

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 99805472.0

[51] Int. Cl.

C07H 19/06 (2006.01)

C07H 19/10 (2006.01)

C07H 19/16 (2006.01)

C07H 19/20 (2006.01)

C07H 19/207 (2006.01)

C07D 473/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 11 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 100349913C

[51] Int. Cl. (续)

C07D 405/04 (2006.01)

C07F 9/547 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

[22] 申请日 1999.2.25 [21] 申请号 99805472.0

[30] 优先权

[32] 1998. 2. 25 [33] US [31] 60/075,893

[32] 1998. 4. 3 [33] US [31] 60/080,569

[86] 国际申请 PCT/US1999/004051 1999.2.25

[87] 国际公布 WO1999/043691 英 1999.9.2

[85] 进入国家阶段日期 2000.10.25

[73] 专利权人 埃莫里大学

地址 美国乔治亚州

共同专利权人 佐治亚州大学研究基金会有限公司

雷蒙德 F·辛纳兹

丹尼斯 C·利奥塔 C·K·朱

J·杰弗里·麦卡蒂 施俊生

Y·蔡 K·李 J·H·洪

[72] 发明人 雷蒙德 F·辛纳兹

丹尼斯 C·利奥塔 C·K·朱

J·杰弗里·麦卡蒂 施俊生

Y·蔡 K·李 J·H·洪

[56] 参考文献

WO9640164A1 1996.12.19

审查员 陈 宁

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张元忠 杨九昌

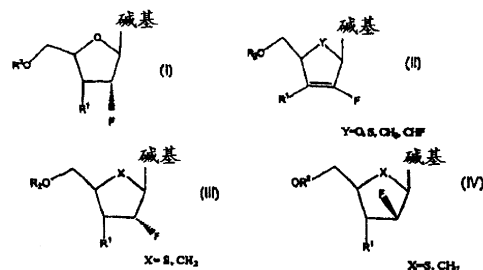
权利要求书 2 页 说明书 78 页

[54] 发明名称

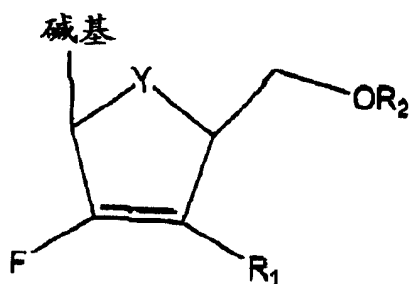
2'-氟代核苷

[57] 摘要

公开了用于治疗乙型肝炎感染、丙型肝炎感染、HIV 和异常细胞增殖包括肿瘤和癌症的 2'-氟代核苷化合物。这些化合物具有通式 (I)、(II)、(III)、(IV) 或其药用盐, 其中碱基是嘌呤或嘧啶碱基; R^1 是 OH, H, OR^3 , N_3 , CN, 卤素包括 F, 或 CF_3 , 低级烷基, 氨基, 低级烷基氨基, 二低级烷基氨基, 或烷氧基; R^2 是 H, 磷酸根, 包括单磷酸根, 二磷酸根, 三磷酸根, 或稳定的磷酸盐前药; 酰基, 或其它药用离去基团, 当体内使用时该基团能提供 R^2 是 H 或磷酸根的化合物; 磺酸酯包括烷基或芳烷基磺酰基、包括甲基磺酰基, 苄基, 其中苯基选择性被一个或多个上述芳基定义中所述的取代基取代, 脂类, 氨基酸, 肽或胆固醇; 而 R^3 是酰基、烷基、磷酸根或其它药用离去基团, 即当体内使用时能裂解为母体化合物的基团。



1. 下式的治疗有效量的 2'-氟-β-L-核苷或其药用盐，在制备抑制 HIV 复制的药物中的用途：



Y=O

其中

碱基是嘌呤碱基；

R¹ 是 H, OH, OR³, N₃, CN, CF₃, C₁₋₄ 烷基, 氨基, C₁₋₄ 烷基氨基或二 (C₁₋₄ 烷基) 氨基；

R² 是 H, 单磷酸根, 二磷酸根, 三磷酸根, 或脂类；和

R³ 是酰基、烷基或磷酸根。

2. 权利要求 1 的用途，其中 R² 是 H。

3. 权利要求 1 的用途，其中 R² 是单磷酸根。

4. 权利要求 1 的用途，其中 R² 是二磷酸根。

5. 权利要求 1 的用途，其中 R² 是三磷酸根。

6. 权利要求 1 的用途，其中碱基选自 N⁶-烷基嘌呤，N⁶-酰基嘌呤，N⁶-苄基嘌呤，N⁶-卤代嘌呤，N⁶-乙烯基嘌呤，N⁶-乙酰基嘌呤，N⁶-羟基烷基嘌呤，N⁶-硫代烷基嘌呤，N²-烷基嘌呤，N²-烷基-6-硫代嘌呤，鸟嘌呤，腺嘌呤，次黄嘌呤，2, 6-二氨基嘌呤和 6-氯嘌呤。

7. 权利要求 1 的用途，其中 R¹ 是氢。

8. 权利要求 1 的用途，其中 R¹ 是 OH。

9. 权利要求 1 的用途，其中 R¹ 是 OR³。

10. 权利要求 1 的用途，其中 R³ 是磷酸根。

11. 权利要求 1 的用途，其中该药物适合口服、胃肠外、静脉内、

皮内或皮下给药。

12. 权利要求 1 的用途, 其中该药物是剂型药。

13. 权利要求 1 的用途, 其中 2'-氟- β -L 核苷与第二种抗-HIV 剂结合。

14. 权利要求 12 的用途, 其中所述剂型为片剂或胶囊。

15. 权利要求 12 的用途, 其中所述剂型包含 50-1000mg 的化合物。

16. 权利要求 13 的用途, 其中所述第二种抗-HIV 剂选自顺-2-羟甲基-5-(5-氟胞嘧啶-1-基)-1,3-氧杂硫杂环戊烷; (-)-2-羟甲基-5-(胞嘧啶-1-基)-1,3-氧杂硫杂环戊烷; 卡波佛; 阿昔洛韦; 麟甲酸; 干扰素; 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷; 2',3'-二脱氧肌苷; 2',3'-二脱氧胞苷; 2',3'-二脱氧-2',3'-二脱氢胸苷; 3'-叠氮基-2',3'-二脱氧-尿苷; β -D-二氧杂环戊烷基-鸟嘌呤; β -D-二氧杂环戊烷基-2,6-二氨基嘌呤; β -D-二氧杂环戊烷基-6-氯嘌呤; 6-苄基-1-(乙氧基甲基)-5-异丙基尿嘧啶; 克缇满; 奈非那韦; 利托那韦; 沙奎那韦; 依非韦伦和 {[4R-(4- α ,5- α ,6- β ,7- β)]-六氢-5,6-双(羟基)-1,3-双(3-氨基)苯基]甲基)-4,7-双(苯基甲基)-2H-2,3-二氮杂环庚三烯-2-酮}-双甲磺酸酯。

2'-氟代核苷

本文中描述的本发明是由政府支持的，国家卫生部授予的授权号为 AI32351。美国政府已确认了本发明的权利。

本发明属于药物化学领域，具体地讲包括 2'-氟代核苷及其制备方法和用途。

发明背景

一些年来，合成核苷如 5-碘-2'-脱氧尿苷和 5-氟-2'-脱氧尿苷已用于治疗癌症和疱疹病毒。从 20 世纪 80 年代开始，合成核苷还已是有利于治疗 HIV，肝炎和 EB 病毒。

在 1981 年，获得性免疫缺陷综合征（AIDS）被确认为严重危害人免疫系统的一种疾病，且其几乎毫无例外地导致死亡。在 1983 年，AIDS 的病因确定为人类免疫缺陷病毒（HIV）。在 1985 年，有报告称合成核苷 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷（AZT）抑制人类免疫缺陷病毒的复制。从那时起，已证明一些其它合成核苷，包括 2', 3'-二脱氧肌苷（DDI），2', 3'-二脱氧胞苷（DDC）及 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢胸苷（D4T），对 HIV 有效。由细胞激酶通过细胞磷酸化作用产生 5'-三磷酸盐后，这些合成核苷掺入病毒 DNA 的生长链中，由于不存在 3'-羟基而引起链终止。它们也可抑制病毒逆转录酶。

多种合成核苷在体内或活体外抑制 HIV 的成功已使一些研究者设计和检测核苷，其在核苷的 3'-位用碳原子代替杂原子。欧洲专利申请 No. 0337713 和美国专利 No. 5,041,449（授予 BioChem Pharma, Inc.），公开了外消旋 2-取代-4-取代-1, 3-二氧杂环戊烷，其表现出抗病毒活性。美国专利 No. 5,047,407 和欧洲专利申请 No. 0382526（也是属于 BioChem Pharma, Inc.），公开了一些具有抗病毒活性的外消旋的 2-取代-5-取代-1, 3-氧杂硫杂环戊烷核苷，并特别指出 2-羟甲基-5-（胞嘧啶-1-基）-1, 3-氧杂硫杂环戊烷（下文中称为 BCH-189）与 AZT 具有近乎相同的抗 HIV 活性，且毒性很小。外消旋混合物 BCH-189 的（-）-对映异构体，称为 3TC，其被 Liotta 等的美国专利 No. 5,539,116 公开，目前在美国销售，其与 AZT 联合治疗 HIV。

还已公开了顺-2-羟甲基-5-（5-氟胞嘧啶-1-基）-1, 3-氧杂硫杂

环戊烷 (“FTC”) 具有强的抗 HIV 活性。Schinazi 等, “用顺-5-氟-1-[2-羟甲基-1, 3-氧杂硫杂环戊烷-5-基]胞嘧啶的外消旋混合物和对映异构体选择性抑制人免疫缺陷病毒” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1992 年 11 月, pp. 2423-2431。也可见美国专利 No. 5, 210, 085; WO 91/11186 及 WO 92/14743。

引起人的严重健康问题的其它病毒是乙肝病毒 (下文中称为 “HBV”)。HBV 是仅次于吸烟的引起人类癌症的原因。HBV 诱发癌症的机理尚不清楚。据推测其直接引起肿瘤的恶化, 或通过慢性炎症、肝硬化及与感染有关的细胞再生间接引起肿瘤的恶化。

在 2 至 6 个月的潜伏期后, 此时被感染对象尚未察觉感染, HBV 感染可导致肝炎和肝损伤, 其引起腹部疼痛、黄疸及血液中某些酶的浓度增高。HBV 可引起暴发性肝炎, 这是一种快速恶化常导致死亡的疾病, 患此病时大部分肝脏被破坏。

一般来说, 急性肝炎患者是可以康复的。但是, 在一些患者中, 高浓度的病毒抗原长期或无限期保留在血液中, 引起慢性感染。慢性感染可以导致慢性迁延性肝炎。慢性迁延性 HBV 患者在发展中国家最普遍。到 1991 年年中, 仅在亚洲就有约 2.25 亿慢性 HBV 携带者, 而全世界有近 3 亿携带者。慢性迁延性肝炎可以引起疲劳, 肝硬化和肝细胞癌, 一种主要的肝癌。

在西方工业化国家, HBV 感染危险性高的人群 包括与 HBV 携带者或其血液样本接触的那些人。HBV 的流行病学类似于获得性免疫缺陷综合征, 这就是在 HIV 感染或 AIDS 患者中常见 HBV 感染的原因。但是, HBV 较 HIV 更易接触感染。

FTC 和 3TC 都表现出抗 HBV 活性。Furman 等, “顺-5-氟-1-[2-(羟甲基)-1, 3-氧杂硫杂环戊烷-5-基]-胞嘧啶的 (-) 和 (+) 对映异构体的抗乙型肝炎活性、细胞毒性及代谢特性” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1992 年 12 月, pp. 2686-2692; 及 Cheng 等, *Journal of biological Chemistry*, Volume 267 (20), pp. 13938-13942 (1992)。

已开发了得自人血清的疫苗对患者进行免疫以抗 HBV。虽然已发现其是有效的, 但是该疫苗的生产有一些麻烦, 这是因为从慢性携带者中获得人血清受到限制, 而纯化步骤长且成本高。此外, 从不同血清中制备的每批疫苗必须在黑猩猩中检测以确保安全。也已通过基因工程制备

疫苗。每天用一种基因工程蛋白 α -干扰素治疗也是有希望的。

丙肝病毒（“HCV”）是输血后感染和偶发的非甲非乙型肝炎的主要原因（Alter, H. J. (1990) J. Gastro. Hepatol. 1: 78-94; Dienstag, J. L. (1983) Gastro 85: 439-462）。尽管改进了筛检方法，在很多国家 HCV 仍是至少 25% 的急性病毒性肝炎的病因（Alter, H. J. (1990), 出处同上; Dienstag, J. L. (1983), 出处同上; Alter M. J. 等, (1990a) J. A. M. A. 264: 2231-2235; Alter M. J. 等, (1992) N. Engl. J. Med. M: 1899-1905; Alter, M. J. 等, (1990b) N. Engl. J. Med. 321: 1494-1500）。HCV 感染在慢性感染（及有传染性的）携带者中以高比例隐伏，他们可能很多年不表现出临床症状。急性感染向慢性感染（70-100%）和肝病（>50%）转变的高比例，其广泛的分布及疫苗的缺乏，使 HCV 是发病和死亡的显著原因。

肿瘤是细胞生长的不规则的、破坏组织的增殖。如果其具有侵袭性和转移性，则肿瘤是恶性的或癌性的。侵袭性指肿瘤进入周围组织，破坏限定组织边界的基层，于是进入常体循环系统的倾向。转移性指肿瘤迁移至身体的其它区域并在原出现位点以外建立增殖区域的倾向。

癌症是现在美国导致死亡的第二个原因。在美国已有 8,000,000 人被确诊患有癌症，预计在 1994 年新诊断出 1,208,000。在此国家每年死于此疾病的超过 500,000 人。

在分子水平，人们并未充分认识癌症。已知细胞接触致癌物质如某些病毒、某些化学物质或辐射，导致 DNA 改变，这灭活“抑制”基因或活化“致癌基因”。抑制基因是生长调节基因，其突变后，再不能控制细胞生长。致癌基因开始是正常基因（称为原致癌基因），其通过突变或表达序列的改变变为转化基因。转化基因的产物引起不适当的细胞生长。通过基因的改变 20 多种正常细胞基因可以变为致癌基因。已转化的细胞与正常细胞有很多不同，包括细胞形态，细胞-与-细胞相互作用，膜组成，细胞骨架结构，蛋白分泌，基因表达和死亡（已转化的细胞可以无限生长）。

机体的所有不同的细胞类型可以转变为良性或恶性肿瘤细胞。最常见的肿瘤位点是肺，然后是结肠直肠、乳房、前列腺、膀胱、胰腺，再就是卵巢。其它较普遍的癌症类型包括白血病，中枢神经系统癌症，包括脑瘤、黑素瘤、淋巴瘤、红白血病、子宫癌及头和颈部癌症。

现在癌症主要用如下方法之一或其联合形式治疗三年：手术、放疗及化疗。手术包括除去大多数患病组织。虽然，有时手术在除去位于某些位点如乳房、直肠和皮肤的肿瘤是有效的，但是它不能用于治疗位于其它区域如脊椎的肿瘤，也不能用于治疗散播的肿瘤病症如白血病。

化疗包括瓦解细胞的复制或细胞代谢。它最常用来治疗白血病及乳腺、肺和睾丸癌症。

目前用于治疗癌症的化疗剂有 5 个主要的种类：天然产物及其衍生物；蒽环类；烷化剂；抗增殖药（也称为抗代谢药）；及激素。化疗剂经常称为抗肿瘤剂。

据信烷化剂通过将鸟嘌呤及 DNA 中其它可能的碱基烷基化或交联起作用，阻止细胞分裂。典型的烷化剂包括氮芥，亚乙基亚胺化合物，烷基硫酸酯，顺铂以及多种亚硝基脲。这些化合物的缺点是它们不仅连接恶性细胞，也连接其它自然分裂的细胞，如骨髓、皮肤、胃肠粘膜和胎盘组织的细胞。

抗代谢剂一般是可逆的或不可逆的酶抑制剂，或干扰核酸复制、翻译或转录的化合物。

已确定若干合成核苷表现出抗癌症活性。具有强抗癌活性的熟知的核苷衍生物是 5-氟尿嘧啶。5-氟尿嘧啶已用于临床治疗恶性肿瘤，例如，包括癌、肉瘤、皮肤癌、消化器官的癌症及乳腺癌。但是 5-氟尿嘧啶引起严重的副反应如恶心、脱发、腹泻、口炎、白细胞性血小板减少症、厌食、色素沉着和水肿。具有抗癌活性的 5-氟尿嘧啶的衍生物描述于美国专利 No 4, 336, 381, 及日本专利申请 Nos. 50-50383, 50-50384, 50-64281, 51-146482 和 53-84981。

美国专利 No. 4, 000, 137 描述了肌苷、腺苷或胞苷与甲醇或乙醇经过氧化物过氧化的产物具有抗淋巴细胞白血病的活性。

阿糖胞苷（也称为 Cytarabin, araC 及 Cytosar）是一种脱氧胞嘧啶的核苷类似物，其首先于 1950 年合成并于 1963 年作为临床药物。它是目前治疗急性骨髓白血病的最重要的药物。它对急性淋巴细胞白血病也有活性，而较少用于治疗慢性髓细胞白血病和非何杰金氏淋巴瘤中。阿糖胞苷的主要作用是抑制核酸 DNA 的合成。Handschumacher, R. 和 Cheng, Y., “嘌呤和嘧啶抗代谢药”，Cancer Medicine, XV-1 章，第 3 版，编者 J. Holland 等，Lea 和 Febigol 出版。

5-阿扎胞苷属于胞苷类，它主要用于治疗急性髓细胞白血病和骨髓发育不良综合征。

2-氟腺苷-5'-磷酸盐 (Fludara, 也称为 FaraA) 是治疗慢性淋巴细胞白血病的最有效的药物之一。此化合物通过抑制 DNA 合成起作用。用 F-araA 处理细胞与在 G1/S 期边缘和在 S 期的细胞蓄积有关；因此，它是细胞循环 S 期的特异性药物。活性代谢物 F-araATP 的掺入，阻止了 DNA 链的延伸。F-araA 还是核糖核苷酸还原酶的强抑制剂，该酶是负责形成 dATP 的关键酶。

2-氟脱氧腺苷用于治疗低级 B 细胞瘤如慢性淋巴细胞白血病、非何杰金氏淋巴瘤和毛细胞白血病。

在设计新的生物活性核苷时，人们几经尝试将氟取代基掺入核苷的碳水化合物环中。将氟建议为取代基，是因为它可能作为羟基的等极和等体积的模拟物，因为 C-F 键长 (1.35 埃) 与 C-O 键长 (1.43 埃) 非常接近，且因为氟是氢键的受体。氟用最小的空间干扰能使分子产生显著的电子变化。用氟取代分子中的其它基团可以引起底物代谢的变化，这是由于 C-F 键的高强度 (116 kcal/mol 而 C-H = 100 kcal/mol)。

一些参考文献报告了 2'-阿糖基氟代核苷 (即，2'-氟基团是“向上”构型的核苷) 的合成和用途。已有若干报告报道了 2-氟- β -D-呋喃阿糖基核苷表现出抗乙型肝炎和疱疹的活性。例如，参见美国专利 No. 4,666,892 (Fox 等)；美国专利 No. 4,211,773 (Lopez 等)；Su 等, Nucleosides. 136, “几种 1-(2-脱氧-2-氟- β -D-呋喃阿糖基)-5-烷基尿嘧啶的合成和抗病毒作用”；“一些构效关系”，J. Med Chem., 1986, 29,151-154；Borthwick 等，“碳环 2'-阿糖-氟-鸟苷：一种强的新抗疱疹剂的合成和酶拆分”，J. Chem. Soc., Chem. Commun, 1988；Wantanabe 等，“活性抗 AIDS 核苷 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷 (AZT) 和 2', 3'-二脱氧胞苷 (DDC) 的 2'-”上“-氟类似物的合成和抗 HIV 活性”，J. Med. Chem. 1990. 33,2145-2150；Martin 等，“抗人类免疫缺陷病毒 (HIV-1) 的嘧啶二脱氧核糖核苷的单氟和二氟代类似物的合成和抗病毒活性”，J Med, Chem. 1990, 33,2137-2145；Sterzycki 等，“一些 2'-氟代-含嘧啶核苷的合成和抗 HIV 活性”，J. Med. Chem. 1990, 及 EPA 0316017(由 Sterzycki 等申请)；以及 Montgomery 等，“9-(2-脱氧-2-氟- β -D-呋喃阿糖基) 鸟苷：一类代谢稳定的 2'-脱氧鸟苷细胞毒类似物”，美国专利 No.

5,246,924 公开了治疗肝炎的方法,包括使用 1-(2'-脱氧-2'-氟- β -D-呋喃阿糖基)-3-乙基尿嘧啶),也称为“FEAU”。美国专利 No. 5,034,518 公开了 2-氟-9-(2-脱氧-2-氟- β -D-呋喃阿糖基)腺嘌呤核苷类,其通过降低化合物作为胸苷底物的能力来改变腺嘌呤核苷的代谢而表现出抗癌活性。EPA 0292023 公开了某些 β -D-2'-氟代阿糖基核苷有抗病毒感染活性。

美国专利 No. 5,128,458 公开了抗病毒剂 β -D-2', 3'-二脱氧-4'-硫代核糖核苷。美国专利 No. 5,446,029 公开了具有抗肝炎活性的 2', 3'-二脱氧-3'-氟代核苷。

欧洲专利申请 No. 0409227 A2 公开了用于治疗乙型肝炎的某些 3'-取代的 β -D-嘧啶和嘌呤核苷。

还公开了 L-FMAU (2'-氟-5-甲基- β -L-呋喃阿糖基尿嘧啶)是一种强抗-HBV 和抗-EBV 剂。见 Chu 等,“2'-氟-5-甲基- β -L-呋喃阿糖基尿嘧啶作为新的抗病毒剂治疗乙型肝炎病毒和 EB 病毒的用途” Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1995 年 4 月, 979-981 页; Balakrishna 等,“用新的 L-核苷, 2'-氟-5-甲基- β -L-呋喃阿糖基尿嘧啶抑制乙型肝炎病毒”, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996 年 2 月, 380-356 页; 美国专利 Nos. 5,587,362; 5,567,688; 及 5,565,438。

美国专利 Nos. 5,426,183 和 5,424,416 公开了制备 2'-脱氧-2', 2'-二氟代核苷和 2'-脱氧-2'-氟代核苷的方法。还可参见“2', 2'-二氟脱氧胞苷(吉西他滨)与纯化的人脱氧胞苷激酶和胞苷脱氨基酶的动力学研究”, BioChemical Pharmacology, Vol. 45 (No. 9) 4857-1861 页, 1993。

美国专利 No. 5,446,029 (Eriksson 等) 公开了具有抗乙型肝炎活性的某些 2', 3'-二脱氧-3'-氟代核苷。美国专利 No. 5,128,458 公开了某些 2', 3'-二脱氧-4'-硫代核苷,其中 3'-取代基是 H、叠氮化物或氟。WO 94/14831 公开某些 3'-氟-二氢嘧啶核苷。WO 92/08727 公开了 β -L-2'-脱氧-3'-氟-5-取代的尿苷核苷,用于治疗单纯疱疹 1 和 2。

EPA 公开号 No. 0352248 公开了一大类用于治疗 HIV、疱疹和肝炎的 L-呋喃核糖基嘌呤核苷。虽然某些 2'-氟代嘌呤核苷属于此大类中,但是在其说明书没有给出制备这些化合物的信息,且它们不在特别公开

或说明书中列出的优选之列。该说明书没有公开如何制备 3'-呋喃核糖基氟化核苷。类似的说明发现于 WO 88/0900 1 (Aktiebolaget Astra 申请)。

欧洲专利申请 0357571 公开了一大组用于治疗 AIDS 的 β -D 和 α -D 嘧啶核苷，在此大组中一般性地包括 2' 或 3' 位可以被氟基团取代的核苷。但是，在此大组中没有特别公开 2'-氟代核苷或其制备方法。

EPA 0 463 470 公开制备 (5S)-3-氟-四氢-5[(羟基)甲基]-2-(3H)-呋喃酮的制备方法，其是制备 2'-氟-2', 3'-二脱氧核苷如 2'-氟-2', 3'-二脱氧胞苷的一种已知的中间体。

U. S. S. N. 07/556, 713 公开了 β -D-2'-氟呋喃阿糖基核苷，及其制备方法，它们是合成 2', 3'-二脱氧-2'-氟阿糖基核苷的中间体。

美国专利 No. 4, 625, 020 公开了由 1, 3, 5-三-O-乙酰基-呋喃核糖制备带有保护基的 1-卤代-2-脱氧-2'-氟呋喃阿糖基衍生物的方法。

对用于医疗用途包括治疗 HIV、肝炎 (乙型或丙型) 或增殖病症的 β -L-2'-氟-呋喃核糖基核苷的公开很缺乏。至少有关 2'-呋喃核糖基核苷，这可能是由于以前感觉将氟基团置于 2'-呋喃核糖基构型中是困难的。对于 L-2'-氟-2', 3'-不饱和嘌呤核苷，可能是由于嘌呤核苷在酸性介质中不稳定，导致葡萄糖基键的断裂。

考虑到 HIV 获得性免疫缺陷综合征，AIDS-相关综合征和乙型肝炎及丙型肝炎病毒在全世界传播，并对感染的患者造成悲惨影响的事实，还存在为了治疗这些疾病提供新的、有效的、对所治疗的对象低毒的药剂的要求。此外，还存在提供新的抗增殖剂的需求。

因此，本发明的目的之一是提供治疗感染了乙型肝炎或丙型肝炎的病人的方法和组合物。

本发明的另一个目的是提供治疗感染了 HIV 的病人的方法和组合物。

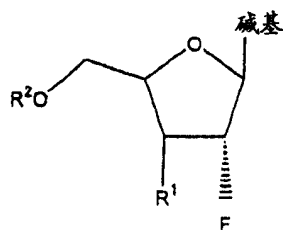
本发明的另一个目的是提供新的抗增殖剂。

本发明又一个目的是提供制备 2'-氟-呋喃核糖基核苷的新方法。

本发明的另一个目的是提供制备 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-氟-L-甘油基-戊-2-烯基-呋喃糖基核苷的新方法。

发明概述

在本发明的一个实施方案中，提供了结构如下的 2'- α -氟-核苷：



其中

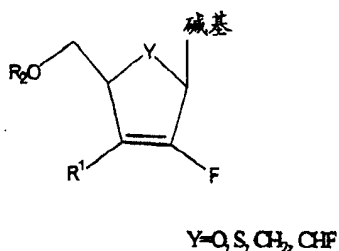
碱基是如本文中进一步定义的嘌呤或嘧啶碱基；

R^1 是 OH、H、 OR^3 、 N_3 、CN、卤素包括 F、或 CF_3 、低级烷基、氨基、低级烷基氨基、二低级烷基氨基、或烷氧基，而碱基指嘌呤或嘧啶碱基；

R^2 是 H、磷酸根包括单磷酸根，二磷酸根，三磷酸根，或稳定的磷酸盐前药；酰基，或其它药用离去基团，当体内使用时该基团能提供 R^2 是 H 或磷酸根的化合物；磺酸酯包括烷基或芳烷基磺酰基（包括甲基磺酰基）、苄基（其中苯基选择性被一个或多个上述芳基定义中所述的取代基取代）、脂类（包括磷脂）、氨基酸、肽或胆固醇；而

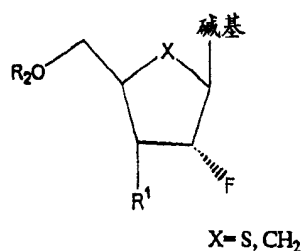
R^3 是酰基、烷基、磷酸根或其它药用离去基团，即当体内使用时能裂解为母体化合物的基团。

在第二个实施方案中，提供了下式的 2'-氟代核苷：



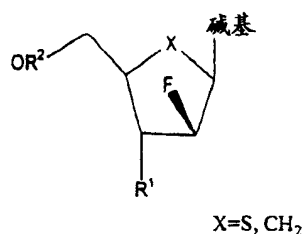
其中取代基定义如上。

在第三个实施方案中，提供了下式的 2'-氟代核苷：



其中取代基定义如上。

在第四个实施方案中，提供了结构如下的 2'-氟代核苷：



其中取代基定义如上。

这些 2'-氟代核苷可以是 β -L 或 β -D 构型。优选 β -L 构型。

此类 2'-氟代核苷是生物活性分子，它们用于治疗乙型肝炎、丙型肝炎或 HIV。这些化合物还用于治疗细胞异常增殖，包括肿瘤和癌症。通过本文中描述的检测方法或用其它确认检测方法评价该化合物，可以容易地确定活性谱。

在另一个实施方案中，为了治疗肝炎或 HIV，此活性化合物或其衍生物或盐可以与其它抗病毒剂（例如抗 HIV 剂或抗肝炎剂，包括如上结构式所述的）联合或交替给药。一般来说，在联合治疗中，有效量的两种或多种试剂一起给药，而在交替治疗中，有效量的各种试剂按顺序给药。给药量取决于药物的吸收、灭活和排泄速度以及本领域技术人员已知的其它因素。需要提及的是该剂量也将随被治疗的病症的严重性变化。还应进一步理解对于任何特定的对象，特定的剂量方案和程序按照个体的需要和给药者或指导这些组合物给药的人凭借专业判断随时间进行调整。

