[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580026059.7

[51] Int. Cl.
A61K 31/7125 (2006.01)
A61K 31/7115 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/663 (2006.01)
A61K 47/34 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 9 月 5 日

[11] 公开号 CN 101031308A

[22] 申请日 2005.8.2
[21] 申请号 200580026059.7
[30] 优先权
[32] 2004.8.3 [33] IT [31] FI2004A000173
[86] 国际申请 PCT/EP2005/053765 2005.8.2
[87] 国际公布 WO2006/013203 英 2006.2.9
[85] 进入国家阶段日期 2007.2.1
[71] 申请人 意大利普罗泰拉有限公司
地址 意大利佛罗伦萨塞斯托
[72] 发明人 伊迈诺·贝尔蒂尼
克劳迪奥·鲁奇耐特
阿尔桑德罗·夸冲
马西默·克来门特
阿尔桑德罗·莫迪尼

[74] 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司
代理人 郑小粤 常 慧

权利要求书 3 页 说明书 16 页

[54] 发明名称

由 RNA 依赖性 DNA 聚合酶活化的药物前体

[57] 摘要

本文公开的是能被 RNA 依赖性 DNA 聚合酶例如端粒酶和逆转录酶活化的药物前体，用于治疗血液学肿瘤和来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物的用途，和其用于制备药学组合物的用途以治疗实体肿瘤、癌前状态和逆转录病毒感染引起的疾病。

1. 药物前体化合物，所述的药物前体化合物包含能被RNA依赖性DNA聚合酶水解的部分，所述部分共价结合于细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基上，其中所述药物前体化合物的水解产物是具有细胞毒性的，以及其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述的能被RNA依赖性DNA聚合酶水解的部分包含能被RNA依赖性DNA聚合酶的催化位点识别的部分，所述部分共价结合于包含至少三个基团的链上，所述的基团彼此相同或不同并选自包括磷酸酯、膦酸酯、硫代磷酸酯和硫代膦酸酯和它们可能被取代基团的组。

3. 根据权利要求2所述的化合物，具有通式(I)

$$TS\text{-}O_m\text{-}(PXX')\text{-}(OPYY')_n\text{-}O\text{-}(PZZ')\text{-}O_p\text{-}CT \quad (I)$$

其中

TS是能被RNA依赖性DNA聚合酶的催化位点识别的部分，

CT是细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基，

X、Y和Z从O和S中选择，

X'、Y'和Z'从O、CT'、O-CT'、R和OR中选择，其中CT'是与CT相同或不同的细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基，并且R选自包括烷基、芳基和芳基烷基的组，优选低级烷基，

m＝0，1

n＝1，2

p＝0，1

4. 根据权利要求3所述的化合物，其中X=X'=Z=Z'=O和m=1.

5. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述化合物是二核苷多磷酸类似物。

6. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述RNA依赖性DNA聚合酶从端粒酶和逆转录病毒逆转录酶中选择。

7. 根据权利要求3所述的化合物，其中所述TS部分是选自包括脱氧鸟苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、7-脱氮-2'-脱氧鸟苷、7-脱氮-2'腺苷、6-硫-2'-脱氧鸟苷、2',3'-双脱氧鸟苷、2',3'-双脱氧肌苷、D-碳环-2'脱氧鸟苷、叠氮胸苷、卡波佛、阿德福韦和替诺福韦的组的核苷或其类似物的残基。

8. 根据权利要求3所述的化合物，其中所述CT残基是选自包括阿昔洛韦、喷昔洛韦、更昔洛韦、7-甲基-鸟苷、吉西他滨、氟脱氧尿苷、氟尿苷、氟达拉滨、2-氯脱氧腺苷、

碘苷、阿糖胞苷、曲西立滨、5-氮杂-2'-脱氧胞苷、2'3'-双脱氢尿苷-2'3'-脱氧尿苷、5-羟基-2'-脱氧胞苷、3-脱氮尿苷、依诺他滨、2',3'-双脱氧胞苷、拉米夫定、恩曲他滨、(S)-1-(3-羟基-1-甲氧基丙基)胞嘧啶、(-)-2'-脱氧-3'-氧杂-4'-硫胞苷、莱西佛、瑞沃赛特、1-(1,3-二羟基-2-丙氧基-甲基)胞嘧啶、(2'S)-2'-脱氧-2'-C-甲基胞苷、1-(2-脱氧-2-亚甲基-β-D-赤型-呋喃糖基)胞嘧啶、1-(2-C-氰基-2-脱氧-1-β-D-阿拉伯糖-呋喃糖基)胞嘧啶、1-(3-C-乙炔基-β-D-核-呋喃糖基)胞嘧啶、β-L-二氧戊环-胞苷和(E)-2'-脱氧-2'-(氟亚甲基)胞苷的组的细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基。

9. 根据权利要求3所述的化合物，其中R选自甲基和苯基。

10. 根据权利要求9所述的化合物，其中R是苯基。

11. 根据权利要求5所述的化合物，选自包括无环鸟苷基3'-脱氧-5'-鸟苷三磷酸酯(ACVTPdG)、无环鸟苷基2'-脱氧-5'-腺苷三磷酸酯(ACVTPdA)、无环鸟苷基-5'-胸苷三磷酸酯(ACVTPT)、无环鸟苷基-3'-叠氮胸苷-5'-三磷酸酯(ACVTPAZT)，和2',3'-双脱氧胞苷-2'-脱氧-5'鸟苷三磷酸酯(ddCTPdG)的组。

12. 制备如权利要求1-11定义的化合物的方法，其中细胞毒性化合物是在适合的条件下和用已知方法共价结合于一个包括至少三个基团的合适的的链上，所述的基团选自包括磷酸酯、膦酸酯、硫代磷酸酯或硫代膦酸酯的组，并且通过此链与能被端粒酶或逆转录酶识别为底物的部分结合，反之亦然。

13. 药学组合物，所述药学组合物包含至少一个如权利要求1-11定义的化合物，所述的化合物任选与一种或多种佐剂和/或其它活性成分联用。

14. 根据权利要求13所述的药学组合物，还包含药学可接受的辅料和/或稀释剂。

15. 根据权利要求13所述的药学组合物，其中所述其它活性成分是抗代谢物。

16. 根据权利要求15所述的药学组合物，其中所述抗代谢物选自包括甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、西他拉滨、5-氮杂胞苷、吉他西滨、巯嘌呤、硫鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他丁和克拉屈滨的组。

