

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 02807201.4

[51] Int. Cl.

C07H 19/16 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006 年 6 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1259332C

[22] 申请日 2002.3.3 [21] 申请号 02807201.4

[30] 优先权

[32] 2001. 3. 3 [33] GB [31] 0105337.0

[86] 国际申请 PCT/IL2002/000160 2002.3.3

[87] 国际公布 WO2002/070532 英 2002.9.12

[85] 进入国家阶段日期 2003.9.24

[71] 专利权人 莱顿大学

地址 荷兰莱顿

共同专利权人 坎-菲特生物药物有限公司

[72] 发明人 E·范迪尔伯格 A·伊泽曼

审查员 陈 真

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 唐晓峰

权利要求书 8 页 说明书 71 页 附图 2 页

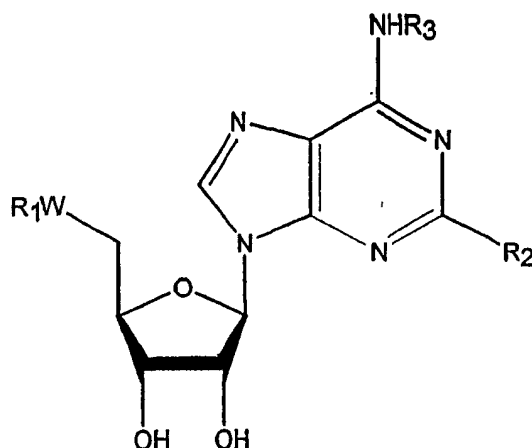
[54] 发明名称

C2,5'-二取代的和 N^{6'},C2,5'-三取代的腺苷
衍生物及其不同用途

[57] 摘要

本发明涉及新的 C2, 5' - 二取代的和 N^{6'},
C2, 5' - 三取代的腺苷衍生物及其不同用途。发现这些腺苷衍生物是有效的腺苷受体激动剂, 并因此
在治疗和预防受腺苷受体激动剂影响的疾病如癌症具有治疗价值。

1、通式(I)的化合物或其盐：



(I)

其中

-W 表示氧原子或硫原子；

-R₁ 表示低级烷基或低级环烷基；

-R₂ 表示卤素、低级链烯基、低级链炔基或低级同位亚烷基胍基；

-R₃ 表示氢原子、低级烷基、低级环烷基、(芳)烷基、芳基或酰基苯胺；所述环烷基、芳基或(芳)烷基可以被选自卤素、羟基或羟基烷基的一个或多个取代基取代；

其中不包括如下化合物：

2-氟-5'-甲硫基腺苷；

2-氟-5'-脱氧-5'-甲硫基腺苷；

2-氟-5'-脱氧-5'-乙硫基腺苷；

2-氟-5'-脱氧-5'-乙硫基腺苷；

5'-脱氧-5'-丁硫基-2-氟腺苷。

2、权利要求 1 所述的化合物，其中 W 表示硫原子，R₁ 表示烷基，R₂ 表示卤素，而 R₃ 表示氢原子。

3、权利要求 2 所述的化合物，其中 W 表示硫原子，R₁ 表示选自甲基、乙基、正丙基或异丙基的烷基，R₂ 表示碘原子，而 R₃ 表示氢原子。

4、权利要求1所述的化合物，其中W表示硫原子，R₁表示烷基，R₂表示链炔基，而R₃表示氢原子。

5、权利要求4所述的化合物，其中W表示硫原子，R₁表示选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基，R₂表示1-己炔基，而R₃表示氢原子。

6、权利要求1所述的化合物，其中W表示硫原子，R₁表示烷基，R₂表示亚烷基胍基，而R₃表示氢原子。

7、权利要求6所述的化合物，其中W表示硫原子，R₁表示选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基，R₂表示N'-3-甲基-1-亚丁基胍基，而R₃表示氢原子。

8、权利要求1所述的化合物，其中W表示氧原子，R₁表示烷基，R₂表示卤原子，而R₃表示选自氢原子、环烷基、被取代或未被取代的(芳)烷基的取代基。

9、权利要求1所述的化合物，其中W表示氧原子，R₁表示甲基、乙基或环丙基，R₂表示氯原子，而R₃表示氢原子、环戊基或卤代苄基。

10、权利要求9所述的化合物，其中所述卤代苄基是3-碘代苄基。

11、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-碘-5'-甲硫基腺苷。

12、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-碘-5'-乙硫基腺苷。

13、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-碘-5'-丙硫基腺苷。

14、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-碘-5'-异丙硫基腺苷。

15、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-甲硫基腺苷。

16、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-乙硫基腺苷。

17、权利要求1所述的化合物，其是5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-

丙硫基腺苷。

18、权利要求 1 所述的化合物，其是 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-异丙硫基腺苷。

19、权利要求 1 所述的化合物，其是 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-甲硫基腺苷。

20、权利要求 1 所述的化合物，其是 5'-脱氧-5'-乙硫基-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)腺苷。

21、权利要求 1 所述的化合物，其是 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-丙硫基腺苷。

22、权利要求 1 所述的化合物，其是 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-异丙硫基腺苷。

23、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-环戊基-5'-O-甲基腺苷。

24、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-(3-碘苄基)-5'-O-甲基腺苷。

25、权利要求 1 所述的化合物，其是 2-氯-5'-O-甲基腺苷。

26、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-甲基腺苷。

27、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-O-甲基腺苷。

28、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-环戊基-5'-O-乙基腺苷。

29、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-(3-碘苄基)-5'-O-乙基腺苷。

30、权利要求 1 所述的化合物，其是 2-氯-5'-O-乙基腺苷。

31、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-乙基腺苷。

32、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-O-乙基腺苷。

33、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-环戊基-5'-O-环丙基腺苷。

34、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-(3-碘苄基)-5'-O-环丙基

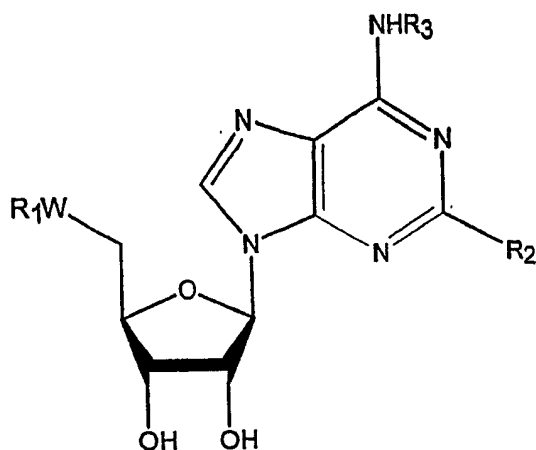
腺苷。

35、权利要求 1 所述的化合物，其是 2-氯-5'-O-环丙基腺苷。

36、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-环丙基腺苷。

37、权利要求 1 所述的化合物，其是 N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-O-环丙基腺苷。

38、药物组合物，其中含有通式 (I) 的化合物或其盐作为活性组分以及药用添加剂：



(I)

其中

-W 表示氧原子或硫原子；

-R₁ 表示低级烷基或低级环烷基；

-R₂ 表示卤素、链烯基、链炔基或同位亚烷基胥基；

-R₃ 表示氢原子、低级烷基、低级环烷基、(芳)烷基、芳基或酰基苯胺；所述环烷基、芳基或(芳)烷基可以被选自卤素、羟基或羟基烷基的一个或多个取代基取代；

其中不包括如下化合物：

2-氯-5'-甲硫基腺苷；

2-氯-5'-脱氧-5'-甲硫基腺苷；

2-氯-5'-脱氧-5'-乙硫基腺苷；

2-氯-5'-脱氧-5'-乙硫基腺苷；

5'-脱氧-5'-丁硫基-2-氯腺苷。

39、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示硫原子，R₁表示烷基，R₂表示卤素，而 R₃表示氢原子。

40、权利要求 39 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示硫原子，R₁表示选自甲基、乙基、正丙基或异丙基的烷基，R₂表示碘原子，而 R₃表示氢原子。

41、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示硫原子，R₁表示烷基，R₂表示链炔基，而 R₃表示氢原子。

42、权利要求 41 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示硫原子，R₁表示选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基，R₂表示 1-己炔基，而 R₃表示氢原子。

43、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示硫原子，R₁表示烷基，R₂表示亚烷基胍基，而 R₃表示氢原子。

44、权利要求 43 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示硫原子，R₁表示选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基，R₂表示 N'-3-甲基-1-亚丁基胍基，而 R₃表示氢原子。

45、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示氧原子，R₁表示烷基，R₂表示卤原子，而 R₃表示选自氢原子、环烷基、被取代或未被取代的(芳)烷基的取代基。

46、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是通式(I)的化合物，所述化合物中 W 表示氧原子，R₁表示甲基、乙基或环丙基，R₂表示氯原子，而 R₃表示氢原子、环戊基或卤代苄基。

47、权利要求 46 所述的组合物，其中所述卤代苄基是 3-碘代苄基。

48、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-碘-5'-甲硫基腺苷。

49、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-碘-5'-乙硫基腺苷。

50、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-碘-5'-丙硫基腺苷。

51、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-碘-5'-异丙硫基腺苷。

52、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-甲硫基腺苷。

53、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-乙硫基腺苷。

54、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-丙硫基腺苷。

55、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-异丙硫基腺苷。

56、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-甲硫基腺苷。

57、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-5'-乙硫基-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)腺苷。

58、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-丙硫基腺苷。

59、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-异丙硫基腺苷。

60、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-环戊基-5'-0-甲基腺苷。

61、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-(3-碘苄基)-5'-0-甲基腺苷。

62、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 2-氯-5'-0-甲基腺苷。

63、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-环戊基

-2-氯-5'-0-甲基腺苷。

64、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-0-甲基腺苷。

65、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-环戊基-5'-0-乙基腺苷。

66、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-(3-碘苄基)-5'-0-乙基腺苷。

67、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 2-氯-5'-0-乙基腺苷。

68、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-环戊基-2-氯-5'-0-乙基腺苷。

69、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-0-乙基腺苷。

70、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-环戊基-5'-0-环丙基腺苷。

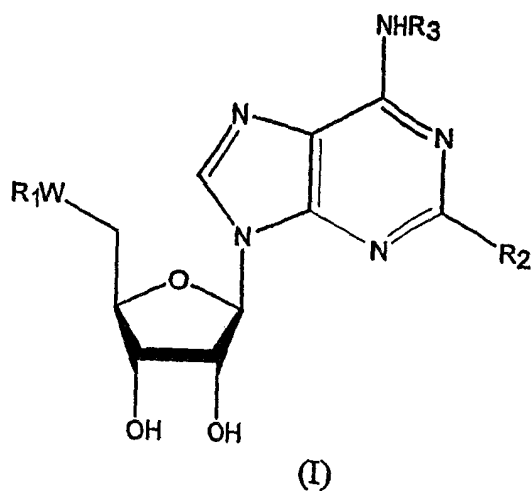
71、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-(3-碘苄基)-5'-0-环丙基腺苷。

72、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 2-氯-5'-0-环丙基腺苷。

73、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-环戊基-2-氯-5'-0-环丙基腺苷。

74、权利要求 38 所述的组合物，其中所述活性组分是 N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-0-环丙基腺苷。

75、如下通式(I)的化合物或其盐在制备药物组合物中的用途：



其中

-W 表示氧原子或硫原子；

-R₁ 表示低级烷基或低级环烷基；

-R₂ 表示卤素、低级链烯基、低级链炔基或低级同位亚烷基胥基；

-R₃ 表示氢原子、低级烷基、低级环烷基、(芳)烷基、芳基或酰基苯胺；所述环烷基、芳基或(芳)烷基可以被选自卤素、羟基或羟基烷基的一个或多个取代基取代。

C2, 5'-二取代的和 N⁶, C2, 5'-三取代 的腺苷衍生物及其不同用途

发明领域

本发明涉及 C2, 5'-二取代的和 N⁶, C2, 5'-三取代的腺苷衍生物、药物组合物及其用途。

现有技术

下列是现有技术清单，它们适于描述本发明领域的现有技术状态，所有文献也包括在本说明书末权利要求前出现的出版物清单中。本文中对这些文献的引用以其在出版物清单中的序号标记，该序号也标记于下文的括号中。

- Van der Wenden, E. M., Carnielli, M., Roelen, H. C. P. F., Lorenzen, A., von Frijtag Drabbe Künzel, J. K., IJzerman, A. P., J. Med. Chem., 1998, 41, 102-108(参考文献 1)。

- Roelen, H., Veldman, N., Spek, A. L., von Frijtag Drabbe Künzel, J., Mathot, R. A., IJzerman, A. P., J. Med. Chem., 1996, 39, 1463-1471(参考文献 2)。

- Gallo-Rodriguez, C., Ji, X., Melman, N., Siegman, B. D., Sanders, L. H., Orlina, J., Fischer, B., Pu, Q., Olah, M. E., van Galen, P. J. M., Stiles, G. L., Jacobson, K. A., J. Med. Chem., 1994, 37, 636-646(参考文献 3)。

- Van Tilburg, E. W., Von Frijtag Drabbe Künzel, J., Groote, M., Vollinga, R. C., Lorenzen, A., IJzerman, A. P., J. Med. Chem., 1999, 42, 1393-1400(参考文献 5)。

- Hutchison, A. J., Williams, M., deJesus, R., Yokoyama, R., Oei, H. H., Ghai, G. R., Webb, R. L., Zoganas, H. C.,

Stone, G. A. , Jarvis, M. F. , J. Med. Chem., 1990, 33, 1919-1924(参考文献 6)。

- Niiya, K. , Olsson, R. A. , Thompson, R. D. , Silvia, S. K. , Ueda, M. , J. Med. Chem., 1992, 35, 4557-4561(参考文献 7)。

- Cristalli, G. , Eleuteri, A. , Vittori, S. , Volpini, R. , Lohse, M. J. , Klotz, K.-N., J. Med. Chem., 1992, 35, 2363-2368(参考文献 8)。

- Klotz, K.-N., Camaioni, E. , Volpini, R., Kachler, S. , Vittori, S. , Cristalli, G., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1999, 360, 103-108(参考文献 9)。

- Volpini, R. , Camaioni, E. , Costanzi, S. , Vittori, S. , Klotz, K.-N., Cristalli, G. , Nucleosides and Nucleotides, 1999, 18, 2511-2520(参考文献 10)。

- Homma, H., Watanabe, Y., Abiru, T., Murayama, T., Nomura, Y., Matsuda, A., J. Med. Chem., 1992, 35, 2881-2890(参考文献 25)。

- Matsuda, A., Shinozaki, M., Yamaguchi, T., Homma, H., Nomoto, R., Miyasaka, T., Watanabe, Y., Abiru, T., Nucleosides and nucleotides. 103. 2-Alkynyladenosines: J. Med. Chem., 1992, 35, 241-252(参考文献 26)。

- Cristalli, G., Camaioni, E., Costanzi, S., Vittori, S., Volpini, R., Klotz, K. N., Drug Dev. Res., 1998, 45, 176-181(参考文献 27)。

- Chan, C. , (GB), G. W., PCT Int. Appl. 104 pp. WO 99/38877 A2 990805, 1999(参考文献 31)。

发明背景

腺苷通过激活特异性膜结合受体 P_1 -嘌呤受体(purinoreceptors)

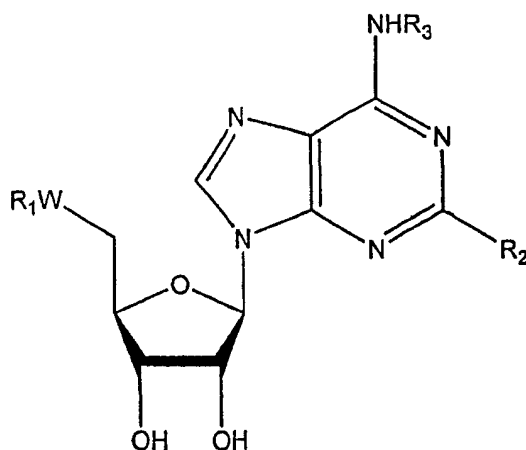
作用于细胞外。这些腺苷受体可以分为4该亚类， A_1 ， A_{2A} ， A_{2B} 和 A_3 受体。所有的4类受体与腺苷酸环化酶结合。腺苷 A_1 和 A_3 受体的激活导致腺苷酸环化酶的抑制，而活化的 A_{2A} 和 A_{2B} 受体激活腺苷酸环化酶。腺苷受体普遍地分布在整个身体中。因此，要求配体在发挥作用时对有治疗价值的受体亚型和组织具有高度的选择性。

受体亚型的选择性可以通过取代腺苷分子来获得。例如，在腺苷 N^6 位的修饰耐受性很好。 N^6 -取代基如环戊基提高了腺苷 A_1 受体相对于其它亚型的选择性^{1,2}，而3-碘代苄基带来腺苷 A_3 受体选择性³⁻⁵。大的取代基如(芳)烷基氨基⁶、同位亚烷基胍基⁷和链炔基⁸，在腺苷部分的2位产生相对于 A_1 的对腺苷 A_{2A} 受体的选择性。最近，已评价了2-(芳)链炔基腺苷衍生物对腺 A_3 受体的选择性。令人惊奇的是，此类化合物中的一些似乎对腺苷 A_3 受体具有选择性，而不是对 A_{2A} ^{9,10}。

组织选择性常常是部分激动的结果^{11,12}。由于不同组织内受体-效应子中的不同，可以获得体内作用的选择性。腺苷受体的部分激动剂可以用作抗精神病药，例如，通过对腺苷 A_{2A} 受体的刺激导致基底神经节中多巴胺 D_2 受体的抑制^{13,14}并当长期给药时通过腺苷 A_3 受体作为心脑血管保护剂^{15,16}。

发明概述

本发明提供了通式(I)的化合物或其盐：



其中

(I)

-W 表示氧原子或硫原子；
-R₁ 表示低级烷基或低级环烷基；
-R₂ 表示卤素，低级链烯基，低级链炔基或低级同位亚烷基胼基；
-R₃ 表示氢原子、低级烷基、低级环烷基、芳基、酰基苯胺或(芳)烷基；所述环烷基、芳基或(芳)烷基可以被选自卤素、羟基或羟基烷基的一个或多个取代基取代。

术语“烷基”，其可以在本文中与术语“低级烷基”交互使用，表示在其骨架上含有 1 至约 10 该碳原子的、直链或支链的、任何饱和的烃。

因此，术语“链烯基”和“链炔基”，它们也分别与“低级链烯基”和“低级链炔基”交互使用，指在骨架上含有 2 至 10 个碳原子的直链或支链烃，其中至少两个碳原子分别通过双键或三键相连。

因此，应理解术语“低级”用作前缀来定义烃时，其指在其骨架上具有不超过 10 该碳原子的任何烃。

当提及本发明化合物的盐时，它指任何生理可接受的盐。术语“生理可接受的盐”指常用于制药工业中的任何无毒碱金属盐、碱土金属盐和铵盐，包括钠盐、钾盐、锂盐、钙盐、镁盐、钡盐、铵盐和鱼精蛋白盐、锌盐，它们可以通过本领域已知方法制备。该术语还包括无毒的酸加成盐，它们一般通过本发明的化合物与适宜的有机酸或无机酸反应制备。酸加成盐保持游离碱的生物作用和性质，且它们在生物学方面或其它方面没有副作用。实例包括得自无机酸的酸，并特别包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、偏磷酸等。有机酸特别包括酒石酸、乙酸、丙酸、桔橦酸、苹果酸、丙二酸、乳酸、富马酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、乙醇酸、葡糖酸、丙酮酸、琥珀酸、水杨酸和芳基磺酸，如对甲苯磺酸。

本发明还提供了含有有效量的上述通式(I)的化合物作为活性组分的药物组合物。

此外，本发明涉及本发明的化合物作为腺苷受体配体优选腺苷，受体激动剂，的用途。

附图简述

为了理解本发明并探求其如何实施，现参照附图对优选的实施方式进行非限制性的描述，其中：

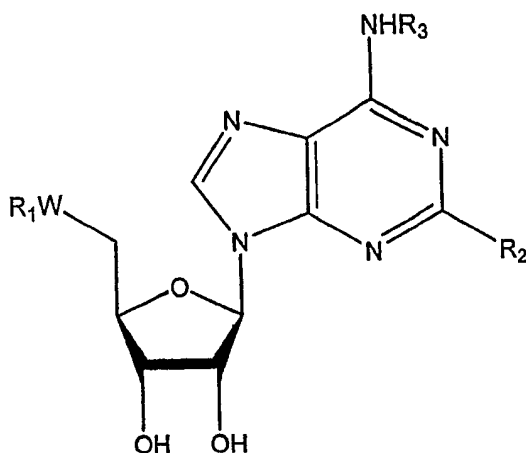
图 1 是显示体外试验结果的条框图，其中检测了在 $50\mu\text{M}$ 药物存在下人脐血样品中 G-CSF 产生的水平。具体地讲，检测了化合物 34、37、69 和 70(参见下文)对 G-CSF 产生的作用，同时腺苷 A_3 受体激动剂 IB-MECA 作为对照。

图 2 是体外试验结果的条框图，其中检测了在 $10\mu\text{M}$ 化合物的存在下骨髓细胞的增殖。具体地讲，与作为对照的腺苷 A_3 受体激动剂 IB-MECA 相比，检测化合物 34、37、69 和 70(参见下文)对 $[^3\text{H}]$ 胸苷掺入的作用。

图 3A-3C 是显示体内试验结果的条框图，其中检测了在接受两个日剂量化合物 34、37、69 和 70(参见下文) ($150\mu\text{mol/kg}$ 体重每剂量) 的小鼠中，本发明的一些化合物白细胞计数(图 3A)、纯中性白细胞计数(ANC)(图 3B)和血清 G-CSF 水平(图 3C)的作用。

发明详述

本发明是为了开发若干种新的腺苷受体激动剂。因此，按照本发明的第一个方面，其提供了通式(I)的化合物或其盐：



(I)

其中

-W 表示氧原子或硫原子；

-R₁ 表示低级烷基或低级环烷基；

-R₂ 表示卤素，低级链烯基，低级链炔基或低级同位亚烷基胼基；

-R₃ 表示低级烷基、低级环烷基、(芳)烷基、芳基和酰基苯胺；所述环烷基、芳基或(芳)烷基可以被选自卤素、羟基或羟基烷基的一个或多个取代基取代。

更具体地讲，本发明提供了通式(I)的化合物，其中取代基定义如下：

-W 表示氧原子或硫原子；

-R₁ 表示低级烷基或环烷基；

-R₂ 表示卤素，链炔基或同位亚烷基胼基；

-R₃ 表示环烷基或(芳)烷基，其中所述芳烷基任选地钽至少一个卤原子取代。

按照一些特殊的实施方案，本发明的化合物是如下化合物，其中：

- W 表示氧原子；

-R₁ 表示烷基；

-R₂ 表示卤原子；而

-R₃ 表示氢原子。

按照一个优选的实施方案，W 表示硫原子，R₁ 是选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基；R₂ 是碘；而 R₃ 是氢原子。

按照第二个优选的实施方案，W 是硫原子，R₁ 是选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基；R₂ 是链炔基；而 R₃ 是氢原子。按照此实施方案，R₂ 优选是 1-己炔基。

按照第三个优选实施方案，W 为硫原子，R₁ 是选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的低级烷基；R₂ 是同位亚烷基胼基；而 R₃ 是氢原子。按照此实施方案，R₂ 优选是 N'-3-甲基-1-亚丁基胼基。

