



(10) 授权公告号 CN 115135383 B

(45) 授权公告日 2024.06.11

(21) 申请号 202180014070.0

M.R.米什 D.S.西格尔

(22) 申请日 2021.02.17

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 115135383 A

11105

专利代理师 许斐斐

(43) 申请公布日 2022.09.30

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

62/978,199 2020.02.18 US

A61K 31/675 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

C07F 9/6561 (2006.01)

C07H 7/06 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.08.11

(56) 对比文件

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/018410 2021.02.17

US 2015105341 A1, 2015.04.16

US 2015366887 A1, 2015.12.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/168004 EN 2021.08.26

WO 2015069939 A1, 2015.05.14

WO 2019053696 A1, 2019.03.21

芮耀诚等.《临床药物治疗学》.人民军医出版社,2001,第337页.

(73) 专利权人 吉利德科学公司

地址 美国加利福尼亚州

审查员 姜凯

(72) 发明人 D.H.拜恩 G.F.秦 M.O.克拉克

B.戈亚尔 P.詹萨 R.L.麦克曼

权利要求书14页 说明书146页

序列表(电子公布)

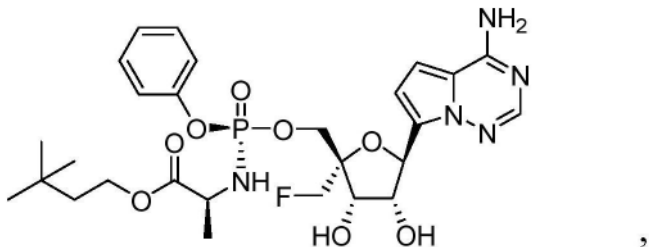
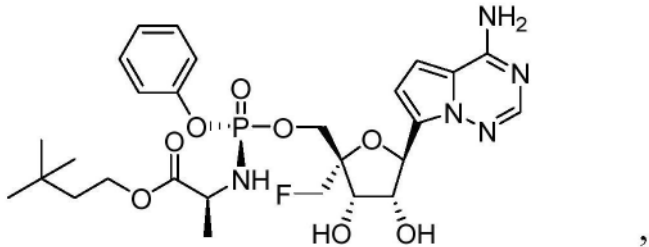
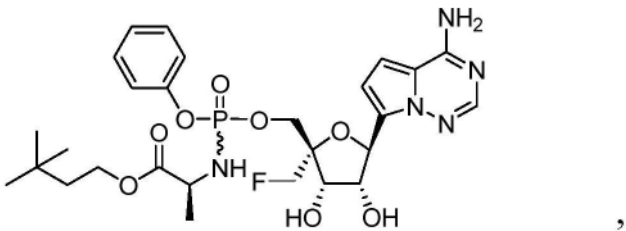
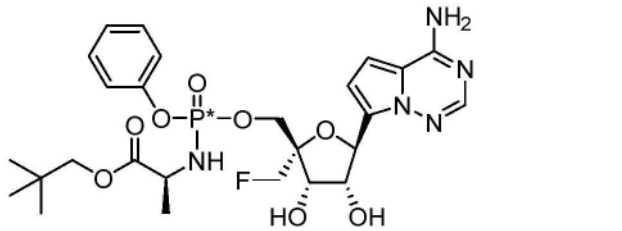
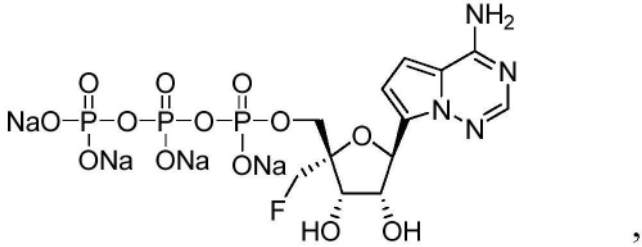
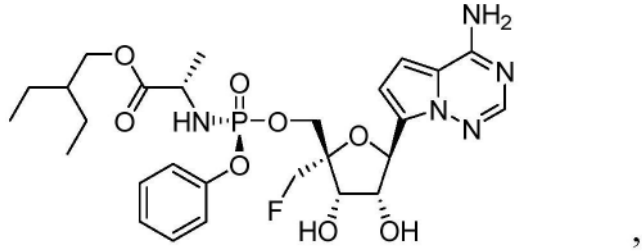
(54) 发明名称

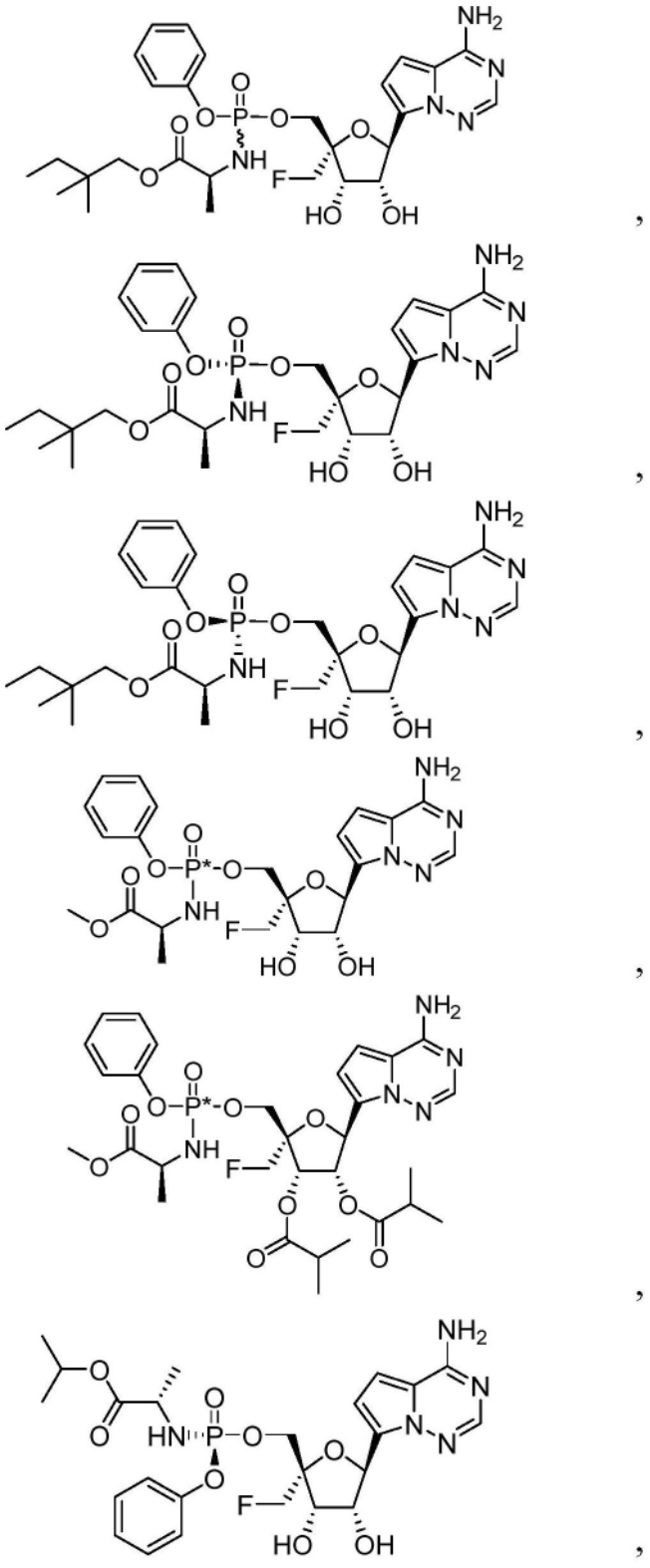
抗病毒化合物

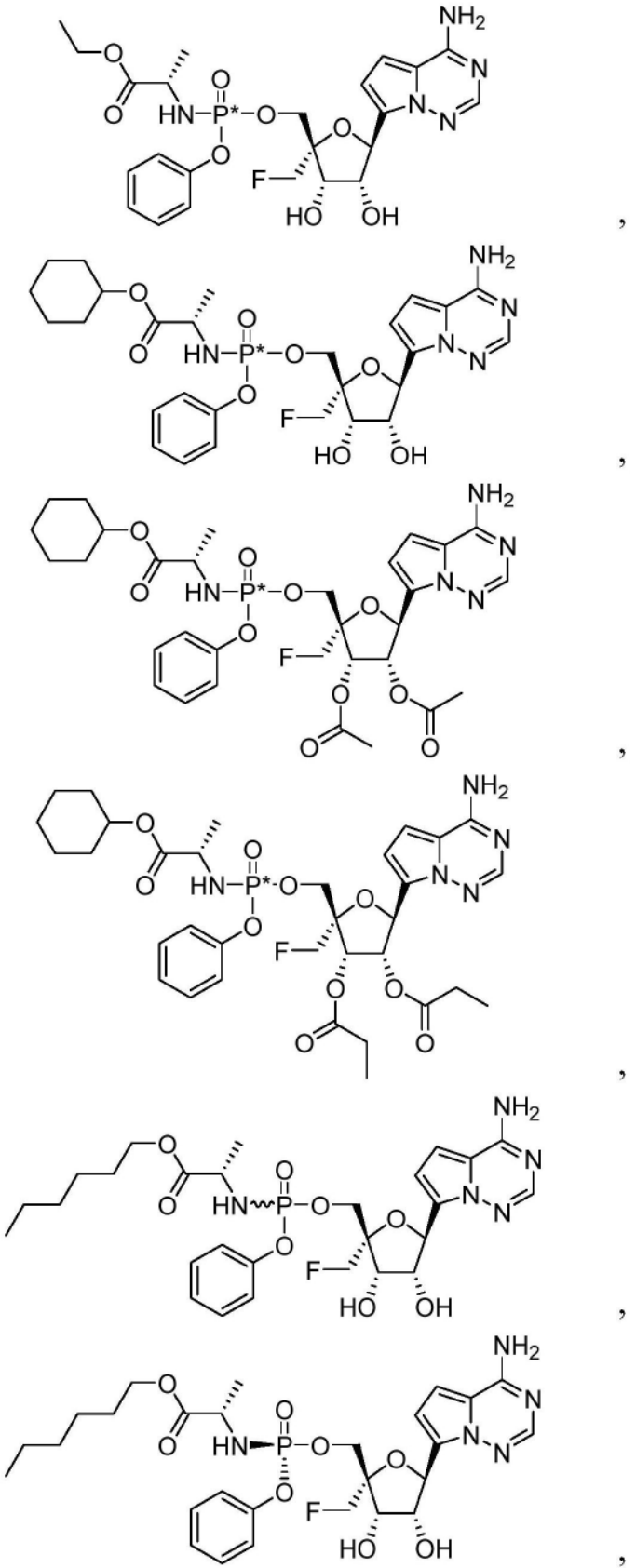
(57) 摘要

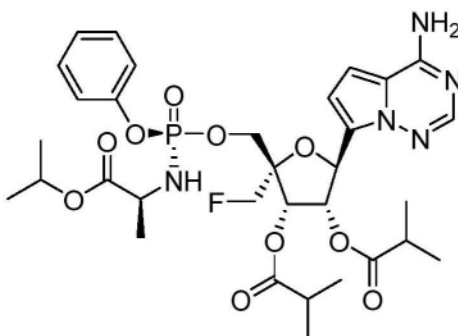
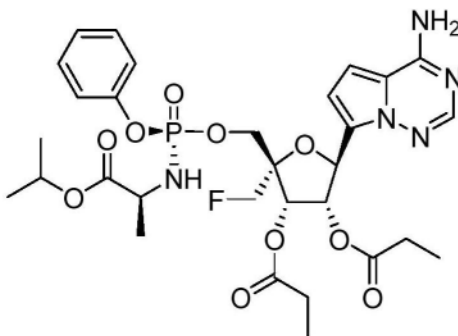
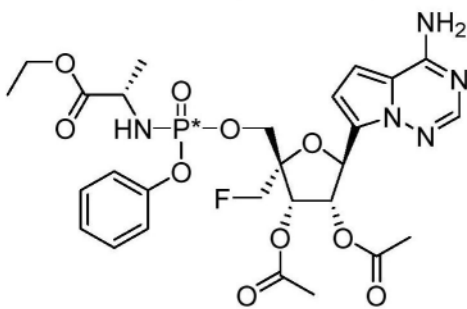
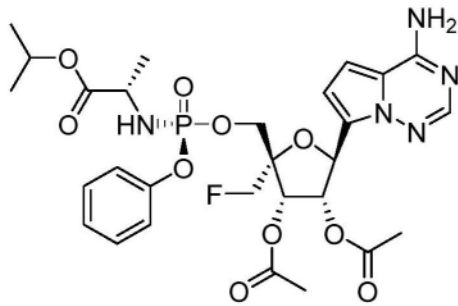
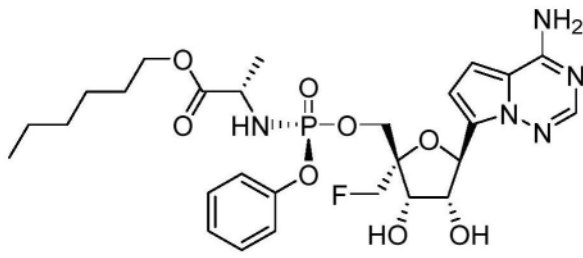
本公开描述了用于治疗包括登革热在内的病毒感染的4'-氟甲基核苷。

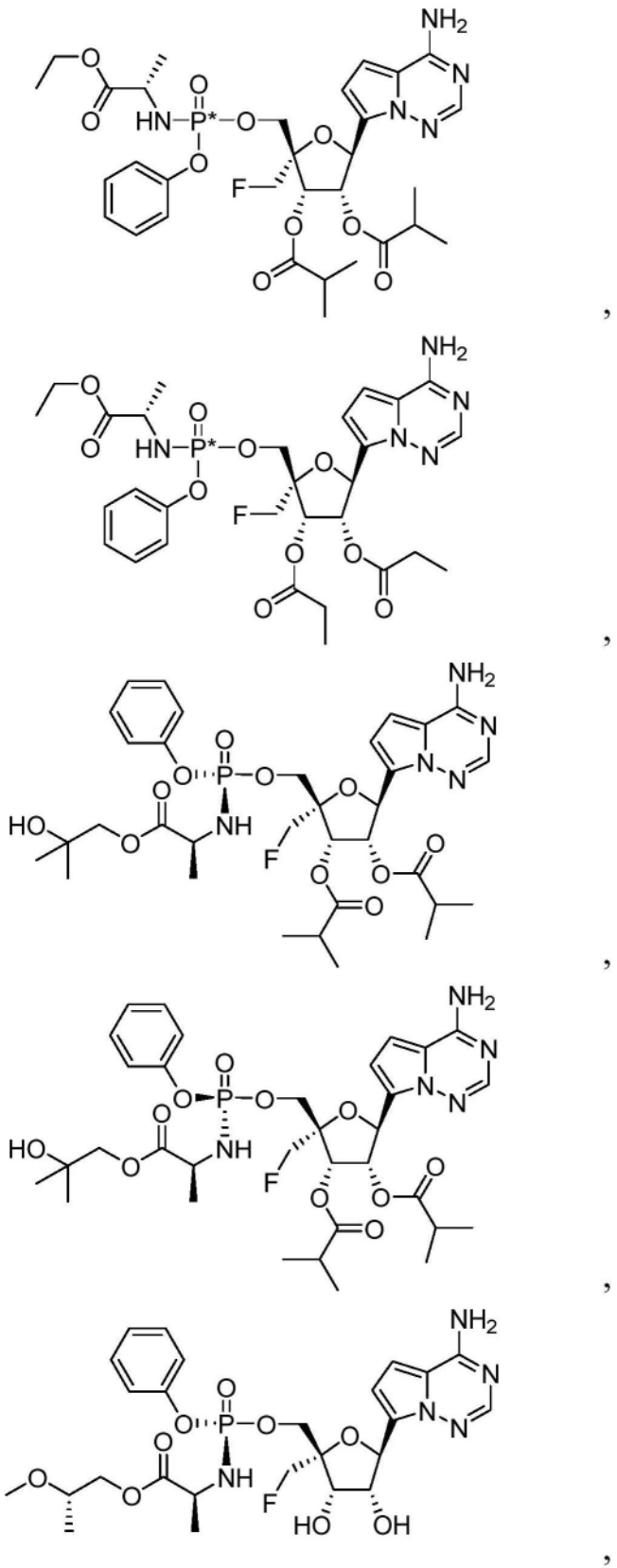
1. 化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物选自由以下的化合物组成的组:

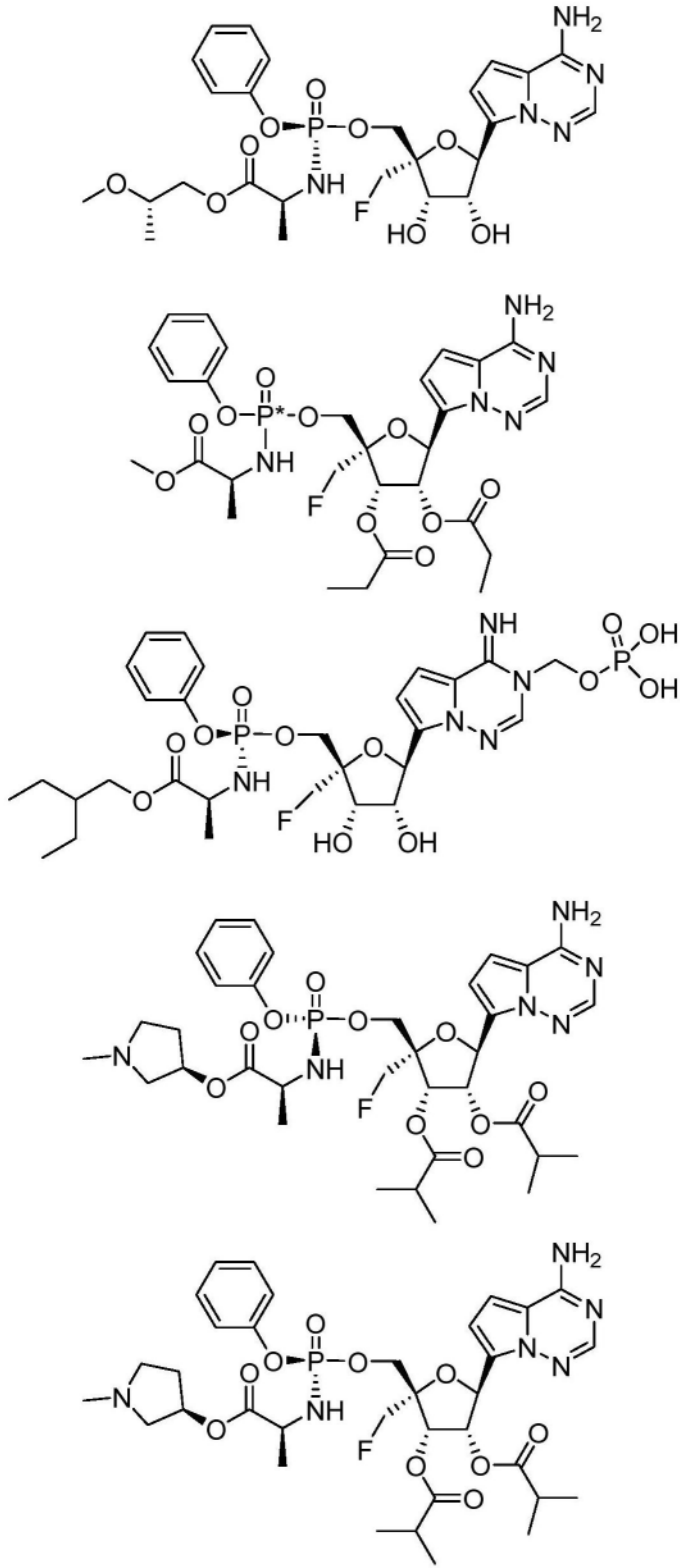


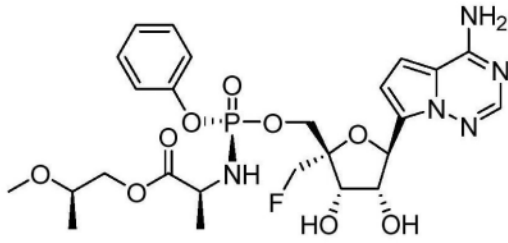




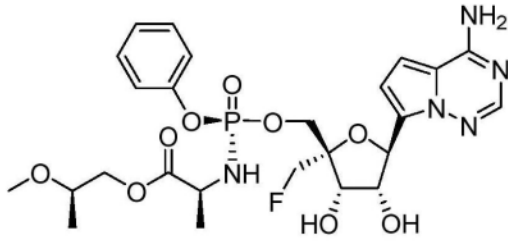




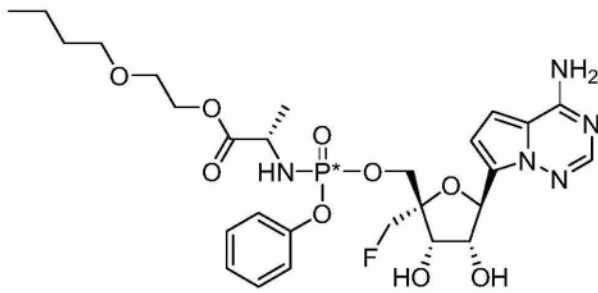




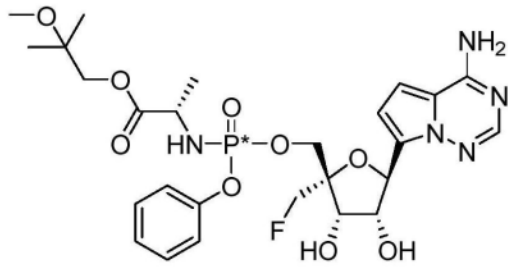
,



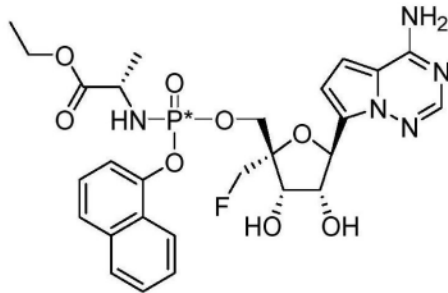
,



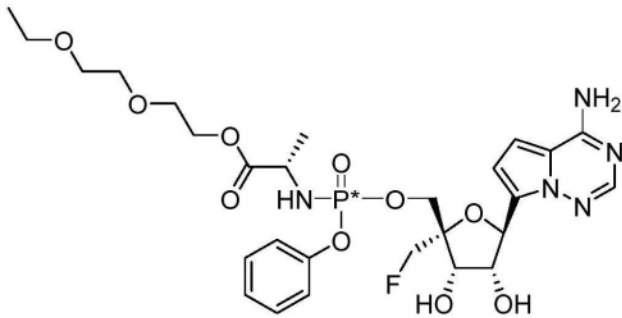
,



,

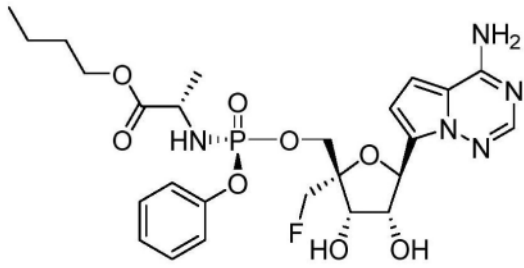


,

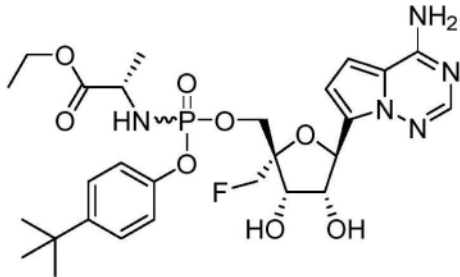


,

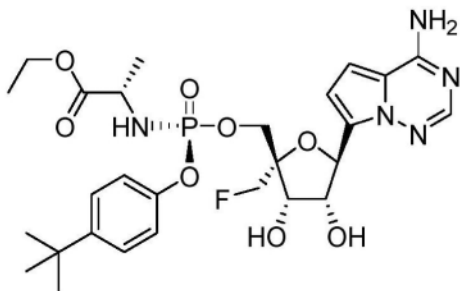




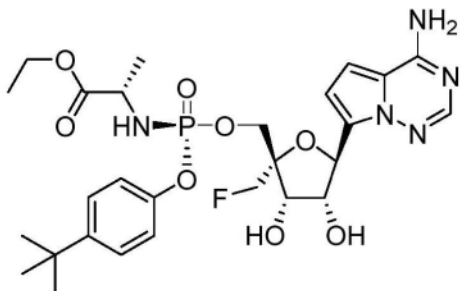
,



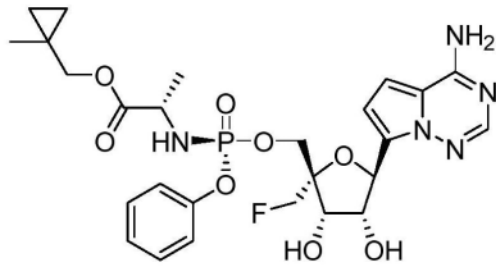
,



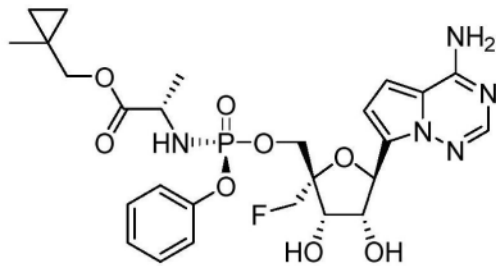
,



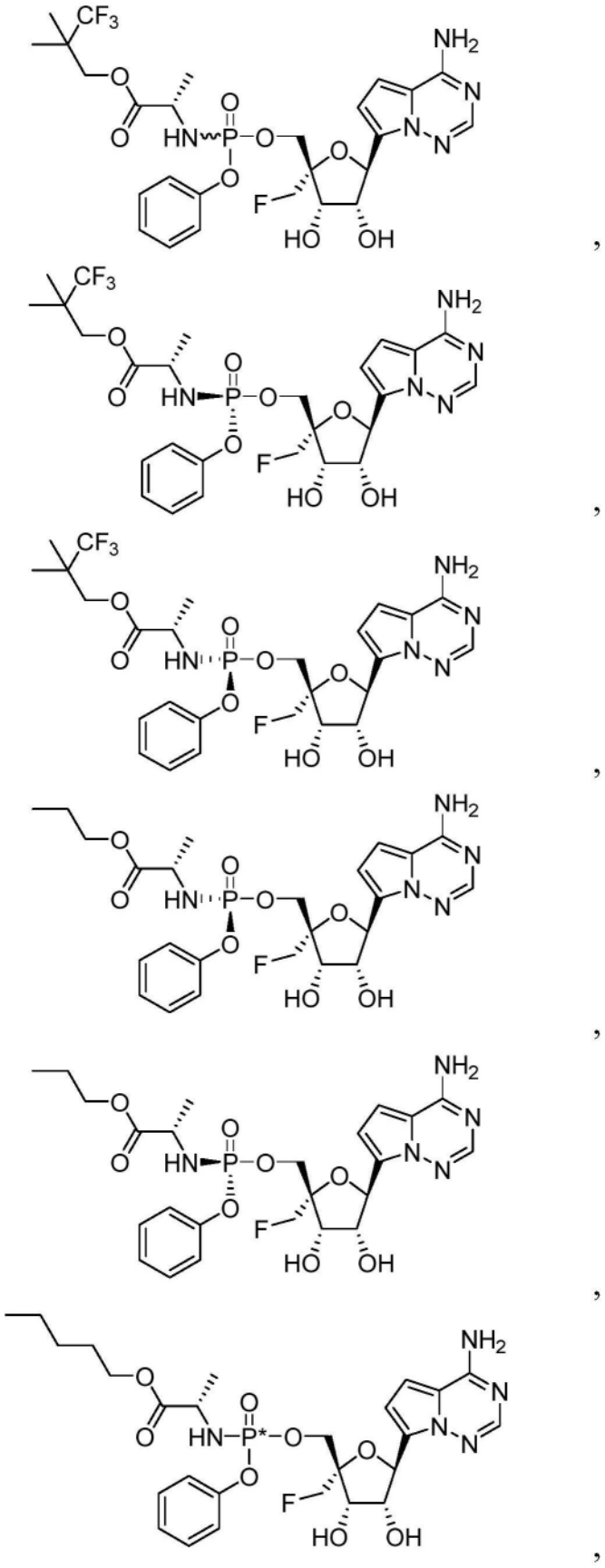
,

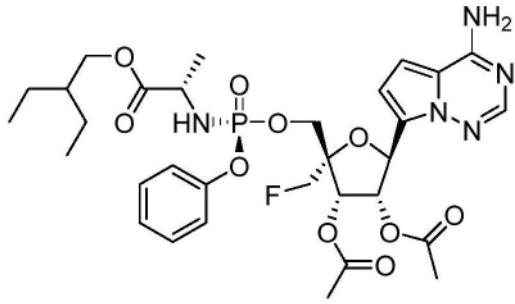


,

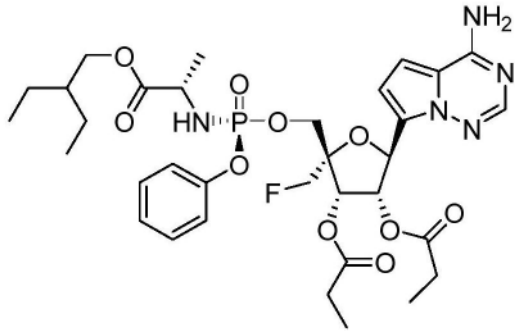


,

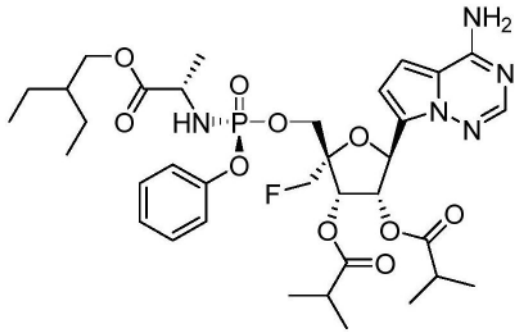




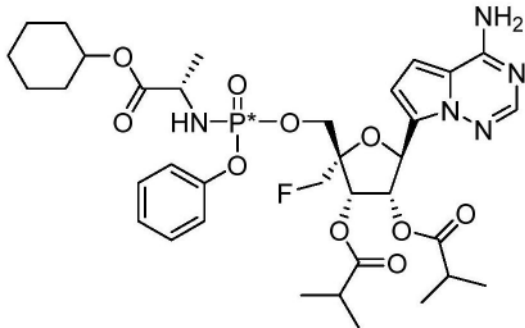
,



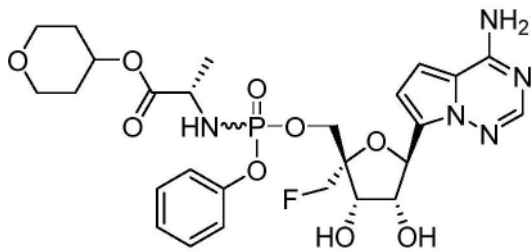
,



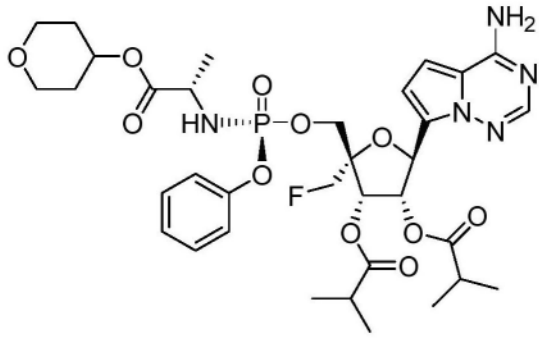
,



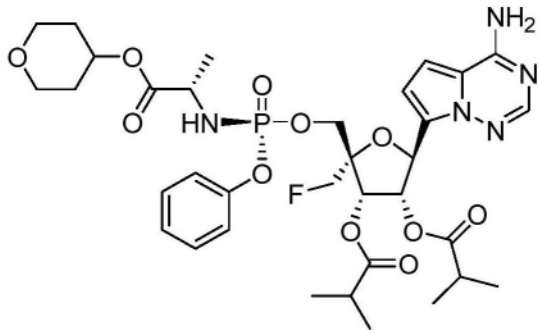
,



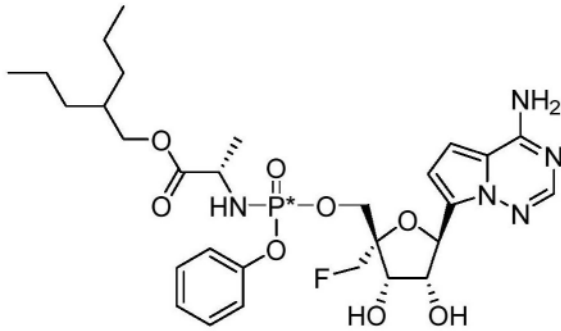
,



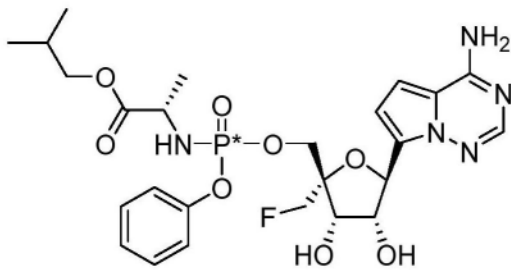
,



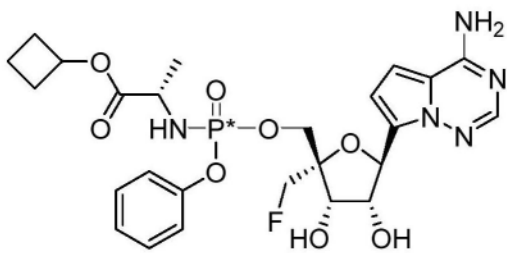
,



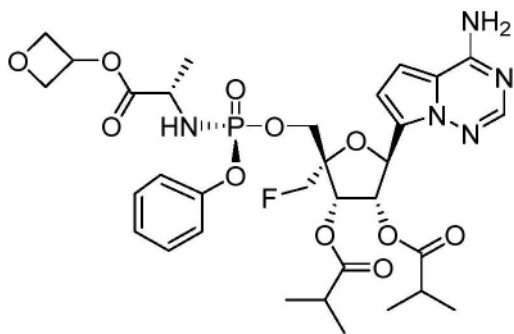
,



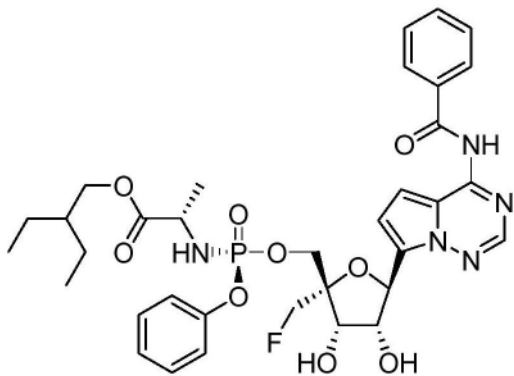
,



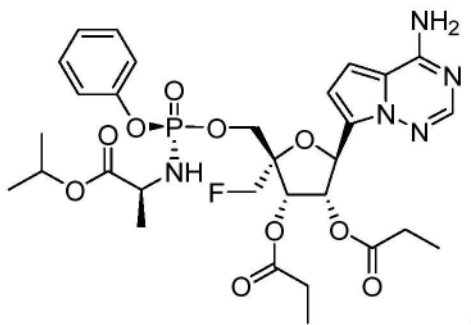
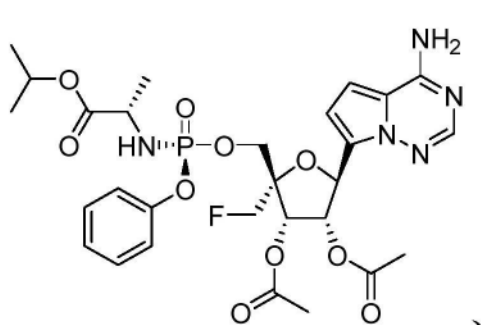
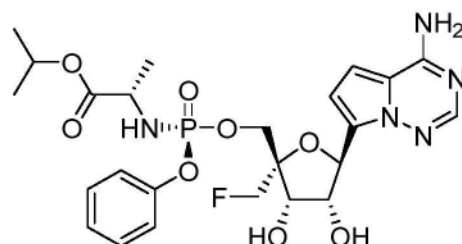
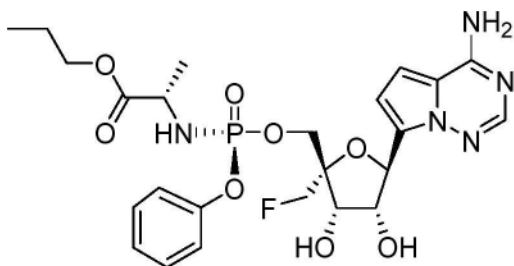
,

