

申請日期	91.1.21.
案 號	91100893
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明
~~新~~ 型 專 利 說 明 書

一、發明 新 型 名稱	中 文	作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑之核苷衍生物
	英 文	NUCLEOSIDE DERIVATIVES AS INHIBITORS OF RNA-DEPENDENT RNA VIRAL POLYMERASE
二、發明 創 作 人	姓 名	1.史蒂芬 S. 卡洛爾 STEVEN S. CARROLL 2.馬爾康 馬寇斯 MALCOLM MACCOSS 3.大衛 B. 歐爾森 DAVID B. OLSEN 4.巴克里斯翰 巴特 BALKRISHEN BHAT
	國 籍	1.3.美國 U.S.A. 2.英國 UNITED KINGDOM 4.印度 INDIA
三、申請人	住、居所	1-3.美國新澤西州雷維市東林肯大道126號 126 EAST LINCOLN AVENUE, RAHWAY, NEW JERSEY 07065-0907, USA 4.美國加州卡斯本市法拉戴大道2292號 2292 FARADAY AVENUE, CARLSBAD, CALIFORNIA 92008, USA
	姓 名 (名 稱)	1.美國默克大藥廠 MERCK & CO., INC.
	國 籍	1.美國 U.S.A.
	住、居所 (事務所)	1.美國新澤西州雷維市東林肯大道126號 126 EAST LINCOLN AVENUE, RAHWAY, NEW JERSEY 07065-0907, USA
	代 表 人 姓 名	1.約瑟. 夫. 迪普瑞瑪 JOSEPH F. DIPRIMA

申請日期	
案 號	
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書		
一、發明名稱	中 文	
	英 文	
二、發明人	姓 名	5.尼爾利瑪 巴特 NEELIMA BHAT 6.菲利普 丹 庫克 PHILLIP DAN COOK 7.安妮 B. 艾爾洛普 ANNE B. ELDRUP 8.桑哈 P. 普拉卡許 THAZHA P. PRAKASH
	國 籍	5.8.印度 INDIA 6.美國 U.S.A. 7.丹麥 DENMARK
三、申請人	住、居所	5-8.美國加州卡斯本市法拉戴大道2292號 2292 FARADAY AVENUE, CARLSBAD, CALIFORNIA 92008, USA
	姓 名 (名 稱)	2.美商艾西思製藥公司 ISIS PHARMACEUTICALS, INC.
	國 籍	2.美國 U.S.A.
	住、居所 (事務所)	2.美國加州卡斯本市法拉戴大道2292號 2292 FARADAY AVENUE, CARLSBAD, CALIFORNIA 92008, USA
	代 表 人 姓 名	2. B. 琳帕沙爾 B. LYNNE PARSHALL

裝
訂
線

申請日期	
案 號	
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書 新 型		
一、發明名稱 新 型	中 文	
	英 文	
二、發明人 創 作 人	姓 名	9.瑪露亞 普哈維克 MARIJA PRHAVC 10.宋全來 QUANLAI SONG
	國 籍	9.斯洛維尼亞 SLOVENIA 10.中國 PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA
	住、居所	9-10.美國加州卡斯本市法拉戴大道2292號 2292 FARADAY AVENUE, CARLSBAD, CALIFORNIA 92008, USA
三、申請人	姓 名 (名 稱)	
	國 籍	
	住、居所 (事務所)	
	代 表 人 姓 名	

B6

IPC分類：

☒有 ☐無主張優先權

，寄存號碼：

五、發明說明(1)

發明領域

本發明係有關核苷化合物及其特定衍生物，其合成，及其作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑之用途。本發明之化合物係RNA依賴性RNA病毒複製之抑制劑且對於治療RNA依賴性RNA病毒感染有用。他們作為C型肝炎病毒(HCV) NS5B聚合酶抑制劑，作為HCV複製抑制劑，及用於治療C型肝炎感染特別有用。

發明背景

C型肝炎病毒(HCV)感染係一重大之健康問題，其在相當數目之受感染個體導致慢性肝臟疾病，如肝硬化及肝細胞癌瘤，據估計佔世界人口之2-15%。根據美國疾病控制中心之估計，單在美國就有4.5百萬人受感染。根據世界衛生組織，全球有200百萬以上受感染的個體，且每年有至少3至4百萬人受到感染。一旦受到感染，約20%的人會清除該病毒，但其餘的人終其餘生潛伏HCV。百分之十到二十受到慢性感染的個體最終發展出破壞肝臟之肝硬化或癌症。該病毒性疾病藉由受污染之血液及血液製品，受污染之針頭，或性行為由非腸道途徑傳染且由受感染的母親或帶原之母親垂直傳染給其子代。目前對於HCV感染之治療限定於以重組干擾素- α 單獨或合併核苷類似物核糖病毒素(ribavirin)之免疫療法，其在臨床上的利益有限。此外，尚未建立HCV之疫苗。因此，有迫切需要改良有效對抗慢性HCV感染之治療劑。HCV感染之最新式治療頃經評論，並將以下出版物作為參考文獻：B.戴默克(Dymock)等人

五、發明說明(2)

，“治療C型肝炎病毒感染之新穎門徑”，抗病毒之化學&化學療法，11: 79-96 (2000)；H.羅森(Rosen)等人，“C型肝炎病毒：目前之瞭解及對於治療之未來遠景”，今日分子醫學，5: 393-399 (1999)；D.莫拉德波爾(Moradpour)等人，“目前之C型肝炎療法及其發展”，歐洲胃腸學及肝臟學期刊，11: 1189-1202 (1999)；R.巴頓史拉吉(Bartenschlager)“C型肝炎病毒特異性抗病毒療法之候選標的”，Intervirolgy，40: 378-393 (1997)；G.M.勞爾(Lauer)及B.D.渥克(Walker)，“C型肝炎病毒感染”，新英格蘭醫學期刊，345: 41-52 (2001)；B.W.戴默克(Dymock)，“浮現之C型肝炎病毒感染療法”，浮現之藥物，6: 13-42 (2001)；及C.克拉博(Crabb)，“哈德-旺(Hard-Won)氏有關C型肝炎之進步燃起之激勵”，科學：506-507 (2001)；其全部內容以參考文獻併入此處。

頃經採取不同的HCV治療門徑，其包括抑制病毒的絲胺酸蛋白酶(NS3蛋白酶)，解螺旋酶，及RNA依賴性RNA聚合酶(NS5B)，及發展疫苗。

HCV病毒粒子係經被膜之有意義股RNA病毒，其為具有約9600個鹼基之單一寡核糖核苷酸基因組序列，編碼一約3,010個胺基酸之多聚蛋白。該HCV基因蛋白質產物係由結構性蛋白質C，E1，及E2，及非結構性蛋白質NS2，NS3，NS4A及NS4B，及NS5A及NS5B所組成。咸信非結構性(NS)蛋白質提供病毒複製之催化機器。NS3蛋白酶釋放NS5B，其係來自多聚蛋白鏈之RNA依賴性RNA聚合酶

五、發明說明(3)

。HCV NS5B聚合酶係由單股病毒RNA供作HCV複製循環中之模板合成雙股RNA時所必需。因此，咸認為NS5B聚合酶係HCV複製複合體中之一必需組份[參閱K.艾西(Ishi)等人，“C型肝炎病毒NS5B蛋白質之表現：其RNA聚合酶活性及與RNA結合之特性描述”，肝臟學，29: 1227-1235 (1999)及V.洛曼(Lohmann)等人，“NS5B C型肝炎病毒之RNA依賴性RNA聚合酶之生化及動力學分析”，病毒學，249: 108-118 (1998)]。抑制HCV NS5B聚合酶防止雙股HCV RNA形成且因此構成發展HCV特異性抗病毒療法之吸引人的門徑。

現經本案申請人發現本發明核苷化合物及其特定衍生物係RNA依賴性RNA病毒複製(且特定言之HCV複製)之強力抑制劑。這些核苷化合物之5,-三磷酸鹽衍生物係RNA依賴性RNA病毒聚合酶之抑制劑且特定言之係HCV NS5B聚合酶之抑制劑。本發明之核苷化合物及其衍生物對於治療RNA依賴性RNA病毒感染(且特定言之HCV感染)有用。

因此，本發明之一個目的係為提供核苷化合物及其特定衍生物作為有用之RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑且特定言之作為有用之HCV NS5B聚合酶抑制劑。

本發明之另一目的係為提供核苷化合物及其特定衍生物作為有用之RNA依賴性RNA病毒複製抑制劑且特定言之作為有用之C型肝炎病毒複製抑制劑。

本發明之另一目的係為提供於治療RNA依賴性RNA病毒感染(且特定言之於治療HCV感染)有用之核苷化合物及其

五、發明說明(4)

特定衍生物。

本發明之另一目的係提供醫藥組合物，其包含本發明之核苷化合物聯合醫藥上可接受之載體。

本發明之另一目的係為提供醫藥組合物，其包含本發明之核苷化合物及其衍生物作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑之用途且特定言之作為HCV NS5B聚合酶抑制劑之用途。

本發明之另一目的係為提供醫藥組合物，其包含本發明之核苷化合物及其衍生物作為RNA依賴性RNA病毒複製抑制劑之用途且特定言之作為HCV複製抑制劑之用途。

本發明之另一目的係為提供醫藥組合物，其包含本發明之核苷化合物及其衍生物用於治療RNA依賴性病毒感染且特定言之用於治療HCV感染。

本發明之另一目的係為提供醫藥組合物，其包含本發明之核苷化合物及其衍生物組合其他對抗RNA依賴性RNA病毒且特定言之對抗HCV之活性劑。

本發明之另一目的係為提供抑制RNA依賴性RNA病毒聚合酶之方法且特定言之提供抑制HCV NS5B聚合酶之方法。

本發明之另一目的係為提供抑制RNA依賴性RNA病毒複製之方法且特定言之提供抑制HCV複製之方法。

本發明之另一目的係為提供治療RNA依賴性RNA病毒感染之方法且特定言之提供治療HCV感染之方法。

本發明之另一目的係為提供與其他對抗RNA依賴性RNA病毒之活性劑組合用於治療RNA依賴性RNA病毒感染之方

五、發明說明(5)

法，且特定言之與其他對抗HVC之活性劑組合用於治療HCV感染之方法。

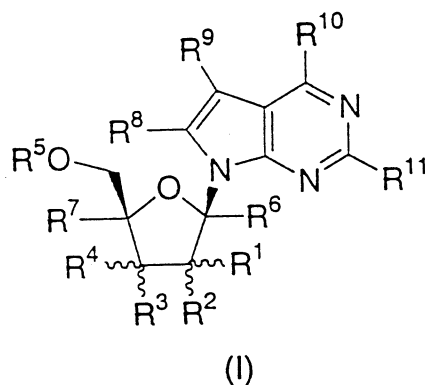
本發明之另一目的係為提供核苷化合物及其特定衍生物及其醫藥組合物用作抑制RNA依賴性RNA病毒複製及/或治療RNA依賴性病毒感染且特定言之用於抑制HCV複製及/或治療HCV感染之醫藥品。

本發明之另一目的係為提供本發明之核苷化合物及其特定衍生物及其醫藥組合物於製造用於抑制RNA依賴性RNA病毒複製及/或治療RNA依賴性病毒感染且特定言之用於抑制HCV複製及/或治療HCV感染之醫藥品上之用途。

本發明之上述及其他目的將以如下之詳細說明使其易於明白。

發明概要

本發明係有關如下指出之立體化學組態結構式I化合物：



或其在醫藥上可接受之鹽；

其中R¹係C₂₋₄烯基，C₂₋₄炔基，或C₁₋₄烷基，其中烷基係未經取代的或經以羥基，胺基，C₁₋₄烷氧基，C₁₋₄烷基硫，或一至三個氟原子取代的；

五、發明說明 (6)

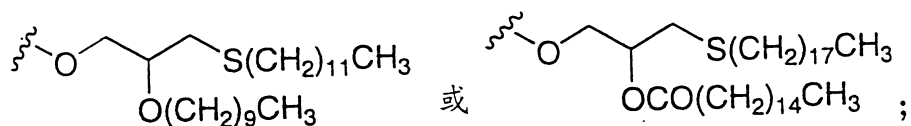
R^2 係氫，氟，羥基，氫硫基， C_{1-4} 烷氧基，或 C_{1-4} 烷基；
或 R^1 及 R^2 與其所附屬之碳原子一起形成3-至6-員飽和單環系統，其視情況地含有選自O，S，及 NC_{0-4} 烷基之雜原子；
 R^3 及 R^4 係各自獨立地選自由下列所組成之群：氫，氟基，疊氮基，鹵素，羥基，氫硫基，胺基， C_{1-4} 烷氧基， C_{2-4} 烯基， C_{2-4} 炔基，及 C_{1-4} 烷基，其中烷基係未經取代的或經以羥基，胺基， C_{1-4} 烷氧基， C_{1-4} 烷基硫，或一至三個氟原子取代的；

R^5 係氫， C_{1-10} 烷基羰基， $P_3O_9H_4$ ， $P_2O_6H_3$ ，或 $P(O)R^{13}R^{14}$ ；
 R^6 及 R^7 係各自獨立地為氫，甲基，羥基甲基，或氟甲基；
 R^8 係氫， C_{1-4} 烷基， C_{2-4} 炔基，鹵素，氟基，羧基， C_{1-4} 烷基氧羰基，疊氮基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基，羥基， C_{1-6} 烷氧基， C_{1-6} 烷基硫， C_{1-6} 烷基磺醯基，(C_{1-4} 烷基) $_{0-2}$ 胺基甲基，或 C_{4-6} 雜環烷基，未經取代的或經以獨立地選自由下列所組成之群之一至兩個基團取代：鹵素，羥基，胺基， C_{1-4} 烷基，及 C_{1-4} 烷氧基；

R^9 係氫，氟基，硝基， C_{1-3} 烷基， $NHCONH_2$ ， $CONR^{12}R^{12}$ ， $CSNR^{12}R^{12}$ ， $COOR^{12}$ ， $C(=NH)NH_2$ ，羥基， C_{1-3} 烷氧基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基，鹵素，(1,3-噁唑-2-基)，(1,3-賽唑-2-基)，或(咪唑-2-基)；其中烷基係未經取代的或經以獨立地選自由下列所組成之群之一至三個基團取代：鹵素，胺基，羥基，羧基，及 C_{1-3} 烷氧基；
 R^{10} 及 R^{11} 係各自獨立地為氫，羥基，鹵素， C_{1-4} 烷氧基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基， C_{3-6} 環烷基胺基

，二(C₃₋₆環烷基)胺基，或C₄₋₆雜環烷基，未經取代的或經以獨立地選自由下列所組成之群之一至兩個基團取代：鹵素，羥基，胺基，C₁₋₄烷基，及C₁₋₄烷氧基；

R^{13} 及 R^{14} 係各自獨立地為羥基， $OCH_2CH_2SC(=O)C_{1-4}$ 烷基， $OCH_2O(C=O)OC_{1-4}$ 烷基， $NHCHMeCO_2Me$ ， $OCH(C_{1-4}$ 烷基) $O(C=O)C_{1-4}$ 烷基，

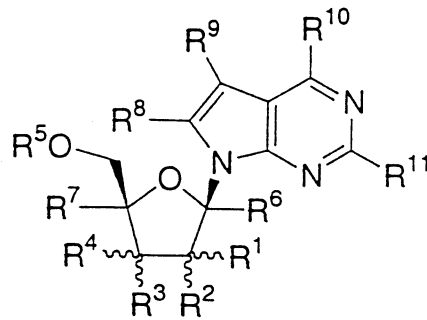


式I化合物作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑且特定言之作為HCV NS5B聚合酶抑制劑有用。他們亦係RNA依賴性RNA病毒複製之抑制劑且特定言之係HCV複製之抑制劑且對於治療RNA依賴性RNA病毒感染且特定言之用於治療HCV感染有用。

亦包含於本發明之含有該化合物之醫藥組合物係單獨使用或與其他對抗RNA依賴性RNA病毒(且特定言之對抗HCV)之活性劑組合，及抑制RNA依賴性RNA病毒複製及用於治療RNA依賴性RNA病毒感染之方法。

本發明係有關如下指出之立體化學組態結構式I化合物：

五、發明說明(8)



(I)

或其在醫藥上可接受之鹽；

其中 R^1 係 C_{2-4} 烯基， C_{2-4} 炔基，或 C_{1-4} 烷基，其中烷基係未經取代的或經以羥基，胺基， C_{1-4} 烷氧基， C_{1-4} 烷基硫，或一至三個氟原子取代的；

R^2 係氫，氟，羥基，氫硫基， C_{1-4} 烷氧基，或 C_{1-4} 烷基；或 R^1 及 R^2 與其所附屬之碳原子一起形成 3-至 6-員飽和單環系統，其視情況地含有選自 O，S，及 NC_{0-4} 烷基之雜原子；

R^3 及 R^4 係各自獨立地選自由下列所組成之群：氫，氟基，疊氮基，鹵素，羥基，氫硫基，胺基， C_{1-4} 烷氧基， C_{2-4} 烯基， C_{2-4} 炔基，及 C_{1-4} 烷基，其中烷基係未經取代的或經以羥基，胺基， C_{1-4} 烷氧基， C_{1-4} 烷基硫，或一至三個氟原子取代的；

R^5 係氫， C_{1-10} 烷基羰基， $P_3O_9H_4$ ， $P_2O_6H_3$ ，或 $P(O)R^{13}R^{14}$ ；

R^6 及 R^7 各自獨立地為氫，甲基，羥基甲基，或氟甲基；

R^8 係氫， C_{1-4} 烷基， C_{2-4} 炔基，鹵素，氟基，羧基， C_{1-4} 烷基氧羰基，疊氮基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基，羥基， C_{1-6} 烷氧基， C_{1-6} 烷基硫， C_{1-6} 烷基磺醯基，(C_{1-4} 烷基) $_{0-2}$ 胺基甲基，或 C_{4-6} 雜環烷基，未經取代的或經

五、發明說明(9)

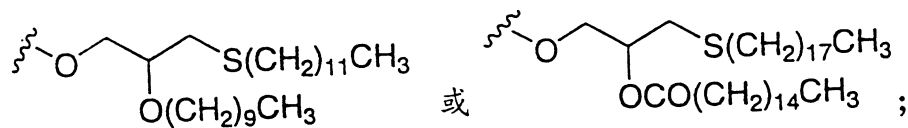
以獨立地選自由下列所組成之群之一至兩個基團取代：鹵素，羥基，胺基， C_{1-4} 烷基，及 C_{1-4} 烷氧基；

R^9 係氫，氰基，硝基， C_{1-3} 烷基， $NHCONH_2$ ， $CONR^{12}R^{12}$ ， $CSNR^{12}R^{12}$ ， $COOR^{12}$ ， $C(=NH)NH_2$ ，羥基， C_{1-3} 烷氧基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基，鹵素，(1,3-噁唑-2-基)，(1,3-賽唑-2-基)，或(咪唑-2-基)；其中烷基係未經取代的或經以獨立地選自由下列所組成之群之一至三個基團取代：鹵素，胺基，羥基，羧基，及 C_{1-3} 烷氧基；

R^{10} 及 R^{11} 係各自獨立地為氫，羥基，鹵素， C_{1-4} 烷氧基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基， C_{3-6} 環烷基胺基，二(C_{3-6} 環烷基)胺基，或 C_{4-6} 雜環烷基，未經取代的或經以獨立地選自由下列所組成之群之一至兩個基團取代：鹵素，羥基，胺基， C_{1-4} 烷基，及 C_{1-4} 烷氧基；

每個 R^{12} 係獨立地為氫或 C_{1-6} 烷基；且

R^{13} 及 R^{14} 各自獨立地為羥基， $OCH_2CH_2SC(=O)C_{1-4}$ 烷基， $OCH_2O(C=O)OC_{1-4}$ 烷基， $NHCHMeCO_2Me$ ， $OCH(C_{1-4} \text{ 烷基})O(C=O)C_{1-4}$ 烷基，



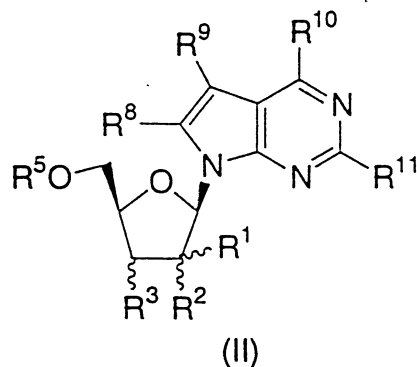
其限制條件為當 R^1 為 β -甲基及 R^4 為氫或 R^4 為 β -甲基且 R^1 為氫， R^2 及 R^3 為 α -羥基， R^{10} 為胺基，且 R^5 ， R^6 ， R^7 ， R^8 ，及 R^{11} 為氫時，則 R^9 不能為氰基或 $CONH_2$ 。

式I化合物作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑有用。他們亦係RNA依賴性RNA病毒複製之抑制劑且對於治療

五、發明說明 (10)

RNA依賴性RNA病毒感染有效。

結構式I化合物之一具體實施例係如下結構式II化合物：



或其在醫藥上可接受之鹽；

其中

R^1 係 C_{1-3} 烷基，其中烷基係未經取代的或經以羥基，胺基， C_{1-3} 烷氧基， C_{1-3} 烷基硫，或一至三個氟原子取代的；

R^2 係羥基，氟，或 C_{1-3} 烷氧基；

R^3 係氫，鹵素，羥基，胺基，或 C_{1-3} 烷氧基；

R^5 係氫， $P_3O_9H_4$ ， $P_2O_6H_3$ ，或 PO_3H_2 ；

R^8 係氫，胺基，或 C_{1-4} 烷基胺基；

R^9 係氫，氰基，甲基，鹵素，或 $CONH_2$ ；且

R^{10} 及 R^{11} 各自獨立地為氫，鹵素，羥基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基，或 C_{3-6} 環烷基胺基；

其限制條件為當 R^1 為 β -甲基， R^2 及 R^3 為 α -羥基， R^{10} 係胺基，且 R^5 ， R^8 ，及 R^{11} 為氫時，則 R^9 不能為氰基或 $CONH_2$ 。

結構式I之第二個具體實施例係結構式II化合物，其中：

R^1 係甲基，氟甲基，羥基甲基，二氟甲基，三氟甲基，或胺基甲基；

五、發明說明 (11)

R^2 係羥基，氟，或甲氧基；

R^3 係氫，氟，羥基，胺基，或甲氧基；

R^5 係氫或 $P_3O_9H_4$ ；

R^8 係氫或胺基；

R^9 係氫，氟基，甲基，鹵素，或 $CONH_2$ ；且

R^{10} 及 R^{11} 係各自獨立地為氫，氟羥基，或胺基；

其限制條件為當 R^1 為 β -甲基， R^2 及 R^3 為 β -羥基， R^{10} 為胺基，且 R^5 ， R^8 ，及 R^{11} 為氫時，則 R^9 不能為氟基或 $CONH_2$ 。

以下係作為 RNA 依賴性 RNA 病毒聚合酶抑制劑有用之本發明結構式 I 化合物之例證(但非限制性實例)：

4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

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

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

4-二甲基胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

4-環丙基胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

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

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

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

五、發明說明 (12)

啖，

4-胺基-5-甲基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯
[2,3-d]啖，

4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]啖
啖-5-羧酸，

4-胺基-5-溴-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]
啖，

4-胺基-5-氯-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]
啖，

4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]
啖，

2,4-二胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]
啖，

2-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]啖，

2-胺基-4-環丙基胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡
咯[2,3-d]啖，

2-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]啖
啖-4(3H)-酮，

4-胺基-7-(2-C-乙基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]啖，

4-胺基-7-(2-C,2-O-二甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-
d]啖，

7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]啖-4(3H)-
酮，

2-胺基-5-甲基-7-(2-C,2-O-二甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡

五、發明說明 (13)

