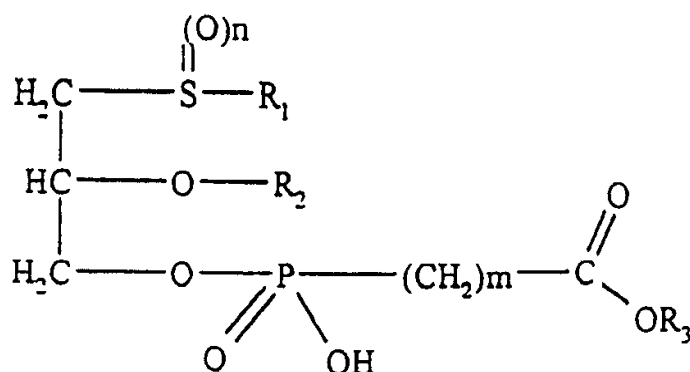




权 利 要 求 书

1 式 I 的膦酰基羧酸的磷脂衍生物



其中

R<sup>1</sup> 表示含有 9-13 个碳原子的直链或支链的烷基链,

R<sup>2</sup> 表示含有 8-12 个碳原子的直链或支链的烷基链,

R<sup>3</sup> 表示氢或含有 1-6 个碳原子的直链或支链的烷基链,

n 表示 0、1 或 2,

m 表示 0、1、2 或 3,

5 其互变异构体、光学异构体和外消旋体, 其生理上可耐受的酯和其生理可耐受的无机或有机碱盐。

2. 根据权利要求 1 的式 I 化合物, 其中 R<sup>1</sup> 代表癸基、十一烷基、十二烷基或十三烷基。

3. 根据权利要求 1 或 2 的式 I 化合物, 其中 R<sup>2</sup> 代表癸基、十一烷基或十二烷基。

4. 根据权利要求 1 的式 I 化合物, 其中 n 代表 0 或 1。

5. 根据权利要求 1 的式 I 化合物, 其中 m 代表 0、1 或 2。

6. 根据权利要求 1 的式 I 化合物, 其中 R<sup>3</sup> 代表甲基、乙基、丙基、丁基或叔丁基。

15 7. 含有权利要求 1 至 6 之一中要求的至少一种式 I 化合物以及常用的药物辅剂和载体的药物组合物。

8. 权利要求 1 至 6 之一中要求的至少一种式 I 化合物用于生产治疗自身免疫疾病、肿瘤、炎症、病毒或反转录病毒疾病的药物的用途。



活性形式及外消旋混合物也是本发明的主题。

式 I 化合物在下文还包括盐、互变异构体、酯、光学活性形式及外消旋混合物。

恶性肿瘤(癌、肉瘤、血液瘤)、炎症性疾病或自身免疫性疾病以及由病毒或反转录病毒引起的疾病如 AIDS、ARC(AIDS 相关的复合物)、巨细胞病毒(cytomegaly)感染、疱疹感染或肝炎的治疗除所用治疗物质的效力不足外,也常常会伴有极端的副作用。这种效果可以解释为所用药理学活性物质的体内选择性不够以及治疗范围有限。药理学活性物质的有利的体外药理学特性在体内条件下常常不会出现。

因此,数年来,一直试图通过修饰药理学活性物质的化学结构来提供就其治疗范围而言其特性有所改善的新物质。此外,给药的新药物形式常常随将活性物质具体运送到其作用位点的目的而发展,作用位点是药物将发挥其治疗作用的位点。在这种情况下,特别需要避免与健康细胞之间产生不利的相互作用。一种改善治疗范围的可能性是改变基本活性物质的物理特性,这样例如通过产生酸或碱加成盐或通过制备药理学安全的酯(例如脂肪酸酯; J.Pharm. Sci. 79, 531(1990)),可以对药理学活性物质稍加修饰以改善活性物质的溶解度或耐受性。通常将这些稍加化学修饰的化合物称为“前药”,因为它们与体液接触后或在肝(第一轮代谢)中几乎立即转变成治疗活性剂。本发明包括所述前药。

为了提高催化稳定性,已将核苷如 ara-C 和 ara-A 与磷脂进行了化学相连。与未修饰的核苷相比,相应的衍生物在体内有较低的毒性和较高的稳定性。但是吸收和细胞渗透几乎未受影响。[J. Med. Chem. 32, 367(1989), Cancer Res. 37, 1640(1977) and 41, 2707(1981)].

