

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020年7月16日 (16.07.2020)

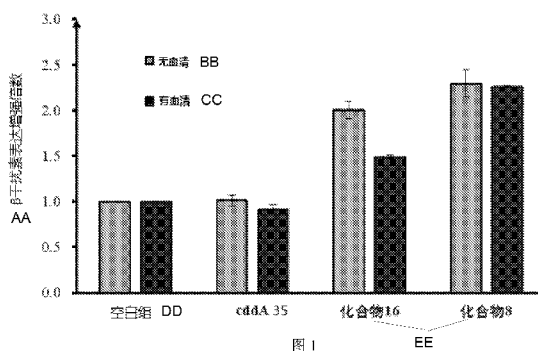


(10) 国际公布号
WO 2020/143740 A1

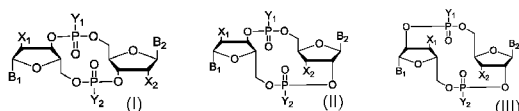
- (51) 国际专利分类号:
C07H 19/207 (2006.01) C07H 1/00 (2006.01)
C07H 19/213 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2020/071329
- (22) 国际申请日: 2020年1月10日 (10.01.2020)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910023472.1 2019年1月10日 (10.01.2019) CN
- (71) 申请人: 南开大学 (NANKAI UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。
- (72) 发明人: 席真 (XI, Zhen); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 王正华 (WANG, Zhenghua); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 王丹 (WANG, Dan); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。
- (74) 代理人: 北京润平知识产权代理有限公司 (RUNPING & PARTNERS); 中国北京市海淀区北四环西路9号银谷大厦515室, Beijing 100190 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,

(54) Title: CYCLIC DINUCLEOTIDE PRODRUG MOLECULE, PREPARATION METHOD THEREFOR AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 环二核苷酸前药分子及其制备方法和应用



AA Fold increase in interferon- β expression
BB Without serum
CC With serum
DD Blank
EE Compound



(57) Abstract: Disclosed are a cyclic dinucleotide prodrug molecule, a preparation method therefor and an application thereof relating to the field of pharmaceuticals. The cyclic dinucleotide prodrug molecule has a structure shown in formula I, II, or III, can freely cross cell membranes and release cyclic dinucleotide, and has high cell activity.

(57) 摘要: 本发明涉及药物领域, 公开了一种环二核苷酸前药分子及其制备方法和应用, 该环二核苷酸前药分子具有如式 I、式 II 或式 III 所示的结构, 能够自主跨过细胞膜, 释放出环二核苷酸, 具有较高的细胞活性。

LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

环二核苷酸前药分子及其制备方法和应用

技术领域

本发明涉及药物领域，具体涉及一种环二核苷酸前药分子、一种环二核苷酸前药分子的制备方法，以及环二核苷酸前药分子的应用。

背景技术

环二核苷酸，是在细菌和哺乳动物中发现的一种新型的第二信使分子。在哺乳动物细胞中，环二核苷可以与免疫刺激因子（STING）结合，刺激免疫反应。其可以引起细胞因子比如 β 干扰素、NF- κ B 的表达，促进 CD8⁺ T 细胞的增殖分化成熟。

因为环二核苷酸具有强大的免疫刺激作用，可以将其用于病毒和细菌感染以及癌症的治疗中。特别是与传统免疫疗法联用抗癌能够表现出较好的结果。目前 Aduro 公司联合诺华的 ADU-S100 进入临床二期，MSD 的 MK-1454 已经进入临床一期。

环二核苷酸分子结构中带有两个磷酸二酯键，这种带有负电荷的磷酸二酯键首先会引起药物脂溶性差，阻碍环二核苷酸有效的跨过细胞膜，再者这种磷酸二酯键也容易水解，从而造成药物分子在循环系统中的不稳定。

目前针对环二核苷酸药物递送体系主要采用辅助性材料。比如早期文献报道的利用慢病毒或者腺病毒包装环二核苷酸的合成酶，进入细胞后通过酶催化合成环二核苷酸以促进免疫反应，但这种方法存在较大的风险而不被广泛运用。

通过利用脂质体或者脂质纳米颗粒、细胞穿透肽、含有多聚阳离子氨基酸的蛋白质凝胶等作为载体以实现环二核苷酸药物的递送都已有报道，但这类载体的使用会降低药物的载药量，同时载体的引入可能会引起一些潜在的细胞毒性。

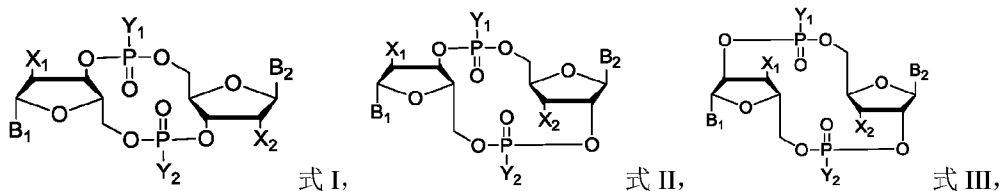
目前临床采用的解决环二核苷有效被细胞摄取的方法是瘤内注射，虽然已有文章报道这种直接瘤内注射，细胞能够摄取环二核苷酸，但这种摄取率较低，因此需要更大剂量的给药，这种大剂量的给药可能会造成免疫系统的过度激活，从而引起周身性或者局部的炎症反应。

因此，如何解决环二核苷有效被细胞摄取仍存在一些问题。

发明内容

本发明的目的是为了克服现有技术中环二核苷酸难以有效地被细胞摄取的缺陷。

为了实现上述目的，本发明第一方面提供了一种环二核苷酸前药分子或其立体异构体、互变异构体、氮氧化物、溶剂化物、代谢产物、药学上可接受的盐，该环二核苷酸前药分子具有如式 I、式 II 或式 III 所示的结构：

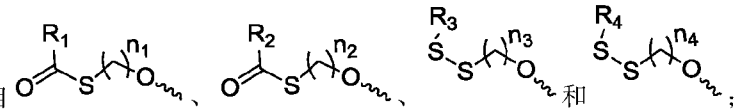


在式 I-式 III 中，

各个 B₁ 和 B₂ 各自独立地为天然碱基或人工修饰的碱基；所述天然碱基选自鸟嘌呤基、腺嘌呤基、胞嘧啶基、胸腺嘧啶基和尿嘧啶基；所述人工修饰的碱基为将功能基团进行硫代、卤代或甲基化方法修饰而得到的碱基，所述功能基团为硝基吡啶基团、氨基吡啶基团、黄嘌呤基团或次黄嘌呤基团；

各个 X₁ 和 X₂ 各自独立地为 -H、-OCH₃ 或 -F；

各个 Y_1 和 Y_2 各自独立地选自

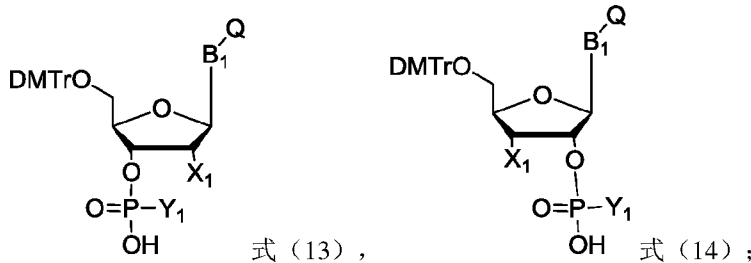


其中，

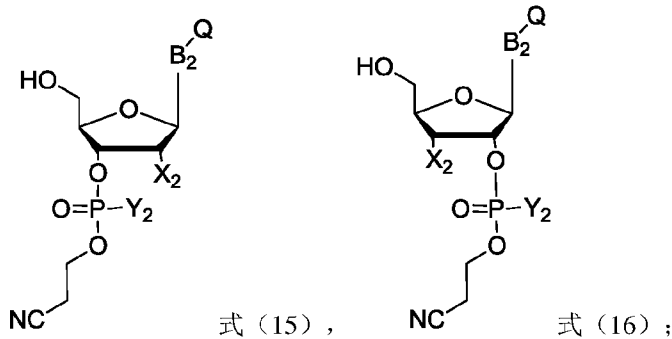
R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地选自取代或未取代的 C_1 - C_{10} 的脂烃基、取代或未取代的 C_6 - C_{11} 的芳烃基、五元或六元杂环基；且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中任选存在的取代基各自独立地选自 C_1 - C_5 的烷基、 C_1 - C_5 的烷氧基和卤素； n_1 、 n_2 、 n_3 和 n_4 各自独立地为 1-5 的整数。

本发明第二方面提供了一种制备如前文所述的环二核苷酸前药分子的方法，该方法包括：

- 将第一核苷单体化合物、第二核苷单体化合物和第一缩合剂在第一液态反应介质中进行第一接触反应，得到线性二核苷酸中间体；
 - 在碱性条件下，将所述线性二核苷酸中间体进行脱氧乙基反应，然后将所得反应产物与第二缩合剂在第二液态反应介质中进行第二接触反应；
 - 将进行所述第二接触反应后获得的带有保护基的环二核苷酸前药分子进行脱保护基反应；
- 其中，所述第一核苷单体化合物具有式 (13) 或式 (14) 所示的结构：



所述第二核苷单体化合物具有式 (15) 或式 (16) 所示的结构：



其中， Q 表示 B_1 和 B_2 所示的碱基中的环外氨基上的保护基，且式 (13) -式 (16) 中的所述 Q 各自独立地为酰基。

本发明第三方面提供一种如前文所述的环二核苷酸前药分子或其立体异构体、互变异构体、氮氧化物、溶剂化物、代谢产物、药学上可接受的盐在制备药物中的应用。

本发明提供的环二核苷酸前药分子能够自主跨过细胞膜，释放出环二核苷酸，具有较高的细胞活性。

附图说明

图 1 是测试例 2 中的双荧光测试结果；

图 2 是测试例 3 中在单核细胞系 THP-1 中的 I 型干扰素测试结果；

图 3 是测试例 3 中化合物在 THP-1 细胞中引起 I 型干扰素表达的 EC_{50} 值；

图 4 中 a 是测试例 4 中空阴性对照组小鼠给药第 0 天肿瘤成像图，b 是测试例 4 中给药 ADU-S100 实验组小鼠给药第 0 天肿瘤成像图，c 是测试例 4 中给药化合物 8 实验组小鼠给药第 0 天肿瘤成像图，d 是测试例 4 中

阴性对照组小鼠给药第 9 天肿瘤成像图, e 是测试例 4 中给药 ADU-S100 实验组小鼠给药第 9 天肿瘤成像图, f 是测试例 4 中给药化合物 8 实验组小鼠给药第 9 天肿瘤成像图, g 是测试例 4 中各实验组小鼠给药第 0 天肿瘤成像总荧光量统计图, h 是测试例 4 中各实验组小鼠给药第 9 天肿瘤成像总荧光量统计图;

图 5 中 a 是测试例 4 中不同实验组小鼠肿瘤体积大小, b 是测试例 4 中不同实验组小鼠的存活率。

具体实施方式

在本文中所披露的范围的端点和任何值都不限于该精确的范围或值, 这些范围或值应当理解为包含接近这些范围或值的值。对于数值范围来说, 各个范围的端点值之间、各个范围的端点值和单独的点值之间, 以及单独的点值之间可以彼此组合而得到一个或多个新的数值范围, 这些数值范围应被视为在本文中具体公开。

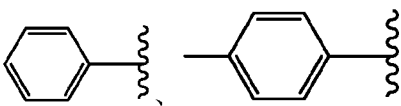
如前所述, 本发明第一方面提供了一种环二核苷酸前药分子或其立体异构体、互变异构体、氮氧化物、溶剂化物、代谢产物、药学上可接受的盐。

本发明的发明人在研究中意外发现, 通过在环二核苷酸分子中引入如 Y_1 和/或 Y_2 所示的含有硫酯结构和/或二硫键结构的磷酸酯保护基, 形成磷酸三酯类环二核苷酸前药分子, 能够消除磷酸负电荷的影响, 在进入细胞质内进行保护基脱除, 释放出具有生物活性的环二核苷酸分子, 从而克服环二核苷酸难以有效地被细胞摄取的缺陷。

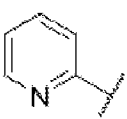
在本发明中, 所述“ C_1-C_{10} 的脂烃基”表示碳原子总数为 1-10 的烷基或烯基, 例如可以为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、叔戊基、新戊基、正己基、异己基、正庚基、异庚基、正辛基、异辛基、乙烯基、丙烯基等。

所述“ C_1-C_6 的脂烃基”表示碳原子总数为 1-6 的烷基或烯基, 例如可以为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、叔戊基、新戊基、正己基、异己基、乙烯基、丙烯基等。

所述“ C_6-C_{11} 的芳烃基”表示失去一个或几个氢原子的芳香(族)环, 包括连接有其它官能团或取代基的芳

香环, 例如可以为  等。

在本发明中, 所述五元或六元杂环基表示饱和或不饱和的五元杂环基, 或者饱和或不饱和的六元杂环基,

例如可以为  等。

在本发明中, 所述“ C_1-C_5 的烷基”表示碳原子总数为 1-5 的烷基, 例如可以为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、叔戊基、新戊基。

在本发明中, 所述“ C_1-C_5 的烷氧基”表示碳原子总数为 1-5 的烷氧基, 例如可以为甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基等。