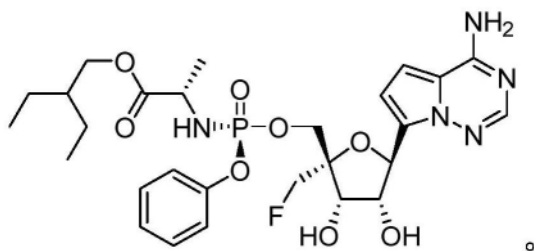
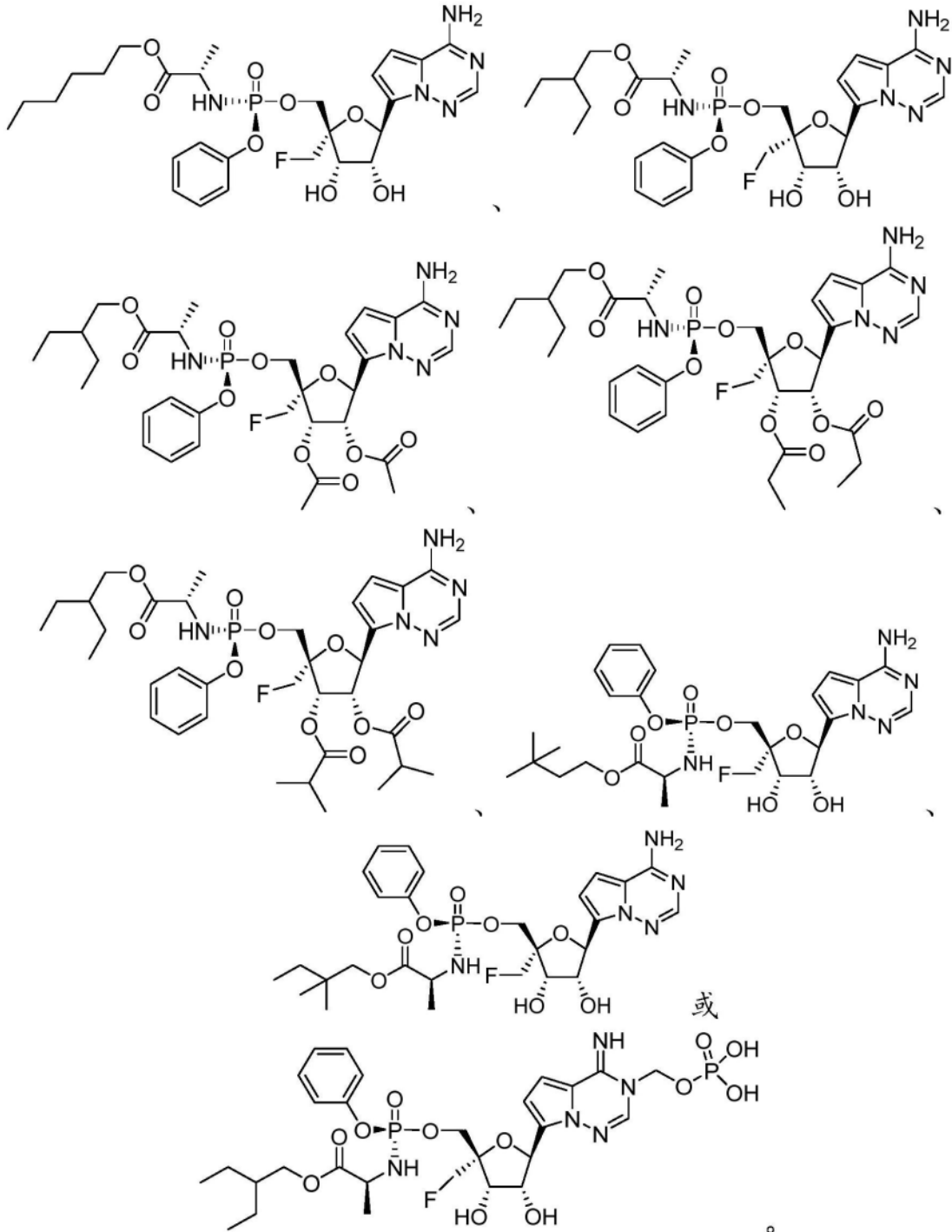


和

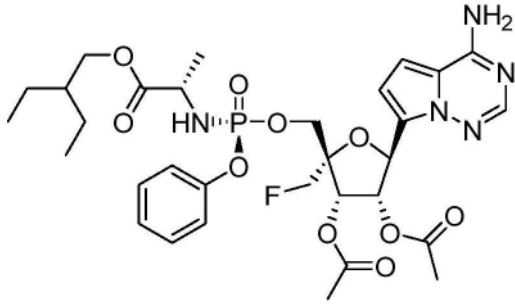


2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:

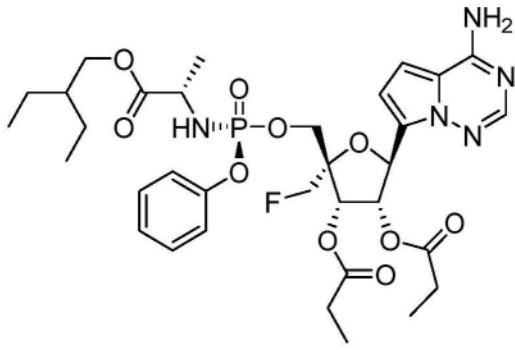




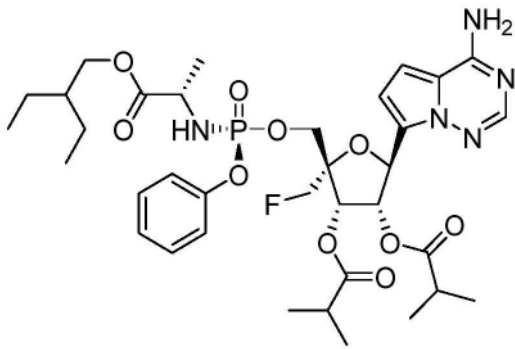
为:



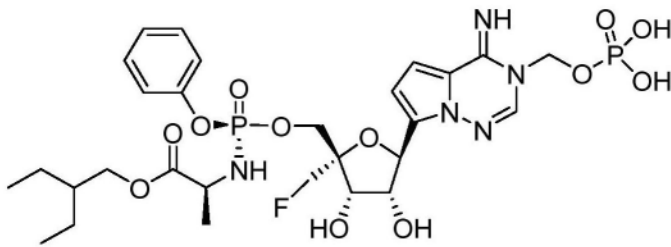
5. 根据权利要求1或2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:



6. 根据权利要求1或2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:



7. 根据权利要求1或2中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物为:



8. 一种药物制剂,其包含药学有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体或赋形剂。

9. 根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的黄病毒科病毒感染的药物中的用途,其中所述黄病毒科病毒感染是登革热病毒感染。

## 抗病毒化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年2月18日提交的且标题为“ANTIVIRAL COMPOUNDS”的美国临时专利申请号62/978,199的优先权权益,该专利申请的全部内容以引用方式并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含序列表,该序列表以ASCII格式以电子方式提交并且据此全文以引用方式并入。所述ASCII副本创建于2021年2月17日,名称为1225-WO-PCT\_SL.txt,并且大小为800字节。

### 背景技术

[0005] 包含黄病毒科(Flaviviridae)的病毒包含至少三个可区分的属,这些属包括瘟病毒属(pestivirus)、黄病毒属(flavivirus)和肝炎病毒属(hepacivirus) (Calisher等人, J.Gen.Virol.,1993,70,37-43)。虽然瘟病毒属会引起许多经济上重要的动物疾病,诸如牛病毒性腹泻病毒(BVDV)、经典猪瘟病毒(CSFV,猪霍乱)和绵羊边界病(BDV),但它们在人类疾病中的重要性尚未充分表征(Moennig,V.等人,Adv.Vir.Res.1992,48,53-98)。黄病毒属是引起重要人类疾病诸如登革热和黄热病的原因,而肝炎病毒属会导致人类感染丙型肝炎病毒。由黄病毒科引起的其他重要的病毒感染包括西尼罗病毒(WNV)、日本脑炎病毒(JEV)、蜱传脑炎病毒、Junjin病毒、墨累山谷脑炎、圣路易斯脑炎、鄂木斯克出血热病毒和寨卡病毒。总之,黄病毒科的感染在全世界造成显著的死亡率、发病率和经济损失。因此,需要开发针对黄病毒科病毒感染的有效治疗。

[0006] 肺病毒科(Pneumoviridae)病毒是一种负义单链RNA病毒,是引起许多流行的人类和动物疾病的原因。肺病毒科病毒包括人呼吸道合胞病毒(HRSV)和人偏肺病毒。几乎所有的儿童都会在两岁之前感染HRSV。HRSV是婴儿期和儿童期下呼吸道感染的主要原因,其中0.5%至2%的感染者需要住院治疗。

[0007] 目前没有预防HRSV感染的疫苗。单克隆抗体帕利珠单抗(palivizumab)可用于免疫预防,但其使用仅限于高危婴儿,例如早产儿或者患有先天性心脏病或肺病的婴儿,而且一般使用的费用往往过高。另外,核苷类似物利巴韦林已被批准作为治疗HRSV感染的唯一抗病毒剂,但功效有限。因此,需要抗肺病毒科治疗剂。

[0008] 可用于治疗病毒感染的吡咯并[2,3-d]嘧啶化合物的示例在U.S.2012/0009147 A1(Cho等人)、U.S.2012/0020921 A1(Cho等人)、WO 2008/089105 A2(Babu等人)、WO 2008/141079 A1(Babu等人)、WO 2009/132135 A1(Butler等人)、WO 2010/002877 A2(Francom)、WO 2011/035231 A1(Cho等人)、WO 2011/035250 A1(Butler等人)、WO 2011/150288 A1(Cho等人)、WO 2012/012465(Cho等人)、WO 2012/012776 A1(Mackman等人)、WO 2012/037038(Clarke等人)、WO 2012/087596 A1(Delaney等人)和WO 2012/142075 A1(Girijavallabhan等人)中描述。

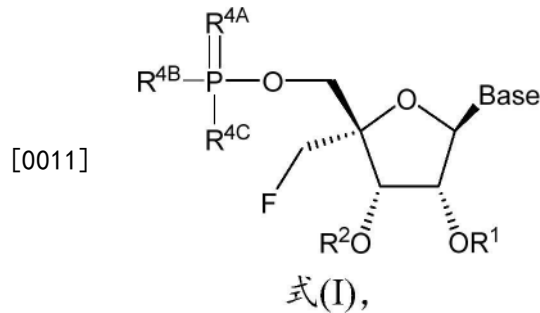
[0009] 因此,需要有效且具有可接受的毒性特征的用于治疗肺病毒科病毒感染(诸如HRSV感染)、黄病毒科感染(包括登革热)和EBOV感染的组合物和方法。本公开解决了这些和



其他需要。

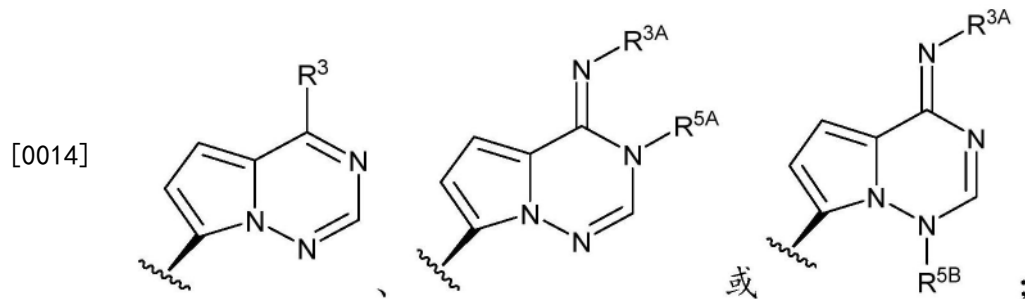
### 发明内容

[0010] 在一个实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物:



[0012] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0013] 碱基为



[0015]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地为H或 $-C(O)R^{1A}$ ,其中 $R^{1A}$ 为 $C_{1-6}$ 烷基;

[0016]  $R^3$ 为 $-N(H)R^{3A}$ ;

[0017]  $R^{3A}$ 为H、 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 或 $-C(O)R^{3D}$ ,其中

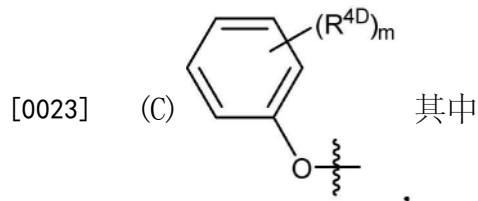
[0018]  $R^{3D}$ 为任选被 $C_{3-6}$ 环烷基取代的 $C_{6-12}$ 芳基或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0019]  $R^{4A}$ 为O;

[0020]  $R^{4B}$ 和 $R^{4C}$ 各自独立地为:

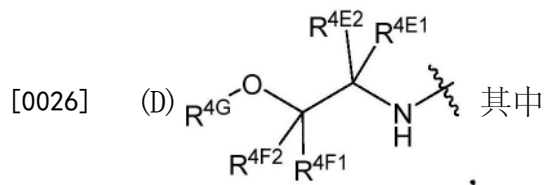
[0021] (A)  $-OH$ ;

[0022] (B)  $-OR^{4B1}$ ,其中 $R^{4B1}$ 为 $C_{6-12}$ 芳基;

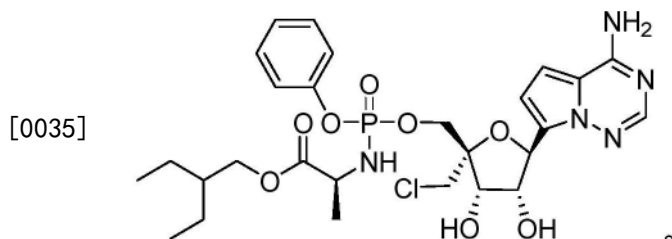


[0024] 下标m为0、1、2、3、4或5;并且

[0025] 每个 $R^{4D}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;



- [0027]  $R^{4E1}$ 和 $R^{4E2}$ 各自独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基；
- [0028]  $R^{4F1}$ 和 $R^{4F2}$ 一起为氧代基；
- [0029]  $R^{4G}$ 为任选被1至3个 $R^{4G1}$ 取代的 $C_{1-8}$ 烷基、 $C_{3-8}$ 环烷基、或任选被1至3个 $R^{4G3}$ 取代的具有1至3个选自N、O和S的杂原子的3至8元杂环基；
- [0030] 每个 $R^{4G1}$ 独立地为-OH、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $-(CH_2OCH_2)_{1-5}-CH_3$ 、 $C_{1-3}$ 卤代烷基、或任选被1至3个 $R^{4G9}$ 取代的 $C_{3-8}$ 环烷基；
- [0031] 每个 $R^{4G3}$ 和 $R^{4G9}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基；或
- [0032] (E) - (OP(O)(OH))<sub>1-2</sub>-OH；并且
- [0033]  $R^{5A}$ 和 $R^{5B}$ 各自独立地为被-OP(O)(OH)<sub>2</sub>取代的 $C_{1-6}$ 烷基。
- [0034] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种化合物或其药学上可接受的盐，其中该化合物为：



- [0036] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种药物制剂，该药物制剂包含药学有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体或赋形剂。
- [0037] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种治疗对其有需要的人的肺病毒科病毒感染的方法，该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0038] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种治疗对其有需要的人的小核糖核酸病毒科病毒感染的方法，该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0039] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种治疗对其有需要的人的黄病毒科病毒感染的方法，该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0040] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种治疗对其有需要的人的丝状病毒科病毒感染的方法，该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0041] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的肺病毒科病毒感染的药物的方法，其特征在于，使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0042] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的小核糖核酸病毒科病毒感染的药物的方法，其特征在于，使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0043] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的黄病毒科病毒感染的药物的方法，其特征在于，使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0044] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的丝状病毒科病毒感染的药物的方法，其特征在于，使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。
- [0045] 在另一个实施方案中，本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的肺病毒科病毒感染的药物中的用途。
- [0046] 在另一个实施方案中，本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制

备用于治疗人的小核糖核酸病毒科病毒感染的药物中的用途。

[0047] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的黄病毒科病毒感染的药物中的用途。

[0048] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的丝状病毒科病毒感染的药物中的用途。

[0049] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的肺病毒科病毒感染。

[0050] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的小核糖核酸病毒科病毒感染。

[0051] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的黄病毒科病毒感染。

[0052] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的丝状病毒科病毒感染。

[0053] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。

[0054] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。

[0055] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗或预防人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的药物中的用途,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。

[0056] 在另一个实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。

## 具体实施方式

### [0057] I. 概述

[0058] 本公开提供了用于治疗病毒感染诸如埃博拉、寨卡、西尼罗、黄热病、登革热、HBV、HCV、RSV等的2',3'-二羟基-4'-氟甲基核苷和相关化合物。

### [0059] II. 定义

[0060] “烷基”是直链或支链饱和单价烃。例如,烷基基团可以具有1至10个碳原子(即, $C_{1-10}$ 烷基)或1至8个碳原子(即, $C_{1-8}$ 烷基)或1至6个碳原子(即, $C_{1-6}$ 烷基)或1至4个碳原子(即, $C_{1-4}$ 烷基)。烷基基团的示例包括但不限于甲基(Me、 $-CH_3$ )、乙基(Et、 $-CH_2CH_3$ )、1-丙基(n-Pr、正丙基、 $-CH_2CH_2CH_3$ )、2-丙基(i-Pr、异丙基、 $-CH(CH_3)_2$ )、1-丁基(n-Bu、正丁基、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-甲基-1-丙基(i-Bu、异丁基、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ )、2-丁基(s-Bu、仲丁基、 $-CH(CH_3)_2CH_2CH_3$ )、2-甲基-2-丙基(t-Bu、叔丁基、 $-C(CH_3)_3$ )、1-戊基(正戊基、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-戊基( $-CH(CH_3)_2CH_2CH_3$ )、3-戊基( $-CH(CH_2CH_3)_2$ )、2-甲基-2-丁基( $-C(CH_3)_2CH_2CH_3$ )、3-甲基-2-丁基( $-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$ )、3-甲基-1-丁基( $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ )、2-甲基-1-丁基( $-CH_2CH$

(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、1-己基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、2-己基(-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、3-己基(-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>))、2-甲基-2-戊基(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、3-甲基-2-戊基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、4-甲基-2-戊基(-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)、3-甲基-3-戊基(-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)、2-甲基-3-戊基(-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)、2,3-二甲基-2-丁基(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)、3,3-二甲基-2-丁基(-CH(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)和辛基(-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>)。

[0061] “烷氧基”是指具有将烷基基团连接到附接点的氧原子的烷基基团:烷基-0-。正如烷基基团,烷氧基基团可以具有任何合适数量的碳原子,诸如C<sub>1-6</sub>。烷氧基基团包括例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、2-丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、己氧基等。烷氧基基团可以进一步被本文所述的各种取代基取代。烷氧基基团可以是取代或未取代的。

[0062] “羟基”是指-OH。

[0063] 如本文所用的“卤基”或“卤素”是指氟(-F)、氯(-Cl)、溴(-Br)和碘(-I)。

[0064] 如本文所用的“卤代烷基”是指其中烷基的一个或多个氢原子独立地被可相同或不同的卤基取代基替代的本文定义的烷基。例如,C<sub>1-4</sub>卤代烷基是其中C<sub>1-4</sub>烷基的一个或多个氢原子已被卤基取代基替代的C<sub>1-4</sub>烷基。卤代烷基基团的示例包括但不限于氟甲基、氟氯甲基、二氟甲基、二氟氯甲基、三氟甲基、1,1,1-三氟乙基和五氟乙基。

[0065] “环烷基”是指具有3至20个环状碳原子(即,C<sub>3-20</sub>环烷基)(例如3至12个环状原子,例如3至10个环状原子、或3至8个环状原子、或3至6个环状原子、或3至5个环状原子、或3至4个环状原子)的单个饱和或部分不饱和全碳环。术语“环烷基”还包括多稠合、饱和和部分不饱和全碳环系(例如,包含2、3或4个碳环的环系)。因此,环烷基包括多环碳环,诸如双环碳环(例如具有约6至12个环状碳原子的双环碳环,诸如双环[3.1.0]己烷和双环[2.1.1]己烷)和多环碳环(例如具有多达约20个环状碳原子的三环和四环碳环)。当化合价要求允许时,多稠合环系的环可以通过稠合键、螺键或桥键相互连接。单环环烷基的非限制性示例包括环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基和1-环己-3-烯基。

[0066] 如本文所用的“杂环基”或“杂环”或“杂环烷基”是指在环中具有至少一个杂原子(即,选自氧、氮和硫的至少一个环状杂原子)的单个饱和或部分不饱和非芳族环或非芳族多环系。除非另外指明,否则杂环基基团具有3至约20个环状原子,例如3至12个环状原子,例如3至10个环状原子、或3至8个环状原子、或3至6个环状原子、或3至5个环状原子、或4至6个环状原子、或4至5个环状原子。因此,该术语包括在环中具有约1至6个环状碳原子和约1至3个选自由氧、氮和硫组成的组的环状杂原子的单个饱和或部分不饱和环(例如,3、4、5、6或7元环)。当化合价要求允许时,多稠合环(例如双环杂环基)系统的环可通过稠合、螺环和桥连彼此连接。杂环包括但不限于氮杂环丁烷、氮丙啶、咪唑烷、吗啉、环氧乙烷(环氧化物)、氧杂环丁烷、硫杂环丁烷、哌嗪、哌啶、吡唑烷、哌啶、吡咯烷、吡咯烷酮、四氢呋喃、四氢噻吩、二氢吡啶、四氢吡啶、奎宁环、2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚-6-基、6-氧杂-1-氮杂螺[3.3]庚-1-基、2-硫杂-6-氮杂螺[3.3]庚-6-基、2,6-二氮杂螺[3.3]庚-2-基、2-氮杂双环[3.1.0]己-2-基、3-氮杂双环[3.1.0]己基、2-氮杂双环[2.1.1]己基、2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基、4-氮杂螺[2.4]庚基、5-氮杂螺[2.4]庚基等。

[0067] 如本文所用的“芳基”是指单个全碳芳族环或多稠合全碳环体系,其中至少一个环

是芳族的。例如,在一些实施方案中,芳基基团具有6至20个碳原子、6至14个碳原子或6至12个碳原子。芳基包括苯基自由基。芳基还包括具有约9至20个碳原子的多稠合环系(例如,包含2、3或4个环的环系),其中至少一个环是芳族的,并且其中其他环可以是芳族的或不是芳族的(即,碳环)。此类多稠合环系任选被多稠合环系的任何碳环部分上的一个或多个(例如,1、2或3个)氧代基基团取代。当化合价要求允许时,多稠合环系的环可以通过稠合键、螺键或桥键相互连接。还应当理解,当提及某一原子范围元芳基(例如,6-10元芳基)时,该原子范围是该芳基的总环原子。例如,6元芳基将包括苯基,并且10元芳基将包括萘基和1,2,3,4-四氢萘基。芳基基团的非限制性示例包括但不限于苯基、茛基、萘基、1,2,3,4-四氢萘基、蒽基等。

[0068] 如本文所用的“杂芳基”是指在环中具有至少一个除碳以外的原子的单个芳族环,其中该原子选自氧、氮和硫组成的组;“杂芳基”还包括具有至少一个此类芳族环的多稠合环系,该多稠合环系将在下文进一步描述。因此,“杂芳基”包括具有约1个至6个碳原子和约1个至4个选自氧、氮和硫的杂原子的单芳族环。硫和氮原子也可以氧化形式存在,前提是该环是芳族的。示例性杂芳基环系包括但不限于吡啶基、嘧啶基、噁唑基或咪唑基。“杂芳基”还包括多稠合环系(例如,包含2、3或4个环的环系),其中如上文所定义的杂芳基基团与选自杂芳基(以形成例如1,8-萘啶基)、杂环(以形成例如1,2,3,4-四氢-1,8-萘啶基)、碳环(以形成例如5,6,7,8-四氢喹啉基)和芳基(以形成例如吡啶基)的一个或多个环稠合以形成多稠合环系。因此,杂芳基(单个芳族环或多稠合环系)在杂芳基环内具有约1-20个碳原子和约1-6个杂原子。此类多稠合环系可任选被稠合环的碳环或杂环部分上的一个或多个(例如,1、2、3或4个)氧代基基团取代。当化合价要求允许时,多稠合环系的环可以通过稠合键、螺键或桥键相互连接。应当理解,该多稠合环系的各个环可相对于彼此以任何顺序连接。应当理解,杂芳基或杂芳基多稠合环系的附接点可以位于该杂芳基或杂芳基多稠合环系的任何合适的原子上,包括碳原子和杂原子(例如,氮)。还应当理解,当提及某一原子范围元杂芳基(例如,5至10元杂芳基)时,该原子范围是该杂芳基的总环原子并且包括碳原子和杂原子。例如,5元杂芳基将包括噻唑基,并且10元杂芳基将包括喹啉基。示例性杂芳基包括但不限于吡啶基、吡咯基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、吡唑基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、呋喃基、噁二唑基、噻二唑基、喹啉基、异喹啉基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、吡啶基、喹啉基、喹唑啉基、5,6,7,8-四氢异喹啉基、苯并呋喃基、苯并咪唑基、噻吩基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、喹啉基-4(3H)-酮和三唑基。

[0069] “本公开的化合物”包括本文公开的化合物,例如本公开的化合物包括式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物,包括实施例的化合物。

[0070] “药学有效量”是指在制剂或其组合中提供期望的治疗或药物结果的本公开的化合物的量。

[0071] “药学上可接受的赋形剂”包括但不限于任何助剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、风味增强剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂,它们已被美国食品药品监督管理局批准为可接受用于人或家畜。

[0072] 如本文所用,“治疗(Treatment)”或“治疗(treat)”或“治疗(treating)”是指用于获得有益或期望结果的方法。出于本公开的目的,有益或期望的结果包括但不限于症状的

减轻和/或症状程度的减弱和/或预防与疾病或病症相关联的症状的恶化。在一个实施方案中,“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”包括以下中的一者或多者:a)抑制疾病或病症(例如,减少由疾病或病症引起的一种或多种症状,和/或减弱疾病或病症的程度);b)减缓或阻止与疾病或病症相关联的一种或多种症状的发展(例如,稳定疾病或病症,延迟疾病或病症的恶化或进展);以及c)缓解疾病或病症,例如引起临床症状的消退、改善疾病状态、延迟疾病的进展、提高生活质量和/或延长生存。

[0073] “预防”是指预防或延缓患有病毒感染的患者的临床疾病的进展。

[0074] 如本文所用的“治疗有效量”或“有效量”是指可有效引起期望的生物学或医学应答的量,包括当施用于受试者以治疗疾病时足以影响疾病的这种治疗的化合物的量。有效量将根据待治疗受试者的化合物、疾病及其严重性以及年龄、体重等而变化。有效量可包括一系列量。如本领域所理解的,有效量可为一个或多个剂量,即可需要单剂量或多剂量以实现期望的治疗终点。在施用一种或多种治疗剂的上下文中可以考虑有效量,并且如果与一种或多种其他药剂结合,可以达到或实现期望的或有益的结果,则可以考虑以有效量给予单一药剂。任何共同施用的化合物的合适剂量可任选地由于化合物的联合作用(例如,累加或协同效应)而降低。

[0075] 如本文所用,“共同施用”是指在施用单位剂量的一种或多种附加治疗剂之前或之后施用单位剂量的本文所公开的化合物,例如,在施用一种或多种附加治疗剂的数秒、数分钟或数小时内施用本文所公开的化合物。例如,在一些实施方案中,首先施用单位剂量的本公开的化合物,随后在数秒或数分钟内施用单位剂量的一种或多种附加治疗剂。另选地,在其他实施方案中,首先施用单位剂量的一种或多种附加治疗剂,随后在数秒或数分钟内施用单位剂量的本公开的化合物。在一些实施方案中,首先施用单位剂量的本公开的化合物,然后在数小时(例如,1-12小时)之后施用单位剂量的一种或多种附加治疗剂。在其他实施方案中,首先施用单位剂量的一种或多种附加治疗剂,然后在数小时(例如,1-12小时)之后施用单位剂量的本公开的化合物。本文所公开的化合物与一种或多种附加治疗剂的共同施用通常是指同时或顺序施用本文所公开的化合物和一种或多种附加治疗剂,使得治疗有效量的每种药剂存在于患者体内。

[0076] 还提供本文所述化合物的药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、互变异构形式、多晶型物和前药。“药学上可接受的”或“生理上可接受的”是指化合物、盐、组合物、剂型和其他物质,其可用于制备合适兽医或人药物使用的药物组合物。

[0077] 本文所述的化合物可制备和/或配制为药学上可接受的盐,或适当时配制为游离碱。“药学上可接受的盐”是化合物的游离碱形式的无毒盐,该盐具有游离碱的所需药理活性。这些盐可以衍生自无机酸、有机酸或碱。例如,含有碱性氮的化合物可通过使该化合物与无机酸或有机酸接触而制备成药学上可接受的盐。药学上可接受的盐的非限制性示例包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、醋酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、延胡索酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯代苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、甲基磺酸盐、丙基磺酸盐、苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、苯乙酸

盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、 $\gamma$ -羟丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐和扁桃酸盐。其他合适的药学上可接受的盐的列表可见于“Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, 第21版, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Pa., 2006年。

[0078] 本文所公开的化合物的“药学上可接受的盐”的示例还包括衍生自适当碱诸如碱金属(例如, 钠、钾)、碱土金属(例如镁)、铵和 $\text{NX}_4^+$ (其中X是 $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ 烷基)的盐。还包括碱加成盐, 诸如钠盐或钾盐。

[0079] 还提供了本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、异构体或混合物, 其中连接到碳原子的1个至n个氢原子可被氘原子或D取代, 其中n是分子中的氢原子数。如本领域已知的, 氘原子为氢原子的非放射性同位素。此类化合物可增加对代谢的抗性, 并且因此可用于在施用于哺乳动物时增加本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、异构体或混合物的半衰期。参见例如Foster, “Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism”, Trends Pharmacol. Sci., 5(12): 524-527 (1984)。此类化合物例如通过采用其中一个或多个氢原子已被氘替代的起始物质来合成。

[0080] 可结合到所公开的化合物中的同位素的示例还包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘的同位素, 诸如分别为 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{123}\text{I}$ 和 $^{125}\text{I}$ 。使用正电子发射同位素诸如 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{15}\text{O}$ 和 $^{13}\text{N}$ 的取代, 可用于正电子发射断层扫描(PET)研究, 以检查底物受体的占有性。同位素标记的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物通常可以通过与下文所述的实施例所述的方法类似的方法使用适当的同位素标记的试剂代替先前采用的非标记的试剂来制备。

[0081] 本文所公开的实施方案的化合物或它们的药学上可接受的盐可包括一个或多个不对称中心, 并且因此可产生对映体、非对映体和可根据绝对立体化学定义为(R)-或(S)-或针对氨基酸定义为(D)-或(L)-的其他立体异构形式。本公开旨在包括所有此类可能的异构体以及它们的外消旋和光学纯形式。光学活性(+)和(-)、(R)-和(S)-或(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备, 或使用常规技术拆分, 例如色谱法和分级结晶。用于制备/分离单独的对映体的常规技术包括从合适的光学纯前体手性合成或使用例如手性高压液相色谱法(HPLC)拆分外消旋物(或盐或衍生物的外消旋物)。当本文所述的化合物含有烯属双键或其他几何不对称中心时, 并且除非另有说明, 否则旨在化合物包括E和Z几何异构体。同样, 还旨在包括所有互变异构形式。当化合物以其手性形式表示的情况下, 应当理解, 该实施方案涵盖但不限于具体的非对映体或对映体富集形式。当手性未被指定但存在时, 应当理解, 该实施方案涉及特定的非对映体或对映体富集形式; 或此类化合物的外消旋或非外消旋混合物。如本文所用, “非外消旋混合物”是比例不为1:1的立体异构体的混合物。

