

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610160030.4

C07F 9/6561 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

C07D 473/32 (2006.01)

[43] 公开日 2007年7月25日

[11] 公开号 CN 101003550A

[22] 申请日 2006.12.30

[21] 申请号 200610160030.4

[71] 申请人 河南省分析测试研究中心

地址 450002 河南省郑州市红专路56号

[72] 发明人 常俊标 程森祥 王利敏 郝佳

王强 郭晓河

[74] 专利代理机构 郑州联科专利事务所

代理人 时立新

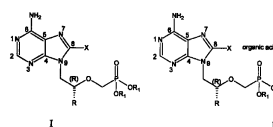
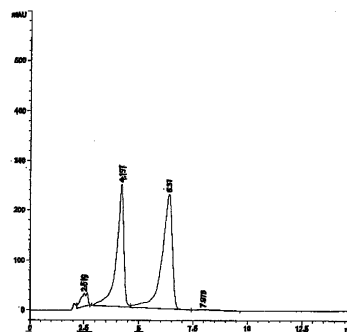
权利要求书4页 说明书8页 附图1页

[54] 发明名称

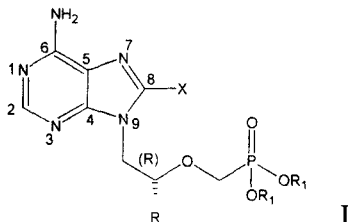
8-卤代腺嘌呤类核苷化合物、合成方法和其药物用途

[57] 摘要

本发明公开了通式 I 所代表的化合物 8-卤代-9-(2-特戊酰氧甲氧基磷酰甲氧基)乙基-腺嘌呤, 8-卤代-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)丙基-腺嘌呤, 及其有机酸盐 II 和它们的制备方法。其中 X 为 F、Cl、Br; R 为 H、CH₃; (R) 指当 R 为甲基时手性碳的构型为 R 型; R₁ 为 H, -CH₂OCOC(CH₃)₃, -CH₂OCOCH(CH₃)₂; 当 R 为 H 时, R₁ 为 -CH₂OCOCH(CH₃)₃; 当 R 为 CH₃ 时, R₁ 为 -CH₂OCOCH(CH₃)₂; 有机酸为富马酸、延胡索酸、柠檬酸等。化合物 I、II 可用于治疗 HIV、HBV 等病毒感染药物的开发。



1、8-卤代腺嘌呤类核苷化合物，其特征在于，具有通式 I 所示结构：其代表 8-卤代-9-(2-特戊酰氧甲氧基磷酰甲氧基)乙基-腺嘌呤或 8-卤代-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)丙基-腺嘌呤化合物，



其中 X 为 F、Cl 或 Br；

R 为 H 或 CH₃；

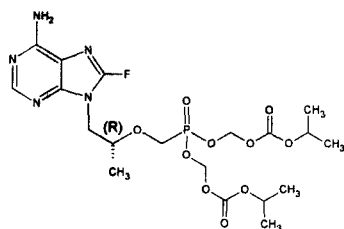
(R)为手性碳构型；

R₁ 为 H, -CH₂OCOC(CH₃)₃ 或 -CH₂OCOOCH(CH₃)₂；

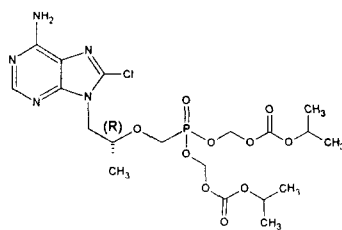
当 R 为 H 时， R₁ 为 -CH₂OCOCH(CH₃)₃，(R) 不存在；

当 R 为 CH₃ 时， R₁ 为 -CH₂OCOOCH(CH₃)₂。

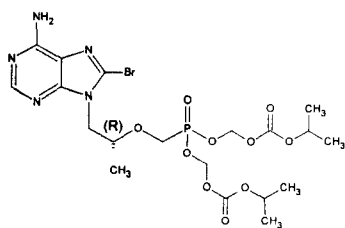
2、如权利要求 1 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物，其特征在于，具体为下列化合物：