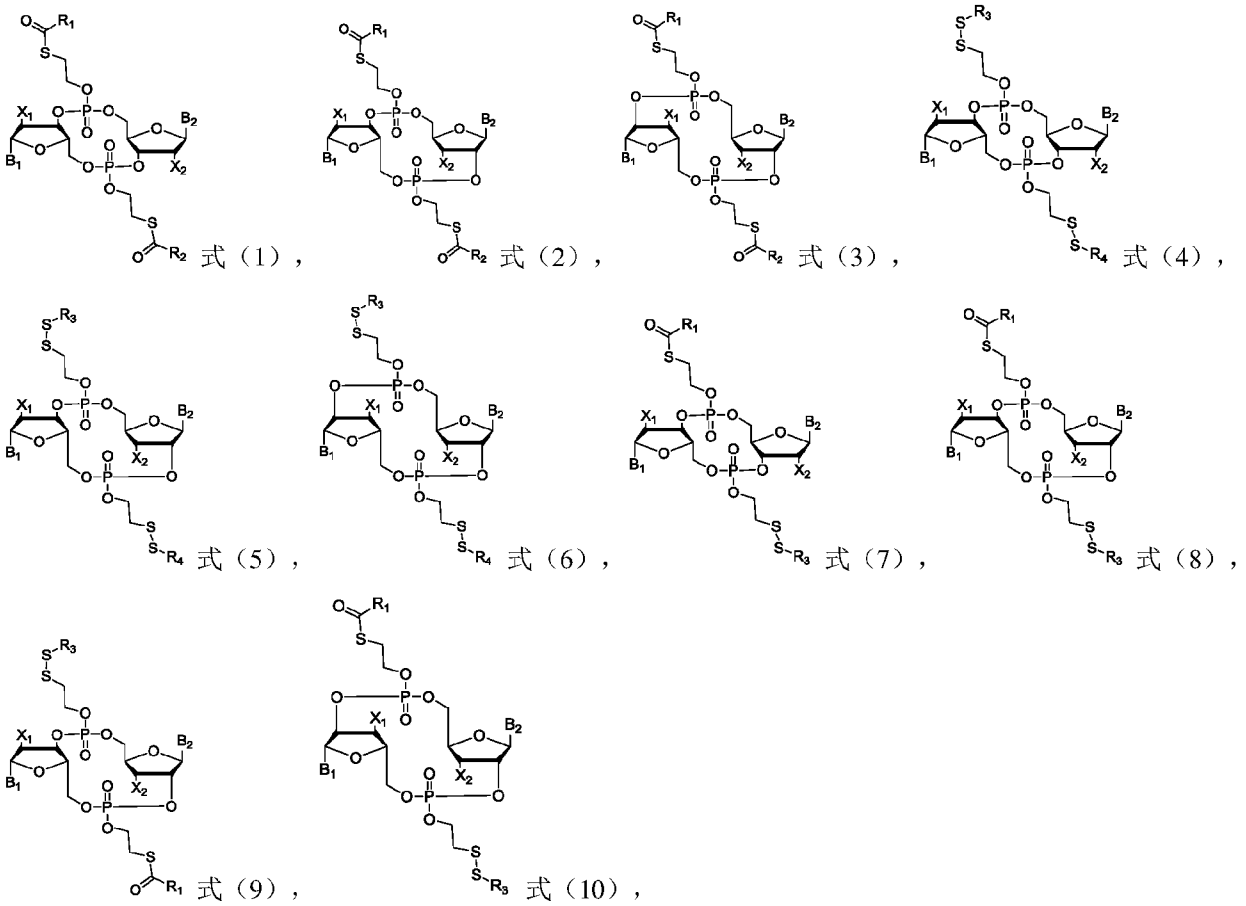
在本发明中, 卤素可以为氟、氯、溴、碘。

优选地, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地选自取代或未取代的 C_1-C_6 的脂烃基、取代或未取代的 C_6-C_{11} 的芳烃基、五元或六元杂环基; 且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中任选存在的取代基各自独立地选自 C_1-C_5 的烷基、 C_1-C_5 的烷氧基和卤素。

根据一种优选的具体实施方式, 在式 I、式 II 或式 III 所示的结构中, Y_1 和 Y_2 相同; B_1 和 B_2 相同; X_1 和 X_2 相同。

根据另一种优选的具体实施方式, Y_1 和 Y_2 中, n_1 、 n_2 、 n_3 和 n_4 相同, 且为 1-3 的整数。

根据另一种优选的具体实施方式，所述环二核苷酸前药分子具有式(1)-式(10)所示的任意一种结构：



其中，式(1)-式(10)中的基团的定义与前文所述的定义对应相同。

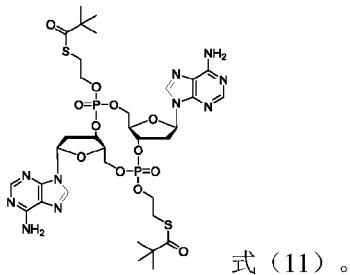
特别优选情况下，所述环二核苷酸前药分子具有式(1)-式(10)所示的任意一种结构，且在式(1)-(10)中，

B_1 和 B_2 相同，且选自鸟嘌呤基、腺嘌呤基、胞嘧啶基、胸腺嘧啶基和尿嘧啶基；

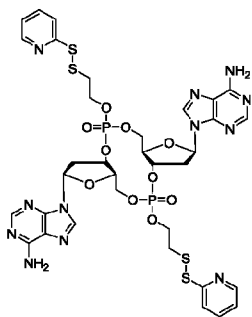
X_1 和 X_2 均为-H；

R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同，且选自取代或未取代的 C_1 - C_6 的脂烃基、取代或未取代的 C_6 - C_{11} 的芳烃基、五元或六元杂环基；且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中任选存在的取代基选自 C_1 - C_5 的烷基。

本发明提供一种优选的实施方式，所述环二核苷酸具有式(11)所示的结构，



根据本发明另一种优选的实施方式，所述环二核苷酸具有式(12)所示的结构，



式 (12)。

如前所述，本发明的第二方面提供了一种制备本发明所述的环二核苷酸前药分子的方法。

根据本发明，环二核苷酸前药分子制备过程中所用的保护基为酰基，例如可以为苯甲酰基、异丁酰基、乙酰基、苯氧乙酰基、4-异丙基苯氧乙酰基等。

特别优选地，所述保护基选自苯氧乙酰基或 4-异丙基苯氧乙酰基。

式 (13) 和式 (14)，DMTr-为 4, 4'-二甲氧基三苯基甲基。

在本发明中，对所述方法中各物质的用量并没有特别的限定，本领域技术人员可以根据各个反应的需要进行选择。

优选地，进行所述第一接触反应的条件包括：温度为 0-50℃，时间为 2-8h。

优选地，进行所述第二接触反应的条件包括：温度为 0-50℃，时间为 2-8h。

优选地，所述第一缩合剂和所述第二缩合剂各自独立地选自 1-(均三甲苯基-2-碘基)-3-硝基-1,2,4-三唑、2,4,6-三异丙基苯基碘基-3-硝基 1,2,4-三唑、2,4,6-三异丙基苯磺酰氯、2,4,6-三甲苯磺酰氯和 1H-四唑和 N-甲基咪唑中的至少一种。

在本发明中，所述第一液态反应介质和第二液态反应介质为本领域常用反应介质，例如可以为吡啶、二氯甲烷、乙腈、二氧六环、四氢呋喃等，本领域技术人员可以根据反应的类型进行选择。

优选地，在步骤 a) 中，相对于 1mol 的第一核苷单体化合物，所述第一缩合剂的用量为 2-3mol。

优选地，在步骤 b) 中，相对于 1mol 的线性二核苷酸中间体，所述第二缩合剂的用量为 4-5mol。

在步骤 b) 中，所述碱性条件可以由例如三乙胺、叔丁胺、二乙胺，二异丙胺等提供，特别优选情况下，为了获得收率更高的目标产物，本发明所述的碱性条件由叔丁胺的乙腈溶液提供。特别优选地，所述碱性条件由体积比为 1: (1-5) 的叔丁胺与乙腈形成的混合溶液提供。

优选地，所述脱保护基反应在体积比为 1: (5-20) 的二异丙胺和甲醇形成的混合溶液存在下进行。

根据本发明一种优选的实施方式，制备本发明所述的环二核苷酸前药分子的方法包括：

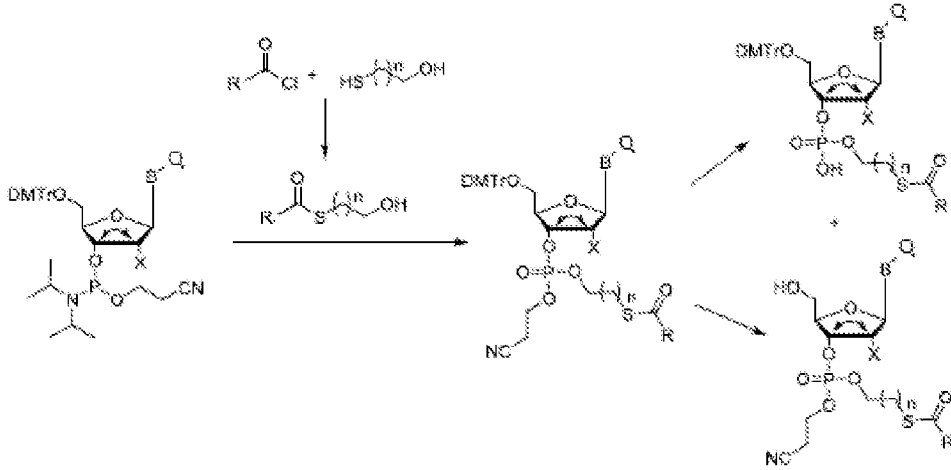
1) 将所述第一核苷单体化合物、所述第二核苷单体化合物和 1-(均三甲苯基-2-碘基)-3-硝基-1,2,4-三唑加入吡啶中，惰气气氛下，在 0-50℃ 下反应 2-8h，得到线性二核苷酸中间体；

2) 将步骤 1) 得到的线性二核苷酸中间体加入到叔丁胺和乙腈的混合溶液中反应 10-30min，蒸干溶剂后，加入 1-(均三甲苯基-2-碘基)-3-硝基-1,2,4-三唑，用吡啶溶解，在 0-50℃ 下反应 2-8h 得到带有保护基的环二核苷酸前药分子；其中，所述叔丁胺和乙腈的混合溶液中，叔丁胺和乙腈的体积比为 1: (1-5)；

3) 将带有保护基的环二核苷酸前药分子溶于二异丙胺和甲醇的混合溶液中，在 20-30℃ 下反应 3-5h 得到环二核苷酸前药分子；其中，所述二异丙胺和甲醇的混合溶液中，二异丙胺和甲醇的体积比为 1: (5-20)。

在本发明中，所述第一核苷单体化合物和所述第二核苷单体化合物的合成可以为现有技术中常用的方法，本领域技术人员可以根据本发明提供的式 (13) -式 (16) 所示的结构自行设计合成路线。本发明在此示例性地提供几种具体的合成方法：

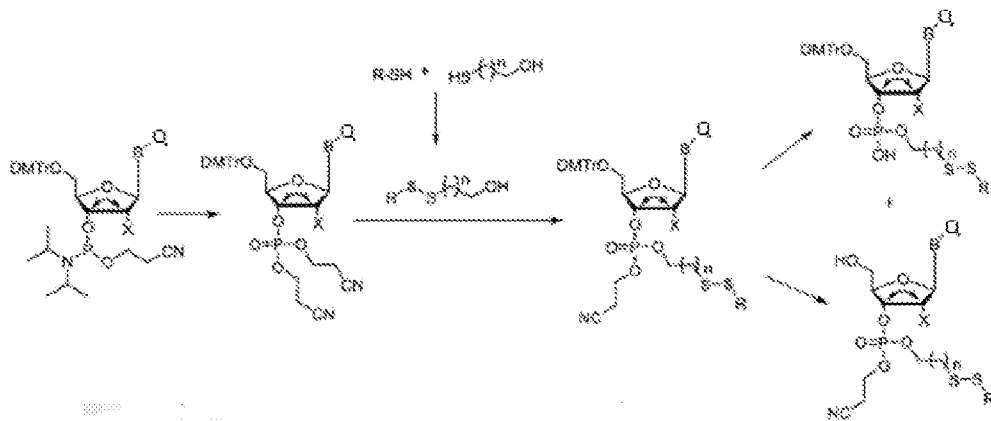
方法一：



在方法一中，R 可以为 R₁ 或者 R₂，B 可以为 B₁ 或者 B₂，X 可以为 X₁ 或 X₂，n 可以为 n₁ 或 n₂。方法一包括：

- (i) 将巯基取代醇和三乙胺溶解在二氯甲烷中，在 -80℃--70℃ 下滴加酰氯的二氯甲烷溶液，升至 20-30℃ 反应 1-3h 后，加水淬灭，用有机溶剂进行萃取，经柱层析分离得到硫酯取代的醇；
- (ii) 将核苷亚磷酸胺单体、5-乙巯基四氮唑、步骤 (i) 所得的硫酯取代的醇加入无水乙腈中，在惰性气体氛围下反应 1-3h 后加入叔丁基过氧酸，30-60min 后加入亚硫酸钠水溶液淬灭，用有机溶剂萃取，经柱层析分离得到具有硫酯保护基的核酸单体；
- (iii) 将步骤 (ii) 得到的具有硫酯保护基的核酸单体用二氯甲烷溶解，然后加入二氯乙酸，在 20-30℃ 下反应 1-3h 后，经柱层析分离得到所述第一核苷单体化合物；
- (iv) 将步骤 (ii) 得到的具有硫酯保护基的核酸单体用乙腈溶解，然后加入叔丁胺，在 20-30℃ 下反应 1-3h 后，旋干溶剂得到所述第二核苷单体化合物。

方法二：



在方法二中，R 可以为 R₃ 或者 R₄，B 可以为 B₁ 或者 B₂，X 可以为 X₁ 或 X₂，n 可以为 n₃ 或 n₄。方法二包括：

- (i) 将 N-氯代丁二酰亚胺酰氯和硫醇（或硫酚）加入二氯甲烷中，在 10-35℃ 下反应 1-3h 后，加入巯基取代醇，继续反应 20-30h，然后加水淬灭，用有机溶剂萃取，经柱层析分离得到含有二硫键结构取代的醇；
- (ii) 将 3-羟基丙腈、核苷亚磷酸胺单体和 5-乙巯基四氮唑加入无水乙腈中，在惰性气体氛围下反应 1-3h 后加入叔丁基过氧酸，继续反应 30-60min，然后加入亚硫酸氢钠水溶液淬灭，用有机溶剂萃取，经柱层析分离得到双氧乙基保护的核酸单体；
- (iii) 将步骤 (ii) 得到的双氧乙基保护的核苷酸单体用二氯甲烷溶解后，加入叔丁胺，在 20-30℃ 下搅