从下列参考文献中可以了解核苷的其他磷脂衍生物:

在 J. Biol. Chem. 265, 6112(1990)中描述了作为抗病毒药物的脂类核苷酸的生产 and 用途。但是,在这种情况下,只研究并合成了与已知的核苷如 AZT 和 ddC 以脂肪酸酯的结构结合的二肉豆蔻酰磷脂酰和二棕榈酰磷脂酰残基。

在 J. Med. Chem. 33, 1380(1990)中描述了硫醚脂与胞苷二磷酸的核苷结合物,它们有抗肿瘤作用并可将其用于肿瘤学。

在 Chem. Pharm. Bull. 36, 209(1988)中,描述了具有抗白血病

活性的 5'-(3-SN-磷脂酰)-核苷以及在转移酶活性的磷脂酶 D 的存在下, 从适宜的核苷和磷酸胆碱合成它们的酶促合成法。

在 Tetrahedron Lett. 28, 199(1987)和 Chem. Pharm. Bull. 36, 5020(1988)中描述了脂类核苷酸的酶促合成。

5 WO 94/13324 描述了用 1-O-烷基-, 1-O-酰基-, 1-S-酰基-和 1-S-烷基-sn-甘油基-3-磷酸酯作为脂类载体的口服有效的活性物质。

申请 EP 418814 和 J. Med. Chem. 34, 1912(1991)描述了类异戊二烯氧磷基甲酸酯作为角鲨烯合成酶抑制剂。

10 在 Biochem. Biophys. Res. Commun. 171, 458(1990)中, 描述了抗反转录病毒 Foscarnet 与棕榈酰磷酰基甲酸酯的脂结合物, 并在 J. Med. Chem. 20, 660(1977)中说明了(己基氧基)-羟基氧磷基乙酸的抗 HIV 活性。

总之, 发现将治疗药物的浓缩物转运到各靶器官或靶细胞的有效方法是非常有利的, 在 AIDS 的情况下, 是将药物运送到被认为是病毒复制的主要部位的免疫系统和淋巴系统的细胞内。

15 PFA(磷酰基甲酸)和 PAA(磷酰基乙酸)对 HSV 1 和 2、流感病毒、HBV、VZV、EBV 以及反转录病毒感染有良好的抗病毒活性。

20 在特定的情况下, PFA/PAA 及其衍生物可以有效地替换核苷/作为核苷的有效补充, 因为它们抑制广谱 DNA 和 RNA 聚合酶并以足够选择性抑制反转录病毒的 RT。

PFA 和 PAA 本身是有毒性的, 因为它们与焦磷酸酯相似, 可以在骨中积累。

25 本发明化合物还具有有价值的药理学特性。它们特别适用于治疗和预防由 DNA 病毒如单纯性疱疹病毒、人疱疹病毒、细胞肥大病毒、乳多泡病毒、水痘带状疱疹病毒、肝炎病毒或 EB 病毒、流感病毒或 RNA 病毒如 Toga 病毒或特别是反转录病毒如 oncoviruses HTLV-I 和 II 以及 letiviruses visna 和人免疫缺陷型病毒 HIV-1 和 2 引起的感染。

30 式 I 化合物似乎特别适用于治疗人反转录病毒 HIV 感染的临床症状如持久性泛化的淋巴结病(PGL)、AIDS 相关并发症(ARC)的前期和 AIDS 的完全临床像以及相关的 CMV 和 HSV 感染。

在 J. Infect. Dis. 172, 225(1995)中描述了 Foscarnet(磷酰基甲酸三钠盐/PFA)在患 CMV 视网膜炎的 HIV 患者中的抗病毒/抗反转录

