

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 93103187

※ 申請日期： 93.2.11

※IPC 分類： C7H 1/50 (2006.01)
19/14 (2006.01)

壹、發明名稱：(中文/英文)

C1D 487/04 (2006.01)

分支核糖核苷之製法

PROCESS TO BRANCHED RIBONUCLEOSIDES

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商默克大藥廠

MERCK & CO., INC.

代表人：(中文/英文)

唐娜 L 瑪吉歐圖

MARGIOTTO, DONNA L.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國新澤西州雷維市東林肯大道126號

126 EAST LINCOLN AVENUE RAHWAY, NJ 07065, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

參、發明人：(共 7 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 吳 芬
XU, FENG
2. 馬修 M 拜歐
BIO, MATTHEW M.
3. 卡麥隆 J 考登
COWDEN, CAMERON J.
4. 金伯利 A 沙維瑞
SAVARY, KIMBERLY A.
5. 約翰 M 威廉
WILLIAMS, JOHN M.
6. 楊忠華
YANG, CHUNHUA
7. 瑪瓊利 希 瓦特
WATERS, MARJORIE SEE

住居所地址：(中文/英文)

- 1.-7. 均美國新澤西州雷維市東林肯大道126號
126 EAST LINCOLN AVENUE, RAHWAY, NEW JERSEY 07065,
U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

- 1.-7. 均美國 U.S.A.

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項 ☐ 第一款但書或 ☐ 第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☒ 本案申請前已向下列國家(地區)申請專利：

1. 美國；2003年02月12日；60/446,935
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

☒ 主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國；2003年02月12日；60/446,935
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

☐ 主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

- 1.
- 2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

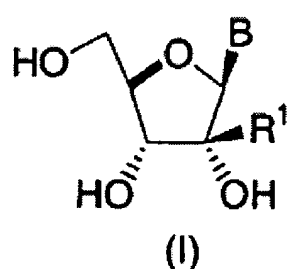
☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

成路線", J. Org. Chem., 62: 1754-1759 (1997); Y. Murai等, "2'-C-、3'-C-和5'-C-甲基桑吉瓦黴素之合成與X射線分析", Heterocycles, 33: 391-404(1992); J. Wolf等, Synthesis, 773-778 (1992); 及 M. Gallo等, "2'-修飾的核苷之合成" Molecules, 5: 727-729 (2000)。雖然在此等文獻中揭示之合成方法足以製備少量所欲之分支核糖核苷, 但其在關鍵的糖基化步驟中遭遇產量低且不穩定之缺點, 該糖基化步驟係用於將核苷鍵精製成具立體選擇性形式, 因此從經濟角度考慮批量生產千克級量之臨床前和臨床使用產品不能經得起檢驗。

本發明提供一種製備2'-C-烷基核糖核苷之新穎方法, 此2'-C-甲基核糖核苷係指用於治療HCV感染之HCV聚合酶抑制劑。

【發明內容】

本發明係關於化學式I之2'-C-烷基核糖核苷之製備方法：

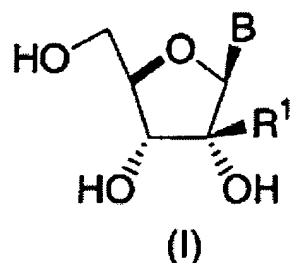


其中, R^1 為 C_{1-6} 烷基, B 為選自由下列所構成之群組之嘌呤或嘧啶核酸鹼基, 其包括: 胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、次黃嘌呤、腺嘌呤、鳥嘌呤、7-去氮鳥嘌呤(7-deazaguanine)、7-去氮腺嘌呤(7-deazaadenine)、7-去氮-2,6-二氨基嘌呤(7-deaza-2,6-diaminopurine)、及 7-去氮次黃嘌呤

(7-deazahypoxanthine)。

【實施方式】

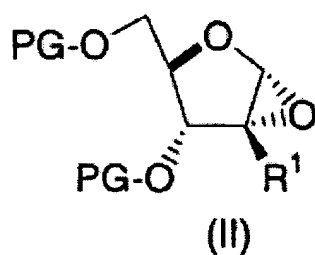
本發明之方法係關於化學式I之化合物之製備：



其中， R^1 為 C_{1-6} 烷基，B為選自由下列所構成之群組之嘌呤或嘧啶核酸鹼基，其包括：胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、次黃嘌呤、腺嘌呤、鳥嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、7-去氮-2,6-二氨基嘌呤、及7-去氮次黃嘌呤；

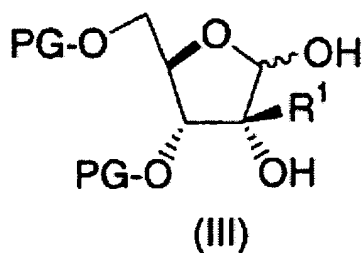
包括下列步驟：

a)製備化學式II之化合物：

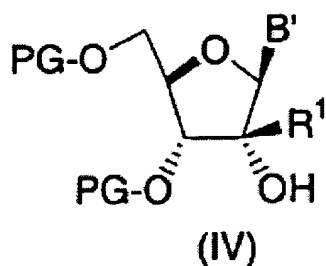


(其中，PG為一種羥基保護基團)，

藉由用磺醯化或鹵化試劑在有鹼存在之適宜有機溶劑中處理化學式III之化合物製得，其中該鹼在用該磺醯化或鹵化試劑處理前、處理中或處理後加入；

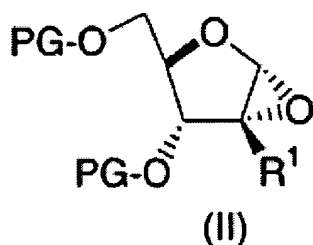


b) 製備化學式IV之化合物：



(其中，B'為視需要保護之B)，

藉由將化學式II之化合物與親核劑B'在適宜之有機溶劑中接觸而製得；

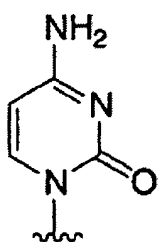


及

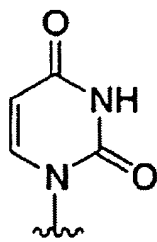
c) 去除羥基保護基PG及視需要B'中之保護基，得到化學式I之化合物。

在本發明方法之一具體實施例中，B為鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤或7-去氮腺嘌呤。在此類具體實施例中，B為7-去氮腺嘌呤。在本發明方法之另一具體實施例中，R¹為甲基。在此類具體實施例中，B為7-去氮腺嘌呤。