[0082] “外消旋物”是指对映体的混合物。该混合物可以包含等量或不等量的每种对映体。

[0083] “立体异构体”是指一个或多个立构中心的手性不同的化合物。立体异构体包括对映体和非对映体。如果化合物具有一个或多个不对称中心或含不对称取代的双键, 则它们可以立体异构形式存在, 因此可以作为单独的立体异构体或作为混合物产生。除非另外指明, 否则说明书旨在包括单独的立体异构体以及混合物。用于确定立体化学和分离立体异构体的方法是本领域熟知的(参见例如Advanced Organic Chemistry, 第4版, J. March,

John Wiley and Sons, New York, 1992 的第4章)。

[0084] “互变异构体”是指质子位置不同的化合物的替代形式, 诸如烯醇-酮和亚胺-烯胺互变异构体, 或含有附接到环-NH-和环=N-的环原子的杂芳基基团的互变异构形式, 诸如吡唑、咪唑、苯并咪唑、三唑和四唑。

[0085] 除非另有定义, 否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。化学基团前端或末端的破折号是为了方便; 可在没有多个破折号的情况下描绘化学基团, 而不会丧失其普通含义。通过结构中的线绘制的波浪线指示基团的附接点。虚线表示任选的键。除非化学或结构上需要, 否则化学基团的书写顺序或它与分子其余部分的附接点均未指示或暗示方向性。例如, 基团“-SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-”等同于“-CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-”, 并且两者可在任一方向上连接。类似地, “芳基烷基”基团例如可在基团的芳基或烷基部分处连接到分子的其余部分。前缀诸如“C<sub>u-v</sub>”或(C<sub>u</sub>-C<sub>v</sub>)表示之后的基团具有u至v个碳原子。例如, “C<sub>1-6</sub>烷基”和“C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基”均表示烷基基团具有1至6个碳原子。

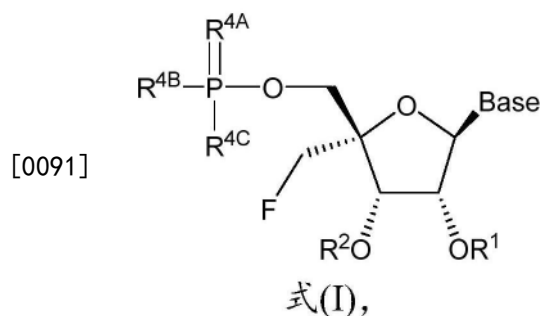
[0086] 如本文所用, “溶剂化物”是指溶剂和化合物相互作用的结果。还提供了本文所述化合物的盐的溶剂化物。还提供了本文所述化合物的水合物。

[0087] 如本文所用的“前药”是指在施用于人体后根据一些化学或酶途径转化为活性药物的药物衍生物。

### [0088] III. 化合物

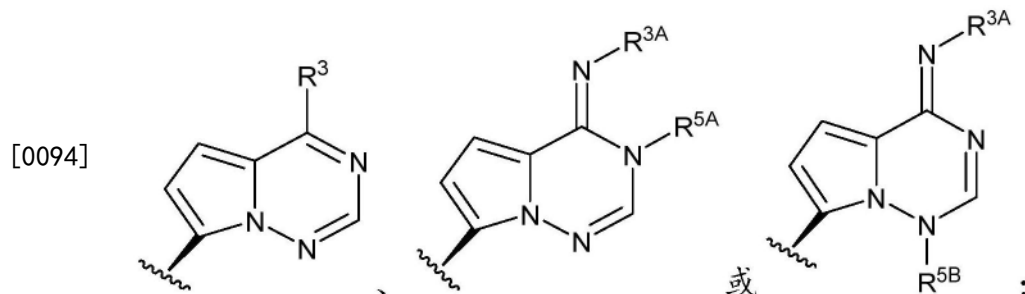
[0089] 本公开描述了式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)和(In)的化合物。

[0090] 在一些实施方案中, 本公开提供了式(I)的化合物:



[0092] 或其药学上可接受的盐, 其中:

[0093] 碱基为



[0095] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地为H或-C(O)R<sup>1A</sup>, 其中R<sup>1A</sup>为C<sub>1-6</sub>烷基;

[0096] R<sup>3</sup>为-N(H)R<sup>3A</sup>;

[0097] R<sup>3A</sup>为H、-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>或-C(O)R<sup>3D</sup>, 其中



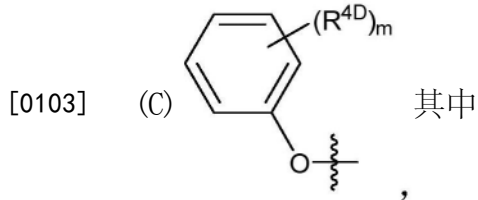
[0098]  $R^{3D}$ 为任选被 $C_{3-6}$ 环烷基取代的 $C_{6-12}$ 芳基或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0099]  $R^{4A}$ 为0;

[0100]  $R^{4B}$ 和 $R^{4C}$ 各自独立地为:

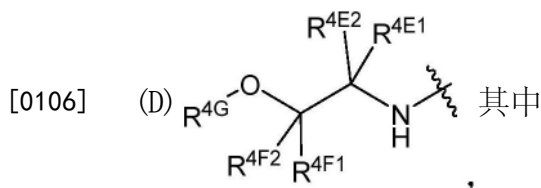
[0101] (A) -OH;

[0102] (B) -OR<sup>4B1</sup>, 其中 $R^{4B1}$ 为 $C_{6-12}$ 芳基;



[0104] 下标 $m$ 为0、1、2、3、4或5;并且

[0105] 每个 $R^{4D}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;



[0107]  $R^{4E1}$ 和 $R^{4E2}$ 各自独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0108]  $R^{4F1}$ 和 $R^{4F2}$ 一起为氧代基;

[0109]  $R^{4G}$ 为任选被1至3个 $R^{4G1}$ 取代的 $C_{1-8}$ 烷基、 $C_{3-8}$ 环烷基、或任选被1至3个 $R^{4G3}$ 取代的具有1至3个选自N、O和S的杂原子的3至8元杂环基;

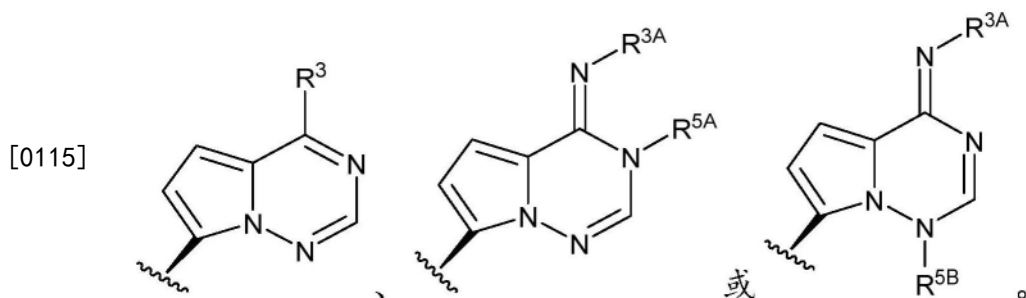
[0110] 每个 $R^{4G1}$ 独立地为-OH、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $-(CH_2OCH_2)_{1-5}-CH_3$ 、 $C_{1-3}$ 卤代烷基、或任选被1至3个 $R^{4G9}$ 取代的 $C_{3-8}$ 环烷基;

[0111] 每个 $R^{4G3}$ 和 $R^{4G9}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;或

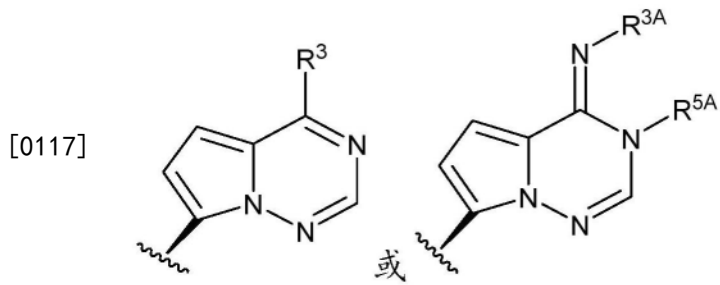
[0112] (E) - (OP(O)(OH))<sub>1-2</sub>-OH;并且

[0113]  $R^{5A}$ 和 $R^{5B}$ 各自独立地为被-OP(O)(OH)<sub>2</sub>取代的 $C_{1-6}$ 烷基。

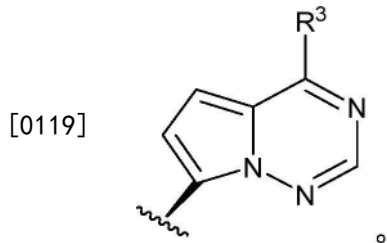
[0114] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)或其药学上可接受的盐表示,其中碱基为



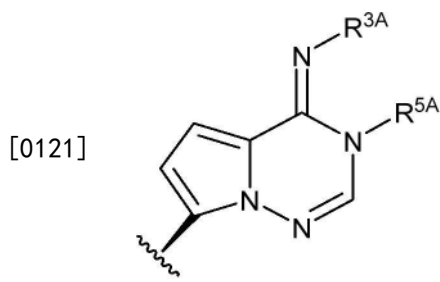
[0116] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)或其药学上可接受的盐表示,其中碱基为



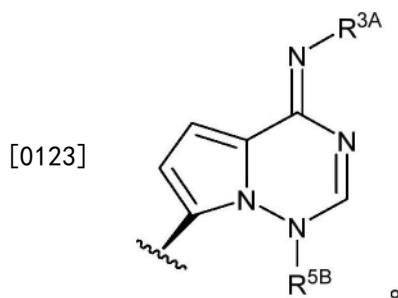
[0118] 在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I) 或其药学上可接受的盐表示,其中碱基为



[0120] 在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I) 或其药学上可接受的盐表示,其中碱基为



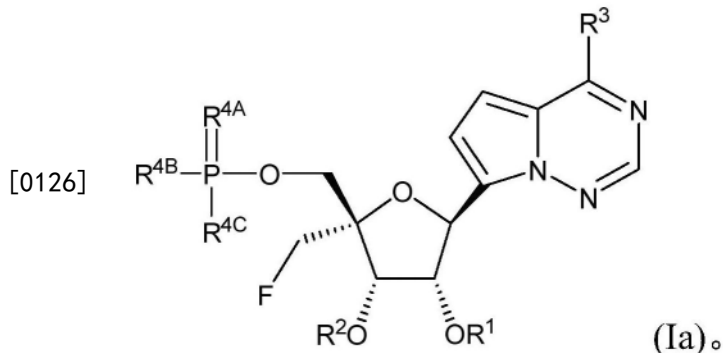
[0122] 在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I) 或其药学上可接受的盐表示,其中碱基为



[0124] 在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im) 或 (In) 或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地为H或 $-C(O)R^{1A}$ ,其中 $R^{1A}$ 为 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im) 或 (In) 或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 各自为H。在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im) 或 (In) 或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 各自为 $-C(O)R^{1A}$ ,其中 $R^{1A}$ 为 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式 (I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im) 或 (In) 或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^1$

和 $R^2$ 各自为 $-C(O)R^{1A}$ ;并且 $R^{1A}$ 为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 各自为 $-C(O)R^{1A}$ ;并且 $R^{1A}$ 为甲基、乙基或异丙基。

[0125] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ia)表示:



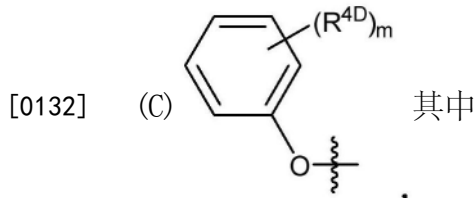
[0127] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^3$ 为 $-N(H)R^{3A}$ ;  $R^{3A}$ 为H、 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 或 $-C(O)R^{3D}$ ,其中 $R^{3D}$ 为任选被 $C_{3-6}$ 环烷基取代的 $C_{6-12}$ 芳基或 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{3A}$ 为H。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{3A}$ 为 $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{3A}$ 为 $-C(O)R^{3D}$ ,其中 $R^{3D}$ 为任选被 $C_{3-6}$ 环烷基取代的 $C_{6-12}$ 芳基或 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{3A}$ 为 $-C(O)R^{3D}$ ,其中 $R^{3D}$ 为苯基或任选被 $C_{3-6}$ 环烷基取代的 $C_{1-3}$ 烷基。

[0128] 在一些实施方案中,该化合物可由式(Ia)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^3$ 为 $-N(H)R^{3A}$ ;  $R^{3A}$ 为H或 $-C(O)R^{3D}$ ;并且 $R^{3D}$ 为苯基或任选被 $C_{3-6}$ 环烷基取代的 $C_{1-3}$ 烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(Ia)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^3$ 为 $-NH_2$ 。

[0129] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4B}$ 和 $R^{4C}$ 各自独立地为:

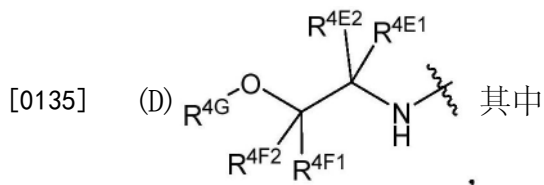
[0130] (A)  $-OH$ ;

[0131] (B)  $-OR^{4B1}$ ,其中 $R^{4B1}$ 为 $C_{6-12}$ 芳基;



[0133] 下标m为0、1、2、3、4或5;并且

[0134] 每个 $R^{4D}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;



[0136]  $R^{4E1}$ 和 $R^{4E2}$ 各自独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0137]  $R^{4F1}$ 和 $R^{4F2}$ 一起为氧代基;

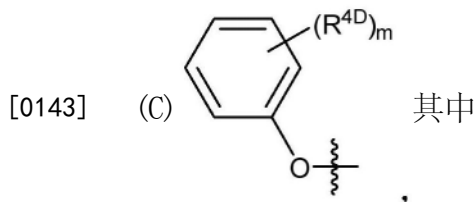
[0138]  $R^{4G}$ 为任选被1至3个 $R^{4G1}$ 取代的 $C_{1-8}$ 烷基、 $C_{3-8}$ 环烷基、或任选被1至3个 $R^{4G3}$ 取代的具有1至3个选自N、O和S的杂原子的3至8元杂环基;

[0139] 每个 $R^{4G1}$ 独立地为-OH、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $-(CH_2OCH_2)_{1-5}-CH_3$ 、 $C_{1-3}$ 卤代烷基、或任选被1至3个 $R^{4G9}$ 取代的 $C_{3-8}$ 环烷基;

[0140] 每个 $R^{4G3}$ 和 $R^{4G9}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;或

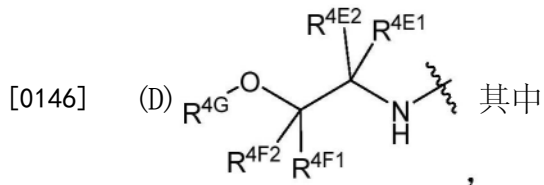
[0141] (E)  $-(OP(O)(OH))_{1-2}-OH$ 。

[0142] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4B}$ 和 $R^{4C}$ 各自独立地为:



[0144] 下标m为0、1、2、3、4或5;并且

[0145] 每个 $R^{4D}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;



[0147]  $R^{4E1}$ 和 $R^{4E2}$ 各自独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基;

[0148]  $R^{4F1}$ 和 $R^{4F2}$ 一起为氧代基;

[0149]  $R^{4G}$ 为任选被1至3个 $R^{4G1}$ 取代的 $C_{1-8}$ 烷基、 $C_{3-8}$ 环烷基、或任选被1至3个 $R^{4G3}$ 取代的具有1至3个选自N、O和S的杂原子的3至8元杂环基;

[0150] 每个 $R^{4G1}$ 独立地为-OH、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $-(CH_2OCH_2)_{1-5}-CH_3$ 、 $C_{1-3}$ 卤代烷基、或任选被1至3个 $R^{4G9}$ 取代的 $C_{3-8}$ 环烷基;

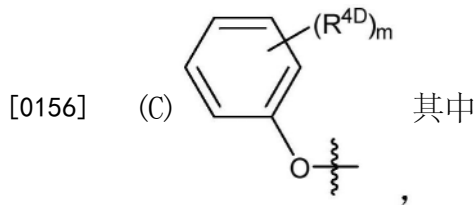
[0151] 每个 $R^{4G3}$ 和 $R^{4G9}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基;或

[0152] (E)  $-(OP(O)(OH))_{1-2}-OH$ 。

[0153] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4B}$ 和 $R^{4C}$ 各自独立地为:

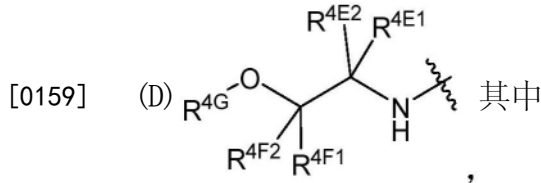
[0154] (A) -OH;

[0155] (B)  $-OR^{4B1}$ ,其中 $R^{4B1}$ 为萘基;



[0157] 下标m为0或1;并且

[0158]  $R^{4D}$ 为 $C_{1-6}$ 烷基;



[0160]  $R^{4E1}$ 为 $C_{1-3}$ 烷基;

[0161]  $R^{4E2}$ 为H;

[0162]  $R^{4F1}$ 和 $R^{4F2}$ 一起为氧代基;

[0163]  $R^{4G}$ 为任选被1个 $R^{4G1}$ 取代的 $C_{1-8}$ 烷基、 $C_{4-6}$ 环烷基、或任选被1

[0164] 个 $R^{4G3}$ 取代的具有1个选自N和O的杂原子的4至6元杂环基;

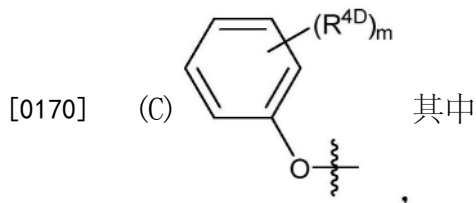
[0165] 每个 $R^{4G1}$ 独立地为-OH、 $C_{1-4}$ 烷氧基、 $-(CH_2OCH_2)_{1-2}-CH_3$ 、 $C_{1-3}$ 卤代烷基、或任选被1个 $R^{4G9}$ 取代的 $C_{3-6}$ 环烷基;

[0166] 每个 $R^{4G3}$ 和 $R^{4G9}$ 独立地为 $C_{1-3}$ 烷基;或

[0167] (E) - (OP(O)(OH))<sub>1-2</sub>-OH。

[0168] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(Ih)或(Ik)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4B}$ 为:

[0169] (B) -OR<sup>4B1</sup>,其中 $R^{4B1}$ 为萘基;或



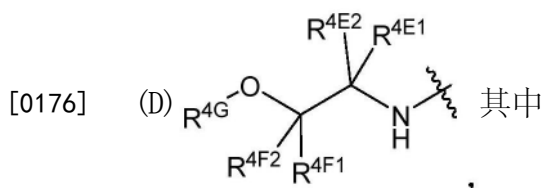
[0171] 下标m为0或1;并且

[0172] 每个 $R^{4D}$ 独立地为叔丁基;或

[0173] (E) - (OP(O)(OH))<sub>1-2</sub>-OH。

[0174] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)或(Ie)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4C}$ 为:

[0175] (A) -OH;或



[0177]  $R^{4E1}$ 为甲基;

[0178]  $R^{4E2}$ 为H;

[0179]  $R^{4F1}$ 和 $R^{4F2}$ 一起为氧代基;并且

[0180]  $R^{4G}$ 为

[0181] 各自任选被OH、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、 $CF_3$ 、 $Me(CH_2OCH_2)_2^-$ 、环丙基或1-甲基环丙基取代的甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-

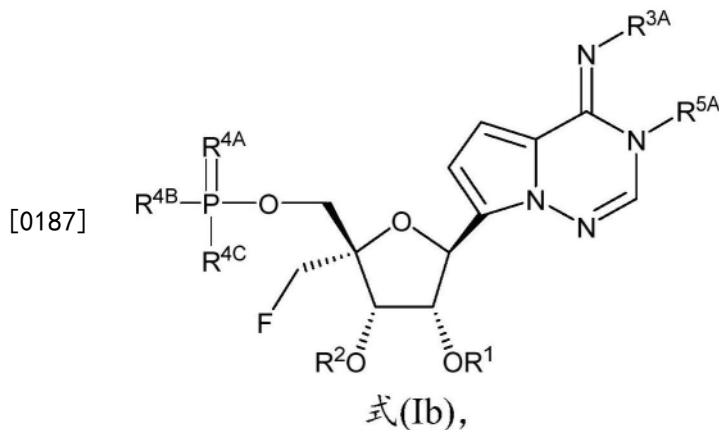
[0182] 二甲基-丁基、2-乙基-丁基或2-正丙基-戊基,

[0183] 环丁基、环戊基或环己基,

[0184] 各自任选被甲基、乙基、正丙基或异丙基取代的吡咯烷基、氧杂环丁烷基或四氢吡喃基。

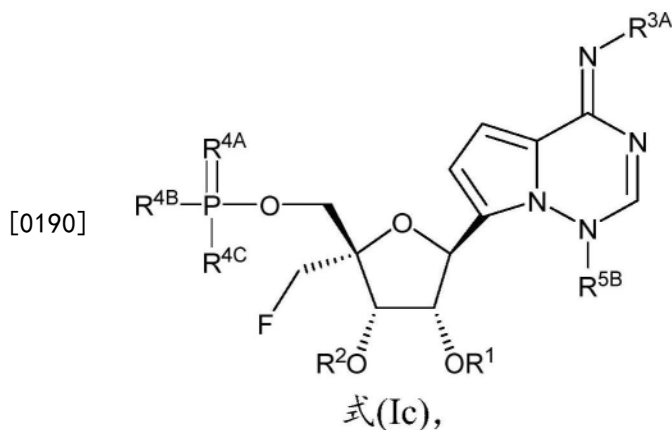
[0185] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{5A}$ 和 $R^{5B}$ 各自独立地为被-OP(O)(OH)<sub>2</sub>取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ib)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{5A}$ 和 $R^{5B}$ 各自独立地为被-OP(O)(OH)<sub>2</sub>取代的C<sub>1-3</sub>烷基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)或(Ic)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{5B}$ 为-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)或(Ib)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{5A}$ 为-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>。

[0186] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ib)表示:



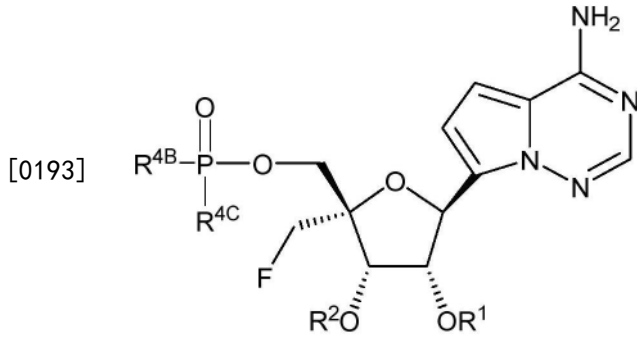
[0188] 其中 $R^{3A}$ 为H;并且 $R^{5A}$ 为-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>。

[0189] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ic)表示:



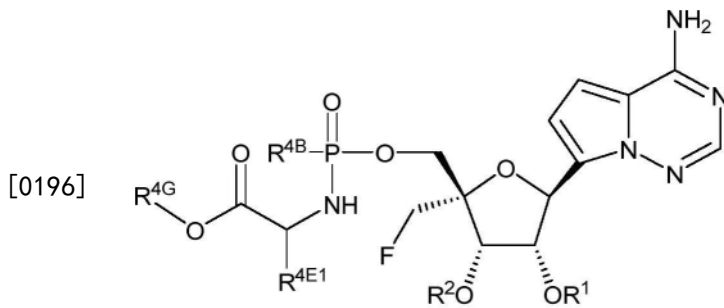
[0191] 其中 $R^{3A}$ 为H;并且 $R^{5B}$ 为-CH<sub>2</sub>OP(O)(OH)<sub>2</sub>。

[0192] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Id)表示:



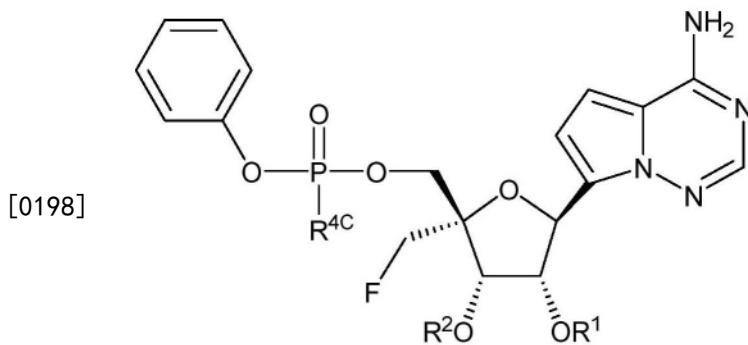
[0194] 式(Id)。

[0195] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ie)表示:



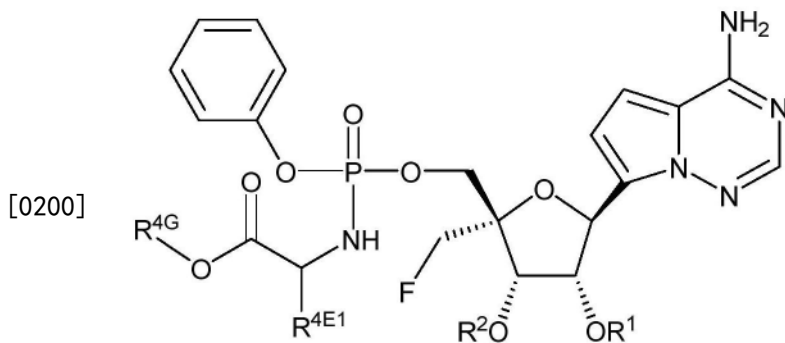
式(Ie)。

[0197] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(If)表示:



式(If)。

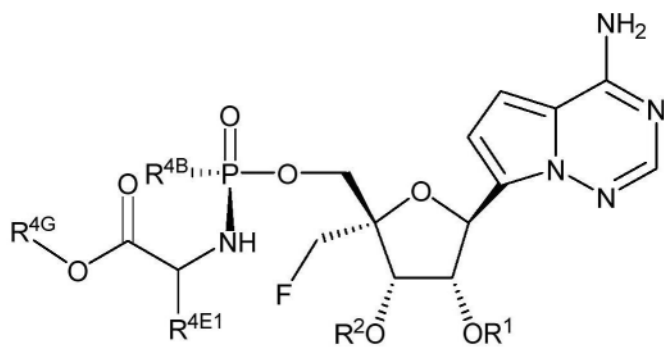
[0199] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ig)表示:



式(Ig)。

[0201] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ih)表示:

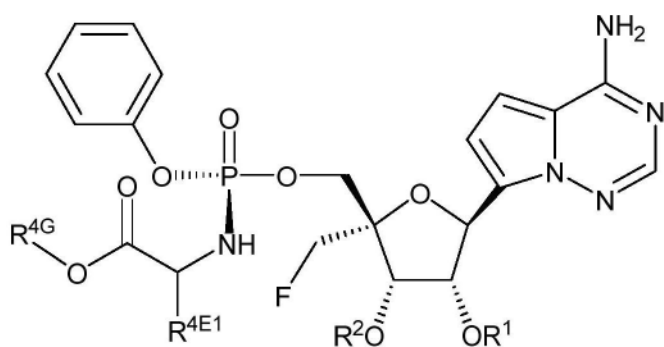
[0202]



式(Ih)。

[0203] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ij)表示:

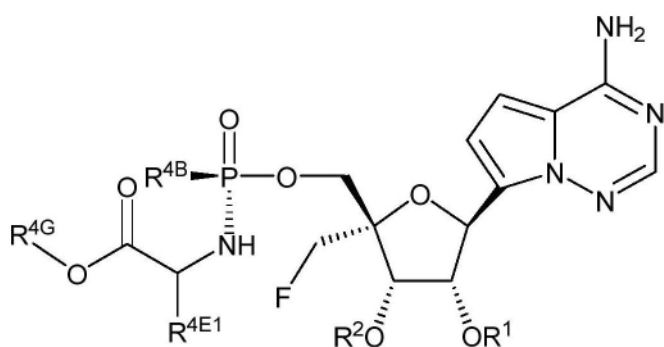
[0204]



式(Ij)。

[0205] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Ik)表示:

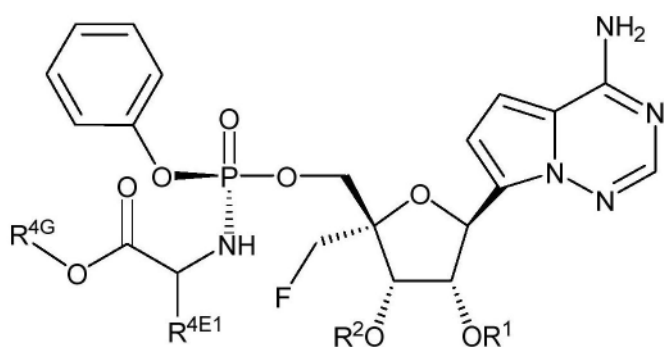
[0206]



式(Ik)。

[0207] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(Im)表示:

[0208]

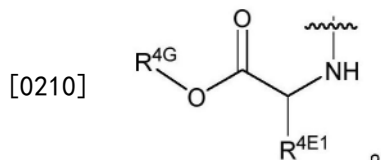


式(Im)。

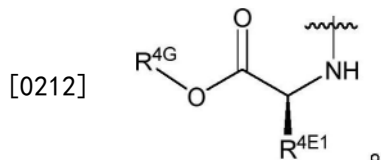
[0209] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)或(Ie)或其药



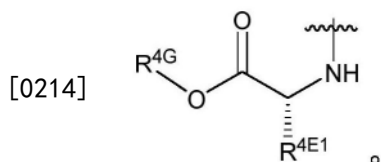
学上可接受的盐表示,其中 $R^{4C}$ 为:



[0211] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)或(Ie)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4C}$ 为:



[0213] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)或(Ie)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4C}$ 为:



[0215] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4G}$ 为任选被1至3个 $R^{4G1}$ 取代的 $C_{1-8}$ 烷基、 $C_{3-8}$ 环烷基、或任选被1至3个 $R^{4G3}$ 取代的具有1至3个选自N、O和S的杂原子的3至8元杂环基;每个 $R^{4G1}$ 独立地为-OH、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $-(CH_2OCH_2)_{1-5}-CH_3$ 、 $C_{1-3}$ 卤代烷基、或任选被1至3个 $R^{4G9}$ 取代的 $C_{3-8}$ 环烷基;并且每个 $R^{4G3}$ 和 $R^{4G9}$ 独立地为 $C_{1-6}$ 烷基。

[0216] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4G}$ 为

[0217] 各自任选被OH、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、 $CF_3$ 、Me  $(CH_2OCH_2)_2$ -、环丙基或1-甲基环丙基取代的甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基、2-乙基-丁基或2-正丙基-戊基,

[0218] 环丁基、环戊基或环己基,

[0219] 各自任选被甲基、乙基、正丙基或异丙基取代的吡咯烷基、氧杂环丁烷基或四氢吡喃基。

[0220] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中 $R^{4G}$ 为

[0221] 任选被Me  $(CH_2OCH_2)_2$ -、环丙基或1-甲基环丙基取代的甲基,

[0222] 任选被丁氧基取代的乙基,

[0223] 任选被甲氧基取代的正丙基,

[0224] 异丙基、正丁基,

[0225] 任选被OH、甲氧基或 $CF_3$ 取代的异丁基,

[0226] 正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基、2-乙基-丁基、2-正丙基-戊基,

[0227] 环丁基、环己基,

[0228] N-甲基-吡咯烷基、氧杂环丁烷基或四氢吡喃基。

[0229] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基、2-乙基-丁基、2-正丙基-戊基、环丁基、环己基、N-甲基-吡咯烷基、氧杂环丁烷基或四氢吡喃基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基、2-乙基-丁基或2-正丙基-戊基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为异丙基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基或2-乙基-丁基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为异丙基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为正己烷。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为2,2-二甲基-丁基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为3,3-二甲基-丁基。在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中R<sup>4G</sup>为2-乙基-丁基。

[0230] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(Ia)或其药学上可接受的盐表示,其中

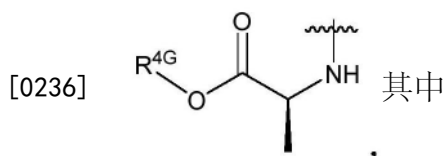
[0231] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>均为H或-C(O)R<sup>1A</sup>,其中R<sup>1A</sup>为甲基、乙基或异丙基;

[0232] R<sup>3</sup>为-NH<sub>2</sub>;

[0233] R<sup>4B</sup>为:

[0234] -OPh;并且

[0235] R<sup>4C</sup>为:



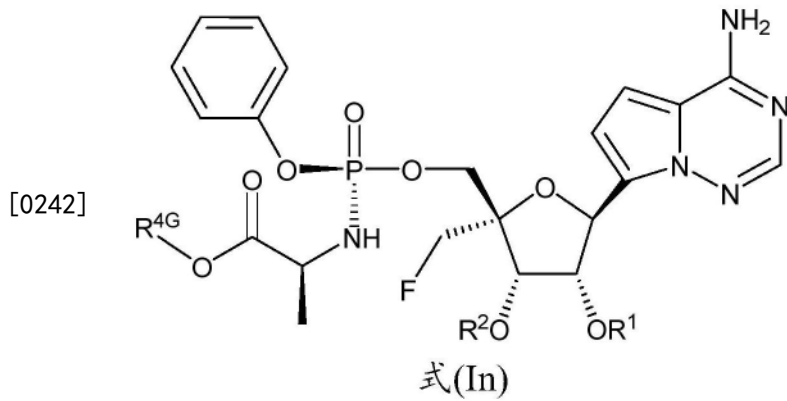
[0237] R<sup>4G</sup>为

[0238] 各自任选被OH、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、CF<sub>3</sub>、Me(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-、环丙基或1-甲基环丙基取代的甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基、2-乙基-丁基或2-正丙基-戊基,

[0239] 环丁基、环戊基或环己基,

[0240] 各自任选被甲基、乙基、正丙基或异丙基取代的吡咯烷基、氧杂环丁烷基或四氢吡喃基。

[0241] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药学上可接受的盐由式(In)表示:



[0243] 其中

[0244]  $R^1$ 和 $R^2$ 均为H或 $-C(O)R^{1A}$ ,其中 $R^{1A}$ 为甲基、乙基或异丙基;并且

[0245]  $R^{4G}$ 为

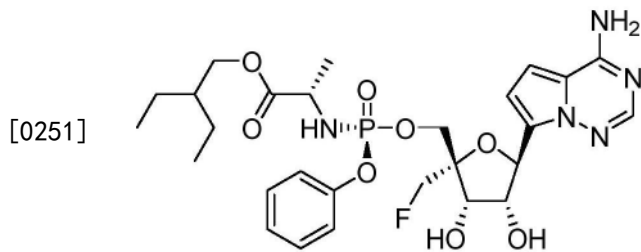
[0246] 各自任选被OH、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、 $CF_3$ 、 $Me(CH_2OCH_2)_2$ -、环丙基或1-甲基环丙基取代的甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己烷、2,2-二甲基-丁基、3,3-二甲基-丁基、2-乙基-丁基或2-正丙基-戊基,

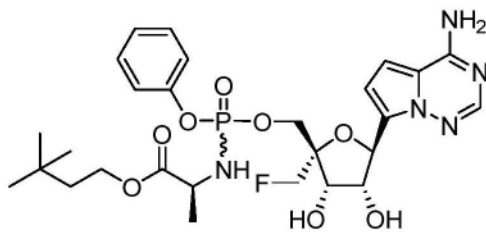
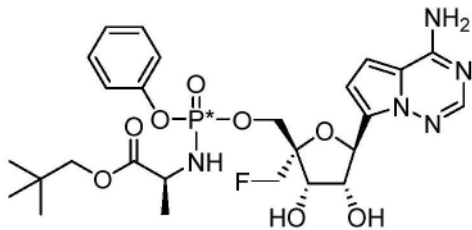
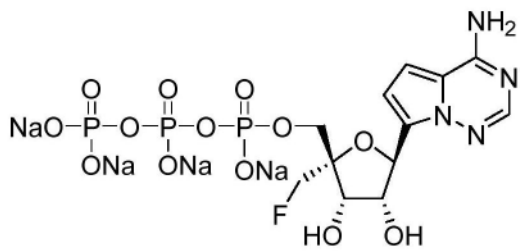
[0247] 环丁基、环戊基或环己基,

[0248] 各自任选被甲基、乙基、正丙基或异丙基取代的吡咯烷基、氧杂环丁烷基或四氢吡喃基。

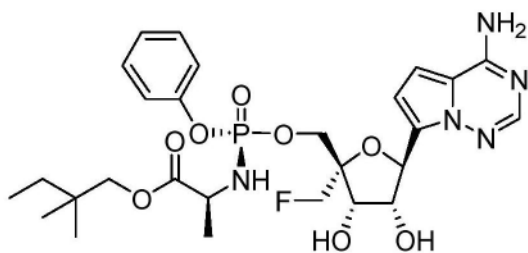
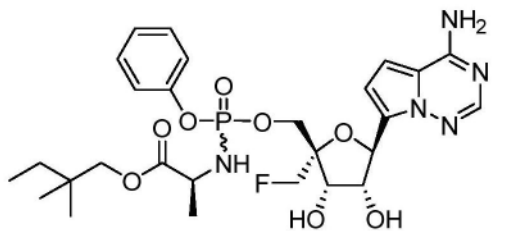
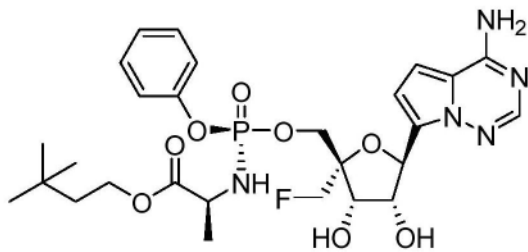
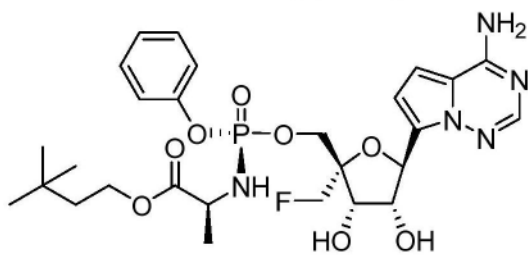
[0249] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物选自表1A、表1B、表1C和表1D的化合物。

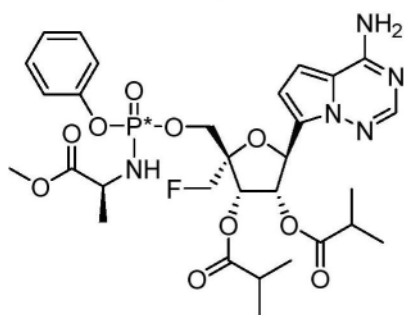
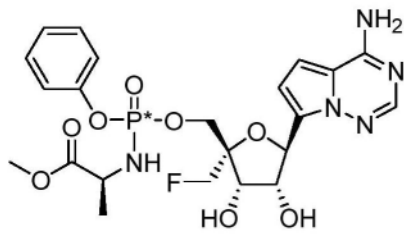
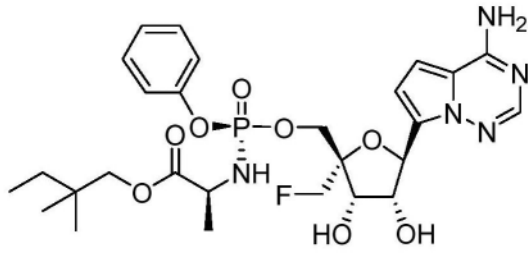
[0250] 表1A.