病毒作用。

Antiviral Res. 26, 1 (1995) 中描述了在鼠 CMV 中的抗病毒作用。

此外, 在 JAMA 273, 1457(1995) 中描述了将 PFA 用于治疗 CMV 视网膜炎。

5 在 J. Med. Chem. 37, 2216(1994) 中描述了抑制 HIV-1 复制的 PFA-和 PAA-2', 3'-二脱氧-3'-硫杂胞苷结合物, 在 J. Pharm. Sci. 83, 1269(1994) 中描述了 Foscarnet 的酰氧基烷基酯。

10 但美国申请 5194654 和 PCT 申请 WO 94/13682 也是非常重要的参考文献。其中公开了磷酰基羧酸的脂类衍生物及其在脂质体中的应用, 其中, 磷酰基羧酸的脂类衍生物形成了特别稳定的脂质体复合物。尽管权利要求的范围很宽, 但实际上 1-0-烷基-sn-甘油基-3-磷酰基羧酸是该申请的核心, 该物质可很好地掺入到脂质体的脂类双层中。所要求的烷基可包括 2-24 个碳原子。

15 但是仅记载了 1-0-十八烷基-sn-甘油基-3-磷酰基甲酸酯(十八烷基-磷酰基甲酸酯)的实施例并给出了其抗病毒作用的数据。在所完成的研究和生产中证实该化合物是不稳定的。与所述专利申请相反, 该化合物是以纯物质的溶液/悬浮液而非脂质体的形式使用。

20 在同样的条件下, 本发明的式 I 化合物是稳定的并具有明显的体外和体内(小鼠中的 MCMV 模型)优点。经口给药时, 羧酸酯是特别稳定的, 而且比相应的游离羧酸有更好的生物利用度。

就所用的饱和烷基的链长度而言, 令人惊奇地发现结构与作用之间有密切的关系。只有当使用链长为 10-13 个碳原子的两个烷基时, 才具有最佳效果。

25 因此, 与 WO 94/13682 和 US 5194654 相比, 本申请中所要求的化合物代表了一种意想不到的改进, 尽管这些申请包含了这些化合物, 但它们并不是本申请的核心, 而且并未明确提到这些化合物或其名称, 因此, 它们的用途也就不是显而易见的。

式 I 化合物是新的。除稳定性(以物质和溶液形式)改善外, 所要求的化合物与已知脂类衍生物相比有更好的作用。

30 令人惊奇的是, 与游离的药理学活性物质或未修饰的物质相比, 式 I 的药物活性物质有更宽的治疗范围。此外, 提高了它们在体内的滞留时间、改善了通常认为是重要因素的药理学活性物质的生物利用

度或膜通透性(如血-脑屏障、细胞膜等)。因此式 I 化合物可作为药理学活性物质的载体系统(载体)。就其功能而言,可将式 I 的结合物称为细胞内药物储备、药物靶向和药物传递系统。它们能够使药理学活性物质在经口给药后在细胞内释放出来,有利的是这种释放不会意想不到地发生在体细胞、器官或组织中,而是特异性地发生于含特定酶的那些细胞中。但是,特别意想不到的是裂解不是发生在通过体液如血液、血清或淋巴液或通过肝运输底物的过程中,而是发生在相应的靶细胞上或靶细胞中。这样可以避免通过肾排泄磷酸基羧酸或在肝中裂解结合物,以便可将大部分活性物质运输到相应的靶细胞内。如上所述,所述细胞主要是生理学或病理学激活的细胞,所述细胞是药理学活性物质施用的靶目标,如血白细胞、淋巴细胞、巨噬细胞和免疫淋巴系统的其他细胞种群。具体地说,它们是在相应疾病过程中有病理学或症状作用的激活的细胞(如巨噬细胞、粒细胞、淋巴细胞、白细胞、红细胞、单核细胞等)。此外,它们也是受病毒、细菌、真菌或其他微生物感染的细胞。