咯 [2,3-d] 嘧啶 -4(3H)-酮，

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

4-胺基 -7-(3-去氧 -2-C-甲基 - β -D-呋喃阿拉伯糖基) -7H-吡咯
[2,3-d] -嘧啶，

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

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

4-胺基 -7-(3-C-甲基 - β -D-呋喃木糖基) -7H-吡咯 [2,3-d] 嘧啶，

4-胺基 -7-(2,4-二-C-甲基 - β -D-呋喃核糖基) -7H-吡咯 [2,3-d]
嘧啶，及

4-胺基 -7-(3-去氧 -3-氟 -2-C-甲基 - β -D-呋喃核糖基) -7H-吡
咯 [2,3-d] 嘧啶；

及相對應之 5'-三磷酸鹽；

或其在醫藥上可接受之鹽。

本發明之進一步例證係選自由下列化合物所組成之群：

4-胺基 -7-(2-C-甲基 - β -D-呋喃阿拉伯糖基) -7H-吡咯 [2,3-d]
嘧啶，

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

4-胺基 -7-(2-C-氟甲基 - β -D-呋喃核糖基) -7H-吡咯 [2,3-d] 嘧
啶，

4-胺基 -5-甲基 -7-(2-C-甲基 - β -D-呋喃核糖基) -7H-吡咯
[2,3-d] 嘧啶，

4-胺基 -5-溴 -7-(2-C-甲基 - β -D-呋喃核糖基) -7H-吡咯 [2,3-d]

五、發明說明 (14)

嘧啶，

4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]

嘧啶，

4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]

嘧啶，及

4-胺基-7-(2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

及相對應之5'-三磷酸鹽；

或其在醫藥上可接受之鹽。

在本發明之一具體實施例中，本發明之核苷化合物作為有意義單股RNA依賴性RNA病毒聚合酶之抑制劑，有意義單股RNA依賴性RNA病毒複製之抑制劑，及/或對於治療有意義單股RNA依賴性RNA病毒感染有用。在此具體實施例之一分類中，該有意義單股RNA依賴性RNA病毒係黃熱病病毒或細小核糖核酸病毒。在此分類之一亞分類中，該細小核糖核酸病毒係鼻病毒，脊髓灰質炎病毒，或A型肝炎病毒。在此分類之第二個亞分類中，該黃熱病病毒係選自由下列所組成之群：C型肝炎病毒，黃熱病毒，登革熱病毒，西尼羅(West Nile)病毒，日本腦炎病毒，班日(Banji)病毒，及牛病毒性腹瀉病毒(BVDV)在此亞分類之一亞分類中，該黃熱病病毒係C型肝炎病毒。

本發明另一方面係有關一種抑制RNA依賴性RNA病毒聚合酶之方法，一種抑制RNA依賴性RNA病毒複製之方法，及/或一種在對其有需要之哺乳類動物治療RNA依賴性

五、發明說明 (15)

RNA病毒感染之方法，其包含投用治療有效劑量之結構式I化合物予該哺乳類動物。

在本發明此方面之一具體實施例中，該RNA依賴性RNA病毒聚合酶係一有意義單股RNA依賴性RNA病毒聚合酶。在此具體實施例之一分類中，該有意義單股RNA依賴性RNA病毒聚合酶係一黃熱病病毒聚合酶或一細小核糖核酸病毒聚合酶。在此分類之一亞分類中，該細小核糖核酸病毒聚合酶係鼻病毒聚合酶，脊髓灰質炎病毒聚合酶，或A型肝炎病毒聚合酶。在此分類之第二個亞分類中，該黃熱病病毒聚合酶係選自由下列所組成之群：C型肝炎病毒聚合酶，黃熱病毒聚合酶，登革熱病毒聚合酶，西尼羅(West Nile)病毒聚合酶，日本腦炎病毒聚合酶，班日(Banji)病毒聚合酶，及牛病毒性腹瀉病毒(BVDV)聚合酶。在此亞分類之一亞分類中，該黃熱病病毒聚合酶係C型肝炎病毒聚合酶。

在本發明此方面第二個具體實施例中，該RNA依賴性RNA病毒複製係一種有意義單股RNA依賴性RNA病毒複製。在此具體實施例之一分類中，該有意義單股RNA依賴性RNA病毒複製係黃熱病病毒複製或細小核糖核酸病毒複製。在此分類之一亞分類中，該細小核糖核酸病毒複製係鼻病毒複製，脊髓灰質炎病毒複製，或A型肝炎病毒複製。在此分類之第二個亞分類中，該黃熱病病毒複製係選自由下列所組成之群：C型肝炎病毒複製，黃熱病毒複製，登革熱病毒複製，西尼羅病毒複製，日本腦炎病毒複製，班

五、發明說明 (16)

日病毒複製，及牛病毒性腹瀉病毒複製。在此亞分類之一亞分類中，該黃熱病病毒複製係C型肝炎病毒複製。

在本發明此方面第三個具體實施例中，該RNA依賴性RNA病毒感染係一種有意義單股RNA依賴性病毒感染。在此具體實施例之一分類中，該有意義單股RNA依賴性RNA病毒感染係黃熱病病毒感染或细小核糖核酸病毒感染。在此分類之一亞分類中，該细小核糖核酸病毒感染係鼻病毒感染，脊髓灰質炎病毒感染，或A型肝炎病毒感染。在此分類之第二個亞分類中，該黃熱病病毒感染係選自由下列所組成之群：C型肝炎病毒感染，黃熱病毒感染，登革熱病毒感染，西尼羅病毒感染，日本腦炎病毒感染，班日病毒感染，及牛病毒性腹瀉病毒感染。在此亞分類之一亞分類中，該黃熱病病毒感染係C型肝炎病毒感染。

在整份本案申請書中，以下辭彙具有所指示之意義：

以上所指定之烷基希望包括不論是直鏈或支鏈組態之指定長度烷基。這類烷基之實施例係甲基，乙基，丙基，異丙基，丁基，第二丁基，第三丁基，戊基，異戊基，己基，異己基，及其類似物。

辭彙“烯基”意指二至六個總碳原子，或在此範圍內任何碳原子數之直鏈或支鏈烯屬烴(如，乙烯基，丙烯基，丁烯基，戊烯基等)。

辭彙“炔基”意指二至六個總碳原子，或在此範圍內任何碳原子數之直鏈或支鏈炔屬烴(如，乙炔基，丙炔基，丁炔基，戊炔基等)。

五、發明說明 (17)

辭彙“環烷基”意指三至八個總碳原子，或在此範圍內任何碳原子數之烷屬烴環(即，環丙基，環丁基，環戊基，環己基，環庚基或環辛基)。

辭彙“雜環烷基”希望包括一或兩個選自氮，氧及硫之雜原子之非芳香族雜環。4-6-員雜環烷基之實例包括三亞甲五胺基，吡咯啉基，哌啉基，嗎啉基，賽嗎啉基，咪唑啉基，四氫呋喃基，四氫哌喃基，四氫硫苯基，哌啶基，及其類似物。

辭彙“烷氧基”意指所指定之碳原子數(如， C_{1-4} 烷氧基)，或在此範圍內之任何碳原子數之直鏈或支鏈烷氧化物[即，甲氧基($MeO-$)，乙氧基，異丙氧基，等]。

辭彙“烷基硫”意指所指定之碳原子數(如， C_{1-4} 烷基硫)，或在此範圍內之任何碳原子數之直鏈或支鏈硫化烷基[即，甲基硫($MeS-$)，乙基硫，異丙基硫，等]。

辭彙“烷基胺基”意指所指定之碳原子數(如， C_{1-4} 烷基胺基)，或在此範圍內之任何碳原子數之直鏈或支鏈烷胺[即，甲基胺基，乙基胺基，異丙基胺基，t-丁基胺基，等]。

辭彙“烷基磺醯基”意指所指定之碳原子數(如， C_{1-6} 烷基磺醯基)，或在此範圍內之任何碳原子數之直鏈或支鏈烷基(風)[即，甲基磺醯基($MeSO_2-$)，乙基磺醯基，異丙基磺醯基，等]。

辭彙“烷氧羰基”意指所指定之碳原子數(如， C_{1-4} 烷氧羰基)，或在此範圍內之任何碳原子數之本發明羧酸衍生物之直鏈或支鏈酯[即，甲氧羰基($MeOCO-$)，乙氧羰基

五、發明說明 (18)

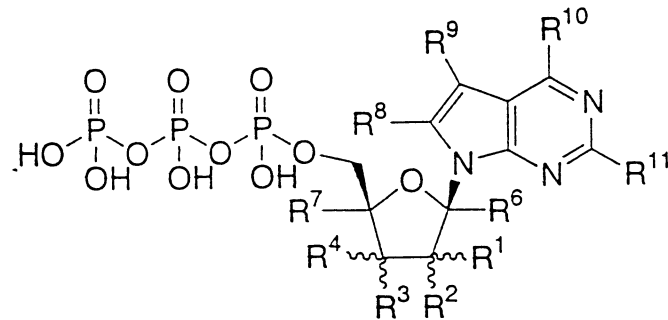
基，或丁基氧羰基]。

辭彙“芳香基”同時包括苯基，萘基，及吡啶基。該芳香基視情況地係經以獨立地選自由下列所組成之群之一至三個基團取代：C₁₋₄烷基，鹵素，氰酸硝基，三氟甲基，C₁₋₄烷氧基，及C₁₋₄烷基硫。

辭彙“鹵素”希望包括鹵素原子氟，氯，溴及碘。

辭彙“經取代的”將視之為包括由指名之取代基多重取代之程度。其中多重取代基部分係經揭示的或經申請之專利範圍，該經取代的化合物可獨立地經以一或多個該經揭示的或經申請之專利範圍之取代基部分取代，單數地或複數地。

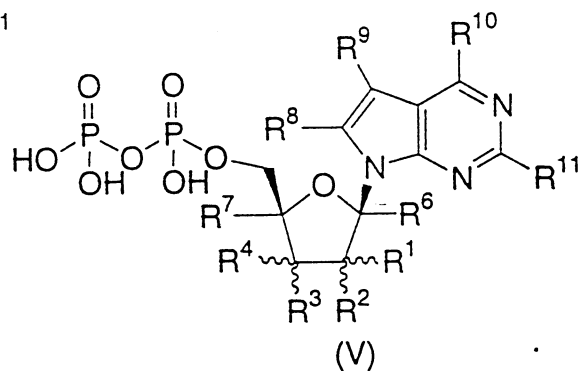
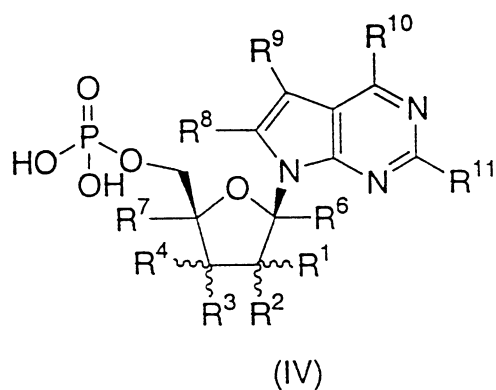
辭彙“5'-三磷酸鹽”意指本發明核苷化合物之5'-羥基之三磷酸酯衍生物，其具有如下結構通式III：



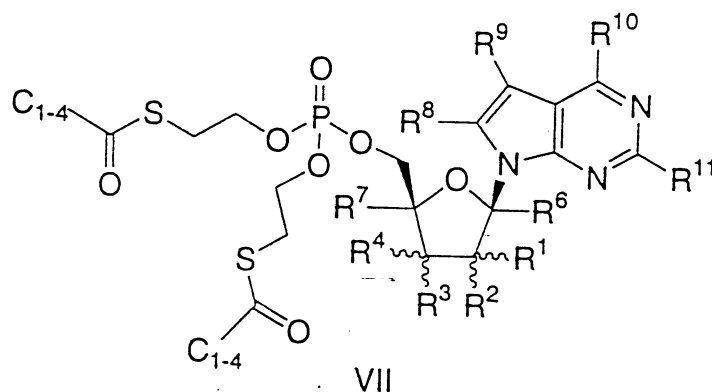
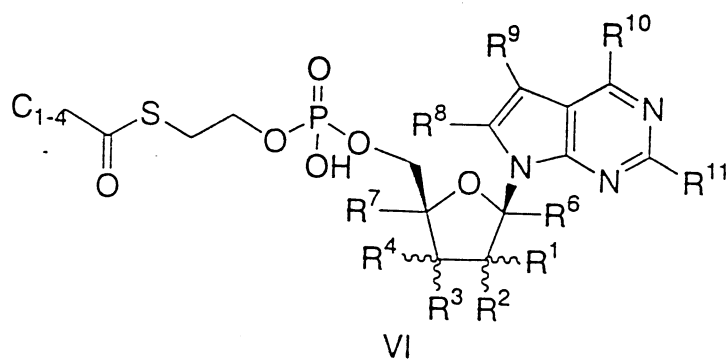
(III)

其中R¹-R¹¹係經定義如上。本發明之化合物亦希望分別包括結構式IV及V之三磷酸鹽酯在醫藥上可接受之鹽及5'-單磷酸鹽及5'-二磷酸鹽酯衍生物在醫藥上可接受之鹽，

五、發明說明 (19)



辭彙“5'-(S-醯基-2-硫乙基)磷酸鹽”或“SATE”分別意指本發明結構式 VI 及 VII 之 5'-單磷酸鹽核苷衍生物之單-或二-酯衍生物，及該單-酯在醫藥上可接受之鹽。



辭彙“組合物”，當用在“醫藥組合物”時，希望包含之產物含有一種或多種活性成分及一種或多種構成載體之惰性

五、發明說明 (20)

成分，及任何直接或間接地由任何兩或多個該成分之結合，複合或聚集，或由一或多個該成分之解離，或由一或多個該成分之其他類型反應或交互作用所生成之產物。據此，本發明之醫藥組合物包含藉由預混合本發明化合物及醫藥上可接受之載體製作之任何組合物。

應瞭解辭彙“投藥”及“投用”化合物意指提供本發明化合物或本發明化合物之前驅藥物給有需要之個體。

本發明另一方面係有關一種抑制HCV NS5B聚合酶，抑制HCV複製，或治療HCV感染之方法，其係以本發明化合物與一或多種對於治療HCV感染有用之作用劑組合。這類對抗HCV之活性作用劑包括(但不限於)核糖病毒素(ribavirin)，左旋病毒素(levovirin)，病毒脘(viramidine)，胸腺素阿伐-1，干擾素- α ，pegylated干擾素- α (peg干擾素- α)，干擾素- α 與核糖病毒素之組合，peg干擾素- α 與核糖病毒素之組合，干擾素- α 與左旋病毒素之組合，及peg干擾素- α 與左旋病毒素之組合。干擾素- α 包括(但不限於)重組的干擾素- α 2a (如洛法隆(Roferon)干擾素可獲自霍夫曼(Hoffmann)-拉羅氏(LaRoche)，諾特利(Nutley)，NJ)，pegylated干擾素- α 2a (Pegasys™)，干擾素- α 2b (如內子-A干擾素可獲自雪林(Schering)公司，肯尼沃斯(Kenilworth)，NJ)，pegylated干擾素- α 2b (PegIntron™)，重組之共義干擾素(如干擾素阿伐con-1)，及經純化之干擾素- α 產物。艾米金氏(Amgen's)重組共義干擾素之商標名稱為Infergen®。左旋病毒素係核糖病毒素之1-鏡像異構物，其經顯示有

五、發明說明 (21)

與核糖病毒素相似之免疫調節活性。病毒脘代表揭示於 WO 01/60379 之核糖病毒素類似物(讓予給 ICN 製藥廠)。根據本發明之方法，該組合之個別組份可在療程中分別在不同時間投藥或以分開或單一組合形式同時投藥。因此應瞭解本發明包含所有這類治療法之同時治療或替代療治，且據此說明辭彙“投藥”。應瞭解本發明之化合物與其他對於治療 HCV 感染有用之作用劑之組合範圍原則上包括與任何用於治療 HCV 感染之醫藥組合物之任何組合。當本發明化合物或其在醫藥上可接受之鹽與另一對抗 HCV 之活性治療劑組合時，每種化合物之劑量可與單獨使用該化合物時之劑量相同或不同。

對於治療 HCV 感染，本發明化合物亦可與 HCV NS3 絲胺酸蛋白酶抑制劑合併投藥。HCV NS3 絲胺酸蛋白酶係一種必要之病毒酵素且頃經說明為抑制 HCV 複製之極佳標的。以受質及非受質為基礎之 HCV NS3 蛋白酶抑制劑均經揭示於 WO 98/22496，WO 98/46630，WO 99/07733，WO 99/07734，WO 99/38888，WO 99/50230，WO 99/64442，WO 00/09543，WO 00/59929，及 GB-2337262。HCV NS3 蛋白酶當做標的用於發展 HCV 複製抑制劑及用於治療 HCV 感染係經討論於 B.W.戴默克(Dymock)，“浮現之 C 型肝炎病毒感染療法”，浮現之藥物，6: 13-42 (2001)。

核糖病毒素，左旋病毒素，及病毒脘可經由抑制胞內酵素肌苷單磷酸鹽去氫酶(IMPDH)藉調節胞內鳥嘌呤核苷酸庫發揮其抗-HCV 作用。IMPDH 於從新生物合成鳥嘌呤核

五、發明說明 (22)

苷酸係生物合成途徑之速率限制酵素。核糖病毒素易在胞內經磷酸化且其單磷酸鹽衍生物係IMPDH抑制劑。因此，抑制IMPDH代表另一對於發現HCV複製抑制劑之有用標的。因此，本發明化合物亦可與IMPDH抑制劑，如VX-497合併投藥，其係經揭示於WO 97/41211及WO 01/00622 (讓予給Vertex)；另一IMPDH抑制劑，如經揭示於WO 00/25780 (讓予給布里斯托(Bristol)-梅爾史奎布(Myers Squibb))者；或黴酚酸酯mofetil [參看A.C.艾利森(Allison)及E.M.優古(Eugui)，作用劑之作用，44-(Suppl.): 165 (1993)]。

對於治療HCV感染，本發明化合物亦可與抗病毒劑金剛烷胺(1-胺基三環癸烷)合併投藥[此作用劑之廣泛說明參看J.克許巴姆(Kirschbaum), Anal. Profiles Drug Subs. 12: 1-36 (1983)]。

“醫藥上可接受的”係用以說明載體，稀釋劑，或賦形劑必須與調配物之其他成分相容且對於其接受者無害。

亦包括於本發明中的醫藥組合物包含本發明之核苷化合物及其衍生物與合併醫藥上可接受之載體。本發明之另一實例係由任何上述化合物與醫藥上可接受之載體之組合製作之醫藥組合物。本發明之另一例證係製作包含任何上述化合物與醫藥上可接受之載體組合之醫藥組合物之方法。

亦包括於本發明內之醫藥組合物包含對於抑制RNA依賴性RNA病毒聚合酶(特定言之HCV NS5B聚合酶)有用之有效量之本發明化合物及醫藥上可接受之載體。本發明亦包含對於治療RNA依賴性RNA病毒感染(特定言之HCV感染)

五、發明說明 (23)

有用之醫藥組合物及抑制RNA依賴性RNA病毒聚合酶(特定言之HCV NS5B聚合酶)之方法及治療RNA依賴性病毒複製(且特定言之HCV複製)之方法。此外，本發明係有關一種醫藥組合物，其包含治療有效劑量之本發明化合物與治療有效劑量之另一其他對抗RNA依賴性RNA病毒(且特定言之對抗HCV)之活性劑之組合。對抗HCV之活性作用劑包括(但不限於)核糖病毒素，左旋病毒素，病毒脘，胸腺素阿伐-1，HCV NS3絲胺酸蛋白酶抑制劑，干擾素- α ，pegylated干擾素- α (peg干擾素- α)，干擾素- α 與核糖病毒素之組合，peg干擾素- α 與核糖病毒素之組合，干擾素- α 與左旋病毒素之組合，及peg干擾素- α 與左旋病毒素之組合。干擾素- α 包括(但不限於)重組的干擾素- α 2a (如洛法隆干擾素可獲自霍夫曼(Hoffmann)-拉羅氏(LaRoche)，諾特利(Nutley)，NJ)，干擾素- α 2b (如內子-A干擾素可購自雪林(Schering)公司，肯尼沃斯(Kenilworth)，NJ)，共義干擾素，及經純化之干擾素- α 產品。關於對核糖病毒素之討論及其對抗HCV之活性，參看J.O.桑德斯(Saunders)及S.A.雷巴克(Raybuck)，“肌苷單磷酸鹽去氫酶：關於其結構，動力學，及治療潛力”，Ann. Rep. Med. Chem.，35: 201-210 (2000)。

本發明另一方面提供該核苷化合物及其衍生物及其醫藥組合物在製造用於抑制RNA依賴性RNA病毒複製(特定言之HCV複製)，及/或治療RNA依賴性RNA病毒感染(特定言之HCV感染)醫藥品之用途。本發明又一方面提供核苷化

五、發明說明 (24)

合物及其衍生物及其醫藥組合物用作抑制RNA依賴性RNA病毒複製(特定言之HCV複製)，及/或用於治療RNA依賴性RNA病毒感染(特定言之HCV感染)醫藥品。

本發明之醫藥組合物包含一結構式I化合物作為活性成分或其在醫藥上可接受之鹽，且亦含有一醫藥上可接受之載體且視情況地含有其他醫藥成分。

該組合物包括適於經口的，經直腸的，局部的，非經腸的(包括經皮下，經肌肉內，及經靜脈)，經眼的，經肺部的(經鼻腔的或經頰的吸入)，或經鼻腔投藥之組合物，雖然在任何特定狀況下最合適之途徑是取決於所要治療之狀況的特性及嚴重性及取決於該活性成分之特性。他們可方便地以單位劑量形式存在且以在製藥學之製備技藝中為人所熟知的任何方法。

在實際利用時，可根據習用之醫藥化合物技術將結構式I化合物作為預混合物中之活性成分與醫藥載體組合。該載體可採極多種形式，取決於所欲投用之製劑形式，如，經口或非經口(包括經靜脈的)。在製備用於口服劑量形式之組合物時，可使用任何平常之醫藥媒介，例如在口服液體製劑，如在懸浮液，酏劑及溶液使用，水，甘油，油，酒精，調味劑，防腐劑，著色劑及其類似物；或在口服固體製劑，如散劑，硬及軟膠囊及錠劑使用載體如澱粉，糖，微晶纖維素，稀釋劑，粒化劑，潤滑劑，結合劑，崩解劑及其類似物，而固體口服製劑又比液體製劑更佳。

因為其易於投藥，錠劑及膠囊代表最有利之口服劑量單

五、發明說明 (25)

位形式，在此狀況下顯然會使用固體醫藥載體。若有必要，可以標準水溶液或非水溶液技術塗覆錠劑。這類組合物及製劑應含有至少百分之0.1之活性化合物。當然，可改變活性化合物在這些組合物中之百分比且可方便地介於該單位重量之約百分之2至約百分之60之間。活性化合物在這類治療有用組合物中之量係能獲得有效劑量。該活性化合物亦可經由鼻腔投藥，例如，滴液或噴液。