拌 10-30 min 后旋干溶剂，加入 1-(均三甲苯基-2-砒基)-3-硝基-1,2,4-三唑和步骤 (i) 中所得的含有二硫键结构取代的醇，无水吡啶溶解，惰性气体保护反应 4 小时后，蒸干溶剂，有机溶剂萃取、柱层析分离得到具有二硫键取代醇保护磷酸酯的核苷酸单体；

(iv) 将步骤 (iii) 所得的具有二硫键取代醇保护磷酸酯的核苷酸单体用二氯甲烷溶解，加入二氯乙酸在 20-30°C 下反应 1-3h，经柱层析分离得到所述第一核苷单体化合物；

(v) 将步骤 (iii) 得到的具有二硫键取代醇保护磷酸酯的核苷酸单体用乙腈溶解后，加入叔丁胺，在 20-30°C 下搅拌 10-30min 后，旋干溶剂得到所述第二核苷单体化合物。

在方法一和方法二中，对各物质的用量并没有特别的限定，本领域技术人员可以根据反应的需要进行选择。

本发明第三方面提供了一种本发明所述的环二核苷酸前药分子或其立体异构体、互变异构体、氮氧化物、溶剂化物、代谢产物、药学上可接受的盐在制备药物中的应用。

优选情况下，所述药物为抗病毒药物、抗细菌感染药物或抗癌药物。

本发明所述的环二核苷酸前药分子在能够自主跨过细胞膜，释放出环二核苷酸，释放出的环二核苷酸能够与免疫刺激因子 (STING) 结合，刺激免疫反应，能够应用于制备抗病毒、抗细菌感染以及抗癌药物中。

本发明的第二方面涉及的反应中均可以采用本领域内常规使用的各种后处理方法对所得到的产物进行后处理。所述后处理的方法包括但不限于：萃取、重结晶、洗涤、干燥、过滤等。本发明在此不再赘述，并且实施例中涉及的后处理方法仅是用于示例性地列举，并不表示那是必须采用的操作，本领域技术人员可以采用常规的其它手段进行替代。

以下将通过实例对本发明进行详细描述。以下实例中，所用的溶剂、原料和试剂如不特别指明，均来自商购，均为分析纯或化学纯。

实验中所需的无水溶剂均按常规方法进行干燥。

产物分离、鉴别的仪器和方法：

薄层层析硅胶 GF254 为天津思利达公司生产。

TLC 是在 254nm 紫外分析，柱层析硅胶为青岛海洋化工公司生产。

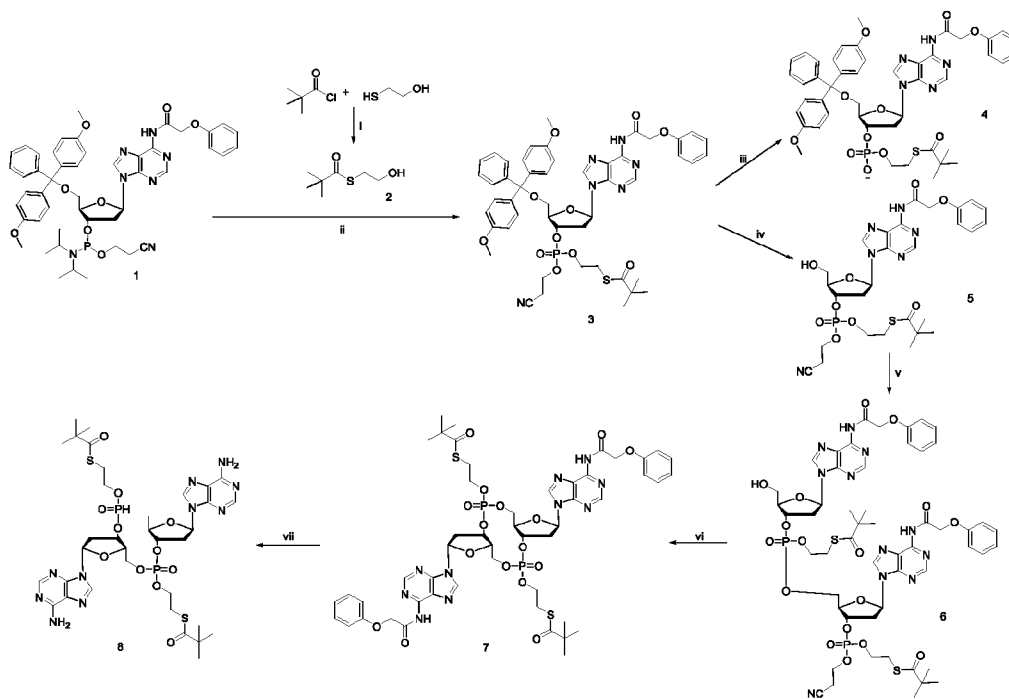
核磁共振谱仪使用的是 Bruker AVANCE 400M Hz，以 TMS 为内标。

高分辨质谱使用的是 Varian 7.0T FTMS 傅里叶变换等离子回旋共振高分辨质谱。

常温和室温均指 (25±3) °C。

实施例 1

具有季戊酰硫代乙酯保护的环二核苷酸前药分子 (化合物 8) 的合成。



1) 100mL 烧瓶中，加入 2-巯基乙醇 0.9mL、三乙胺 1.8mL 和 10mL 重蒸二氯甲烷溶解，在 -78℃ 条件下滴加季戊酰氯 (1.6mL，用 10mL 二氯甲烷溶解)，半小时滴加完毕，继续反应 1 小时后，缓慢升至室温，继续搅拌 1 小时。加适量水淬灭反应，萃取，水相二氯甲烷萃取两次，合并有机相，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩，柱层析分离得到化合物 2。

核磁数据为：

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.73 (t, J = 6.1 Hz, 9H), 3.04 (t, J = 6.1 Hz, 9H), 1.23 (s, 41H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 207.36, 61.91, 46.57, 31.49, 27.40.

数据表明化合物合成正确。

2) 将化合物 2 (1.12 mmol)、5-乙巯基四氮唑 (3.36 mmol) 和化合物 1 (1.12 mmol) 加入到烧瓶中，加入 10 mL 无水乙腈室温搅拌 1 h 后加入 1 mL 5.5 M 叔丁基过氧酸-癸烷溶液。继续室温搅拌 40 分钟后，加入亚硫酸氢钠水溶液搅拌，二氯甲烷多次萃取后，有机相合并，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥后，过滤，浓缩，柱层析分离得到化合物 3 (950 mg)。

核磁数据为：

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.59 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.17 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.46 – 7.23 (m, 10H), 7.21 – 7.14 (m, 3H), 7.06 (t, J = 8.1 Hz, 3H), 6.89 – 6.76 (m, 4H), 6.46 (dd, J = 9.5, 5.3 Hz, 1H), 5.41 – 5.31 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.49 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 4.38 – 4.29 (m, 2H), 4.18 (dd, J = 15.0, 6.9 Hz, 2H), 3.99 (dd, J = 13.0, 1.3 Hz, 1H), 3.89 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 3.83 – 3.71 (m, 7H), 3.18 (t, J = 6.9 Hz, 4H), 3.05 (s, 1H), 2.81 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.77 – 2.66 (m, 1H), 1.29 – 1.17 (m, 12H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 205.84, 205.76, 166.70, 158.57, 158.37, 156.92, 152.07, 150.57, 149.10, 147.35, 143.09, 139.47, 136.15, 130.04, 129.86, 129.16, 129.13, 128.15, 127.82, 127.76, 127.75, 127.05, 124.07, 122.49, 116.44, 116.39, 114.91, 113.20, 113.12, 113.10, 113.09, 113.01, 87.79, 87.74, 87.40, 81.38, 80.69, 80.66, 77.37, 77.26, 77.05, 76.73, 68.07, 66.69, 66.67, 66.62, 63.04, 62.38, 62.33, 61.89, 55.24, 55.22, 55.19, 46.63, 39.06, 31.50, 30.95, 28.32, 28.28, 28.25, 27.45, 27.39, 27.30, 27.27, 19.84, 19.77.

数据表明化合物合成正确。

3) 向烧瓶中加入化合物 3 (0.5 mmol)，加入 10 mL 二氯甲烷溶解后，冰浴下加入 6 体积%的二氯乙酸-

二氯甲烷溶液 10 mL。反应 5 min 后加入少量甲醇淬灭反应。加入碳酸氢钠饱和水溶液中和，萃取后干燥，浓缩，柱层析快速分子得到化合物 5（330 mg）。

核磁数据为：

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.78 (s, 1H), 8.24 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.43 – 7.31 (m, 2H), 7.06 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H), 6.48 (dd, $J = 9.4, 5.3$ Hz, 1H), 5.35 (dd, $J = 8.9, 5.3$ Hz, 1H), 4.89 (s, 2H), 4.50 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 4.44 – 4.27 (m, 2H), 4.18 (dd, $J = 15.0, 6.9$ Hz, 2H), 3.95 (ddd, $J = 13.2, 12.1, 1.9$ Hz, 2H), 3.18 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), 2.83 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.72 (dt, $J = 13.9, 5.4$ Hz, 1H), 1.25 (s, 10H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 205.88, 205.79, 166.81, 156.94, 152.09, 150.58, 149.05, 143.11, 129.87, 123.91, 122.49, 116.46, 116.41, 114.91, 87.78, 87.73, 87.37, 80.62, 80.59, 77.37, 77.26, 77.06, 76.74, 68.08, 66.71, 66.69, 66.65, 66.63, 63.00, 62.40, 62.35, 61.89, 46.63, 39.14, 39.10, 31.49, 28.35, 28.32, 28.28, 28.25, 27.39, 27.31, 19.87, 19.85, 19.80, 19.78

数据表明化合物合成正确。

4) 向烧瓶中加入化合物 3 (0.27 mmol)、叔丁胺/乙腈 (1: 3, v/v) 10 mL, 室温搅拌 20 分钟后, 旋蒸除去溶剂得到化合物 4。烧瓶中继续加入化合物 2 (0.27 mmol), 1-(均三甲苯基-2-砒基)-3-硝基-1,2,4-三唑 (1.63 mmol), 加入 10 mL 吡啶室温下搅拌 2 小时后加少量水淬灭反应, 旋蒸除去溶剂后, 加入 20 mL 二氯甲烷溶解, 加入适量 5 质量%草酸水溶液, 分出有机相干燥, 过滤浓缩, 加入 3 体积%的二氯乙酸的二氯甲烷溶液, 搅拌 5 min 后加入适量甲醇, 饱和碳酸氢钠水溶液中和, 萃取, 有机相干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析分离得到化合物 6 (320 mg)。

核磁数据为：

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.96 – 9.72 (m, 2H), 8.66 (dt, $J = 7.8, 5.3$ Hz, 2H), 8.35 (dd, $J = 13.1, 6.2$ Hz, 2H), 7.24 (ddd, $J = 15.0, 10.1, 2.5$ Hz, 5H), 7.05 – 6.81 (m, 7H), 6.49 (ddd, $J = 25.0, 17.3, 8.7$ Hz, 2H), 5.72 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.24 (q, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.90 (s, 4H), 4.51 (s, 1H), 4.46 – 4.21 (m, 6H), 4.20 – 3.99 (m, 5H), 3.84 (t, $J = 14.1$ Hz, 2H), 3.09 (ddd, $J = 52.8, 29.8, 23.2$ Hz, 7H), 2.81 (d, $J = 5.2$ Hz, 4H), 2.62 (td, $J = 13.2, 4.7$ Hz, 1H), 1.18 (dt, $J = 9.7, 6.8$ Hz, 22H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 205.70, 205.69, 205.64, 167.56, 157.15, 157.10, 157.06, 152.47, 151.75, 151.44, 151.35, 150.60, 150.56, 148.97, 148.57, 148.55, 143.66, 143.62, 142.44, 129.73, 129.69, 123.57, 123.00, 122.15, 116.76, 116.73, 114.81, 114.77, 114.75, 87.44, 87.40, 86.79, 84.57, 83.67, 80.24, 78.10, 77.85, 77.58, 77.46, 77.26, 76.94, 68.29, 68.17, 66.88, 66.82, 66.61, 66.55, 62.76, 62.63, 62.58, 53.57, 46.56, 46.52, 38.90, 38.05, 37.86, 31.87, 29.64, 29.31, 28.38, 28.34, 28.30, 28.27, 28.20, 27.41, 27.25, 22.65, 19.79, 19.72, 14.14.

数据表明化合物合成正确。

5) 将化合物 6 (0.22 mmol) 加入叔丁胺/乙腈 (1: 3, v/v) 10 mL, 室温搅拌 20 min 后, 旋蒸除去溶剂, 加入 100 mL 吡啶溶解, 加入 1-(均三甲苯基-2-砒基)-3-硝基-1,2,4-三唑 (1.35 mmol), 室温反应 4 小时后除去溶剂, 加入 20 mL 二氯甲烷溶解, 加入适量 5 质量%草酸水溶液, 分出有机相干燥, 过滤浓缩, 柱层析分离得到化合物 7 (160 mg)。

核磁数据为：

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.69 (s, 2H), 8.80 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H), 8.43 – 8.15 (m, 2H), 7.30 (td, $J = 15.8, 8.5$ Hz, 7H), 7.14 – 6.85 (m, 9H), 6.49 (ddd, $J = 17.3, 11.7, 5.4$ Hz, 2H), 5.67 – 5.33 (m, 2H), 4.91 (s, 4H), 4.78 (s, 1H), 4.65 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.61 – 4.30 (m, 6H), 4.26 – 4.05 (m, 6H), 3.67 – 3.36 (m, 2H), 3.16 (dt, $J = 9.8, 7.1$ Hz, 5H), 2.78 (td, $J = 14.4, 5.6$ Hz, 2H), 1.27 – 1.17 (m, 23H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 205.76, 205.74, 205.60, 205.53, 172.28, 167.03, 157.76, 157.05, 157.02, 156.60,

152.63, 152.57, 152.48, 152.38, 152.23, 151.49, 151.41, 151.31, 151.20, 148.70, 148.66, 148.58, 143.05, 142.75, 142.55, 142.32, 129.95, 129.81, 129.58, 129.54, 123.57, 123.44, 122.75, 122.38, 122.35, 122.33, 121.78, 121.58, 114.88, 114.77, 114.57, 114.55, 85.60, 85.18, 83.04, 82.55, 78.87, 77.30, 77.10, 76.78, 68.12, 67.19, 67.02, 66.96, 66.92, 66.88, 66.83, 66.74, 65.38, 65.24, 65.10, 52.28, 46.59, 46.56, 36.60, 36.34, 31.90, 29.67, 29.64, 29.34, 28.43, 28.36, 28.29, 28.22, 28.16, 27.29, 27.24, 27.23, 22.68, 14.13.

