单独使用，或者与其它活性组分混合使用，尤其在多治疗范围内在用作药物的药物组合物中可以用作活性组分。

因此，本发明还提供一种药物组合物，该组合物含有至少一种本发明的化合物或其药学上可接受的盐作为活性组分。

在该组合物中含有的本发明化合物或其药学上可接受的盐的量尤其取决于患者的体重、年龄和症状以及这种化合物的功效。

本发明的药物组合物可以为口服或全身用药形式，该组合物可以含有适当的在药学上可接受的载体或赋形剂。

在该药物组合物中含有的本发明化合物有利地是其中 R^3 或 R^4 为 $-OR^5$ 基团的化合物。

在这种情况下，本发明化合物是“前药”，在用药后，这种化合物在体内转化成其中 R^3 或 R^4 为 $-OH$ 基团的本发明化合物。

其中 R^3 或 R^4 为 $-OR^5$ 基团的这种化合物可以尤其有利地被用于延迟配方中。

其中 R^5 为酰基的本发明化合物是特别有利的，因为它的亲油性比其前体更强，并且 $N-OH$ 基团得到保护以便防止其氧化。另外，可以通过酰基性质在血液中以可控速度被脱酰基化。

使用支化的 R^5 基团，例如像叔戊酰基，也是有利的，因为它能够延迟酯基团被酯酶水解。

借助本发明，可以改善在受体上，即 HIV-1 反转录酶的变构位点上的固定，这可以通过较低的抑制浓度得到体现，这意味着更好的选择性、更低的生产成本和选择更低抗性突变体的倾向。

本发明具有 N -羟基脲基基团的无环核苷的另一个优点是，它们在氧化成相应的氮氧基(aminoxyle)游离基后可用电子顺磁共振(RPE)进行检测。通过任选地借助低紫外光辐射进行的空气氧化，得到非常低的顺磁粒子稳态浓度，如果 RPE 技术的灵敏度很高，选择性也很高，这就能够跟踪复杂的生物学介质中的分子。

根据下面的操作方式用骨髓细胞进行了本发明化合物 3 和 5 的毒

性试验。

在补充了 1 毫摩尔谷氨酸、10%胎牛血清、青霉素和链霉素的 RPMI 1640 介质(GIBCO, USA)的 1 毫升培养物中, 按照 5×10^5 细胞/毫升培养 Balb/c 鼠的骨髓细胞。

在浓度从 1×10^{-12} 摩尔增加到 1×10^{-5} 摩尔的本发明化合物 3 和 5 存在下, 通过添加 1 纳克/毫升 Srem 细胞因子(c-kit 配位体)、IL3 和 GM-CSF(Pharmingen, USA)刺激这些细胞。

在 37°C、5%CO₂ 下培养 5 天后, 回收这些细胞。

通过在 Trypan 蓝存在下计数存活细胞可评价其增殖情况。

用与藻红蛋白(PE)偶合的抗体抗 CD38, 与荧光素 5(FI) 偶合的抗体抗-Grl, 抗 Gri-PE 和抗 CD11b-FI(Pharmingen, USA)双细胞标记, 用流动细胞计(Facs-Calibur, BECTON DICKINSON, USA)评价细胞分化情况。

在所有的试验浓度下, 其细胞增殖与没有本发明化合物 3 和 5 时所观察的细胞增殖相同。

同样地, 由细胞分裂素诱发的淋巴细胞 B、髓细胞、中性白细胞和巨噬细胞的比例在有或没有本发明化合物 3 和 5 时都是相同的, 无论其浓度如何。

这些结果清楚地表明, 本发明的化合物, 特别是本发明化合物 3 和 5 对鼠的骨髓细胞没有产生明显毒性作用, 并不约束它们活体外分化, 甚至在比活体外人体淋巴细胞中产生 HIV 复制抑制作用的浓度高 1×10^6 倍的浓度下也是如此。

下面的实施例用于说明本发明。但是, 这些实施例在任何情况下不应该被认为是限制本发明保护范围。

实施例

在下面合成中使用的原料、试剂和溶剂, 除非另外指出, 均来自 Fluka 公司(Buchs, 瑞士)、Merck 公司(Darmstadt, 德国)或 Aldrich(Buchs, 瑞士)的商品。

实施例 1

1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶(本发明化合物 3)的合成

(本发明的式 I 化合物, 其中 n=3, R¹ 是异丙基, 每个 R² 是甲基, R³ 是-OH 基团, R⁴ 是氢原子)。

A. 6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶的合成

(根据反应流程 1 的式 VI 化合物, 其中 R¹ 是异丙基, 每个 R² 是甲基)

往 2-溴-3-甲基丁酸(3 克, 16.5 毫摩尔)在乙醇(200 毫升)中的溶液, 添加浓硫酸(4 毫升)。在回流沸腾 36 小时后, 返回到室温的反应介质用饱和碳酸钠水溶液中和。在蒸去乙醇后, 反应介质用二氯甲烷(100 毫升)提取。然后, 有机相用硫酸镁干燥, 蒸去溶剂得到 2-溴-3-甲基丁酸乙酯(1.91 克 55%)。

锌粉(31.5 克, 0.48 摩尔)在四氢呋喃(300 毫升)中的悬浮液升温沸腾回流, 然后添加几滴 2-溴-3-甲基丁酸乙酯以便引发反应。在磁力搅拌下回流 45 分钟后, 添加 3,5-二甲基苄基乙腈(13.2 克, 91 毫摩尔), 然后滴加余下的 2-溴-3-甲基丁酸乙酯(总共 19.1 克, 91 毫摩尔)。保持沸腾 15 分钟, 然后冷却该混合物, 再往其中添加四氢呋喃(500 毫升)和 50%碳酸钾水溶液(100 毫升)。在激烈搅拌 45 分钟后, 采用倾析方法分离有机相, 再用四氢呋喃(2 × 100 毫升)洗涤含水相。合并的有机相用 10% 盐酸水溶液(300 毫升)处理 45 分钟。在减压蒸馏除去四氢呋喃后, 残留物用二氯甲烷(300 毫升)溶解, 有机相用饱和碳酸氢钠溶液(100 毫升)洗涤, 用硫酸镁干燥与浓缩。蒸馏残留物(134℃, 10⁻¹ 毫米汞柱)得到 3-甲基-2-(3,5-二甲基苄基乙酰基)-丁酸乙酯(13.2 克, 52%)。

金属钠(23.8 克, 1.034 摩尔)与无水乙醇(500 毫升)进行反应。往得到的透明溶液中添加硫脲(54.35 克, 714 毫摩尔)和 3-甲基-2-(3,5-二甲基苄基乙酰基)-丁酸乙酯(13.14 克, 47.6 毫摩尔)。反应介质保持回流 6 小时, 然后在 40.50℃ 下真空浓缩。往得到的残留物添加浓盐酸(100 毫升), 然后用醋酸将该溶液调节到 pH4。得到的 6-二

甲基苄基-5-异丙基-2-硫脲嘧啶溶于 10% 氯乙酸水溶液 (200 毫升) 中, 该溶液保持回流 24 小时, 然后冷却到室温, 所得到的沉淀采用过滤分离, 再用冷乙醇洗涤, 然后用乙醚洗涤, 再在 40℃ 下真空干燥, 得到 6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶 (7 克, 54%)。

