



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106883280 B

(45)授权公告日 2019.05.21

(21)申请号 201611158070.5

C07H 1/00(2006.01)

(22)申请日 2016.12.15

A61K 31/7072(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61P 31/14(2006.01)

申请公布号 CN 106883280 A

C07C 323/59(2006.01)

C07C 323/60(2006.01)

(43)申请公布日 2017.06.23

(66)本国优先权数据

(56)对比文件

201510932904.2 2015.12.15 CN

CN 104936970 A, 2015.09.23,

(73)专利权人 杭州和正医药有限公司

Gerbrand J.《A Versatile One-Pot

地址 310018 浙江省杭州市经济技术开发区

Procedure to Phosphate Monoesters and

区6号大街452号2号楼B1917

Pyrophosphates Using Di(p-methoxybenzyl)-

(72)发明人 周星露 刘兴国 董晓武

N,N-diisopropylphosphoramidite》.《organic

(74)专利代理机构 嘉兴海创专利代理事务所

letters》.2008,第10卷(第20期),

(普通合伙) 33251

李竹轩.《射用硫普罗宁治疗慢性肝炎的临床

代理人 郑文涛

观察》.《工企医刊》.2005,第18卷(第3期),12-

13.

审查员 冯伟

(51)Int.Cl.

C07H 19/10(2006.01)

权利要求书6页 说明书32页

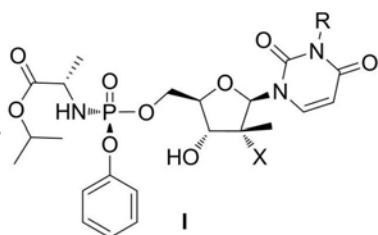
(54)发明名称

一种前药、其制备方法、药物组合物及其用途

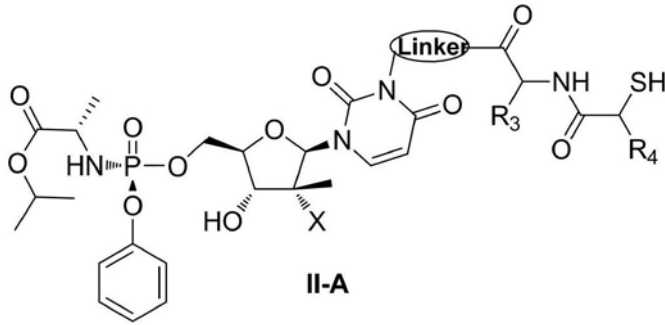
(57)摘要

本发明公开了一种如式I所示的含有类核苷结构的前药或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物,同时公开了其制备方法,以及由其组成的药物组合物及其作为抗丙型肝炎药物的用途。该类化合物或其药物组合物可用于丙型肝炎的治疗,同时具有保护肝组织、肝细胞、改善肝功能、降低氨基转

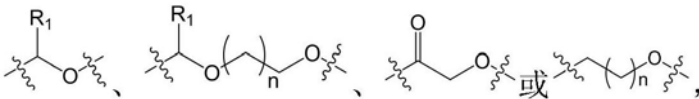
移酶等作用。



1. 化合物具有式II-A所示的结构或其互变异构体、光学异构体、药学上可接受的盐：

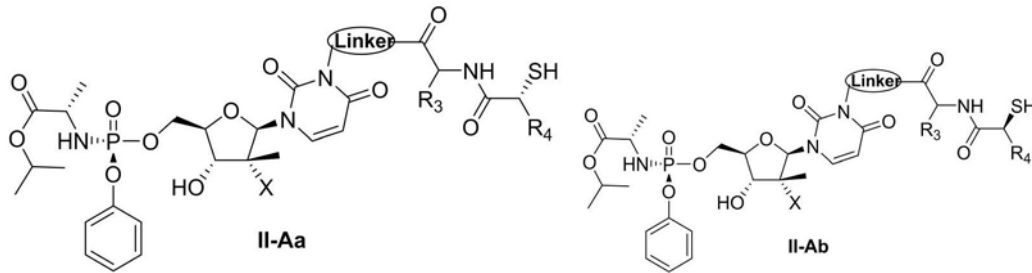


其中, X为羟基或F、Cl、Br;

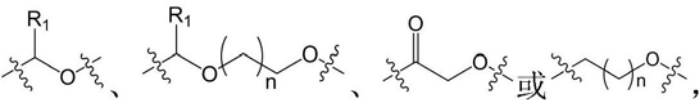
Linker为 , 或不存在;

R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; n为1、2、3、4或5; R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。

2. 根据权利要求1所述的化合物, 其具有式II-Aa或者式II-Ab所示的结构或其互变异构体、光学异构体、药学上可接受的盐:

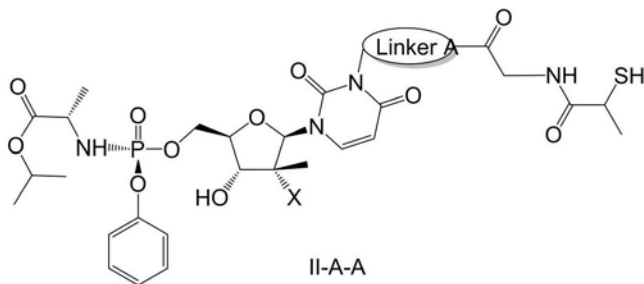


其中, X为羟基或F、Cl、Br;

Linker为 , 或不存在;

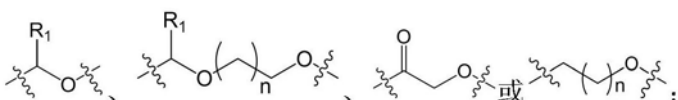
R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; n为1、2、3、4或5; R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。

3. 根据权利要求1所述的化合物, 其为式II-A-A所示的结构:



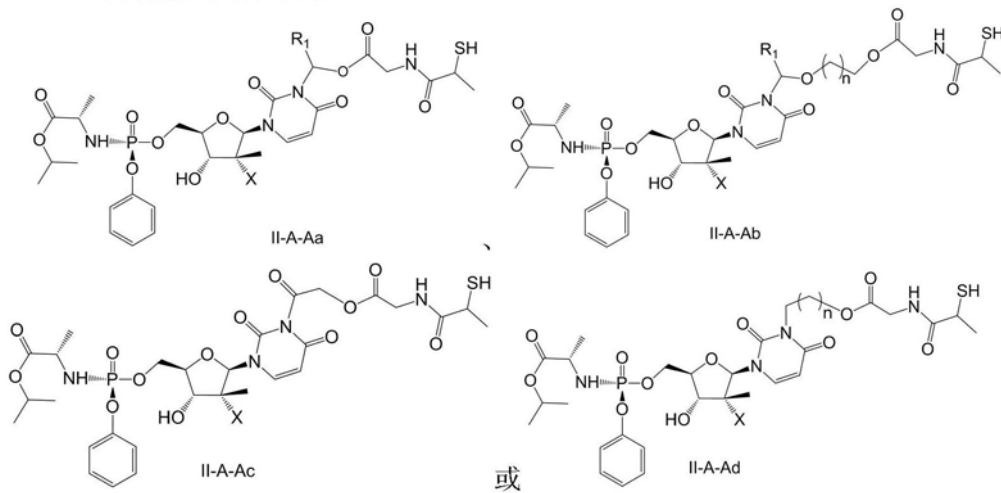
其中,

X为羟基或F、Cl、Br,

Linker为 ;

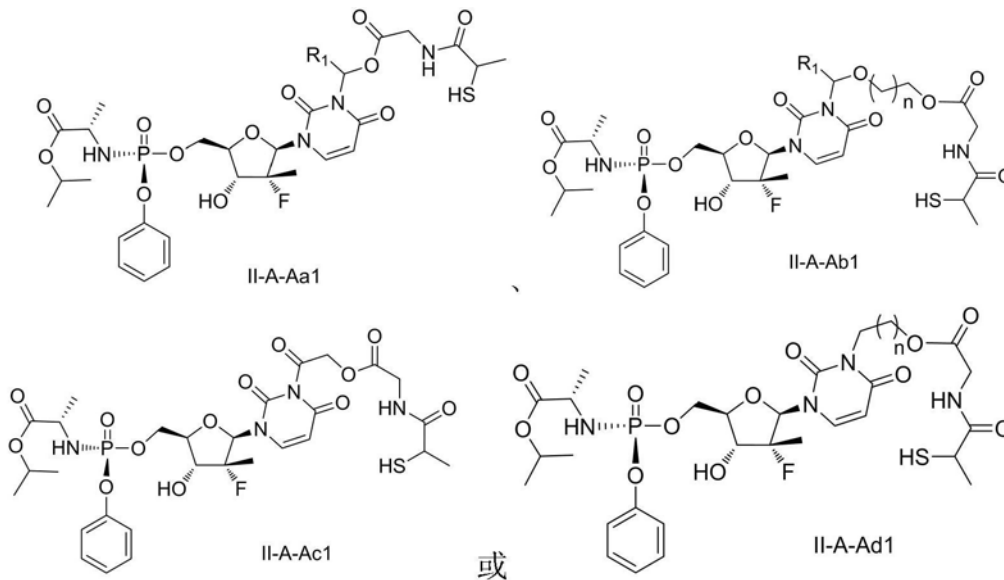
R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基, n为1-19的整数。

4. 根据权利要求3所述化合物, 其为式II-A-Aa、式II-A-Ab、式II-A-Ac、式II-A-Ad分别所示的结构:



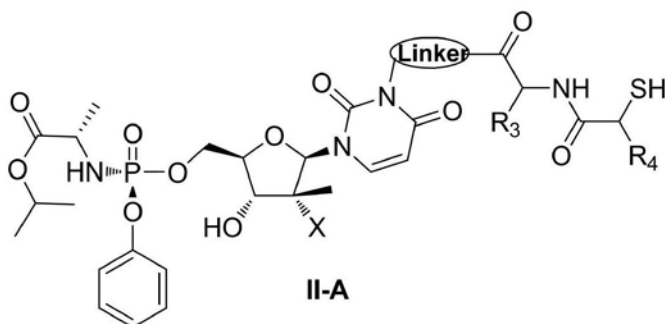
其中, X为羟基或F、Cl、Br; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基, n为1、2、3、4或5。

5. 根据权利要求4所述的化合物, 其为式II-A-Aa1、式II-A-Ab1、式II-A-Ac1、式II-A-Ad1分别所示的结构:



其中, R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基, n为1、2、3、4或5。

6. 根据权利要求1所述的化合物, 其具有以下所示的结构或以下所示结构化合物的互变异构体、药学上可接受的盐:

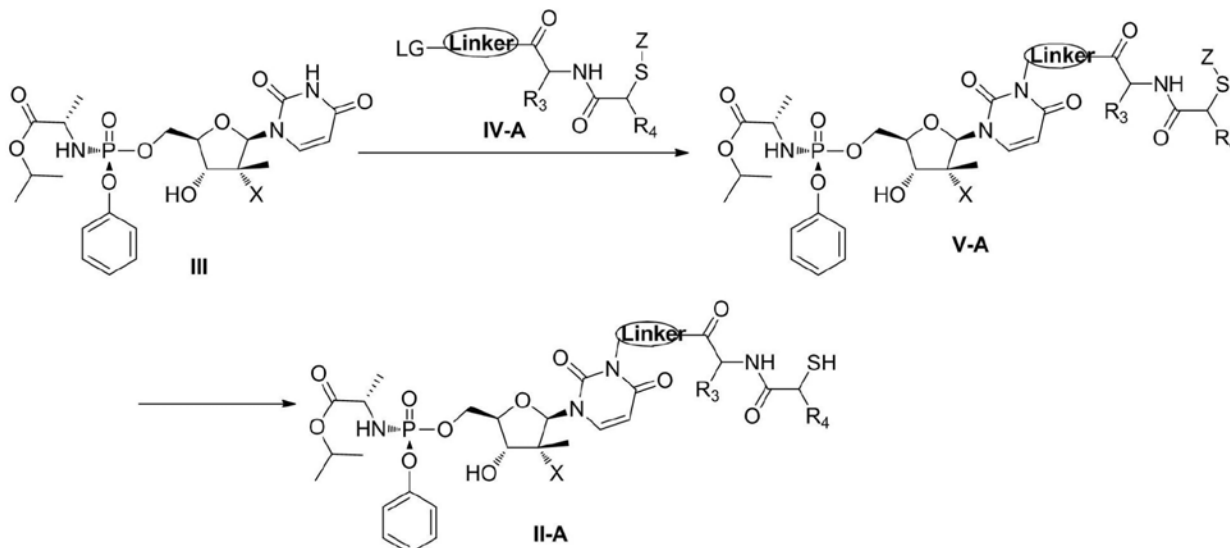


化合物编号	结构		命名
	R	X	
II-A-1		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-1a		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((R)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-1b		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((S)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-2		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-2a		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((S)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-2b		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((R)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-3		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)丙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-4		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙氧基)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-5		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯

II-A-6		F	异丙基((S)-((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)丙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-7		Cl	异丙基((S)-((2R,3R,4R,5R)-4-氯-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸酯
II-A-8		F	(3-((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酸基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 (2-巯基丁酰基)氨丙氨酸酯
II-A-9		F	N-((3-((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙烷-2-基)氨基)(苯氧基)磷酸基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)-N-(2-巯基丙酰基)甘氨酸

7. 一种式II-A所示的化合物的制备方法,步骤为:

- 1) 式III化合物与式IV-A化合物反应得到式V-A化合物,
- 2) 式V-A化合物经过脱保护反应得到式II-A化合物;

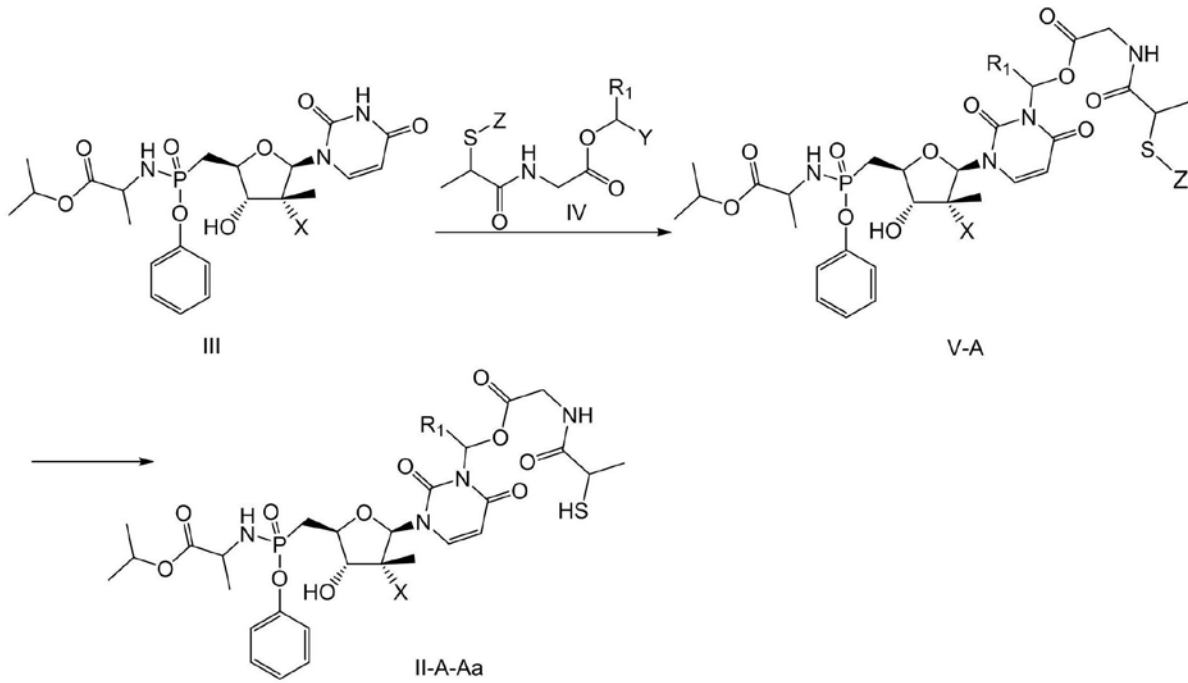


其中,X为羟基或F、Cl、Br;

Linker为 或不存在;

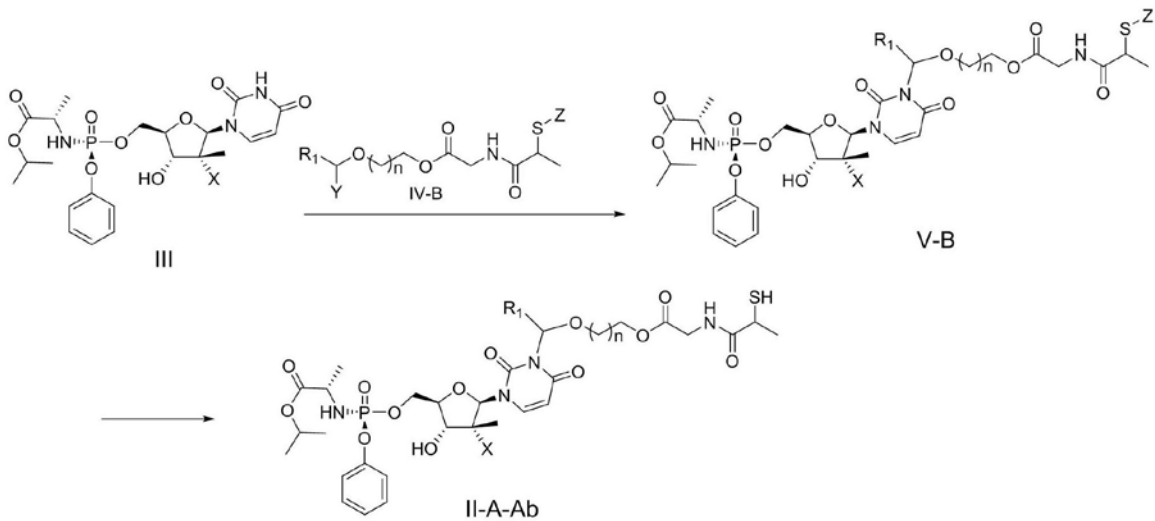
n为1、2、3、4或5;R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为氢原子或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;LG为离去基团;Z为巯基保护基团。

8. 一种式II-A-Aa所示的化合物的制备方法,可以由通式III化合物与通式IV化合物经过羟化反应得到通式V-A化合物,然后经过脱保护反应得到。



其中, X为F、Cl或Br, R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; Y为离去基团, Z为巯基保护基团。

