



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106661077 B

(45)授权公告日 2019.02.12

(21)申请号 201680001812.5

(22)申请日 2016.03.28

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106661077 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(66)本国优先权数据
201510157772.0 2015.04.03 CN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.12.20

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2016/077519 2016.03.28

(87)PCT国际申请的公布数据
W02016/155593 ZH 2016.10.06

(73)专利权人 四川科伦博泰生物医药股份有限公司
地址 611138 四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号

(72)发明人 叶红 刘钢 郁楠 曾宏 赵明亮
卿燕 邓华 李雯佳 李栋宏

苏东海 钟维 李少华 巫循伟
王利春 王晶翼

(74)专利代理机构 北京永新同创知识产权代理有限公司 11376

代理人 栾星明 郭晓永

(51)Int.Cl.

C07H 19/10(2006.01)

C07H 19/20(2006.01)

C07H 1/00(2006.01)

A61K 31/7076(2006.01)

A61K 31/7068(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

(56)对比文件

WO 2014197578 A1,2014.12.11,

WO 2005012327 A2,2005.02.10,

CN 107148423 A,2017.09.08,

WO 2007056596 A2,2007.05.18,

WO 2012045999 A1,2012.04.12,

US 6147058 A,2000.11.14,

审查员 耿元硕

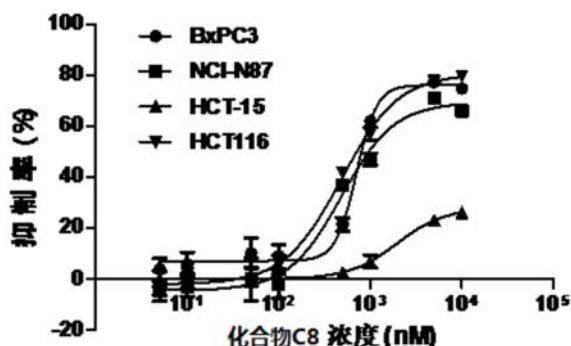
权利要求书2页 说明书42页 附图1页

(54)发明名称

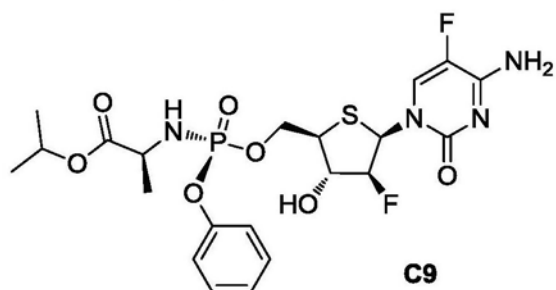
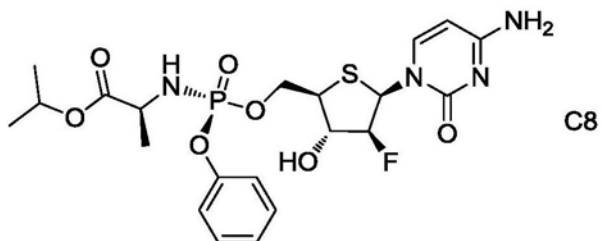
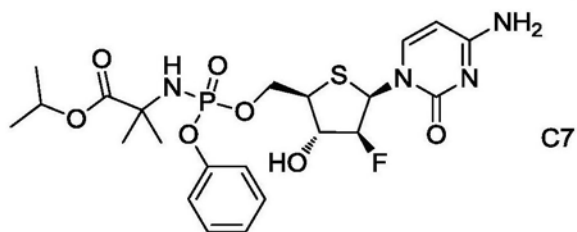
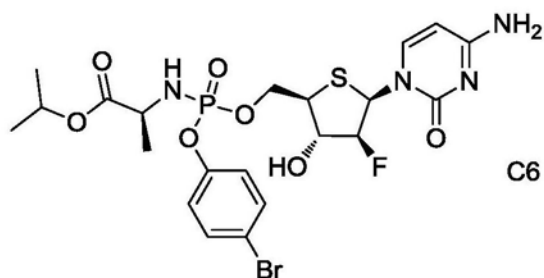
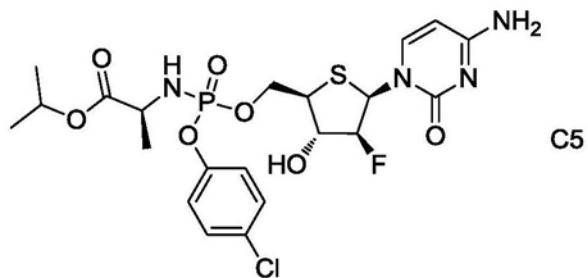
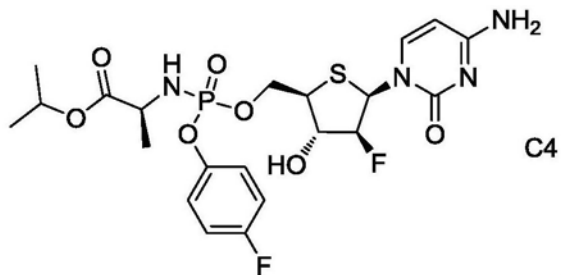
4'-硫代核苷的新型化合物及其制备方法、
药物组合物和应用

(57)摘要

本发明涉及4'-硫代核苷的新型化合物、其制备方法、包含其的药物组合物及其应用。具体而言,本发明涉及4'-硫代核苷的磷酸胺衍生物、其制备方法、包含其的药物组合物,其在制备预防或治疗细胞增殖异常性疾病(例如肿瘤或癌症及相关病症)或病毒感染性疾病的药物中的用途,以及其用于预防或治疗细胞增殖异常性疾病(例如肿瘤或癌症及相关病症)或病毒感染性疾病的方法。



1. 化合物, 其中所述化合物为



或其药学可接受的盐。

2. 药物组合物, 其含有如权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐作为活性成分, 以及药学上可接受的载体、助剂、赋形剂或等同的药学上可接受介质。

3. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述药物组合物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为0.1-1000mg。

4. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述药物组合物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为1-800mg。

5. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述药物组合物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为10-600mg。

6. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述药物组合物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为50-450mg。

7. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述药物组合物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为100-300mg。

8. 根据权利要求2-7任一项所述的药物组合物,其为固体制剂、半固体制剂、液体制剂或气态制剂的形式。

9. 根据权利要求2-7任一项所述的药物组合物,其为适于口服给药的制剂形式。

10. 根据权利要求2-7任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物是单个或者多个剂量单位的形式,所述剂量单位各自含有适宜量的如权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐。

11. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐在制备用于预防或治疗哺乳动物细胞增殖异常性疾病的药物中的用途。

12. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为0.1-1000mg。

13. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为1-800mg。

14. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为10-600mg。

15. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为50-450mg。

16. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物所含有的如权利要求1所述的化合物的单位剂量范围为100-300mg。

17. 根据权利要求11-16任一项所述的用途,其中所述细胞增殖异常性疾病是癌症和/或肿瘤及其相关病症。

18. 根据权利要求11-16任一项所述的用途,其中所述药物还包含其他抗肿瘤剂。

19. 根据权利要求11-16任一项所述的用途,其中所述药物是单个或者多个剂量单位的形式,所述剂量单位含有适宜量的如权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐。

20. 根据权利要求11-16任一项所述的用途,其中所述癌症和/或肿瘤及其相关病症选自在食道、胃、肠、口腔、咽、喉、肺、乳腺、子宫、卵巢、前列腺、睾丸、膀胱、肾、肝、胰腺、骨、结缔组织、皮肤、眼和中枢神经系统发生的癌症,以及甲状腺癌、白血病、霍杰金氏病、淋巴瘤和骨髓瘤。

21. 根据权利要求11-16任一项所述的用途,其中所述癌症选自在直肠、结肠、子宫内膜和脑发生的癌症。

4'-硫代核苷的新型化合物及其制备方法、药物组合物和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及4'-硫代核苷的新型化合物、其制备方法、包含其的药物组合物及其应用。具体而言,本发明涉及4'-硫代核苷的磷酰胺衍生物、其制备方法、包含其的药物组合物及其用于预防或治疗细胞增殖异常性疾病(例如肿瘤或癌症及相关病症)或病毒感染性疾病的方法。

背景技术

[0002] 天然核苷是核糖或脱氧核糖和一个碱基(如腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶)生成的糖苷,为DNA和RNA的重要组成部分。人工合成的核苷类似物是一类重要的肿瘤化疗药物,被称为抗代谢药物。其主要通过影响肿瘤细胞的酶系,由此抑制DNA和RNA的合成来发挥作用。根据WHO的统计数字显示,癌症成为世界上造成死亡人数最多的疾病之一。此外,癌细胞普遍存在抗药性,为了人类健康迫切需要研发新的抗癌药物。因此,从不同角度研究开发安全可靠的抗癌药物是医药研发界的艰巨任务。使用具有器官特异性的核苷类前药进行治疗即为最有前景的新治疗方法之一。

[0003] 核苷类药物(如吉西他滨、氮杂胞苷、地西他滨、阿糖胞苷、氟达拉滨、克拉屈滨、6-氮尿苷、噻唑呋林及安妥明等)已被广泛用于治疗各种癌症。目前,还有很多核苷类药物处于临床研究阶段。

[0004] 吉西他滨是美国礼来公司研发的嘧啶核苷类似物,为一种重要的核苷抗肿瘤药物,用于晚期胰腺癌、晚期非小细胞肺癌、局限性或转移性膀胱癌及转移性乳腺癌的一线治疗。其抗癌谱较广,对其他多种实体瘤有疗效。一般需要将吉西他滨与紫杉醇、顺铂和/或卡铂联合用药。吉西他滨细胞渗透性差,生物利用度低,并且在细胞内的半衰期较短(介于32~94min),因此必须以大剂量(推荐剂量为1000mg/m²)、持续静脉给药来维持其有效的血药浓度和对癌细胞的毒性。吉西他滨的使用剂量大,这种剂量限制性毒性影响临床疗效,并导致了一系列副作用和安全问题,如白细胞降低、转氨酶异常、蛋白尿和恶心呕吐等。另外,吉西他滨还具有缺乏组织特异性,全身毒副作用大;体内代谢迅速,血浆半衰期短;肿瘤易产生耐药性;口服效果差,一般需静脉注射给药,用药剂量大,副作用大;单独给药效果差,需要与其他抗癌药物联合给药等缺点。

[0005] 吉西他滨的口服生物利用度差,一般需要通过静脉注射进行给药,其较差的口服生物利用度是由首过代谢所导致的(参见Shipley LA.等人,“Metabolism and disposition of gemcitabine, and oncolytic deoxycytidine analog, in mice, rats, and dogs”, Drug Metabolism & Disposition. 20(6):849-55, 1992)。此外,当将吉西他滨口服给药时,其会引起不利的限制剂量性肠损害,这种损害的特征为当以167mg/kg、333mg/kg或500mg/kg的单次口服剂量给药吉西他滨时,在小鼠中引起整个肠道长度内的中等至显著的粘膜上皮丧失(萎缩性肠病)(参见Horton ND等人,“Toxicity of single-dose oral gemcitabine in mice”, American Association for Cancer Research, Poster Presentation, Orlando, FL, 3月27-31日, 2004)。在以前进行的小鼠研究中,通过静脉内给

药相当的剂量没有导致死亡或胃肠道毒性。

[0006] 另外,和其他核苷类药物相似,吉西他滨是亲水性化合物,不能以被动扩散的方式穿过细胞膜进入细胞内,它需要特定的转运蛋白运输到肿瘤细胞内。核苷转运活性的改变已被认为是导致吉西他滨耐药性产生的一个重要原因。人平衡型核苷转运体1 (human equilibrative nucleoside transporters1, hENT1) 是目前发现的将吉西他滨转运到肿瘤细胞内的重要转运蛋白。由于细胞内药物蓄积减少很可能会导致吉西他滨的敏感性下降,挪威Clavis Pharma公司的科学家合成了吉西他滨的5'-反油酸酯衍生物CP-4126,其亲脂性较吉西他滨显著提高。研究发现,CP-4126可以不依赖于hENT1转运蛋白的方式摄入到肿瘤细胞内,因此有望在hENT1低表达的肿瘤病人也显示较好的抗肿瘤效果。

[0007] 4'-硫代核苷是指呋喃糖环中的氧原子被硫原子代替的核苷类似物。其合成路线长,难度大,极大地制约了此类化合物的研究。US6147058公开了一种4'-硫代核苷化合物,其可以在裸鼠的结肠癌模型中表现抑制效果。该类化合物在肿瘤生长抑制方面的效果比吉西他滨强 (Cancer Let.1999,144,177-182;Int.J.Cancer,2005,114,1002-1009)。US5128458公开了2',3'-二脱氧-4'-硫代核糖核苷,其在病毒感染性疾病(如HIV、乙型肝炎或丙型肝炎)和细胞增殖异常性疾病的治疗中均有好的效果。

[0008] 但是,4'-硫代核苷类药物虽然在肿瘤生长抑制方面具有较好效果,但其也存在与吉西他滨类似的缺陷,诸如口服生物利用度低、代谢快、不良反应多以及易产生耐药性等问题。

[0009] 4'-硫代核苷类药物的耐药性是导致患者生存期短,癌症治疗效果不理想的主要原因。产生耐药性的主要原因包括:1) 肿瘤细胞表面缺乏相应的转移因子,4'-硫代核苷类药物不能有效地穿过细胞膜;2) 所述药物转化为三磷酸活性物质的效率不高;3) 在酶的作用下所述药物代谢为无活性物质。

[0010] 4'-硫代核苷类药物在肝脏中会很快代谢成无活性物质而失活;到目前为止,还没有一种4'-硫代核苷类药物能用以治疗肝癌等癌症。

[0011] 迄今为止,在4'-硫代核苷类药物的研发中遇到的难题导致此类化合物无法成药。人们已研究前药来克服此类药物的不足。现在很多制药公司仍在积极地研究使用其它前药治疗癌症的方法 (G.Xu,H.L.McLeod,Clin.Cancer Res.,2001,7,3314-3324;M.Rooseboom,J.N.M.Commandeur,N.P.E.Vermeulen,Pharmacol.Rev.,2004,56,53-102;W.D.Wu,J.Sigmond,G.J.Peters,R.F.Borch,J.Med.Chem.2007,50,3743-3746)。

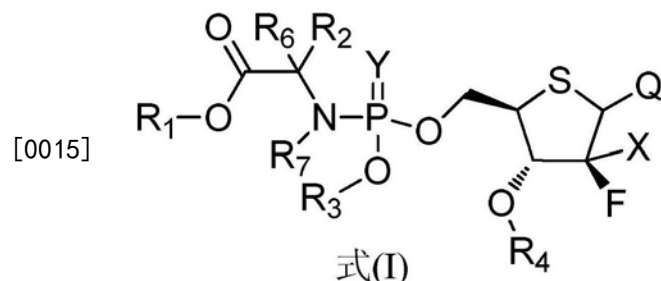
[0012] 核苷类药物进入体内后,先在相应激酶催化作用下磷酸化为活性代谢产物单磷酸酯,然后再形成三磷酸酯。核苷类药物的单磷酸化往往是药物代谢的限速步骤。人体内催化核苷发生单磷酸化的激酶(胸腺嘧啶核苷激酶(TK)、脱氧胞嘧啶核苷激酶(dCK)、脱氧鸟嘌呤核苷激酶(dGK)及腺嘌呤核苷激酶(AK)等)对核苷的亲和力有限,同时酶活性易被核苷酸单磷酸酯(NA-MP)抑制,因此导致核苷类药物的体内活化效果受限,这影响了药物活性的发挥。为了解决这一问题,研究人员尝试对核苷类药物进行磷酸化修饰,例如将其制备为磷酸酯或磷酸胺 (ChemMedChem.2009,4,1779-1791)。

[0013] 然而,在药物修饰的研发中,常因母核药物不同导致前药进入到体内后是否能顺利释放母核药物成为难以确定的关键问题,常常会出现药效减弱、消失或者产生新的副作用的现象。因此,现有的4'-硫代核苷类化合物在多年的研究中始终存在难以克服的成药问