錠劑，藥丸，膠囊，及其類似物亦可含有結合劑如黃(著)膠，阿拉伯膠，玉米澱粉或明膠；賦形劑如磷酸二鈣；崩解劑如玉米澱粉，馬鈴薯澱粉，藻膠酸；潤滑劑如硬脂酸鎂及甜味劑如蔗糖，乳糖或沙克林(saccharin)。當一劑量單位形式為膠囊時，其除了上述類型之材料外尚可含有液態載體如脂肪油。

亦可存在各種其他材料作為塗料或修改該劑量單位之物理學形式。例如，錠劑可經塗覆以蟲膠，糖或二者。糖漿或酏劑除了該活性成分外可含有蔗糖作為甜味劑，甲基及對羥基苯甲酸丙酯作為防腐劑，染劑及調味劑如櫻桃或柳橙口味。

亦可由非經腸道途徑投用結構式I化合物。這些活性化合物之溶液或懸浮液可於水中製備且經適當地與介面活性劑如羥基-丙基纖維素混合。分散液亦可在甘油，液態聚乙二醇及其在油中之混合物中製備。在一般貯存及利用之條件下，這些製劑含有防腐劑以防止微生物生長。

適於注射用途之醫藥形式包括無菌水溶液或分散液及用

五、發明說明 (26)

於臨時製備無菌注射溶液或分散液之無菌粉末。在所有狀況下，該形式必須是無菌的且必須是流動性達到能易於注射之流體。其必須在製造及貯存條件下安定且必須受到保護對抗微生物之污染如細菌及真菌。該載體可為溶劑或分散液媒介且含有，例如，水，乙醇，多元醇(如，甘油，丙二醇及液態聚乙二醇)，其合適之混合物，及植物油。

有效劑量之本發明化合物可使用任何合適之投藥途徑供給哺乳類動物，特別是人類。例如，可使用經口的，由直腸的，局部的，非經腸道的，經眼睛的，經肺部的，經鼻腔的，及其類似者。劑量形式包括錠劑，片劑，分散液，懸浮液，溶液，膠囊，乳液，軟膏，氣溶膠，及其類似者。較佳地，結構式I化合物係經口投藥。

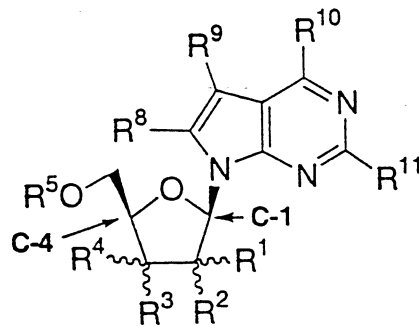
對於經口投藥給人類時，分次給藥之劑量範圍係0.01至1000 mg/kg體重。在一具體實施例中該分次給藥劑量範圍係0.1至100 mg/kg體重。在另一具體實施例中該分次給藥劑量範圍係0.5至20 mg/kg體重。用於經口投藥，該組合物較佳地以錠劑或膠囊形式提供，其含有1.0至1000毫克該活性成分，特定言之，1，5，10，15，20，25，50，75，100，150，200，250，300，400，500，600，750，800，900，及1000毫克該活性成分，且依所要治療病患之症狀調整劑量。

可變化所使用活性成分之有效劑量，取決於所使用之特殊化合物，投藥模式，所要治療之狀況及所治療狀況之嚴重性。凡熟習此項技藝者都能容易地確定這類劑量。可調

五、發明說明 (27)

整此劑量治療法以提供最適之治療反應。

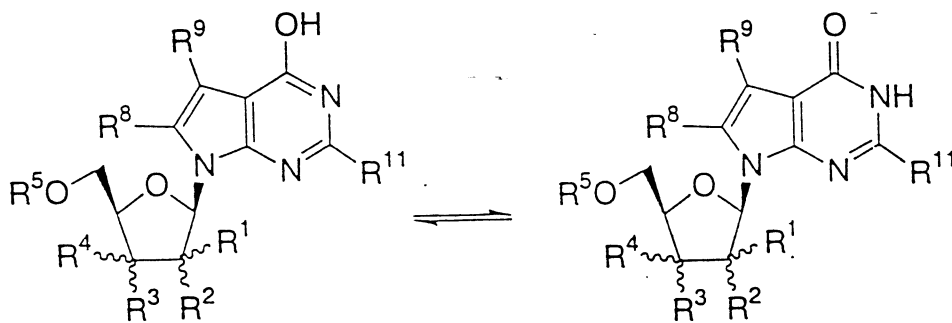
本發明化合物含有一或多個不對稱中心且因而可呈外消旋酸鹽及外消旋混合物，單一鏡像異構物，非鏡像異構物混合物及個別之非鏡像異構物。本發明打算包含具有如下結構式所描述五-員呋喃糖環之 β -D立體化學組態之核苷化合物，即，其中該五-員呋喃糖環C-1及C-4之取代基具有 β -立體化學組態(“向上”方向以粗線表示)之核苷化合物。



β -D-

此處所述之某些化合物含有烯性雙鍵，且除非另經指定，否則均意指同時包括E及Z幾何異構物。

此處所述之某些化合物可呈互變異構物如酮-烯醇互變異構物存在。個別之互變異構物及其混合物均包含於結構式I化合物中。希望包含於本發明化合物中之酮-烯醇互變異構物實例係舉例說明如下：

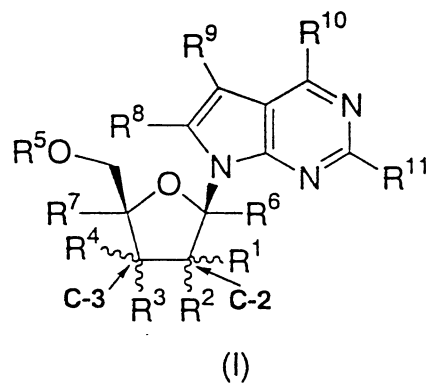


五、發明說明 (28)

可藉由，例如，由合適的溶劑中分結晶，例如甲醇或乙酸乙酯或其混合物，或利用有光學活性之固定相經由對掌性層析法將結構式I化合物分開成個別之非鏡像異構物。

或者，結構式I化合物之任何立體異構物可利用光學上之純原料或已知組態之試劑藉由立體特異性合成獲得。

本發明之結構式I呋喃糖環化合物C-2及C-3位置取代基之立體化學之表示係以彎彎曲曲的線象徵取代基 R^1 ， R^2 ， R^3 及 R^4 可相互獨立地具有不論是 α -(取代基“向下”)或 β -(取代基“向上”)組態。在呋喃糖環C-1及C-4以粗線表示之立體化學象徵該取代基具有 β -組態(取代基“向上”)。



本發明化合物可以醫藥上可接受之鹽之形式投藥。辭彙“醫藥上可接受之鹽”意指自醫藥上可接受之無毒鹼或酸製備之鹽，其包括無機或有機鹼及無機或有機酸。包含於辭彙“醫藥上可接受之鹽”之鹼性化合物之鹽意指本發明化合物之無毒之鹽，其製備一般係藉由將游離鹼與合適之有機或無機酸反應。本發明鹼性化合物之代表性鹽類包括(但不限於)如下鹽類：醋酸鹽，苯磺酸鹽，苯甲酸鹽，重碳酸鹽，重硫酸鹽，二酒石酸鹽，硼酸鹽，溴化物，樟腦磺

五、發明說明 (29)

酸鹽(camsylate)，碳酸鹽，氯化物，clavulanate，檸檬酸鹽，氯化二氫，伸乙二胺四乙酸鹽，edisylate，estolate，esylate，反丁烯二酸鹽，gluceptate，葡萄糖酸鹽，麩胺酸鹽，glycollylarsanilate，己基瑣辛酸鹽(hexylresorcinate)，醇胺(hydrabamine)，溴化氫，氯化氫，羥基苯甲酸鹽，碘化物，異含硫酸(isothionate)，乳酸鹽，乳糖酸鹽，月桂酸鹽，蘋果酸鹽，馬來酸鹽，苦杏仁酸鹽，甲磺醯鹽，溴化甲基，甲基硝酸鹽，甲基硫酸鹽，黏液酸鹽，萘醯酸鹽(napsylate)，硝酸鹽，N-甲基還原葡糖胺銨鹽，油酸鹽，草酸鹽，pamoate (embonate)，棕梠酸鹽，泛酸鹽，磷酸鹽/二磷酸鹽，聚半乳糖醛酸鹽，水楊酸鹽，硬脂酸鹽，硫酸鹽，次乙酸鹽，琥珀酸鹽，單寧酸鹽，酒石酸鹽，teoclolate，甲苯磺醯鹽，triethiodide及戊酸鹽。此外，當本發明化合物攜帶酸的部分時，其在醫藥上可接受之合適鹽包括(但不限於)衍生自包括下列無機鹼之鹽：鋁，銨，鈣，銅，鐵，亞鐵，鋰，鎂，錳，亞錳，鉀，鈉，鋅，及其類似物。特別較佳的係銨，鈣，鎂，鉀，及鈉鹽。自醫藥上可接受之有機無毒性鹼衍生之鹽包括一級，二級，及三級胺，環胺類，及鹼性離子交換樹脂，如精胺酸，甜菜素，咖啡因，膽鹼，N,N-二苯乙烯二胺，二乙胺，2-二乙胺基乙醇，2-二甲胺基乙醇，乙醇胺，乙烯二胺，N-乙基嗎啉，N-乙基哌啶，還原葡糖胺，葡萄糖胺，組胺酸，醇胺，異丙胺，離安(酸)，甲基還原葡糖胺，嗎啉，哌啶，哌啶，多元胺樹脂，普魯卡因(procaine)，嘌呤，可可鹼

五、發明說明 (30)

，三乙胺，三甲胺，三丙胺，緩血酸胺之鹽，及其類似物。

且，在羧酸(-COOH)或醇基存在本發明化合物之狀況下，羧酸衍生物在醫藥上可接受之酯，可使用如甲基，乙基，或三甲基乙醯基氧甲基，或醯基之醇類衍生物，如乙酸或馬來酸鹽。所包括的是在此項技藝中為人所知用以修飾用作延遲釋放或前驅藥物調配物之溶解度或水解特性之酯及醯基。

本發明核苷化合物及衍生物之製備

本發明之核苷化合物及其衍生物之製備可以如下在核苷及核苷酸化學之實務上十分確立的合成方法學進行。以下描述用於製備本發明化合物之合成方法之原文係指定之參考文獻：“核苷及核苷酸化學”，L.B.湯森德(Townsend)編輯，卷1-3，普蘭諾(Plenum)出版社，1988，其全部內容以參考文獻併入此處。

代表性之製備本發明化合物一般方法概述於以下流程1中。此流程舉例說明合成本發明之結構式1-7化合物。其中該呋喃糖環具有β-D-核糖組態。該原料係結構式1-1之一經3,5-雙-O保護之烷基呋喃糖苷，如甲基呋喃糖苷。然後該C-2羥基經以合適的氧化劑氧化，如以三氧化鉻或鉻酸鹽試劑，(迪斯-馬丁(Dess-Martin)) periodinane，或藉由史旺(Swern)氧化作用，以供給結構式1-2之C-2酮。在合適的有機溶劑，如四氫呋喃，二乙基醚，及其類似物中添加葛林納德(Grignard)試劑，如烷基，烯基，或炔基鹵化鎂(例如，MeMgBr，EtMgBr，乙烯基MgBr，烯丙基MgBr，

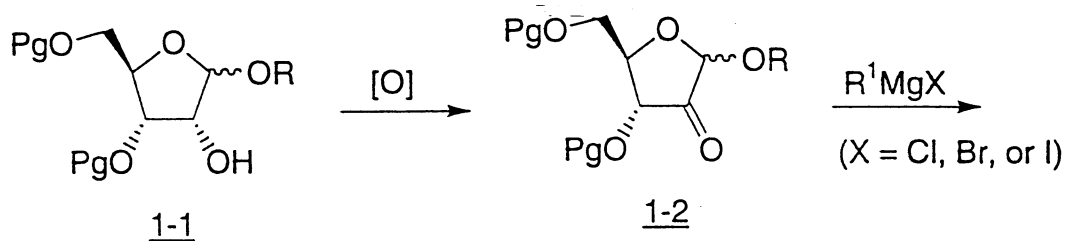
五、發明說明 (31)

及以炔基MgBr)或烷基，烯基，或炔基鋰，如MeLi，穿越1-2之羰基雙鍵，以供給結構式1-3之C-2三級醇。然後在該呋喃糖衍生物之C-1 (變旋異構的)位置導入一良好之脫離基(如Cl，Br，及I)，此係藉由在合適的有機溶劑中以鹵化氫處理式1-3之呋喃糖苷，如溴化氫在乙酸中，以供給中間物鹵化呋喃糖基1-4。亦可在後續反應中以C-1磺酸鹽，這類甲烷磺酸鹽(MeSO₂O-)，三氟甲烷-磺酸鹽(CF₃SO₂O-)，或p-甲苯磺酸鹽(-OTs)，供作有用的脫離基以產生糖苷(核苷)鍵聯。核苷鍵聯之構建係藉由以經適當取代的1H-吡咯[2,3-d]嘧啶1-5，如經適當取代之4-鹵-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶，之金屬鹽(如鋰，鈉，或鉀)處理結構式1-4之中間物，其可藉由在合適之無水有機溶劑，如乙腈，四氫呋喃，1-甲基-2-吡咯啉酮，或N,N-二甲基甲醯胺(DMF)中以鹼性氫化物(如氫化鈉)，鹼性氫氧化物(如氫氧化鉀)，鹼性碳酸鹽(如碳酸鉀)，或鹼性六甲基二矽胍(如NaHMDS)處理就地產生。可利用轉移催化劑，如TDA-1或三乙基苯基-氯化銨，且在二相系統(固相-液相或液相-液相)中催化該置換反應。然後依照確立之去保護作用方法學分解經保護之結構式1-6核苷之視情況保護基團，如依照說明於T.W.葛林尼(Greene)及P.G.M.華茲(Wuts)，“有機合成中之保護基團”，第3版，約翰威利父子公司(John Wiley & Sons)，1999中之方法學。視情況以適當之胺，如以醇系氨水或液態氨水處理4-鹵中間物1-6在C-4位置產生一級胺(-NH₂)，以烷胺在C-4位置產生二級胺(-NHR)，或

五、發明說明 (32)

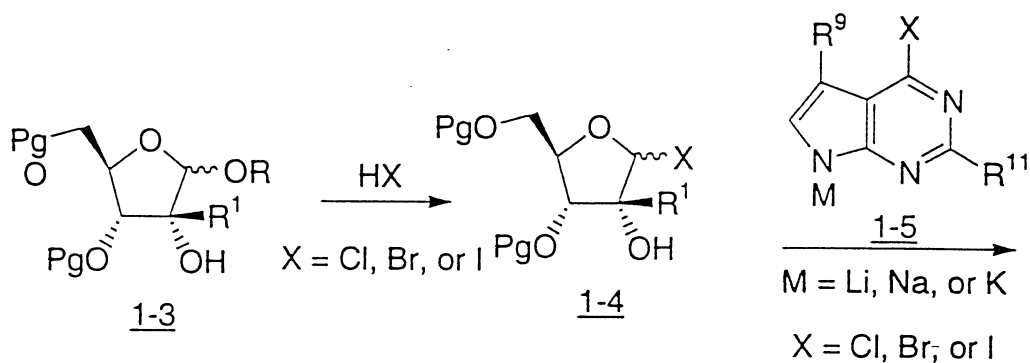
以二烷胺在 C-4 位置產生三級胺 (-NRR')，以在吡咯 [2,3-d] 嘧啶核心之 4-位置導入胺基。7H-吡咯 [2,3-d] 嘧啶-4(3H)-酮化合物之衍生可藉由以鹼性水溶液，如氫氧化鈉水溶液，水解 1-6。醇解(如甲醇解) 1-6 供給 C-4 烷氧化物 (-OR)，而以烷基硫醇化物處理供給 C-4 烷基硫 (-SR) 衍生物。要得到所需之本發明化合物需要後續進行普通熟習有機/醫藥化學技藝之從業者所熟知之化學操作。

流程 1

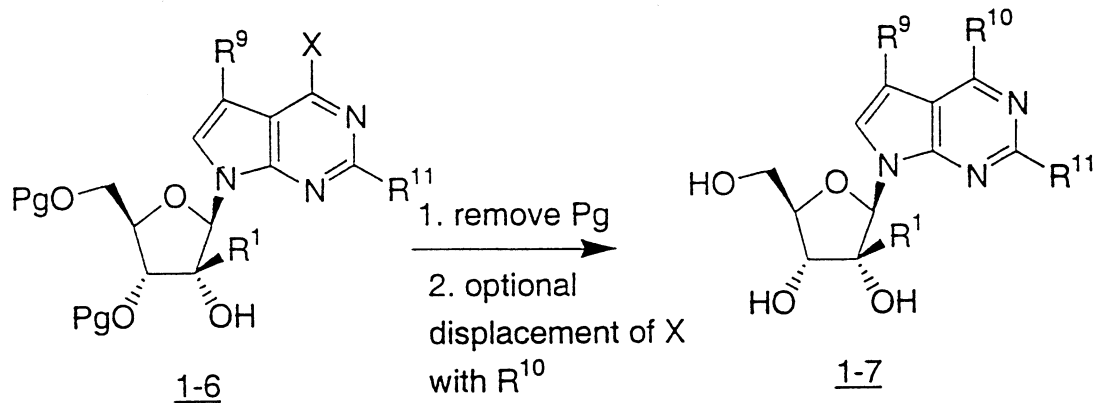


Pg=保護基團

R=低碳烷基



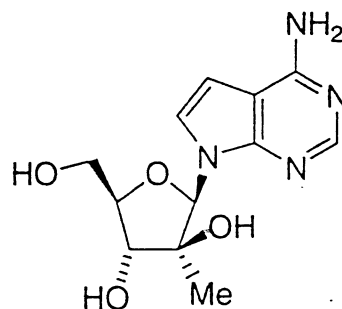
五、發明說明 (33)



以下實例提供引證之文獻出版物，其含有詳細說明製備本發明最終化合物或用於製備本發明最終化合物之中間物之方法。本發明之核苷化合物之製備係根據如下實例中所詳細說明之方法。該等實例並不希望以任何方式限制本發明，且也不應以此解釋之。凡熟習核苷及核苷酸合成之技藝者都會輕易地認同可利用如下製備方法已知之條件及製程變化製備這些及其他本發明化合物。所有的溫度除非另外註明否則均係攝氏溫度。

實例 1

4-胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



於 0°C 之三氧化鉻 (1.57 g, 1.57 mmol) 在二氯甲烷 (DCM) (10 mL) 中之溶液中加入醋酸酐 (145 mg, 1.41 mmol) 且然

五、發明說明 (34)

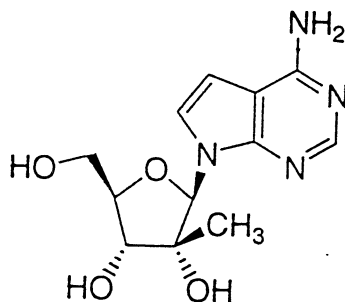
後加入吡啶(245 mg, 3.10 mmol)。攪拌該混合物15分鐘，然後加入7-[3,5-O-[1,1,3,3-四kis(1-甲基乙基)-1,3-二矽氧烷二基]- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘓啶-4胺[製備參看 *J. Am. Chem. Soc.* 105: 4059 (1983)](508 mg, 1.00 mmol)在DCM (3 mL)中之溶液。攪拌所生成之溶液2 h，然後將其倒入乙酸乙酯(10 mL)中，且接著利用乙酸乙酯作為溶離液將其濾過二氧化矽凝膠。在真空下蒸發合併之濾液，置入乙醚/THF (1:1)(20 mL)中，冷卻至-78°C並滴加入甲基溴化鎂(3 M, 在THF中)(3.30 mL, 10 mmol)。在-78°C下攪拌該混合物10分鐘，然後使其回溫至室溫(rt)並加入飽和氯化銨水溶液(10 mL)中止反應並以DCM (20 mL)萃取。在真空下蒸發有機相且利用5%甲醇在二氯甲烷中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗產物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發之。將所產生之油置入THF (5 mL)中並加入在矽土上之氯化四丁基銨(TBAF)(1.1 mmol/g在矽土上)(156 mg)。在室溫下攪拌該混合物30分鐘，過濾，並在真空下蒸發。利用10%甲醇在二氯甲烷中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗產物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發以產生呈無色固體之所需化合物(49 mg)。

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1.08 (s, 3H), 3.67 (m, 2H), 3.74 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 5.19 (m, 1H), 5.23 (m, 1H), 5.48 (m, 1H), 6.08 (1H, s), 6.50 (m, 1H), 6.93 (bs, 2H), 7.33 (m, 1H), 8.02 (s, 1H)。

五、發明說明 (35)

實例 2

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



步驟 A： 3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-1-O-甲基-α-D-呋喃核糖

在室溫下攪拌 2-O-乙醯基-3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-1-O-甲基-α-D-呋喃核糖[製備參看：Helv. Chim. Acta 78: 486 (1995)](52.4 g, 0.10 mol)在甲醇系 K_2CO_3 (500 mL, 在室溫下飽和)中之混合物 45 分鐘且然後在減壓下濃縮之。將該油性殘餘物懸浮於 CH_2Cl_2 (500 mL)中，以水(300 mL + 5×200 mL)及濃鹽水(200 mL)清洗，乾燥(Na_2SO_4)，過濾，並濃縮以產生呈無色油之標題化合物(49.0 g)，其不經進一步純化而直接利用於以下步驟 B 中。

1H NMR ($DMSO-d_6$): δ 3.28 (s, 3H, OCH_3), 3.53 (d, 2H, $J_{5,4}=4.5$ Hz, H-5a, H-5b), 3.72 (dd, 1H, $J_{3,4}=3.6$ Hz, $J_{3,2}=6.6$ Hz, H-3), 3.99 (ddd, 1H, $J_{2,1}=4.5$ Hz, $J_{2,OH-2}=9.6$ Hz, H-2), 4.07 (m, 1H, H-4), 4.50 (s, 2H, CH_2Ph), 4.52, 4.60 (2d, 2H, $J_{gem}=13.6$ Hz, CH_2Ph), 4.54 (d, 1H, OH-2), 4.75 (d, 1H, H-1), 7.32-7.45, 7.52-7.57 (2m, 10H, 2Ph)。

^{13}C NMR ($DMSO-d_6$): δ 55.40, 69.05, 69.74, 71.29, 72.02,

五、發明說明 (36)

78.41, 81.45, 103.44, 127.83, 127.95, 129.05, 129.28, 131.27, 131.30, 133.22, 133.26, 133.55, 133.67, 135.45, 135.92。

步驟B：3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-1-O-甲基- α -D-赤-呋喃戊糖-2-基糖

在0.5 h期間於且在氬氣(Ar)下於迪斯-馬丁(Dess-Martin) periodinane (50.0 g, 118 mmol)在無水CH₂Cl₂ (350 mL)中之冰冷懸浮液中滴加入來自步驟A之化合物(36.2 g, 75 mmol)在無水CH₂Cl₂ (200 mL)中之溶液。在0°C下攪拌該反應混合物0.5 h且然後在室溫下攪拌3天。以無水Et₂O (600 mL)稀釋該混合物並將其倒入Na₂S₂O₃ · 5H₂O (180 g)在飽和Na₂HCO₃水溶液(1400 mL)中之冰冷混合物中。將各層分開，且以飽和NaHCO₃水溶液(600 mL)，水(800 mL)及濃鹽水(600 mL)清洗有機層，乾燥(MgSO₄)，過濾及蒸發以產生呈無色油之標題化合物(34.2 g)，其不經進一步純化而直接利用於以下步驟C中。