17. 如权利要求1-11定义的化合物在制备对实体肿瘤、癌前状态和逆转录病毒感染引起的疾病的治疗有效的药学组合物中的用途。

18. 用于体外或体内治疗血液学肿瘤和治疗来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物的药物，包含至少一个如权利要求1-11定义的化合物。

19. 如权利要求1-11定义的化合物在体外治疗血液学肿瘤和治疗来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物中的用途。

20. 体外或体内治疗血液学肿瘤和治疗来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物的方法，包含用至少一个如权利要求1定义的化合物接触待治疗的血液或血液衍生物的步骤。

21.增强细胞毒性化合物的效力和耐受性的方法，包含形成药物前体，其中所述细胞毒性化合物结合于能被RNA依赖性DNA聚合酶水解的部分。

22. 治疗实体肿瘤、癌前状态和逆转录病毒感染引起的疾病的治疗方法，包含给需要此治疗的患者施用药学有效量的至少一个如权利要求1-11定义的化合物，所述化合物任选与一种或多种佐剂和/或其它活性成分联用。

23. 根据权利要求22所述的方法，其中所述其它活性成分是抗代谢物。

24. 根据权利要求23所述的方法，其中所述抗代谢物选自包括甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、西他拉滨、5-氮杂胞苷、吉他西滨、巯嘌呤、硫鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他丁和克拉屈滨的组。

由 RNA 依赖性 DNA 聚合酶活化的药物前体

发明领域

本发明涉及用作药物前体的化合物领域，特别是在癌细胞和被逆转录病毒感染的细胞中被以 RNA 分子为模板的 DNA 聚合酶例如人端粒酶和 HIV 逆转录酶活化的药物前体。

背景技术

目前，由于用于癌细胞和逆转录病毒感染细胞的药物的选择性低使得癌症和逆转录病毒引起的病症的治疗效果受到严重限制。致瘤性转化和逆转录病毒感染两者都不能以表型改变后易成为药物的选择性靶点的方式来转化细胞。例如癌症药理学仍然是基于对个体的健康细胞也高度有害的细胞毒性药物，而抗获得性免疫缺陷综合征(AIDS)药物大部分由于其对未感染细胞的正常生理学的干扰而具有严重副作用。抗癌和抗逆转录病毒药物的选择性的缺乏是其在体内具有高毒性的原因。此外癌症中那些不需要的次级效应不能通过长效饱和缓和来代偿，特别是在长期存活机会倾向于零的仍是不治之症的晚期实体肿瘤中。因此需要具有既减小副作用又增强其功效和治疗指数的更有选择性的抗逆转录病毒和抗癌药物。

近年来进行了许多尝试将细胞毒性药物做成“药物前体”。从治疗观点来说，“药物前体”是无活性的化合物，它能在体内转化为活性药物，即，由于其结构进行了化学或酶转化而成为有治疗活性的化合物。

提供好的药物前体的难点不仅仅在于寻找能在体内活化的分子，还在于使此活化对靶细胞有高度选择性。换言之，理想的候选抗癌或抗逆转录病毒的药物前体在健康组织中保持稳定和无活性而仅在到达感染或癌症细胞后活化为药物发挥杀死这些细胞的细胞毒素作用。

这就需要开发抗癌和抗逆转录病毒的药物前体。

发明概述

现在本申请人已经开发出了新的抗癌和抗逆转录病毒的药物前体，其活性细胞毒性化合物与 RNA 依赖性 DNA 聚合酶例如端粒酶或逆转录病毒逆转录酶水解的分子结合，通过水解释放出细胞毒性化合物的细胞毒性片段或前体片段。

因此本发明的目的是提供药物前体化合物，它包含一个能被 RNA 依赖性 DNA 聚合酶水解的部分，该部分共价结合于细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基上，其

中所述药物前体化合物的水解产物是具有细胞毒性的，以及其药学上可接受的盐。

本发明的另外目的是提供制备上述药物前体化合物，药学组合物的方法、所述药学组合物包含至少一种上述定义的化合物，该化合物任选与一种或多种佐剂和/或其它活性成分联用、以及上述化合物用于制备对实体肿瘤、癌前状态和由逆转录病毒感染引起的疾病的治疗有效的药学组合物的用途。

本发明的另外目的是提供用于体外和体内治疗血液学肿瘤和治疗来自于逆转录病毒感染的患者的血液及血液衍生物的药物，包含至少一种如上述定义的药物前体化合物；如上定义的药物前体化合物用于体外治疗血液学肿瘤和治疗来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物的用途；体外或体内治疗血液学肿瘤和来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物的方法，包含用至少一种如上述定义的化合物接触待治疗的血液或血液衍生物的步骤；增强细胞毒性化合物效力和耐受性的方法，包含形成药物前体，其中所述细胞毒性化合物结合于能被 RNA 依赖性 DNA 聚合酶水解的部分上；和治疗实体肿瘤、癌前状态和逆转录病毒感染引起的疾病的治疗方法，包含给需要此种治疗的患者施用药学有效量的至少一种如上述定义的化合物，任选与一种或多种佐剂和/或其它活性成分联用。本发明化合物的特征和优点将在以下说明中详细描述。

发明详述

根据本发明“所述药物前体化合物水解产物是具有细胞毒性的”的表述的意思是水解产物可以是细胞毒性片段类的或是可以通过细胞活动在化学转化后成为具有细胞毒性的片段。术语“片段”的意思是指药物前体化合物通过水解所释放的一部分。

端粒酶是将核苷酸加入端粒末端、染色体末端的 RNA 依赖性 DNA 聚合酶。由于其酶活性，它类似于逆转录病毒的逆转录酶；与上述其它酶的不同是端粒酶是核糖核蛋白，是结合在复合物中的 RNA 模板。

人的大多数体细胞不显示端粒酶活性；因此端粒在连续的细胞分裂中逐渐缩短直到端粒达到最低临界长度标志着细胞复制阻断和进入所谓衰老期。相反，在大多数癌细胞中端粒酶活性是可恢复的，因此端粒长度保持不变并且转化细胞能够无限增生、允许癌克隆的扩张且有利于转移扩散。此领域的研究使抑制端粒酶活性的预计作为抗肿瘤药物的化合物获得发展。然而证明这些化合物的抗癌作用的尝试表明即使当这些化合物有效阻断端粒酶活性的时候端粒缩短为临界长度需要的时间仍太长而无法与癌演进进行有效地比较。