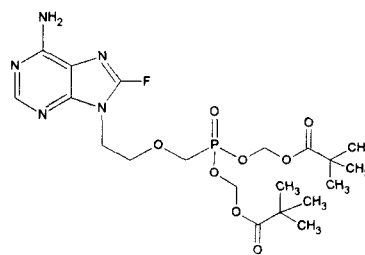
1



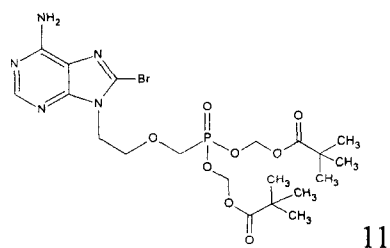
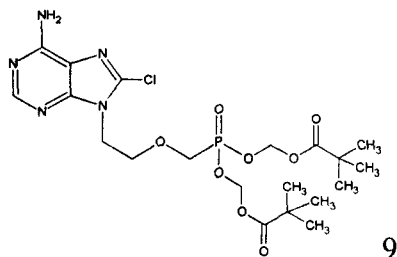
3



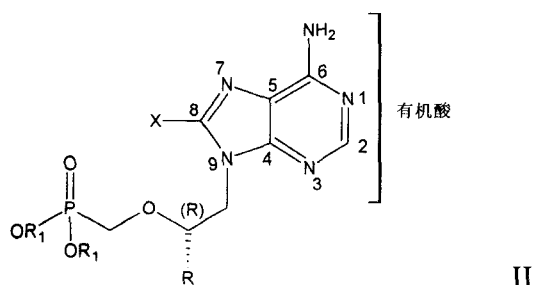
5



7



3、如权利要求 1 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物的盐，其特征在于，具有通式 II 所示结构：



其中 X 为 F、Cl 或 Br；

R 为 H 或 CH₃；

(R)为当 R 为 CH₃ 时，手性碳构型；

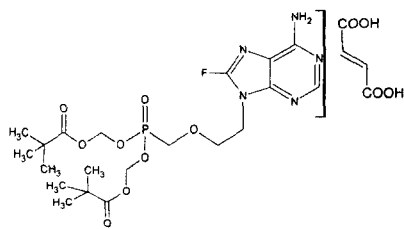
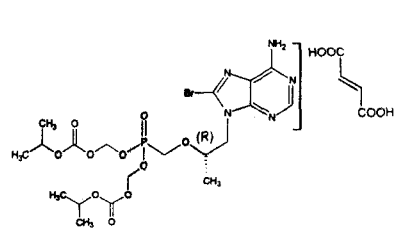
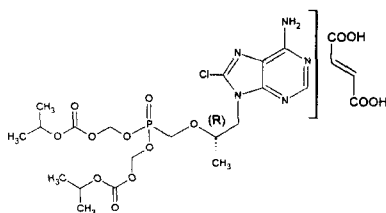
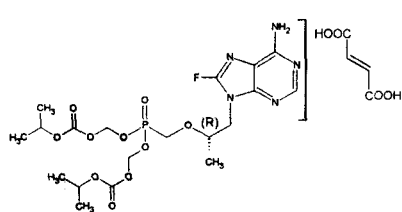
R₁ 为 -CH₂OCOC(CH₃)₃ 或 -CH₂OCOOCH(CH₃)₂；

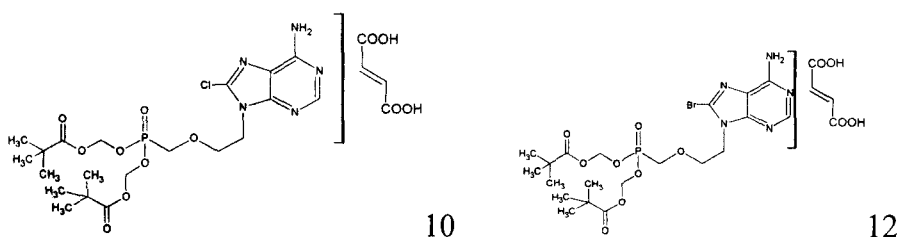
当 R 为 H 时，R₁ 为 -CH₂OCOCH(CH₃)₃，(R) 不存在；

当 R 为 CH₃ 时，R₁ 为 -CH₂OCOOCH(CH₃)₂；

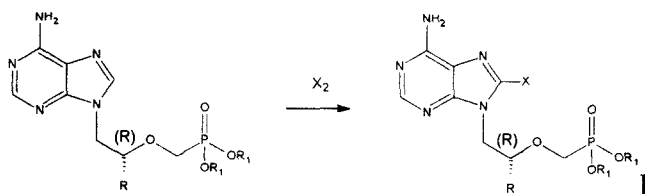
有机酸为富马酸、延胡索酸、柠檬酸。

4、如权利要求 3 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物的盐，其特征在于，具体为下列化合物：