按照第四个优选实施方案，W 是氧原子，R₁ 是烷基，R₂ 是卤原子；而 R₃ 选自氢原子、环烷基或者被取代的或未被取代的(芳)烷基。更优选，R₁

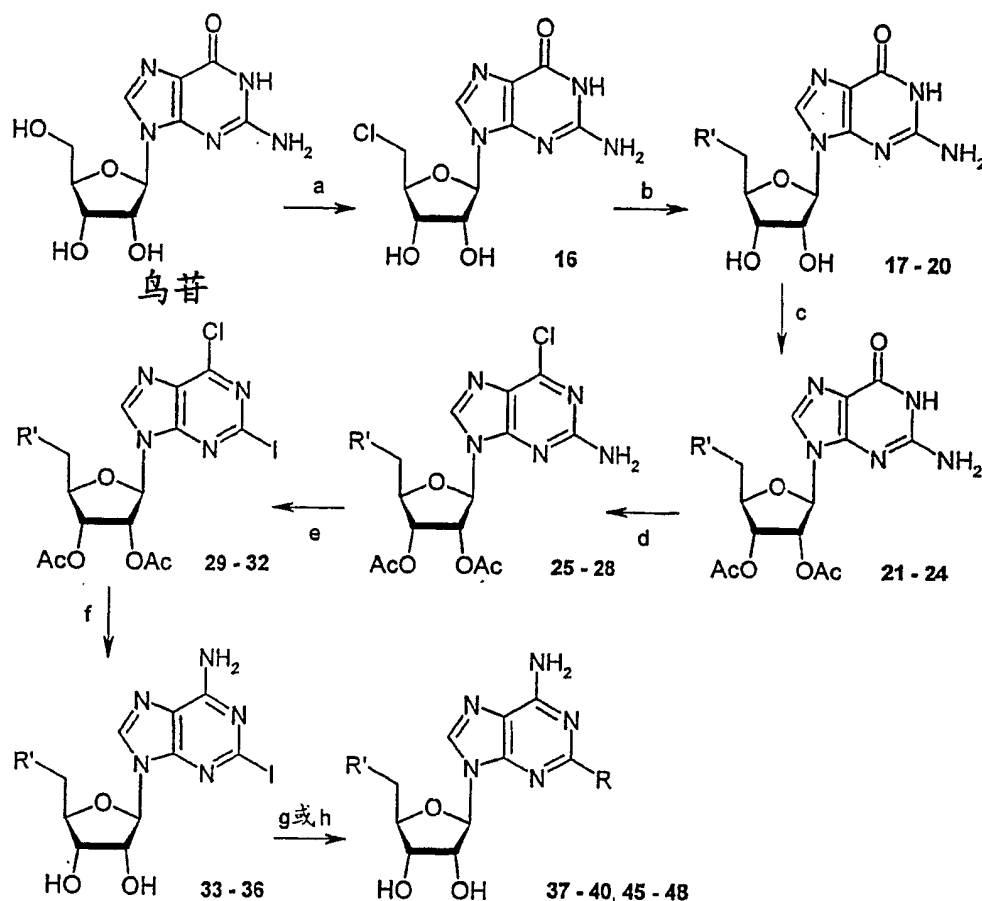
是选自甲基、乙基或环丙基的低级烷基， R_2 是氯，而 R_3 是卤代苄基，优选3-碘代苄基。

本发明特定化合物包括：

- 5'-脱氧-2-碘-5'-甲硫基腺苷(下文中化合物 33)；
- 5'-脱氧-2-碘-5'-乙硫基腺苷(下文中化合物 34)；
- 5'-脱氧-2-碘-5'-丙硫基腺苷(下文中化合物 35)；
- 5'-脱氧-2-碘-5'-异丙硫基腺苷(下文中化合物 36)；
- 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-甲硫基腺苷(下文中化合物 37)；
- 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-乙硫基腺苷(下文中化合物 38)；
- 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-丙硫基腺苷(下文中化合物 39)；
- 5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-异丙硫基腺苷(下文中化合物 40)；
- 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-甲硫基腺苷(下文中化合物 45)；
- 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-乙硫基腺苷(下文中化合物 46)；
- 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-丙硫基腺苷(下文中化合物 47)；
- 5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-异丙硫基腺苷(下文中化合物 48)；
- N⁶-环戊基-5'-O-甲基腺苷(下文中化合物 67)；
- N⁶-(3-碘苄基)-5'-O-甲基腺苷(下文中化合物 68)；
- 2-氯-5'-O-甲基腺苷(下文中化合物 69)；
- N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-甲基腺苷(下文中化合物 70)；
- N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-O-甲基腺苷(下文中化合物 71)；
- N⁶-环戊基-5'-O-乙基腺苷(下文中化合物 73)；
- N⁶-(3-碘苄基)-5'-O-乙基腺苷(下文中化合物 74)；
- 2-氯-5'-O-乙基腺苷(下文中化合物 75)；
- N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-乙基腺苷(下文中化合物 76)；
- N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-O-乙基腺苷(下文中化合物 77)；

- N⁶-环戊基-5'-O-环丙基腺苷(下文中化合物 78, 79);
- N⁶-(3-碘苄基)-5'-O-环丙基腺苷(下文中化合物 80);
- 2-氯-5'-O-环丙基腺苷(下文中化合物 81);
- N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-环丙基腺苷(下文中化合物 82);
- N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-O-环丙基腺苷(下文中化合物 83);

本发明的化合物可以通过若干合成方法制备。例如, 获得 C2, 5'-二取代的衍生物 33-40 和 45-48 的合成路线描述于下文方案 1 中:



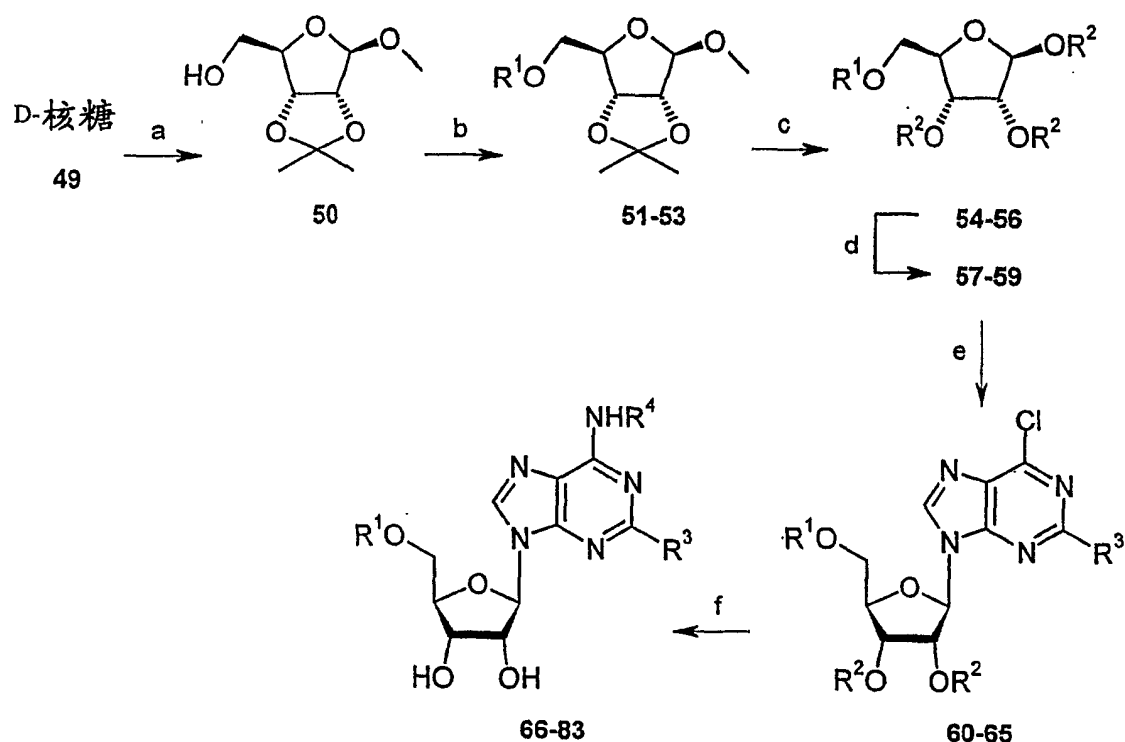
R' = SCH₃、SC₂H₅、S-n-C₃H₇ 或 S-i-C₃H₇; 37-40 R = C≡C(CH₂)₃CH₃; 45-48 R = NHN=CHCH₂CH(CH₃)₂; (a) HMPA, SOCl₂, Dowex 50W (H⁺); (b) i) RSH, 2M NaOH, 回流 ii) 乙酸; (c) i) DMAP, CH₃CN, Et₃N, 乙酸酐 ii) MeOH; (d) CH₃CN, Et₄NCl, N,N-二甲基苯胺, POCl₃, 回流; (e) I₂, CH₂I₂, CuI, 异戊基腈, THF; (f) EtOH/NH₃; (g) CH₃CN,

Et₃N, CuI, PdCl₂, PH₃P, 1-己炔; (h) i) 异丙醇, 腈一水合物, 回流 ii) MeOH, 异戊醛, 回流

按照此方案, 由 2-碘腺苷(1)开始, 该起始物是文献中描述的合成若干腺苷衍生物的重要中间体¹⁸。通过将 1 与腈一水合物在 80℃下搅拌由 1 合成 2-胍基腺苷(2)。按照 Niiya 等的方法, 缩合 2 和异戊醛产生 2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-腺苷(3)⁷。1 与 1-己炔反应, 以良好的收率(88%)制备了 2-(1-己炔基)腺苷(4)^{8, 19}。化合物 33-40 和 45-48 的部分合成路线类似于化合物 2-4, 不同的是 C-2 取代前, 引入 5'-烷硫基取代基。事实上, 在该路线的早期阶段是如此进行的, 即对于商购的鸟苷, 其用作 2-碘腺苷(1)本身的起始物。5'-(烷硫基)-取代的衍生物 17-20 通过 5'-氯-5'-脱氧-鸟苷(16)与适当的硫醇在 2 M NaOH 中反应来制备^{1, 5, 20}。接着, 2', 3'-羟基进行乙酰基保护以避免在进一步合成中反应, 以定量的收率获得了化合物 21-24。

用磷酰氯(POCl₃), 氯化化合物 21-24 的 6 位^{18, 21}, 得到 2-氨基-6-氯-9-(2, 3-二-O-乙酰基-5-烷硫基-5-脱氧-α-D-呋喃核糖基)-嘌呤衍生物 25-28, 收率从合理至良好(40-74%)。接着, 通过重氯化-碘取代反应将化合物 25-28 的 2-氨基取代位碘²²。此方法似乎是制备 29-32 的有效途径。搅拌 29-32 与用氨气饱和的乙醇, 得到 5'-烷硫基-2-碘腺苷中间体 33-36。在这些条件下乙酰基保护基容易被除去。但是, 6 位只有在几天后才胺化。最后, 对于化合物 3⁸, 在 33-36 中很容易引入 2-(1-己炔基), 以良好的收率得到 5'-烷硫基-5'-脱氧-2-(1-己炔基)腺苷衍生物 37-40。如上所述, 通过缩合 5'-烷硫基-5'-脱氧-2-胍基腺苷衍生物 (41-44) 与异戊醛合成 5'-烷硫基-5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)腺苷衍生物(45-48)⁷。

或者, 本发明的 N⁶, C2, 5'-三取代的腺苷衍生物 66-83 可以按照如下方案 2 来制备:



反应条件：a：丙酮，MeOH，2,2-二甲氧基丙烷，HCl 气体，b：NaH，DMF，烷基卤化物，c：i) 0.04M NaOH ii) BaCO₃，d) 吡啶，DMAP，醋酸酐，e：1,2-二氯乙烷，硅烷化的碱，TMSOTf，f. i) EtOH/NH₃ 或 ii) 纯 EtOH，适当的胺

按照此方案，让 HCl 气体通过起始物 D-核糖(49)在丙酮、MeOH 和 2,2-二甲氧基丙烷混合物的溶液中，制备被保护的核糖(50)⁴⁸。在标准条件下将 50 的羟基烷基化，即用 NaH 在 DMF 中在冷却下处理，接着分别加入烷基卤化物碘甲烷、碘乙烷或环丙基溴。接着，通过在盐酸(0.04 M)中回流 2 小时，除去烷基化的化合物 51-53 的保护基，得到化合物 54-56⁴⁹。然后，用乙酰基保护保护 54-56 的羟基。然后，按照 Vorbröggen 方法⁴⁵，将完全保护的化合物 57-59 与适当的杂环碱如 6-氯嘌呤或 2,6-二氯嘌呤偶合，得到化合物 60-65，收率良好(48-84%)。用 EtOH/NH₃、环戊基胺或 3-碘代苄基胺胺化，得到未保护的、被取

代的腺苷衍生物 68-83^{1,5}。

正如在下列特定实施例中详述的那样，本发明的化合物具有生物活性。

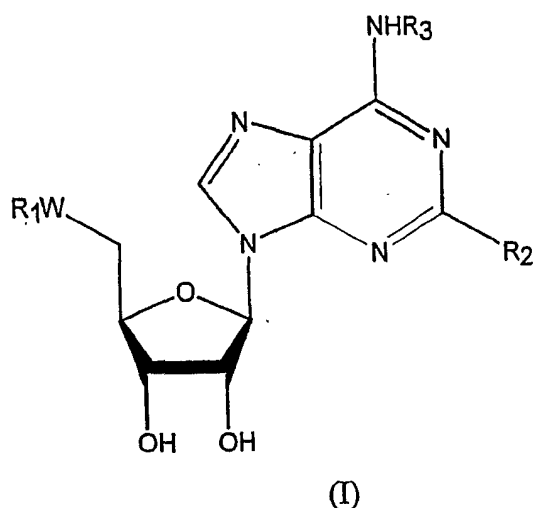
术语“生物活性”指本发明的化合物具有生物活性，例如，对靶受体具有可检测的作用。作为下文中将详细描述的那样，本发明的化合物可以诱发对腺苷受体的生物作用，因此作为腺苷受体激动剂。

术语“激动剂”在本文中指生物活性配体，其结合其互补的生物活性受体并激活后者，引起该受体的生物反应或提高该受体的已存在的生物活性。实际上，激动剂模拟天然配体(在本情况中是腺苷)的作用，或在某些情况下，与天然配体引起的作用相比甚至增加或延长生物作用的时间。

更优选，并正如在下列特定实施例中所示，本发明的化合物是腺苷受体的部分激动剂。

如果本发明的化合物不论其浓度如何高却不能使受体产生最大的活化，则本发明的化合物被看做是“部分激动剂”。

本发明还提供了含有有效量的一种或多种通式(I)化合物或其盐作为活性组分的药物组合物：



其中

-W 表示氧原子或硫原子；

-R₁ 表示低级烷基或低级环烷基；

-R₂表示卤素，低级链烯基，低级链炔基或低级同位亚烷基胍基；

-R₃表示低级烷基、低级环烷基、(芳)烷基、芳基和酰基苯胺；所述环烷基、芳基或(芳)烷基可以被一个或多个卤素、羟基或羟基烷基取代。

术语“有效量”在本文中通过本领域已知的一些因素确定。该量必须有效地达到所需的治疗作用，例如，通过本发明的化合物结合腺苷受体，激活或抑制 cAMP。该有效量特别依赖于所治疗疾病的类型和严重性以及治疗方案。有效量一般在适当设计的临床试验(剂量范围研究)中确定，本领域技术人员会知道如何正确地进行此类试验以便确定此有效量。众所周知，有效量依赖于多种因素，包括配体对受体的亲合性、其在体内的分布曲线、多种药学参数如体内半衰期，依赖于副作用(如果有)，依赖于年龄和性别等因素。

术语“治疗”指使用治疗量的本发明的化合物或组合物(其有效减轻与疾病有关的不良症状)，以便在发病前预防这些症状的出现，以便减缓疾病的恶化，以便减缓症状的恶化，以便减缓疾病的慢性期引起的不可逆的损伤，以便减轻疾病的严重程度或者治愈疾病，以便改善存活率或者更快地康复，以便防止发病，或者上述两种或多种情况的结合。

按照本发明的一个实施方案，该疾病优选需要通过本发明化合物结合腺苷受体来激活或抑制 cAMP，达到治疗目的。例如，优先结合和激活 A₁ 受体的本发明化合物可以作为，例如，睡眠调节剂、抗高血压药、止痛药、抗糖尿病化合物、组织保护剂，结合并激活 A_{2A} 受体的化合物可以作为，例如，抗高血压药和精神安定剂，而结合并激活 A₃ 受体的化合物可以作为，例如，组织保护剂和抗肿瘤剂。

本发明的药物组合物还可以含有药用添加剂。

此外，术语“药用添加剂”在本文中指与所述化合物混合的任何物质，包括但不限于，稀释剂、赋形剂、载体、固体或液体填充剂或包囊物质，当其作为特定剂型中的组分时，其一般加入到制剂中使制剂具有某种形状或均匀性，例如，在丸剂中，作为单方糖浆、芳香粉末以及其它多种赋剂。添加剂还可以是给制剂提供稳定性、无菌性和等渗性的

物质(例如, 抗菌防腐剂、抗氧剂、螯合剂和缓冲剂), 以防止微生物作用(可溶, 抗微生物和抗真菌剂, 如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸等)或赋予该制剂可食性芳香味等。

优选添加剂是惰性、无毒物质, 其不与本发明的活性组分反应。另外, 添加剂可以用来提高活性剂与其受体的结合。此外, 术语添加剂还可以包括辅剂, 作为以可预计的方式影响活性组分作用的物质。

添加剂可以是任何便于使用的物质, 且只是受限于理化方面的考虑如溶解度并缺乏与本发明化合物的反应性, 以及给药途经。

本发明的活性剂可以给患者口服。可以使用常规方法, 如以片剂、混悬剂、溶液剂、乳液、胶囊、散剂、糖浆等形式使用化合物(一种或多种)。

为了口服给药, 本发明的组合物可以含有加速本发明化合物(一种或多种)口服转运的添加剂。适于口服给药的制剂可以包括: (a) 液体溶液, 如溶解于稀释剂如水、盐水或桔汁中的有效量的化合物; (b) 胶囊、小药囊、片剂、锭剂和糖锭剂, 其中都含有预定量的活性组分, 该组分为固体或颗粒; (c) 散剂; (d) 在适当液体中的混悬剂; 及(e) 适当的乳液。液体制剂可以含有稀释剂, 如水和醇, 如乙醇、苄醇和聚乙二醇, 可以添加或不添加药用表面活性剂、助悬剂或乳化剂。胶囊形式可以是普通硬明胶胶囊或软明胶胶囊, 其中含有, 例如, 表面活性剂、润滑剂和惰性填充剂如乳糖、蔗糖、磷酸钙和玉米淀粉。片剂形式可以含有以下一种或多种组分: 乳糖、蔗糖、甘露醇、玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸、微晶纤维素、阿拉伯胶、明胶、瓜儿胶、硅胶、交联羧甲基纤维素钠、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸锌、硬脂酸, 以及其它赋形剂、着色剂、稀释剂、缓冲剂、崩解剂、润湿剂、防腐剂、矫味剂和药用载体。锭剂形式的活性剂可以含于芳香物质中, 一般是蔗糖和阿拉伯胶或黄芪胶, 而润喉糖锭剂的活性组分可以含于惰性基质中, 如明胶和甘油、或蔗糖和阿拉伯胶、乳液、凝胶等。此类添加剂是本领域已知的。

或者, 本发明化合物(一种或多种)可以给患者非肠道给药。在此情况下, 组合物一般配制为单位剂量注射形式(溶液剂、混悬剂、乳液)。

适于注射的药物制剂可以包括灭菌水溶液或分散液以及在灭菌注射溶液或分散液中重构的灭菌粉末。载体可以是溶剂或者分散介质,例如,其中含有水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、脂类、聚乙二醇等)、其适当的混合物;植物油如绵籽油、芝麻油、橄榄油、豆油、玉米油、葵花籽油或花生油;脂肪酸酯如油酸乙酯和棕榈酸异丙基酯以及本领域技术人员已知的多种其它溶剂系统。可以基于活性剂的理化性质选自载体。

对于活性组分水溶性差并因此使用油性载体的情况,可以维持适当的流动性,例如,通过使用乳化剂如磷脂,例如,卵磷脂或多种其它药用乳化剂。正如本领域技术人员所知,可以适当选择表面活性剂和处理条件以控制乳液滴的粒径。

在活性组分水溶性差的情况中,用于非肠道制剂的适宜皂类包括脂肪酸金属盐、铵盐和三乙醇胺盐,而适宜的洗涤剂包括油酸、硬脂酸和异硬脂酸。油酸乙酯和棕榈酸异丙基酯是适宜的脂肪酸酯的实例。

用于非肠道制剂的适宜的洗涤剂包括脂肪酸金属盐、铵盐和三乙醇胺盐,且适宜的洗涤剂包括(a)阳离子洗涤剂,例如,二甲基二烷基卤化铵,以及烷基卤化吡啶,(b)阴离子洗涤剂,例如,烷基、芳基和烯烃磺酸酯,以及甘油单硫酸酯,及磺基琥珀酸酯,(c)非离子洗涤剂,例如,脂肪胺氧化物、脂肪酸烷醇酰胺、及聚氧乙烯聚丙烯共聚物,(d)两性离子洗涤剂,例如,烷基- β -氨基丙酸酯、及2-烷基-咪唑啉季铵盐,及(3)其混合物。

此外,为了减小和消除对注射部位的刺激,组合物可以含有一种或多种亲水亲油平衡(HLB)系数约12至约17的非离子表面活性剂。适宜的表面活性剂包括聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯,如脱水山梨醇单油酸酯,以及通过1,2-环氧丙烷与丙二醇缩合形成的氧化乙烯与疏水基质的高分子量加成物。

添加剂的选择部分由本发明特定的化合物来决定,还要由本发明组合物给药的特定方法决定。

尽管如此,本发明的组合物可以含有一种或多种本发明的化合物,并可以含有其它生物活性物质,以提供联合的治疗作用。

上下文中给出的本发明的化合物和组合物按照优良的医药实践给药, 考虑个体患者的临床病症, 给药的部位和方法, 给药时间表, 个体的年龄、性别、体重以及医生已知的其它因素。

剂量可以是几天内的单剂量或多剂量。治疗的时间一般与疾病的进程成和药物疗效及所治疗的个体物种成比例。适宜的剂量和给药方案可以通过本领域普通技术人员已知的常规剂量范围探求技术来确定。一般来说, 治疗以较小的剂量开始, 该剂量小于该化合物的最佳剂量。此后, 逐步升高剂量, 直到达到该条件下的最佳作用。示例性的剂量范围为约 0.001 mg/kg 所治疗患者体重约 10 mg/kg 所治疗患者体重/天。

本发明的一些新化合物是 A₁ 腺苷受体的激动剂 (“A₁ 激动剂”), 另一些是 A₂ 腺苷受体的激动剂 (“A₂ 激动剂”), 而另一些是 A₃ 腺苷受体的激动剂 (“A₃ 激动剂”)。一些化合物还可以对一种以上的此类腺苷受体具有激动活性。此外, 其中一些显示完全的激动活性, 而一些显示部分激动活性。因此, 基于它们不同的激动活性, 本发明的不同化合物可以具有不同的治疗用途。特定化合物的激动活性可以根据其结合性质和其生物作用来确定。例如, 已知 A₃ 激动剂一方面可以抑制肿瘤细胞的增殖, 另一方面可以诱发白细胞和中性白细胞的增殖 (见 WO 01/19360)。因此, 为了确定化合物是否具有 A₃ 激动剂活性, 该化合物可以与肿瘤细胞以及白细胞体外培养, 并检测细胞增殖, 以便显示其对所述细胞的双重作用。此外, 体外显示出 A₃ 激动活性的化合物, 用适当的动物模型 (见 WO01/19360) 给动物用药, 以确定其体内作用。

同样, 已知 A₁ 激动剂诱发白细胞增殖, 但是, 与 A₃ 激动剂不同, 其不抑制肿瘤细胞增殖。因此, 类似于上述方法, 可以确定化合物的 A₁ 激动活性。

例如, 具有 A₁ 或 A₃ 激动活性的化合物可以用于保护药物诱发的骨髓毒性。具有 A₃ 激动活性的化合物可以用作抗癌药。

已知具有 A₂ 激动活性的化合物具有精神安定剂活性, 例如, 用于治疗精神病, 或用于伤口愈合。因此, 可以使用检测此活性的适当模型以评价被测化合物是否是 A₂ 激动剂。

此外，还可以使用本领域技术人员已知的多种结合试验以确定化合物对任何一种腺苷受体的亲合性。

因此，可以根据这些试验确定被测化合物的治疗用途。

已经用举例说明的方式描述了本发明，应理解所使用的术语，实际上是为了说明，而不是限制。显然，基于上述公开内容，本发明的多种改良和变化形式是可能的。因此，应理解在权利要求的范围内，除了下文中具体的描述外，本发明也是可以实施的。

在整个说明书中，多种出版物以数字标注。出版物的全部出处列于说明书之后权利要求之前。

特定实施例

实施例 1-合成 C2, 5'-二取代的腺苷衍生物

化学方法总括

化学品和溶剂：鸟苷得自 Aldrich (Aldrich Chemie, Sigma-Aldrich Chemie BV, Zwijndrecht, The Netherlands)。所有其它试剂得自标准商业来源并是分析纯。 $[^3\text{H}]$ DPCPX (1, 3-二丙基-8-环戊基黄嘌呤)、 $[^3\text{H}]$ ZM 241385 和 $[^{125}\text{I}]$ AB-MECA 购自 NEN (Hoofddorp, The Netherlands)。

色谱法：薄层色谱(TLC)用购自 Merck 的覆盖有硅胶 F254 铝片 (20x20 cm) 进行。在 UV (254 nm) 下观察色谱斑。制备柱色谱在硅胶 (230-400 目 ASTM) 上进行。