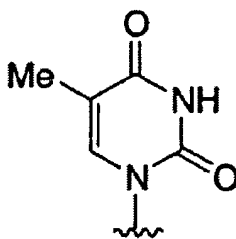
本發明各種核酸鹼基之代表結構表示如下：



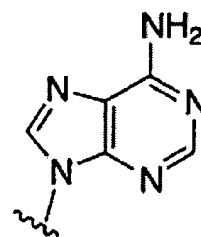
胞嘧啶



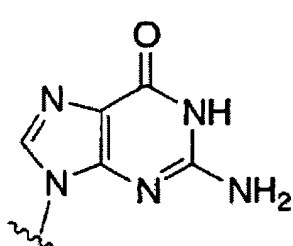
尿嘧啶



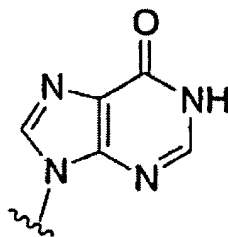
胸腺嘧啶



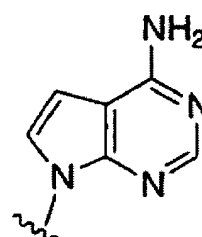
腺嘌呤



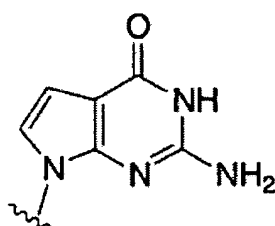
鳥嘌呤



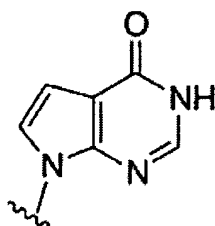
次黃嘌呤



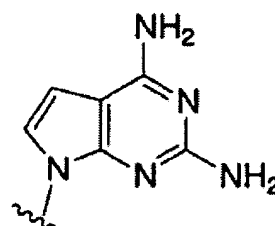
7-去氮腺嘌呤



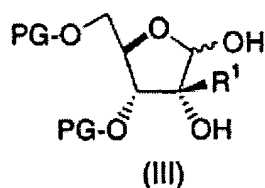
7-去氮鳥嘌呤



7-去氮次黃嘌呤

7-去氮-2,6-二
氨基嘌呤

本發明方法之起始點為化學式III之化合物：



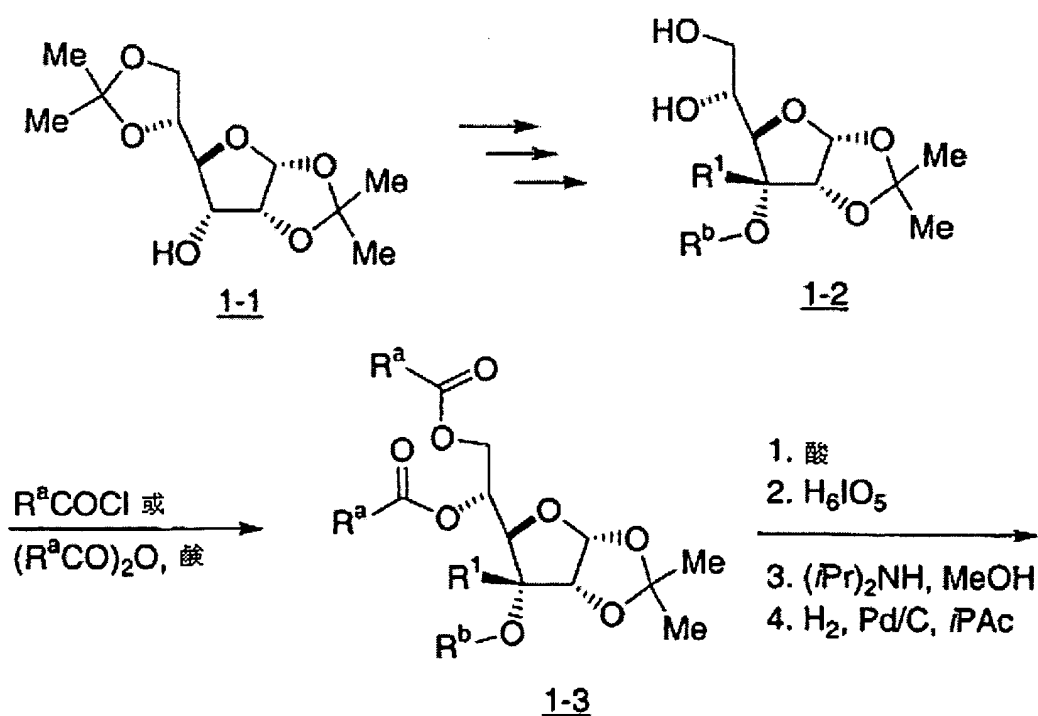
其中，PG為羥基保護基。PG可為酯、甲矽烷基醚或二苄醚 (benzyl ether) 保護基。二苄醚保護基可以被1至2個獨立選自：鹵素、氰基、甲基、硝基和甲氧基之基團所取代。中間體III(其中PG為視需要取代之二苄醚)可以根據PCT國際專利申請號 WO 02/057425(2002年7月25日)和 WO