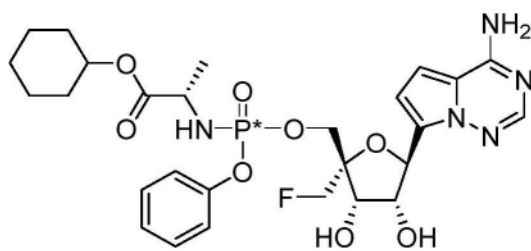
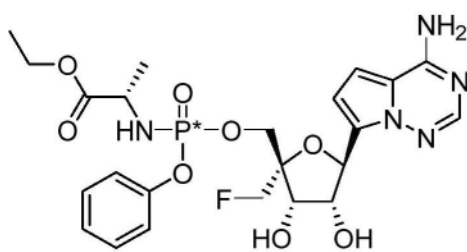
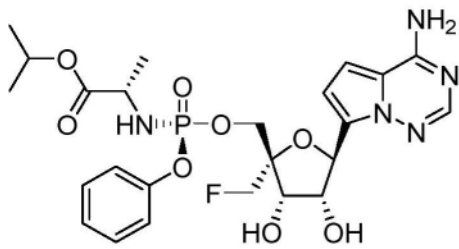


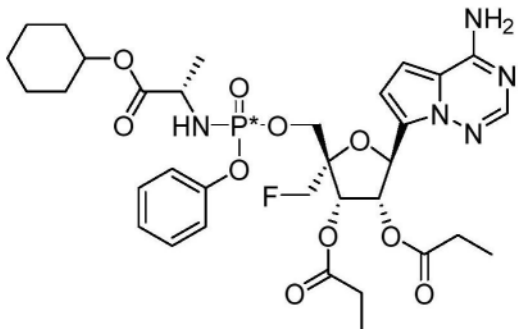
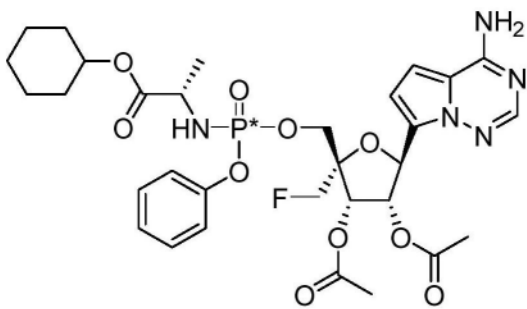
[0252]



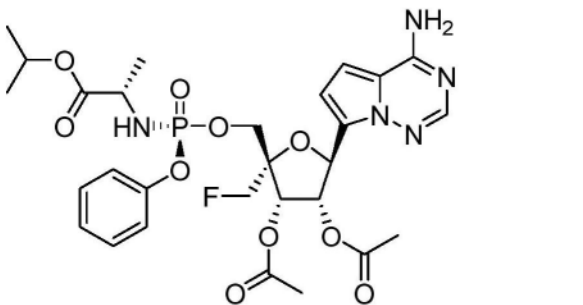
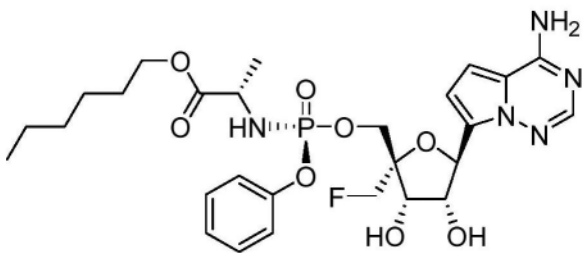
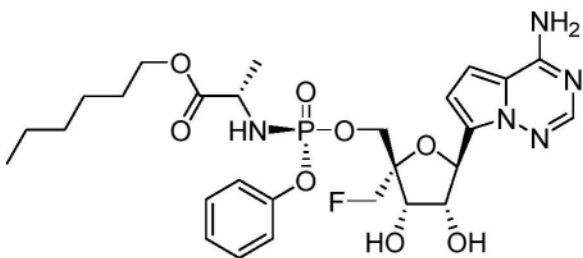
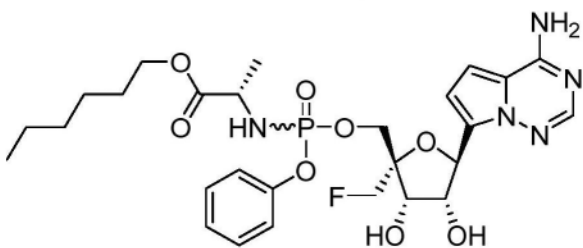


[0253]

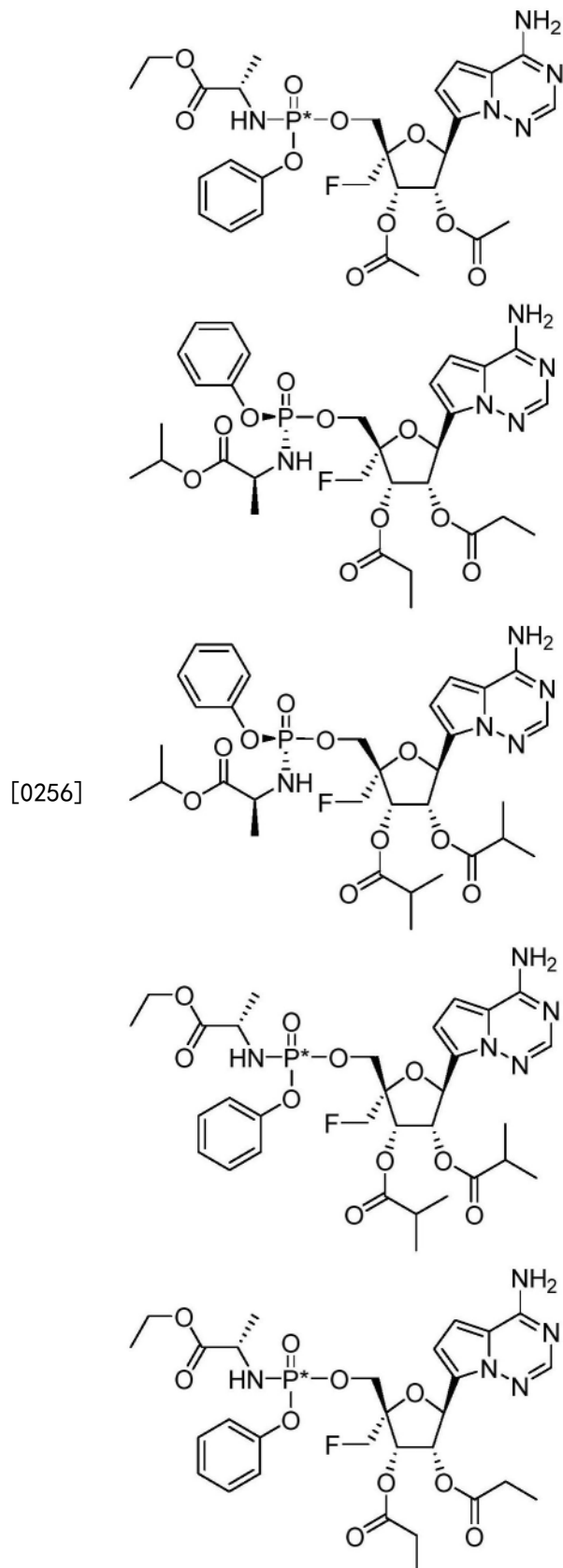


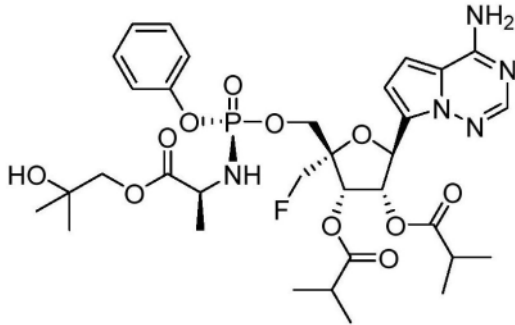
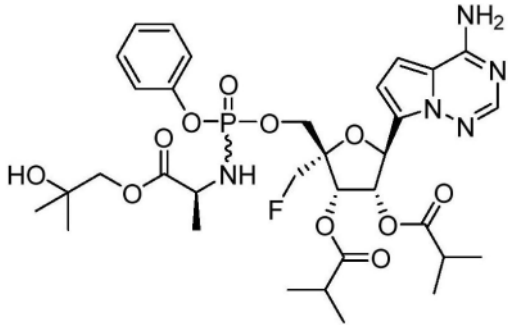
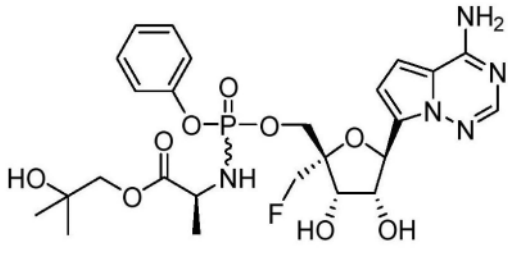


[0254]

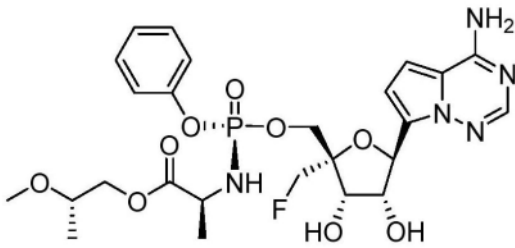
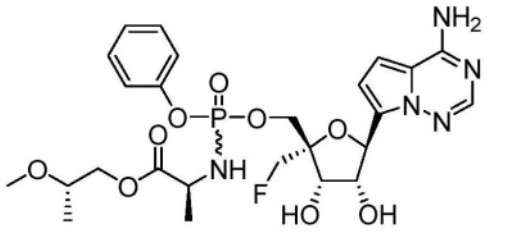
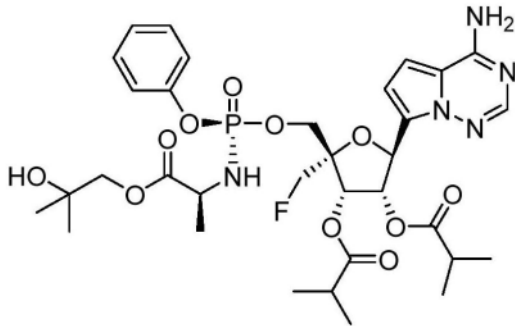


[0255] 表1B.

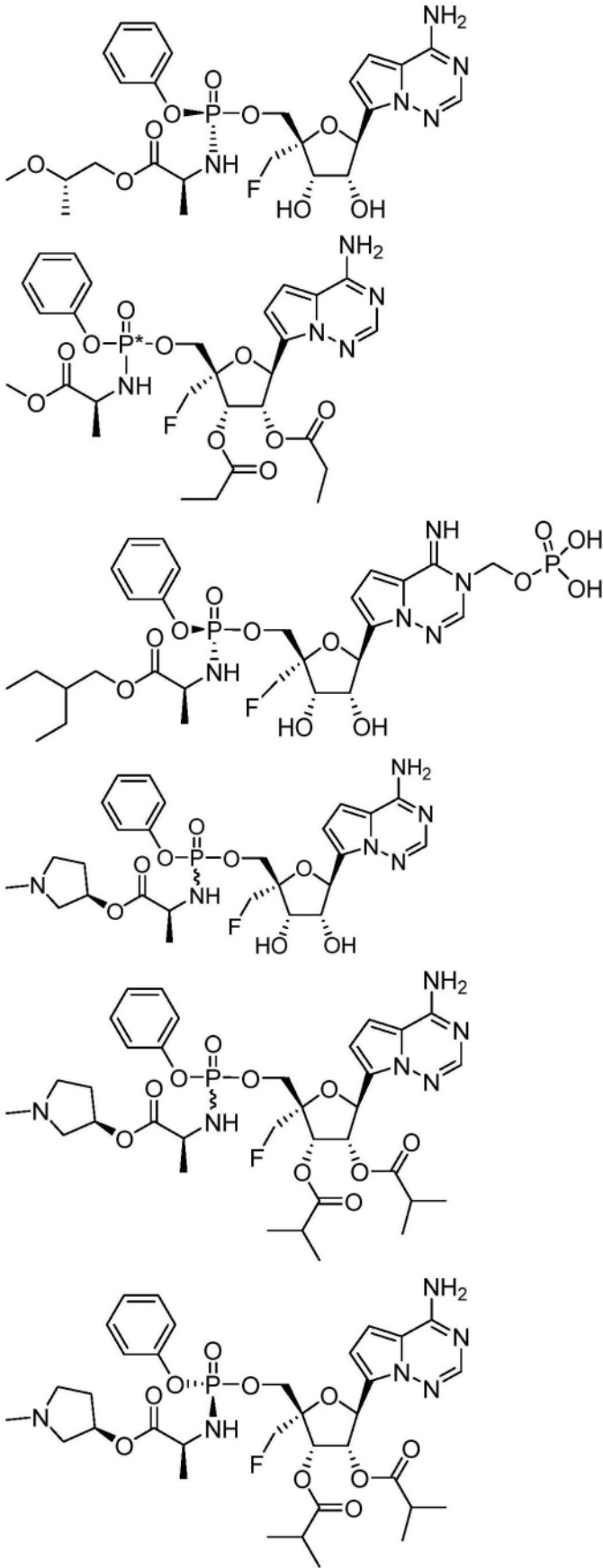


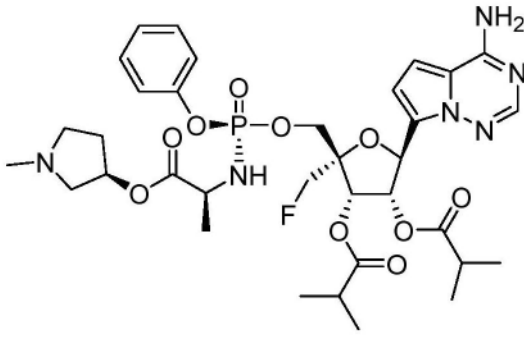


[0257]

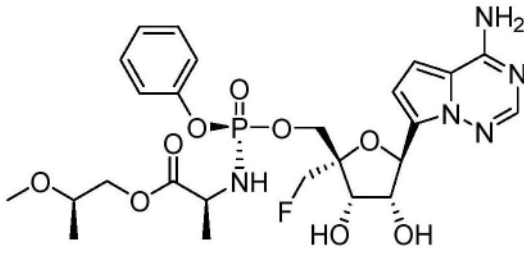
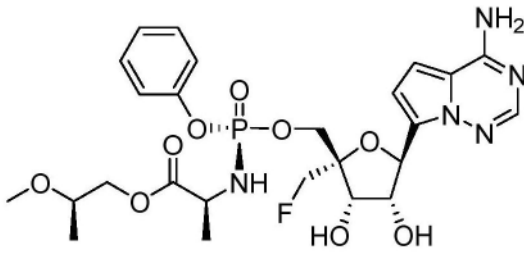
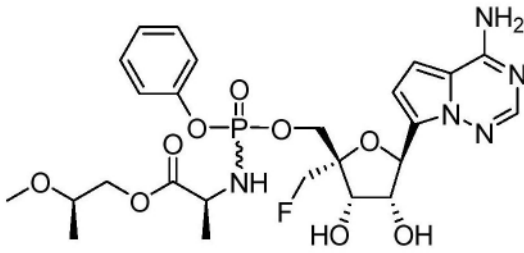








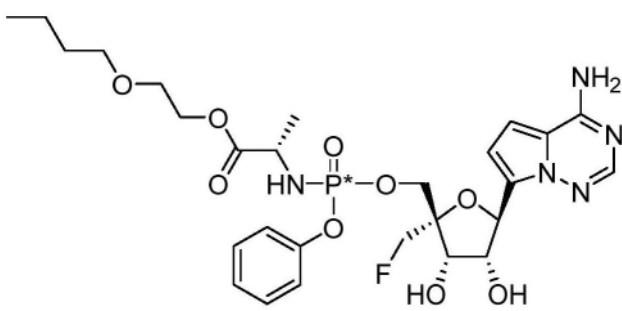
[0259]

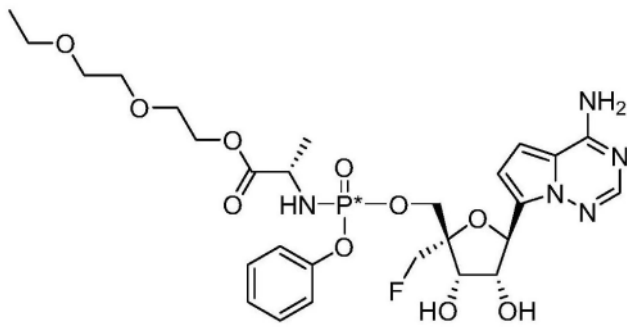
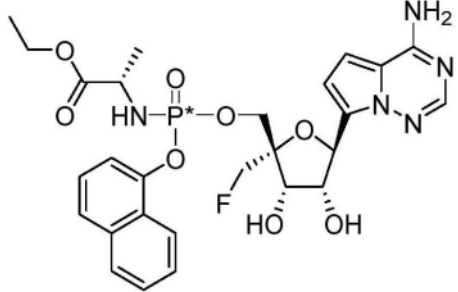
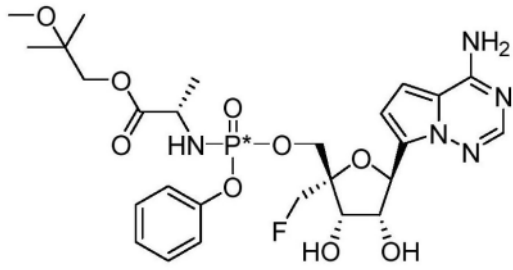


[0260]

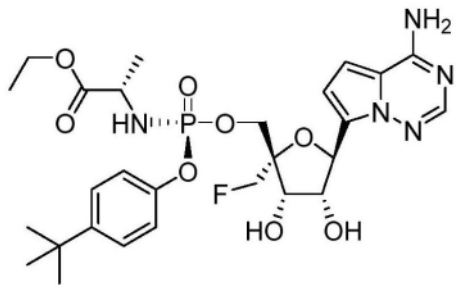
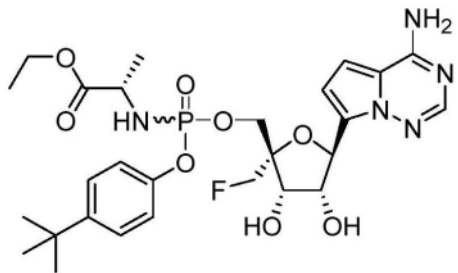
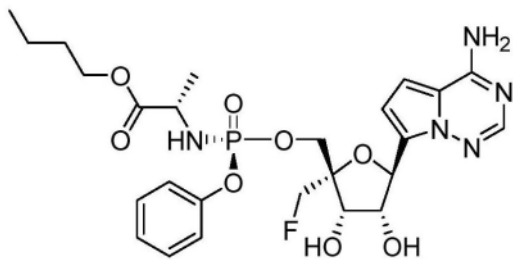
表1C.

[0261]

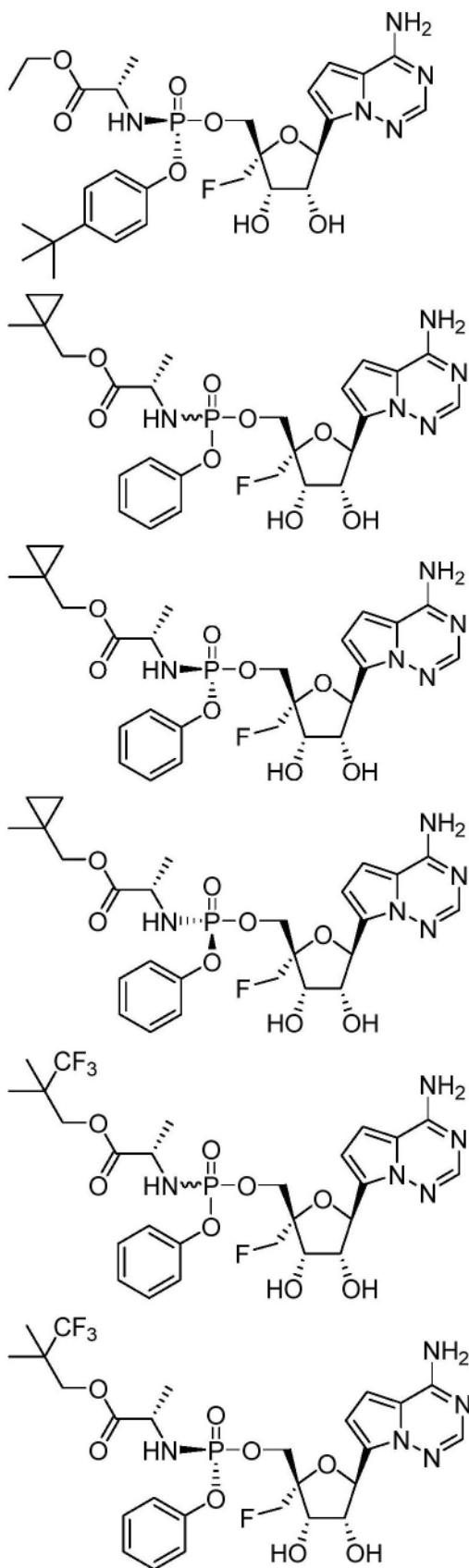


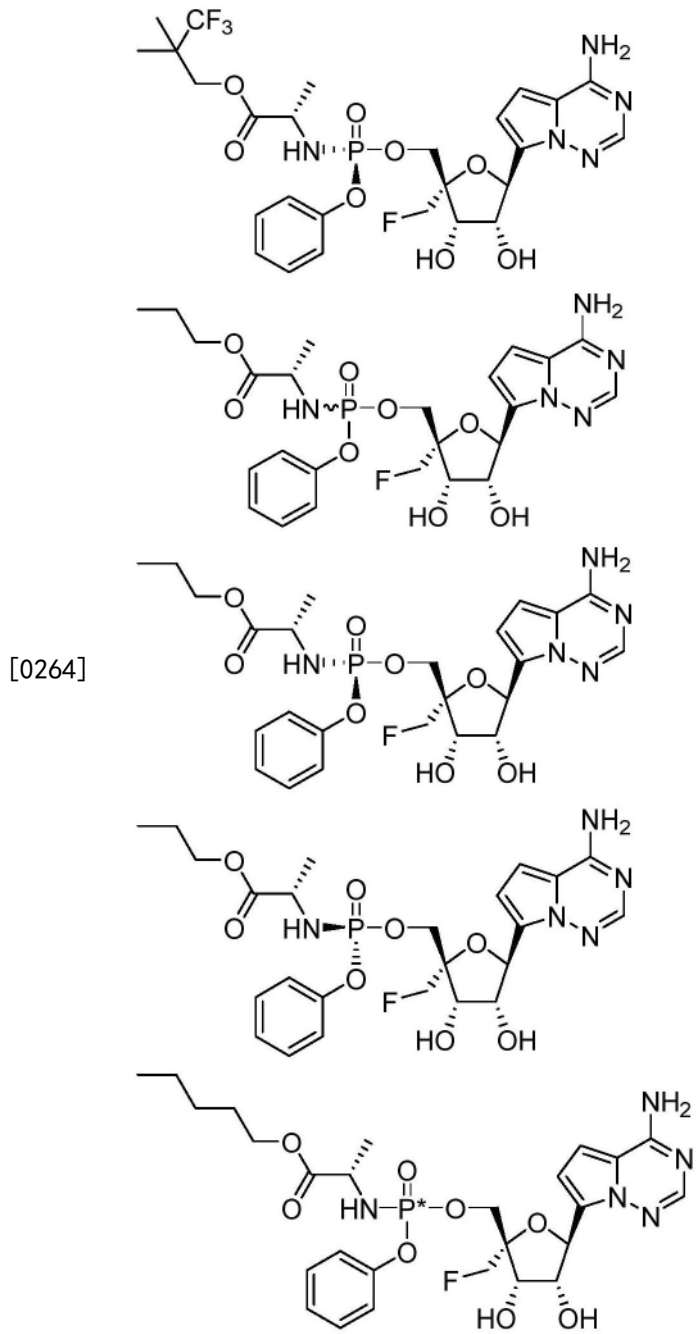


[0262]

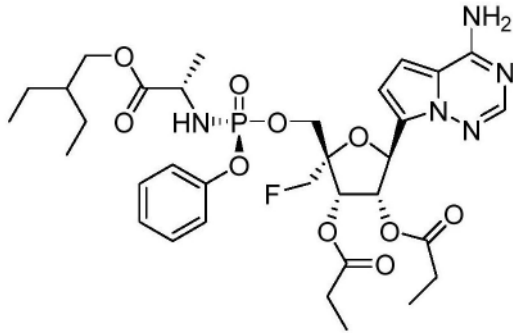
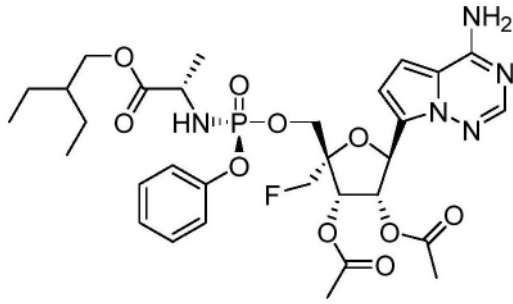


[0263]

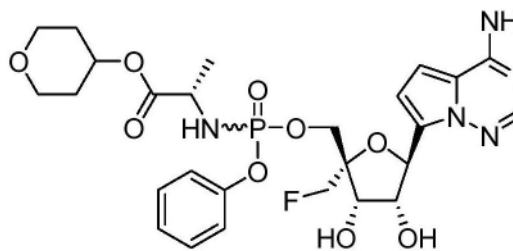
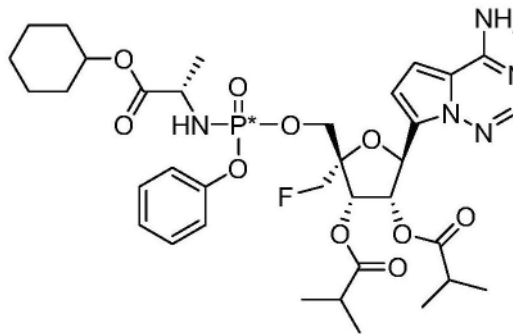
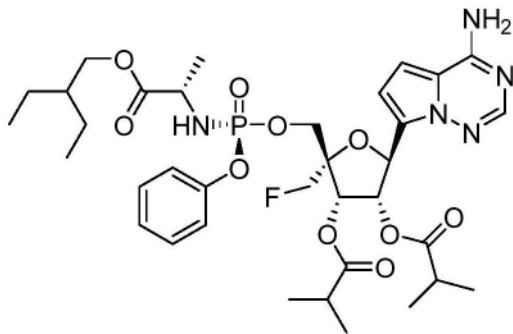


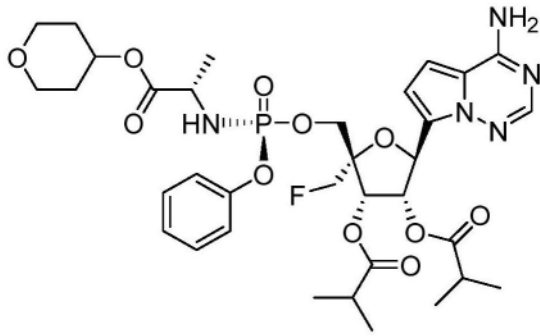
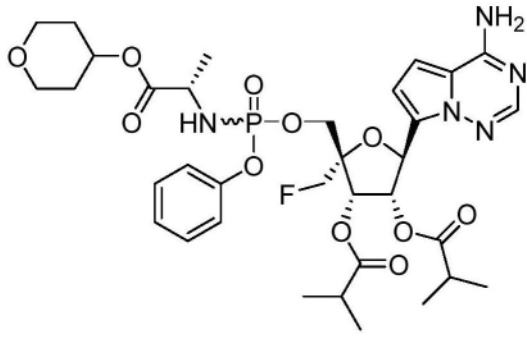


[0265] 表1D.