¹H NMR (CDCl₃): δ 3.50 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (dd, 1H, $J_{5a,5b}=11.3$ Hz, $J_{5a,4}=3.5$ Hz, H-5a), 3.94 (dd, 1H, $J_{5b,4}=2.3$ Hz, H-5b), 4.20 (dd, 1H, $J_{3,1}=1.3$ Hz, $J_{3,4}=8.4$ Hz, H-3), 4.37 (ddd, 1H, H-4), 4.58, 4.69 (2d, 2H, $J_{gem}=13.0$ Hz, CH₂Ph), 4.87 (d, 1H, H-1), 4.78, 5.03 (2d, 2H, $J_{gem}=12.5$ Hz, CH₂Ph), 7.19-7.26, 7.31-7.42 (2m, 10H, 2Ph)。

¹³C NMR (DMSO-d₆): δ 55.72, 69.41, 69.81, 69.98, 77.49, 78.00, 98.54, 127.99, 128.06, 129.33, 129.38, 131.36,

五、發明說明 (37)

131.72, 133.61, 133.63, 133.85, 133.97, 134.72, 135.32, 208.21。

步驟 C： 35-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-甲基-1-O-甲基- α -D-呋喃核糖

於 -55°C 之 MeMgBr 在無水 Et_2O (0.48 M, 300 mL) 中之溶液中滴加入來自步驟 B 之化合物 (17.40 g, 36.2 mmol) 在無水 Et_2O (125 mL) 中之溶液。使該反應混合物升溫至 -30°C 並在 -30°C 至 -15°C 下攪拌 7 h, 然後將其倒入冰冷的水中 (500 mL) 並在室溫下劇烈攪拌該混合物 0.5 h。將該混合物濾過寅式鹽濾墊 (10×5 cm) 並以 Et_2O 澈底清洗之。乾燥有機層 (MgSO_4), 過濾並濃縮。溶解殘餘物於己烷中 (~30 mL), 施加至二氧化矽凝膠管柱上 (10×7 cm, 經預包裝於己烷中) 並以己烷及己烷/ EtOAc (9/1) 溶離以產生呈無色糖漿之標題化合物 (16.7 g)。

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.36 (d, 3H, $J_{\text{Me,OH}}=0.9$ Hz, 2C-Me), 3.33 (q, 1H, OH), 3.41 (d, 1H, $J_{3,4}=3.3$ Hz), 3.46 (s, 3H, OCH_3), 3.66 (d, 2H, $J_{5,4}=3.7$ Hz, H-5a, H-5b), 4.18 (apparent q, 1H, H-4), 4.52 (s, 1H, H-1), 4.60 (s, 2H, CH_2Ph), 4.63, 4.81 (2d, 2H, $J_{\text{gem}}=13.2$ Hz, CH_2Ph), 7.19–7.26, 7.34–7.43 (2m, 10H, 2Ph)。

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 24.88, 55.45, 69.95, 70.24, 70.88, 77.06, 82.18, 83.01, 107.63, 127.32, 129.36, 130.01, 130.32, 133.68, 133.78, 134.13, 134.18, 134.45, 134.58。

步驟 D： 4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-甲基-

五、發明說明 (38)

 β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於0°C之來自步驟C之化合物(9.42 g, 19 mmol)在無水二氯甲烷(285 mL)中之溶液中滴加入HBr (5.7 M in醋酸, 20 mL, 114 mmol)。在0°C下攪拌所產生之溶液1 h且然後在室溫下攪拌3 h, 在真空下蒸發並與無水甲苯(3×40 mL)共蒸發。將該油性殘餘物溶解於無水乙腈中(50 mL)並加至4-氯-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶之鈉鹽在乙腈中之溶液中[自4-氯-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶[製備參看: J. Chem. Soc.: 131 (1960)](8.76 g, 57 mmol)在無水乙腈(1000 mL)中之溶液及NaH (60%在礦物油中, 2.28 g, 57 mmol)在室溫下劇烈攪拌4 h後就地產生]。在室溫下攪拌該合併之混合物24 h, 且然後蒸發至乾燥。將該殘餘物懸浮於水(250 mL)中並以EtOAc (2×500 mL)萃取。以濃鹽水(300 mL)清洗合併之萃取物, 在Na₂SO₄上乾燥, 過濾及蒸發。利用乙酸乙酯/己烷(1:3及1:2)作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱(10 cm×10 cm)上純化該粗產物。合併含有該產物之溶離份並在真空下蒸發以產生呈無色泡沫之所需產物(5.05 g)。

¹H NMR (CDCl₃): δ 0.93 (s, 3H, CH₃), 3.09 (s, 1H, OH), 3.78 (dd, 1H, J_{5',5''}=10.9 Hz, J_{5',4}=2.5 Hz, H-5'), 3.99 (dd, 1H, J_{5'',4}=2.2 Hz, H-5''), 4.23-4.34 (m, 2H, H-3', H-4'), 4.63, 4.70 (2d, 2H, J_{gem}=12.7 Hz, CH₂Ph), 4.71, 4.80 (2d, 2H, J_{gem}=12.1 Hz, CH₂Ph), 6.54 (d, 1H, J_{5,6}=3.8 Hz, H-5), 7.23-7.44 (m, 10H, 2Ph)。

¹³C NMR (CDCl₃): δ 21.31, 69.10, 70.41, 70.77, 79.56,

五、發明說明 (39)

80.41, 81.05, 91.11, 100.57, 118.21, 127.04, 127.46, 127.57, 129.73, 129.77, 130.57, 130.99, 133.51, 133.99, 134.33, 134.38, 134.74, 135.21, 151.07, 151.15, 152.47。

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

於-78°C之來自步驟D之化合物(5.42 g, 8.8 mmol)在二氯甲烷(175 mL)中之溶液中滴加入三氯化硼(1 M在二氯甲烷中, 88 mL, 88 mmol)。在-78°C下攪拌該混合物2.5 h, 然後在-30°C至-20°C下攪拌3 h。加入甲醇/二氯甲烷(1:1)(90 mL)中止該反應並在-15°C下攪拌所生成之混合物30分鐘, 然後在0°C下以氨水溶液中中和並在室溫下攪拌15分鐘。過濾固體並以CH₂Cl₂/MeOH (1/1, 250 mL)清洗之。蒸發合併之濾液, 且利用CH₂Cl₂及CH₂Cl₂: MeOH (99:1, 98:2, 95:5及90:10)梯度作為溶離液在二氧化矽凝膠上以快速層析法純化殘餘物以提供呈無色泡沫之所需化合物(1.73 g), 其經以MeCN處理後轉變成非結晶形之固體。

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.64 (s, 3H, CH₃), 3.61-3.71 (m, 1H, H-5'), 3.79, 3.88 (m, 1H, H-5''), 3.89-4.01 (m, 2H, H-3', H-4'), 5.15-5.23 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6.24 (s, 1H, H-1'), 6.72 (d, 1H, J_{5,6}=3.8 Hz, H-5), 8.13 (d, 1H, H-6), 8.65 (s, 1H, H-2)。

¹³C NMR (DMSO-d₆): δ 20.20, 59.95, 72.29, 79.37, 83.16, 91.53, 100.17, 117.63, 128.86, 151.13, 151.19, 151.45。

步驟F: 4-胺基-7-(2-C-甲基-β-呋喃核糖基)-7H-吡咯

五、發明說明 (40)

[2,3-d]嘧啶

於來自步驟E之化合物(1.54 g, 5.1 mmol)中加入甲醇系氨水(在0°C下飽和; 150 mL)。在不鏽鋼殺菌釜中85°C下加熱該混合物14 h, 然後冷卻並在真空下蒸發。以CH₂Cl₂/MeOH (9/1)作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化該粗混合物以產生呈無色泡沫之標題化合物(0.8 g), 其在與MeCN處理過後以非結晶形之固體分離出, 該非結晶形之固體係自甲醇/乙腈再結晶; m.p. 222°C。

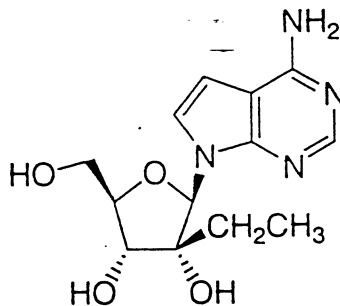
¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.62 (s, 3H, CH₃), 3.57-3.67 (m, 1H, H-5'), 3.75-3.97 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 5.00 (s, 1H, 2'-OH), 5.04 (d, 1H, J_{3'-OH,3'}=6.8 Hz, 3'-OH), 5.06 (t, 1H, J_{5'-OH,5',5''}=5.1 Hz, 5'-OH), 6.11 (s, 1H, H-1'), 6.54 (d, 1H, J_{5,6}=3.6 Hz, H-5), 6.97 (br s, 2H, NH₂), 7.44 (d, 1H, H-6), 8.02 (s, 1H, H-2)。

¹³C NMR (DMSO-d₆): δ 20.26, 60.42, 72.72, 79.30, 82.75, 91.20, 100.13, 103.08, 121.96, 150.37, 152.33, 158.15。

LC-MS: 實驗值: 279.10 (M-H⁺); 對於C₁₂H₁₆N₄O₄+H⁺之計算值: 279.11。

實例 3

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



五、發明說明 (41)

步驟A：3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-乙基-1-O-甲基- α -D-呋喃核糖

於 -78°C 之乙醚 (300 mL) 中緩緩加入 EtMgBr (3.0 M, 16.6 mL) 且然後滴加入來自實例2步驟B之化合物 (4.80 g, 10.0 mmol) 在無水 Et₂O (100 mL) 中之溶液。在 -78°C 下攪拌該反應混合物 15 分鐘，使其升溫至 -15°C 並再攪拌 2 h，且然後倒入水 (300 mL) 與 Et₂O (600 mL) 之經攪拌之混合物中。分離有機相，乾燥 (MgSO₄)，並在真空下蒸發之。利用乙酸乙酯/己烷 (1:2) 作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗產物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生呈無色油之所需產物 (3.87 g)。

步驟B：4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-乙基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在 0°C 下於來自步驟A之化合物 (1.02 mg, 2.0 mmol) 在二氯甲烷 (40 mL) 中之溶液中滴加入 HBr (5.7 M 在醋酸中) (1.75 mL, 10.0 mmol)。在室溫下攪拌所產生之溶液 2 h，在真空下蒸發並自甲苯 (10 mL) 共蒸發兩次。將油性殘餘物溶解於乙腈中 (10 mL) 並加至 4-氯-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶 (307 mg, 2.0 mmol)，氫氧化鉀 (337 mg, 6.0 mmol) 及三羥甲基氨基甲烷 [2-(2-甲氧乙氧)乙基]胺 (130 mg, 0.4 mmol) 在乙腈 (10 mL) 中經劇烈攪拌之混合物中。在室溫下攪拌所生成之混合物過夜，且然後倒入飽和氯化銨 (100 mL) 與乙酸乙酯 (100 mL) 之經攪拌混合物中。分離有機層，以濃鹽水 (100 mL) 清洗之，在 MgSO₄ 上乾燥，過濾並在真空下

五、發明說明 (42)

蒸發。利用乙酸乙酯/己烷(1:2)作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗產物以產生呈無色泡沫之所需產物(307 mg)。

步驟C：4-氯-7-(2-C-乙基-β-D-呋喃核糖基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在-78℃下於來自步驟B之化合物(307 mg, 0.45 mmol)於二氯甲烷(8 mL)中之溶液中加入三氯化硼(1 M在二氯甲烷中)(4.50 mL, 4.50 mmol)。在-78℃下攪拌該混合物1 h，然後在-10℃下攪拌3 h。加入甲醇/二氯甲烷(1:1)(10 mL)中止該反應，在-15℃下攪拌30分鐘，並加入氫氧化銨水溶液中和之。在減壓下蒸發該混合物並利用甲醇/二氯甲烷(1:9)作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化所產生之油。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發，以產生呈無色泡沫之所需產物(112 mg)。

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

於來自步驟C之化合物(50 mg, 0.16 mmol)中加入飽和氨水於甲醇(4 mL)中之溶液。在75℃下於密閉容器中攪拌該混合物72 h，冷卻並在真空下蒸發之。利用甲醇/二氯甲烷(1:9)作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗混合物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發以產生呈無色粉末之所需產物(29 mg)。

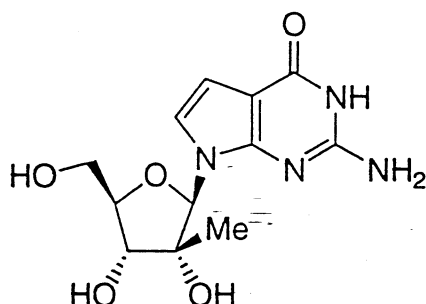
¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ 0.52 (t, 3H), 1.02 (m, 2H), 4.01-3.24 (m, 6H), 5.06 (m, 1H), 6.01 (s, 1H), 6.51 (d, 1H), 6.95 (s br, 2H), 6.70 (d, 1H), 7.99 (s, 1H)。

五、發明說明 (43)

LC-MS：實驗值：295.2 ($M+H^+$)；對於 $C_{13}H_{18}N_4O_4+H^+$ 之計算值：295.14。

實例 4

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



步驟 A：2-胺基-4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在來自實例2步驟C之產物(1.27 g, 2.57 mmol)在 CH_2Cl_2 (30 mL)中之冰冷溶液中滴加入HBr (5.7 M在醋酸中；3 mL)。在室溫下攪拌該反應混合物2 h，在減壓下濃縮並與甲苯(2×15 mL)共蒸發。將所產生之油溶解於乙腈(MeCN)中(15 mL)並滴加至2-胺基-4-氯-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶[製備參看雜環系35: 825 (1993)](433 mg, 2.57 mmol)，KOH (85% 粉末)(0.51 g, 7.7 mmol)，三羥甲基氨基甲烷-[2-(2-甲氧乙氧)乙基]胺(165 μL, 0.51 mmol)於乙腈(30 mL)中之經充分攪拌之混合物中。在室溫下攪拌所生成之混合物1 h，過濾並蒸發之。利用己烷/EtOAc, 5/1, 3/1及2/1，作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化該殘餘物以產生呈無色泡沫之標題化合物(0.65 g)。

五、發明說明 (44)

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

在-78℃下於來自步驟A之產物(630 mg, 1.0 mmol)在CH₂Cl₂ (20 mL)中之溶液中加入三氯化硼(1 M在CH₂Cl₂中)(10 mL, 10 mmol)。在-78℃下攪拌該混合物2 h, 然後在-20℃下攪拌2.5 h。以CH₂Cl₂/MeOH (1:1)(10 mL)中止該反應, 在-20℃下攪拌0.5 h, 並在0℃下以氨水溶液中中和之。將該固體過濾, 以CH₂Cl₂/MeOH (1:1)清洗並在真空下蒸發合併之濾液。以CH₂Cl₂/MeOH, 50/1及20/1, 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化殘餘物以產生呈無色泡沫之標題化合物(250 mg)。

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

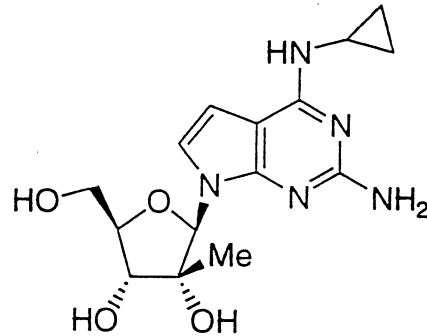
在回流溫度下加熱來自步驟B之產物(90 mg, 0.3 mmol)在NaOH水溶液(2 N, 9 mL)中之混合物5 h, 然後在0℃下以2 N HCl水溶液中中和並經蒸發至乾燥。以CH₂Cl₂/MeOH, 5/1, 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化之以供給呈白色固體之標題化合物(70 mg)。

¹H NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 0.86 (s, 3H), 3.79 (m, 1H), 3.90-4.05 (m, 3H), 6.06 (s, 1H), 6.42 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 3.7 Hz, 1H)。

實例5

2-胺基-4-環丙基胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

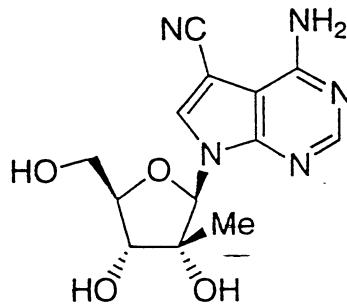
五、發明說明 (45)



在 70 °C 下加熱 2-氨基-4-氯-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶(實例 4, 步驟 B)(21 mg, 0.07 mmol) 在環丙基胺(0.5 mL)中之溶液兩天, 然後將其蒸發成油狀殘餘物並以 CH₂Cl₂/MeOH, 20/1, 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化之以產生呈白色固體之標題化合物(17 mg)。
¹H NMR (200 MHz, CD₃CN): δ 0.61 (m, 2H), 0.81 (m, 2H), 0.85 (s, 3H), 2.83 (m, 1H), 3.74-3.86 (m, 1H), 3.93-4.03 (m, 2H), 4.11 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 6.49 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 3.7 Hz, 1H)。

實例 6

4-氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-5-碳腈

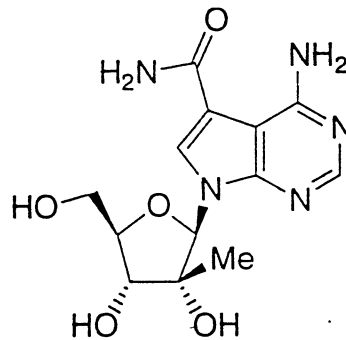


此化合物之製備係依循如下 Y. 穆瑞 (Murai) 等人於 雜環系 33: 391-404 (1992) 中所說明之方法。

五、發明說明 (46)

實例 7

4-氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-5-羧醯胺



此化合物之製備係依循如下-Y.穆瑞(Murai)等人在雜環系33: 391-404 (1992)中所說明之方法。

實例 8

SATE前驅藥物部分之一般製程

S-醯基-2-硫乙基(SATE)原核苷酸係經討論於C.R.華格納(Wagner), V.V.伊爾(Iyer), 及E.J.麥可印提(McIntee), “原核苷酸：關於抗病毒及抗癌核苷酸之活體內遞送”Med. Res. Rev., 20: 1-35 (2000), 其全部內容以參考文獻併入此處。核苷之SATE衍生物亦經揭示於美國專利號碼5,770,725; 5,849,905; 及6,020,482, 其每篇之全部內容以參考文獻併入此處。

雙(S-乙醯基-2-硫乙基)-N,N-二異丙基phosphoramidite

將2-氫硫基乙醇(5 g, 64 mmol)溶解於CH₂Cl₂ (50 mL)中。於此溶液中加入三乙胺(7.67 mL, 57.6 mmol), 並在冰浴中冷卻該反應混合物至0°C。在10分鐘內滴加醋酸酐(4.54 mL, 48 mmol), 且在0°C下攪拌該反應混合物1 h。

五、發明說明 (47)

然後經 2 h 使該反應混合物回溫至室溫。以 CH_2Cl_2 (50 mL) 稀釋該反應混合物，以水 (75 mL)，5% NaHCO_3 水溶液 (75 mL) 及濃鹽水 (75 mL) 清洗。在無水 Na_2SO_4 上乾燥有機相且在真空下濃縮以產生一種油。然後溶解該油於無水 TEE 中 (40 mL) 並加入無水三乙胺 (7.76 mL)。於此混合物中加入經活化之分子篩 (4Å) 並保持在室溫下 10 分鐘。在冰浴中冷卻該反應混合物至 0°C 並加入二氯化二異丙基亞磷醯胺 (6.47 g, 32.03 mmol)。在 0°C 下攪拌該反應混合物 2 h 在惰性]氣壓下。加己烷 (40 mL) 至該反應混合物中並過濾所形成之沉澱。濃縮該濾液至四分之一的體積，裝填至二氧化矽凝膠層析管柱純化且以含有 3% 甲胺及增加量之乙酸乙酯 (0 至 7%) 之己烷溶離之以產生呈油狀之標題化合物 (2.36 g)。

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.17 (s, 6H), 1.21 (s, 6H), 2.36 (s, 6H), 3.14 (t, $J = 6.44$ Hz), 3.51–3.84 (m, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 24.47, 24.61, 30.48, 42.85, 43.1, 61.88, 62.23, 195.26; ^{13}P NMR (CDCl_3): δ 146.96。

實例 95'-三磷酸鹽衍生物

本發明之核苷 5'-三磷酸鹽係依照說明於 Chem. Rev. 100: 2047 (2000) 中之一般方法製備。

實例 105'-三磷酸鹽衍生物之純化及純度分析

利用一 30×100 mm 單 Q 管柱 (Pharmacia) 與 50 mM 三羧甲

五、發明說明 (48)

基氮基甲烷，pH 8緩衝溶液系統以陰離子交換(AX)層析法純化三磷酸鹽衍生物。溶離梯度典型地係自40 mM NaCl至0.8 M NaCl以二倍管柱體積且以流速6.5 mL/分鐘進行。收集來自陰離子交換層析之適當溶離份且藉由逆相(RP)層析法利用Luna C18 250×21 mm管柱(Phenomenex)以流速10 mL/分鐘去鹽。溶離梯度一般而言係在14分鐘內於固定濃度之5 mM三乙基銨醋酸鹽(TEAA)中自1%至95%甲醇。

經純化三磷酸鹽質譜測定係利用在Hewlett-Packard (Palo Alto, CA) MSD 1100上之線上HPLC質量光譜測定法。利用Phenomenex Luna (C18(2))，150×2 mm，加上30×2 mm防護管柱且3 μm顆粒大小，於RP HPLC。順序進行乙腈在20 mM TEAA (三乙基銨醋酸鹽)(pH 7)中之0至50%線性梯度(15分鐘)伴隨在負離子化模型中之質譜偵測。利用氮氣及空氣噴霧器產生電噴霧。取樣質量範圍150-900之樣品。分子質量之測定係利用HP化學站分析套裝軟體。

經純化三磷酸鹽純度之測定係藉由分析RP及AX HPLC。典型地以在100 mM TEAA (pH 7)中之2-70%乙腈梯度在15分鐘內跑具有Phenomonex Luna或Jupiter管柱(250×4.6 mm)且5 μm顆粒大小之RP HPLC。AX HPLC係在1.6×5-mm單Q管柱(Pharmacia)上進行。在固定濃度之50 mM三羥甲基氮基甲烷(pH 8)中以梯度0至0.4 M之NaCl溶離三磷酸鹽。一般而言該三磷酸鹽之純度> 80%。

實例 11

五、發明說明 (49)

5'-單磷酸鹽衍生物

本發明之核苷T-單磷酸鹽係依照如下說明於Tetrahedron Lett. 50: 5065 (1967)中之一般方法製備。

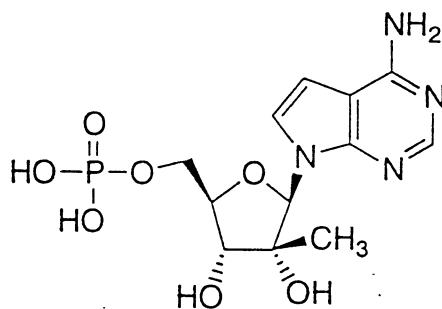
實例125'-三磷酸鹽衍生物質譜之特性描述

本發明化合物之5'-三磷酸鹽質譜之測定係如於實例10中所述。列於下表中的是對於根據實例9方法製備之代表性5'-三磷酸鹽之計算及實驗質量。該等實例號碼相對應於該等T-三磷酸鹽之母化合物。