令人惊奇的是,还发现当将所述物质与很特异性的类脂样载体分子结合时,药理学活性磷酸基羧酸和其酯的治疗范围显著增大。用该方法制备的结合物可作为一种新的活性物质用于给药药物形式的生产。总的来说,结合会提高药物活性磷酸基羧酸的体内效果,因为通过所得药物运输系统将药理学活性物质定位于靶细胞内,因此药理学活性物质的效力和耐受力得以提高。这意味着,一方面可以减少待施用的药理学活性磷酸基羧酸的量,或另一方面以相同的有效量即可使药理学作用增强。

通过结合物的酶促水解而从结合物中释放药理学活性磷酸基羧酸。

式 I 的结合物与未结合的药理学活性磷酸基羧酸和其酯相比有显著的优点。与药理学活性物质共价结合的特异性载体提高了很难再吸收的药理学活性物质的生物利用度,潜在毒性活性分子的耐受性,迅速清除的或代谢的药物的滞留时间以及膜通透性差(如血-脑,细胞等)的化合物的膜穿透能力。

在体内脂类部分的酶促裂解通常不发生于血清中,而只在细胞内。此外,具有其卵磷脂样结构的载体部分(对于所要求的效果是必需的)

提高了生理学活性物质的穿透能力或膜通透性，并有积存效果。另外，认为脂类结合物的胃肠耐受性比纯生理学活性磷酸基羧酸的更好。脂类结合物在吸收过程中通过膜结合的穿透能力更好，因此，能更好地克服吸收障碍。这对于穿透如血-脑屏障也适用。

5 另外，由于结合物与原生质和组织蛋白质能够更好地结合，从而改善了体内分布。结合物主要通过正常的生物转化反应从硫醚 ( $n=0$ ) 氧化成亚砷 ( $n=1$ )，但由于亚砷和硫醚相比，其作用是等效的，因此，这种转化并不是一种缺点。药理学活性磷酸基羧酸从结合物中的缓慢释放可以使活性物质保持低水平，即在较长的时间内保持稳定，由此提  
10 高了效力和/或避免了毒副作用。以单磷酸酯形式释放的药理学活性物质由于其高亲水性而不再能穿透细胞。

总体来说，药理学活性物质的细胞和器官半衰期通过结合作用得以大大延长，主要是由于延长了结合物在生物体内的滞留时间。由于在血清和各种器官中没有裂解活性，因此，几乎未观察到或仅观察到  
15 很轻微的骨髓和器官毒性。特别有利的是式 I 的结合物可特异性地在各种靶器官、组织或细胞中积累。

可将式 I 化合物作为活性成分用于生产治疗各种疾病的药物，所述疾病需要在细胞、器官或组织中保持高水平的药理学活性物质。代表“药物-储备-传递-靶向”的该系统的一个必需条件是对所进行  
20 的治疗作出反应的细胞要含有裂解酶以便活性物质第一步结合，随后在活性物质被裂解形成生理活性磷酸基羧酸的过程中将活性物质通过细胞膜运输到细胞内，活性物质的裂解或者基本上与跨细胞膜运输同时发生或此后部分地在细胞内。细胞内裂解主要是发生在其中裂解酶也位于细胞内的情况下。

25 适宜的靶细胞是例如免疫淋巴系统的细胞(如血白细胞、单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞)或感染的细胞。

令人惊奇的是，发现式 I 的化合物还在病毒特异性的 DNA 或 RNA 转录水平抑制 DNA 或 RNA 的复制。该物质可通过抑制反转录酶来影响反转录病毒的繁殖(参见 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 1911, 1986,  
30 and Nature 325, 773, 1987)。对 HIV(免疫缺陷型疾病 AIDS 的病因)的抑制作用具有特别的治疗意义。现在已将 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷(DE-A-3608606)用于治疗 AIDS 患者的 AIDS。但是 3'-叠氮基-3'-脱氧胸