本申请人在反向透视中利用了作为癌细胞特征的端粒酶活性。不去试图抑制它的活

性，本申请人设计并制备了被端粒酶本身活化为细胞毒性化合物的药物前体；在此情况下治疗功效不是酶抑制的功能而是其活性的功能，仅在端粒酶存在的靶细胞内特异性释放细胞毒性化合物。

由于所有 RNA 依赖性 DNA 聚合酶具有共同的酶机制，因此相同的分子还能被逆转录病毒逆转录酶例如 AIDS 的病因 HIV-1 逆转录酶识别，并因此还对治疗逆转录病毒感染引起的疾病例如 AIDS 有效。

根据本发明所述的药物前体化合物例如含有二核苷多磷酸的类似物作为底物可被识别，并且被端粒酶或逆转录病毒逆转录酶催化水解，随后释放出细胞毒性分子。

本发明化合物的水解部分优选包含作为 RNA 依赖性 DNA 聚合酶的底物的部分，它共价结合于包含选自磷酸酯、膦酸酯、硫代磷酸酯（tiophosphate）或硫代膦酸酯（tiophosphonate）彼此相同或不同的至少三个基团的链上，可能被一个或多个其它细胞毒性化合物残基取代，与第一个残基相同或不同，或被一个或多个选自包括烷基，特别是低级烷基、芳基和芳基烷基的组的 R 基团取代。

根据本发明的优选化合物是具有通式(I)的化合物

$TS\text{-}O_m\text{-}(PXX')\text{-}(O\text{-}PYY')_n\text{-}O\text{-}(PZZ')\text{-}O_p\text{-}CT$

(I)

其中

TS 是被 RNA 依赖性 DNA 聚合酶的催化位点识别的部分，

CT 是细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基，

X、Y 和 Z 从 O 和 S 中选择，

X'、Y'和 Z'从 O、CT'、O-CT'、R 和 OR 中选择，其中 CT'是与 CT 相同或不同的细胞毒性化合物或细胞毒性化合物前体的残基， R 选自包括烷基，特别是低级烷基、芳基和芳基烷基的组，

m = 0, 1; n = 1, 2; p = 0, 1。

更优选化合物是式(I)化合物，其中 X = X' = Z = Z' = O，并且 m = 1。

当不另行说明时，如本发明中所用的术语“烷基”、“低级烷基”、“芳基”和“烷基芳基”应当如下理解：

术语“烷基”是指仅有单键的直链或支链烃链，优选 C1-C20 链。根据本发明的烷基基团的实例包括，但是不限于，甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基和叔戊基。

- 术语“低级烷基”是指链中有 1 至 7 个碳原子的直链或支链烷基，优选 1 至 4 个碳原子。根据本发明的低级烷基基团的实例包括，但是不限于，甲基、乙基、丙基、异丙基和正丁基。

- 术语“芳基”是指包含一个或多个不饱和环的碳环或杂环基团，每个环为 5 至 8 元环，优选 5 或 6 元环。根据本发明的芳基基团的实例包括，但是不限于，苯基、吡啶基、甲苯基、萘基、antracenyl 和 phenantryl。

- 术语“芳基烷基”是指具有如上定义的烷基取代基和芳基取代基的基团。根据本发明的烷基芳基的实例包括，但是不限于，乙基苯次甲基、异丁基苯次甲基、苄基、乙基苄基、丙基苄基、异丙基苄基、丁基苄基、异丁基苄基、环乙磺酰基苄基、stirenyl 和联苯基。

根据本发明，烷基、低级烷基、芳基和芳基烷基基团可以被例如 OH、NH_2、卤素基团和具有至少一个双键或三键的烃链例如 C2-8 烯基和 C2-8 炔基基团取代。R 基团优选从甲基和苯基中选择，更优选苯基。

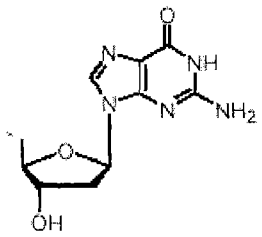
本申请人发现尽管有空间位阻，但是结合于可水解部分的取代基不能消除癌细胞培养基的提取物中的水解活性，从而使结合于端粒酶底物的分子被释放出来。

根据本发明的一个优选实施方案，TS 部分是核苷或其类似物的残基，例如选自包括脱氧鸟苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、7-脱氮-2’-脱氧鸟苷、7-脱氮-2’-腺苷、6-硫-2’-脱氧鸟苷、2’,3’-双脱氧鸟苷、2’,3’-双脱氧肌苷、D-碳环-2’-脱氧鸟苷、叠氮胸苷、卡波佛、阿德福韦和替诺福韦的组。

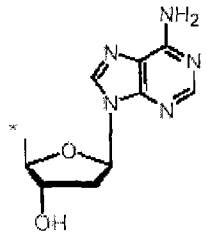
RNA 依赖性 DNA 聚合酶对药物前体的活化产生于 P-O 键的水解，同时释放出细胞毒性化合物或其前体。

能够用于制备本发明药物前体的细胞毒性化合物选自包括阿昔洛韦、喷昔洛韦、更昔洛韦、7-甲基-鸟苷、吉西他滨、氟脱氧尿苷、氟尿苷、氟达拉滨、2-氯脱氧腺苷、碘苷、阿糖胞苷、曲西立滨、5-氮杂-2’-脱氧胞苷、2’3’-双脱氢尿苷-2’3’-脱氧尿苷、5-羟基-2’-脱氧胞苷、3-脱氮尿苷、依诺他滨、2’,3’-双脱氧胞苷、拉米夫定、恩曲他滨、(S)-1-(3-羟基-1-甲氧基丙基)胞嘧啶、(-)-2’-脱氧-3’-氧杂-4’-硫代胞苷、莱西佛(racivir)、瑞沃赛特(reverset)、1-(1,3-二羟基-2-丙氧基-甲基)胞嘧啶、(2’S)-2’-脱氧-2’-C-甲基胞苷、1-(2-脱氧-2-亚甲基-β-D-赤型（erithro）-呋喃糖基(pentofuranosyl))胞嘧啶、1-(2-C-氰基-2-脱氧-1-β-D-阿拉伯糖-呋喃糖基)胞嘧啶、1-(3-C-乙炔基-β-D-核-呋喃糖基)胞嘧啶、β-L-二氧戊环-胞苷和(E)-2’-脱氧-2’-(氟亚甲基)胞苷的组。