熔点: 213-214℃。

B. 1-乙酰氧基-3-乙酰氧基甲氧基丙烷的合成

(根据反应流程 1 的式 VII 化合物, 其中 $n=3$)

往达到 0℃ 的 1,3-二噁烷 (3 毫升, 0.035 毫摩尔) 和醋酸酐 (3.3 毫升, 0.035 毫摩尔) 混合物中加入一滴浓硫酸。然后, 该混合物在 20℃ 搅拌 14 小时, 加入醋酸钠 (2 克), 再过滤。真空蒸馏 (120℃, 16 毫米汞柱) 的残留物得到 1-乙酰氧基-3-乙酰氧基甲氧基丙烷 (3.34 克, 50%), 呈无色油状。

$^1\text{H NMR}$ (200MHz, CDCl_3): δ 1.90 (五重峰, 2H, $J=6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.04 (s, 3H, OAc), 2.09 (s, 3H, OAc), 3.69 (t, 2H, $J=6\text{Hz}$, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OAc}$), 4.14 (t, 2H, $J=6\text{Hz}$, $\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OAc}$), 5.22 (s, 2H, AcOCH_2O)。

IR (KBr): ν_{max} 2994 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1706 和 1682 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1225, 1074 cm^{-1} 。

C. 1-(3- N^1 -羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶 (本发明化合物 3) 的合成

往在前面步骤 A 得到的 6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶 (1.5 克, 5.5 毫摩尔) 和在前面步骤 B 得到的 1-乙酰氧基-3-乙酰氧基甲氧基丙烷 (2.1 克, 11 毫摩尔) 在乙腈 (60 毫升) 中的溶液, 添加六甲基二硅氮烷 (1.78 克, 11 毫摩尔) 和氯代三甲基硅烷 (1.2 克, 11 毫摩尔)。在 20℃ 下 15 分钟后, 滴加氯化锡 (IV) (2.87 克, 11 毫摩尔) 在乙腈 (15 毫升) 中的溶液。在 20℃ 搅拌 14 小时后, 添加二氯甲烷 (100 毫升) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (50 毫升)。然后, 有机相用饱和碳酸氢钠水溶液 (30 毫升) 洗涤, 再用饱和氯化钠溶液 (30 毫升) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 然后浓缩。得到的残留物进行《闪》式柱色谱分

离(石油醚/醋酸乙酯 1:1, $R_f=0.41$), 得到 1-(乙酰氧基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶(1.73 克, 75%), 呈粘稠油状。

这种含乙酰基衍生物(1.7 克, 4.05 毫摩尔)溶于甲醇(40 毫升)中, 往其中添加三乙胺(5 毫升)和水(5 毫升)。在 20℃ 搅拌 48 小时后, 停止反应(CCM)。浓缩反应介质, 通过与甲苯共蒸发除去挥发性产物残留物, 再让残留物进行《闪》式柱色谱分离(二氯甲烷/甲醇 99.5: 0.5), 得到 1-(3-羟基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶(1.43 克, 93%)。

往这种醇(1.43 克, 3.96 毫摩尔)、N,0-(二苯氧基羰基)-羟基胺(1.2 克, 4.36 毫摩尔)和三苯基膦(1.25 克, 4.76 毫摩尔)在四氢呋喃(30 毫升)中的溶液, 在 0℃ 滴加偶氮基二甲酸二异丙酯(0.97 克, 4.76 毫摩尔)在四氢呋喃(5 毫升)中的溶液。该反应介质浓缩后进行《闪》式柱色谱分离(甲醇/氯仿 0.3 : 9.7), 得到 6-(3,5-二甲基苄基)-1-[3-(N-苯氧基羰基-N-苯氧基羰酰氧基氨基)丙氧基甲基]-5-异丙基尿嘧啶(1.8 克, 79%), 呈固体状。

熔点: 59-61℃。

$^1\text{H NMR}$ (200MHz, CDCl_3): δ 1.23(d, 6H, $J=6.5\text{Hz}$, CH-Me_2), 2.03(五重峰, 2H, $J=6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.29(s, 6H, Me_2Ph), 2.82(sept., 1H, CH-Me_2), 3.75(t, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$), 3.95(t, 2H, $\text{NCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.09(s, 2H, CH_2Ar), 5.12(s, 2H, NCH_2O), 6.70(s, 2H, H 邻苄基), 6.90(s, 1H, H 对苄基), 7.10-7.48(m, 10, 2PhO), 8.1(s I, 1H, NH)。

IR(CH_2Cl_2): ν_{\max} 3382($\nu_{\text{N-H}}$), 3050-2870($\nu_{\text{C-H}}$), 1806, 1741, 1707 和 1682($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} 。

$\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_8$ 的元素分析:

计算值: C: 66.33; H: 6.06; N: 6.82

测定值: C: 66.33; H: 6.12; N: 6.83

这后一种化合物(1.8 克, 3.13 毫摩尔)在氨饱和的甲醇中的溶

液, 在 20℃ 下搅拌直到起始物消失为止(采用 CCM 跟踪反应)。其残留物进行《闪》式柱色谱分离(甲醇/醋酸乙酯 1: 9), 得到所希望的 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3, 5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶(0.74 克, 60%), 呈固体状。

熔点: 88-90℃。

¹H NMR(200MHz, CDCl₃): δ 1.29(d, 6H, J=6.5Hz, CH-Me₂), 1.89(五重峰 2H, J=6Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2.28(s, 6H, Me₂Ph), 2.88(七重峰 1H, CH-Me₂), 3.62(t, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂-N), 3.68(t, 2H, NCH₂-CH₂-CH₂-O), 4.09(s, 2H, CH₂Ar), 5.11(s, 2H, NCH₂O), 6.70(s, 2H, H_{邻-苄基}), 6.90(s, 1H, H_{对-苄基}), 9.00 和 9.87(2s I, 3H, NH)。

IR(CH₂Cl₂): ν_{max}3530(ν_{O-H}), 3430、3372 和 3190(ν_{N-H}), 3000-2850(ν_{C-H}), 1681.5(ν_{C=O}) cm⁻¹。

C₂₁H₃₀N₄O₅·1/2H₂O 的元素分析:

计算值: C: 59.00; H: 7.31; N: 13.11

测定值: C: 58.83; H: 7.15; N: 12.82。

实施例 2

1-(3-N¹-乙酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3, 5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶(本发明化合物 4)的合成

(本发明的式 I 化合物, 其中 n=3, R¹是异丙基, 每个 R²是甲基, R³是-OR⁵基团, 其中 R⁵是-CO-CH₃基团, R⁴是氢原子)。

往上述实施例 1-C 中得到的 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3, 5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶(85 毫克, 0.2 毫摩尔)在二氯甲烷(3.5 毫升)中的溶液, 添加 DMAP(4-二甲基氨基吡啶)(5 毫克, 0.04 毫摩尔)、三乙胺(45 微升, 0.3 毫摩尔)和醋酸酐(25 微升, 0.24 毫摩尔), 该混合物在 20℃ 搅拌 3 小时。然后, 添加二氯甲烷(5 毫升)和饱和碳酸氢钠水溶液(5 毫升)。这种反应介质再用二氯甲烷(50 毫升)提取, 有机相用水(10 毫升)洗涤, 然后用饱和氯化钠溶液(10 毫升)洗涤, 再干燥(硫酸钠)。有机相随后进行浓缩并且进行