可以与本文中公开的化合物联合的抗病毒剂的非限制性实例包括 2-羟甲基-5-(5-氟胞嘧啶-1-基)-1, 3-氧杂硫杂环戊烷 (FTC); 2-羟甲

基-5-(胞嘧啶-1-基)-1, 3-氧杂硫杂环戊烷 (3TC) 的 (-)-对映异构体; 卡波佛, 阿昔洛韦, 干扰素, 泛昔洛韦, 喷昔洛韦, AZT, DDI, DDC, D4T, abacavir, L-(-)-FMAU, L-DDA 磷酸盐前药及 β -D-二氧杂环戊烷核苷如 β -D-二氧杂环戊烷基-鸟嘌呤 (DG), β -D-二氧杂环戊烷基-2, 6-二氨基嘌呤 (DAPD), 以及 β -D-二氧杂环戊烷基-6-氯嘌呤 (ACP), 非核苷类 RT 抑制剂如奈韦拉平, MKC-442, DMP-266 (sustiva) 及蛋白酶抑制剂如 indinavir, 沙奎那韦, AZT, DMP-450 等。

这些化合物还可以用于治疗马传染性贫血病毒 (EIAV), 猫免疫缺陷病毒及类人猿免疫缺陷病毒 (Wang, S., Montelaro, R., Schinazi, R.F., Jagerski, B. 和 Mellors, J.W.: “核苷和非核苷逆转录酶抑制剂 (NNRTI) 抗马传染性贫血病毒 (EIAV) 的活性”, First National Conference on Human Retro virus and Related Infections, Washington, DC, 1993 年 12 月 12-16 日; Sellon D.C., “马传染性贫血”, Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 美国, 9: 321-336, 1993; Philpott, M.S., Ebner, J.P., Hoover, E.A., “用定量聚合酶链反应评价 9-(2-磷酸基甲氧基乙基) 腺嘌呤对猫免疫缺陷病毒的治疗”, Vet. Immunol. Immunopathol. 35: 155166, 1992)。

还提供了将氟引入非碳水化合物糖环前体上的新的和彻底的非对映体选择性的方法。该方法包括手性的、非碳水化合物糖环前体 (4S)-5-(保护的氧基)-戊-4-交酯 (其可以由 L-谷氨酸制备) 与氟的亲电子来源包括但不限于 N-氟-(双) 苯磺酰亚胺反应, 得到关键中间体氟代内酯 6。将此氟代内酯还原为内半缩醛并乙酰基化得到端基异构的乙酸酯, 然后用于合成一些新的 β -L- α -2'-氟代核苷。也可用 D-谷氨酸作为起始物合成相应的 D-对映异构体。

在另一个可替换的实施方案中, 制备脱氢的氟化的烯糖, 然后转变为 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-氟代核苷或 β -L 或 β -D-阿糖基-2'-氟代核苷, 如下文所述。

还给出了制备 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-氟代核苷的简单方法, 该方法包括将硅烷基化的 6-氯代嘌呤与关键中间体直接缩合, 该关键中间体由 L-2, 3-O-亚异丙基甘油醛 (glyceraldehyde)。

发明详述

此处公开的本发明涉及一种治疗人或其它动物宿主的 HIV、肝炎 (乙

型或丙型)或异常细胞增殖的化合物、方法及组合物,其中包括使用选择性存在于药用载体中的有效量的 2'-氟-核苷,一种药用衍生物(包括在 5'-位或在嘌呤或嘧啶上已进行了烷基化或酰基化的化合物),或其药用盐。本发明的化合物具有抗病毒(即抗 HIV-1、抗 HIV-2 或抗肝炎(乙型或丙型))活性,或抗增殖活性,或代谢为具有这些活性的化合物。

概括地说,本发明包括下列特征:

(a) β -L 和 β -D-2'-氟代核苷,如本文所述,及其药用衍生物和药用盐,

(b) β -L 和 β -D-2'-氟代核苷,如本文所述,及其药用衍生物和药用盐,它们用于药物治疗,例如,治疗或预防 HIV 或肝炎(乙型或丙型)感染或治疗异常细胞增殖;

(c) 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-氟-L-甘油基-戊-2-烯基-呋喃糖基核苷,及其药用衍生物和药用盐,它们用于药物治疗,例如,治疗或预防 HIV 或肝炎(乙型或丙型)感染或治疗异常细胞增殖;

(d) 这些 2'-氟代核苷及其药用衍生物和其盐在制备治疗 HIV 或肝炎感染或治疗异常细胞增殖的药物中的用途;

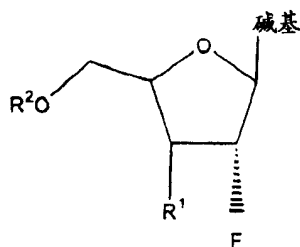
(e) 含 2'-氟代核苷或其药用衍生物或其盐和药用载体或稀释剂的药物制剂;

(f) 制备 β -L 和 β -D-2'- α -氟代核苷的方法,详见下文,及

(g) 制备 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-氟-L-甘油基-戊-2-烯基-呋喃糖基核苷的方法。

I. 活性化合物,及其生理可接受的衍生物和盐

提供结构如下的 2'- α -氟-核苷:



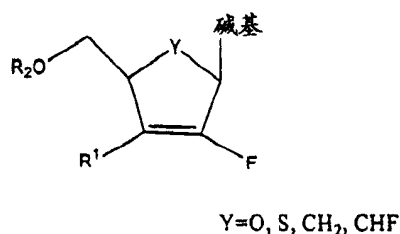
其中 R^1 是 OH、H、 OR^3 、 N_3 、CN、卤素(包括 F)、或 CF_3 , 低级烷基、氨基、低级烷基氨基、二低级烷基氨基、或烷氧基,而碱基指嘌呤或嘧啶

啶碱基；

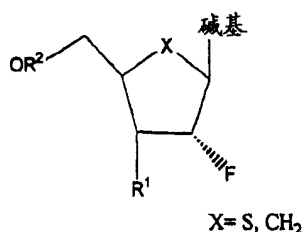
R^2 是 H, 磷酸根包括单磷酸根、二磷酸根、三磷酸根, 或稳定的磷酸盐前药; 酰基, 或其它药用离去基团, 当体内使用时该基团能提供 R^2 是 H 或磷酸根的化合物; 磺酸酯包括烷基或芳烷基磺酰基 (包括甲基磺酰基)、苄基 (其中苄基选择性被一个或多个上述芳基定义中所述的取代基取代)、脂类 (包括磷脂)、氨基酸、肽或胆固醇; 而

R^3 是酰基、烷基、磷酸根或其它药用离去基团, 即当体内使用时能裂解为母体化合物的基团。

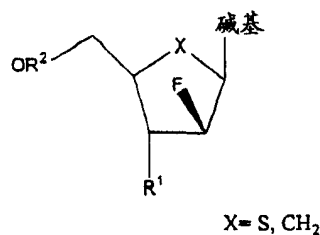
在第二个实施方案中, 提供了下式的 2'-氟代核苷:



在第三个实施方案中, 提供了下式的 2'-氟代核苷:



在第四个实施方案中, 提供了结构如下的 2'-氟代核苷:



在本文中, 除非特别说明, 术语烷基指饱和的直链、支链或环状伯、仲或叔 C_1 至 C_{10} 烃, 并特别包括甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 环丙基,

丁基, 异丁基, 叔丁基, 戊基, 环戊基, 异戊基, 新戊基, 己基, 异己基, 环己基, 环己基甲基, 3-甲基戊基-2, 2-二甲基丁基, 及 2, 3-二甲基丁基。此烷基可以被一个或多个选自如下的部分选择性取代: 羟基, 氨基, 烷基氨基, 芳基氨基, 烷氧基, 芳氧基, 硝基, 氰基, 磺酸, 硫酸根, 膦酸, 磷酸根或膦酸根, 它们可以是未保护的或按照需要保护, 如本领域技术人员已知的, 例如 Greene 等, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley 和 Sons, 第二版, 1991 所教导的, 在此引入作为参考。

在本文中术语低级烷基, 除非特别说明, 指 C_1 至 C_4 的饱和直链、支链或环(如果适当, 例如环丙基)烷基。

术语烷基氨基或芳基氨基指分别带有一个或两个烷基或芳基取代基的氨基。

术语“保护”在本文中除非另行限定, 指加在氧原子、氮原子或磷原子上以防止进一步反应或为了其它目的而加的基团。氧原子或氮原子的多种保护基是有机合成领域技术人员已知的。本文中, 术语芳基除非特别说明, 指苯基、联苯基或萘基, 并优选苯基。芳基可以被选自如下的一种或多种部分选择性取代: 羟基, 氨基, 烷基氨基, 芳基氨基, 烷氧基, 芳氧基, 硝基, 氰基, 磺酸, 硫酸根, 膦酸, 磷酸根或膦酸根, 它们可以是未保护的或按照需要保护, 如本领域技术人员已知的, 例如 Greene 等, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley 和 Sons, 第二版, 1991 所教导的。

术语烷芳基或烷基芳基指带有芳基取代基的烷基。术语芳烷基或芳基烷基指带有烷基取代基的芳基。

术语卤素, 在本文中, 包括氯、溴、碘和氟。

术语嘌呤或嘧啶碱基包括但不限于腺嘌呤, N^6 -烷基嘌呤, N^6 -酰基嘌呤(其中酰基是 $C(=O)$ (烷基, 芳基, 烷基芳基, 或芳基烷基), N^6 -苄基嘌呤, N^6 -卤代嘌呤, N^6 -乙烯基嘌呤, N^6 -乙基嘌呤, N^6 -酰基嘌呤, N^6 -羟基烷基嘌呤, N^6 -硫代烷基嘌呤, N^2 -烷基嘌呤, N^2 -烷基-6-硫代嘌呤, 胸腺嘧啶, 胞嘧啶, 5-氟胞嘧啶, 5-甲基胞嘧啶, 6-氮杂嘧啶(包括 6-氮杂胞嘧啶), 2-和/或 4-巯基嘧啶, 尿嘧啶, 5-卤代尿嘧啶(包括 5-氟尿嘧啶), C_5 -烷基嘧啶, C_5 -苄基嘧啶, C_5 -卤代嘧啶, 5-乙烯基嘧啶, C_5 -乙炔基嘧啶, C_5 -酰基嘧啶, C_5 -羟基烷基嘌呤, C_5 -酰氨基嘧啶,

C₅-氟基嘧啶, C₅-硝基嘧啶, C₅-氨基嘧啶, N²-烷基嘌呤, N²-烷基-6-硫代嘌呤, 5-氮杂胞嘧啶基, 5-氮杂尿嘧啶基, 三氮杂环戊并吡啶基, 咪唑并吡啶基, 吡咯并嘧啶基和吡唑并嘧啶基。嘌呤碱基包括但不限于鸟嘌呤, 腺嘌呤, 次黄嘌呤, 2, 6-二氨基嘌呤和 6-氯嘌呤。碱基上的官能氧或氮原子基团可以按照需要或要求保护。适宜的保护基是本领域技术人员熟知的, 并包括三甲基甲硅烷基、二甲基己基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基和叔丁基联苯基甲硅烷基、三苯甲基、烷基、酰基如乙酰基和丙酰基、甲磺酰基和对甲苯磺酰基。

对患者进行给药时, 可以以能直接或间接提供母体化合物或其本身具有活性的任何衍生物的形式使用活性化合物。非限制性实例为药用盐(或者称为“生理可接受的盐”), 或在 5'-位或嘌呤或嘧啶碱基上已进行了烷基化或酰基化的化合物(或者称为“药用衍生物”)。此外, 修饰可以影响此化合物的生物活性, 在某些情况下增加母体化合物的活性。通过制备衍生物并按照本文中描述的方法或本领域技术人员已知的其它方法检测其抗病毒活性可以容易地评价该化合物。

术语酰基指羧酸酯, 其中酯基的非羰基部分选自直链、支链或环烷基或低级烷基, 烷氧基烷基包括甲氧基甲基, 芳烷基包括苄基, 芳氧基烷基如苯氧基甲基, 芳基包括选择性地被卤素, C₁ 至 C₄ 烷基或 C₁ 至 C₄ 烷氧基取代的苯基, 磺酸酯如烷基或芳烷基磺酰基包括甲磺酰基, 单、二或三磷酸酯, 三苯甲基或单甲氧基三苯甲基, 取代的苄基, 三烷基甲硅烷基(例如二甲基叔丁基甲硅烷基)或二苯基甲基甲硅烷基。在酯中芳基最好包括苯基。

在本文中, 术语“基本上没有”或“基本上缺乏”指核苷组合物含有至少 95%至 98%, 或更优选 99%至 100%的此核苷的指定的对映异构体。

核苷前药制剂

本文中描述的任何核苷可以以核苷前药的形式给药以增加该核苷的活性、生物利用度、稳定性或改变其性质。一些核苷酸前药配体是已知的。总的来说, 对核苷的单、二或三磷酸盐进行烷基化、酰基化或其它亲酯性修饰会增加此核苷酸的稳定性。可替换磷酸根上的一个或多个氢原子的取代基的实例为烷基、芳基、甾类、碳水化合物, 包括糖、1, 2-二酰基甘油和醇。很多描述于 R. Jones 和 N. Bischofberger, *Antiviral Research*, 27 (1995) 1-17。其中任何化合物可以与本文中公开的核苷

联合使用以达到所需的效果。

此活性核苷还可以以 5'-磷酰脂或 5'-酰脂的形式提供, 如下列文献中所公开的, 将它们引入本文作为参考: Kucera, L.S., N. Iyer, E. Leake, A. Raben, Modest E.K., D.L.W., 及 C. Piantadosi. 1990, “抑制传染性 HIV-1 产生和诱发缺陷病毒形成的新的膜相互作用酰脂类”, AIDS Res. Hum. Retro Viruses. 6: 491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C.J., S.L. Morris-Natschke, K.L. Meyer, F. Gumus, J.R. Suries, K.S. Ishaq, L.S. Kucera, N. Iyer, C.A. Wallen, S. Piantadosi, 及 E.J. Modest. 1991, “新的酰脂核苷共轭物的合成并评价其抗 HIV 活性”, J. Med Chem. 34: 1408, 1414; Hosteller, K.Y., D.D. Richman, D.A. Carson, L.M. Stuhmiller, G.M. T. van Wijk, 及 H. van den Bosch. 1992, “用 3'-脱氧胸腺嘧啶二磷酸盐二肉豆蔻酰基甘油, 一种 3'-脱氧胸腺嘧啶的脂类前药, 极大地提高了对 CEM 和 HT4-6C 细胞中 1 型人类免疫缺陷病毒复制的抑制”, Antimicrob. Agents Chemother. 36: 2025. 2029; Hostetler, K.Y., L.M. Stuhmiller, H.B. Lenting, H. van den Bosch, 及 D.D. Richman, 1990, “叠氮基胸苷和其它抗病毒核苷的磷脂类似物的合成和抗逆转录病毒活性”, J. Biol Chem. 265: 61127.

公开了可以共价键接在核苷上, 优选在核苷的 5'-OH 位的适宜的亲脂取代基或亲脂制剂的美国专利的非限制性实例, 包括美国专利 Nos. 5,149,794 (1992 年 9 月 22 日, Yatvin 等); 5,194,654 (1993 年 3 月 16 日, Hostetler 等); 5,223,263 (1993 年 6 月 29 日, Hostetler 等); 5,256,641 (1993 年 10 月 26 日, Yatvin 等); 5,411,947 (1995 年 5 月 2 日, Hostetler 等); 5,463,092 (1995 年 10 月 31 日, Hostetler 等); 5,543,389 (1996 年 8 月 6 日, Yatvin 等); 5,543,390 (1996 年 8 月 6 日, Yatvin 等); 5,543,391 (1996 年 8 月 6 日, Yatvin 等); 及 5,554,728 (1996 年 9 月 10 日; Basava 等), 将所有内容引入本文作为参考。公开了可以连接本发明的核苷的亲脂取代基或亲脂制剂的外国专利, 包括 WO 89/02733, WO 90/00555, WO 91/16920, WO 91/18914, WO 93/00910, WO 94/26273, WO 96/15132, EP 0350287, EP 93917054.4, 及 WO 91/19721.

核苷酸前药的非限制性实例描述于下列文献: Ho, D.H.W. (1973) “1 β -D-呋喃阿糖基胞嘧啶的激酶和脱氨基酶在人和小鼠组织中的分布”, Cancer Res. 33, 2816-2820; Holy, A. (1993) 等极磷修饰的核

苷酸类似物”，见：De Clercq(编辑), Advances in Antiviral Drug Design Vol. 1, JAI Press, pp. 179-231; Hong, C. I., Nechaev, A., 和 West, C. R. (1979a) “氢化可的松和可的松的 1- β -D-呋喃阿糖基胞嘧啶核苷的合成和抗肿瘤活性”, Biochem. Biophys. Res. Commun. 88, 1223-1229; Hong, C. I., Nechaev, A., Kirisits, A. J. Buchheit, D. J. 和 West, C. R. (1980) “作为潜在的抗肿瘤剂的核苷衍生物, 3. 皮质类固醇和所选择的亲脂醇的 1-(β -D-呋喃阿糖基) 胞嘧啶核苷的合成及抗肿瘤活性”, J. Med. Chem. 28, 171-177; Hosteller, K. Y., Stuhmiller, L. M., Lenting, H. B. M. van den Bosch, H. 和 Richman J. Biol. Chem. 265, 6112-6117; Hosteller, K. Y., Carson, D. A. 和 Richman, D. D. (1991); “磷脂酰基叠氮基胸苷: 在 CEM 细胞中抗病毒的机理”, J. Biol. Chem. 266, 11714-11717; Hosteller, K. Y., Korba, B. Sridhar, C., Gardener, M. (1994a) “磷脂酰基-二脱氧胞苷在乙型肝炎感染的细胞中的抗病毒活性和在小鼠中提高的肝摄入”, Antiviral Res. 24, 59-67; Hosteller, K. Y., Richman, D. D., Sridhar, C. N. Felgner, P. L. Felgner, J., Ricci, J., Gardener, M. F. Selleseth, D. W. 和 Ellis, M. N. (1994b) “磷脂酰基叠氮基胸苷和磷脂酰基-ddC: 在小鼠淋巴组织的吸收和在免疫缺陷病毒感染的细胞中及在 raucher 白血病感染小鼠中抗病毒活性的评价”, Antimicrobial Agents Chemother. 38, 2792-2797; Hunston, R. N., Jones, A. A. McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J., 和 DeClercq, E. (1984) “得自 2'-脱氧-5-氟尿苷的一些环磷酸三酯的合成和生物性质”, J. Med Chem. 27, 440-444; Ji, Y. H., Moog, C., Schmitt, G., Bischoff, P. 和 Luu, B. (1990); “作为潜在的抗肿瘤剂的 7- β -羟基胆固醇和嘧啶核苷的单磷酸酯: 合成及抗肿瘤活性的初步评价”, J. Med Chem. 33 2264-2270; Jones, A. S., McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J. 和 DeClercq, E. (1984) “一些核苷环磷酰胺的合成、性质及生物活性”, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1471-1474; Juodka, B. A. 和 Smrt, J. (1974) “二核糖核苷磷 (P $\rightarrow$ N) 氨基酸衍生物的合成”, Coll. Czech. Chem. Comm. 39, 363-968; Kataoka, S., Imai, J., Yamaji, N., Kato, M., Saito, M., Kawada, T. 和 Imai, S. (1989) “烷基化的 cAMP 衍生物; 选择性合成和生物活性”, Nucleic Acids Res, Sym. Ser. 21, 1-2; Kataoka, S., Uchida, “(cAMP) 苄

基和甲基三酯”, *Heterocycles* 32, 1351-1356; Kinchington, D., Harvey, J. J., O’Comor, T. J., Jones, B. C. N. M., Devine, K. G., Taylor-Robinson D., Jeffries, D. J. 和 McGuigan, C. (1992) “齐多夫定的氨基磷酸酯和二氨基磷酸酯衍生物体外抗 HIV 和 ULV 的抗病毒作用的比较”, *Antiviral Chem. Chemother.* 3, 107-112; Kodmna, K., Morozumi, M., Saithoh, K. I., Kuninaka, H., Yosino, H. 和 Saneyoshi, M. (1989) “1- β -D-呋喃阿糖基胞嘧啶-5’-硬脂基磷酸酯的抗肿瘤活性和药理学; 一种 1- β -D-呋喃阿糖基胞嘧啶的口服活性衍生物”, *Jpn. J. Cancer Res.* 80, 679-685; Kerty, M. 和 Engels, J. (1979) “腺苷-和鸟苷 3’, 5’ 磷酸和苄基酯对豚鼠心室心肌的作用”, *Naunyn-Schmiedeberg’s Arch. Pharmacol.* 310, 103-111; Kumar, A., Goe, P. L., Jones, A. S. Walker, R. T. Balzarini, J. 和 DeClereq, E. (1990) “一些环氨基磷酸酯核苷衍生物的合成及生物评价”, *J. Med. Chem.* 33, 2368-2375; LeBec, C. 和 Huynh-Dinh, T. (1991) “5-氟尿苷的磷酸三酯衍生物, 一种阿糖基作为抗癌前药的阿糖胞苷的合成”, *Tetrahedron Lett.* 32, 6553-6556; Lichtenstein, J., Barner, H. D. 和 Cohen, S. S. (1960) “得自 *Escherichia coli*. 的外源性核苷酸的代谢”, *J. Biol. Chem.* 235, 457-465; Lucthy, J., Von Daeniken, A., Friederich, J. Manthey, B., Zweifel, J., Schlafter, C. 和 Bem, M. H. (1981) “天然氨基表硫代烷烃的合成和毒性”, *Mitt. Geg. Lebensmittelunters. Hyg.* 72, 131-133 (*Chem. Abstr.* 95, 127093); McGuigan, C. Tollerfield, S. M. 和 Riley, P. a. (1989) “抗病毒药物 Ara 的一些磷酸三酯的合成和生物评价”, *Nucleic Acids Res.* 17, 6065-6075; McGuigan, C., Devine, K. G., O’Connor, T. J., Galpin, S. A., Jeffries, D. J. 和 Kinchington, D. (1990a) “抗 HIV 化合物 3’-叠氨基-3’-脱氧胸苷 (AZT) 的一些新的氨基磷酸酯衍生物的合成和评价”, *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 107-113; McGuigan, C., O’Connor, T. J., Nicholls, S. R. Nickson, C. 和 Kinchington, D. (1990b) “AZT 和 ddCyd 的一些新的取代的二烷基磷酸酯衍生物的合成和抗 HIV 活性”, *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 355-360; McGuigan, C., Nicholls, S. R., O’Connor, T. J., 和 Kinchington, D. (1990c) “作为潜在的抗 AIDS 药物的 3’-修饰的核苷的一些新的二烷基磷酸酯衍生物的合成”, *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 25-33; McGuigan, C., Devin, K. G.,

O'Connors, T.J., 和 Kinchington, D. (1991) “3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷 (AZT) 的一些卤代烷基氨基磷酸酯衍生物的合成和抗 HIV 活性; 三氯乙基甲氧基丙氨酰基化合物的强活性”, *Antiviral Res.* 15, 255-263; McGuigan, C., Pathirana, R.N., B, J. 和 DeCiercq, E. (1993 b) “通过 AZT 的芳基磷酸酯衍生物进行的生物活性 AZT 核苷酸的细胞内转运”, *J. Med Chem.* 36, 1048-1052.

抗 HIV 试剂 AZT 的烷基氢磷酸酯衍生物可能较母体核苷类毒性低。*Antiviral Chem. Chemother.* 5, 271-277; Meyer, R. B., Jr., Shuman, D.A. 和 Robins, R.K. (1973) “嘌呤核苷 3', 5'-环氨基磷酸酯的合成”, *Tetrahedron Lett.* 269-272; Nagyvary, J. Gohil, R.N., Kirchner, C.R. 和 Stevens, J.D. (1973) “对环 AMP 中性酯的研究”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 55, 1072-1077; Namane, A. Gouyette, C., Fillion, M.P., fillion, G. 和 HuynhDinh, T. (1992) “用葡萄糖基磷酸三酯前药改善 AZT 的脑转运”, *J. Med Chem.* 35, 3039-3044; Nargeot, J. Nerbome, J.M. Engels, J. 和 Leser, H.A. (1983) *Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 2395-2399; Nelson, K.A., Bentrude, W.G. Stser, W.N. 和 Hutchinson, J.P. (1987) “核苷环 3', 5' 单磷酸的磷酸环的位置扭曲平衡问题. 胸苷苯基环 3', 5'-单磷酸的非对映异构体的 ^1H NMR 和 X 射线结晶学研究”, *J. Am. Chem. Soc.* 109, 4058-4064; Nerbonne. J.M., Richard, S., Nargeot, J. 和 Lester, H.A. (1984) “在环 AMP 和环 GMP 浓度方面新的光活化环核苷酸产生细胞内跳越”, *Nature* 301, 74-76; Neumann, J.M., Herve, M., Debouzy, J.C., Guerra, F.I., Gouyette, C., Dupraz, B. 和 Huyny-Dinh, T. (1989) “胸苷的葡萄糖基磷脂合成及用 NMR 进行其跨膜运输的研究”, *J. Am. Chem. Soc.* 111, 4270-4277; Ohno, R., Tatsumi, N., Hirano, M., Imai, K. Mizoguchi, H., Nakamura, T., Kosaka, M., Takatuski, K., Yajmaya, T., Toyarna K., Yoshida, T., Masaoka, T., Hashimoto, S., Ohshima, T., Kimura, I., Ywnada, K. 和 Kimura, J. (1991) “口服 1- β -D-阿糖基铀酰基胞嘧啶-5'-硬脂基磷酸治疗脊髓发育不良综合征”, *Oncology* 48, 451-455. Palomino, E., Kessle, D. 和 Horwitz, J.P. (1989) “用于 2', 3' 二脱氧核苷向脑的持续转运的二氢吡啶载体系统”, *J. Med Chem.* 32, 22-625; Perkins, R.M., Barney, S. Wittrock, R., Clark, P.H., Levin, R. Lambert,

D. M., Peneway, S. R., Serafinowska, H. T., Bailey, S. M., Jackson, S., Hamden, M. R. Ashton, R., Sutton, D., Harvey, J. J. 和 Brown, A. G. (1993) “BRL47923 及其口服前药 SB203657A 抗小鼠的 rauscher 鼠白血病病毒感染的活性”, *Antiviral Res.* 20 (Suppl. I) . 84; Piantadosi, C., Marasco, C. J., Jr., Norris-Natschke, S. L., Meyer, K. L., Gumus, F., Surles, J. R., Ishaq, K. S., Kucera, L. S. Iyer, N., Wallen, C. A., Piantadosi, S. 和 Modest, E. J. (1991) “新的醚脂核苷化合物的合成及抗 HIV-1 活性的评价”, *J. Med Chem.* 34, 1408-1414; Pompon, A., Lefebvre, I., Imbach, J. L., Kahn, S. 和 Farquhar, D. (1994) . “在细胞提取物和组织培养基中叠氮基胸苷-5'-单磷酸的单和双 (新戊酰氧基甲基) 酯的分解路径; 闭合线路 ISRP-清洁 HPLC 技术的应用”, *Antiviral Chem Chemother.* 5, 91-98; Postemark, T. (1974) “环 AMP 和环 GMP”, *Annu. Rev. Pharmacol.* 14, 23-33; Prisbe, E. J., Martin, J. C. M., McGhee, D. P. C., Barker, M. F., Smee, D. F. Duke, A. E., Matthews, T. R. 和 Verheyden, J. P. J. (1986) “9-[(1, 3-二羟基-2-丙氧基) 甲基] 鸟嘌呤的磷酸和膦酸衍生物的合成及抗疱疹病毒活性”, *J. Med. Chem.* 29, 671-675; Pucch, F., Gosselin, G., Lefebvre, I., Pompon, a., Aubertin, A. M. Dim, 和 Imbach, J. L. (1993) “通过还原酶介导的活化方法进行核苷单磷酸的细胞内转运”, *Antiviral Res.* 22, 155-174; Pugaeva, V. P., Klochkeva, S. I., Mashbits, F. D. 和 Eizengart, R. S. (1969) . “在工业环境中环硫乙烷的毒性评价和健康标准等级”, *Gig. Trf. Prof. Zabol.* 14, 4748 (Chem. Abstr. 72, 212); Robins, R. K. (1984) “核苷酸类似物作为逆转录病毒和肿瘤抑制剂的潜力”, *Pharm. Res.* 11-18; Rosowsky, A., Kim, S. H., Ross 和 J. Wick, M. M. (1982) “1-β-D-呋喃阿糖基胞嘧啶的亲脂性 5' (烷基磷酸) 酯及其 N⁴-酰基和 2, 2'-脱水-3' O-酰基衍生物作为潜在的前药”, *J. Med Chem.* 25, 171-178; Ross, W. (1961) “逐步加样设备对带有碱性侧链的芳香氮芥在葡萄糖预处理后敏感性的增加”, *Biochem. Pharm.* 8, 235-240; Ryu, E. K., Ross, R. J. Matsushita, T., MacCoss, M., Hong, C. I. 和 West, C. R. (1982) . “磷脂核苷化合物. 3. 对 1-β-D-呋喃阿糖基胞嘧啶 5' 二磷酸[-], 2-二酰基甘油的合成和初步生物评价”, *J. Med Chem.* 25, 1322-1329; Saffhill, R. 和 Huine, W. J. (1986) “不同来源的血清

对 5-碘脱氧尿苷和 5-溴乙氧基尿苷的降解以及用这些化合物掺入 DNA 的结果”, Chem. Biol. Interact. 57, 347-355; Saneyoshi, M., Morozumi, M., Kodama, K., Machida, J., Kuninaka, A. 和 Yoshino, H. (1980) “合成核苷和核苷酸, XVI. 一系列 1- β -D-呋喃阿糖基胞嘧啶 5'-烷基或芳基磷酸酯的合成和生物评价”, Chem Pharm. Bull. 28, 2915-2923; Sastry, J.K., Nehete, P.N., Khan, S., Nowak, B.J., Plunkett, W., Arlinghaus, R.B. 和 Farquhar, D. (1992) “膜透过性二脱氧尿苷 5'-单磷酸类似物抑制人免疫缺陷病毒感染”, Mol. Pharmacol. 41, 441-445; Shaw, J.P., Jones, R.J. Arimilli, M.N., Louie, M.S., Lee, W.A. 和 Cundy, K.C. (1994) “得自 PMEA 前药的 PMEA 在雄性 Sprague-Dawley 大鼠中的口服生物利用度”, 9th Annual AIPS Meeting, San Diego, CA (文摘). Shuto, S., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K. Matsuda, A. 和 Ueda, T. (1987) “用酶两相反应容易地一步合成 5' 磷脂酰基核苷”, Tetrahedron Lett. 28, 199-202; Shuto, S. Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Kukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. 和 Ueda, T. (1988) Pharm. Bull. 36, 209-217. 有利的磷酸酯前药类的实例是 S-酰基-2-硫代乙基类, 也称为“SATE”。

II. 联合和交替治疗

已认识到在长时间用抗病毒剂治疗可以出现 HIV 和 HBV 的抗药变体。抗药性最常通过编码用于病毒复制的酶的基因的突变产生, 并在 HIV 的情况下, 最普遍的是逆转录酶、蛋白酶或 DNA 聚合酶, 而对于 HBV, 是 DNA 聚合酶。最近, 已表明通过与主药引起不同突变的第二种, 也许第三种抗病毒化合物联合或交替使用该化合物, 药物抗 HIV 感染的效果可以延长、增加或保持。或者, 通过此联合或交替治疗, 该药物的药代动力学、生物分布或其它参数可以改变。总之, 联合治疗一般较交替治疗更被优选, 这是因为其对病毒引起多重刺激应力。

在一个实施方案中, 治疗 HIV 用的第二种抗病毒剂可以是逆转录酶抑制剂 (一种“RTI”), 其可以是合成的核苷 (一种“NRTI”) 或非核苷化合物 (一种“NNRTI”)。在一个实施方案中, 对于 HIV, 第二种 (或第三种) 抗病毒剂可以是蛋白酶抑制剂。在另一个实施方案中, 第二种 (或第三种) 可以是焦磷酸酯类似物或融合结合抑制剂。一些抗病毒化合物体外和体内的抗药性数据见 Schinazi 等, 与抗药性有关的逆转录病毒

基因突变, International Antiviral News, 1997.