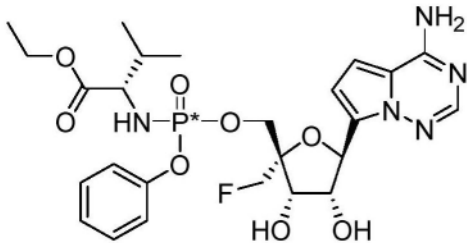
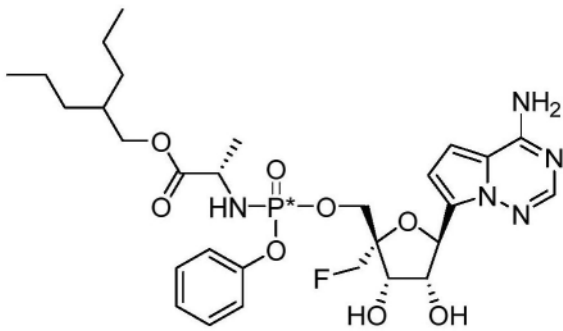
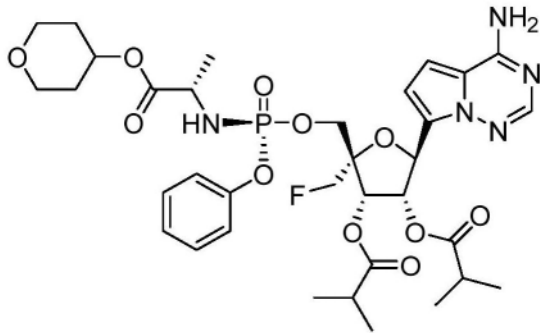


[0266]

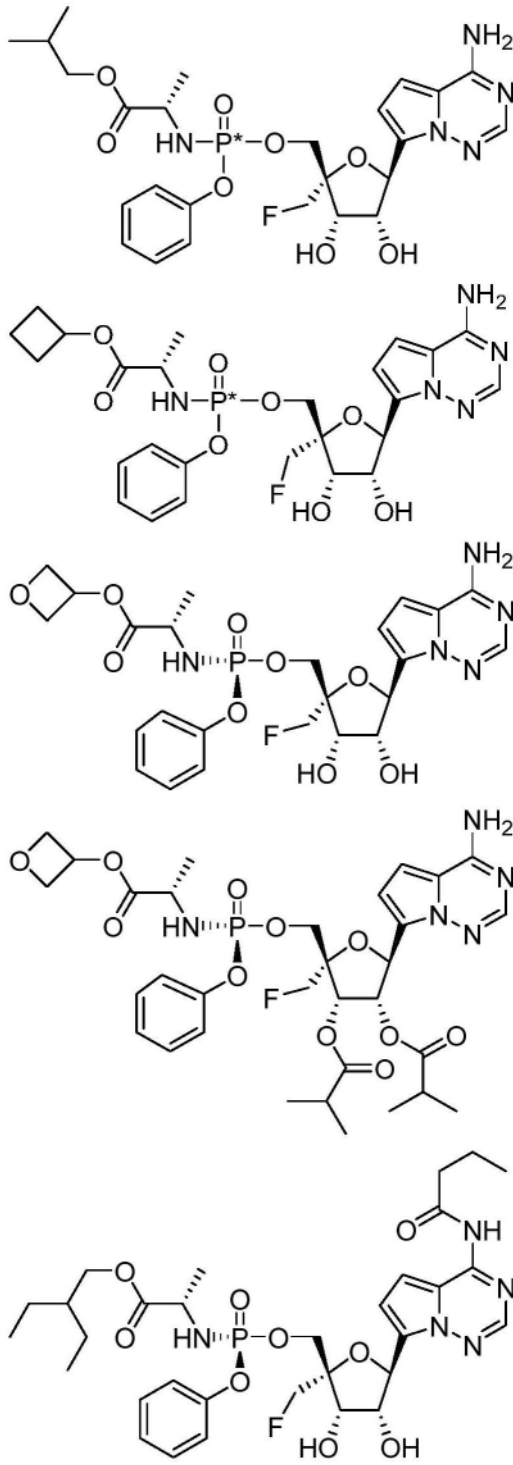




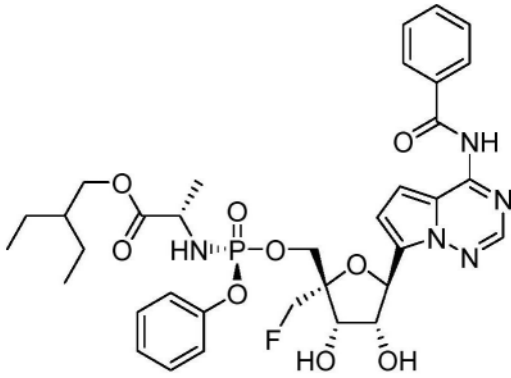
[0267]



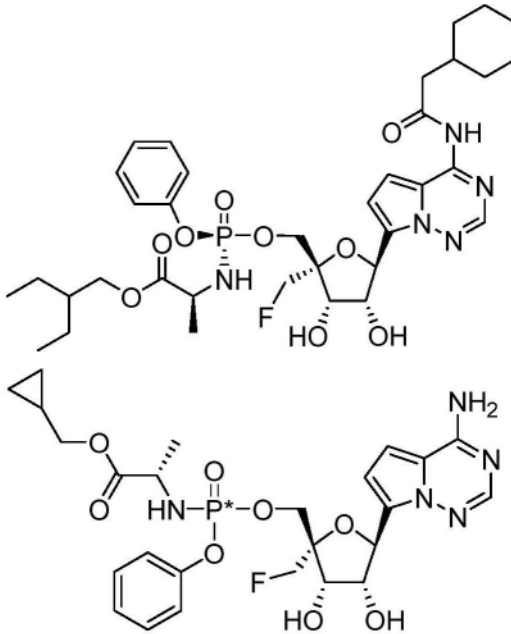
[0268]





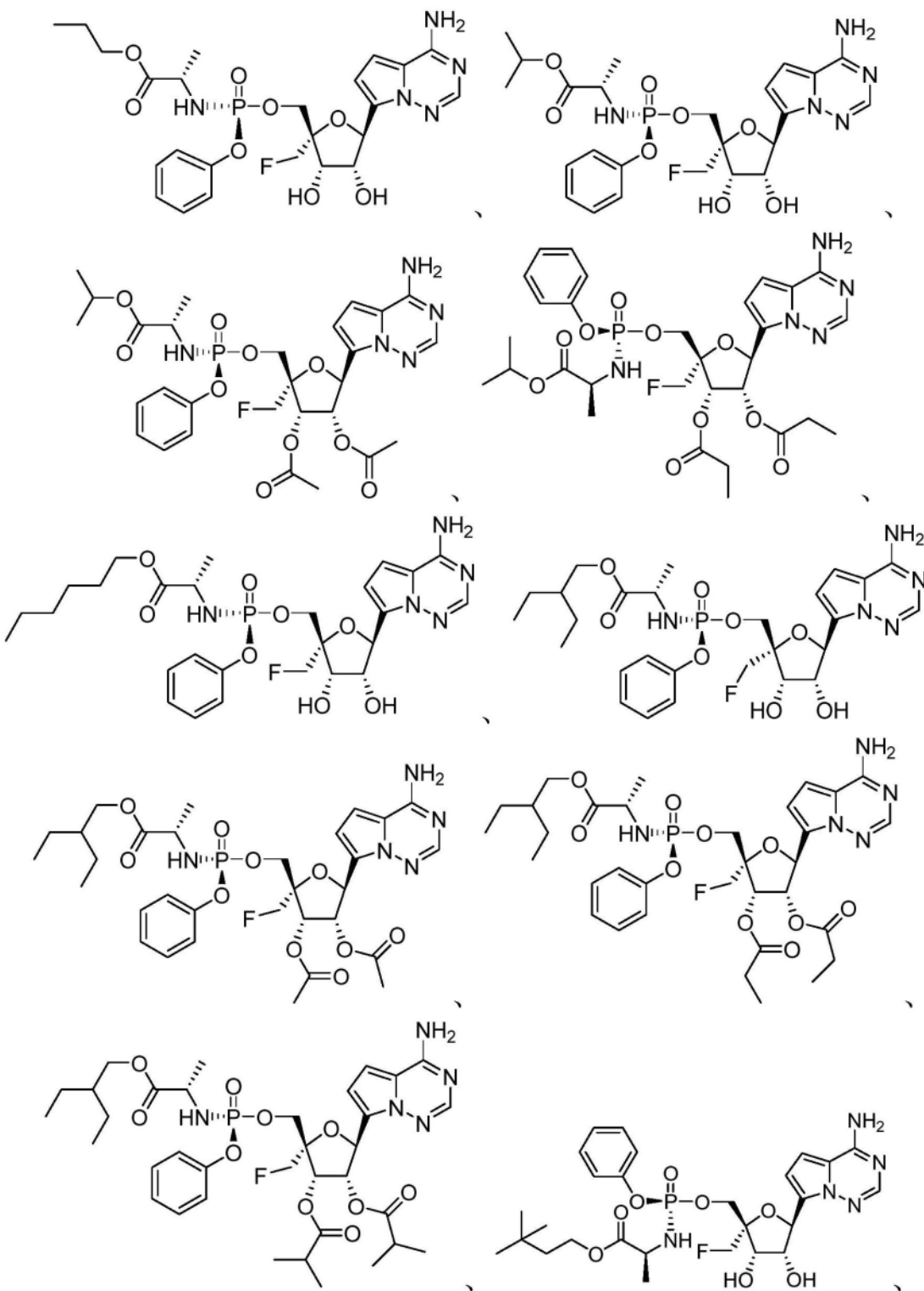


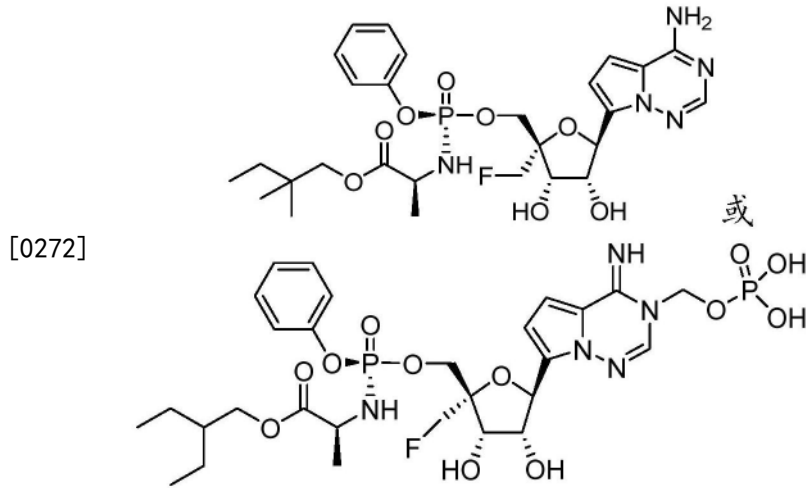
[0269]



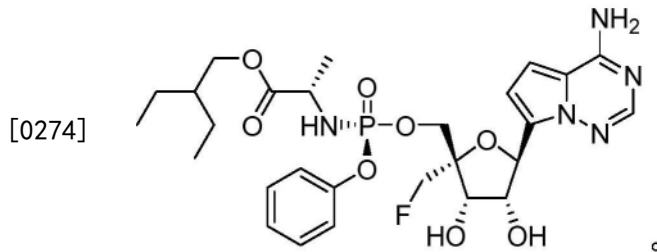
[0270] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物为:

[0271]

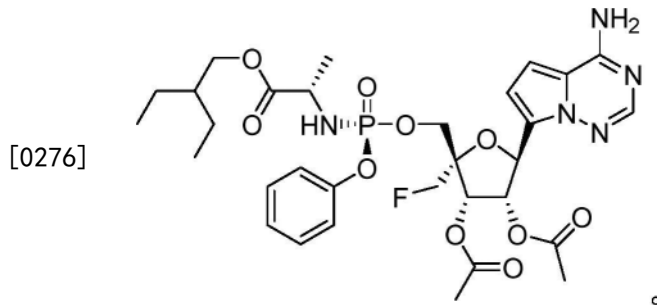




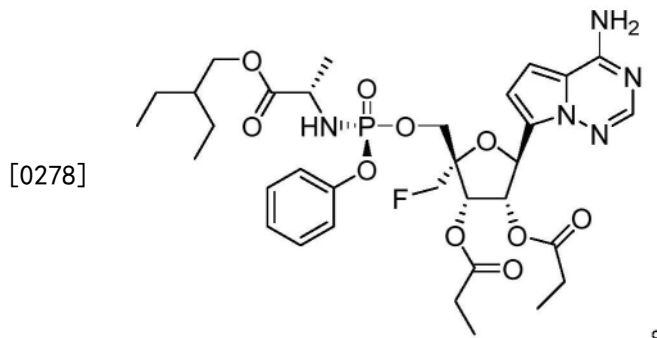
[0273] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物为:



[0275] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物为:

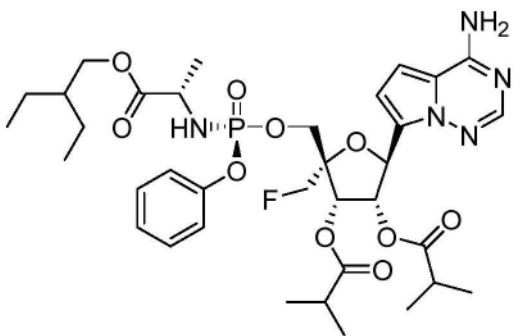


[0277] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物为:



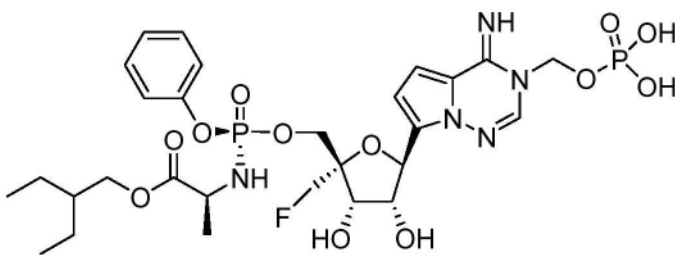
[0279] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物为:

[0280]



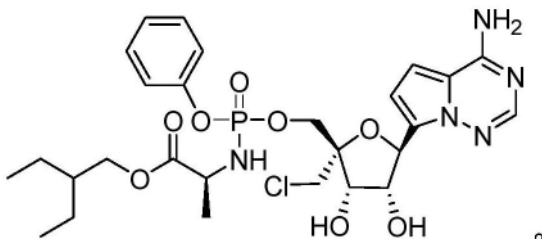
[0281] 在一些实施方案中,该化合物可以由式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐表示,其中该化合物为:

[0282]



[0283] 在一些实施方案中,本公开提供了一种化合物或其药学上可接受的盐,其中该化合物为:

[0284]



[0285] 本文所述的化合物的体内代谢产物也落入本文的范围内,只要此类产物是新颖的并且相对于现有技术不明显。此类产物可例如由所施用化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、酯化等产生,主要是由于酶促过程。因此,包括通过包括使化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的一段时间的方法来产生新型且非显而易见的化合物。此类产物通常通过以下过程来识别:制备放射性标记(例如 $^{14}\text{C}$ 或 $^3\text{H}$ )化合物,将其以可检测剂量(例如大于约 $0.5\text{mg/kg}$ )肠胃外施用于动物(诸如大鼠、小鼠、豚鼠、猴)或人,允许有足够的时间进行代谢(通常约30秒至30小时),并且将其转化产物从尿液、血液或其他生物样本中分离出来。这些产物很容易分离,因为它们被标记(其他产物通过使用能够结合在代谢物中存活的表位的抗体来分离)。代谢物结构以常规方式(例如,通过MS或NMR分析)进行确定。通常,代谢物的分析与本领域技术人员众所周知的常规药物代谢研究相同的方式进行。转化产物只要在体内不以另外的方式被发现,即使它们自身不具有HSV抗病毒活性,也可用于化合物的治疗剂量的诊断测定。

[0286] 用于确定替代胃肠分泌物中化合物的稳定性的配方和方法是已知的。化合物在本文中被定义为在胃肠道中稳定,其中在 $37^\circ\text{C}$ 下孵育1小时后,少于约50摩尔%的保护基团在替代肠液或胃液中脱保护。仅仅因为化合物对胃肠道稳定并不意味着它们不能在体内水解。前药通常在消化系统中稳定,但可在消化腔、肝脏、肺或其他代谢器官中或一般来讲在

细胞内基本上水解至母体药物。如本文所用,前药被理解为被化学设计成在克服口服递送生物屏障后有效释放母体药物的化合物。

#### [0287] IV. 药物制剂

[0288] 在一些实施方案中,本公开提供了一种药物制剂,该药物制剂包含药学有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体或赋形剂。本文还提供了一种药物制剂,该药物制剂包含药学有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)和(In)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或酯以及药学上可接受的载体或赋形剂。

[0289] 本文的化合物与常规载体和赋形剂一起配制。片剂将包含赋形剂、助流剂、填料、粘结剂等。水性制剂以无菌形式制备,并且当旨在通过非口服施用递送时,通常将是等渗的。所有制剂将任选地含有赋形剂,诸如“Handbook of Pharmaceutical Excipients”(1986年)中所述的那些赋形剂。赋形剂包括抗坏血酸和其他抗氧化剂、螯合剂诸如EDTA、碳水化合物诸如糊精、羟烷基纤维素、羟烷基甲基纤维素、硬脂酸等。制剂的pH范围为约3至约11,例如约7至10。

[0290] 虽然活性成分可以单独施用,但是可能优选的是将它们作为药物制剂提供。用于兽医用途和人类用途的制剂均包含至少一种如上文所定义的活性成分,连同一种或多种可接受的载体和任选的其他治疗成分,尤其是如本文所讨论的那些附加治疗成分。载体必须是“可接受的”,即与制剂的其他成分相容并且对其接受者在生理上无害。

[0291] 制剂包括适于前述施用途的那些制剂。制剂可方便地以单位剂型存在,并且可通过任何合适的方法制备。技术和制剂通常见于“Remington's Pharmaceutical Sciences”(Mack Publishing Co., Easton, PA)。此类方法包括将活性成分与构成一种或多种辅助成分的载体缔合的步骤。一般来讲,制剂通过将活性成分与液体载体或细分固体载体或两者均匀且紧密地缔合,然后,如果需要,使产品成形来制备。

[0292] 适于口服施用的制剂可作为离散单位诸如各自包含预先确定量的活性成分的胶囊、扁囊剂或片剂存在;作为粉末或颗粒存在;作为水性或非水性液体中的溶液或悬浮液存在;或者作为水包油型液体乳液或油包水型液体乳液存在。活性成分也可作为丸剂、冲剂或糊剂施用。

[0293] 片剂通过压缩或模制制成,任选地使用一种或多种辅助成分。压缩片剂可通过在合适的机器中压缩自由流动形式(诸如粉末状或颗粒状)的活性成分来制备,任选地与粘结剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂混合。模制片剂可通过在合适的机器中将用惰性液体稀释剂润湿的粉末状活性成分的混合物进行模制来制备。片剂可任选地被包衣或刻痕,并且任选地被配制以便提供活性成分从中的缓慢或受控的释放。

[0294] 对于眼睛或其他外部组织(例如口腔和皮肤)的感染,优选地将制剂作为含有活性成分的外用软膏或乳膏施用,这些活性成分的量例如为0.075% w/w至20% w/w(包括在0.1%与20%之间的范围内的活性成分,增量为0.1% w/w,诸如0.6% w/w、0.7% w/w等),优选地0.2% w/w至15% w/w,并且最优选地0.5% w/w至10% w/w。当配制成软膏时,活性成分可与石蜡基质或水混溶性软膏基质一起使用。另选地,活性成分可与水包油型乳膏基质一起配制成乳膏。

[0295] 如果需要,乳膏基质的水相可包括例如至少30% w/w的多元醇,即具有两个或更多

个羟基的醇诸如丙二醇、丁烷-1,3-二醇、甘露醇、山梨糖醇、甘油和聚乙二醇(包括PEG 400)以及它们的混合物。外用制剂可理想地包括增强活性成分通过皮肤或其他受影响区域的吸收或渗透的化合物。此类皮肤渗透增强剂的示例包括二甲基亚砷和相关类似物。

[0296] 乳液的油相可以已知方式由已知成分构成。虽然该相可以仅包括乳化剂(或者称为乳化剂),但其理想地包括至少一种乳化剂与脂肪或油或与脂肪和油两者的混合物。优选地,亲水性乳化剂连同充当稳定剂的亲脂性乳化剂一起包括在内。还优选地包括油和脂肪两者。具有或不具有稳定剂的乳化剂一起构成所谓的乳化蜡,并且蜡与油和脂肪一起构成所谓的乳化软膏基质,该基质形成乳膏制剂的油性分散相。

[0297] 适用于制剂的乳化剂和乳液稳定剂包括Tween<sup>®</sup>60、Span<sup>®</sup>80、鲸蜡硬脂醇、苯甲醇、肉豆蔻醇、甘油单硬脂酸酯和月桂基硫酸钠。

[0298] 基于实现所需的化妆品特性为制剂选择合适的油或脂肪。乳膏应该优选地是不油腻的、不染色的和可洗涤的产品,具有合适的稠度以避免从管或其他容器泄漏。可使用直链或支链的单烷基酯或二烷基酯,诸如二异己二酸酯、异十六烷基硬脂酸酯、椰子脂肪酸的丙二醇二酯、肉豆蔻酸异丙酯、油酸癸酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸丁酯、棕榈酸-2-乙基己酯或称为Crodamol CAP的支链酯的混合物,最后三种是优选酯。这些酯可单独或组合使用,具体取决于所需特性。另选地,使用高熔点脂质,诸如白色软石蜡和/或液体石蜡或其他矿物油。

[0299] 本文的药物制剂包含与一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂和任选的其他治疗剂的组合。含有活性成分的药物制剂可以是适用于预期施用方法的任何形式。当用于口服用途时,例如可制备片剂、含片、锭剂、水性或油性悬浮液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬胶囊或软胶囊、溶液、糖浆或酏剂。旨在用于口服用途的组合物可根据用于制造药物组合物的任何方法制备,并且此类组合物可含有一种或多种药剂,包括甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂,以便提供适口的制剂。含有与适用于制造片剂的无毒的药学上可接受的赋形剂混合的活性成分的片剂是可接受的。这些赋形剂可为例如惰性稀释剂,诸如碳酸钙或碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;粒化剂和崩解剂,诸如玉米淀粉或藻酸;粘结剂,诸如淀粉、明胶或阿拉伯树胶;以及润滑剂,诸如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。片剂可为未包衣的或可通过包括微胶囊化在内的已知技术来包衣,以延缓胃肠道中的崩解和吸附,从而在较长周期内提供持续作用。例如,可单独使用或与蜡一起使用延时材料,诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0300] 用于口服使用的制剂也可作为硬明胶胶囊提供,其中活性成分与惰性固体稀释剂(例如磷酸钙或高岭土)混合,或作为软明胶胶囊提供,其中活性成分与水或油介质(诸如花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。

[0301] 水性悬浮液含有与适于制造水性悬浮液的赋形剂混合的活性物质。此类赋形剂包括悬浮剂,诸如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯树胶;和分散剂或润湿剂,诸如天然存在的磷脂(例如卵磷脂)、烯化氧与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如十七烯氧基鲸蜡醇)、环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯)。水性悬浮液还可含有一种或多种防腐剂,诸如对羟基苯甲酸乙酯或正羟基苯甲酸正丙酯、一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂和一种或多种甜味剂诸如蔗糖或糖精。

[0302] 可通过将活性成分悬浮在植物油(诸如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)中,或者悬浮在矿物油(诸如液体石蜡)中配制油性悬浮液。口服悬浮液可含有增稠剂诸如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可添加甜味剂(诸如上述的那些甜味剂)和矫味剂以提供可口的口服制剂。这些组合物可通过添加抗氧化剂(诸如抗坏血酸)来保存。

[0303] 适于通过添加水制备水性悬浮液的可分散粉末和颗粒提供与分散剂或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂混合的活性成分。合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂由上文所公开的那些例示。还可以存在附加的赋形剂,例如甜味剂、矫味剂和着色剂。

[0304] 药物组合物还可为水包油型乳液的形式。油相可以是植物油(诸如橄榄油或花生油)、矿物油(诸如液体石蜡)或它们的混合物。合适的乳化剂包括天然存在的树胶,诸如阿拉伯树胶和黄蓍胶;天然存在的磷脂,诸如大豆卵磷脂;衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯,诸如脱水山梨糖醇单油酸酯;和这些偏酯与环氧乙烷的缩合产物,诸如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。乳液还可含有甜味剂和矫味剂。糖浆和酞剂可与甜味剂诸如甘油、山梨糖醇或蔗糖一起配制。此类制剂还可含有缓和剂、防腐剂、矫味剂或着色剂。

[0305] 药物组合物可为无菌可注射或静脉内制剂的形式,诸如无菌可注射水性或油性悬浮液。该悬浮液可根据已知技术使用上述已经提到的那些合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌可注射或静脉内制剂还可以是无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液(诸如1,3-丁二醇中的溶液),或者被制备成冻干粉末。可采用的可接受溶媒和溶剂是水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,无菌不挥发性油通常可用作溶剂或悬浮介质。为此,可采用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。此外,脂肪酸诸如油酸可同样用于制备注射剂。

[0306] 可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的宿主和特定的施用方式而变化。例如,旨在用于向人口服施用的缓释制剂可含有大约1mg至1000mg的活性材料,该活性材料与适当且方便量的载体材料配混,该载体材料可以在总组合物的约5%至约95%(重量:重量)之间变化。可制备药物组合物以提供易于测量的施用量。例如,旨在用于静脉内输注的水溶液每毫升溶液可含有约3至500 $\mu$ g的活性成分,以便以约30mL/hr的速率输注合适的体积。

[0307] 适于局部施用于眼睛的制剂还包括滴眼剂,其中活性成分溶解或悬浮在合适的载体中,尤其是活性成分的水溶剂中。活性成分优选地以0.5%至20%,有利地0.5%至10%,并且特别是约1.5%w/w的浓度存在于此类制剂中。

[0308] 适于在口腔中局部施用的制剂包括含片,该含片中含有调味的活性成分,通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶;锭剂,该锭剂中含有惰性的活性成分,诸如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶;以及在合适的液体载体中包含活性成分的漱口水。

[0309] 用于直肠施用的制剂可作为具有合适基质的栓剂提供,该基质包括例如可可脂或水杨酸盐。

[0310] 适于肺内或鼻腔施用的制剂具有例如0.1微米至500微米范围内(诸如0.5微米、1微米、30微米、35微米等)的粒径,该制剂通过鼻腔通道快速吸入或通过口腔吸入以到达肺泡囊来施用。合适的制剂包括活性成分的水性或油性溶液。适于气溶胶或干粉施用的制剂可根据常规方法制备,并且可与其他治疗剂(诸如迄今为止用于治疗或预防肺病毒科感染的化合物,如下所述)一起递送。

[0311] 另一个实施方案提供了一种新颖的、有效的、安全的、无刺激性的和生理上相容的可吸入组合物,该可吸入组合物包含式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物或其药学上可接受的盐,其适于治疗肺病毒科感染和潜在相关的细支气管炎。优选的药学上可接受的盐是无机酸盐,包括盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐或磷酸盐,因为它们可能引起较少的肺部刺激。优选地,可吸入制剂以包含质量中值空气动力学直径(MMAD)介于约 $1\mu\text{m}$ 与 $5\mu\text{m}$ 之间的颗粒的气溶胶形式递送到支气管内空间。优选地,式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物被配制用于使用喷雾器、加压计量剂量吸入器(pMDI)或干粉吸入器(DPI)进行气溶胶递送。

[0312] 喷雾器的非限制性示例包括雾化喷雾器、射流喷雾器、超声喷雾器、加压喷雾器、振动多孔板喷雾器或等效喷雾器,包括利用适应性气溶胶递送技术的那些喷雾器(Denyer, J. *Aerosol medicine Pulmonary Drug Delivery* 2010, 23增刊1, S1-S10)。射流喷雾器利用空气压力将液体溶液分解成气溶胶液滴。超声喷雾器的工作原理是压电晶体将液体剪切成较小气溶胶液滴。加压喷雾系统迫使溶液在压力下通过小孔以产生气溶胶液滴。振动多孔板装置利用快速振动将液体流剪切成适当的液滴尺寸。

[0313] 在一个优选的实施方案中,使用能够将式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物的制剂烟雾化成所需MMAD的颗粒的雾化器来将用于雾化的制剂以包含MMAD主要介于约 $1\mu\text{m}$ 与 $5\mu\text{m}$ 之间的颗粒的气溶胶形式递送到支气管内空间。为了获得最佳治疗效果并且为了避免上呼吸道和全身性副作用,大多数烟雾化颗粒不应具有大于约 $5\mu\text{m}$ 的MMAD。如果气溶胶含有大量MMAD大于 $5\mu\text{m}$ 的颗粒,则这些颗粒会沉积在上气道中,从而减少递送到下呼吸道中炎症和支气管收缩部位的药物量。如果气溶胶的MMAD小于约 $1\mu\text{m}$ ,则这些颗粒倾向于保持悬浮在吸入的空气中,随后在呼气时被呼出。

[0314] 当根据本文的方法配制和递送时,用于雾化的气溶胶制剂将足以治疗肺病毒科感染的治疗有效剂量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物递送到肺病毒科感染部位。必须调整所施用的药物量以反映治疗有效剂量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物的递送效率。在一个优选的实施方案中,水性气溶胶制剂与雾化喷雾器、射流喷雾器、加压喷雾器、振动多孔板喷雾器或超声喷雾器的组合允许(取决于喷雾器)将约至少20%至约90%、通常约70%的所施用剂量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物递送到气道中。在一个优选的实施方案中,递送至少约30%至约50%的活性化合物。更优选地,递送约70%至约90%的活性化合物。

[0315] 在另一个实施方案中,式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)或其药学上可接受的盐作为干燥的可吸入粉末递送。化合物作为干粉制剂经支气管内施用,以使用干粉或计量剂量吸入器将化合物的细颗粒有效递送到支气管内空间中。对于通过DPI递送,通过研磨喷雾干燥、临界流体加工或从溶液中沉淀将式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物加工成MMAD主要介于约 $1\mu\text{m}$ 与约 $5\mu\text{m}$ 之间的颗粒。能够产生MMAD介于约 $1\mu\text{m}$ 与约 $5\mu\text{m}$ 之间的粒度的介质研磨、射流研磨和喷雾干燥装置和程序是本领域熟知的。在一个实施方案中,在加工成所需大小的颗粒之前,将赋形剂添加到式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物中。在另一个实施方案中,将赋形剂与所需大小的颗



粒共混以有助于药物颗粒的分散,例如通过使用乳糖作为赋形剂。

[0316] 使用本领域熟知的装置进行粒度测定。例如,多级Anderson级联冲击器或其他合适的方法(诸如在美国药典第601章中具体引用的方法)作为计量剂量和干粉吸入器内的气溶胶的表征装置。

[0317] 在另一个优选的实施方案中,使用装置诸如干粉吸入器或其他干粉分散装置以干粉形式递送式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物。干粉吸入器和装置的非限制性示例包括US5,458,135;US5,740,794;US5775320;US5,785,049;US3,906,950;US4,013,075;US4,069,819;US4,995,385;US5,522,385;US4,668,218;US4,667,668;US4,805,811和US5,388,572中公开的那些。干粉吸入器有两种主要设计。一种设计是计量装置,其中用于药物的贮存器放置在该装置内,并且患者将一定剂量的药物添加到吸入室中。第二种设计是工厂计量的装置,其中每个单独的剂量在单独的容器中制造。两种系统均取决于将药物配制成MMAD为 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ 的小颗粒,并且通常涉及与较大赋形剂颗粒(诸如但不限于乳糖)共同配制。将药物粉末置于吸入室中(通过装置计量或通过破坏工厂计量的剂量),并且患者的吸气流加速粉末离开装置并进入口腔。粉末路径的非层流特性引起赋形剂-药物聚集体分解,并且大赋形剂颗粒的质量引起它们在咽喉后部撞击,而较小药物颗粒沉积在肺部深处。在优选的实施方案中,使用如本文所述的任一种类型的干粉吸入器以干粉形式递送式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物或其药学上可接受的盐,其中不包括任何赋形剂的干粉的MMAD主要在 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ 的范围内。

[0318] 在另一个实施方案中,使用计量剂量吸入器以干粉形式递送式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物。计量剂量吸入器和装置的非限制性示例包括US5,261,538;US5,544,647;US5,622,163;US4,955,371;US3,565,070;US3,361306和US6,116,234中公开的那些。在优选的实施方案中,使用计量剂量吸入器以干粉形式递送式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物或其药学上可接受的盐,其中不包括任何赋形剂的干粉的MMAD主要在约 $1-5\mu\text{m}$ 的范围内。

[0319] 适于阴道施用的制剂可以子宫托、棉条、乳膏、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾制剂的形式提供,除了活性成分外还含有本领域已知的适当载体。

[0320] 适于肠胃外施用的制剂包括水性和非水性无菌注射溶液,它们可能含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶质,使制剂与预期接受者的血液等渗;以及可包含悬浮剂和增稠剂的水性和非水性无菌悬浮液。

[0321] 制剂存在于单位剂量或多剂量容器中,例如密封的安瓿和小瓶,并且可储存在冷冻干燥(冻干)条件下,仅需要在使用前立即加入无菌液体载体,例如注射用水。临时注射液和混悬液由前述类型的无菌粉末、颗粒和片剂制备。优选的单位剂量制剂是含有如上所述的活性成分的日剂量或单位日亚剂量或其适当部分的制剂。

[0322] 应当理解,除了上文特别提及的成分之外,这些制剂可包括与所讨论的制剂类型相关的领域种常规的其他试剂,例如那些适于口服施用的试剂可包括矫味剂。

[0323] 进一步提供了包含至少一种如上定义的活性成分及其兽医载体的兽医组合物。

[0324] 兽药载体是可用于施用组合物的材料,并且可以是固体、液体或气体材料,它们在其他方面是惰性的或兽药领域可接受的并且与活性成分相容。这些兽药组合物可口服、经肠胃外或任何其他所需途径施用。

[0325] 本文的化合物用于提供含有一种或多种化合物作为活性成分的控释药物制剂(“控释制剂”),其中活性成分的释放受到控制和调节,以允许以较低频率给药或改善给定活性成分的药代动力学或毒性特征。

[0326] 活性成分的有效剂量至少取决于所治疗病症的性质、毒性、化合物是预防性(较低剂量)地使用还是用于对抗活性病毒感染、递送方法和药物制剂,并且将由临床医生使用常规剂量递增研究来确定。该剂量可预期为每天约0.0001至约100mg/kg体重;典型地,为每天约0.01至约10mg/kg体重;更典型地,为每天约0.01至约5mg/kg体重;最典型地,为每天约0.05至约0.5mg/kg体重。例如,体重大约70kg的成年人的日候选剂量范围将为1mg至1000mg,优选地为5mg至500mg,并且可采取单剂量或多剂量的形式。

[0327] V. 施用途径

[0328] 式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物(本文称为活性成分)中的一种或多种通过适合待治疗病症的任何途径施用。合适的途径包括口服、直肠、鼻腔、肺、局部(包括颊和舌下)、阴道和肠胃外(包括皮下、肌内、静脉内、真皮内、鞘内和硬膜外)等。应当理解,优选的途径可随例如接受者的条件而改变。本文的化合物的优点是它们是口服生物可利用的并且可以口服给药。

[0329] 本公开的化合物(在本文中也称为活性成分)可通过适于待治疗的病症的任何途径施用。合适的途径包括口服、直肠、鼻腔、局部(包括颊和舌下)、透皮、阴道和肠胃外(包括皮下、肌内、静脉内、真皮内、鞘内和硬膜外)等。应当理解,优选的途径可随例如接受者的条件而改变。本文所公开的某些化合物的优点是它们是口服生物可利用的并且可以口服给药。