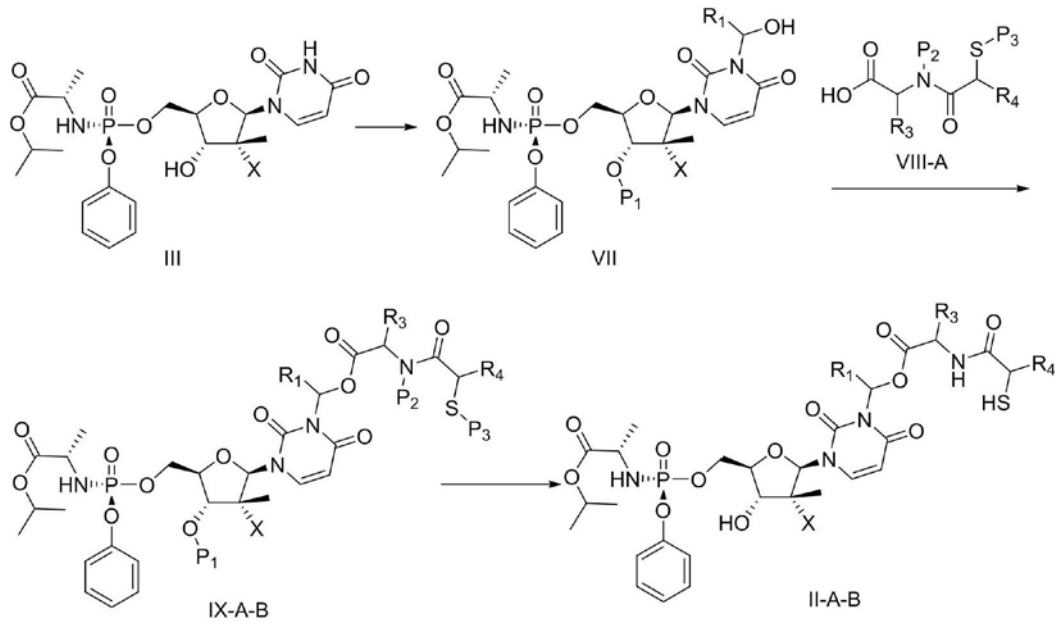
9. 一种式II-A-Ab所示的化合物的制备方法, 可以由通式III化合物与通式IV-B化合物经过羟化反应得到通式V-B化合物, 然后经过脱保护反应得到:



其中, X为羟基或F、Cl、Br; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; n为1-19的整数; Y为离去基团; Z为巯基保护基团。

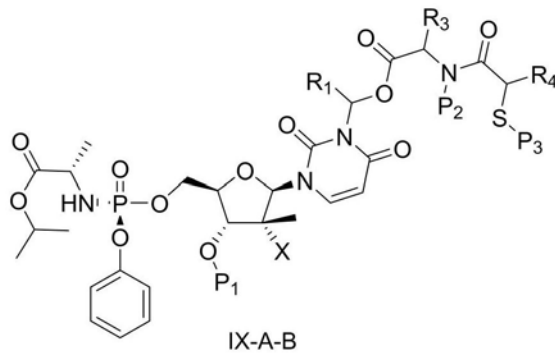
10. 一种式II-A-B化合物的制备方法, 步骤为:

- 1) 式III化合物经过保护反应, 然后与醛反应得到式VII化合物;
- 2) 式VII化合物与VIII-A化合物发生反应得到式IX-A-B化合物;
- 3) 式IX-A-B化合物脱去保护基得到式II-A-B化合物;



其中, X为羟基或F、Cl、Br; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为氢原子或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; P<sub>1</sub>为羟基保护基团; P<sub>2</sub>为酰胺NH保护基团; P<sub>3</sub>为巯基保护基团。

11. 一种化合物, 其具有式IX-A-B所示的结构或盐:



其中X为羟基或F、Cl、Br; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; P<sub>1</sub>为羟基保护基团; P<sub>2</sub>为NH保护基团; P<sub>3</sub>为巯基保护基团。

12. 一种包含权利要求1-6任一项所示化合物中的一种或多种的药物组合物。

13. 根据权利要求12所述的药物组合物, 其中, 式II-A所示的化合物或其互变异构体、药学上可接受的盐的一种或多种的药物组合物在所述药物组合物中的剂量为1~1000mg/天。

14. 权利要求1~6中任一项所述化合物或权利要求12所述的组合物, 在制备作为治疗丙型肝炎药物中的用途。

## 一种前药、其制备方法、药物组合物及其用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于药物化学领域。具体而言,本发明涉及一种如下通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体、立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物,其制备方法,药物组合物及其作为抗丙型肝炎药物的用途。

### 背景技术

[0002] 丙型肝炎是丙型肝炎病毒(hepatitis C virus,以下简称HCV)引起的一种严重威胁人类健康的肝脏疾病。1978年,丙肝病毒被首次发现;1989年,完成基因序列测定,HCV被确认为非甲型、非乙型肝炎的又一种主要病原体。根据HCV基因组异质性特性,目前可以分为6种类型,30个亚型。感染的类型有较强的地域性,我国以1型为主。2011年的研究表明,中国HCV感染者中,1型占58.2%,其中基因1a型为1.4%,基因1b型为56.8%。目前,全球范围内HCV感染者超过2亿,占世界总人口的3.3%。美国约有320万感染者,中国HCV患者超过了4000万人次,居世界之首,很多HCV感染者同时是乙肝甚至艾滋病患者,这增加了治疗的复杂性。目前还没有正式获得批准的丙肝疫苗,所以防止丙肝传播仍面临挑战。已有的慢性感染者病情正在发展中,预计未来10-20年将会迎来发病高峰。临床上治疗丙肝的标准方案是聚乙二醇干扰素 $\alpha$ 联合利巴韦林,治愈标准是在治疗后24周内血液检测不到HCV的RNA。这种治疗方式副作用较大,包括抑郁、疲乏、流感样症状和贫血症等;治疗成本较高,标准疗程需要48周,费用约40,000美元。为解决上述问题,近年来针对丙肝病毒RNA基因序列的抗丙肝病毒的小分子化合物药物研发迅速成为热点,抗病毒药物将从干扰素时代进入小分子药物时代。目前,已有许多HCV蛋白酶抑制剂得到广泛研究,其中Telaprevir(替拉瑞韦,VX-950,商品名Incivek)和Boceprevir(波西普韦,SCH-503034,商品名Victrelis)已于2011年被批准上市。非结构蛋白NS5A的抑制剂也是一种作用于丙肝病毒RNA链的特异性抗病毒药物,多种基因型HCV病毒均具有显著的抑制作用。此外,以NS5B聚合酶为靶点的药物分为核苷类和非核苷聚合酶抑制剂两类。其中的Sofosbuvir是迄今为止最为高效的抗HCV药物,可有效对抗HCV基因型1、2、3、4和6感染。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种新的抗HCV病毒和保肝、护肝双功能药物,使其发挥双功能药物的作用,具有口服生物利用度高,代谢性质好的优点,可以用于治疗病毒性肝炎等症。

[0004] 本发明的一个目的是提供一种通式I所示的前药或其立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物。

[0005] 本发明的另一个目的是提供本发明提供的化合物的制备方法。

[0006] 本发明的又一个目的是提供通式I所示的前药或其立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的盐或者溶剂合物作为NS5B抑制剂,保护肝细胞、肝脏组织,改善肝功能的用途,以及在制备治疗病毒性肝炎中的应用。

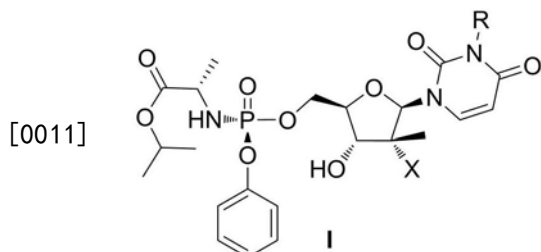


[0007] 本发明的再一个目的是提供包含通式I所示的前药或其立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物中的一种或多种的药物组合物。

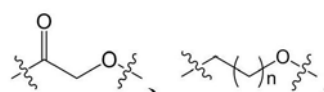
[0008] 本发明的再一个目的是提供一种治疗病毒性肝炎,同时保护肝细胞、肝脏组织,改善肝功能的方法。

[0009] 本发明采用如下所述的技术方案:

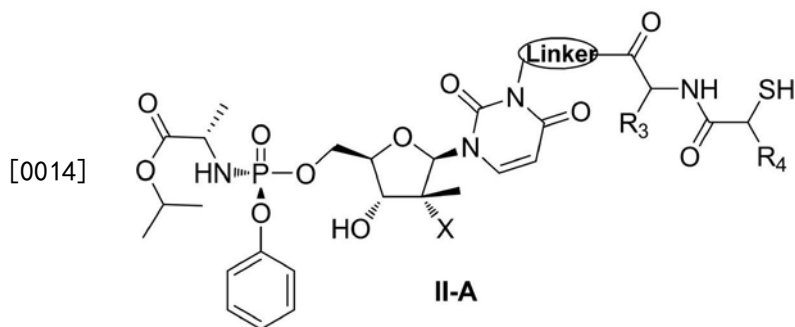
[0010] 根据本发明的一个方面,本发明保护一种化合物,其具有通式I所示的结构,或其立体异构体、立体异构体混合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物,或者具有通式I所示的前药:



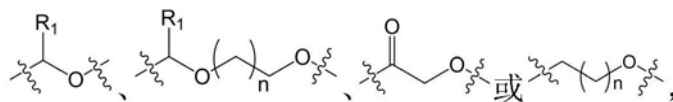
[0012] 其中,X为羟基或F、Cl、Br;R为  ;Linker为 

 或不存在,A来自于已经上市的用于治疗或辅助治疗肝病的药物或其衍生物;R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;n为1-19的整数。

[0013] 在所述通式I中,进一步优选的化合物为通式II-A所示含有类核苷结构的前药或其立体异构体、立体异构体混合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物:



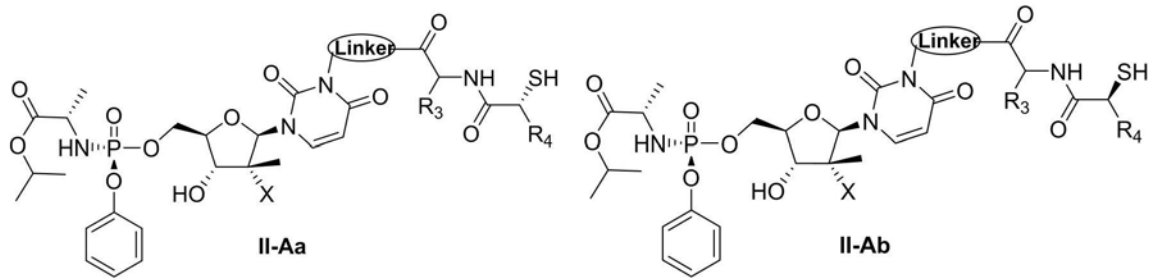
[0015] 其中,X为羟基或F、Cl、Br;Linker为

 或不存在;R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;n为1、2、3、4

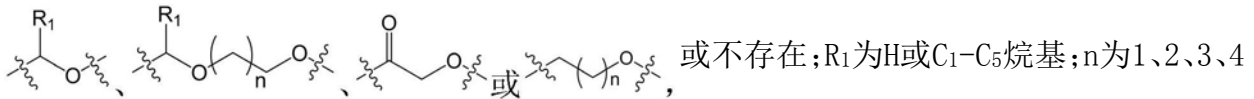
或5;R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。

[0016] 在所述通式II-A中,进一步优选的化合物为通式II-Aa或者式II-Ab所示的结构或其互变异构体、光学异构体、立体异构体、立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或溶剂合物:

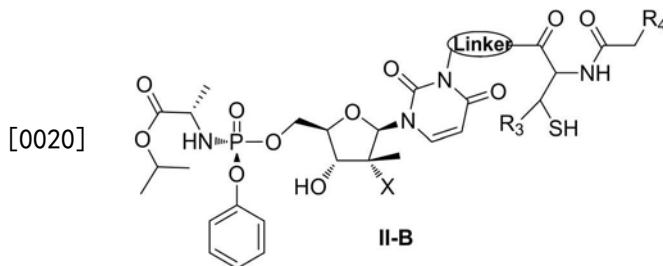
[0017]



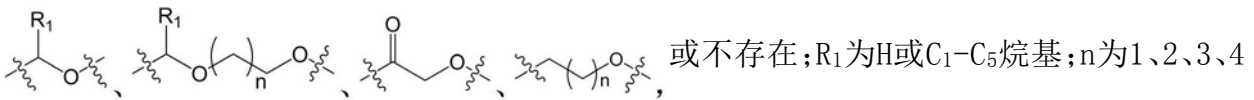
[0018] 其中,X为羟基或F、Cl、Br;Linker为

或5; $\text{R}_3$ 、 $\text{R}_4$ 各自独立地为H或 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基。

[0019] 在所述通式I中,进一步优选为的化合物为通式II-B所示的结构或其互变异构体、光学异构体、立体异构体、立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或溶剂合物:

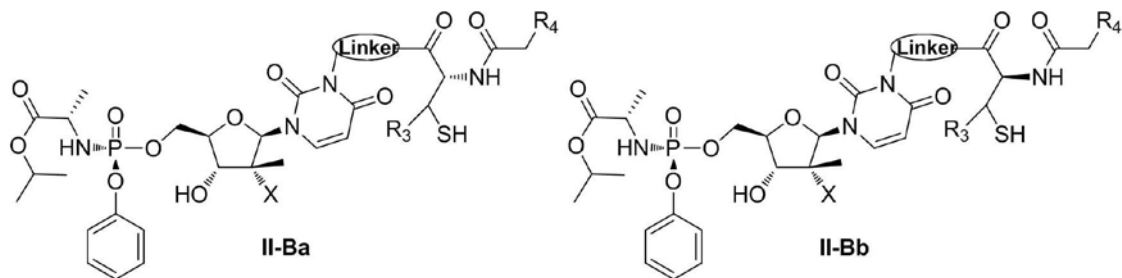


[0021] 其中,X为羟基或F、Cl、Br;Linker为

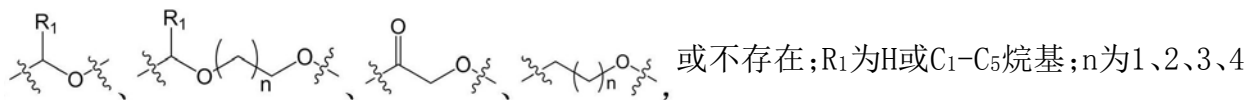
或5; $\text{R}_3$ 、 $\text{R}_4$ 各自独立地为H或 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基。

[0022] 在所述通式II-B中,进一步优选为通式II-Ba或式II-Bb所示的结构或其光学异构体、药学上可接受的盐或溶剂合物:

[0023]

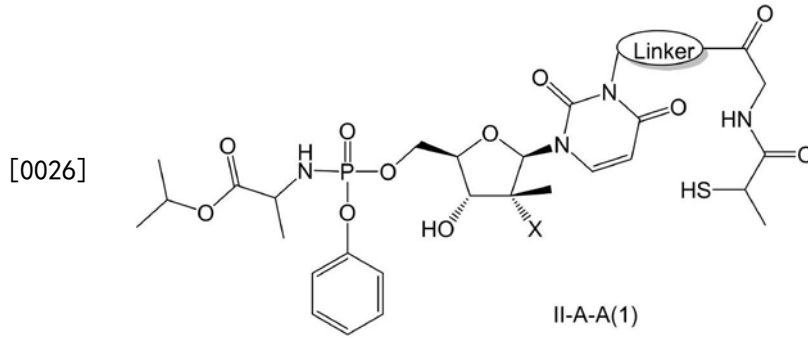


[0024] 其中,X为羟基或F、Cl、Br;Linker为

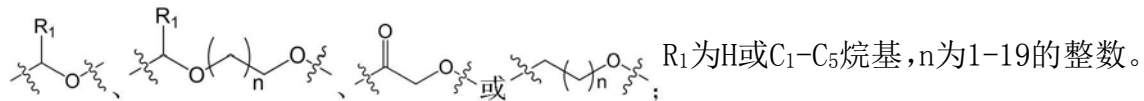
或5; $\text{R}_3$ 、 $\text{R}_4$ 各自独立地为H或 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基。

[0025] 在所述通式I中,进一步优选为通式II-A-A (1) 所示含有硫普罗宁结构的前药或其

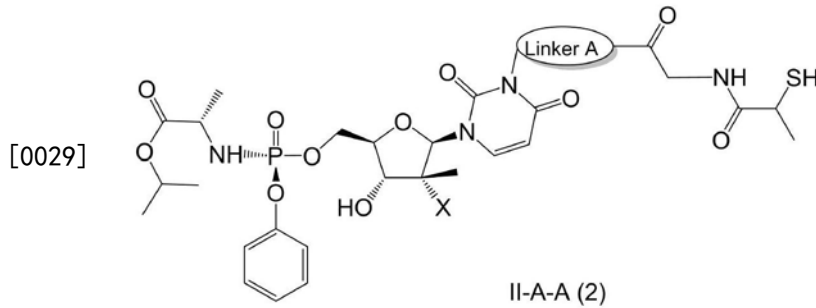
立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物:



[0027] 其中,X为羟基或F、Cl、Br,Linker为



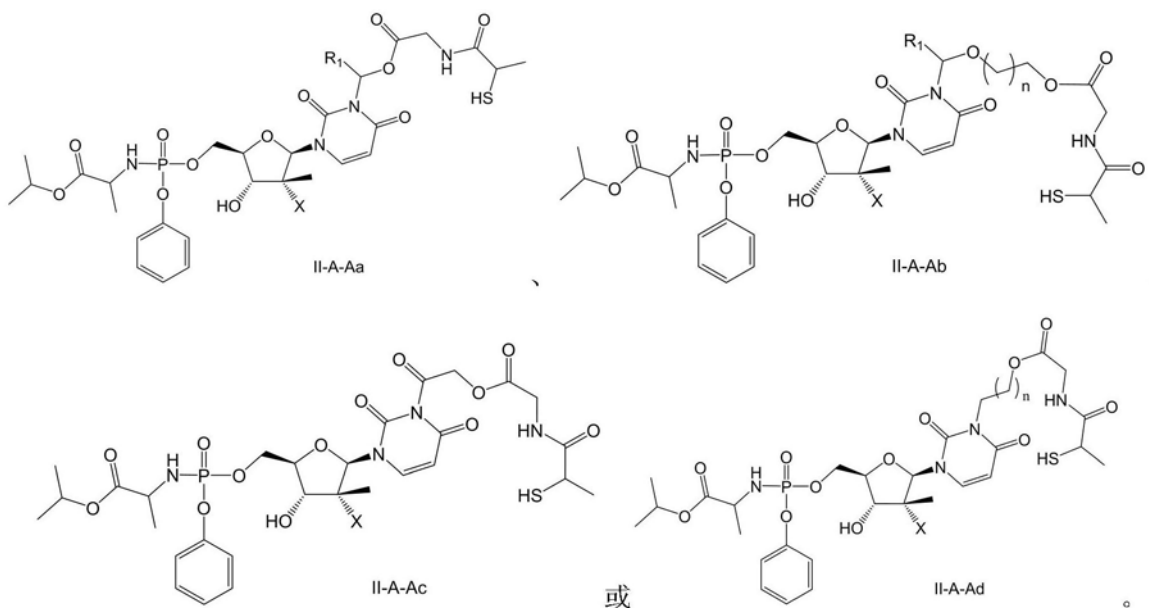
[0028] 或者,作为优选,在所述通式II-A-A(1)中,进一步优选为下述通式II-A-A(2)所示含有硫普罗宁结构的前药或其立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物:



[0030] 上式中:X、Linker A、R<sub>1</sub>、n定义同上式II-A-A(1)。

[0031] 在所述通式II-A-A(1)中,进一步优选为以下含有硫普罗宁结构的前药或其立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物:

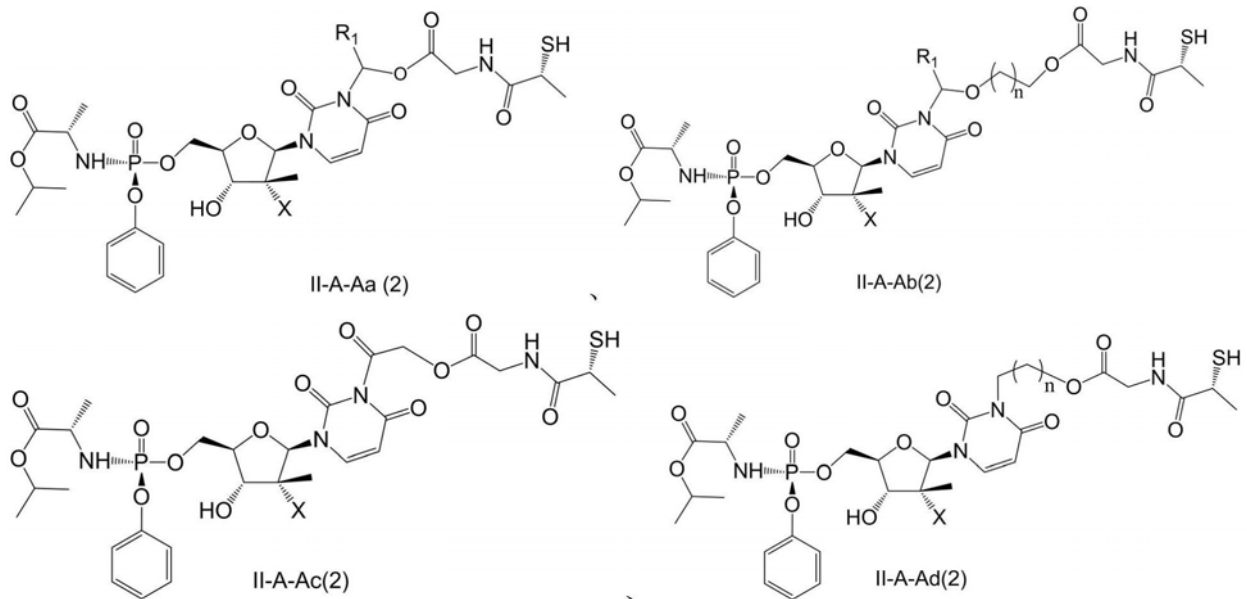
[0032]



[0033] 其中, X为羟基或F、Cl、Br; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基, n为1、2、3、4或5。

[0034] 或者, 作为优选, 在所述通式II-A-A (1) 中, 进一步优选为以下含有硫普罗宁结构的前药或其立体异构体, 立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物:

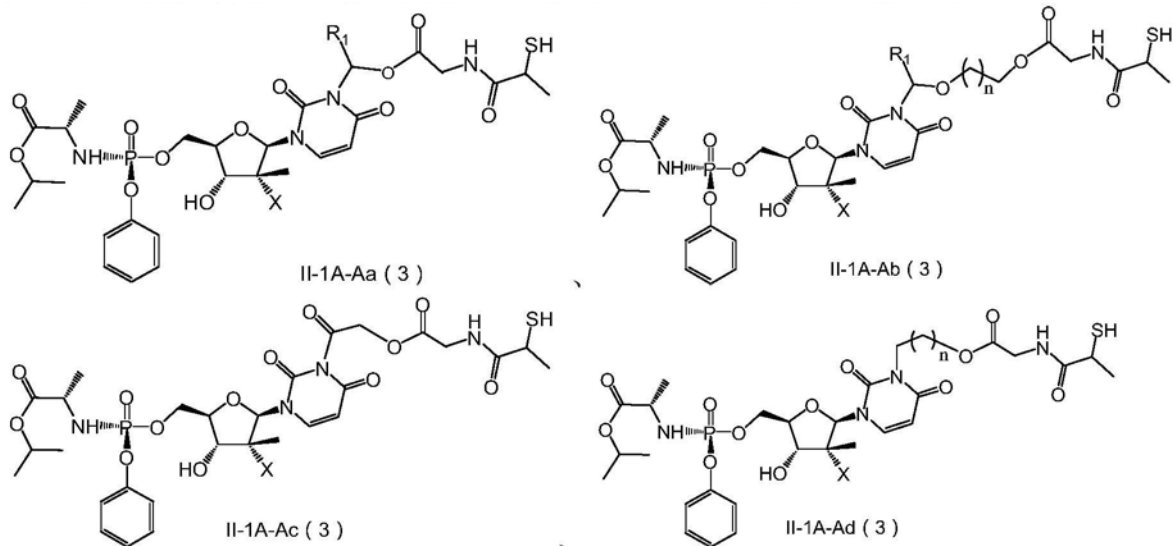
[0035]



[0036] 其中, X、R<sub>1</sub>、n定义同上。

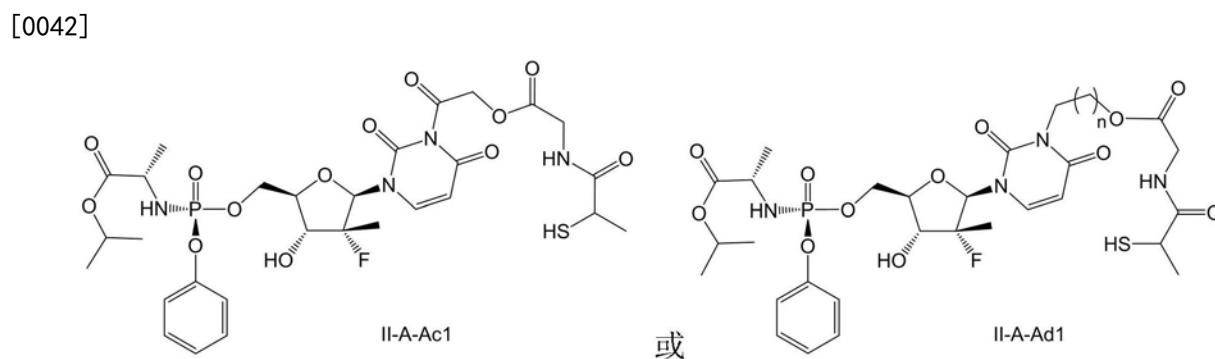
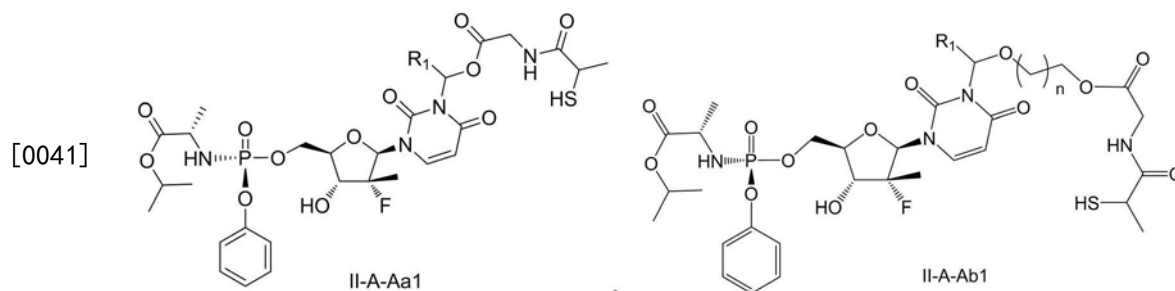
[0037] 或者, 作为优选, 在所述通式II-A-A (1) 中, 进一步优选为以下含有硫普罗宁结构的前药或其立体异构体, 立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物:

[0038]



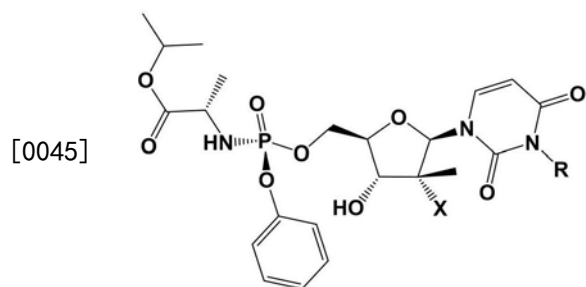
[0039] 其中, X、R<sub>1</sub>、n定义同上。

[0040] 在所述通式II-A-A (1) 中, 进一步优选为以下含有硫普罗宁结构的前药或其立体异构体, 立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物:



[0043] 其中,  $R_1$  为 H 或  $C_1-C_5$  烷基,  $n$  为 1、2、3、4 或 5。

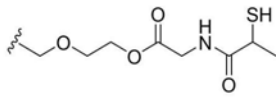
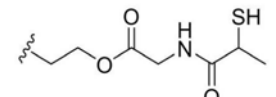
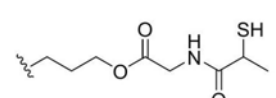
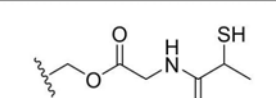
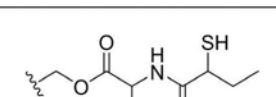
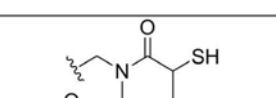
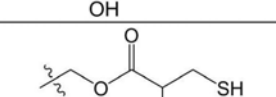

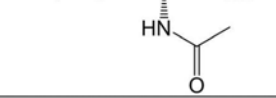
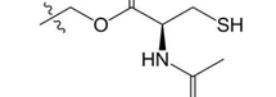
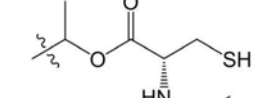
[0044] 在所述通式 I 所示的化合物中, 进一步优选的具体化合物为下列化合物之一:



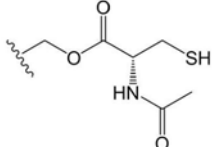
[0046]

化合物编号	结构		命名
	R	X	
II-A-1		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-1a		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((R)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-1b		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((S)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-2		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-2a		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((S)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-2b		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((R)-2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-3		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)丙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯

[0047]

II-A-4		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙氧基)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-5		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(2-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)乙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-6		F	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)丙基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-7		Cl	异丙基((S)-(((2R,3R,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(3-(((2-巯基丙酰基)甘氨酸基)氧)甲基)-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-甲基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸酯
II-A-8		F	(3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 (2-巯基丁酰基)氨丙氨酸酯
II-A-9		F	N-((3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)-N-(2-巯基丙酰基)甘氨酸
II-B-1		F	(3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 乙酰半胱氨酸酯
II-B-1a		F	(3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 乙酰-L-半胱氨酸酯
II-B-1b		F	(3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 乙-D-半胱氨酸酯
II-B-2		F	(3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)乙基 乙酰-L-半胱氨酸酯
II-B-3		F	(3-(((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙基-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢呋喃-2-基)-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 丙酰-L-半胱氨酸酯

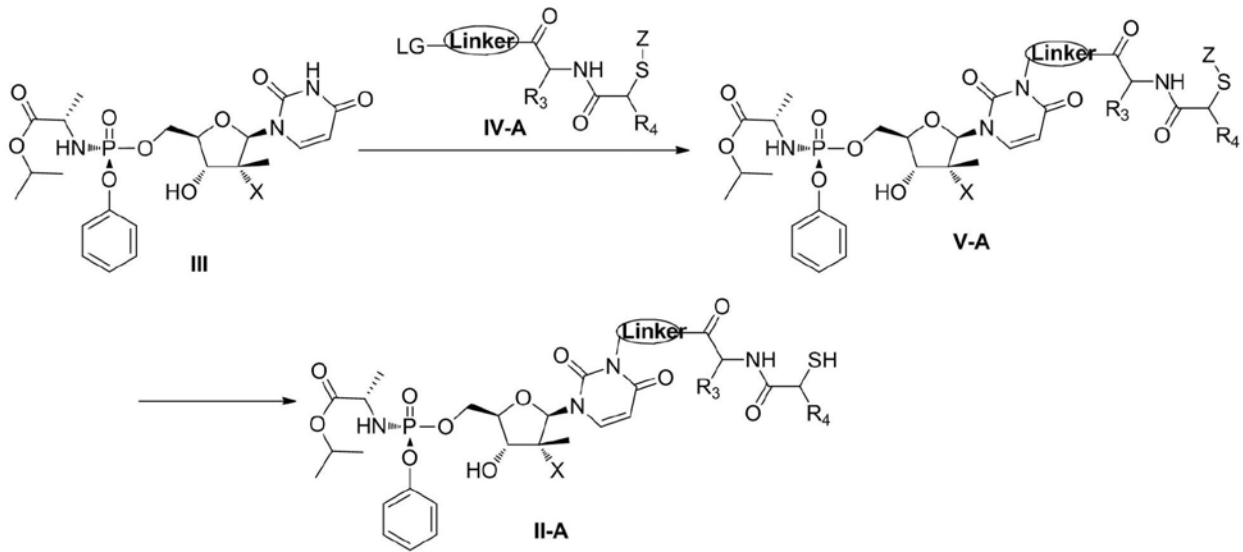
[0048]

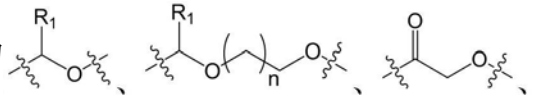
II-B-4		Cl	(3-((2R,3R,4R,5R)-3-氯-4-羟基-5-((((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙烷-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧)甲基)-3-甲基四氢咪唑-2-基)-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基 乙酰-L-半胱氨酸酯
--------	-----------------------------------------------------------------------------------	----	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0049] 或上述优选化合物的立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0050] 本发明的另一个目的是提供通式II-A化合物的制备方法,所述方法包括:1) 式III化合物与式IV-A化合物反应得到式V-A化合物,2) 式V-A化合物经过脱保护反应得到式II-A化合物;

[0051]

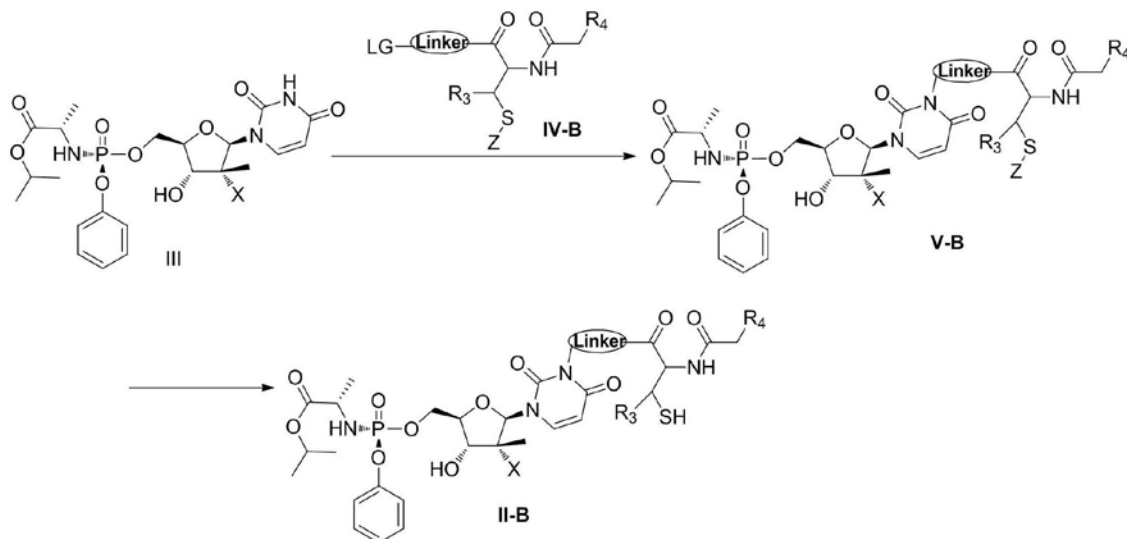


[0052] 其中,X为羟基或卤素(F、Cl、Br);Linker为 , 或不<sub>存在</sub>;n为1、2、3、4或5;R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;LG为离去基团,优选为卤素;Z为巯基保护基团,优选为三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、4,4'-双甲氧基三苯甲基。

[0053] 本发明的另一个目的是提供通式II-B化合物的制备方法,所述方法包括:1) 式III化合物与式IV-B化合物反应得到式V-B化合物;2) 式V-B化合物经脱保护反应得到式II-B化合物;

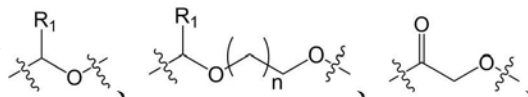


[0054]



[0055]