用于联合或交替治疗 HBV 的优选化合物包括 3TC, FTC, L-FMAU, 干扰素, β -D-二氧杂环戊烷基-鸟嘌呤 (DXG), β -D-二氧杂环戊烷基 2, 6-二氨基嘌呤 (DAPD) 和 β -D-二氧杂环戊烷基-6-氯嘌呤 (ACP), 泛昔洛韦, 喷昔洛韦, BMS-200475, bis pom PMEA (adefovir, dipivoxil); lobucavir, 更昔洛韦及利巴韦林。

可以与本文中公开的化合物联合或交替治疗的抗病毒剂的优选实例包括顺-2-羟甲基-5-(5-氟胞嘧啶-1-基)-1, 3-氧硫杂环戊烷 (FTC); 2-羟甲基-5-(胞嘧啶-1-基)-1, 3-氧杂硫杂环戊烷 (3TC) 的 (-) - 对映异构体; 卡波佛, 阿昔洛韦, 膦甲酸, 干扰素, AZT, DDI, DDC, D4T, CS-87 (3'-叠氮基-2', 3'-二脱氧-尿苷) 和 β -D-二氧杂环戊烷核苷如 β -D-二氧杂环戊烷基-鸟嘌呤 (DXG), β -D-二氧杂环戊烷基-2, 6-二氨基嘌呤 (DAPD) 和 β -D-二氧杂环戊烷基-6-氯嘌呤 (ACP), MKC-442 (6-苄基-1-(乙氧基甲基)-5-异丙基尿嘧啶)。

优选的蛋白酶抑制剂包括克缇满 (crivivan, Merck), 奈非那韦 (nelfinavir, Agouron), 利托那韦 (ritonavir, Abbott), 沙奎那韦 (Roche), DMP-266 (Sustiva, 依非韦伦) 和 DMP-450 (DuPont Merck)。

可以与任何公开的核苷联合或交替给药的化合物的更综合的列表包括 (1S, 4R) -4-[2-氨基-6-环丙基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2-环戊烯-1-甲醇琥珀酸酯 ("1592", 一种卡波佛类似物; GlaxoWellcome); 3TC: (-) -B-L-2', 3'-二脱氧-3'-硫杂胞苷 (GlaxoWellcome); a-APA R18893: a-硝基-苯氨基-苯基乙酰胺; A-77003; C2 对称的蛋白酶抑制剂 (Abbott); A-75925: C2 对称蛋白酶抑制剂 (Abbott); AAP-BHAP: 双杂芳基嘧啶类似物 (Upjohn); ABT-538: C2 对称蛋白酶抑制剂 (Abbott); AzddU: 3'-叠氮基-2', 3'-二脱氧尿苷; AZT: 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷 (GlaxoWellcome); AZT-p-ddI: 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷基-(5', 5') -2', 3'-二脱氧次黄嘌呤核苷酸 (Ivax); BHAP: 双杂芳基嘧啶; BILA 1906: N-{1S-[[[3-[2S-{(1, 1-二甲基乙基) 氨基] 羰基]-4R-] 3-吡啶基甲基) 硫代]-1-嘧啶基]-2R-羟基-1S (苯基甲基) 丙基] 氨基] 羰基]-2-甲基丙基)-2-喹啉甲酰胺 (Bio Mega/Boehringer-Ingelheim); BILA 2185: N-(1, 1-二甲基乙基)-1-[2S-[[2-2, 6-二甲基苯氧基)-1-氧代乙基] 氨基]-2R-羟基-4-苯基丁基]-4R-吡啶基硫代)-2-嘧啶甲酰胺

(BioMega/Boehringer-Ingelheim); BM+51.0836: 噻唑并-异二氢吡啶酮衍生物; BMS 186,318: 氨基二醇衍生物 HIV-1 蛋白酶抑制剂 (Bristol-Myers-Squibb); d4API: 9-[2, 5-二氢-5-(磷酸基甲氧基)-2-呋喃基]腺嘌呤 (Gilead); d4C: 2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧胞苷; d4T: 2', 3'-二脱氢-3'-脱氧胸苷 (Bristol-Myers-Squibb); ddC: 2', 3'-二脱氧胞苷 (Roche); ddI: 2', 3'-二脱氧肌苷 (Bristol-Myers-Squibb); DMP-266: 1, 4-二氢-2H-3, 1-苯并噁嗪-2-酮; DMP-450: {[4R-(4-a, 5-a, 6-b, 7-b)]-六氢-5, 6-双(羟基)-1, 3-双(3-氨基)苯基]甲基)-4, 7-双(苯基甲基)-2H-1, 3-二氮杂环庚三烯-2-酮}-双甲磺酸酯 (Avid); DXG: (-)- β -D-二氧杂环戊烷鸟苷 (Triangle); EBU-dM: 5-乙基-1-乙氧基甲基-6-(3, 5-二甲基苄基)尿嘧啶; E-EBU: 5-乙基-1-乙氧基甲基-6-苄基尿嘧啶; DS: 硫酸葡聚糖; E-EPSeU: 1-(乙氧基甲基)-(6-苯基氢硒基)-5-乙基尿嘧啶; E-EPU: 1-(乙氧基甲基)-(6-苯硫基)-5-乙基尿嘧啶; FTC: β -2', 3'-二脱氧-5-氟-3'-硫杂胞苷 (Triangle); HBY097: S-4-异丙氧基羰基-6-甲氧基-3-(甲硫基-甲基)-3, 4-二氢喹啉-2(1H)-硫酮; HEPT: 1-[(2-羟基乙氧基)甲基]-6-(苯硫基)胸腺嘧啶; HIV-1: 人类免疫缺陷病毒 1 型; JM2763: 1, 1'-(1, 3-亚丙基)-双-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷 (Johnson Matthey); JM3100: 1, 1'-[1, 4-亚苯基双-(亚甲基)]双-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷 (Johnson Matthey); KNI-272: 含 (2S, 3S)-3-氨基-2-羟基-4-苯基丁酸的三肽; L-697, 593: 5-乙基-6-甲基-3-(2-苯二酰亚氨基-乙基)吡啶-2(1H)-酮; L-735, 524: 羟基-氨基戊烷甲酰胺 HIV-1 蛋白酶抑制剂 (Merck); L-697, 661: 3-{[(4, 7-二氯-1, 3-苯并噁唑-2-基)甲基]氨基}-5-乙基-6-甲基吡啶-2(1H)-酮; L-FDDC: (-)- β -L-5-氟-2', 3'-二脱氧胞苷; L-FDOC: (-)- β -L-5-氟-二氧杂环戊烷胞嘧啶; NMC442: 6-苄基-1-乙氧基甲基-5-异丙基尿嘧啶 (I-EBU; Triangle/Mitsubishi); 奈韦拉平: 11-环丙基-5, 11-二氢-4-甲基-6H-二吡啶并 [3, 2-b: 2', 3'-e] 二氮杂环庚三烯-6-酮 (Boehringer-Ingelheim); NSC648400: 1-苄氧基甲基-5-乙基-6-(α -吡啶硫基)尿嘧啶 (E-BPTU); P9941: [2-吡啶基乙酰基-IlePheAla-y (CHOH)]₂ (Dupont Merck); PFA: 磷酸基甲酸酯 (膦甲酸钠; Astra); PMEa: 9-(2-磷酸基甲氧基乙基)腺嘌呤 (Gilead); PMPA: (R)-9-(2-

磷酰基甲氧基丙基)腺嘌呤(Gilead); Ro 31-8959: 羟基乙胺衍生物 HIV-1 蛋白酶抑制剂 (Roche); RPI-312: 肽基蛋白酶抑制剂, 1-[(3s) -3- (正- α -苄氧羰基) -1-天冬酰胺酰基) -氨基-2-羟基-4-苯基丁酰基]-正-叔丁基-1-脯氨酸酰胺; 2720: 6-氯-3, 3-二甲基 4- (异丙烯氧羰基) -3, 4-二氢-喹啉-2 (1H) 硫酮; SC-52151: 羟基乙基-脲电子等排物蛋白酶抑制剂 (Searle); SC-55389A: 羟基乙基-脲电子等排物蛋白酶抑制剂 (Searle); TIBO R82150: (+) - (5S) -4, 5, 6, 7-四氢-5-甲基-6- (3-甲基-2-丁烯基) 咪唑并[4, 5, 1-jk][1, 4]-苯并二氮杂环庚三烯-2 (1H) -硫酮 (Janssen); TIBO 82913: (+) - (5S) -4, 5, 6, 7-四氢-9-氯-5-甲基-6- (3-甲基-2-丁烯基) 咪唑并[4, 5, 1jk]-[1, 4]苯并-二氮杂环庚三烯-2 (1H) -硫酮 (Janssen); TSAO-m3T: [2', 5'-双-0- (叔丁基二甲基甲硅烷基) -3'-螺-5'-(4'-氨基-1', 2'-氧杂硫羟基 (thiole) -2', 2'-二氧化物)]-b-D-呋喃戊糖基-N3-甲基胸腺嘧啶; U90152: 1-[3-[(1-甲基乙基) -氨基]-2-吡啶基]-4-[[5-[(甲基磺酰基) -氨基]-1H -吡啶-2-基]羰基]哌嗪; UC: 硫代酰基苯胺衍生物 (Uniroyal); UC-781= N-[4-氯-3- (3-甲基-2-丁烯氧基) 苯基]-2-甲基-3-呋喃硫代甲酰胺; UC-82 =N-[4-氯-3- (3-甲基-2-丁烯氧基) 苯基]-2-甲基-3-噻吩硫代甲酰胺; VB 11, 328: 羟基乙基-磺酰胺蛋白酶抑制剂 (Vertex); VX-478: 羟基乙基磺酰胺蛋白酶抑制剂 (Vertex); XM 323: 环脲蛋白酶抑制剂 (Dupont Merck).

联合治疗增殖性病症

在另一个实施方案中, 当用作抗增殖药时, 这些化合物可以与增加该治疗效果的另一种化合物联合使用, 所谓的另一种化合物包括但不限于抗叶酸药, 5-氟嘧啶 (包括 5-氟尿嘧啶), 胞苷类似物如 β -L-1, 3-二氧杂环戊烷基胞苷或 β -L-1, 3-二氧杂环戊烷基 5-氟胞苷, 抗代谢药 (包括嘌呤抗代谢药, 阿糖胞苷, fudarabine, 氟尿苷, 6-巯基嘌呤, 甲氧蝶呤和 6-硫代鸟嘌呤), 羟基脲, 有丝分裂抑制剂 (包括 CPT-11, 依托泊苷 (VP-21), 紫杉醇和长春花属生物碱如长春新碱和长春花碱, 烷化剂 (包括但不限于白消安, 苯丁酸氮芥, 环磷酰胺, 异环磷酰胺, 氮芥, 美法仑和噻替派), 非经典的烷化剂, 含铂的化合物, 博来霉素, 抗肿瘤抗生素, 蒽环类抗生素如阿霉素和 dannomycin, 蒽二酮类, 拓扑异构酶 II 抑制剂, 激素制剂 (包括但不限于皮质类固醇 (地塞米松, 泼尼

松和甲基泼尼松), 雄激素如氟甲睾酮和甲基睾酮, 雌激素如己烯雌酚, 抗雌激素如他莫昔芬, LHRH 类似物如利普胺, 抗雄激素如氟他胺, 氨鲁米特, 醋酸甲地孕酮和甲羟孕酮), 天冬酰胺酶, 卡莫司汀, 罗氮芥, 六甲基-三聚氰胺, 达卡巴嗪, 米托坦, 链佐星, 顺铂, 卡铂, 左旋咪唑和亚叶酸。本发明的化合物还可与酶治疗剂及免疫系统调节剂如干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子、巨噬细胞集落刺激因子和集落刺激因子联合使用。

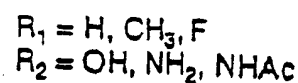
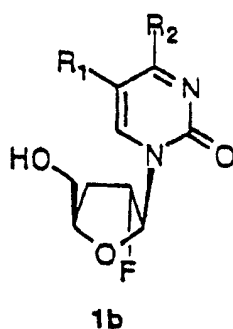
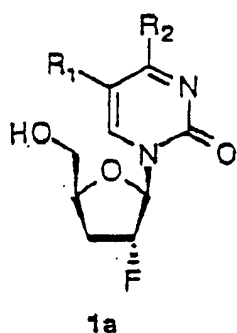
III. 制备活性化合物的方法

在本发明的一个实施方案中, 提供了将氟引入新核苷类似物的糖部分上的非对映异构选择反应。此合成可以用来制备嘌呤和嘧啶衍生物。合成路线中的关键步骤是手性的、非碳水化合物糖环前体 (4S)-5-(被保护的-氧基)-戊-4-交酯, 例如, (4S)-5-(叔丁基二苯基甲硅氧烷基) 戊-4-甲酯 4 使用亲电性的氟来源, 包括但不限于, N-氟-(双) 苯磺酰亚胺 5。此类相对较新的 N-氟磺酰亚胺试剂由 Barnette 在 1984 年首先开放, 从此几经精制并作为便利和高反应性的亲电性氟 (Barnette, W. E. J. Am. Chem. Soc. 1984, 106, 452.; Davis, F. A.; Han; W., Murphy, C. K. J. Org. Chem. 1995, 60, 4730; Snieckus, V.; Beaulieu, F.; Mohri, K.; Han, W.; Murphy, C. K.; Davis, F. A. Tetrahedron Lett. 1994, 35 (21), 3465)。这些试剂最常用将氟转运给亲核试剂如烯醇和金属化的芳香族化合物 (Davis, F. A.; Han; W., Murphy, C. K. J. Org. Chem. 1995, 60, 4730)。具体地讲, N-氟-(双) 苯磺酰亚胺 (NFSI) 是在空气中稳定的、易于处理的固体, 对将甲硅烷基保护的酯 4 的烯醇的立体选择性氟化有足够的立体位阻。作为此方法的非限制性实例, 氟化酯 6 的合成及其作为合成一些新的 α -2'-氟代核苷中的普通中间体详述如下。根据本说明书, 本领域普通技术人员可以按照需要常规修改此方法以完成要求的目的并制备需要的化合物。

可以用任何来源的亲电性氟将前体 (4S)-5-(被保护的-氧基)-戊-4-交酯, 例如 (4S)-5-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)-戊-4-交酯氟化。亲电性氟的其它来源包括 N-氟代氨基磺酸类 (Differding 等, Tet. Lett. Vol. 29, No. 47 pp. 6087-6090 (1988); Chemical Reviews, 1992, Vol 92, No. 4 (517)), N-氟-O-苯二磺酰亚胺 (Tet. Lett. Vol. 35, 3456-3468 页 (1994), Tet Lett. Vol 35. No. 20, 3263-3266 页

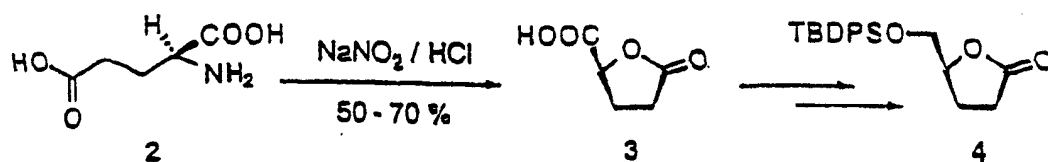
(1994)); J. Org. Chem. 1995, 60, 4730-4737), 1-氟乙烯及合成的同等物 (Matthews, Tet. Lett. Vol. 35, No. 7, 1027-1030 页 (1994); Allied Signal, Inc., Buffalo Research Laboratory, Buffalo, New York 销售的 Accufluor 氟化试剂 (NFTh (1-氟-4-羟基-1, 4-二偶氮基-双环 [2.2.2] 辛烷 双 (四氟硼酸盐)), NFPy (N-氟吡啶鎓吡啶七氟二硼酸盐) 和 NFSi (N-氟苯磺酰亚胺); Aldrich Chemical Company, Inc. 销售的亲电性氟化试剂, 包括 N-氟吡啶鎓盐 ((1-氟-2, 4, 6-三甲基吡啶鎓三氟甲磺酸盐, 3, 5-二氯-1-氟吡啶鎓三氟甲磺酸盐, 1-氟吡啶鎓三氟甲磺酸盐, 1-氟吡啶鎓四氟硼酸盐和 1-氟吡啶鎓七氟二硼酸盐), 还可参见 J. Am. Chem. Soc., Vol 112, No. 23 1990); N-氟磺酰亚胺和酰胺类 (N-氟-N-甲基-对-甲苯磺酰胺, N-氟-N-丙基-对-甲苯磺酰胺和 N-氟苯磺酰亚胺); N-氟-喹宁丁氟化物 (J. Chem. Soc. Perkin Trans I 1988, 2805-2811); 全氟-2, 3, 4, 5-四氢吡啶和全氟-(1-甲基吡咯烷), Banks, Cheng 和 Haszeldine, 杂环的多氟代-化合物 部分 II (1964); 1-氟-2-吡啶酮, J. Org. Chem., 1983 48, 761-762; 带有氟原子的四元实体中心 (J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 221-227 页 (1992)); N-氟-2, 4, 6-吡啶鎓三氟甲磺酸盐, Shimizu, Tetrahedron Vol 50 (2), 487-495 页 (1994); N-氟吡啶鎓吡啶七氟二硼酸盐, J. Org. Chem. 1991, 56, 5962-5964, Umemoto 等, Bull. Chem. Soc. Jpn., 64 1081-1092 (1991); N-氟代全氟烷基磺酰亚胺类, J. Am. Chem. Soc., 1987, 109, 7194-7196; Purrington 等, Lewis 酸介导的芳香族底物的氟化, J. Org. Chem. 1991, 56, 142-145.

此方法的显著优点是能通过分别适当选择 L-或 D-谷氨酸起始物分别使用核苷的“天然”(1a) D 或“非天然”(1b) L 对映体。



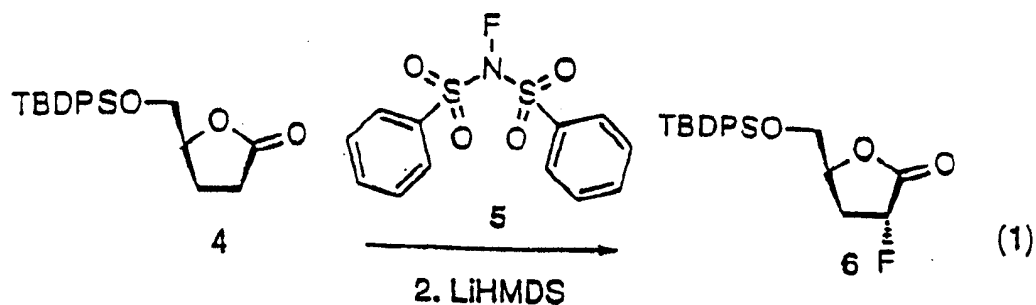
通过方案 1 所示的路线由 L-谷氨酸合成内酯 4, 如 Ravid 等所述 (Tetrahedron 1978, 34, 1449) 和 Taniguchi 等所述 (Tetrahedron 1974, 30, 3547)。

方案 1



已知内酯 4 的烯醇, 在 -78°C 用 LiHMDS 在 THF 中制备, 是稳定的。用此烯醇已进行了若干合成, 包括以高收率加入亲电子试剂如二苯基二硒化物, 二苯基二硫化物和烷基卤化物 (Liotta, D. C.; Wilson, L. J. Tetrahedron Lett. 1990, 31 (13), 1815; Chu, C. K.; Babu, J. R.; Beach, J. W.; Ahn, S. K.; Huang, H.; Jeong, L. S.; Lee, . S. J. J. Org. Chem., 1990, 55, 1418; Kawakami, H.; Ebata, T.; Koseki, K.; Matsushita, H.; Naoi, Y.; Itoh, K. Chem. Lett. 1990, 1459)。但是, 向 4 的烯醇中加入 5 的 THF 溶液得到的所需单氟代产物 6 的收率极差。形成了一些副产物包括所推测的二氟代内酯, 其与其它杂质是不可分离的。为此, 改变试剂的加入顺序, 将内酯 4 和 NFSi 5 一起溶解于 THF 中并冷却至 -78°C 。缓慢加入 LiHMDS, 得到除了小量的未反应起始物 (反应式 1) 以外的唯一产物。

反应式 1

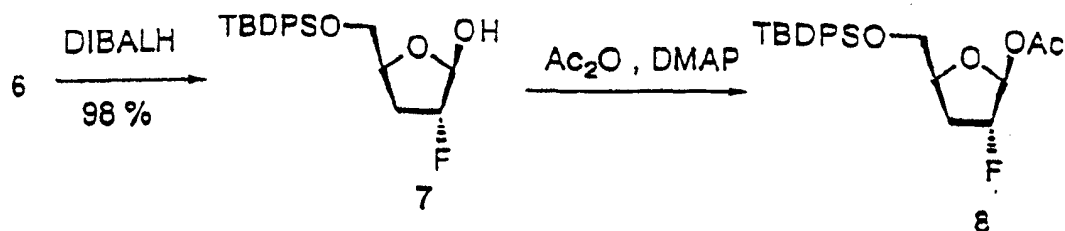


经硅胶柱色谱纯化和结晶后可以获得收率 50-70% 的氟内酯 6。此反应得到 6 的单一非对映异构体, 推测是由于立体位阻 TBDPS 基团和体积

较大的氟化试剂 5 的相互作用。通过比较以前公开的、其对映异构体 20 的 NMR 数据和 X 射线晶体结构检测, 确定氟代内酯 6 为 α 或“向下”的氟异构体。

如方案 2 所示将内酯 6 转变为端基异构体乙酸酯 8。应注意邻位羟基内酯 7 只以 β 端基异构体的形式存在, 而乙酸酯 8 没有表现出 NMR 可检测的 α 端基异构体, 如 Niihata 等报告 (Bull. Chem. Soc. Jpn. 1995, 68, 1509)。

方案 2



通过标准 Vorbruggen 方法偶联 8 与甲硅烷基化的嘧啶碱基 (Tetrahedron Lett. 1978, 15, 1339), 用 TMS 三氟甲磺酸盐作为 Lewis 酸。或者, 可以使用任何其它已知可以用来缩合碱基和碳水化合物以形成核苷的 Lewis 酸, 包括氯化锡、氯化钛和其它锡或钛化合物。一些碱基以柱色谱纯化后 72-100% 的高收率成功地偶联 (反应式 2, 表 1)。

反应式 2

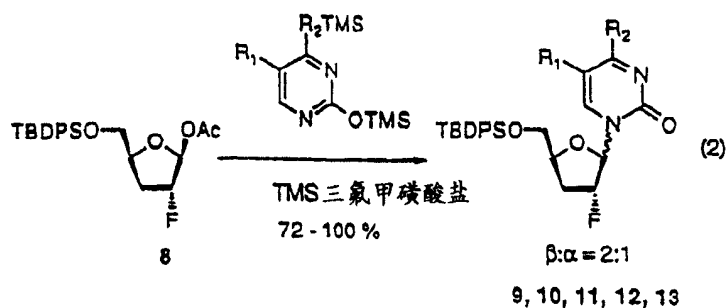


表 1. 用 8 将取代的嘧啶类糖基化

化合物	R ₁	R ₂	收率
9	F	OH	87 %
10	F	NH ₂	99%
11	H	NHAc	91 %
12	H	NH ₂	72 %
13	CH ₃	OH	89 %

质子 NMR 表明在所有情况下β和α核苷端基异构体的比率约为 2: 1。甲硅烷基保护的核苷不能通过柱色谱拆分为分离的端基异构体。但是, 用 NH₄F 在甲醇中将 5'-氧原子脱保护后 (反应式 3), 可以容易地将α和β端基异构体分离, 并总结于表 2。

反应式 3

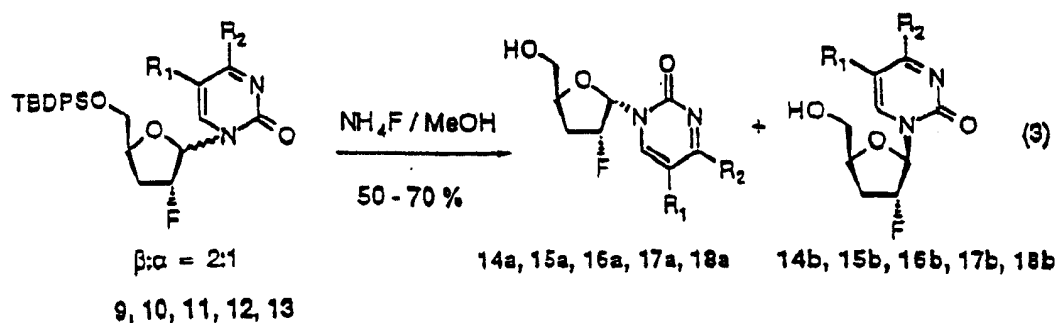


表 2. 核苷的脱保护

R ₁	R ₂	a	收率	b	收率
F	OH	14a	19 %	14b	48 %
F	NH ₂	15a	27 %	15b	51 %
H	NHAc	16a	17 %	16b	31 %
H	NH ₂	17a	-----	17b	-----
CH ₃	OH	18a	12 %	18b	33 %

α或β游离核苷的分类基于端基异构质子的化学位移 (表 3) 和如通

过薄层色谱观察到的核苷的极性。观察所有的游离核苷的 α/β 对的趋势,其中极性较小的化合物的端基质子的化学位移显然较极性较大的化合物在较高磁场。

表 3. 端基异构质子化学位移 (ppm)

化合物	α	β
14 a,b	6.11	5.89
15 a,b	6.08	5.92
16 a,b	6.09	5.90
17 a,b	6.05	5.92
18 a,b	6.11	5.93

通过比较 18a(Niihata, S.; Ebata, T.; Kawakami, H.; Matsushida, H. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1995, 68,1509) 和 18b (Aerschot, A. V.; Herdewijn, P.; Balzarini, J.; Pauwels, R.; De Clercq, E. J. Med Chem. 1989, 32,1743), 用以前公开的波谱数据并通过 14b 和 15b 的 X 射线结晶结构测定, 来证明端基异构质子化学位移与绝对结构的关系。此发现与核苷的通常趋势相反, 其中在此二者中 α 端基异构体一般极性较小。大概在“向下”2'-氟化核苷中, C-F 键的强偶极对抗 β 异构体中的 C-N 端基异构键偶极并降低整个分子的偶极性。相反, α 端基异构体的几何构型使分子偶极通过加入 C-F 和 C-N 键偶极而加强。因此, 对于 α -2'-氟代核苷的情况, α 端基异构体比 β 端基异构体更具极性。

α 和 β 端基异构体 17a 和 17b 不能通过柱色谱分离, 因为游离的氨基使核苷在硅胶上走的太快。因此, 需要用 N^4 乙酰基胞嘧啶来制备 11 并再拆分 16a 和 16b。用氨的饱和甲醇溶液定量除去 N^4 -乙酰基以便得到分离的 17a 和 17b。当用 5-氟胞嘧啶作为碱(化合物 10)时, 端基异构体 15a 和 15b 容易分离, 且没有观察到在硅胶上形成斑点。

在表 2 列出的十种核苷中, 似乎只有 17b(Martin, J. A.; Bushnell, D. I.; Duncan, I. B.; Dunsdon, S. J.; Hall, M. J.; Machin, P. J.; Merrett, J. H.; Parkes, K. E. B.; Roberts, N. A.; Thomas, G. J.; Galpin, S. A.; Kinchington, D. J. Med. Chem. 1990, 33 (8), 2137; Zenchoff, G. B.; Sun, R; Okabe, M. J. Org. Chem. 1991, 56, 4392),

18a (Niihata, S.; Ebata, T.; Kawakami, H.; Matsushida, H. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1995, 68, 1509) 和 18b (Aerschot, A. V.; Herdewijn, P.; Balzarini, J.; Pauwels, R.; De Clercq, E. J. Med Chem. 1989, 32, 1743) 以前已合成。它们如同一些已知的 2'- β 或“向上”氟代核苷类似物¹⁴ 一样已由天然前体 (即它们是 β -D 构型) 合成。在本发明前的文献中似乎没有确定过 β -L-2'-氟代呋喃核糖基核苷。