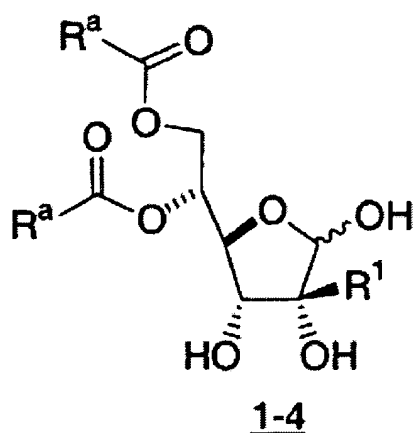
02/057287(2002年7月25日)中描述之方法製備。

一種酯保護基之具體實施例為未被取代或被1至2個基團取代之苯甲酸酯，此等基團獨立選自鹵素、氰基、甲氧基、硝基和甲基。在此類具體實施例中，取代之苯甲酸酯係為對-苯甲酸甲酯(對-甲苯酸酯(*p*-toluate ester))。用於保護糖羥基之甲矽烷基醚包括但不限於三甲基甲矽烷基醚(trimethylsilyl ether)(TMS ether)，三乙基甲矽烷基醚(triethylsilyl ether)(TES ether)、三異丙基甲矽烷基醚(triisopropylsilyl ether)(TIPS ether)、第三丁基二甲基甲矽烷基醚(*t*-butyldimethylsilyl ether)(TBDMS ether)，及第三丁基二苯基甲矽烷基醚(*t*-butyldiphenylsilyl ether)(TBDPS ether)。用於保護糖羥基之二苄醚係包括苄基、4-氯苄基、4-甲氧基苄基和2,4-二氯苄基。

化學式 III 之化合物(其中 PG 為酯保護基，諸如視需要保護之苯甲酸酯)可以根據方案 1 中描述之步驟製備。

方案 1





一種中間體 1-2 之有效製劑 (其中 R^1 為甲基，及 R^b 為苄基) 由 M. Funabashi 等描述於 Carbohydrate Research (44 卷，275-283 頁 1975 年) 中。

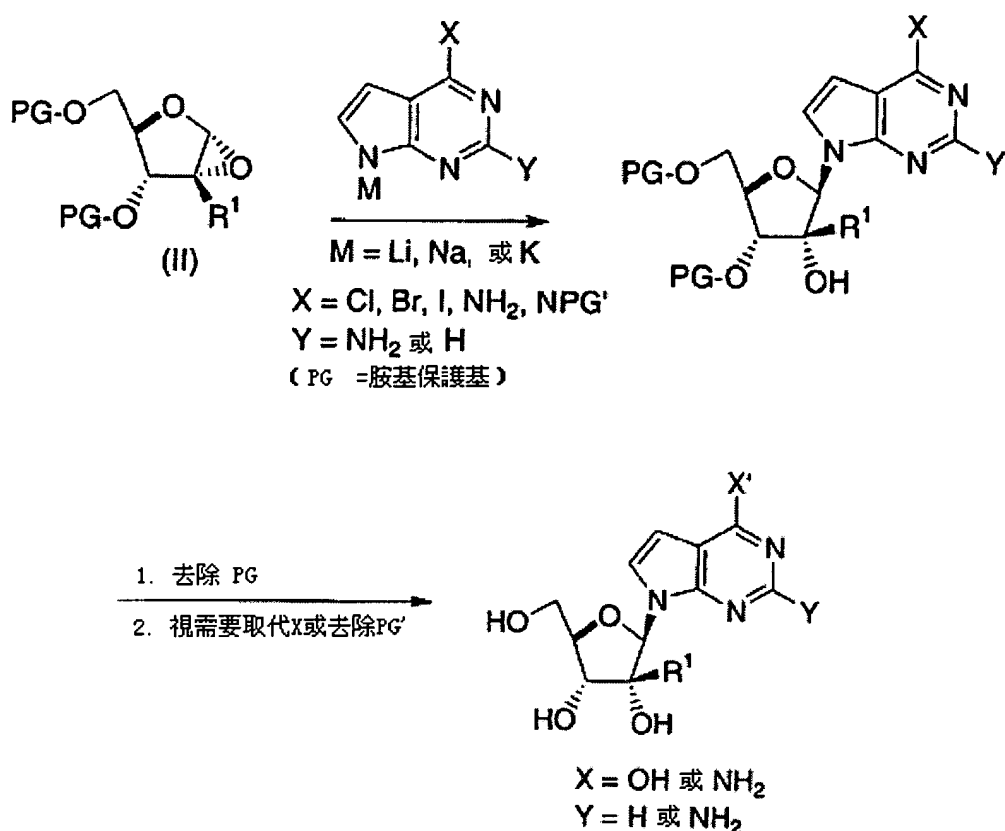
本發明方法之第一步係為構建化學式 II 之 1,2-呋喃核糖酐 (1,2-anhydroribofuranose) 中間體。1,2-酐 (環氧化物) 作為糖基化試劑以提供所需要之分支核糖核苷呈立體選擇形式。藉由用磺醯化或鹵化試劑在有鹼 (諸如胺、脒或胍基) 存在之適宜有機溶劑中處理化學式 III 之化合物之 1,2-二元醇，或先以磺醯化或鹵化試劑在適宜有機溶劑中處理，然後用適宜鹼 (諸如受阻鹼金屬醇鹽，諸如第三丁醇鉀) 處理來完成二元醇到環氧化物之轉化。從二元醇形成環氧化物係在約 -10 至約 50°C 溫度下進行。有效促成 1,2-酐形成之磺醯化試劑包括但不僅限於甲基磺醯氯、三氟甲基磺醯氯、苯磺醯氯、對-甲苯磺醯氯及相對應之磺酸酐。鹵化試劑包括溶於乙酸中之亞硫醯氯、草醯氯及鹵化氫 (溴化氫和氯化氫)。胺基之具體實施例包括三乙基胺、吡啶、4-(二甲胺) 吡啶 (DMAP)、*N,N*-二異丙基乙胺和二異丙胺；脒或胍基之實施例包括 1,5-二氮雜雙環 [4,3,0] 壬-5-烯和 1,1,3,3-四甲基