“闪”式硅胶柱色谱分离(二氯甲烷/甲醇 9:1), 得到 70 毫克(75%) 所希望的 1-(3-N¹-乙酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶, 呈固体状。

熔点: 77-79℃。

¹H NMR(200MHz, CDCl₃): δ 1.31(d, 6H, J=7.0Hz, CH-Me₂), 1.84(五重峰 2H, J=6.5Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2.22(s, 3H, OAc), 2.31(s, 6H, Me₂Ph), 2.86(七重峰 1H, CH-Me₂), 3.67(t, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂-N), 3.75(t, 2H, NCH₂-CH₂-CH₂-O), 4.10(s, 2H, CH₂Ar), 5.10(s, 2H, NCH₂O), 6.72(s, 2H, H_{邻-苄基}), 6.91(s, 1H, H_{对-苄基}), 8.65(s I, 1H, NH)。

IR(CH₂Cl₂): ν_{max}3531、3420、3372、3195(ν_{N-H}), 3055-2871(ν_{C-H}), 1795(ν_{C=OAc}), 1784, 1683(ν_{C=OCON}) cm⁻¹。

SM(m/z(%))444(2, M⁺-NH₂), 385(16, M⁺-NH₂-AcO), 302(1, BH⁺), 301(7, B⁺), 287(2, BH⁺-Me), 286(B⁺-Me)。

C₂₃H₃₂N₄O₆·1/2H₂O(469.61)的元素分析:

计算值: C: 58.83; H: 7.08; N: 11.93

测定值: C: 58.92; H: 6.98; N: 11.83。

实施例 3

1-(3-N¹-叔戊酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶(本发明化合物 5)的合成

(本发明的式 I 化合物, 其中 n=3, R¹是异丙基, 每个 R²是甲基, R³是叔戊酰氧基(Me₃CCOO-), R⁴是氢原子)。

往上述实施例 1-C 中得到的 1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶(134 毫克, 0.32 毫摩尔)在吡啶(1.5 毫升)中的溶液, 添加 46 毫克(0.38 毫摩尔)叔戊酰基氯。在 24℃下搅拌 14 小时后, 通过与甲苯(2×3 毫升)共蒸发除去吡啶, 残留物用二氯甲烷(10 毫升)溶解。然后, 有机相用饱和碳酸氢钠水溶液(10 毫升)洗涤。含水相用二氯甲烷(3×10 毫升)提取, 合并的有机相用碳酸氢钠水溶液(10 毫升), 饱和氯化钠水溶液(10 毫升)洗涤, 干

燥(硫酸钠), 通过蒸馏溶剂得到 180 毫克 1-(3-N¹-叔戊酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶粗品, 它然后进行“闪”式硅胶柱色谱分离(二氯甲烷/甲醇 24:1), 得到 127 毫克(78%) 所希望的 1-(3-N¹-叔戊酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基-尿嘧啶, 呈固体状。

熔点: 132-133℃。

R_F 0.22(二氯甲烷/甲醇 24:1),

UV(MeOH) nm (ε): 210(17500)和 268(9420)。

¹H NMR(200MHz, CDCl₃): δ 1.27(d, 6H, J=6.5Hz, CH-Me₂), 1.29(s, 9H, CMe₃), 1.80(五重峰 2H, J=6Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2.28(s, 6H, Me₂Ph), 2.86(七重峰 1H, CH-Me₂), 3.62(t, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂-N), 3.72(t, 2H, OCH₂-CH₂-CH₂-N), 4.08(s, 2H, CH₂Ar), 5.09(s, 2H, NCH₂O), 6.69(s, 2H, H_{邻-苄基}), 6.89(s, 1H, H_{对-苄基}), 8.66(s, 1H, NH)。

¹³C NMR(50MHz, CDCl₃): δ 20.4(Me₂Ar), 21.3(Me₂CH), 26.8(NCH₂CH₂CH₂-O), 27.0(Me₃C), 28.4(Me₂CH), 33.3(CH₂Ar), 38.5(Me₃C), 46.6(NCH₂CH₂CH₂), 66.4(O-CH₂-CH₂-CH₂-N), 73.1(NCH₂O), 119.6(C-5), 125.0(C_{邻-Ar}), 128.8(C_{对-Ar}), 135.1(C_{ipso-Ar}), 138.8(C_{间-Ar}), 148.8(C-2), 151.8(C-6), 158.8(CONH₂), 162.3(C-4)和 175.7(COCMe₃)。

IR(CH₂Cl₂): ν_{max} 3535(ν_{N-H}), 3430 和 3386(ν_{NH2}), 3052(非对称 ν_{C-H}), 1779(ν_{C=O} 酯), 1705, 1684(ν_{C=O} CON) cm⁻¹。

SM m/z (%): 355(4, B-CH₂-OCH₂CH₂CN⁺), 301(2, B-CH₂O⁺), 285(3, B-CH₂⁺), 273(13, BH₂⁺), 272(62, BH⁺), 271(5, B⁺), 257(100, BH⁺-Me)。

C₂₆H₃₈N₄O₆ (502.62)的元素分析, 0.5CH₂Cl₂:

计算值: C: 58.39; H: 7.21; N: 10.28

测定值: C: 58.14; H: 7.20; N: 10.13。

实施例 4

1-(3-N³-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(本发明化合物 1)的合成

(本发明的式 I 化合物, 其中 $n=3$, R¹ 是乙基, 每个 R² 是甲基, R³ 是氢原子, R⁴ 是 OH 基团)。

A. 5-乙基-1-(3-羟基丙氧基甲基)-6-(3,6-二甲基苄基)尿嘧啶的合成

(根据反应流程 1 的式 IX 化合物, 其中 R¹ 是乙基, 每个 R² 是甲基) 往 5-乙基-6-(3,5-二甲基苄基)尿嘧啶(645 毫克, 5 毫摩尔)(如在前面实施例 1-A 中制备 6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶所描述的那样制备, 但用 2-溴丁酸代替 2-溴-3-甲基丁酸)和 1-乙酰氧基-3-乙酰氧基-甲氧基丙烷(如前面实施例 1-B 中所描述的那样制备)(950 毫克, 5 毫摩尔)在乙腈(25 毫升)中的悬浮液, 添加六甲基二硅氮烷(810 毫克, 5 毫摩尔)和氯代三甲基硅烷(545 毫克, 5 毫摩尔)。在 20℃ 下搅拌 10 分钟后, 在 10 分钟内滴加氯化锡(IV)(782 毫克, 2.4 毫摩尔)在乙腈(7 毫升)中的溶液。在搅拌 14 小时后, 再往反应介质添加二氯甲烷(70 毫升)和饱和碳酸氢钠水溶液(70 毫升)。采用倾析方法分离有机相, 含水相用二氯甲烷(3 × 50 毫升)提取。合并的有机相用饱和碳酸氢钠溶液(25 毫升)、水(25 毫升)、饱和氯化钠水溶液(25 毫升)洗涤。有机相用硫酸钠干燥, 然后浓缩, 再进行《闪》式硅胶柱色谱分离(醋酸乙酯/石油醚 1:1), 得到 0.85 克(87%)5-乙基-1-(3-乙酰氧基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)尿嘧啶。

C₂₁H₂₈N₂O₅ (388.47) 的元素分析:

计算值: C: 44.93; H: 7.26; N: 7.21

测定值: C: 44.76; H: 7.39; N: 7.11.