仪器和分析：对 C、H、N 进行元素分析 (Department of Analytical Chemistry, Leiden University, The Netherlands)。 ^{13}C NMR 光谱在 50.1 MHz 用 JEOL JNM-FX 200 光谱仪检测，该光谱仪配备有 PG 200 计算机，以傅立叶变换模式操作。 ^1H NMR 光谱用上述光谱仪在 200 MHz 检测，或在 300 MHz 用 Bruker WM-300 光谱仪检测，该光谱仪配备有 ASPECT 2000 计算机，以傅立叶变换模式操作。 ^1H 和 ^{13}C NMR 的化学位移相对于四甲基硅烷 (TMS) 内标物以 ppm (δ) 给出。

所有高分辨质谱在 Finnigan MAT900 质谱仪上检测，该质谱仪配

备有 EI 试验(70eV, 分辨率 1000)用直接插入探针, 或者在 Finnigan MAT TSQ-70 色谱仪上检测, 该色谱仪配备有 ESI 试验用电雾化界面。通过恒量注入溶解于 80/20 甲醇/水的分析物来收集光谱数据。ESI 是温和的离子化技术, 以正离子化模式产生质子化的、钠离子化(sodiated)类别, 以负离子形式产生脱质子的类别。

通过反相 HPLC(Gilson HPLC 系统, 712 系统控制软件, Gilson Netherlands, Meyvis en Co BV, Bergen op Zoom, the Netherlands)拆分化合物, 其中使用 65% MeOH/31.5% H₂O/3.5% CH₃CN (v/v) 流动相, Alltima C18 5 μ (250 mm x 4.6 mm)或核苷酸/核苷 7 μ (250 mm x 4.6 mm)柱(Alltech Nederland BV, Breda, the Netherlands)以流速 0.7 ml/min 洗脱。通过检测 UV 吸光度(254 nm)确定峰。给出了滞留时间。

熔点 in Büchi 毛细熔点仪中检测。

合成方法

合成 5'-氯-5'-脱氧鸟苷(化合物 16)。将鸟苷(43.5 g, 0.15 mol)溶解于六甲基磷酰胺(HMPA, 40 ml, 0.23 mol)中。在 1 小时内加入亚硫酸氯(61.5 ml, 0.85 mol)。将此混合物室温下搅拌 1 小时, 用水稀释并在 Dowex 50 W (H⁺)上进行色谱。用水(350 mL)洗涤后, 用 5%氨水(350 ml)洗脱来收集产物。将馏分真空浓缩。得到 40 g (0.13 mol, 86%), ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.53 (bs, 1H, NH), 7.89 (s, 1H, H-8), 6.50 (bs, 2H, NH₂), 5.72 (d, J = 5.84 Hz, 1H, H-1'), 5.55 (d, J = 6.52 Hz, 1H, OH-2'), 5.39-5.35 (m, 1H, OH-3'), 4.57 (q, J = 5.15 Hz, 1H, H-2'), 4.16-4.05 (m, 1H, H-3'), 4.05-3.97 (m, 1H, H-4'), 3.86 (dq, J = 11.67 Hz, 2H, H-5')。

合成 5'-烷硫基衍生物(化合物 17-20)的总方法。将适当的硫醇(3.32 mmol)溶解于 10 ml 2 M NaOH 中。搅拌后, 缓慢加入 5'-氯-5'-脱氧鸟苷(16; 100 mg, 0.33 mmol)。将此混合物回流 2-2.5 小时, 然

后冷却至室温。用乙酸酸化，形成白色沉淀。将沉淀过滤并干燥。

5'-脱氧-5'-甲硫基鸟苷(化合物 17)。该反应用以下物质进行：硫代甲醇钠(27.42 g, 0.39 mol)和 16 (11.8 g, 39.1 mmol)。得到 10.41 g (33.2 mmol, 85%), ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 7.85 (s, 1H, H-8), 7.23 (bs, 2H, NH_2), 5.68 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 4.53-4.51 (m, 1H, H-2'), 4.05-3.99 (m, 1H, H-3'), 3.99-3.95 (m, 1H, H-4'), 2.78 (t, $J = 6.52$ Hz, 2H, H-5'), 1.67 (s, 3H, CH_3)。

5'-脱氧-5'-乙基硫基鸟苷(化合物 18)。该反应用以下物质进行：乙硫醇(20.6 ml (0.28 mol)和 16 (8.40 g, 27.8 mmol)。得到 6.98 g (21.3 mmol, 77%), ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10.70 (bs, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H-8), 6.48 (bs, 2H, NH_2), 5.68 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.52-5.48 (m, 1H, OH-2'), 5.32-5.19 (m, 1H, OH-3'), 4.55-4.52 (m, 1H, H-2'), 4.05-4.03 (m, 1H, H-3'), 4.03-3.91 (m, 1H, H-4'), 2.80 (pt, $J = 7.21$ Hz, 2H, H-5'), 2.49 (m, 2H, CH_2), 1.13 (t, $J = 7.21$ Hz, 3H, CH_3)。

5'-脱氧-5'-丙硫基鸟苷(化合物 19)。该反应用以下物质进行：1-丙硫醇(27.0 ml, 0.30 mol)和 16 (9.0 g, 29.8 mmol)。得到 6.1g (17.9 mmol, 60%), ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10.69 (bs, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H-8), 6.51 (bs, 2H, NH_2), 5.67 (d, $J = 5.84$ Hz, 1H, H-1'), 4.55 (t, $J = 3.42$ Hz, 1H, H-2'), 4.03 (t, $J = 3.43$ Hz, 1H, H-3'), 3.93 (pt, $J = 3.44$ Hz, 1H, H-4'), 2.78 (pt, $J = 6.18$ Hz, 2H, H-5'), 2.49 (m, 2H, SCH_2), 1.49 (q, $J = 7.20$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 0.86 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H, CH_3)。

5'-脱氧-5'-异丙硫基鸟苷(化合物 20)。该反应用以下物质进行：2-丙硫醇(30.8 ml, 0.33 mol)和 16 (10.0 g, 33.2 mmol)。得到 6.64 g (19.5 mmol, 59%), ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10.68 (bs, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H-8), 6.49 (bs, 2H, NH_2), 5.67 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 4.52 (t, $J = 5.49$ Hz, 1H, H-2'), 4.03 (t, J

= 4.46 Hz, 1H, H-3'), 3.92 (pq, $J = 6.86$ Hz, 1H, H-4'), 3.04-2.69 (m, 2H, H-5'), 3.04-2.69 (m, 1H, CH), 1.17 (d, $J = 6.53$ Hz, 6H, CH₃).

将衍生物 17-20 乙酰基化获得 21-24 的总方法。向化合物 17 (0.46 mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP; 0.03 mmol) 在乙腈 (5.7 ml) 和三乙胺 (154 μ l, 1.1 mmol) 混合物中的悬浮液中, 室温下加入醋酸酐 (95 μ l, 1 mmol)。将此混合物搅拌 1 小时直到溶液变清。加入甲醇 (10 ml) 并将溶液搅拌 5-10 分钟, 真空浓缩并与异丙醇一起搅拌。将所得白色浆液过滤, 接着与己烷一起搅拌。将白色沉淀过滤并干燥。

2', 3'-二-0-乙酰基-5'-脱氧-5'-甲硫基鸟苷 (化合物 21)。该反应应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-甲硫基鸟苷 (17, 10.4 g, 33.2 mmol)。得到 10.5 g (26.4 mmol, 79%), ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 7.98 (s, 1H, H-8), 6.59 (bs, 2H, NH₂), 5.99-5.90 (m, 1H, H-1'), 5.99-5.90 (m, 1H, H-2'), 5.43 (t, $J = 3.78$ Hz, 1H, H-3'), 4.24 (pq, $J = 3.19$ Hz, 1H, H-4'), 2.96-2.88 (m, 2H, H-5'), 2.11, 2.07 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 2.00 (s, 3H, SCH₃).

2', 3'-二-0-乙酰基-5'-脱氧-5'-乙硫基鸟苷 (化合物 22)。该反应应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-乙硫基鸟苷 (18, 6.98 g, 21.3 mmol)。得到 7.94 g (19.3 mmol, 91%), ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 7.95 (s, 1H, H-8), 6.86 (bs, 2H, NH₂), 5.97-5.89 (m, 1H, H-1'), 5.97-5.89 (m, 1H, H-2'), 5.30 (pq, $J = 3.26$ Hz, 1H, H-3'), 4.21 (pq, $J = 3.12$ Hz, 1H, H-4'), 3.00-2.90 (m, 2H, H-5'), 2.52 (pq, $J = 7.45$ Hz, 2H, CH₂), 2.10, 1.99 (2xs, 6H, 2xCOCH₃), 1.13 (t, $J = 7.42$ Hz, 3H, CH₃).

2', 3'-二-0-乙酰基-5'-脱氧-5'-丙硫基鸟苷 (化合物 23)。该反应应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-丙硫基鸟苷 (19, 5.74 g, 16.8 mmol)。得到 5.71 g (13.4 mmol, 80%), ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.71 (bs, 1H, NH), 7.97 (s, 1H, H-8), 6.55 (bs, 2H, NH₂), 5.95 (m, 1H, H-1'), 5.95 (m, 1H, H-2'), 5.41 (m, 1H, H-3'), 4.20

(m, 1H, H-4'), 2.95 (d, $J = 5.83$ Hz, 2H, H-5'), 2.49 (m, 2H, SCH₂), 2.11, 1.99 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 1.49 (q, $J = 6.86$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 0.86 (t, $J = 6.18$ Hz, 3H, CH₃).

2', 3'-二-0-乙酰基-5'-脱氧-5'-异丙硫基鸟苷(化合物 24)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-异丙硫基鸟苷(20, 6.64 g, 19.5 mmol)。得到 6.92 g (16.3 mmol, 83%), ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.80 (bs, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H-8), 6.58 (bs, 2H, NH₂), 5.94-5.90 (m, 1H, H-1'), 5.94-5.90 (m, 1H, H-2'), 5.42 (t, $J = 4.12$ Hz, 1H, H-3'), 4.25-4.12 (m, 1H, H-4'), 2.99-2.93 (m, 3H, CH, H-5'), 2.10, 2.00 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 1.16 (d, $J = 6.18$ Hz, 6H, 2 x CH₃).

氯化衍生物 21-24 获得 25-28 的总方法。向适当的 2', 3'-二-0-乙酰基-5'-烷硫基-5'-脱氧鸟苷(19.3 mmol, 预先干燥)和四乙基氯化铵(6.48 g, 39.1 mmol; 预先在 80℃ 下真空干燥)的乙腈(40 ml)悬浮液中, 室温下加入 N,N-二甲基苯胺(2.52 ml, 20.0 mmol, 干燥并用 KOH 蒸馏)和磷酸氯(POCl₃, 10.95 ml, 0.12 mol, 新蒸馏)。将烧瓶置于在 100℃ 预热的油浴中并将此溶液回流 10-15 分钟。立即真空下蒸发挥发性物质。将所得黄色泡沫溶解于 CH₂Cl₂(100 ml)中并用碎冰剧烈搅拌 15 分钟。分层, 并再次用二氯甲烷(75 ml)萃取水相。通过加入碎冰保持合并的有机层冷却, 并用冷水(3x75 mL)、5% NaHCO₃/H₂O 洗涤至 pH 7, 用硫酸镁干燥并过滤。残余物通过柱色谱纯化。

2-氨基-6-氯-9-(2, 3-二-0-乙酰基-5-脱氧-5-甲硫基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 25)。该反应用以下物质进行: 2', 3'-二-0-乙酰基-5'-脱氧-5'-甲硫基鸟苷(21, 5.96 g, 15.0 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc: PE40/60 = 1: 1 至 2: 1)。得到 3.83 g (9.21 mmol, 62%), R_f 0.28 (EtOAc: PE40/60 = 2: 1)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.40 (s, 1H, H-8), 7.08 (bs, 2H, NH₂), 6.10-5.99 (m, 2H, H-1', H-2'), 5.49-5.45 (m, 1H, H-3'), 4.31-4.24 (m, 1H, H-4'), 2.96 (pd, $J = 6.86$ Hz, 2H, H-5'), 2.12,

2.06 (2xs, 6H, COCH₃), 1.97 (s, 3H, SCH₃).

2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-乙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 26)。该反应用以下物质进行: 2',3'-二-O-乙酰基-5'-脱氧-5'-乙硫基鸟苷(22, 7.94 g, 19.3 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc : PE40/60 = 3 : 2)。得到 4.23 g (9.84 mmol, 51%), R_f 0.51 (EtOAc: PE40/60 = 2 : 1)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.41 (s, 1H, H-8), 7.09 (bs, 2H, NH₂), 6.07 (d, J = 6.75 Hz, 1H, H-1'), 6.01 (q, J = 6.72 Hz, 1H, H-2'), 5.46 (dd, J = 5.47 Hz, J = 3.21 Hz, 1H, H-3'), 4.26 (dt, J = 6.65 Hz, J = 3.20 Hz, 1H, H-4'), 2.98 (pd, J = 7.35 Hz, 2H, H-5'), 2.52 (q, J = 7.58 Hz, 2H, CH₂), 2.12, 1.99 (2xs, 6H, 2xCOCH₃), 1.12 (t, J = 4.79 Hz, 3H, CH₃)。

2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 27)。该反应用以下物质进行: 2',3'-二-O-乙酰基-5'-脱氧-5'-丙硫基鸟苷(23, 5.71 g, 13.4 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc: PE40/60 = 1: 1)。得到 4.41 g (9.91 mmol, 74%), R_f 0.44 (EtOAc: PE 40/60 = 2 : 1)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.40 (s, 1H, H-8), 7.08 (bs, 2H, NH₂), 6.10-5.99 (m, 2H, H-1', H-2'), 5.46 (pt, J = 3.09 Hz, 1H, H-3'), 4.25 (pq, J = 3.09 Hz, 1H, H-4'), 2.97 (d, J = 6.52 Hz, 2H, H-5'), 2.49 (m, 2H, SCH₂), 2.12, 1.99 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 1.47 (pq, J = 7.55 Hz, CH₂CH₃), 0.84 (t, J = 7.21 Hz, 3H, CH₃)。

2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-异丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 28)。该反应用以下物质进行: 2',3'-二-O-乙酰基-5'-脱氧-5'-异丙硫基鸟苷(24, 6.72 g, 15.8 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc: PE40/60 = 1: 1)。得到 5.20 g (11.7 mmol, 74%), R_f 0.39 (EtOAc: PE40/60 = 2 : 1)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.40 (s, 1H, H-8), 7.07 (bs, 2H, NH₂), 6.09-5.96 (m, 2H, H-1', H-2'), 5.48-5.44 (m, 1H, H-3'), 4.25-4.23 (m, 1H,

H-4'), 3.01-2.92 (m, 2H, H-5'), 3.01-2.92 (m, 1H, CH), 2.12, 1.99 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 1.15 (d, J = 6.53 Hz, 6H, 2 x CH₃).

将衍生物 25-28 重氯化获得 29-32 的总方法。将异戊基腈(23.2 mmol, 3.10 ml)加入到适当的 2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-烷硫基-5-脱氧-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(7.49 mmol)、I₂(7.49 mmol, 1.90 g), CH₂I₂(77.5 mmol, 6.24 ml)和 CuI (7.87 mmol, 1.50 g) 在 40 mL 四氢呋喃中的混合物中。将暗棕色溶液回流(在强力搅拌下)40-60 分钟, 然后冷却至室温。将此混合物过滤并真空浓缩滤液。将残余物溶解于 CH₂Cl₂, 并用饱和 Na₂S₂O₃ 溶液萃取, 直到颜色消失。将有机层干燥并浓缩。棕色油状物通过柱色谱纯化。

6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-甲硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 29)。该反应用以下物质进行: 2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-甲硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(25, 3.83 g, 9.21 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液二氯甲烷-5% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 3.99 g (7.58 mmol, 82%), R_f 0.62 (5% MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.84 (s, 1H, H-8), 6.27 (d, J = 5.49 Hz, 1H, H-1'), 5.96 (t, J = 5.49 Hz, 1H, H-2'), 5.58 (t, J = 5.49 Hz, 1H, H-3'), 4.37-4.32 (m, 1H, H-4'), 2.98 (d, J = 6.86 Hz, 2H, H-5'), 2.12, 2.07 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 2.02 (s, 3H, SCH₃).

6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-乙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 30)。该反应用以下物质进行: 2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-乙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(26, 3.22 g, 7.49 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液二氯甲烷)。得到 2.88 g (5.33 mmol, 71%), R_f 0.71 (5% MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.48 (s, 1H, H-8), 5.91 (d, J = 5.49 Hz, 1H, H-1'), 5.61 (t, J = 5.49 Hz, 1H, H-2'), 5.22 (t, J = 4.80 Hz, 1H, H-3'), 3.97 (q, J = 3.77 Hz, 1H, H-4'), 2.65 (d, J = 6.87 Hz, 2H, H-5'), 2.49 (q, J = 7.21 Hz, 2H,

CH₂), 1.76, 1.66 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 0.77 (t, J = 7.20 Hz, 3H, CH₃).

6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 31)。该反应用以下物质进行: 2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(27, 4.41 g, 9.91 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc: PE40/60 = 1 : 1)得到 4.02 g (7.23 mmol, 73%), R_f 0.50 (EtOAc: PE40/60 = 2 : 1); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.83 (s, 1H, H-8), 6.27 (d, J = 5.49 Hz, 1H, H-1'), 5.97 (t, J = 5.49 Hz, 1H, H-2'), 5.58 (t, J = 5.15 Hz, 1H, H-3'), 4.32 (q, J = 3.77 Hz, 1H, H-4'), 2.99 (d, J = 6.53 Hz, 2H, H-5'), 2.12, 2.02 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 1.54-1.43 (m, 4H, CH₂CH₂), 0.84 (t, J = 7.21 Hz, 3H, CH₃).

6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-异丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 32)。该反应用以下物质进行: 2-氨基-6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-异丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(28, 5.20 g, 11.7 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc: PE 40/60 = 1 : 1)。得到 4.88 g (8.76 mmol, 75%), R_f 0.47 (EtOAc: PE40/60 = 2: 1); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.82 (s, 1H, H-8), 6.26 (d, J = 5.49 Hz, 1H, H-1'), 5.96 (t, J = 5.49 Hz, 1H, H-2'), 5.59 (t, J = 5.20 Hz, 1H, H-3'), 4.31 (pt, J = 5.15 Hz, 1H, H-4'), 3.02-2.95 (m, 2H, H-5'), 3.02-2.95 (m, 1H, CH), 2.11, 2.02 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃), 1.16 (d, J = 4.80 Hz, 6H, 2 x CH₃).

将衍生物 29-32 进行 N⁶-胺化和脱保护获得 33-36 的总方法。适当的 6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-烷硫基-5-脱氧-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(5.33 mmol)与 50 mL EtOH/NH₃ 搅拌 64 小时。将混合物浓缩并通过柱色谱纯化。

5'-脱氧-2-碘-5'-甲硫基腺苷(化合物 33)。该反应用以下物质进

行: 6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-甲硫基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(29, 3.99 g, 7.58 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 2.21 g (5.22 mmol, 69%), mp 90-93 °C; R_f 0.24 (10% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙酸乙酯重结晶; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.29 (s, 1H, H-8), 7.71 (bs, 2H, NH_2), 5.79 (d, $J = 5.84$ Hz, 1H, H-1'), 5.52 (d, $J = 6.52$ Hz, 1H, OH-2'), 5.35 (d, $J = 5.80$ Hz, 1H, OH-3'), 4.69 (m, 1H, H-2'), 4.11-4.02 (m, 1H, H-3'), 4.11-4.02 (m, 1H, H-4'), 2.85-2.80 (m, 2H, H-5'), 2.06 (s, 3H, SCH_3); MS m/z 424 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{IN}_5\text{O}_3\text{S} \cdot 0.35 \text{ EtOAc}$) C, H, N。

5'-脱氧-2-5'-乙硫基碘腺苷(化合物 34)。该反应用以下物质进行: 6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-乙硫基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(30, 2.88 g, 5.33 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 EtOAc)。得到 2.05 g (4.69 mmol, 88%), mp 76-79 °C; R_f 0.15 (5% MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.29 (s, 1H, H-8), 7.27 (bs, 2H, NH_2), 5.79 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.50 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, OH-2'), 5.34 (d, $J = 4.80$ Hz, 1H, OH-3'), 4.69 (q, $J = 5.15$ Hz, 1H, H-2'), 4.11-4.07 (m, 1H, H-3'), 4.07-3.96 (m, 1H, H-4'), 2.86 (pt, $J = 5.84$ Hz, 2H, H-5'), 2.53 (q, $J = 7.21$ Hz, 2H, CH_2), 1.98, 1.74 (2 x s, 6H, 2 x COCH_3), 1.14 (t, $J = 7.21$ Hz, 3H, CH_3), MS m/z 438 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{IN}_5\text{O}_3\text{S}$) C, H, N。

5'-脱氧-2-碘-5'-丙硫基腺苷(化合物 35)。该反应用以下物质进行: 6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-丙硫基- δ -D-呋喃核糖基)-嘌呤(31, 4.02 g, 7.23 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 2.35 g (5.21 mmol, 72%), mp 98-101 °C; R_f 0.30 (10% MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.30 (s, 1H, H-8), 7.73 (bs, 2H, NH_2), 5.71 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.52 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, OH-2'), 5.35 (d, $J =$

5.15 Hz, 1H, OH-3'), 4.72 (q, $J = 5.15$ Hz, 1H, H-2'), 4.15-4.08 (m, 1H, H-3'), 4.08-3.96 (m, 1H, H-4'), 2.86 (pt, $J = 5.84$ Hz, 2H, H-5'), 2.49-2.46 (m, 2H, SCH₂), 1.51 (q, $J = 7.21$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 0.87 (t, $J = 7.21$ Hz, 3H, CH₃); MS m/z 452 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₃H₁₈IN₅O₃S) C, H, N.

5'-脱氧-2-碘-5'-异丙硫基腺苷(化合物 36)。该反应用以下物质进行: 6-氯-2-碘-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-脱氧-5-异丙硫基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(32, 4.88 g, 8.76 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 2.77 g (6.13 mmol, 70%), mp 102-104°C; R_f 0.33 (10% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙酸乙酯重结晶; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.29 (s, 1H, H-8), 7.71 (bs, 2H, NH₂), 5.79 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.50 (d, $J = 5.83$ Hz, 1H, OH-2'), 5.34 (d, $J = 4.80$ Hz, 1H, OH-3'), 4.69 (q, $J = 5.49$ Hz, 1H, H-2'), 4.10 (pq, $J = 3.43$ Hz, 1H, H-3'), 3.97 (pq, $J = 3.44$ Hz, 1H, H-4'), 2.97-2.82 (m, 2H, H-5'), 2.97-2.87 (m, 1H, CH), 1.17 (d, $J = 6.52$ Hz, 6H, 2 x CH₃); MS m/z 452 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₃H₁₈IN₅O₃S · 0.11 EtOAc) C, H, N.

在衍生物 1 和 33-36 引入 1-己炔基团获得 4 和 37-40 的总方法。向适当的 5'-烷硫基-5'-脱氧-2-碘腺苷(0.92 mmol)在 7 ml 干燥的乙腈和 7 ml 三乙胺中在氮气氛下加入 CuI (0.07 mmol, 13.3 mg)、PdCl₂ (0.05 mmol, 8.47 mg)和 PH₃P (0.11 mmol)。向此悬浮液中加入 1-己炔(4.45 mmol, 511 μL), 并将此混合物在氮气氛下搅拌过夜。将淡棕色溶液过滤并浓缩。将此残余物用水和 EtOAc (3 x 50 ml)萃取, 将有机层干燥, 浓缩并通过柱色谱纯化。

2-碘代腺苷(1)。按照文献制备¹⁸。收率 80%; mp 185-187°C; R_f 0.21 (10% MeOH 在二氯甲烷中)。

2-(1-己炔基)腺苷(4)⁸。该反应用以下物质进行: 2-碘代腺苷(1, 440 mg, 1.12 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 CH₂Cl₂ 至 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 330 mg (0.95 mmol, 85%), mp 106-109

℃; R_f 0.10 (10% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用二氯甲烷重结晶; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.37 (s, 1H, H-8), 7.41 (bs, 2H, NH_2), 5.84 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.45 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, OH-2'), 5.22-5.16 (m, 1H, OH-5'), 5.22-5.16 (m, 1H, OH-3'), 4.52 (q, $J = 5.15$ Hz, 1H, H-2'), 4.11 (q, $J = 3.43$ Hz, 1H, H-3'), 3.93 (pd, $J = 3.43$ Hz, 1H, H-4'), 3.65-3.48 (m, 2H, H-5'), 2.39 (t, $J = 6.86$ Hz, 2H, $\equiv\text{CCH}_2$), 1.51-1.39 (m, 4H, CH_2CH_2), 0.90 (t, $J = 6.87$ Hz, 3H, CH_3); MS m/z 348 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.22 \text{CH}_2\text{Cl}_2$) C, H, N.