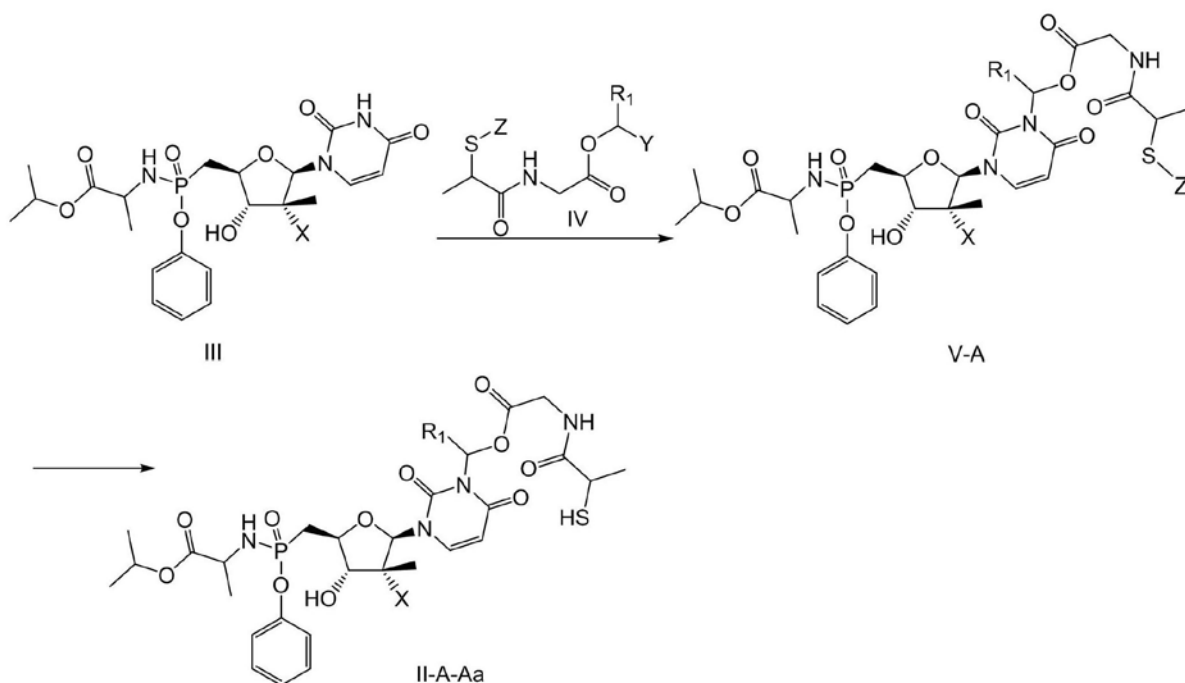
其中, X羟基或卤素 (F、Cl、Br); Linker为



或不存在; n为1、2、3、4或5; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; LG为离去基团, 优选为卤素; Z为巯基保护基团, 优选为三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、4, 4'-双甲氧基三苯甲基。

[0056] 更进一步地, 一种通式II-A-Aa所示的化合物的制备方法, 可以由通式III化合物与通式IV化合物经过烃化反应得到通式V-A化合物, 然后经过脱保护反应得到。

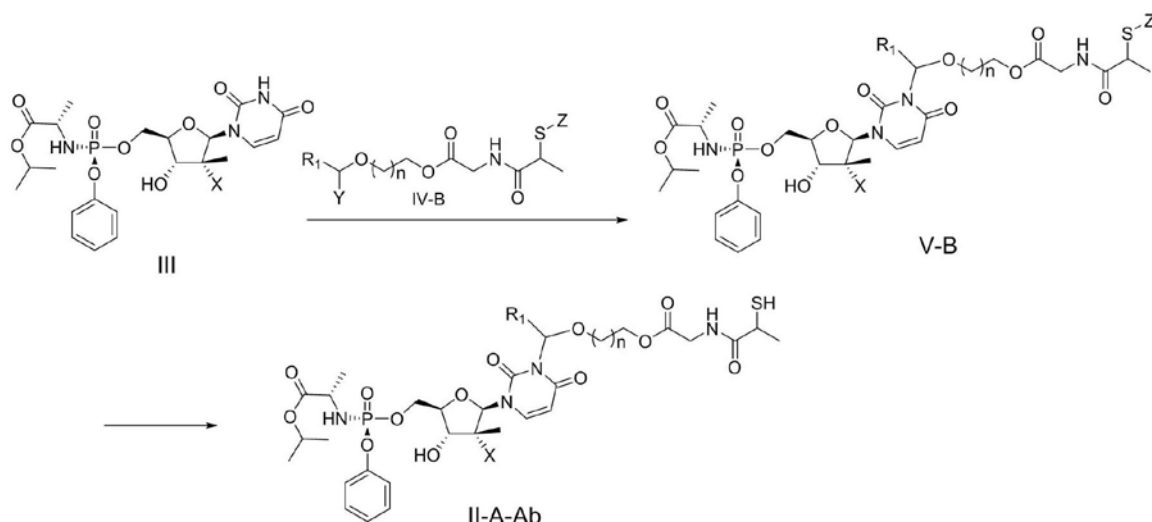
[0057]



[0058] 其中, X为F、Cl或Br; R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; Y为离去基团, Z为巯基保护基团。

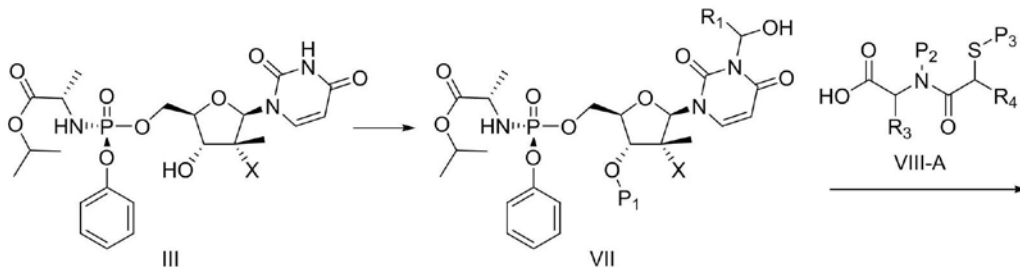
[0059] 一种式II-A-Ab所示的化合物的制备方法, 可以由通式III化合物与通式IV-B化合物经过烃化反应得到通式V-B化合物, 然后经过脱保护反应得到:

[0060]



[0061] 其中, X为羟基或卤素(F、Cl、Br); R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; n为1-19的整数; Y为离去基团; Z为巯基保护基团。

[0062] 本发明的另一个目的是提供通式II-A-B所示的化合物的制备方法, 可以由III所示的化合物经过保护反应, 然后与醛反应得到通式VII-1所示的化合物, 然后与通式所示的VIII-1A所示的化合物发生酯化或酰化反应得到通式IX-A-B所示的化合物, 然后脱去保护基得到通式II-1A-B所示的化合物。本制备方法的关键中间体的反应活泼位点被适当保护, 有助于减少副反应的发生, 反应选择性高, 得到的中间体、最终产物纯度高, 易于纯化。且本方法涉及的反应具有操作简单、纯化方便, 以及工艺可控性好的优点, 适合产业化生产。

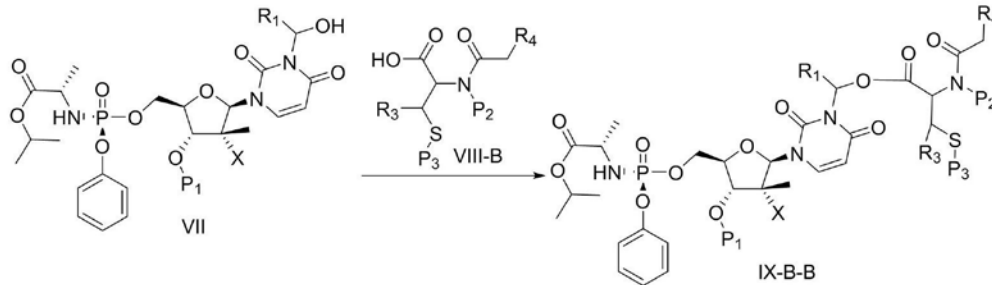


[0063]

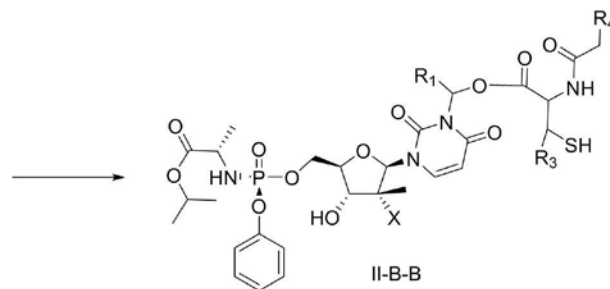
[0064] 其中, X为羟基或卤素(F、Cl、Br); R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>各自独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基; P<sub>1</sub>为羟基保护基团, 优选为三甲基硅基、三乙基硅基、叔丁基二甲基硅基、三苯基硅基; P<sub>2</sub>为酰胺NH保护基团, 优选为叔丁氧羰基、苄氧羰基、4-甲氧基苄氧羰基; P<sub>3</sub>为巯基保护基团, 优选为三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基、4,4'-双甲氧基三苯甲基。

[0065] 本发明的另一个目的是提供通式II-B-B所示的化合物的制备方法, 可以由通式

VII-1所示的化合物,然后与通式VIII-1B所示的化合物发生酯化或酰化反应得到通式IX-B-B所示的化合物,然后脱去保护基团得到通式II-B-B所示的化合物。本制备方法的关键中间体的反应活泼位点被适当保护,有助于减少副反应的发生,反应选择性高,得到的中间体、最终产物纯度高,易于纯化。且本方法涉及的反应具有操作简单、纯化方便,以及工艺可控性好的优点,适合产业化生产。

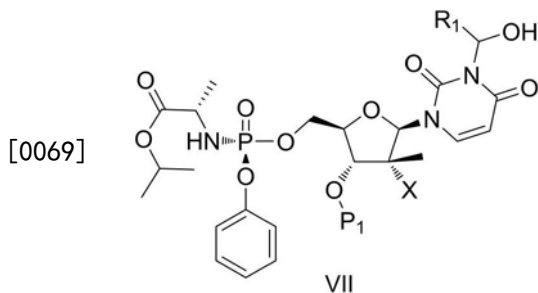


[0066]



[0067] 其中,X,R<sub>1</sub>,R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>的定义同其在通式II-B中的定义,P<sub>1</sub>为羟基保护基团,优选为三甲基硅基、三乙基硅基、叔丁基二甲基硅基、三苯基硅基;P<sub>2</sub>为酰胺NH保护基团,优选为叔丁氧羰基、苄氧羰基、4-甲氧基苄氧羰基;P<sub>3</sub>为巯基保护基团,优选为三苯甲基、4,4'-二甲氧基三苯甲基。

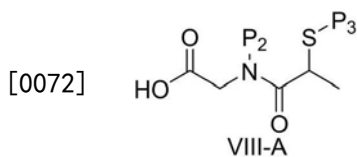
[0068] 本发明的另一目的是提供如下VII所示的中间体及其用于制备抗丙肝病毒药物的用途:



[0069]

[0070] 其中,X为羟基或卤素(F、Cl、Br);R<sub>1</sub>为H或C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基;P<sub>1</sub>为羟基保护基团,优选为三甲基硅基、三乙基硅基、叔丁基二甲基硅基、三苯基硅基。

[0071] 本发明的另一目的是提供如下VIII-A所示中间体或其立体异构体或其立体异构体混合物:



[0072]

[0073] 其中,P<sub>2</sub>为NH保护基团,优选为叔丁氧羰基、苄氧羰基、4-甲氧基苄氧羰基;P<sub>3</sub>为巯



构体的混合物。

[0084] 本发明包括通式I所示的化合物的任何前药形式。

[0085] 本发明还包括通式I的化合物的可药用溶剂化物。

[0086] 本发明也包括通式I所示的化合物的可药用氧化物,及其可药用盐和可药用溶剂化物。

[0087] 本发明还包括通式I所示的化合物的多种晶型。

[0088] 根据本发明的又一方面,本发明提供了通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物的用途,其作为NS5B抑制剂同时保护保护肝细胞、肝脏组织,改善肝功能的用途,和在制备用于治疗病毒性肝炎等疾病的药物中的用途。

[0089] 根据本发明的再一方面,本发明还提供了一种包含治疗有效量的通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物中的一种或多种的药物组合物,其可以作为NS5B抑制剂,以及该组合物可以任选包含药学上可接受的载体或赋形剂。

[0090] 根据本发明的另一方面,本发明还提供了一种NS5B抑制剂,其含治疗有效量的通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物中的一种或多种,以及该抑制剂可以任选包含药学上可接受的载体或赋形剂。

[0091] 该组合物由治疗有效量的一种或多种通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其药溶剂合物与至少一种可药用辅料组成。药用辅料的选择因施用途和作用特点而异,通常是填充剂、稀释剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂等。式I化合物、其立体异构体,立体异构体混合物或其药学上可接受的溶剂合物在上述组合物中的所占的比例为总重量的0.1%~99.9%,优选1%~99%。

[0092] 所述药学上可接受的载体是指药学领域常规的药物载体,例如:稀释剂,如水等;填充剂,如淀粉、蔗糖等;粘合剂,如纤维素衍生物、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮;湿润剂,如甘油;崩解剂,如琼脂、碳酸钙和碳酸氢钠;吸收促进剂,如季铵化合物;表面活性剂,如十六烷醇;吸附载体,如高岭土和皂粘土;润滑剂,如滑石粉、硬脂酸钙和硬脂酸镁、和聚乙二醇等。另外,还可以在所述药物组合物中加入其它辅剂,如香味剂和甜味剂等。

[0093] 本发明还提供了通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物的可药用的组合物的制备方法。通常将通式I所示的含有硫普罗宁结构的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物与可药用辅料相混合,经常规的制备方法制成适于一定途径施用的形式(剂型)。剂型包括片剂、胶囊剂、颗粒剂、丸剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、软膏、膜剂、霜剂、气雾剂、注射剂、栓剂等。优选片剂和胶囊剂。

[0094] 本发明化合物的使用剂量一般为每天1~1000mg,分单次或多次使用。但在必要时,可适当偏离上述剂量。专业人员可根据具体情况和专业知识,确定最佳剂量。这些情况包括疾病的严重程度、患者的个体差异、制剂的特性和给药途径等。

[0095] 此外,本发明还提供了通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异

构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物,或其可药用的组合物作为人用药物的用途。

[0096] 根据本发明的又一方面,本发明还提供了治疗病毒性肝炎等症的方法,所述方法包括施用治疗有效量的通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物中的一种或多种或者本发明的所述药物组合物给患者。

[0097] 本发明提供的化合物或组合物可以口服、注射(静脉、肌肉、皮下和冠状动脉内)、舌下、经颊、经直肠、经尿道、经阴道、经鼻、吸入或局部途径施用。优选的途径是口服。用于口服时,可以将其制成常规的固体制剂,如片剂、粉剂、粒剂、胶囊等,或制成液体制剂,如水或油悬浮剂,或其它液体制剂,如糖浆等;用于肠外给药时,可将其制成注射用的溶液、水或油性悬浮剂等。

[0098] 本发明还提供了通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物,在制备NS5B抑制剂的人用药物中的用途。

[0099] 本发明还提供了通式I所示的化合物或其互变异构体、立体异构体,立体异构体混合物、前药、药学上可接受的盐或其溶剂合物进一步与其他治疗肝病的药物联用。至少一种选自下列的治疗:干扰素、干扰素 $\beta$ 、干扰素 $\gamma$ 和干扰素 $\omega$ ;白介素,包括白介素10和白介素12;利巴韦林;干扰素 $\alpha$ 或聚乙二醇化干扰素 $\alpha$ 与利巴韦林或者左旋韦林联合使用;左旋韦林;蛋白酶抑制剂,包括NS3抑制剂,NS3/4A抑制剂;NS5A抑制剂;解旋酶抑制剂;聚合酶抑制剂,包括HCV RNA聚合酶和NS5B聚合酶抑制剂;胶霉毒素;IRES抑制剂;反义寡核苷酸;噻唑烷衍生物;N-苯甲酰苯胺,核酶;另一种核苷,核苷前药或核苷衍生物;1-氨基-烷基环己烷;抗氧化剂,包括维生素E;角鲨烯;金刚胺;胆汁酸;N-(膦酰基乙酰基)-L-天冬氨酸;苯二羧酰胺;聚腺苷酸;苯并咪唑;胸腺素;预防疫苗;免疫调节剂,一种IMPDH抑制剂;水飞蓟素;水飞蓟素-磷脂酰胆碱内涵体;和麦考酚酸酯。

[0100] “药学上可接受的”是指这样一些化合物、原料、组合物和/或剂型,它们在合理医学判断的范围内,适用于与患者组织接触而无过度毒性、刺激性、变态反应或与合理的利益/风险比相对称的其他问题和并发症,并有效用于既定用途。

[0101] 术语“卤素”和“卤代”在本发明中可互换使用,是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)。

[0102] 本发明使用的术语“烷基”或“烷基基团”,表示含有1-20个碳原子,饱和的直链或支链一价烃基基团,其中,所述烷基基团可以任选地被一个或多个本发明描述的取代基所取代。在一实施方案中,烷基基团含有1-6个碳原子;在另一实施方案中,烷基基团含有1-4个碳原子;还在一实施方案中,烷基基团含有1-3个碳原子。烷基基团的实例包含,但并不限于,甲基(Me、 $-\text{CH}_3$ ),乙基(Et、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),正丙基(n-Pr、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),异丙基(i-Pr、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ),正丁基(n-Bu、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),异丁基(i-Bu、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ),仲丁基(s-Bu、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),叔丁基(t-Bu、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ),等等。

[0103] 本发明所使用的“药学上可接受的盐”是指本发明的化合物的有机盐和无机盐。药学上可接受的盐在所属领域是为我们所熟知的,如文献:S.M.Berge et al., describe pharmaceutically acceptable salts in detail in J.Pharmaceutical Sciences,

1977,66:1-19.所记载的。药学上可接受的无毒的酸形成的盐包括,但并不限于,与氨基基团反应形成的无机酸盐有盐酸盐,氢溴酸盐,磷酸盐,硫酸盐,高氯酸盐,和有机酸盐如乙酸盐,草酸盐,马来酸盐,酒石酸盐,柠檬酸盐,琥珀酸盐,丙二酸盐,或通过书籍文献上所记载的其他方法如离子交换法来得到这些盐。其他药学上可接受的盐包括己二酸盐,藻酸盐,抗坏血酸盐,天冬氨酸盐,苯磺酸盐,苯甲酸盐,重硫酸盐,硼酸盐,丁酸盐,樟脑酸盐,樟脑磺酸盐,环戊基丙酸盐,二葡萄糖酸盐,十二烷基硫酸盐,乙磺酸盐,甲酸盐,反丁烯二酸盐,葡庚糖酸盐,甘油磷酸盐,葡萄糖酸盐,半硫酸盐,庚酸盐,己酸盐,氢碘酸盐,2-羟基-乙磺酸盐,乳糖醛酸盐,乳酸盐,月桂酸盐,月桂基硫酸盐,苹果酸盐,甲磺酸盐,2-萘磺酸盐,烟酸盐,硝酸盐,油酸盐,棕榈酸盐,扑酸盐,果胶酸盐,过硫酸盐,3-苯基丙酸盐,苦味酸盐,特戊酸盐,丙酸盐,硬脂酸盐,硫氰酸盐,对甲苯磺酸盐,十一酸盐,戊酸盐,等等。通过适当的碱得到的盐包括碱金属,碱土金属,铵和 $N^+(C_{1-4}\text{烷基})_4$ 的盐。本发明也拟构思了任何所包含N的基团的化合物所形成的季铵盐。水溶性或油溶性或分散产物可以通过季铵化作用得到。碱金属或碱土金属盐包括钠,锂,钾,钙,镁,等等。药学上可接受的盐进一步包括适当的、无毒的铵,季铵盐和抗平衡离子形成的胺阳离子,如卤化物,氢氧化物,羧化物,硫酸化物,磷酸化物,硝酸化物, $C_1-C_8$ 磺酸化和芳香磺酸化物。