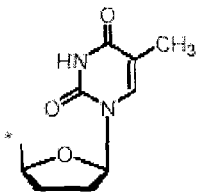
上述优选 TS 部分在代表相应核苷或其类似物的下列化学式中于星号指示的位置结合于磷酸酯、膦酸酯、硫代磷酸酯或硫代膦酸酯基团的链上：



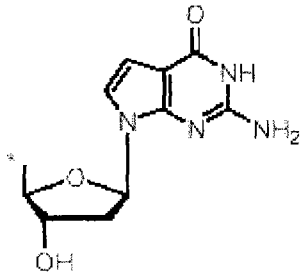
2'-脱氧鸟苷



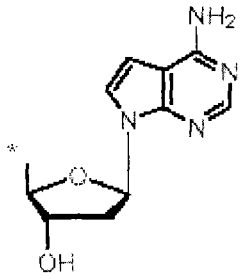
2'-脱氧腺苷



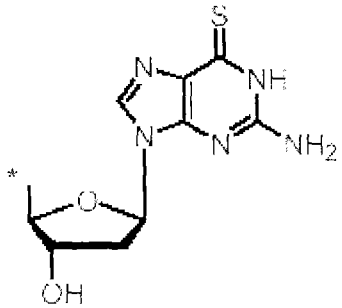
3'-脱氧胸苷



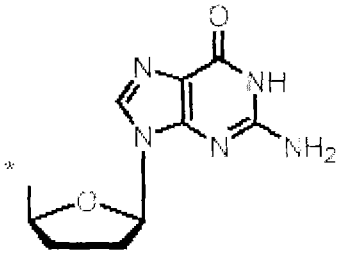
7-脱氮-2'-脱氧鸟苷



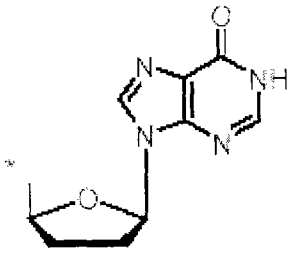
7-脱氮-2'-脱氧腺苷



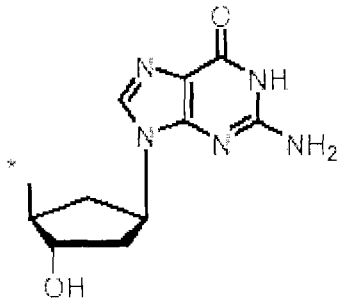
6-硫代-2'-脱氧鸟苷



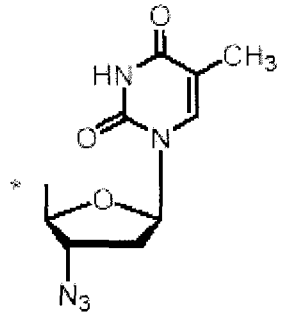
2',3'-双脱氧鸟苷



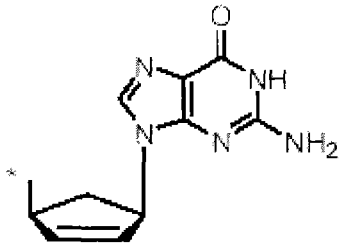
2',3'-双脱氧肌苷



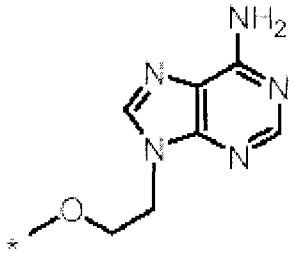
D-碳环-2'-脱氧鸟苷



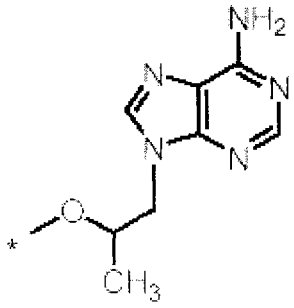
3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷



卡波佛

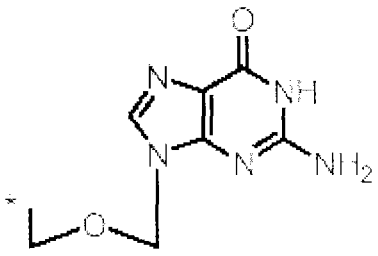


阿德福韦

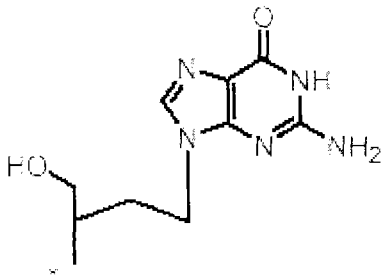


替诺福韦

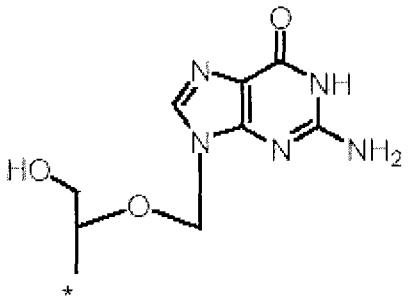
如上列出的优选CT或CT' 残基在代表相应细胞毒性化合物的下列化学式中于星号指示的位置结合于磷酸酯、膦酸酯、硫代磷酸酯或硫代膦酸酯基团的链上：