5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-甲硫基腺苷(化合物 37)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-碘-5'-甲硫基腺苷(33, 480 mg, 1.13 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液二氯甲烷至 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 257 mg (0.68 mmol, 60%); mp 64-67℃; R_f 0.28 (10 % MeOH 在二氯甲烷中)。产物用甲醇重结晶; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.37 (s, 1H, H-8), 7.39 (s, 2H, NH_2), 5.85 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.49 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, OH-2'), 5.32 (d, $J = 4.81$ Hz, 1H, OH-3'), 4.67 (q, $J = 5.49$ Hz, 1H, H-2'), 4.12-3.95 (m, 1H, H-3'), 4.12-3.95 (m, 1H, H-4'), 2.84 (t, $J = 5.49$ Hz, 2H, H-5'), 2.40 (t, $J = 6.68$ Hz, 2H, $\equiv\text{CCH}_2$), 2.05 (s, 3H, SCH_3), 1.55-1.32 (m, 4H, $\equiv\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 0.90 (t, $J = 6.18$ Hz, 3H, CH_3); MS m/z 378 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_3\text{S} \cdot 0.56 \text{CH}_3\text{OH}$) C, H, N.

5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-乙硫基腺苷(化合物 38)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-乙硫基-2-碘腺苷(34, 400 mg, 0.92 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液二氯甲烷至 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 161 mg (0.41 mmol, 45%); mp 72-75℃; R_f 0.38 (10 % MeOH 在二氯甲烷中)。产物用二氯甲烷重结晶; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.38 (s, 1H, H-8), 7.39 (s, 2H, NH_2), 5.85 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.49 (d, $J = 6.52$ Hz, 1H, OH-2'), 5.32 (d, $J = 4.81$ Hz, 1H, OH-3'), 4.71-4.69 (m, 1H, H-2'), 4.11-4.00 (m,

1H, H-3'), 4.11-4.00 (m, 1H, H-4'), 2.85 (pd, $J = 7.55$ Hz, 2H, H-5'), 2.49-2.40 (m, 2H, SCH₂), 2.49-2.40 (m, 2H, $\equiv$ CCH₂), 1.52-1.43 (m, 4H, $\equiv$ CCH₂CH₂CH₂), 1.14 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H, SCH₂CH₃), 0.90 (t, $J = 7.21$ Hz, 3H, CH₃), MS m/z 392 (M+H)⁺; 元素分析 (C₁₈H₂₅N₅O₃S · 0.14 二氯甲烷) C, H, N.

5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-丙硫基-腺苷(化合物 39)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-碘-5'-丙硫基腺苷(35, 500 mg, 1.11 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液二氯甲烷至 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 320 mg (0.79 mmol, 71%), mp 68-71°C; R_f 0.30 (5% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用二氯甲烷重结晶; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.38 (s, 1H, H-8), 7.39 (s, 2H, NH₂), 5.86 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H, H-1'), 5.50 (d, $J = 5.83$ Hz, 1H, OH-2'), 5.31 (d, $J = 4.81$ Hz, 1H, OH-3'), 4.73 (q, $J = 5.15$ Hz, 1H, H-2'), 4.10 (pq, $J = 4.81$ Hz, 1H, H-3'), 4.01-3.99 (m, 1H, H-4'), 2.86 (pt, $J = 5.26$ Hz, 2H, H-5'), 2.49-2.41 (m, 2H, $\equiv$ CCH₂), 2.49-2.41 (m, 2H, SCH₂), 1.61-1.44 (m, 4H, $\equiv$ CCH₂CH₂CH₂), 1.61-1.44 (m, 2H, SCH₂CH₂), 0.94-0.83 (m, 6H, 2 x CH₃); MS m/z 406 (M+H)⁺; 元素分析 (C₁₉H₂₇N₅O₃S 0.12 二氯甲烷) C, H, N.

5'-脱氧-2-(1-己炔基)-5'-异丙硫基腺苷(化合物 40)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-碘-5'-异丙硫基腺苷(36, 500 mg, 1.11 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液二氯甲烷至 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 306 mg (0.75 mmol, 68%), mp 77-81°C; R_f 0.28 (5% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用二氯甲烷重结晶; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.39 (s, 1H, H-8), 7.40 (bs, 2H, NH₂), 5.86 (d, $J = 5.84$ Hz, 1H, H-1'), 5.50 (d, $J = 6.17$ Hz, 1H, OH-2'), 5.32 (d, $J = 4.81$ Hz, 1H, OH-3'), 4.74 (q, $J = 5.83$ Hz, 1H, H-2'), 4.12 (pq, $J = 3.77$ Hz, 1H, H-3'), 4.09-3.98 (m, 1H, H-4'), 2.95-2.88 (m, 2H, H-5'), 2.95-2.88 (m, 1H, CH), 2.40 (t, $J = 6.52$ Hz, 2H, $\equiv$ CCH₂), 1.53-1.45 (m, 4H, CH₂CH₂), 1.18 (d,

$J = 6.86 \text{ Hz}$, 6H, $(\text{CH}_3)_2$), 0.91 (t, $J = 7.21 \text{ Hz}$, 3H, CH_3); MS m/z 406 $(\text{M}+\text{H})^+$; 元素分析($\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_3\text{S} \cdot 0.17$ 二氯甲烷) C, H, N.

在衍生物 1 和 33-36 引入 2-胍基获得 2 和 41-44 的总方法。向耐压试管中充入适当的 5'-烷硫基-5'-脱氧-2-碘腺苷(1.37 mmol)和 10 ml 异丙醇。为了获得胍一水合物 (14.0 mmol, 678 μl) 悬浮液, 加入 1 ml 异丙醇。将此混合物加热至 80°C , 并在 30 分钟后获得清澈溶液。在 80°C 下将此溶液加热过夜。出现白色沉淀, 并在剧烈搅拌下将此混合物冷却至室温。将白色粉末过滤并干燥。

2-胍基腺苷(2)⁷。该反应用以下物质进行: 2-碘代腺苷(1, 500 mg, 1.27 mmol)。得到 310 mg (1.04 mmol, 82%), ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7.95 (s, 1H, H-8), 7.29 (bs, 1H, NH), 6.87 (bs, 2H, NH_2), 5.78 (d, $J = 6.18 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 5.43-5.29 (m, 1H, OH-2'), 5.29-5.05 (m, 1H, OH-5'), 5.29-5.05 (m, 1H, OH-3'), 4.59-4.56 (m, 1H, H-2'), 4.14-4.11 (m, 1H, H-3'), 3.91-3.89 (m, 1H, H-4'), 3.63-3.54 (m, 2H, H-5')。

5'-脱氧-2-胍基-5'-甲硫基腺苷(化合物 41)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-碘-5'-甲硫基腺苷(33, 540 mg, 1.28 mmol)。得到 240 mg (0.73 mmol, 57%), ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7.94 (s, 1H, H-8), 7.30 (bs, 1H, NH), 6.82 (bs, 2H, NH_2), 5.77 (d, $J = 5.83 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.70 (t, $J = 5.83 \text{ Hz}$, 1H, H-2'), 4.13 (t, $J = 3.78 \text{ Hz}$, 1H, H-3'), 4.01-3.92 (m, 1H, H-4'), 2.81 (t, $J = 7.20 \text{ Hz}$, 2H, H-5'), 2.04 (s, 3H, SCH_3)。

5'-脱氧-5'-乙硫基-2-胍基腺苷(化合物 42)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-乙硫基-2-碘腺苷(34, 600 mg, 1.37 mmol)。得到 358 mg (1.05 mmol, 76%), ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7.94 (s, 1H, H-8), 7.31 (bs, 1H, NH), 6.83 (bs, 2H, NH_2), 5.77 (d, $J = 5.83 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.69 (t, $J = 5.49 \text{ Hz}$, 1H, H-2'), 4.13 (t, $J = 4.11 \text{ Hz}$, 1H, H-3'), 3.95-3.93 (m, 1H, H-4'), 2.84 (t, $J = 6.52 \text{ Hz}$, 2H, H-5'), 2.49-2.47 (m, 2H, SCH_2), 1.13 (t,

$J = 7.56 \text{ Hz}$, 3H, CH_3).

5'-脱氧-2-胍基-5'-丙硫基腺苷(化合物 43)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-碘-5'-丙硫基腺苷(35, 700 mg, 1.55 mmol)。得到 468 mg (1.32 mmol, 85%), $^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6) δ 7.95 (s, 1H, H-8), 7.31 (bs, 1H, NH), 6.84 (bs, 2H, NH_2), 5.77 (d, $J = 5.15 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.71 (t, $J = 5.84 \text{ Hz}$, 1H, H-2'), 4.20-4.10 (m, 1H, H-3'), 4.07-3.91 (m, 1H, H-4'), 2.83 (pt, $J = 6.18 \text{ Hz}$, 2H, H-5'), 2.49-2.44 (m, 2H, SCH_2), 1.50 (pq, $J = 7.20 \text{ Hz}$, 2H, CH_2CH_3), 0.88 (t, $J = 7.55 \text{ Hz}$, 3H, CH_3)。

5'-脱氧-2-胍基-5'-异丙硫基腺苷(化合物 44)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-碘-5'-异丙硫基腺苷(36, 700 mg, 1.55 mmol)。得到 452 mg (1.27 mmol, 82%), $^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6) δ 7.97 (s, 1H, H-8), 7.37 (bs, 1H, NH), 6.86 (bs, 2H, NH_2), 5.78 (d, $J = 5.49 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.70 (t, $J = 5.49 \text{ Hz}$, 1H, H-2'), 4.16 (t, $J = 4.46 \text{ Hz}$, 1H, H-3'), 3.95 (q, $J = 3.78 \text{ Hz}$, 1H, H-4'), 3.06-2.77 (m, 2H, H-5'), 3.06-2.77 (m, 1H, CH), 1.17 (d, $J = 6.86 \text{ Hz}$, 6H, 2 x CH_3)。

将衍生物 2 和 41-44 中的 2-胍基转变为衍生物 3 和 45-48 中的 2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)基团的总方法。向耐压试管中加入适当的 5'-烷硫基-5' 脱氧-2-胍基腺苷(1.05 mmol)和 8 ml 甲醇。加入 1.2 摩尔当量(1.40 mmol, 146 μl)异戊醛并将此化合物回流 18 小时。将此混合物真空浓缩并通过柱色谱纯化。

2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)腺苷(化合物 3)⁷。该反应用以下物质进行: 2-胍基腺苷(2, 310 mg, 1.04 mmol)。得到 274 mg (0.75 mmol, 72%), mp 176-179 $^{\circ}\text{C}$; R_f 0.20 (10% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用甲醇重结晶; $^1\text{H NMR}$ (MeOD) δ 8.02 (s, 1H, H-8), 7.34 (t, $J = 6.18 \text{ Hz}$, 1H, N=CH), 5.93 (d, $J = 5.84 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.67 (t, $J = 5.49 \text{ Hz}$, 1H, H-2'), 4.34-4.30 (m, 1H, H-3'), 4.14 (q, $J = 3.09 \text{ Hz}$, 1H, H-4'), 3.81 (dq, $J = 16.82 \text{ Hz}$, $J = 3.09$

Hz, 2H, H-5'), 2.26-2.17 (m, 2H, CH₂), 1.89-1.83 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 0.99 (d, J = 6.87 Hz, 6H, (CH₃)₂); MS m/z 366 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₅H₂₃N₇O₄ · 0.54 CH₃OH) C, H, N.

5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-甲硫基腺苷(化合物 45)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-胍基-5'-甲硫基腺苷(41, 240 mg, 0.73 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 210 mg (0.53 mmol, 73%), mp 122-125℃; R_f 0.25 (10% MeOH 在二氯甲烷中)。产物用二氯甲烷重结晶; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.02 (bs, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H-8), 7.33 (t, J = 5.49 Hz, 1H, N=CH), 6.91 (bs, 2H, NH₂), 5.77 (d, J = 6.17 Hz, 1H, H-1'), 5.49-5.41 (m, 1H, OH-2'), 5.24-5.22 (m, 1H, OH-3'), 4.75-4.71 (m, 1H, H-2'), 4.10-4.05 (m, 1H, H-3'), 4.05-3.95 (m, 1H, H-4'), 2.91-2.83 (m, 2H, H-5'), 2.91-2.83 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 2.12-2.08 (m, 2H, CH₂), 2.04 (s, 3H, SCH₃), 0.91 (t, J = 6.87 Hz, 6H, CH₃), MS m/z 396 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₆H₂₅N₇O₃S 0.33 二氯甲烷) C, H, N.

5'-脱氧-5'-乙硫基-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)腺苷(化合物 46)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-5'-乙硫基-2-胍基腺苷(42, 358 mg, 1.05 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 193 mg (0.47 mmol, 45%), mp 106-109℃; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10.32 (bs, 1H, NH), 8.02 (s, 1H, H-8), 7.25-7.09 (m, 1H, N=CH), 6.91 (bs, 2H, NH₂), 5.79 (d, J = 6.16 Hz, 1H, H-1'), 5.50-5.36 (m, 1H, OH-2'), 5.28-5.16 (m, 1H, OH-3'), 4.79-4.68 (m, 1H, H-2'), 4.19-4.11 (m, 1H, H-3'), 4.06-3.95 (m, 1H, H-4'), 2.98-2.80 (m, 3H, H-5', CH(CH₃)₂), 2.49-2.47 (m, 2H, SCH₂), 2.11 (t, J = 6.41 Hz, 2H, CHCH₂), 1.15 (t, J = 9.30 Hz, 3H, SCH₂CH₃), 0.94-0.83 (m, 6H, 2 x CH₃); MS m/z 410 (M+H)⁺; HPLC Alltima C18 5μ柱(150 mm x 4.6 mm)反相, 流速 1 mL/min。系统 A: 20-100% MeOH 在水中, 40 分钟; 滞留时间: 25.31 min。系统 B: 20-100% CH₃CN

在水中, 35 分钟; 滞留时间: 5.59 min.

5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-丙硫基腺苷(化合物 47)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2 胍基-5'-丙硫基腺苷(43, 468 mg, 1.32 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 364 mg (0.86 mmol, 65%), mp 150-152℃; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10.02 (bs, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H-8), 7.34 (t, $J = 5.80$ Hz, 1H, N=CH), 6.91 (bs, 2H, NH_2), 5.76 (d, $J = 6.16$ Hz, 1H, H-1'), 5.43 (pd, $J = 4.55$ Hz, 1H, OH-2'), 5.21-5.19 (m, 1H, OH-3'), 4.75 (q, $J = 5.28$ Hz, 1H, H-2'), 4.11 (pq, $J = 3.25$ Hz, 1H, H-3'), 3.96 (pq, $J = 2.76$ Hz, 1H, H-4'), 2.96-2.80 (m, 2H, H-5'), 2.96-2.80 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.49-2.47 (m, 2H, SCH_2), 2.09 (t, $J = 6.52$ Hz, 2H, CHCH_2), 1.48 (pq, $J = 7.29$ Hz, 2H, SCH_2CH_2), 0.94-0.83 (m, 9H, 3 x CH_3), MS m/z 424 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_7\text{O}_3\text{S} \cdot 0.72 \text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

5'-脱氧-2-(N'-3-甲基-1-亚丁基胍基)-5'-异丙腺苷(化合物 48)。该反应用以下物质进行: 5'-脱氧-2-胍基-5'-异丙硫基腺苷(44, 452 mg, 1.27 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在二氯甲烷中)。得到 350 mg (0.83 mmol, 65%), mp 156-158℃; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10.03 (bs, 1H, NH), 7.99 (s, 1H, H-8), 7.33 (t, $J = 5.86$ Hz, 1H, N=CH), 6.93 (bs, 2H, NH_2), 5.76 (d, $J = 6.07$ Hz, 1H, H-1'), 5.45 (d, $J = 6.07$ Hz, 1H, OH-2'), 5.22 (d, $J = 4.80$ Hz, 1H, OH-3'), 4.71 (q, $J = 5.37$ Hz, 1H, H-2'), 4.12 (pq, $J = 3.38$ Hz, 1H, H-3'), 3.98-3.92 (m, 1H, H-4'), 2.94 (pt, $J = 6.38$ Hz, 1H, SCH), 2.86 (pq, $J = 6.83$ Hz, 2H, H-5'), 2.08 (t, $J = 6.62$ Hz, 2H, CHCH_2), 1.86-1.76 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.15 (d, $J = 6.70$ Hz, 6H, $\text{SCH}(\text{CH}_3)_2$), 0.90 (d, $J = 6.54$ Hz, 6H, 2x CH_3); MS m/z 424 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HPLC Alltima C18 5 μ 柱(150 mm x 4.6 mm)反相, 流速 1 ml/min. 系统 A: 20-100% MeOH 在水中, 40 分钟; 滞留时间: 27.40 min. 系统 B: 20-100% CH_3CN

在水中，35 分钟；滞留时间：11.34 min.

下表 1 提供了化合物 1、3、4、33-40、45 和 47 的元素分析数据。

表 1- 元素分析

No	分子式	原子 理论值	实测值
1	$C_{10}H_{12}IN_5O_4 \cdot 0.33 EtOAc$	C 32.18 % H 3.49 % N 16.60 %	C 32.48 % H 3.10 % N 16.72 %
3	$C_{15}H_{23}N_7O_4 \cdot 0.54 CH_3OH$	C 48.77 % H 6.63 % N 25.62 %	C 49.16 % H 6.49 % N 25.41 %
4	$C_{16}H_{21}N_5O_4 \cdot 0.22 CH_2Cl_2$	C 53.25 % H 5.91 % N 19.15 %	C 53.31 % H 5.82 % N 19.05 %
33	$C_{11}H_{14}IN_5O_3S \cdot 0.35 EtOAc$	C 32.82 % H 3.73 % N 15.41 %	C 32.93 % H 3.56 % N 15.51 %
34	$C_{12}H_{16}IN_5O_3S$	C 32.96 % H 3.69 % N 16.02 %	C 33.14 % H 3.60 % N 16.01 %
35	$C_{13}H_{18}IN_5O_3S$	C 34.60 % H 4.02 % N 15.52 %	C 34.86 % H 4.11 % N 15.20 %
36	$C_{13}H_{18}IN_5O_3S \cdot 0.11 EtOAc$	C 35.00 % H 4.12 % N 15.20 %	C 35.05 % H 4.20 % N 15.29 %
37	$C_{17}H_{23}N_5O_3S \cdot 0.56 CH_3OH$	C 53.34 % H 6.43 % N 17.71 %	C 53.28 % H 6.10 % N 17.64 %
38	$C_{18}H_{25}N_5O_3S \cdot 0.14 CH_2Cl_2$	C 54.04 % H 6.32 % N 17.38 %	C 54.11 % H 5.95 % N 17.30 %
39	$C_{19}H_{27}N_5O_3S \cdot 0.12 CH_2Cl_2$	C 55.20 % H 6.60 % N 16.83 %	C 55.35 % H 6.22 % N 16.55 %
40	$C_{19}H_{27}N_5O_3S \cdot 0.17 CH_2Cl_2$	C 54.83 % H 6.56 % N 16.68 %	C 54.86 % H 6.22 % N 16.68 %
45	$C_{16}H_{25}N_7O_3S \cdot 0.33 CH_2Cl_2$	C 46.31 % H 6.11 % N 23.15 %	C 46.08 % H 6.26 % N 23.44 %
47	$C_{18}H_{29}N_7O_3S \cdot 0.72 H_2O$	C 49.53 % H 7.03 % N 22.46 %	C 49.48 % H 6.71 % N 22.50 %

总生物学方法

放射性配体结合研究

按照以前公开的方法在 GTP 不存在条件下用 [^3H] DPCPX 进行检测³³。按照 Gao 等的方法确定腺苷 $\text{A}_{2\text{A}}$ 受体亲合性³⁴。基本上如前所述的方法确定腺苷 A_3 受体亲合性^{4, 35}。简言之, 在 50/10/1 缓冲液 (50 mM Tris/10 mM MgCl_2 /1 mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 和 0.01% 3-([3-胆碱基丙基]-二甲基铵)-1-丙基磺酸盐 (CHAPS)) 中在玻璃试管中进行试验, 该试管中有 50 μL 的 HEK 293 细胞膜混悬液 (10–30 μg)、25 μL [^{125}I] AB MECA (最终浓度 0.15 nM) 和 25 μL 的配体。孵育在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 1 小时, 并通过用 Whatman GF/B 过滤器快速过滤终止, 使用 Brandell 细胞收集器 (Brandell, Gaithersburg, MD)。用 3ml 缓冲液将试管洗涤 3 次。用 Beckman 5500B γ -计数器确定放射性。在 10^{-5}M R-PIA 存在下确定非特异性结合。

cAMP 试验 $\text{A}_{2\text{A}}$

在 24 孔组织培养板中以单层形式让表达了人腺苷 $\text{A}_{2\text{A}}$ 受体的 CHO 细胞生长过夜 (400 μL /孔; 2×10^5 细胞/孔)。在 Dulbecco's 改良 Eagles 培养基 (DMEM)/N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) 缓冲液 (0.60 g HEPES/50 mL DMEM pH 7.4) 中进行 cAMP 的生成。将每个孔用 DMEM/HEPES 缓冲液 (250 μL) 洗涤 3 次, 向每个孔中加入 100 μL DMEM/HEPES 缓冲液、100 μL 腺苷脱氨基酶 (最终浓度 5 IU/mL) 和 100 μL 洛利普兰和西洛酰胺的混合物 (最终浓度各 50 μM)。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 40 分钟后, 加入 100 μL 激动剂。此处, 使用完全激动剂 CGS 21680 或化合物 1、3、4、33-40 或 45-48。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下 15 分钟后, 通过除去培养基并加入 200 μL 0.1 M HCl 停止反应。细胞在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 下保存直到试验。

cAMP 试验 A_3

在 24 孔组织培养板中以单层形式让表达了人腺苷 A_3 受体的 CHO 细胞生长过夜 (400 μL /孔; 2×10^5 细胞/孔)。在 Dulbecco's 改良 Eagles 培养基 (DMEM)/N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) 缓冲液 (0.60 g HEPES/50 mL DMEM pH 7.4) 中进行 cAMP 的生成。将每个孔用

DMEM/HEPES 缓冲液(250 μ L)洗涤 3 次,向每个孔中加入 100 μ L 腺苷脱氨基酶(最终浓度 5 IU/ml)和 100 μ L 洛利普兰和西洛酰胺的混合物(最终浓度各 50 μ M)和 100 μ L 激动剂(最终浓度约 100 $\times$ K_i 值)。在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 40 分钟后,加入 100 μ L 毛喉素(最终浓度 10 μ M)。在 37 $^{\circ}$ C 下 15 分钟后,通过除去培养基并加入 200 μ L 0.1 M HCl 停止反应。细胞在-20 $^{\circ}$ C 下保存直到试验。按照 cAMP 结合蛋白方案³⁶检测 cAMP 的量,其中作了如下的小改进。缓冲液使用 150mM K_2HPO_4 /10 mM EDTA/0.2% 牛血清白蛋白(BSA), pH 7.5。样品(20 μ L + 30 μ L 0.1 M HCl)在通过 Whatman GF/B 过滤器过滤前至少在 0 $^{\circ}$ C 下孵育 2.5 小时。再用 2 $\times$ 2 mL Tris HCl 缓冲液(pH 7.4, 4 $^{\circ}$ C)清洗。在 Packard Emulsifier Safe 闪烁流体(3.5 mL)提取 24 小时后对过滤器放射性进行计数。

数据分析

用软件包 Prism(Graph Pad, San Diego, CA)通过竞争曲线的非线性回归法由置换曲线计算表观 K_i 和 EC_{50} 。

生物学评价

在放射性配体结合试验中检测所有化合物以确定它们对大鼠脑皮层中腺苷 A_1 受体、大鼠纹状体中 A_{2A} 受体和在 HEK293 细胞中表达的人 A_3 受体的亲合性(表 2)。对于腺苷 A_1 受体,使用氘代拮抗剂 [3H]-1,3-二丙基-8 环戊基黄嘌呤 ([3H] DPCPX), 而对于腺苷 A_{2A} 受体,使用氘代拮抗剂 [3H] ZM 241385。还使用腺苷 A_3 受体激动剂 [^{125}I] AB-MECA。置换试验在不存在 GTP 的条件下进行。

也在功能试验中检测所有的化合物。评价化合物(1、3、4、33-40 和 45-48)通过表达在 CHO 细胞中的人腺苷 A_{2A} 受体刺激 cAMP 产生的能力,或者抑制在 HEK 293 细胞中表达的人腺苷 A_3 受体中的 cAMP 产生的能力。