式 I 中的  $R^1$  优选表示直链  $C_{10} - C_{12}$  烷基。  $R^1$  具体代表癸基、十一烷基、十二烷基或十三烷基。

$n$  优选是 0 或 1。

$R^2$  优选表示直链  $C_9 - C_{12}$  烷基。

5  $R^2$  具体代表癸基、十一烷基或十二烷基。

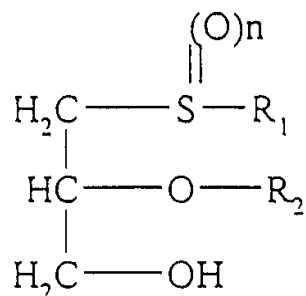
所要求的通式 I 的结合物中，优选的偶联的磷酸及其酯是下列酸和其酯：

- 磷酰基甲酸
- 磷酰基乙酸
- 10 - 磷酰基丙酸

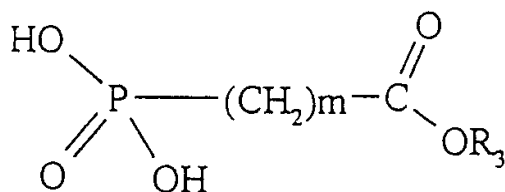
特别优选的脂类部分是  $n=0$  和组合  $R_1 =$  癸基/ $R_2 =$  十二烷基，  $R_1 =$  十一烷基/ $R_2 =$  十一烷基或  $R_1 =$  十二烷基/ $R_2 =$  癸基， 和另外  $R_1 =$  十一烷基/ $R_2 =$  癸基，  $R_1 =$  十三烷基/ $R_2 =$  癸基，  $R_1 =$  十二烷基/ $R_2 =$  十一烷基。

通式 I 的化合物可通过如下方法制备：

1. 在任选取代的芳基磺酰氯的存在下，于有机碱中或在碱的存在下于惰性有机溶剂中，将通式 II 的化合物

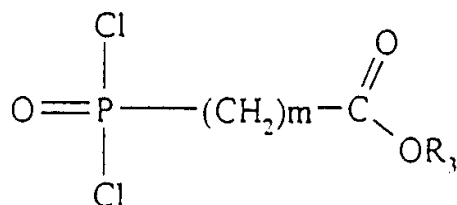


其中  $R^1$ 、 $R^2$  和  $n$  具有上述的含义，与通式 III 的化合物反应



其中  $m$  具有上述含义并且  $R^3$  代表上述酯残基之一，任选地，随后通过用碱皂化的方法将羧酸酯转变成式 I 的衍生物或其生理相容性盐；

- 或者
2. 从式 III 化合物和烷基-或芳基磺酰氯制得混合酸酐, 然后将其与式 II 的醇在碱存在下于惰性有机溶剂中反应或直接在碱中反应, 然后随需要将羧酸酯用碱皂化;  
或者
  3. 将其中 R 表示氢的式 III 的磷酰基羧酸与式 II 的醇在碱和任选取代的芳基磺酰氯的存在下反应, 如需要, 可将其转变成生理上可接受的盐;  
或者
  4. 将其中 R 表示氢的式 III 化合物和烷基-或芳基磺酰氯的混合酸酐与式 II 的醇在碱和任选地惰性有机溶剂的存在下反应, 然后任选地将该结合物转变成生理相容性盐;  
或者
  5. 将通式 IV 的磷酸二酰氯与通式 II 的醇在碱中以 1:1 的摩尔比进行反应,



其中所述磷酸二酰氯根据 Bhongle 等 (Synthetic Commun. 17, 1071(1987)) 的方法, 将磷酸二-三甲基硅烷基酯与草酰氯反应制得

或者

6. 按照 Tetrahedron Letters, 33 卷(49): 7473-7474 的方法, 用草酰氯将式 III 的化合物转变成式 IV 的磷酸二酰氯, 随和将该磷酸二酰氯与式 II 的醇在碱的存在下以 1:1 的摩尔比进行反应. 将形成的磷酸单酰氯中间体皂化生成半酯, 然后用碱皂化将该羧酸酯转变成式 I 的衍生物或其生理相容性盐.

可视需要将磷酰基羧酸脂类衍生物的游离酸转变成所需的酯.

式 II 化合物及其制备方法记载于实施例和 EP-0545699.