[0104] 本发明的“溶剂化物”是指一个或多个溶剂分子与本发明的化合物所形成的缔合物。形成溶剂化物的溶剂包括,但并不限于,水,异丙醇,乙醇,甲醇,二甲亚砜,乙酸乙酯,乙酸、乙醇胺或其混合物。术语“水合物”是指溶剂分子是水所形成的缔合物。

[0105] 当所述溶剂为水时,可以使用术语“水合物”。在一实施方案中,一个本发明化合物分子可以与一个水分子相结合,比如一水合物;在另一实施方案中,一个本发明化合物分子可以与多于一个的水分子相结合,比如二水合物,在又一实施方案中,一个本发明化合物分子可以与少于一个的水分子相结合,比如半水合物。应注意,本发明所述的水合物保留有非水合形式的所述化合物的生物有效性。

[0106] 除非另作说明,本发明的化合物所有合适的同位素变化、立体异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢产物、盐和药学上可接受的前药都包含在本发明范围内。

[0107] 在本发明公开的结构中,当任意特定的手性原子的立体化学未指明时,则该结构的所有立体异构体都考虑在本发明之内,并且作为本发明公开化合物包括在本发明中。当立体化学被表示特定构型的实楔形线(solid wedge)或虚线指明时,则该结构的立体异构体就此明确和定义。

[0108] 式(I)所示化合物可以以盐的形式存在。在一实施方案中,所述盐是指药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的”是指物质或组合物必须与包含制剂的其它成分和/或用其治疗的哺乳动物化学上和/或毒理学上相容。在另一实施方案中,所述盐不一定是药学上可接受的盐,可以是用于制备和/或提纯式(I)所示化合物和/或用于分离本式(I)所示化合物的对映体的中间体。

[0109] 本发明的可药用盐可以用常规化学方法由母体化合物、碱性或酸性部分来合成。一般而言,该类盐可以通过使这些化合物的游离酸形式与化学计量的适宜碱(如Na、Ca、Mg或K的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应,或者通过使这些化合物的游离碱形式与化学计量的适宜酸反应来进行制备。该类反应通常在水或有机溶剂或二者的混合物中进行。一般地,在适当的情况中,需要使用非水性介质如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。在

例如“Remington's Pharmaceutical Sciences”,第20版,Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985);和“药用盐手册:性质、选择和应用(Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use)”, Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002) 中可找到另外一些适宜盐的列表。

[0110] 本发明给出的任何结构式也意欲表示这些化合物未被同位素富集的形式以及同位素富集的形式。同位素富集的化合物具有本发明给出的通式描绘的结构,除了一个或多个原子被具有所选择原子量或质量数的原子替换。可引入本发明化合物中的示例性同位素包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素,如 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 和 $^{125}\text{I}$ 。

[0111] 另一方面,本发明涉及制备式(I)所示化合物的中间体。

[0112] 另一方面,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物包含本发明化合物。在一实施方案中,本发明所述药物组合物,更进一步包括药学上可接受的载体、赋形剂、佐剂、溶媒或它们的组合。在另一实施方案中,药物组合物可以是液体、固体、半固体、凝胶或喷雾剂型。

[0113] 本发明的该类化合物或其药物组合物可用于丙型肝炎的治疗,具有口服生物利用度高、代谢性质好的优点,同时具有保护肝组织、肝细胞、改善肝功能的作用。

### 具体实施方式

[0114] 为描述本发明,以下列出了实施例。但需要理解,本发明不限于这些实施例,只是提供实践本发明的方法。

[0115] 一般地,本发明的化合物可以通过本发明所描述的方法制备得到,除非有进一步的说明,其中取代基的定义如式(I)所示。下面的反应方案和实施例用于进一步举例说明本发明的内容。

[0116] 所属领域的专业人员将认识到:本发明所描述的化学反应可以用来合适地制备许多本发明的其他化合物,且用于制备本发明的化合物的其它方法都被认为是在本发明的范围之内。例如,根据本发明那些非例证的化合物的合成可以成功地被所属领域的技术人员通过修饰方法完成,如适当的保护干扰基团,通过利用其他已知的试剂除了本发明所描述的,或将反应条件做一些常规的修改。另外,本发明所公开的反应或已知的反应条件也公认地适用于本发明其他化合物的制备。

[0117] 下面所描述的实施例,除非其他方面表明所有的温度定为摄氏度。试剂购买于商品供应商如Aldrich Chemical Company, Arco Chemical Company and Alfa Chemical Company,使用时都没有经过进一步纯化,除非其他方面表明。一般的试剂从汕头西陇化工厂,广东光华化学试剂厂,广州化学试剂厂,天津好寓宇化学品有限公司,天津市福晨化学试剂厂,武汉鑫华远科技发展有限公司,青岛腾龙化学试剂有限公司,和青岛海洋化工厂购买得到。

[0118] 无水四氢呋喃,二氧六环,甲苯,乙醚是经过金属钠回流干燥得到。无水二氯甲烷和氯仿是经过氢化钙回流干燥得到。乙酸乙酯,石油醚,正己烷,N,N-二甲基乙酰胺和N,N-二甲基甲酰胺是经无水硫酸钠事先干燥使用。

[0119] 以下反应一般是在氮气或氩气正压下或在无水溶剂上套一干燥管(除非其他方面



表明),反应瓶都塞上合适的橡皮塞,底物通过注射器打入。玻璃器皿都是干燥过的。

[0120] 色谱柱是使用硅胶柱。硅胶(300-400目)购于青岛海洋化工厂。

[0121]  $^1\text{H}$  NMR谱使用Bruker 400MHz或600MHz核磁共振谱仪记录。 $^1\text{H}$  NMR谱以 $\text{CDCl}_3$ 、 $\text{DMSO}-d_6$ 、 $\text{CD}_3\text{OD}$ 或丙酮- $d_6$ 为溶剂(以ppm为单位),用TMS(0ppm)或氯仿(7.26ppm)作为参照标准。当出现多重峰的时候,将使用下面的缩写:s(singlet,单峰)、d(doublet,双峰)、t(triplet,三重峰)、m(multiplet,多重峰)、br(broadened,宽峰)、dd(doublet of doublets,双二重峰)、dt(doublet of triplets,双三重峰)。偶合常数,用赫兹(Hz)表示。

[0122] 低分辨率质谱(MS)数据的测定条件是:Agilent 6120四级杆HPLC-M(柱子型号:Zorbax SB-C18,2.1x 30mm,3.5微米,6min,流速为0.6mL/min。流动相:5%-95%(含0.1%甲酸的 $\text{CH}_3\text{CN}$ )在(含0.1%甲酸的 $\text{H}_2\text{O}$ )中的比例,采用电喷雾电离(ESI),在210nm/254nm下,用UV检测。

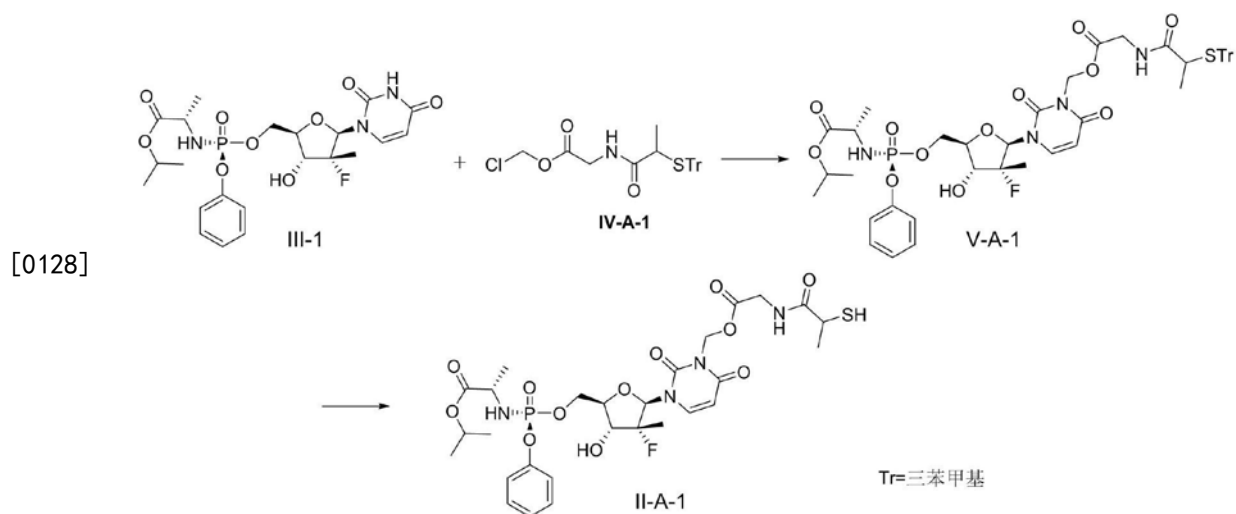
[0123] 纯的化合物使用Agilent 1260pre-HPLC或Calesep pump 250pre-HPLC(柱子型号:NOVASEP 50/80mm DAC),在210nm/254nm用UV检测。

[0124] 下面简写词的使用贯穿本发明:

[0125]  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 、DCM二氯甲烷; $\text{CDCl}_3$ 氘代氯仿;DMF N,N-二甲基甲酰胺;DIPEA N,N-二异丙基乙胺;DMSO 二甲基亚砜;MeOH 甲醇;MeCN、 $\text{CH}_3\text{CN}$  乙腈;HCl 氯化氢;KI 碘化钾;t-BuOK 叔丁醇钾; $\text{NaHCO}_3$  碳酸氢钠; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  硫代硫酸钠; $\text{Na}_2\text{SO}_4$  硫酸钠;Pd/C 10% 钯碳;g 克;h 小时;mL、ml 毫升;PE 石油醚(60-90 $^\circ\text{C}$ );RT、rt、r.t. 室温;Rt 保留时间;TFA 三氟乙酸。

[0126] 实施例1:化合物II-A-1的合成

[0127] 方法A:



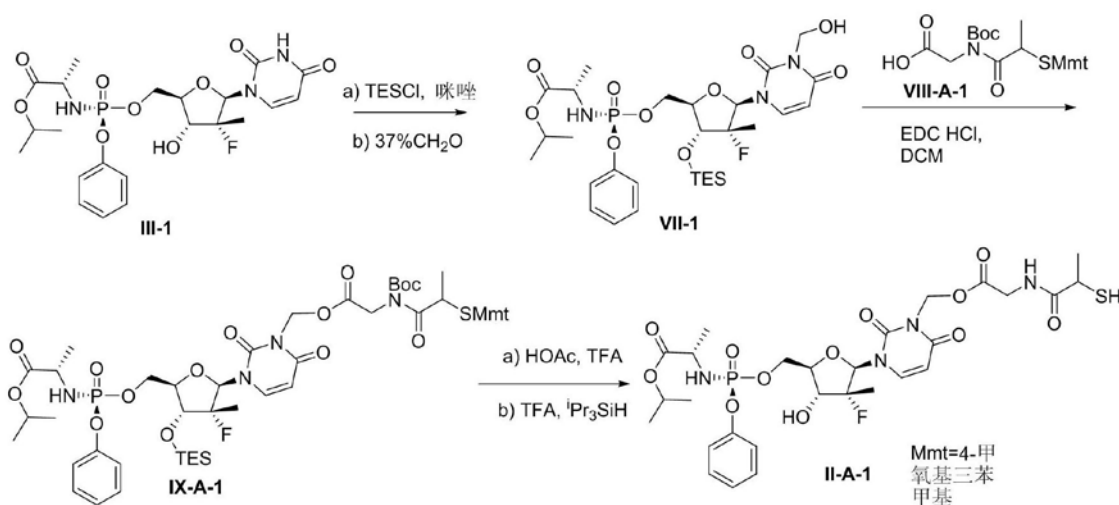
[0129] 步骤一:将529mg(1.0mmol) III-1溶于10mL无水丙酮中,室温下加入680mg(1.5mmol) IV-A-1及碳酸钾414mg(3.0mmol),加热搅拌回流6h,TLC检测反应完全。过滤,滤液用二氯甲烷(30mL)稀释,依次用水(10mL)及饱和食盐水(10mL)洗涤,分离有机相,无水硫酸钠干燥后过滤,减压浓缩除去溶剂。剩余物硅胶柱层析纯化得710mg白色固体V-A-1,收率75%,ESI-MS: $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+=947$ 。

[0130] 步骤二:将200mg(0.21mmol) V-A-1溶于10mL无水二氯甲烷中,室温下加入2mL(体积比:二氯甲烷/三异丙基硅烷/三氟乙酸=5/1/1)溶液,反应约1h,TLC检测反应完全,小心加入饱和碳酸氢钠溶液,分离有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤后减压浓

缩。剩余物硅胶柱层析纯化得到96mg白色固体II-A-1, 收率65%。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.43 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.68 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.39 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.30-7.14 (m, 3H), 6.14-5.96 (m, 2H), 5.90 (d, J=4.9Hz, 1H), 5.84 (d, J=9.6Hz, 1H), 5.81 (d, J=9.6Hz, 1H), 5.74 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.87 (dt, J=12.4, 6.2Hz, 1H), 4.47-4.34 (m, 1H), 4.29-4.20 (m, 1H), 4.08-4.01 (m, 1H), 3.94-3.76 (m, 4H), 3.57-3.46 (m, 1H), 2.82 (d, J=8.3Hz, 1H), 1.35 (d, J=6.9Hz, 3H), 1.27 (t, J=15.0Hz, 6H), 1.16 (d, J=6.2Hz, 6H)。<sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 173.7, 173.1, 173.0, 169.2, 161.1, 151.2, 151.1, 150.6, 130.1, 125.1, 120.6, 120.5, 101.9, 101.6, 99.8, 80.2, 72.1, 71.9, 68.5, 65.1, 64.9, 50.3, 41.0, 36.3, 22.4, 22.3, 21.9, 21.8, 20.3, 20.2, 17.2, 16.9。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO) δ 3.83 (s) ESI-MS: m/z [M+H]<sup>+</sup> = 705。

[0131] 方法B:

[0132]



[0133] 步骤一: 将5.0g (9.5mmol) 化合物III-1溶于25mL无水N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 在Ar保护下依次加入1.6g (23.5mmol) 咪唑, 0.12g (1.0mmol) 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 以及1.6mL (9.5mmol) 三乙基氯硅烷 (TESCl)。在室温下搅拌反应约10小时, TLC检测反应完全。然后往反应体系中加入7mL 37% HCHO溶液, 加热至80度搅拌反应1小时。冷却至室温, 加入80mL乙酸乙酯, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 分离有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩, 得无色油状物VII-1, 不经纯化直接用于下一步。

[0134] 步骤二: 将上一步新鲜所得的产物VII-1溶于40mL无水二氯甲烷 (DCM) 中, 在氩气保护下冰浴冷却, 依次加入62mg (0.5mmol) 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 和2.36g (12.3mmol) 1-乙基-(3-二甲氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐 (EDC HCl), 及6.1g (11.4mmol) 化合物VIII-A-1, 慢慢升至室温并搅拌反应约12小时, TLC检测反应完全。加入100mL二氯甲烷, 依次用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤, 分离有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩。粗产物用二氯甲烷-正庚烷重结晶得8.5g白色固体产物IX-A-1, 收率70% (二步)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.57 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.35 (dd, J=17.2, 7.6Hz, 6H), 7.31-7.12 (m, 12H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.17 (d, J=18.4Hz, 1H), 6.04-5.87 (m, 2H), 5.68 (d, J=8.2Hz, 1H), 5.00 (dt, J=12.3, 6.2Hz, 1H), 4.60 (dd, J=11.4, 6.4Hz, 1H), 4.35 (q, J=6.9Hz, 1H), 4.29-4.20 (m, 2H), 4.15-4.08 (m, 1H), 4.02-3.85 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.71 (t, J=10.0Hz, 1H), 1.39-1.32 (m, 6H), 1.35 (s, 9H), 1.27 (d, J=11.9Hz, 3H), 1.23 (d, J=6.2Hz,

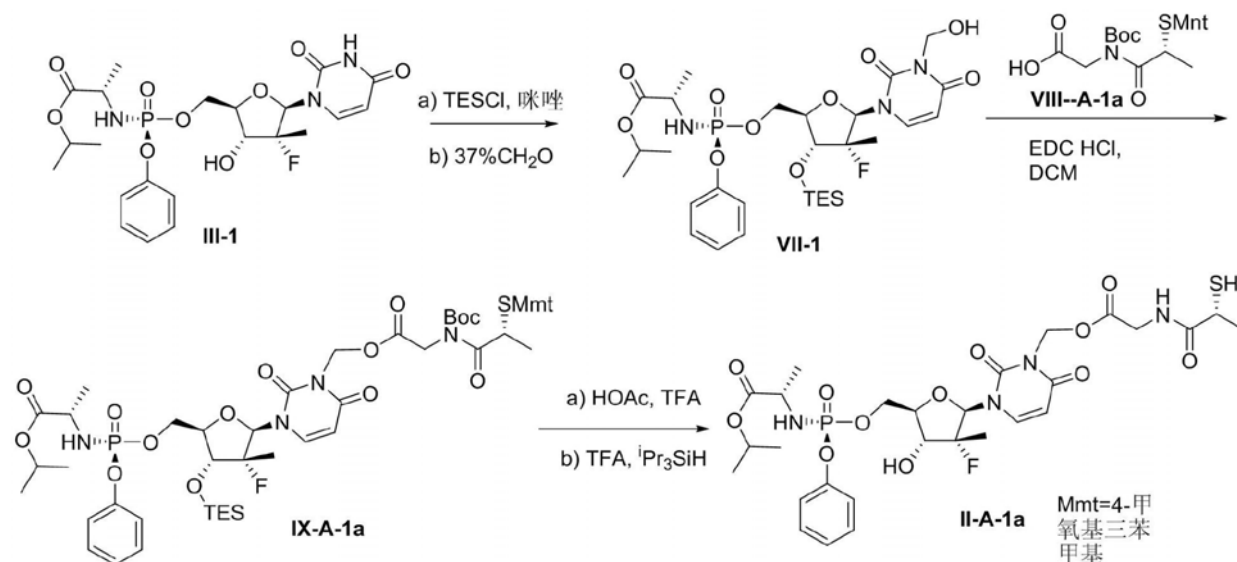
6H), 0.92 (s, 9H), 0.15 (s, 6H). ESI-MS:  $m/z$   $[M+H]^+ = 1191$ .