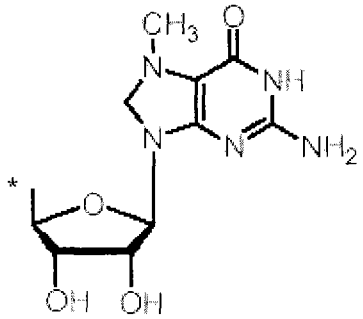
阿昔洛韦



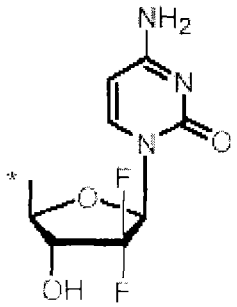
喷昔洛韦



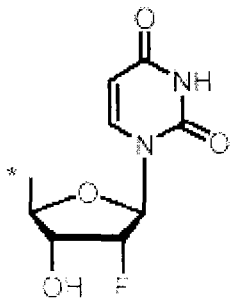
更昔洛韦



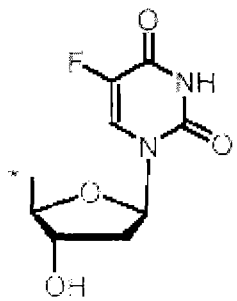
7-甲基鸟苷



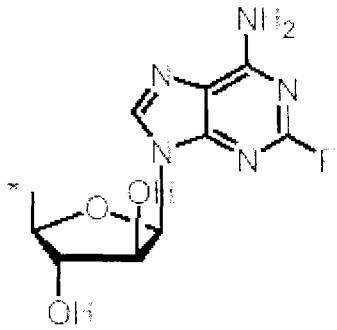
吉西他滨



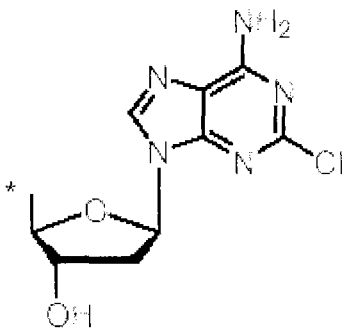
氟脱氧尿苷



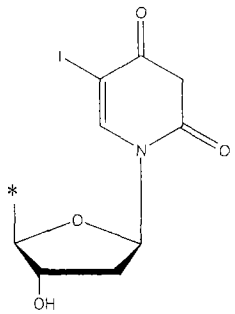
氟尿苷



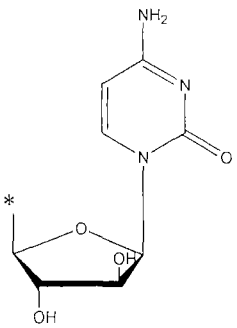
氟达拉滨



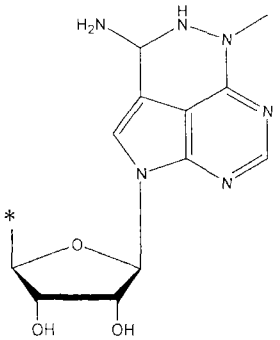
2-氯脱氧腺苷



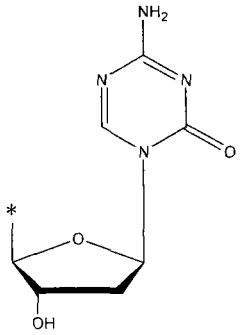
碘苷



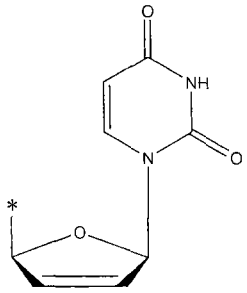
阿糖胞苷



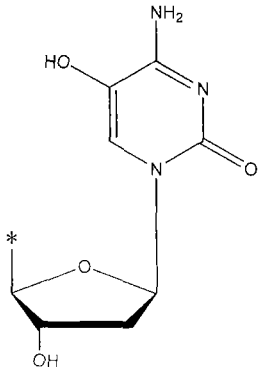
曲西立滨



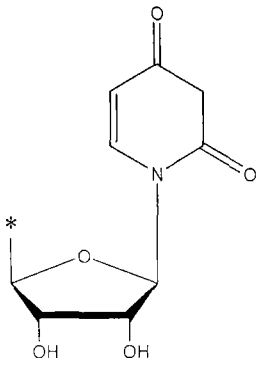
5-氮杂-2'-脱氧胞苷



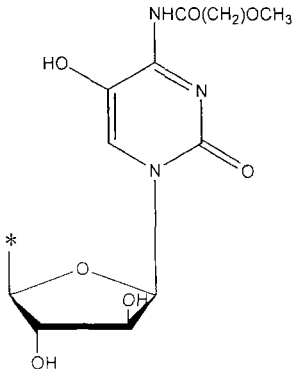
2'3'-双脱氢尿苷-2'3'-脱氧尿苷



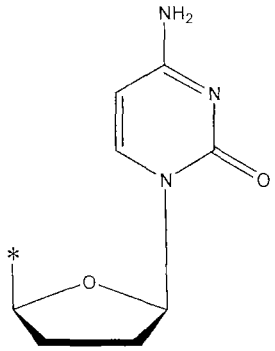
5-羟基-2'-脱氧胞苷



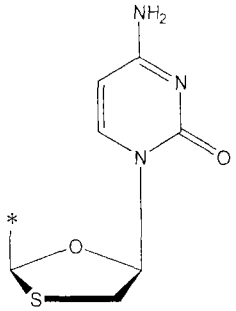
3-脱氮尿苷



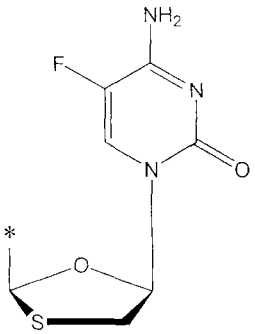
依诺他滨



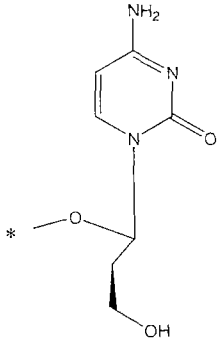
2',3'-双脱氧胞苷



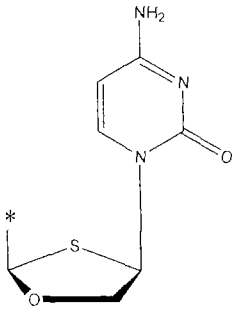
拉米夫定



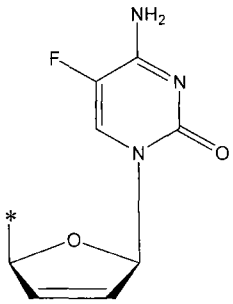
恩曲他滨



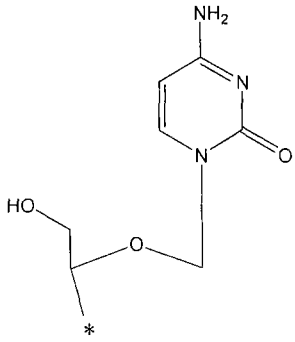
(S)-1-(3-羟基-1-甲氧基丙基)胞嘧啶



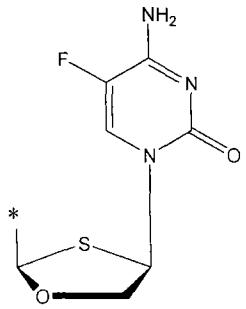
(-)-2'-脱氧-3'-氧杂-4'-硫代胞苷



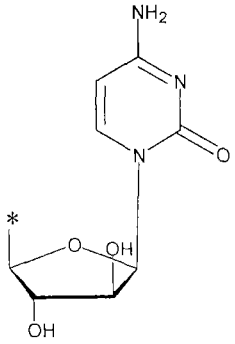
瑞沃赛特



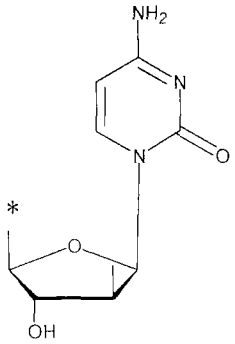
1-(1,3-二羟基-2-丙氧基-甲基)胞嘧啶



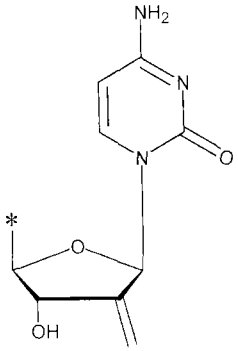
莱西佛



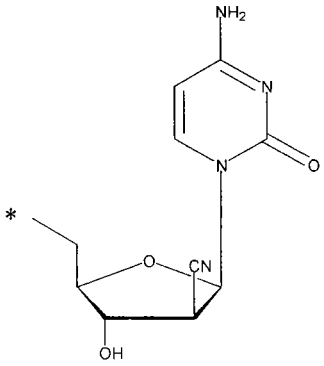
1-β-D-阿拉伯糖-呋喃糖基胞嘧啶



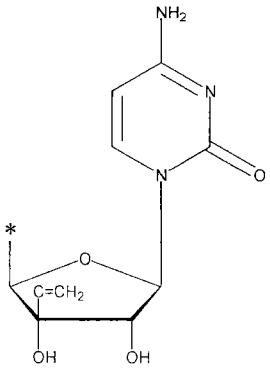
(2'S)-2'-脱氧-2'-C-甲基胞苷



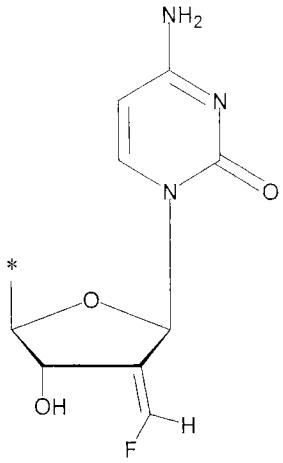
1-(2-脱氧-2-亚甲基-β-D-赤型-呋喃糖基)胞嘧啶



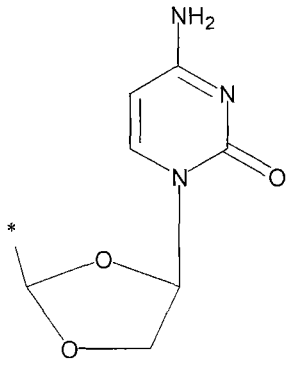