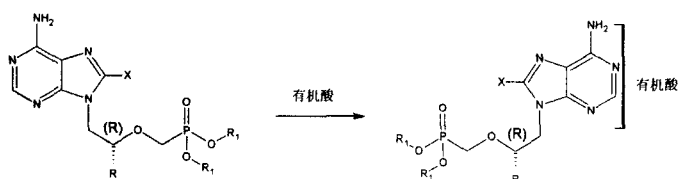
5、如权利要求 1 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物的合成方法，其特征在于，其包括如下步骤：



将化合物腺嘌呤无环核苷溶于有机酸或醇中，或有机酸和醇的混合溶剂中，在有机酸碱金属盐或季铵氢氧化物碱性物质存在下，于 0-100°C 加入溴素 Br₂ 或氯气 Cl₂ 或由惰性气体稀释的氟气 F₂/He，生成化合物 I。

6、如权利要求 5 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物的合成方法，其特征在于，有机酸为醋酸；醇为甲醇或乙醇；有机酸碱金属盐为醋酸钠；季铵氢氧化物为氢氧化四乙基铵；温度为室温。

7、如权利要求 3 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物盐的合成方法，其特征在于，其包括如下步骤：



将 8-卤代-腺嘌呤无环核苷化合物 I 用于有机溶剂中，于 20-80°C 与有机酸反应得到 8-卤代-腺嘌呤无环核苷盐，即化合物 II。

8、如权利要求 7 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物盐的合成方法，其特征在于，有机酸为脂肪族酸和芳香族酸；有机酸与化合物 I 的摩尔比为 0.5:1~2:1；反应温度为 40-70°C。

9、如权利要求 7 或 8 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物盐的合成方法，其特征

在于，有机酸为柠檬酸、富马酸、延胡索酸、山梨酸、苯甲酸；有机酸与化合物 I 的摩尔比为 1:1。

10、如权利要求 3 所述的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物盐的应用，其特征在于，用作制备抗病毒药物，含有 5%-95%活性成分。

8-卤代腺嘌呤类核苷化合物、合成方法和其药物用途

技术领域

本发明涉及系列类核苷化合物，尤其涉及 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物、合成方法及其药物用途。

背景技术

阿德福韦(adefovir, ADV)由Gilead Sciences公司开发的抗病毒药物，临床证明有抗HBV活性(包括对拉米夫定耐药性HBV)。ADV化学结构为腺嘌呤-9-乙氧基甲基磷酸，口服利用度低，变态反应重。阿德福韦酯(adefovir dipivoxil)是ADV的前体药物，亲脂性提高，比ADV的肠上皮穿透能力增加10倍，生物利用度有所提高。

泰诺福韦(Tenofovir, PMPA)是一种腺嘌呤非环核苷类抗病毒化合物，对逆转录酶病毒有强抑制作用，并且与临床上使用的其他核苷类抗病毒药物没有交叉耐药性。但是，泰诺福韦的强亲水性影响其临床药物应用。为减小泰诺福韦的亲水性，人们将其改造为磷酸酯前药，泰诺福韦的双异丙氧羰氧甲酯(PMPA-2POC)正是这一前体药物，其与富马酸形成的盐已被FDA于2001年批准用于治疗HIV感染的药物。这是迄今为止抗病毒活性较强的HIV逆转录酶抑制剂类的抗艾滋病感染药物。