一般这些分子通过亲核攻击脱水核苷引入氟 (Mengel, R.; Guschlbauer, W. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1978, 17, 525) 或通过用三氟化二乙基氨基硫 (DAST) 立体化学固定的羟基置换或转化来引入氟 (Herdewijn, P.; Aerschot, A. V.; Kerremans, L. Nucleosides Nucleotides, 1989, 8 (1), 65)。本发明方法的优点之一对于引入氟来说不需要羟基。因此, 该方法不仅仅限于天然核苷或糖作为起始物, 并使 2'-氟代核苷的非天然对映异构体的使用变得简单易行。

因此, 用此合成路线用 D-谷氨酸 19 作为起始物 (方案 3) 合成了若干非天然核苷。糖环前体 20 以上述方法氟化并与不同的甲硅烷基化的碱基偶联 (表 4)。

方案 3

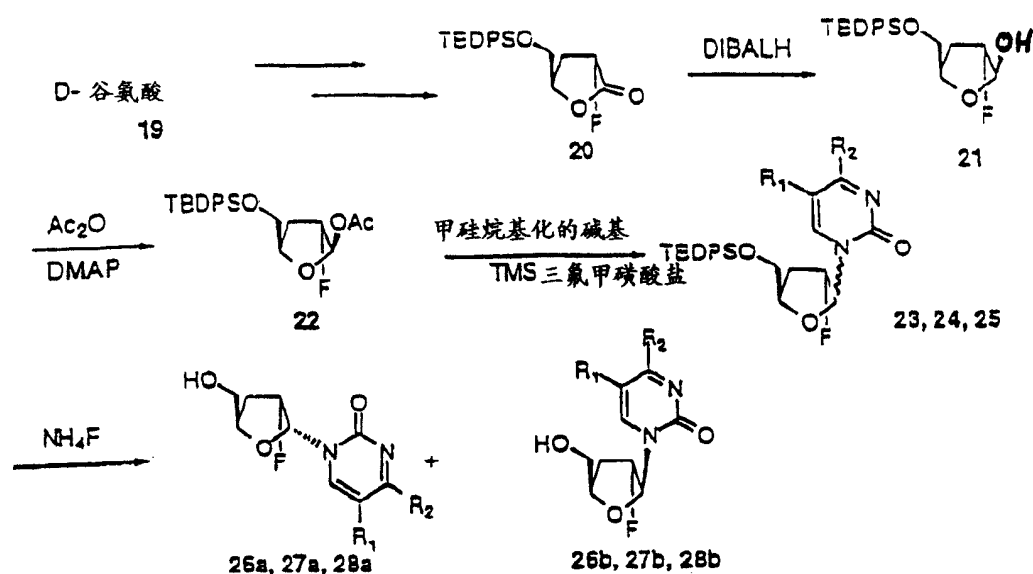
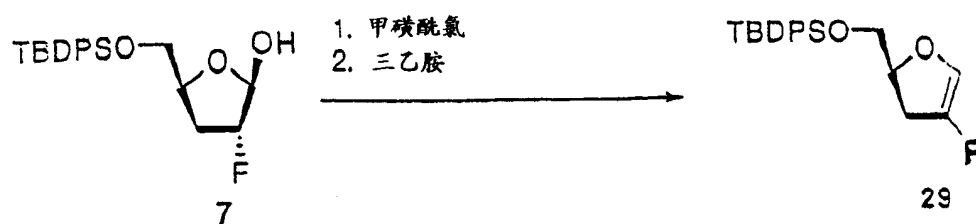


表 4. 非天然核苷类似物的收率

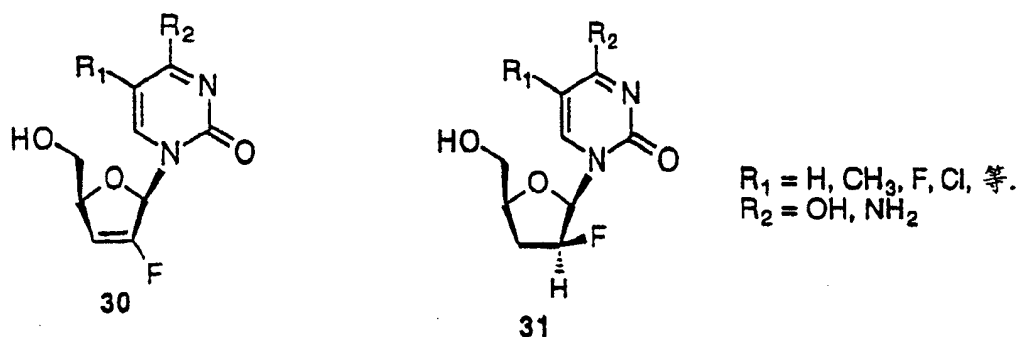
化合物	收率	R ₁	R ₂	a	收率	b	收率
(23-25)							
23	87 %	CH ₃	OH	26a	24 %	26b	61 %
24	85 %	F	OH	27a	35 %	27b	51 %
25	99 %	F	NH ₂	28a	34 %	28b	52 %

方案 4



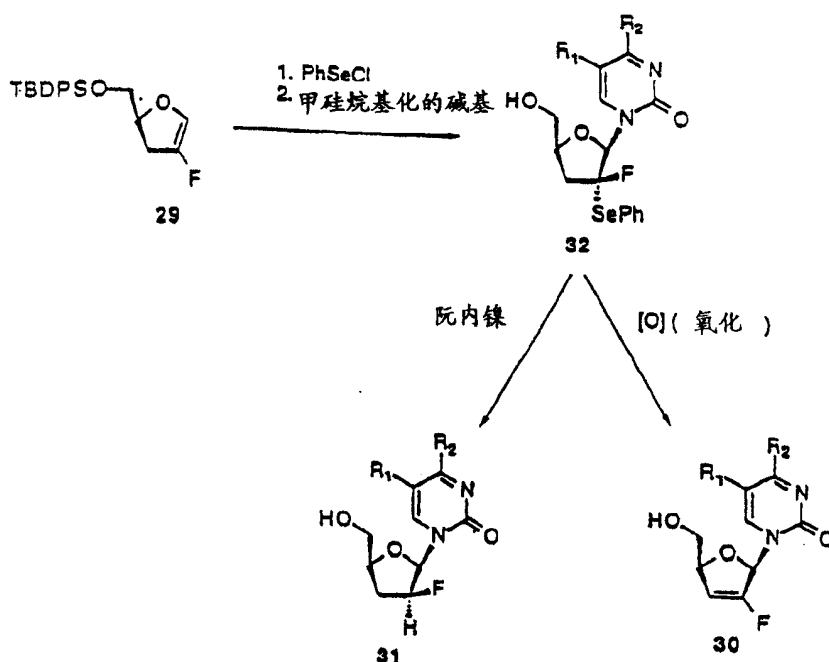
如方案 4 所示 29 的成功合成, 利用了两类核苷。第一类是称为 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-2'-氟-核苷, 30, 而第二类是核苷的“向上”-氟代或阿糖基类似物, 31, 如下列方案 5 所述。

方案 5



由普通的中间体 32 可以合成化合物 30 和 31, 其可以通过氟代烯糖 29 的碘化得到。

方案 6

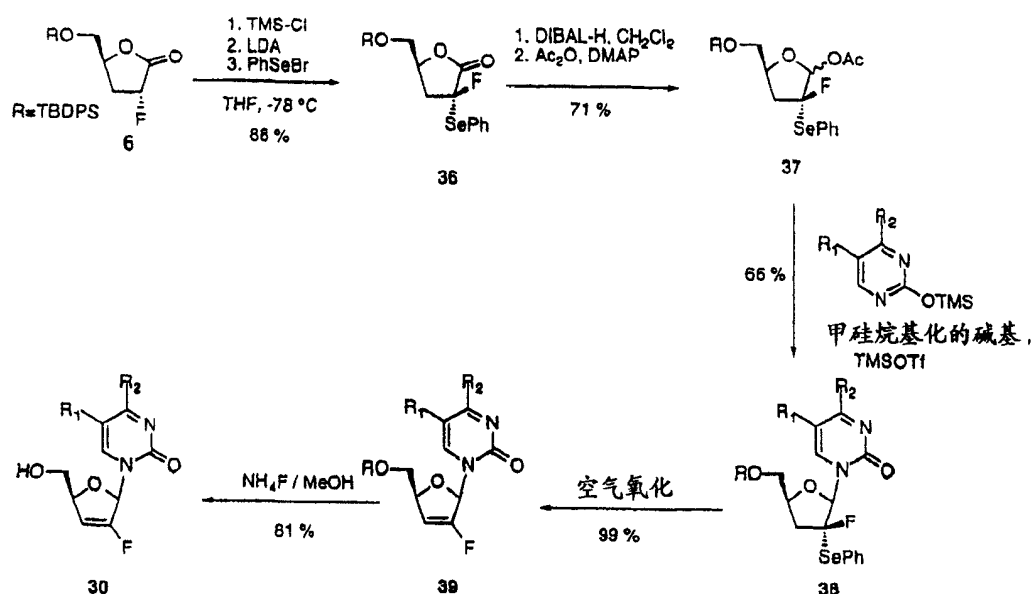


通过用阮内镍还原可以将硒化的化合物 32 转变为“向上”氟代类似物 31。或者，用 NaIO_4 或过氧化氢将硒化物 32 氧化，随后通过此硒化物中间体的热消除反应得到 30。对未氟化系统的这些转化已有详细报道 (Wurster, J. A.; Ph. D. Thesis, Emory University, 1995; Wilson, L. J.; Ph. D. Thesis, Emory University, 1992)。

此外，核苷 30 和 31 的对映异构体的合成也是可能的，这是因为它们得自 29 的对映异构体。

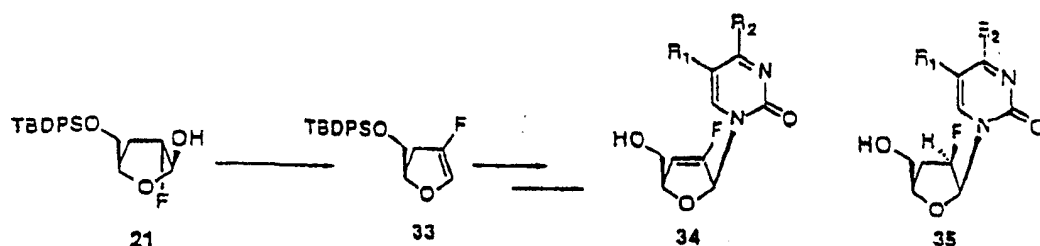
制备 30 表示的化合物 2', 3'-二脱氧-2', 3'-二脱氢-2'-氟-核苷的另一种路线见方案 7。此路线提供了用大范围的甲硅烷基化的碱基来简单地、直接获得此类化合物的方法并已成功地完成。

方案 7



由 6 形成甲硅烷基化的烯酮缩醛可立体选择性地加入苯基溴化硒以产生单个异构体化合物 36。此化合物的还原和酰化反应进行得顺利且两步收率高，得到 37。苯基氢硒基的 α 取向使随后的糖基化步骤中是立体选择性的，并以良好的收率完成了核苷 38 的 β 异构体的合成。化合物 38 可以用过氧化氢在二氯甲烷中氧化得到消除反应的产物 39，但是以我们的经验，只需要将 38 吸附到硅胶上并让其停留若干小时，此后可以从活塞柱中以近乎定量的收率洗脱。如前所述除去 39 的保护基得到终产物 30 并得到收率良好（81%）的核苷产物。

方案 8



用于合成 30 和 31 的一系列化学转变同样可用于合成 34 和 35。

实验部分

一般方法

N-氟-(双)苯磺酰亚胺 5 得自 Allied Signal, 并不经纯化直接使用。所有的其它试剂得自 Aldrich Chemical Company 并不经纯化直接使用。用 Thomas Hoover 毛细管熔点仪检测熔点并且没有校准。用 Nicolet Impact 400 FT-IR 光谱仪获得 IR 谱。 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱在 NT-360 或 Varian 400 MHz 色谱仪上记录。TLC 板为硅胶 60 F_{254} (0.25mm 厚), 购自 EM Science。闪式色谱在购自 EM Science 的硅胶 60 (230-400 目, ASTM) 上进行。所有的反应在火焰干燥的玻璃反应器中在干燥的氩气氛下进行。通过旋转蒸发除去溶剂。由 Atlantic Microlab, Inc, Atlanta, GA. 进行元素分析。

(2S, 4R)-5-(叔丁基二苯基甲硅烷基氧)-2-氟代戊-4-交酯 (20)

向反应瓶中加入存在于 250mL 无水 THF 中的 (4R)-5-(叔丁基二苯基甲硅烷基氧)-戊-4-交酯 (20.0g, 0.0564 mol, 1.0 eq.) 和 N-氟-(双)苯磺酰亚胺 (NFSi) 5 (17.80g, 0.0564 mol, 1.0 eq.)。将此溶液冷却至 -78°C , 并在 1 小时内滴加 68.0 mL (0.0680 mol, 1.2 eq.) LiHMDS 的 1.0M THF 溶液。再将其在 -78°C 下搅拌 2 小时, 然后升温至室温并再搅拌 1 小时。完成反应后, 用 10mL 饱和氯化铵溶液停止该反应。用 3 个体积的乙醚稀释此混合物并倒入等体积的饱和碳酸氢钠中。用饱和碳酸氢钠再次洗涤有机层并用饱和氯化钠洗涤一次。用硫酸镁干燥此有机层, 过滤并浓缩得到黄色油状物。将此油状物通过硅胶柱色谱用 30% 乙醚/70% 己烷溶剂系统纯化。再将所得白色固体用热己烷结晶, 得到 13.04g (收率 62%) 的透明结晶固体: R_f (30% 乙醚/70% 己烷) = 0.26; mp $115-116^\circ\text{C}$ 。

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 7.63-7.60 (m, 4H), 7.45-7.35 (m, 6H), 5.49 (dt, $J = 52.9$ 和 7.9 Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 9.36$ Hz, 1H), 3.91 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.60 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 2.72-2.40 (m, 2H), 1.05 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172.1 (d, $J = 20.5$ Hz), 135.5, 135.4, 132.3, 131.7, 130.1, 128.0, 127.9, 85.6 (d, $J = 186.6$ Hz), 77.3 (d, $J = 5.3$ Hz), 65.0, 31.8 (d, $J = 20.5$ Hz), 26.7, 19.1; IR (薄膜) 2958, 1796, 1252, 1192, 1111, 1016 cm^{-1} ; HRMS $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{FSiLi}$ 理论值: 379.1717。实测值: 379.1713。CHAFS 元素分析理论值: C, 67.71; H, 6.76。实测值: C, 67.72; H, 6.78。

5-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氟-(L)-赤糖

(erythron)-呋喃糖 (21)

向反应瓶中加入内酯 20 (12.12g, 0.0325 mol, 1.0 eq.) 和 240 mL 无水 THF。将此溶液冷却至 -78°C 并在 30 分钟内滴加 65 mL (0.065 mol, 2.0 eq.) 1.0 M DIBALH 的己烷溶液。并在 -78°C 下搅拌 3 小时, 此后缓慢加入 2.93 mL (0.163 mol, 5.0 eq.) 水停止反应。将此反应升温至室温并搅拌 1 小时, 之后在整个烧瓶中形成凝胶状透明固体。将此反应混和物用两个体积的乙醚稀释并倒入到 Erlenmeyer 烧瓶中等体积的饱和酒石酸钠钾水溶液中。搅拌 20 分钟直到此乳液被破坏。分离有机层并用 250 mL 乙醚将水层萃取 3 次。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤, 并浓缩得到淡黄色油状物。将此产物通过硅胶柱色谱纯化, 用 6: 1 己烷/乙酸乙酯溶剂系统洗脱。将所得清澈油状物用沸己烷结晶得到 11.98 g (收率 98%) 的白色结晶固体: R_f (30%乙醚/70%己烷) = 0.33; mp $66-67^{\circ}\text{C}$ 。 ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 7.68–7.66 (m, 4H), 7.55–7.38 (m, 6H), 5.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.99 (dd, $J = 52.2$ 和 4.3 Hz, 1H), 4.52 (m, 1H), 3.88 (dd, $J = 10.8$ 和 2.5 Hz, 1H), 3.65 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 3.49 (dd, $J = 7.9$ 和 1.8 Hz, 1H), 2.44–2.07 (m, 2H), 1.07 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 135.7, 135.5, 132.2, 132.1, 130.2, 130.0, 129.8, 127.9, 127.7, 99.8 (d, $J = 31.1$ Hz), 96.6 (d, $J = 178.3$ Hz), 79.4, 64.8, 29.9 (d, $J = 21.2$ Hz), 26.8, 19.2; IR (薄膜) 3423, 2932, 1474, 1362, 1113 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{FSiLi}$: 381.1874. 实测值: 381.1877. 元素分析理论值. $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{FSi}$: C, 67.35; H, 7.27, 实测值: C, 67.42; H, 7.31.

1-O-乙酰基-5-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氟-(L)-赤糖-呋喃糖 (22)

向反应瓶中加入乳醇 21 (8.50g, 0.0227 mol, 1.0 eq.) 和 170 mL 无水二氯甲烷。然后加入 DMAP (0.277g, 0.00277 mol, 0.1 eq.) 和醋酸酐 (13.5 mL, 0.143 mol, 6.3 eq.) 并在室温下搅拌过夜。反应完毕后, 将此反应倒入饱和碳酸氢钠溶液中。分离有机层, 并用氯仿将水层萃取 3 次。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤, 并除去溶剂得到淡黄色油状物。将此油状物通过硅胶柱色谱纯化, 用 8: 1 己烷/乙酸乙酯溶剂系统洗脱得到 9.85 g (99%收率) 清澈无色油状物: R_f (30%乙醚/70%己烷) = 0.44; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 7.69–7.67 (m, 4H), 7.43–

7.38 (m, 6H), 6.30 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J = 54.9$ Hz, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.81 (dd, $J = 10.8$ 和 4.3 Hz, 1H), 3.72 (dd, $J = 10.8$ 和 4.3 Hz, 1H), 2.38-2.12 (m, 2H), 1.89 (s, 3H), 1.07 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) d 169.4, 135.6, 135.5, 133.2, 133.1, 129.8, 129.7, 127.8, 127.7, 99.3 (d, $J = 34.1$ Hz), 95.5 (d, $J = 178.2$ Hz), 81.4, 65.3, 31.6 (d, $J = 20.5$ Hz), 26.8, 21.1, 19.3; IR (薄膜) 3074, 2860, 1750, 1589, 1229, 1113 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}-\text{OCOCH}_3]$ $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{FSi}$: 357.1686. 实测值: 357.1695. 元素分析理论值. $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{O}_4\text{FSi}$: C, 66.32; H, 7.02. 实测值: C, 66.30; H, 7.04.

甲硅烷基化碱基与 22 偶联的代表性方法: (L)-5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2', 3-二脱氧-2'-氟-5-氟胞苷 (25)

向装备有短颈蒸馏头的烧瓶中, 加入 5-氟胞嘧啶 (2.01g, 15.6 mmol, 5.0 eq), 35mL 1, 1, 1, 3, 3, 3-六甲基乙硅氮烷和催化量的 (约 1mg) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. 将此白色混悬液加热至沸腾, 保持 1 小时直到该碱被甲硅烷基化而反应溶液变清澈. 蒸馏掉过量的 HMDS, 将油状残余物抽真空 1 小时以除去最后痕迹量的 HMDS. 将所得白色固体在氩气氛下溶解于 5mL 无水 1, 2-二氯乙烷. 向此清澈的溶液中加入乙酸酯 22 (1.30g, 3.12 mmol, 1.0 eq.) 在 5 mL 无水 1, 2-二氯乙烷中的溶液. 室温下向其中加入三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯 (3.32 mL, 17.2 mmol, 5.5 eq.). 通过 TLC (10% 甲醇/90%二氯甲烷) 监控此反应, 并且反应 4 小时时观察到反应彻底. 将此反应混和物倒入饱和碳酸氢钠中. 然后, 分离有机层, 并用氯仿将水层萃取 3 次. 将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并除去溶剂得到白色泡沫. 将此化合物通过硅胶柱色谱纯化, 用 100% 二氯甲烷至存在于二氯甲烷中的 10% 甲醇作为梯度溶剂系统. 分离出 1.51g 该化合物 (99% 收率), 为白色泡沫: 端基异构体的混合物 R_f (100% EtOAc) = 0.36; mp 74-80 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) d 8.84 (bs, 1H), 8.04 (d, $J = 6.4$ Hz, 0.67H), 7.67-7.63 (m, 4H), 7.51-7.39 (m, 6.33H), 6.11 (d, $J = 20$ Hz, 0.33H), 5.98 (d, $J = 16.4$ Hz, 0.67H), 5.88 (bs, 1H), 5.41 (d, $J = 52.4$ Hz, 0.33H), 5.23 (dd, $J = 50.4$ 和 4 Hz, 0.67H), 4.56 (m, 0.33H), 4.45 (m, 0.67H), 4.23 (dd, $J = 12.0$ 和 1.6 Hz, 0.67H), 3.89 (dd, $J = 11.2$ 和 3.2 Hz, 0.33 H), 3.74-3.66 (m, 1H), 2.45-1.96 (m, 2H), 1.09 (s, 6H), 1.06 (s, 3H); ^{13}C NMR

(100 MHz, CDCl_3) δ 158.6 (d, $J = 14.4$ Hz), 158.4 (d, $J = 14.4$ Hz), 153.9, 153.8, 136.6 (d, $J = 240.5$ Hz), 136.3 (d, $J = 239.7$ Hz), 135.6, 135.56, 135.5, 135.4, 133.1, 132.9, 132.5, 132.4, 130.1, 130.0, 129.9, 127.9, 127.8, 125.8 (d, $J = 33.4$ Hz), 124.6 (d, $J = 32.6$ Hz), 96.5 (d, $J = 182.0$ Hz), 91.7 (d, $J = 185.1$), 90.7 (d, $J = 35.6$ Hz), 87.7 (d, $J = 15.2$ Hz), 81.5, 79.5, 64.9, 63.0, 33.5 (d, $J = 20.5$ Hz), 30.6 (d, $J = 20.4$ Hz), 26.9, 26.8, 19.22, 19.18; IR (薄膜) 3300, 2960, 1682, 1608, 1513, 1109 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M} + \text{Li}] \text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3\text{SiF}_2\text{Li}$: 492.2106. 实测值: 492.2085. 元素分析理论值. $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3\text{SiF}_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 60.71; H, 6.11; N, 8.50. 实测值: C, 60.67; H, 6.03; N, 8.44.

甲硅烷基-保护的核苷脱保护的典型方法: α -和 β -(L)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟胞苷 (28a 和 28b)

将核苷 25 (1.098g, 2.26 mmol, 1.0 eq.) 溶解于 15 mL 甲醇中, 向其中加入氯化铵 (0.838g, 22.6 mmol, 10.0 eq.). 将其剧烈搅拌 24 小时, 之后的 TLC (15% 乙醇/85% 乙酸乙酯) 表明该反应完成. 将此反应混合物用 3 体积的乙酸乙酯稀释并通过小 (1cm) 硅胶塞过滤. 将此塞用 200 mL 的 15% 乙醇/85% 乙酸乙酯溶液清洗, 并除去溶剂得到白色泡沫. 将此混合物通过硅胶柱色谱纯化, 用 15% 乙醇/85% 乙酸乙酯溶剂系统洗脱, 其也能将 α 和 β 端基异构体分离. 得到白色泡沫 0.190g (0.768 mmol, 34% 收率), 而得到白色泡沫形式的 β 0.290g (1.17 mmol, 52% 收率): (28a) R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.22; mp 199–203 °C (分解). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.07 (d, $J = 19.2$ Hz, 1H), 5.37 (d, $J = 54.0$ Hz, 1H), 4.60 (m, 1H), 3.80 (dd, $J = 12.0$ 和 3.2 Hz, 1H), 3.56 (dd, $J = 12.4$ 和 4.4 Hz, 1H), 2.40–2.00 (m, 21H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 157.7 (d, $J = 13.6$ Hz), 153.2, 135.9 (d, $J = 239.0$ Hz), 126.2 (d, $J = 31.1$ Hz), 92.4 (d, $J = 183.6$ Hz), 86.7 (d, $J = 15.2$ Hz), 79.6, 62.7, 33.3 (d, $J = 20.5$ Hz); IR (KBr) 3343, 3100, 1683, 1517, 1104 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M} + \text{Li}] \text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2\text{Li}$: 254.0929. 实测值: 254.0919. 元素分析理论值, $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 42.19; H, 4.72; N, 16.40. 实测值: C, 42.44; H, 4.56; N, 16.56. (28b) R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.37;

mp 182–186°C (分解). ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) d 8.32 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.79 (bs, 1H), 7.53 (bs, 1H), 5.81 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 5.37 (t, $J=4.8$ Hz), 5.18 (dd, $J=51.6$ 和 3.2 Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 3.88 (dd, $J=12.0$ 和 2.8 Hz, 1H), 3.59 (dd, $J=12.4$ 和 2.4 Hz, 1H), 2.20–1.99 (m, 2H); ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) d 157.7 (d, $J=13.7$ Hz), 153.2, 136.1 (d, $J=237.4$ Hz), 125.3 (d, $J=33.4$ Hz), 97.3 (d, $J=176.8$ Hz), 89.9 (d, $J=35.7$ Hz), 81.6, 60.2, 30.3 (d, $J=19.7$ Hz); IR (KBr) 3487, 2948, 1678, 1509, 1122 cm^{-1} , HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2\text{Li}$: 254.0929. 实测值: 254.0935. 元素分析理论值. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2$: C, 43.73; H, 4.49; N, 17.00. 实测值: C, 43.69; H, 4.53; N, 16.92.

(D) -5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟尿苷 (9)

端基异构体的混合物 R_f (1: 1 己烷/EtOAc) = 0.48; mp 65–70°C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) d 10.0 (bm, 1H), 7.99 (d, $J=5.6$ Hz, 0.63H), 7.65 (m, 4H), 7.42 (m, 6.37H), 6.12 (dd, $J=18.0$ 和 1.6 Hz, 0.37H), 6.00 (d, $J=16$ Hz, 0.63H), 5.37 (dd, $J=54.6$ 和 2.4 Hz, 0.37H), 5.22 (dd, $J=50.4$ 和 4 Hz, 0.63H), 4.57 (m, 0.37H), 4.44 (m, 0.63H), 4.22 (dd, $J=12.2$ 和 2.0 Hz, 0.63H), 3.92 (dd, $J=11.2$ 和 3.2 Hz, 0.37 H), 3.70 (m, 1H), 2.22 (m, 2H), 1.09 (s, 5.67H), 1.074 (s, 3.33H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) d 157.2 (d, $J=31.7$ Hz), 157.1 (d, $J=25.8$ Hz), 149.1, 148.8, 140.4 (d, $J=236.6$ Hz), 140.1 (d, $J=235.2$ Hz), 135.6, 135.5, 135.4, 132.9, 132.7, 132.4, 132.3, 130.1, 130.0, 129.9, 127.9, 127.8, 125.1 (d, $J=34.9$ Hz), 123.6 (d, $J=34.1$ Hz), 96.4 (d, $J=182.0$ Hz), 92.0 (d, $J=185.9$ Hz), 90.2 (d, $J=37.2$ Hz), 87.0 (d, $J=15.2$ Hz), 81.7, 79.8, 64.8, 63.0, 33.3 (d, $J=21.2$ Hz), 31.0 (d, $J=21.2$ Hz), 26.9, 26.8, 19.2; IR (薄膜) 3185, 1722, 1117 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+1]$ $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4\text{SiF}_2$: 487.1866. 实测值: 487.1853. 元素分析理论值 $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4\text{SiF}_2$: C, 61.71; H, 5.80; N, 5.76. 实测值: C, 61.72; H, 5.86; N, 5.72.

(D) -5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟胞苷 (10)

端基异构体的混合物 R_f (100% EtOAc) = 0.36; mp 75–81 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) d 8.50 (bm, 1H), 8.05 (d, J = 6.0 Hz, 0.67H), 7.67–7.63 (m, 4H), 7.51–7.39 (m, 6.33H), 6.10 (d, J = 20 Hz, 0.33H), 5.98 (d, J = 16.4 Hz, 0.67H), 5.62 (bm, 1H), 5.41 (d, J = 52.4 Hz, 0.33H), 5.23 (dd, J = 51.6 和 4 Hz, 0.67H), 4.57 (m, 0.33H), 4.48 (m, 0.67H), 4.24 (dd, J = 12.4 和 2.0 Hz, 0.67H), 3.89 (dd, J = 11.2 和 3.2 Hz, 0.33H), 3.74–3.66 (m, 1H), 2.39–1.95 (m, 2H), 1.09 (s, 6H), 1.06 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) d 158.4 (d, J = 14.4 Hz), 158.3 (d, J = 15.2 Hz), 153.8, 153.7, 136.5 (d, J = 240.5 Hz), 136.2 (d, J = 241.8 Hz), 135.59, 135.56, 135.4, 133.0, 132.9, 132.5, 132.4, 130.1, 130.0, 129.9, 127.9, 127.8, 124.8 (d, J = 31.9 Hz), 96.5 (d, J = 181.3 Hz), 91.8 (d, J = 175.2 Hz), 90.7 (d, J = 24.9 Hz), 87.8 (d, J = 21.2 Hz), 81.6, 79.6, 64.9, 63.0, 33.5 (d, J = 19.7 Hz), 30.6 (d, J = 21.3 Hz), 26.9, 26.8, 19.2, 14.2; IR (薄膜) 3304, 2959, 1680, 1621, 1508, 1105 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3\text{SiF}_2\text{Li}$: 492.2106. 实测值: 492.2110. 元素分析理论值. $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3\text{SiF}_2$: C, 61.84; H, 6.02; N, 8.65. 实测值: C, 61.86; H, 6.09; N, 8.55.