[0330] 本公开的化合物可根据有效的给药方案对个体施用所需的时间段或持续时间,诸如至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约6个月或至少约12个月或更长。在一种变型中,在个体的生命期间,化合物以每日或间歇的时间表施用。

[0331] 本公开化合物的剂量或给药频率可根据施用医师的判断在治疗过程中进行调整。

[0332] 化合物可以有效量施用于个体(例如人)。在一些实施方案中,化合物每天施用一次。

[0333] 化合物可以通过任何可用的途径和手段施用,诸如通过口服或肠胃外(例如静脉内)施用。化合物的治疗有效量可包括约0.00001mg/kg体重/天至约10mg/kg体重/天,诸如约0.0001mg/kg体重/天至约10mg/kg体重/天,或诸如约0.001mg/kg体重/天至约1mg/kg体重/天,或诸如约0.01mg/kg体重/天至约1mg/kg体重/天,或诸如约0.05mg/kg体重/天至约0.5mg/kg体重/天,或诸如约0.3mg至约30mg/天,或诸如约30mg至约300mg/天。

[0334] 本公开的化合物可以本公开的化合物的任何剂量(例如,1mg至1000mg化合物)与一种或多种附加治疗剂组合。治疗有效量可包括约1mg/剂量至约1000mg/剂量,诸如约50mg/剂量至约500mg/剂量,或诸如约100mg/剂量至约400mg/剂量,或诸如约150mg/剂量至约350mg/剂量,或诸如约200mg/剂量至约300mg/剂量。本公开的化合物的其他治疗有效量为约100mg/剂量、约125mg/剂量、约150mg/剂量、约175mg/剂量、约200mg/剂量、约225mg/剂

量、约250mg/剂量、约275mg/剂量、约300mg/剂量、约325mg/剂量、约350mg/剂量、约375mg/剂量、约400mg/剂量、约425mg/剂量、约450mg/剂量、约475mg/剂量或约500mg/剂量。本公开的化合物的其他治疗有效量为约100mg/剂量,或约125mg/剂量、约150mg/剂量、约175mg/剂量、约200mg/剂量、约225mg/剂量、约250mg/剂量、约275mg/剂量、约300mg/剂量、约350mg/剂量、约400mg/剂量、约450mg/剂量或约500mg/剂量。单剂量可每小时、每天或每周施用。例如,单剂量可每1、2、3、4、6、8、12、16小时施用一次,或每24小时施用一次。单剂量也可每1、2、3、4、5、6天施用一次,或每7天施用一次。单剂量也可每1、2、3周施用一次,或每4周施用一次。在一些实施方案中,单剂量可每周施用一次。单剂量也可每月施用一次。

[0335] 本公开的化合物的其他治疗有效量为约20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或约100mg/剂量。

[0336] 本公开的化合物的剂量的频率将由个体患者的需求决定,并且可以是例如每天一次或者每天两次或更多次。只要治疗病毒感染需要,化合物的施用就持续进行。例如,可以将化合物施用于被病毒感染的人持续20天至180天的时间段,或例如20天至90天的时间段,或例如30天至60天的时间段。

[0337] 施用可以是间歇的,在几天或更多天的时间段内,患者接受本公开的化合物的日剂量,接着在几天或更多天的时间段内,患者不接受化合物的日剂量。例如,患者可以每隔一天或每周三次接受一定剂量的化合物。再次以举例的方式,患者可以在1至14天的时间段内每天接受一定剂量的化合物,接着在7至21天的时间段内,患者不接受一定剂量的化合物,接着在随后的时间段(例如,1至14天)内,患者再次接受一定日剂量的化合物。根据治疗患者的临床需要,可重复施用化合物接着不施用化合物的交替时间段。

[0338] 在一个实施方案中,提供了药物组合物,这些药物组合物包含与一种或多种(例如,一种、两种、三种、四种、一种或两种、一种至三种或一种至四种)附加治疗剂组合的本公开的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂。

[0339] 在一个实施方案中,提供了试剂盒,这些试剂盒包括与一种或多种(例如,一种、两种、三种、四种、一种或两种、一种至三种或一种至四种)附加治疗剂组合的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。

[0340] 在一些实施方案中,将本公开的化合物或其药学上可接受的盐与一种、两种、三种、四种或更多种附加治疗剂组合。在一些实施方案中,将本公开的化合物或其药学上可接受的盐与两种附加治疗剂组合。在其他实施方案中,将本公开的化合物或其药学上可接受的盐与三种附加治疗剂组合。在另外的实施方案中,将本公开的化合物或其药学上可接受的盐与四种附加治疗剂组合。该一种、两种、三种、四种或更多种附加治疗剂可以是选自相同类别的治疗剂的不同治疗剂,并且/或者它们可选自不同类别的治疗剂。

[0341] 在一些实施方案中,当将本公开的化合物与一种或多种如上所述的附加治疗剂组合时,组合物的组分作为同时或顺序方案施用。当顺序施用时,该组合可以两次或更多次施用的方式施用。

[0342] 在一些实施方案中,将本公开的化合物与一种或多种附加治疗剂以单一剂型组合以用于同时施用于患者,例如作为固体剂型用于口服施用。

[0343] 在一些实施方案中,将本公开的化合物与一种或多种附加治疗剂共同施用。

[0344] 为了延长本公开的化合物的效果,通常需要减缓化合物从皮下或肌内注射的吸

收。这可通过使用水溶性差的结晶或无定形材料的液体悬浮液来实现。化合物的吸收速率则取决于其溶解速率,溶解速率又可取决于晶体大小和结晶形式。另选地,通过将化合物溶解或悬浮在油媒介物中来实现以肠胃外施用的化合物形式的延迟吸收。通过在可生物降解聚合物(诸如聚丙交酯-聚乙交酯)中形成化合物的微囊基质来制备可注射贮库形式。根据化合物与聚合物的比率以及所采用的特定聚合物的性质,可以控制化合物释放的速率。其他可生物降解聚合物的示例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。也通过将化合物包埋在与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备贮库可注射制剂。

#### [0345] VI. 联合疗法

[0346] 本文提供的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物和组合物还与其他活性治疗剂组合用于治疗病毒感染,诸如肺病毒科、小核糖核酸病毒科、黄病毒科或丝状病毒科病毒感染。

#### [0347] 用于治疗肺病毒科的联合疗法

[0348] 本文提供的化合物和组合物还与其他活性治疗剂联合使用。对于肺病毒科病毒感染的治疗,优选地,其他活性治疗剂对肺病毒科病毒感染、特别是呼吸道合胞病毒感染和/或偏肺病毒感染具有活性。这些对RSV具有活性的其他活性治疗剂的非限制性示例是利巴韦林、帕利珠单抗、莫维珠单抗(motavizumab)、RSV-IGIV(RespiGam<sup>®</sup>)、MEDI-557、A-60444(也称为RSV604)、MDT-637、BMS-433771、ALN-RSV0、ALX-0171以及它们的混合物。对呼吸道合胞病毒感染具有活性的其他活性治疗剂的其他非限制性示例包括呼吸道合胞病毒蛋白F抑制剂,诸如AK-0529;RV-521、ALX-0171、JNJ-53718678、BTA-585和普瑞托韦(presatovir);RNA聚合酶抑制剂,诸如卢米西他滨和ALS-8112;抗RSV G蛋白抗体,诸如抗G蛋白mAb;病毒复制抑制剂,诸如硝唑尼特。

[0349] 在一些实施方案中,其他活性治疗剂可以是用于治疗或预防RSV的疫苗,包括但不限于MVA-BN RSV、RSV-F、MEDI-8897、JNJ-64400141、DPX-RSV、SynGEM、GSK-3389245A、GSK-300389-1A、RSV-MEDI $\delta$ M2-2疫苗、VRC-RSVRGP084-00VP、Ad35-RSV-FA2、Ad26-RSV-FA2和RSV融合糖蛋白亚基疫苗。

[0350] 对偏肺病毒感染具有活性的其他活性治疗剂的非限制性示例包括唾液酸酶调节剂,诸如DAS-181;RNA聚合酶抑制剂,诸如ALS-8112;以及用于治疗偏肺病毒感染的抗体,诸如EV-046113。

[0351] 在一些实施方案中,其他活性治疗剂可以是用于治疗或预防偏肺病毒感染的疫苗,包括但不限于mRNA-1653和rHMPV-Pa疫苗。

#### [0352] 用于治疗小核糖核酸病毒科的联合疗法

[0353] 本文提供的化合物和组合物还与其他活性治疗剂联合使用。对于小核糖核酸病毒科病毒感染的治疗,优选地,其他活性治疗剂对小核糖核酸病毒科病毒感染、特别是肠道病毒感染具有活性。这些其他活性治疗剂的非限制性示例是衣壳结合抑制剂,诸如普来可那利、BTA-798(伐喷达韦(vapendavir))和Wu等人(US 7,078,403)和Watson(US 7,166,604)公开的其他化合物;融合唾液酸酶蛋白,诸如DAS-181;衣壳蛋白VP1抑制剂,诸如VVX-003和AZN-001;病毒蛋白酶抑制剂,诸如CW-33;磷脂酰肌醇4激酶 $\beta$ 抑制剂,诸如GSK-480和GSK-533;抗EV71抗体。

[0354] 在一些实施方案中,其他活性治疗剂可以是用于治疗或预防小核糖核酸病毒科病

毒感染的疫苗,包括但不限于EV71疫苗、TAK-021和基于EV-D68腺病毒载体的疫苗。

#### [0355] 用于呼吸道感染的联合疗法

[0356] 肺病毒科和小核糖核酸病毒科病毒的许多感染是呼吸道感染。因此,用于治疗呼吸道症状和感染后遗症的附加活性治疗剂可与本文提供的化合物联合使用。附加药剂优选地口服或通过直接吸入施用。例如,与本文提供的化合物组合用于治疗病毒性呼吸道感染的其他优选的附加治疗剂包括但不限于支气管扩张剂和皮质类固醇。

#### [0357] 糖皮质激素

[0358] 糖皮质激素在1950年首次作为哮喘疗法引入(Carryer, Journal of Allergy, 21, 282-287, 1950), 尽管其作用机制尚未完全了解, 但仍然是该疾病最强效且持续有效的疗法(Morris, J. Allergy Clin. Immunol., 75 (1Pt) 1-13, 1985)。遗憾的是, 口服糖皮质激素疗法与严重的不良副作用相关, 诸如躯干性肥胖、高血压、青光眼、葡萄糖耐受不良、加速白内障形成、骨矿物质损失和心理影响, 所有这些副作用都限制了它们用作长期治疗剂(Goodman和Gilman, 第10版, 2001)。解决全身性副作用的方案是将类固醇药物直接递送到炎症部位。已经开发了吸入皮质类固醇(ICS)来减轻口服类固醇的严重副作用。可与本文提供的化合物联合使用的皮质类固醇的非限制性示例是地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟米龙、醋酸氟米龙、氯替泼诺、依碳酸氯替泼诺、氢化可的松、泼尼松龙、氟氢可的松、曲安西龙、曲安奈德、倍他米松、二丙酸倍氯米松、甲泼尼龙、氟轻松、醋酸氟轻松、氟尼缩松、氟可丁-21-丁酸酯、氟米松、新戊酸氟米松、布地奈德、丙酸卤倍他素、糠酸莫米松、氟替卡松、AZD-7594、环索奈德; 或它们的药学上可接受的盐。

#### [0359] 抗炎剂

[0360] 通过抗炎级联机制起作用的其他抗炎剂也可用作与本文提供的化合物组合用于治疗病毒性呼吸道感染的附加治疗剂。应用“抗炎信号转导调节剂”(在本文中称为AISTM)如磷酸二酯酶抑制剂(例如PDE-4、PDE-5或PDE-7特异性)、转录因子抑制剂(例如通过IKK抑制阻断NF $\kappa$ B)或激酶抑制剂(例如阻断P38 MAP、JNK、PI3K、EGFR或Syk)是切断炎症的一种合乎逻辑的方法, 因为这些小分子靶向有限数量的常见细胞内通路(这些信号转导通路是抗炎治疗干预的关键点)(参见P. J. Barnes, 2006的综述)。这些非限制性附加治疗剂包括: 5-(2,4-二氟-苯氧基)-1-异丁基-1H-吡唑-6-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-酰胺(P38 Map激酶抑制剂ARRY-797); 3-环丙基甲氧基-N-(3,5-二氯-吡啶-4-基)-4-二氟甲氧基-苯甲酰胺(PDE-4抑制剂罗氟司特(Roflumilast)); 4-[2-(3-环戊基氧基-4-甲氧基苯基)-2-苯基-乙基]-吡啶(PDE-4抑制剂CDP-840); N-(3,5-二氯-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)-8-[(甲基磺酰基)氨基]-1-二苯并呋喃甲酰胺(PDE-4抑制剂奥米司特(Oglemilast)); N-(3,5-二氯-吡啶-4-基)-2-[1-(4-氟苄基)-5-羟基-1H-吡唑-3-基]-2-氧代-乙酰胺(PDE-4抑制剂AWD 12-281); 8-甲氧基-2-三氟甲基-喹啉-5-甲酸(3,5-二氯-1-氧基-吡啶-4-基)-酰胺(PDE-4抑制剂Sch 351591); 4-[5-(4-氟苄基)-2-(4-甲氧基亚磺酰基-苯基)-1H-咪唑-4-基]-吡啶(P38抑制剂SB-203850); 4-[4-(4-氟-苯基)-1-(3-苯基-丙基)-5-吡啶-4-基-1H-咪唑-2-基]-丁-3-炔-1-醇(P38抑制剂RWJ-67657); 4-氟基-4-(3-环戊基氧基-4-甲氧基-苯基)-环己烷甲酸2-二乙基氨基-乙酯(西洛司特(Cilomilast)(PDE-4抑制剂)的2-二乙基-乙酯前药); (3-氯-4-氟苄基)-[7-甲氧基-6-(3-吗啉-4-基-丙氧基)-喹啉-4-基]-胺(吉非替尼(Gefitinib), EGFR抑制剂); 以及4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-

基-嘧啶-2-基氨基)-苯基]-苯甲酰胺(伊马替尼(Imatinib),EGFR抑制剂)。

#### [0361] β2-肾上腺素受体激动剂支气管扩张剂

[0362] 包含吸入的β2-肾上腺素受体激动剂支气管扩张剂诸如福莫特罗、沙丁胺醇或沙美特罗与本文提供的化合物的组合也是可用于治疗呼吸道病毒感染的合适但非限制性组合。

[0363] 吸入的β2-肾上腺素受体激动剂支气管扩张剂诸如福莫特罗或沙美特罗与ICS的组合也用于治疗支气管收缩和炎症(分别为Symbicort®和Advair®)。包含这些ICS和β2-肾上腺素受体激动剂组合以及本文提供的化合物的组合也是可用于治疗呼吸道病毒感染的合适但非限制性组合。

[0364] β2肾上腺素受体激动剂的其他示例是贝多拉君、维兰特罗、茆达特罗、奥达特罗、妥洛特罗、福莫特罗、阿比特罗、沙丁胺醇、阿福特罗、左沙丁胺醇、非诺特罗和TD-5471。

#### [0365] 抗胆碱能剂

[0366] 对于肺支气管收缩的治疗或预防,抗胆碱能剂具有潜在用途,因此可用作与本文提供的化合物组合用于治疗病毒性呼吸道感染的附加治疗剂。这些抗胆碱能剂包括但不限于毒蕈碱受体(特别是M3亚型)的拮抗剂,它们已在人类中显示出控制COPD中胆碱能张力的治疗功效(Witek,1999);1-{4-羟基-1-[3,3,3-三-(4-氟-苯基)-丙酰基]-吡咯烷-2-羧基}-吡咯烷-2-甲酸(1-甲基-哌啶-4-基甲基)-酰胺;3-[3-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2-苯基-丙酰氧基]-8-异丙基-8-甲基-8-氮鎓-双环[3.2.1]辛烷(异丙托铵-N,N-二乙基甘氨酸盐);1-环己基-3,4-二氢-1H-异喹啉-2-甲酸1-氮杂-双环[2.2.2]辛-3-基酯(索利那新(Solifenacin));2-羟甲基-4-甲烷亚磺酰基-2-苯基-丁酸1-氮杂-双环[2.2.2]辛-3-基酯(瑞伐托酯(Revatropate));2-{1-[2-(2,3-二氢-苯并呋喃-5-基)-乙基]-吡咯烷-3-基}-2,2-二苯基-乙酰胺(达非那新(Darifenacin));4-氮杂环庚烷-1-基-2,2-二苯基-丁酰胺(布卓(Buzepide));7-[3-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2-苯基-丙酰氧基]-9-乙基-9-甲基-3-氧杂-9-氮鎓-三环[3.3.1.0<sup>2,4</sup>]壬烷(氧托品-N,N-二乙基甘氨酸酯);7-[2-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2,2-二-噻吩-2-基-乙酰氧基]-9,9-二甲基-3-氧杂-9-氮鎓-三环[3.3.1.0<sup>2,4</sup>]壬烷(噻托铵-N,N-二乙基甘氨酸酯);二甲基氨基-乙酸2-(3-二异丙基氨基-1-苯基-丙基)-4-甲基-苯酯(托特罗定-N,N-二甲基甘氨酸酯);3-[4,4-双-(4-氟-苯基)-2-氧代-咪唑啉啶-1-基]-1-甲基-1-(2-氧代-2-吡啶-2-基-乙基)-吡咯烷鎓;1-[1-(3-氟-苄基)-哌啶-4-基]-4,4-双-(4-氟-苯基)-咪唑啉啶-2-酮;1-环辛基-3-(3-甲氧基-1-氮杂-双环[2.2.2]辛-3-基)-1-苯基-丙-2-炔-1-醇;3-[2-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2,2-二-噻吩-2-基-乙酰氧基]-1-(3-苯氧基-丙基)-1-氮鎓-双环[2.2.2]辛烷(阿地铵-N,N-二乙基甘氨酸酯);或者(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-二-噻吩-2-基-乙酸1-甲基-1-(2-苯氧基-乙基)-哌啶-4-基酯;雷芬那辛、格隆溴铵、茆地溴铵、噻托溴铵、阿地溴铵、苯环喹溴铵。

#### [0367] 黏液溶解剂

[0368] 本文提供的化合物和本文提供的组合物还可与黏液溶解剂组合以治疗感染和呼吸道感染的症状。黏液溶解剂的非限制性示例是氨溴索。类似地,式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物可与祛痰剂组合以治疗感染和呼吸道感染的症状。祛痰剂的非限制性示例是愈创甘油醚。

[0369] 使用雾化高渗盐水来改善肺部疾病患者小气道的即时和长期清除(Kuzik,

J. Pediatrics 2007, 266)。因此,本文提供的化合物还可与雾化高渗盐水组合,特别是当肺病毒科病毒感染并发细支气管炎时。式(I)或式(II)的化合物与高渗盐水的组合还可包含上述任何附加药剂。在一个实施方案中,使用雾化的约3%高渗盐水。

#### [0370] 用于治疗COPD的联合疗法

[0371] 本文提供的化合物和组合物还与其他活性治疗剂联合使用。对于COPD呼吸恶化的治疗,其他活性治疗剂包括其他抗COPD活性剂。这些其他活性治疗剂的非限制性示例包括抗IL5抗体,诸如贝那利珠单抗(benralizumab)、美泊利珠单抗(mepolizumab);二肽基肽酶I(DPP1)抑制剂,诸如AZD-7986(INS-1007);DNA旋转酶抑制剂/拓扑异构酶IV抑制剂,诸如环丙沙星盐酸盐;MDR相关蛋白4/磷酸二酯酶(PDE)3和4抑制剂,诸如RPL-554;CFTR刺激剂,诸如依伐卡托(ivacaftor)、QBW-251;MMP-9/MMP-12抑制剂,诸如RBx-10017609;腺苷A1受体拮抗剂,诸如PBF-680;GATA 3转录因子抑制剂,诸如SB-010;毒蕈碱受体调节剂/烟碱乙酰胆碱受体激动剂,诸如ASM-024;MARCKS蛋白抑制剂,诸如BIO-11006;kit酪氨酸激酶/PDGF抑制剂,诸如马赛替尼(masitinib);磷酸二酯酶(PDE)4抑制剂,诸如罗氟司特、CHF-6001;磷酸肌醇-3激酶 $\delta$ 抑制剂,诸如奈米利塞(nemiralisib);5-脂肪氧合酶抑制剂,诸如TA-270;毒蕈碱受体拮抗剂/ $\beta$ 2肾上腺受体激动剂,诸如琥珀酸巴特芬诺、AZD-887、异丙托溴铵;TRN-157;弹性蛋白酶抑制剂,诸如厄多司坦(erdosteine);金属蛋白酶-12抑制剂,诸如FP-025;白介素18配体抑制剂,诸如tadekiniga $\alpha$ ;骨骼肌钙蛋白活化剂,诸如CK-2127107;p38 MAP激酶抑制剂,诸如阿库马莫德(acumapimod);IL-17受体调节剂,诸如CNT0-6785;CXCR2趋化因子拮抗剂,诸如达尼利星(danirixin);白细胞弹性蛋白酶抑制剂,诸如POL-6014;环氧化物水解酶抑制剂,诸如GSK-2256294;HNE抑制剂,诸如CHF-6333;VIP激动剂,诸如阿肽地尔(aviptadil);磷酸肌醇-3激酶 $\delta/\gamma$ 抑制剂,诸如RV-1729;补体C3抑制剂,诸如APL-1;以及G蛋白偶联受体-44拮抗剂,诸如AM-211。

[0372] 活性治疗剂的其他非限制性示例还包括布地奈德、adipoce11、一氧化氮、PUR-1800、YLP-001、LT-4001、阿奇霉素、gamunex、QBKPN、丙酮酸钠、MUL-1867、甘露醇、MV-130、MEDI-3506、BI-443651、VR-096、OPK-0018、TEV-48107、多索茶碱、TEV-46017、OligoG-COPD-5/20、Stempeucel<sup>®</sup>、ZP-051、赖氨酸乙酰水杨酸盐。

[0373] 在一些实施方案中,其他活性治疗剂可以是对COPD具有活性的疫苗,包括但不限于MV-130和GSK-2838497A。

#### [0374] 用于治疗登革热的联合疗法

[0375] 本文提供的化合物和组合物还与其他活性治疗剂联合使用。对于黄病毒科病毒感染的治疗,优选地,其他活性治疗剂对黄病毒科病毒感染、特别是登革热感染具有活性。这些其他活性治疗剂的非限制性示例是宿主细胞因子调节剂,诸如GBV-006;芬维A胺ABX-220、BRM-211; $\alpha$ -葡萄糖苷酶1抑制剂,诸如西戈斯韦(celgosivir);血小板活化因子受体(PAFR)拮抗剂,诸如莫地帕泛(modipafant);钙粘蛋白-5/因子Ia调节剂,诸如FX-06;NS4B抑制剂,诸如JNJ-8359;病毒RNA剪接调节剂,诸如ABX-202;NS5聚合酶抑制剂;NS3蛋白酶抑制剂;以及TLR调节剂。

[0376] 在一些实施方案中,其他活性治疗剂可以是用于治疗或预防登革热的疫苗,包括但不限于TetraVax-DV、Dengvaxia<sup>®</sup>、DPIV-001、TAK-003、减毒登革热疫苗、四价登革热

疫苗、四价DNA疫苗、rDEN2 $\delta$ 30-7169DENV-1PIV。

[0377] 用于治疗埃博拉的联合疗法

[0378] 本文提供的化合物和组合物还与其他活性治疗剂联合使用。对于丝状病毒科病毒感染的治疗,优选地,其他活性治疗剂对丝状病毒科病毒感染、特别是马尔堡病毒、埃博拉病毒和奎瓦病毒感染具有活性。这些其他活性治疗剂的非限制性示例是:利巴韦林、帕利珠单抗、莫维珠单抗、RSV-IGIV ( **RespiGam<sup>®</sup>** )、MEDI-557、A-60444、MDT-637、BMS-433771、胺碘酮、决奈达隆、维拉帕米、埃博拉恢复期血浆 (ECP)、TKM-100201、BCX4430 ( (2S, 3S, 4R, 5R) -2- (4-氨基-5H-吡咯并 [3, 2-d] 嘧啶-7-基) -5- (羟甲基) 吡咯烷-3, 4-二醇)、TKM-埃博拉、T-705单磷酸盐、T-705二磷酸盐、T-705三磷酸盐、FGI-106 (1-N, 7-N-双 [3- (二甲基氨基) 丙基] -3, 9-二甲基喹啉 [8, 7-h] 喹诺酮-1, 7-二胺)、rNAPc2、OS-2966、布林昔多福韦 (brincidofovir)、瑞德西韦 (remdesivir); RNA聚合酶抑制剂, 诸如加利司韦 (galidesivir)、法匹拉韦 (favipiravir) (也称为T-705或Avigan)、JK-05; 宿主细胞因子调节剂, 诸如GMV-006; 钙粘蛋白-5/因子Ia调节剂, 诸如FX-06; 以及用于治疗埃博拉的抗体, 诸如REGN-3470-3471-3479和ZMapp。

[0379] 对埃博拉具有活性的其他非限制性活性治疗剂包括 $\alpha$ -葡萄糖苷酶1抑制剂、组织蛋白酶B抑制剂、CD29拮抗剂、树突状ICAM-3抓取非整联蛋白1抑制剂、雌激素受体拮抗剂、因子VII拮抗剂HLA II类抗原调节剂、宿主细胞因子调节剂、干扰素 $\alpha$ 配体、中性 $\alpha$ 葡萄糖苷酶AB抑制剂、尼曼-皮克C1蛋白抑制剂、核蛋白抑制剂、聚合酶辅因子VP35抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、组织因子抑制剂、TLR-3激动剂、病毒包膜糖蛋白抑制剂和埃博拉病毒进入抑制剂 (NPC1抑制剂)。

[0380] 在一些实施方案中,其他活性治疗剂可以是用于治疗或预防埃博拉的疫苗,包括但不限于VRC-EBOADC076-00-VP、基于腺病毒的埃博拉疫苗、rVSV-EBOV、rVSVN4CT1-EBOVGP、MVA-BN Filo+Ad26-ZEBOV方案、INO-4212、VRC-EBODNA023-00-VP、VRC-EBOADC069-00-VP、GamEvac-combi疫苗、SRC VB载体、HPiV3/EboGP疫苗、MVA-EBOZ、埃博拉重组糖蛋白疫苗、基于Vaxart腺病毒载体5的埃博拉疫苗、FiloVax疫苗、GOVX-E301和GOVX-E302。

[0381] 本文提供的化合物和组合物还可与氨基磷酸酯吗啉代寡聚体 (PMO) (是被设计成通过与特定RNA序列形成碱基对双链体来干扰翻译过程的合成反义寡核苷酸类似物) 联合使用。PMO的示例包括但不限于AVI-7287、AVI-7288、AVI-7537、AVI-7539、AVI-6002和AVI-6003。

[0382] 本文提供的化合物和组合物还旨在与为患有丝状病毒科病毒感染的患者提供的一般护理一起使用,包括肠胃外液 (包括葡萄糖盐水和林格氏乳酸酯) 和营养物、抗生素 (包括甲硝唑和头孢菌素抗生素, 诸如头孢曲松和头孢呋辛) 和/或抗真菌预防药、发热和疼痛药物、止吐药 (诸如甲氧氯普胺) 和/或止泻药、维生素和矿物质补充剂 (包括维生素K和硫酸锌)、抗炎剂 (诸如布洛芬)、疼痛药物和用于患者群体中其他常见疾病的药物, 诸如抗疟疾剂 (包括蒿甲醚和青蒿酯-本苄醇联合治疗)、伤寒疫苗 (包括喹诺酮类抗生素诸如环丙沙星, 大环内酯类抗生素诸如阿奇霉素, 头孢菌素类抗生素诸如头孢曲松, 或氨基青霉素诸如氨苄青霉素) 或志贺氏菌病疫苗。

[0383] VII. 治疗病毒感染的方法

[0384] 本公开提供了使用本公开的化合物来治疗多种疾病 (诸如呼吸道合胞病毒 (RSV)、



埃博拉、寨卡、西尼罗、登革热、HCV和HBV)的方法。本公开提供了使用式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物来治疗多种疾病(诸如呼吸道合胞病毒(RSV)、埃博拉、寨卡、西尼罗、登革热、HCV和HBV)的方法。

#### [0385] 副粘病毒科

[0386] 在一些实施方案中,本公开提供了用于治疗副粘病毒科感染的方法,该方法包括向感染副粘病毒科病毒的个体(例如人)施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。副粘病毒科病毒包括但不限于尼帕病毒和副流感病毒。

#### [0387] 肺病毒科

[0388] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗对其有需要的人的肺病毒科病毒感染的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。肺病毒科病毒包括但不限于呼吸道合胞病毒和人偏肺病毒。在一些实施方案中,肺病毒科病毒感染是呼吸道合胞病毒感染。在一些实施方案中,肺病毒科病毒感染是人偏肺病毒感染。

[0389] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的肺病毒科病毒感染的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的肺病毒科病毒感染的药物中的用途。在一些实施方案中,肺病毒科病毒感染是呼吸道合胞病毒感染。在一些实施方案中,肺病毒科病毒感染是人偏肺病毒感染。

[0390] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的肺病毒科病毒感染。在一些实施方案中,肺病毒科病毒感染是呼吸道合胞病毒感染。在一些实施方案中,肺病毒科病毒感染是人偏肺病毒感染。

[0391] 在一些实施方案中,本公开提供了用于治疗RSV感染的方法,该方法包括向感染呼吸道合胞病毒的个体(例如人)施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。通常,个体患有慢性呼吸道合胞病毒感染,但治疗急性感染RSV的人在本公开的范围内。

[0392] 在一些实施方案中,提供了一种抑制RSV复制的方法,该方法包括向个体(例如人)施用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。

[0393] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于降低与RSV感染相关的病毒载量的方法,其中该方法包括向感染RSV的个体(例如人)施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中治疗有效量足以降低个体的RSV病毒载量。

[0394] 如本文更充分地描述,可以将本公开的化合物与一种或多种附加治疗剂一起施用于感染RSV的个体(例如人)。可以将附加治疗剂与本公开的化合物同时或者在施用本公开的化合物之前或之后施用于感染个体(例如人)。

[0395] 在一些实施方案中,提供了用于治疗或预防RSV感染的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,提供了制备用于治疗或预防RSV感染的药物的本公开的化合物(例如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物)或其药学上可接受的盐。

[0396] 如本文更充分地描述,可以将本公开的化合物与一种或多种附加治疗剂一起施用于感染RSV的个体(例如人)。此外,在一些实施方案中,当用于治疗或预防RSV时,可将本公开的化合物与一种或多种(例如一种、两种、三种、四种或更多种)选自由以下项组成的组的附加治疗剂一起施用:RSV组合药物、RSV疫苗、RSV DNA聚合酶抑制剂、免疫调节剂、toll样

受体 (TLR) 调节剂、干扰素 $\alpha$ 受体配体、透明质酸酶抑制剂、呼吸道合胞表面抗原抑制剂、细胞毒性T-淋巴细胞相关蛋白4 (ip14) 抑制剂、亲环蛋白抑制剂、RSV病毒进入抑制剂、靶向病毒mRNA的反义寡核苷酸、短干扰RNA (siRNA) 和ddRNAi内切核酸酶调节剂、核糖核苷酸还原酶抑制剂、RSV E抗原抑制剂、共价闭环DNA (cccDNA) 抑制剂、法尼醇X受体激动剂、RSV抗体、CCR2趋化因子拮抗剂、胸腺素激动剂、细胞因子、核蛋白调节剂、视黄酸诱导基因1刺激剂、NOD2刺激剂、磷脂酰肌醇3-激酶 (PI3K) 抑制剂、吡哆胺-2,3-双加氧酶 (IDO) 途径抑制剂、PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、重组胸腺素 $\alpha$ -1、布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK) 抑制剂、KDM抑制剂、RSV复制抑制剂、精氨酸酶抑制剂和其他RSV药物。

#### [0397] 小核糖核酸病毒科

[0398] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗对其有需要的人的小核糖核酸病毒科病毒感染的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。小核糖核酸病毒科病毒是引起一组异质感染的肠病毒,包括疱疹性咽峡炎、无菌性脑膜炎、普通感冒样综合征(人类鼻病毒感染)、非麻痹性脊髓灰质炎样综合征、流行性胸膜痛(一种通常发生在流行病中的急性、发热性、感染性疾病)、手足口综合症、小儿和成人胰腺炎和重症心肌炎。在一些实施方案中,小核糖核酸病毒科病毒感染是人鼻病毒感染。

[0399] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的小核糖核酸病毒科病毒感染的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的小核糖核酸病毒科病毒感染的药物中的用途。在一些实施方案中,小核糖核酸病毒科病毒感染是人鼻病毒感染。

[0400] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的小核糖核酸病毒科病毒感染。在一些实施方案中,小核糖核酸病毒科病毒感染是人鼻病毒感染。

#### [0401] 黄病毒科

[0402] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗对其有需要的人的黄病毒科病毒感染的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。代表性黄病毒科病毒包括但不限于登革热、黄热病、西尼罗、寨卡、日本脑炎病毒、丙型肝炎 (HCV) 和乙型肝炎 (HBV)。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是登革热病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是黄热病病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是西尼罗病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是寨卡病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是日本脑炎病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是丙型肝炎病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是乙型肝炎病毒感染。

[0403] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的黄病毒科病毒感染的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的黄病毒科病毒感染的药物中的用途。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是登革热病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是黄热病病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是西尼罗病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是寨卡病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是丙型肝炎病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病

毒感染是乙型肝炎病毒感染。

[0404] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的黄病毒科病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是登革热病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是黄热病病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是西尼罗病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是寨卡病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是丙型肝炎病毒感染。在一些实施方案中,黄病毒科病毒感染是乙型肝炎病毒感染。

[0405] 丝状病毒科

[0406] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗对其有需要的人的丝状病毒科病毒感染的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐。代表性丝状病毒科病毒包括但不限于埃博拉和马尔堡。在一些实施方案中,丝状病毒科病毒感染是埃博拉病毒感染。

[0407] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗对其有需要的人的丝状病毒科病毒感染的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗人的丝状病毒科病毒感染的药物中的用途。在一些实施方案中,丝状病毒科病毒感染是埃博拉病毒感染。

[0408] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗对其有需要的人的丝状病毒科病毒感染。在一些实施方案中,丝状病毒科病毒感染是埃博拉病毒感染。

[0409] VIII. 治疗或预防由病毒感染引起的呼吸病症恶化的方法

[0410] 本公开的化合物还可以用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化。式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ij)、(Ik)、(Im)或(In)的化合物还可以用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化。