数据表明化合物合成正确。

6) 向烧瓶中加入化合物 7 (150 mg), 加入甲醇 5 mL 溶解, 加入 500 μ L 二异丙胺, 室温下搅拌 4 小时, 旋干溶剂, 直接柱层析分离得到化合物 8 (80 mg)。

核磁数据为:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.41 (dd, $J = 13.9, 7.4$ Hz, 2H), 6.20 (d, $J = 30.1$ Hz, 4H), 5.45 (d, $J = 59.0$ Hz, 2H), 4.51 (dd, $J = 16.6, 8.1$ Hz, 3H), 4.39 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H), 4.16 (tt, $J = 9.5, 4.9$ Hz, 5H), 3.17 (dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz, 4H), 2.82 – 2.66 (m, 2H), 2.26 (s, 6H), 1.22 (d, $J = 13.3$ Hz, 18H).

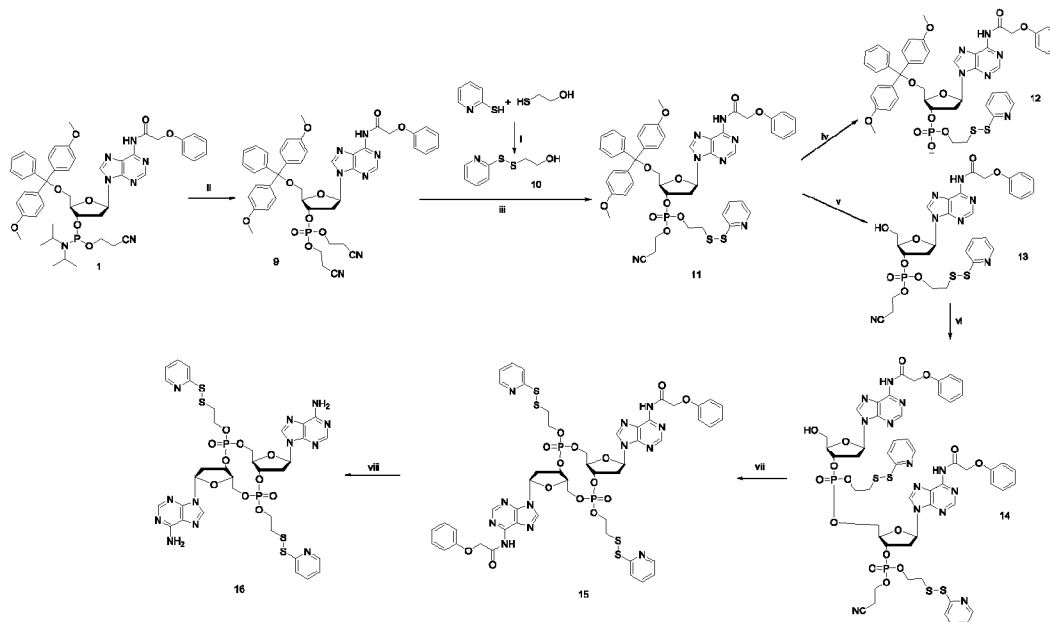
$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 205.98, 205.90, 155.69, 155.61, 152.81, 149.41, 149.31, 139.68, 139.53, 120.21, 120.08, 85.29, 82.93, 82.55, 79.07, 77.91, 77.49, 77.38, 77.17, 76.85, 67.12, 67.05, 67.00, 65.48, 65.09, 50.41, 46.67, 46.63, 36.67, 36.61, 28.51, 28.44, 28.35, 28.28, 27.31, 27.27.

MALDI-TOF-HRMS: $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_{10}\text{O}_{11}\text{P}_2\text{S}_2$ 的相对分子质量为: 900.2577, 发现 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 901.2654 的峰。

数据表明化合物合成正确。

实施例 2

具有吡啶二巯基取代乙酯保护的环二核苷酸前药分子 (化合物 16) 的合成。



1) 向烧瓶中加入 3.42 g 的 N-氯代丁二酰亚胺, 加入 10 mL 干燥的二氯甲烷, 冰浴下滴加 2.85 g 的 2-巯基吡啶 (溶解在 5 mL 二氯甲烷中), 半小时滴完, 继续低温搅拌反应 1 小时, 将 2 g 的 2-巯基乙醇溶解在 5 mL 二氯甲烷中, 冰浴下滴加至烧瓶中, 滴加完后常温搅拌 24 小时。反应结束后之间快速柱层析分离得到化合物 10。

核磁数据为:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.32 (s, 2H), 8.52 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.00 – 7.89 (m, 2H), 7.39 – 7.30 (m, 1H), 3.63 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.96 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 159.40, 148.84, 139.51, 122.01, 120.57, 59.48, 41.77.

数据表明化合物合成正确。

2) 烧瓶中, 加入化合物 1 (1.68 mmol), 5-乙巯基四氮唑 (5.07 mmol), 3-羟基丙腈 (1.68 mmol), 15 mL 乙腈, 常温搅拌 1 小时后加入 5.5M 叔丁基过氧化氢-癸烷溶液 1 mL, 继续常温搅拌 40 分钟后, 加入适量亚硫酸氢钠水溶液。二氯甲烷多次萃取, 有机相合并后饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析分离得到化合物 9 (1.27 g)。

核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.71 (dd, J = 31.2, 1.2 Hz, 1H), 8.21 – 8.10 (m, 1H), 8.01 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.60 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.50 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.26 (dd, J = 5.9, 2.4 Hz, 6H), 7.16 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.87 – 6.75 (m, 4H), 6.57 – 6.37 (m, 1H), 5.36 (dd, J = 19.5, 14.0 Hz, 1H), 4.46 (d, J = 18.9 Hz, 1H), 4.41 – 4.21 (m, 4H), 3.93 (dd, J = 43.4, 12.6 Hz, 1H), 3.78 (d, J = 5.7 Hz, 6H), 3.53 – 3.37 (m, 1H), 3.18 (ddd, J = 15.2, 13.1, 8.8 Hz, 1H), 2.82 (t, J = 5.8 Hz, 3H), 2.79 – 2.65 (m, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 164.63, 158.60, 152.16, 150.59, 150.26, 147.39, 142.67, 139.51, 133.32, 133.01, 130.08, 130.03, 129.15, 128.93, 128.11, 127.96, 127.84, 127.79, 127.06, 113.26, 113.14, 87.64, 87.24, 81.05, 77.38, 77.26, 77.06, 76.74, 62.92, 62.76, 62.70, 62.65, 55.26, 39.05, 19.88, 19.81.

数据表明化合物合成正确。

3) 将化合物 9 (1.37 mmol), 溶解在 20 mL 乙腈中, 加入叔丁胺 5 mL, 常温搅拌 20 min 后, 旋干。加入化合物 10 (1.38 mmol), 1-(均三甲苯基-2-碲基)-3-硝基-1,2,4-三唑 (6.86 mmol), 20 mL 吡啶溶解, 常温搅拌 2 小时。加入适量水淬灭反应, 旋蒸除去大部分溶剂, 加入 30 mL 二氯甲烷重新溶解, 5 重量%的草酸水溶液调节 pH 值为 3, 分出有机相, 有机相用饱和食盐水洗涤后, 无水硫酸钠干燥。过滤, 浓缩后柱层析分离得到化合物 11 (1.05 g)。

核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.57 (d, J = 50.7 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.52 – 8.44 (m, 1H), 8.18 (dd, J = 13.4, 3.1 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.71 – 7.61 (m, 2H), 7.42 – 7.33 (m, 4H), 7.32 – 7.23 (m, 6H), 7.21 – 7.17 (m, 2H), 7.11 – 7.02 (m, 4H), 6.92 – 6.76 (m, 4H), 6.54 – 6.40 (m, 1H), 5.41 – 5.26 (m, 1H), 4.89 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 4.54 – 4.18 (m, 5H), 3.99 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 3.88 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.82 – 3.76 (m, 5H), 3.46 (dd, J = 17.1, 3.0 Hz, 1H), 3.25 – 3.01 (m, 3H), 2.88 – 2.63 (m, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 159.66, 158.82, 158.79, 158.59, 158.55, 156.94, 152.03, 150.57, 149.80, 149.09, 147.36, 146.87, 144.23, 143.14, 141.13, 139.48, 137.32, 135.27, 132.51, 131.39, 130.03, 130.00, 129.85, 129.52, 129.13, 128.70, 128.32, 128.07, 127.92, 127.81, 127.76, 127.03, 124.06, 122.46, 121.26, 121.16, 120.23, 116.47, 116.43, 114.92, 114.90, 113.55, 113.20, 113.13, 113.12, 113.10, 113.08, 113.00, 87.75, 87.69, 87.28, 81.36, 80.69, 80.09, 77.39, 77.27, 77.07, 76.75, 68.09, 65.92, 65.87, 65.83, 62.99, 62.45, 62.40, 55.36, 55.24, 39.07, 38.23, 38.16, 19.84, 19.77.

数据表明化合物合成正确。

4) 将 (0.8 mmol) 化合物 11 加入到烧瓶中, 加 10 mL 二氯甲烷溶解, 冰水浴中加 6 体积%的二氯乙酸二氯甲烷溶液 10mL。继续搅拌 5 分钟后, 加少量甲醇淬灭反应, 红色褪去后加饱和碳酸氢钠水溶液中和, 萃取后无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析分离得到化合物 13 (540 mg)。

核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.74 (s, 1H), 8.62 (d, J = 73.6 Hz, 1H), 8.45 (dd, J = 4.7, 3.5 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 8.04 – 7.96 (m, 3H), 7.64 (dt, J = 4.6, 1.5 Hz, 2H), 7.53 (ddd, J = 29.9, 14.9, 7.4 Hz, 4H), 7.10 (ddd, J = 5.2, 4.1, 2.4 Hz, 1H), 6.44 (dd, J = 9.1, 5.5 Hz, 1H), 5.34 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.52 – 4.36 (m, 3H), 4.31 (dt, J = 12.3, 6.0 Hz, 2H), 3.90 (dd, J = 38.9, 12.8 Hz, 2H), 3.10 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 2.80 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.69 (dd, J = 14.1, 5.4 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.62, 164.98, 158.92, 152.14, 152.10, 150.81, 150.07, 149.86, 145.25, 144.40, 142.96, 137.29, 133.60, 133.26, 133.10, 132.14, 129.17, 128.95, 127.95, 127.84, 124.24, 121.29, 120.32, 116.49, 116.45, 87.63, 87.58, 87.05, 80.51, 77.28, 66.03, 62.85, 62.54, 62.50, 39.15, 39.11, 38.34, 38.27, 19.87, 19.80.

数据表明化合物合成正确。

5) 烧瓶中加入化合物 11 (0.45 mmol), 加入乙腈 6 mL, 叔丁胺 2 mL, 室温下搅拌 30 分钟后, 旋蒸除去溶剂得到化合物 12。加入化合物 13 (0.37 mmol), 1-(均三甲苯基-2-砜基)-3-硝基-1,2,4-三唑 (1.11 mmol), 加入 15 mL 超干吡啶, 室温下搅拌 2 小时。加少量水淬灭反应, 旋蒸除去溶剂后, 加入 20 mL 二氯甲烷溶解, 加入适量 5 质量%的草酸水溶液, 分出有机相干燥, 过滤浓缩, 加入 3 体积%的二氯乙酸的二氯甲烷溶液, 搅拌 5 min 后加入适量甲醇, 饱和碳酸氢钠水溶液中和, 萃取, 有机相干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析分离得到化合物 14 (350 mg)。

核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.67 (dd, J = 29.4, 8.5 Hz, 2H), 8.51 – 8.20 (m, 4H), 7.96 (t, J = 8.9 Hz, 4H), 7.70 – 7.33 (m, 10H), 7.05 (dt, J = 11.0, 7.2 Hz, 2H), 6.51 (dd, J = 13.0, 6.4 Hz, 1H), 6.45 – 6.33 (m, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.24 (dd, J = 17.5, 5.5 Hz, 1H), 4.52 – 4.20 (m, 10H), 3.79 (dt, J = 19.8, 11.3 Hz, 3H), 3.23 – 2.89 (m, 6H), 2.78 (d, J = 18.5 Hz, 3H), 2.68 – 2.51 (m, 1H), 1.22 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 165.07, 158.84, 158.77, 158.70, 152.58, 151.94, 151.49, 150.64, 150.18, 149.83, 149.76, 143.02, 141.81, 137.32, 133.41, 133.36, 132.85, 132.77, 128.77, 128.75, 128.69, 128.08, 128.05, 124.14, 123.59, 121.28, 121.21, 120.21, 120.12, 116.73, 87.40, 86.64, 84.54, 80.22, 77.33, 66.06, 65.77, 62.67, 38.92, 38.15, 38.08, 29.69, 19.86, 19.79, 0.02.