[0135] 步骤三: 将7.5g (6.3mmol) 化合物IX-A-1溶于50%水-丙酮(20mL)混合溶液中, 加入30mL冰醋酸(HOAc)及6mL三氟乙酸(TFA), 室温下搅拌反应约6小时, 至TLC检测不到剩余原料。减压旋蒸除去丙酮、水, 然后依次加入60mL二氯甲烷, 9mL三氟乙酸(TFA), 6.5mL三异丙基硅烷( $i\text{-Pr}_3\text{SiH}$ ), 在室温下继续反应约15分钟, TLC检测反应完全, 小心加入饱和碳酸氢钠水溶液萃灭反应。加入100mL二氯甲烷, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 分离有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩得粗产物。用乙酸乙酯-石油醚重结晶得3.9g白色固体II-A-1, 收率88%。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  8.43 (t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 1H), 7.68 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.39 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.30-7.14 (m, 3H), 6.14-5.96 (m, 2H), 5.90 (d,  $J=4.9\text{Hz}$ , 1H), 5.84 (d,  $J=9.6\text{Hz}$ , 1H), 5.81 (d,  $J=9.6\text{Hz}$ , 1H), 5.74 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 4.87 (dt,  $J=12.4, 6.2\text{Hz}$ , 1H), 4.47-4.34 (m, 1H), 4.29-4.20 (m, 1H), 4.08-4.01 (m, 1H), 3.94-3.76 (m, 4H), 3.57-3.46 (m, 1H), 2.82 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 1.35 (d,  $J=6.9\text{Hz}$ , 3H), 1.27 (t,  $J=15.0\text{Hz}$ , 6H), 1.16 (d,  $J=6.2\text{Hz}$ , 6H). ESI-MS:  $m/z$   $[M+H]^+ = 705$ .

[0136] 将重结晶母液浓缩, 残余物使用硅胶柱层析纯化得到少量白色固体II-A-9,  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.51 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.35 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.20 (dd,  $J=14.5, 7.5\text{Hz}$ , 3H), 6.19 (brs, 1H), 6.07 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.99 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.72 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 5.00 (dt,  $J=12.5, 6.2\text{Hz}$ , 1H), 4.59-4.39 (m, 2H), 4.37-4.22 (m, 2H), 4.14 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.99-3.85 (m, 3H), 3.65-3.58 (m, 1H), 1.48 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 1H), 1.42-1.36 (m, 3H), 1.38-1.26 (m, 6H), 1.24 (d,  $J=6.2\text{Hz}$ , 6H). ESI-MS:  $m/z$   $[M+H]^+ = 705$ . ESI-MS:  $m/z$   $[M+H]^+ = 705$ .

[0137] 实施例2: 化合物II-A-1a的合成

[0138]



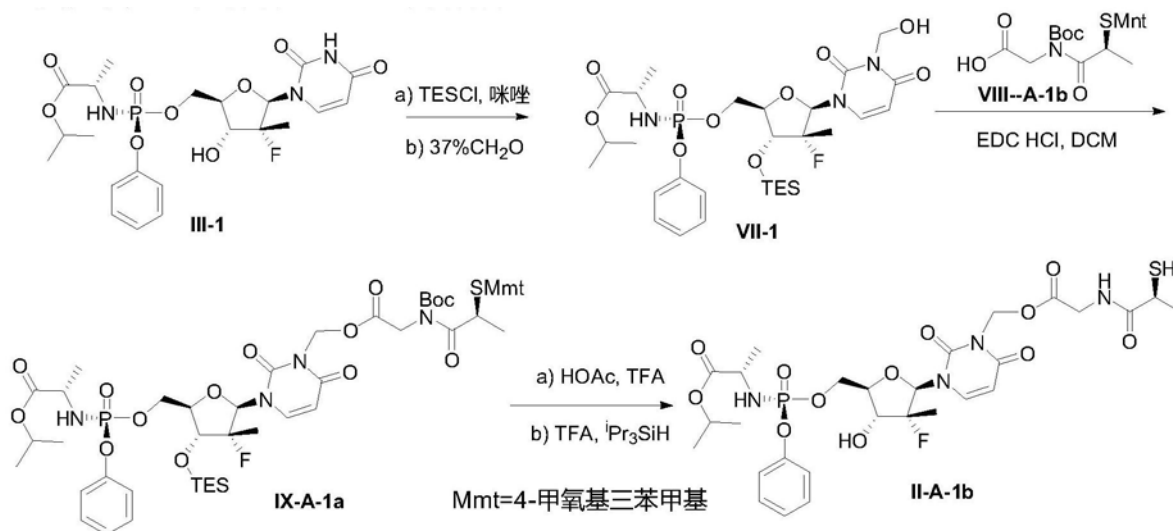
[0139] 依实施例1中方法B步骤一新鲜制得化合物VII-1 (3mmol 化合物III-1为起始原料), 溶于12mL无水二氯甲烷(DCM)中, 在氩气保护下冰浴冷却, 依次加入18mg (0.15mmol) 4-二甲氨基吡啶(DMAP)和0.75g (3.9mmol) 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC HCl), 及1.93g (3.6mmol) 化合物VIII-A-1a (由手性硫普罗宁制备得到, R构型手性纯度95%, 分析方法: AD-H柱温: 25C; 检测波长: 210nm; 流速: 1.0ml/min; 流动相: n-Hex: EtOH:

TFA=90:10:0.1等度洗脱),然后慢慢升至室温并搅拌反应约12小时,TLC检测反应完全。加入30mL二氯甲烷,依次用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤,分离有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后减压浓缩。粗产物用二氯甲烷-正庚烷重结晶得8.7g白色固体产物IX-A-1a,收率73%。

[0140] 将2.1g (1.76mmol) 化合物IX-A-1a溶于50%水-丙酮(5mL)混合溶液中,加入8mL冰醋酸(HOAc)及2mL三氟乙酸(TFA),室温下搅拌反应约6小时,至TLC检测不到剩余原料。减压旋蒸除去丙酮、水,然后依次加入15mL二氯甲烷,3mL三氟乙酸(TFA),2.2mL三异丙基硅烷( $i\text{-Pr}_3\text{SiH}$ ),在室温下继续反应约15分钟,TLC检测反应完全,小心加入饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应。加入30mL二氯甲烷,依次用水、饱和食盐水洗涤,分离有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后减压浓缩得粗产物。用乙酸乙酯-石油醚重结晶得1.7g白色固体II-A-1a,收率86%。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+$  = 705。

[0141] 实施例3:化合物II-A-1b的合成

[0142]

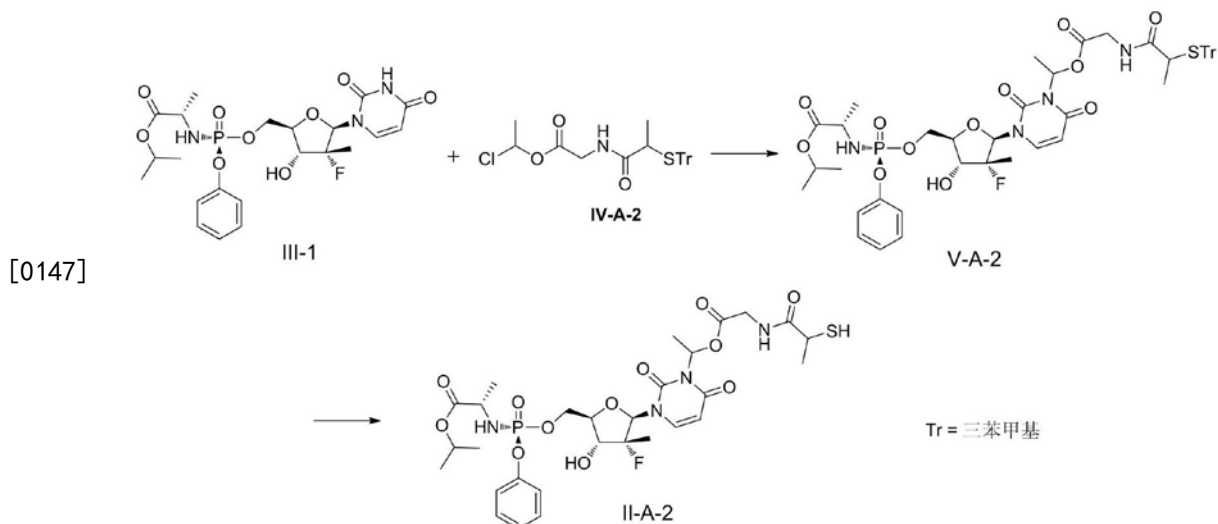


[0143] 依据实施例1方法B中步骤一、步骤二,以VIII-A-1b(由手性硫普罗宁制备得到,S构型手性纯度97%,分析方法:AD-H柱温:25C;检测波长:210nm;流速:1.0ml/min;流动相:n-Hex:EtOH:TFA=90:10:0.1等度洗脱)代替VIII-A-1a,以5.3g (10mmol) 化合物III-1可制备得2.57g中间体IX-A-1b,收率72%(二步)。

[0144] 依据实施例1方法B中步骤三,化合物IX-A-1b (2.9mmol) 继续脱去保护基,可制备得1.04g白色固体产物II-A-1b,收率84%。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+$  = 705。

[0145] 实施例4:化合物II-A-2的合成

[0146] 方法A:

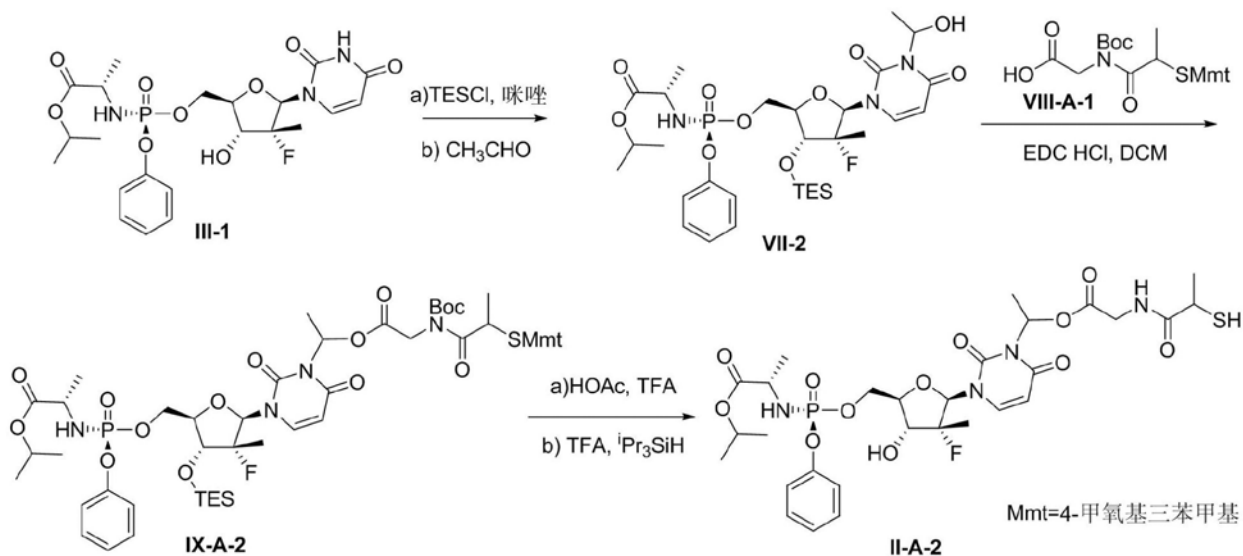


[0148] 步骤一：将529mg (1.0mmol) III-1溶于10mL无水丙酮中，室温下加入680mg (1.5mmol) IV-A-2及碳酸钾414mg (3.0mmol)，加热搅拌回流6h，TLC检测反应完全。过滤，滤液用二氯甲烷(30mL)稀释，依次用水(10mL)及饱和食盐水(10mL)洗涤，分离有机相，无水硫酸钠干燥后过滤，减压浓缩除去溶剂。剩余物硅胶柱层析纯化得306mg白色固体V-A-2。ESI-MS： $m/z$   $[M+H]^+$  = 961。

[0149] 步骤二：将200mg (0.21mmol) V-A-2溶于10mL无水二氯甲烷中，室温下加入2mL (体积比：二氯甲烷/三异丙基硅烷/三氟乙酸=5/1/1) 溶液，反应约1h，TLC检测反应完全，小心加入饱和碳酸氢钠溶液，分离有机相用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后减压浓缩。剩余物硅胶柱层析纯化得到100mg白色固体II-A-2，收率67%。 $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  9.64 (s, 1H), 7.50 (dd,  $J=8.1, 2.3$ Hz, 1H), 7.36 (t,  $J=7.8$ Hz, 2H), 7.30-7.22 (m, 3H), 7.19 (d,  $J=7.6$ Hz, 1H), 6.65 (q,  $J=6.5$ Hz, 1H), 6.19 (d,  $J=17.9$ Hz, 1H), 5.10-4.94 (m, 1H), 4.52 (dd,  $J=11.4, 5.7$ Hz, 1H), 4.39-4.21 (m, 3H), 4.22-4.05 (m, 2H), 3.98 (tt,  $J=11.5, 5.8$ Hz, 1H), 3.57-3.45 (m, 1H), 2.17 (dd,  $J=8.5, 2.2$ Hz, 1H), 1.86 (d,  $J=6.5$ Hz, 3H), 1.56 (dd,  $J=7.1, 1.0$ Hz, 3H), 1.37 (dd,  $J=14.8, 7.5$ Hz, 6H), 1.27 (s, 1H), 1.25 (d,  $J=6.3$ Hz, 6H)。ESI-MS： $m/z$   $[M+H]^+$  = 719。

[0150] 方法B：

[0151]

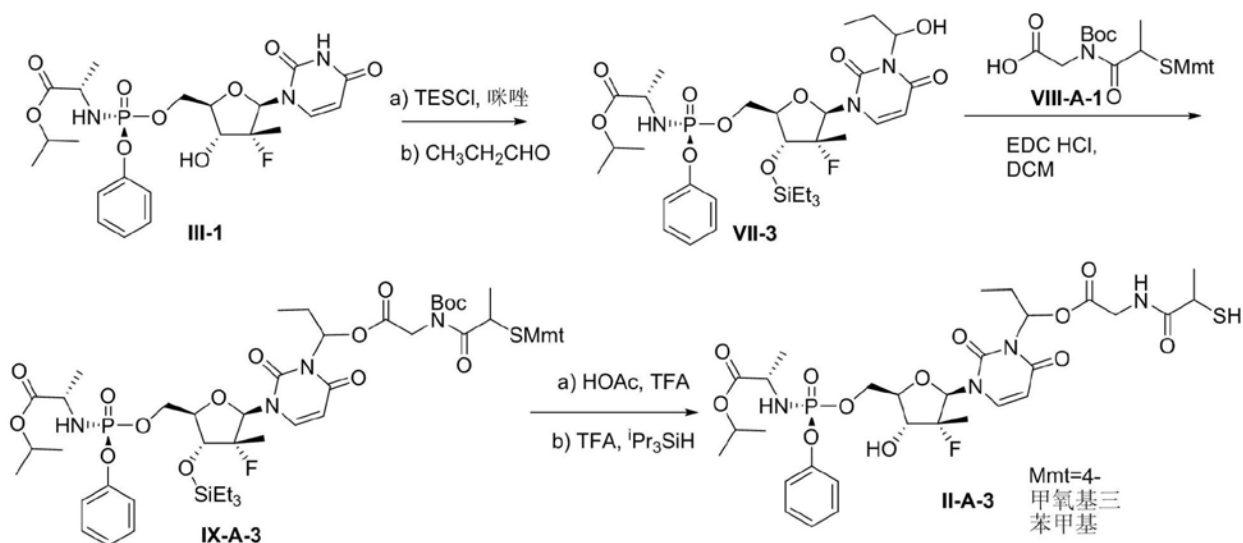


[0152] 依据实施例1方法B步骤一、步骤二,以乙醛代替甲醛,以5.3g (10mmol) 化合物III-1可制备得4.6g中间体IX-A-2,收率38% (二步)。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=1205。

[0153] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-A-2 (2.9mmol) 继续脱去保护基,可制备得1.7g白色固体产物II-A-2,收率82%。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=719。

[0154] 实施例5:化合物II-A-3的合成

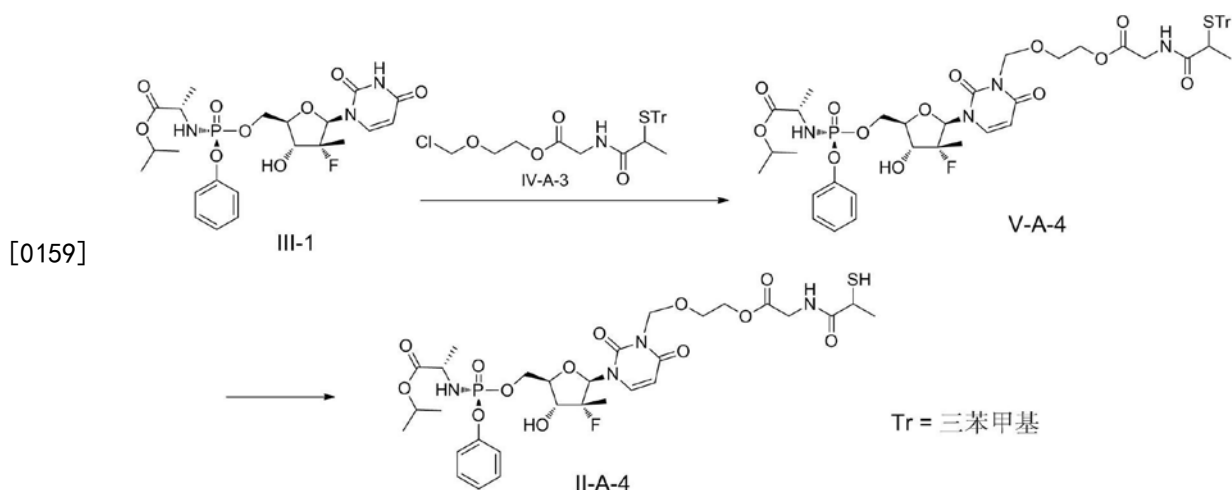
[0155]