(D) -N⁴-乙酰基-5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胞苷 (11)

端基异构体的混合物 R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.75; mp 81–86 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) d 10.58 (bs, 1H), 8.40 (d, J = 7.2 Hz, 0.61H), 7.86 (d, J 7.6 Hz, 0.38H), 7.67–7.65 (m, 4H), 7.51–7.41 (m, 6H), 7.27 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.12 (t, J 15.8 Hz, 1H), 5.51 (d, J = 52.6 Hz, 0.38H), 5.21 (dd, J = 50.8 和 2.9 Hz, 0.61H), 4.62 (m, 0.38H), 4.54 (m, 0.61H), 4.28 (d, J = 11.5 Hz, 0.61H), 3.95 (dd, J = 11.9 和 3.2 Hz, 0.38H), 3.79–3.70 (m, 1H), 2.46–2.04 (m, 5H), 1.12 (s, 5.49H), 1.07 (s, 3.42H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) d 171.5, 171.3, 163.4, 154.9, 144.9, 144.1, 135.5, 135.4, 133.0, 132.8, 132.5, 132.2, 130.2, 130.1, 129.9, 128.0, 127.8, 96.8 (d, J = 91.1 Hz), 96.2 (d, J = 147.9 Hz), 92.3, 91.2 (d, J 35.7 Hz), 90.5, 88.5 (d, J = 15.9 Hz), 81.9, 80.1, 64.7, 62.9, 33.5 (d, J = 20.5

Hz), 30.5 (d, J 20.5 Hz), 26.9, 26.8, 24.9, 24.8, 19.3, 19.2; IR (薄膜) 3237, 2932, 1722, 1671, 1559, 1493, 1107 cm⁻¹; HRMS 理论值 [M+Li] C₂₇H₃₂N₃O₄FSiLi: 516.2306. 实测值: 516.2310. 元素分析理论值. C₂₇H₃₂N₃O₄FSi: C, 63.63; H, 6.33; N, 8.24. 实测值: C, 63.45; H, 6.42; N, 8.09.

(D) -5'-O- (叔丁基二苯基甲硅烷基) -2', 3'-二脱氧-2'-氟-胞苷 (12)

端基异构体的混合物 R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.50; mp 98-104 °C. ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (d, J = 7.2 Hz, 0.64H, H-6), 7.65 (m, 4H), 7.47-7.38 (m, 6.36H), 6.15 (d, J = 20.5 Hz, 0.36H), 6.05 (d, J = 16.6 Hz, 0.64H), 5.83 (d, J = 7.9 Hz, 0.36H), 5.46 (d, J = 7.2 Hz, 0.64H), 5.30-5.10 (m, 1H), 4.55 (m, 0.36H), 4.44 (m, 0.64H), 4.22 (d, J = 9.7 Hz, 0.64H), 3.88-3.63 (m, 1.36H), 2.38-1.95 (m, 2H), 1.09 (s, 5.76H), 1.06 (s, 3.24H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.1, 155.8, 141.5, 140.5, 135.6, 135.4, 133.1, 132.9, 132.8, 132.4, 130.1, 130.0, 129.8, 128.0, 127.9, 127.8, 96.7 (d, J = 181.3 Hz), 93.4 (d, J = 140.3 Hz), 94.5, 90.8 (d, J = 35.6 Hz), 90.8, 87.8 (d, J = 15.9 Hz), 81.2, 79.4, 65.0, 63.2, 33.7 (d, J = 21.2 Hz), 30.8 (d, J = 20.4 Hz), 26.9, 26.8, 19.3, 19.2; IR (薄膜) 3470, 3339, 1644, 1487, 1113 cm⁻¹; HRMS 理论值 [M+Li] C₂₅H₃₀N₃O₃FSiLi: 474.2201. 实测值: 474.2198. 元素分析理论值. C₂₅H₃₀N₃O₃FSi: C, 64.21; H, 6.47; N, 8.99. 实测值: C, 64.04; H, 6.58; N, 8.76.

α-(D) -2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟尿苷 (14a)

R_f (100% EtOAc) = 0.38; mp 153-155 °C. ¹H NMR (360 MHz, CD₃OD) δ 7.80 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 6.11 (d, J = 18.7 Hz, 1H), 5.35 (d, J = 52.9, 1H), 4.59 (m, 1H), 3.81 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 3.57 (dd, J = 12.6 和 3.6 Hz, 1H), 2.36-2.15 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 159.6 (d, J = 25.8 Hz), 150.7, 141.5 (d, J = 230.6 Hz), 127.0 (d, J = 34.9 Hz), 93.9 (d, J = 185.1 Hz), 88.5 (d, J = 15.1 Hz), 81.8, 64.3, 34.3 (d, J = 20.5 Hz); IR (KBr) 3421, 3081, 1685, 1478, 1111 cm⁻¹; HRMS 理论值 [M+Li] C₉H₁₀N₂O₄F₂Li: 255.0769, 实测值: 255.0778.

元素分析理论值 $C_9H_{10}N_2O_4F_2$: C, 43.56; H, 4.06; N, 11.29. 实测值: C, 43.59; H, 4.11; N, 11.17.

β -(D)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟尿苷 (14b)

R_f (100% EtOAc) 0.54; mp 152-154 °C. 1H NMR (360 MHz, CD_3OD) d 8.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.89 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 51.5$ 和 3.6 Hz, 1H), 4.41 (m, 1H), 4.00 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 3.67 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 2.25-2.09 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 159.7 (d, $J = 25.8$ Hz), 150.7, 141.8 (d, $J = 229.8$ Hz), 126.3 (d, $J = 36.4$ Hz), 98.3 (d, $J = 179$ Hz), 91.9 (d, $J = 37.1$ Hz), 83.6, 61.9, 31.9 (d, $J = 20.5$ Hz); IR (KBr) 3417, 3056, 1684, 1474, 1105 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[M+Li]$ $C_9H_{10}N_2O_4F_2Li$: 255.0769. 实测值: 255.0764. 元素分析理论值 $C_9H_{10}N_2O_4F_2$: C, 43.56; H, 4.06; N, 11.29. 实测值: C, 43.37; H, 3.98; N, 11.22.

α -(D)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟胞苷 (15a)

R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.22; mp 198-202 °C (分解). 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) d 7.78 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.07 (d, $J = 18.8$ Hz, 1H), 5.37 (d, $J = 54.0$ Hz, 1H), 4.59 (m, 1H), 3.80 (dd, $J = 12.0$ 和 3.2 Hz, 1H), 3.57 (dd, $J = 12.4$ 和 4.4 Hz, 1H), 2.38-2.14 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 159.9 (d, $J = 13.6$ Hz), 156.5, 138.3 (d, $J = 240.4$ Hz), 127.5 (d, $J = 33.4$ Hz), 93.6 (d, $J = 184.3$ Hz), 89.5 (d, $J = 15.9$ Hz), 81.8, 64.4, 34.5 (d, $J = 20.5$ Hz); IR (Y. Br) 3486, 3098, 1681, 1519, 1108 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[M+Li]$ $C_9H_{11}N_3O_3F_2Li$: 254.0929. 实测值: 254.0929. 元素分析理论值 $C_9H_{11}N_3O_3F_2 \cdot 1/2 H_2O$: C, 42.19; H, 4.72; N, 16.40. 实测值: C, 41.86; H, 4.75; N, 16.36.

β -(D)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟胞苷 (15b)

R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.37; mp 181-183 °C (分解). 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) d 8.45 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.92 (dd, $J = 16.2$ 和 1.2 Hz, 1H), 5.18 (dd, $J = 50.9$ 和 4.0 Hz, 1H), 4.46 (m, 1H), 4.05 (dd, $J = 12.4$ 和 2.4 Hz, 1H), 3.72 (dd, $J = 12.8$ 和 2.4 Hz, 1H), 2.27-2.05 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 159.9 (d, $J = 13.6$ Hz), 156.5, 138.5 (d, $J = 240.5$ Hz), 126.9 (d, $J = 33.4$ Hz), 98.4 (d,

$J = 179.0 \text{ Hz}$), 92.5 (d, $J = 36.4 \text{ Hz}$), 83.6 , 61.9 , 31.6 (d, $J = 20.5 \text{ Hz}$); IR (KBr) 3494 , 2944 , 1689 , 1522 , 1106 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2\text{Li}$: 254.0929 . 实测值: 254.0936 . 元素分析理论值 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_2$: C, 43.73 ; H, 4.49 ; N, 17.00 . 实测值: C, 43.84 ; H, 4.47 ; N, 17.05 .

α -(D)-N⁴-乙酰基-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胞苷 (16a)

R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.40 ; mp 208 – 212°C . $^1\text{H NMR}$ (360 MHz, DMSO- d_6) d (10.91 , bs, 1H), 8.05 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 7.25 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 6.08 (dd, $J = 19.1$ 和 2.9 Hz , 1H), 5.42 (d, $J = 52.2 \text{ Hz}$, 1H), 4.97 (bs, 1H), 4.54 (m, 1H), 3.63 (d, $J = 13.0 \text{ Hz}$, 1H), 3.47 (d, $J = 13.3 \text{ Hz}$, 1H), 2.35 – 2.15 (m, 2H), 2.11 (s, 3H; $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) d 171.0 , 162.6 , 154.3 , 145.7 , 94.9 , 92.0 (d, $J = 183.6 \text{ Hz}$), 87.5 (d, $J = 15.9 \text{ Hz}$), 80.2 , 62.6 , 33.3 (d, $J = 19.7 \text{ Hz}$), 24.4 ; IR (KBr) 3436 , 3227 , 1702 , 1661 , 1442 , 1102 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4\text{FLi}$: 278.1128 . 实测值: 278.1136 . 元素分析理论值 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4\text{F}$: C, 48.71 ; H, 5.20 ; N, 15.49 . 实测值: C, 48.73 ; H, 5.23 ; N, 15.52 .

β -(D)-N⁴-乙酰基-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胞苷 (16b)

R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.50 ; mp 174 – 178°C . $^1\text{H NMR}$ (360 MHz, DMSO- d_6) d (10.90 , bs, 1H), 8.46 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 7.18 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 5.90 (d, $J = 16.9 \text{ Hz}$, 1H), 5.27 (d, $J = 52.9 \text{ Hz}$, 1H), 5.27 (bs, 1H), 4.39 (m, 1H), 3.88 (d, $J = 13.0 \text{ Hz}$, 1H), 3.61 (d, $J = 13.0 \text{ Hz}$, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.20 – 1.85 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) d 171.0 , 162.6 , 154.4 , 144.7 , 97.0 (d, $J = 177.5 \text{ Hz}$), 95.0 , 90.7 (d, $J = 36.6 \text{ Hz}$), 82.2 , 60.3 , 30.3 (d, $J = 19.7 \text{ Hz}$), 24.3 ; IR (KBr) 3447 , 3245 , 1703 , 1656 , 1497 , 1122 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4\text{FLi}$: 278.1128 . 实测值: 278.1133 . 元素分析理论值 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4\text{F}$: C, 48.71 ; H, 5.20 ; N, 15.49 . 实测值: C, 48.65 ; H, 5.22 ; N, 15.46 .

α -(D)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胞苷 (17a)

R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.08 ; mp 234 – 237°C (分解). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) d 7.52 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.21 (bm, 2H),

6.05 (dd, $J = 20.4$ 和 3.2 Hz, 1H), 5.73 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.28 (d, $J = 52.4$ Hz, 1H), 4.93 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.45 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 2.26–2.13 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 165.8, 155.0, 141.6, 93.3, 92.2 (d, $J = 182.8$ Hz), 86.6 (d,

$J = 15.1$ Hz), 79.4, 62.8, 33.3 (d, $J = 19.7$ Hz); IR (KBr) 3366, 3199, 1659, 1399, 1122 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_3\text{FLi}$: 236.1023. 实测值: 236.1014. 元素分析理论值 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}$: C, 47.16; H, 5.28; N, 18.33. 实测值: C, 47.40; H, 5.34; N, 18.51.

β -(D)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胞苷 (17b)

将核苷 25 (0.160g, 0.59mmol) 溶解于 10mL 饱和氨的甲醇溶液中。搅拌 5 分钟后, 反应完毕。除去甲醇的氨溶液并将所得白色固体置于真空下, 在 60℃ 水浴中温和加热 2 小时以通过升华除去乙酰胺副产物。将此白色固体从 5% 甲醇/95% 二氯甲烷中结晶, 得到定量收率的白色结晶固体。 R_f (15% EtOH, 85% EtOAc) = 0.18; mp 191–195℃ (分解)。 ^1H NMR (360MHz, CD_3OD) δ 8.10 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.92 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 5.82 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 50.0$ Hz, 1H), 4.39 (m, 1H), 3.97 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 3.68 (dd, $J = 13.0$ 和 2.5 Hz, 1H), 2.21–2.00 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 165.9, 155.0, 140.8, 97.3 (d, $J = 176.8$ Hz), 93.6, 90.3 (d, $J = 35.6$ Hz), 81.3, 60.7, 31.0 (d, $J = 20.5$ Hz); IR (KBr) 3397, 3112, 1680, 1400, 1178, 1070 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_3\text{FLi}$: 236.1024. 实测值: 236.1028. 元素分析理论值. $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}$: C, 47.16; H, 5.28; N, 18.33. 实测值: C, 47.01; H, 5.21; N, 18.29.

(L)-5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胸苷 (23)

端基异构体的混合物 R_f (10% MeOH/90% 二氯甲烷) = 0.56; mp 61–65℃. ^1H NMR (360, MHz, CDCl_3) δ 9.48 (bs, 1H), 7.67 (m, 4H), 7.45–7.37 (m, 7H), 6.15 (dd, $J = 20.2$ 和 3.2 Hz, 0.36H), 5.99 (d, $J = 18.4$ Hz, 0.64H), 5.34 (d, $J = 51.8$ Hz, 0.36H), 5.24 (dd, $J = 52.2$ 和 4.3 Hz, 0.64H), 4.59 (m, 0.36H), 4.45 (m, 0.64H), 4.17 (dd, $J = 12.2$ 和 2.5 Hz, 0.64H), 3.91 (dd, $J = 11.9$ 和 2.9 Hz, 0.36H),

3.81 (dd, $J = 11.5$ 和 2.9 Hz, 0.64H), 3.68 (dd, $J = 10.8$ 和 3.6 Hz, 0.36H), 2.40–2.12 (m, 2H), 1.94 (s, 1.08H), 1.61 (s, 1.92H), 1.10 (s, 5.76H), 1.07 (s, 3.24H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 164.1, 164.0, 150.4, 150.2, 136.4, 135.6, 135.5, 135.4, 135.3, 135.2, 133.0, 132.8, 132.6, 130.1, 130.0, 129.9, 127.94, 127.90, 127.8, 110.8, 109.8, 96.4 (d, $J = 181.3$ Hz), 92.1 (d, $J = 185.8$ Hz), 90.7 (d, $J = 36.4$ Hz), 86.6 (d, $J = 15.2$ Hz), 80.9, 79.4, 64.9, 63.6, 33.4 (d, $J = 20.5$ Hz), 32.0 (d, $J = 21.2$ Hz), 27.0, 26.8, 19.4, 19.2, 12.6, 12.2; IR (薄膜) 3183, 3050, 1696, 1506, 1188 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{SiF}$: 489.2197. 实测值: 489.2175. 元素分析理论值 $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{SiF}$: C, 64.71; H, 6.47; N, 5.80. 实测值: C, 64.88; H, 6.56; N, 5.76.

(L) -5'-O-(叔丁基二苯基甲硅烷基)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟尿苷 (24)

端基异构体的混合物 R_f (1: 1 己烷/EtOAc) = 0.48; mp 65–71 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.08 (bs, 0.4H), 9.00 (bs, 0.6H) 8.01 (d, $J = 5.4$ Hz, 0.6H), 7.65 (m, 4H), 7.42 (m, 6.4H), 6.10 (dd, $J = 20.2$ 和 1.4 Hz, 0.4H), 6.00 (d, $J = 16.0$ Hz, 0.6H), 5.35 (dd, $J = 52.4$ 和 1.6 Hz, 0.4H), (5.22, dd, $J = 51.2$ 和 4 Hz, 0.6H), 4.57 (m, 0.4H), 4.44 (m, 0.6H), 4.22 (dd, $J = 12.4$ 和 2.0 Hz, 0.6H), 3.91 (dd, $J = 11.2$ 和 2.9 Hz, 0.4H), 3.70 (m, 1H), 2.45–2.00 (m, 2H), 1.09 (s, 5.4H), 1.07 (s, 3.6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 156.9 (d, $J = 26.5$ Hz), 148.8, 148.6, 140.3 (d, $J = 236.7$ Hz), 140.1 (d, $J = 235.1$ Hz), 135.6, 135.5, 135.4, 132.9, 132.7, 132.4, 132.3, 130.2, 130.1, 129.9, 127.9, 127.8, 125.1 (d, $J = 34.9$ Hz), 123.6 (d, $J = 34.2$ Hz), 96.4 (d, $J = 182.9$ Hz), 92.0 (d, $J = 186.6$ Hz), 90.2 (d, $J = 36.0$ Hz), 86.9 (d, $J = 15.1$ Hz), 81.7, 79.8, 64.8, 63.0, 33.2 (d, $J = 20.5$ Hz), 30.9 (d, $J = 20.4$ Hz), 26.9, 26.8, 19.2; IR (薄膜) 3191, 1719, 1113 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{SiF Li}$: 493.1946. 实测值: 493.1952. 元素分析理论值 $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{SiF}$: C, 61.71; H, 5.80; N, 5.76. 实测值: C, 61.73; H, 5.83; N, 5.77.

α -(L)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胸苷 (26a)

R_f (100% EtOAc) = 0.25; mp 147-149°C. ^1H NMR (360 MHz, CD_3OD) d 7.45 (s, 1H), 6.11 (dd, J = 19.4 和 2.9 Hz, 1H), 5.30 (d, J = 53.6 Hz, 1H), 4.58 (m, 1H), 3.79 (dd, J = 12.2 和 2.2 Hz, 1H), 3.55 (dd, J = 2.2 和 3.6 Hz, 1H), 2.40-2.15 (m, 2H), 1.87 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 166.6, 152.3, 138.6, 110.5, 93.9 (d, J = 185.1 Hz), 88.3 (d, J = 15.1 Hz), 81.7, 64.4, 34.5 (d, J = 20.5 Hz), 12.6; IR (KBr) 3436, 3166, 1727, 1667, 1362, 1186 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{FLi}$: 251.1019. 实测值: 251.1014. 元素分析理论值 $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}$: C, 49.18; H, 5.37; N, 11.47. 实测值. C, 49.32; H, 5.40; N, 11.29.

 β -(L)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-胸苷 (26b)

R_f (100% EtOAc) = 0.38; mp 186-188°C. ^1H NMR (360 MHz, CD_3OD) d 7.94 (s, 1H), 5.93 (d, J = 17.6 Hz, 1H), 5.20 (d, J = 51.8 Hz, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.98 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 3.68 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 2.37-2.10 (m, 2H), 1.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 166.7, 152.3, 138.2, 111.0, 98.4 (d, J = 178.3 Hz), 92.1 (d, J = 36.4 Hz), 83.1, 62.4, 32.5 (d, J = 20.5 Hz), 12.6; IR (KBr) 3478, 3052, 1684, 1363, 1192, 1005 cm^{-1} ; 元素分析理论值 $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}$: C, 49.18; H, 5.37; N, 11.47. 实测值: C, 49.29; H, 5.44; N, 11.36.

 α -(L)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟尿苷 (27a)

R_f (100% EtOAc) = 0.38; mp 155-157°C. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) d 7.80 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 6.13 (d, J = 20.0 Hz, 1H), 5.35 (d, J = 54.4 Hz, 1H), 4.63 (m, 1H), 3.81 (dd, J = 11.9 和 3.2 Hz, 1H), 3.58 (dd, J = 12.4 和 2.0 Hz, 1H), 2.41-2.15 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 159.6 (d, J = 25.8 Hz), 150.7, 141.5 (d, J = 230.6 Hz), 127.0 (d, J = 34.9 Hz), 93.9 (d, J = 184.3 Hz), 88.5 (d, J = 15.1 Hz), 81.9, 64.3, 34.3 (d, J = 20.5 Hz); IR (KBr) 3401, 3098, 1661, 1458, 1018 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}] \text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_2\text{Li}$: 255.0769. 实测值: 255.0771. 元素分析理论值 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_2$: C, 43.56; H, 4.06, N, 11.29. 实测值: C, 43.70; H, 4.17; N, 11.15.

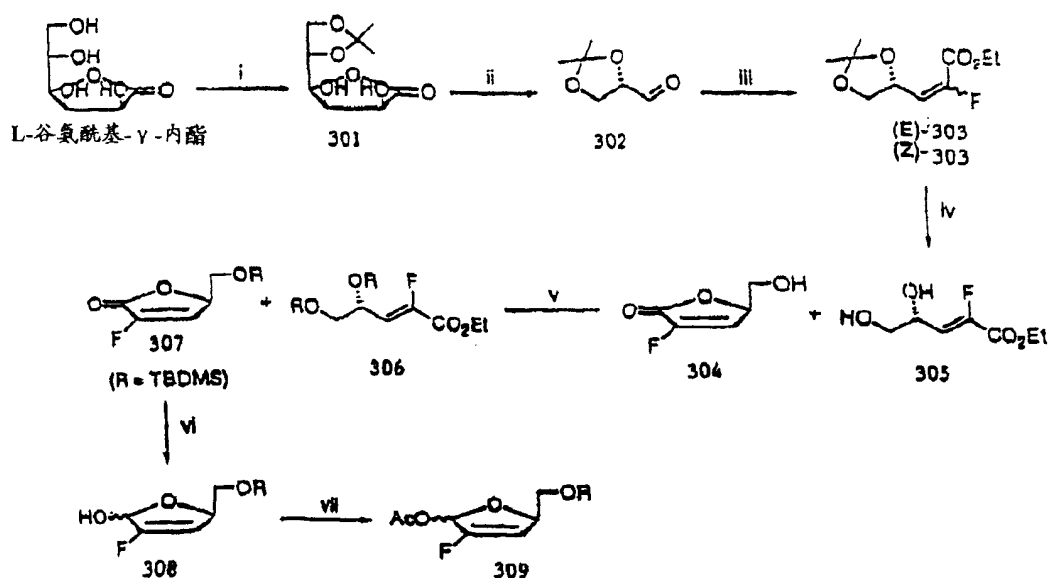
 β -(L)-2', 3'-二脱氧-2'-氟-5-氟尿苷 (27b)

R_f (100% EtOAc) = 0.54; mp 153–156 °C. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) d 8.46 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 5.94 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 5.25 (dd, $J=51.6$ 和 4.0Hz , 1H), 4.41 (m, 1H), 4.05 (dd, $J=12.8$ 和 2.4Hz , 1H), 3.72 (dd, $J=12.4$ 和 2.4Hz , 1H), 2.34–2.09 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) d 159.7 (d, $J=25.8\text{Hz}$), 150.7, 141.8 (d, $J=230.6\text{Hz}$), 126.3 (d, $J=35.7\text{Hz}$), 98.3 (d, $J=184.6\text{Hz}$), 91.9 (d, $J=36.4\text{Hz}$), 83.6, 61.9, 31.9 (d, $J=20.5\text{Hz}$); IR (KBr) 3482, 3037, 1702, 1654, 1402, 1103 cm^{-1} ; HRMS 理论值 $[\text{M}+\text{Li}]$ $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_2\text{Li}$: 255.0769. 实测值: 255.0764. 元素分析理论值 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_2$: C, 43.56; H, 4.06; N, 11.29. 实测值: C, 43.59; H, 4.06; N, 11.17.

制备 L-2'-氟-2', 3'-不饱和核苷

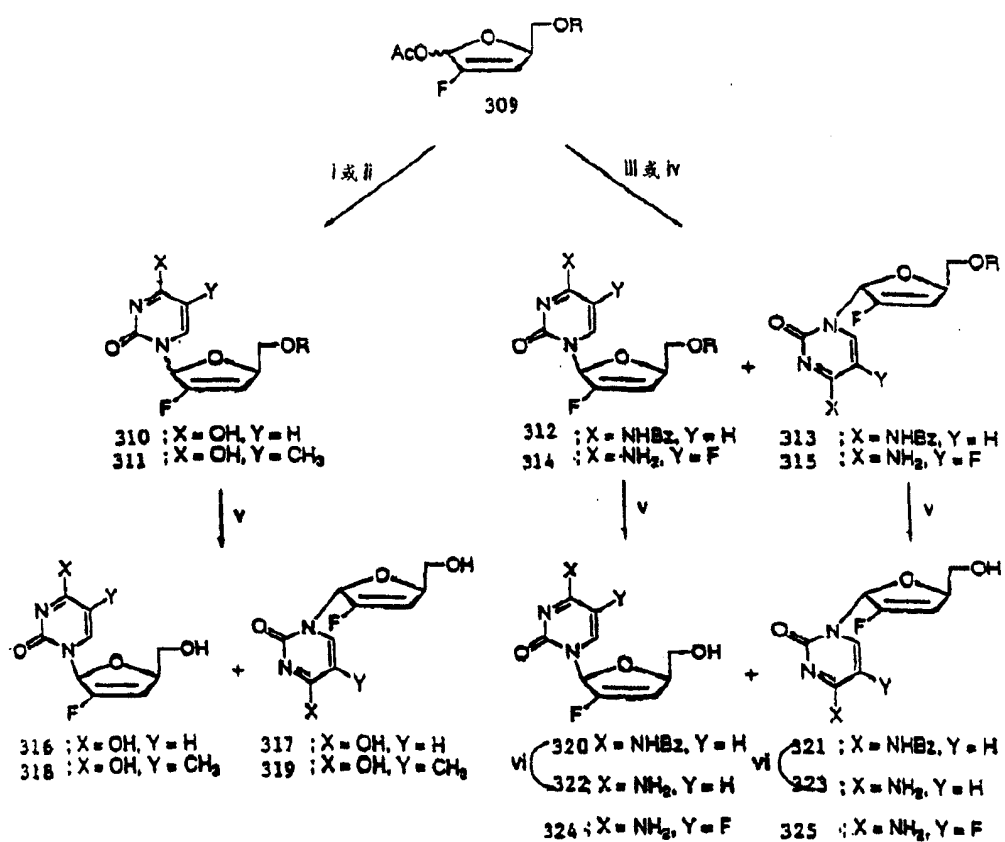
不饱和 2'-氟代核苷的第二种容易的合成方法现已完成并描述如下。此合成包括将被保护的嘧啶或嘌呤碱与关键中间体 309 在 Lewis 酸的存在下反应，总的如下列方案 9 所述。按照此合成方法合成的典型化合物见表 5-6。

方案 9



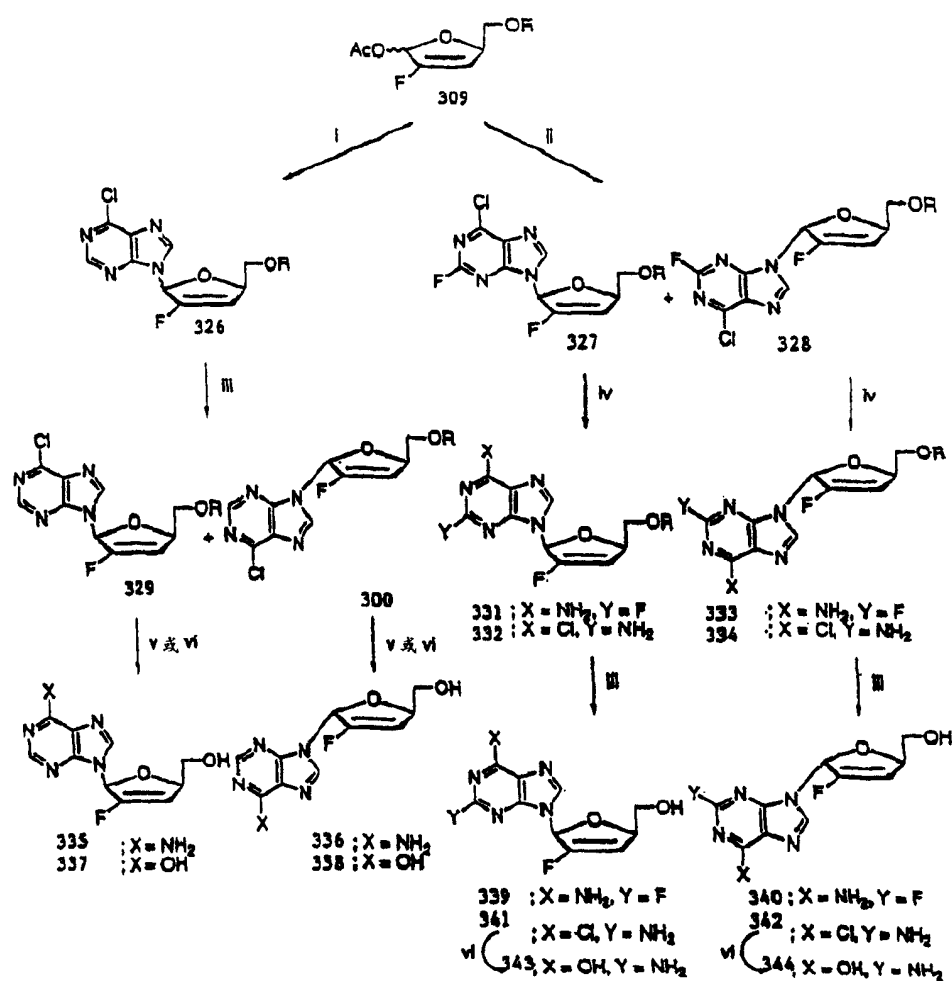
试剂: (i) 2-甲氧基丙烯酸, DMF, $p\text{-TsOH}$ (ii) NaIO_4 , H_2O (iii) $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, NaHMDS , THF, -78°C (iv) C-HCl , EtOH (v) TBDMSCl , 咪唑, CH_2Cl_2 (vi) DIBAL-H , CH_2Cl_2 , -78°C (vii) Ac_2O , 吡啶, CH_2Cl_2 .