数据表明化合物合成正确。

6) 将化合物 14 (0.23 mmol) 加入叔丁胺/乙腈 (1: 3, v/v) 10mL, 常温搅拌 20 min 后, 旋蒸除去溶剂, 加入 100 mL 吡啶溶解, 加入 1-(均三甲苯基-2-砜基)-3-硝基-1,2,4-三唑 (1.38 mmol), 常温反应 4 小时后除去溶剂, 加入 20 mL 二氯甲烷溶解, 加入适量 5 质量%的草酸水溶液, 分出有机相干燥, 过滤浓缩, 柱层析分离得到化合物 15 (181 mg)。

核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.76 (s, 2H), 8.76 (d, J = 9.7 Hz, 2H), 8.53 – 8.36 (m, 2H), 8.36 – 8.18 (m, 2H), 7.68 – 7.55 (m, 3H), 7.37 – 7.26 (m, 5H), 7.14 – 6.98 (m, 8H), 6.45 (dd, J = 13.8, 6.2 Hz, 2H), 5.71 – 5.36 (m, 2H), 4.93 (s, 4H), 4.66 – 4.32 (m, 9H), 4.12 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 3.67 – 3.34 (m, 2H), 3.11 (t, J = 6.2 Hz, 4H), 2.73 (dd, J = 13.3, 7.5 Hz, 2H), 1.26 (s, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 167.30, 158.86, 158.68, 158.57, 157.10, 157.06, 152.49, 152.42, 152.35, 151.38, 151.33, 151.24, 151.16, 149.81, 148.67, 148.60, 143.12, 142.92, 142.76, 142.55, 137.22, 137.18, 129.77, 123.49, 123.39, 123.28, 122.28, 122.26, 121.19, 120.10, 120.08, 114.85, 114.55, 85.58, 85.23, 83.03, 82.59, 79.03, 78.17, 77.84, 77.48, 77.36, 77.16, 76.84, 68.21, 66.14, 66.09, 65.93, 65.88, 65.44, 64.99, 53.52, 38.29, 38.23, 38.12, 38.05, 38.00, 36.29, 31.88, 29.65, 29.62, 29.32, 22.66, 14.13.

数据表明化合物合成正确。

7) 向烧瓶中加入化合物 15 (100 mg), 加入甲醇 5 mL 溶解, 加入 500 μL 二异丙胺, 常温搅拌 4 小时, 旋干溶剂, 直接柱层析分离得到化合物 16 (65 mg)。

核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.33 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.94 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.41 (dd, J = 13.9, 7.4 Hz, 2H), 6.20 (d, J = 30.1 Hz, 4H), 5.45 (d, J = 59.0 Hz, 2H), 4.51 (dd, J = 16.6, 8.1 Hz, 3H), 4.39 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 4.16 (tt, J =

9.5, 4.9 Hz, 5H), 3.17 (dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz, 4H), 2.82 – 2.66 (m, 2H), 2.26 (s, 6H), 1.22 (d, $J = 13.3$ Hz, 18H).

MALDI-TOF-HRMS: C₃₄H₃₈N₁₂O₁₀P₂S₄ 的相对分子质量为: 964.1192, 发现[M+H]⁺ 965.1271 的峰。

数据表明化合物合成正确。

对比例 1

cddA35 (结构如表 2 中所示) 参照文献 (Wang, B.; Wang, Z.; Javornik, U.; Xi, Z.; Plavec, J., Computational and NMR spectroscopy insights into the conformation of cyclic di-nucleotides. Sci Rep 2017, 7 (1), 16550.) 中的方法进行制备。

cddA35 核磁数据为:

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.15 (s, 2H), 7.80 (s, 2H), 6.16 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 5.22 – 5.04 (m, 2H), 4.26 (d, $J = 9.8$ Hz, 4H), 4.02 (dd, $J = 11.2, 4.1$ Hz, 2H), 3.05 – 2.98 (m, 2H), 2.75 – 2.62 (m, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 154.39, 151.78, 146.71, 139.32, 118.08, 84.87, 83.30, 83.19, 70.16, 62.25, 46.71, 39.01, 8.26.

数据表明化合物合成正确。

测试例 1

两种环二核苷酸前药分子的油水分配系数 logP 的测定。

1) 化合物溶液配制: 称取一定量的化合物 8、化合物 16、化合物 cddA35 分别用 DMSO 溶液溶解并配制成质量浓度为 1 mg/mL 的母液。

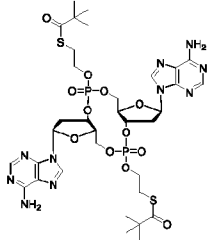
2) 从配好的母液中取 20 μ L 加入到装有 1 mL 正辛醇和 1 mL 纯净水 (10 mM K₂HPO₄ pH7.0) 混合液的 EP 管中, 振荡涡旋 2 小时, 4 $^{\circ}$ C 静置过夜分层。分离两相分别取 400 μ L。3000 转离心 5 分钟, 以相应的 0.22 μ M 滤膜过滤, 相同的 HPLC 参数条件下测定两相吸收峰的面积, 重复实验三次, 对正辛醇相和水相中的峰面积比值取 log 计算得到目标化合物的 logP 值, 如表 2 所示。

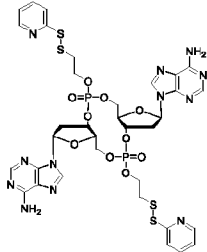
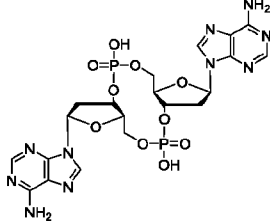
液相条件: 仪器使用 Agilent 1260 HPLC, 色谱柱: Agilent ZORABX SB-C18 5 μ m [4.6 x 150 mm], 柱温 25 $^{\circ}$ C, 进样 10 μ L, 检测波长 254 nm, 色谱梯度方法如下表 1。

表 1、HPLC 液相梯度方法

时间(min)	体积% A (10 mM TEAA 缓冲液)	体积%B(MeCN)	流速 (mL/min)
1	98	2	1
6	0	100	1
10	0	100	1
13	98	2	1
15	98	2	1

表 2

化合物	结构	logP
化合物 8		1.93 \pm 0.01

化合物 16		0.85 ± 0.02
cddA35		-3.43 ± 0.06

通过表 2 的结果可以看出, 使用取代巯基乙醇保护磷酸酯后, 其 $\log P$ 有很大的提高。相比没有磷酸负电荷裸露的 cddA35 来说, 其 $\log P$ 值为 -3.43, 基本无脂溶性。而采用硫代酰乙酯保护的化合物 8 和二巯基乙醇保护的化合物 16, 其 $\log P$ 分别为 1.93 和 0.85, 极大提高了脂溶性, 有利于化合物透过细胞膜, 进入细胞内发挥免疫刺激作用。

测试例 2

两种环二核苷酸前药分子在 HEK293T 细胞中的活性测定

原理: 双荧光报告基因实验: 环二核苷酸前药分子进入细胞后, 会经过细胞胞质内的硫酯酶或者还原性环境, 从而硫酯键断裂或者二硫键断裂, 进而得到的中间体, β 位的硫原子会亲核进攻 α 位碳原子, 从而形成环硫乙烷离去, 释放母药具有负电荷的磷酸二酯结构的环二核苷, 结合激活细胞内 STING 蛋白, 磷酸化干扰素调节因子 3 (IRF3), 磷酸化的 IRF3 进入细胞核内结合 β 干扰素基因的启动子, 引起干扰素的表达, 基于此, 将干扰素基因启动子引入到萤火虫荧光素酶的启动子中, 从而可以利用双荧光报告基因方法测定前药分子的细胞活性。

实验材料:

(1) 化合物溶液配制: 化合物 8、化合物 16 分别用 DMSO 溶解, 配制成终浓度为 1 mM。cddA35 用水溶解, 同样配制成浓度为 1 mM。

(2) 质粒溶液配制: pcDNA3.1-hSTING-wt 质粒配置为浓度 400 ng/ μ L, pGL3-IFN β 质粒配置为浓度 400 ng/ μ L, pGL4.74-Rluc 质粒配置为浓度 100 ng/ μ L。

测试方法:

HEK 293T 细胞汇合度达到约 70%, 将原培养基换成无血清培养基 opti-DMEM 500mL 待转。配制以上成分溶液, 其中包括 pcDNA3.1-hsting-wt 2 μ L, pGL3-IFN β 1 μ L, pGL4.74-Rluc 1 μ L, opti-DMEM 培养基补足 50 μ L/孔, 四孔平行。以上溶液混合物分别加入 50 μ L 2/50 Lipo2000 转染液混合, 混合物室温静置 15 min 之后混合均匀, 100 μ L/孔转染, 4 h 后加入 1 mL 37 $^{\circ}$ C DMEM 培养基。18h 后将培养基进一步换成有或者无血清培养基 opti-DMEM 500 mL, 8 μ L (5 μ M) 化合物 8、16 和 cddA35 混合液 92 μ L opti-DMEM 混匀, 静置 15min, 100 μ L/孔转染, 4h 后加入 1mL 37 $^{\circ}$ C DMEM 培养基, 继续培养 24h。24h 之后检测双荧光结果, 如图 1 所示。

从图 1 的结果可以看出, 未经修饰的高负电性的环二核苷 cddA 很难跨过细胞膜, 而本发明提供的两种采用磷酸三酯保护的环二核苷酸化合物 8 和化合物 16 能够在没有任何转染试剂的作用下, 自主跨过细胞膜, 在细胞质内由于硫酯酶或者还原性环境作用下, 释放出母药分子 cddA35, 从而激活 STING 通路, 引起干扰素的表达。

测试例 3

两种环二核苷酸前药分子的在单核细胞系 THP-1 细胞中的活性测定

测试方法:

THP-1-Lucia 细胞汇合度达到约 80%，将化合物 8、化合物 16 以及药物 ADU-S100 按照一定的浓度直接溶解到培养基中加入到 24 孔板中，四孔平行。在 37°C、5% CO₂ 的条件下继续培养 24h。培养结束后，测试荧光素酶活性。其中，化合物 8、化合物 16 以及药物 ADU-S100 在 10 μM 作用浓度下在单核细胞系 THP-1 中的 I 型干扰素测试结果如图 2 所示；化合物 8 和化合物 16 在 THP-1 细胞系中引起 I 型干扰素表达的 EC₅₀ 值则通过多个浓度的连续稀释物的剂量-响应曲线来确定，如图 3 所示。

从图 2 结果可知，在单核细胞 THP-1 细胞系中，在无任何转染试剂作用下，在 10 μM 作用浓度下，化合物 8 和化合物 16 都可以引起 I 型干扰素的强烈表达，其活性远高于目前已经进入临床二期的药物 ADU-S100。从图 3 可知，化合物 8 和化合物 16 在 THP-1 细胞系中引起 I 型干扰素表达的 EC₅₀ 值分别为 4.4nM 和 355nM，相比对照药物 ADU-S100（专利 CN108430503A 中的参照物化合物 2'3'-RR-(A)(A)）的 EC₅₀ 值为 41.5 μM，化合物 16 和化合物 8 的 EC₅₀ 值分别提高了 9430 倍和 117 倍，活性有相当大的提高。

测试例 4

化合物 8 的抗癌活性测试

实验材料:

小鼠: BABL/C 雌性小鼠，体重 18-22g。来源广东省动物实验中心，小鼠以颗粒饲料喂养，自由摄食和饮水。

肿瘤细胞株: CT-26-Luc 细胞

小鼠肿瘤模型建立: 细胞培养、传代，在细胞对数期收集细胞，做成浓度为 (1.0×10⁷) 每毫升的细胞悬液，小鼠右前肢腋下注射 0.1 mL 细胞悬液 (细胞数目为 1.0×10⁶ 个/只)，10 天左右肿瘤长至直径约为 5mm 致癌成功，随机均分为三组。

阴性对照组: 生理盐水溶液

阳性对照组: ADU-S100 (临床 II 期药)，剂量 1 mg/kg

实验组: 化合物 8，剂量 1mg/kg

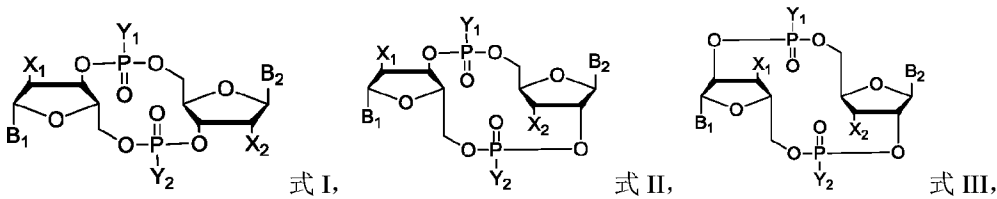
给药方法: 肿瘤接种生长 10 天后开始给药，瘤内注射，50 微升/只，每两天给药一次，一共给药三次。通过化学发光方法，使用 IVIS Spectrum Imaging System (小动物活体成像系统) 观察小鼠内肿瘤生长状况。成像前，荧光素小分子准备: 用 PBS 溶液配制适量荧光素钠盐 15 mg/mL，荧光素钠订购于上海翊圣生物有限公司。提前准备氧气、异氟烷。通过腹腔注射荧光素 100 μL，将小鼠放入麻醉盒中，待动物麻醉后，将小鼠转移至成像仪中的成像室内。根据需要，调整小鼠的姿势。成像参数为: 自动曝光，Binning 值为 2，F 值为 8。成像时间选择 10 分钟。成像后，将荧光值转换为光子数，统计个实验组总的荧光光子数。成像仪为 PerkinElmer 公司的 IVIS Spectrum 成像平台。其结果如图 4 所示。其中图 4a、4b、4c、4d、4e 和 4f 中数字代表圆形区域 (ROI, 感兴趣区) 内总的荧光光子数，图 4g 和 4h 则分别为各实验组的总荧光光子数的统计图。

各组小鼠的肿瘤体积大小和存活率结果如图 5 所示。其中，肿瘤体积大小通过游标卡尺测量肿瘤长、宽，按照公式 (体积=长×宽×宽/2) 计算得到，存活率=各实验组肿瘤体积小于 2000 立方毫米的小鼠数/各实验组小鼠总数。

从图 4 和图 5 结果可知，在 CT-26 小鼠肿瘤模型中，在给药 1 mg/kg 剂量下，相比与对照药物 ADU-S100 仅能控制小鼠肿瘤的生长，而使用本发明中化合物 8 的实验组小鼠肿瘤基本消失，进而说明化合物 8 具有良好的抗肿瘤活性，其效果优于临床用药 ADU-S100。

权利要求书

1、一种环二核苷酸前药分子或其立体异构体、互变异构体、氮氧化物、溶剂化物、代谢产物、药学上可接受的盐，其特征在于，该环二核苷酸前药分子具有如式 I、式 II 或式 III 所示的结构：



在式 I-式 III 中，

各个 B₁ 和 B₂ 各自独立地为天然碱基或人工修饰的碱基；所述天然碱基选自鸟嘌呤基、腺嘌呤基、胞嘧啶基、胸腺嘧啶基和尿嘧啶基；所述人工修饰的碱基为将功能基团进行硫代、卤代或甲基化方法修饰而得到的碱基，所述功能基团为硝基咪唑基团、氨基咪唑基团、黄嘌呤基团或次黄嘌呤基团；