胍。二元醇到環氧化物之轉化在適宜有機溶劑中進行，諸如二氯甲烷、三氯甲烷、1,2-二氯乙烷、乙酸乙酯、乙酸異丙酯(*i*PAC)、四氫呋喃、苯、甲苯、二乙醚、乙腈、*N,N*-二甲基甲醯胺(DMF)、*N,N*-二甲基乙醯胺(DMAC)及1,3-二甲基-3,4,5,6-四氫-2(1*H*)-嘓啉酮(DMPU)及其混合物。另一選擇為，在與磺醯化或鹵化試劑反應後加入鹼。由此得到之環氧化物再於約15至100°C溫度下以適當被保護的核酸鹼基親核劑處理，得到所需之被保護的2'-*C*分支核糖核苷。

當B代表7-去氮腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤或7-去氮次黃嘌呤時，核苷連接可藉由以適宜取代的1*H*-吡咯並[2,3-*d*]嘓啉(諸如適宜取代之4-鹵-1*H*-吡咯並[2,3-*d*]嘓啉或選擇地保護之4-胺基-1*H*-吡咯並[2,3-*d*]嘓啉)之金屬鹽(諸如鋰、鈉或鉀)處理化學式II之環氧化物構建成，該適宜取代的1*H*-吡咯並[2,3-*d*]嘓啉之金屬鹽可藉由於適當無水有機溶劑(諸如乙腈、二乙醚、四氫呋喃、1-甲基-2-吡咯酮、*N,N*-二甲基甲醯胺(DMF)，*N,N*-二甲基乙醯胺(DMAC)及其混合物)中以鹼金屬氫化物(諸如氫化鈉)、鹼金屬氫氧化物(諸如氫氧化鉀)、鹼金屬醇鹽(諸如第三丁醇鉀)、鹼金屬碳酸鹽或碳酸氫鹽(諸如碳酸鉀或碳酸氫鈉)或胺基鹼金屬(諸如六甲基二矽胺烷鈉及二異丙胺基鋰)處理而原位形成。取代反應可藉由用相轉移催化劑諸如TDA-1或三乙基苄基氯化銨(triethylbenzylammonium chloride)在兩相系統(固-液或液-液)中催化進行。然後化學式IV之保護核苷中之保護基根據已經建立之去保護方法予以斷裂，此等方法諸如T.W.

Greene和P.G.M. Wuts等在"有機合成中之保護基團"第3版(John Wiley & Sons, 1999年)中之描述。可藉由用酒精氨或液態氨處理4-鹵中間體來在吡咯[2,3-*d*]嘧啶環的4-位置引入一級胺基團。此等條件也將斷裂在糖殘基3-位置和5-位置上之酯保護基。藉由用諸如氫氧化鈉水溶液之鹼水水解4-鹵中間體可以衍生出化合物7*H*-吡咯[2,3-*d*]嘧啶-4(3*H*)-酮(7-去氮鳥嘌呤)。此等條件也可斷裂糖殘基3-位置和5-位置上之酯保護基。如果視需要保護之4-胺基-1*H*-吡咯[2,3-*d*]嘧啶被用於親核取代反應來產生核苷鍵，那麼胺保護基要在糖殘基保護基斷裂前、斷裂後或斷裂時斷裂。舉例說明，當PG代表一種酯保護基並且核酸鹼基上的4-胺基被保護成如其N-吡啶亞胺衍生物時，全部3個保護基可藉由用氨或烷基胺(諸如*n*-丁胺)、純品或在有醇溶劑(諸如甲醇和乙醇)存在時處理而同時斷裂。

除如同N-吡啶亞胺衍生物保護以外，任何核酸鹼基之胺基都可被保護成其鹽胺(諸如視需要取代之*N*-乙鹽基和*N*-苯甲鹽基)、胺基甲酸酯(諸如第三丁基、苄基、9-芴甲基和胺基甲酸烯丙酯)及亞胺衍生物[諸如*N*-(*N'*,*N'*-二甲基胺基亞甲基)胺、*N*-(甲氧基亞甲基)胺和視需要取代之*N*-苯亞甲胺(*N*-benzylideneamine)。



當B代表嘧啶核酸鹼基尿嘧啶或胸腺嘧啶時，其雙-O-三甲基甲矽烷化衍生物可用作為與化學式II之環氧化物反應之親核劑。可用N,O-雙(三甲基甲矽烷基)乙醯胺在原位生成此核酸鹼基甲矽烷化衍生物來促成甲矽烷基到核酸鹼基的轉移。當B代表胞嘧啶時，具N⁴-乙醯基或N⁴-苯甲醯-胞嘧啶之N,O-雙(三甲基矽烷)衍生物可用作為親核劑。偶聯反應在Vorbrüggen(Chem.Ber., 114:1279 (1981))描述之全矽烷化(persilylation)條件下進行，視需要在有Lewis酸諸如四氯化錫、氯化鋅和三甲基矽烷基三氟代甲烷磺酸鹽(TMSOTf)存在時，在有機溶劑諸如乙腈、四氫呋喃、二乙醚和二氯甲烷中進行。然後藉由用甲醇氨(methanolic ammonia)處理衍生之核苷來斷裂胞嘧啶胺保護基(乙醯基或苯甲醯基)，此等條件也將斷裂糖羥基上之任何酯保護基。

當B代表腺嘌呤時，甲矽烷化之 N^6 -乙醯基或 N^6 -苯甲醯腺嘌呤可以用作為親核劑，並且偶聯反應採用上述Vorbrüggen之全矽烷化條件進行。然後藉由用甲醇氨處理衍生之核苷來斷裂腺嘌呤胺保護基(乙醯基或苯甲醯基)，此等條件也將斷裂糖羥基上之任何酯保護基。

當B代表鳥嘌呤時，甲矽烷化之2-(乙醯胺基)-9H-嘌呤6-基胺基甲酸二苯酯可以用作為親核劑，並且偶聯反應採用上述Vorbrüggen之全矽烷化條件進行。然後藉由用甲醇氨或水合肼處理衍生之核苷來斷裂鳥嘌呤胺和羥基保護基(分別為乙醯基和二苯胺羰基)，此等條件也將斷裂糖羥基上之任何酯保護基。