题(例如安全性、理化性质等)。在吉西他滨上市多年后的今天,仍未有4'-硫代核苷类化合物被开发为上市药物。

发明内容

[0014] 根据本发明的一个方面,其提供如式(I)所示的4'-硫代-2'-氟代-核苷磷酰胺类化合物,



[0016] 其中

[0017] X为氢、C₁₋₆烷基、卤素、N₃、OH、CN或SH;

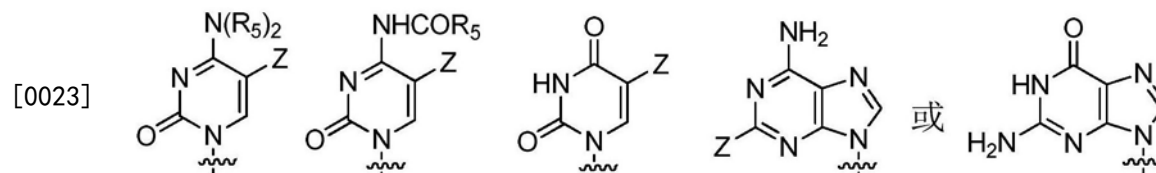
[0018] Y为氧或硫;

[0019] R₁、R₂、R₆和R₇各自独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂环基和任选取代的杂芳基,其中R₂和R₆两者可以相连构成3-8元碳环,且所述碳环可以含有0-3个选自N、O和S的杂原子并可以是饱和环、不饱和环或芳香性环;

[0020] R₃选自任选取代的芳基和任选取代的杂芳基;

[0021] R₄选自氢和任选取代的C₁₋₁₀酰基;

[0022] Q为结构如下的嘧啶碱基或嘌呤碱基:



[0024] R₅每次出现时独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基和任选取代的环烷基;并且

[0025] Z为氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基或卤素;

[0026] 上述“任选取代”是指未取代或者独立地被一个或多个选自以下的取代基取代:卤素、烷基、氨基、烷氨基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟基烷基、烷氧基烷基、酰胺基、磺酰胺基、氰基、硝基、亚硝基、叠氮基、醛基、烯基、炔基、环烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、杂芳基、杂芳基氧基、酰基、羧基、烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基和羧酸酯基;所述取代基可以彼此相连构成含有0-3个选自N、O和S的杂原子的3-8元饱和环、不饱和环或芳香环;

[0027] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0028] 根据本发明的另一个方面,其提供药物组合物或药物制剂,所述药物组合物或药物制剂含有上述如式(I)所示的4'-硫代-2'-氟代-核苷磷酰胺类化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物作为活性成分,以及药学上可接受的载体、助剂、赋形剂或等同的药学上可接受介

质。所述药物组合物或药物制剂可以为适合向哺乳动物给药的形式,包括固体制剂、半固体制剂、液体制剂和气态制剂等。

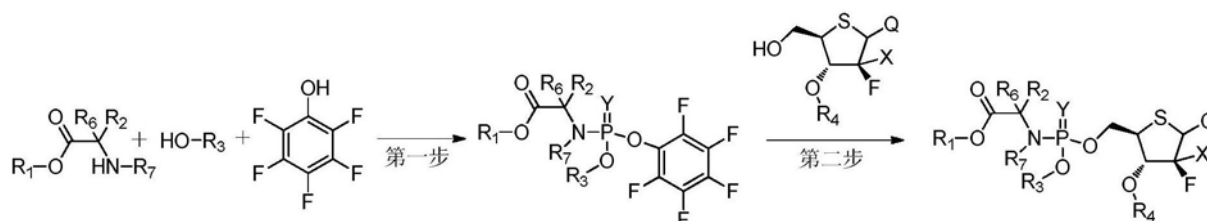
[0029] 根据本发明的再一个方面,其提供上述如式(I)所示的4'-硫代-2'-氟代-核苷磷酰胺类化合物在制备用于预防或治疗哺乳动物细胞增殖异常性疾病或病毒感染性疾病的药物中的用途。所述哺乳动物细胞增殖异常性疾病例如哺乳动物癌症和/或肿瘤及其相关病症。所述药物任选地还包含其他抗肿瘤剂。

[0030] 根据本发明的再一个方面,其提供预防或治疗哺乳动物中细胞增殖异常性疾病和/或病毒感染性疾病的方法,所述方法包括向所述哺乳动物给药有效量的上述如式(I)所示的4'-硫代-2'-氟代-核苷磷酰胺类化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物。所述哺乳动物细胞增殖异常性疾病例如哺乳动物癌症和/或肿瘤及其相关病症。

[0031] 根据本发明的再一个方面,其提供上述如式(I)所示的4'-硫代-2'-氟代-核苷磷酰胺类化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物,其用于预防或治疗哺乳动物中细胞增殖异常性疾病和/或病毒感染性疾病。所述哺乳动物细胞增殖异常性疾病例如哺乳动物癌症和/或肿瘤及其相关病症。

[0032] 根据本发明的另一方面,其提供制备上述式(I)的化合物的方法,其包括以下步骤:

[0033]



[0034] 其中各基团如上述所定义,其中第一步反应优选在 POCl_3 的存在下进行。

附图说明

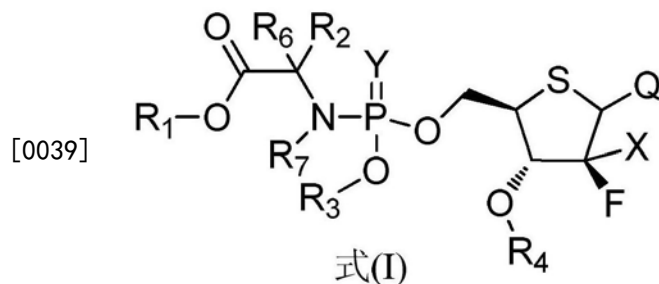
[0035] 以下将参考附图对本发明进行更为详细的描述,其中:

[0036] 图1显示实施例8的化合物(C8)在不同浓度下对于四种不同肿瘤细胞的有效性。

具体实施方式

[0037] 化合物

[0038] 本发明的一个实施方案提供式(I)的化合物,



[0040] 其中

[0041] X为氢、C₁₋₆烷基、卤素、N₃、OH、CN或SH；

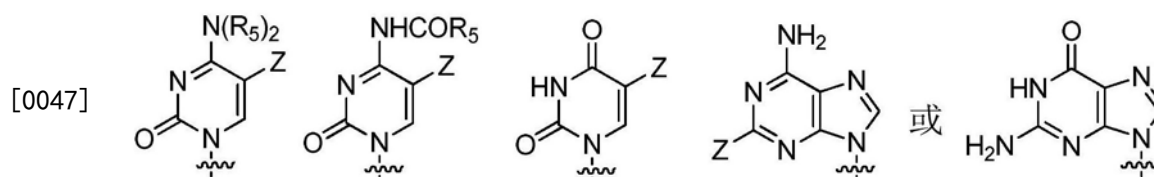
[0042] Y为氧或硫；

[0043] R₁、R₂、R₆和R₇各自独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂环基和任选取代的杂芳基，其中R₂和R₆两者可以相连构成3-8元碳环，且所述碳环可以含有0-3个选自N、O和S的杂原子并可以是饱和环、不饱和环或芳香性环；

[0044] R₃选自任选取代的芳基和任选取代的杂芳基；

[0045] R₄选自氢和任选取代的C₁₋₁₀酰基；

[0046] Q为结构如下的嘧啶碱基或嘌呤碱基：



[0048] R₅每次出现时独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基和任选取代的环烷基；并且

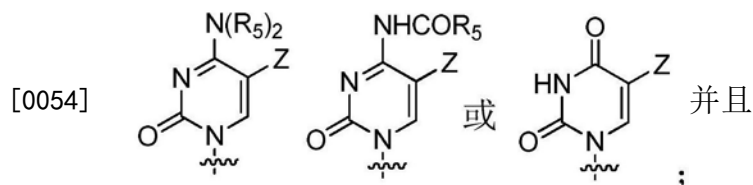
[0049] Z为氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基或卤素；

[0050] 上述“任选取代”是指未取代或者被一个或多个选自以下的取代基取代：卤素、烷基、氨基、烷胺基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟基烷基、烷氧基烷基、酰胺基、磺酰胺基、氰基、硝基、亚硝基、叠氮基、醛基、烯基、炔基、环烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、杂芳基、杂芳基氧基、酰基、羧基、烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基和羧酸酯基；所述取代基可以彼此相连构成含有0-3个选自N、O和S的杂原子的3-8元饱和环、不饱和环或芳香环；

[0051] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体，或它们的任意晶型或消旋物，或它们的代谢物形式，或者它们的混合物。

[0052] 本发明的另一个实施方案提供上述式(I)的化合物，其中

[0053] Q为结构如下的嘧啶碱基：

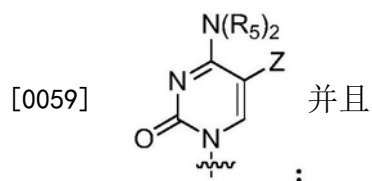


[0055] Z为氢、甲基或卤素；

[0056] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体，或它们的任意晶型或消旋物，或它们的代谢物形式，或者它们的混合物。

[0057] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物，其中

[0058] Q为下式所示的嘧啶碱基：



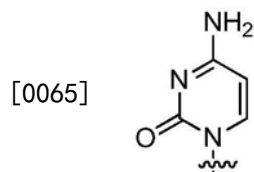
[0060] Z为氢、甲基或卤素；

[0061] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0062] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中

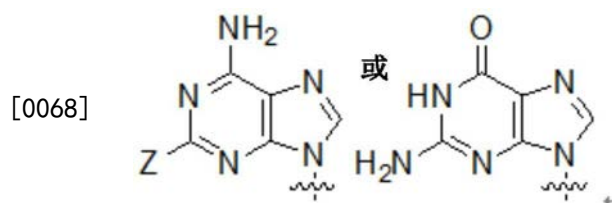
[0063] R_1 、 R_2 、 R_6 和 R_7 各自独立地选自氢、任选取代的 C_{1-10} 烷基、任选取代的环烷基和任选取代的芳基;其中 R_2 和 R_6 两者可以相连构成3-8元碳环,且所述碳环可以含有0-3个选自N、O和S的杂原子并可以是饱和环、不饱和环或芳香性环;

[0064] Q为胞嘧啶,其结构式如下:



[0066] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0067] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中Q选自



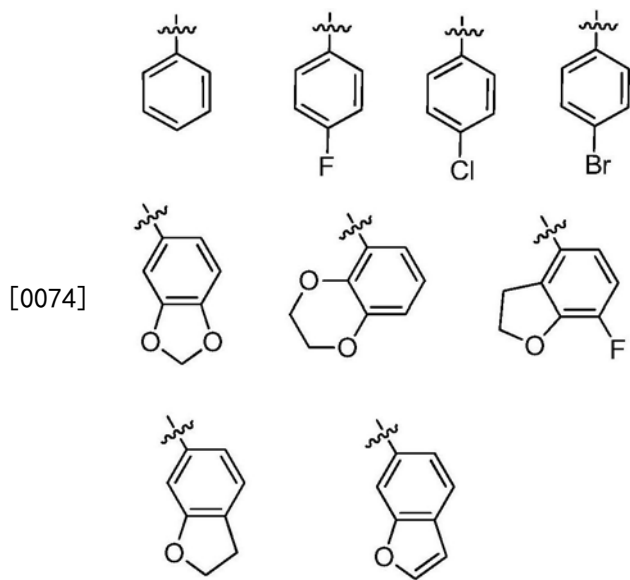
[0069] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0070] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中X为氢或卤素,所述卤素为氟、氯、溴或碘。

[0071] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中Y为氧。

[0072] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中 R_1 、 R_2 、 R_6 和 R_7 各自独立地选自氢、任选取代的 C_{1-10} 烷基和任选取代的芳基(优选任选取代的 C_{6-14} 芳基),所述“任选取代”是指未取代或者被一个或多个选自卤素、 C_{1-6} 烷基和 C_{6-14} 芳基的取代基取代。最优选地, R_1 、 R_2 、 R_6 和 R_7 各自独立地选自氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、苯基、苄基和4-氟苄基。

[0073] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中 R_3 选自任选取代的芳基,优选为任选取代的 C_{6-14} 芳基,更优选为任选取代的苯基,所述“任选取代”是指未取代或者被一个或多个选自卤素、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基的取代基取代,所述取代基可以彼此相连构成含有0-3(例如1、2或3)个O的3-8元饱和环、不饱和环或芳香环。 R_3 最优选具有如下所示的结构:



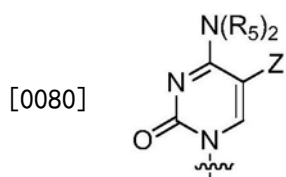
[0075] 本发明进一步的实施方案提供上述式 (I) 的化合物, 其中 R_4 为氢。

[0076] 本发明进一步的实施方案提供上述式 (I) 的化合物, 其中 R_5 每次出现时独立地选自氢和任选取代的 C_{1-10} 烷基 (如庚-4-基)。

[0077] 本发明进一步的实施方案提供上述式 (I) 的化合物, 其中 Z 为氢、甲基、氟或氯。

[0078] 本发明涵盖对上述各个实施方案中定义的基团进行任意组合所得的上述式 (I) 的化合物, 而不受各个独立实施方案本身的约束。

[0079] 本发明进一步的实施方案提供上述式 (I) 化合物, 其中 Q 为



[0081] X 为氢、 C_{1-6} 烷基、卤素、 N_3 、OH、CN 或 SH;

[0082] Y 为氧或硫;

[0083] R_1 、 R_2 、 R_6 和 R_7 各自独立地选自氢、任选取代的 C_{1-10} 烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂环基和任选取代的杂芳基, 其中 R_2 和 R_6 两者可以相连构成 3-8 元碳环, 且所述碳环可以含有 0-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子并可以是饱和环、不饱和环或芳香性环;

[0084] R_3 选自任选取代的芳基和任选取代的杂芳基;

[0085] R_4 选自氢和任选取代的 C_{1-10} 酰基;

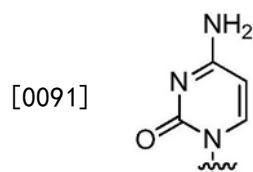
[0086] R_5 每次出现时独立地选自氢、任选取代的 C_{1-10} 烷基和任选取代的环烷基; 并且

[0087] Z 为氢、甲基或卤素;

[0088] 上述“任选取代”是指未取代或者被一个或多个选自以下的取代基取代: 卤素、烷基、氨基、烷基氨基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟基烷基、烷氧基烷基、酰胺基、磺酰胺基、氰基、硝基、亚硝基、叠氮基、醛基、烯基、炔基、环烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、杂芳基、杂芳基氧基、酰基、羧基、烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基和羧酸酯基; 所述取代基可以各自独立, 或者彼此相连构成含有 0-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子的 3-8 元饱和环、不饱和环或芳香环;

[0089] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0090] 本方面进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物,其中Q为胞嘧啶,其结构式如下:



[0092] X为氢、C₁₋₆烷基、卤素、N₃、OH、CN或SH;

[0093] Y为氧或硫;

[0094] R₁、R₂、R₆和R₇各自独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基、任选取代的环烷基和任选取代的芳基;其中R₂和R₆两者可以相连构成3-8元碳环,且所述碳环可以含有0-3个选自N、O和S的杂原子并可以是饱和环、不饱和环或芳香性环;

[0095] R₃选自任选取代的芳基和任选取代的杂芳基;

[0096] R₄选自氢和任选取代的C₁₋₁₀酰基;

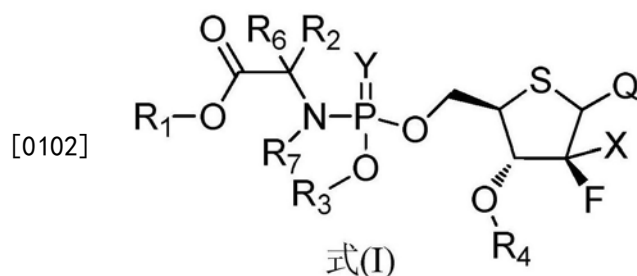
[0097] R₅每次出现时独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基和任选取代的环烷基;并且

[0098] Z为氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基或卤素;