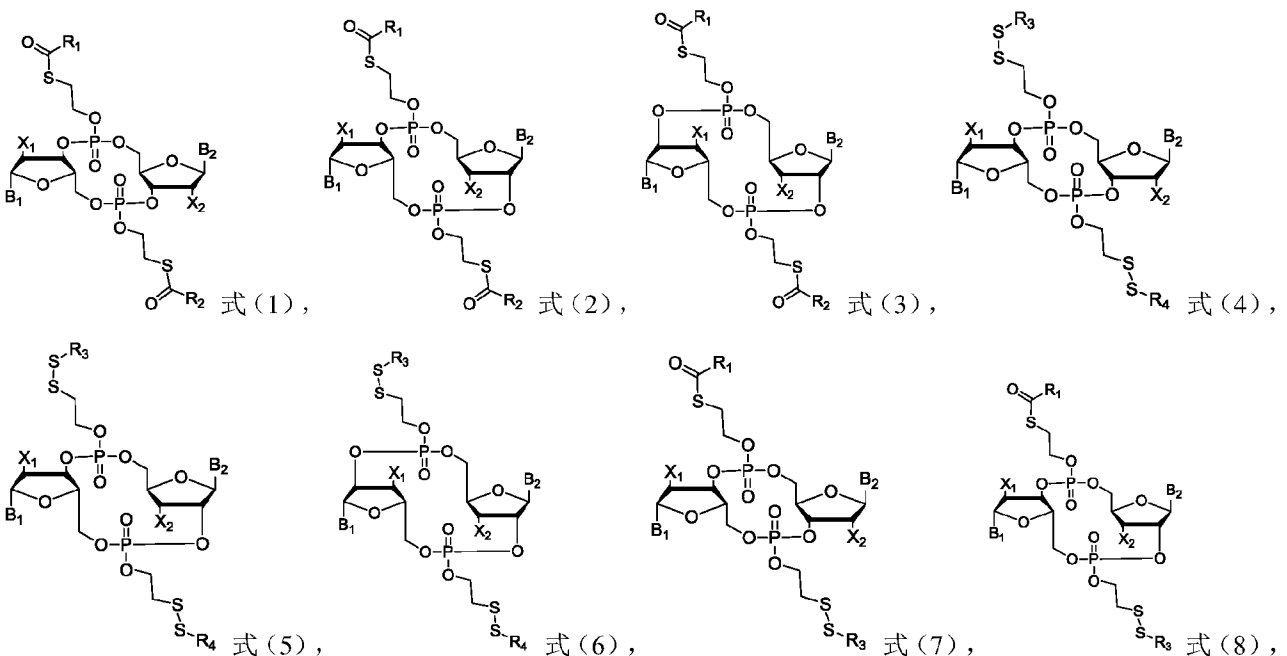
各个 X₁ 和 X₂ 各自独立地为 -H、-OCH₃ 或 -F；

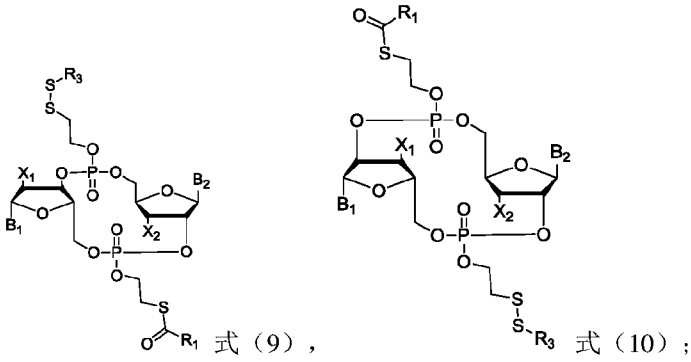
各个 Y₁ 和 Y₂ 各自独立地选自 和

R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 各自独立地选自取代或未取代的 C₁-C₁₀ 的脂烷基、取代或未取代的 C₆-C₁₁ 的芳烃基、五元或六元杂环基；且 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 中任选存在的取代基各自独立地选自 C₁-C₅ 的烷基、C₁-C₅ 的烷氧基和卤素；n₁、n₂、n₃ 和 n₄ 各自独立地为 1-5 的整数。

2、根据权利要求 1 所述的环二核苷酸前药分子，其中，Y₁ 和 Y₂ 相同；B₁ 和 B₂ 相同；X₁ 和 X₂ 相同。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的环二核苷酸前药分子，其中，所述环二核苷酸前药分子具有式 (1)-式 (10) 所示的任意一种结构：



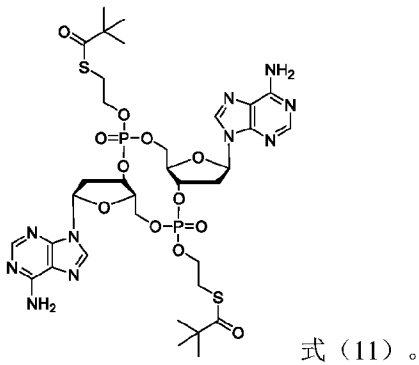


其中, 式 (1) -式 (10) 中的基团的定义与权利要求 1 或 2 中的定义对应相同。

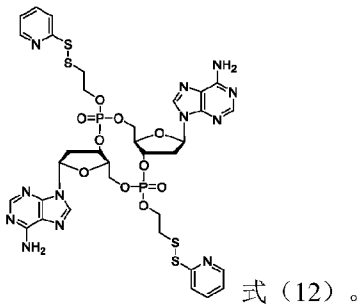
4、根据权利要求 3 所述的环二核苷酸前药分子, 其中, 在式 (1) -式 (10) 中, B_1 和 B_2 相同, 且选自鸟嘌呤基、腺嘌呤基、胞嘧啶基、胸腺嘧啶基和尿嘧啶基; X_1 和 X_2 均为-H;

R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同, 且选自取代或未取代的 C_1 - C_6 的脂烷基、取代或未取代的 C_6 - C_{11} 的芳烃基、五元或六元杂环基; 且 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中任选存在的取代基选自 C_1 - C_5 的烷基。

5、根据权利要求 1 所述的环二核苷酸前药分子, 其中, 所述环二核苷酸前药分子具有式 (11) 所示的结构,



6、根据权利要求 1 所述的环二核苷酸前药分子, 其中, 所述环二核苷酸前药分子具有式 (12) 所示的结构,



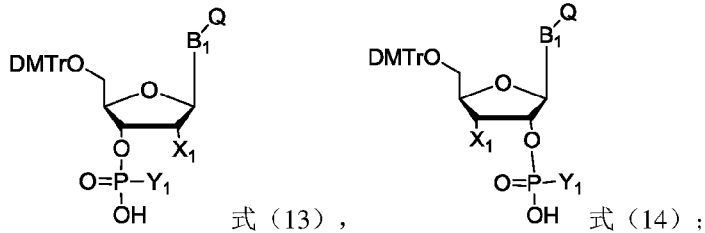
7、一种制备权利要求 1-6 中任意一项所述的环二核苷酸前药分子的方法, 该方法包括:

a) 将第一核苷单体化合物、第二核苷单体化合物和第一缩合剂在第一液态反应介质中进行第一接触反应, 得到线性二核苷酸中间体;

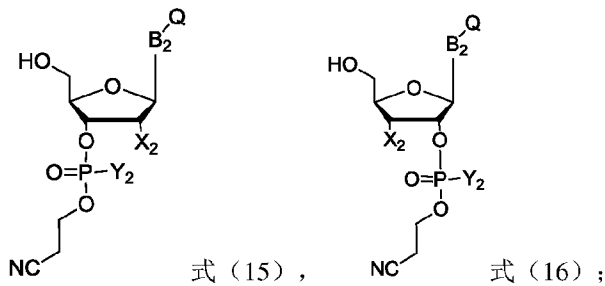
b) 在碱性条件下, 将所述线性二核苷酸中间体进行脱氧乙基反应, 然后将所得反应产物与第二缩合剂在第二液态反应介质中进行第二接触反应;

c) 将进行所述第二接触反应后获得的带有保护基的环二核苷酸前药分子进行脱保护基反应;

其中, 所述第一核苷单体化合物具有式 (13) 或式 (14) 所示的结构:



所述第二核苷单体化合物具有式 (15) 或式 (16) 所示的结构:



其中, Q 表示 B_1 和 B_2 所示的碱基中的环外氨基上的保护基, 且式 (13) - 式 (16) 中的所述 Q 各自独立地为酰基;

优选地, 所述保护基为苯氧乙酰基或 4-异丙基苯氧乙酰基。

8、根据权利要求 7 所述的方法, 其中, 进行所述第一接触反应的条件包括: 温度为 0-50°C, 时间为 2-8h;

优选地, 进行所述第二接触反应的条件包括: 温度为 0-50°C, 时间为 2-8h。

9、根据权利要求 7 所述的方法, 其中, 所述第一缩合剂和所述第二缩合剂各自独立地选自 1-(均三甲苯基-2-砷基)-3-硝基-1,2,4-三唑、2,4,6-三异丙基苯基砷基-3-硝基 1,2,4-三唑、2,4,6-三异丙基苯磺酰氯、2,4,6-三甲苯磺酰氯和 1H-四唑和 N-甲基咪唑中的至少一种;

优选地, 在步骤 a) 中, 相对于 1mol 的第一核苷单体化合物, 所述第一缩合剂的用量为 2-3mol;

优选地, 在步骤 b) 中, 相对于 1mol 的线性二核苷酸中间体, 所述第二缩合剂的用量为 4-5mol。

10、根据权利要求 7 所述的方法, 其中, 在步骤 b) 中, 所述碱性条件由叔丁胺的乙腈溶液提供;

优选地, 所述碱性条件由体积比为 1: (1-5) 的叔丁胺与乙腈形成的混合溶液提供。

11、根据权利要求 7 所述的方法, 其中, 所述脱保护基反应在体积比为 1: (5-20) 的二异丙胺和甲醇形成的混合溶液存在下进行。

12、权利要求 1-6 中任意一项所述的环二核苷酸前药分子或其立体异构体、互变异构体、氮氧化物、溶剂化物、代谢产物、药学上可接受的盐在制备药物中的应用;