这后一种化合物然后在三乙胺-甲醇-水混合物 1:8:1(80 毫升)中在 20℃ 下搅拌 34 小时, 在用《闪》式硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 19:1)后, 得到 0.57(76%)5-乙基-1-(3-羟基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)尿嘧啶。

$C_{19}H_{26}N_2O_4$ (346.43) 的元素分析:

计算值: C: 65.88; H: 7.56; N: 8.09

测定值: C: 65.42; H: 7.46; N: 7.94.

B. 1-(3- N^3 -羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(本发明化合物 1)的合成

在前面步骤 A 中得到的 5-乙基-1-(3-羟基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)尿嘧啶(210 毫克, 0.6 毫摩尔)、苯邻二甲酰亚胺(110 毫克, 0.72 毫摩尔)和三苯基膦(0.19 毫克, 0.72 毫摩尔)溶于四氢呋喃, 该溶液冷却到 0℃。然后往其中滴加偶氮基二甲酸异丙酯(145 毫克, 0.72 毫摩尔)在四氢呋喃(2 毫升)中的溶液。该反应介质再进行浓缩, 并进行《闪》式硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 49:1), 得到的产物用新的《闪》式硅胶柱色谱纯化(醋酸乙酯/石油醚 1:1), 得到 5-乙基-6-(3,5-二甲基苄基)-1-(3-苯邻二甲酰亚胺基丙氧基甲基)尿嘧啶(0.23 克, 79%)。

这后一种化合物通过在胼水合物(240 毫克)乙醇(5 毫升)溶液中在 20℃下搅拌 2 小时进行胼解反应, 再用硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇/氨饱和的甲醇 8:2:0.25), 得到 1-(3-氨基丙氧基甲基)-5-乙基-6-(3,5-二甲基苄基)尿嘧啶(0.10 克, 59%)。

这后一种化合物(100 毫克, 0.29 毫摩尔)在二氯甲烷(3 毫升)中的溶液被添加到羰基二咪唑(66 毫克, 0.41 毫摩尔)在二氯甲烷(6 毫升)中的溶液, 其中滴加 0-叔-丁基二甲基甲硅烷基羟基胺(60 毫克, 0.41 毫摩尔)在二氯甲烷(1 毫升)中的溶液, 并且在 20℃下搅拌 20 分钟。在两次《闪》式硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 19:1)后, 产物进行 0-脱甲硅烷基化反应, 于是得到 60 毫克(52%)所希望的 1-(3- N^3 -羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶, 呈油状。

1H NMR(200MHz, $CDCl_3$, 40℃): δ 1.07(t, 3H, $J=7.0$ Hz, CH_2-CH_3), 1.82(五重峰 2H, $J=6$ Hz, $CH_2-CH_2-CH_2$), 2.30(s, 6H, Me_2Ph), 约 2.5(s I, 3H, NH), 2.51(q, 2H, CH_2-CH_3), 3.40(t, 2H, $N-CH_2-$

CH₂-CH₂-O), 3.70(t, 2H, OCH₂-CH₂-CH₂-N), 4.09(s, 2H, CH₂Ar), 5.13(s, 2H, NCH₂O), 6.72(s, 2H, H_{邻-苄基}), 6.92(s, 1H, H_{对-苄基}).

IR(KBr): ν_{\max} 3401($\nu_{\text{O-H}}$), 3291、3186 和 3058($\nu_{\text{N-H}}$), 1691($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} .

C₂₀H₂₈N₄O₅ · 1/3H₂O 的元素分析:

计算值: C: 58.52; H: 7.04; N: 13.65

测定值: C: 58.63; H: 6.99; N: 13.44.

实施例 5

1-(3-N¹-羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(本发明化合物 2)的合成

(本发明的式 I 化合物, 其中 n=3, R¹ 是乙基, R² = 甲基, R³ = OH, R⁴ = H).

往(如在前面实施例 4-A 中所描述的那样制备的)5-乙基-1-(3-羟基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)尿嘧啶(190 毫克, 0.548 毫摩尔), N, O-双(苯氧基羰基)羟基胺(165 毫克, 0.603 毫摩尔)和三苯基膦(288 毫克, 1.09 毫摩尔)在四氢呋喃(5 毫升)中的溶液, 在 0℃ 滴加 DIAD(偶氮基二甲酸二异丙酯)(222 毫克, 1.09 毫摩尔)在四氢呋喃(1 毫升)中的溶液。这时将反应介质调到 20℃, 浓缩, 再进行硅胶柱色谱纯化(醋酸乙酯/乙醚 1: 9), 然后用《闪》式硅胶柱色谱纯化(甲醇/氯仿 3: 97), 得到 250 毫克中间化合物 6-(3,5-二甲基苄基)-1-[3-(N-苯氧基羰基-N-苯氧基羰酰氧基氨基)丙氧基甲基]-5-乙基脲嘧啶。

这种中间化合物立刻溶于氨饱和的甲醇溶液(5 毫升)中, 该反应介质在 20℃ 下搅拌 24 小时。这时, 中间化合物全部反应(薄层色谱), 浓缩的反应介质进行《闪》式硅胶柱色谱纯化(甲醇/醋酸乙酯 1: 9), 得到所希望的 1-(3-N¹-羟基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(40 毫克, 24%), 呈粘稠油状, 它在 20℃ 几小时内自发地结晶。

熔点: 165-167℃;

R_f 0.37(甲醇/醋酸乙酯 1: 9)。

1H NMR(200MHz, CD_3OD , 40℃): δ 0.90(t, 3H, $J=7.5Hz$, CH_2-CH_3), 1.85(五重峰 2H, $J=6.25Hz$, $NCH_2-CH_2-CH_2O$), 2.25(s, 6H, Me_2Ph), 2.40(q, 2H, CH_2CH_3), 3.50(t, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_2-O$), 3.85(t, 2H, $NCH_2-CH_2-CH_2-O$), 4.05(s, 2H, CH_2Ph), 5.07(s, 2H, OCH_2N), 6.65(s *él.*, 2H, $H_{\text{邻-苄基}}$), 6.85(s *él.*, 1H, $H_{\text{对-苄基}}$)。

IR(KBr): 3477, 3368 和 3159(ν_{N-H} 和 ν_{O-H}), 1695 和 1650($\nu_{C=O}$) cm^{-1} 。

SM(m/z (%)) 359(1, M^+-NH_2COH), 341(7, $M^+-NH_2COH-H_2O$), 271(41, $M^+-NH_2CONOH(CH_2)_3O$), 258(78, $M^+-NH_2CONOH(CH_2)_3OCH$)。

$C_{20}H_{28}N_4O_5 \cdot 1/3H_2O$ 的元素分析:

计算值: C: 58.52; H: 7.04; N: 13.64

测定值: C: 58.55; H: 6.95; N: 13.49。

实施例 6

1-(3- N^1 -苯甲酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶(本发明化合物 6)的合成