[0099] 上述“任选取代”是指未取代或者被一个或多个选自以下的取代基取代:卤素、烷基、氨基、烷胺基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟基烷基、烷氧基烷基、酰胺基、磺酰胺基、氰基、硝基、亚硝基、叠氮基、醛基、烯基、炔基、环烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、杂芳基、杂芳基氧基、酰基、羧基、烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基和羧酸酯基;所述取代基可以彼此相连构成含有0-3个选自N、O和S的杂原子的3-8元饱和环、不饱和环或芳香环;

[0100] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0101] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物:



[0103] 其中

[0104] X为氢、C₁₋₆烷基、卤素、N₃、OH、CN或SH;

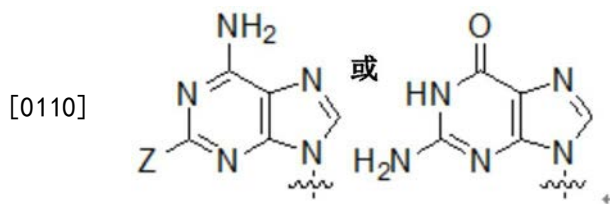
[0105] Y为氧或硫;

[0106] R₁、R₂、R₆和R₇各自独立地选自氢、任选取代的C₁₋₁₀烷基、任选取代的环烷基和任选取代的芳基;其中R₂和R₆两者可以相连构成3-8元碳环,且所述碳环可以含有0-3个选自N、O和S的杂原子并可以是饱和环、不饱和环或芳香性环;

[0107] R₃选自任选取代的芳基和任选取代的杂芳基;

[0108] R₄选自氢和任选取代的C₁₋₁₀酰基;

[0109] Q为结构如下的嘌呤碱基：



[0111] R_5 每次出现时独立地选自氢、任选取代的 C_{1-10} 烷基和任选取代的环烷基；并且

[0112] Z为氢、甲基或卤素；

[0113] 上述“任选取代”是指未取代或者被一个或多个选自以下的取代基取代：卤素、烷基、氨基、烷基氨基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟基烷基、烷氧基烷基、酰胺基、磺酰胺基、氰基、硝基、亚硝基、叠氮基、醛基、炔基、烯基、环烷基、芳基、芳烷基、芳氧基、杂芳基、杂芳基氧基、酰基、羧基、烷基羰基、芳基羰基、杂芳基羰基和羧酸酯基；所述取代基可以各自独立，或者彼此相连构成含有0-3个选自N、O和S的杂原子的3-8元饱和环、不饱和环或芳香环；

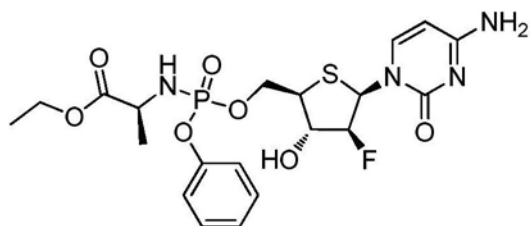
[0114] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体，或它们的任意晶型或消旋物，或它们的代谢物形式，或者它们的混合物。

[0115] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物，其为4'-硫代-2,2-二氟代-核苷磷酰胺类化合物(即式(I)中的X为F)，且Q为所定义基团中的嘧啶类基团，其余各取代基如上述所定义。

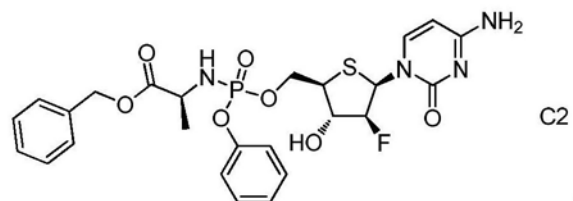
[0116] 本发明进一步的实施方案提供上述式(I)的化合物，其为4'-硫代-2,2-二氟代-核苷磷酰胺类化合物(即式(I)中的X为F)，且Q为所定义基团中的胞嘧啶类基团，其余各取代基如上述所定义。

[0117] 本发明优选以下化合物：

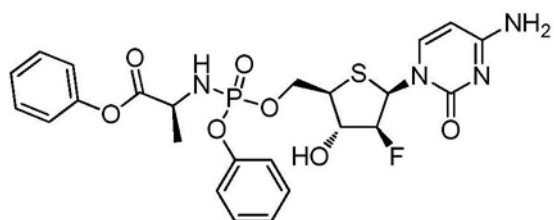
[0118]



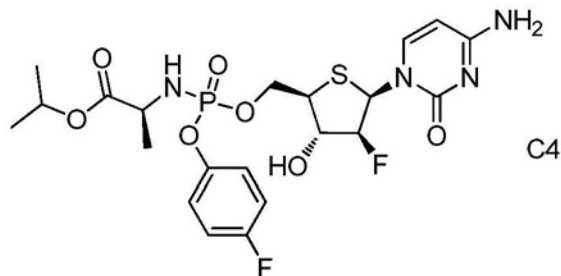
C1



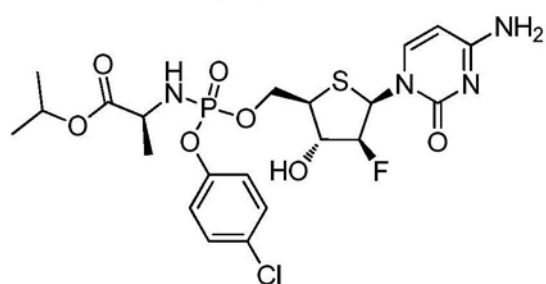
C2



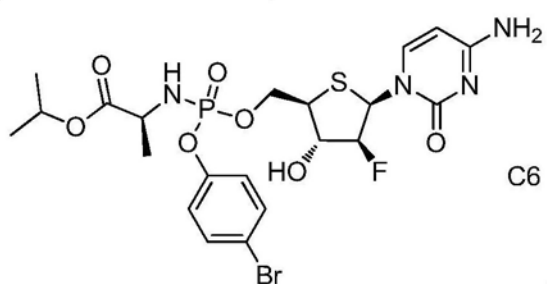
C3



C4

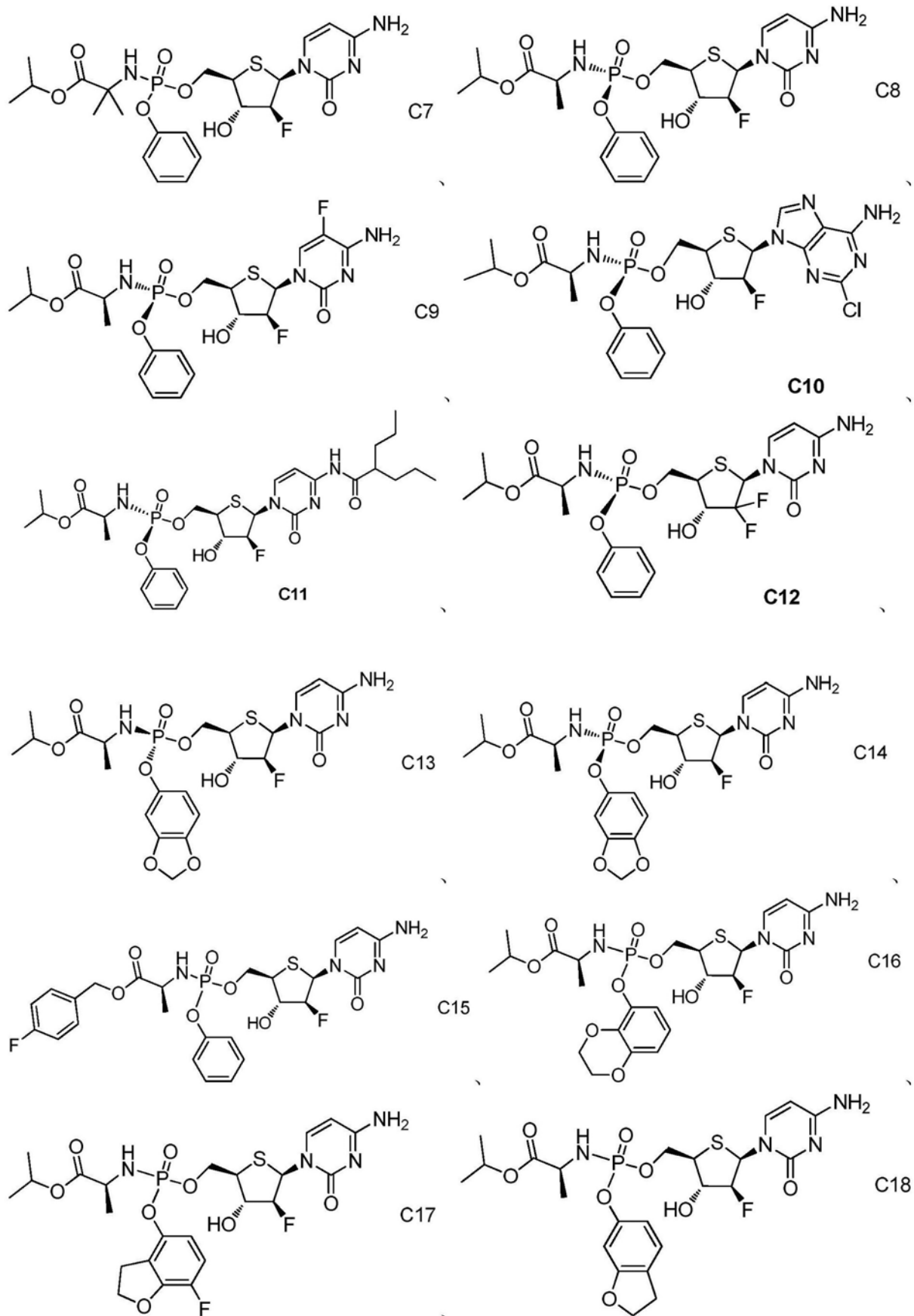


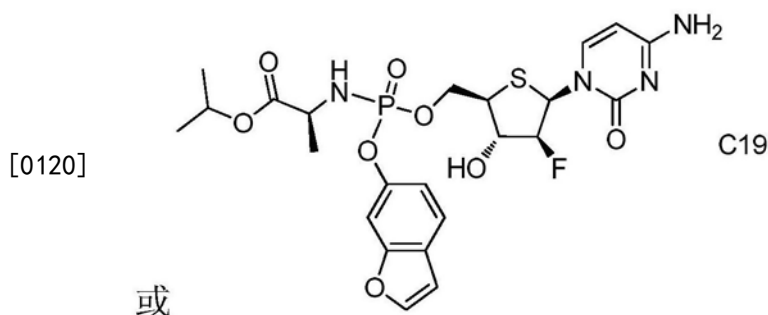
C5



C6

[0119]





[0121] 或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0122] 经过大量的探索,在本申请中对4'-硫代-2'-氟代-核苷类化合物进行了进一步的结构改造和筛选,通过在5位上用特定的磷酰胺基团取代得到本发明的化合物。本发明的化合物具有优越的药效(包括抗肿瘤/癌症和抗病毒感染性疾病的效果),同时增加了其脂溶性,提高生物利用度,减少刺激性并改善了吸收,解决了现有药物中代谢速度方面的问题,显著降低毒性,提高安全性;取得了通过不同给药途径均能发挥药效的有效性。

[0123] 本发明所述式(I)的化合物是指式(I)所涵盖的化合物,其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体,它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0124] 本发明的再一个实施方案提供药物组合物,所述药物组合物包含所述式(I)的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物作为活性成分,以及药学上可接受的载体、助剂、赋形剂或等同的药学上可接受的介质。

[0125] 所述药物组合物可以含有如下单位剂量范围的所述式(I)的化合物:0.1-1000mg,优选1-800mg,更优选10-600mg,特别优选50-450mg,最优选100-300mg。

[0126] 所述药物组合物可以例如是固体制剂、半固体制剂、液体制剂或气态制剂等的形式。特别例如,固体制剂为片剂、胶囊剂、粉末剂、颗粒剂或栓剂等,液体制剂例如溶液剂、混悬剂或注射剂。所述组合物还可以是脂质体、微球等剂型。特别地,所述药物组合物是适于口服给药的制剂形式。

[0127] 所述药物组合物可以是单个或者多个剂量单位的形式,所述剂量单位各自含有适宜量的所述式(I)的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物。

[0128] 本发明的再一个实施方案提供所述式(I)的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物作为活性成分,在制备用于预防或治疗哺乳动物细胞增殖异常性疾病或病毒感染性疾病的药物中的用途。所述药物可以含有如下单位剂量范围的所述式(I)的化合物:0.1-1000mg,优选1-800mg,更优选10-600mg,特别优选50-450mg,最优选100-300mg。

[0129] 本发明的再一个实施方案提供治疗或预防哺乳动物细胞增殖异常性疾病或病毒感染性疾病的方法,所述方法包括向所述哺乳动物给药有效量的式(I)的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物。

[0130] 本发明的再一个实施方案提供所述式 (I) 的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物,其用于治疗或预防哺乳动物细胞增殖异常性疾病或病毒感染性疾病。

[0131] 所述细胞增殖异常性疾病或病毒感染性疾病是例如癌症和/或肿瘤及其相关病症。所述的肿瘤和/或癌症包括食道、胃、肠、直肠、口腔、咽、喉、肺、结肠、乳腺、子宫、子宫内膜、卵巢、前列腺、睾丸、膀胱、肾、肝、胰腺、骨、结缔组织、皮肤、眼、脑和中枢神经系统等部位发生的肿瘤和/或癌症以及相关病症,以及甲状腺癌、白血病、霍杰金氏病、淋巴瘤和骨髓瘤等。

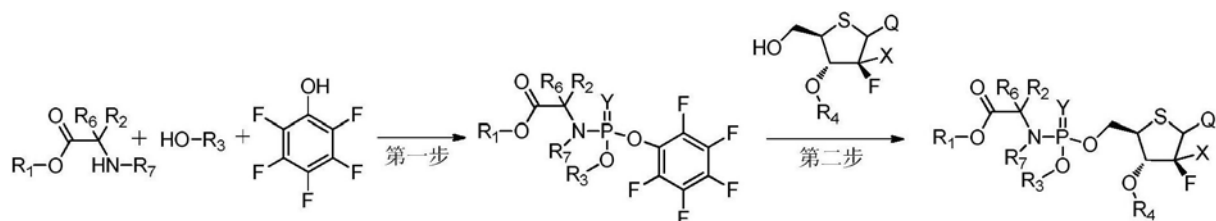
[0132] 本发明的式 (I) 的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物可以与其他抗肿瘤剂联合用药,来预防或治疗哺乳动物细胞增殖异常性疾病(如肿瘤或癌症及其相关病症)。所述其他抗肿瘤剂是指具有抗肿瘤/癌症及其相关病症活性的物质,其包括但不限于厄洛替尼或顺铂。

[0133] 本发明的式 (I) 的化合物或其药学可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、异构体、它们的任意晶型或消旋物、它们的代谢物形式或者它们的混合物可以与其他抗病毒剂联合用药,来预防或治疗病毒感染性疾病。所述其他抗病毒剂包括但不限于拉米夫定、恩替卡韦、奈韦拉平或司他夫定。

[0134] 所述“联合用药”包括同时、顺序、交替地使用两种或更多种药物,特别地包括将两种或更多种药物制成存在于一个或多个剂量单位中,获得适宜联合用药的药物产品,并将所述药物产品向需要联合用药的哺乳动物给药。

[0135] 本发明的再一个实施方案提供制备上述式 (I) 的化合物的方法,其包括以下步骤:

[0136]



[0137] 其中各基团如上述所定义,其中第一步反应优选在 POCl_3 的存在下进行。

[0138] 除非在下文中另有定义,本文中所用的所有技术术语和科学术语的含义意图与本领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意图指在本领域中通常所理解的技术,包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解,但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

[0139] 表述“如上所定义”表示在申请中提供的第一和/或最广泛的定义,以及上下文适宜的情况。

[0140] 术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的,且不排除其它未列举的元素或方法步骤。

[0141] 本文中所述的“本发明的化合物”一般是指上述式 (I) 所限定化合物的范围,或其药学可接受的盐、酯、溶剂化物、水合物、异构体,或它们的任意晶型或消旋物,或它们的代谢物形式,或者它们的混合物。