结果和讨论

为了合成本发明的化合物,2-碘代腺苷(1)用作起始物¹⁸。注意到在引入 5'-取代基之前应优先引入 2-取代基,因为前者变化最多。用所需的取代基替代化合物 1 的 2-碘代基团非常直接。2-(N'-3-甲基-1-

亚丁基胍基)衍生物(3)通过 2-胍基腺苷(2)与异戊醛缩合来合成⁷。碘代核苷向其 2-(1-己炔基)衍生物(4)的完全转变通过传统钨催化交联反应的改良方式进行⁸。但是,在化合物 2-4 的 5'位依次引入良好离去基团的尝试失败。氯是优选的离去基团,因为对甲苯磺酰基或甲磺酰基的高反应性可能引起与腺苷部分产生闭环反应²³。Robins 及其同事²⁰描述了改良的氯代反应,在 5'位引入氯,这在以前已成功使用。在此方法中,形成非对映异构形式的亚硫酸酯,其在甲醇氨水溶液中易于水解,使对 2'-和 3'-羟基的保护没有必要。但是,当对化合物 2、3 和 4 实施时,没有获得所需的产物 5、6 和 7。不同量的 SOCl_2 和不同温度导致起始物(2)的分解,或者导致出 5'-氯化外氯加成到 C2 取代基(3 或 4)的重键上。我们推断该氯化方法的反应条件还是太苛刻。但是,用四氯化碳和三苯基膦²⁴选择性卤化未加保护的核苷的其它氯化方法的反应条件似乎太温和。还尝试了直接温和 Mitsunobu 反应条件,首先对商购的鸟苷和腺苷实施。但是,仅选择性 5'位氯化的反应条件难以控制。鸟苷的反应(-10°C 下 1 小时)导致所有 3 个羟基氯化,而类似条件(-10°C 下 15-30 分钟)并没有使腺苷发生反应。在另一种路径的温和氯化方法中,不干扰 2'-和 3'-羟基,其通过使用部分保护的起始物进行。为此,通过 2-碘腺苷(1)与丙酮和作为酸催化剂的 70% HClO_4 反应成功地制备了 2',3'-O-异亚丙基-2-碘腺苷²⁵,而如上所述引入 2-(1-己炔基)得到 2-(1-己炔基)-2',3'-O-异亚丙基腺苷。按照 Homma 等所述用 CCl_4 和 PPh_3 氯化 2-(1-己炔基)-2',3'-O-异亚丙基腺苷²⁵,得到氯代的化合物,但只是收率低,为 15%。遗憾的是,在下步反应中遇到了问题。通过与乙硫醇在存在于甲醇中的 KOtBu 中或 2M NaOH 中反应¹,将 5'-氯-5'-脱氧-2-(1-己炔基)-2',3'-O-异亚丙基腺苷转变为 5'-(乙硫基)-取代的衍生物的若干尝试,没有成功。对于前一种方法,即使在 95°C 下反应 5 小时后,也只是又得到了起始物。后一种方法引起了显著的分解,起始物或产物都没有得到。

在另一种途经中,在 C2-取代前引入 5'-取代基,绕开了上述途经中的所有问题。Robins 的该方法由 2-碘腺苷(1)得到 5'-氯-5'-脱氧

-2-碘腺苷。但是，除了 5'-羟基，1 的 2-碘基团在某种程度上也被氯替代，得到了 5'-氯-5'-脱氧-2-碘腺苷和 2, 5'-二氯-5'-脱氧腺苷的混合物。经证明，通过柱色谱分离这两种产物是不可能的。因此，需要进一步回到合成路径中，因为 2-氯腺苷氯化获得的纯 2, 5'-二氯-5'-脱氧腺苷在不同条件下不与乙硫醇反应（不论是在不同温度下存在于甲醇中的 KOtBu 中（其都再次获得起始物，还是在较高温度下在 2 M NaOH 中，其得到 2, 5'-二乙硫基取代的衍生物）。最后，在图 1 中，描述了所需化合物的成功合成方法。5'-取代基引入鸟苷，其也是 2-碘腺苷(1)的前体。虽然更费事，但是该路径以鸟苷引入 5'-烷硫基取代基开始，绕开了所有上述问题。鸟苷的氯化²⁰得到 5'-氯-5'-脱氧-鸟苷(16)，收率 93%。化合物 16 与适当的硫醇在 2 M NaOH^{1,5}中反应，而接着保护化合物 17-20 的 2'-和 3'-羟基得到 2', 3'-O-乙酰基-5'-(烷硫基)-取代的衍生物 21-24。一些实验室描述了用磷酰氯(POCl_3)氯化嘌呤核苷的 6 位^{18,21}。为了防止起始物的分解，使用的化学物质或者适当地干燥或者经新蒸馏，而化合物 25-28 的收率可以接受至良好(40%-74%)。接着，化合物 25-28 的 2-氨基被碘取代。所用方法²⁶是原重氮化-碘取代方法²²的一种变化形式。用此有效的方法，以良好的收率获得了化合物 29-32(71-82%)。在新用氨气饱和的乙醇中，搅拌化合物 29-32，很容易除去保护基，并将 6 位缓慢氨基化得到中间体 33-36。NMR 显示 6 位氨基化需要在室温下搅拌至少 2 天。接着如上所述^{7,8}引入 C2-取代基，以良好的收率获得了化合物 37-40 和 45-48。

表 2 显示了所有合成的终产物 1、3、4、33-40 和 45-48 的放射性配体结合数据。在该表中，取代基如本文中所限定(其中 R^3 是氢原子)，参见通式(I)的化合物。

表 2-放射性配体结合试验
 K_i (nM) 和在 $10^{-5}M$ 的置换%

No	R ¹ W	R ²	A ₁ ^a	A _{2A} ^b	A ₃ ^c
1	OH	I	36.1 %	4200 ± 80	297 ± 17
33	SCH ₃	I	42.8 %	3900 ± 580	257 ± 35
34	SC ₂ H ₅	I	386 ± 384	1200 ± 120	395 ± 61
35	S-n-C ₃ H ₇	I	1050 ± 485	440 ± 50	558 ± 179
36	S-i-C ₃ H ₇	I	56.2 %	820 ± 180	546 ± 86
4	OH	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	63.7 %	6 ± 1	16.9 ± 4.1
37	SCH ₃	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	35.9 %	60 ± 20	14.5 ± 3.4
38	SC ₂ H ₅	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	2180 ± 1980	110 ± 30	32.3 ± 11.8
39	S-n-C ₃ H ₇	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	46.5 %	170 ± 10	88.3 ± 6.6
40	S-i-C ₃ H ₇	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	1270 ± 740	220 ± 10	75.4 ± 43.1
3	OH	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	18.9 %	20 ± 7	38.3 ± 3.3
45	SCH ₃	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	18.9 %	220 ± 20	253 ± 36
46	SC ₂ H ₅	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	21.2 %	500 ± 40	814 ± 132
47	S-n-C ₃ H ₇	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	22.0 %	1500 ± 280	697 ± 31
48	S-i-C ₃ H ₇	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	13.0 %	1800 ± 230	409 ± 118

此表清楚表明大多数化合物对腺苷 A₁ 受体基于非常低或者可以忽略的亲合性。另外, 大多数化合物在结合腺苷 A_{2A} 受体或 A₃ 受体中没有显示出孰优孰劣, 对于这两种受体亚型的亲合性从可以接受到良好。一些化合物对腺苷 A_{2A} 受体具有轻微的选择性(3, 4), 其 A_{2A}/A₃ 选择性比例显著小于 1, 而其它化合物更倾向于腺苷 A₃ 受体(1, 33-34, 38, 48), 其 A_{2A}/A₃ 选择性比例高达 15 倍(33)。已知在 2 位的取代增加对腺苷 A_{2A} 受体的选择性^{7,8}。最近, 对 2-(芳)链炔基-取代的腺苷衍生物的放射

性配体研究已表明除 A_1/A_{2A} 选择性外, 这些 2-取代基还增加了 A_1/A_3 的选择性^{9, 10, 27}。确实, 2-(1-己炔基)取代基对腺苷 A_{2A} 和 A_3 受体较 A_1 受体产生了高度亲合力。2-(N'-3-甲基亚丁基胍基)衍生物也获得了对腺苷 A_{2A} 和 A_3 受体的高度亲合力, 这在只针对 A_1 和 A_{2A} 受体的功能试验中已经检测⁷。与 2-(N'-3-甲基亚丁基)胍基和 2-碘代化合物细胞, 2-(1-己炔基)衍生物(4、37-40)对腺苷 A_{2A} 和 A_3 受体亲合力最高。化合物 4 对腺苷 A_{2A} 受体亲和力最高(K_i 值为 6nM), 而化合物 37 对腺苷 A_3 受体的亲和力最高(K_i 值为 14.5nM)。已知只有腺苷 A_{2A} 受体能容纳 C2 为取代基中的限制性间隔基²⁸。这解释了为何 2-碘代衍生物(1、33-36)对此受体的亲和力非常低, 而含有相对刚性化间隔基的较大 C2 取代基(1-己炔基和 N'-3-甲基亚丁基胍基)的化合物具有良好亲合力。2-碘代衍生物对腺苷 A_3 受体的亲合力明显比对 A_{2A} 受体的好, 这表明腺苷 A_3 受体的 C2 区可能不太受限制。

虽然 5'-取代基主要显示引发部分激动作用, 但是它们对这些化合物的亲合力也有影响。对于腺苷 A_{2A} 和 A_3 受体多观察到类似的变化。在大多数情况下, 大的 5'-取代基导致对这两种受体亚型的亲合力降低。只有在 5'-取代的 2-碘代腺苷系列(1、33-36)中, 腺苷 A_{2A} 受体亲合力似乎随着取代基的增大而增加。5'-羟基衍生物 1、3 和 4, 对 A_{2A} 和 A_3 受体都具有最高的亲合力, 而带有较大 5'-丙硫基和 5'-异丙硫基取代基的化合物对两种受体亚型的亲合力最低。在 2-碘代腺苷系列中, 增加 5'-取代基的大小导致 A_3/A_{2A} 选择性增加 10 倍。另一方面, 在 2-(1-己炔基)和 2-(N'-3-甲基亚丁基胍基)系列中, 较大的 5'-取代基增加腺苷 A_3 受体的选择性, A_3/A_{2A} 书写者分别有 9 和 10 倍的增加。这与以前报告的 N⁶, 5'-二取代的腺苷衍生物的数据一致。腺苷衍生物⁵中 5'-烷硫基取代基的引入也增加了较 A_{2A} 受体而言腺苷 A_3 受体的选择性。空间作用似乎不能解释腺苷 A_{2A} 受体亲和力的降低, 因为特别是 5'-乙硫基的大小与 5'-N-乙基甲酰氨基取代基的相当匹配, 如在 NECA 和 CGS21680 中。虽然已知 MECA 对腺苷 A_3 受体比 NECA 具有更高的亲合力,²⁹ 但是本文中给出的结果表明腺苷 A_3 受体比 A_{2A} 受体能够更好地容

纳较大的 5'-烷硫基基团。在文献中, 已经研究了 5'-烷硫基和 5'-N-烷基甲酰氨基外的其它修饰对腺苷 A_{2A} 或 A₃ 受体的亲合力。Mogensen 等已经阐明, 与 5'-甲基甲酰氨基衍生物相比, 腺苷衍生物的 5'-位上的较大 3-异恶唑基取代基, 确实降低了腺苷 A_{2A} 受体亲合力³⁰。相反, 对于用 5-异恶唑基取代基进行多取代的腺苷衍生物, 已声明这些化合物具有非常高的腺苷 A_{2A} 受体亲合力, 且较 A₃ 相比更具选择性³¹。

表 3 表明在 cAMP 试验中合成的化合物的作用。取代基如通式(I)所示, 其中 R³ 表示氢原子。

表 3: cAMP 试验

No	R ¹ W	R ²	E _{max} (%) A _{2A} ^a	EC ₅₀ (μM) CHO 细胞 A _{2A}	E _{max} (%) A ₃ ^b
		CGS21680	100	-	-
		NECA	102 ± 23	0.04 ± 0.004	-
		CI-IB-MECA	-	-	83 ± 2 (10)
1	OH	I	112 ± 7	5.4 ± 0.7	68 ± 7 (30)
33	SCH ₃	I	n.a. ^c	-	41 ± 17 (30)
34	SC ₂ H ₅	I	n.a. ^c	-	14 ± 10 (30)
35	S-n-C ₃ H ₇	I	n.a. ^c	-	10 ± 6 (30)
36	S-i-C ₃ H ₇	I	n.a. ^c	-	17 ± 13 (30)
4	OH	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	105 ± 4	0.010 ± 0.0003	79 ± 8 (3)
37	SCH ₃	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	45 ± 6	0.7 ± 0.1	72 ± 9 (3)
38	SC ₂ H ₅	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	79 ± 10	0.5 ± 0.02	50 ± 21 (3)
39	S-n-C ₃ H ₇	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	82 ± 7	0.8 ± 0.1	33 ± 29 (10)
40	S-i-C ₃ H ₇	C≡C(CH ₂) ₃ CH ₃	32 ± 4	3.6 ± 1.5	49 ± 22 (10)
3	OH	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	92 ± 2	1.1 ± 0.2	24 ± 17 (3)
45	SCH ₃	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	44 ± 4	5.0 ± 0.6	41 ± 16 (30)
46	SC ₂ H ₅	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	101 ± 4	7.5 ± 0.3	7 ± 37 (100)
47	S-n-C ₃ H ₇	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	126 ± 3	12.9 ± 0.9	16 ± 14 (100)
48	S-i-C ₃ H ₇	NHN=CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	56 ± 1	10.4 ± 1.0	26 ± 8 (30)

a : 在 A_{2A} CHO 细胞中与 CGS21680 的 E_{max} 相比的 $E_{max} (\pm SEM, n = 3; 10 \mu M)$;

b : 与 C1-IB-MECA 相比, 对毛喉素诱导的 ($10 \mu M$) cAMP 产生的抑制百分率。括号中, 检测了起作用的浓度 (μM , 约 $100 \times K_i$ 值);

c : 没有活性 (在 $30 \mu M$ 或 $100 \mu M$ 没有产生 cAMP (35); 约 $100 \times K_i$ 值)。

所有化合物先在浓度 $1-100 \mu M$ (K_i 值的 25 至 166 倍) 试验, 检测通过腺苷 A_{2A} 受体产生的 cAMP 的量。对于化合物 1、4、37-40、3 和 45-48 记录了完全的剂量反应曲线。由拟定的曲线确定 E_{max} 值, 并与参照完全激动剂 CGS21680 ($10 \mu M$) 产生的 cAMP 的最大量 (E_{max}) 比较。

令人惊奇的是, 5'-取代的 2-碘代衍生物 33-36 不产生任何 cAMP。这暗示在此试验中它们表现为拮抗剂, 或者它们是试验中腺苷脱氨酶 (ADA) 的底物。但是, 后一种解释似是而非, 因为在腺苷 A_3 受体的 cAMP 试验中这些化合物似乎不是 ADA 的底物, 腺苷 A_3 受体试验中也存在 ADA。所有的腺苷衍生物 (1、3 和 4) 产生与完全激动剂 CGS21680 类似量的 cAMP, 这表明它们是完全激动剂。2-(1-乙炔-1-基) 系列中的 5'-取代的衍生物与 4 和 CGS21680 相比是部分激动剂。5'-取代的 2-(N'-3-甲基亚丁基胍基) 衍生物在 cAMP 产生中显示了类似的趋势, 但它们具有较高的效果。化合物 46 和 47 的效果与完全激动剂 CGS21680 相似, 因此, 46 和 47 是该受体的完全激动剂。总之, 大多数 C2, 5'-二取代的腺苷衍生物在此试验中表现为腺苷 A_{2A} 受体的部分激动剂。带有 5'-乙硫基或 5'-异丙硫基取代基 (37, 40, 45 和 48) 的化合物效果最差。对于腺苷 A_{2A} 受体的 EC_{50} 值比 K_i 值高出 54 倍。但是, 效力和亲合力的级别相同。必须注意到 EC_{50} 值由在 CHO 细胞中表达的人腺苷 A_{2A} 受体检测, 而 K_i 值在大鼠纹状体中检测³²。

还研究了化合物通过腺苷 A_3 受体已知毛喉素刺激的 ($10 \mu M$) cAMP 产生的能力。所有化合物以单一 (最终) 浓度 $3-100 \mu M$ (K_i 值的 73 至 200 倍) 试验。2-碘代衍生物 (1、33-36) 通过腺苷 A_3 受体抑制毛喉素诱导的 cAMP 产生, 证明了化合物激动特性, 而其对腺苷 A_{2A} 受体没有反应。

化合物 1 和 4, 带有完整的 5'-羟基, 与对照完全激动剂 C1-IB-MECA 相比, 对 cAMP 产生显示出几乎完全抑制。化合物 3 只给出了对 cAMP 产生的 24%抑制, 表明它表现为腺苷 A₃受体的部分激动剂。5'-取代的衍生物都显示出亚最高水平的对毛喉素诱导的 cAMP 产生的抑制, 其与三个 2-取代系列的趋势相同(表 3)。这表明二取代的腺苷衍生物在此试验中都是腺苷 A₃受体的部分激动剂。对于腺苷 A₃受体, 带有 5'-甲硫基取代基的化合物(33、37、45)具有最高的内在效果, 而带有较大 5'-取代基(正丙硫基, 35 和 39)的化合物具有最低的内在活性。

实施例 2-合成 C2, 5', N⁶-取代的腺苷衍生物

化学方法总括

化学品和溶剂: 鸟苷得自 Aldrich (Aldrich Chemie, Sigma-Aldrich Chemie BV, Zwijndrecht, The Netherlands)。所有其它试剂得自标准商业来源并是分析纯。[³H]DPCPX(1, 3-二丙基-8-环戊基黄嘌呤)、[³H] ZM 241385 和 [¹²⁵I] AB-MECA 购自 NEN (Hoofddorp, The Netherlands)。

色谱法: 薄层色谱(TLC)用购自 Merck 的覆盖有硅胶 F₂₅₄ 铝片(20x20 cm)进行。在 UV (254 nm)下观察色谱斑。制备柱色谱在硅胶(230-400 目 ASTM)上进行。

仪器和分析: 对 C、H、N 进行元素分析(Department of Analytical Chemistry, Leiden University, The Netherlands)。¹³C NMR 光谱在 50.1 MHz 用 JEOL JNM-FX 200 光谱仪检测, 该光谱仪配备有 PG 200 计算机, 以傅立叶变换模式操作。¹H NMR 光谱用上述光谱仪在 200 MHz 检测, 或在 300 MHz 用 Bruker WM-300 光谱仪检测, 该光谱仪配备有 ASPECT 2000 计算机, 以傅立叶变换模式操作。¹H 和 ¹³C NMR 的化学位移相对于四甲基硅烷(TMS)内标物以 ppm (λ) 给出。

所有高分辨质谱在 Finnigan MAT900 质谱仪上检测, 该质谱仪配备有 EI 试验(70eV, 分辨率 1000)用直接插入探针, 或者在 Finnigan MAT TSQ-70 色谱仪上检测, 该色谱仪配备有 ESI 试验用电雾化界面。

通过恒量注入溶解于 80/20 甲醇/水的分析物来收集光谱数据。ESI 是温和的离子化技术，以正离子化模式产生质子化的、钠离子化 (sodiated) 类别，以负离子形式产生脱质子的类别。

熔点在 Büchi 毛细熔点仪中检测。

合成方法

合成甲基 2,3-O-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(化合物 50)。搅拌 88 g (0.59 mol) 的干燥 D-核糖在丙酮(400 ml)、二甲氧基丙烷(176 ml) 和 MeOH (380 ml) 中的悬浮液，在冰浴中冷却。在 4 小时期间内，每 30 分钟让氯化氢气体通过溶液，然后室温下将混合物搅拌过夜。残余物用水和乙醚萃取。合并有机层，干燥(MgSO₄)并浓缩。得到 115 g (0.56 mol, 95%); R_f 0.38 (PE40/60: EtOAc 1: 1)。¹H NMR (CDCl₃) δ 4.97 (s, 1H, H-1), 4.82-4.57 (2 x d, 2H, J = 6.18 Hz, H-2, 3), 4.42-4.39 (m, 1H, H-4), 3.71-3.62 (m, 2H, H-5), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 1.48, 1.31 (2 x s, 6H, 2 x CCH₃) ppm ¹³C NMR (CDCl₃) δ 112.02 (C(CH₃)₂), 109.8 (C-1), 88.13, 85.64, 81.38 (C-2, 3, 4), 63.80 (C-5), 55.24 (OCH₃), 26.24, 24.61 (2 x CH₃) ppm

将化合物 50 烷基化为甲基 5-O-烷基-2,3-O-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷衍生物 51-53 的总方法。将甲基 2,3-O-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(50, 53.0 g, 0.26 mol)溶解于干燥的二甲基甲酰胺(DMF, 300 ml)中。冷却(0℃)并缓慢加入 NaH (60%在矿物油中, 11.5 g, 0.29 mol)。让此混合物升温至室温，再次冷却，并非常缓慢地加入适当的烷基卤化物(0.31 mol)。将此混合物室温下搅拌过夜。将混合物用 MeOH (100 ml) 处理并真空浓缩。与甲苯(2x)共蒸发。用水和 EtOAc(各 250 ml)萃取(黑色)混合物。水层随后用二氯甲烷萃取。合并有机层，干燥(MgSO₄)并浓缩。残余物通过柱色谱纯化。

甲基 5-O-甲基-2,3-O-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(化合物 51)。该反应用以下物质进行: 50 (53.0 g, 0.26 mol) 和甲基碘(CH₃I, 0.31 mol, 19.4 ml)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液梯度 PE40/60,

PE40/60: EtOAc 2: 1)。得到 55.1 g (0.25 mol, 97%) R_f 0.56 (PE40/60: EtOAc 1: 1)。 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 111.71 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 108.79 (C-1), 84.76, 84.47, 81.70 (C-2, 3, 4), 73.18 (C-5), 58.38 (OCH_3), 54.03 (CH_2OCH_3), 25.98, 24.49 (2 x C (CH_3)₂) ppm.

甲基 5-0-乙基-2,3-0-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(化合物 52)。该反应用以下物质进行: 50 (33.4 g, 0.16 mol) 和碘代乙烷(0.20 mol, 15.9ml)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液梯度 PE40/60, PE40/60: EtOAc 1: 1)。得到 35.2 g (0.15 mol, 92%); R_f 0.62 (PE40/60: EtOAc 1: 1)。 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 111.41 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 108.55 (C-1), 84.50, 81.55 (C-2, 3, 4), 70.78 (CH_2CH_3), 65.91 (C-5), 53.85 (OCH_3), 25.77, 24.31 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 14.48 (CH_2CH_3) ppm.

甲基 5-0-环丙基-2,3-0-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(化合物 53)。该反应用以下物质进行: 50 (43.6 g, 0.21 mol) 和环丙基溴(0.26 mol, 20.6 ml)。用甲醇处理前, 该混合物在室温下搅拌。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液梯度 PE40/60, PE40/60: EtOAc 1: 1)。得到 19.5 g (79.8 mmol, 38%); R_f 0.70 (PE40/60: EtOAc 1: 1)。 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 111.94 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 108.90 (C-1), 84.88, 84.65, 81.85 (C-2, 3, 4), 71.19 (C-5), 54.38 (OCH), 53.21 (OCH_3), 26.15, 24.72 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 5.37 (CH_2CH_2) ppm.

化合物 51-53 脱保护转变为 5-0-烷基- β -D-呋喃核糖衍生物 54-56 的总方法。适当的甲基 5-0-烷基-2,3-0-异亚丙基- β -D-呋喃核糖(4.48 mmol)溶解于 15 mL HCl (0.04 M) 并回流 2 小时。溶液用 BaCO_3 中和, 过滤并浓缩。混合物通过柱色谱纯化。

5-0-甲基- α, β -D-呋喃核糖(化合物 54)。该反应用以下物质进行: 甲基 5-0-甲基-2,3-0-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(51, 1 g, 4.58 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在 EtOAc 中)。得到 0.44 g (2.68 mmol, 59%); R_f 0.34 (10% MeOH 在 EtOAc 中)。 ^{13}C NMR (MeOD) δ 103.12 (C-1, β), 97.78 (C-1, α), 83.94, 82.36, 77.37, 76.88, 72.61, 72.12 (C-2, 3, 4, $\alpha+\beta$), 73.93 (C-5),

59.51, 59.39 (OCH_3 , $\alpha+\beta$) ppm.