採用本發明新穎方法之典型實驗步驟詳述如下。以下之實例僅作為說明標的提供，並不旨在將本發明之方法限制於製備此化合物之特殊條件。

鹵素表示氟、氯、溴或碘。"Phth"表示鄰苯二甲醯基。

位於化學式III中間體之呋喃環端基異構位置之"波紋形"鍵旨在表示該手性中心未確定之立體化學構型。因此，本發明之方法旨在包含化學式III之中間體之個別 α 和 β -端基異構體及其所有混合物作為本方法之起始物質。

所有X-射線圖形都獲自Philips 3100繞射儀，利用Cu $K\alpha$ 輻射，從 2° 至 $40^\circ(2\theta)$ ，收集時間為8分鐘。全部DSC溫譜圖採自TA 2920微差掃描熱卡計，於氮氣中以 $10^\circ\text{C}/\text{分鐘}$ 之速度加熱。碳-13 CPMAS核磁共振(NMR)光譜獲自Bruker DSX 400WB NMR系統，採用Bruker 4毫米雙共振CPMAS探頭，

於15.0千赫茲旋轉樣品。核磁共振實驗包括具有多振幅交叉極化之 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 交叉極化魔角旋轉。總共從光譜收集到512個掃描，接觸時間為2.0毫秒，迴圈延遲為5秒。 ^{13}C 光譜以TMS為參照，採用甘胺酸之羰基碳(176.03 ppm)作為第二參照。在Perkin-Elmer TGA-7熱分析儀系列上進行熱重量分析(TGA)，加熱速度為 $10^\circ\text{C}/\text{分鐘}$ ，並伴隨氮清洗。

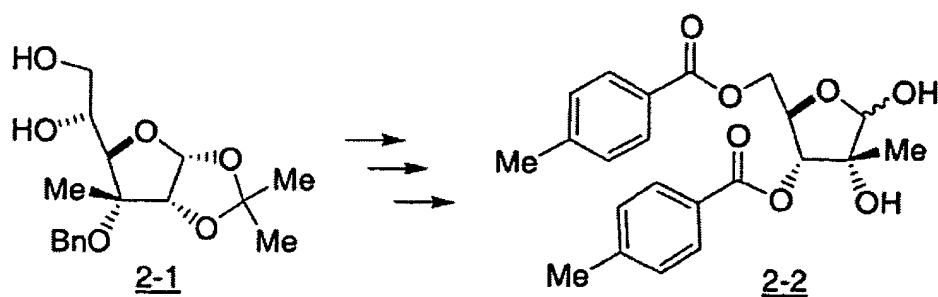
實例 1

4-胺基-7-(2-*C*-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7*H*-吡咯並[2,3-*d*]嘧啶(2'-*C*-甲基-7-去氮腺苷)(4-3)

中間體製備：

1. 2-*C*-甲基-3,5-二-*O*-(對-甲苯醯)-D-呋喃核糖(2-2)

方案 2



在3-*O*-苄基-1,2-*O*-異亞丙基-3-*C*-甲基- α -D-呋喃阿洛糖(allofuranose)(2-1)(其製備見 Carbohydr. Res., 44: 275-283 (1975))(5.0千克, 15.4莫耳)和吡啶(3.7千克, 46.2莫耳)於35升乙腈之溶液中加入對-甲苯醯氯(5.2千克, 33.9莫耳), 反應在 $50-55^\circ\text{C}$ 加熱進行12小時。在 $50-55^\circ\text{C}$ 加入6.0升(46.2莫耳)重量比為48%之 HBF_4 (四氟硼酸)於9升水之溶液。2小時後, 餾出10升乙腈, 並加入10升乙腈。在轉化率為97%時,

餾出10升乙腈，將反應溶液冷卻至0-5℃。加入過碘酸(4.2 千克，18.5莫耳)於10升水中之溶液。當反應老化30分鐘時，加入35升乙酸異丙酯和10升水。用25升水洗滌有機相，然後用20升液體碳酸氫鈉、15升5%的硫代硫酸鈉水溶液及15升水洗滌。濃縮乙酸異丙酯溶液至10-15升，加入40升甲醇。溶液冷卻至0℃並加入二異丙胺(0.78 千克，7.7莫耳)。在0℃下2天後，在0-5℃下加入鹽酸(1 N，7.7升)，然後加入30升乙酸異丙酯和40升水。用1 N之鹽酸、碳酸氫鈉和鹽水洗滌有機相。藉由共沸蒸餾以及活性碳處理來乾燥有機相。用乙酸異丙酯將藉由過濾除去活性碳後得到之溶液稀釋至75升，並且氫化處理(45磅/平方英寸，50℃，1.5 千克10% Pd/C)24小時。濃縮濾出液至15升，並在50℃溫度下加入60升庚烷。藉由用10升20%乙酸異丙酯之庚烷溶液洗滌過濾來分離結晶產物。乾燥後得到4.03 千克所需要之二元醇 2-2。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 在氘代三氯甲烷中 $\alpha:\beta$ 異構體之比率約為5比1。對於主要異構體: δ 7.95-7.90 (m, 4H), 7.26(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.17(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 5.53(d, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.22(d, $J=2.8$ Hz, 1H), 4.65-4.49(m, 3H), 3.08(d, $J=3.2$ Hz, 1H), 2.44(s, 3H), 2.38(s, 3H), 2.26(s, 1H), 1.44(s, 3H) ppm; 對於次要異構體: δ 7.95-7.90(m, 4H), 7.27(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.22(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 5.16(d, $J=5.6$ Hz, 1H), 5.12(d, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.66-4.49(m, 3H), 3.54(d, $J=5.6$ Hz, 1H), 2.91(s, 1H), 2.43(s, 3H), 2.40(s, 3H), 1.44(s, 3H) ppm.