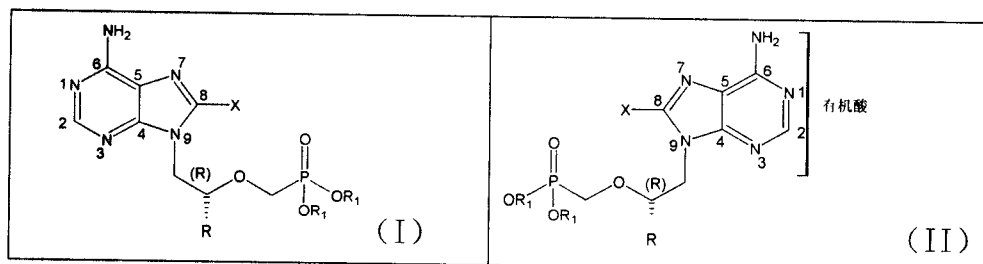
然而，上述阿德福韦酯、泰诺福韦双异丙氧羰氧甲酯仍然可以通过对嘌呤碱基的修饰，进一步提高其脂溶性能，改善生物利用度。

发明内容

为进一步改善阿德福韦酯、泰诺福韦脂的脂溶性，本发明提供一类新的具有抗病毒活性的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物及其合成方法和其应用，至目前还未见报道。

本发明以腺嘌呤无环核苷为先导化合物，对分子结构中腺嘌呤碱基的 8 位进行卤代修饰，得到一类新型 8-卤代腺嘌呤无环核苷，并与有机酸反应生成有机酸盐，得到一类新型 8-卤代腺嘌呤无环核苷及其有机酸盐。

8-卤代腺嘌呤无环核苷及其有机酸盐结构分别为通式 (I)、(II)：



其中 X 为 F、Cl 或 Br;

R 为 H 或 CH₃;

(R) 为当 R 为 CH₃ 时, 手性碳构型;

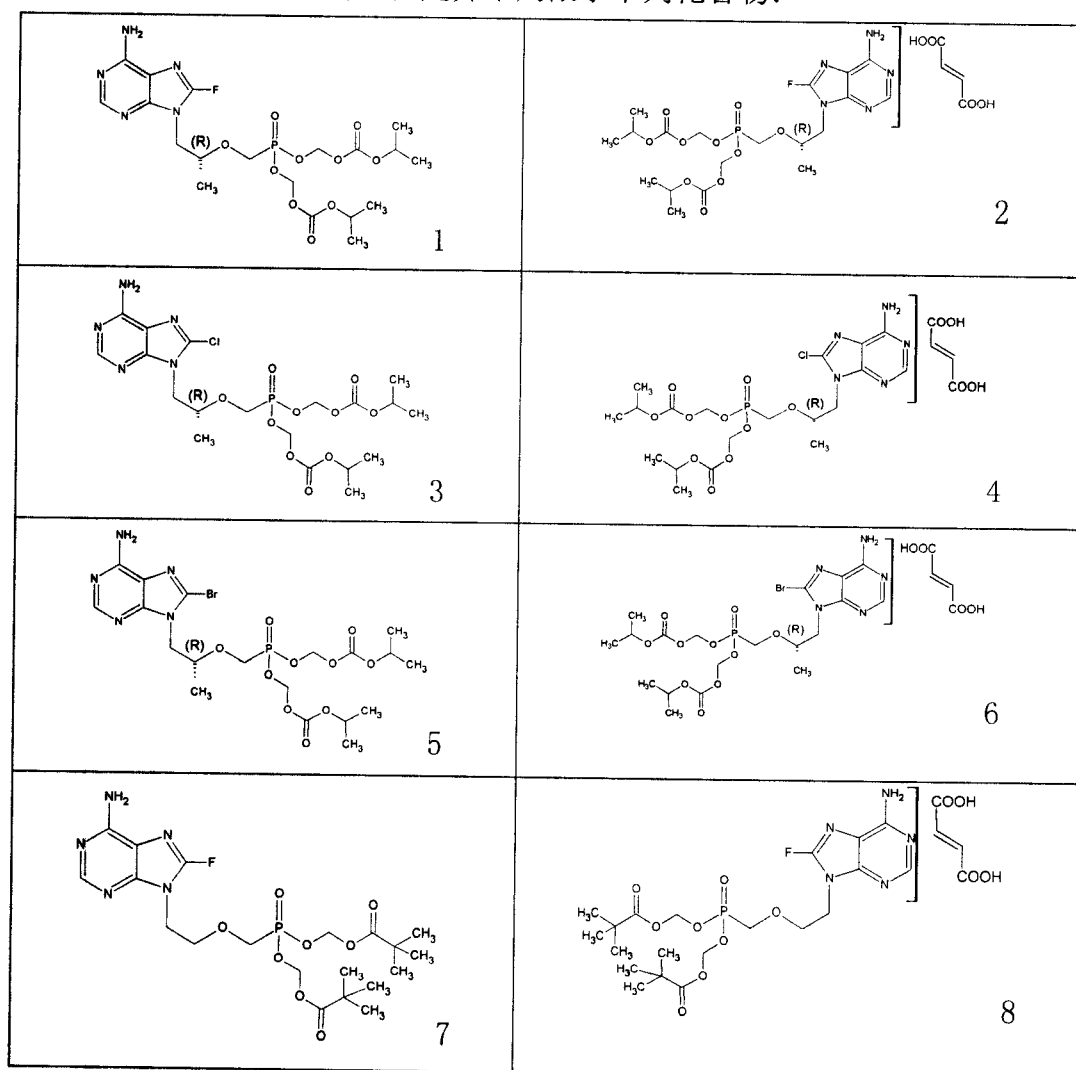
R₁ 为 H, -CH₂OCOC(CH₃)₃, -CH₂OCOOCH(CH₃)₂;