5-0-乙基- α, β -D-呋喃核糖(化合物 55)。该反应用以下物质进行: 甲基 5-0-乙基-2,3-0-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(52, 1.0 g, 4.85 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(10% MeOH 在 EtOAc 中)。得到 0.56 g (3.14 mmol, 65%); R_f 0.40 (10% MeOH 在 EtOAc 中)。 ^{13}C NMR (MeOD) δ 102.88 (C-1, β), 97.51 (C-1, α), 84.09, 82.42, 76.60, 72.53, 72.03 (C-2, 3, 4, $\alpha+\beta$), 73.40 (C-5), 67.83 (CH_2CH_3), 15.34 (CH_3) ppm.

5-0-环丙基- α, β -D-呋喃核糖(化合物 56)。该反应用以下物质进行: 甲基 5-0-环丙基-2,3-0-异亚丙基- β -D-呋喃核糖苷(53, 4.4 g, 18 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(10% MeOH 在 EtOAc 中)。得到 2.09 g (11 mmol, 61%); R_f 0.43 (10% MeOH 在 EtOAc 中)。 ^{13}C NMR (MeOD) δ 101.60 (C-1, β), 96.41 (C-1, α), 80.77, 79.42, 74.40, 73.53, 72.03 (C-2, 3, 4, $\alpha+\beta$), 69.40 (C-5), 56.97 (CH) 7.83 (CH_2CH_2) ppm.

将化合物 54-56 酰化为 1,2,3-三-0-乙酰基-5-0-烷基- α, β -D-呋喃核糖衍生物 57-59 的总方法。将适当的 5-0-烷基- α, β -D-呋喃核糖(2.68 mmol)溶解于 25 ml 吡啶中。加入催化剂量的二甲基氨基吡啶(DMAP)和醋酸酐(8.84 mmol, 843 μl)。将此混合物室温下搅拌 2 小时, 真空浓缩并与甲苯共蒸发。油状物用水和 EtOAc(各 25 ml)除去。将有机层干燥(MgSO_4)并浓缩, 通过柱色谱纯化。

1,2,3-三-0-乙酰基-5-0-甲基- α, β -D-呋喃核糖(化合物 57)。该反应用以下物质进行: 5-0-甲基- α, β -D-呋喃核糖(54, 0.44 g, 2.68 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在 EtOAc 中)。得到 0.70 g (2.41 mmol, 90%); R_f 0.76 (10% MeOH 在 EtOAc 中)。 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 168.98, 168.68, 168.39 (3 x C=O, $\alpha+\beta$), 97.64 (C-1, β), 93.64 (C-1, α), 82.81, 80.30, 73.99, 73.67, 70.20, 69.67 (C-2, 3, 4, $\alpha+\beta$), 71.75 (C-5), 58.67 (OCH_3), 20.26, 19.70 (3 x COCH_3) ppm.

1, 2, 3-三-O-乙酰基-5-O-乙基- α, β -D-呋喃核糖(化合物 58)。该反应用以下物质进行: 5-O-乙基- α, β -D-呋喃核糖(7, 0.56 g, 3.14 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在 EtOAc 中)。得到 0.85 g (2.79 mmol, 89%); R_f 0.75 (10% MeOH 在 EtOAc 中); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 168.68, 168.42, 168.02 (3 x C=O), 97.43 (C-1, β), 93.40 (C-1, α), 82.69, 80.24, 73.50, 70.08, 69.53 (C-2, 3, 4, $\alpha+\beta$), 69.38, 68.94 (C-5, $\alpha+\beta$), 66.05 (CH_2CH_3), 19.96, 19.41 (3 x COCH_3), 14.18 (CH_2CH_3) ppm。

1, 2, 3-三-O-乙酰基-5-O-环丙基- α, β -D-呋喃核糖(化合物 59)。该反应用以下物质进行: 5-O-环丙基- α, β -D-呋喃核糖(56, 3.42 g, 18.0 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 10% MeOH 在 EtOAc 中)。得到 4.74 g (15.0 mmol, 83%); R_f 0.72 (10% MeOH 在 EtOAc 中); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 169.27, 168.98, 168.74 (3 x C=O), 97.81 (C-1, β), 93.78 (C-1, α), 82.84, 80.36, 73.91, 70.43, 69.88 (C-2, 3, 4, $\alpha+\beta$), 69.79, 69.38 (C-5, $\alpha+\beta$), 53.50 (CH), 20.55, 20.02 (3 x COCH_3), 5.22 (CH_2CH_2) ppm。

偶合化合物 57-59 与 6-氯嘌呤或 2, 6-二氯嘌呤得到化合物 60-65 的总方法

碱的硅烷基化

适当的碱(193.8 mg, 1.27 mmol)用 1, 1, 1, 3, 3, 3-六甲基二硅胺烷(HMDS, 5 ml, 23.7 mmol)和 12.5 μl 氯三甲基硅烷(TMSCl , 0.1 mmol)在 130 $^\circ\text{C}$ 下处理 20 小时。将硅烷基化的化合物浓缩, 并不经进一步纯化直接使用。

Vorbrüggen 偶联

向适当的硅烷化的碱(12.9 mmol)中加入存在于 15ml 干燥的 1, 2-二氯乙烷中的适当的核糖(10.3 mmol)。将残余物与干燥的 1, 2-二氯乙烷共蒸发两次, 接着溶解于 75 ml 干燥的 1, 2-二氯乙烷中。将溶液温和地回流, 5 分钟后加入三甲基硅烷基-三氟甲磺酸盐(TMS 三氟甲磺酸盐) (997 μl , 5.16 mmol)。将此混合物回流 2 小时, 冷却至室温

并用二氯甲烷稀释。用 5% NaHCO₃ 和水萃取。将有机层干燥 (MgSO₄)，浓缩并通过柱色谱纯化。

6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤 (化合物 60)。该反应用以下物质进行：硅烷基化的 6-氯嘌呤 (12.9 mmol) 和 1,2,3-三-O-乙酰基-5-O-甲基-α,β-D-呋喃核糖 (57, 3.0 g, 10.3 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化 (洗脱液 3 % 丙酮在二氯甲烷中)。得到 1.9 g (4.94 mmol, 48%); R_f 0.11 (3% 丙酮在二氯甲烷中)。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.75 (s, 1H, H-8), 8.56 (s, 1H, H-2), 6.41 (d, 1H, J = 6.18 Hz, H-1'), 5.80 (t, 1H, J = 5.49 Hz, H-2'), 5.60-5.56 (m, 1H, H-3'), 4.39 (q, 1H, J = 2.41 Hz, H-4'), 3.69 (dq, 2H, J = 7.21 Hz, J = 2.40 Hz, H-5'), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 2.16, 2.03 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃) ppm.

2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤 (化合物 61)。该反应用以下物质进行：硅烷基化的 2,6-二氯嘌呤 (10.3 mmol) 和 1,2,3-三-O-乙酰基-5-O-甲基-α,β-D-呋喃核糖 (57, 2.39 g, 8.24 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化 (洗脱液梯度 4%-6% 丙酮在二氯甲烷中)。得到 2.91 g (6.94 mmol, 84%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.41 (s, 1H, H-8), 6.18 (d, 1H, J = 6.52 Hz, H-1'), 5.60 (dd, 1H, J = 6.18 Hz, J = 5.49 Hz, H-2'), 5.39 (dd, 1H, J = 5.15 Hz, J = 2.06 Hz, H-3'), 4.25-4.23 (m, 1H, H-4'), 3.58-3.48 (m, 2H, H-5'), 3.33 (s, 3H, OCH₃), 2.00, 1.88 (2 x s, 6H, 2 x COCH₃) ppm.

6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤 (化合物 62)。该反应用以下物质进行：硅烷基化的 6-氯嘌呤 (11.6 mmol) 和 1,2,3-三-O-乙酰基-5-O-乙基-α,β-D-呋喃核糖 (58, 2.82 g, 9.28 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化 (洗脱液梯度 4-6% 丙酮在二氯甲烷中)。得到 3.03 g (7.60 mmol, 82%); R_f 0.17 (3% 丙酮在二氯甲烷中); ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.51 (s, 1H, H-8), 8.45 (s, 1H, H-2), 6.20 (d, 1H, J = 6.18 Hz, H-1'), 5.64 (t, 1H, J = 5.15

Hz, H-2'), 5.40-5.36 (m, 1H, H-3'), 4.24-4.18 (m, 1H, H-4'), 3.53 (dq, 2H, $J = 13.73$ Hz, $J = 2.06$ Hz, H-5'), 3.42 (q, 2H, $J = 6.86$ Hz, CH_2CH_3), 1.94, 1.81 (2 x s, 6H, 2 x COCH_3), 1.07 (t, 3H, $J = 6.86$ Hz, CH_2CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 169.33, 168.89 (2 x C=O), 151.70, 151.32, 150.56, 143.26, 131.41 (C-2, 4, 5, 6, 8), 85.46, 82.78, 74.08, 74.86 (C-1', 2', 3', 4'), 69.35, 66.90 (OCH_2 , C-5'), 20.28, 19.19 (2 x COCH_3), 14.71 (CH_3) ppm.

2, 6-二氯-9-(2, 3-二-O-乙酰基-5-O-乙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 63)。该反应用以下物质进行: 硅烷基化的 2, 6-二氯嘌呤(10.3 mmol)和 1, 2, 3-三-O-乙酰基-5-O-乙基- α, β -D-呋喃核糖(58, 2.51 g, 8.24 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液梯度 4%-6% 丙酮在二氯甲烷中)。得到 2.93 g (6.76 mmol, 82%); ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.66 (s, 1H, H-8), 6.39 (d, 1H, $J = 6.53$ Hz, H-1'), 5.81 (dd, 1H, $J = 6.86$ Hz, $J = 5.49$ Hz, H-2'), 5.58 (dd, 1H, $J = 7.21$ Hz, $J = 2.06$ Hz, H-3'), 4.43-4.41 (m, 1H, H-4'), 3.75 (dq, 2H, $J = 10.64$ Hz, $J = 2.41$ Hz, H-5'), 3.64 (t, 2H, $J = 6.87$ Hz, CH_2CH_3), 2.19, 2.06 (2 x s, 6H, 2 x COCH_3), 1.32 (t, 3H, $J = 6.86$ Hz, CH_2CH_3) ppm.

6-氯-9-(2, 3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(化合物 64)。该反应用以下物质进行: 硅烷基化的 6-氯嘌呤(9.79 mmol)和 1, 2, 3-三-O-乙酰基-5-O-环丙基- α, β -D-呋喃核糖(59, 2.48 g, 7.83 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液梯度 4%-6% 丙酮在二氯甲烷中)。得到 2.09 g (5.10 mmol, 65%); ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.76 (s, 1H, H-8), 8.59 (s, 1H, H-2), 6.42 (d, 1H, $J = 6.18$ Hz, H-1'), 5.83-5.77 (m, 1H, H-2'), 5.57-5.53 (m, 1H, H-3'), 4.45-4.42 (m, 1H, H-4'), 3.87-3.77 (m, 2H, H-5'), 3.45-3.42 (m, 1H, CH), 2.19, 2.06 (2 x s, 6H, 2 x COCH_3), 0.67-0.55 (m, 4H, CH_2CH_2) ppm.

2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)嘌呤(化合物 65)。该反应用以下物质进行:硅烷基化的 2,6-二氯嘌呤(8.95 mmol)和 1,2,3-三-O-乙酰基-5-O-环丙基- α,β -D-呋喃核糖(59, 2.26 g, 7.16 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液梯度 4%-6%丙酮在二氯甲烷中)。得到 2.55 g (5.73 mmol, 80 %); ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.32 (s, 1H, H-8), 6.10 (d, 1H, $J = 6.18$ Hz, H-1'), 5.52-5.46 (m, 1H, H-2'), 5.28-5.25 (m, 1H, H-3'), 4.20-4.17 (m, 1H, H-4'), 3.60 (q, 2H, $J = 7.56$ Hz, H-5'), 3.24-3.19 (m, 1H, OCH), 1.91, 1.82 (2 x s, 6H, 2 x COCH_3), 0.43-0.32 (m, 4H, CH_2CH_2) ppm。

氨基化合物 60-65 为取代的腺苷衍生物 66-83 的总方法

方法 A (合成化合物 66, 69, 72, 75, 78 和 81)

将适当的 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-烷基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤或适当的 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-烷基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(1.53 mmol)溶解于 EtOH/NH_3 (30 ml), 并将混合物室温下搅拌过夜。将混合物浓缩并通过柱色谱纯化。

方法 B (化合物 67, 68, 70, 71, 73, 74, 76, 77, 79, 80, 82 和 84)

适当的 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-烷基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤或适当的 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-烷基- β -D-呋喃核糖基)嘌呤(1.53 mmol)溶解于纯 EtOH (10 ml)。加入适当的胺(2.3 mmol)和 Et_3N (1.91 mmol)并将混合物回流过夜。将混合物浓缩并溶解于 EtOH/NH_3 (30 ml)并室温下搅拌过夜。将混合物再次浓缩并通过柱色谱纯化。

5'-O-甲基腺苷(化合物 66)。方法 A。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(60, 682 mg, 1.77 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 393 mg (1.40 mmol, 79%), mp 112-114 $^\circ\text{C}$; R_f 0.43 (10%MeOH 在二氯甲烷中); $^1\text{HNMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.28 (s, 1H,

H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.26 (bs, 2H, NH₂), 5.87 (d, 1H, J = 5.49 Hz, OH-2'), 5.25 (d, 1H, J = 5.15 Hz, OH-3'), 4.57 (q, 1H, J = 6.18 Hz, H-2'), 4.13 (q, 1H, J = 4.47 Hz, H-3'), 3.99-3.98 (m, 1H, H-4'), 3.57-3.48 (m, 2H, H-5'), 3.28 (s, 3H, OCH₃) ppm; MS m/z 282 (M+H)⁺; 元素分析 (C₁₁H₁₅N₅O₄ · 0.5 H₂O) C, H, N.

N⁶-环戊基-5'-O-甲基腺苷(化合物 67)。方法 B。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(60, 589 mg, 1.53 mmol)和环戊基胺(2.3 mmol, 227 μl)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 476 mg (1.36 mmol, 89%), mp 164-166°C; R_f 0.51 (洗脱液 10%MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙腈重结晶; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.28 (s, 1H, H-8), 8.18 (s, 1H, H-2), 7.70 (d, 1H, J = 7.55 Hz, NH), 5.89 (d, 1H, J = 4.80 Hz, H-1'), 5.50 (d, 1H, J = 5.15 Hz, OH-2'), 5.26 (d, 1H, J = 5.15 Hz, OH-3'), 4.56 (q, 1H, J = 4.12 Hz, H-2'), 4.13 (q, 1H, J = 4.46 Hz, H-3'), 3.99 (q, 1H, J = 4.12 Hz, H-4'), 3.57-3.42 (m, 2H, H-5'), 3.28 (s, 3H, OCH₃), 2.01-1.83 (m, 2H, 环戊基), 1.73-1.52 (m, 4H, 环戊基); MS m/z 350 (M+H)⁺; 元素分析 (C₁₆H₂₃N₅O₄ · 0.7 CH₃CN) C, H, N.

N⁶-(3-碘代苄基)-5'-O-甲基腺苷(化合物 68)。方法 B。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(60, 363 mg, 0.94 mmol)和 3-碘代苄基胺·HCl (1.41 mmol, 380 mg)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 397 mg (0.80 mmol, 85%), mp 155-157°C; R_f 0.54 (洗脱液 10%MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.40 (bs, 1H, NH), 8.33 (s, 1H, H-8), 8.21 (s, 1H, H-2), 7.70 (s, 1H, CCHCl), 7.57 (d, 1H, J = 6.52 Hz, CCHCHCH), 7.34 (d, 1H, J = 5.15 Hz, CCHCH), 7.08 (t, 1H, J = 8.93 Hz, CCHCH), 5.89 (d, 1H, J = 4.12 Hz, H-1'), 5.50-5.47 (m, 1H, OH-2'), 5.27-5.25 (m,

1H, OH-3'), 4.68-4.56 (m, 3H, H-2', NHCH₂), 4.14-4.13 (m, 1H, H-3'), 4.01-3.98 (m, 1H, H-4'), 3.57-3.53 (m, 2H, H-5'), 3.31 (s, 3H, OCH₃); MS m/z 498 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₈H₂₀N₅O₄) C, H, N.

2-氯-5'-O-甲基腺苷(化合物 69)。方法 A。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(61, 667 mg, 1.59 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 382 mg (1.21 mmol, 76%), mp 200-202 °C; R_f 0.49 (10%MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.30 (s, 1H, H-8), 7.83 (bs, 2H, NH₂), 5.80 (d, 1H, J = 5.15 Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H, J = 6.18 Hz, OH-2'), 5.29 (d, 1H, J = 5.49 Hz, OH-3'), 4.52 (q, 1H, J = 5.84 Hz, H₂'), 4.11-3.99 (m, 2H, H-3', 4'), 3.55-3.46 (m, 2H, H-5'), 3.28 (s, 3H, OCH₃); MS m/z 316 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₁H₁₄ClN₅O₄ · 1.0 二氯甲烷) C, H, N.

N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-甲基腺苷(化合物 70)。方法 B。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(61, 505 mg, 1.2 mmol)和环戊基胺(1.8 mmol, 178 μL)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 2%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 364 mg (0.95 mmol, 79%), mp 124-126 °C; R_f 0.15 (洗脱液 2%MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.33 (bs, 1H, NH), 8.30 (s, 1H, H-8), 5.81 (d, 1H, J = 4.46 Hz, H-1'), 5.51 (d, 1H, J = 3.36 Hz, OH-2'), 5.29 (d, 1H, J = 3.32 Hz, OH-3'), 4.59-4.29 (m, 2H, CH, H-2'), 4.41-3.99 (m, 2H, H-3', 4'), 3.56-3.52 (m, 2H, H-5'), 1.94-1.92 (m, 2H, 环戊基), 1.71-1.50 (m, 4H, 环戊基); MS m/z 384 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₆H₂₂ClN₅O₄ · 0.1CH₂Cl₂) C, H, N.

N⁶-(3-碘代苄基)-2-氯-5'-O-甲基腺苷(化合物 71)。方法 B。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-甲基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(61, 372 mg, 0.89 mmol)和 3-碘代苄基胺·HCl (1.34 mmol, 360 mg)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 2

%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 383 mg (0.72 mmol, 81 %), mp 84-86 °C; R_f 0.59 (10%MeOH 在二氯甲烷中)。产物用丙酮重结晶; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.89 (bs, 1H, NH), 8.35 (s, 1H, H-8), 7.73 (s, 1H, CCHCl), 7.60 (d, 1H, $J = 5.83$ Hz, CCHCHCH), 7.33 (d, 1H, $J = 6.12$ Hz, CCHCH), 7.12 (t, 1H, $J = 7.55$ Hz, CCHCH), 5.82 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, H-1'), 5.54 (d, 1H, $J = 5.84$ Hz, OH-2'), 5.30 (d, 1H, $J = 5.49$ Hz, OH-3'), 4.61-4.51 (m, 3H, NHCH₂, H-2'), 4.09-4.00 (m, 2H, H-3', 4'), 3.56-3.52 (m, 2H, H-5'), 3.28 (s, 3H, OCH₃); MS m/z 532 ($M+H$)⁺; 元素分析 (C₁₈H₁₉ClIN₅O₄ · 0.3 CH₃COCH₃) C, H, N.

5'-O-乙基腺苷(化合物 72)。方法 A。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(62, 663 mg, 1.70 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 407 mg (1.38 mmol, 81%), mp 110-112 °C; R_f 0.48 (10%MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.32 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.27 (bs, 2H, NH₂), 5.89 (d, 1H, $J = 4.80$ Hz, H-1'), 5.49 (d, 1H, $J = 5.84$ Hz, OH-2'), 5.24 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, OH-3'), 4.54 (q, 1H, $J = 5.14$ Hz, H-2'), 4.15 (q, 1H, $J = 4.81$ Hz, H-3'), 4.00 (q, 1H, $J = 4.46$ Hz, H-4'), 3.58 (dq, 2H, $J = 9.27$ Hz, $J = 3.78$ Hz, H-5'), 3.47 q, 2H, $J = 7.21$ Hz, CH₂), 1.12 (t, 3H, $J = 7.20$ Hz, CH₃); MS m/z 296 ($M+H$)⁺; 元素分析 (C₁₂H₁₇N₅O₄ · 0.2 CH₂Cl₂) C, H, N.

N⁶-环戊基-5'-O-乙基腺苷(化合物 73)。方法 B。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(62, 502 mg, 1.26 mmol)和环戊基胺 (1.89 mmol, 187 μ L)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 316 mg (0.87 mmol, 69%), mp 134-136 °C; R_f 0.49 (洗脱液 10%MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙腈重结晶; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.31 (s, 1H, H-8), 8.19 (s, 1H, H-2), 7.72 (d, 1H, $J = 7.55$ Hz, NH), 5.89

(d, 1H, $J=5.15$ Hz, H-1'), 5.55-5.25 (m, 2H, OH-2', 3'), 4.53 (t, 1H, $J=4.81$ Hz, H-2'), 4.15 (t, 1H, $J=2.40$ Hz, H-3'), 4.01-3.96 (m, 1H, H-4'), 3.62-3.48 (m, 2H, H-5'), 3.46 (q, 2H, $J=7.21$ Hz, CH_2CH_3), 1.99-1.82 (m, 2H, 环戊基), 1.78-1.52 (m, 4H, 环戊基), 1.11 (t, 3H, $J=7.21$ Hz, CH_3); MS m/z 364 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; 元素分析($\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.6 \text{ CH}_3\text{CN}$) C, H, N.

5'-O-乙基-N⁶-(3-碘代苄基)-腺苷(化合物 74)。方法 B。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(62, 367 mg, 0.92 mmol)和 3-碘代苄基胺·HCl(1.38 mmol, 372 mg)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 339 mg (0.66 mmol, 72%), mp 164-166 °C; R_f 0.40 (10%MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙腈重结晶; ¹H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.45 (bs, 1H, NH), 8.37 (s, 1H, H-8), 8.21 (s, 1H, H-2), 7.71 (s, 1H, CCHCl), 7.57 (d, 1H, $J=7.90$ Hz, CCHCHCH), 7.34 (d, 1H, $J=6.52$ Hz, CCHCH), 7.09 (t, 1H, $J=6.87$ Hz, CCHCH), 5.91 (d, 1H, $J=4.46$ Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H, $J=5.49$ Hz, OH-2'), 5.27 (d, 1H, $J=4.80$ Hz, OH-3'), 4.67-4.64 (m, 2H, NHCH_2), 4.56 (q, 1H, $J=4.81$ Hz, H-2'), 4.17 (q, 1H, $J=4.81$ Hz, H-3'), 4.00 (q, 1H, $J=4.12$ Hz, H-4'), 3.60 (dq, 2H, $J=9.61$ Hz, $J=3.43$ Hz, H-5'), 3.47 (q, 2H, $J=6.52$ Hz, OCH_2CH_3), 1.12 (t, 3H, $J=6.52$ Hz, CH_3); MS m/z 512 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; 元素分析($\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{IN}_5\text{O}_4 \cdot 0.3 \text{ CH}_3\text{CN}$) C, H, N.

2-氯-5'-O-乙基腺苷(化合物 75)。方法 A。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基- β -D-呋喃核糖基)嘌呤(63, 656 mg, 1.51 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 388 mg (1.18 mmol, 78%), mp 117-119 °C; R_f 0.50 (10 %MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.34 (s, 1H, H-8), 7.83 (bs, 2H, NH_2), 5.81 (d, 1H, $J=5.49$ Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H, $J=5.83$ Hz, OH-2'), 5.28 (d, 1H, $J=$

5.14 Hz, OH-3'), 4.49 (q, 1H, $J = 4.81$ Hz, H-2'), 4.13-4.01 (m, 1H, H-3'), 4.01-3.99 (m, 1H, H-4'), 3.62-3.42 (m, 2H, H-5'), 3.47 (q, 2H, $J = 6.87$ Hz, OCH₂), 1.12 (t, 3H, $J = 6.87$ Hz, CH₃); MS m/z 330 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₂H₁₆ClN₅O₄ · 0.4 CH₂Cl₂) C, H, N.

2-氯-N⁶-环戊基-5'-O-乙基腺苷(化合物 76)。方法 B。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(63, 505 mg, 1.16 mmol)和环戊基胺(1.74 mmol, 172 μL)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 323 mg (0.81 mmol, 70%), mp 114-116 °C; R_f 0.55 (10 %MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.34 (s, 1H, H-8), 8.32 (bs, 1H, NH), 5.82 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H, $J = 5.18$ Hz, OH-2'), 5.29 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, OH-3'), 4.47-4.37 (m, 2H, CH, H-2'), 4.11-4.10 (m, 1H, H-3'), 4.00 (q, 1H, $J = 4.47$ Hz, H-4'), 3.62-3.58 (m, 2H, H-5'), 3.47 (q, 2H, $J = 7.21$ Hz, CH₂CH₃), 2.00-1.83 (m, 2H, 环戊基), 1.71-1.51 (m, 4H, 环戊基), 1.12 (t, 3H, $J = 7.21$ Hz, CH₃); MS m/z 399 (M+H)⁺; 元素分析(C₁₇H₂₄ClN₅O₄) C, H, N.