[0142] 本文中所述的术语“代谢物形式”是指在施用至需要其的个体后体内产生的化合物。

[0143] 本文中所述的“药学可接受的盐”表示保留母体化合物的生物有效性和性质的那些盐,其可通过下列方式制备:使质子接受部分质子化和/或使质子供给部分去质子化。应该注意,质子接受部分质子化导致形成阳离子类物质,其中该阳离子电荷通过生理阴离子的存在而平衡,而质子供给部分去质子化导致形成阴离子类物质,其中该阴离子电荷通过生理阳离子的存在而平衡。

[0144] 本发明的化合物的药学可接受的盐包括其酸加成盐及碱加成盐。

[0145] 适合的酸加成盐由形成无毒盐的酸来形成,其包括无机酸和有机酸。在本发明中,合适的无机酸例如是化学领域定义的无机酸,例如盐酸、硫酸或磷酸等。合适的有机酸包括有机磺酸、有机羧酸或氨基酸等,合适的有机磺酸例如C₆₋₁₆芳基磺酸、C₆₋₁₆杂芳基磺酸和C₁₋₁₆烷基磺酸,合适的有机羧酸例如是一元或多元羧酸,包括C₁₋₁₆烷基羧酸、C₆₋₁₆芳基羧酸和C₄₋₁₆杂芳基羧酸。所述有机羧酸还可以例如是氨基酸,合适的氨基酸有许多,特别是作为蛋白质组分而发现的天然氨基酸。由上述酸所成盐的具体实例包括乙酸盐、己二酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、硼酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环己氨磺酸盐、乙二磺酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、六氟磷酸盐、盐酸盐/氯化物、氢溴酸盐/溴化物、氢碘酸盐/碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐(naphthylate)、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、乳清酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、焦谷氨酸盐、糖二酸盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、三氟乙酸盐及昔萘酸盐(xinifoate)。

[0146] 适合的碱加成盐由形成无毒盐的碱来形成,其包括无机碱和有机碱。具体实例包括铝盐、精氨酸盐、苜蓿青霉素盐、钙盐、胆碱盐、二乙胺盐、二乙醇胺盐、甘氨酸盐、赖氨酸盐、镁盐、葡甲胺盐、乙醇胺盐、钾盐、钠盐、氨丁三醇盐及锌盐。

[0147] 适合的盐的综述参见Stahl及Wermuth的“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use”(Wiley-VCH, 2002)。用于制备本发明的化合物的药学可接受的盐的方法为本领域技术人员已知的。

[0148] 本文中所述的“异构体”是指具有相同分子式的不同化合物,其包括立体异构体。术语“立体异构体”表示仅在原子的空间排列的方式上不同的异构体。“ α -”、“ β -”是指所示化学结构中不对称碳原子上取代基的特定立体化学构型。

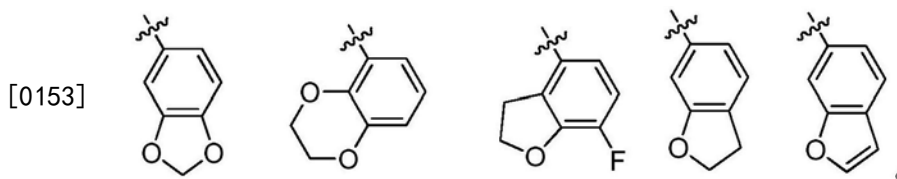
[0149] 本发明的化合物具有一个或多个手性中心,并且可以存在各种立体异构体构型。由于这些手性中心的存在,本发明的化合物可以外消旋物、对映体混合物和各对映体以及非对映异构体和非对映异构体混合物的形式存在。所有这种外消旋物、对映体和非对映异构体均属于“本发明的化合物”的范围。“R”和“S”在有机化学中通常用于表示手性中心的具体构型。

[0150] 本发明的化合物可以水合物或溶剂化物的形式存在,其中本发明的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂,特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

[0151] 本发明涵盖本发明的化合物的所有可能的结晶形式或多晶型物,其可为单一多晶

型物或多于一种多晶型物的任意比例的混合物。

[0152] 术语“任选的”或“任选”是指在相应情况或条件下可以存在但不一定存在,该术语包括所述取代基存在或不存在的实例;所述“任选”也包括存在一个或多个所述取代基取代的实例。术语“取代的”指所指定的原子上的一個或多个(例如一个、两个、三个或四个)氢被从所指出的基团的选择代替,条件是未超过所指定的原子在当前情况下的正常原子价并且所述取代形成稳定的化合物。取代基和/或变量的组合仅仅当这种组合形成稳定的化合物时才是允许的。在本发明的式(I)的化合物中,术语“任选取代”包括存在被一个或多个取代基取代的情形,并且当“任选取代”是指存在多个取代基时,取代基之间可以适当地彼此相连构成含有选自0-3个选自氧(O)、氮(N)和硫(S)的杂原子的饱和环、不饱和环或芳香环,所述饱和环、不饱和环或芳香环还可以与被取代基团一起构成环,例如,术语“任选取代的芳基”具体实例包括苯并二氢噻吩基以及具有以下结构的基团:



[0154] 本文所用的术语“烷基”表示未分支或分支的链状或环状的饱和一价烃残基,优选地含有1至14个碳原子(C_{1-14} 烷基),更优选地含有1至10个碳原子(C_{1-10} 烷基),更优选含有1至6个碳原子(C_{1-6} 烷基),特别优选含有1至4个碳原子(C_{1-4} 烷基)。烷基的实例包括但不限于低级烷基,包括甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基或者戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基(例如庚-4-基)和辛基。

[0155] 本文所用的术语“环烷基”指饱和的非芳族单环或多环(诸如双环)烃环。当其由两个或以上的环组成时,所述环可以稠合的方式连接在一起。环烷基能够在环中含有3至10个原子(C_{3-10} 环烷基),优选3至8个环原子(C_{3-8} 环烷基),更优选含有3-6个环原子(C_{3-6} 环烷基),特别优选含有3-4个环原子(C_{3-4} 环烷基)。环烷基包括但不限于单环,诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基,或双环,包括螺环、稠合或桥连系统(诸如双环[1.1.1]戊基、双环[2.2.1]庚基、双环[3.2.1]辛基或双环[5.2.0]壬基、十氢化萘基等),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代。

[0156] 本文所用的术语“烯基”表示具有2至10个碳原子并且具有一个或两个烯属双键的烃残基,优选地含有2至8个碳原子(C_{2-8} 烯基),更优选含有2至6个碳原子(C_{2-6} 烯基),特别优选含有2至4个碳原子(C_{2-4} 烯基),另有指定除外。烯基的实例包括乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基或2-丁烯基等。

[0157] 本文所用的术语“炔基”表示未分支或分支的炔链基团,其具有2至10个碳原子(C_{2-10} 炔基),并且具有一或者两个叁键,优选地含有2至8个碳原子(C_{2-8} 炔基),更优选含有2至6个碳原子(C_{2-6} 炔基),特别优选含有2至4个碳原子(C_{2-4} 炔基),另有指定除外。炔基的实例是乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基或3-丁炔基等。

[0158] 本文所用的术语“氨基”表示 $-NH_2$,烷胺基表示 $-NR'R''$, R' 和 R'' 相同或不同并且为H或如上所定义的烷基或环烷基。

[0159] 本文所用的术语“烷氧基”表示 $-O-$ 烷基,其中烷基如上所定义(如 C_{1-14} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-4} 烷基),例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔

丁氧基、戊氧基、己氧基,还包括它们的异构体等。

[0160] 本文所用的术语“卤素”或“卤代”表示氟、氯、溴或碘。

[0161] 本文所用的术语“卤代烷基”表示如上所定义的烷基,其中1、2、3或多个氢原子被卤素取代。实例是1-氟甲基、1-氯甲基、1-溴甲基、1-碘甲基、三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基、三碘甲基、1-氟乙基、1-氯乙基、1-溴乙基、1-碘乙基、2-氟乙基、2-氯乙基、2-溴乙基、2-碘乙基、2,2-二氯乙基、3-溴丙基或2,2,2-三氟乙基等。

[0162] 本文所用的术语“卤代烷氧基”表示如上所定义的烷氧基,其中1、2、3或多个氢原子被卤素取代。

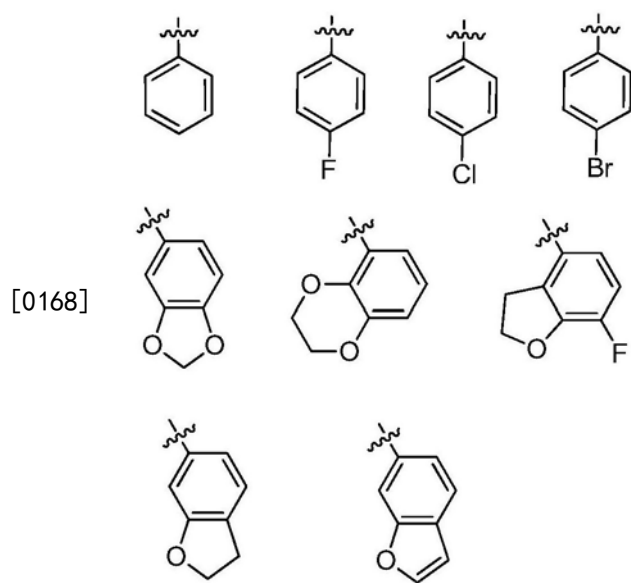
[0163] 本文所用的术语“酰基”表示式 $-C(=O)R$ 的基团,其中R是氢或者如上述所定义的烷基(如 C_{1-14} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-4} 烷基)。

[0164] 本文所用的术语“烷基羰基”表示式 $-C(=O)R$ 的基团,其中R是如上述所定义的烷基(如 C_{1-14} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-4} 烷基)。

[0165] 本文所用的术语“酰胺基”表示式 $-NC(=O)R'R''$ 基团,其中 R' 和 R'' 相同或不同,并且是氢或者如上述所定义的烷基(如 C_{1-14} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-4} 烷基)。

[0166] 本文所用的术语“羟基烷基”表示式 $-R-OH$ 的基团,其中R是亚烷基。本文所用的术语“亚烷基”表示含有1至10个碳原子(C_{1-10} 亚烷基),更优选含有1至6个碳原子(C_{1-6} 亚烷基),特别优选含有1至4个碳原子(C_{1-4} 亚烷基)的二价饱和直链烃基团或者3至10个碳原子(C_{3-10} 亚烷基),更优选含有3至8个碳原子(C_{3-8} 亚烷基),特别优选含有3至5个碳原子(C_{3-5} 亚烷基)的支链饱和二价烃基团,另有指示除外。亚烷基的实例包括但不限于亚甲基、亚乙基、亚丙基、2-甲基-亚丙基、亚丁基和2-乙基亚丁基等。

[0167] 本文所用的术语“芳基”是指具有至少有一个芳环的基团,即有一个共轭 π -电子系统,包括单环芳基和双环芳基等。其包含6-14个碳原子(C_{6-14} 芳基),例如:苯基、萘基等。任取代的芳基包括被多个取代基取代的芳基,且取代基之间可以适当地相连构成含有0-3个选自氧、氮和硫的杂原子的饱和环、不饱和环和/或芳香环。所述芳基优选包括以下基团:



[0169] 本文所用的术语“芳烷基”表示基团 $R'R''-$,其中 R' 是如本文所定义的芳基, R'' 是如本文所定义的亚烷基,可以理解,芳烷基部分的连接点将位于亚烷基上。通常,所述芳基可

具有6-14个碳原子,并且所述烷基可具有1-6个碳原子。示例性芳烷基包括但不限于苄基、4-氟苄基、苯基乙基、苯基丙基和苯基丁基。

[0170] 本文所用的术语“芳氧基”表示-O-R,R为如上所定义的芳基。

[0171] 本文所用的术语“芳基羰基”表示式-C(=O)Ar的基团,其中Ar是如上所定义的芳基。

[0172] 本文所用的术语“杂环基”是指含有1-4个(例如一个、两个、三个或四个)选自N、O、S和P的杂原子且其余原子为碳原子的3-16元饱和环或不饱和环的基团。特别地,3-10元杂环基为在环中具有3-10个碳原子及杂原子的基团,例如但不限于环氧乙烷基、氮丙啶基、氮杂环丁烷基(azetidiny1)、氧杂环丁烷基(oxetany1)、四氢呋喃基、二氧杂环戊烯基(dioxoliny1)、吡咯烷基、吡咯烷酮基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基(dithianyl)、硫吗啉基、哌嗪基或三噻烷基(trithianyl)。

[0173] 本文所用的术语“杂芳基”是指具有1至3个选自N、O和S的杂原子作为环原子且剩余环原子为碳的环状芳族基团,其中所述环为4-16元单环或稠合环,优选5-12元单环或稠合环、5-8元单环或稠合环。杂芳基的实例包括但不限于:呋喃基、噻吩基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、吡啶基、吡咯基、吡唑基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基、哒嗪基、酞嗪基、酞嗪-1-(2H)-1-基、吡啶并[3,2-d]哒嗪-5(6H)-8-基、三嗪基等以及它们的苯并衍生物。

[0174] 本文所用的术语“杂芳基羰基”定义类似于“芳基羰基”,其表示式-C(=O)R的基团,其中R是如上所定义的杂芳基。

[0175] 本文所用的术语“杂芳基氧基”表示式杂芳基-O-的基团,其中所述杂芳基如上述所定义。

[0176] 本文所用的术语“磺酰胺基”是指式-SO₂NR'R”的基团,其中R'和R”相同或不同,并且各自独立地是氢或如上定义的烷基或环烷基。

[0177] 本文所用的术语“羧基”是指式-COOH的基团,本文所用的术语“羧酸酯基”表示-COOR,其中所述的R各自独立地表示如上所定义的烷基。

[0178] 本发明所述的通式或具体化合物中,各基团或原子或离子团均包括其同位素替代的基团或原子或离子团,例如所述“氢”包括H、²H(氘)、³H(氚);所述C₁₋₁₄烷基包括其中一个或多个碳原子或全部为¹²C、¹³C、¹⁴C,其他示例包括N、P、O同位素的情况。

[0179] 本文所用的术语“药学上可接受的载体”指的是对有机体不引起明显的刺激性且干扰所施用化合物的生物活性的性质的药物组合物或药物制剂中的非活性成分,其包括与治疗剂一同给药的稀释剂、助剂、赋形剂或等同的药学上可接受的介质。

[0180] 本文所用的术语“赋形剂”指用于制备药物组合物的物质,其通常安全、无毒并且既不是生物学不期望的又不是其它方面不期望的,且包括适合于兽医学应用以及人药用的各种赋形剂。

[0181] 在本发明的药物组合物中可使用的药学上可接受的载体包括但不限于无菌液体,例如水和油,包括那些石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当所述药物组合物通过静脉内给药时,水是示例性载体。还可以使用生理盐水和葡萄糖及甘油水溶液作为液体载体,特别是用于注射液。适合的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽糖、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、

甘油、丙二醇、水、乙醇等。所述组合物还可以视需要包含少量的湿润剂、乳化剂或pH缓冲剂。口服制剂可以包含标准载体,如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。适合的药学上可接受的载体的实例如在Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) 中所述。

[0182] 本文所用的术语“制剂”或“剂型”应包括本发明的化合物的固体制剂、半固体制剂、液体制剂和气态制剂。所述制剂或剂型包括但不限于片剂、胶囊剂、锭剂、硬糖剂、散剂、喷雾剂、乳膏剂、软膏剂、栓剂、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、水性混悬剂、可注射溶液剂、酞剂、糖浆剂。本领域技术人员会理解,根据所需剂量和药代动力学参数,可将本发明的化合物制成不同的制剂。

[0183] 本发明的化合物的单位剂量范围是0.1-1000mg,优选的单位剂量范围是1-800mg,更优选的单位剂量范围是10-600mg,特别优选的单位剂量范围是50-450mg,最优选的单位剂量范围是100-300mg。本发明的制剂或剂型可以包含单个或者多个上述单位剂量的本发明的化合物。