^{13}C NMR(CDCl_3 , 100 MHz): δ 166.6, 166.3, 165.9, 165.7, 144.6, 144.3, 143.8, 143.7, 129.9, 129.7, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0, 127.0, 126.9, 126.4, 126.2, 102.9, 100.8, 79.8, 79.2, 78.7, 76.9, 76.5, 76.4, 65.5, 64.0, 23.5, 21.7, 21.6 及 20.0 ppm。

2. 4-苯二甲醯亞胺基-7H-吡咯並[2,3-d]嘧啶(3-2)

方案 3

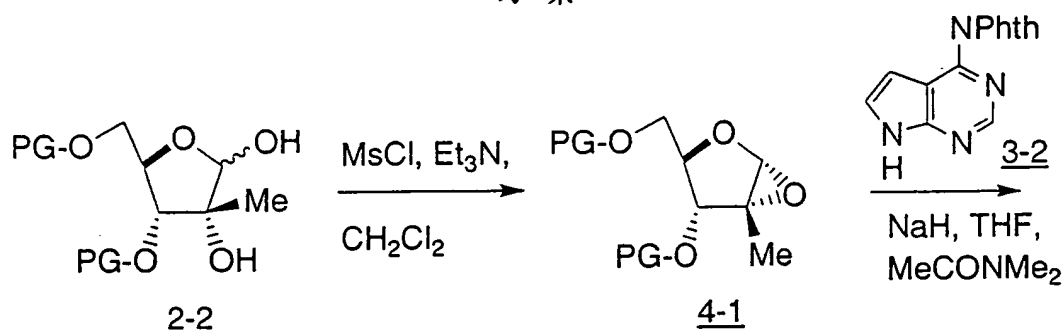


在一個250毫升裝配有瓶頂攪拌器、氮入口和熱電偶之三頸圓底燒瓶中裝入50毫升乾燥 N,N -二甲基乙醯胺，然後加入5.0克7H-吡咯並[2,3-d]嘧啶-4-胺(**3-1**)[J. Davoll, J. Chem. Soc., 131-138 (1960)]和11.6克鄰苯二甲酰。由此得到之混合物加熱至 80°C 持續8小時，然後冷卻至 10°C 。保持溫度低於 15°C 並加入水(40毫升)。由此得到之漿液老化4小時，然後過濾，濾紙用20毫升1:1(體積比)之二甲基乙醯胺/水洗滌，然後用30毫升水洗滌。將塊狀物吸乾，然後用50毫升乙酸乙酯洗滌。固體物在 40°C 溫度下氮氣吹掃真空乾燥，得到8.1克4-苯二甲醯亞胺基-7H-吡咯並[2,3-d]嘧啶(**3-2**)：熔點為 $276-277^\circ\text{C}$ 。

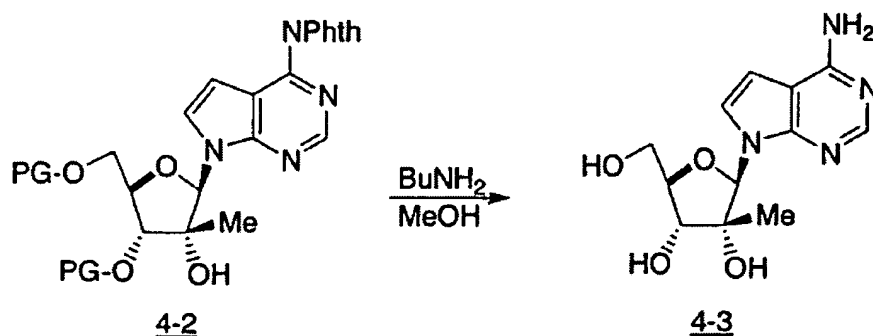
^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 12.14(s, 1H), 8.79(s, 1H), 8.01(dd, $J=5.5, 3.1$ Hz, 2H), 7.92(dd, $J=5.5, 3.1$ Hz, 2H),

7.63(dd, J=3.5, 2.4 Hz, 1H), 6.56(dd, J=3.5, 1.8 Hz, 1H); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz): δ 166.3, 154.2, 151.0, 145.2, 135.7, 132.0, 128.7, 124.4, 115.2, 100.1.

方案 4



(PG=4-甲基苯甲醯基)



步驟 A: 1,2-脫水-3,5-二-O-(對-甲苯醯)-C-甲基- α -D-呋喃核糖 (4-1)

在一個 72 升之容器中裝入乾燥二氯甲烷 (32 升)、三乙胺 (3.0 升) 和二元醇 2-2 (3.44 千克，重量比為 90% 之純度)。混合物加溫至 30℃，然後在 40 分鐘期間加入甲基磺醯氯 (0.79 升)。1 小時後，該批量在 pH 7 之緩衝液 (20 升) 和甲基第三丁基醚 (44 升) 之間分離。用 1 莫耳濃度之氯化鈉溶液 (38 升) 洗滌有機相，然後藉由真空蒸餾轉入到甲苯，再濃縮至約 9 升。由此得到之環氧化物溶液直接用於步驟 B。

步驟B：4-苯二甲醯亞胺基-7-[3,5-二-O-(對-甲苯醯)-2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯並[2,3-d]嘧啶(4-2)

在一個72升之燒瓶中裝入四氫呋喃(5.4升)、氫化鈉(146克60%之油分散劑，未洗滌)和*N,N*-二甲基乙醯胺(4升)，懸浮液冷卻至0℃。將4-苯二甲醯亞胺基-7H-吡咯並[2,3-d]嘧啶(3-2)(2.08千克)加入到反應物中並將溫度保持在25℃以下。加入*N,N*-二甲基乙醯胺(1.4升)，然後加入步驟A中之環氧化物(2.75檢定千克)之甲苯溶液，並將反應混合物在50-90℃加熱9小時。冷卻至室溫後，加入乙酸乙酯(19升)和磷酸二氫鉀溶液(0.97千克於19升水中)。用水洗滌有機相。由此得到之有機相藉由真空蒸餾($T < 40^{\circ}\text{C}$)溶劑轉成甲苯，得到最終量10升。

步驟C：4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯並[2,3-d]嘧啶(4-3)