2-氯-5'-O-乙基-N⁶-(3-碘代苄基)-腺苷(化合物 77)。方法 B。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-乙基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤(63, 375 mg, 0.87 mmol)和 3-碘代苄基胺·HCl (1.31 mmol, 352 mg)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 366 mg (0.67 mmol, 77%), mp 80-82 °C; R_f 0.53 (10%MeOH 在二氯甲烷中); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.97 (bs, 1H, NH), 8.40 (s, 1H, H-8), 7.74 (s, 1H, CCHCl), 7.60 (d, 1H, $J = 6.87$ Hz, CCHCHCH), 7.35 (d, 1H, $J = 8.24$ Hz, CCHCH), 7.12 (t, 1H, $J = 7.21$ Hz, CCHCH), 5.84 (d, 1H, $J = 4.46$ Hz, H-1'), 5.56 (d, 1H, $J = 5.49$ Hz, OH-2'), 5.30 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, OH-3'), 4.60 (d, 2H, $J = 4.46$ Hz, NHCH₂), 4.51 (d, 1H,

$J = 5.15 \text{ Hz}$, H-2'), 4.14-4.11 (m, 1H, H-3'), 4.02 (q, 1H, $J = 3.43 \text{ Hz}$, H-4'), 3.63-3.58 (m, 2H, H-5'), 3.49 (q, 2H, $J = 6.52 \text{ Hz}$, CH_2CH_3), 1.13 (t, 3H, $J = 6.52 \text{ Hz}$, CH_3); MS m/z 546 $(\text{M}+\text{H})^+$; 元素分析($\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClIN}_5\text{O}_4 \cdot 0.8 \text{ HCON}(\text{CH}_3)_2$) C, H, N.

5'-O-环丙基腺苷(化合物 78)。方法 A。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)嘌呤(64, 334 mg, 0.81 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 172 mg (0.56 mmol, 69%), mp 130-132°C; R_f 0.49 (10%MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.27 (s, 1H, H-8), 8.14 (s, 1H, H-2), 7.28 (bs, 2H, NH_2), 5.87 (d, 1H, $J = 4.80 \text{ Hz}$, H-1'), 5.50 (d, 1H, $J = 5.84 \text{ Hz}$, OH-2'), 5.26 (d, 1H, $J = 5.49 \text{ Hz}$, OH-3'), 4.56 (q, 1H, $J = 4.81 \text{ Hz}$, H-2'), 4.10 (q, 1H, $J = 4.47 \text{ Hz}$, H-3'), 3.99 (q, 1H, $J = 3.78 \text{ Hz}$, H-4'), 3.67-3.59 (m, 2H, H-5'), 0.44-0.40 (m, 4H, OCH_2CH_2); MS m/z 308 $(\text{M}+\text{H})^+$; 元素分析($\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.2\text{CH}_2\text{Cl}_2$) C, H, N.

N^6 -环戊基-5'-O-环丙基腺苷(化合物 79)。方法 B。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(64, 273 mg, 0.66 mmol)和环戊基胺(1.00 mmol, 98 μ l)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 173 mg (0.46 mmol, 70%), mp 126-128°C; R_f 0.53 (10%MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙醚重结晶; ^1H NMR (MeOD) δ 8.17 (s, 1H, H-8), 8.13 (s, 1H, H-2), 5.94 (d, 1H, $J = 4.46 \text{ Hz}$, H-1'), 4.44 (t, 1H, $J = 4.80 \text{ Hz}$, H-2'), 4.18 (t, 1H, $J = 5.15 \text{ Hz}$, H-3'), 4.11-4.06 (m, 1H, H-4'), 3.69 (q, 2H, $J = 9.95 \text{ Hz}$, H-5'), 3.24-3.19 (m, 1H, CH), 2.11-1.82 (m, 2H, 环戊基), 1.72-1.50 (m, 6H, 环戊基), 0.48-0.39 (m, 4H, CH_2CH_2); MS m/z 376 $(\text{M}+\text{H})^+$; 元素分析($\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.5(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$) C, H, N.

N^6 -(3-碘代苄基)-5'-O-环丙基-腺苷(化合物 80)。方法 B。该反应用以下物质进行: 6-氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(64, 273 mg, 0.66 mmol)和3-碘代苄胺(1.00 mmol, 98 μ l)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 173 mg (0.46 mmol, 70%), mp 126-128°C; R_f 0.53 (10%MeOH 在二氯甲烷中)。产物用乙醚重结晶; ^1H NMR (MeOD) δ 8.17 (s, 1H, H-8), 8.13 (s, 1H, H-2), 5.94 (d, 1H, $J = 4.46 \text{ Hz}$, H-1'), 4.44 (t, 1H, $J = 4.80 \text{ Hz}$, H-2'), 4.18 (t, 1H, $J = 5.15 \text{ Hz}$, H-3'), 4.11-4.06 (m, 1H, H-4'), 3.69 (q, 2H, $J = 9.95 \text{ Hz}$, H-5'), 3.24-3.19 (m, 1H, CH), 2.11-1.82 (m, 2H, 环戊基), 1.72-1.50 (m, 6H, 环戊基), 0.48-0.39 (m, 4H, CH_2CH_2); MS m/z 376 $(\text{M}+\text{H})^+$; 元素分析($\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.5(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$) C, H, N.

喃核糖基)-嘌呤(64, 196 mg, 0.48 mmol)和 3-碘代苄基胺·HCl(0.72 mmol, 193 mg)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5 %MeOH 在二氯甲烷中)。得到 186 mg (0.36 mmol, 74 %), mp 110-112℃; R_f 0.49 (10%MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.43 (bs, 1H, NH), 8.31 (s, 1H, H-8), 8.21 (s, 1H, H-2), 7.71 (s, 1H, CCHCl), 7.57 (d, 1H, $J = 7.55$ Hz, CCHCHCH), 7.34 (d, 1H, $J = 7.89$ Hz, CCHCH), 7.09 (t, 1H, $J = 7.90$ Hz, CCHCH), 5.89 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, H-1'), 5.49 (d, 1H, $J = 5.83$ Hz, OH-2'), 5.27 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, OH-3'), 4.68-4.55 (m, 2H, NHCH₂), 4.57 (q, 1H, $J = 5.49$ Hz, H-2'), 4.11 (q, 1H, $J = 4.46$ Hz, H-3'), 4.00 (q, 1H, $J = 4.11$ Hz, H-4'), 3.67-3.62 (m, 2H, H-5'), 0.45-0.40 (m, 4H, CH₂CH₂); MS m/z 524 (M+H)⁺; 元素分析 (C₂₀H₂₂IN₅O₄ · 0.7 CH₃OH) C, H, N。

2-氯-5'-O-环丙基腺苷(81)。方法 A。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(65, 649 mg, 1.46 mmol)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 379 mg (1.11 mmol, 76 %), mp 122-124℃; R_f 0.32 (10 %MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.29 (s, 1H, H-8), 7.83 (bs, 2H, NH₂), 5.79 (d, 1H, $J = 5.49$ Hz, H-1'), 5.52 (d, 1H, $J = 6.18$ Hz, OH-2'), 5.29 (d, 1H, $J = 5.29$ Hz, OH-3'), 4.51 (q, 1H, $J = 5.84$ Hz, H-2'), 4.08-3.99 (m, 2H, H-3', 4'), 3.68-3.63 (m, 2H, H-5'), 0.45-0.41 (m, 4H, CH₂CH₂); MS m/z 342 (M+H)⁺; 元素分析 (C₁₃H₁₆ClIN₅O₄ · 0.8 HCON(CH₃)₂) C, H, N。

N⁶-环戊基-2-氯-5'-O-环丙基腺苷(82)。方法 B。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-(9-环丙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(65, 543 mg, 1.22 mmol)和环戊基胺(1.83 mmol, 180 μ L)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5 %MeOH 在二氯甲烷中)。得到 400 mg (0.98 mmol, 80 %), mp 104-106℃; R_f 0.51 (10%MeOH

在二氯甲烷中)。产物用乙醚重结晶; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.34 (bs, 1H, NH), 8.28 (s, 1H, H-8), 5.81 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, H-1'), 5.53 (d, 1H, $J = 5.84$ Hz, OH-2'), 5.29 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, OH-3'), 4.50 (q, 1H, $J = 5.15$ Hz, H-2'), 4.50-4.47 (m, 1H, CH), 4.09-3.99 (m, 2H, H-3', 4'), 3.68 3.63 (m, 2H, H-5'), 1.94-1.89 (m, 2H, 环戊基), 1.71-1.50 (m, 4H, 环戊基), 0.46-0.41 (m, 4H, $\text{OCHCH}_2\text{CH}_2$); MS m/z 410 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_4 \cdot 0.2(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$) C, H, N.

N^6 -(3-碘代苄基)-2-氯-5'-O-环丙基腺苷(83)。方法 B。该反应用以下物质进行: 2,6-二氯-9-(2,3-二-O-乙酰基-5-O-环丙基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(65, 483 mg, 1.08 mmol)和 3-碘代苄基胺·HCl(1.63 mmol, 439 mg)。该混合物通过柱色谱纯化(洗脱液 5%MeOH 在二氯甲烷中)。得到 435 mg (0.78 mmol, 72%), mp 94-96 $^{\circ}\text{C}$; R_f 0.49 (10%MeOH 在二氯甲烷中); ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.93 (t, 1H, $J = 6.18$ Hz, NH), 8.33 (s, 1H, H-8), 7.73 (s, 1H, CCHCl), 7.59 (d, 1H, $J = 7.90$ Hz, CCHCHCH), 7.34 (d, 1H, $J = 7.55$ Hz, CCHCH), 7.11 (t, 1H, $J = 7.55$ Hz, CCHCH), 5.82 (d, 1H, $J = 5.14$ Hz, H-1'), 5.54 (d, 1H, $J = 5.84$ Hz, OH-2'), 5.30 (d, 1H, $J = 5.15$ Hz, OH-3'), 4.61-4.48 (m, 3H, H-2', NHCH_2), 4.09-3.98 (m, 2H, H-3', 4'), 3.68-3.58 (m, 2H, H-5'), 0.45-0.41 (m, 4H, 环丙基); MS m/z 559 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 元素分析 ($\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClIN}_5\text{O}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

化合物 66-83 的元素分析数据如下:

表 4: 元素分析

No	分子式	原子 理论值	实测值
66	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$	C 45.51 %	C 45.46 %
		H 5.56 %	H 5.94 %
		N 24.13 %	N 24.37 %
67	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0.7\text{CH}_3\text{CN}$	C 55.27 %	C 55.08 %
		H 6.69 %	H 6.56 %
		N 21.11 %	N 21.23 %
68	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{IN}_5\text{O}_4$	C 43.48 %	C 43.82 %
		H 4.05 %	H 3.94 %
		N 14.08 %	N 13.74 %

69	$C_{11}H_{14}ClN_5O_4 \cdot 1.0 CH_2Cl_2$	C 35.97 % H 4.03 % N 17.48 %	C 35.97 % H 4.21 % N 17.65 %
70	$C_{16}H_{22}ClN_5O_4 \cdot 0.1 CH_2Cl_2$	C 49.28 % H 5.70 % N 17.85 %	C 49.65 % H 5.52 % N 18.38 %
71	$C_{18}H_{19}ClIN_5O_4 \cdot 0.3 CH_3COCH_3$	C 41.33 % H 3.82 % N 12.75 %	C 41.71 % H 3.45 % N 13.00 %
72	$C_{12}H_{17}N_5O_4 \cdot 0.2 CH_2Cl_2$	C 46.92 % H 5.62 % N 22.43 %	C 46.56 % H 5.90 % N 22.09 %
73	$C_{17}H_{25}N_5O_4 \cdot 0.6 CH_3CN$	C 56.33 % H 6.96 % N 20.21 %	C 56.19 % H 6.89 % N 20.24 %
74	$C_{19}H_{22}IN_5O_4 \cdot 0.3 CH_3CN$	C 44.95 % H 4.41 % N 14.18 %	C 45.37 % H 4.60 % N 13.94 %
75	$C_{12}H_{16}ClN_5O_4 \cdot 0.4 CH_2Cl_2$	C 40.94 % H 4.66 % N 19.25 %	C 40.80 % H 5.03 % N 19.29 %
76	$C_{17}H_{24}ClN_5O_4$	C 51.32 % H 6.08 % N 17.60 %	C 51.65 % H 5.72 % N 17.85 %
77	$C_{19}H_{21}ClIN_5O_4 \cdot 0.8 HCON(CH_3)_2$	C 42.53 % H 4.44 % N 13.44 %	C 42.89 % H 4.43 % N 13.04 %
78	$C_{13}H_{17}N_5O_4 \cdot 0.8 H_2O$	C 48.56 % H 5.82 % N 21.78 %	C 48.66 % H 5.69 % N 21.53 %
79	$C_{18}H_{25}N_5O_4 \cdot 0.5 (C_2H_5)_2O$	C 58.23 % H 7.33 % N 16.98 %	C 58.50 % H 6.87 % N 17.05 %
80	$C_{20}H_{22}IN_5O_4 \cdot 0.7 CH_3OH$	C 45.55 % H 4.58 % N 12.83 %	C 45.65 % H 4.38 % N 12.70 %
81	$C_{13}H_{16}ClN_5O_4 \cdot 0.8 HCON(CH_3)_2$	C 46.21 % H 5.44 % N 20.30 %	C 46.21 % H 5.36 % N 20.20 %
82	$C_{18}H_{24}ClN_5O_4 \cdot 0.2 (C_2H_5)_2O$	C 53.16 % H 6.17 % N 16.49 %	C 53.08 % H 6.52 % N 16.74 %
83	$C_{20}H_{21}ClIN_5O_4 \cdot 0.5 H_2O$	C 42.38 % H 3.91 % N 12.36 %	C 42.46 % H 4.11 % N 12.26 %

总生物学方法

放射性配体结合研究

按照以前公开的方法(大鼠 A_1)在 GTP 不存在条件下用 [3H] DPCPX 进行检测³³。按照 Gao 等的方法确定腺苷 A_{2A} 受体(大鼠)亲合性³⁴。基

本上如前所述的方法确定腺苷 A_3 受体亲合性^{4,35}。简言之,在 50/10/1 缓冲液(50 mM Tris/10 mM $MgCl_2$ /1 mM 乙二胺四乙酸(EDTA)和 0.01% 3-([3-胆碱基丙基]-二甲基铵)-1-丙基磺酸盐(CHAPS))中在玻璃试管中进行试验,该试管中有 50 μ L 的 HEK 293 细胞膜混悬液(10-30 μ g)、25 μ l [¹²⁵I] AB MECA (最终浓度 0.15 nM)和 25 μ L 的配体。孵育在 37℃ 下进行 1 小时,并通过用 Whatman GF/B 过滤器快速过滤终止,使用 Brandell 细胞收集器(Brandell, Gaithersburg, MD)。用 3ml 缓冲液将试管洗涤 3 次。用 Beckman 5500B γ -计数器确定放射性。在 10^{-5} M R-PIA 存在下确定非特异性结合。

cAMP 试验 A_1 和 A_3

在 24 孔组织培养板中以单层形式让表达了人腺苷 A_1 或 A_3 受体的 CHO 细胞生长过夜(400 μ L/孔; 2×10^5 细胞/孔)。在 Dulbecco's 改良 Eagles 培养基(DMEM)/N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)缓冲液(0.60 g HEPES/50 mL DMEM pH 7.4)中进行 cAMP 的生成。将每个孔用 DMEM/HEPES 缓冲液(250 μ L)洗涤 2 次,向每个孔中加入 100 μ L 腺苷脱氨基酶(最终浓度 5 IU/ml)、100 μ l 洛利普兰和西洛酰胺的混合物(最终浓度各 50 μ M)和 100 μ l 激动剂(最终浓度 $\pm$ 100 倍 K_i 值)。在 37℃ 下孵育 40 分钟后,加入 100 μ l 的毛喉素(最终浓度 10 μ M)。在 37℃ 下 15 分钟后,通过除去培养基并加入 200 μ l 0.1 M HCl 停止反应。细胞在 -20℃ 下保存直到试验。

按照 cAMP 结合蛋白方案²⁸检测 cAMP 的量,其中作了如下的小改进。缓冲液使用 150mM K_2HPO_4 /10 mM EDTA/0.2%牛血清白蛋白(BSA), pH 7.5。样品(20 μ l + 30 μ l 0.1 M HCl)在通过 Whatman GF/B 过滤器过滤前至少在 0℃ 下孵育 2.5 小时。再用 2 x 2 ml Tris HCl 缓冲液(pH 7.4, 4℃)清洗。在 Packard Emulsifier Safe 闪烁流体(3.5 ml)提取 24 小时后对过滤器放射性进行计数。

数据分析

用软件包 Prism(Graph Pad, San Diego, CA)通过竞争曲线的非线性回归法由置换曲线计算表观 K_i 和 EC_{50} 。

在放射性配体结合试验中检测所有化合物以确定它们对大鼠脑皮层中腺苷 A₁ 受体、大鼠纹状体中 A_{2A} 受体和在 HEK293 细胞中表达的人 A₃ 受体的亲合性(表 5)。对于腺苷 A₁ 受体,使用氘代拮抗剂 [³H]-1,3-二丙基-8 环戊基黄嘌呤 ([³H] DPCPX), 而对于腺苷 A_{2A} 受体,使用氘代拮抗剂 [³H] ZM 241385。还使用腺苷 A₃ 受体激动剂 [¹²⁵I] AB-MECA。置换试验在不存在 GTP 的条件下进行。

也在功能试验中检测所有的化合物。首先,评价化合物 (66-83) 通过表达在 CHO 细胞中的人腺苷 A_{2A} 受体或者通过 HEK 293 细胞中表达的人腺苷 A₃ 受体,抑制毛喉素 (10 μM) 诱发的 cAMP 产生的能力。其次,测定当化合物 66-83 结合受体时,对结合细胞膜的鸟苷-5'-O-(3-[³⁵S] 硫代)三磷酸 ([³⁵S] GTPγS) 的调节。使用大鼠脑皮层 (A₁ 受体) 和用人腺苷 A₃ 受体稳定转染的 CHO 细胞的膜制品 (在结合研究中使用的由 HEK293 细胞制备的膜没有发生显著的刺激)。

结果和讨论

在腺苷或其衍生物之一的 5'-位进行的选择性烷基化非常困难,因为必须非常小心地防止在该碱部分存在的多个活性氮原子上的烷基化 (除了 N⁶ 氮原子,其反应性差)。用 KOH、18-冠醚-6 和碘代甲烷处理 2,3'-O-异亚丙基腺苷或 2',3'-O-异亚丙基肌苷^{50,51}, 分别得到 N1 甲基化的衍生物或者 N1-甲基化产物与 N1,5'-二甲基化化合物的混合物。在甲醇盐甲醇中回流 5'-氯-5'-脱氧腺苷衍生物又只得到了起始物。因此,先将核糖烷基化,然后将产物与适当的杂环碱偶联是优选的方法,随后进行其它反应。

D-核糖 (49) 的 1-、2-和 3-羟基的保护按照改良的 Leonard 等描述的方法进行⁴⁸。将 D-核糖溶解于丙酮、甲醇和 2,2-二甲氧基丙烷的混合物中,并直接向溶液中通入 HCl 气体,而不是加入用 HCl 气体饱和的甲醇。以良好的收率 (95%) 得到了被保护的 β-糖 (50)。为了将 5-羟基烷基化,将 50 冷却下溶解于 DMF (在使用环丙基溴情况下不是这样),室温下加入适当的烷基卤化物。得到化合物 51-53,收率 38-97%。

一般来说,在糖部分的 2-、3-和 5-位已经使用苯甲酰基保护基在

糖基化反应中较 α -核苷而言促进 β -核苷的形成, 即, 当被保护的糖与杂环碱偶联时⁴⁴。因此, 除去51的异亚丙基保护基以获得甲基甲基5-0-甲基-D-呋喃核糖苷衍生物。接着用苯甲酰氯在二氯甲烷和吡啶中处理得到所需的甲基 2, 3-二-0-苯甲酰基-5-0-甲基-D-呋喃核糖, 但是很难除去过量的苯甲酰氯⁵²。用乙酸、醋酸酐和硫酸处理甲基 2, 3-二-0-苯甲酰基-5-0-甲基-D-呋喃核糖苷以可以接受的收率成功地将 1-0-甲基转变为 1-0-乙酰基⁵²。由于此方法非常辛苦, 还开发了用乙酰基完全保护糖的方法。用硫酸(0.02M)和乙醇除去化合物 51-53 的保护基, 除所需产物外, 还得到了一定量的 1-0-乙基取代的衍生物。相反, 用 0.04M HCl 回流 51-53, 随后用 BaCO₃ 中和, 以良好的收率获得了化合物 54-56⁴⁹。还完成了乙酰基保护基的引入, 得到 57-59。按照 Vorbrüggen 的方法⁴⁵将 57 与 6-氯嘌呤偶联, 导致了 6-氯-9-(2, 3-二-0-乙酰基-5-0-甲基- β -D-呋喃核糖基)-嘌呤(60)的形成, 收率令人满意(48%), 这表明不再需要费力的苯甲酰基保护。以 57-59 起始以更高的收率(65-84%)获得了化合物 61-65, 由 NMR 光谱推断只形成了 β -同系物。在 Vorbrüggen 方法中使用 Lewis 酸, 三甲基硅烷基-三氟甲磺酸盐(TMS 三氟甲磺酸盐), 属于相对来说新的一类酸。与更传统的 Lewis 酸氯化锡(SnCl₄)相比收率更高⁵³。两种 Lewis 酸带来了类似收率的偶合产物, 其是 6-氯-嘌呤和商购的 1-0-乙酰基-2, 3, 5-三-0-苯甲酰基- β -D-呋喃核糖的糖基化反应的结果。最后, 用 EtOH/NH₃、环戊基胺或 3-碘代苄基胺将化合物 60-65 氨基化, 得到未保护的 N⁶, 5'-二或 N⁶, C2, 5'-三取代的腺苷衍生物 66-83^{8, 9}。