[0184] 优选将本发明的化合物通过口服施用。根据情况的不同,可以使用乃至优选其他的施途径,例如静脉内、动脉内、皮下、腹膜内、肌内或透皮施用;或通过含服、经鼻、透粘膜、局部、以眼用制剂的形式或通过吸入施用等。透皮施用对易忘或对口服药物难以接受的患者而言可能是极为期望的。在具体的情况中,还可以通过经皮、肌内、鼻内或直肠内途径施用本发明的化合物。施途径可以以任何方式改变,取决于药物的物理特性、患者和看护者的便利性和其他相关情况 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, MackPublishing Co. (1990))。

[0185] 再一方面,本发明还提供本发明的化合物用于同时、单独和依次与其他治疗剂(例如其他抗癌症/肿瘤剂或其他抗病毒剂)联用的用途。

[0186] 本发明的化合物或包含其的产品(例如药物组合物、药物制剂或剂型)的施用剂量范围是0.1-1000mg/kg体重/天,优选的剂量范围是1-800mg/kg体重/天,优选的剂量范围是10-600mg/kg体重/天,特别优选的剂量范围是100-400mg/kg体重/天,最优选的剂量范围是120-250mg/kg体重/天。由医生根据疾病的阶段和严重性以及患者个体的特定需求和反应确定治疗患者所需的精确剂量。

[0187] 除非另外说明,否则如本文中所使用,术语“治疗(treating)”意指逆转、减轻、抑制这样的术语所应用的病症或病况或者这样的病症或病况的一或多种症状的进展,或预防这样的病症或病况或者这样的病症或病况的一或多种症状。

[0188] 如本文所使用的“哺乳动物”包括人或非人动物。示例性人个体包括患有疾病或病症(例如本文所述的疾病或病症)的人个体(称为患者)或正常个体。本发明中“非人动物”包括非人灵长类、家畜和/或驯化动物(例如绵羊、犬、猫、奶牛、猪等)。

[0189] 实施例

[0190] 下面结合实施例及具体实施方式对本发明作进一步的详细描述。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实施例,凡基于本发明内容所实现的技术方案均属于本发明的范围。

[0191] 本发明中的缩写具有以下含义:

[0192]

缩写	含义
AcOH	乙酸
AcOK	乙酸钾
Ac ₂ O	乙酸酐
aq.	水溶液
BCl ₃	三氯化硼
BnBr	溴化苄
BzCl	苯甲酰氯
Bz ₂ O	苯甲酸酐
m-CPBA	间氯过氧苯甲酸
DAST	二乙氨基三氟化硫
DCE	二氯乙烷
DCM	二氯甲烷
DMAP	4-二甲氨基吡啶
DMF	<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砷
Et ₃ N	三乙胺
HBr	溴化氢
HCl	盐酸

[0193]

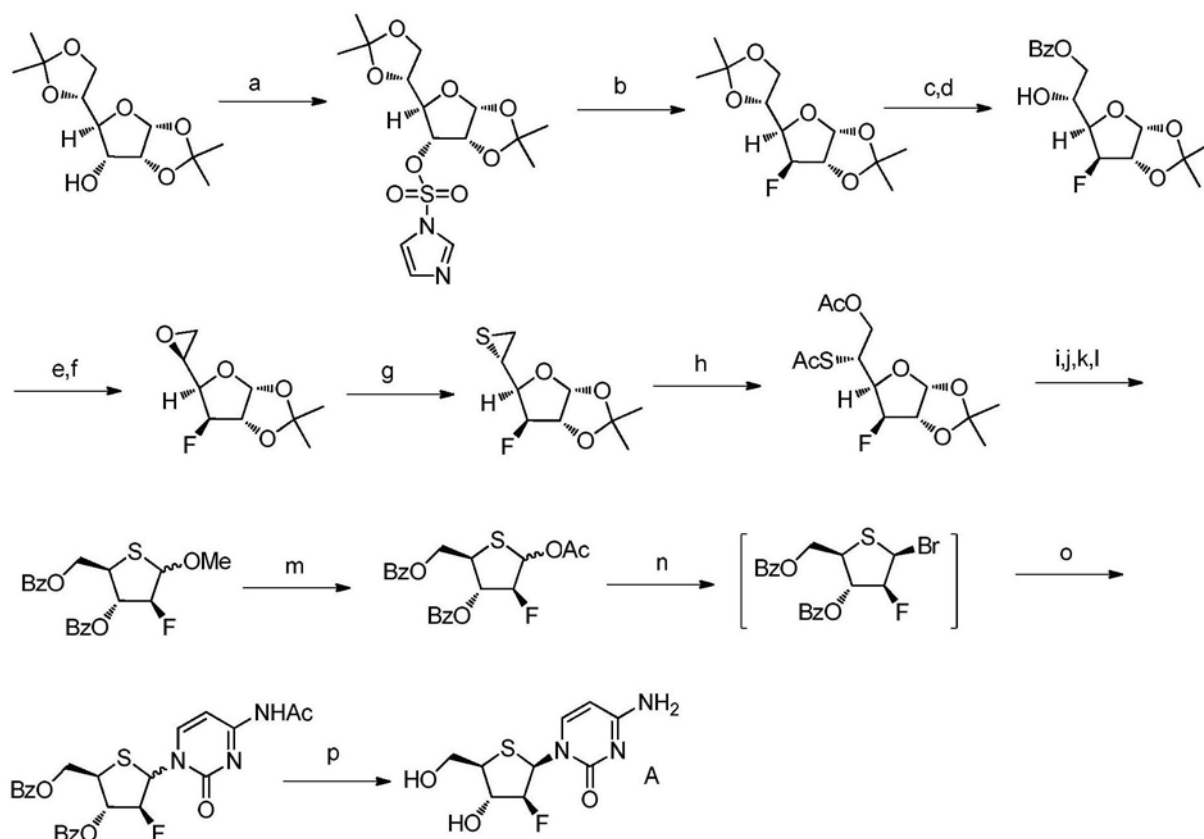
H ₂ O	水
HPLC	高效液相色谱
H ₂ SO ₄	硫酸
KF	氟化钾
MeOH	甲醇
MsCl	甲磺酰氯
NaBH ₄	硼氢化钠
NaH	氢化钠
Na ₂ S	硫化钠
NH ₃	氨
NaIO ₄	高碘酸钠
NaOMe	甲醇钠
SO ₂ Cl ₂	磺酰氯
TBAF	四丁基氟化铵
TBDPSCl	叔丁基二苯基氯硅烷
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TMSOTf	三氟甲磺酸三甲基硅酯

[0194] 实施例1

[0195] (S)-乙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢嘧吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C1)的制备

[0196] (1) 1-((2R,3S,4S,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟甲基)-四氢嘧吩-2-基)胞嘧啶(化合物A,即母核化合物)的制备

[0197]



[0198] (a) SO_2Cl_2 , 咪唑, DCM; (b) KF, 2-甲氧基乙醇, 回流; (c) 2M HCl, THF; (d) BzCl, 吡啶, DCM; (e) MsCl, 吡啶; (f) NaOMe, MeOH; (g) 硫脲, MeOH, 回流; (h) AcOK, Ac_2O , AcOH, 回流; (i) 90% TFA; (j) NaIO_4 , MeOH, H_2O ; (k) HCl, MeOH, 回流; (l) BzCl, 吡啶; (m) H_2SO_4 , Ac_2O , AcOH; (n) HBr, AcOH, DCM; (o) 甲硅烷基化N-乙酰胞嘧啶, 80°C; (p) aq. NH_3 , MeOH, HPLC分离

[0199] 本实施例所用的1-((2R,3S,4S,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟甲基)-四氢噻吩-2-基)胞嘧啶(化合物A)按照文献方法制备(J.Org.Chem.1999,64,7912-7920)。

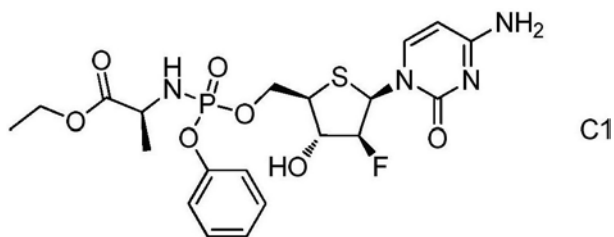
[0200] (2) (S)-乙基2-(((五氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(化合物B1)的制备

[0201] 将三氯氧磷(1.53g, 10mmol)溶于二氯甲烷(10mL), 冷却到 -60°C , 缓慢滴加苯酚(940mg, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)。室温搅拌过夜, 冷却到 0°C , 加入L-丙氨酸乙酯盐酸盐(1.53g, 10mmol)。冷却至 -60°C , 滴加三乙胺(2.02g, 20mmol)的二氯甲烷溶液(5mL), 升至室温。将五氟苯酚(1.84g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)滴加到上述溶液中, 保持 -5°C 搅拌2小时。反应完全, 加水淬灭, 乙酸乙酯萃取, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化, 得到标题化合物(化合物B1)。

[0202] (3) (S)-乙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C1)的制备

[0203] 将化合物A(260mg, 1mmol)溶于无水四氢呋喃(50mL)中, 氩气置换三次。于 -10°C 滴加叔丁基氯化镁(1.0mol/L, 1.2mL, 1.2mmol), 搅拌2小时, 升至室温反应0.5小时。滴加中间体(化合物B1)(530mg, 1.2mmol)的无水THF(10mL)溶液, 将此混合物在 30°C 反应15小时。滴加甲醇(10mL)淬灭反应, 浓缩, 柱层析纯化, 得到化合物C1。

[0204]



C1

[0205] 其结构表征数据如下:

[0206] ESI-MS: 517.7 (M+1)

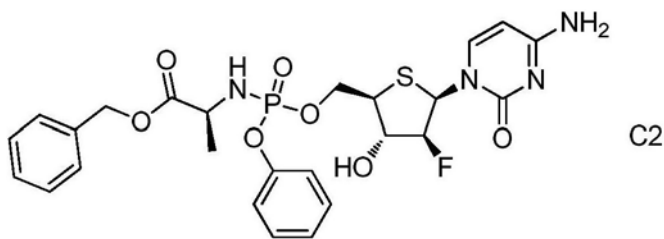
[0207] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.31–7.17 (m, 5H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09–6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.03–4.87 (m, 2H), 4.36–4.32 (m, 2H), 4.14–4.12 (m, 3H), 3.80–3.78 (m, 1H), 1.28–1.23 (m, 6H)。

[0208] 实施例2

[0209] (S)-苄基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C2) 的制备

[0210] 以三氯氧磷、苯酚、L-丙氨酸苄酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用与实施例1类似的方法制备化合物C2。

[0211]



C2

[0212] 其结构表征数据如下:

[0213] ESI-MS: 579.6 (M+1)

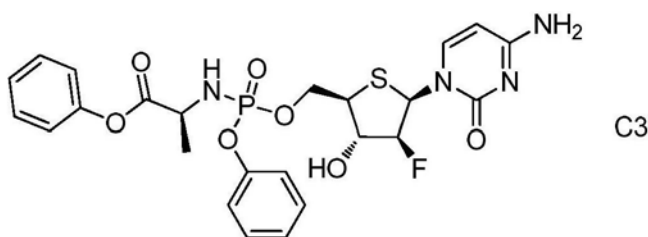
[0214] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.31–7.17 (m, 10H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09–6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.36 (s, 2H), 5.03–4.87 (m, 2H), 4.36–4.32 (m, 2H), 4.14–4.12 (m, 1H), 3.80–3.78 (m, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)。

[0215] 实施例3

[0216] (S)-苄基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C3) 的制备

[0217] 以三氯氧磷、苯酚、L-丙氨酸苄酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用与实施例1类似方法制备化合物C3。

[0218]



C3

[0219] 其结构表征数据如下:

[0220] ESI-MS: 565.1 (M+1)

[0221] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.31-7.17 (m, 10H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09-6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.03-4.87 (m, 2H), 4.36-4.32 (m, 2H), 4.14-4.12 (m, 1H), 3.80-3.78 (m, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)

[0222] 实施例4

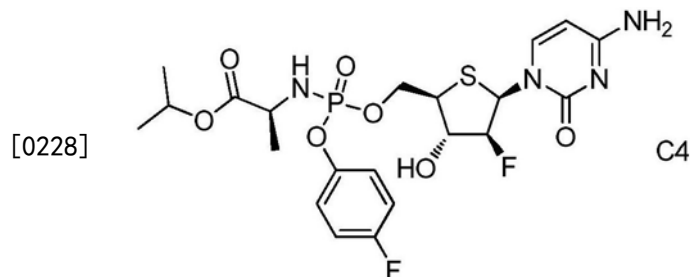
[0223] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(4-氟苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C4)的制备

[0224] (1) (S)-异丙基2-(((五氟苯氧基)(4-氟苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯的制备

[0225] 将三氯氧磷(1.53g, 10mmol)溶于二氯甲烷(10mL), 冷却到 -60°C , 缓慢滴加4-氟苯酚(1.12g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)。室温搅拌过夜, 冷却到 0°C , 加入L-丙氨酸异丙酯盐酸盐(1.53g, 10mmol)。冷却至 -60°C , 滴加三乙胺(2.02g, 20mmol)的二氯甲烷溶液(5mL), 升至室温。将五氟苯酚(1.84g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)滴加到上述溶液中, 保持 -5°C 搅拌2小时。反应完全, 加水淬灭, 乙酸乙酯萃取, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化, 得到标题化合物。

[0226] (2) (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(4-氟苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C4)的制备

[0227] 将化合物A(260mg, 1mmol)溶于无水四氢呋喃(50mL)中, 氩气置换三次。于 -10°C 滴加叔丁基氯化镁(1.0mol/L, 1.2mL, 1.2mmol), 搅拌2小时, 升至室温反应0.5小时。滴加(S)-异丙基2-(((五氟苯氧基)(4-氟苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(566mg, 1.2mmol)的无水THF(10mL)溶液, 将此混合物在 30°C 反应15小时。滴加甲醇(10mL)淬灭反应, 浓缩, 柱层析纯化, 得到化合物C4。



[0229] 其结构表征数据如下:

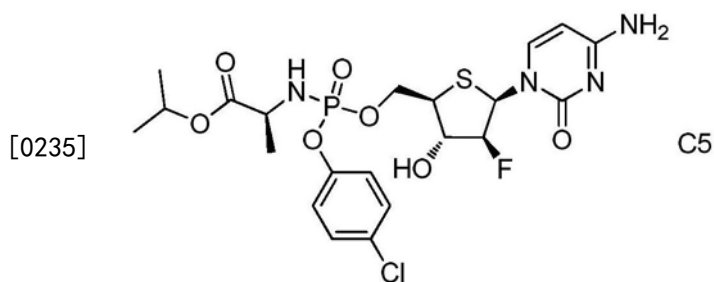
[0230] ESI-MS: 549.3 (M+1)

[0231] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.35-7.17 (m, 4H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09-6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.03-4.87 (m, 2H), 4.36-4.32 (m, 2H), 4.14-4.12 (m, 1H), 3.80-3.78 (m, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)

[0232] 实施例5

[0233] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(4-氯苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C5)的制备

[0234] 以三氯氧磷、4-氯苯酚、L-丙氨酸异丙酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料, 采用与实施例1类似方法制备化合物C5。



[0236] 其结构表征数据如下:

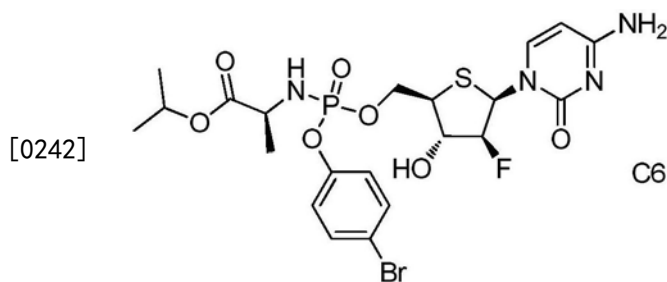
[0237] ESI-MS: 565.4 (M+1)

[0238] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.30–7.17 (m, 4H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09–6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.03–4.87 (m, 2H), 4.36–4.32 (m, 2H), 4.14–4.12 (m, 1H), 3.80–3.78 (m, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)

[0239] 实施例6

[0240] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(4-溴苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C6)的制备

[0241] 以三氯氧磷、4-溴苯酚、L-丙氨酸异丙酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用与实施例1类似的方法制备化合物C6。



[0243] 其结构表征数据如下:

[0244] ESI-MS: 611.2 (M+1)

[0245] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.28–7.17 (m, 4H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09–6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.03–4.87 (m, 2H), 4.36–4.32 (m, 2H), 4.14–4.12 (m, 1H), 3.80–3.78 (m, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)

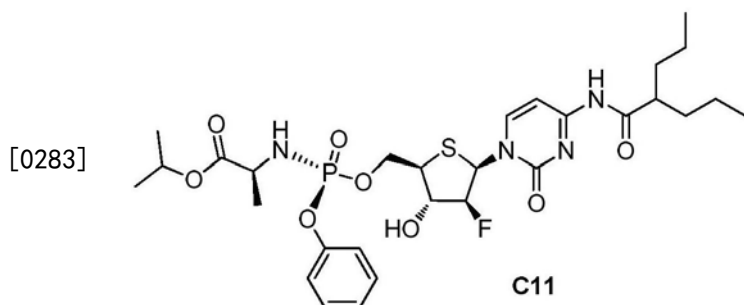
[0246] 实施例7

[0247] 异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)-2-甲基丙酸酯(C7)的制备

[0248] (1) 异丙基2-(((五氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)-2-甲基丙酸酯的制备

[0249] 将三氯氧磷(1.53g, 10mmol)溶于二氯甲烷(10mL),冷却到 -60°C ,缓慢滴加苯酚(1.12g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)。室温搅拌过夜,冷却到 0°C ,加入2-甲基丙氨酸异丙酯盐酸盐(1.82g, 10mmol)。冷却至 -60°C ,滴加三乙胺(2.02g, 20mmol)的二氯甲烷溶液(5mL),升至室温。将五氟苯酚(1.84g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)滴加到上述溶液中,保持 -5°C 搅拌2小时。反应完全,加水淬灭,乙酸乙酯萃取,干燥,浓缩,柱层析纯化,得到标题化合物。

[0282] 将化合物C8 (53mg, 0.1mmol) 和二异丙基乙基胺 (26mg, 0.2mmol) 溶于干燥的二氯甲烷 (2mL)。于0℃加入2-丙基正戊酰氯 (17mg, 0.1mmol), 升至室温, 搅拌过夜。加饱和碳酸氢钠淬灭, 乙酸乙酯萃取, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得到化合物C11。



[0284] 其结构表征数据如下:

[0285] ESI-MS: 657.7 (M+1)

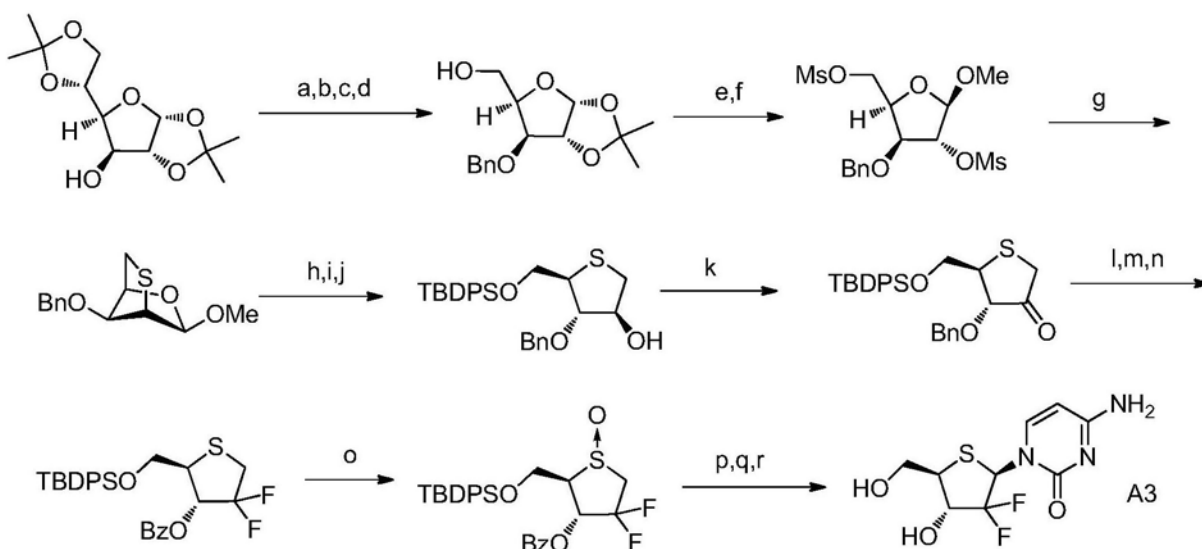
[0286] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.31–7.17 (m, 5H), 6.56 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 6.09–6.03 (m, 2H), 5.77 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.03–4.87 (m, 2H), 4.36–4.32 (m, 2H), 4.14–4.12 (m, 1H), 3.80–3.78 (m, 1H), 2.50–2.47 (m, 1H), 1.43–1.22 (m, 17H), 0.94–0.91 (m, 6H)

[0287] 实施例12

[0288] (S)-异丙基2-(((S)-((2R,3S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4,4-二氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C12) 的制备

[0289] (1) 1-((2R,4S,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)-四氢噻吩-2-基)胞嘧啶的制备

[0290]

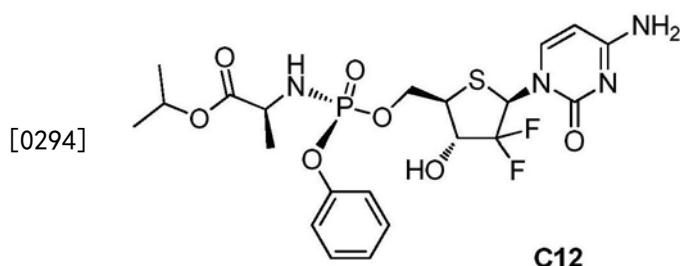


[0291] (a) BnBr, NaH, DMF, THF; (b) 2M HCl, THF; (c) NaIO₄, H₂O, MeOH; (d) NaBH₄, MeOH; (e) 5% HCl/MeOH; (f) MsCl, 吡啶; (g) Na₂S, DMF, 100℃; (h) 4M HCl, THF; (i) NaBH₄, MeOH; (j) TBDPSCl, 咪唑, DMF; (k) Ac₂O, DMSO; (l) DAST, DCM; (m) BCl₃, DCM, -78℃; (n) Bz₂O, Et₃N, DMAP, CH₃CN; (o) m-CPBA, DCM, -78℃; (p) 甲硅烷基化N-乙酰胞嘧啶, TMSOTf, DCE, 0℃; (q) TBAF, THF; (r) aq. NH₃, MeOH, HPLC分离

[0292] 本实施例中所用的1-((2R,4S,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)-四氢噻吩-2-

基) 胞嘧啶按照文献方法制(J.Org.Chem.1997,62,3140-3152)。

[0293] (2) 以(S)-异丙基2-(((S)-(五氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯和1-((2R,4S,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟甲基)-四氢噻吩-2-基)胞嘧啶为原料,采用类似于实施例1的方法制备化合物C12。



[0295] 其结构表征数据如下:

[0296] ESI-MS: 549.5 (M+1)

[0297] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.96 (d, $J=3.4\text{Hz}$, 1H), 7.35 (m, 3H), 7.23-7.17 (m, 5H), 6.46 (dd, $J=4\text{Hz}$, 14Hz, 1H), 5.98-5.95 (m, 2H), 5.84 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.35 (brs, 1H), 4.36-4.32 (m, 2H), 4.17-4.14 (m, 1H), 3.85-3.80 (m, 1H), 1.13 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H), 1.09 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 6H)

[0298] 实施例13和实施例14

[0299] (S)-异丙基2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C14)和(S)-异丙基2-(((R)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(C13)的制备

[0300] (1) (S)-异丙基2-(((五氟苯氧基)(苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯的制备

[0301] 将三氯氧磷(1.53g, 10mmol)溶于二氯甲烷(10mL), 冷却到 -60°C , 缓慢滴加芝麻酚(1.38g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)。室温搅拌过夜, 冷却到 0°C , 加入L-丙氨酸异丙酯盐酸盐(1.53g, 10mmol)。冷却至 -60°C , 滴加三乙胺(2.02g, 20mmol)的二氯甲烷溶液(5mL), 升至室温。将五氟苯酚(1.84g, 10mmol)和三乙胺(1.01g, 10mmol)的二氯甲烷溶液(10mL)滴加到上述溶液中, 保持 -5°C 搅拌2小时。反应完全, 加水淬灭, 乙酸乙酯萃取, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化, 得到标题化合物。

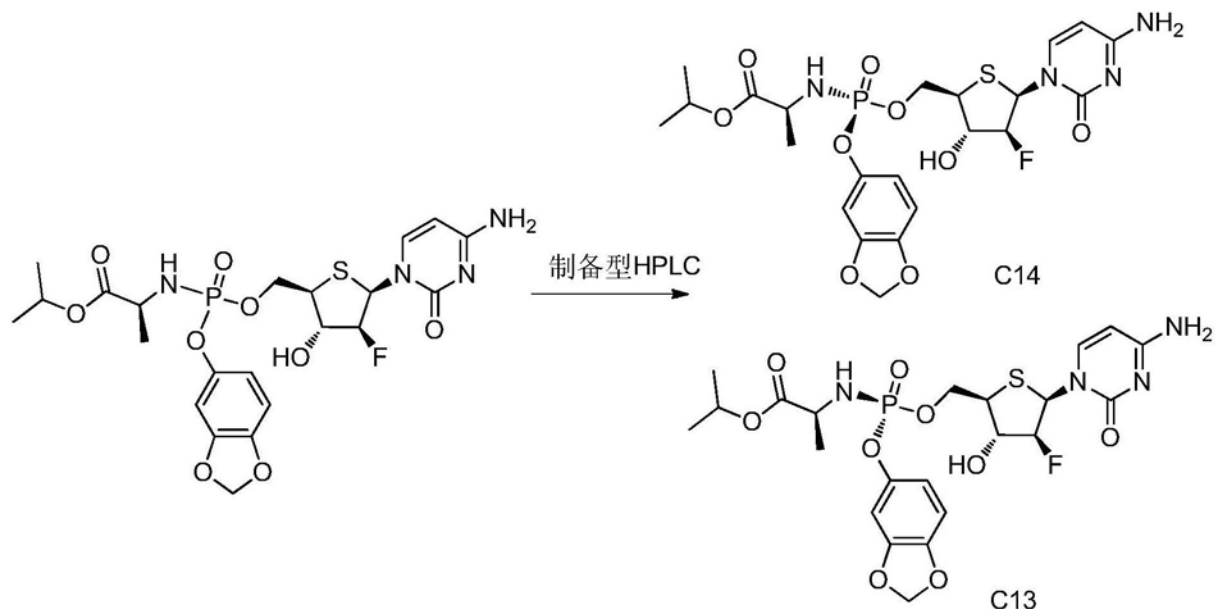
[0302] (2) (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯的制备

[0303] 将化合物A(260mg, 1mmol)溶于无水四氢呋喃(50mL)中, 氩气置换三次。于 -10°C 滴加叔丁基氯化镁(1.0mol/L, 1.2mL, 1.2mmol), 搅拌2小时, 升至室温反应0.5小时。滴加(S)-异丙基2-(((五氟苯氧基)(苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯(596mg, 1.2mmol)的无水THF(10mL)溶液, 将此混合物在 30°C 反应15小时。滴加甲醇(10mL)淬灭反应, 浓缩, 柱层析纯化, 得到标题化合物。

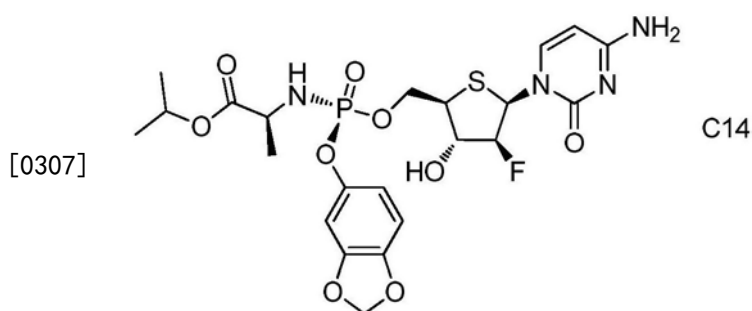
[0304] (3) (S)-异丙基2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-

4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基) 甲氧基) (苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基) 磷酰基) 氨基) 丙酸酯 (C14) 和 (S)-异丙基2-(((R)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基) 甲氧基) (苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基) 磷酰基) 氨基) 丙酸酯 (C13) 的制备

[0305]



[0306] 将上步得到的非对映异构体混合物用制备型HPLC分离,分离条件如下:以十八烷基键合硅胶为填充剂(20×250mm,5μm),柱温40℃,流速10.0mL/min,检测波长220nm,流动相A为水(中性),流动相B为甲醇,进行线性梯度洗脱。收集第一个主峰,冷冻干燥得到(S)-异丙基2-(((R)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基) 甲氧基) (苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基) 磷酰基) 氨基) 丙酸酯 (C13) 17mg;收集第二个主峰,冷冻干燥得到(S)-异丙基2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基) 甲氧基) (苯并[d][1,3]二氧戊环-5-基氧基) 磷酰基) 氨基) 丙酸酯 (C14) 30mg。



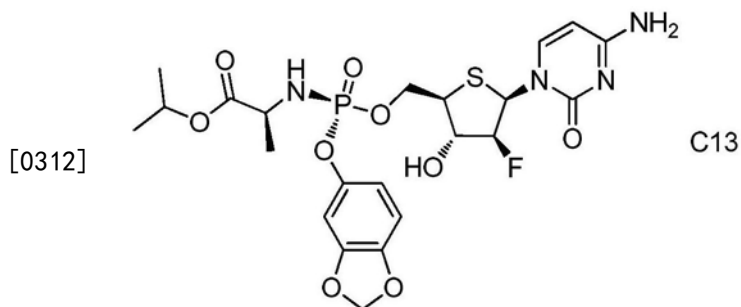
[0307]

[0308] 其结构表征数据如下:

[0309] ESI-MS: 575.2 (M+1)

[0310] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.93 (d, J=8Hz, 1H), 7.75 (bs, 1H), 7.46 (bs, 1H), 6.88-6.83 (m, 2H), 6.67-6.65 (m, 1H), 6.51 (d, J=8Hz, 1H), 5.76 (d, J=7.6Hz, 1H), 4.90-4.86 (m, 4H), 4.31 (bs, 2H), 4.13-4.11 (m, 1H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.50 (bs, 1H), 1.23 (d, J=6.4Hz, 3H), 1.16 (d, J=5.2Hz, 6H)

[0311] ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.59



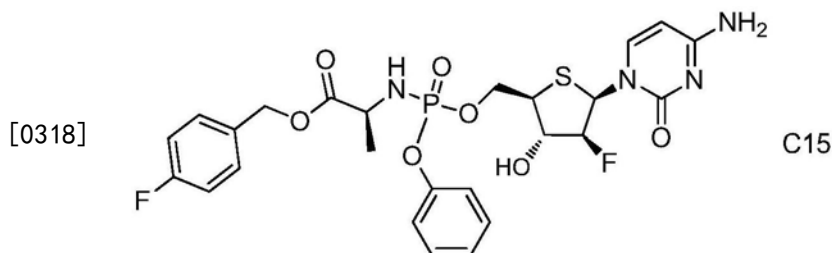
[0313] 其结构表征数据如下：

[0314] ESI-MS: 575.2 (M+1)

[0315] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.93 (d, J=8Hz, 1H), 7.75 (bs, 1H), 7.46 (bs, 1H), 6.88-6.83 (m, 2H), 6.67-6.65 (m, 1H), 6.51 (d, J=8Hz, 1H), 5.76 (d, J=7.6Hz, 1H), 4.90-4.86 (m, 4H), 4.31 (bs, 2H), 4.13-4.11 (m, 1H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.50 (bs, 1H), 1.23 (d, J=6.4Hz, 3H), 1.16 (d, J=5.2Hz, 6H) ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.50

[0316] 实施例15

[0317] (2S)-4-氟苄基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C15) 的制备



[0319] 以三氯氧磷、苯酚、L-丙氨酸-4-氟苄酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用实施例1的类似方法制备化合物C15。