實例	計算值	實驗值
1	520.0	519.9
2	520.0	520.0
3	534.0	534.0
4	536.0	536.0

實例13

[4-胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]-嘧啶]-5'-單磷酸鹽



於來自實例2步驟F之化合物(14 mg; 0.05 mmol)(藉由與吡啶及數次與甲苯共蒸發乾燥之)中加入三甲基磷酸鹽(0.5 mL)。在密封之容器中攪拌該混合物過夜。然後將其冷卻至0°C並以針筒加入氯化亞磷酸氧(0.0070 mL, 0.075 mmol)

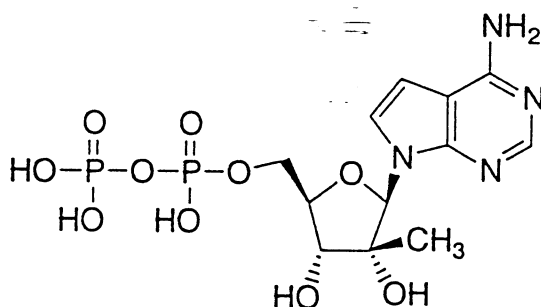
五、發明說明 (50)

。在 0°C 下攪拌該混合物 3 h，然後加入四乙基銨重碳酸鹽 (TEAB)(1 M)(0.5 mL)及水(5 mL)中止反應。純化該反應混合物並根據實例 10 中所述之方法分析之。

電子噴霧質譜 (ES-MS)：實驗值：359.2 ($M-H^+$)，對於 $C_{12}H_{17}N_4O_7P-H^+$ 之計算值：359.1。

實例 14

[4-胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]-嘧啶]-5'-二磷酸鹽



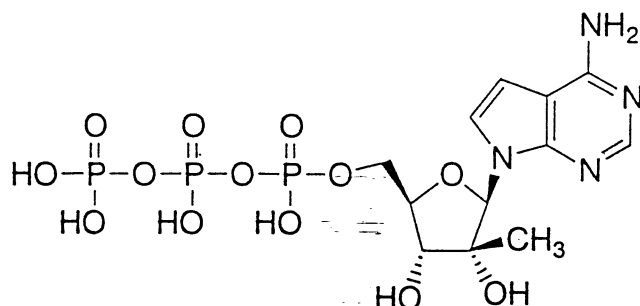
於來自實例 2 步驟 F 之化合物 (56 mg, 0.20 mmol) (藉由與吡啶及數次與甲苯共蒸發乾燥之) 中加入三甲基磷酸鹽 (貯存於篩子上) (1.0 mL)。在密封容器中攪拌該混合物過夜。然後將其冷卻至 0°C 並以針筒加入氯化亞磷酸氧 (0.023 mL, 0.25 mmol)。在 0°C 下攪拌該混合物 2 h，然後加入三丁基胺 (0.238 mL, 1.00 mmol) 及三丁基銨磷酸鹽 (自磷酸及三丁基胺在吡啶中產生，繼而與吡啶及乙腈反覆共沸蒸發) (1.0 mmol 在 3.30 mL 乙腈中)。在 0°C 下再攪拌該混合物 30 分鐘，然後打開該密封之小玻璃瓶並加入 TEAB (1 M) (1.0 mL) 及水 (5 mL) 中止反應。純化該反應混合物並根據實例 10 中所述之方法分析之。

五、發明說明 (51)

ES-MS：實驗值：439.0 ($M-H^+$)，對於 $C_{12}H_{18}N_4O_{10}P_2-H^+$ 之計算值：439.04。

實例 15

[4-胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]-嘧啶]-5'-三磷酸鹽



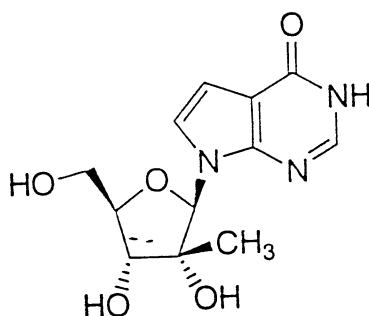
於來自實例2步驟F之化合物(20 mg, 0.07 mmol)(藉由與吡啶及數次與甲苯共蒸發乾燥之)中加入三甲基磷酸鹽(貯存在篩子上)(0.4 mL)。在密封容器中攪拌該混合物過夜。然後將其冷卻至0°C並以針筒加入氯化亞磷酸氧(0.0070 mL, 0.075 mmol)。在0°C下攪拌該混合物3 h，然後加入三丁胺(0.083 mL, 0.35 mmol)，三丁基銨焦磷酸鹽(127 mg, 0.35 mmol)及乙腈(貯存在篩子上)(0.25 mL)。在0°C下再攪拌該混合物30分鐘，打開該密封之小玻璃瓶且加入TEAB(1 M)(0.5 mL)及水(5 mL)中止該反應。純化該反應混合物並根據實例10中所述之方法分析之。

ES-MS：實驗值：519.0 ($M-H^+$)，對於 $C_{12}H_{19}N_4O_{13}P_3-H^+$ 之計算值：519.01。

實例 16

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

五、發明說明 (52)

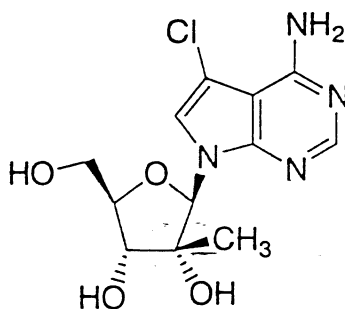


於來自實例2步驟E之化合物(59 mg, 0.18 mmol)中加入氫氧化鈉水溶液(1 M)。加熱該混合物至逆流溫度1 hr, 冷卻, 以HCl水溶液(2 M)中和並在真空下蒸發。利用二氯甲烷/甲醇(4:1)作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化殘餘物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生呈無色油之所需產物(53 mg)。

^1H NMR (CD_3CN): δ 0.70 (s, 3H), 3.34-4.15 (重疊m, 7H), 6.16 (s, 1H), 6.57 (d, 3.6 Hz, 1H), 7.37 (d, 3.6 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H)。

實例 17

4-胺基-5-氯-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2.3-d]嘧啶



於來自實例2步驟F之化合物(140 mg, 0.50 mmol)在DMF (2.5 mL)中之經預冷(0°C)之溶液中滴加入N-氯琥珀

五、發明說明 (53)

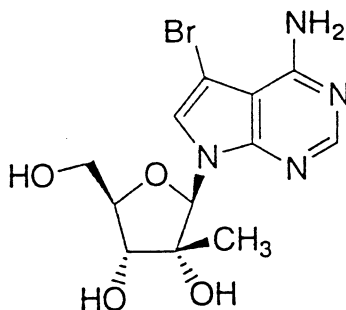
鹽亞胺 (0.075 g, 0.55 mmol) 在 DMF (0.5 mL) 中之溶液。在室溫下攪拌該溶液 1 h 且加入甲醇 (4 mL) 中止該反應並在真空下蒸發之。利用甲醇/二氯甲烷 (1:9) 作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化粗產物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生呈無色固體之所需產物 (55 mg)。

^1H NMR (CD_3CN): δ 0.80 (s, 3H), 3.65-4.14 (重疊 m, 7H), 5.97 (s br, 2H), 6.17 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 8.16 (s, 1H)。

ES-MS: 實驗值: 315.0 ($\text{M}+\text{H}^+$), 對於 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_4+\text{H}^+$ 之計算值: 315.09。

實例 18

4-胺基-5-溴-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



於來自實例 2 步驟 F 之化合物 (28 mg, 0.10 mmol) 在 DMF (0.5 mL) 中之經預冷之溶液 (0°C) 中滴加入 N-氯琥珀鹽亞胺 (0.018 mg, 0.10 mmol) 在 DMF (0.5 mL) 中之溶液。在 0°C 下攪拌該溶液 20 分鐘, 然後在室溫下攪拌 10 分鐘。加入甲醇 (4 mL) 中止該反應並真空下蒸發之。利用甲醇/二氯甲烷 (1:9) 作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化粗產物。集合含有該產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生呈無色固體之所

五、發明說明 (54)

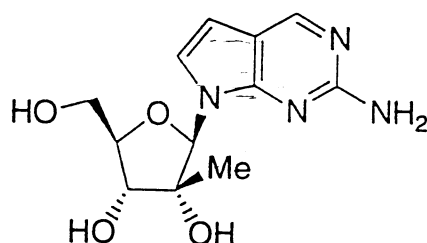
需產物 (13.0 mg)。

^1H NMR (CD_3CN): δ 0.69 (s, 3H), 3.46-4.00 (重疊 m, 7H), 5.83 (s br, 2H), 6.06 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 8.05 (s, 1H)。

ES-MS: 實驗值: 359.1 ($\text{M}+\text{H}^+$), 對於 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}_4+\text{H}^+$ 之計算值: 359.04。

實例 19

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



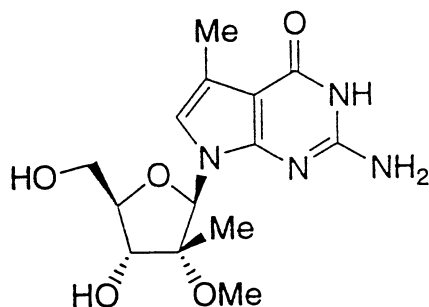
在 H_2 (氣壓) 下且於室溫下攪拌 2-胺基-4-氯-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶 (實例 4, 步驟 B) (20 mg, 0.07 mmol) 於 EtOH (1.0 mL), 吡啶 (0.1 mL) 及 10% Pd/C (6 mg) 中之混合物過夜。將該混合物濾過寅式鹽濾墊並以 EtOH 澈底清洗之。蒸發合併之濾液並以 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 20/1 及 10/1, 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱純化之以產生呈白色固體之標題化合物 (16 mg)。

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD): δ 0.86 (s, 3H, 2'C-Me), 3.82 (dd, $J_{5',4'}=3.6$ Hz, $J_{5',5''}=12.7$ Hz, 1H, H-5'), 3.94-4.03 (m, 2H, H-5', H-4'), 4.10 (d, $J_{3',4'}=8.8$ Hz, 1H, H-3'), 6.02 (s, 1H, H-1'), 6.41 (d, $J_{5,6}=3.8$ Hz, 1H, H-5), 7.39 (d, 1H, H-6), 8.43 (s, 1H, H-4). ES MS: 281.4 (MH^+)。

實例 20

五、發明說明 (55)

2-胺基-5-甲基-7-(2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮



步驟 A： 2-胺基-4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基]-5-甲基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自實例2步驟C之產物(1.57 g, 3.16 mmol)在CH₂Cl₂ (50 mL)中之冰冷溶液中滴加入HBr (5.7 M在醋酸中; 3.3 mL)。在0℃下攪拌該反應混合物1 h且然後在室溫下攪拌2 h, 在真空下濃縮並與甲苯(2×20 mL)共蒸發。將所生成之油溶解於MeCN (20 mL)中並將其滴加至2-胺基-4-氯-5-甲基-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶鈉鹽在乙腈中之溶液中[自2-胺基-4-氯-5-甲基-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶[製備參看 Liebigs Ann. Chem. 1984: 708-721](1.13 g, 6.2 mmol)在無水乙腈(150 mL)中之溶液及NaH (60%在礦物油中, 248 mg, 6.2 mmol)在室溫下劇烈攪拌2 h後就地產生]。在室溫下攪拌合併之該混合物24 h且然後蒸發至乾燥。將該殘餘物懸浮在水(100 mL)中並以EtOAc (300+150 mL)萃取。以濃鹽水(100 mL)清洗合併之萃取物, 在Na₂SO₄上乾燥, 過濾並蒸發。利用乙酸乙酯/己烷(0至30% EtOAc且以5%為一階段之梯度)作為溶

五、發明說明 (56)

離液在二氧化矽凝膠管柱上純化粗產物(5×7 cm)。合併含有該產物之溶離份並在真空下蒸發以產生呈無色泡沫之所需產物(0.96 g)。

步驟B：2-胺基-4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基]-5-甲基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟A之產物(475 mg, 0.7 mmol)在THE (7 mL)中之冰冷混合物中加入NaH (60%在礦物油中, 29 mg)且在0°C下攪拌0.5 h。然後加入MeI(48 μL)且在室溫下攪拌該反應混合物24 h。加入MeOH中止該反應且蒸發該混合物。利用己烷/乙酸乙酯(9/1, 7/1, 5/1及3/1)作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱(5×3.5 cm)上純化粗產物。合併含有該產物之溶離份並蒸發以產生呈無色泡沫之所需化合物(200 mg)。

步驟C：2-胺基-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基]-5-甲基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮

在壓力瓶中且於135°C下加熱來自步驟B之產物(200 mg, 0.3 mmol)在1,4,二噁烷(15 mL)及NaOH水溶液(2 N, 15 mL)中之混合物過夜。然後冷卻該混合物至0°C, 以2 N HCl水溶液中和並蒸發至乾燥。將粗產物懸浮於MeOH中, 過濾, 且以MeOH澈底清洗固體。濃縮合併之濾液, 且利用CH₂Cl₂/MeOH (40/1, 30/1及20/1)作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上(5×5 cm)純化殘餘物以產生呈無色泡沫之所需

五、發明說明 (57)

化合物 (150 mg)。

步驟 D: 2-胺基-5-甲基-7-(2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮

在 Parr 氫化器上於 50 psi 且於室溫下氫化來自步驟 C 之產物 (64 mg, 0.1 mmol) 在 MeOH (5 mL) 及 Et₃N (0.2 mL) 及 10% Pd/C (24 mg) 中之混合物 1.5 天，然後濾過寅式鹽濾墊並以 MeOH 澈底清洗之。蒸發合併之濾液，且以 CH₂Cl₂/MeOH (30/1, 20/1) 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱 (3×4 cm) 上純化殘餘物以產生 2-胺基-5-甲基-7-(5-O-苄基-2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮。該化合物 (37 mg) 經進一步在 EtOH (2 mL) 中以 10% Pd/C 且在氫氣壓下氫化。在室溫下攪拌 2 天後，將該反應混合物濾過寅式鹽，蒸發濾液並以 CH₂Cl₂/MeOH (30/1, 20/1 及 10/1) 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱 (1×7 cm) 上純化粗產物以在冷凍乾燥後產生標題化合物 (12 mg)。

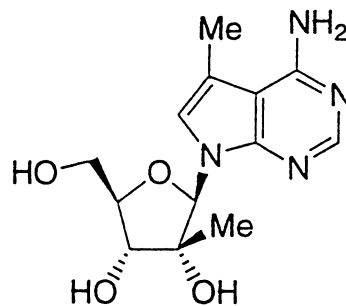
¹H NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 0.81 (s, 3H, 2'-C-Me), 2.16 (d, J_{H-6, C5-Me}=1.3 Hz, 3H, C5-Me), 3.41 (s, 3H, 2'-OMe), 3.67 (dd, J_{5',4'}=3.4 Hz, J_{5',5''}=12.6 Hz, 1H, H-5'), 3.81-3.91 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 6.10 (s, 1H, H-1'), 6.66 (d, 1H, H-6)。

ES MS: 323.3 (M-H)⁺

實例 21

4-胺基-5-甲基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

五、發明說明 (58)



步驟A： 4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基]-5-甲基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自實例2步驟C之產物(1.06 g, 2.1 mmol)在CH₂Cl₂ (30 mL)中之冰冷溶液中滴加入HBr (5.7 M在乙酸中；2.2 mL)。在0°C下攪拌該反應混合物1 h且然後在室溫下攪拌2 h，在真空下濃縮並與甲苯(2×15 mL)共蒸發。經所生成之油溶解於MeCN (10 mL)中並將其滴加至4-氯-5-甲基-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶鈉鹽在乙腈中之溶液中[自4-氯-5-甲基-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶[製備參看J. Med Chem. 33: 1984 (1990)] (0.62 g, 3.7 mmol)在無水乙腈(70 mL)中之溶液及NaH (60%在礦物油中，148 mg, 3.7 mmol)在室溫下劇烈攪拌2 h後就地產生]。在室溫下攪拌合併之該混合物24 h且然後蒸發至乾燥。將殘餘物懸浮於水中(100 mL)並以EtOAc (250+100 mL)萃取。以濃鹽水(50 mL)清洗合併之萃取物，在Na₂SO₄上乾燥，過濾並蒸發。利用己烷/乙酸乙酯(9/1, 5/1, 3/1)梯度作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱(5×5 cm)上純化該粗產物。合併含有該產物之溶離份且在真空下蒸發以產生呈無色泡沫之所需產物(0.87 g)。

步驟B： 4-氯-5-甲基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-

五、發明說明 (59)

吡咯[2,3-d]嘧啶

於-78℃之來自步驟A之化合物(0.87 g, 0.9 mmol)在二氯甲烷(30 mL)中之溶液中滴加入三氯化硼(1 M在二氯甲烷中, 9.0 mL, 9.0 mmol)。在-78℃下攪拌該混合物2.5 h, 然後在-30℃至-20℃下攪拌3 h。加入甲醇/二氯甲烷(1:1)(9 mL)中止反應並在-15℃下攪拌所生成之混合物30分鐘, 然後在0℃以氨水溶液中中和並在室溫下攪拌15分鐘。過濾該固體並以CH₂Cl₂/MeOH (1/1, 50 mL)清洗之。蒸發合併之濾液, 且利用CH₂Cl₂及CH₂Cl₂/MeOH (40/1及30/1)梯度作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱(5×5 cm)上純化殘餘物以提供呈無色泡沫所需之化合物(0.22 g)。

步驟C: 4-胺基-5-甲基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

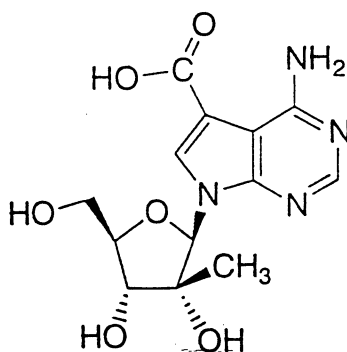
於來自步驟B之化合物(0.2 g, 0.64 mmol)中加入甲醇系氨水(在0℃下飽和; 40 mL)。於不鏽鋼殺菌釜中在100℃下加熱該混合物14 h, 然後冷卻並在真空下蒸發之。以CH₂Cl₂/MeOH (50/1, 30/1, 20/1)梯度作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱(5×5 cm)上純化該粗混合物以產生呈白色固體之標題化合物(0.12 g)。

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.60 (s, 3H, 2'-C-Me), 2.26 (s, 3H, 5C-Me), 3.52-3.61 (m, 1H, H-5'), 3.70-3.88 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 5.00 (s, 1H, 2'-OH), 4.91-4.99 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6.04 (s, 1H, H-1'), 6.48 (br s, 2H, NH₂), 7.12 (s, 1H, H-6), 7.94 (s, 1H, H-2). ES MS: 295.2 (MH⁺)。

五、發明說明 (60)

實例 22

4-胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-5-羧酸



將實例 6 之化合物 (0.035 g, 0.11 mmol) 溶解於氨水溶液 (4 mL, 30 wt%) 與飽和甲醇系氨水 (2 mL) 之混合物中，並加入 H₂O₂ 在水 (2 mL, 35 wt%) 中之溶液。在室溫下攪拌該反應混合物 18 h。在減壓下除去溶劑，且以 HPLC 在逆相管柱 (Altech Altima C-18, 10×299 mm, A=水, B=乙腈, 10 至 60% B in 50 分鐘, 流速 2 mL/分鐘) 上純化所獲得之殘餘物以產生呈白色固體之標題化合物 (0.015 g, 41%)。

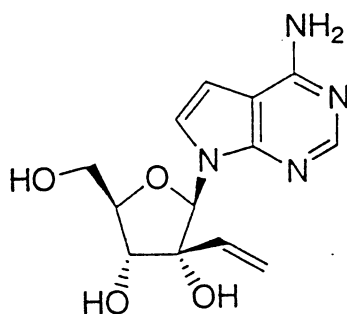
¹H NMR (CD₃OD): δ 0.85 (s, 3H, Me), 3.61 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.99–4.86 (m, 2H), 6.26 (s, 1H), 8.10 (s, 2H), 8.22 (s, 1H), ¹³C NMR (CD₃OD): 20.13, 61.37, 73.79, 80.42, 84.01, 93.00, 102.66, 112.07, 130.07, 151.40, 152.74, 159.12, 169.30。

HRMS (FAB) 對於 C₁₃H₁₇N₄O₆⁺ 之計算值 325.1148, 實驗值 325.1143。

實例 23

4-胺基-7-(2-C-乙烯基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

五、發明說明 (61)



步驟 A： 3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-乙烯基-1-O-甲基-β-D-呋喃核糖

在經預熱之研鉢中氯化銣七水合物 (50 g, 134.2 mmol) 磨成細粉並移至裝置有機械攪拌器之圓底燒瓶中。在 160°C 且高度真空下加熱該燒瓶過夜。在氫氣下釋放真空並冷卻該燒瓶至室溫。將無水 TEF (300 mL) 以導管導至該燒瓶中。在室溫下攪拌所生成之懸浮液 4 h 且然後將其冷卻至 -78°C。在 -78°C 下加入乙烯基溴化鎂 (1 M 在 THF 中, 120 mL, 120 mmol) 並持續攪拌 2 h。於此懸浮液中邊攪拌邊滴加入 3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-1-O-甲基-β-D-赤-呋喃戊糖-2-基糖 (14 g, 30 mmol) [來自實例 2 之步驟 B] 在無水 TEF (100 mL) 中之溶液中。在 -78°C 下攪拌該反應物 4 h。以飽和氯化銨溶液中止該反應並使其回溫至室溫。將該混合物率過一寅式鹽濾墊且以 Et₂O (2×500 mL) 清洗殘餘物。分離有機層並以 Et₂O (2×200 mL) 萃取水溶液層。在無水 NaSO₄ 上乾燥合併之有機層並濃縮成黏性黃油。以快速層析法 (SiO₂, 10% EtOAc 在己烷中) 純化該油。獲得呈淡黃色油之標題化合物 (6.7 g, 13.2 mmol)。

步驟 B： 4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-乙烯

五、發明說明 (62)

基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在 -20°C 下於來自步驟A之化合物(6.4 g, 12.6 mmol)在無水二氯甲烷(150 mL)中之溶液中滴加入HBr (30%溶液在AcOH中, 20 mL, 75.6 mmol)。在介於 -10°C 與 0°C 下攪拌所生成之溶液4 h, 在真空下蒸發並與無水甲苯(3×40 mL)共蒸發。將該油狀殘餘物溶解於無水乙腈中(100 mL)並加至 -20°C 之4-氯-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶鈉鹽(5.8 g, 37.8 mmol)在乙腈中之溶液中(如於實例2中所述就地產生)。使生成之混合物回溫至室溫並在室溫下攪拌24 h。然後蒸發該混合物至乾燥, 置入水中並以EtOAc (2×300 mL)萃取之。在 Na_2SO_4 上乾燥合併之萃取物, 過濾並蒸發。以快速層析法(SiO_2 , 10% EtOAc在己烷中)純化該粗混合物並純化成呈白色泡沫之標題化合物(1.75 g)。

步驟C: 4-胺基-7-[3,5-雙-O-二氯苯基甲基]-2-C-乙烯基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

將來自步驟B之化合物(80 mg)溶解於最小量之1,4-二噁烷中並置於不鏽鋼彈內。將該彈冷卻至 -78°C 並加入液態氨水。密封該彈並於 90°C 下加熱24 h。蒸發氨水並濃縮殘餘物成白色固體, 其不經進一步純化而直接利用於下一步驟。

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

在 -78°C 下於來自步驟C之化合物(60 mg)在二氯甲烷中之溶液中滴加入三氯化硼(1 M在二氯甲烷中)。在 -78°C 下

五、發明說明 (63)