表 5 显示了所有合成的二-和三-取代的最终产物的放射性配体结合数据, 其中取代基如通式(I)所示, W 表示氧原子。

表 5: 放射性配体结合试验
 K_i (nM) 或在 $10^{-5}M$ 下置换率%

No	R ₁	R ₂	R ₃	A ₁ ^a	A _{2A} ^b	A ₃ ^c	A ₁ /A ₃
CPA	H	H	c-C ₅ H ₉	7.14 ± 2.30	45.9%	281 ± 56	0.02
2-Cl-CPA	H	Cl	c-C ₅ H ₉	9.47 ± 0.86	53.1%	204 ± 44	0.05
IB MECA	-	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	1400 ± 240	39.4%	6.9 ± 0.2	208
2-Cl-IB MECA	-	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	710 ± 41	23.5%	7.2 ± 0.9	98
66	Me	H	H	164 ± 37	261 ± 65	40.3 ± 8.1	4.1
67	Me	H	c-C ₅ H ₉	33.7 ± 6.9	366 ± 109	79.0 ± 30.0	0.4
68	Me	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	179 ± 40	373 ± 80	4.2 ± 0.5	42.6
69	Me	Cl	H	169 ± 30	284 ± 55	28.3 ± 13.0	6.0
70	Me	Cl	c-C ₅ H ₉	16.3 ± 1.3	1390 ± 140	44.9 ± 4.9	0.4
71	Me	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	112 ± 10	527 ± 21	7.3 ± 0.2	15.3
72	Et	H	H	2300 ± 320	415 ± 69	23.3 ± 3.9	98.7
73	Et	H	c-C ₅ H ₉	27.8 ± 2.2	33.9%	32.3 ± 9.2	0.9
74	Et	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	198 ± 36	40.4%	3.3 ± 1.0	60.0
75	Et	Cl	H	327 ± 15	659 ± 168	15.1 ± 6.9	21.7
76	Et	Cl	c-C ₅ H ₉	27.1 ± 1.8	1730 ± 700	67.0 ± 44.6	0.4
77	Et	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	254 ± 28	848 ± 60	7.4 ± 1.0	34.3
78	环丙基	H	H	575 ± 52	739 ± 16	45.6 ± 7.4	12.6
79	环丙基	H	c-C ₅ H ₉	40.5 ± 6.4	24.3%	104 ± 20	0.4
80	环丙基	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	733 ± 36	43.7%	9.1 ± 1.9	80.5
81	环丙基	Cl	H	595 ± 84	885 ± 89	26.7 ± 4.3	22.3
82	环丙基	Cl	c-C ₅ H ₉	80.8 ± 12.0	34.6%	86.0 ± 15.5	0.9
83	环丙基	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	1430 ± 200	38.7%	20.5 ± 8.1	69.8

a 从大鼠皮层膜中置换 [³H] DPCPX^{24, 33}。

b 从大鼠纹状体膜中置换 [³H] ZM241385^{23, 34}。

c 从在 HEK293 细胞中表达的人 A₃ 受体中置换 [¹²⁵I] AB MECA^{26, 35}。

由此表中可以明显看出,大多数化合物对相同 A_{2A} 受体比腺苷 A_1 或 A_3 受体的亲合力低。带有未被取代的 N^6 氨基的化合物(66、69、72、75、78、81)较 A_1 而言显示出腺苷 A_3 受体选择性,其中 A_1/A_3 选择性比例为 4.1(化合物 66)至 98.7(化合物 72)。 N^6 -位的环戊基带来高的腺苷 A_1 受体亲合力,对 A_1 受体的选择性也最高,而 N^6 -(3-碘代苄基)腺苷衍生物的腺苷 A_3 受体亲合力最高,并具有对此受体的高度选择性,这与以前报告的这些 N^6 -取代基一致^{1,2,5}。总的来说,当在 2-位引入氯时,腺苷 A_1 受体亲合力没有变化或增加(高达 2 倍),伴随腺苷 A_1 受体选择性稍微增加(高达 4 倍)。在 2-位引入氯原子对腺苷 A_3 受体的亲合力和选择性方面具有不同作用。 N^6 -未被取代的衍生物的腺苷 A_3 受体亲合力稍微增加,而对于 N^6 -(3-碘代苄基)取代的化合物来说,它们有某种程度的降低。当在 C2 引入氯原子时,对腺苷 A_3 受体的存在下降低至约 4 倍。2-位氯原子对受体亲合力的作用在取代的腺苷中难以预计。已表明对于 CPA 和 N^6 -(3-碘代苄基)腺苷来说,对腺苷 A_1 受体的亲合力和选择性与 A_{2A} 受体比较而言有所增加⁵⁴。但是,当在 5'-N-甲基甲酰氨基-取代的 N^6 -(3-碘代苄基)腺苷⁵⁵的 2-位引入氯原子时,对腺苷 A_1 和 A_{2A} 受体的亲合力都降低,而对 A_3 受体的亲合力增加。相反,在本研究中对在 5'-O-烷基取代的衍生物的 2-位引入氯原子时,与 A_1 受体相比这些化合物对腺苷 A_3 受体的选择性稍微降低。

5'-取代基也影响化合物的亲合力和选择性。对于腺苷 A_1 受体来说,带有 5'-O-甲基的化合物具有最高的受体亲合力,而 5'-O-环丙基取代的衍生物在大多数情况下显示出最低的亲合力。只有在 N^6 , C2-未被取代的系列(66、72、78)中 5'-O-乙基-腺苷对腺苷 A_1 受体具有最低的亲合力。对于腺苷 A_3 受体,带有 5'-O-乙基取代基的衍生物具有最高的受体亲合力。5'-O-甲基取代的衍生物的腺苷 A_3 受体亲合力与 5'-O-环丙基取代的化合物相当或比其稍高。虽然 5'-O-环丙基对腺苷 A_1 和 A_3 受体耐受性都非常好(K_i 值低至纳摩尔范围),但是较小的基团似乎是优选的,例如,对于腺苷 A_1 受体优选 5'-O-甲基,对于 A_3 受体优选 5'-O-乙基。在大多数情况下 5'-O-甲基带来最高的腺苷 A_1 受体选择性(在含

相同的 N⁶-和 C2-取代基的系列中), 而 5'-O-环丙基最常见的是带来较 A₁ 而言最高的腺苷 A₃ 受体选择性。带有 5'-O-乙基取代基的化合物比带有 5'-O-甲基的化合物对腺苷 A₃ 受体具有更高的亲合力, 并在多数情况下与 A_{2A} 受体相比对此受体具有最高的选择性。虽然已描述了 MECA 比 NECA 对腺苷 A₃ 受体比对 A_{2A} 受体具有较高的亲合力(和选择性), 但是如本文中所示, 腺苷 A₃ 受体更好地容纳大的 5'-烷硫基取代基, 而不是较小的取代基(5'-甲硫基)。本文中公开的结果显示腺苷 A₃ 受体能够很好地容纳大的 5'-取代基。最后, 化合物 74 比对照化合物 IB-MECA 和 2-Cl-IB-MECA 显示了对腺苷 A₃ 受体较高的亲合力(K_i 值 3.3nM), 虽然其对腺苷 A₃ 的选择性比 A₁ 受体的选择性略低。

在表 6 中, 给出了化合物抑制毛喉素诱发的 (10μM) cAMP 产生的能力。

表 6: 抑制^a毛喉素诱发的 cAMP

No	R ₁	R ₂	R ₃	%抑制 A ₁ ^b	%抑制 A ₃ ^c
CPA	-	-	-	69 ± 3	-
Cl-IB-MECA	-	-	-	-	83 ± 1
66	Me	H	H	75 ± 3	76 ± 2
67	Me	H	c- C ₅ H ₉	74 ± 4	58 ± 6
68	Me	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	53 ± 10	33 ± 9
69	Me	Cl	H	78 ± 4	69 ± 3
70	Me	Cl	c- C ₅ H ₉	73 ± 4	42 ± 6
71	Me	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	37 ± 15	17 ± 7
72	Et	H	H	57 ± 11	65 ± 7
73	Et	H	c- C ₅ H ₉	69 ± 6	37 ± 6
74	Et	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	6 ± 21	11 ± 6
75	Et	Cl	H	67 ± 7	51 ± 5
76	Et	Cl	c- C ₅ H ₉	62 ± 6	31 ± 9
77	Et	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	-72 ± 38 [#]	7 ± 4
78	c-Prop	H	H	61 ± 2	59 ± 6
79	c-Prop	H	c- C ₅ H ₉	62 ± 4	26 ± 7
80	c-Prop	H	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	-104 ± 22 [#]	10 ± 12
81	c-Prop	Cl	H	49 ± 9	44 ± 8
82	c-Prop	Cl	c- C ₅ H ₉	43 ± 9	19 ± 7
83	c-Prop	Cl	CH ₂ (C ₆ H ₄)- <i>m</i> -I	-118 ± 41 [#]	-2.6 ± 4

- a 抑制百分率($\pm$ SEM, $n = 3$)
- b 在 A_1 CHO 细胞中与对照完全激动剂 CPA($10\mu\text{M}$) 相比
- c 与对照完全激动剂 C1-IB-MECA($10\mu\text{M}$) 相比
- 所有化合物以 $\pm 100 \times K_i$ 值检测
- # 在此试验中似乎表现为逆(部分)激动剂

表 6 表明三种 N^6 -取代的系列中的化合物显示出通过腺苷 A_1 受体抑制毛喉素诱发的 cAMP 产生的类似倾向。在 6-位带有完整氨基的化合物和 N^6 -环戊基取代的衍生物能够以类似的程度抑制 cAMP 产生, 几乎与对照完全激动剂 CPA 相当, 而 N^6 -(3-碘代苄基)取代的衍生物抑制毛喉素引起的 cAMP 产生能力稍低。化合物 68 比化合物 66 和 67 具有较低的内在活性, 它们仅仅是 N^6 -取代基不同, 这暗示 3-碘代苄基在 N^6 位可以带来对腺苷 A_1 受体的部分激动作用。此外, 在三种 N^6 -取代的系列中, 与 5'-O-乙基和 5'-O-环丙基取代的化合物相比, 5'-O-甲基取代的衍生物具有最高的内在活性。在此试验中, 前两种化合物表现出最低的内在活性, 并表现为腺苷 A_1 受体的部分激动剂。此处, 在 C2-位的氯原子的作用对内在活性的作用不明确。

实施例 3

材料

将化合物 34、37、69 和 70 溶解于二甲基亚砜(DMSO)中, 并进一步在 RPMI(体外研究)或 PBS(体内研究)中稀释。

方法

人脐血 G-CSF

从产房生后立即收集人脐血样本。按照位于 Rabin 医学中心(Petah Tikva, 以色列)的 Helsinky 研究会建立的规程进行试验。将样本以等体积加到菲可帕克组织液(ficoll histopaque)中, 并以 1700RPM 离心 20 分钟。收集单核细胞, 用 PBS 洗涤两次并在添加了

20%的人 AB 型血清和 50 μ M 的不同化合物的 RPMI 中孵育(1.5×10^6 细胞/ml)48 小时。收集上清液, 分成等份并保存在-20 $^{\circ}$ C 下。用商购的人 ELISA 试剂盒(R&D 系统, Minneapolis, MN)检测 G-CSF 水平。

骨髓细胞增殖试验

由 ICR 小鼠的股骨获得骨髓细胞。让它们通过 25G 针头使细胞解聚。在 96 孔微量板中, 在 10 μ M 浓度的不同化合物存在下, 细胞(3×10^5 /孔)用 RPMI 培养基培养, 该培养基中含有 10%胎牛血清(FBS)(Biological Industries, Beit Haemek, 以色列)。将含细胞的培养物悬浮于 RPMI 培养基中并用 10%FBS 作为对照。在孵育的最后 18 小时, 向各孔中加入 1 μ Ci 3 [H]-胸苷, 之后收集细胞, 并在 LKB 液体闪烁计数器(LKB, Piscataway, NJ, USA)中测定 3 [H]-胸苷的吸收。

体内研究

为了检测不同化合物提高白细胞(WBC)和绝对嗜中性粒细胞计数(ANC)等血液学参数, 给小鼠每天口服两次化合物(每剂量 150 μ g/kg 体重), 连续两天。化合物最后一次给药后 48 小时, 采集血样。用 Coulter 计数器进行白细胞计数, 在用 May-Grunwald-Giemsa 溶液染色的血涂片样本上进行差示细胞计数。还收集血清样本进行 G-CSF 检测, 如上所述。

结果和讨论

通过检测它们对 G-CSF 产生的体外和体内作用, 及其对骨髓细胞、白细胞和嗜中性粒细胞增殖的作用, 评价化合物 34、37、69 和 70 作为 A₁ 或 A₃ 腺苷受体激动剂的活性。

图 1 显示了与对照(无药物)相比被测化合物能够诱导 G-CSF 产生。有时此诱导作用与抑制 A₃ 受体激动剂 IB-MECA 获得的水平类似。

此外, 正如通过与不同化合物或与 IB-MECA(作为阳性对照)孵育时对 3 [H]-腺苷掺入细胞的检测, 显示被测化合物能够诱导骨髓细胞增殖。结果见图 2。

被测化合物的体内作用在图 3A、3B 和 3C 中给出。具体地讲, 当

给小鼠口服被测化合物时, 作为治疗结果, 白细胞、嗜中性粒细胞和血清 G-CSF 水平升高。

上述结果显示被测化合物, 即化合物 34、36、69 和 70, 可以是 A₁ 或 A₃ 腺苷受体的激动剂, 并因此具有治疗用途, 例如, 在对抗药物诱导的骨髓毒性中。

文献目录

1. Van der Wenden, E. M., Carnielli, M., Roelen, H. C. P. F., Lorenzen, A., von Frijtag Drabbe Künzel, J. K., IJzerman, A. P., J. Med. Chem., 1998, 41, 102-108.
2. Roelen, H., Veldman, N., Spek, A. L., von Frijtag Drabbe Künzel, J., Mathot, R. A., IJzerman, A. P., J. Med. Chem., 1996, 39, 1463-1471.
3. Gallo-Rodriguez, C., Ji, X., Melman, N., Siegman, B. D., Sanders, L. H., Orlina, J., Fischer, B., Pu, Q., Olah, M. E., van Galen, P. J. M., Stiles, G. L., Jacobson, K. A., J. Med. Chem., 1994, 37, 636-646.
4. Van Galen, P. J. M., Van Bergen, A. H., Gallo-Rodriguez, C., Melman, N., Olah, M. E., IJzerman, A. P., Stiles, G. L., Jacobson, K. A., Mol. Pharmacol., 1994, 45, 1101-1111.
5. Van Tilburg, E. W., Von Frijtag Drabbe Künzel, J., Groote, M., Vollinga, R. C., Lorenzen, A., IJzerman, A. P., J. Med. Chem., 1999, 42, 1393-1400.
6. Hutchison, A. J., Williams, M., deJesus, R., Yokoyama, R., Oei, H. H., Ghai, G. R., Webb, R. L., Zoganas, H. C., Stone, G. A., Jarvis, M. F., J. Med. Chem., 1990, 33, 1919-1924.
7. Niiya, K., Olsson, R. A., Thompson, R. D., Silvia, S. K., Ueda, M., J. Med. Chem., 1992, 35, 4557-4561.
8. Cristalli, G., Eleuteri, A., Vittori, S., Volpini,

R., Lohse, M.J., Klotz, K.-N., J. Med. Chem., 1992, 35, 2363-2368.

9. Klotz, K.-N., Camaioni, E., Volpini, R., Kacher, S., Vittori, S., Cristalli, G., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1999, 360, 103-108.

10. Volpini, R., Camaioni, E., Costanzi, S., Vittori, S., Klotz, K.-N., Cristalli, G., Nucleosides and Nucleotides, 1999, 18, 2511-2520.

11. Clarke, W.P., Bond, R.A., The exclusive nature of intrinsic efficacy, TiPS, 1998, 19, 270-276.

12. Kenakin, T., TiPS, 1995, 16, 188-192.

13. Fuxe, K., Ferre, S., Zoli, M., Agnati, L.F., Brain Res. Brain Res. Rev., 1998, 26, 258-273.

14. Kafka, S.H., Corbett, R., Eur. J. Pharmacol., 1996, 295, 147-154.

15. Liang, B.T., Jacobson, K.A., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1998, 95, 6995-6999.

16. Jacobson, K.A., Lubitz, D. K. J. E.v., Daly, J.W., Fredholm, B.B., TiPS, 1996, 17, 108-113.

17. Jacobson, M.A., Bai, T.R., in Purinergic approaches in experimental therapeutics, Jacobson, K.A., Jarvis, M.F., Ed.; Wiley-Liss, Inc : New York, 1997; pp 315-331.

18. Robins, M.J., Uznanski, B., Can. J. Chem., 1981, 59, 2601-2607.

19. Matsuda, A., Shinozaki, M., Miyasaka, T., Machida, H., Abiru, T., Chem. Pharm. Bull., 1985, 33, 1766-1769.

20. Robins, M.J., Hansske, F., Wnuk, S.F., Kanai, T., Can. J. Chem., 1991, 69, 1468-1474.

21. Nair, V., Young, D.A., J. Org. Chem., 1984, 49,

4340-4344.

22. Nair, V., Richardson, S.G., Synthesis, 1982, 670-673.

23. Srivastava, P.C., Robins, R.K., Meyer, R.B.J., in Chemistry of nucleosides and nucleotides, I. Townsend, L.B., Ed.; Plenum Press : New York, 1988; pp 113-282.

24. Verheyden, J.P.H., Moffatt, J.G., J. Org. Chem., 1972, 37, 2289-2299.

25. Homma, H., Watanabe, Y., Abiru, T., Murayama, T., Nomura, Y., Matsuda, A., J. Med. Chem., 1992, 35, 2881-2890.

26. Matsuda, A., Shinozaki, M., Yamaguchi, T., Homma, H., Nomoto, R., Miyasaka, T., Watanabe, Y., Abiru, T., Nucleosides and nucleotides, 103, 2-Alkynyladenosines: J. Med. Chem., 1992, 35, 241-252.

27. Cristalli, G., Camaioni, E., Costanzi, S., Vittori, S., Volpini, R., Klotz, K.N., Drug Dev. Res., 1998, 45, 176-181.

28. Ueeda, M., Thompson, R.D., Arroyo, L.H., Olsson, R.A., J. Med. Chem., 1991, 34, 1340-1344.

29. De Zwart, M., Kourounakis, A., Kooijman, H., Spek, A.L., Link, R., von Frijtag Drabbe Künzel, J.K., IJzerman, A.P., J. Med. Chem., 1999, 42, 1384 -1392.

30. (30) Mogensen, J.P., Roberts, S.M., Bowler, A.N., Thomsen, C., Knutsen, L.J.S., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 1767-1770.

31. Chan, C., (GB), G.W., PCT Int. Appl. 104 pp., WO 99/38877 A₂ 990805, 1999.

32. Kull, B., Arslan, G., Nilsson, C., Owman, C., Lorenzen, A., Schwabe, U., Fredholm, B.B., Biochem. Pharmacol, 1999,

57, 65-75.

33. Pirovano, I.M., IJzerman, A.P., Van Galen, P.J.M., Soudijn, W., *Eur. J. Pharmacol.*, 1989, 172, 185-193.

34. Gao, Z.-G., IJzerman, A.P., *Biochem. Pharmacol.*, in press.

35. Olah, M.E., Gallo-Rodriguez, C., Jacobson, K.A., Stiles, G.L., *Mol. Pharmacol.*, 1994, 45, 978-982.

36. Van der Wenden, E.M., Hartog-Witte, H.R., Roelen, H.C.P.F., Von Frijtag Drabbe Künzel, J.K., Pirovano, I.M., Mathot, R.A.A., Danhof, M., Van Aerschot, A., Lidaks, M.J., IJzerman, A.P., Soudijn, W., *Eur. J. Pharmacol-Mol. Pharmacol. Sect.*, 1995, 290, 189-199.

37. Liu, G.-S., Downey, J.M., Cohen, M.V., In *Purinergic approaches in experimental therapeutics*, Jacobson, K.A., Jarvis, M.F., Ed.; Wiley-Liss, Inc: New York, 1997; pp 153-172.

38. I Londos, C., Honner, R.C., Dhillon, G.S., *J. Biol. Chem.*, 1980, 260, 15139-15145.

39. Saloranta, C., Fransilla-Kallunki, A., Ekstrand, A., Taskinen, M.-R., Groop, L., *Diabetologia*, 1991, 34, 409-415.

40. IJzerman, A.P., Van der Wenden, E.M., von Frijtag Drabbe Künzel, J.K., Mathôt, R.A.A., Danhof, M., Borea, P.A., Varani, K., *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1994, 350, 638-645.

41. Lorenzen, A., Sebastiao, A.M., Sellink, A., Vogt, H., Schwabe, U., Ribeiro, J.A., IJzerman, A.P., *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, 334, 299-307.

42. Van der Graaf, P.H., Van Schaick, E.A., Visser, S.A.G., De Greef, H.J.M.M., IJzerman, A.P., Danhof, M., *J. Pharmacol.*

Exp. Ther., 1999, 290, 702-709.

43. Gin, J.B., Dekker, C.A., Biochem., 1968, 7, 1413-1420.

44. Vorbrüggen, H., Höfle, G., Chem. Ber., 1981, 114, 1256-1268.

45. Vorbrüggen, H., Krolikiewicz, K., Bennua, B., Chem. Ber., 1981, 114, 1234-1255.

46. Lorenzen, A., Fuss, M., Vogt, H., Schwabe, U., Mol. Pharmacol., 1993, 44, 115-123.

47. Lorenzen, A., Guerra, L., Vogt, H., Schwabe, U., Mol. Pharmacol., 1996, 49, 915-926.

48. Leonard, N.J., Carraway, K.L., J. Heterocycl. Chem., 1966, 3, 485-487.

49. Levene, P.A., Stiller, E.T, J. Biol. Chem., 1934, 187-201.

50. Bessodes, M., Shamsazar, J., Antonakis, K., Synthesis, 1988, 560-562.

51. McCall, M.J., Taylor, M.R., Acta Cryst., 1976, B32, 1687-1691.

52. Visser, G.M., 论文: "Synthesis of some modified nucleotide derivatives and the possible role of mirror-image nucleotides in molecular evolution", 1986, pp 52.

53. Saneyoshi, M., Satoh, E., Chem. Pharm. Bull., 1979, 27, 2518-2521.

54. Lohse, M.J., Klotz, K.-N., Schwabe, U., Cristalli, G., Vittori, S., Grifantini, M., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1988, 337, 687-689.

55. Kim, H.O., Siddiqi, S.M., Olah, M.E., Stiles, G.L., K.A., J., J. Med. Chem., 1994, 37, 3614-3621.

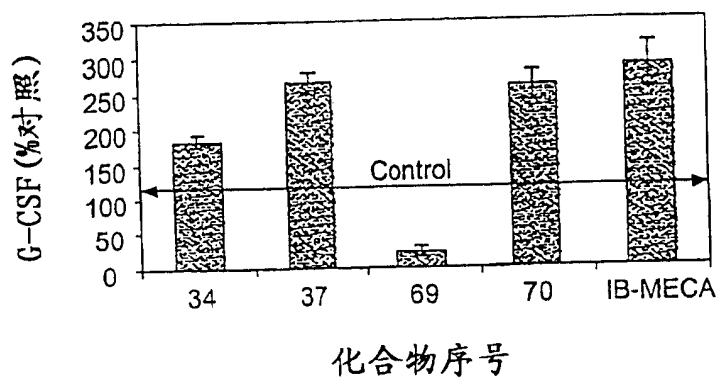


图1

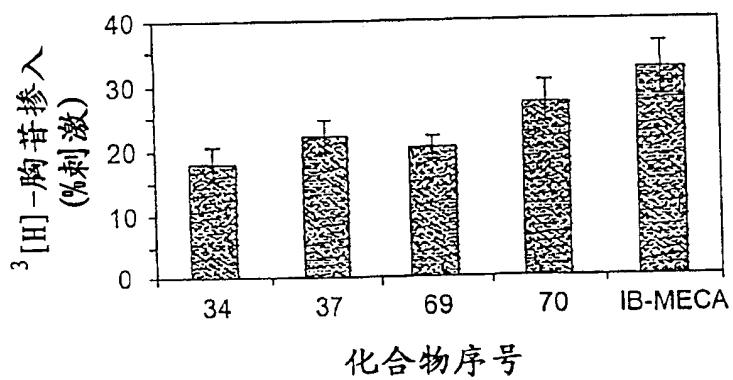


图2

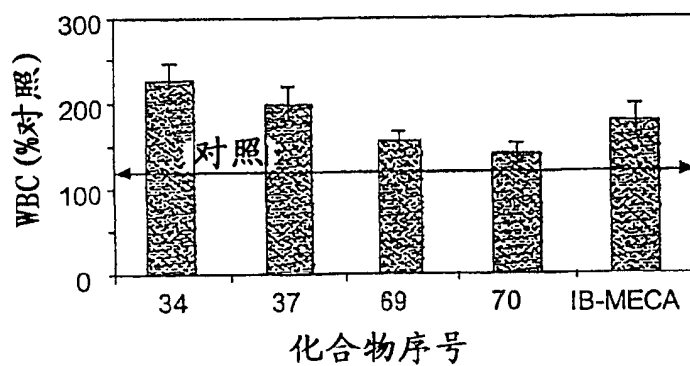


图 3A

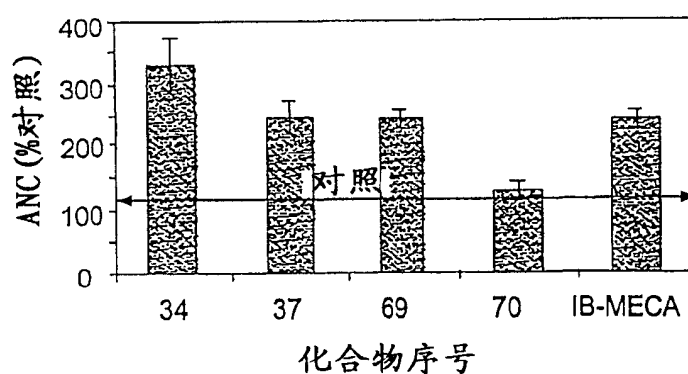


图 3B

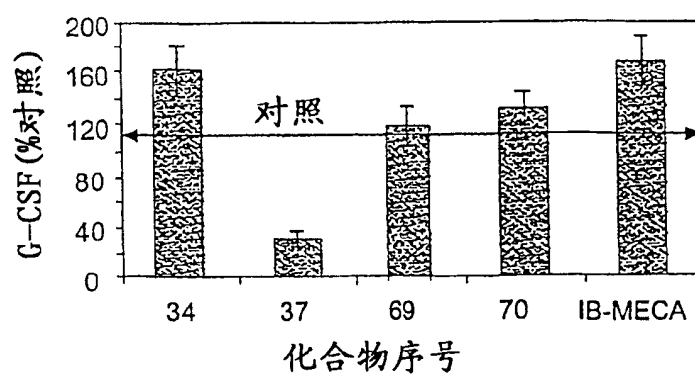


图 3C