[0156] 依据实施例1方法B步骤一、步骤二,以丙醛代替甲醛,以2.65g (5mmol) 化合物III-1可制备得2g中间体IX-A-3,收率33% (二步)。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=1219。

[0157] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-A-3 (0.8mmol) 继续脱去保护基,可制备得445mg白色固体产物II-A-3,收率76%。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=733。

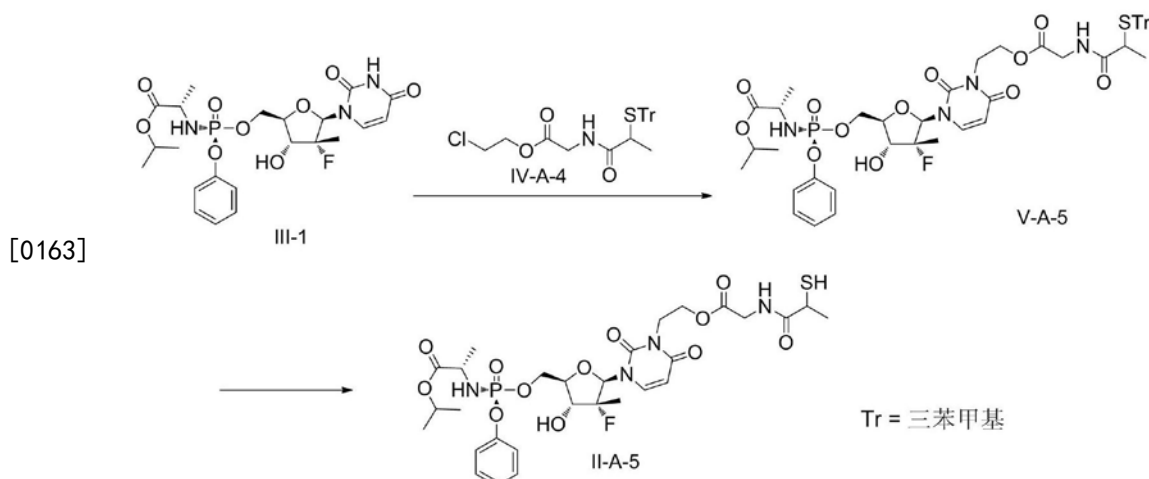
[0158] 实施例6:化合物II-A-4的合成



[0160] 步骤一：将529mg (1.0mmol) III-1溶于10mL无水丙酮中，室温下加入690mg IV-A-3及碳酸钾414mg (3.0mmol)，加热搅拌回流6h，TLC检测反应完全。过滤，滤液用二氯甲烷(30mL)稀释，依次用水(10mL)及饱和食盐水(10mL)洗涤，分离有机相，无水硫酸钠干燥后过滤，减压浓缩除去溶剂。剩余物硅胶柱层析纯化得300mg V-A-4，直接用于下一步反应。

[0161] 步骤二：将200mg (0.21mmol) V-A-4溶于10mL无水二氯甲烷中，室温下加入2mL(体积比：二氯甲烷/三异丙基硅烷/三氟乙酸=5/1/1)溶液，反应约1h，TLC检测反应完全，小心加入饱和碳酸氢钠溶液，分离有机相用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后减压浓缩。剩余物硅胶柱层析纯化得到100mg白色固体II-A-4。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC13)  $\delta$  9.62 (s, 1H), 7.46 (dd, J=8.1, 2.2Hz, 1H), 7.34 (t, J=7.8Hz, 2H), 7.29-7.22 (m, 3H), 7.19 (d, J=7.4Hz, 1H), 6.16 (d, J=18.1Hz, 1H), 5.64-5.53 (m, 1H), 5.37-5.17 (m, 1H), 5.08-4.93 (m, 1H), 4.53 (dd, J=11.4, 5.5Hz, 1H), 4.38-4.20 (m, 3H), 4.40-4.08 (m, 6H), 3.97 (tt, J=11.7, 5.9Hz, 1H), 3.57-3.43 (m, 1H), 2.17 (dd, J=8.4, 2.2Hz, 1H), 1.55 (dd, J=7.1, 1.0Hz, 3H), 1.38 (dd, J=14.8, 7.7Hz, 6H), 1.27 (s, 1H), 1.24 (d, J=6.3Hz, 6H)。ESI-MS: 749 (M+1)。

[0162] 实施例7：化合物II-A-5的合成

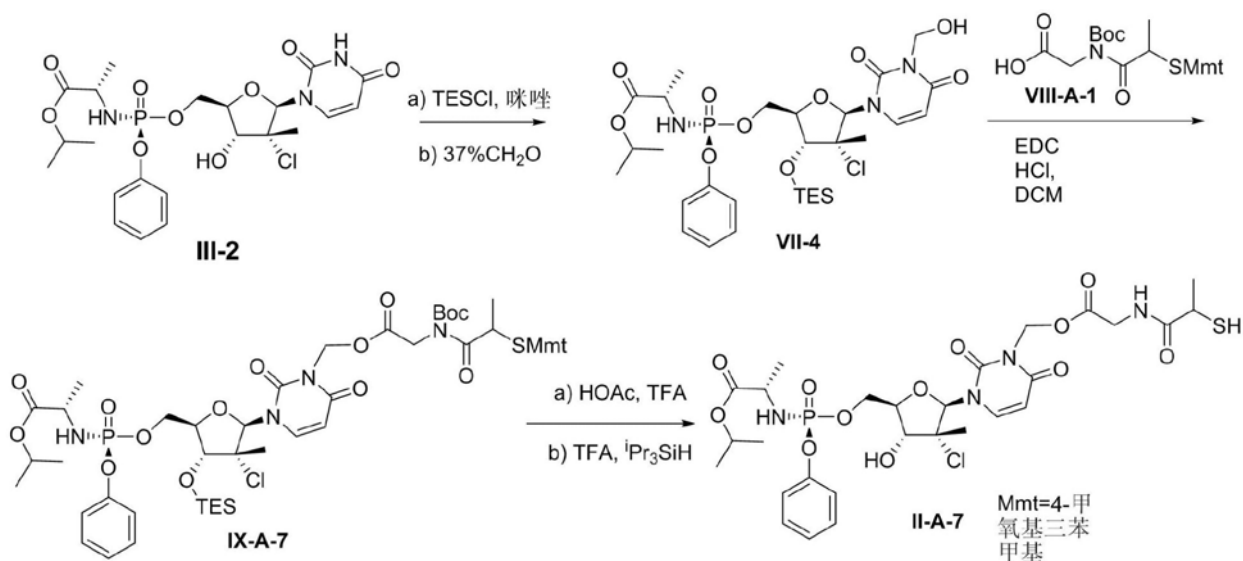


[0164] 步骤一：将529mg (1.0mmol) III-1溶于10mL无水丙酮中，室温下加入800mg IV-A-4及碳酸钾414mg (3.0mmol)，加热搅拌回流12h，TLC检测反应完全。过滤，滤液用二氯甲烷(30mL)稀释，依次用水(10mL)及饱和食盐水(10mL)洗涤，分离有机相，无水硫酸钠干燥后过滤，减压浓缩除去溶剂。剩余物硅胶柱层析纯化得400mg V-A-5，直接用于下一步反应。

[0165] 步骤二:将200mg (0.21mmol) V-A-5溶于10mL无水二氯甲烷中,室温下加入2mL (体积比:二氯甲烷/三异丙基硅烷/三氟乙酸=5/1/1) 溶液,反应约1h,TLC检测反应完全,小心加入饱和碳酸氢钠溶液,分离有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤后减压浓缩。剩余物硅胶柱层析纯化得到100mg白色固体II-A-5。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.66 (s, 1H), 7.44 (dd, J=7.9, 2.1Hz, 1H), 7.32 (t, J=7.8Hz, 2H), 7.28-7.20 (m, 3H), 7.16 (d, J=7.5Hz, 1H), 6.13 (d, J=17.6Hz, 1H), 5.15-5.03 (m, 1H), 4.60 (t, J=7.5Hz, 2H), 4.55 (dd, J=11.5, 5.7Hz, 1H), 4.48-4.25 (m, 3H), 4.23-4.09 (m, 2H), 3.95 (tt, J=11.8, 5.8Hz, 1H), 3.59-3.42 (m, 1H), 3.25 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.16 (dd, J=8.4, 2.2Hz, 1H), 1.54 (dd, J=7.1, 1.0Hz, 3H), 1.39 (dd, J=14.7, 7.6Hz, 6H), 1.28 (s, 1H), 1.25 (d, J=6.5Hz, 6H)。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=719。

[0166] 实施例8:化合物II-A-7的合成

[0167]



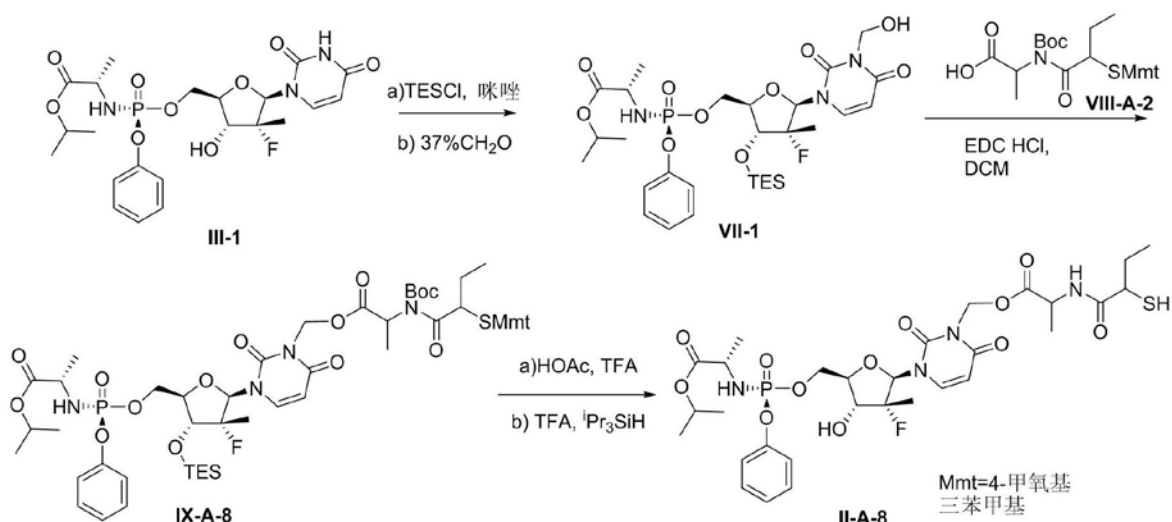
[0168] 依据实施例1方法B步骤一、步骤二,仅以III-2代替III-1,以1.1g (2mmol) 化合物III-2可制备得无色油状物IX-A-7,收率71% (两步)。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=1207。

[0169] 依据实施例1方法B步骤三,0.79g化合物IX-A-7 (0.65mmol) 继续脱去保护基,可制备得白色固体产物II-A-7,收率83%。ESI-MS:m/z [M+H]<sup>+</sup>=721。

[0170] 实施例9:化合物II-A-8的合成



[0171]

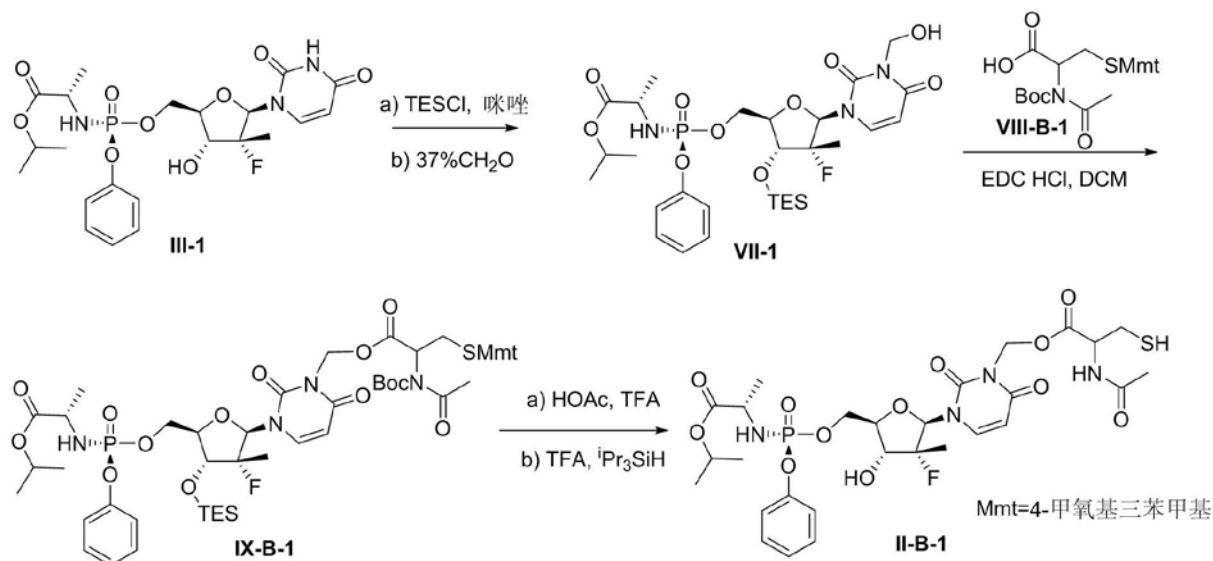


[0172] 依据实施例1方法B步骤一,步骤二,以VIII-A-2代替VIII-A-1,从而以1.6g (3mmol) 化合物III-1可制备得1.29g中间体IX-A-8,收率65% (二步)。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 1219$ 。

[0173] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-A-8 (0.8mmol) 继续脱去保护基,可制备得0.5g白色固体产物II-A-8,收率83%。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 733$ 。

[0174] 实施例10:化合物II-B-1的合成

[0175]

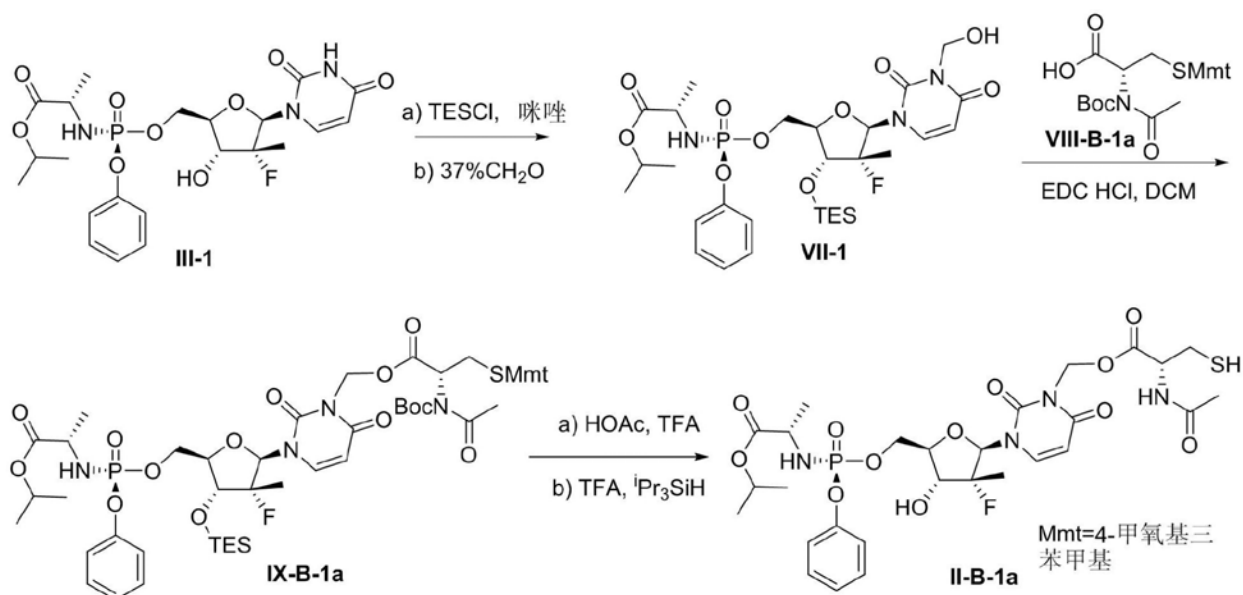


[0176] 依据实施例1方法B,步骤二中以VIII-B-1 (由(DL)-N-乙酰半胱氨酸制备获得) 代替VIII-1,以2.1g (4mmol) 化合物III-1可制备得3.38g中间体IX-B-1,收率71% (二步)。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 1191$ 。

[0177] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-B-1 (2mmol) 继续脱去保护基,可制备得1.17g白色固体产物II-B-1,收率83%。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 705$ 。

[0178] 实施例11:化合物II-B-1a的合成

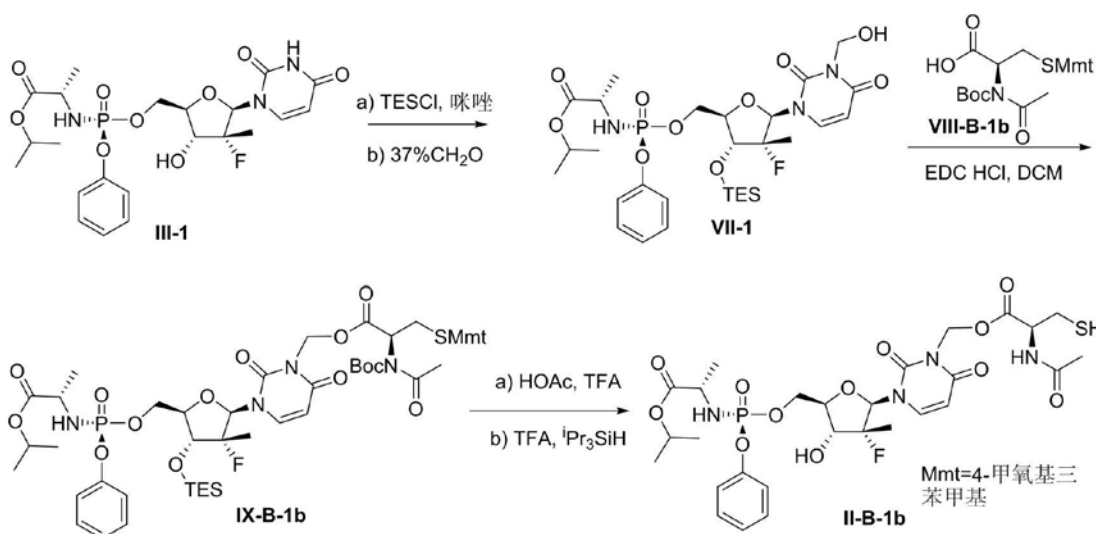
[0179]