1-(2-C-氰基-2-脱氧-1-β-D-阿拉伯糖-呋喃糖基)胞嘧啶



1-(3-C-乙炔基-β-D-核-呋喃糖基)胞嘧啶



(E)-2'-脱氧-2'-(氟亚甲基)胞苷



β-L- 二氧戊环-胞苷

游离形式或药学可接受的盐形式的本发明化合物可根据制备药学组合物的常规方法制备药学组合物，并且可以包含一种或多种药学可接受的辅料和/或稀释剂。

本发明药学组合物可通过任何常规方法给药，例如经肠胃外、口服、局部、鼻等等，特别是通过肠胃外、静脉注射、肌内或腹膜内给药。因此，根据本发明的化合物制剂包括特别是无菌水溶液和非水溶液、混悬液、乳剂和用时溶解于无菌介质中的无菌固体组合物，并且它们还可包含药学可接受的辅料和/或稀释剂。

本发明药学组合物可包含至少一种本发明化合物为活性成分，可与其它适当选择的佐剂和/或活性成分联用，特别是抗代谢物，例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、西他拉滨（citarabine）、5-氮杂胞苷、吉他西滨、巯嘌呤、硫鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他丁和克拉屈滨。

本发明的药物前体对治疗实体肿瘤、癌前状态和逆转录病毒感染引起的疾病有效；此外，它们可用于体内和体外治疗血液学肿瘤和净化来自于逆转录病毒感染的患者的血液和血液衍生物。

本发明药物前体的给药还可与一种或多种其它活性成分联用，特别是例如那些上面提到的抗代谢物，包含于与本发明药物前体相同的药学组合物中或包含于另一与本发明药学组合物在联合化疗设计中一起给药的药学组合物中。

上面描述的化合物可从细胞毒性化合物开始制备，在适当条件下和用已知方法，使细胞毒性化合物共价结合于一个由至少三个磷酸酯、膦酸酯、硫代磷酸酯或硫代膦酸酯基团组成的适合的链上，并且因此通过此链结合于被端粒酶或逆转录酶识别为底物的分子的一部分上，反之亦然。

制备本发明化合物的所有起始化合物是市场上可获得的产品，或可通过任何本领域技术人员已知的方法从市场上可获得的产品开始制备。

下列所报道的实施例不限制本发明的说明。

实施例 1

阿昔洛韦单磷酸酯(ACVMP)的制备

ACVMP 用摘自 Yoshikawa 等人 Tetrahedron Lett. 1967, 50, 5065 的方法制备。1g 阿昔洛韦(4.3mmol)和 6ml 磷酸三乙酯的混合物在 0℃下逐渐加入到 4ml 磷酸三乙酯和 860μl 磷酰氯(8.6mmol)的混合物中。混合物在 0-4℃搅拌 12 小时。然后加入 100ml 乙醚沉淀出阿昔洛韦-5'-磷酰二氯。

过滤沉淀并且溶解于 25ml 用冰预冷的 5%$NaHCO_3$ 水溶液中。0℃搅拌 1 小时并室温搅拌 8 小时后，用 1M NaOH 调 pH 至 7.0。再搅拌 12 小时后，混合物蒸发至干，溶解于最小体积的水中并上样至 DEAE-纤维素柱。用 pH 7.5 的三乙胺重碳酸盐线性梯度(0.05-0.8M)洗脱柱子。对适当的洗脱级分进行真空蒸发。加入乙醇并且再次蒸发除去三乙胺重碳酸盐获得为三乙胺盐的 ACVMP (1.28g, 2.53mmol, 收率＝59%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 1.17-1.21 (t, J = 7.3, 18H), 3.06-3.17 (q, J = 7.3, 12H), 3.69-3.77 (m, 2H), 3.85-3.94 (m, 2H), 5.51(s, 1H), 7.93 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): 3.79 (s)。