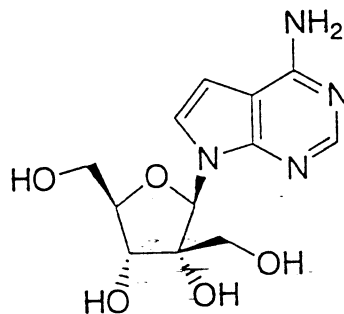
攪拌該混合物 2.5 h，然後在 -30°C 至 -20°C 下攪拌 3 h。加入甲醇/二氯甲烷(1:1)中止該反應並在 -15°C 下攪拌所生成之混合物 0.5 h，然後在 0°C 下以氨水溶液中和之並在室溫下攪拌 15 分鐘。過濾固體並以甲醇/二氯甲烷(1:1)清洗至之。蒸發合併之濾液並以層析法(SiO_2 ，10% 甲醇在含有 0.1% 三乙胺之 EtOAc 中)純化殘餘物。蒸發含有該產物之溶離份以產生呈白色固體之標題化合物(10 mg)。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 3.6 (m, 1H, H-5'), 3.8 (m, 1H, H-5''), 3.9 (m d, 1-H, H-4'), 4.3 (t, 1H, H-3'), 4.8-5.3 (m, 6H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6.12 (s, 1H, H-1'), 6.59 (d, 1H, H-5), 7.1 (br s, 1H, NH_2), 7.43 (d, 1H, H-6), 8.01 (s, 1H, H-2)。

ES-MS：實驗值：291.1 ($\text{M}-\text{H}^-$)；對於 $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4-\text{H}^-$ 之計算值：291.2。

實例 24

4-氨基-7-(2-C-羥基甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



步驟 A：4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-羥基甲基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

五、發明說明 (64)

於來自實例 23 步驟 B 之化合物 (300 mg, 0.48 mmol) 在 1,4-二噁烷 (5 mL) 中之溶液中加入 N-甲基嗎啉-N-氧化物 (300 mg, 2.56 mmol) 及四氧化銨 (4% 水溶液, 0.3 mL)。避光攪拌該混合物 14 h, 將其濾過一寅式鹽塞以除去沉澱物, 以水稀釋 (3x), 並以 EtOAc 萃取。在 Na₂SO₄ 上乾燥 EtOAc 層並在真空下濃縮。將油狀殘餘物置入二氯甲烷 (5 mL) 中並在二氧化矽凝膠上之 NaIO₄ (3 g, 10% NaIO₄) 上攪拌 12 h。過濾除去二氧化矽凝膠且蒸發該殘餘物並將其置入純酒精 (5 mL) 中。在冰浴中冷卻該溶液並分次小量加入硼氫化鈉 (300 mg, 8 mmol)。在室溫下攪拌所生成之混合物 4 h 且然後以 EtOAc 稀釋之。以水 (2×20 mL), 濃鹽水 (20 mL) 清洗有機層並在 Na₂SO₄ 上乾燥。蒸發溶劑並以快速層析法 (SiO₂, 2:1 己烷/EtOAc) 純化殘餘物以產生呈白色薄片之標題化合物 (160 mg, 0.25 mmol)。

步驟 B: 4-胺基-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-羥基甲基-β-D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

將來自步驟 A 之化合物 (150 mg, 0.23 mmol) 溶解於最小量之 1,4-二噁烷 (10 mL) 中並將其置於不鏽鋼彈內。冷卻該彈至 -78°C 並加入液態氨水。密封該彈並在 90°C 下加熱 24 h。蒸發氨水並濃縮殘餘物成白色固體, 其不經進一步純化而直接利用於下一步驟。

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

將來自步驟 B 之化合物 (120 mg, 0.2 mmol) 溶解於 1:1 甲

五、發明說明 (65)

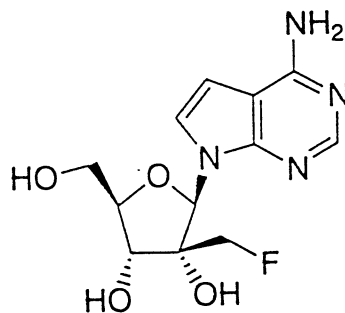
醇/二氯甲烷中，加入10% Pd/C，並在H₂氣壓下攪拌該懸浮液12 h。將其濾過一寅式鹽濾墊以除去該觸媒並以大量甲醇清洗之。在真空下蒸發合併之濾液且以快速層析法(SiO₂，10%甲醇在含有0.1%三乙胺之EtOAc中)純化殘餘物以產生呈白色粉末之標題化合物(50 mg)。

¹H NMR (CD₃OD): δ 3.12 (d, 1H, CH₂'), 3.33 (d, 1H, CH₂"'), 3.82 (m, 1H, H-5'), 3.99-4.1 (m, 2H, H-4', H-5"), 4.3 (d, 1H, H-3'), 6.2 (s, 1H, H-1'), 6.58 (d, 1H, H-5), 7.45 (d, 1H, H-6), 8.05 (s, 1H, H-2)。

LC-MS：實驗值：297.2 (M+H⁺)；對於C₁₂H₁₆N₄O₅+H⁺之計算值：297.3。

實例 25

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



步驟 A： 4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-氟甲基-β-D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在氬氣下於來自實例24步驟A之化合物(63 mg, 0.1 mmol)於無水二氯甲烷(5 mL)中之溶液中加入4,二甲基胺基吡啶(DMAP)(2 mg, 0.015 mmol)及三乙胺(62 μL, 0.45 mmole)。在冰浴中冷卻該溶液並加入氯化p-甲苯磺醯基(30 mg,

五、發明說明 (66)

0.15 mmol)。在室溫下攪拌該反應物過夜，以 NaHCO_3 (2×10 mL)，水(10 mL)，濃鹽水(10 mL)清洗，在 Na_2SO_4 上乾燥並在真空下將其濃縮成粉紅色固體。將該固體溶解於無水THF中(5 mL)並在冰浴中冷卻之。加入氯化四丁基銨(1 M在THF中之溶液，1 mL，1 mmol)並在室溫下攪拌該混合物4 h。在真空下除去溶劑，將殘餘物置入二氯甲烷中，並以 NaHCO_3 (2×10 mL)，水(10 mL)及濃鹽水(10 mL)清洗之。在無水 Na_2SO_4 上乾燥二氯甲烷層，在真空下濃縮，並以快速層析法(SiO_2 ，2:1之己烷/EtOAc)純化之以供給呈白色固體之標題化合物(20 mg)。

步驟B： 4-胺基-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C-氟甲基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

將來自步驟A之化合物(18 mg，0.03 mmol)溶解於最小量之1,4-二噁烷且將其置於不鏽鋼彈中。將該彈冷卻至 -78°C 並加入液態氨水。密封該彈並在 90°C 加熱24 h。蒸發氨水並濃縮殘餘物成白色固體，其不經進一步純化而直接利用於下一步驟。

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

將來自步驟B之化合物(16 mg)溶解於1:1甲醇/二氯甲烷，加入10% Pd/C，並在 H_2 氣壓下攪拌該懸浮液12 h。將其濾過一寅式鹽濾墊以除去該觸媒並以大量甲醇清洗之。在真空下蒸發合併之濾液並以快速層析法(SiO_2 ，10%甲醇在含有0.1%甲胺之EtOAc中)純化殘餘物以產生呈白色粉末之

五、發明說明 (67)

標題化合物 (8 mg)。

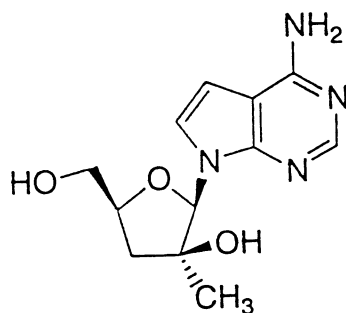
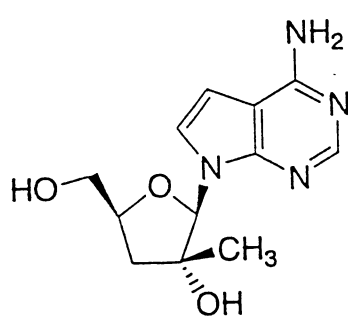
^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 3.6-3.7 (m, 1H, H-5'), 3.8-4.3 (m, 5H, H-5'', H-4', H-3', CH_2) 5.12 (t, 1H, 5'-OH), 5.35 (d, 1H, 3'-OH), 5.48 (s, 1H, 2'-OH), 6.21 (s, 1H, H-1'), 6.52 (d, 1H, H-5), 6.98 (br s, 2H, NH_2), 7.44 (d, 1H, H-6), 8.02 (s, 1H, H-2)。

^{19}F NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ -230.2 (t)。

ES-MS: 實驗值: 299.1 ($\text{M}+\text{H}^+$), 對於 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{FN}_4\text{O}_4+\text{H}^+$ 之計算值: 299.27。

實例 26 及 27

4-胺基-7-(3-去氧-2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯
[2,3-d]嘧啶及 4-胺基-7-(3-去氧-2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯
糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



步驟 A: 7-[2,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶及 7-[3,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於殺結核菌素 (5.0 g, 18.7 mmol) 在吡啶 (75 mL) 及 DMF (18.5 mL) 混合物中之經攪拌溶液中加入硝酸銀 (6.36 g,

五、發明說明 (68)

38.8 mmol)。在室溫下攪拌此混合物2 h。在冰浴中冷卻之並加入THF (37.4 mL)及氯化第三-丁基二甲基矽烷基(5.6 g, 37 mmol)且於室溫下攪拌該混合物2 h。然後將該混合物濾過寅式鹽並以THF清洗之。以含小量氯仿之醚稀釋該濾液及洗液。連續以重碳酸鈉及水(3×50 mL)清洗有機層，在無水硫酸鈉上乾燥及濃縮。與甲苯共蒸發以除去吡啶並以快速層析法利用5-7% MeOH在CH₂Cl₂中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化殘餘物；產量3.0 g。

步驟B：7-[2,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-β-D-呋喃核糖基]-4-[二-(4-甲氧基)苯基甲基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶及7-[3,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-β-D-呋喃核糖基]-4-[二-(4-甲氧基)苯基甲基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟A之化合物之混合物(3.0 g, 6.0 mmol)在無水吡啶(30 mL)中之溶液中加入氯化4,4'-二甲氧三苯甲基(2.8 g, 8.2 mmol)並在室溫下攪拌該反應混合物過夜。然後以吡啶水溶液搗碎該混合物並以醚萃取。以水清洗有機層，在無水硫酸鈉上乾燥並將其濃縮成黃色泡沫(5.6 g)。以快速層析法利用20-25% EtOAc在己烷中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化殘餘物。收集適當之溶離份並濃縮之以提供呈無色泡沫之經2',5'-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-及3',5'-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)保護之核苷(分別為2.2 g及1.0 g)。

步驟C：7-[2,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-3-O-甲苯

五、發明說明 (69)

磺醯基- β -D-呋喃核糖基]-4-[二-(4-甲氧苯基)苯基甲基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟B之經2',5'-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)保護之核苷(2.0 g, 2.5 mmol)於吡啶(22 mL)中之冰冷溶液中加入氯化p-甲苯磺醯基(1.9 g, 9.8 mmol)。在室溫下攪拌該反應混合物四天。然後以吡啶水溶液(50%, 10 mL)搗碎之並以含有小量CH₂Cl₂ (10 mL)之醚(3×50 mL)萃取之。以重碳酸鈉及水(3×30 mL)清洗有機層。在無水Na₂SO₄上乾燥有機層並濃縮之。與甲苯(3×25 mL)共蒸發以除去吡啶。利用己烷：乙酸乙酯(70:30)作為溶離液將殘留的油濾過二氧化矽凝膠濾墊；產量1.4 g。

步驟D： 4-[二-(4-甲氧苯基)苯基甲基]胺基-7-[3-O-甲苯磺醯基]- β -D-呋喃核糖基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

將來自步驟C之化合物(1.0 g, 1.1 mmol)及THF (10 mL)之溶液與氯化四丁基銨(1 M在THF中之溶液, 2.5 mL)攪拌0.5 h。冷卻該混合物並以醚(50 mL)稀釋之。以水(3×50 mL)清洗該溶液，在無水Na₂SO₄上乾燥，並將其濃縮成油。利用己烷：乙酸乙酯(1:1)作為溶離液藉由使其通過二氧化矽凝膠墊純化該殘餘物；產量780 mg。

步驟E： 4-胺基-7-(3-去氧-2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]-嘧啶及4-胺基-7-O-去氧-2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯-[2,3-d]嘧啶

在冰浴中冷卻CH₃MgI (3.0 M在醚中之溶液, 3.0 mL)在無水甲苯(3.75 mL)中之溶液。於此溶液中加入來自步驟D

五、發明說明 (70)

之化合物(500 mg, 0.8 mmol)在無水甲苯(3.7 mL)中之溶液。在室溫下攪拌所產生之混合物3.5 h。冷卻之並以NH₄Cl水溶液處理且以醚(50 mL, 其含有10 mL之CH₂Cl₂)萃取之。分離出有機層並以濃鹽水(2×30 mL)及水(2×25 mL)清洗之, 在無水Na₂SO₄上乾燥並將其濃縮成油, 以快速層析法利用4% MeOH在CH₂Cl₂中之溶液在二氧化矽凝膠上純化之以提供2-C-β-甲基化合物(149 mg)及2-C-β-甲基化合物(34 mg)。以80%乙酸分別處理這些衍生物並在室溫下攪拌反應混合物2.5 h。反覆與乙醇及甲苯共蒸發以除去乙酸。將殘餘物在氯仿和水之間分溶。以氯仿清洗水溶液層並濃縮之。利用5-10% MeOH在CH₂Cl₂中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化經蒸發之殘餘物以提供呈白色固體之所需化合物。

4-胺基-7-(3-去氧-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶(9.0 mg):

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.74 (s, 3H, CH₃), 1.77 (dd, 1H, H-3'), 2.08 (t, 1H, H-3''), 3.59 (m, 1H, H-5'), 3.73 (m, 1H, H-5''), 4.15 (m, 1H, H-4'), 5.02 (t, 1H, OH-5'), 5.33 (s, 1H, OH-2'), 6.00 (s, 1H, H-1'), 6.54 (d, 1H, H-7), 6.95 (br s, 2H, NH₂), 7.47 (d, 1H, H-8), 8.00 (s, 1H, H-2); ES-MS: 263.1 [M-H]。

4-胺基-7-(3-去氧-2-C-甲基-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶(15 mg):

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.23 (s, 3H, CH₃), 2.08 (ddd, 2H,

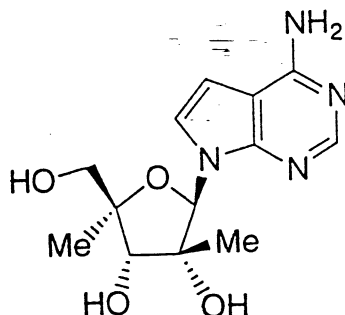
五、發明說明 (71)

H-3'及3"), 3.57 (m, 2H, H-5'及5"), 4.06 (m, 1H, H-4), 5.10 (s, 1H, OH-2'), 5.24 (t, 1H, OH-5'), 6.01 (s, 1H, H-1'), 6.49 (d, 1H, H-7), 6.89 (br s, 2H, NH₂), 7.35 (d, 1H, H-8), 8.01 (s, 1H, H-2)。

ES-MS: 265.2 [M+H]。

實例 28

4-胺基-7-(2,4-C-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

步驟 A: 5-去氧-1,2-O-亞異丙基-D-呋喃木糖

將1,2-O-亞異丙基-D-呋喃木糖(38.4 g, 0.2 mol), 4-二甲基胺基吡啶(5 g), 三乙胺(55.7 mL 0.4 mol)溶解於二氯甲烷(300 mL)中。加入氯化p-甲苯磺醯基(38.13 g, 0.2 mol)並在室溫下攪拌該反應混合物2 h。然後將該反應混合物倒入飽和重碳酸鈉水溶液中(500 mL)並將兩層分離。以檸檬酸水溶液(20%, 200 mL)清洗有機層, 乾燥(Na₂SO₄)並蒸發之以產生一固體(70.0 g)。將該固體溶解於無水THF(300 mL)並在30分鐘期間分次加入LiAlH₄ (16.0 g, 0.42 mol)。在室溫下攪拌該混合物15 (分鐘)。在30分鐘期間滴加入乙酸乙酯(100 mL)並將該混合物濾過二氧化矽凝膠床。濃

五、發明說明 (72)

縮濾液並在二氧化矽凝膠(EtOAc/己烷1/4)上層析所產生之油以供給呈固體之產物(32.5 g)。

步驟B： 3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-1-O-甲基-4-甲基-β-D-呋喃核糖

於冰水浴中將氧化鉻(50 g, 0.5 mol)，醋酸酐(50 mL, 0.53 mol)及吡啶(100 mL, 1.24 mol)添加至二氯甲烷(1 L)中並攪拌該混合物15分鐘。加入5-去氧-1,2-O-亞異丙基-D-呋喃木糖(32 g, 0.18 mol)在二氯甲烷(200 mL)中之溶液，並在相同溫度下攪拌該混合物30分鐘。以乙酸乙酯(1 L)稀釋該反應溶液並將其濾過二氧化矽凝膠床。濃縮該濾液以產生黃色油。將該油溶解於1,4-二噁烷(1 L)及甲醛(37%，200 mL)中。冷卻該溶液至0°C並加入固態KOH(50 g)。在室溫下攪拌該混合物過夜且然後以乙酸乙酯(6×200 mL)萃取。濃縮後，在二氧化矽凝膠(EtOAc)上層析殘餘物以供給呈油之產物(1.5 g)。將該油溶解於1-甲基-2-吡咯啉酮(20 mL)及氯化2,4-二氯苯基甲基(4 g, 20.5 mmol)中並加入NaH(60%，0.8 g)。攪拌該混合物過夜並以甲苯(100 mL)稀釋之。然後以飽和重碳酸鈉水溶液(3×50 mL)清洗該混合物，乾燥(Na₂SO₄)並蒸發之。將殘餘物溶解於甲醇(50 mL)中並加入HCl於二噁烷(4 M, 2 mL)中之溶液。攪拌該溶液過夜並蒸發之。在二氧化矽凝膠(EtOAc/己烷：1/4)上層析殘餘物以供給呈油之所需產物(2.01 g)。

步驟C： 3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2,4-二-C-甲基-1-O-甲基-β-D-呋喃核糖

五、發明說明 (73)

在室溫下攪拌來自步驟B之產物(2.0 g, 4.0 mmol)與迪斯-馬丁(Dess-Martin) periodinane (2.0 g)在二氯甲烷(30 mL)中之溶液過夜且然後在減壓下濃縮之。以乙醚(50 mL)搗碎殘餘物並過濾之。以 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (2.5 g)在飽和重碳酸鈉水溶液(50 mL)中之溶液清洗濾液，乾燥(MgSO_4)，過濾並蒸發之。將殘餘物溶解於無水 Et_2O (20 mL)中並在 -78°C 下滴加至 MeMgBr 在 Et_2O (3 M, 10 mL)中之溶液中。使該反應混合物升溫至 -30°C 並在 -30°C 至 -15°C 下攪拌5 h，然後將其倒入飽和氯化銨水溶液中(50 mL)，將兩層分離並乾燥有機層(MgSO_4)，過濾並濃縮。於二氧化矽凝膠上層析殘餘物(EtOAc /己烷：1/9)以供給呈糖漿之標題化合物(1.40 g)。

步驟D：4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2,4-二-C-甲基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟C之化合物中(0.70 g, 1.3 mmol)加入 HBr (5.7 M在乙酸中, 2 mL)。在室溫下攪拌所生成之溶液1 h，在真空下蒸發之並與無水甲苯共蒸發(3×10 mL)。將4-氯-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶(0.5 g, 3.3 mmol)及粉末 KOH (85%, 150 mg, 2.3 mmol)在1-甲基-2-吡咯啉酮(5 mL)中攪拌30分鐘並將該混合物與甲苯(10 mL)共蒸發。將所生成之溶液倒入上述溴糖殘餘物並攪拌該混合物過夜。以甲苯(50 mL)稀釋該混合物，以水(3×50 mL)清洗並在減壓下濃縮之。在二氧化矽凝膠上以 EtOAc /己烷(15/85)溶離層析殘餘物以供給一固體(270 mg)。

五、發明說明 (74)

步驟E: 4-胺基-7-(2,4-C-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在不鏽鋼殺菌釜中將來自步驟D之化合物(270 mg)溶解於二噁烷(2 mL)中並加入液態氨水(20 g)。在100°C加熱該混合物15分鐘，然後冷卻並蒸發之。將殘餘物於二氧化矽凝膠(EtOAc)層析以供給一固體(200 mg)。在H₂下振盪(30 psi)該固體(150 mg)及Pd/C (10% 150 mg)在甲醇(20 mL)中之溶液3 h，過濾並蒸發之。在二氧化矽凝膠(MeOH/CH₂Cl₂ : 1/9)上層析殘餘物以供給呈固體之所需產物(35 mg)。

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.65 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 3.43 (m, 2H), 4.06 (d, 1H, J 6.3 Hz), 4.87 (s, 1H), 5.26 (br, 1H), 5.08 (d, 1H, J 6.3 Hz), 5.25 (t, 1H, J 3.0 Hz), 6.17 (s, 1H), 6.54 (d, 1H, J 3.5 Hz), 6.97 (s, br, 2H), 7.54 (d, 1H, J 3.4 Hz), 8.02 (s, 1H)。

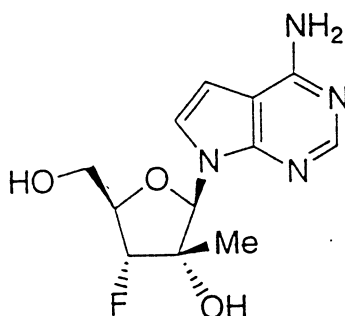
¹³C NMR (DMSO-d₆): δ 18.19, 21.32, 65.38, 73.00, 79.33, 84.80, 90.66, 99.09, 102.41, 121.90, 149.58, 151.48, 157.38。

LC-MS: 實驗值: 295.1 (M+H⁺); 對於C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺之計算值: 295.1。

實例 29

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

五、發明說明 (75)



步驟 A： 3-去氧-3-氟-1-O-甲基-5-O-甲基甲醯基-β-D-呋喃核糖

攪拌 1,2-O-亞異丙基-D-呋喃木糖 (9.0 g, 50 mmol) 與氯化 p-甲 苯 甲 醯 基 (7.0 mL, 50 mmol) 在吡啶 (50 mL) 中之溶液 30 分鐘。加入水 (10 mL) 並在減壓下濃縮該混合物。將殘餘物溶解於甲 苯 中 (500 mL) 並以水 (200 mL) 及飽和重碳酸鈉水溶液 (200 mL) 清洗該溶液。將兩層分離並蒸發有機層。將殘餘物溶解於甲 醇 (100 mL) 中並加入 HCl 在二噁烷 (4 M, 10 mL) 中之溶液。在室溫下攪拌該混合物過夜且在減壓下蒸發之。將所生成之油在二氧化矽凝膠 (EtOAc/己 烷：1/1) 上層析以供給一油 (10.1 g)。將該油溶解於二氯甲 烷 (100 mL) 中並加入氟化二乙胺基硫三 (DAST) (5.7 mL)。攪拌該混合物過夜且然後倒入飽和重碳酸鈉水溶液 (100 mL) 中。以甲 苯 萃取該混合物 (2×50 mL) 並濃縮合併之有機層。在二氧化矽凝膠 (EtOAc/己 烷：15/85) 上層析殘餘物以供給呈油脂標題化合物 (1.50 g)。