[0320] 其结构表征数据如下：

[0321] ESI-MS: 597.2 (M+1)

[0322] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.86 (d, J=8Hz, 1H), 7.67-7.17m, 12H), 6.54 (dd, J=4Hz, 14Hz, 1H), 6.21-6.15 (m, 1H), 6.07 (bs, 1H), 5.78 (d, J=4Hz, 1H), 5.11 (bs, 2H), 4.31 (bs, 2H),

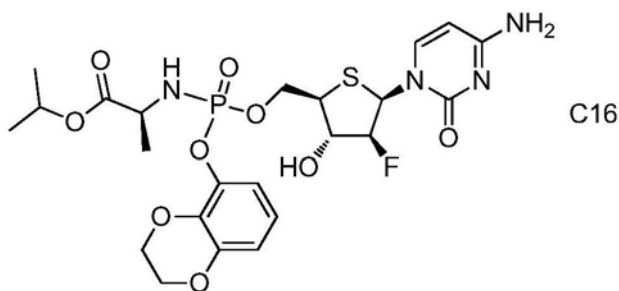
[0323] 4.12-4.10 (m, 1H), 3.94-3.92 (m, 1H), 3.47 (bs, 1H), 1.26 (d, J=8Hz, 3H)

[0324] ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.02

[0325] 实施例16

[0326] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧己环-5-基)氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C16)

[0327]



[0328] 以三氯氧磷、5-羟基-2,3-二氢苯并[1,4]二氧己环、L-丙氨酸异丙酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用实施例1的类似方法制备化合物C16。

[0329] 其结构表征数据如下:

[0330] ESI-MS: 589.2 (M+1)

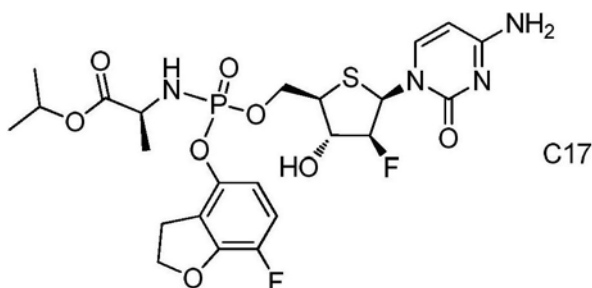
[0331] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.93 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 7.34 (bs, 1H), 7.26 (bs, 1H), 6.91-6.89 (m, 1H), 6.81-6.73 (m, 1H), 6.61-6.56 (m, 1H), 6.11-6.07 (m, 1H), 6.01-5.85 (m, 1H), 5.80-5.75 (m, 1H), 5.04-4.82 (m, 1H), 4.37-4.17 (m, 7H), 3.87-3.83 (m, 1H), 3.50 (bs, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H), 1.16 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 6H)

[0332] ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.58

[0333] 实施例17

[0334] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(7-氟-2,3-二氢苯并呋喃-4-基)氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C17)

[0335]



[0336] 以三氯氧磷、4-羟基-7-氟-2,3-二氢苯并呋喃、L-丙氨酸异丙酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用实施例1的类似方法制备化合物C17。

[0337] 其结构表征数据如下:

[0338] ESI-MS: 591.2 (M+1)

[0339] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.89 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 7.37 (bs, 1H), 7.29 (bs, 1H), 7.10-7.06 (m, 1H), 6.76-6.73 (m, 1H), 6.60-6.54 (m, 1H), 6.15-6.10 (m, 2H), 5.81-5.78 (m, 1H), 5.10-4.90 (m, 2H), 4.72-4.61 (m, 3H), 4.36-4.34 (m, 2H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.78-3.75 (m, 1H), 3.53-3.50 (m, 3H), 3.38-3.35 (m, 2H),

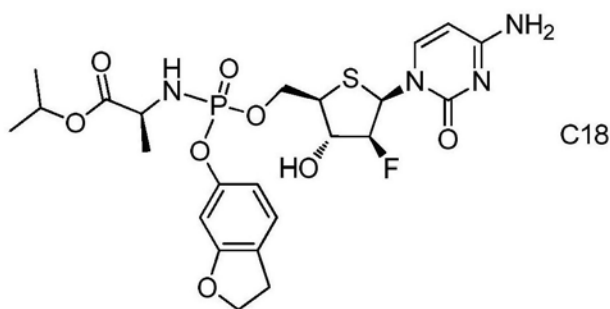
[0340] 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H), 1.16 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 6H)

[0341] ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.65

[0342] 实施例18

[0343] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(2,3-二氢苯并呋喃-6-基)氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C18)

[0344]



C18

[0345] 以三氯氧磷、6-羟基-2,3-二氢苯并呋喃、L-丙氨酸异丙酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用实施例1的类似方法制备化合物C18。

[0346] 其结构表征数据如下:

[0347] ESI-MS: 573.2 (M+1)

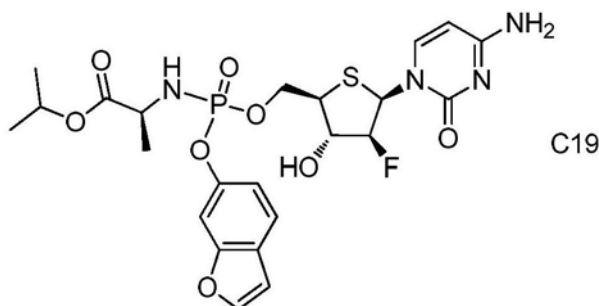
[0348] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.89 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 7.35 (bs, 1H), 7.26 (bs, 1H), 7.20-7.18 (m, 1H), 6.68-6.66 (m, 2H), 6.59-6.56 (m, 1H), 6.08-6.03 (m, 1H), 5.80-5.79 (m, 1H), 5.02-4.88 (m, 2H), 4.57 (t, $J=8\text{Hz}$, 3H), 4.60-4.55 (m, 2H), 4.36-4.32 (m, 1H), 3.80-3.75 (m, 1H), 3.47 (bs, 1H), 3.17-3.13 (m, 2H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H), 1.16 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 6H)

[0349] ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.20

[0350] 实施例19

[0351] (S)-异丙基2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-氟-3-羟基-四氢噻吩-2-基)甲氧基)(苯并呋喃-6-基氧基)磷酰基)氨基)丙酸酯 (C19)

[0352]



C19

[0353] 以三氯氧磷、6-羟基苯并呋喃、L-丙氨酸异丙酯盐酸盐、五氟苯酚和化合物A为原料,采用实施例1的类似方法制备化合物C19。

[0354] 其结构表征数据如下:

[0355] ESI-MS: 571.2 (M+1)

[0356] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 7.89 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.35 (bs, 1H), 7.26 (bs, 1H), 7.20-7.18 (m, 1H), 6.68-6.66 (m, 3H), 6.59-6.56 (m, 1H), 6.08-6.03 (m, 1H), 5.80-5.79 (m, 1H), 5.02-4.88 (m, 2H), 4.60-4.55 (m, 3H), 4.36-4.32 (m, 1H), 3.80-3.75 (m, 1H), 3.47 (bs, 1H), 1.23 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H), 1.16 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 6H)

[0357] ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162MHz) δ 4.35

[0358] 生物学实验

[0359] 实验例1:体外实验

[0360] 本实验例用于评价本发明的化合物对人胃癌NCI-N87、结直肠癌HCT-116、结直肠癌HCT-15、胰腺癌BxPC-3细胞株增殖抑制的有效性。

[0361] 1、实验细胞

[0362] 本实验采用肿瘤细胞株分别为：胃癌细胞NCI-N87(来源于广州吉妮欧生物科技有限公司)、结直肠癌细胞HCT-116(来源于成都安评中心)、结直肠癌细胞HCT-15和胰腺癌细胞BxPC-3(均来源于美国ATCC)。

[0363] 将上述细胞株体外单层培养,培养条件为各细胞的相应培养基(RPMI-1640、IMDM和L-15细胞培养基,厂家:Gibco)中加10%热灭活胎牛血清(Fetal Bovine Serum,厂家:Sigma),于37℃、含5%CO₂的培养箱中培养。用胰酶-EDTA进行消化处理传代。

[0364] 2、样品配制

[0365] 针对每种肿瘤细胞各设置空白组、溶媒组(含1%DMSO)及8个待测化合物浓度5nM、10nM、50nM、100nM、500nM、1000nM、5000nM和10000nM,每个浓度3个复孔。

[0366] 称取适量待测化合物,将其溶于DMSO(细胞培养级,Sigma)中,按需要浓度配制成不同浓度梯度的母液。孵育时,根据需要量稀释1000倍,配制不同药物浓度孵育液(化合物母液:含2%FBS培养基=1:1000)。

[0367] 3、实验方法

[0368] 如下采用CCK-8法进行实验:在96孔板中接种浓度为 $5\sim 10\times 10^4$ 个/ml的待测的肿瘤细胞100μl/孔,接种后将细胞在37℃,5%CO₂条件下培养24小时后,弃掉培养液,每孔加入不同药物浓度的孵育液200μl,继续孵育细胞72小时。孵育完成后,向待检测孔加入20μl/孔CCK-8溶液,在培养箱内继续孵育4小时。使用多功能全自动酶标仪,在检测波长450nm,参比波长650nm下进行双波长测定OD值。

[0369] 按以下公式计算肿瘤细胞生长的抑制率:抑制率=[(OD溶媒-OD空白)-(OD药物组-OD空白)]/(OD溶媒-OD空白)*100%

[0370] 根据抑制率用GraphPad prism 5.0软件拟合浓度-抑制率曲线,计算IC₅₀。

[0371] 图1显示,在上述8种浓度下实施例8的化合物(C8)对于胃癌细胞NCI-N87、结直肠癌细胞HCT-116、结直肠癌细胞HCT-15、胰腺癌细胞BxPC-3具有有效的抑制作用。本发明中各实施例化合物对各癌细胞的IC₅₀如表1-1至表1-4中所示。

[0372] 表1-1

[0373]

化合物	IC ₅₀ (μM)
	胃癌细胞 NCI-N87
C2	0.25
C8	0.483
C13	0.55
C14	0.18
C15	0.24
C16	0.30
C17	0.63
C19	0.35

[0374] 表1-2

[0375]

化合物	IC ₅₀ (μM)
	结直肠癌细胞 HCT-116
C8	0.485

[0376] 表1-3

[0377]

化合物	IC ₅₀ (μM)
	结直肠癌细胞 HCT-15
C2	2.97
C8	1.964
C14	9.78
C15	4.08

[0378] 表1-4

[0379]

化合物	IC ₅₀ (μM)
	胰腺癌细胞 BxPC-3
C2	1.28
C8	0.705
C14	2.82
C15	1.80
C16	1.15
C17	3.80
C18	2.74
C19	0.68

[0380] 实验结果显示,本发明的化合物对胃癌细胞NCI-N87的IC₅₀值的范围为0.1~1μM,对结直肠癌细胞HCT-116的IC₅₀值的范围为0.1~1μM,对结直肠癌细胞HCT-15的IC₅₀值的范围为0.5~10μM,对胰腺癌细胞BxPC-3的IC₅₀值的范围为0.1~5μM。因此,本发明的化合物对肿瘤细胞具有抑制活性。

[0381] 本发明实施例8的化合物(C8)具有有效的体外抗肿瘤效果,对胃癌细胞NCI-N87、结直肠癌细胞HCT-116、结直肠癌细胞HCT-15和胰腺癌细胞BxPC-3均具有优异的抑制作用。本发明实施例2、14和15的化合物分别对胃癌细胞NCI-N87、结直肠癌细胞HCT-15和胰腺癌细胞BxPC-3均具有优良的有效抑制作用。本发明实施例16、17和19的化合物对胃癌细胞NCI-N87和胰腺癌细胞BxPC-3均具有优良的有效抑制作用,本发明实施例13的化合物对胃癌细胞NCI-N87具有有效的抑制作用,本发明实施例18的化合物对于胰腺癌细胞BxPC-3具有有效的抑制作用。

[0382] 实验例2:体内活性实验

[0383] 本实验例用于评价本发明的化合物通过不同给药途径对人肿瘤细胞皮下移植瘤增殖的抑制有效性。

[0384] 示例地为,本实验例考察通过不同给药途径施用化合物C8后,对于人结直肠癌细胞株HCT-116和胃癌细胞株NCI-N87皮下移植瘤小鼠的肿瘤体积和动物体重的变化,由此测试各样品对结直肠癌HCT-116以及胃癌细胞NCI-N87荷瘤鼠的药效和毒性。

[0385] 1、实验细胞株

[0386] 胃癌细胞NCI-N87和结直肠癌细胞HCT-116均采用细胞体外单层培养,培养条件为RPMI 1640培养基中加10%热灭活胎牛血清,于37℃、含5%CO₂空气的培养箱中培养。用胰酶-EDTA进行消化处理传代。

[0387] 2、肿瘤细胞接种和分组

[0388] 分别接种肿瘤细胞至BALB/c裸鼠(SPF级,雌性,16-18g/只,约6-8周龄,北京维通利华实验动物技术有限公司)。

[0389] 每只裸鼠右侧腋下皮下接种约 2.5×10^6 个HCT-116肿瘤细胞或约 3×10^6 个NCI-N87

肿瘤细胞(悬浮于0.1ml PBS)。接种后待肿瘤生长至约100-200mm³范围时,剔除瘤体积过小(小于100mm³)或过大(大于200mm³)的裸鼠,将余下裸鼠进行随机分组。

[0390] 3、样品配制

[0391] 取碘丁基醚-β-环糊精,用生理盐水配制成10%的溶液,并经0.22μm无菌过滤器过滤除菌备用。

[0392] 称取适量待测化合物,分别加入DMSO,涡旋混匀后,再按需要浓度加入10%碘丁基醚-β-环糊精,涡旋混匀,并使DMSO终浓度为5%。吉西他滨注射液(阳性对照)直接用生理盐水稀释为所需浓度。配制含5%DMSO的10%碘丁基醚-β-环糊精作为溶媒空白对照。

[0393] 4、实验方法

[0394] 选择肿瘤体积约100-200mm³的荷瘤鼠,将其随机分为5组,8只/组,给药体积为10ml/kg,一周2次给药(静脉内给药(i.v.)或口服给药(p.o.)),共3周。给药后一周2次测量肿瘤体积和动物体重,每天观察动物死亡情况。

[0395] 5、实验指标

[0396] 5.1肿瘤体积:测量肿瘤直径,肿瘤体积的计算公式为: $V=0.5a \times b^2$,a和b分别表示肿瘤的长径和短径。抑瘤疗效用肿瘤生长抑制率(TGI)(%)评价。

[0397] $TGI(\%) = [1 - (V_{T末} - V_{T始}) / (V_{C末} - V_{C始})] \times 100\%$

[0398] 其中V_{T末}:处理组实验结束时肿瘤体积均值

[0399] V_{T始}:处理组给药开始时肿瘤体积均值

[0400] V_{C末}:溶媒对照组实验结束时肿瘤体积均值

[0401] V_{C始}:溶媒对照组给药开始时肿瘤体积均值

[0402] 5.2动物体重:每周2次称量动物体重。

[0403] 6、实验结果

[0404] 6.1对胃癌细胞NCI-N87实验结果

[0405] 6.1.1肿瘤消退情况

[0406] 与溶媒对照组和阳性对照吉西他滨注射液组相比,C8样品组能明显抑制肿瘤生长,并且不同途径给药均显示具有安全性和耐受性。

[0407] 各组肿瘤TGI及肿瘤消退情况如下表2所示。

[0408] 结果表明,C8组均使所有动物肿瘤完全消失,而吉西他滨注射液组2只动物的肿瘤完全消失,6只动物的肿瘤部分消失。

[0409] 表2:胃癌细胞NCI-N87模型中TGI及肿瘤消退情况

[0410]

组别	化合物	剂量 ($\mu\text{mol/kg}$)	给药 途径	TGI (%)	肿瘤消退情况
1	溶媒对照	--	i.v.	/	0
2	吉西他滨注射液	190	i.v.	107	2/8 CR, 6/8 PR
4	化合物 C8	190	i.v.	109	8/8 CR
5	化合物 C8	190	p.o.	110	8/8 CR

[0411] 注:CR表示肿瘤完全消失;