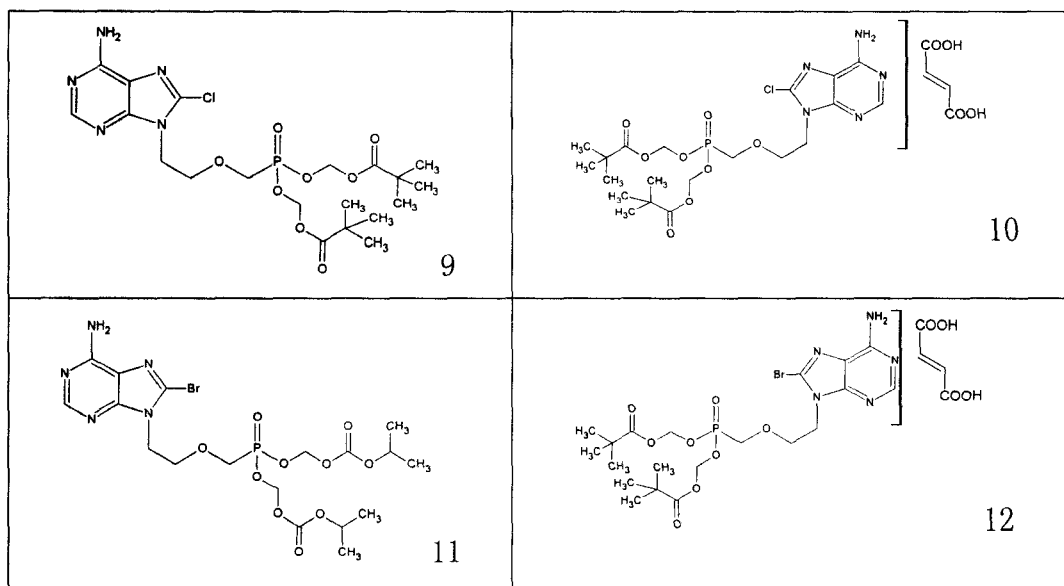
当 R 为 H 时, R₁ 为 -CH₂OCOC(CH₃)₃;

当 R 为 CH₃ 时, R₁ 为 -CH₂OCOOCH(CH₃)₂;

有机酸 为富马酸、延胡索酸、柠檬酸等有机酸。

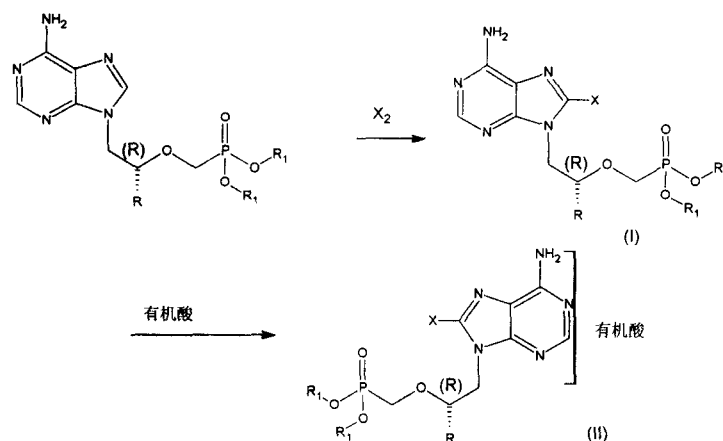
其具体可为下列化合物, 但是并不局限于下列化合物:





本发明所提供化合物具有较好的脂溶性，在反向液相色谱图上，脂溶性提高表现为保留时间增加。化合物 5, 6 的保留时间较相应的未溴代物增加，未溴代物保留时间为 4.19 分钟，化合物 5, 6 的保留时间为 6.37 分钟。

本发明提供化合物及其有机酸盐的合成路线如下：



X_2 为 Br_2 、 Cl_2 或 F_2 ；

即化合物腺嘌呤无环核苷在醋酸中进行 8 位卤代反应生成 8-卤代腺嘌呤无环核苷，然后与有机酸反应形成 8-卤代腺嘌呤无环核苷盐。

该合成路线具体包括如下步骤：将化合物腺嘌呤无环核苷溶于有机酸或醇中，或溶于有机酸和醇的混合溶剂中，优选醋酸、甲醇、乙醇；在有机酸碱金属盐、季铵氢氧化物等碱性物质例如醋酸钠，氢氧化四乙基铵等存在下，于 0-100°C 优选室温下，加入溴素 Br_2 或氯气 Cl_2 或由惰性气体稀释的氟气 F_2/He ，生成结构式 (I) 所代表的化合物即 8-卤代腺嘌呤无环核苷。

化合物 (I) 溶于有机溶剂中，于温度 20-80°C、优选 40-70°C 下与有机酸反

应，冷却、结晶，得到结构式 (II) 所代表的化合物。其中有机溶剂为醇、酯、酮、醚、卤代烃、甲苯、乙腈等及其组成的混合溶剂，优选甲醇、乙醇、异丙醇；有机酸为脂肪族酸和芳香族酸，优选柠檬酸、富马酸、山梨酸、苯甲酸等，更优选富马酸；有机酸与化合物 (I) 的摩尔比为 0.5:1~2:1，优选 1:1。

采取细胞培养法测定了本发明化合物的抗 HIV 病毒活性，采用 MT-4 细胞培养，HIV-1 IIIIB 实验病毒株感染，加入药物，测定药物半数有毒浓度 (CC50)，半数有效浓度 (EC50)。结果表明化合物对 HIV 有较强的抗 HIV-1 活性。

药物在细胞培养内的抗 HIV 活性：

药物	CC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		EC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	SI	
	CPE	MTT		CPE	MTT
TDF	75.43 \pm 8.69	124.32 \pm 5.61	0.36 \pm 0.27	210 \pm	345 \pm
C-01	24.04 \pm 11.33	43.11 \pm 4.91	4.304 \pm 3.12	8.65 \pm 9.40	14.1 \pm 11.46
C-02	62.21 \pm 6.31	>102.18 \pm 3.08	0.30 \pm 0.24	319.9 \pm 278.46	>510.5 \pm 422.14

TDF: Tenofovir disoproxil fumarate;

EC50: 半数有效浓度;

CC50: 半数有毒浓度; SI: 选择指数;

ND: 未测定。

本发明提供的上述化合物含有 8-卤代腺嘌呤无环核苷-富马酸结构，表现出良好的抗 HIV-1、抗 HBV 活性，可用于抗病毒药物的制备。该抗病毒药物剂型可以是按照药学领域常规生产的方法制备，使活性药物成分与一种或多种载体混合，制成口服剂型，其含有 0.5%-99.5% 的本发明所合成的化合物活性成分，优选 5%-95%。

本发明的药物组合物组成可由如下配比构成：

本发明合成化合物 5-95 %

乳糖 1-60 %

淀粉 0-20 %

微晶纤维素	1-40 %
羧甲淀粉钠	1-5 %
聚乙二醇(PEG6000)	0-10 %
羟丙基甲基纤维素	1-5 %
硬脂酸镁	1-5 %

该药物组合物可以制成片剂、包衣片剂或胶囊剂等适于口服给药的剂型。口服片剂或胶囊剂的粘合剂可选用微晶纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基淀粉钠、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、糊精等。表面活性剂可选用硬脂酸钙、硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、单硬脂酸甘油酯、单油酸甘油酯、泊洛沙姆(Poloxamer)、聚乙二醇(PEG)、吐温 80 等。糖或多糖可选乳糖、蔗糖、葡萄糖、淀粉、微晶纤维素、糊精等，但均不局限于此。