於室溫下在來自步驟B之甲苯溶液中加入甲醇(25升)和*n*-丁胺(3.13千克，42.9莫耳)。反應混合物在64℃老化24至30小時。混合物濃縮至約9升，並加入9升甲醇。溶液濃縮至9升，由此得到之漿液在60℃老化60分鐘。1.5小時期間加入甲苯(13升)。漿液在60℃再老化2小時，然後冷卻至室溫。將固體物過濾並將濕塊狀物用9升20%的甲醇之甲苯溶液洗滌，然後用9升10%的甲醇之甲苯溶液洗滌。固體物於室溫下氮氣吸乾，得到1.79千克(重量比94%之純度)甲苯溶劑化物型態之標題核苷4-3。

結晶甲苯溶劑化物之X-射線粉末繞射圖樣表現出對應於

d-晶面間距16.93、12.16、6.04、5.95、5.71、4.62、3.34和3.12埃之特徵繞射峰。

結晶甲苯溶劑化物也以固相核磁共振光譜來描述其特徵。碳-13 CPMAS NMR光譜表現出具有以下化學位移值之信號：156.1, 150.0, 127.3, 124.3, 122.3, 121.1, 104.3, 99.6, 97.6, 90.9, 82.6, 80.6, 73.3, 72.4, 71.0, 64.9, 64.0, 60.9, 20.3和17.9 ppm。

結晶甲苯溶劑化物之微差掃描熱卡計(DSC)曲線顯示出在大約200°C具有低溫度肩峰之熔解吸熱。採用S形基線擬和之吸熱積分得出起始溫度221.0°C、高峰溫度223.9°C以及相關的熱能143焦耳/克。

熱重量分析(TGA)顯示從室溫至約233°C重量損失約3.0%。

最終在1-丙醇中再結晶或熱斷裂：

A)核苷4-3(30檢定克)在50°C溶解於240毫升25%水之1-丙醇溶液中，於所得之溶液中放入晶種。藉由減壓共沸蒸餾將水之濃度減少至2%，同時添加1-丙醇來保持體積恒定。將漿液冷卻至約20°C，過濾分離結晶產物，室溫吸乾後得到28.1克非溶劑化之無水結晶型態之產物。

B)核苷4-3(3.01檢定千克)溶於24升2%水之1-丙醇溶液中，漿液於60-65°C加熱4小時。冷卻至約20°C後，過濾分離結晶固體物得到2.79千克非溶劑化之無水結晶型態之核苷。

無水結晶之X-射線粉末繞射圖樣表現出對應於d-晶面間

距 8.14、6.11、6.00、5.96、4.62、4.06、3.74 和 3.34 埃之特徵繞射峰。

無水結晶也以固相核磁共振光譜來描述其特徵。碳-13 CPMAS NMR 光譜表現出具有以下化學位移值之信號：157.7, 149.3, 147.0, 119.1, 102.8, 102.2, 90.7, 81.5, 79.3, 77.7, 66.5 和 19.9 ppm。

無水結晶之微差掃描熱卡計 (DSC) 曲線表現出具有 223.9°C 高峰溫度之熔解吸熱、起始溫度 222.2°C 以及相關的熱能 182 焦耳/克。

熱重量分析 (TGA) 顯示從約 149°C 至約 237°C 重量損失約為 0.2%。

高效液相色譜 (HPLC) 分析條件：

色譜柱：Aquasil C 18, 100×4.6 毫米，顆粒大小 5 微米

洗脫劑：

<u>時間(分鐘)</u>	<u>MeCN</u>	<u>10 毫莫耳濃度之磷酸鹽，pH 6.5</u>
0	5%	95%
20	70%	30%
26	70%	30%

流速：1 毫升/分鐘

檢測波長：220 奈米

化合物 4-3 保留時間：8.2 分鐘

伍、中文發明摘要：

本發明提供一種用於治療HCV感染之HCV聚合酶分支鏈核糖核苷抑制劑之新穎製備方法。還提供從該方法中得到之有用中間體。

陸、英文發明摘要：

A novel process is provided for the preparation of branched-chain ribonucleoside inhibitors of HCV polymerase useful for the treatment of HCV infection. Also provided are useful intermediates obtained from the instant process.

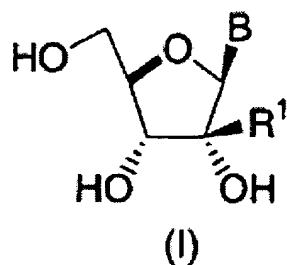
柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

化學式 I



玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種製備2'-C-分支核糖核苷之新穎方法，該2'-C-分支核糖核苷係指用於治療C型肝炎病毒(HCV)感染之C型肝炎病毒聚合酶抑制劑。

【先前技術】

2'-C-烷基核糖核苷在專利文獻中被描述為C型肝炎病毒RNA-依賴型RNA聚合酶之抑制劑，並且因此可用於治療C型肝炎病毒感染。以下列之國際專利申請公告為參考，其揭示C型肝炎病毒聚合酶之分支鏈核糖核苷抑制劑：WO 01/90121(2001年11月29日)和WO 01/92282(2001年12月6日)，二者皆授權予 Novirio 醫藥公司 (Novirio Pharmaceuticals)和卡裏亞裏大學(Universita degli Studi di Cagliari); WO 02/32920(2002年4月25日)，授權予 Pharmasset 有限公司；以及 WO 02/057287(2002年7月25日)和 WO 02/057425(2002年7月25日)，聯合授權予 Merck和 Isis醫藥公司。2'-C-分支核糖核苷之合成方法在先前之化學和專利文獻中有說明：法國專利號1521076(1968年4月12日)；美國專利號3,480,613(1969年11月25日)；英國專利號1209654(1970年10月21日)；S.R. Jenkins等，Carbohydrate Res., 166：219-232 (1987)；A. Matsuda等，Chem. Pharm. Bull., 36：945-953 (1988)；M.S. Wolfe等，"一種簡明的2'-C-甲基核糖核苷合成方法"Tetrahedron Lett., 42: 7611-7614 (1995)；R.E. Harry-O'kuru等，"一種簡短、靈活的2'-C-分支核糖核苷合