(本发明的式 I 化合物, 其中 $n=3$, R^1 = 异丙基, R^2 = 甲基, R^3 = 苯甲酰氧基, R^4 = H)。

往在前面实施例 1-C 中得到的 1-(3- N^1 -羟基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶(100 毫克, 0.24 毫摩尔)在吡啶(5 毫升)中的溶液, 添加 30 微升(0.26 毫摩尔)苯甲酰氯。在 24℃ 下搅拌 14 小时后, 通过与甲苯(2×10 毫升)共蒸发除去吡啶, 残留物采用硅胶柱色谱纯化(石油醚/丙酮 3 : 2), 得到 110 毫克(88%)所希望的 1-(3- N^1 -苯甲酰氧基脲基丙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-异丙基尿嘧啶, 呈固体状。

熔点: 160-161℃;

R_f 0.16(石油醚/丙酮 3 : 2)。

1H NMR(200MHz, $CDCl_3$): δ 1.28(d, 6H, $J=7.0Hz$, $CH-Me_2$),

1.92(五重峰 2H, $J=6.0\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.30(s, 6H, Me_2Ph), 2.84(七重峰, 1H, Me_2CH), 3.70(t, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 3.87(t, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$), 4.08(s, 2H, CH_2Ar), 5.10(s, 2H, NCH_2O), 5.22(展宽的 s, 2H, NH_2), 6.70(s, 2H, $\text{H}_{\text{邻-苄基}}$), 6.90(s, 1H, $\text{H}_{\text{对-苄基}}$), 7.52(dt, 2H, $J_{\text{邻}}=9.0\text{Hz}$, $J_{\text{对}}=0.5\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{间-苯甲酰基}}$), 7.70(dt, 1H, $J_{\text{间}}=3.5\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{对-苯甲酰基}}$), 8.10(dd, 2H, $\text{H}_{\text{邻-苯甲酰基}}$), 8.98(展宽的 s, 1H, NH).

IR(KBr): ν_{max} 3431, 3363 和 3205 ($\nu_{\text{N-H}}$), 3028-2871 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1763 ($\nu_{\text{C=O}}$ 苯甲酰基), 1680 ($\nu_{\text{C=O}}\text{NC=O}$) cm^{-1} .

SM(m/z (%)) 398 (0.5, $\text{M}^+\text{-OBz}$), 355 (2, $\text{M}^+\text{-OBz-CONH}_2$), 272 (60, BH^+), 257 (100, $\text{BH}^+\text{-Me}$), 122 (86, OBz), 105 (95, Bz).

$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6$ (522.61) 的元素分析:

计算值: C: 64.35; H: 6.56; N: 10.72

测定值: C: 64.26; H: 6.63; N: 10.56.

实施例 7

1-(2- N^1 -羟基脲基乙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(对比化合物 1)的合成

(式 I 对比化合物, 其中 $n=2$, $\text{R}^1 = \text{乙基}$, $\text{R}^2 = \text{甲基}$, $\text{R}^3 = \text{OH}$, $\text{R}^4 = \text{H}$).

A. 1-(2-乙酰氧基乙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶的合成

6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(参见上述实施例 4-A) (516 毫克, 2 毫摩尔) 和 1-乙酰氧基-2-乙酰氧基-甲氧基乙烷 [A. Rosowski, S. H. Kim, M. Wick, *J. Med. Chem.* (1981) 24, 1177-81] (704 毫克, 4 毫摩尔) 在氮气气氛下在乙腈 (20 毫升) 中制成悬浮液。添加 HMDS (六甲基二硅氮烷) (646 毫克, 4 毫摩尔) 和 TMSCl (氯三甲基硅烷) (435 毫克, 4 毫摩尔), 搅拌 10 分钟。这时在 10 分钟内滴加氯化锡(IV) (625 毫克, 2.4 毫摩尔) 在乙腈 (5 毫升) 中的溶液。在搅拌 14 小时后, 添加二氯甲烷 (50 毫升) 和饱和碳酸氢钠

水溶液(50 毫升)。用二氯甲烷(3 × 50 毫升)提取。合并的有机相用饱和碳酸氢钠水溶液(25 毫升)、水(25 毫升), 然后饱和氯化钠水溶液洗涤。有机相干燥(硫酸钠), 浓缩, 然后进行《闪式》柱色谱纯化(石油醚/醋酸乙酯 3 : 2), 得到 1-(2-乙酰氧基乙氧基甲基)-6-(3, 5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(690 毫克, 92%), 呈白色固体状。

熔点: 126.0-127.0℃;

R_f 0.28(己烷/醋酸乙酯 3 : 2)。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, 200\text{MHz})$: δ 1.10(t, 3H, $J=7.25\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.08(s, 3H, Ac), 2.30(s, 6H, Me_2Ph), 2.69(q, 2H, CH_2CH_3), 3.80(m, 2H, $\text{AcOCH}_2\text{-CH}_2\text{O}$), 4.08(s, 2H, CH_2Ph), 4.20(m, 2H, AcOCH_2), 5.18(s, 2H, OCH_2N), 6.71(s, 2H, $\text{H}_{\text{邻-苄基}}$), 6.90(s, 1H, $\text{H}_{\text{对-苄基}}$), 8.25(s, 1H, NH)。

IR(KBr): 3030(芳族 $\nu_{\text{C-H}}$), 2950(脂族 $\nu_{\text{C-H}}$), 1740 和 1705($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} 。

UV(甲醇) $\nu_{\text{max}}(\nu)$ 266nm(8180)。

SM(m/z (%)) 374(4, M^+), 255(16, $\text{M}^+ - \text{AcOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 119(11, $\text{M}^+ - \text{碱}$), 87(100, $\text{AcOCH}_2\text{CH}_2^+$)。

$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ (374.44) 的元素分析:

计算值: C: 64.16; H: 7.00; N: 7.48

测定值: C: 63.88; H: 7.10; N: 7.37。

B. 6-(3, 5-二甲基苄基)-5-乙基-1-(2-羟基乙氧基甲基)尿嘧啶的合成

1-(2-乙酰氧基乙氧基甲基)-6-(3, 5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(690 毫克, 1.9 毫摩尔)在甲醇/三乙胺/水混合物 8:1:1 中的溶液在 20℃ 下搅拌 20 小时。先采用真空蒸发, 然后采用与甲苯共蒸发除去这些溶剂。得到的固体重结晶(甲醇)得到 390 毫克 6-(3, 5-二甲基苄基)-5-乙基-1-(2-羟基乙氧基甲基)尿嘧啶。结晶母液浓缩后进行《闪式》硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 19 : 1), 得到 80 毫克补充试样。白色固体总产率 470 毫克(77%)。

熔点: 178.0-179.0℃;

R_F 0.12(石油醚/醋酸乙酯 9 : 1)。

1H NMR(CD_3OD , 200MHz): δ 1.01(t, 3H, $J=7.5Hz$, CH_2-CH_3), 2.25(s, 6H, Me_2Ph), 2.42(q, 2H, CH_2CH_3), 3.60(m, 4H, CH_2-CH_2), 4.12(s, 2H, CH_2Ph), 5.14(s, 2H, OCH_2N), 6.78(s δ 1, 2H, $H_{\text{邻-苄基}}$), 6.90(s δ 1, 1H, $H_{\text{对-苄基}}$)。