[0411] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒或偏肺病毒引起。

[0412] 在一些实施方案中,本公开提供了一种用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的方法,该方法包括向人施用治疗有效量的本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中该呼吸病症是哮喘。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒、肠病毒或偏肺病毒引起。

[0413] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒或偏肺病毒引起。

[0414] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的药物的方法,其特征在于,使用本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其中该呼吸病症是哮喘。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、

鼻病毒、肠病毒或偏肺病毒引起。

[0415] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗或预防人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的药物中的用途,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒或偏肺病毒引起。

[0416] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗或预防人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化的药物中的用途,其中该呼吸病症是哮喘。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒、肠病毒或偏肺病毒引起。

[0417] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化,其中该呼吸病症是慢性阻塞性肺病。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒或偏肺病毒引起。

[0418] 在一些实施方案中,本公开提供了本公开的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗或预防对其有需要的人的由病毒感染引起的呼吸病症恶化,其中该呼吸病症是哮喘。在一些实施方案中,病毒感染由呼吸道合胞病毒、鼻病毒、肠病毒或偏肺病毒引起。

[0419] IX. 实施例

[0420] 缩写:某些缩写和首字母缩略词用于描述实验细节。尽管大部分这些内容可被本领域技术人员所理解,但表1包含一个有许多这些缩写和首字母缩略词的列表。

[0421] 表2:缩写和缩略语列表。

[0422]

缩写	含义
Ac	乙酸盐
ACN	乙腈
AIBN	偶氮二异丁腈
Bn	苄基
Bu	丁基
Bz	苯甲酰基
BzCl	苯甲酰氯
CDI	1,1'-羰基二咪唑
DAST	二乙胺基三氟化硫
DCE	1,2-二氯乙烷
DCM	二氯甲烷

[0423]

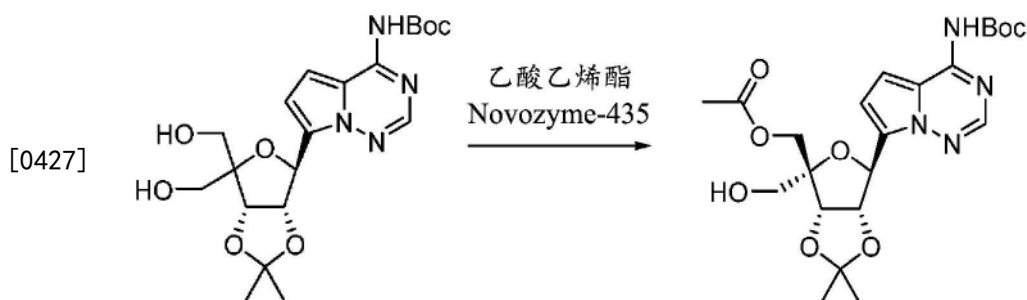
DMAP	4-二甲氨基吡啶
DMDO	二甲基双环氧乙烷
DMSO	二甲基亚砷
DMF	二甲基甲酰胺
DMTrCl	4,4'-二甲氧基三苯甲基氯
DMTr	4,4'-二甲氧基三苯甲基
EDCI	<i>N</i> -(3-二甲氨基氨基丙基)- <i>N'</i> -乙基碳二亚胺盐酸盐
Et	乙基
Imid	咪唑
KOtBu	叔丁醇钾
LC	液相色谱法
MCPBA	间氯过氧苯甲酸
Me	甲基
m/z	质荷比
MS 或 ms	质谱
NIS	<i>N</i> -碘琥珀酰亚胺
NMP	<i>N</i> -甲基-2-吡咯烷酮
Ph	苯基
Ph <sub>3</sub> P	三苯基膦
PMB	对甲氧基苄基
PMBCl	对甲氧基苄基氯
PhOC(S)Cl	硫代氯甲酸苯酯
(PhO) <sub>3</sub> PMel	甲基三苯氧基碘化膦
Pyr	吡啶
RT	室温
TBAF	四丁基氟化铵
TBS	叔丁基二甲基甲硅烷基
TBSCl	叔丁基二甲基甲硅烷基氯
TMSN <sub>3</sub>	三甲基甲硅烷基叠氮化物
TEA	三乙胺
TES	三乙基硅烷
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TMS	三甲基硅烷基
TMSCl	三甲基甲硅烷基氯
Ts	4-甲苯磺酰基
TsOH	甲苯磺酸
δ	以残留非氘代溶剂峰为参考的 ppm

[0424] 使用“P\*”符号的化合物结构是指分离的(R)-或(S)异构体,其中该位置处的特定立体化学未指定。

[0425] A. 中间体

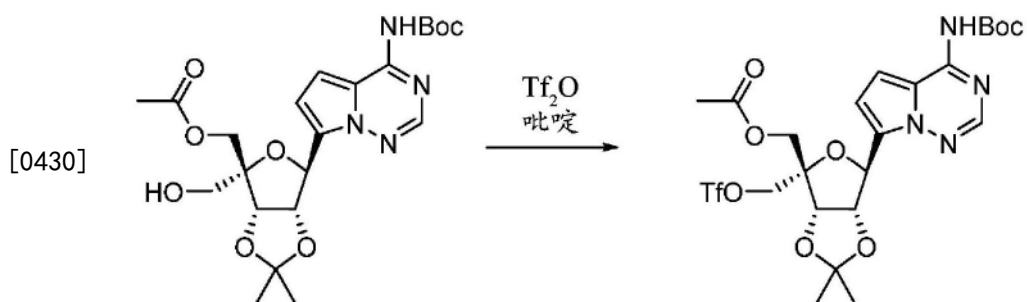
[0426] 中间体1. ((3a*S*, 4*S*, 6*S*, 6a*S*)-6-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)吡咯并[2,1-*f*][1,2,

4]三嗪-7-基)-2,2-二甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)甲基)四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)乙酸甲酯



[0428] 向(7-((3aS,4S,6aS)-6,6-双(羟甲基)-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-基)氨基甲酸叔丁酯(W02015069939; 100mg, 0.229mmol)和Novozyme-435(50mg, 50% w/w)在无水四氢呋喃(1mL)中的溶液中添加乙酸乙烯酯(0.03mL, 0.321mmol),并将反应混合物在45°C下搅拌7小时。过滤反应混合物并用THF反复洗涤酶。将合并的滤液浓缩,并将获得的残余物通过硅胶色谱法30-100%乙酸乙酯/己烷纯化,得到化合物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.46(s, 1H), 8.21(s, 1H), 7.21(s, 1H), 6.88(d, J=4.6Hz, 1H), 5.39(d, J=4.9Hz, 1H), 5.17(dd, J=6.1, 4.9Hz, 1H), 4.78(d, J=6.1Hz, 1H), 4.03(q, J=11.2Hz, 2H), 3.63(s, 2H), 1.96(s, 3H), 1.50(d, J=3.0Hz, 12H), 1.29(s, 3H)。LCMS:MS m/z=478.92[M+1]; t<sub>R</sub>=0.96min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂:含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。

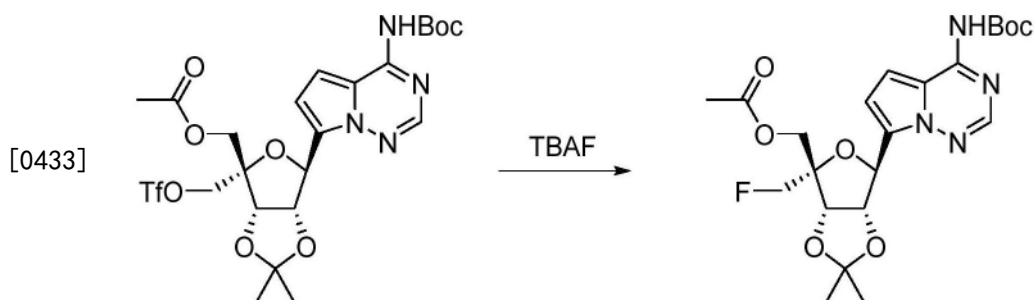
[0429] 中间体2. ((3aS,4S,6aS)-6-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2-二甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)甲基)四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)乙酸甲酯



[0431] 在0°C下向三氟甲磺酸酐在二氯甲烷中的溶液(1M, 1.46mL, 1.46mmol)中添加中间体1(350mg, 0.731mmol)和吡啶(0.300mL, 3.66mmol)在二氯甲烷(3.67mL)中的溶液。20分钟后,将反应混合物用水(5mL)稀释,并将所得混合物用二氯甲烷(2×5mL)萃取。将合并的有机萃取物经无水硫酸钠干燥并减压浓缩。所得粗化合物直接用于下一步骤。LCMS:MS m/z=610.79[M+1], t<sub>R</sub>=1.51min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min。

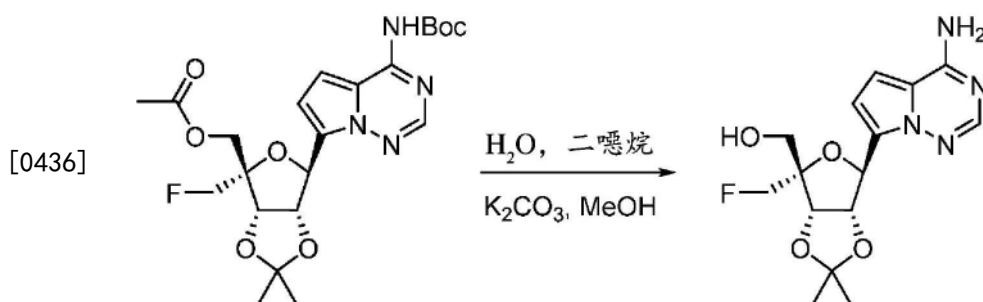
[0432] 中间体3. ((3aS,4R,6S,6aS)-6-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)吡咯并[2,1-f][1,2,

4]三嗪-7-基)-4-(氟甲基)-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)乙酸甲酯



[0434] 在室温将四丁基氟化铵在四氢呋喃中的溶液(1M,2.87mL,2.87mmol)添加到粗中间体2(350mg,0.573mmol)在四氢呋喃(3mL)中的溶液中。4小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5mL)稀释并用水(2×5mL)洗涤。将有机萃取物经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过硅胶色谱法(用0-100%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化,得到化合物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ8.12(br s,1H),7.18(d,J=4.7Hz,1H),6.89(d,J=4.7Hz,1H),5.55(d,J=4.4Hz,1H),5.29(dd,J=6.5,4.5Hz,1H),4.96(d,J=6.4Hz,1H),4.77-4.68(m,1H),4.65-4.56(m,1H),4.24-4.13(m,2H),2.02(s,3H),1.58(br s,12H),1.37(s,3H)。LCMS:MS m/z=480.97[M+1],t<sub>R</sub>=1.39min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2μL/min。HPLC:t<sub>R</sub>=3.04min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5μC18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。

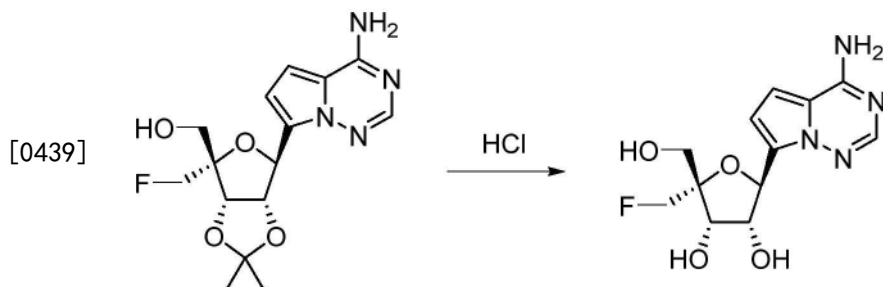
[0435] 中间体4. ((3aS,4R,6S,6aS)-6-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-4-(氟甲基)-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲醇



[0437] 将中间体3(189mg,0.393mmol)在水(0.6mL)和二噁烷(2.4mL)中的溶液加热至100℃。4小时后,将所得混合物减压浓缩。将粗残余物溶解于甲醇(2mL)中,并在室温下将1N碳酸钾溶液(1mL)添加到混合物中。1.25小时后,将反应混合物减压浓缩,并将粗残余物通过硅胶色谱法(用0-100%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化,得到化合物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.79(s,1H),6.86(d,J=4.5Hz,1H),6.74(d,J=4.5Hz,1H),5.36(d,J=5.7Hz,1H),5.24(t,J=5.9Hz,1H),4.99(d,J=6.3Hz,1H),4.71(dd,J=31.9,10.0Hz,1H),4.59(dd,J=33.4,10.0Hz,1H),3.73(dd,J=11.5,1.6Hz,1H),3.64(dd,J=11.5,2.2Hz,1H),1.58(s,3H),1.35(s,3H)。LCMS:MS m/z=339.24[M+1],t<sub>R</sub>=1.02min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A,

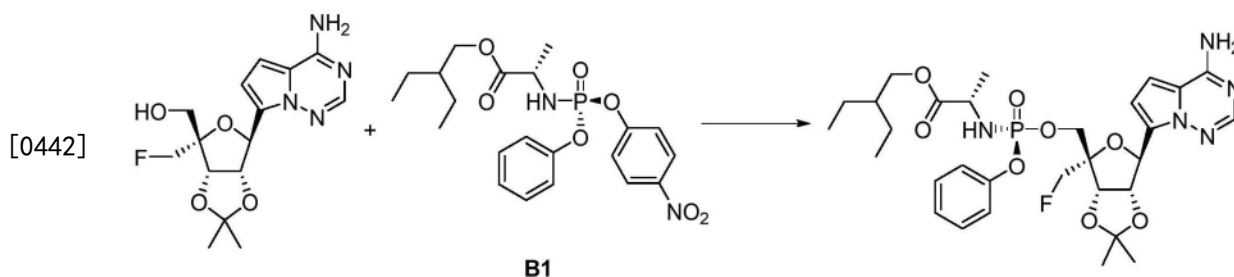
50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min。HPLC: $t_R$ =1.94min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。

[0438] 中间体5. (2R,3S,4R,5S) -5- (4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基) -2- (氟甲基) -2- (羟甲基) 四氢呋喃-3,4-二醇



[0440] 在室温下将浓盐酸水溶液(12N,0.172mL,2.07mmol)添加到中间体4(50mg,0.148mmol)在乙腈(1mL)中的溶液中。45分钟后,将所得混合物用2N氢氧化钠水溶液中和,并通过制备型HPLC(Gemini C18 5 $\mu$ M 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱,5-100%乙腈/水梯度)纯化,得到化合物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 7.78(s,1H),6.87(d,J=4.5Hz,1H),6.75(d,J=4.5Hz,1H),5.21(d,J=8.9Hz,1H),4.80-4.74(m,1.5H),4.65(dd,J=9.9,6.1Hz,1H),4.52(d,J=9.9Hz,0.5H),4.32(d,J=5.4Hz,1H),3.71(t,J=1.9Hz,2H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ -237.67(t,J=47.7Hz)。LCMS:MS m/z=299.20[M+1], $t_R$ =0.48min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min。HPLC: $t_R$ =1.10min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC: $t_R$ =2.05min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0441] 中间体6. ((S) - (((3aS,4R,6S,6aS) -6- (4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基) -2- (氟甲基) -2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基) 甲氧基) (苯氧基) 磷酸基) -L-丙氨酸2-乙基丁酯



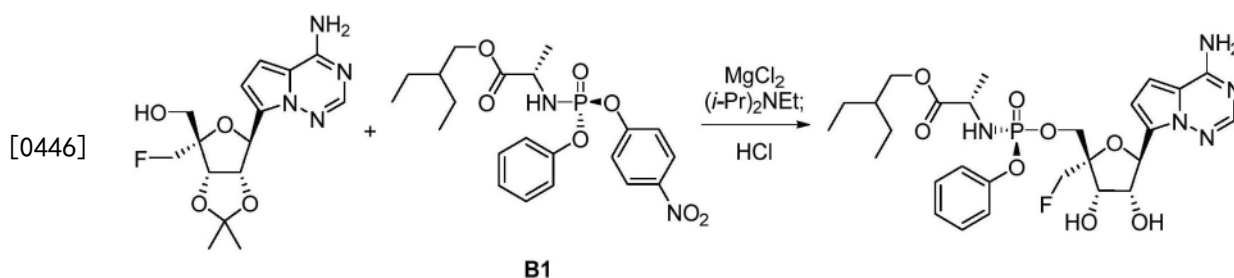
[0443] 在室温下将四氢呋喃(18.75mL)添加到中间体4(1.5g,4.433mmol)、中间体B1



(J. Med. Chem. 2017, 60 (5), 第1648-1661页; 2.197g, 4.877mmol) 和氯化镁 (0.633g, 6.65mmol) 的混合物中, 然后添加N,N-二异丙基乙胺 (1.931mL, 11.08mmol)。在50°C下2小时后, 将反应混合物用乙酸乙酯 (400mL) 稀释, 并将所得混合物用水 (2×100mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。使粗残余物经受硅胶色谱法, 用0-20% 甲醇的二氯甲烷溶液洗脱, 得到中间体。LCMS: MS  $m/z = 650.28 [M+1]$ ,  $t_R = 1.74\text{min}$ ; LC系统: Dionex Ultimate 3000 UHPLC; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1% 甲酸的乙腈, 含0.1% 甲酸的水; 梯度: 0min-1.6min 2-100% 乙腈, 1.6min-1.8min 100% 乙腈, 1.80min-1.90min 100%-2% 乙腈, 1.90min-2.20min 2% 乙腈, 1100 $\mu$ l/min。

[0444] B. 化合物

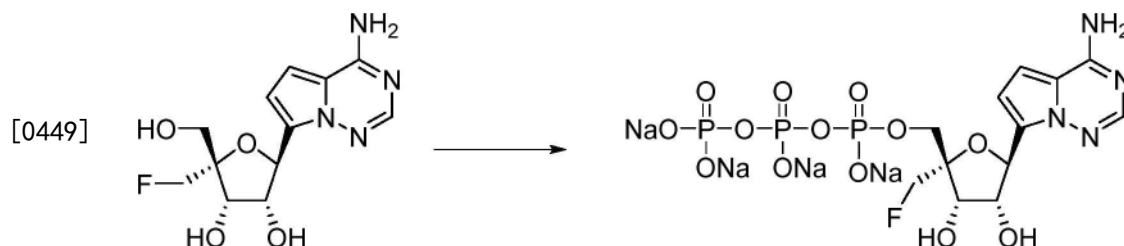
[0445] 实施例1. ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯



[0447] 在室温下, 将乙腈 (0.4mL) 添加到中间体4 (27mg, 0.080mmol)、中间体B1 (J. Med. Chem. 2017, 60 (5), 第1648-1661页; 36mg, 0.080mmol) 和氯化镁 (8mg, 0.08mmol) 的混合物中。将混合物加热至50°C持续10分钟, 并添加N,N-二异丙基乙胺 (0.035mL, 0.20mmol)。5小时后, 使反应混合物冷却至室温, 并滴加浓盐酸水溶液 (0.093mL)。30分钟后, 将反应混合物用乙酸乙酯 (20mL) 稀释, 并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。使粗残余物经受硅胶色谱法, 用0-100% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.79 (s, 1H), 7.40-7.31 (m, 2H), 7.26-7.14 (m, 3H), 6.85 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.73 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.36 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.70-4.58 (m, 2H), 4.33 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.21 (dd, J=5.7, 1.7Hz, 2H), 4.07-3.87 (m, 3H), 1.48 (app p, J=6.2Hz, 1H), 1.39-1.27 (m, 7H), 0.86 (t, J=7.5Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  -238.79 (t, J=47.7Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.53。LCMS: MS  $m/z = 610.32 [M+1]$ ,  $t_R = 1.22\text{min}$ ; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1% 乙酸的乙腈, 含0.1% 乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100% 乙腈, 2.0min-3.05min 100% 乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2% 乙腈, 3.2min-3.5min 2% ACN, 2 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R = 3.03\text{min}$ ; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1% TFA的乙腈, 含0.1% TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98% ACN, 5.0min-6.0min 98% ACN, 2mL/min。HPLC:  $t_R = 5.11\text{min}$ ; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98% B, 1.5mL/min。

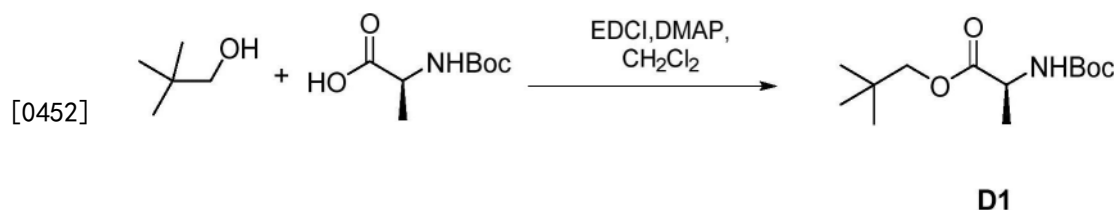
[0448] 实施例2. ((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟

甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基三磷酸钠

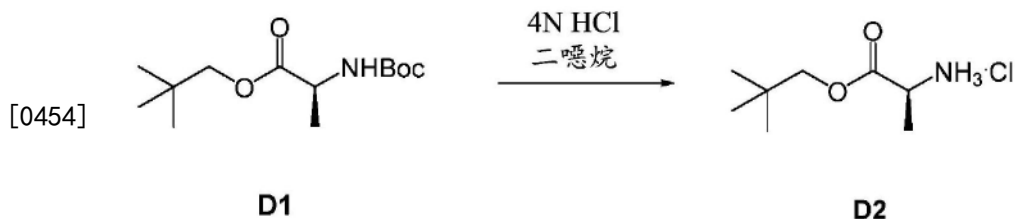


[0450] 在0℃下,向中间体5(10mg,0.034mmol)在PO(OMe)<sub>3</sub>(0.5mL)中的溶液中添加NaHCO<sub>3</sub>(10mg,0.12mmol)和POCl<sub>3</sub>(0.03mL,0.33mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌4小时,此时添加三丁基焦磷酸铵(250mg,0.46mmol)在ACN(0.5mL)中的溶液,然后添加三丁基胺(0.14mL,0.59mmol)。在0℃下搅拌反应混合物并通过离子交换HPLC监测。1小时后,将反应用三乙基碳酸氢铵缓冲液(1M,8mL)淬灭。将反应混合物在室温下搅拌0.5小时,然后浓缩并与水共蒸发两次。将残余物溶解于水(2mL)中并添加NaHCO<sub>3</sub>(400mg)。将所得混合物浓缩。将残余物溶解于水(约2mL)中并装载到C-18柱,用水洗脱。将含有产物的级分合并,用HCl(1N,150μL)酸化并浓缩至约4mL体积,装载到离子交换柱,先后用水和10-40%三乙基碳酸氢铵缓冲液(1M)-H<sub>2</sub>O洗脱。将含有产物的级分合并并浓缩。将残余物溶解于水(1mL)中并添加NaOH(1N,0.1mL)。将所得混合物浓缩至约0.2mL体积并用C-18柱纯化,用水洗脱。将含有产物的级分合并并浓缩,得到产物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,水-d<sub>2</sub>) δ7.88(s,1H),7.06(d,J=4.7Hz,1H),6.96(d,J=4.7Hz,1H),5.46(d,J=9.2Hz,1H),4.94-4.84(m,2H),4.82-4.75(m,1H),4.72(d,J=5.3Hz,1H),4.13(dd,J=10.8,5.8Hz,1H),3.96(dd,J=10.6,5.1Hz,1H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,水-d<sub>2</sub>) δ-5.74(d,J=19.7Hz),-11.10(d,J=19.4Hz),-21.68(t,J=19.7Hz)。LCMS:MS m/z=538.88[M+1],t<sub>R</sub>=0.45min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2μl/min。离子交换HPLC:t<sub>R</sub>=10.303min;离子交换0-80Milli-Q水/0.5M TEAB,14min梯度;1mL/min。

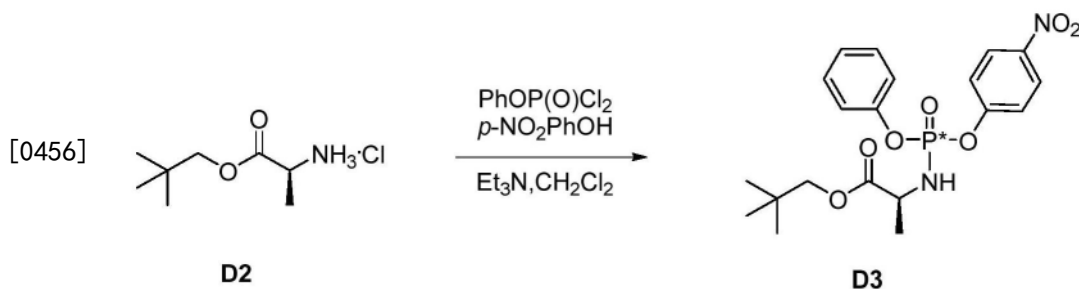
[0451] 实施例3.(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸新戊酯



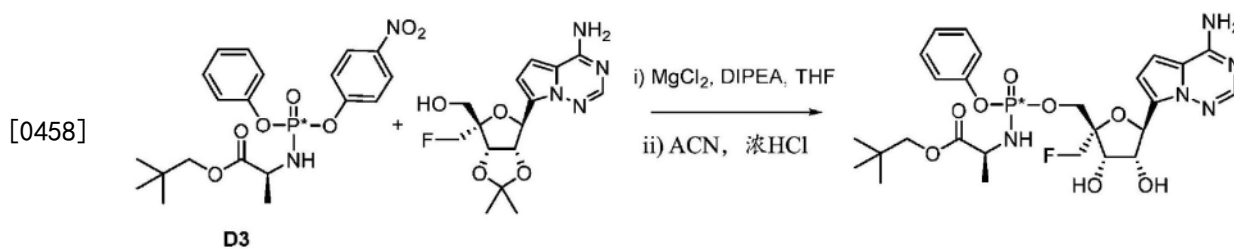
[0453] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸新戊酯。将(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(20.61g,0.109mol)溶解在乙腈(100mL)中,并添加2,2-二甲基丙-1-醇(8g,0.091mol),然后添加EDCI(18.32g,0.118mol)和DMAP(16.63g,0.136mol)。将反应在室温下搅拌4小时。将反应用二氯甲烷和水稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。通过硅胶色谱法用0-25%乙酸乙酯/己烷进行纯化,得到中间体D1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.27(d,J=7.5Hz,1H),4.00(p,J=7.4Hz,1H),3.79(d,J=10.5Hz,1H),3.64(d,J=10.5Hz,1H),1.35(s,9H),1.23(d,J=7.4Hz,3H),0.87(s,9H)。



[0455] (S)-1-(新戊氧基)-1-氧代丙-2-氯化铵。将(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸新戊酯(17.45g, 0.067mol)溶解在无水二氯甲烷(175mL)和4N HCl的二噁烷溶液(84.11mL, 0.336mol)中。将反应在环境温度下搅拌4小时。将反应减压浓缩并与二氯甲烷共蒸发。将所得残余物置于高真空下过夜,得到中间体D2,其无需纯化按原样用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ8.60 (s, 3H), 4.08 (q, J=7.2Hz, 1H), 3.90 (d, J=10.4Hz, 1H), 3.78 (d, J=10.4Hz, 1H), 1.43 (d, J=7.2Hz, 3H), 0.90 (s, 9H)。

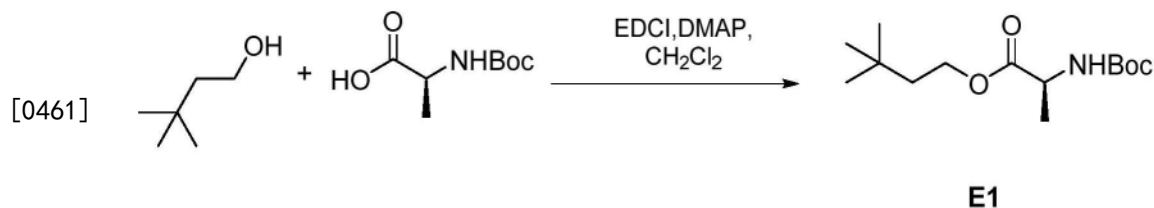


[0457] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸新戊酯。在0℃下在氩气氛下向中间体D2(13.15g, 67.2mmol)和二氯磷酸苯酯(10mL, 67.2mmol)在无水二氯甲烷(227mL)中的溶液中添加三乙胺(20.78mL, 147.84mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。然后添加4-硝基苯酚(9.348g, 67.2mmol)和三乙胺(10.39mL, 73.92mmol)。在0℃下搅拌1小时后,将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色谱发(80g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱, 100%二氯甲烷, 然后是0-45%乙酸乙酯/己烷)纯化,得到所需化合物,为非对映体混合物(19g, 64.79%, 非对映体混合物)。将获得的化合物在高真空下干燥,使部分凝固。将二异丙醚添加到部分凝固的物质中,并超声处理,得到细固体。通过过滤分离固体。用二异丙醚进行另一轮超声处理并过滤,得到中间体D3。通过NMR光谱法确定中间体D3为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ8.31-8.23 (m, 2H), 7.52-7.43 (m, 2H), 7.38 (dd, J=8.6, 7.2Hz, 2H), 7.28-7.18 (m, 3H), 4.09 (dq, J=9.8, 7.2Hz, 1H), 3.83-3.72 (m, 2H), 1.34 (dd, J=7.2, 1.2Hz, 3H), 0.91 (s, 9H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-*d*<sub>4</sub>) δ-1.32 (s)。LCMS: MS m/z=436.85 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.67min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。

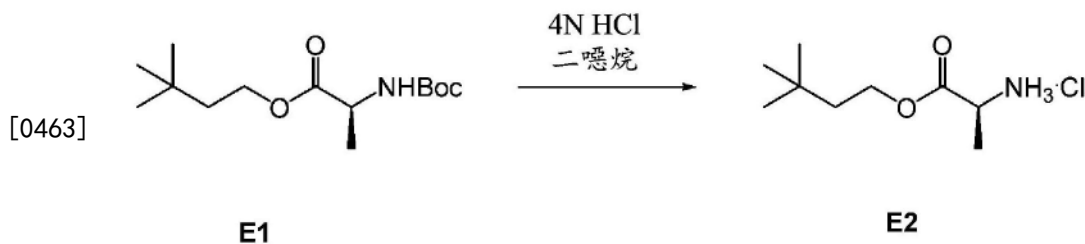


[0459] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸新戊酯。在室温下向中间体4(0.015g,0.044mmol)、中间体D3(0.021g,0.049mmol)和氯化镁(0.006g,0.067mmol)的混合物中添加四氢呋喃(0.5mL),然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.019mL,0.111mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将获得的残余物用饱和氯化钠溶液和乙酸乙酯稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈(0.5mL)中并在冰浴中冷却,然后滴加浓盐酸(0.088mL,1.058mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。1小时后,将反应混合物在冰浴中冷却并用3N氢氧化钠水溶液中中和。将所得混合物通过制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR80Å 150x30mm柱,15%-85%乙腈/水梯度,30分钟运行)纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.78(s,1H),7.34(dd,J=8.6,7.1Hz,2H),7.27-7.13(m,3H),6.84(d,J=4.5Hz,1H),6.73(d,J=4.5Hz,1H),5.35(d,J=8.4Hz,1H),4.81-4.55(m,3H),4.33(d,J=5.2Hz,1H),4.24-4.17(m,2H),4.02-3.86(m,1H),3.83(d,J=10.5Hz,1H),3.73(d,J=10.5Hz,1H),1.33(dd,J=7.1,1.0Hz,3H),0.91(s,9H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.54。LCMS:MS m/z=596.10[M+1];t<sub>R</sub>=1.16min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μl/min。HPLC:t<sub>R</sub>=4.848min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

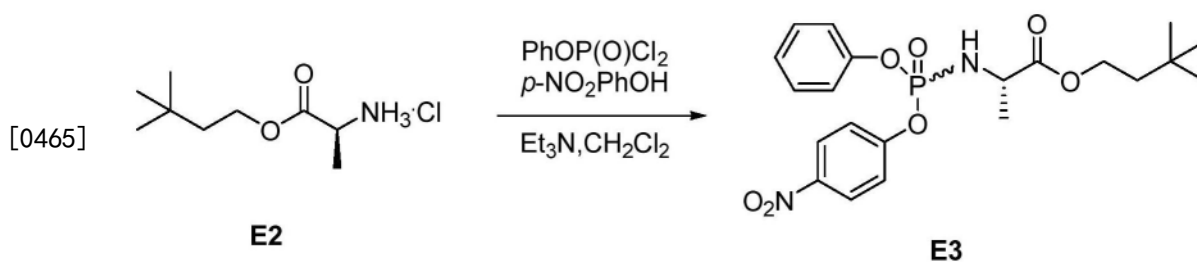
[0460] 实施例4. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸3,3-二甲基丁酯



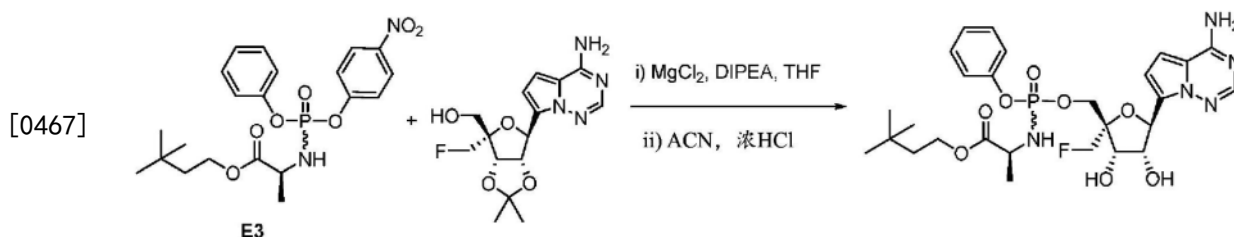
[0462] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸3,3-二甲基丁酯。将(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(22.38g,0.118mol)溶解在乙腈(100mL)中,并一次性添加3,3-二甲基丁-1-醇(10.07g,0.099mol),然后添加EDCI(19.89g,0.128mol)和DMAP(18.06g,0.148mol)。将反应在室温下搅拌4小时。将反应用二氯甲烷和水稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。通过硅胶色谱法用0-25%乙酸乙酯/己烷进行纯化,得到中间体E1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.22(d,J=7.4Hz,1H),4.13-3.82(m,3H),1.47(t,J=7.2Hz,2H),1.35(s,9H),1.19(d,J=7.3Hz,3H),0.88(s,9H)。