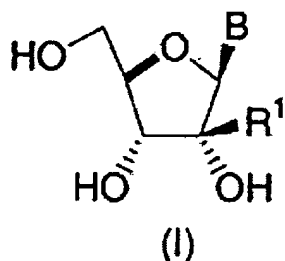
第093103187號專利申請案

本申請專利範圍替換本(98年8月)

公告本

拾、申請專利範圍：

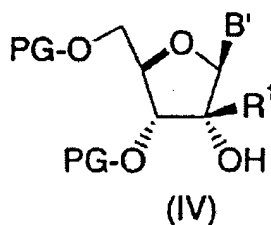
1. 一種製備化學式I之化合物之方法



其中 R^1 為 C_{1-6} 烷基，B 為選自由下列所構成之群組之嘌呤或嘧啶核酸鹼基：胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、次黃嘌呤、腺嘌呤、鳥嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、7-去氮-2,6-二氨基嘌呤和 7-去氮次黃嘌呤；

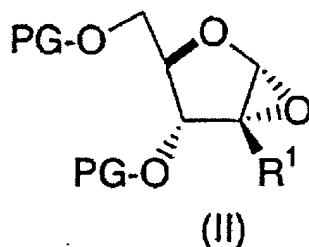
包括步驟

(a) 製備化學式IV之化合物：



其中 B' 為視需要而保護之 B，

藉由在適宜有機溶劑中用親核劑 B' 接觸化學式II之化合物而完成；

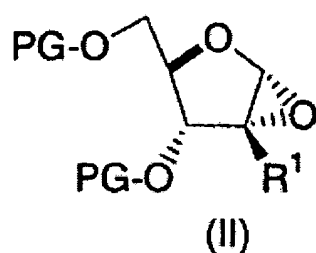


其中PG為羥基保護基，

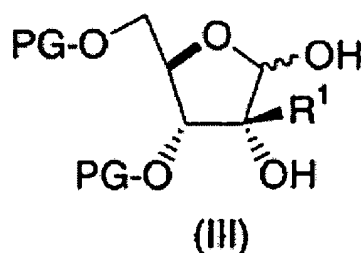
及

(b)去除羥基保護基PG和視需要B'之保護基。

2. 如專利申請範圍第1項之方法，還包括製備化學式II之化合物之步驟，



藉由用磺醯化或鹵化試劑在適宜的鹼存在之有機溶劑中處理化學式III之化合物，

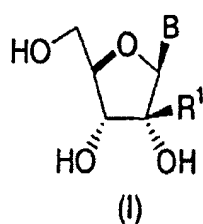


其中該鹼在用磺醯化或鹵化試劑處理前、處理中或處理後加入。

3. 如申請專利範圍第1項之方法，其中B為鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤或7-去氮腺嘌呤。
4. 如申請專利範圍第3項之方法，其中B為7-去氮腺嘌呤。
5. 如申請專利範圍第1項之方法，其中R¹為甲基。
6. 如申請專利範圍第4項之方法，其中R¹為甲基。
7. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該羥基保護基為

酯、甲矽烷基醚或視需要取代之二苄醚保護基。

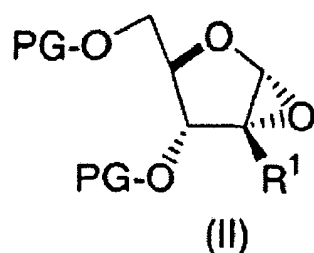
8. 如申請專利範圍第7項之方法，其中該羥基保護基為酯保護基。
9. 如申請專利範圍第8項之方法，其中該酯保護基為未取代或帶有一個或兩個取代基之苯甲酸酯，該取代基獨立選自鹵素、氰基、甲氧基、硝基和甲基。
10. 如申請專利範圍第2項之方法，其中化學式II之化合物藉由用磺醯化試劑在適宜的鹼存在之有機溶劑中處理化學式III之化合物來製備。
11. 如申請專利範圍第10項之方法，其中該磺醯化試劑為甲基磺醯氯。
12. 如申請專利範圍第10項之方法，其中該鹼為選自由下列所構成之群組之胺基：三乙胺、吡啶、4-(二甲胺基)吡啶、*N,N*-二異丙基乙胺和二異丙胺。
13. 一種製備化學式I之化合物之方法：



其中 R^1 為 C_{1-6} 烷基，B 為選自由下列所構成之群組之嘌呤或嘧啶核酸鹼基：胞嘧啶、尿嘧啶、胸腺嘧啶、次黃嘌呤、腺嘌呤、鳥嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、7-去氮-2,6-二胺基嘌呤和 7-去氮次黃嘌呤；

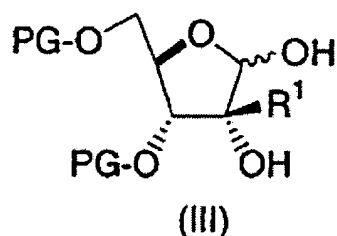
包括以下步驟：

(a) 製備化學式II之化合物：



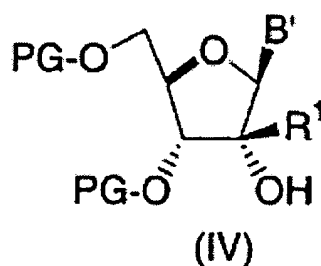
其中 PG 為羥基保護基，

藉由用磺醯化或鹵化試劑在適宜的鹼存在之有機溶劑中處理化學式 III 之化合物而完成，



其中，該鹼在用磺醯化或鹵化試劑處理前、處理中或處理後加入；

(b) 製備化學式 IV 之化合物：



其中 B' 係視需要保護之 B，

藉由將化學式 II 之化合物在適宜之有機溶劑中與親核劑 B' 接觸而完成；

及

(c) 去除羥基保護基 PG 和視需要 B' 之保護基。