IR(KBr): 3380(ν_{O-H}), 3020(芳族 ν_{C-H}), 1708($\nu_{C=O}$) cm^{-1} 。

UV(甲醇) $\nu_{max}(\nu)$ 207(41500), 268(15400)。

SM(m/z(%)) 332(2, M^+), 258(100, B^+)。

$C_{18}H_{24}N_2O_4$ (332.40) 的元素分析:

计算值: C: 65.04; H: 7.28; N: 8.43

测定值: C: 64.93; H: 7.30; N: 8.36。

C. 1-(2- N^1 -羟基脲基乙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶的合成(对比化合物 1)

往 6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-1-(2-羟基乙氧基甲基)脲嘧啶(0.2 克, 0.6 毫摩尔)、 N, O -双(苯氧基羰基)羟基胺(0.18 克, 0.66 毫摩尔)和三苯基磷(0.19 克, 0.66 毫摩尔)在四氢呋喃(6 毫升)中的溶液, 在 0℃ 滴加 DIAD(偶氮二甲酸二异丙酯)(145 毫克, 0.71 毫摩尔)。浓缩的反应介质相继进行两次《闪式》硅胶柱色谱纯化, 第一次使用二氯甲烷/甲醇 49 : 1 混合物作为洗脱剂, 第二次使用醋酸乙酯/石油醚 2 : 3 混合物作为洗脱剂。这样得到 6-(2,3-二甲基苄基)-5-乙基-1-(2- N, O -双(苯氧基羰基)羟基氨基乙氧基甲基)脲嘧啶(0.30 克, 85%), 其中 0.15 克(0.25 毫摩尔)溶于氨饱和的甲醇溶液(10 毫升)中, 再在 10℃ 下搅拌 24 小时。浓缩的反应介质进行《闪式》硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 19 : 1), 得到的油用乙醚处理, 这样得到 1-(2- N^1 -羟基脲基乙氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(36.6 毫克, 36%), 呈白色固体状。

熔点: 147-148℃;

R_F 0.18(二氯甲烷/甲醇 9 : 1)。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, 200\text{MHz})$: δ 1.09(t, 3H, $J=7.5\text{Hz}$, CH_2CH_3), 2.29(s, 6H, Me_2Ph), 2.48(q, 2H, CH_2CH_3), 3.22-3.90(m, 4H, CH_2CH_2), 4.07(s, 2H, CH_2Ph), 5.10(s, 2H, OCH_2N), 6.70(s, 2H, H-邻-苄基), 6.90(s, 1H, H-对-苄基), 9.76(s, 1H, NH).

IR(KBr): 3498, 3235 和 3190($\nu_{\text{O-H}}$ 和 $\nu_{\text{N-H}}$), 1703, 1699 和 1688($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} .

SM(m/z(%)) 345(1, $\text{M}^+-\text{NH}_2\text{CHO}$), 327(6, $\text{M}^+-\text{NH}_2\text{COH}-\text{H}_2\text{O}$), 271(100, $\text{M}^+-\text{NH}_2\text{CONOHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 258(73, B^+).

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (339.45) 的元素分析:

计算值: C: 57.13; H: 6.81; N: 14.03

测定值: C: 56.85; H: 6.63; N: 13.57.

实施例 8

1-(4- N^1 -羟基脲基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(对比化合物 2)的合成

(式 I 对比化合物, 其中 $n=4$, $\text{R}^1 = \text{乙基}$, $\text{R}^2 = \text{甲基}$, $\text{R}^3 = \text{OH}$, $\text{R}^4 = \text{H}$).

A. 苯甲酸-4-羟基丁酯的合成

往 1,4-丁二醇(18 毫升, 0.2 毫摩尔)在吡啶(16 毫升)中的溶液, 在 0°C , 在氮气气氛下缓慢添加苯甲酰氯(1 毫升, 0.1 毫摩尔)。在 0°C 下搅拌 4 小时后, 浓缩反应介质, 再通过与甲苯共蒸发除去吡啶。残留物用乙醚(3×20 毫升)提取, 有机相干燥(硫酸镁), 浓缩, 进行《闪式》硅胶柱色谱纯化(石油醚/醋酸乙酯 3 : 2), 得到苯甲酸 4-羟基丁酯(9.9 克, 55%), 呈无色油状。

R_f 0.36(石油醚/醋酸乙酯 1 : 1)。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, 200\text{MHz})$: δ 1.79(m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.60(t, 2H, $J=7.0\text{Hz}$, CH_2OH), 4.34(t, 2H, $J=8.0\text{Hz}$, PhCOOCH_2), 7.45-8.02(m, 5H, Ph).

B. 1-(4-苯甲酰氧基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶的合成

往苯甲酸 4-羟基丁酯(1 克, 5.2 毫摩尔)在二氯甲烷(18 毫升)中的溶液, 添加仲甲醛(100 毫克, 5.2 毫摩尔)。混合物温度调到 0℃, 鼓泡通入盐酸两小时。此后, 关闭容器, 在 4℃ 搅拌 16 小时。该反应混合物用二氯甲烷(10 毫升)稀释, 干燥(硫酸镁), 然后浓缩。这种溶液添加到 6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(如实施例 3 中描述得到的)(400 毫克, 1.55 毫摩尔)和 N,0-双(三甲基甲硅烷基)乙酰胺(1.1 毫升, 4.4 毫摩尔)在二氯甲烷(10 毫升)中的悬浮液中, 在此之前该悬浮液在 20℃ 下搅拌 30 分钟, 然后添加四丁基碘化铵(20 毫克, 0.05 毫摩尔)。该混合物加热回流 16 小时, 然后再调到 20℃。将其倒入保持在 0℃ 的饱和碳酸氢钠水溶液中, 这种混合物搅拌 30 分钟。有机相倾析后, 用饱和氯化钠水溶液(15 毫升)洗涤, 干燥(硫酸镁), 浓缩与进行《闪式》硅胶柱色谱纯化(石油醚/醋酸乙酯 7 : 3), 得到 1-(4-苯甲酰氧基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基尿嘧啶(460 毫克, 60%), 呈油状。

R_f 0.71(二氯甲烷/甲醇 19 : 1)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200MHz,): δ 1.08(t, 3H, $J=8.0\text{Hz}$, CH_2CH_3), 1.78(m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.29(s, 6H, Me_2Ph), 2.48(q, 2H, CH_2CH_3), 3.61(t, 2H, $J=5.5\text{Hz}$, $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 4.09(s, 2H, CH_2Ph), 4.34(t, 2H, $J=6.0\text{Hz}$, PhCOOCH_2), 5.11(s, 2H, OCH_2N), 6.70(s, 2H, H-邻-苄基), 6.91(s, 1H, H-对-苄基), 7.40-8.09(m, 5H, PhCO), 8.38(s, 1H, NH)。

$\text{IR}(\text{NaCl})$: 3050(芳族 $\nu_{\text{C-H}}$), 2924(脂族 $\nu_{\text{C-H}}$), 1702 和 706($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} 。

$\text{UV}(\text{乙醇}) \nu_{\text{max}}(\nu)$ 202(51500), 220(33300), 267(15150)nm。

$\text{SM}(m/z(\%))$ 464(1, M^+), 270(58, $\text{M}^+ - \text{PhCO}_2(\text{CH}_2)_4\text{O}$), 177(15, $\text{PhCO}_2(\text{CH}_2)_4^+$), 105(100, PhCO^+)。

$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$ (464.57)的元素分析:

计算值: C: 69.81; H: 6.94; N: 6.03

测定值: C: 69.66; H: 7.02; N: 5.92。

C. 6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-1-(4-羟基丁氧基甲基)-脲嘧啶的合成

1-(4-苯甲酰氧基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基脲嘧啶(500 毫克, 1.08 毫摩尔)被添加到氢氧化钠(360 毫克, 9 毫摩尔)在甲醇(50 毫升)中的溶液, 该混合物在 20℃ 搅拌 3 小时。在中和(浓盐酸)与浓缩后, 残留物进行《闪式》柱色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 19 : 1), 得到 6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-1-(4-羟基丁氧基甲基)-脲嘧啶(190 毫克, 48%), 呈白色固体状。

熔点: 101.4-102.8℃;

R_f 0.29(二氯甲烷/甲醇 19 : 1)。

$^1\text{H NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 200\text{MHz})$: δ 1.00(t, 3H, $J=7.5\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.54(m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.26(s, 6H, Me_2Ph), 2.41(q, 2H, CH_2CH_3), 3.52(m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4.11(s, 2H, CH_2Ph), 5.10(s, 2H, OCH_2N), 6.75(s, 2H, H-邻-苄基), 6.90(s, 1H, H-对-苄基)。

IR(KBr): 3395($\nu_{\text{O-H}}$), 1694 和 1637($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} 。

UV(甲醇) $\nu_{\text{max}}(\nu)$ 270nm(11174)。

SM(m/z (%)) 360(1, M^+), 271(7, $\text{M}^+ - \text{O}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$), 258(100, $\text{M}^+ - \text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{OCH}_2$)。

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ (360.45) 的元素分析:

计算值: C: 66.64; H: 7.83; N: 7.77

测定值: C: 66.39; H: 7.87; N: 7.63。

D. 1-(4- N^1 -羟基脲基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基脲嘧啶(对比化合物 2)的合成

往 6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基-1-(4-羟基丁氧基甲基)-脲嘧啶(180 毫克, 0.5 毫摩尔)、N,O-双(苯氧基羰基)羟基胺(150 毫克, 0.55 毫摩尔)和三苯基磷(262 毫克, 1 毫摩尔)在四氢呋喃(5 毫升)中的溶液, 在 0℃ 滴加 DIAD(偶氮二甲酸二异丙酯)(202 毫克, 1 毫摩尔)在四氢呋喃(81 毫升)中的溶液。这时将反应混合物调到 20℃, 浓缩, 再进行硅胶柱色谱纯化(醋酸乙酯/乙醚 1: 9), 然后用《闪》式

柱色谱纯化(甲醇/氯仿 3:97), 得到 260 毫克中间化合物 6-(3,5-二甲基苄基)-1-[4-(N-苯氧基羰基-N-苯氧基羰酰氧基氨基)丁氧基甲基]-5-乙基脲嘧啶。

这种中间化合物立刻溶于氨饱和的甲醇溶液(5 毫升)中, 该反应介质在 20℃下搅拌 24 小时。这时, 中间化合物全部反应(薄层色谱), 浓缩的反应介质进行《闪》式硅胶柱色谱纯化(甲醇/醋酸乙酯 1:9), 得到 1-(4-N¹-羟基脲基丁氧基甲基)-6-(3,5-二甲基苄基)-5-乙基脲嘧啶(45 毫克, 23%), 呈固体状。

熔点: 148-150℃;

R_F 0.40(甲醇/醋酸乙酯 1:9)。

¹H NMR(CD₃OD, 200MHz): δ 1.00(t, 3H, J=7.5Hz, CH₂CH₃), 1.56(m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 2.25(s, 6H, Me₂Ph), 2.41(q, 2H, CH₂CH₃), 3.42 和 3.51(2t, 2 × 2H, J=6.25Hz, NCH₂(CH₂)₂CH₂O 和 NCH₂CH₂CH₂CH₂O), 4.11(s, 2H, CH₂Ph), 5.10(s, 2H, OCH₂N), 6.72(s, 2H, H_{邻-苄基}), 6.90(s, 1H, H_{对-苄基})。

IR(KBr): 3485, 3356 和 3158(ν_{N-H} 和 ν_{O-H}), 1682 和 1652(ν_{C=O}) cm⁻¹。

SM(m/z(%)) 373(1.5, M⁺-NH₂COH), 355(20, M⁺-NH₂COH-H₂O), 271(40, M⁺-NH₂CONOH(CH₂)₄O), 258(55, BH⁺), 257(29, B⁺)。

C₂₁H₃₀N₄O₅·H₂O(436.51)的元素分析:

计算值: C: 59.00; H: 7.30; N: 13.10

测定值: C: 59.40; H: 7.28; N: 13.09。

实施例 9

1-(2-N¹-羟基脲基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基脲嘧啶(对比化合物 3)的合成

(式 I 对比化合物, 其中 n=2, R¹=乙基, R²=H, R³=OH, R⁴=H)。

A. 1-(2-乙酰氧基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基脲嘧啶的合成

通过利用 2-溴丁酸代替 2-溴-3-甲基丁酸以及利用苄基乙腈代替

3,5-二甲基苯基乙腈, 如实施例 1.A 所描述制备的 6-苄基-5-乙基尿嘧啶(690 毫克, 3 毫摩尔)在 HMDS(六甲基二硅氮烷)(15 毫升, 75 毫摩尔)中的悬浮液, 在氮气保护下添加硫酸铵(15 毫克)。该反应介质保持沸腾回流 14 小时, 冷却, 然后真空浓缩。残留物在氮气保护下用无水二氯甲烷(12 毫升)溶解。在严格无水条件下往得到的溶液中添加 1-乙酰氧基-2-乙酰氧基甲氧基乙烷[A. Rosowski, S. H. Kim. M. Wick, J. Med. Chem. (1981)24, 1177-81](1.06 克, 6 毫摩尔)和三氟甲基磺酸三甲基甲硅烷酯(0.57 毫升, 3.3 毫摩尔)。在 20℃ 下搅拌 4 小时后, 添加二氯甲烷(12 毫升)。有机相先用饱和碳酸氢钠溶液(10 毫升), 然后用饱和氯化钠溶液(10 毫升)洗涤, 干燥(硫酸镁)与浓缩, 再相继地进行《闪》式硅胶柱色谱纯化(氯仿/乙醇 1:9), 然后进行第二次《闪》式柱色谱纯化(石油醚/醋酸乙酯 1:1), 得到 1-(2-乙酰氧基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基尿嘧啶(380 毫克, 69%), 它可立刻用于下述步骤。

B. 6-苄基-5-乙基-1-(2-羟基乙氧基甲基)尿嘧啶的合成

往 1-(2-乙酰氧基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基尿嘧啶(1.74 克, 5.02 毫摩尔)在甲醇(30 毫升)中的溶液, 添加 1M 甲醇钠的甲醇溶液(7 毫升)。在 20℃ 下搅拌 14 小时后, 该溶液用 1M 盐酸水溶液调到 pH 4。浓缩的反应介质进行硅胶柱色谱纯化(氯仿/乙醇 19:1), 得到 6-苄基-5-乙基-1-(2-羟基乙氧基甲基)尿嘧啶(1 克, 66%)。

熔点: 120-122℃;

R_f 0.25(氯仿/乙醇 19:1)。

$^1\text{H NMR}$ (200MHz, CDCl_3): δ 0.88(t, 3H, $J=7.25\text{Hz}$, CH_2CH_3), 2.28(q, 1H, CH_2CH_3), 3.42(m, 4H, CH_2CH_2), 4.10(s, 2H, CH_2Ph), 4.65(t, 1H, $J_{\text{CH}_2\text{OH}}=4.5\text{Hz}$, CH_2OH), 5.01(s, 2H, OCH_2N), 7.25(s, 5H, Ph), 11.45(s, 1H, NH)。

IR(KBr): 3396($\nu_{\text{O-H}}$), 3028(芳族 $\nu_{\text{C-H}}$), 2832(脂族 $\nu_{\text{C-H}}$), 1706($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} 。

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ (304.35) 的元素分析:

计算值: C: 63.14; H: 6.62; N: 9.20

测定值: C: 62.94; H: 6.77; N: 9.07.