方案 9



试剂: (i) 甲基磺基化尿嘧啶, TMSOTf, DCE (ii) 甲基磺基化胸腺嘧啶, TMSOTf, DCE (iii) 甲基磺基化N⁴-Bz-胞嘧啶, TMSOTf, CH₃CN (iv) 5-F-胞嘧啶, TMSOTf, CH₃CN (v) TBAF, CH₃CN (vi) NH₃/MeOH

方案 9



试剂: (I) 甲硅烷基化 6-Cl-嘌呤, TMSOTf, DCE (II) 甲硅烷基化 6-Cl-2-F-嘌呤, TMSOTf, DCE (III) TBAF, CH₃CN (IV) NH₃/DME (V) NH₃/MeOH, 90 °C (VI) HSCH₂CH₂OH, NaOMe, MeOH, 回流.

表 2

No.	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	其它
10 ^a	6.68 (m)	5.72 (m)	4.97 (m), 4.88 (m)	3.80 (m)	8.02 (s, NH), 7.94 (d, H-6, J = 8 Hz), 7.18 (d, H-5, J = 8 Hz), 0.92 (s, Bu), 0.90 (s, Bu), 0.10, 0.08, 0.085, 0.074 (4s, 4 x CH ₃)
11 ^a	6.96 (s), 6.87 (m)	5.73 (s), 5.65 (s)	4.98 (m), 4.84 (m)	3.76 (m)	8.15 (s, NH), 7.38 (s, H-6), 1.94 (s, 5-CH ₃), 0.92 (s, Bu), 0.90 (s, Bu), 0.10, 0.09, 0.085, 0.074 (4s, 4 x CH ₃)
12 ^a	7.12 (s)	5.61 (s)	4.94 (s)	3.88 (m)	8.41 (d, H-6, J = 7.2 Hz), 7.71 (m, 6H, H-5, Ph-H), 0.94 (s, Bu), 0.13, 0.12 (2s, 2 x CH ₃)
13 ^a	7.08 (pc l)	5.75 (s)	5.05 (pc l, J = 4.4, 4.8 Hz)	3.76 (m)	7.91 (d, H-6, J = 6 Hz), 7.57 (m, 6H, H-5, Ph-H), 0.91 (s, Bu), 0.09, 0.08, 0.07 (3s, 2 x CH ₃)
14 ^a					
15 ^a					
16 ^b	6.77 (s)	6.01 (s)	4.81 (s)	3.58 (s)	11.5 (s, -NH), 7.89 (d, H-6, J = 8 Hz), 5.71 (d, H-5, J = 8 Hz), 5.13 (l, J = 5.2 Hz, OH)
17 ^b	6.77 (l, J = 4.4 Hz)	6.02 (d, J = 1.2 Hz)	5.02 (pc l, J = 4.4 Hz)	3.50 (m)	11.5 (s, -NH), 7.58 (d, H-6, J = 8 Hz), 5.70 (d, H-5, J = 8 Hz), 4.94 (l, OH, J = 6 Hz)
18 ^b	6.77 (s)	6.00 (s)	4.80 (s)	3.60 (s)	11.5 (s, -NH), 7.88 (s, H-6), 5.17 (l, J = 5.2 Hz, OH), 1.76 (s, 3H, CH ₃ -6)
19 ^b	6.78 (pc l, J = 4.4 Hz)	6.01 (s)	5.05 (l, J = 4 Hz)	3.51 (m)	11.5 (s, -NH), 7.37 (s, H-6), 4.94 (l, J = 6 Hz, OH), 1.81 (s, 3H, CH ₃ -6)
20 ^b	7.01 (s)	5.71 (s)	4.98 (s)	3.88 (m)	8.21 (d, J = 8 Hz, H-6), 7.71 (m, H-5, Ph-H)
21 ^b	7.16 (pc l, J = 3.6, 4.4 Hz)	5.74 (s)	5.13 (pc l, J = 3.2, 4.8 Hz)	3.79 (m)	7.92 (d, J = 7.2 Hz, H-6), 7.57 (m, H-5, Ph-H)
22 ^b	6.85 (s)	5.84 (d, J = 1.2 Hz)	4.76 (s)	3.56 (s)	7.86 (d, J = 7.2 Hz, H-6), 7.36, 7.32 (2s, NH ₂), 5.77 (d, J = 7.2 Hz, H-5), 5.07 (l, J = 5.2 Hz, OH)
23 ^b	6.86 (pc l, J = 4.4, 4.8 Hz)	5.84 (d, J = 1.6 Hz)	4.84 (m)	3.48 (m)	7.47 (d, J = 7.8 Hz, H-6), 7.35, 7.32 (2s, NH ₂), 5.80 (d, J = 7.2 Hz, H-5)

^aCDCl₃, ^bDMSO-d₆

表 3

No.	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	其它
24 ^a					
25 ^a					
26 ^a	7.01 (s), 6.93 (t, J = 4.4 Hz)	5.85 (s), 5.78 (s)	5.18 (os t, J = 4.4 Hz), 5.02 (s)	3.85 (m)	8.79, 8.78 (2s, H-8), 8.60, 8.21 (2s, H-2), 1.94 (s, 5-CH ₃), 0.92, 0.91 (2s, ⁹ Bu), 0.111, 0.105, 0.097, 0.095 (4s, 4 x CH ₃)
27 ^a	6.88 (s)	5.77 (s)	5.02 (s)	3.88 (m)	8.60 (s, H-8), 0.91 (s, ⁹ Bu), 0.112, 0.105 (2s, 2 x CH ₃)
28 ^a	6.81 (m)	5.84 (s)	5.19 (m)	3.81 (m)	8.17 (s, H-8), 0.92 (s, ⁹ Bu), 0.103, 0.089 (2s, 2 x CH ₃)
29 ^a					
30 ^a	7.00 (m)	5.86 (s)	5.20 (m)	3.87 (m)	8.78 (s, H-8), 8.22 (s, H-2)
31 ^a	6.81 (m)	5.73 (d, J = 1.6 Hz)	4.98 (d, J = 2.8 Hz)	3.85 (m)	8.19 (s, H-8), 0.91 (s, ⁹ Bu), 0.09, 0.084 (2s, 2 x CH ₃)
32 ^a	6.78 (m)	5.75 (s)	4.95 (m)	3.81 (m)	8.14 (s, H-8), 5.11 (s, NH ₂), 0.89 (s, ⁹ Bu), 0.078 (s, CH ₃)
33 ^a	6.76 (m)	5.80 (s)	5.13 (os t, J = 4.4, 4.8 Hz)	3.78 (m)	7.84 (s, H-8), 0.91 (s, ⁹ Bu), 0.093, 0.08 (2s, 2 x CH ₃)
34 ^a	6.73 (os t, J = 4.4, 4.8 Hz)	5.80 (s)	5.09 (m)	3.78 (m)	7.84 (s, H-8), 5.12 (s, NH ₂), 0.91 (s, ⁹ Bu), 0.096, 0.082 (s, CH ₃)
35 ^b	6.90 (s)	6.08 (s)	4.91 (s)	3.63 (s)	8.40 (s, H-8), 8.17 (s, H-2), 7.40 (s, NH ₂), 5.22 (t, J = 5.6 Hz, OH)
36 ^b	6.88 (t, J = 4 Hz)	6.06 (s)	5.14 (os t, J = 3.6, 4 Hz)	3.57 (m)	8.31 (s, H-8), 8.17 (s, H-2), 7.36 (s, NH ₂), 4.97 (t, J = 6 Hz, OH)
37 ^b	6.94 (m)	6.15 (t, J = 1.6 Hz)	4.98 (s)	3.67 (s)	12.57 (br s, NH), 8.43 (s, H-8), 8.17 (s, H-2), 5.17 (s, OH)
38 ^b	6.87 (os t, J = 3.6, 4.4 Hz)	6.06 (s)	5.13 (t, J = 3.8 Hz)	3.56 (m)	8.28 (s, H-8), 8.08 (s, H-2)

^aCDCl₃, ^bDMSO-d₆

表 4

No.	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	其它
39 ^b	6.80 (s)	6.09 (m, J = 1.2, 1.6 Hz)	4.90 (s)	3.82 (m)	8.38 (s, H-8), 7.99, 7.92 (2br s, NH ₂), 5.09 (t, J = 5.6 Hz, OH)
40 ^b	6.82 (m)	6.07 (d, J = 1.2 Hz)	5.12 (m)	3.56 (m)	8.30 (s, H-8), 7.96 (2s, NH ₂)
41 ^b	6.76 (s)	6.09 (s)	4.91 (s)	3.60 (s)	8.38 (s, H-8), 7.07 (s, NH ₂), 5.10 (s, OH)
42 ^b	6.72 (t, J = 4 Hz)	6.06 (d, J = 1.2 Hz)	5.16 (m, J = 3.6, 4 Hz)	3.60 (m)	8.30 (s, H-8), 7.04 (s, NH ₂), 4.96 (t, J = 6 Hz, OH)
43 ^b	6.60 (s)	6.03 (d, J = 1.2 Hz)	4.88 (s)	3.59 (s)	10.74 (br s, NH), 8.96 (s, H-8), 6.57 (s, NH ₂), 5.09 (t, J = 5.2 Hz, OH)
44 ^b	6.52 (m)	6.01 (d, J = 1.6 Hz)	5.08 (m)	3.58 (m)	7.82 (s, H-8), 6.57 (s, NH ₂), 4.95 (t, J = 5.6 Hz, OH)

^bDMSO-d₅

表 5

顺序号	mp °C(溶剂) ^a	[α] _D , 度	式	元素分析
10	浆		C ₁₅ H ₂₃ FN ₂ O ₂ Si	C, H, N
11	浆		C ₁₆ H ₂₅ FN ₂ O ₂ Si	C, H, N
5 12	144-146(A)	-20.47 (c 0.36, CHCl ₃)	C ₂₂ H ₃₁ FN ₂ O ₂ Si	C, H, N
13	139-141 (A)	+157.68 (c 0.31, CHCl ₃)	C ₂₂ H ₃₁ FN ₂ O ₂ Si	C, H, N
14	浆			C, H, N
15	浆			C, H, N
16	161-162 (C)	-13.412 (c 0.20, MeOH)	C ₉ H ₉ FN ₂ O ₄ ·0.3H ₂ O	C, H, N
10 17	136-137 (E)	+138.55 (c 0.14, MeOH)	C ₉ H ₉ FN ₂ O ₄ ·0.2H ₂ O	C, H, N
18	149-151 (D)	-30.44 (c 0.20, MeOH)	C ₁₆ H ₁₃ FN ₂ O ₂	C, H, N
19	116-118 (E)	+132.42 (c 0.25, MeOH)	C ₁₆ H ₁₃ FN ₂ O ₂	C, H, N
20	200-202- 分解 (C)	-54.89 (c 0.39, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₁₄ FN ₂ O ₄	C, H, N
21	170-172 (C)	+136.38 (c 0.45, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₁₄ FN ₂ O ₄ ·0.3H ₂ O	C, H, N
15 22	198-200 分解 (B)	-21.31 (c 0.25, MeOH)	C ₉ H ₉ FN ₂ O ₄ ·4H ₂ O	C, H, N
23	120-121 (E)	+159.15 (c 0.21, MeOH)	C ₉ H ₉ FN ₂ O ₄	C, H, N
24	浆			C, H, N
25	浆			C, H, N
26	浆		C ₁₆ H ₂₂ FCIN ₂ O ₂ Si	C, H, N
20 27	泡沫	+9.80 (c 0.20, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₂₂ F ₂ CIN ₂ O ₂ Si	C, H, N
28	浆	+139.67 (c 0.18, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₂₂ F ₂ CIN ₂ O ₂ Si	C, H, N
29				C, H, N
30	泡沫			C, H, N
31	180-182 (A)	+13.33 (c 0.54, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₂₂ F ₂ N ₂ O ₂ Si0.2 丙酮	C, H, N
25 32	129-130 (A)	+90.22 (c 0.23, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₂₂ FCIN ₂ O ₂ Si	C, H, N
33	184-186 (A)	+116.53 (c 0.13, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₂₂ F ₂ N ₂ O ₂ Si0.3 丙酮	C, H, N
34	128-130 (A)	+89.87 (c 0.15, CHCl ₃)	C ₁₆ H ₂₂ FCIN ₂ O ₂ Si	C, H, N
35	188-189 (C)	-54.91 (c 0.17, MeOH)	C ₁₀ H ₁₀ FN ₂ O ₂ ·0.2H ₂ O	C, H, N
36	169-171 (C)	+160.62 (c 0.19, MeOH)	C ₁₀ H ₁₀ FN ₂ O ₂ ·0.3MeOH	C, H, N
30 37	128-130 (E)	-50.21 (c 0.20, MeOH)	C ₁₀ H ₉ FN ₂ O ₂ ·0.2H ₂ O	C, H, N
38	>200 分解 (C)	+169.60 (c 0.20, MeOH)	C ₁₀ H ₉ FN ₂ O ₂ ·0.3H ₂ O	C, H, N
39	185-188 分解 (B)	-56.15 (c 0.16, MeOH)		C, H, N
40	180 分解 (B)	+178.22 (c 0.10, MeOH)		C, H, N
41	155-156 分解 (B)	+10.64 (c 0.17, MeOH)		C, H, N
35 42	150-152 (B)	+142.49 (c 0.17, MeOH)		C, H, N
43	>200 分解 (B)	+24.42 (c 0.10, DMF)		C, H, N
44	>210 分解 (B)	+58.68 (c 0.10, DMF)		C, H, N

^a 溶剂: A; EtOAc- 己烷, B; CH₂Cl₂-MeOH, C; CHCl₃-MeOH, D; THF.

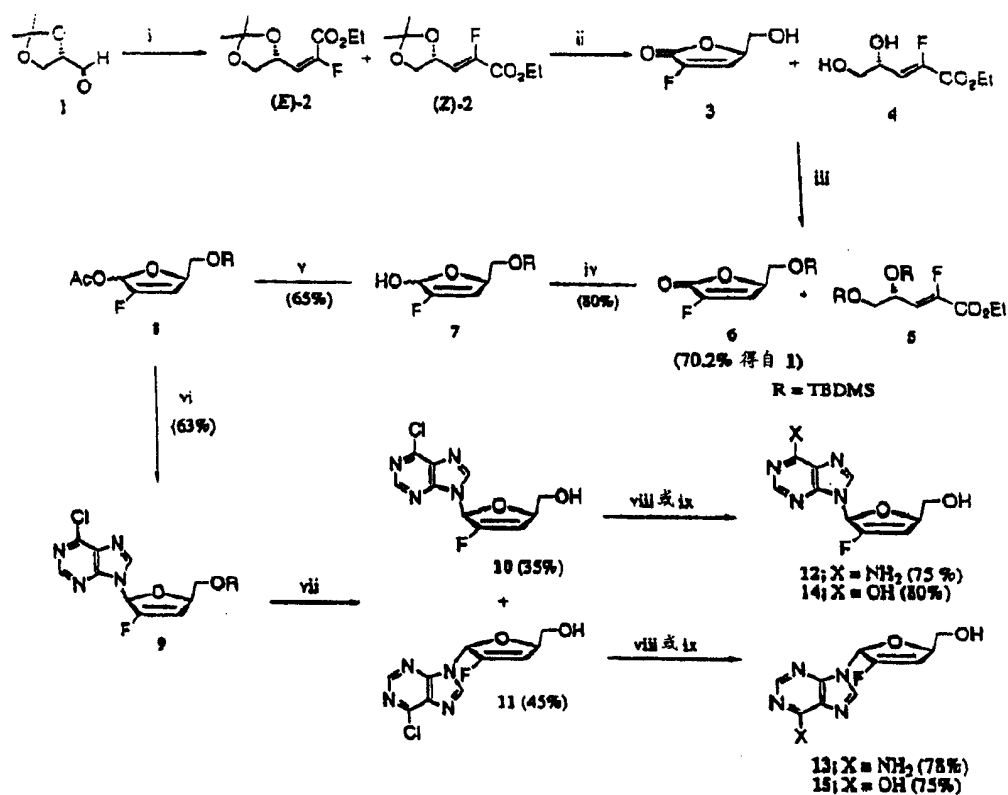
40 环己烷, E; 冻干

如前所述, 通过由容易得到的核苷类似物开始的消除反应已完成了 2', 3'-不饱和-D-核苷的合成, 其中包括单个核苷酸的冗长的修饰反应。一些人报告了通过适宜的 2'-氟代核苷类似物的消除反应制备 D-2'-氟-2', 3'-不饱和嘧啶核苷 (Martin, J. A. 等, J. Med. Chem. 1990, 33, 213 7-2145; Stezycki, R. Z. 等, J. Med. Chem. 1990, 33, 2150-2157)。但是用此方法合成 L-Fd4N 时, 在制备起始物 L-核苷中遇到了另外一些困难。由于 2, 3-不饱和糖部分在偶联条件下在 Lewis 酸的存在下不稳定, 通过直接缩合合成 2', 3'-不饱和嘌呤核苷的实例非常少, 只有一种嘧啶类似物的情况用噻吩基中间体 (Abdel-Medied, A. W.S. 等, Synthesis 1991, 313-317; Sujino, K. 等,

Tetrahedron Lett. 1996, 37, 6133-6136)。与 2, 3-不饱和糖部分相反, 2-氟-2, 3-不饱和糖在与杂环缩合时糖基键的稳定性提高, 预计对直接偶联反应会变得更稳定。因此, 选择 (R) -2-氟代丁烯羧酸内酯 506, 作为关键中间体 508 的前体, 其可以由 L-甘油醛丙酮化合物 (glyceraldehyde acetonide) 501 制备。

由 L-甘油醛丙酮化合物开始, 通过 Horner-Emmons 反应在 α -氟代磷酰基乙酸三乙基酯和双 (三甲基甲硅烷基) 氯化钠的存在下在 THF 中获得 (E) -502/ (Z) -2 的混合物 (^1H NMR 检测 9: 1) (Thenappan, A. 等, J. Org. Chem., 1990, 55, 4639-4642; Morikawa, T. 等, Chem. Pharm. Bull. 1992, 40, 3189-3193; Patrick, T. B. 等, J. Org. Chem. 1994, 59, 1210-1212)。由于在分离 (E) -502/ (Z) -502 异构体中的困难, 将此混合物用于以下的环合反应中, 在酸性条件下得到所需的内酯 503 和未环合的二醇 504。将所得混合物转变为甲硅烷基化的内酯 506, 将其用 DIBAL-H 在二氯甲烷中在 -78°C 下还原得到乳醇 507。将此乳醇 507 用醋酸酐处理得到关键中间体 508, 将其与甲硅烷基化的 6-氯代嘌呤在 Vorburggen 条件下缩合得到端基异构体混合物 509。用 TBAF 在 THF 中处理 509 得到游离的核苷 510 和 511, 用硅胶色谱容易地将其分离。通过用巯基乙醇和 NaOMe 在不锈钢瓶中在 90°C 下处理化合物 510 和 511 分别得到腺嘌呤类似物 512 和 513。用巯基乙醇和 NaOMe 处理化合物 510 和 511 分别得到肌苷类似物 514 和 515。这些化合物的立体化学由 NOESP 波谱确定 (B 异构体 512 中在 H-1' 和 H-4' 之间存在交叉峰)。

方案 10. 通过直接缩合合成 L-2'-氟-d4 腺嘌呤和次黄嘌呤



试剂: (i) $(EtO)_2P(O)CH_2CO_2Et$, $((CH_3)_3Si)_2NNa$, THF, $-78^\circ C$ (ii) $HCl/EtOH$ (iii) $TBDMSCl$, 咪唑, CH_2Cl_2
 (iv) 1 M $DIBAL-H$ 于 CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 , $-78^\circ C$ (v) Ac_2O , $pyr.$, CH_2Cl_2 (vi) 甲硅烷基化 6-Cl-嘌呤, $TMSOTf$, DCE
 (vii) $TBAF$, CH_3CN (viii) $NH_3/MeOH$, $90^\circ C$ (ix) $HS(CH_2)_2OH$, $NaOMe/MeOH$, 回流

表 7. 在 PBM 中 L-2'-氟-d4 腺嘌呤和次黄嘌呤抗 HIV-1 的半数有效值 (EC_{50}) 和半数抑制值 (IC_{50})

化合物序号	EC_{50} (μM) (PBM 细胞)	EC_{90} (μM) (PBM 细胞)	毒性		
			PMC 细胞	Vero 细胞	CEM 细胞
			IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)
512	1.5	15.1	>100	>100	>100
513	47.6	332	>100	>100	>100
514	>100	>100	>100	>100	>100
515	>100	>100	>100	>100	>100
316 (β)	>100	>100	>100	>100	>100
317 (α)	>100	>100	>100	>100	>100
318 (β)	>100	>100	>100	>100	>100
319 (α)	>100	>100	>100	>100	>100
322 (β)	0.51	4.3	>100	>100	>100
323 (α)	>100	>100	>100	>100	>100
335 (β)	1.5	15.1	>100	>100	>100
336 (α)	47.6	332	>100	>100	>100
337 (β)	>100	>100	>100	>100	>100
338 (α)	>100	>100	>100		>100
AZT	0.004	0.04	>100	29.0	14.3

实验部分

用 Mel-temp II 实验装置检测熔点并未校准。用四甲基甲硅烷作为内标物用 Bruker 250 和 AMX400 400MHz 色谱仪记录核磁共振光谱；化学位移 (δ) 用百万分之一报告 (ppm)，而信号描述为 s (单峰)，d (双重峰)，t (三重峰)，q (四重峰)，br s (宽单峰)，dd (双重双峰) 及 m (多重峰)。UV 光谱得自 beckman DU 650 光谱仪。旋光性在 Jasco DIP-370 数码旋光计上测定。质谱在 Micromass Inc. Autospec 高分辨双聚焦扇

形片 (EBE) MS 光谱仪上检测。红外光谱记录于 Nicolet 510 FT-IR 光谱仪。由 Atlantic Microlab, Inc., Norcross, GA 进行元素分析。所有反应用薄层色谱 Analtech, 200mm 硅胶 GF 板监控。在使用前用 Ca_2H 蒸馏获得干燥的 1, 2-二氯乙烷、二氯甲烷和乙腈。用钠和二苯酮蒸馏, 当溶液变紫时获得干燥的 THF。

L-(S)-甘油醛丙酮化合物 (302)

将 L-古洛糖酸- γ -内酯 (175g, 0.98 mol) 的 DMF (1 L) 溶液冷却至 0 °C 并在搅拌下分批加入对甲苯磺酸 (1.1g, 5.65 mmol)。向所得溶液中, 通过滴液漏斗在 0 °C 下滴加 2-甲氧基丙烯 (87.7g, 0.92 mol)。将此反应混和物升温至室温并再搅拌 24 小时。反应完毕后, 加入碳酸钠 (124 g) 并将所得悬浮液剧烈搅拌 3 小时。然后, 用玻璃过滤器过滤并将此滤液真空蒸发得到黄色残余物, 加入甲苯 (170 mL), 发生结晶。抽滤固体, 用己烷/乙醇 (9: 1; 1 L) 洗涤, 并干燥得到淡黄色固体 301 (99.1g, 65%)。

向搅拌的、5, 6-O-亚异丙基-L-古洛糖酸-1, 4-内酯 (70.0g, 0.32 mol) 在水 (270 mL) 中的悬浮液中, 在 0 °C 下在 30 分钟内分批加入偏高碘酸钠 (123g, 0.58 mol), 维持 pH 5.5 (通过加入 2N 氢氧化钠调节)。将此悬浮液室温下搅拌 2 小时, 然后用氯化钠饱和并过滤。将此滤液的 pH 调节至 6.5-7.0, 并用二氯甲烷 (5 次, 200mL) 和乙酸乙酯 (5 次, 300mL) 萃取。用无水硫酸镁将合并的有机层干燥, 过滤并减压浓缩 (<20 °C)。然后将所得残余物蒸馏得到 302 (23.2g, 69%), 为无色油状物。b.p. 49-51 °C/16 Torr. $[\alpha]_D^{25}$ -66.4 (c 6.3, 苯)。

(E)/(Z)-乙基-3-[(R)-2, 2-二甲基-1, 3-二氧杂环戊烷-4-基]-2-氟丙烯酸酯 (E-303 和 Z-303)

将 2-氟磷酸基乙酸三乙酯 (39.2g, 162 mmol) 的 THF (70 mL) 溶液冷却至 -78 °C, 并滴加双(三甲基甲硅烷基)氯化钠 (1.0 M THF 溶液, 162 mL, 162 mmol)。将此混合物在 -78 °C 保持 30 分钟, 然后加入 303 (19.14g, 147 mmol) 的 THF (70 mL) 溶液。-78 °C 下搅拌 1 小时后, 用氯化铵水溶液处理此反应混和物并用乙醚萃取。用饱和氯化钠洗涤醚相, 用硫酸镁干燥, 过滤并蒸发。将此残余物在硅胶上进行色谱得到 E-303 和 Z-303 (9: 1 根据 ^1H NMR), 为淡黄色油状物 (34.6g, 97.9%)。 ^1H NMR (CDCl_3) 8.34, 1.36 (2t, $J=8\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.40, 1.45 (2s, -

CH₃), 3.69 (m, H_a-5), 4.28 (m, H_b-5, -CH₂CH₃), 5.02 (m, H-4), 5.40 (m, H-4), 6.02 (dd, J = 8, 20 Hz, H-3), 6.18 (dd, J = 8, 32 Hz, H-3).

(R) - (+) -4-[(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基]-2-氟-2-丁烯-4-交酯 (307)

将 E-303 和 Z-303 (19.62g, 89.89 mmol) 的 110mL 无水乙醇溶液用 30 mL 浓盐酸处理并在室温下搅拌 2 小时。真空除去溶剂并将此残余物与甲苯 (3 × 300mL) 共蒸发得到内酯 304 和未环合的酯 305。将所得淡黄色浆不经纯化直接用于下步反应。向 304、305 和咪唑 (12.3g, 180mmol) 在二氯甲烷 (250mL) 中的混合物中加入叔丁基二甲基甲硅烷氧基氯 (27.1g, 180 mmol), 并将此反应混合物室温下搅拌 4 小时。将所得混合物用水洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩至干。通过硅胶柱色谱用 4% EtOAc-己烷作为洗脱剂分离此残余物, 得到 307 (28.0g, 70.2%, 由化合物 302), 为白色结晶固体。mp 48-50 °C; $[\alpha]_D^{25} +105.3$ (c 1.60, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.07, 0.08 (2s, 2xCH₃), 0.88 (s, 叔丁基), 3.88 (m, 2H, H-5), 5.01 (m, 1H, H4), 6.73 (ps t, 1H, J = 4 Hz); 元素分析理论值 C₁₀H₁₉FO₃Si: C, 53.63; H, 7.77. 实测值: C, 53.70; H, 7.75.

1-乙酰基-4-[(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基]-2-氟-2-丁烯-4-交酯 (309)

在氮气氛围下, 将内酯 307 (20.59g, 83.54 mmol) 溶解于 200mL 的二氯甲烷中, 然后冷却至 -78 °C, 并加入 1.0 M DIBAL-H 的二氯甲烷 (125 mL) 溶液。将所得化合物在 -78°C 下搅拌 2 小时。用稀硝酸处理此冷的混合物, 并干燥 (硫酸钠)。将溶剂蒸发得到端基异构体 308, 为淡黄色油状物 (16.6g, 粗收率 80%), 将其不经纯化直接用于下步反应。

在 0°C 将 Ac₂O (25 mL, 0.27 mol) 加入到 308 和吡啶 (22 mL, 0.27 mol) 的二氯甲烷 (200 mL) 溶液中, 并将所得混合物搅拌 16 小时。用稀盐酸、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤此反应混合物。将合并的有机层干燥, 过滤并浓缩至干。将此残余物进行柱色谱纯化 (6.5% 乙酸乙酯/己烷), 得到 309 (12.6g, 65%), 为无色油状物。

乙酸酯 309 和嘧啶碱缩合的一般方法

在氮气氛下，将尿嘧啶（420 mg, 3.75 mmol），六甲基乙硅氮烷（15 mL）和硫酸铵（20 mg）的混合物回流 3 小时。将所得清澈溶液真空浓缩至干。向糖 309（728 mg, 2.50 mmol）和甲硅烷基化碱在干燥的 DCE（20mL）的溶液中加入 TMSOTf（0.7mL, 3.14mmol）。将此反应混和物在氮气氛下搅拌 2 小时，倒入冷的饱和碳酸氢钠溶液（30mL）中并搅拌 15 分钟。将所得混合物洗涤，干燥（硫酸钠），过滤并真空浓缩。将此粗品通过柱色谱（3%甲醇/氯仿）纯化得到 310（0.960g, 2.73 mmol, 73%），为不可分的端基异构体，将其不经分离直接用于下步反应。

1-[5-O-（叔丁基二甲基甲硅烷基）-2, 3-二脱氧-2-氟-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]尿嘧啶（310）

UV (CHCl₃) $\lambda_{\max}$ 257.5 nm.; 元素分析 (C₁₅H₂₃N₂O₄Si) C, H, N

1-[5-O-（叔丁基二甲基甲硅烷基）-2, 3-二脱氧-2-氟-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]胸腺嘧啶（311）

甲硅烷基化的胸腺嘧啶（242 mg, 1.92 mmol），307（500 mg, 1.72 mmol）和 TMSOTf（0.5 mL, 2.25 mmol）反应 2 小时得到 311 的混合物，将其通过硅胶柱色谱（3%甲醇/氯仿）纯化为不可分的端基异构体混合物（0.392 g, 1.10mmol, 64%）。UV (CHCl₃) $\lambda_{\max}$ 262.0 nm. 元素分析 (C₁₆H₂₅FN₂O₄Si) C, H, N.