实施例 2

阿昔洛韦二磷酸酯(ACVDP)的制备

ACVDP 用摘自 Hoard D.E.等人 J. Am. Chem. Soc. 1965, 87, 1785-1788 的方法合成。此转化需要的正磷酸三丁基胺如下制备。无水磷酸(5g, 51mmol)和 10ml CH_2Cl_2 在无水条件下放入施兰克试管(Schlenk tube)中。然后将三丁基胺(12.25ml, 51mmol)在 30 分钟内滴入溶液。混合物搅拌 1 小时。将 CH_2Cl_2 蒸发并且反应残余物用 3×10ml 无水吡啶和 2×10ml 无水 DMF 重蒸。终产物以 1M 浓度溶解于无水 DMF 中，并且在 4℃经分子筛(4 Å)保存。

ACVMP 三乙胺盐(1.01g, 2mmol)用 Dowex 50W-X8(吡啶型树脂)转化为其吡啶盐。用 50%甲醇水溶液洗脱柱子。洗脱液在减压下蒸发至干，然后加入 10ml 甲醇和 1.44ml 三丁基胺(6mmol)。搅拌 30 分钟后，真空下浓缩溶液。通过反复加入和蒸发无水吡啶(3×10ml)、无水甲苯(2×10ml)和无水 DMF(3×10ml)来干燥残余物

得到的 ACVMP 三丁基胺盐溶解于 15ml 无水 DMF 中。

1,1'-羰基二咪唑(1.5g, 12mmol)溶解于 5ml DMF 中。将此溶液加入到 ACVMP 溶液中。在分子筛上室温搅拌混合物。12 小时后，加入 700μl 无水甲醇(12mmol)和再过 30

分钟后，将 13ml 含有 1M 正磷酸三丁基胺的 DMF(13mmol)在搅拌下滴入。室温 12 小时后，离心除去沉淀。上清液中加入 75ml 水并且获得的溶液用 3×50ml $CHCl_3$ 萃取，使其减少体积(5ml)并上样至 DEAE-纤维素柱。用三乙胺重碳酸盐的线性梯度(0.05-1M)洗脱柱子。对适当的洗脱级分进行真空蒸发。残余重碳酸盐通过两个连续的蒸发步骤从 20ml 甲醇中除去。蒸发至干获得 984mgACVDP 三乙胺盐(1.42mmol, 收率＝70%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 8.5, 200MHz) δ (ppm): 1.23-1.30 (t, J = 7.3, 27H), 3.14-3.25 (q, J = 7.3, 18H), 3.77-3.81 (m, 2H), 4.04-4.12 (m, 2H), 5.56 (s, 1H), 7.98 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 8.5, 80MHz) δ (ppm):-6.35:-6.62 (d, J=22.1), -10.62:-10.90 (d, J=22.1).

实施例 3

无环鸟苷基 2'-脱氧-5'-鸟苷三磷酸酯(ACVTPdG)的制备

dGMP 和 ACVDP 的三丁基胺盐通过首先用 Dowex 50W-X8 色谱柱将其钠盐或三乙胺盐转化为吡啶盐来制备。

将水(5ml)和 700mg dGMP(2mmol)的溶液上样至 Dowex 50W-X8(吡啶型)。用 50%甲醇水溶液洗脱柱子。洗脱液减压蒸发至干，然后加入 500μl 三丁基胺(2mmol)和 10ml 水。30 分钟后将混合物蒸发至干。获得的残余物用 3×10ml 无水吡啶和 2×5ml 无水 DMF 蒸发。

984mg ACVDP 三乙胺盐(1.42mmol)溶解于 5ml 水中上样至 Dowex 50W-X8 柱并且用 50%甲醇水溶液洗脱。真空下浓缩溶液，然后加入 710μl 三丁基胺(2.8mmol)和 15ml 水。搅拌 30 分钟后将反应混合物蒸发至干，残余物通过反复加入和蒸发无水吡啶(3×10ml)和无水 DMF(2×10ml)来干燥。

ACVDP 的无水三丁基胺盐，14ml DMF 和 910mg 1,1'-羰基二咪唑(7.1mmol)于施兰克试管中在无水条件下混和。在分子筛上室温搅拌 12 小时后，加入 570μl 甲醇(10mmol)，30 分钟后加入 6ml 含有 dGMP 的无水三丁基胺盐的 DMF。另外搅拌 14 小时后，将反应混合物蒸发至干，溶解于最小体积的水中并上样至 DEAE-纤维素柱。用三乙胺重碳酸盐缓冲液(pH 7.5)线性梯度(0.05-1M)洗脱柱子。将含有 ACVTP-dG 的洗脱级分合并并且浓缩至干。残余的重碳酸盐通过两个连续的蒸发从 20ml 甲醇中除去，并且残余物质用 Dowex 50W-X8 树脂转化为其钠盐，通过用 1M NaOH 四倍柱床体积洗涤转化后者使其从其 H^+形式至其钠盐形式后，用水洗涤直至 pH 中性。获得的产物真空下干燥为干燥黄色粉末(350mg, 0.45mmol, 收率＝32%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 2.35-2.48 (m, 1H), 2.65-2.79 (m, 1H), 3.70-3.74 (m, 2H), 4.05-4.20 (m, 5H), 4.65-4.71 (m, 1H), 5.39 (s, 1H), 6.16-6.23 (t, J = 6.59, 1H) 7.84 (s, 1H), 7.99 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): -11.13:-11.37 (d, J=19.53), -11.28:-11.51 (d, J=19.53), -22.90:-23.36 (t, J=19.53)。

实施例 4

无环鸟苷基 2'-脱氧-5'-腺苷三磷酸酯(ACVTPdA)的制备

按照上面实施例 3 中描述的方法使用 2'-脱氧腺苷-5'-单磷酸二钠盐(dAMP, 165mg, 0.5mmol)代替 dGMP 和 ACVDP 三丁基胺盐(194mg, 0.28mmol)来制备 ACVTPdA，得到 ACVTPdA 钠盐为黄色粉末(82mg, 0.11mmol, 收率＝39%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 2.42-2.53 (m, 1H), 2.62-2.75 (m, 1H), 3.61-3.65 (m, 2H), 3.97-4.19 (m, 5H), 4.64-4.71 (m, 1H), 5.29 (s, 1H), 6.31-6.38 (t, J = 6.59, 1H) 7.70 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.34 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): -11.41:-11.65 (d, J=19.53), -11.59:-11.83 (d, J=19.53), -23.27: -23.76 (t, J=19.53)。