用于治疗例如病毒感染的含有式 I 化合物的药物可以以液体或固体的形式经肠或胃肠外给药。在这种情况下，常用的给药剂型可以是例如片剂、胶囊、糖衣丸、糖浆、溶液剂或悬浮液。优选使用水作为注射溶媒，在水中可以含有注射液常用的添加剂如稳定剂、增溶剂和缓冲剂。所述添加剂可以是例如酒石酸盐或柠檬酸盐缓冲剂，乙醇，螯合剂如乙二胺四乙酸及其无毒的盐，用于调节粘度的高分子聚合物如液体聚环氧乙烷。必须将用于注射液的载体灭菌并优选将其填充到安瓿内。固体载体是例如淀粉、乳糖、山梨糖醇、甲基纤维素、滑石、高度分散的硅酸、高分子脂肪酸如硬脂酸、明胶、琼脂、磷酸钙、硬脂酸镁、动物和植物脂、固体高分子聚合物如聚乙二醇等。用于口服施用的适宜制剂可任选地含有矫味剂和甜味剂。

原则上，可将式 I 化合物经口、气管内、直肠、鼻、阴道内、舌、静脉内、动脉内、肌肉内、皮内或皮下给药。剂量取决于各种因素，例如给药方式、物种、年龄以及各自的状态。本发明化合物的给药量通常为 0.1-1000mg/天/kg 体重、优选 2-800mg/天/kg 体重、最佳为 30-250mg/天/kg 体重。优选将每日剂量分 2-5 次给药，每次施用 1-2 片活性物质含量为 0.5-3000mg 的片剂。该片剂还可以是缓释片剂，通过这种方法，可以将每日的给药次数减少至 1-3 次。缓释片剂的活性物质含量可以是 20-5000mg。活性物质还可以以连续输注的方式施用，通常适宜的剂量为每日 5-10000mg。

除实施例中所提到的化合物和将权利要求中所述的取代基的各种含义进行组合所得到的化合物之外，本发明还包括如下的式 I 化合物：

1. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
2. (3-十二烷基亚磺酰基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
3. (3-十二烷基磺酰基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
4. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
5. (3-癸基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
6. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
7. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
8. (3-十一烷基亚磺酰基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
9. (3-十一烷基磺酰基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸

10. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
11. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
12. (3-十一烷基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
13. (3-十二烷基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
14. (3-十二烷基硫基-2-壬氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
15. (3-十一烷基硫基-2-壬氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
16. (3-十二烷基硫基-2-辛氧基]-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸
17. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
18. (3-十二烷基亚磺酰基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
19. (3-十二烷基磺酰基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
20. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
21. (3-癸基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
22. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
23. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
24. (3-十一烷基亚磺酰基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
25. (3-十一烷基磺酰基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
26. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
27. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
28. (3-十一烷基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
29. (3-十二烷基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
30. (3-十二烷基硫基-2-壬氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
31. (3-十一烷基硫基-2-壬氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
32. (3-十二烷基硫基-2-辛氧基]-丙氧基羧基-氧磷基-丙酸
33. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
34. (3-十二烷基亚磺酰基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
35. (3-十二烷基磺酰基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
36. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
37. (3-癸基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
38. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
39. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
40. (3-十一烷基亚磺酰基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
41. (3-十一烷基磺酰基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸

42. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
43. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
44. (3-十一烷基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
45. (3-十二烷基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
46. (3-十二烷基硫基-2-壬氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
47. (3-十一烷基硫基-2-壬氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
48. (3-十二烷基硫基-2-辛氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸
49. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)丙氧基羧基-氧磷基-甲酸甲酯
50. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸甲酯
51. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸甲酯
52. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸甲酯
53. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸甲酯
54. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸甲酯
55. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸甲酯
56. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸甲酯
57. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸甲酯
58. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸甲酯
59. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸甲酯
60. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸甲酯
61. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸乙酯
62. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸乙酯
63. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸乙酯
64. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸乙酯
65. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸乙酯
66. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸乙酯
67. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸乙酯
68. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸乙酯
69. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸乙酯
70. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸乙酯
71. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸乙酯
72. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸乙酯
73. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸异丙酯

74. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸异丙酯
75. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸异丙酯
76. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基]-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸异丙酯
77. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸异丙酯
78. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸异丙酯
79. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸异丙酯
80. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸异丙酯
81. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸异丙酯
82. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基]-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸异丙酯
83. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸异丙酯
84. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸异丙酯
85. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
86. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
87. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
88. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基]-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
89. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
90. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
91. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸新戊酯
92. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸新戊酯
93. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸新戊酯
94. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基]-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸新戊酯
95. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸新戊酯
96. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-乙酸新戊酯
97. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羧基-氧磷基-甲酸苄酯

98. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-甲酸苄酯
99. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-甲酸苄酯
100. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-甲酸苄酯
101. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-甲酸苄酯
102. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-甲酸苄酯
103. (3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-乙酸苄酯
104. (3-十一烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-乙酸苄酯
105. (3-十三烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-乙酸苄酯
106. (3-十一烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-乙酸苄酯
107. (3-十二烷基硫基-2-十一烷氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-乙酸苄酯
108. (3-癸基硫基-2-十二烷氧基)-丙氧基羟基-氧磷基-乙酸苄酯

### 实施例 1

R, S-(3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基-羟基-氧磷基-甲酸二钠盐 (DMDOP-PFA) 和甲酯 DMDOP-PFA-OMe

- 5 将 18.2 ml 磷酰基甲酸三甲酯溶于 140 ml 二氯甲烷中，然后在搅拌下与 72.5 ml 溴代三甲硅烷混合。将混合物在室温搅拌 2 小时，蒸发，将残余物加入甲醇中并将该溶液再次蒸发，如此重复两次。将残余物加入 30 毫升无水吡啶中并与 48.7g R, S-(3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙-1-醇的溶液混合。将该混合物蒸发至干，搅拌下将残余物与
- 10 47.1g 2,4,6-三-异丙基-苯磺酰氯和 150 毫升无水吡啶混合。最初的粘稠悬浮液在约 30 分钟后变稀，将其在室温下搅拌 25 小时。

- 15 抽滤出沉淀并用少量吡啶洗涤。搅拌下将滤液与 150 毫升水混合，将该混合物在室温下搅拌 30 分钟，蒸发并与乙醚混合。滤除再次析出的沉淀，将乙醚滤液与 0.5N HCl 一起摇出。将乙醚相用水充分洗涤，干燥并蒸发。

将残余物 (84.2g) 通过硅胶色谱纯化，用二氯甲烷/甲醇/冰乙酸 (9:0.5:0.5) 洗脱。将含有产物的馏份蒸发浓缩。得到 45.4g 相应的 R, S-(3-十二烷基硫基-2-癸氧基)-丙氧基羟基-氧磷基甲酸甲酯 (DMDOP-PFA-OMe)。

- 20 TLC(硅胶):  $R_f=0.3$  (乙酸/丙酮/冰乙酸/水 10:4:0.5:0.5)  
 $R_f=0.69$  (二氯甲烷/甲醇 8:2)



为了将羧酸甲酯皂化，将 5g 上面得到的产物溶于 70 毫升四氢呋喃并与 6.7ml 2N NaOH 混合。将其搅拌 4 小时，然后放置过夜。将反应混合物用 2-乙基己酸调至 pH8 并蒸发。将残余物与丙酮一起搅拌，将沉淀出的产物抽滤。得到 4.1g 酸，熔点为 242-246℃ (分解)。

- 5 TLC(硅胶):  $R_f=0.31$  (异丙醇/乙酸丁酯/水/浓氨水 10:6:3:1)  
 $^{13}\text{C}-\text{NMR}(\text{D}_2\text{O})$ : COOH(d, 175ppm,  $J_{\text{P-C}}=231.4\text{Hz}$ )

### 实施例 2

R, S-(3-十二烷硫基-2-癸氧基)-丙氧基-羟基-氧磷基-乙酸二钠盐 (DMDOP-PAA) 和甲酯 DMDOP-PAA-OMe

- 10 类似于实施例 1，用蜡状的磷酰基乙酸三甲酯和 (3-十二烷硫基-2-癸氧基)-丙-1-醇制得标题化合物，熔点 358-360℃ (分解)。

DMDOP-PAA:

TLC(硅胶):  $R_f=0.53$  (正丁醇/冰乙酸/水 2:1:1)

$R_f=0.07$  (二氯甲烷/冰乙酸/水 9:0.5:0.5)

- 15 DMDOP-PAA-OMe:

TLC(硅胶):  $R_f=0.6$  (正丁醇/冰乙酸/水 2:1:1)

$R_f=0.1$  (二氯甲烷/冰乙酸/水 9:0.5:0.5)

### 实施例 3

- 20 体外确定骨髓毒性 (CFU-GM 试验)

按 Seidel 和 Kreja (Seidl, H. 和 J. Kreja, L., Blut 47, 139-145, 1983) 所述完成 CFU-GM 试验。在含 0.8% 甲基纤维素、20% 马血清、 $10^{-4}$  M  $\alpha$  硫代甘油的 Iscove 培养基中培养 Balb/c 小鼠的骨髓细胞 ( $1 \times 10^5$  细胞/ml)，然后在每只动物静脉内注射 50 $\mu\text{g}$  内毒素 (马流产沙门氏菌; Sigma, Deisenhofen, Germany) 后 4 小时，从 Balb/c 小鼠中得到最佳体积 (12.5 或 25 $\mu\text{l}$ ) 的内毒素激活的小鼠血清。将菌落培养 6 天后，将其用 2-(对-碘代苯基)-3-(对-硝基苯基)-5-苯基四唑盐酸盐水合物 (INT, Sigma) 染色，然后用自动图像处理仪 (Artek 982 B, Biosys GmbH, Karben, Germany) 计数。

- 30 表 1 说明与细胞生长抑制剂顺铂 (Cis-DDP) 和阿霉素相比，从数个浓度依赖性试验得到了磷酰基甲酸、DMDOP-PFA、磷酰基乙酸、DMDOP-PAA、(3-十八烷氧基-2-羟基)-丙氧基-羟基-氧磷基甲酸乙酯 (OOHP-

PFAE)和(3-十八烷氧基-2-羟基)-丙氧基-羟基-氧磷基甲酸(OOHP-PFA)的 $IC_{50}$ 浓度.从表中可以看出,DMDOP-PFA和DMDOP-PAA在达到 $100\mu\text{g/ml}$ 的最高试验浓度时,对粒细胞/单核细胞系列的骨髓干细胞也没有毒性.这种情况也见于磷酰基甲酸,但与DMDOP-PFA和DMDOP-PAA相比,5 磷酰基乙酸以及结合物OOHP-PFAE和OOHP-PFA毒性较高.

表 I

在 CFU-GM 试验中 Cis-DDP、阿霉素、磷酰基甲酸(Foscarnet)、DMDOP-PFA、磷酰基乙酸、DMDOP-PAA、OOHP-PFAE 和 OOHP-PFA 的  $IC_{50}$  值 ( $\mu\text{g/ml}$ )

物质	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>
Cis-DDP	$0.45 \pm 0.11$ (5)
阿霉素	$0.046 \pm 0.007$ (4)
磷酰基甲酸 (Foscarnet)	>100 (6)
DMDOP-PFA	>100 (6)
磷酰基乙酸	62.88 (2)
DMDOP-PAA	>100 (2)
OOHP-PFAE	59.35 (3)
OOHP-PFA	94.49 (3)

10 <sup>a</sup> 平均值 $\pm$ SEM; n, 以浓度依赖方式, 一式两份或三份完成的试验数.

#### 实施例 4

在小鼠巨细胞病毒(MCMV)模型中经口服处理后的生物利用度

15 用  $8 \times 10^5$  PFU(噬菌斑形成单位)皮下处理雌性 Balb/c 小鼠. 动物存活率以下列顺序提高: 未处理的<Foscarnet 处理的<DMDOP-PFA 处理的<DMDOP-PFA-OMe.