N⁶-苯甲酰基-1-[5-O-（叔丁基二甲基甲硅烷基）-2, 3-二脱氧-2-氟-（a, b）-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]胞嘧啶（312 和 313）

甲硅烷基化的 N⁶-苯甲酰基胞嘧啶（790 mg, 3.67 mmol），307（470 mg, 1.62 mmol）和 TMSOTf（0.5 mL, 2.25 mmol）反应 2 小时得到 312 和 313 的混合物，将其通过硅胶柱（30%乙酸乙酯/己烷）纯化得到β端基异构体 312（0.34g, 0.76mmol, 47.1%），为白色固体，以及α端基异构体 313（0.23g, 0.52 mmol, 31.8%），为白色固体。312: UV (CHCl₃) $\lambda_{\max}$ 260.5nm; 元素分析 (C₂₂H₂₈FN₃O₄Si) C, H, N; 513: UV (CHCl₃) $\lambda_{\max}$ 260.5 nm.; 元素分析 (C₂₂H₂₈FN₃O₄Si) C, H, N.

5-氟-1-[5-O-（叔丁基二甲基甲硅烷基）-2, 3-二脱氧-2-氟-（a, b）-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]胞嘧啶（314 和 315）

甲硅烷基化的 5-氟-胞嘧啶（300 mg, 2.32 mmol），309（360 mg, 1.24 mmol）和 TMSOTf（0.4 mL, 1.86 mmol）反应 2 小时得到 314 和 315

的混合物，将其通过硅胶柱色谱（3% MeOH/二氯甲烷）纯化得到 β 端基异构体 314 白色固体（168 mg, 37.8%）和 α 端基异构体 315（121 mg, 27.1%）白色固体。314: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 281.5 nm; 315: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 281.5 nm.

1-(2, 3-二脱氧-2-氟-(α , β)-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)尿嘧啶 (316 和 317)

将氟化四正丁基铵（0.6 mL, 0.6 mmol）加入到 310（177 mg, 0.52 mmol）在 THF（15 mL）中的混合物中并将此反应混和物室温下搅拌 15 分钟。除去溶剂并将此残余物通过硅胶柱色谱（2% MeOH/CHCl₃）纯化得到 β 端基异构体 316（52.8 mg, 0.23 mmol, 44.5%）和 α 端基异构体 317（35.1 mg, 0.15 mmol, 29.6%）。

316: UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 261.0 nm (pH 7); 元素分析 (C₉H₉FN₂O₄ · 0.3H₂O) C, H, N. 317: UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 261.0 nm (pH 7); 元素分析 (C₉H₉FN₂O₄ · 0.2H₂O) C, H, N.

1-(2, 3-二脱氧-2-氟-(α , β)-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胸腺嘧啶 (318 和 319)

在 0℃，将氟化四正丁基铵（0.8 mL, 0.8 mmol）加入到 311（240 mg, 0.67 mmol）在 THF（10 mL）中的混合物中，并将此反应混和物室温下搅拌 15 分钟。除去溶剂并将此残余物通过硅胶柱色谱（40% THF/环己烷）纯化得到 β 端基异构体 318（66.5 mg, 0.28 mmol, 41%）和 α 端基异构体 319（52.8 mg, 0.23 mmol, 26%）。

318: UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 265.5 nm (pH 7); 元素分析 (C₉H₉FN₂O₄ · 0.3H₂O) C, H, N. 319: UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 266.0 nm (pH 7); 元素分析 (C₉H₉FN₂O₄ · 0.3H₂O) C, H, N.

N⁶-苯甲酰基-1-(2, 3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胞嘧啶 (320)

将氟化四正丁基铵（1 M 在 THF 中）（1 mL, 1 mmol）加入到 β 端基异构体 312（280 mg, 0.63 mmol）的 THF（10 mL）溶液中并将此反应在室温下搅拌 1 小时。将此反应混和物减压浓缩并将此残余物通过闪式硅胶柱用 2.5% MeOH/CHCl₃ 洗脱纯化得到 320（218 mg, 0.66 mmol, 75%），为白色固体。

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 260.5 nm. 元素分析 (C₁₆H₁₄FN₃O₄) C, H, N.

N⁶-苯甲酰基-1-(2, 3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胞嘧啶(321)

将氟化四正丁基铵(1 M 在 THF 中)(1 mL, 1 mmol)加入到 α 端基异构体 313(280 mg, 0.63 mmol)的 THF(10mL)溶液中并将此反应在室温下搅拌 1 小时。将此反应混和物减压浓缩并将此残余物通过闪式硅胶柱用 2.5% MeOH/CHCl₃ 洗脱纯化得到 321(145.8 mg, 0.44 mmol, 69%), 为白色固体。

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 260.5 nm. 元素分析 (C₁₆H₁₄FN₃O₄ · 0.3H₂O) C, H, N.

1-(2, 3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胞嘧啶(322)

将 β 端基异构体(67.60 mg, 0.204 mmol)的甲醇(5 mL)溶液用 NH₃/MeOH(10 mL 饱和溶液)处理并将此反应混和物室温下搅拌直到观察到起始物消失(10 小时)。将此反应混和物减压浓缩并将此残余物通过制备 TLC 纯化, 用 12% MeOH/二氯甲烷作洗脱剂。由此板获得的物质 322(43 mg, 93.1%), 为固体, 将其用己烷和乙醚研磨。

UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 266.5 nm (pH 7); 元素分析 (C₉H₁₀FN₃O₃ · 0.4H₂O) C, H, N.

1-(2, 3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胞嘧啶(323)

将 α 端基异构体(65.90 mg, 0.199 mmol)的甲醇(5 mL)溶液用 NH₃/MeOH(10 mL 饱和溶液)处理并将此反应混和物室温下搅拌直到观察到起始物消失(16 小时)。将此反应混和物减压浓缩并将此残余物通过制备 TLC 纯化, 用 12% MeOH/二氯甲烷作洗脱剂。由此板获得的物质 323(42.5 mg, 94.5%), 为固体, 将其用己烷和乙醚研磨。

UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 276.0 nm (pH 7); 元素分析 (C₉H₁₀FN₃O₃) C, H, N.

5-氟-1-(2, 3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胞嘧啶(324)

将氟化四正丁基铵(1M 在 THF 中)加入到 β 端基异构体 314 的乙腈溶液中并将此反应室温下搅拌 1 小时。将此反应混和物减压浓缩并将此残余物通过闪式硅胶柱用 12% MeOH/CHCl₃ 洗脱纯化得到 324。

5-氟-1-(2, 3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)胞嘧啶(325)

将氟化四正丁基铵(1M 在 THF 中)加入到 α 端基异构体 315 的乙腈

溶液中并将此反应室温下搅拌 1 小时。将此反应混和物减压浓缩并将此残余物通过闪式硅胶柱用 12% MeOH/CHCl₃ 洗脱纯化得到 325。

乙酸酯 309 与嘌呤碱缩合的一般方法

在氮气氛下, 将 6-氯嘌呤 (1.20g, 7.75 mmol), 六甲基乙硅氮烷 (25 mL) 和硫酸铵 (催化量) 的混合物回流 4 小时。将所得清澈溶液真空浓缩至干并将此残余物溶解于无水 DCE (10mL) 中并在室温下与 307 (1.50g, 5.17mmol) 的 DCE (40mL) 溶液和三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯 (1.5mL, 7.75mmol) 反应。在氮气氛下室温搅拌 1 小时后, 将此反应溶液倒入到冰冷的饱和碳酸氢钠溶液 (20mL) 中并搅拌 15 分钟。用水和盐水洗涤此有机层, 并用硫酸镁干燥。减压除去溶剂并通过硅胶柱色谱用 12.5% 乙酸乙酯/己烷将此残余物分离, 得到端基异构体混合物 326 (1.25g, 62.9%), 为浆状物。

6-氯-9-[5-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氯-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]嘌呤 (326)

326: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 265.0 nm; 元素分析 (C₁₆H₂₂ClFN₄O₂Si) C, H, N.

6-氯-2-氯-9-[5-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氯-(α , β)-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]嘌呤 (327 和 328)

将甲硅烷基化的 2-氯-6-氯嘌呤[由 1.170g (6.78mmol) 的 2-氯-6-氯嘌呤制备]和无水 DCE (40mL) 的混合物室温下搅拌 16 小时。类似于 326 经处理后, 通过硅胶柱色谱 (12% 乙酸乙酯/己烷) 纯化得到 β 端基异构体 327 (685 mg, 1.70 mmol, 30.0%) 白色泡沫和 α 端基异构体 328 (502 mg, 1.25 mmol, 22.1%) 淡黄色浆状物。

327: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268.5 nm. 元素分析 (C₁₆H₂₁F₂ClN₄O₂Si) C, H, N., 328: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 269.0 nm. 元素分析 (C₁₆H₂₁F₂ClN₄O₂Si) C, H, N.

6-氯-9-(2, 3-二脱氧-2-氯-(α , β)-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基) 嘌呤 (329 和 330)

将 326 (1.2g, 3.12 mmol) 的无水 CH₃CN (20 mL) 溶液用 TBAF (1M 的 THF 溶液) (3.2 mL, 3.2mmol) 处理并搅拌 1 小时。蒸发溶剂后, 将残余物通过柱色谱 (3% 甲醇/氯仿) 纯化得到 β 端基异构体 329 (296 mg, 35%) 白色固体和 α 端基异构体 330 (380 mg, 45%) 泡沫。

329: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 265.0 nm.; 330: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 265.0 nm.

6-氨基-2-氟-9-[5-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]嘌呤 (331) 和

6-氟-2-氨基-9-[5-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]嘌呤 (332)

室温下将干燥的氨气通入搅拌的、327 (420 mg, 1.04 mmol) 的无水 DME (35 mL) 溶液中, 过夜通入。过滤除去盐并将此滤液减压蒸发。将此残余物通过硅胶柱色谱 (25% EtOAc/己烷) 纯化得到两种化合物, 331 (114 mg, 0.30 mmol) 白色固体和 332 (164 mg, 0.41 mmol) 白色固体。

331: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268, 5 nm. 元素分析 ($C_{16}H_{23}F_2N_5O_2Si \cdot 0.2$ 丙酮) C, H, N; 332: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 307.5 nm. 元素分析 ($C_{16}H_{23}FN_5O_2ClSi$) C, H, N, Cl.

6-氨基-2-氟-9-[5-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]嘌呤 (333) 和 6-氟-2-氨基-9-[5-O-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-2, 3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基]嘌呤 (334)

室温下将干燥的氨气通入搅拌的、333 (420 mg, 1.04 mmol) 的干燥 DME (35 mL) 溶液中, 过夜通入。过滤除去盐并将此滤液减压蒸发。将此残余物通过硅胶柱色谱 (25% EtOAc/己烷) 纯化得到两种化合物, 332 (150 mg, 0.30 mmol) 白色固体和 333 (150 mg, 0.38 mmol) 白色固体。

333: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 269.0 nm. 元素分析 ($C_{16}H_{23}F_2N_5O_2Si \cdot 0.3$ 丙酮) C, H, N; 332: UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 309.5 nm. 元素分析 ($C_{16}H_{23}FCIN_5O_2Si$) C, H, N.

9-(2, 3-二脱氧-2-氟- β -甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)腺嘌呤 (335)

将 329 (100 mg, 0.369 mmol) 和饱和 $NH_3/MeOH$ (50 mL) 在不锈钢瓶中在 90°C 加热 24 小时。冷却至室温后, 减压除去溶剂并将残余浆状物通过柱色谱用 6% MeOH/ $CHCl_3$ 作为洗脱剂纯化得到 335 (70 mg, 75%) 白色固体。335: UV (H_2O) $\lambda_{\max}$ 258 nm (ϵ 18, 800) (pH 2), 258.5 nm (ϵ 18, 800) (pH 7), 258.5 nm (ϵ 19, 100) (pH 11). 元素分析 ($C_{10}H_{10}FN_5O_2 \cdot 0.2H_2O$) C, H, N.

9-(2,3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)腺嘌呤(336)

将 330 (100 mg, 0.369 mmol) 和饱和 NH_3/MeOH (50 mL) 在不锈钢瓶中在 90℃ 加热 24 小时。冷却至室温后, 减压除去溶剂并将残余浆状物通过柱色谱用 6% $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ 作为洗脱剂纯化得到 335 (72 mg, 78%) 白色固体。336: UV (H_2O) λ_{max} 258 nm (ϵ 21, 100) (pH 2), 259 nm (ϵ 21, 500) (pH 7), 29 nm (ϵ 22, 600) (pH 11)。元素分析 ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{FN}_5\text{O}_2 \cdot 0.3\text{MeOH}$) C, H, N.

9-(2,3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)次黄嘌呤(337)

将 329 (100 mg, 0.369 mmol), NaOMe (0.5 M 甲醇溶液) (2.94 mL, 1.46 mmol) 和 $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (0.1 mL, 1.46 mmol) 在甲醇 (20 mL) 中的混合物在氮气氛下回流 4 小时。将此反应混和物冷却, 用冰醋酸中和并真空蒸发至干。将此残余物通过硅胶柱色谱 (10% 甲醇/氯仿) 纯化得到 337 (74 mg, 80%) 白色固体。337: UV (H_2O) λ_{max} 247 nm (ϵ 12, 400) (pH 2), 247.5 nm (ϵ 13, 000) (pH 7), 253 nm (ϵ 13, 100) (pH 11)。元素分析 ($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}_3 \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

9-(2,3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)次黄嘌呤(338)

将 330 (100 mg, 0.369 mmol), NaOMe (0.5 M 甲醇溶液) (2.94 mL, 1.46 mmol) 和 $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (0.1 mL, 1.46 mmol) 在甲醇 (20 mL) 中的混合物在氮气氛下回流 4 小时。将此反应混和物冷却, 用冰醋酸中和并真空蒸发至干。将此残余物通过硅胶柱色谱 (10% 甲醇/氯仿) 纯化得到 338 (70 mg, 80%) 白色固体。338: UV (H_2O) λ_{max} 247.5 nm (ϵ 12, 700) (pH 2), 247.5 nm (ϵ 13, 700) (pH 7), 252.5 nm (ϵ 13, 100) (pH 11)。元素分析 ($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}_3 \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

2-氟-6-氨基-9-(2,3-二脱氧-2-氟- β -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基)嘌呤(339)

将 31 (101 mg, 0.26 mmol) 的无水乙腈 (15 mL) 溶液用 TBAF (1 M THF 溶液) (0.35 mL, 0.35 mmol) 处理并搅拌 30 分钟。溶剂蒸发后, 将残余物通过柱色谱 (9% 二氯甲烷/甲醇) 纯化得到 339 (64.7 mg, 0.24 mmol, 92.3%) 白色结晶固体。UV (H_2O) λ_{max} 269.0 nm (pH 7).

2-氟-6-氨基-9-(2,3-二脱氧-2-氟- α -L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖

基) 嘌呤 (340)

将 333 (73.4 mg, 0.19 mmol) 的无水乙腈 (10 mL) 溶液用 TBAF (1 M THF 溶液) (0.25 mL, 0.25 mmol) 处理并搅拌 30 分钟。溶剂蒸发后, 将残余物通过柱色谱 (9%二氯甲烷/甲醇) 纯化得到 340 (46.2 mg, 0.17 mmol, 90.3 %) 白色结晶固体。UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 269.0 nm (pH 7)。

2-氨基-6-氯-9-(2, 3-二脱氧-2-氟-β-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基) 嘌呤 (341)

将 332 (143.5 mg, 0.40 mmol) 的无水乙腈 (15 mL) 溶液用 TBAF (1 M THF 溶液) (0.60 mL, 0.60 mmol) 处理并搅拌 30 分钟。溶剂蒸发后, 将残余物通过柱色谱 (5%二氯甲烷/甲醇) 纯化得到 341 (109 mg, 0.382 mmol, 90.3 %) 白色结晶固体。UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 308.5 nm (pH 7)。

2-氨基-6-氯-9-(2, 3-二脱氧-2-氟-α-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基) 嘌呤 (342)

将 334 (145 mg, 0.36 mmol) 的无水乙腈 (10 mL) 溶液用 TBAF (1 M THF 溶液) (0.50 mL, 0.50 mmol) 处理并搅拌 30 分钟。溶剂蒸发后, 将残余物通过柱色谱 (9%二氯甲烷/甲醇) 纯化得到 342 (99.9 mg, 0.35 mmol, 96.4%) 白色结晶固体。UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 309.0 nm (pH 7)。

9-(2, 3-二脱氧-2-氟-β-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基) 鸟嘌呤 (343)

将 341 (63.6 mg, 0.223 mmol), 2-巯基乙醇 (0.06 mL, 0.89 mmol) 和 1N NaOMe (0.89 mL, 0.89 mmol) 在甲醇 (10 mL) 中在氮气氛围下回流 5 小时。将此混合物冷却, 用冰醋酸中和并减压浓缩至干。将此残余物通过柱色谱 (12%二氯甲烷/甲醇) 纯化得到 343 (30.1 mg, 0.113 mmol, 50.7%) 白色固体。UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 253.5 nm (pH 7)。

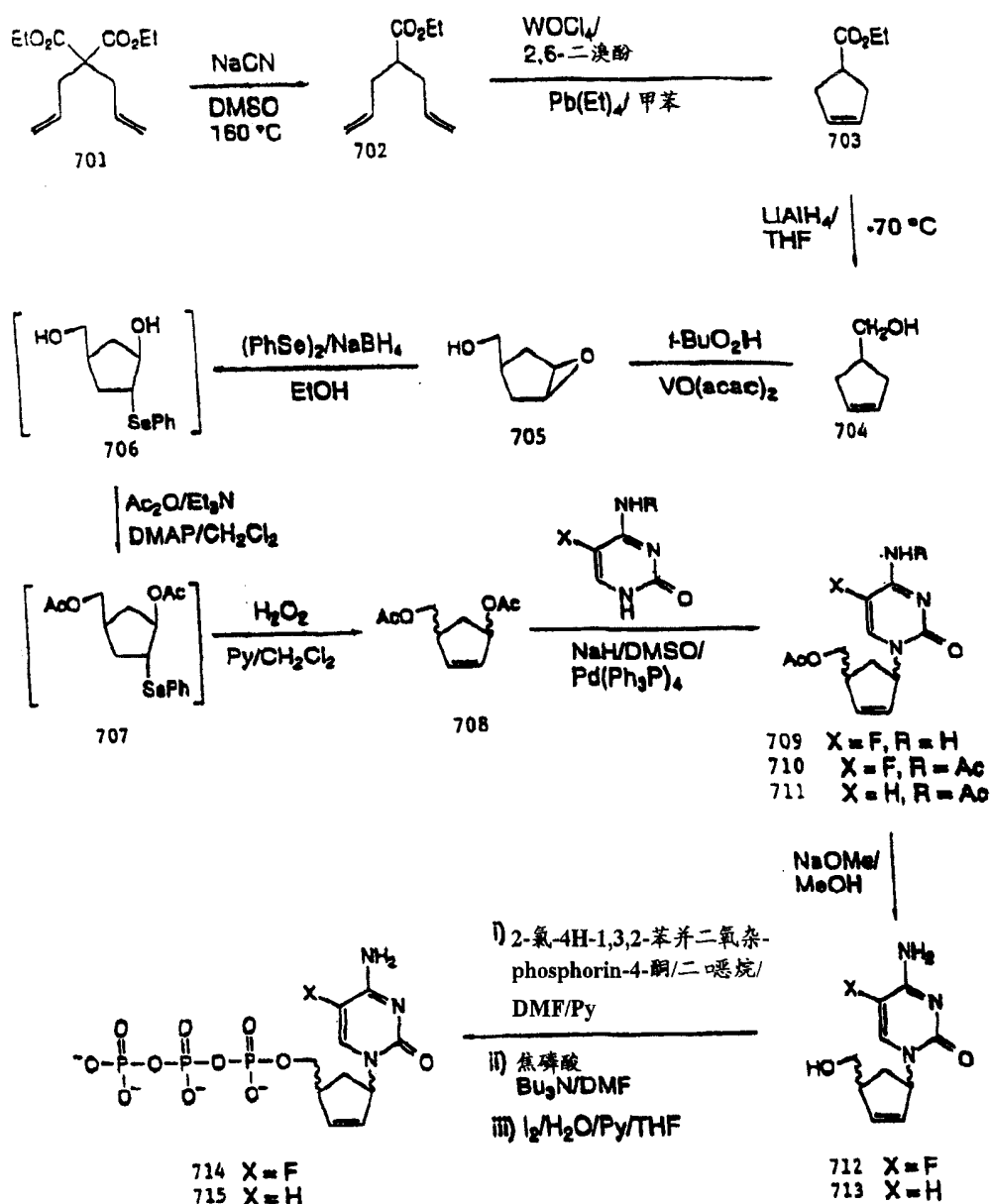
9-(2, 3-二脱氧-2-氟-α-L-甘油基-戊-2-烯呋喃糖基) 鸟嘌呤 (344)

将 342 (59.3 mg, 0.208 mmol), 2-巯基乙醇 (0.07 mL, 1.04 mmol) 和 1N NaOMe (1.04 mL, 1.04 mmol) 在甲醇 (10 mL) 中在氮气氛围下回流 5 小时。将此混合物冷却, 用冰醋酸中和并减压浓缩至干。将此残余物通过柱色谱 (12.5%二氯甲烷/甲醇) 纯化得到 344 (28.0 mg, 0.105 mmol, 50.5%) 白色固体。UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 253.0 nm (pH 7)。

合成顺-(±)-碳环 d4 胞嘧啶核苷及其 5'-三磷酸盐

参照方案 11, 由二烯丙基丙二酸二乙酯 (701) 开始, 以 78% 的收率合成 4-乙氧羰基-1, 6-庚二烯 (702) (W. A. Nugent, J. Am. Chem. Soc., 1995, 117, 8992-8998)。以 71% 的收率由化合物 702 合成化合物 703 (L. E. Martinez, J. Org. Chem., 1996, 61, 7963-7966) 而以 43% 的收率由化合物 704 合成化合物 705 (D. M. Hodgson, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1994, 3373-3378)。关键中间体顺-(±)-3-乙酰氧基-5-(乙酰氧基甲基)环戊烯 (708) 或者可以从环戊二烯和甲醛在乙酸中用 Prins 反应合成 (E. A. Saville-Stones, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1991, 2603-2604), 尽管其有收率低及不可分离的问题; 或者可以由双环内酯合成, 其经多步骤通过 4 步反应合成 (F. Burlina, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1997, 7, 247-250)。虽然需要合成手性的双环内酯, 后种方法得到手性 708 [(-)-对映异构体]。由 5-氟胞嘧啶和乙酸对硝基苯基酯合成 N⁴-乙酰基-5-氟胞嘧啶 (A. S. Steinfeld, J. Chem. Research (M), 1979, 1437-1450)。

方案 11



实验部分

总论: 除非另外说明所有的试剂都直接使用。无水试剂购自 Aldrich Chemical Co.。用电热数码熔点仪测定熔点 (M. p.) 且不经校准。¹H 和 ¹³C NMR 光谱用 Varian Unity Plus 400 光谱仪在室温下检测并以内标物四甲基硅烷低磁场的 ppm 报告。

4-乙氧羰基-1, 6-庚二烯 (702)

将二烯丙基丙二酸二乙酯 (701; 50g, 208 mmol), 氰化钠 (20.7g, 422 mmol) 和 DMSO (166 mL) 的混合物在 160 °C 加热 6 小时。冷却至室

温后, 将此混合物加入到 400mL 水中并用己烷 ($4 \times 100\text{mL}$) 萃取产物。将溶剂减压蒸发后, 将此残余物蒸馏 ($42\text{--}43^\circ\text{C}/1\text{ Torr}$) 得到 27.34g (78%) 的 702, 为无色液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 65.80–5.70 (m, 2H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.10–5.02 (m, 4H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.14 (q, 2H, $J = 7.2\text{ Hz}$, OCH_2), 2.54–2.48 (m, 1H, CH), 2.41–2.34, 2.29–2.23 (2m, 4H, 2 CH_2), 1.25 (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 3 H, CH_3)。

(±) -3-环戊烯甲酸乙酯 (703)

向火焰干燥的 500mL 烧瓶中加入 2, 6-二溴酚 (1.20g, 4.76 mmol), 氯化钨 (0.813g, 2.38 mmol) 和无水甲苯 (25 mL)。在氮气氛下将所得悬浮液加热回流 1 小时, 然后真空蒸发溶剂。将固体残余物用刮刀打碎并真空干燥 30 分钟。向此残余物中加入甲苯 (160mL), Et_4Pb (1.54g, 4.76 mL) 和 702 (22g, 131.0 mmol)。在氮气氛下, 将此混合物在 90°C 下加热 1.5 小时。冷却至室温后, 将此混合物通过硅藻土过滤, 并用叔丁基甲醚清洗硅藻土。将合并的滤液用 1% 氢氧化钠溶液、水和盐水洗涤, 并减压蒸发浓缩。将此残余物蒸馏 ($37\text{--}38^\circ\text{C}/1\text{ Torr}$) 得到 13.06g (71%) 的 703, 为无色液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.67 (s, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 4.14 (q, 2H, $J = 7.2\text{ Hz}$, OCH_2), 3.11 (五个小峰, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H, CH), 2.65 (d, $J = 7.6\text{ Hz}$, 4H, 2 CH_2), 1.27 (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 3 H, CH_3)。

(±) -1-(羟甲基)-3-环戊烯 (704)

向 703 (7g, 50 mmol) 在无水的 THF (150 mL) 的冷 (-78°C) 溶液中, 加入 LiAlH_4 (1M THF 溶液, 25 mL, 25 mmol), 并将此反应溶液在 -78°C 下在氮气氛下搅拌 4 小时。然后让此反应溶液升温至 0°C , 并依次加入 2.5mL 水、2.5mL 15% 氢氧化钠和 7.5mL 水。升温至室温后, 通过硅藻土滤出沉淀并用热乙酸乙酯清洗此硅藻土。将合并的滤液用 0.1N 氢氧化钠和盐水洗涤, 干燥 (硫酸镁), 过滤, 浓缩并真空干燥得到 4.294g (84%) 的 704, 为淡黄色液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.68 (s, 2H, 2 $\text{CH}=\text{CH}$),

3.57 (d, $J = 6.0\text{ Hz}$, 2H, CH_2OH), 2.54–2.48 (m, 3 H, $\text{CH} + \text{CH}_2$), 2.15–2.10 (m, 2 H, CH_2)。

顺-(+) -4-(羟甲基)-1, 2-环氧环戊烷 (705)

向 704 (930 mg, 9.1 mmol) 和氧钒基乙酰基丙酮 (10 mg) 的无水

二氯甲烷 (20 mL) 溶液中, 滴加叔丁基甲酸 [3M 二氯甲烷溶液, 由叔丁基甲酸 (70% (重量) 在水中, 41 mL, 0.3 mol) 和二氯甲烷 (59 mL) 通过干燥 ($2 \times \text{MgSO}_4$) 并在 4 埃分子筛上保存制备, 10 mL, 约 30 mmol]。室温下搅拌 24 小时后, 加入亚硫酸钠水溶液 (15% 溶液, 60 mL), 并将此混合物室温下搅拌 6 小时。分离有机层, 用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 并浓缩。将此残余物通过闪式色谱在硅胶上用己烷/乙酸乙酯 (2: 1) 洗脱纯化得到 460 mg (43%) 的 705, 为无色液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.54 (s, 2H, $(\text{CH})_2\text{O}$), 3.49 (t, $J = 4.0$ Hz, 2H, CH_2OH), 2.95 (bs, 1H, OH), 2.44–2.40 (m, 1H, CH), 2.05–2.02 (m, 4H, 2 CH_2)。 $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 66.9 (d, $(\text{CH})_2\text{O}$), 59.2 (t, CH_2OH), 36.5 (d, CH), 31.4 (t, 2 CH_2)。

顺-(±)-3-乙酰氧基-5-(乙酰氧基甲基)环戊烯 (708)

向二苯基联硒化物 (2.70 g, 8.65 mmol) 的无水乙醇 (100 mL) 溶液中分批加入硼氢化钠。搅拌此溶液至黄色变为无色, 然后加入 705 (1.70 g, 14.4 mmol) 的无水 THF (10 mL) 溶液。将此反应溶液在氮气氛下加热回流 1 小时, 然后真空蒸发溶剂。向此残余物中加入乙酸乙酯 (80 mL) 和水 (30 mL)。分离有机层, 用盐水洗涤, 干燥 (硫酸镁), 过滤, 浓缩并真空干燥。将所得 (±)-1-羟基-4-(羟甲基)-2-(苯基硒基)-环戊烷 (706; 淡黄色油状物) 不经纯化直接用于下步反应。向粗品 706 中加入无水二氯甲烷 (60 mL)、三乙胺 (30 mL, 216 mmol) 和 DMAP (50 mg)。将所得溶液冷却至 0°C , 并滴加醋酸酐 (14.7 g, 144 mmol)。在氮气氛下室温搅拌过夜后, 蒸发溶剂, 得到 (±)-1-乙酰氧基-4-(乙酰氧基甲基)-2-(苯基硒基)-环戊烷 (707; 淡黄色油状物)。向含 3 滴吡啶的 707 的冷 (0°C) 二氯甲烷 (50 mL) 溶液中, 在 5 分钟内加入 30% 过氧化氢溶液 (20 mL)。在 0°C 搅拌 30 分钟后, 再在室温下搅拌 30 分钟, 加入二氯甲烷 (50 mL) 稀释此反应混和物。分离有机相, 用水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 干燥 (硫酸镁), 过滤并真空蒸发浓缩。将此残余物通过闪式色谱在硅胶上用存在于己烷中的 0–10% 乙酸乙酯洗脱纯化得到 2.254 g (79%, 3 步总收率) 的 708, 为淡棕色液体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.01–6.00, 5.92–5.90 (2m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.66–5.64 (m, 1H, H-3), 4.04 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2O), 2.98–2.92 (m, 1H, H-5), 2.53–2.46 (m, 1H, H-4a), 2.08, 2.04 (2s, 6H, 2 CH_3), 1.60–1.54

(m, 2H, H-4b). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.1, 170.9 (2s, 2 C=O), 137.0, 131.4 (2d, CH=CH), 79.2 (d, C-3), 67.4 (t, CH_2O), 43.7 (d, C-5), 33.4 (t, C-4), 21.3, 20.9 (2q, 2 CH_3).