优选地, 所述药物为抗病毒药物、抗细菌感染药物或抗癌药物。

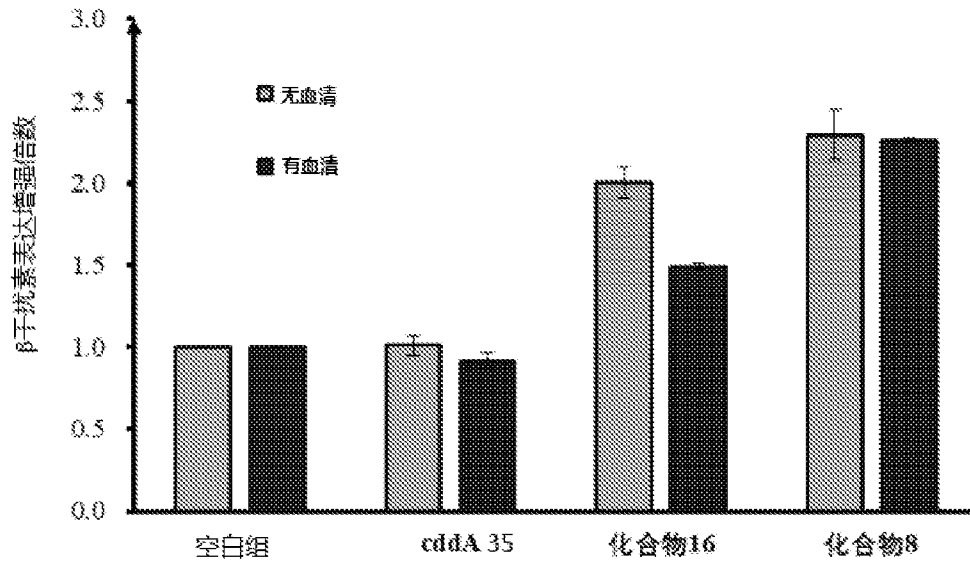


图 1

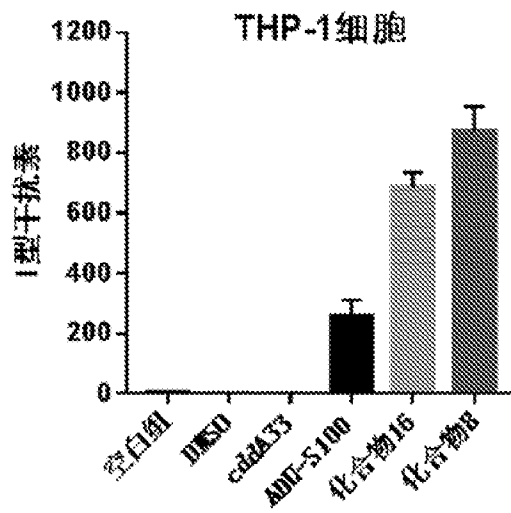


图 2

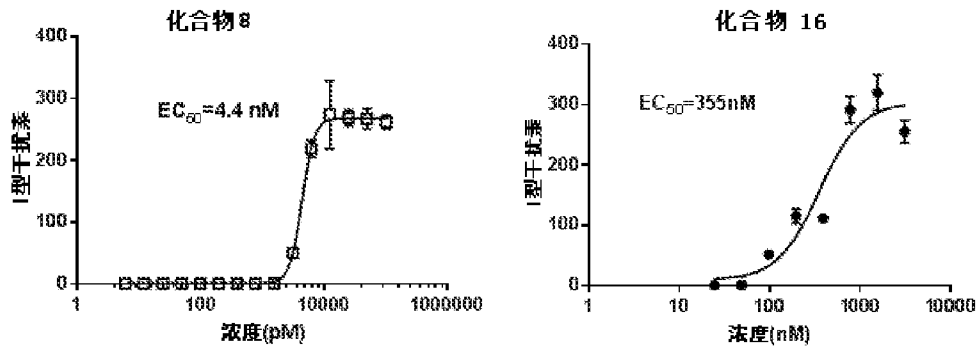
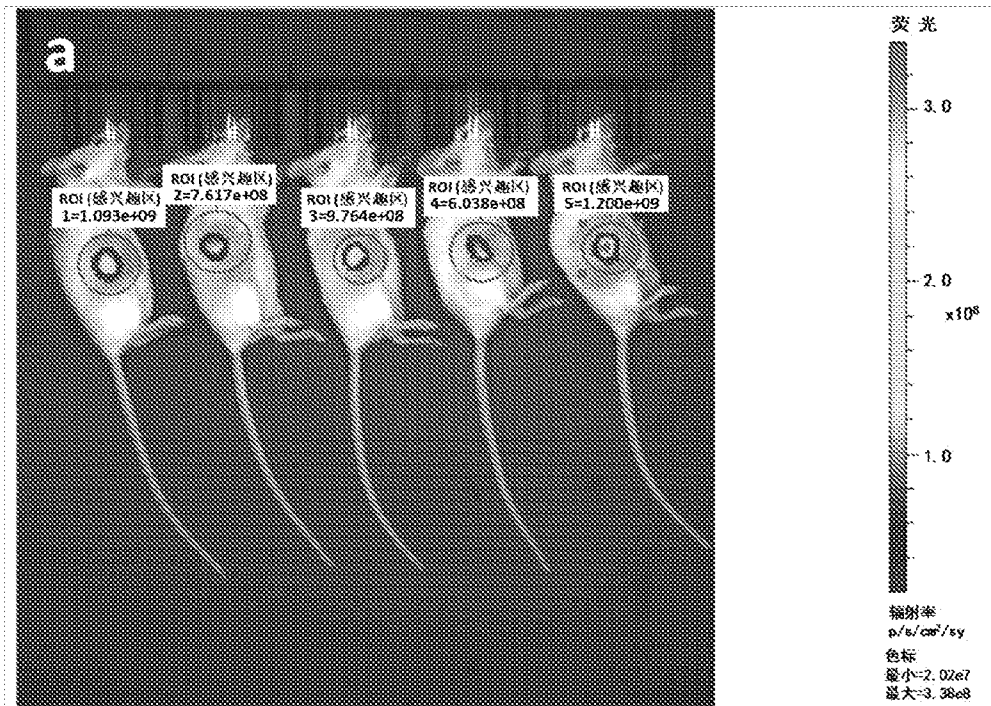
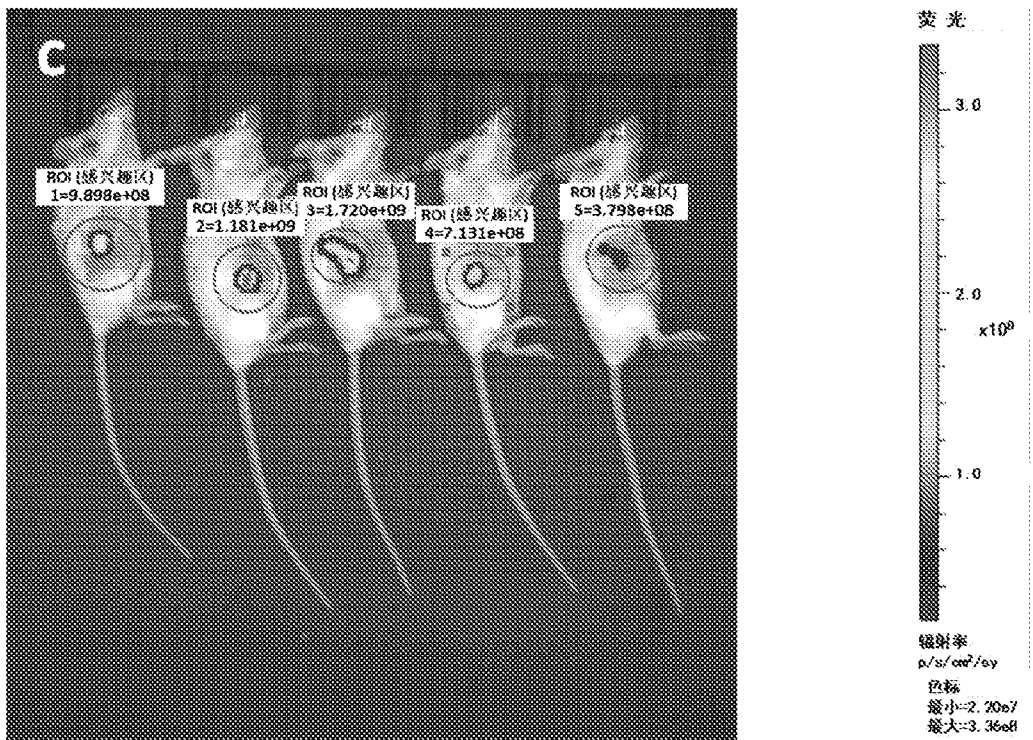
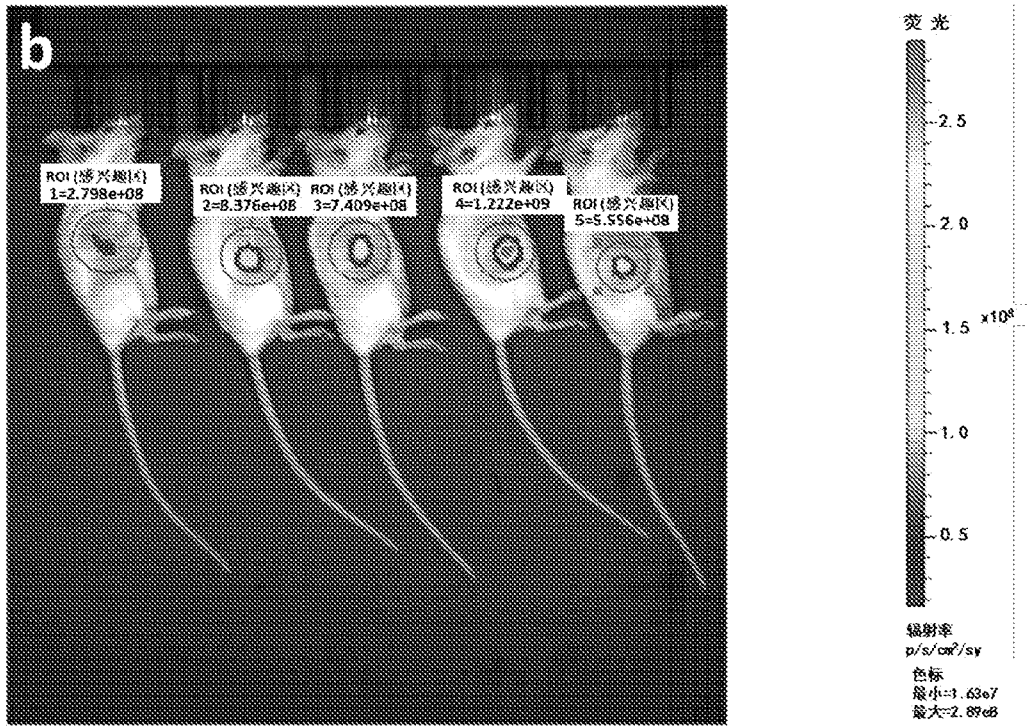
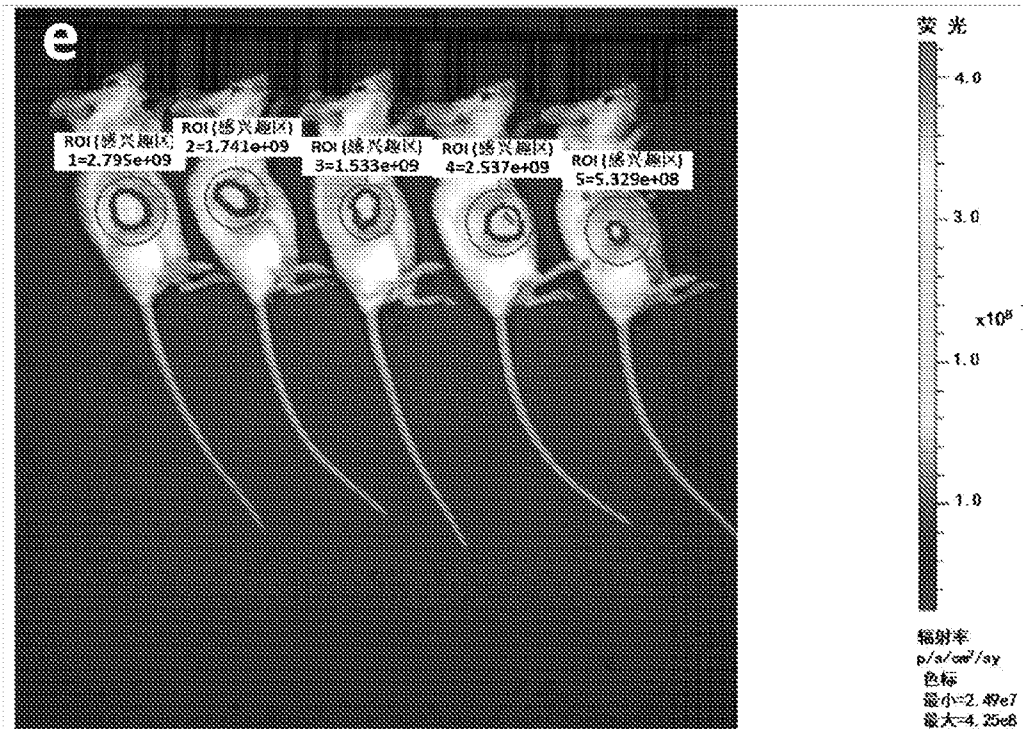
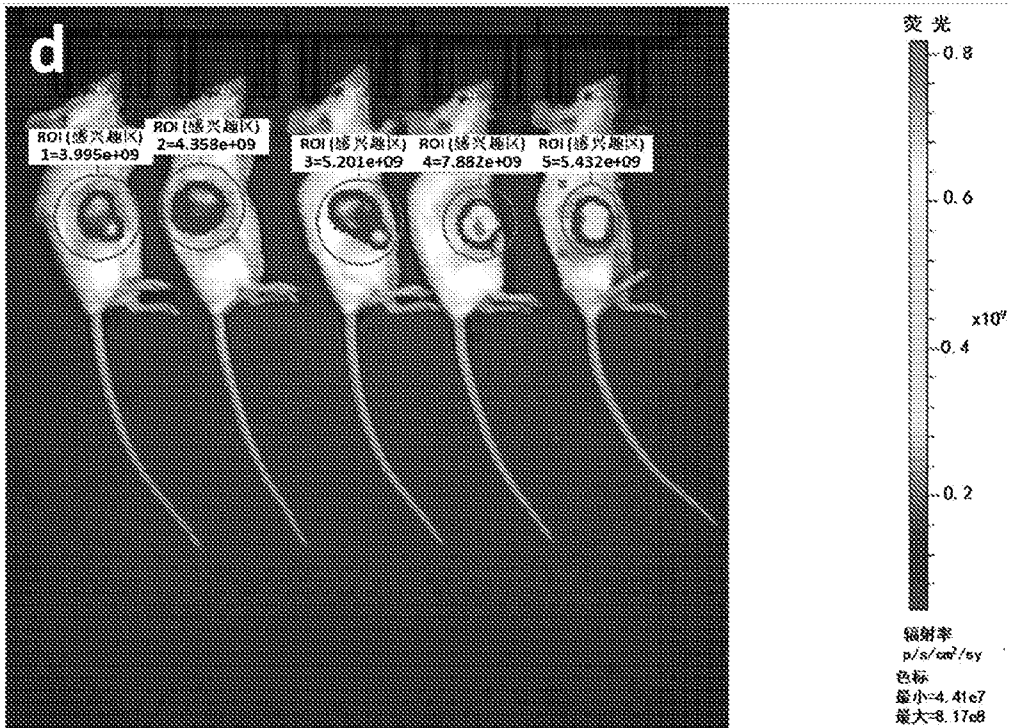


图 3







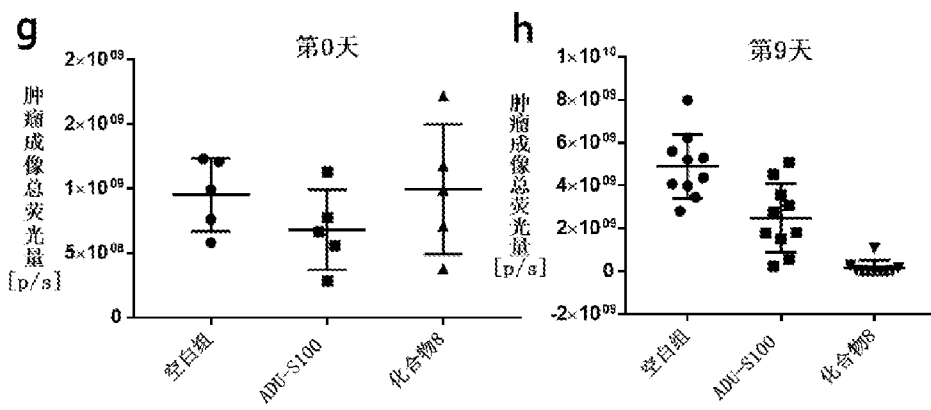
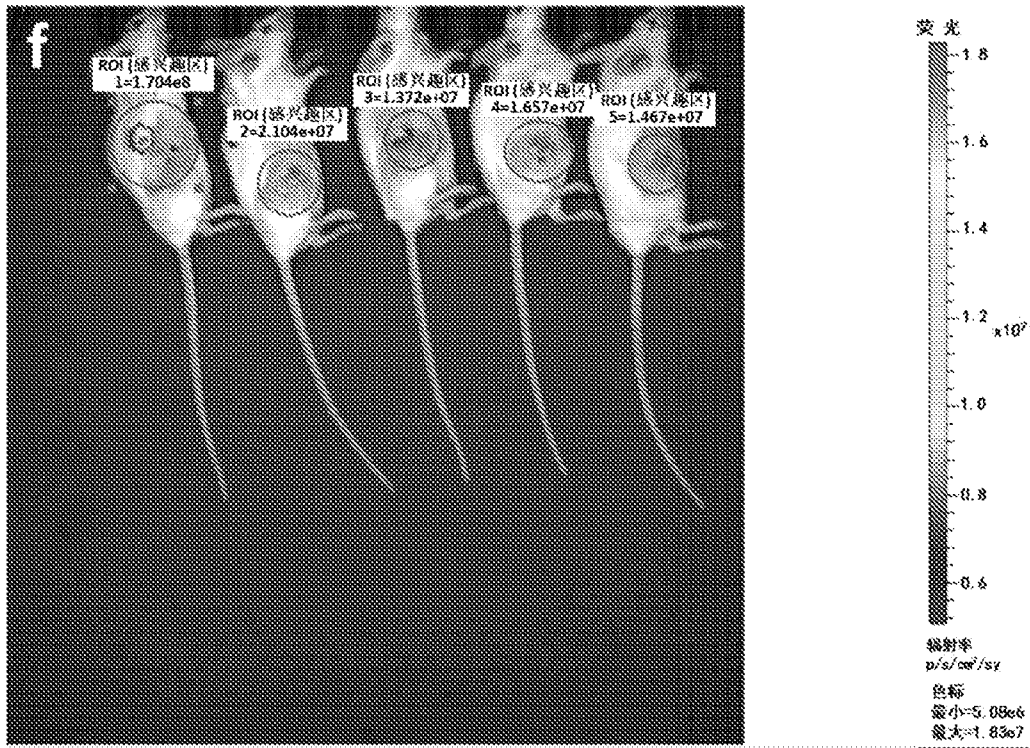