步驟 B： 3-去氧-3-氟-2-C-甲基-1-O-甲基-5-O-甲 苯 甲 醯 基-β-D-呋喃核糖

在室溫下攪拌來自步驟 A 之產物 (1.0 g, 3.5 mmol) 及迪

五、發明說明 (76)

斯-馬丁(Dess-Martin) periodinane (2.5 g)在二氯甲烷(20 mL)中之溶液過夜且然後在減壓下濃縮之。以乙醚(50 mL)搗碎殘餘物並過濾之。以 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (12.5 g)在飽和重碳酸鈉水溶液(100 mL)中之溶液清洗濾液，乾燥(MgSO_4)，過濾並蒸發之。將殘餘物溶解於無水THF (50 mL)中。在 -78°C 下加入 TiCl_4 (3 mL)與甲基溴化鎂在乙醚(3 M, 10 mL)中之溶液並在 -50 至 -30°C 下攪拌該混合物2 h。將該混合物倒入飽和重碳酸鈉水溶液(100 mL)中並將其濾過寅式鹽。以甲苯(100 mL)萃取該濾液並蒸發之。將殘餘物在二氧化矽凝膠(EtOAc/己烷：15/85)上層析以得到呈油狀之標題化合物(150 mg)。

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

將來自步驟B之產物(150 mg, 0.5 mmol)溶解於HBr (30%)在乙酸(2 mL)中之溶液中。一小時後，在減壓下蒸發該混合物並將其與甲苯(10 mL)共蒸發。將4-氟-1H-吡咯[2,3-d]嘧啶(0.5 g, 3.3 mmol)與KOH (85%, 150 mg, 2.3 mmol)粉末在DMF (3 mL)中攪拌30分鐘並將該混合物與甲苯(2 mL)共蒸發。將所生成之溶液倒入上述溴糖中並攪拌該混合物過夜。以甲苯(50 mL)稀釋該混合物，以水(3×50 mL)清洗並在減壓下濃縮之。在二氧化矽凝膠(EtOAc/己烷：15/85)上層析殘餘物以供給一油(60 mg)。於不鏽鋼殺菌釜中將該油溶解於二噁烷(2 mL)中並加入液態氨水(20 g)。在 85°C 下加熱該混合物18 h，然後冷卻並

五、發明說明 (77)

蒸發之。在二氧化矽凝膠(甲醇/二氯甲烷：1/9)上層析殘餘物以供給呈固體之標題化合物(29 mg)。

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 0.81 (s, 3H), 3.75 (m, 2H), 4.16 (m, 1H), 5.09 (dd, 1H, J 53.2, 7.8 Hz), 5.26 (br, 1H), 5.77 (s, 1H), 6.15 (d, 1H, J 2.9 Hz), 6.59 (d, 1H, J 3.4 Hz), 7.02 (s br, 2H), 7.39 (d, 1H, J 3.4 Hz), 8.06 (s, 1H)。

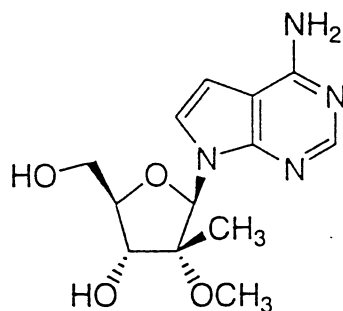
^{13}C NMR (DMSO- d_6): 19.40, 59.56, 77.24, 79.29, 90.15, 91.92, 99.88, 102.39, 121.17, 149.80, 151.77, 157.47。

^{19}F NMR (DMSO- d_6): δ 14.66-(m)。

ES-MS：實驗值：283.1 ($\text{M}+\text{H}^+$)；對於 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{FN}_4\text{O}_3+\text{H}^+$ 之計算值：283.1。

實例 30

4-氨基-7-(2-C,2-O-二甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



步驟 A：4-氯-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C,2-O-二甲基- β -D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自實例2步驟D之化合物(618 mg, 1.0 mmol)在THF(8 mL)中之經預冷(0°C)溶液中加入碘化甲基(709 mg, 5.0 mmol)及NaH(60%在礦物油中)(44 mg, 1.1 mmol)。在

五、發明說明 (78)

室溫下攪拌所生成之混合物過夜且然後倒入飽和氯化銨水溶液(50 mL)及二氯甲烷(50 mL)之經攪伴混合物。以水(50 mL)清洗有機層，乾燥(MgSO₄)並在真空下蒸發之。利用乙酸乙酯/己烷作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化所生成之粗產物。集合含有該產物之溶離份且在真空下蒸發以產生呈無色泡沫之所需產物(735 mg)。

步驟B：4-胺基-7-[3,5-雙-O-(2,4-二氯苯基甲基)-2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基]-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟A之化合物(735 mg, 1.16 mmol)中加入甲醇系氨水(在0°C下飽和)(20 mL)。於不鏽鋼殺菌釜中在80°C下加熱該混合物過夜，然後冷卻之並在真空下蒸發該內容物。利用乙酸乙酯/己烷作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗混合物。合併含有該產物之溶離份且在真空下蒸發之以產生溶離液。含並含有該產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生呈無色泡沫之所需產物(504 mg)。

步驟C：4-胺基-7-(2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在Parr氫化器上於50 psi且於室溫下氫化來自步驟C之產物(64 mg, 0.1 mmol)，MeOH (5 mol)，Et₃N (0.2 mL)及10% Pd/C (61 mg)之混合物過夜。將該混合物濾過-寅式鹽，在真空下蒸發並利用2%甲醇在二氯甲烷中之溶液作為溶離液將其濾過二氧化矽凝膠濾墊。收集所需之產物並在真空下蒸發之。將該化合物再溶解於甲醇(10 mL)中並加入10% Pd/C (61 mg)。在Parr氫化器上於55 psi且於室溫下

五、發明說明 (79)

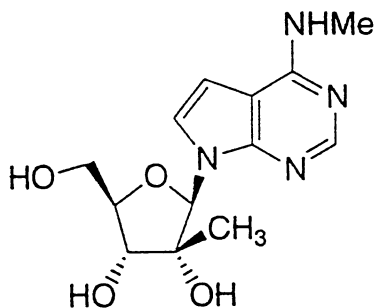
氫化該混合物兩週。將該混合物濾過寅式鹽，在真空下蒸發並利用10%甲醇在二氯甲烷中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化之。合併含有該產物之溶離份且在真空下蒸發之以產生呈無色泡沫之所需產物(110 mg)。

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 0.68 (s, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.52-3.99 (重疊 m, 4H), 4.92 (d, 1H), 5.07 (t, 1H), 6.26 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 7.00 (s br, 2H), 7.46 (d, 1H), 8.05 (s, 1H)。

LC-MS: 實驗值: 293.1 ($\text{M}-\text{H}^+$); 對於 $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4-\text{H}^+$ 之計算值: 293.12。

實例 31

4-甲基氨基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



將來自實例2步驟E之化合物(200 mg, 0.67 mmol)添加至甲胺(5 mL, 經於小型不鏽鋼殺菌釜中濃縮)並在85°C下加溫48 h, 然後冷卻並在真空下蒸發。在二氧化矽凝膠上純化該粗混合物, 用乙醇作為溶離液以產生標題化合物, 其在經以MeCN處理後以非結晶形固體分離出。將該非結晶形固體溶解於水中並冷凍乾燥以產生無色粉末(144 mg)。

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 0.63 (s, 3H, CH_3), 3.32 (s, 3H, N

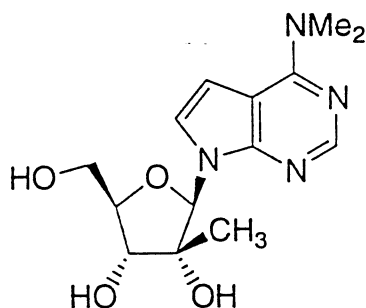
五、發明說明 (80)

CH₃), 3.58-3.67 (m, 1H, H-5'), 3.79-3.39 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 5.03 (s, 1H, 2'-OH), 5.04-5.11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6.14 (s, 1H, H-1'), 6.58 (d, 1H, J_{5,6}=3.6 Hz, H-5), 7.46 (d, 1H, H-6), 7.70 (br s, 1H, NH), 8.14 (s, 1H, H-2)。

LC-MS：實驗值：295.1 (M-H⁺)；對於C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺之計算值：294.3。

實例 32

4-二甲基氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2.3-d]嘧啶



將來自實例2步驟E之化合物(200 mg, 0.67 mmol)添加至二甲胺(5 mL, 經於小型不鏽鋼殺菌釜中濃縮)並在85°C下加溫48 h, 然後冷卻並在真空下蒸發。以乙醇作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗混合物以產生標題化合物, 其在以MeCN處理後呈非結晶形固體分離出。將該非結晶形固體溶解於水中並冷凍乾燥之以產生無色粉末(164 mg)。

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.64 (s, 3H, CH₃), 3.29 (s, 3H, N CH₃), 3.32 (s, 3H, N CH₃), 3.60-3.66 (m, 1H, H-5'), 3.77-3.97 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 5.04 (s, 1H, 2'-OH), 5.06-5.11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6.21 (s, 1H, H-1'), 6.69 (d,

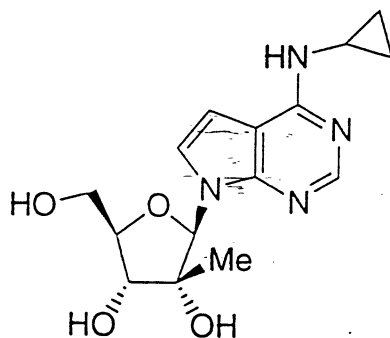
五、發明說明 (81)

1H, $J_{5,6}=3.6$ Hz, H-5), 7.55 (d, 1H, H-6), 8.13 (s, 1H, H-2)。

LC-MS：實驗值：309.3 ($M-H^+$)；對於 $C_{14}H_{20}N_4O_4+H^+$ 之計算：308.33。

實例 33

4-環丙基胺基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2.3-d]嘧啶



將來自實例 2 步驟 E 之化合物 (200 mg, 0.67 mmol) 添加至環丙胺 (5 mL, 經於小型不鏽鋼殺菌釜中濃縮) 並在 85°C 下加溫 48 h, 然後冷卻並在真空下蒸發。以乙醇作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化該粗混合物以產生標題化合物, 其在經以 MeCN 處理後以非結晶形固體分離出。溶解該非結晶形固體於水中並冷凍乾燥之以產生無色粉末 (148 mg)。

1H NMR ($DMSO-d_6$): δ 0.51-0.58 (m, 2H), 0.64 (s, 3H, CH_3), 0.74-0.076 (m, 2H), 3.62-3.67 (m, 1H, H-5'), 3.79-3.82 (m, 3H, H-5''), 3.92-3.96 (m, H-4', H-3'), 5.03 (s, 1H, 2'-OH), 5.05-5.10 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6.15 (s, 1H, H-1'), 7.48 (d, 1H, $J_{5,6}=3.6$ Hz, H-5), 7.59 (d, 1H, H-6), 8.13 (s, 1H, H-2)。

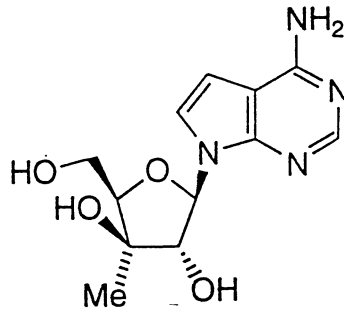
LC-MS：實驗值：321.1 ($M-H^+$)；對於 $C_{15}H_{20}N_4O_4+H^+$ 之計

五、發明說明 (82)

算值：320.3。

實例 34

4-胺基-7-(3-C-甲基-β-D-呋喃木糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘓啶



步驟 A： 7-[2,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-β-D-呋喃核糖基]]-4-[(4-甲氧苯基)二苯基甲基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘓啶及 7-[3,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-β-D-呋喃核糖基]-4-[(4-甲氧苯基)二苯基甲基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘓啶

於來自實例 26 及 27 步驟 A 之化合物 (0.32 g, 0.65 mmol) 之混合物於無水吡啶 (6 mL) 中之溶液中加入氯化單甲氧三苯甲基 (0.30 g, 0.98 mmol) 並在室溫下攪拌該反應混合物過夜。然後濃縮該混合物且將該殘餘物在 CH₂Cl₂ (70 mL) 和水 (20 mL) 之間分溶。以水及濃鹽水清洗該有基層，乾燥 (Na₂SO₄) 並濃縮之。利用 5-13% EtOAc 在己烷中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化殘餘物。收集適當之溶離份並濃縮之以提供呈無色泡沫之經 2',5'-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-及 3',5'-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)保護之核苷 (分別為 343 mg 及 84 mg)。

步驟 B： 7-[2,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-β-D-赤-

五、發明說明 (83)

呋喃戊糖-3-基糖基]-4-[(4-甲氧苯基)二苯基甲
基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

在0°C下於三氧化鉻(91 mg, 0.91 mmol)在CH₂Cl₂ (4 mL)中之經充分攪拌之懸浮液中加入吡啶(147 μL, 1.82 mmol)且然後加入醋酸酐(86 μL, 0.91 mmol)。在室溫下攪拌該混合物0.5 h。然後加入來自步驟A之經2',5'-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)保護之核苷(343 mg, 0.45 mmol)在CH₂Cl₂ (2.5 mL)中之溶液並在室溫下攪拌該混合物2 h。然後將該混合物倒入冰冷的EtOAc (10 mL)中並利用EtOAc作為溶離液將其濾過二氧化矽凝膠短管柱。蒸發該濾液且以己烷及己烷/EtOAc (7/1)作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化該殘餘物以產生標題化合物(180 mg)。

步驟C：7-[2,5-雙-O-(第三-丁基二甲基矽烷基)-3-C-甲
基-β-D-呋喃核糖基]-4-[(4-甲氧苯基)二苯基甲
基]胺基-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶及7-[2,5-雙-O-(第
三-丁基二甲基矽烷基)-3-C-甲基-β-D-呋喃木糖
基]-4-[(4-甲氧苯基)二苯基甲基]胺基-7H-吡咯
[2,3-d]嘧啶

在室溫下於MeMgBr (3.0 M溶液在醚中；0.17 mL, 0.5 mmol)在無水己烷(1.5 mL)中之混合物中滴加入來自步驟B之化合物(78 mg, 0.1 mmol)在無水己烷(0.5 mL)中之溶液。在室溫下攪拌2 h後，將該反應混合物倒入冰冷的水中(10 mL)並以EtOAc (20 mL)稀釋，然後將其濾過寅式鹽，並以EtOAc澈底清洗之。分離該層且以濃鹽水清洗有機層，乾

五、發明說明 (84)

燥(Na_2SO_4)並濃縮之。利用8至25% EtOAc在己烷中之溶液作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化該殘餘物以產生3-C-甲基木糖-(60 mg)及3-C-甲基核糖-異構物(20 mg)。

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

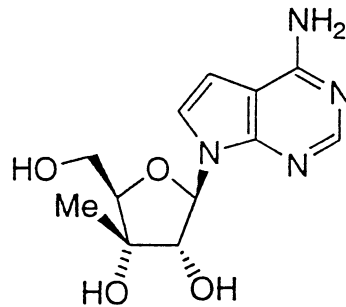
於來自步驟C之3-C-甲基-木糖異構物(60 mg, 0.08 mmol)在THF (2 mL)中之冰冷溶液中加入TBAF (1 M在THF中; 0.32 mL, 0.32 mmol)。在室溫下攪拌該反應混合物5 h, 然後以 CH_2Cl_2 (50 mL)稀釋, 以水(3×15 mL)清洗, 乾燥, 並蒸發之。將殘餘物溶解於二噁烷(0.3 mL)中且加入80%乙酸(3 mL)。在室溫下攪拌該反應混合物1天且然後蒸發之。將殘餘物與二噁烷共蒸發, 置入水中(50 mL)並以 CH_2Cl_2 (2×10 mL)清洗之。濃縮水溶液層且然後冷凍乾燥之。以 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20/1及10/1)作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化殘餘物以在冷凍乾燥後產生呈白色絨毛狀化合物標題化合物(10 mg)。

^1H NMR (CD_3CN): δ 1.28 (s, 3H, CH_3), 3.56 (br s, 1H, OH), 3.78 (m, 3H, H-4', H-5', H-5''), 4.10 (br s, 1H, OH), 4.44 (d, 1H, $J_{2,1'}=3.9$ Hz, H-2'), 5.58 (d, 1H, H-1'), 5.85 (br s, 2H, NH_2), 6.15 (br s, 1H, OH), 6.48 (d, 1H, $J_{5,6}=3.7$ Hz, H-5), 7.23 (d, 1H, H-6), 8.11 (s, 1H, H-2)。ES-MS: 281 $[\text{MH}]^+$ 。

實例 35

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

五、發明說明 (85)

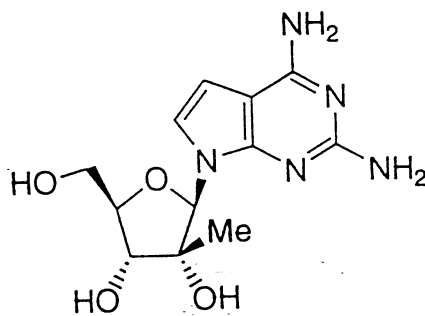


利用實例32步驟D中所述之方法去保護來自實例32步驟C之木糖-異構物(20 mg)以產生標題化合物(4 mg)。

^1H NMR (CD_3CN): δ 1.43 (s, 3H, CH_3), 3.28 (br s, 1H, OH), 3.58 (m, 2H, H-5', H-5''), 3.99 (m, 1H, H-4'), 4.10 (br s, 1H, OH), 4.62 (d, 1H, $J_{2,1'}=8.1$ Hz, H-2'), 5.69 (d, 1H, H-1'), 5.88 (br s, 3H, OH, NH_2), 6.45 (br s, 1H, OH), 6.51 (d, 1H, $J_{5,6}=3.7$ Hz, H-5), 7.19 (d, 1H, H-6), 8.12 (s, 1H, H-2). ES-MS: 281 $[\text{MH}]^+$ 。

實例 36

2,4-二胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2.3-d]嘧啶



於不鏽鋼殺菌釜中且在 100°C 下加熱來自實例4步驟B之產物(24 mg)在氨水溶液(30%, 10 mL)中之混合物過夜，然後冷卻並蒸發之。以 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10/1及5/1)作為溶

五、發明說明 (86)

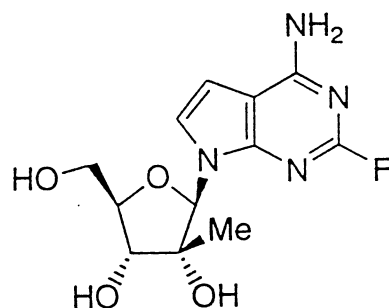
離液在二氧化矽凝膠管柱上純化該殘餘物以供給標題化合物 (15 mg)。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 0.68 (s, 3H, CH_3), 3.48-3.58 (m, 1H, H-5'), 3.68-3.73 (m, 2H, H-5'', H-4'), 3.84 (m, 1H, H-3'), 4.72 (s, 1H, 2'-OH), 4.97-5.03 (m, 2H, 3'-OH, 5'-OH), 5.45 (br s, 2H, NH_2), 6.00 (s, 1H, H-1'), 6.28 (d, 1H, $J = 3.7$ Hz, H-5), 6.44 (br s, 2H, NH_2), 6.92 (d, 1H $J = 3.7$ Hz, H-6)。

ES MS: 294.1 ($\text{M}-\text{H}^+$)。

實例 37

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

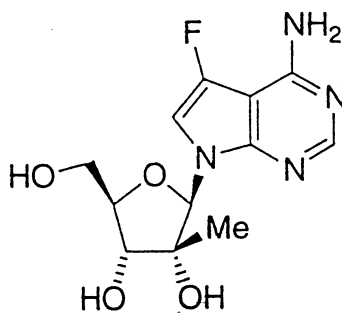


在 -30°C 下於經吡啶 (1 mL) 稀釋之 HF /吡啶 (70%, 2 mL) 溶液中加入實例 36 之化合物 (60 mg, 0.2 mmol) 在 0.5 mL 吡啶中之溶液，繼而加入第三-丁基亞硝酸鹽 (36 μL , 0.3 mmol)。在 -25°C 下持續攪拌 5 分鐘。然後將該溶液倒入冰水中 (5 mL)，以 2N NaOH 水溶液中和之，並蒸發至乾燥。以 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20/1 及 10/1) 作為溶離液在二氧化矽凝膠管柱上純化殘餘物以供給標題化合物。

五、發明說明 (87)

實例 38

4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶



步驟 A： 4-乙醯基胺基-7-(2,3,5-三-O-乙醯基-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自實例 2 步驟 F 之化合物 (280 mg, 1.00 mmol) 在吡啶中之溶液中加入醋酸酐 (613 mg, 6.0 mmol)。在週遭溫度下攪拌所生成之溶液過夜，在真空下蒸發並利用乙酸乙酯/己烷作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化所生成之粗混合物。合併含有所需產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生所需要之產物。

步驟 B： 4-乙醯基胺基-5-溴-7-(2,3,5-三-O-乙醯基-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟 A 之化合物 (460 mg, 1.00 mmol) 在 DMF 中之經預冷之 (0°C) 溶液中加入 N-氯琥珀醯亞胺 (178 mg, 1.0 mmol) 在 DMF 中之溶液。在 0°C 下攪拌所生成之溶液 30 分鐘然後在室溫下再攪拌 30 分鐘。加入甲醇中止該反應並在真空下蒸發之。利用乙酸乙酯/己烷作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化所生成之粗混合物。合併含有所需產物之溶離份且

五、發明說明 (88)

在真空下蒸發之以產生所需要之產物。

步驟C：4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶

於來自步驟B之化合物(529 mg, 1.00 mmol)在THF中之經預冷(-78°C)之溶液中加入丁基鋰(2 M在己烷中)(0.5 mL, 1.00 mmol)。在-78°C下攪拌所生成之溶液30分鐘且然後以N-氟苯磺醯亞胺(315 mg, 1.00 mmol)在THF中之溶液中止反應。使所生成之溶液極緩慢地回到週遭溫度且然後倒入經攪拌之飽和氯化銨水溶液與二氯甲烷之混合物中。在真空下蒸發有機相並在55°C下於一密閉容器中以氫氧化銨處理過夜。利用二氯甲烷/甲醇作為溶離液在二氧化矽凝膠上純化所生成之粗混合物。合併含有所需產物之溶離份並在真空下蒸發之以產生所需要之產物。

生物學分析

測量HCV NS5B聚合酶及HCV複製抑制作用所使用之測定說明如下。

本發明化合物作為HCV NS5B RNA依賴性RNA聚合酶(RdRp)抑制劑之效力係於以下測定中測量。

A. HCV NS5B聚合酶抑制作用之測定：

此測定法測量本發明之嘌呤核苷衍生物在雜聚之RNA模板上抑制C型肝炎病毒(HCV) RNA依賴性RNA聚合酶(NS5B)酵素活性之能力。

方法：

測定緩衝溶液條件(50 μL -總體積/反應)

五、發明說明 (89)

20 mM三羥甲基氨基甲烷，pH 7.5

50 μ M EDTA

5 mM DTT

2 mM $MgCl_2$

80 mM KCl

0.4 U/ μ L RNAsin (Promega，標準溶液係40單位/ μ L)

0.75 μ g t500 (製作500-nt RNA，利用T7決選轉錄作用且以來自C型肝炎基因組NS2/3區域之序列)