本发明有益效果在于：1、本发明对腺嘌呤碱基的 8 位进行卤代修饰，得到一系列 8-卤代腺嘌呤无环核苷化合物，并与有机酸反应生成盐，使具有抗病毒活性的 8-卤代腺嘌呤类核苷化合物具有很好的脂溶性，为此类药物的开发提供了较好的应用前景；2、该合成路线经济、可行。

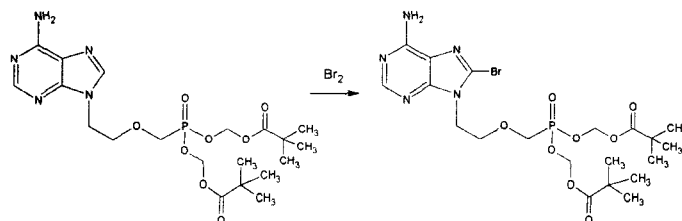
附图说明

图为在色谱条件：SOD-C18 柱，15 cm；流动相：0.04mol/L 磷酸三乙胺水溶液：乙腈=55 :45；流量：1.00 ml/min 下，本发明合成出的化合物 6 和未溴代化合物 6 的高效液相色谱图。

具体实施方式

为对本发明进行更好的说明，举实施例如下：

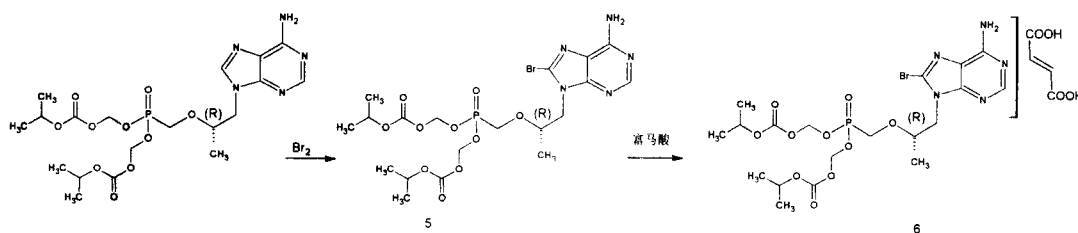
实施例 1. 8-溴-9-(2-二特戊酰氧甲氧基磷酰甲氧基)-乙基-腺嘌呤(化合物 11)：



取 9-(2-二特戊酰氧甲氧基磷酰甲氧基)-乙基-腺嘌呤(3.0 克, 6.0 mmol),

溶于 30 ml 醋酸中，加醋酸钠 (3 g)，加 Br₂ 0.5 mL, 9.7 mmol)。搅拌 2 小时，原料点消失，依次加乙酸乙酯 (150 ml)、水 120 ml，搅拌下加饱和亚硫酸氢钠 (NaHSO₃) 至混合物成无色，静止，分出有机相，水相调节 PH 至 8.0-8.5，用乙酸乙酯萃取 (2×100 mL)，合并有机相，并用饱和氯化钠水溶液洗涤、无水硫酸钠干燥后，蒸出有机溶剂得标题化合物 3.10 g。mp. 99 °C, FAB HRMS [M+H⁺] calcd for C₂₆H₃₂BrN₅O₈P 581.3740. found 581.3747。

实施例 2. 8-溴-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤-富马酸(化合物 6):



(1) 8-溴-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤(化合物 5):

取 9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤 (3.3 克, 6.3 mmol), 溶于 30 ml 醋酸中，加醋酸钠 (1.0 g)，加 Br₂ (0.50 mL, 9.7 mmol)。搅拌 2 小时，原料点消失，依次加加乙酸乙酯 (180 ml)、水 (150 ml)，搅拌下加饱和亚硫酸氢钠 (NaHSO₃) 至混合物成无色，静止，分出有机相，水相调节 PH 至 8.0-8.5，用乙酸乙酯萃取 (280 mL)，合并有机相，并用饱和氯化钠水溶液洗涤、无水硫酸钠干燥，蒸出有机溶剂得粘稠状化合物 5。¹H NMR (CD₃OD) δ ppm 8.19(s, 1H), 6.75 (s, 2H, CH₂), 5.56-5.40(m, 4H, 2CH₂), 4.48(s, 4H), 4.27(m, 2H, CH₂), 4.15-3.90(m, 2H,), 3.85-3.75(m, 1H), 1.31-1.28(m, 15H, 5CH₃)。FAB HRMS [M+H⁺] calcd. for C₁₉H₂₉BrN₅O₁₀P 599.3462. found 599.3480。