实施例 5

无环鸟苷基 5'-胸苷三磷酸酯(ACVTPT)的制备

按照上面实施例 3 中描述的方法使用胸苷-5'-单磷酸二钠盐(TMP, 183mg, 0.5mmol)代替 dGMP 和 ACVDP 三丁基胺盐(194mg, 0.28mmol)来制备 ACVTP-T，得到 ACVTP-T 钠盐为黄色粉末(100mg, 0.13mmol, 收率＝46%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 1.95 (s, 3H), 2.31-2.40 (m, 1H), 3.83-3.89 (m, 2H), 4.12-4.29 (m, 5H), 4.61-4.68 (m, 1H), 5.59 (s, 1H), 6.31-6.38 (t, J = 6.59, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.79 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): -11.30:-11.64 (d, J=19.50), -11.59:-11.83 (d, J=19.50), -23.32: -23.80 (t, J=19.50)。

实施例 6

3'-叠氮胸苷-5'-单磷酸酯的制备

100mg 3'-叠氮胸苷(0.37mmol)和 0.5ml 磷酸三乙酯的混合物在 0℃下逐渐加入到 1ml 磷酸三乙酯和 100μl 磷酰氯(1.0mmol)的混合物中。混合物在 0-4℃搅拌下保持 16 小时。然后加入 10ml 用冰预冷的 5%$NaHCO_3$ 水溶液并于 0℃搅拌 1 小时后，用 1M NaOH

调 pH 至 7.0。继续搅拌 12 小时后，混合物用 3×10ml 乙醚萃取来除去磷酸三乙酯。减少水溶液体积 (1ml) 并且上样至 DEAE-纤维素柱。用 pH 7.5 的三乙胺重碳酸盐线性梯度 (0.05-0.4M) 洗脱柱子。对适当的洗脱级分进行真空蒸发。加入甲醇并且再次蒸发以除去三乙胺重碳酸盐获得的 3'-叠氮胸苷-5'-单磷酸三乙胺盐为白色固体 (90mg, 0.15mmol, 收率＝40%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200 MHz) δ (ppm): 1.23-1.30 (t, J = 7.32, 18H), 1.92 (s, 3H), 2.44-2.52 (m, 2H), 3.13-3.24 (q, J=7.32, 12H), 3.96-4.00 (m, 2H), 4.12-4.20 (m, 1H), 4.46-4.54 (m, 1H), 6.22-6.29 (t, J=6.59, 1H), 7.81 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): 2.57 (s)。

实施例 7

2',3'-双脱氧胞苷-5'-单磷酸酯的制备

按照上面实施例 6 描述的合成 3'-叠氮胸苷-5'-单磷酸酯的方法制备 2'3'-双脱氧胞苷-5'-单磷酸酯，使用 2'3'-双脱氧胞苷(ddC, 100mg, 0.47mmol)代替 AZT，得到的 2'3'-双脱氧胞苷-5'-单磷酸酯为白色固体(ddCMP, 145mg, 0.28mmol, 收率＝59%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 1.23-1.30 (t, J = 7.32, 18H), 1.74-2.11 (m, 2H), 2.24-2.40 (m, 2H), 3.13-3.24 (q, J=7.32, 12H), 3.85-3.90 (m, 1H), 4.02-4.11 (m, 1H), 4.18-4.30 (m, 1H), 5.88-5.92 (m, 1H), 6.04-6.08 (d, J=7.32, 1H), 8.08-8.12 (d, J=7.32, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): 1.30 (s)。

实施例 8

2',3'-双脱氧胞苷-5'-二磷酸酯的制备

按照上面实施例 3 描述的方法用 2'3'-双脱氧胞苷-5'-单磷酸三乙胺盐(105mg, 0.2mmol)代替无环鸟苷单磷酸酯制备 2',3'-双脱氧胞苷-5'-二磷酸酯(ddCDP)，得到的 ddCDP 为白色固体(100mg, 0.14mmol, 收率＝70%)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 1.23-1.30 (t, J = 7.32, 18H), 1.62-1.96 (m, 2H), 2.12-2.37 (m, 2H), 3.13-3.24 (q, J=7.32, 12H), 3.75-3.80 (m, 1H), 3.92-4.02 (m, 1H), 4.11-4.21 (m, 1H), 5.85-5.88 (m, 2H), 7.81-7.85 (d, J=7.32, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80 MHz) δ (ppm): -4.51:-6.47 (br s), -8.40:-9.40 (br s)。

实施例 9

无环鸟苷基-3'-叠氮胸苷-5'-三磷酸酯的制备

按照上面实施例 3 描述的方法用 3'-叠氮胸苷-5'-单磷酸三乙胺盐(AZTMP, 90mg,

0.16mmol)代替 dGMP 和 ACVDP 三丁基胺盐(80mg, 0.12mmol)制备 ACV-TP-AZT，得到的 ACV-TP-AZT 钠盐为黄色粉末(30mg, 0.04mmol, 收率＝33％)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 1.91 (s, 3H), 2.36-2.52 (m, 2H), 3.72-3.83 (m, 2H), 4.05-4.24(m, 4H), 4.52-4.63 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 6.22-6.31 (t, J = 7.32, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.88 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): -11.38:-11.63 (d, J=18.30), -11.77:-12.01 (d, J=18.31), -23.11: -23.56 (t, J=18.31)。

实施例 10

2',3'-双脱氧胞苷-2'-脱氧-5'-鸟苷三磷酸酯的制备

按照上面实施例 3 描述的方法用 2',3'-双脱氧胞苷-5'-二磷酸三乙胺盐(ddCDP, 100mg, 0.14mmol)代替 ACVDP 三乙胺盐和 2'脱氧鸟苷-5'-单磷酸二钠盐(dGMP, 98mg, 0.28mmol)制备 ddC-TP-dG，得到的 ddC-TP-dG 钠盐为黄色粉末(20mg, 0.04mmol, 收率＝28％)。

^{1}H-NMR (D_2O, pH 7.5, 200MHz) δ (ppm): 1.74-2.11 (m, 2H), 2.35-2.75 (m, 4H), 3.70-3.85 (m, 2H), 3.92-4.02 (m, 1H), 4.11-4.21 (m, 2H), 4.52-4.63 (m, 1H), 5.50 (s, 2H), 6.06-6.27 (m, 2H), 7.83-785 (d, J=7.30, 1H), 7.95 (s, 1H)。

^{31}P-NMR (D_2O, pH 7.5, 80MHz) δ (ppm): -11.13:-11.36 (d, J=18.31, 2P), -22.52:-22.99 (t, J=18.31)。