图 4

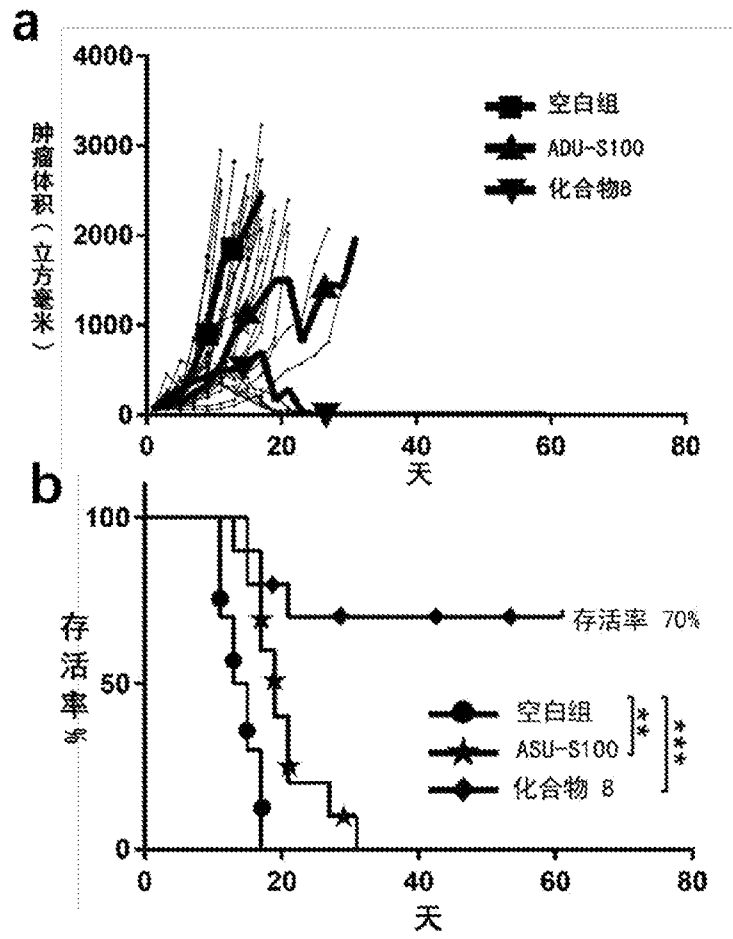


图 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/071329

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07H 19/207(2006.01)i; C07H 19/213(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C07H		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNABS; CNTXT; CJFD; DWPI; SIPOABS; WOTXT; USTXT; EPTXT; CNKI; PATENTICS; 万方; 超星读秀; ISI-Web of Science; STN-registry; STN-caplus; 南开大学, 席真, 王正华, 王丹, 前药, 先导物, 核苷酸, 核苷, 脂溶性, 亲脂性, 硫代乙酯, 硫代酰乙酯, 二硫键, 二硫基, 季戊酰硫代乙酯, 吡啶二硫基, 磷酸腺苷, 胞苷, Prodrug, Pro Drug, Leading Compound, Nucleotide, Lipophilic, Liposolubility, Fat-soluble, Liposoluble, Thioethyl Ester, Disulfide, Phosphoadenosine, Adenosine Phosphate		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 107849084 A (GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY DEVELOPMENT LIMITED) 27 March 2018 (2018-03-27) description, paragraphs [0022], [0057]-[0085], [0276], [0577]-[0605], and figure 4, compound 41	1-12
A	CN 102596204 A (ONTORII INC.) 18 July 2012 (2012-07-18) entire document	1-12
A	WANG, Baifan et al. "Computational and NMR Spectroscopy Insights into the Conformation of Cyclic di-Nucleotides" <i>Scientific Reports</i> , Vol. 7, No. 1, 29 November 2017 (2017-11-29), ISSN: 2045-2322, page 2, figure 1	1-12
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
26 February 2020		31 March 2020
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088 China		
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/071329

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107849084	A	27 March 2018	US	10364266	B2	30 July 2019
				US	2020002370	A1	02 January 2020
				AU	2016362697	B2	12 July 2018
				US	2018258132	A1	13 September 2018
				MX	2017015299	A	15 March 2018
				MX	363780	B	03 April 2019
				VN	59315	A	25 September 2018
				US	9718848	B2	01 August 2017
				US	2017233430	A1	17 August 2017
				KR	20180009812	A	29 January 2018
				JP	6411676	B2	24 October 2018
				HK	1250032	A0	23 November 2018
				IL	255525	A	31 October 2019
				TW	201731862	A	16 September 2017
				AU	2016362697	A1	04 January 2018
				EP	3366691	A1	29 August 2018
				US	9994607	B2	12 June 2018
				IN	201817009732	A	22 June 2018
				BR	112018011302	A2	27 November 2018
				ZA	201801631	A	27 November 2019
				WO	2017093933	A1	08 June 2017
SG	11201709632	A1	28 December 2017				
PH	12017502332	A1	11 June 2018				
NZ	738202	A	26 July 2019				
KR	101949108	B1	15 February 2019				
EP	3322713	A1	23 May 2018				
JP	2018516903	A	28 June 2018				
AR	106937	A1	07 March 2018				
CA	3006930	A1	08 June 2017				
RU	2018103881	A	02 August 2019				
US	2017158724	A1	08 June 2017				
HK	1260062	A0	13 December 2019				
CN	102596204	A	18 July 2012	ID	201201988	A	12 April 2012
				MX	342945	B	18 October 2016
				EP	2451461	A4	29 May 2013
				WO	2011005761	A1	13 January 2011
				AU	2010270714	A1	16 February 2012
				JP	2015205910	A	19 November 2015
				RU	2612521	C2	09 March 2017
				JP	5998326	B2	28 September 2016
				SG	10201403841	A1	26 September 2014
				KR	101885383	B1	03 August 2018
				EP	2451461	A1	16 May 2012
				US	9744183	B2	29 August 2017
				JP	2012532199	A	13 December 2012
				US	2012316224	A1	13 December 2012
				CN	102596204	B	23 November 2016
				US	2016347784	A1	01 December 2016
				RU	2012102480	A	20 August 2013
				IL	217370	A	28 September 2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/071329

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		AU 2015255202 A1	26 November 2015
		AU 2015255202 B2	27 July 2017
		US 10307434 B2	04 June 2019
		SG 177564 A1	28 February 2012
		IN 201200720 P1	19 June 2015
		WO 2011005761 A8	02 February 2012
		CA 2767253 A1	13 January 2011
		KR 20120046238 A	09 May 2012
		MX 2012000380 A	31 May 2012
		BR 112012000828 A2	23 February 2016

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/071329

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07H 19/207(2006.01)i; C07H 19/213(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07H</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS;CNTXT;CJFD;DWPI;SIPOABS;WOTXT;USTXT;EPTXT;CNKI;PATENTICS;万方;超星读秀;ISI-Web of Science;STN-registry;STN-caplus: 南开大学, 席真, 王正华, 王丹, 前药, 先导物, 核苷酸, 核苷, 脂溶性, 亲脂性, 硫代乙酯, 硫代酰乙酯, 二硫键, 二硫基, 季戊酰硫代乙酯, 吡啶二硫基, 磷酸腺苷, 胞苷, Prodrug, Pro Drug, Leading Compound, Nucleotide, Lipophilic, Liposolubility, Fat-soluble, Liposoluble, Thioethyl Ester, Disulfide, Phosphoadenosine, Adenosine Phosphate</p>														
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 107849084 A (葛兰素史密斯克莱知识产权发展有限公司) 2018年 3月 27日 (2018 - 03 - 27) 说明书第[0022]、[0057]-[0085]、[0276]、[0577]-[0605]段以及附图4中化合物41</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 102596204 A (昂托瑞公司) 2012年 7月 18日 (2012 - 07 - 18) 全文</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WANG, Baifan 等. "Computational and NMR Spectroscopy Insights into the Con-formation of Cyclic di-Nucleotides" Scientific Reports, 第7卷, 第1期, 2017年 11月 29日 (2017 - 11 - 29), ISSN: 2045-2322, 第2页图1</td> <td>1-12</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 107849084 A (葛兰素史密斯克莱知识产权发展有限公司) 2018年 3月 27日 (2018 - 03 - 27) 说明书第[0022]、[0057]-[0085]、[0276]、[0577]-[0605]段以及附图4中化合物41	1-12	A	CN 102596204 A (昂托瑞公司) 2012年 7月 18日 (2012 - 07 - 18) 全文	1-12	A	WANG, Baifan 等. "Computational and NMR Spectroscopy Insights into the Con-formation of Cyclic di-Nucleotides" Scientific Reports, 第7卷, 第1期, 2017年 11月 29日 (2017 - 11 - 29), ISSN: 2045-2322, 第2页图1	1-12
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
X	CN 107849084 A (葛兰素史密斯克莱知识产权发展有限公司) 2018年 3月 27日 (2018 - 03 - 27) 说明书第[0022]、[0057]-[0085]、[0276]、[0577]-[0605]段以及附图4中化合物41	1-12												
A	CN 102596204 A (昂托瑞公司) 2012年 7月 18日 (2012 - 07 - 18) 全文	1-12												
A	WANG, Baifan 等. "Computational and NMR Spectroscopy Insights into the Con-formation of Cyclic di-Nucleotides" Scientific Reports, 第7卷, 第1期, 2017年 11月 29日 (2017 - 11 - 29), ISSN: 2045-2322, 第2页图1	1-12												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>														
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 2月 26日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2020年 3月 31日</p>												
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>蒋薇薇</p> <p>电话号码 (86-512)88996871</p>												

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/071329

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107849084	A	2018年 3月 27日	US	10364266	B2	2019年 7月 30日
				US	2020002370	A1	2020年 1月 2日
				AU	2016362697	B2	2018年 7月 12日
				US	2018258132	A1	2018年 9月 13日
				MX	2017015299	A	2018年 3月 15日
				MX	363780	B	2019年 4月 3日
				VN	59315	A	2018年 9月 25日
				US	9718848	B2	2017年 8月 1日
				US	2017233430	A1	2017年 8月 17日
				KR	20180009812	A	2018年 1月 29日
				JP	6411676	B2	2018年 10月 24日
				HK	1250032	A0	2018年 11月 23日
				IL	255525	A	2019年 10月 31日
				TW	201731862	A	2017年 9月 16日
				AU	2016362697	A1	2018年 1月 4日
				EP	3366691	A1	2018年 8月 29日
				US	9994607	B2	2018年 6月 12日
				IN	201817009732	A	2018年 6月 22日
				BR	112018011302	A2	2018年 11月 27日
				ZA	201801631	A	2019年 11月 27日
				WO	2017093933	A1	2017年 6月 8日
				SG	11201709632	A1	2017年 12月 28日
				PH	12017502332	A1	2018年 6月 11日
				NZ	738202	A	2019年 7月 26日
KR	101949108	B1	2019年 2月 15日				
EP	3322713	A1	2018年 5月 23日				
JP	2018516903	A	2018年 6月 28日				
AR	106937	A1	2018年 3月 7日				
CA	3006930	A1	2017年 6月 8日				
RU	2018103881	A	2019年 8月 2日				
US	2017158724	A1	2017年 6月 8日				
HK	1260062	A0	2019年 12月 13日				
CN	102596204	A	2012年 7月 18日	ID	201201988	A	2012年 4月 12日
				MX	342945	B	2016年 10月 18日
				EP	2451461	A4	2013年 5月 29日
				WO	2011005761	A1	2011年 1月 13日
				AU	2010270714	A1	2012年 2月 16日
				JP	2015205910	A	2015年 11月 19日
				RU	2612521	C2	2017年 3月 9日
				JP	5998326	B2	2016年 9月 28日
				SG	10201403841	A1	2014年 9月 26日
				KR	101885383	B1	2018年 8月 3日
				EP	2451461	A1	2012年 5月 16日
				US	9744183	B2	2017年 8月 29日
				JP	2012532199	A	2012年 12月 13日
				US	2012316224	A1	2012年 12月 13日
				CN	102596204	B	2016年 11月 23日
				US	2016347784	A1	2016年 12月 1日
				RU	2012102480	A	2013年 8月 20日
IL	217370	A	2017年 9月 28日				

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/071329

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		AU 2015255202 A1	2015年 11月 26日
		AU 2015255202 B2	2017年 7月 27日
		US 10307434 B2	2019年 6月 4日
		SG 177564 A1	2012年 2月 28日
		IN 201200720 P1	2015年 6月 19日
		WO 2011005761 A8	2012年 2月 2日
		CA 2767253 A1	2011年 1月 13日
		KR 20120046238 A	2012年 5月 9日
		MX 2012000380 A	2012年 5月 31日
		BR 112012000828 A2	2016年 2月 23日