1.6 μ g經純化之C型肝炎NS5B(自C-端截短21個胺基酸所形成)

1 μ M A，C，U，GTP (核苷三磷酸鹽混合物)

[阿伐- ^{32}P]-GTP或[阿伐- ^{33}P]-GTP

試驗各種濃度之化合物至終濃度高達100 μ M。

製作包括酵素及模板t 500之適當體積反應緩衝溶液。將本發明之核苷衍生物吸量至96-槽培養盤之槽中。製作一包括經放射性標記GTP之核苷三磷酸鹽(NTP's)混合物，並將其吸量至96-槽培養盤之槽中。加入酵素-模板反應溶液起始反應且使其在室溫下繼續進行1-2 h。

加入20 μ L 0.5M EDTA，pH 8.0中止反應。將NTPs在加入反應緩衝溶液前加入中止反應溶液之空白組反應包括在內。

50 μ L經中止反應之反應物點在DE81濾片(Whatman)並讓其乾燥30分鐘。以0.3 M甲酸銨，pH 8 (150 mL/每次清洗，直到將1 mL中之cpm降至100以下，通常清洗6次)清洗

五、發明說明 (90)

該濾片。將該濾片置於5-mL閃爍計數液中並以閃爍計數器計數之。

抑制百分比之計算係根據如下等式：抑制%=[1-(試驗組反應物中之cpm-空白組中之cpm)/(控制組反應物中之cpm-空白組中之cpm)]×100。

在HCV NS5B聚合酶測定中顯示代表性受試化合物之IC₅₀'s少於100微莫耳濃度。

B.抑制HCV RNA複製之測定：

本發明化合物亦經評價其影響在培養之含有亞基因組HCV複製子之肝癌(HuH-7)細胞中C型肝炎病毒RNA複製之能力。該測定詳細說明於下。此複製子測定法係修改在V.洛曼(Lohmann)，F.柯諾(Korner)，J-O.柯卻(Koch)，U.海瑞安(Herian)，L.塞爾曼(Theilmann)，及R.巴頓史拉吉(Bartenschlager)，科學285：110 (1999)中所述之方法。

實驗設計：

該測定係一在原位之核糖核酸酶保護作用，以閃爍計數裝置為基礎之培養盤測定法(SPA)。將10,000-40,000個細胞培養於含有0.8 mg/mL G418之100-200 μL培養液中in 96-槽cytostar培養盤(Amersham)。在0至18 h以在1% DMSO中高達100 μM之各種濃度之化合物加入細胞培養物中，然後培養24-96 h。固定細胞(20分鐘，10% d福馬林)，浸透(20分鐘，0.25% Triton X-100/PBS)並以包含於RNA病毒基因組中且互補於(+)股NS5B (或其他基因)之單

五、發明說明 (91)

股³³P RNA探針雜交(過夜，50℃)。清洗細胞，以RNAse處理，清洗，加熱至65℃且在Top-Count計數。係以每分鐘計數值(cpm)之減少作為抑制複製之讀值。

人類HuH-7肝癌細胞係經選擇含有一亞基因組複製子，攜帶一由HCV 5'非轉譯區域(NTR)所組成之胞漿RNA，一可以新黴素選取之標記，一EMCV IRES (內部核糖體進入位點)，及HCV非結構性蛋白質NS3至NS5B，且其後接著3' NTR。

在該複製測定中代表性受試化合物顯示EC₅₀'s少於100微莫耳濃度。

本發明之嘌呤核苷衍生物亦經以如下所述之反篩檢(counterscreens)評價其細胞毒性及抗病毒特異性。

C.反篩檢：

本發明之嘌呤核苷衍生物抑制人類DNA聚合酶之能力係以如下測定測量。

a.人類DNA聚合酶阿伐及貝塔之抑制：反應條件：

50 μL反應體積

反應緩衝溶液組份：

20 mM三羥甲基氨基甲烷-HCl，pH 7.5

200 μg/mL牛血清白蛋白

100 mM KCl

2 mM β-氫硫基乙醇

10 mM MgCl₂

五、發明說明 (92)

1.6 μM dA, dG, dC, dTTP

α - ^{33}P -dATP

酵素及模板：

0.05 mg/mL有間隙之魚精子DNA模板

0.01 U/ μL DNA聚合酶 α 或 β

有間隙之魚精子DNA模板之製備：

加5 μL 1 M MgCl_2 至500 μL 活化之魚精子DNA (USB 70076)；

升溫至37 $^{\circ}\text{C}$ 並加入30 μL 之65 U/ μL 核酸外切酶III
(GibcoBRL 18013-011)；

在37 $^{\circ}\text{C}$ 下培養5分鐘；

加熱至65 $^{\circ}\text{C}$ 10分鐘中止反應；

加50-100 μL 原液至經以20 mM三羥甲基氨基甲烷-HCl，
pH 7.5平衡之Bio-spin 6層析法管柱上(Bio-Rad 732-6002)；

在1,000 Xg離心4分鐘溶離之；

收集溶離液並在波長260 nm測量吸光值以測定濃度。

DNA模板經稀釋於適當體積之20 mM三羥甲基氨基甲烷-HCl，pH 7.5中且酵素經稀釋於適當體積含有2 mM β -
氨基硫基乙醇，及100 mM KCl之20 mM三羥甲基氨基甲烷-HCl中。將模板及酵素吸量至微離心管或96槽培養盤中。
亦分別利用酵素稀釋緩衝溶液及試驗化合物溶劑製備排除
酵素之空白組反應及排除試驗化合物之控制組反應。以含
有上列組份之反應緩衝溶液起始反應。該反應在37 $^{\circ}\text{C}$ 下培
養1小時。加入20 μL 0.5 M EDTA中止反應。將50 μL 經中
止反應之反應物點在Whatman DE81濾片上且以空氣乾燥

五、發明說明 (93)

。反覆以150 mL 0.3 M甲酸銨，pH 8清洗濾片，直到1 mL洗液<100 cpm。以150 mL純酒精清洗該濾片兩次且以150 mL無水醚清洗一次，乾燥並在5 mL閃爍計數液中計數。

抑制百分比之計算係根據如下等式：抑制%=[1-(試驗組反應物中之cpm-空白組中之cpm)/(控制組反應物中之cpm-空白組中之cpm)]×100。

b. 人類DNA聚合酶加瑪之抑制：

測量反應物中抑制人類DNA聚合酶-加瑪之潛力，其包括0.5 ng/μL酵素；10 μM dATP，dGTP，dCTP，及TTP；2 μCi/反應[α-³³P]-dATP，及0.4 μg/μL活化之魚精子DNA(購自美國生化)於含有20 mM三羥甲基氨基甲烷pH 8，2 mM β-氫硫基乙醇，50 mM KCl，10 mM MgCl₂，及0.1 μg/μL BSA之緩衝溶液中。讓該反應在37°C下繼續進行1 h然後加入0.5 M EDTA至終濃度為142 mM以中止反應。產物之形成係以與陰離子交換濾膜之結合及閃爍計數定量。受試之化合物濃度高達50 μM。

抑制百分比之計算係根據如下等式：抑制%=[1-(試驗組反應物中之cpm-空白組中之cpm)/(控制組反應物中之cpm-空白組中之cpm)]×100。

在以下測定法中測量本發明嘌呤核苷衍生物抑制HIV感染力及HIV擴散之能力。

c. HIV感染力測定

測定之進行係以經選擇之低量β-半乳糖苷酶(β-gal)表現背景且同時表現CXCR4及CCR5之Hela Magi細胞變異體。

五、發明說明 (94)

使細胞接受感染 48 h，並以化學發光受質 (Galactolight Plus, Tropix, Bedford, MA) 定量經整合之 HIV-1 LTR 啟動子產生之 β -gal。抑制劑經於始於 100 μ M 之兩倍連續稀釋濃度中滴定 (二重複)；在每個濃度下計算相關於控制組感染之抑制百分比。

d. HIV 擴散之抑制

本發明化合物抑制人類免疫不全病毒 (HIV) 擴散能力之測量係藉由說明於美國專利號碼 5,413,999 (May 9, 1995)，及 J.P. 威卡 (Vacca) 等人，Proc. Natl. Acad. Sci., 91: 4096-4100 (1994) 之方法，其全部內容以參考文獻併入此處。

本發明之核苷衍生物亦經在一以 MTS 細胞為基礎之測定法中篩檢其對抗培養之含有亞基因組 HCV 複製子肝癌 (HuH-7) 細胞之細胞毒性，其測定法如以下所述。HuH-7 細胞株係經說明於 H. 納卡貝西 (Nakabayashi) 等人，Cancer Res., 42: 3858 (1982)。

e. 細胞毒性測定：

細胞培養物係於適當培養液中以濃度大約為 1.5×10^5 個細胞/mL 培養 3 天製備懸浮培養物且以濃度 5.0×10^4 個細胞/mL 培養 3 天製備黏著性培養物。將 99 μ L 細胞培養物移至 96 槽組織培養之經處理培養盤中，並加入 1 μ L 之 100-倍終濃度之試驗化合物在 DMSO 中之溶液。將該培養盤培養於 37°C 及 5% CO_2 下一段特定時間。在該段培養期後，加 20 μ L 之 Cell Titer 96 Aqueous One 溶液細胞增生測定試劑

五、發明說明 (95)

(MTS)(Promega)至每槽且在37℃及5% CO₂下再培養該培養盤一段長達3 h之時間。搖動該培養盤以充分混合並利用培養盤計讀器計讀在波長490 nm之吸光值。以已知之細胞數在即將添加MTS試劑前製備懸浮培養細胞之標準曲線。有代謝活性之細胞將MTS還原成formazan。Formazan吸收波長490 nm之光。將在該化合物存在下於波長490 nm之吸光值與在未添加任何化合物之細胞之吸光值比較。

參考文獻：柯瑞(Cory)，A.H.等人，“利用水溶性四銻/formazan測定培養物中細胞生長之測定法”，Cancer Commun. 3: 207 (1991)。

使用以下測定法測量本發明化合物對抗其他RNA依賴性RNA病毒之活性：

a.化合物對抗鼻病毒之活體外抗病毒活性測定(細胞病變作用抑制測定)：

測定條件係經說明於塞德維爾(Sidwell)及赫夫曼(Huffman)之文章，“可拋式微量組織培養盤在抗病毒及干擾素誘發之研究上之用途”，Appl. Microbiol. 22: 797-801 (1971)中。

病毒：

利用第2型鼻病毒(RV-2)，品系HGP，及KB細胞與培養液(0.1% NaHCO₃，無抗生-素)培養之，如於塞德維爾(Sidwell)及赫夫曼(Huffman)參考文獻中所述。該獲自ATCC之病毒，係來自一患有溫和急性熱病上呼吸道疾病之成年男性咽喉拭子。

五、發明說明 (96)

第9型鼻病毒(RV-9)，品系211，及第14型鼻病毒(RV-14)，品系Tow，亦係獲自洛克威爾(Rockville, MD)之美國類型培養物蒐藏品(ATCC)。RV-9係來自人類咽喉洗液且RV-14係來自一患有上呼吸道疾病年輕成人之咽喉拭子。利用該等病毒與HeLa Ohio-1細胞(福瑞德海登(Fred Hayden)博士，維吉尼亞大學)，其係人類頸部類上皮癌瘤細胞。利用含有5%胎牛血清(FBS)及0.1% NaHCO_3 之MEM(伊葛氏(Eagle's)最小必須培養液)作為生長培養液。

用於該三種病毒類型之抗病毒試驗培養液係含有5% FBS，0.1% NaHCO_3 ，50 μg 慶大黴素/mL，及10 mM MgCl_2 之MEM。

2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 係用以測定本發明化合物之最高濃度。在加入試驗化合物後大約5分鐘加病毒至測定培養盤中。亦進行適當之控制組試驗。將測定盤培養於潮濕空氣及5% CO_2 中且於37°C下。以顯微鏡觀察控制組細胞形態學變化監測細胞毒性。迴歸分析病毒CPE數據及毒性之控制組數據可得到ED50 (50%有效劑量)及CC50 (50%細胞毒性濃度)。選擇性指數(SI)之計算係藉由公式： $\text{SI} = \text{CC50} \div \text{ED50}$ 。

b. 化合物對抗登革熱，班日，及黃熱之活體外抗病毒活性測定(CPE抑制測定)

測定之詳細說明係經提供於上述之塞德維爾(Sidwell)及赫夫曼(Huffman)參考文獻。

病毒：

第2型登革熱病毒，新幾內亞品系，係獲自疾病控制中

五、發明說明 (97)

心。利用兩株非洲綠猴腎臟細胞培養該等病毒(Vero)及進行抗病毒試驗(MA-104)。該等黃熱病毒，17D品系，係自受感染的小鼠腦部製備，且班日病毒，H336品系，純化自南非一熱病男孩之血清，其係獲自ATCC。利用Vero細胞培養該等病毒並用於測定。

細胞及培養液：

利用MA-104細胞(拜歐懷塔克(Bio Whittaker)公司，渥克斯維爾(Walkersville), MD)及Vero細胞(ATCC)並將其培養於含有5% FBS及0.1% NaHCO_3 且不含抗生素之培養液199。登革熱，黃熱，及班日病毒之測定培養液係MEM，2% FBS，0.18% NaHCO_3 及50 μg 慶大黴素/mL。

本發明化合物之抗病毒試驗係根據塞德維爾(Sidwell)及赫夫曼(Huffman)參考文獻且與上述鼻病毒抗病毒試驗相似。該等病毒每個均在5-6天後達適當之細胞病變作用(CPE)讀值。

c.化合物對抗西尼羅病毒之活體外抗病毒活測定(CPE抑制測定)

測定之詳細說明係經提供於以上引用之塞德維爾(Sidwell)及赫夫曼(Huffman)參考文獻。西尼羅病毒，衍生自烏鴉腦之紐約隔離群，其係獲自疾病控制中心。Vero細胞之培養及利用係如以上所述。試驗培養液係MEM，1% FBS，0.1% NaHCO_3 及50 μg 慶大黴素/mL。

本發明化合物之抗病毒試驗之進行係依照塞德維爾(Sidwell)及赫夫曼(Huffman)之方法，其與測定鼻病毒活

五、發明說明 (98)

性之方法相似。在5-6天後達適當之細胞病變作用(CPE)讀值。

d. 化合物對抗鼻、黃熱、登革熱、班日、及西尼羅病毒之活體外抗病毒活性測定(中性紅攝取測定)

在進行上述CPE抑制測定後，利用另一細胞病變偵測方法，其係經說明於“干擾素之微量滴定測定：細胞病變作用之微量分光光度定量”，Appl. Environ. Microbiol. 31: 35-38 (1976)。利用型號EL309之微量盤計讀器(Bio-Tek儀器公司)計讀該測定盤。ED50's及CD50's之計算如上。

醫藥調配物實例

本發明化合物之口服組合物之一特定之具體實施例係調製50 mg實例1之化合物與夠細分之乳糖題以提供總量580至590 mg填充一O型規格之硬明膠膠囊。

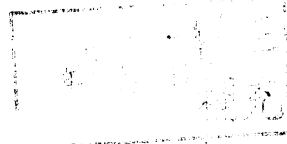
雖然本發明已就其特定之具體實施例加以說明及實證，凡熟習此項技藝者都會認同可對其作各種變化、修改、及取代而不脫離本發明之精神及範疇。例如，除了本文前述之較佳劑量外，可根據HCV感染治療的人嚴重度反應之變化採取合適之有效劑量。同樣地，所觀察到的藥理學反應會有變化，其係依據且取決於所選擇之特殊活性化合物或是否存在醫藥載體，及所使用之調配物類型及投藥模式，且對結果之這類預期變化或差異係涵蓋於根據本發明之目的及實務中。因此，希望本發明僅限於以下之申請專利範圍並廣義說明該等合理之申請專利範圍。

四、中文發明摘要 (發明之名稱： 作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑之核苷衍生物)

本發明提供作為RNA依賴性RNA病毒聚合酶抑制劑之核苷化合物及其特定衍生物。這些化合物係RNA依賴性RNA病毒複製之抑制劑且對於治療RNA依賴性RNA病毒感染有用。他們作為C型肝炎病毒(HCV) NS5B聚合酶之抑制劑，作為HCV複製之抑制劑，及/或用於治療C型肝炎感染特別有用。本發明亦說明含有這類核苷化合物之醫藥組合物，其係單獨使用或與其他對抗RNA依賴性RNA病毒感染(特定言之HCV感染)之活性劑組合。本發明亦揭示一種以本發明之核苷化合物抑制RNA依賴性RNA聚合酶，抑制RNA依賴性RNA病毒複製，及/或治療RNA依賴性RNA病毒感染之方法。

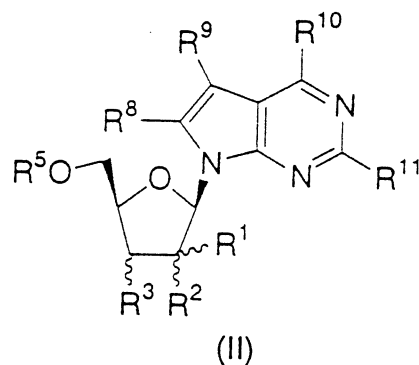
英文發明摘要 (發明之名稱： NUCLEOSIDE DERIVATIVES AS INHIBITORS OF RNA-DEPENDENT RNA VIRAL POLYMERASE)

The present invention provides nucleoside compounds and certain derivatives thereof which are inhibitors of RNA-dependent RNA viral polymerase. These compounds are inhibitors of RNA-dependent RNA viral replication and are useful for the treatment of RNA-dependent RNA viral infection. They are particularly useful as inhibitors of hepatitis C virus (HCV) NS5B polymerase, as inhibitors of HCV replication, and/or for the treatment of hepatitis C infection. The invention also describes pharmaceutical compositions containing such nucleoside compounds alone or in combination with other agents active against RNA-dependent RNA viral infection, in particular HCV infection. Also disclosed are methods of inhibiting RNA-dependent RNA polymerase, inhibiting RNA-dependent RNA viral replication, and/or treating RNA-dependent RNA viral infection with the nucleoside compounds of the present invention.



六、申請專利範圍

1. 一種結構式 II 之化合物，



或其在醫藥上可接受之鹽；

其中

R^1 係 C_{1-3} 烷基，其中烷基係視情況地經羥基，胺基， C_{1-3} 烷氧基， C_{1-3} 烷基硫，或一至三個氟原子所取代；

R^2 係羥基，氟，或 C_{1-4} 烷氧基；

R^3 係氫，鹵素，羥基，胺基，或 C_{1-4} 烷氧基；

R^5 係氫， $P_3O_9H_4$ ， $P_2O_6H_3$ ，或 PO_3H_2 ；

R^8 係氫，胺基，或 C_{1-4} 烷基胺基；

R^9 係氫，氰基，甲基，鹵素，或 $CONH_2$ ；且

R^{10} 及 R^{11} 係各自獨立地為氫，鹵素，羥基，胺基， C_{1-4} 烷基胺基，二(C_{1-4} 烷基)胺基，或 C_{3-6} 環烷基胺基；

其限制條件為當 R^1 為 β -甲基， R^2 及 R^3 為 β -羥基， R^{10} 為胺基，且 R^5 ， R^8 ，及 R^{11} 為氫時，則 R^9 不能為氰基或 $CONH_2$ 。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中

R^1 係基，氟甲基，羥基甲基，二氟甲基，三氟甲基，或胺基甲基；

六、申請專利範圍

R^2 係羥基，氟，或甲氧基；

R^3 係氫，氟，羥基，胺基，或甲氧基；

R^5 係氫或 $P_3O_9H_4$ ；

R^8 係氫或胺基；

R^9 係氫，氰基，甲基，鹵素，或 $CONH_2$ ；且

R^{10} 及 R^{11} 係各自獨立地為氫，氟，羥基，或胺基；

其限制條件為當 R^1 為 β -甲基， R^2 且 R^3 為 β -羥基， R^{10} 為胺基，且 R^5 ， R^8 ，及 R^{11} 為氫時，則 R^9 不能為氰基或 $CONH_2$ 。

3. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其係選自由下列所組成之群：

4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

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

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

4-二甲基胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

4-環丙基胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

4-胺基-7-(2-C-乙烯基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

4-胺基-7-(2-C-羥基甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-

六、申請專利範圍

d]嘧啶，

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

4-胺基-5-甲基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯
[2,3-d]嘧啶，

4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧
啶-5-羧酸，

4-胺基-5-溴-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯
[2,3-d]嘧啶，

4-胺基-5-氯-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯
[2,3-d]嘧啶，

4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯
[2,3-d]嘧啶，

2,4-二胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-
d]嘧啶，

2-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧
啶，

2-胺基-4-環丙基胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-
7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

2-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧
啶-4(3H)-酮，

4-胺基-7-(2-C-乙基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧
啶，

4-胺基-7-(2-C,2-二甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-

六、申請專利範圍

d]嘧啶，

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

2-胺基-5-甲基-7-(2-C,2-二甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮，

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

4-胺基-7-(3-去氧-2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

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

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

4-胺基-7-(3-C-甲基- β -D-呋喃木糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，

4-胺基-7-(2,4-二-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，及

4-胺基-7-(3-去氧-3-氟-2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；

及其相對應之5'-三磷酸鹽；

或其在醫藥上可接受之鹽。

4.根據申請專利範圍第3項之化合物，其係選自由下列所組成之群：

4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-

六、申請專利範圍

- d]嘧啶，
- 4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，
- 4-胺基-7-(2-C-氟甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，
- 4-胺基-5-甲基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，
- 4-胺基-5-溴-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，
- 4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，及
- 4-胺基-7-(2-C,2-二甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶，
- 及其相對應之5'-三磷酸鹽；
- 或其在醫藥上可接受之鹽。
- 5.根據申請專利範圍第4項之化合物，其係4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃阿拉伯糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；或其在醫藥上可接受之鹽。
- 6.根據申請專利範圍第4項之化合物，其係4-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；或其在醫藥上可接受之鹽。
- 7.根據申請專利範圍第4項之化合物，其係4-胺基-7-(2-C-氟甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；或其在醫藥上可接受之鹽。

六、申請專利範圍

8. 根據申請專利範圍第4項之化合物，其係4-胺基-5-氯-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；或其在醫藥上可接受之鹽。
9. 根據申請專利範圍第4項之化合物，其係4-胺基-5-溴-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；或其在醫藥上可接受之鹽。
10. 一種抑制RNA依賴型RNA病毒聚合酶及治療RNA依賴型RNA病毒感染之醫藥組合物，其包含根據申請專利範圍第1項之化合物及在醫藥上可接受之載體。
11. 根據申請專利範圍第10項之醫藥組合物，其中該RNA依賴型RNA病毒聚合酶係HCV NS5B聚合酶，該RNA依賴型RNA病毒複製係HCV複製，且該RNA依賴型RNA病毒感染係HCV感染。
12. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其係用於治療哺乳類動物之RNA依賴型RNA病毒感染。
13. 根據申請專利範圍第12項之化合物，其中該RNA依賴型RNA病毒感染係C型肝炎感染。
14. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其係用於製造治療哺乳類動物RNA依賴型RNA病毒感染之醫藥品。
15. 根據申請專利範圍第14項之化合物，其中該RNA依賴型RNA病毒感染係C型肝炎感染。
16. 根據申請專利範圍第3項之化合物，其係2-胺基-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮；或其在醫藥上可接受之鹽。

六、申請專利範圍

17. 根據申請專利範圍第4項之化合物，其係4-胺基-5-氟-7-(2-C-甲基- β -D-呋喃核糖基)-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶；或其在醫藥上可接受之鹽。