[0180] 依据实施例1方法B,步骤二中以VIII-B-1a(由L-乙酰半胱氨酸制备获得,手性纯度>99%)代替VIII-1,以2.65g(5mmol)化合物III-1可制备得中间体IX-B-1a,收率67%(二步)。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 1191$ 。

[0181] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-B-1a(2.1mmol)继续脱去保护基,可制备得1.2g白色固体产物II-B-1a,收率85%。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 705$ 。

[0182] 实施例12:化合物II-B-1b的合成



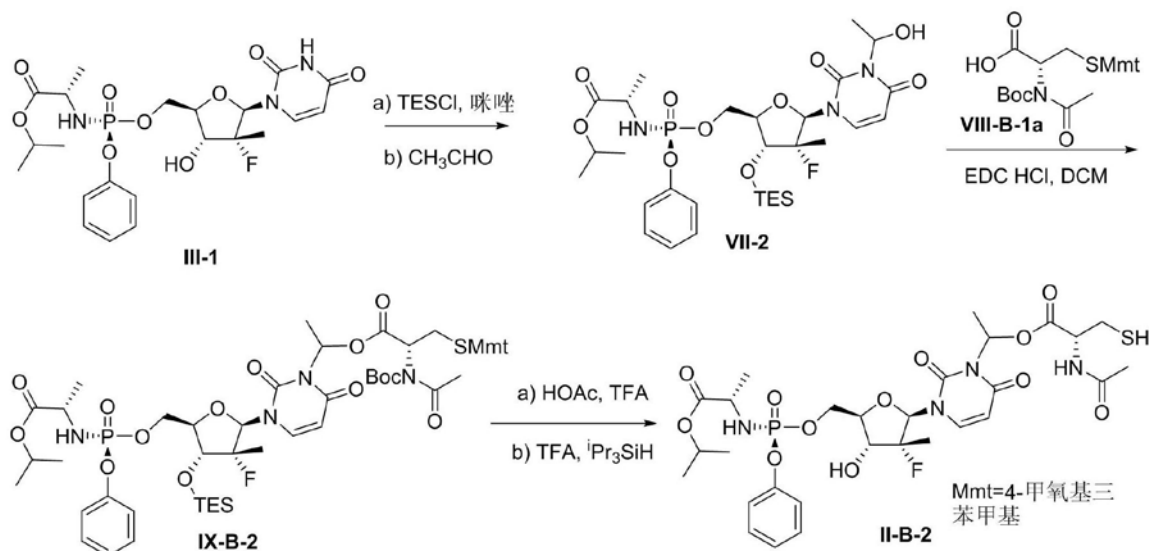
[0183]

[0184] 依据实施例1方法B,步骤二中以VIII-B-1b(由D-半胱氨酸制备获得,手性纯度95%)代替VIII-1,以2.65g(5mmol)化合物III-1可制备得4.2g中间体IX-B-1b,收率70%(二步)。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 1191$ 。

[0185] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-B-1b(2.1mmol)继续脱去保护基,可制备得1.2g白色固体产物II-B-1b,收率81%。ESI-MS: $m/z$   $[M+H]^+ = 705$ 。

[0186] 实施例13:化合物II-B-2的合成

[0187]

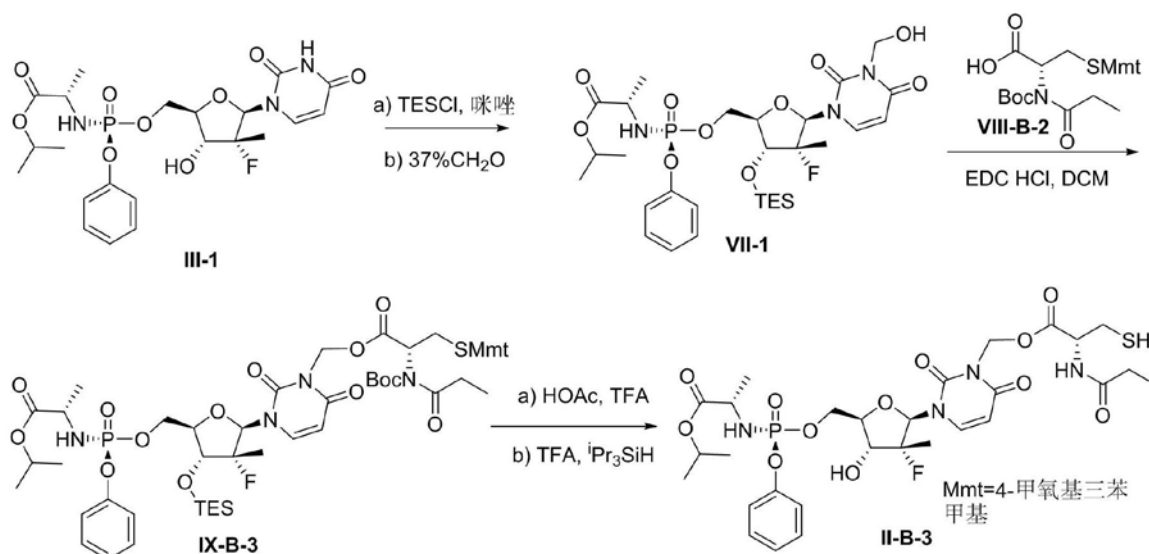


[0188] 依据实施例1方法B步骤一,以乙醛代替甲醛,依据实施例1方法B步骤二,以VIII-B-1a(由L-乙酰半胱氨酸制备获得,手性纯度>99%)代替VIII-1,从而以1.6g(3mmol)化合物III-1可制备得1.3g中间体IX-B-2,收率36%(二步)。ESI-MS:m/z[M+H]<sup>+</sup>=1205。

[0189] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-B-2(1mmol)继续脱去保护基,可制备得0.57g白色固体产物II-B-2,收率79%。ESI-MS:m/z[M+H]<sup>+</sup>=719。

[0190] 实施例14:化合物II-B-3的合成

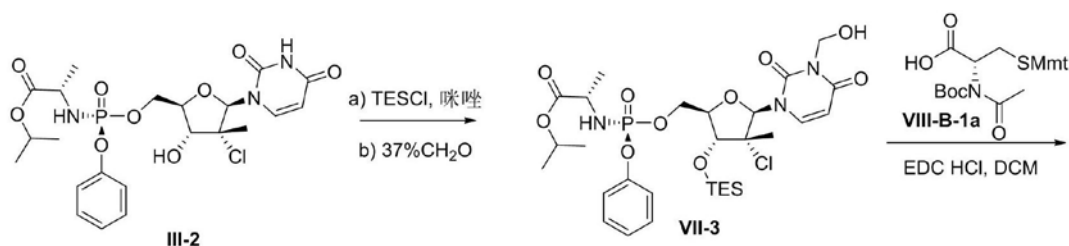
[0191]



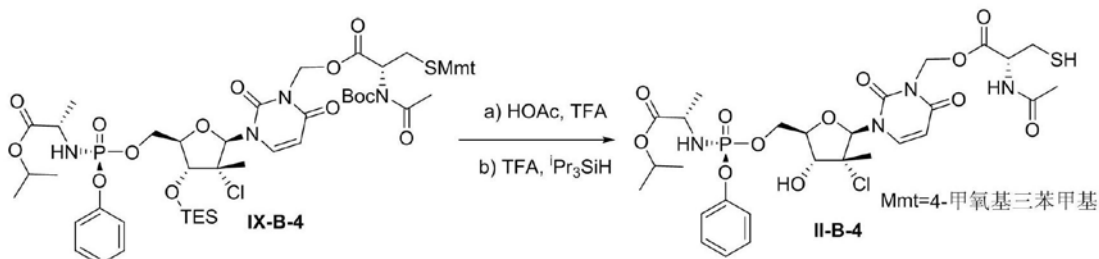
[0192] 依据实施例1方法B步骤一,步骤二,以VIII-B-2(由L-乙酰半胱氨酸制备获得,手性纯度>99%)代替VIII-1,从而以1.6g(3mmol)化合物III-1可制备得中间体IX-B-3,收率76%(二步)。ESI-MS:m/z[M+H]<sup>+</sup>=1205。

[0193] 依据实施例1方法B步骤三,化合物IX-B-3(1mmol)继续脱去保护基,可制备得0.57g白色固体产物II-B-3,收率82%。ESI-MS:m/z[M+H]<sup>+</sup>=719。

[0194] 实施例15:化合物II-B-4的合成



[0195]



[0196] 依据实施例1方法B中步骤一,步骤二,以III-2代替III-1,并以VIII-B-1a(由L-乙酰半胱氨酸制备获得,手性纯度>99%)代替VIII-1,以1.6g(3mmol)化合物III-2可制备得2.64g中间体IX-B-4,收率72%(二步)。ESI-MS: $m/z [M+H]^+ = 1207$ 。

[0197] 依据实施例6步骤三,化合物IX-B-4(1.5mmol)继续脱去保护基,可制备得0.93g白色固体产物II-B-4,收率84%。ESI-MS: $m/z [M+H]^+ = 721$ 。

[0198] 实施例16:抗丙肝病毒活性(HCV,  $EC_{50}$ )以及细胞毒性( $CC_{50}$ )

[0199] 由于缺乏理想的HCV体外感染细胞和动物模型,一般情况下,HCV病毒活性评价会采用HCV RNA复制中起关键作用的酶建立细胞外的分子复制模型。

[0200] 实验方法:

[0201] 在含有10%胎牛血清、1X非必需氨基酸、Pen-Strep-Glu、G418的DMEM培养基中,培养含HCV-复制子(1b基因型)的Huh7细胞。抗病毒筛选测试在不含G418的不同培养基中进行。细胞接种于96孔板,接种细胞后立即加入试验的化合物,并在培养箱中37℃孵育。然后除去培养基,细胞用于全核酸提取(包括复制子RNA和宿主RNA)。在Q-RT-PCR方案中可放大复制子RNA,并相应定量。所观察到的复制子HCV RNA与未处理对照组的水平差异作为试验化合物抗病毒效力的方式,其结果见表1。

[0202] 表1化合物的抗丙肝病毒活性(HCV,  $EC_{50}$ )以及细胞毒性( $CC_{50}$ )结果

[0203]

化合物编号	EC <sub>50</sub> (μM)	CC <sub>50</sub> (μM)	治疗系数 (CC <sub>50</sub> /EC <sub>50</sub> )
Sofosbuvir	0.18	> 50	> 277
硫普罗宁	>100	> 50	/
II-A-1	0.11	> 50	> 455
II-A-1a	0.12	> 50	> 416
II-A-1b	0.14	> 50	> 357
II-A-2	0.09	> 50	> 555
II-A-4	0.17	> 50	> 294
II-A-5	0.14	> 50	> 357
II-A-8	0.25	> 50	> 200
II-B-1	0.20	> 50	> 250
II-B-1a	0.15	> 50	> 333
II-B-2	0.31	> 50	> 161
II-B-4	0.17	> 50	> 284

[0204] 化合物对细胞内HCV复制子1b的抑制活性 (EC<sub>50</sub>) 的结果作为评价其抗丙肝病毒活性,而同时细胞毒活性 (CC<sub>50</sub>) 的同步测试用于排除由于细胞毒性造成的假阳性结果。治疗指数越高,代表化合物越有应用前景。结果表明,本发明提供的化合物表现出与Sofosbuvir相似或者更优的活性和治疗指数,以II-A-1、II-A-1a、II-A-1b、II-A-2为例,其对细胞内HCV复制子的抑制活性 (EC<sub>50</sub>) 均强于比阳性对照Sofosbuvir,表明该化合物在肝细胞内可与Sofosbuvir一样能够在细胞内快速降解成为活性代谢产物的形式发挥抗HCV的作用,此外,分子中降解得到的另一份子硫普罗宁对于抗病毒活性有一定的增益作用,而这种协同效应使本发明提供的化合物,在抗HCV疾病方面更具有应用前景。

[0205] 实施例17:小鼠CC14肝损模型的保护作用研究

[0206] 实验方法:取体重24~28g的雄性小鼠实验前,禁食不禁水6小时,按体重随机分成3组,每组5只小鼠,分设空白对照组、CCL<sub>4</sub>组、化合物组(硫普罗宁50mg/kg、试验化合物200mg/kg)。每12h灌胃给药1次,每次灌胃容量均为10mL/kg,共给药4次。空白对照组和模型对照组同时灌服等容量的生理盐水。在第三次给药后1h,除空白对照组小鼠外,其它两组小鼠按2mg/kg b.w的CC14腹腔注射50%CC14玉米油溶液。于12小时后,各组再给药1次。于24小时后,各鼠取血,测定血清ALT和AST(表2),取肝脏切小块,甲醛固定后,石蜡切片,用苏木精和伊红染色,显微镜下观察肝细胞情况。

[0207] 表2本发明化合物的CC14肝损模型的保护作用研究结果

[0208]

组别	ALT (U/L)	AST (U/L)
空白	58.2	125.4

[0209]

CCl <sub>4</sub> 对照组	1423.2	1214.3
Sofosbuvir	1325.7	1185.2
硫普罗宁	689.3	733.8
II-A-1	617.5	690.2
II-A-1a	596.3	672
II-A-1b	620.5	701.5
II-A-2	560.7	656.3
II-A-4	701.5	677.8
II-A-5	596.2	702.3
II-B-1	725.6	833.1

[0210] 结果表明,CCl<sub>4</sub>模型组小鼠的ALT和AST异常升高,硫普罗宁能显著逆转这种升酶作用,相比较下,Sofosbuvir则没有这方面的活性。而本发明提供的化合物具有明显的降酶作用,活性与硫普罗宁相当或者更优。究其原因,可能是因为硫普罗宁的羧基被制成前药后,可提高了其稳定性和被口服吸收的能力,从而使其活性得到了增强。以II-A-1、II-A-a、II-A-2、II-A-5为例,其对CCl<sub>4</sub>诱导肝损伤导致ALT和AST升高作用,有明显的抑制活性,且优于阳性对照硫普罗宁。此外,肝脏组织病理切片观察结果为,CCl<sub>4</sub>模型组,肝中央静脉淤血,周围有小叶中央性或周围性坏死,肝细胞有肿胀、气球样变形,II-A-1、II-A-a、II-A-2、II-A-5等给药组呈现少量点状和碎片状坏死,大部分呈现气球样变形,显示由CCl<sub>4</sub>引起的毒性已大大减少,说明本发明涉及的化合物确实有保护CCl<sub>4</sub>引起的肝损作用。

[0211] 由于缺乏理想的HCV感染动物模型,直接评价本发明提供的化合物对HCV引起肝损伤的保护作用不可行,但理论上以及临床应用的角度来讲,本发明提供的化合物的保肝护肝的作用对于HCV引起的炎症反应同样具有保护作用。

[0212] 实施例18:药代动力学性质研究

[0213] 1实验材料

[0214] 1.1化合物

[0215] 使用以上实施例制备的本发明的化合物II-A-1、II-A-1a、II-A-1b、II-A-2、II-B-1、III-2A-1、III-2A-1a (30mg/kg,其核苷部分的量与索菲组一致),阳性对照药为索菲布韦(25mg/kg),将各化合物加至5%DMSO+60%PEG400+35%生理盐水,涡旋后制备成10mg/ml混悬液,用于灌胃给药。

[0216] GS331007购买自韶远科技(上海)有限公司。

[0217] 1.2实验动物和采样

[0218] 以SD大鼠为实验动物(体重180-220g),每个试验化合物6只SD大鼠,随机分成2组(灌胃组和静注组),每组3只。灌胃给药的尾静脉取血时间点为0.17,0.33,0.5,1,1.5,2,4,6,8,12,24小时;静脉给药取血时间点为0.05,0.1,0.17,0.5,1,2,4,6,8,12,24小时。取全血0.3ml,离心后取血浆0.1ml采用LC-MS进行分析。

[0219] 1.3仪器

[0220] Agilent 1200液相色谱系统,API4000QTRAP三重四极杆串联质谱仪

[0221] 1.4样品处理

[0222] 取30μl肝脏匀浆样品或标准曲线样品加入至100μl含内标(100ng/ml)的乙腈中,

涡旋2min后离心10min(6000转/min),将上清液转移至进样瓶中;

[0223] 取5 $\mu$ L上清液,进样,采用LC-MS/MS检测样品中GS331007的浓度。根据所得的肝匀浆药物浓度-时间数据,使用药代动力学计算软件WinNonlin6.2.1非房室模型分别计算各测试化合物的代谢物GS331007的药代动力学参数,结果见表3。

[0224] 表3 SD大鼠口服给药后主要药代动力学参数汇总

[0225]

化合物	给药剂量 (mg/kg)	GS331007			
		$C_{max}$ (ng/mL)	$T_{1/2}$ (h)	$AUC_{inf}$ (ng/h/mL)	F(%)
Sofosbuvir	25	326	2.28	1931	22.3
II-A-1	30	440	6.14	2960	75.5
II-A-1a	30	427	5.48	3260	58.3
II-A-1b	30	477	4.45	3550	68.5
II-A-2	30	358	5.23	2820	61.3
II-B-1	30	415	4.32	2060	50.2

[0226] 根据文献报道,其在体内的代谢途径,其中GS331007是最终代谢产物,是研究Sofosbuvir在体内生物利用度和代谢行为的标志物。化合物II-A-1、II-A-1a、II-A-1b、II-A-2、II-B-1在大鼠体内GS331007血药浓度和代谢行为表明,受试化合物的代谢产物GS331007血药浓度和曲线下面积与索菲布韦组大鼠体内GS331007的血药浓度相比有明显改善,换言之,本发明涉及的化合物在口服生物利用度方面改善明显。以化合物II-A-1、II-A-2、II-B-1为例,其口服生物利用度分别是索菲布韦的3.38、2.75、2.25倍。另外,II-A-1和II-A-2的其半衰期分别达到了6.14和6.23小时,分别为索菲布韦的2.95和2.51倍,其药时曲线更为缓和。因此,本发明涉及的化合物在药代动力学性质上优势明显,可进一步用于口服给药进行丙肝疾病的治疗。

[0227] 以上所述仅为本发明的较佳实施例,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均包含在本发明的保护范围之内。