(2) 8-溴-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤-富马酸(化合物 6):

取 8-溴-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤 (1.2 g) 及富马酸 (0.235g)，加甲醇 100 ml，加热回流，保温 20 分钟，冷却、结晶，抽滤，石油醚洗涤滤饼，干燥，得白色固体。mp. 126°C, Anal. Calcd. for C₂₃H₃₃BrN₅O₁₄P : C, 38.67; H, 4.66. Found: C, 38.73; H, 4.70。

实施例 3. 8-氯-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤-

富马酸

(1) 8-氯-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤

取 9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤 (3.0 克), 溶于 50ml 醋酸中, 加醋酸钠 (3.0 g), 搅拌下通入氯气, 搅拌 2 小时, TLC 检测至原料点消失, 依次加加乙酸乙酯 (100 ml)、水 150 ml, 搅拌下加 5%亚硫酸氢钠 (NaHSO₃) 至混合物用淀粉碘化钾试纸检测不变蓝, 静止分层, 分出有机相, 水相调节 PH 至 8.0-8.5, 用乙酸乙酯萃取 (2×60 mL), 合并有机相, 并用饱和氯化钠水溶液洗涤、无水硫酸钠干燥后, 蒸出有机溶剂得标题化合物。FAB HRMS [M+H⁺] calcd. for C₂₀H₃₂ClN₅O₆P 554.8952. found 554.8961。

(2) 8-氯-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤-富马酸:

取 8-氯-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤 (1.0 g, 1.8 mmol) 及富马酸 (0.21 g, 1.8 mmol), 加甲醇 30 ml, 加热回流, 保温 15-20 分钟, 冷却、结晶、抽滤、石油醚洗涤滤饼, 干燥, 得白色固体。Anal. Calcd for C₂₃H₃₃ClN₅O₁₄P : C, 41.23; H, 4.96. Found: C, 41.24; H, 5.01。

实施例 4. 8-氟-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤-富马酸

(1) 8-氟-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)丙基-腺嘌呤

取 9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)丙基-腺嘌呤 (3.0 克), 溶于 50ml 乙腈中, 加醋酸钠 (3.0 g), 搅拌下通入浓度为 1%的氟气-氦混合气体 (F₂-He), 至原料消失, 依次加乙酸乙酯 (100ml)、水 (150 ml), 充分混合后静止, 分出有机相, 将水相调节 PH 至 8.0-8.5, 用乙酸乙酯萃取 (2×50 mL), 合并有机相, 并用饱和氯化钠水溶液洗涤、无水硫酸钠干燥后, 蒸出有机溶剂得标题化合物。FAB HRMS [M+H⁺] calcd. for C₁₉H₂₉FN₅O₁₀P 538.4406. found 538.4415。

(2) 8-氟-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤-富马酸:

取 8-氟-9-(2-(R)-二异丙氧羰氧甲氧基磷酰甲氧基)-丙基腺嘌呤 (0.5 g) 及富马酸 (0.11g), 加甲醇 15 ml, 加热回流, 保温 20 分钟, 冷却、结晶、抽滤, 石油醚洗涤滤饼, 干燥, 得白色固体。Anal. Calcd for C₂₃H₃₃FN₅O₁₄P : C, 42.27;

H, 5.09. Found: C, 42.34; H, 5.12。

实施例 5. 本发明的药物组合物可按通用的口服药物制剂制备方法制成片剂或胶囊, 300mg 剂量的化合物 6 的片剂或胶囊单位含量如下 (mg/片, mg/粒) :

化合物 6	300 mg
乳糖	200 mg
淀粉	50 mg
微晶纤维素	20 mg
羧甲淀粉钠	20 mg
硬脂酸镁	10 mg。