顺-(±)-碳环-5'-O-乙酰基-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧-5-氟胞苷 (709)

将 5-氟胞嘧啶 (258 mg, 2 mmol) 和 NaH (58 mg, 2.4 mmol) 在无水 DMSO (15 mL) 中的悬浮液在预热的油浴中在 70℃ 加热 30 分钟。然后, 将所得溶液冷却至室温, 并分别加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (73 mg, 0.063 mmol) 和 708 (298 mg, 1.5 mmol) 的无水 THF (2 mL) 溶液。将此反应混和物在氢气氛下在 70℃ 搅拌 3 天。真空蒸发除去溶剂后, 将此残余物用二氯甲烷 (50mL) 处理。通过硅藻土滤出沉淀并用二氯甲烷清洗此硅藻土。将合并的滤液浓缩, 并将此残余物通过闪式色谱在硅胶上用存在于二氯甲烷中的 0-5% 甲醇洗脱纯化得到 40 mg (10%) 的 709, 为淡棕色固体。用甲醇/二氯甲烷/己烷重结晶得到纯的产物, 为白色粉末。M. p. 182-184℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H-6), 6.18-6.16 (m, 1H, H-3'), 5.83-5.81 (m, 1H, H-2'), 5.73-5.71 (m, 1H, H-1'), 4.23-4.21, 4.08-4.04 (2m, 2H, CH_2O), 3.14-3.12 (m, 1H, H-4'), 2.92-2.84 (m, 1H, H-6'a), 2.08 (s, 3H, CH_3), 1.41-1.35 (m, 1H, H-6'b).

顺-(±)-碳环- N^4 , 5'-O-二乙酰基-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧-5-氟胞苷 (710)

以类似于 709 的方法, 由 708 (560 mg, 2.828 mmol) 和 N^4 -乙酰基-5-氟胞嘧啶 (726 mg, 4.24 mmol) 制备标题化合物 710: 560 mg (64%, 棕色油状物)。将此粗品不经纯化直接用于下步反应。

顺-(±)-碳环- N^4 , 5'-O-二乙酰基-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧胞苷 (711)

以类似于 709 的方法, 由 708 (272mg, 1.37 mmol) 和 N^4 -乙酰基胞嘧啶 (316 mg, 2.06mmol) 制备标题化合物 711: 108 mg (27%) 的白色粉末。M. p. 169.5-171.5℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.80 (bs, 1H, NH), 7.72 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-6), 7.39 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-5), 6.19-6.17 (m, 1H, H-3'), 5.86-5.81 (m, 1H, H-2'), 5.77-5.75 (m, 1H, H-1'), 4.17-4.13, 4.07-4.02 (2m, 2H, CH_2O), 3.18-

3, 10 (m, 1H, H-4'), 2.96-2.88 (m, 1H, H-6'a), 2.27, 2.06 (2s, 6H, 2 CH₃), 1.43-1.37 (m, 1H, H-6'b). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.8 (s, 2 C=O), 162.0 (s, C-4), 155.6 (s, C-2), 145.3 (d, C-6), 139.2 (d, C-3'), 130.0 (d, C-2'), 96.8 (d, C-5), 66.3 (t, C-5'), 62.8 (d, C-1'), 44.2 (d, C-4'), 34.7 (t, C-6'), 25.0, 20.9 (2q, 2 CH₃).

顺-(±)-碳环-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧-5-氟胞苷 (712)

向装有 709 (33 mg, 0.12 mmol) 的烧瓶中加入 NaOMe (0.5 M 的甲醇溶液, 0.5 mL)。将此反应溶液室温搅拌 1 小时, 并真空蒸发溶剂。将此残余物通过闪式色谱在硅胶上用存在于二氯甲烷中的 5-10% 甲醇洗脱纯化得到 17 mg (61%) 的 712, 为淡棕色固体。用甲醇/二氯甲烷/己烷重结晶得到纯产物, 为白色粉末。M. p. 205.5-206.0 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.66 (d, J = 6.0 Hz, 1H, H-6), 7.60, 7.40 (2bs, 2H, NH₂), 6.06-6.05 (m, 1H, H-3'), 5.68-5.65 (m, 1H, H-2'), 5.53-5.50 (m, 1H, H-1'), 4.77-4.75 (m, 1H, H-4'), 3.50-3.48, 3.41-3.37 (2m, 2H, H-5'), 2.79-2.77 (m, 1H, H-6'a), 1.34-1.27 (m, 1H, H-6'b). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ 157.0 (d, J_{C-F} = 11.9 Hz, C-4), 154.0 (s, C-2), 139.2 (d, C-3'), 135.8 (d, J_{C-F} = 241.3 Hz, C-5), 130.2 (d, C-2'), 126.8 (d, J_{C-F} = 11.8 Hz, C-6), 63.5 (t, C-5'), 61.3 (d, C-1'), 47.2 (d, C-4), 33.3 (t, C-6'). MS (FAB) m/e 226 (MH⁺). 元素分析 (C₁₀H₁₂FN₃O₂) 理论值 C 53.33, H 5.37, N 18.66; 实测值 C 53.10, H 5.40, N 18.44. 类似于上述方法, 由 710 (750 mg, 2.42 mmol) 还制备了化合物 712: 320 mg (59%, 白色粉末)。

顺-(±)-碳环-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧胞苷 (713)

以类似于制备 712 的方法, 由化合物 711 (75 mg, 0.257 mmol) 制备标题化合物 713: 48mg (90%, 白色固体)。M. p. 200-201 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.40 (d, J=7.2 Hz, 1H, H-6), 7.03, 6.95 (2bs, 2H, NH₂), 6.07-6.05 (m, 1H, H-3'), 5.67 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H-5), 5.65-5.64 (m, 1H, H-2'), 5.55-5.52 (m, 1H, H-1'), 4.71-4.68 (m, 1H, H-4'), 3.43-3.36 (m, 2H, H-5'), 2.78-2.76 (m, 1H, H-6'a), 1.24-1.18 (m, 1H, H-6'b). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ 165.5 (s, C-4), 155.8 (s, C-2), 142.2 (d, C-6), 138.6 (d, C-3'), 130.5 (d, C-2'), 93.7 (d, C-5), 63.9 (t, C-5'), 60.8 (d, C-1'), 47.3

(d, C-4'), 34.0(t, C-6'). MS(FAB) m/e 208(MH^+). 元素分析($C_{10}H_{13}N_3O_2$) 理论值 D 57.96, H 6.32, N 20.28; 实测值 C 57.35, H 6.27, N 20.02. HRMS(FAB) 理论值($C_{10}H_{14}N_3O_2$): 208.1086; 实测值 208.1088.

顺-(±)-碳环-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧-5-氟胞苷 5'-三磷酸, 三乙基氢铵盐 (714)

向 712 (10 mg) 的无水 DMF (0.3 mL) 和吡啶 (0.1 mL) 溶液中加入 2-氯-4H-1, 3, 2-苯并二氧杂 phosphorin-4-酮的 1M 无水 1, 4-二噁烷 (0.05 mL) 溶液。将此反应室温下搅拌 15 分钟。然后, 依次加入焦磷酸- Bu_3N 的 1M 无水 DMF (0.12 mL) 溶液和 Bu_3N (0.05 mL)。室温下再搅拌 15 分钟后, 向上述溶液中滴加 I_2/H_2O /吡啶/THF 的溶液直到碘的颜色不褪 (约 0.5 mL), 然后将此混合物真空蒸发浓缩。将此残余物溶解于水 (2 mL) 中, 用二氯甲烷 (3×1 mL) 洗涤, 过滤, 并通过 FPLC 纯化 (柱: HiLoad 26/10 Q Sepharose Fast Flow; 缓冲液 A: 0.01 M Et_3NHCO_3 ; 缓冲液 B: 0.7 M Et_3NHCO_3 ; 流速: 10 mL/分钟; 梯度: 将 B 从开始时的 0% 至 4 分钟时的 10%, 在 64 分钟时增加到 100%)。收集并将适当的馏份冻干得到 714, 为无色浆状物。HPLC [柱: 100 x 4.6 mm Rainin Hydropore SAX 离子交换; 缓冲液 A: 10 mM $NH_4H_2PO_4$ 在 10% 甲醇/ H_2O (pH 5.5) 中; 缓冲液 B: 125 mM $NH_4H_2PO_4$ 在 10% MeOH/ H_2O (pH 5.5) 中; 流速: 1.0 mL/min; 梯度: 将 B 从开始时 0% 增加至 25 分钟时的 100%], 滞留时间: 11.9 分钟。MS (FAB) m/e 464 ($[M-H]^+$)。

顺-(±)-碳环-2', 3'-二脱氢-2', 3'-二脱氧胞苷 5'-磷酸盐 (715)

以类似于制备 714 的方法, 由 713 制备标题化合物 715。HPLC (条件同上) 滞留时间: 12.1 分钟。MS (FAB) m/e 446 ($[M-H]^+$)。

(±)-羧基-D4FC-三磷酸盐对 HIV-1 逆转录酶的抑制作用

用 $r(I)_n \cdot (dC)_{12-18}$ 均聚物模板引物 (Pharmacia, Piscataway, NJ) 和 HIV-1 杂二聚物 p66/51 逆转录酶 (RT, Biotechnology General, Rehovot, Israel)。标准反应混合物 (100 μ l) 含 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 mM KCl, 2 mM $MgCl_2$, 0.05 单位/ml $r(I)_n \cdot (dC)_{12-18}$, 5 mM DTT, 100 μ g/ml 牛血清白蛋白和 1μ M 3H -dCTP (2 Ci/mmol)。将 3TCTP (0.001-50 μ M) 作为阳性对照。将化合物在 37°C 下在反应混合物中与 1 单位 HIV-1 RT 孵育一小时。加入等体积的冷 10% TCA/0.05% 焦磷酸钠停止该反应并在 4°C 下孵育 30 分钟。用 Packard 手动收获仪 (Meriden, CT)

将沉淀的核酸收集在玻璃纤维过滤纸上。用 Packard 9600 Direct Beta 计数器测定放射标记吸收的每分钟计数 (cpm)。

IV. 抗 HIV 活性

在一个实施方案中, 所公开的化合物或其药用衍生物或盐或含这些化合物的药剂用于预防和治疗 HIV 感染及其相关疾病, 如 AIDS 相关综合征 (ARC)、持续性泛化淋巴节病 (PGL)、AIDS 相关神经疾病、抗 HIV 抗体阳性和 HIV 阳性的病症、卡波济氏肉瘤、血小板减少性紫癜和机会性感染。此外, 这些化合物或制剂可以预防性使用以防止或延迟抗 HIV 抗体或 HIV 抗原阳性或已接触了 HIV 的个体的临床疾病的恶化。

核苷抑制 HIV 的能力可以通过多种实验技术检测。以下详述的技术之一是检测对被 HIV-1 (株 LAV) 感染的、用植物凝集素 (PHA) 刺激的人外周血单核 (PBM) 细胞中病毒复制的抑制。通过检测病毒编码的逆转录酶来测定所产生病毒的量。所产生的酶的量与所产生病毒的量成比例。

抗病毒和细胞毒检测:

如前所述在人外周血单核 (PBM) 细胞中测定这些化合物的抗 HIV-1 活性 (Schinazi, R. F.; McMillan, A.; Cannon, D.; Mathis, R.; Lloyd, R. M. Jr.; Peck, A.; Sonimadossi, J.-P.; St. Clair, M.; Wilson, J.; Furman, P. A.; Painter, G.; Choi, W.-B.; Liotta, D. C. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992, 36, 2423; Schinazi, R. F.; Sommadossi, J.-P.; Saalman, V.; Cannon, D.; Xie, M.-Y.; Hart, G.; Smith, G.; Hahn, E. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990, 34, 1061)。在灭菌的 DMSO 中制备这些化合物的贮存液 (20-40 mM), 然后在完全介质中稀释为所需的浓度。在水中制备 3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷 (AZT) 贮存液。用原形 HIV-1_{LAI} 以 0.01 的多重性感染细胞。将由细胞上清液获得的病毒在感染后第 6 天通过逆转录酶实验用聚 (rA)_n · 寡 (dT)₁₂₋₁₈ 作为模板引物定量测定。在稀溶液 (<0.1%) 中 DMSO 的存在对病毒的产量应没有影响。可以在人 PBM、CEM 和 Vero 细胞中评价这些化合物的毒性。用 Chou 和 Talalay 描述的半数有效方法 (*Adv. Enzyme Regul.* 1984, 22, 27) 由浓度-效果曲线获得抗病毒 EC₅₀ 和细胞毒性 IC₅₀。

将得自乙型肝炎和 HIV-1 血清阴性的健康供者的、已存活三天的植物凝集素刺激的 PBM 细胞 (10⁶ 细胞/ml) 用 HIV-1 (株 LAV) 以浓度约

百倍于 50%组织培养感染剂量 (TICD 50) 每毫升感染, 并在不同浓度的抗病毒化合物存在或不存在下培养。

感染约 1 小时后, 将含被测化合物 (浓度是在介质中最终浓度的 2 倍) 或不含化合物的介质加入到烧瓶 (5ml; 最终体积 10ml)。用 AZT 作为阳性对照。

让细胞接触病毒 (约 2×10^5 dpm/ml, 通过逆转录酶实验检测) 并再置于二氧化碳孵育箱中。HIV-1 (株 LAV) 得自 Center for Disease Control, Atlanta, Georgia. 用于培养 PBM 细胞、收获病毒并测定逆转录酶活性的方法描述于 McDougal 等 (J. Immun. Meth. 76, 171-183, 1985) 和 Spira 等 (J. Clin. Meth. 25, 97-99, 1987), 不同的是二性霉素 B 不包括在介质中 (见 Schinazi 等, Antimicrob. Agents Chemother, 32, 1784-1787 (1988); Id., 34: 1061-1067 (1990))。

在第 6 天, 将细胞和上清液转移至 15ml 试管并在约 900g 离心 10 分钟。移出 5ml 上清液并通过在 40000 rpm 离心 (Beckman 70.1 Ti 离心机) 30 分钟将病毒浓缩。处理溶解的病毒沉淀物以检测逆转录酶的浓度。结果以 dpm/ml 的抽样上清液表示。由上清液 (1ml) 获得的较小量的病毒还可以通过在溶解前离心浓缩并检测逆转录酶的浓度。

半数有效 (EC_{50}) 浓度通过半数有效方法 (Antimicrob. Agents Chemother, 30, 491-498 (1986) 检测。简言之, 如从检测逆转录酶中测定的, 将病毒的抑制百分率对化合物的微摩尔浓度作图。 EC_{50} 是病毒生长抑制 50%时化合物的浓度。

在与上述抗病毒实验类似的条件, 在药物存在或不存在下, 可以培养促细胞分裂剂刺激的未感染人 PBM 细胞 (3.8×10^5 细胞/ml)。6 天后用血细胞计数器并用台盼蓝排除法计算细胞, 如 Schinazi 等, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 22 (3), 499 (1982) 所述。 IC_{50} 是正常细胞生长被抑制 50%时化合物的浓度。

表 7 提供了所选化合物的抗 HIV 活性数据。用此实验, 测定了 ($\pm$) -碳环-D4FC-TP (2', 3'-不饱和-5-氟胞苷) 的 EC_{50} 为 $0.40\mu M$, 而 ($\pm$) -碳环-D4C-TP (2', 3'-不饱和胞苷) 的 EC_{50} 为 $0.38\mu M$ 。

V. 抗乙型肝炎活性

按照以下详述的方法可以评价活性化合物抑制 2.2.15 细胞培养物 (用肝炎病毒颗粒转化的 HepG2 细胞) 中抑制肝炎病毒生长的能力。

在此培养系统中检测抗病毒作用以及分析 HBV DNA 的概述和详述已公开 (Korba 和 Milman, 1991, Antiviral Res, 15: 217)。抗病毒评价实验最好对细胞独立的两个阶段进行。在实验板中的所有孔以相同密度在相同的时间接种。

由于细胞内和细胞外 HBV DNA 的遗传变异, 只有抑制大于未处理细胞中 HBV DNA 形式的平均水平的 3.5 倍 (对于 HBV 病毒颗粒 DNA) 或 3.0 倍 (对于 HBV DNA 复制中间体) 时, 才认为具有统计学显著性 ($P < 0.05$)。用在每个细胞 DNA 制剂中整合 HBV DNA 的浓度 (在这些实验中以每个细胞计其是个常数) 计算细胞内 HBV DNA 形式的浓度, 以保证在分离的样本之间细胞 DNA 的等量。

在未处理细胞中细胞外 HBV 病毒颗粒 DNA 的典型值为 50 至 150pg/ml 培养基 (平均约 76pg/ml)。在未处理细胞中细胞内 HBV DNA 复制中间体内为 50 至 100 μ g/pg 细胞 DNA (平均约 74pg/ μ g 细胞 DNA)。总之, 将细胞内 HBV 病毒颗粒 DNA 浓度的抑制而言, 由于用抗病毒化合物治疗, 因而对细胞内 HBV DNA 浓度的抑制不显著, 且发生得很慢 (Korba 和 Milman, 1991, Antiviral Res., 15: 217)。

这些实验中可以进行杂交分析的方式产生等同于约 1.0pg 的细胞内 HBV DNA 至 2-3 染色体拷贝每个细胞和 1.0pg/ml 的细胞内 HBV DNA 至 3×10^5 病毒颗粒/ml。

进行毒性分析以评价任何观察到的抗病毒作用是否由于对细胞活力的总作用。本文中所用方法是检测中性红染料 (标准的并广泛用于在多种病毒宿主系统包括 HSV 和 HIV 中检测细胞活力物质) 的摄入。毒性分析在 96 孔平底培养板中进行。用于毒性分析的细胞用与如下所述抗病毒评价相同的方案培养并用试验化合物处理。每个化合物检测 4 个浓度, 每个浓度在三份培养物 (孔 A、B 和 C) 中进行。用对中性红染料的吸收测定毒性水平。将内在的染料在 510nm (A_{sin}) 的吸收值用来定量分析。该数值以 9 个独立培养物中平均 A_{sin} 值占保持在与被测化合物相同的 96 孔板上的未处理细胞的百分率表示。

VI. 抗丙型肝炎活性

通过抑制 HCV 聚合酶, 通过抑制复制循环中需要的其它酶或通过其它已知方法可以显示出化合物具有抗丙型肝炎活性。已公开了多种测定这些活性的方法。

WO 97/12033, 申请于 1996 年 9 月 27 日, 由 Emory University 申请, Iisting C. Hagedom 和 A. Reinoldus 是发明人, 要求 U.S.S.N. 60/004, 383 (1995 年 9 月申请) 的优先权, 描述了可以用于评价本发明化合物活性的 HCV 聚合酶检测。此申请和发明单独属于 Triangle Pharmaceuticals, Inc., Durham, North Carolina. 另一种 HCV 聚合酶检测法已由 Bartholomeusz 等报告, “用克隆 HCV 非结构蛋白进行的丙肝病毒 (HCV) RNA 聚合酶检测”; Antiviral Therapy 1996: 1 (Supp 4) 18-24.

VI. 治疗异常细胞增殖

在可选择的实施方案中, 这些化合物用来治疗异常细胞增殖。通过常规筛选实验 (如由 National Cancer Institute 资助进行的), 或用任何其它已知筛选方法 (例如 WO 96/07413 所述的) 可以评价此化合物的活性。

按照以下 CEM 细胞或其它肿瘤细胞系检测法中的方法, 可以容易地评价化合物的抗癌活性的程度。CEM 细胞为人淋巴瘤细胞 (一种 T-成淋巴细胞系, 可得自 ATCC, Rockville, MD)。化合物对 CEM 细胞的毒性为认识该化合物对肿瘤的活性提供了有用的信息。该毒性以 IC_{50} (μM) 检测。 IC_{50} 是指抑制培养基中 50% 肿瘤细胞生长的被测化合物浓度。 IC_{50} 越低, 作为抗肿瘤剂该化合物就越具活性。总之, 2'-氟代核苷表现出了抗肿瘤活性并可以用于治疗细胞的异常增殖, 如果其浓度小于 $50\mu M$ 时在 CEM 或其它生命力顽强的肿瘤细胞系中表现毒性, 该浓度更优选小于 $10\mu M$, 首选小于 $1\mu M$ 。药物溶液, 包括作为阳性对照的放线菌酮, 以 2 倍于最终浓度, 分三份置于 $50\mu l$ 生长培养基中, 并让其在 $37^{\circ}C$ 下在 5% 二氧化碳孵育箱中平衡。在 $50\mu l$ 生长培养基中加入对数期细胞至最终浓度 2.5×10^3 (CEM 和 SK-MEL-28), 5×10^3 (MMAN, MDA-MB-435s, SKMES-1, DU-145, LNCap), 1×10^4 (PC-3, MCF-7) 细胞/孔并在 $37^{\circ}C$ 下在 5% 二氧化碳气氛下孵育 3 (DU-145, PC-3, MMAN), 4 (MCF-7, SK-MEL-28, CEM), 或 5 (SK-MES-1, MDA-MB-435s, LNCap) 天。对照孔包括单独的介质 (空白) 和不含药物的细胞加介质。生长期后, 将 $15\mu l$ 的 Cell Titer 96 试剂盒检测染料溶液 (Promega, Madison, WI) 加入到每个孔中并将此板在 $37^{\circ}C$ 下在 5% 二氧化碳孵育箱中孵育。将 Promega Cell Titer 96 试剂盒检测停止溶液加入到每个孔中并在此孵育箱中孵育 4-8 小时。用

Biotek Biokinetics 板读数仪 (Biotek, Winooski, VT) 在 570nm 读取吸收值, 用只有介质的孔作空白对照。与未处理对照比较计算生长的平均抑制百分率。通过 Chou 和 Talalay 的方法计算 IC_{50} 、 IC_{90} 、斜率和 r 值。Chou T-C, Talalay P. 定量分析量效关系: 多种药物或酶抑制剂的协同作用。Adv Enzyme Regul 1984, 22: 27-55。

可以使用此活性化合物特别治疗异常细胞增殖, 并特别是细胞过度增殖。异常细胞增殖的实例包括但不限于: 良性瘤, 其包括但不限于乳头状瘤, 腺瘤, firoma, 软骨瘤, 骨瘤, 脂肪瘤, 血管瘤, 淋巴管瘤, 平滑肌瘤, 横纹肌瘤, 脑脊膜瘤, 神经瘤, 神经节瘤, 痣, 嗜铬细胞瘤, 神经鞘瘤, 纤维腺瘤, 畸胎瘤, 囊状痣, 肉芽瘤 (granulosatheca), 布伦纳氏瘤, 男性细胞瘤, 门细胞瘤, 性索间质, 间质细胞瘤和 thyoma 以及在血管组织斑发展过程中的平滑肌细胞的增殖; 恶性肿瘤 (癌症), 包括但不限于癌, 包括肾细胞癌, 前列腺癌, 膀胱癌和腺癌, 纤维肉瘤, 软骨肉瘤, 骨肉瘤, 脂肉瘤, 血管肉瘤, 淋巴管肉瘤, 平滑肌肉瘤, 横纹肌肉瘤, 髓细胞白血病, 红白血病, 多发性骨髓瘤, 神经胶质瘤, 脑膜瘤, thyoma, 叶状囊性肉瘤, 肾胚细胞瘤, 畸胎瘤绒毛膜癌, 皮肤上的 T 细胞淋巴瘤 (CTCL), 原发于皮肤的皮肤肿瘤 (例如, 基底细胞瘤, 鳞状细胞瘤, 黑素瘤和博温氏病), 乳腺癌和其它浸润皮肤的肿瘤, 卡波济氏瘤及粘膜组织恶化前的和恶性疾病, 包括口腔、膀胱和直肠疾病; 肿瘤发生前的损伤, 真菌霉菌病, 牛皮癣, 皮肤肌炎, 类风湿病关节炎, 病毒 (例如, 疣, 单纯疱疹和尖锐湿疣), 传染性软疣, 女性生殖道恶化前的和恶性疾病 (子宫颈, 阴道和外阴)。这些化合物还可以用于引流。

在此实施方案中, 活性化合物或其药用盐以治疗有效量给药, 以降低靶细胞的过度增殖。可以将此活性化合物修饰成包括靶向部分, 其将此化合物浓集在活性位点。靶向部分可以包括结合靶细胞表面蛋白质的抗体或抗体片断, 包括但不限于表皮生长因子受体 (EGFR), 受体的 c-Esb-2 系列受体和血管内皮生长因子 (VEGF)。

VII. 药物组合物

通过给患者使用存在于药用载体或稀释剂中的有效量的活性化合物或其药用衍生物或其盐, 可以治疗患有本文中描述的患任何疾病的病人。这些活性物质可以以液体或固体形式通过任何适当的途径给药, 例

如，口服、非肠道、静脉内、真皮内，皮下或局部给药。对于所有上述病症，此化合物优选的剂量为约 1 至 50mg/kg、优选 1 至 20mg/kg 体重每天，更概括地说是 0.1 至约 100mg 每千克体重/天。药用衍生物的有效量可以根据所要使用的母体核苷的重量来计算。如果此衍生物本身具有活性，有效量可以如上所述用衍生物的重量估算，或通过本领域技术人员已知的其它途径评估。

此化合物以任何适宜的剂型单元方便地给药，包括但不限于每单元剂型含 7 至 3000mg，优选 70 至 1400mg 活性组份的。口服剂量为 50-1000mg 一般是便利的。

理想中活性组份的使用应达到约 0.2 至 70pM，优选约 1.0 至 10 μ M 的活性化合物的峰值血浆浓度。例如，可以通过静脉注射活性化合物的 0.1 至 5% 溶液（选择性地存在于生理盐水中）或通过活性化合物的快速浓注达到此目的。

在药物组合物中活性化合物的浓度依赖于药物的吸收、灭活和排泄速度以及其它本领域技术人员已知的因素。注意此剂量值还会随要减轻的病症的严重性变化。还应理解对于任何特定的对象，应按照此个体的需要和使用或建议使用此组合物的人的职业判断，来在一定时间内对特定的给药方案进行调整，而本文中给出的浓度范围只是举例而非旨在限制要求保护的组合物的范围或实施。该活性组份可以一次使用，或可以分为一些较小的剂量以可变的时间间隔给药。

此活性化合物的优选给药方式是口服。口服组合物一般含有惰性稀释剂或可食用的载体。它们可以包封在明胶胶囊或压制为片剂。为了口服治疗给药目的，此活性化合物可以与赋形剂掺混并以片剂、锭剂或胶囊的形式使用。药用粘合剂和/或辅料也可作为此组合物的一部分。

片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可以含有任何下列组份或性质类似的化合物：粘合剂如微晶纤维素、黄耆胶或明胶；赋形剂如淀粉或乳糖，崩解剂如藻酸、Primogel 或玉米淀粉；润滑剂如硬脂酸镁或 Sterotes；助流剂如胶态二氧化硅；甜味剂如蔗糖或糖精；或矫味剂如薄荷脑、水杨酸甲酯或桔味香料。当此单元剂型是胶囊时，除上述物质外，其可以含有液体载体如脂肪油。此外，单元剂型中可以含有多种其它物质，其修饰此单元剂型的物理形式，例如，糖、紫胶或其它肠溶试剂。

此化合物可以作为酏剂、混悬剂、糖浆、糯米纸囊剂、口胶等的一

种成分给药。除活性化合物外糖浆可以含有蔗糖作为甜味剂和某些防腐剂、染料和着色剂及矫味剂。

此化合物或其药用衍生物或盐还可以与不损害所需作用的其它活性物质混和，或与增补所需作用的物质混和，例如抗生素、抗真菌、抗炎药或其它抗病毒药，包括其它核苷化合物。用于非肠道、真皮内、皮下或局部给药的溶液剂或混悬剂可以含有下列组份：灭菌稀释剂如注射用水、盐水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂如苜醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂如乙二胺四乙酸；缓冲剂如乙酸盐、枸橼酸盐或磷酸盐以及渗透压调节剂如氯化钠或右旋糖。非肠道制剂可以包封在安瓿、一次性注射器或玻璃或塑料制的多剂量小瓶中。

如果静脉内给药，优选载体是生理盐水或磷酸盐缓冲盐水（PBS）。

在优选的实施方案中，活性化合物与保护此化合物以防止其在体内的快速消除的载体配制，如控释制剂，包括埋植剂和微囊给药系统。可以使用生物可降解的、生物相容的聚合物，例如，亚乙基乙烯基乙酸酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。制备这些制剂的方法对本领域技术人员来说是显而易见的。这些物质也可从 Alza Corporation 购买。

脂质体混悬剂（包括用抗病毒抗原的单克隆抗体靶向感染细胞的脂质体）也是优选的药用载体。它们可以按照本领域技术人员已知的方法制备，例如，美国专利 No. 4,522,811（将其整体引入作为参考）所述。例如，通过将适宜的脂（一种或多种）（如硬脂酰基磷酰基乙醇胺、硬脂酰基磷酰基胆碱、花生酰基磷脂酰基胆碱和胆固醇）溶解于无机溶剂，然后将此溶剂蒸发，在该容器的表面上留下干燥脂的薄膜，可以制备脂质体制剂。将活性化合物或其单磷酸盐、二磷酸盐和/或三磷酸盐衍生物的水溶液引入该容器中。然后，用手旋转此容器以让脂类物质从容器壁释出并分散脂类附聚物，于是形成脂质体混悬液。

参照优选的实施方案已对本发明进行了描述。基于本发明的上述描述，本发明的变化和修饰形式对本领域技术人员来说是显而易见的。