[0412] PR表示肿瘤部分消退,指与给药开始时相比,肿瘤体积缩小。

[0413] i.v.表示静脉内给药,

[0414] p.o.表示口服给药

[0415] 6.1.2动物体重变化及死亡情况

[0416] 观察结束时(末次给药后继续观察14天后),各组动物体重与给药开始时体重相比,均有增加;各组未出现动物死亡。结果如表3所示:

[0417] 表3:各组动物体重变化及死亡情况

[0418]	组别	化合物	剂量 ($\mu\text{mol/kg}$)	给药途径	动物体重变化
	1	溶媒对照	--	i.v.	+11.9%
[0419]	2	吉西他滨注射液	190	i.v.	+4.8%
	4	化合物 C8	190	i.v.	+8.1%
	5	化合物 C8	190	p.o.	+8.1%

[0420] 一方面,在胃癌细胞株NCI-N87荷瘤鼠实验中,与溶媒对照组相比,吉西他滨注射液组2只动物的肿瘤完全消失,6只动物的肿瘤部分消退;C8的静脉给药组和口服给药组中,所有动物肿瘤基本完全消失,表明C8处理组(i.v.和p.o.)肿瘤生长均明显被抑制。

[0421] 另一方面,各处理组无动物死亡。与给药开始时动物体重相比,各组动物体重均有不同程度增加。意外地发现在化合物C8处理组中,动物体重增加率约是吉西他滨注射液组的二倍,由此表明本申请的测试化合物既有显著药效,又具有更优异的安全性和耐受性,用药后机体更易恢复。

[0422] 6.2结直肠癌细胞HCT-116

[0423] 6.2.1肿瘤消退情况

[0424] 与溶媒对照组和阳性对照吉西他滨注射液组相比,化合物C8处理组能明显抑制肿瘤生长,并且具有优异的安全性和耐受性。

[0425] 各组肿瘤TGI及肿瘤消退情况如下表4所示。

[0426] 结果表明(末次给药后继续观察14天),化合物C8处理组(包括i.v.和p.o.)使1只动物的肿瘤完全消失,7只动物的肿瘤部分消退,而吉西他滨注射液组肿瘤无消退。

[0427] 表4:结直肠癌细胞HCT-116模型中TGI及肿瘤消退情况

组别	化合物	剂量 ($\mu\text{mol/kg}$)	给药 途径	TGI (%)	肿瘤消退情况
1	溶媒对照	--	i.v.	/	0
2	吉西他滨注射液	190	i.v.	92	0
4	化合物 C8	190	i.v.	111	1/8 CR, 7/8 PR
5	化合物 C8	190	p.o.	113	1/8 CR, 7/8 PR

[0429] 6.2.2动物体重变化及死亡情况

[0430] 观察结束时(末次给药后继续观察14天),除吉西他滨注射液组体重下降外(下降2.4%),其余各组动物体重与给药开始时体重相比,均有增加。各组未出现动物死亡。具体结果如下表5所示。

[0431] 表5:各组动物体重变化及死亡情况

[0432]

组别	化合物	剂量($\mu\text{mol/kg}$)	给药途径	动物体重变化	动物死亡
1	溶媒对照	--	i.v.	+8.6%	0
2	吉西他滨注射液	190	i.v.	-2.4%	0
4	化合物C8	190	i.v.	+7.4%	0
5	化合物C8	190	p.o.	+8.9%	0

[0433] 在结直肠癌细胞株HCT-116荷瘤鼠实验中,与溶媒对照组相比,吉西他滨注射液组肿瘤体积无消退;化合物C8处理组(包括静脉给药和口服给药)中,各组均有1只动物肿瘤完全消退,7只动物肿瘤部分消退,由此证明,化合物C8具有特别优异的体内抗肿瘤效果。同时,化合物C8具有良好的极性和脂溶性,改善了代谢性质和生物利用度。

[0434] 实验例3:体内活性实验

[0435] 1、实验细胞株及肿瘤细胞接种和分组

[0436] 采用类似于实验例2中1-2的方法进行胰腺癌BxPC-3细胞体外单层培养、接种和动物分组。

[0437] 2、样品配制

[0438] 取磺丁基醚- β -环糊精,用生理盐水配制成10%的溶液,并经0.22 μm 无菌过滤器过滤除菌备用。称取适量的待测化合物,加入DMSO,再按需要加入10%磺丁基醚- β -环糊精,使DMSO终浓度为2.5%。将吉西他滨注射液(阳性对照)用生理盐水稀释至所需浓度。配制含2.5%DMSO的10%磺丁基醚- β -环糊精作为溶媒对照。

[0439] 3、实验方法

[0440] 选择肿瘤体积100-200 mm^3 的荷瘤鼠,将其随机分为14组,7只/组,给药体积为

20ml/kg,每3天给药(静脉内给药(i.v.))1次,共给药4次。给药后一周2次测量肿瘤体积和动物体重,每天观察动物死亡情况。

[0441] 4、实验指标

[0442] 实验指标的计算统计参考实验例2。

[0443] 5、实验结果

[0444] 表6:对人胰腺癌BxPC-3裸小鼠皮下移植瘤的疗效

[0445]

化合物	剂量 (mmol/kg)	给药途径	TGI (%)
溶媒对照	/	i.v.	-
吉西他滨注射液	0.04	i.v.	-2.2
化合物C8	0.04	i.v.	26.9
吉西他滨注射液	0.12	i.v.	28.9
化合物C8	0.12	i.v.	74.9
吉西他滨注射液	0.24	i.v.	45.5
化合物C8	0.24	i.v.	82.9

[0446] 由上表可以看出,本发明的化合物C8在不同剂量下均可有效抑制人胰腺癌BxPC-3裸小鼠皮下移植瘤的生长,并且化合物C8的药效明显优于吉西他滨注射液。

[0447] 实验例4:体内活性实验

[0448] 1、实验细胞株、肿瘤细胞接种和分组以及样品配制

[0449] 采用类似于实验例2中1-3的方法进行胰腺癌BxPC-3细胞体外单层培养、接种和动物分组以及样品配制。

[0450] 2、实验方法

[0451] 选择肿瘤体积80-250mm³的荷瘤鼠,将其随机分为6组,8只/组,给药体积为10ml/kg。给药后一周2次测量肿瘤体积和动物体重,每天观察动物死亡情况。

[0452] 3、实验指标

[0453] 实验指标的计算统计参考实验例2。

[0454] 4、实验结果:

[0455] 每周给药2次,共给药3周,实验结果如表7-1中所示

[0456] 表7-1:对人胰腺癌BxPC-3裸小鼠皮下移植瘤的疗效

[0457]

化合物	摩尔剂量 (mmol/kg)	给药途径	TGI (%)
溶媒对照	/	p.o.	/
化合物 C8	0.06	p.o.	47.7
吉西他滨注射液	0.12	i.v.	23.6
化合物 C8	0.12	p.o.	53.2

[0458] 每周给药1次(静脉内给药(i.v.)或口服给药(p.o.)),共给药3周,实验结果如表7-2中所示。

[0459] 表7-2:对人胰腺癌BxPC-3裸小鼠皮下移植瘤的疗效

[0460]

化合物	摩尔剂量 (mmol/kg)	给药途径	TGI (%)
吉西他滨注射液	0.23	i.v.	23.6
化合物C8	0.23	p.o.	51.0

[0461] 在本实验中,本发明的化合物C8在不同剂量下均可有效抑制人胰腺癌BxPC-3裸小鼠皮下移植瘤的生长,并且化合物C8的药效明显优于吉西他滨注射液,同时化合物C8表现出优异的口服有效性。由于口服是更易为患者接受的给药途径,因此,本发明的化合物C8改善了患者的耐受性。

[0462] 实验例5:体内活性实验

[0463] 1、实验细胞株及肿瘤细胞接种和分组

[0464] 采用类似于实验例2中1-2的方法进行胰腺癌细胞Capan-1细胞体外单层培养、接种和动物分组。

[0465] 2、样品配制

[0466] 样品配制与实验例2中相同。

[0467] 3、实验方法

[0468] 选择肿瘤体积100-200mm³的荷瘤鼠,将其随机分为7组,7只/组,给药体积为20ml/kg,每3天给药1次(静脉内给药(i.v.)或口服给药(p.o.)),共给药6次。给药后一周2次测量肿瘤体积和动物体重,每天观察动物死亡情况。

[0469] 4、实验指标

[0470] 实验指标的计算统计与实验例2相同。

[0471] 5、实验结果:

[0472] 表8:对人胰腺癌Capan-1裸小鼠皮下移植瘤的疗效

化合物	剂量(mmol/kg)	给药途径	TGI (%)
溶媒对照	-	p.o.	-
吉西他滨注射液	0.02	i.v.	15.4
吉西他滨注射液	0.19	i.v.	78.9
化合物 C8	0.02	p.o.	25.6
化合物 C8	0.06	p.o.	79.1
化合物 C8	0.19	p.o.	138.5

化合物 C8	0.06	i.v.	81.8
--------	------	------	------

[0475] 由上表可见,本发明的化合物C8在不同剂量下均有效抑制人胰腺癌Capan-1裸小鼠皮下移植瘤的生长,并且化合物C8的药效明显优于吉西他滨注射液,同时化合物C8口服给药和静脉内给药均以超过其三倍剂量给药的吉西他滨的药效。

[0476] 实验例6:体内活性实验

[0477] 参照实验例5的方法进行本实验。

[0478] 选择肿瘤体积100-200mm³的荷瘤鼠,将其随机分为4组,6只/组,给药体积为10ml/kg,每3天给药1次(静脉内给药(i.v.)或口服给药(p.o.)),共给药6次。给药后一周2次测量肿瘤体积和动物体重,每天观察动物死亡情况。

[0479] 表9:对人胰腺癌PANC-1裸小鼠皮下移植瘤的疗效

[0480]

化合物	剂量 (mmol/kg)	给药途径	TGI (%)
溶媒对照	—	p.o.	—
吉西他滨注射液	0.06	i.v.	64.4
化合物C8	0.06	p.o.	155
化合物C8	0.19	p.o.	195

[0481] 由上表可见,本发明的化合物C8在不同剂量下均有效抑制人胰腺癌PANC-1裸小鼠皮下移植瘤的生长,并且其药效显著优于吉西他滨注射液。

[0482] 实验例7:毒理学实验

[0483] 本实验例用于证实本发明的化合物具有显著提高的安全性效果。

[0484] (一)小鼠7天口服毒性实验方法

[0485] 将正常昆明小鼠 (SPF级、四川省中医药科学院实验动物中心) 雌雄分别按体重随机分组。将测试化合物及溶媒对照参照实验例2中进行配制,给药体积为10ml/kg,灌胃给药,每天1次,连续7天。

[0486] 本实验中显示的死亡及临床症状详见表10。

[0487] 表10:小鼠7天重复给药实验的死亡及临床观察结果

[0488]

组别	样品	剂量 (mg/kg)	摩尔剂量 (μ mol/kg)	结果 (3 雄+3 雌)
1	纯化水	0	0	未见异常

[0489]

2	溶媒对照	0	0	未见异常
3	化合物 C8	~6	~12	未见异常
4	化合物 C8	~20	~38	未见异常
5	化合物 C8	~41	~77	1 只弓背, 后恢复
6	化合物 A	~20	~77	全部动物均出现严重异常症状, 死亡 2 只

[0490] 根据上表,化合物A在约77 μ mol/kg下的毒性反应导致动物部分死亡,而化合物C8在非常高剂量下 (~115 μ mol/kg) 时才出现化合物A在约77 μ mol/kg剂量下导致的死亡情形;而且,化合物C8在约77 μ mol/kg下动物存活,显示该化合物在小鼠口服给药中毒性作用小且小鼠可以恢复,由此验证化合物C8在小鼠口服给药中有减弱的毒性作用。

[0491] (二)小鼠7天静脉给药毒性实验

[0492] 本实验考察对正常KM小鼠连续7天静脉给药化合物C8后的毒性反应。

[0493] 实验方法:

[0494] 将检疫合格的KM小鼠随机分为4组,3只/性别/组。将测试化合物及溶媒对照参照

实验例2中进行配制,给药体积为10ml/kg,剂量详见表11。给药后每天观察动物死亡情况、外观、行为、精神状态、分泌物、排泄物等,连续观察7天,第8天解剖。

[0495] 表11:给药剂量

[0496]	组别	药物	剂量 (mg/kg)	摩尔剂量 ($\mu\text{mol/kg}$)	动物数
	1	生理盐水	0	0	3 雄+3 雌
	2	溶媒对照	0	0	3 雄+3 雌
	3	化合物 C8	60.9	115.38	3 雄+3 雌
	4	化合物 A	20	76.92	3 雄+3 雌

[0497] 实验结果:

[0498] 生理盐水组及溶媒组各检测指标没有显著差异。

[0499] 化合物A处理组在第8天动物出现弓背、消瘦等症状,而第3组的化合物C8处理组未见相关异常。化合物A处理后体重逐步降低,至第8天,雌、雄小鼠的体重分别降低20.2%和18.1%;而化合物C8处理组给药后体重逐步增加,至第8天,雌、雄小鼠体重分别增加13.1%和26.7%。第8天解剖时,与溶媒组相比,化合物C8处理组中雌雄动物的白细胞分别降低45%和49%,血小板分别降低43%和39%;而化合物A处理组雌雄动物的白细胞分别降低83%和87%,血小板分别降低71%和77%。

[0500] 基本如上所述方法测定全部实施例化合物,发现本发明的实施例化合物在毒性实验中基本表现出优于吉西他滨注射液和化合物A的安全性。

[0501] 如上所述测定实施例化合物,发现本发明中制备的化合物无论是静脉给药还是口服给药均具有非常良好的体内抗肿瘤药效,使肿瘤消失或部分消退。更出乎意料的是,将本发明的化合物采用两种不同给药途径获得的药效均优于吉西他滨注射液(吉西他滨注射液组肿瘤无消退或消退数量少),完全克服了吉西他滨的口服生物利用度差的缺陷。

[0502] 意外地发现,吉西他滨注射液组动物体重在实验过程中出现下降,表明其对受试动物具有一定损伤;而本发明的实施例化合物实验组的动物体重在实验过程中均增加,由此证实本发明的化合物在不同组动物中均表现出更好的耐受性和安全性。

[0503] 综上,本发明的4'-硫代-2'-氟代核苷类化合物具有非常优异的药效,与母核化合物(化合物A)相比,增加了脂溶性,提高了生物利用度,减少了刺激性并改善了吸收,解决了代谢速度方面的问题,最关键的突破是显著降低毒性,提高安全性;并且以不同的给药途径(静脉内或口服)给药均有效。

[0504] 上述具体实施方式对本发明作进一步的详细描述。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实施例,凡基于本发明内容所实施的技术方案均落入于本发明的范围。

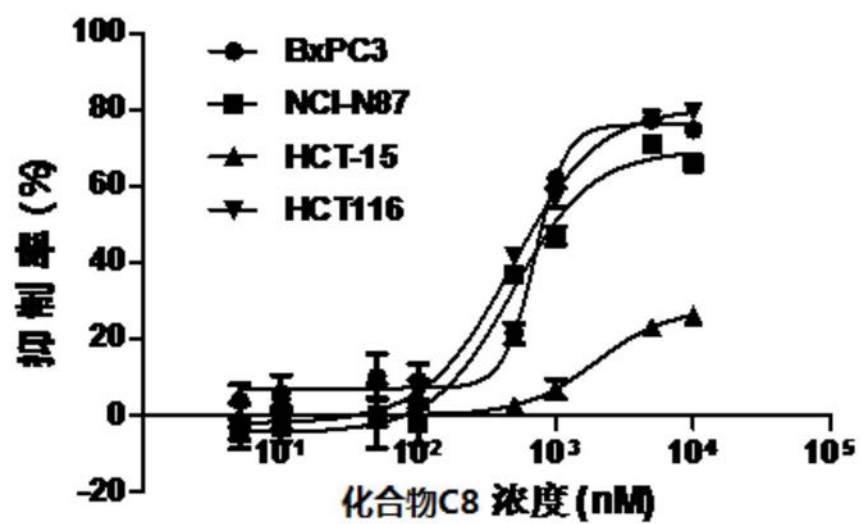


图1