C. 1-(2-N¹-羟基脲基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基尿嘧啶(对比化合物 3)的合成

往 6-苄基-5-乙基-1-(2-羟基乙氧基甲基)尿嘧啶(150 毫克, 0.4 毫摩尔)在四氢呋喃(3 毫升)中的溶液, 在 20℃ 添加三苯基膦(126 毫克, 0.48 毫摩尔)和 N, O-双(苯氧基羰基)羟基胺(120 毫克, 0.44 毫摩尔), 然后滴加 DIAD(偶氮二甲酸二异丙酯)(97 毫克, 0.48 毫摩尔)在四氢呋喃(0.5 毫升)中的溶液。浓缩的反应混合物进行《闪》式硅胶柱色谱纯化(氯仿/乙醇 19: 1), 得到 300 毫克中间化合物 6-苄基-1-[2-(N-苯氧基羰基-N-苯氧基羰酰氧基氨基)乙氧基甲基]-5-乙基尿嘧啶, 它立刻溶于氨饱和的甲醇溶液(5 毫升)中。该反应介质在 20℃ 下搅拌 4 小时, 浓缩, 然后进行《闪》式硅胶柱色谱纯化(二氯甲烷/乙醇 9:1), 在重结晶(醋酸乙酯/甲醇)后得到 1-(2-N¹-羟基脲基乙氧基甲基)-6-苄基-5-乙基尿嘧啶(80 毫克, 45%)。

熔点: 276-277℃;

R_F 0.25(二氯甲烷/甲烷 9: 1)。

¹H NMR(200MHz, (CD₃)₂SO, 80℃): δ 0.89(t, 3H, J=7.3Hz, CH₂CH₃), 2.30(q, 2H, CH₂CH₃), 3.47(t, 2H, J=6.0Hz, NCH₂CH₂), 3.59(t, 2H, CH₂CH₂O), 4.10(s, 2H, CH₂Ph), 5.03(s, 2H, OCH₂N), 6.00(s, 2H, NH₂), 7.22(s, 5H, Ph), 9.13(s, 1H, NOH), 11.16(s, 1H, NH)。

IR(KBr): 3475 和 3341(ν_{N-H} 和 ν_{O-H}), 1706(ν_{C=O})cm⁻¹。

SM(m/z(%)) 317(3, M⁺-NH₂COH), 299(6, M⁺-NH₂COH-H₂O), 243(94, M⁺-NH₂CONOH(CH₂)₂O), 230(100, M⁺-NH₂CONOH(CH₂)₂OCH)。

UV[MeOH, ν_{max}(ν)]: 205(21210), 269(11200)nm。

C₁₇H₂₂N₄O₅(362.39)的元素分析:

计算值: C: 56.35; H: 6.12; N: 15.46

测定值: C: 55.89; H: 6.07; N: 15.20.

用两种不同的病毒标记物，即反转录酶
和P24对HIV-1 lai进行的三种无环核苷抗病毒图

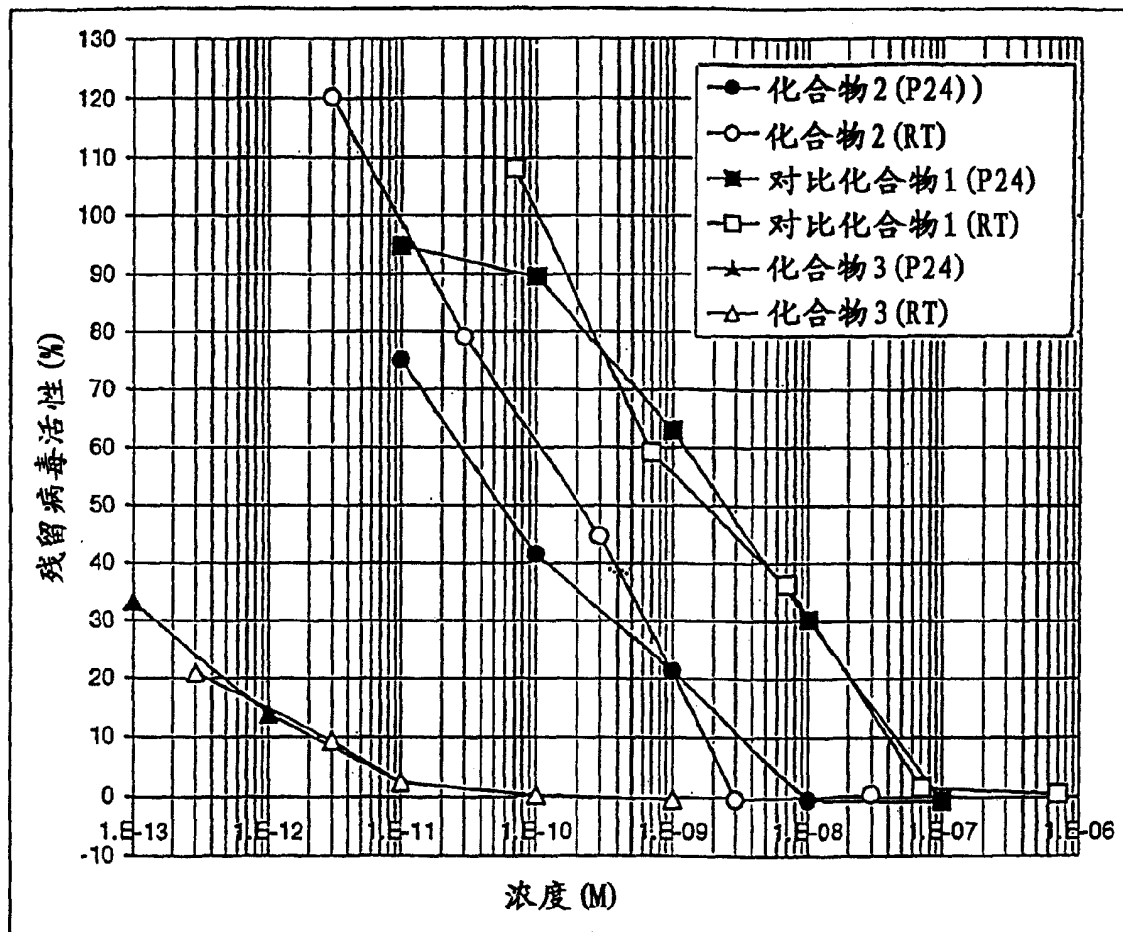


图1