[0464] (S)-1-(3,3-二甲基丁氧基)-1-氧代丙-2-氯化铵。将中间体E1 (20.9g, 0.076mol) 溶解在无水二氯甲烷 (200mL) 和4N HCl的二噁烷溶液 (95.57mL, 0.382mol) 中。将反应在环境温度下搅拌4小时。将反应减压浓缩并与二氯甲烷共蒸发。将所得残余物置于高真空下过夜, 并且中间体E2无需纯化按原样用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.67 (s, 3H), 4.32-4.07 (m, 2H), 3.97 (d, J=7.2Hz, 1H), 1.52 (t, J=7.3Hz, 2H), 1.39 (d, J=7.1Hz, 3H), 0.89 (s, 9H)。



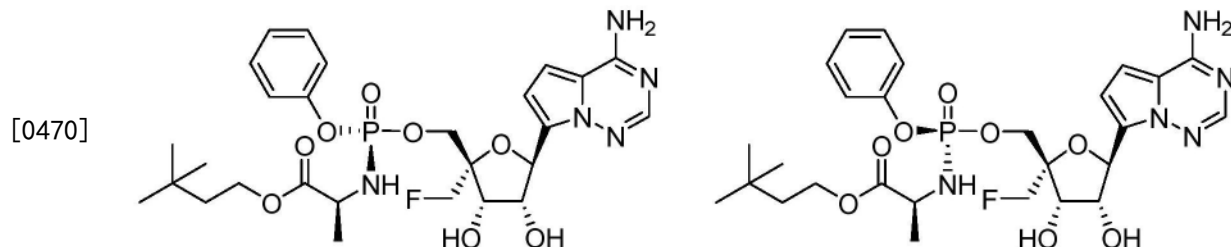
[0466] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸3,3-二甲基丁酯。在0°C在氩气氛下向中间体E2 (15.93g, 75.96mmol) 和二氯磷酸苯酯 (11.3mL, 75.96mmol) 在无水二氯甲烷 (300mL) 中的溶液中添加三乙胺 (23.5mL, 167.1mmol)。将所得混合物在0°C下搅拌1小时。然后添加4-硝基苯酚 (10.57g, 75.96mmol) 和三乙胺 (11.74mL, 83.56mmol)。在0°C下搅拌1小时后, 将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色谱 (80g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱, 100%二氯甲烷, 然后是0-35%乙酸乙酯/己烷) 纯化, 得到中间体E3, 为非对映体混合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.28 (d, J=9.1Hz, 2H), 7.53-7.34 (m, 4H), 7.30-7.16 (m, 3H), 6.66 (td, J=13.2, 10.0Hz, 1H), 4.06-3.88 (m, 3H), 1.40-1.29 (m, 2H), 1.24-1.11 (m, 3H), 0.83 (s, 9H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -1.26, -1.57。LCMS: MS m/z = 450.96 [M+1]; t<sub>R</sub> = 1.71min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的水, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。



[0468] (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸3,3-二甲基丁酯。在室温下向中间体4 (0.015g, 0.044mmol)、中间体E3 (0.022g, 0.049mmol) 和氯化镁 (0.006g, 0.067mmol) 的混合物中添加四氢呋喃 (0.5mL), 然后添加N,N-二异丙基乙胺 (0.019mL,

0.111mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将获得的残余物用饱和氯化钠溶液和乙酸乙酯稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈(0.5mL)中并在冰浴中冷却,然后滴加浓盐酸(0.088mL,1.058mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。1小时后,将反应混合物在冰浴中冷却并用3N氢氧化钠水溶液中和。将所得混合物通过制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱,15%-85%乙腈/水梯度,30分钟运行)纯化,得到产物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.78(d,J=1.8Hz,1H),7.39-7.28(m,2H),7.28-7.12(m,3H),6.85(dd,J=5.7,4.5Hz,1H),6.75(dd,J=8.7,4.5Hz,1H),5.37(dd,J=8.2,6.2Hz,1H),4.83-4.53(m,3H),4.36(dd,J=18.1,5.2Hz,1H),4.30-4.04(m,4H),3.96-3.81(m,1H),1.51(td,J=7.5,2.2Hz,2H),1.27(ddd,J=19.5,7.1,1.1Hz,3H),0.90(d,J=1.9Hz,9H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.7,3.51。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ-238.40--238.89(m)。LCMS:MS m/z=610.05[M+1];t<sub>R</sub>=1.20min(次要异构体),1.22min(主要异构体);LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μl/min。HPLC:t<sub>R</sub>=5.024min(次要异构体),5.1min(主要异构体);HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

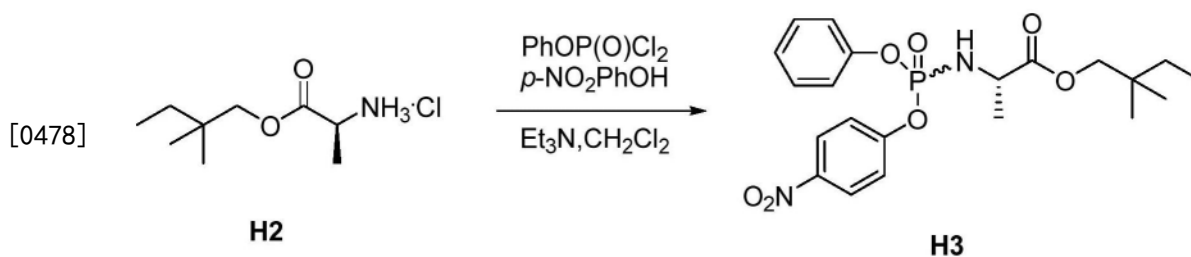
[0469] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型HPLC(Chiralpak IA 5μm,21X250mm;100%乙醇)将非对映体彼此分离。



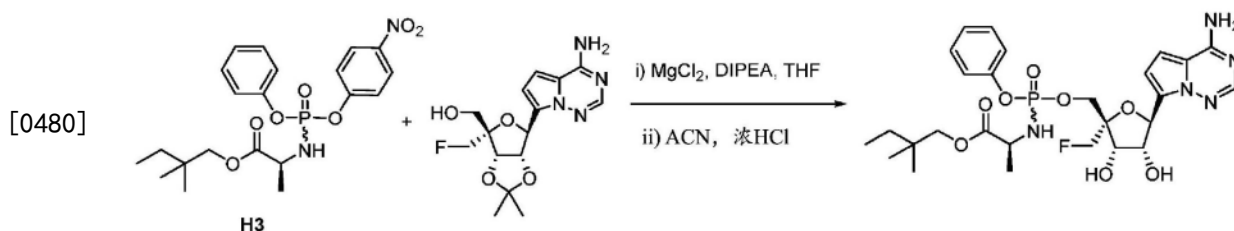
[0471] 实施例5. 实施例4的第一洗脱非对映体:<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.78(s,1H),7.32(t,J=7.9Hz,2H),7.23-7.13(m,3H),6.86(d,J=4.6Hz,1H),6.75(d,J=4.5Hz,1H),5.37(d,J=8.1Hz,1H),4.83-4.71(m,1H),4.71-4.59(m,2H),4.38(d,J=5.3Hz,1H),4.26(dd,J=5.1,1.7Hz,2H),4.16-4.07(m,2H),3.93-3.74(m,1H),1.56-1.47(m,2H),1.24(dd,J=7.2,1.2Hz,3H),0.90(s,9H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.73。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ-238.61(t,J=47.7Hz)。LCMS:MS m/z=610.13[M+1];t<sub>R</sub>=1.20min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μl/min。HPLC:t<sub>R</sub>=4.996min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0472] 实施例6. 实施例4的第二洗脱非对映体:<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.79(s,1H),





[0479] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2,2-二甲基丁酯。在0℃下在氩气氛下向中间体H2 (7.9g, 37.67mmol) 和二氯磷酸苯酯 (5.605mL, 37.67mmol) 在无水二氯甲烷 (150mL) 中的溶液中添加三乙胺 (11.64mL, 82.87mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。然后添加4-硝基苯酚 (5.24g, 37.67mmol) 和三乙胺 (5.82mL, 41.43mmol)。在0℃下搅拌1小时后, 将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色谱发 (80g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱, 100%二氯甲烷, 然后是0-35%乙酸乙酯/己烷) 纯化, 得到中间体H3。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 8.32-8.23 (m, 2H), 7.52-7.34 (m, 4H), 7.31-7.18 (m, 3H), 4.15-4.02 (m, 1H), 3.86-3.74 (m, 2H), 1.39-1.28 (m, 3H), 1.32-1.19 (m, 2H), 0.89-0.76 (m, 9H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -1.35, -1.57。LCMS: MS m/z = 450.94 [M+1]; t<sub>R</sub> = 1.71min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。

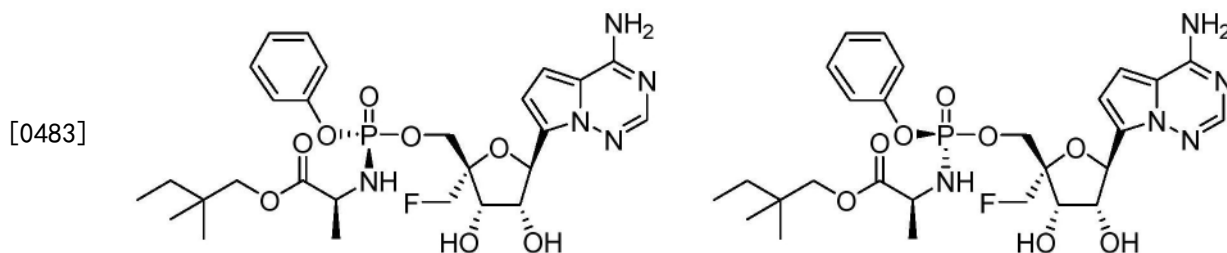


[0481] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2,2-二甲基丁酯。在室温下向中间体4 (0.015g, 0.044mmol)、中间体H3 (0.022g, 0.049mmol) 和氯化镁 (0.006g, 0.067mmol) 的混合物中添加四氢呋喃 (0.5mL), 然后添加N,N-二异丙基乙胺 (0.019mL, 0.111mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩, 并将获得的残余物用饱和氯化钠溶液和乙酸乙酯稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈 (0.5mL) 中并在冰浴中冷却, 然后滴加浓盐酸 (0.088mL, 1.058mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。1小时后, 将反应混合物在冰浴中冷却并用3N氢氧化钠水溶液中和。将所得混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 15%-85%乙腈/水梯度, 30分钟运行) 纯化, 得到产物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.78 (d, J = 1.4Hz, 1H), 7.37-7.27 (m, 2H), 7.27-7.12 (m, 3H), 6.85 (dd, J = 5.8, 4.5Hz, 1H), 6.74 (dd, J = 9.9, 4.5Hz, 1H), 5.37 (dd, J = 8.2, 6.7Hz, 1H), 4.83-4.53 (m, 3H), 4.36 (dd, J = 16.6, 5.3Hz, 1H), 4.24 (ddd, J = 21.2, 5.7, 1.8Hz, 2H), 4.01-3.72 (m, 3H), 1.36-1.24 (m, 5H), 0.90-0.77 (m, 9H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.72, 3.54。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -238.38--238.82 (m)。LCMS: MS m/z = 610.05 [M+1]; t<sub>R</sub> = 1.32min (次



要异构体), 1.33min(主要异构体); LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$ =5.021min(次要异构体), 5.093min(主要异构体); HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0482] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型HPLC(Chiralpak IA 5 $\mu$ m, 21X250mm; 100%乙醇)将非对映体彼此分离。



[0484] 实施例8. 实施例7的第一洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.78 (s, 1H), 7.32 (t,  $J$ =7.8Hz, 2H), 7.19 (m, 3H), 6.86 (d,  $J$ =4.5Hz, 1H), 6.75 (d,  $J$ =4.5Hz, 1H), 5.37 (d,  $J$ =8.2Hz, 1H), 4.81-4.56 (m, 3H), 4.37 (d,  $J$ =5.3Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$ =4.9Hz, 2H), 3.99-3.66 (m, 3H), 1.36-1.19 (m, 5H), 0.87 (s, 6H), 0.82 (t,  $J$ =7.6Hz, 3H)。  $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  3.72。  $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  -238.59 (t,  $J$ =47.7Hz)。 LCMS: MS  $m/z$ =610.11 [ $M+1$ ];  $t_R$ =1.21min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min。HPLC:  $t_R$ =5.007min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

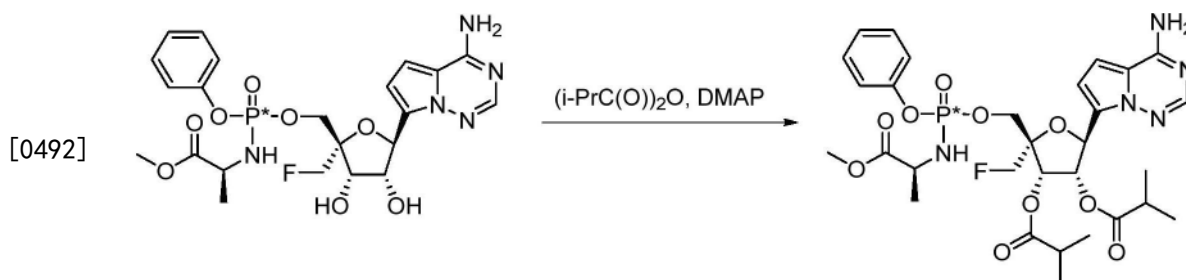
[0485] 实施例9. 实施例7的第二洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.79 (s, 1H), 7.34 (t,  $J$ =7.9Hz, 2H), 7.27-7.14 (m, 3H), 6.84 (d,  $J$ =4.5Hz, 1H), 6.73 (d,  $J$ =4.5Hz, 1H), 5.35 (d,  $J$ =8.3Hz, 1H), 4.81-4.55 (m, 3H), 4.33 (d,  $J$ =5.2Hz, 1H), 4.21 (d,  $J$ =5.8Hz, 2H), 3.94 (dd,  $J$ =9.9, 7.1Hz, 1H), 3.85 (d,  $J$ =10.7Hz, 1H), 3.76 (d,  $J$ =10.6Hz, 1H), 1.36-1.24 (m, 5H), 0.89-0.77 (m, 9H)。  $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  3.54。  $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  -238.76 (t,  $J$ =47.7Hz)。 LCMS: MS  $m/z$ =610.14 [ $M+1$ ];  $t_R$ =1.22min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$ =5.085min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0486] 实施例10. (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-



(5mL) 中并在冰浴中搅拌。滴加浓盐酸水溶液 (250 $\mu$ L)。将反应在冰浴中搅拌1小时。移除冰浴, 并将反应在室温下搅拌1小时。将反应用EtOAc (15mL) 稀释, 并添加饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL)。将混合物搅拌10分钟。收集有机萃取物并用盐水 (10mL) 洗涤。将有机萃取物经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物经由C18柱色谱法 (Phenomenex Gemini柱, 5-95% ACN/水) 纯化。将级分合并并冷冻干燥, 得到产物。通过NMR光谱法确定产物为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.79 (s, 1H), 7.38-7.30 (m, 2H), 7.26-7.15 (m, 3H), 6.85 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.73 (d, J=4.5Hz, 1H), 5.36 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.81-4.57 (m, 3H), 4.34 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.20 (dt, J=5.7, 1.9Hz, 2H), 3.91 (dq, J=10.0, 7.1Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 1.29 (dd, J=7.1, 1.1Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.49。LCMS: MS m/z=540.0[M+1], 538.2[M-1], t<sub>R</sub>=1.14min; LC系统: Thermo Dionex Ultimate 3000UHPLC; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A, 50x3mm; 溶剂: A: 含0.1%乙酸的水, B: 含0.1%乙酸的乙腈; 梯度: 0min-0.3min 5%B, 0.3min-1.5min 5-100%B, 1.5min-2min 100%B, 2min-2.2min 100-5%B, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.23min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Phenomenex Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 5min内为2-98%B, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=3.770min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

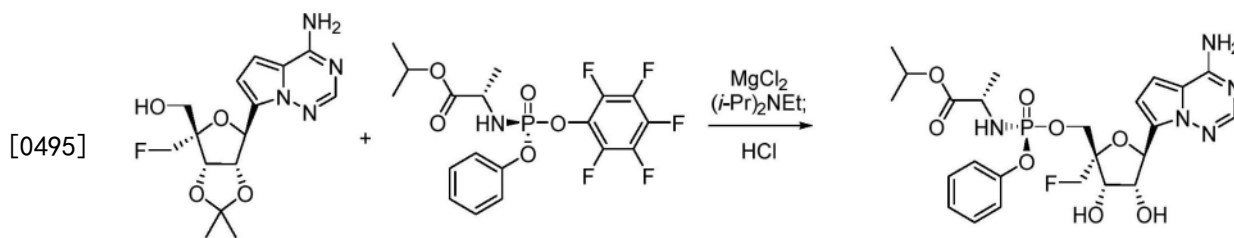
[0491] 实施例11. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-((((((S)-1-甲氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0493] 将实施例10 (13mg, 0.024mmol) 溶解于2mL无水THF中并在室温下搅拌。添加异丁酸酐 (8 $\mu$ L, 0.048mmol) 和DMAP (0.3mg, 0.0024mmol), 并将反应搅拌30分钟。添加更多的异丁酸酐 (4 $\mu$ L, 0.024mmol), 并将反应搅拌30分钟。然后将反应用EtOAc (10mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (2 $\times$ 5mL) 洗涤, 然后用盐水 (5mL) 洗涤。将有机萃取物经无水硫酸钠干燥, 然后减压浓缩。将粗残余物经由SiO<sub>2</sub>柱色谱法 (4g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱, 0-10% 甲醇/DCM) 纯化。将级分合并并减压浓缩。将残余物溶解于ACN中, 用水稀释并冷冻干燥, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.79 (s, 1H), 7.38-7.13 (m, 5H), 6.79 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.61 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.88-5.77 (m, 2H), 5.60 (d, J=7.8Hz, 1H), 4.79-4.52 (m, 2H), 4.39-4.21 (m, 2H), 3.96 (dq, J=10.2, 7.1Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.68 (p, J=7.0Hz, 1H), 2.46 (p, J=7.0Hz, 1H), 1.31 (dd, J=7.1, 1.0Hz, 3H), 1.22 (dd, J=7.0, 1.1Hz, 6H), 1.07 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.03 (d, J=7.0Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.38。LCMS: MS m/z=680.2[M+1], 678.3[M-1], t<sub>R</sub>=1.60min; LC系统: Thermo Dionex Ultimate 3000UHPLC; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A, 50x3mm; 溶剂: A: 含0.1%乙

酸的水, B: 含0.1%乙酸的乙腈; 梯度: 0min-0.3min 5%B, 0.3min-1.5min 5-100%B, 1.5min-2min 100%B, 2min-2.2min 100-5%B, 2mL/min。HPLC:  $t_R$  = 3.17min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Phenomenex Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 5min内为2-98%B, 2mL/min。HPLC:  $t_R$  = 5.460min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

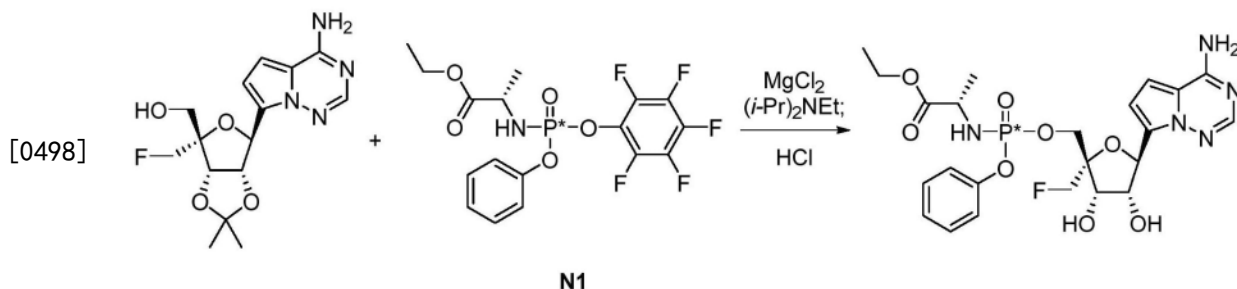
[0494] 实施例12. ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸异丙酯



M1

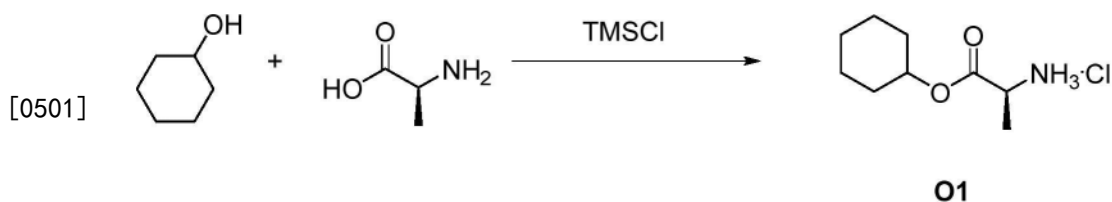
[0496] 在室温下将四氢呋喃(1mL)添加到中间体4(200mg, 0.591mmol)、中间体M1(J. Org. Chem. 2011, 76(20), 第8311-8319页; 322mg, 0.709mmol)和氯化镁(84mg, 0.887mmol)的混合物中。将混合物加热至40℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.257mL, 1.478mmol)。在40℃下搅拌2小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并将所得混合物用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈(7mL)中,并在0℃下滴加浓盐酸水溶液(0.493mL)。在0℃下2小时后,在0℃下将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)和水(20mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.83(s, 1H), 7.71(bs, 2H), 7.43-7.30(m, 2H), 7.25-7.15(m, 3H), 6.84(d, J=4.5Hz, 1H), 6.68(d, J=4.5Hz, 1H), 6.04(dd, J=13.2, 10.1Hz, 1H), 5.29-5.22(m, 2H), 5.14(d, J=7.3Hz, 1H), 4.86(hept, J=6.2Hz, 1H), 4.70-4.58(m, 1H), 4.57-4.44(m, 2H), 4.20(t, J=4.8Hz, 1H), 4.05-3.91(m, 2H), 3.85-3.68(m, 1H), 1.21(d, J=7.0Hz, 3H), 1.15(dd, J=6.3, 2.8Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -236.69(t, J=48.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.51。LCMS: MS m/z = 568.15[M+1],  $t_R$  = 1.19min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$  = 2.55min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%TFA的乙腈, 含0.1%TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98%ACN, 5.0min-6.0min 98%ACN, 2mL/min。HPLC:  $t_R$  = 4.32min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0497] 实施例13. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯

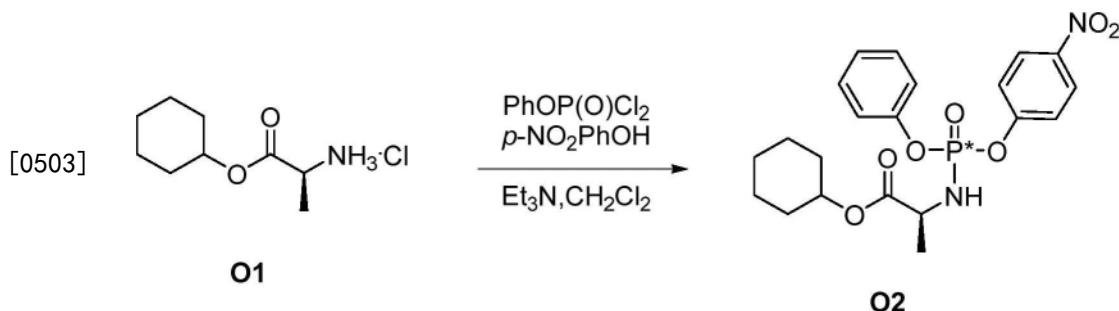


[0499] 在室温下将四氢呋喃(4mL)添加到中间体4(200mg,0.591mmol)、中间体N1(WO2012075140;415mg,0.946mmol)和氯化镁(84mg,0.887mmol)的混合物中。将混合物加热至40℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.257mL,1.478mmol)。在40℃下搅拌2小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并将所得混合物用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈(3mL)中,并在0℃下滴加浓盐酸水溶液(0.514mL)。在0℃下2小时后,在0℃下将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)和水(20mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.83(s,1H),7.71(bs,2H),7.45-7.33(m,2H),7.31-7.09(m,3H),6.84(d,J=4.5Hz,1H),6.68(d,J=4.5Hz,1H),6.08(dd,J=13.3,10.1Hz,1H),5.32-5.22(m,2H),5.14(d,J=7.3Hz,1H),4.70-4.44(m,3H),4.19(t,J=4.8Hz,1H),4.11-3.94(m,4H),3.88-3.74(m,1H),1.22(d,J=6.7Hz,3H),1.15(t,J=7.1Hz,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ -236.69(t,J=48.0Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 3.46。LCMS:MS m/z=554.11[M+1],t<sub>R</sub>=1.13min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ l/min。HPLC:t<sub>R</sub>=2.42min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC:t<sub>R</sub>=4.05min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

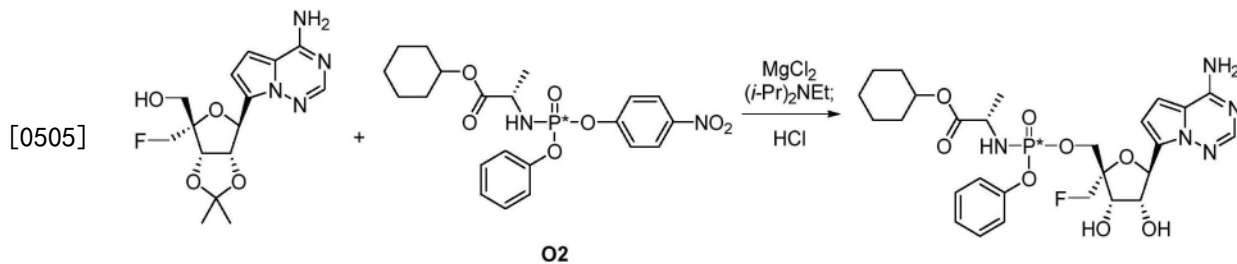
[0500] 实施例14. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环己酯



[0502] (S)-1-(环己氧基)-1-氧代丙-2-氯化铵。向L-丙氨酸(20.0g, 224.48mmol)和环己醇(213.6g, 2132.6mmol)的混合物中添加三甲基甲硅烷基氯(76.56mL, 695.9mmol)。将反应在80℃下搅拌过夜。将反应浓缩,并将获得的残余物与甲苯2×100mL共蒸发,然后与己烷500mL共蒸发。将获得的残余物在高真空下干燥15分钟,并在搅拌的同时缓慢添加己烷。将混合物在室温下搅拌30分钟,并通过过滤分离固体,用己烷洗涤,并在高真空下干燥过夜,得到中间体O1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.53(d, J=17.7Hz, 3H), 4.77(tt, J=8.4, 3.7Hz, 1H), 3.99(t, J=6.9Hz, 1H), 1.88-1.59(m, 4H), 1.54-1.12(m, 8H)。



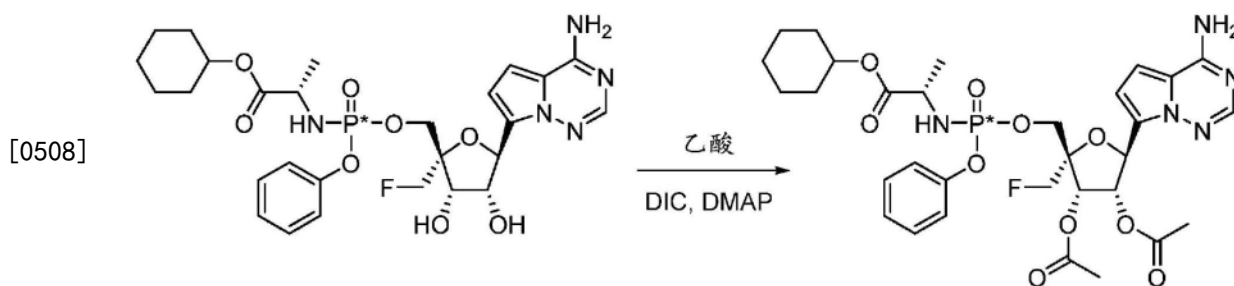
[0504] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环己酯。在0℃下在氩气氛下向中间体O1(23.2g, 111.7mmol)和二氯磷酸苯酯(16.2mL, 108.91mmol)在无水二氯甲烷(400mL)中的溶液中添加三乙胺(35mL, 251.33mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1.5小时。然后在0℃下添加4-硝基苯酚(14.53g, 104.44mmol)和三乙胺(18mL, 125.66mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时,并用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗产物减压浓缩,并将获得的残余物溶解于乙酸乙酯中,并用饱和碳酸钠水溶液和盐水洗涤。将有机层分离,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将粗物质通过硅胶色谱法(330g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱, 0-10%甲醇/二氯甲烷)纯化,得到所需化合物,为非对映体混合物(41.3g, 83%, 非对映体混合物)。将由此获得的物质在高真空下干燥过夜,从而导致凝固。将二异丙醚(225mL)添加到凝固物质中,并充分超声处理,得到细固体。通过过滤分离固体,得到中间体O2,通过<sup>1</sup>H NMR和<sup>31</sup>P NMR确定其为单一异构体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ8.32-8.23(m, 2H), 7.52-7.40(m, 2H), 7.38(dd, J=8.6, 7.2Hz, 2H), 7.29-7.17(m, 3H), 4.68(dp, J=8.7, 3.8Hz, 1H), 4.02(dq, J=9.8, 7.1Hz, 1H), 1.78-1.64(m, 3H), 1.57-1.46(m, 1H), 1.44-1.22(m, 9H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-1.32(s) LCMS: MS m/z=448.86[M+1]; t<sub>R</sub>=1.3min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。



[0506] (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环己酯。在室温下将四氢

呋喃(2mL)添加到中间体4(200mg,0.591mmol)、中间体02(318mg,0.709mmol)和氯化镁(84mg,0.887mmol)的混合物中。将混合物加热至50℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.257mL,1.478mmol)。在50℃下搅拌3小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并将所得混合物用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈(7mL)中,并在0℃下滴加浓盐酸水溶液(0.493mL)。在0℃下2小时后,在0℃下将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)和水(20mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.83(s,1H),7.71(s,2H),7.43-7.30(m,2H),7.27-7.11(m,3H),6.85(d,J=4.4Hz,1H),6.69(d,J=4.5Hz,1H),6.17-5.94(m,1H),5.36-5.19(m,2H),5.14(dd,J=7.3,1.0Hz,1H),4.70-4.59(m,2H),4.58-4.45(m,2H),4.21(t,J=4.8Hz,1H),4.05-3.91(m,2H),3.85-3.70(m,1H),1.76-1.55(m,4H),1.50-1.12(m,9H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ -236.73(t,J=48.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 3.52。LCMS:MS m/z=608.19[M+1],t<sub>R</sub>=1.31min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ L/min。HPLC:t<sub>R</sub>=2.89min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC:t<sub>R</sub>=4.90min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

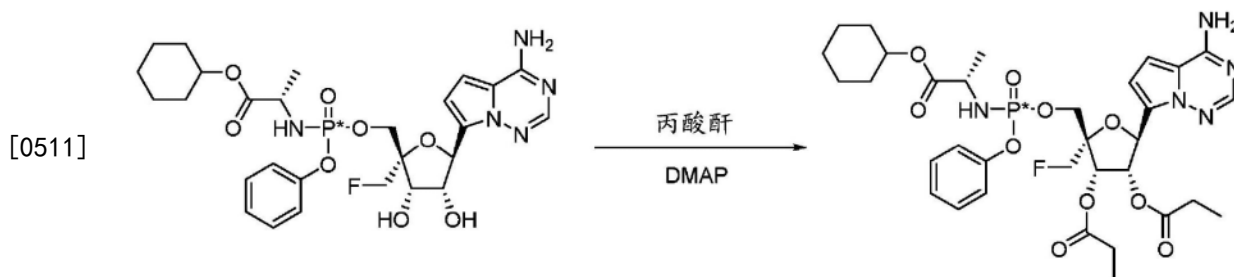
[0507] 实施例15. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((((S)-1-(环己氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基二乙酸酯



[0509] 在氩气下将N,N'-二异丙基碳二亚胺(42mg,0.33mmol)和乙酸(20mg,0.33mmol)溶解于无水四氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌30分钟。添加实施例14(40mg,0.07mmol)和4-二甲基氨基吡啶(8mg,0.07mmol),并在室温搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm柱)使用10-

100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz,氯仿-d)  $\delta$ 7.92(s,1H),7.32-7.25(m,3H),7.25-7.20(m,2H),7.17-7.10(m,1H),6.62(d,J=4.6Hz,1H),6.51(d,J=4.6Hz,1H),5.86(dd,J=7.5,5.4Hz,1H),5.80(d,J=5.4Hz,1H),5.64(d,J=7.5Hz,1H),4.75(tt,J=8.8,3.9Hz,1H),4.71-4.63(m,1H),4.60-4.52(m,1H),4.33(ddd,J=10.8,5.7,1.9Hz,1H),4.25(ddd,J=10.8,5.8,2.2Hz,1H),4.08-3.97(m,2H),2.12(s,3H),2.00(s,3H),1.96-1.62(m,4H),1.57-1.17(m,7H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz,氯仿-d)  $\delta$ -234.25(t,J=46.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,氯仿-d)  $\delta$ 2.69。LCMS:MS m/z=692.34[M+1], $t_R$ =1.51min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ L/min。HPLC: $t_R$ =3.30min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。

[0510] 实施例16. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((S)-1-(环己氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基二丙酸酯

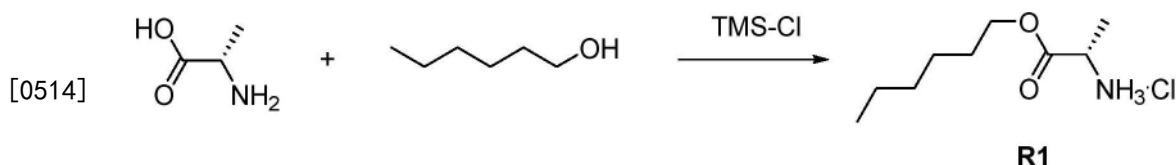


[0512] 在氩气下将丙酸酐(17mg,0.13mmol)和实施例14(40mg,0.07mmol)溶解于无水四氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4-二甲氨基吡啶(8mg,0.07mmol),并在室温下搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d)  $\delta$ 7.91(s,1H),7.32-7.25(m,3H),7.24-7.20(m,2H),7.16-7.11(m,1H),6.60(d,J=4.6Hz,1H),6.50(d,J=4.6Hz,1H),5.98-5.91(m,2H),5.88(dd,J=7.3,5.4Hz,1H),5.83(d,J=5.4Hz,1H),5.63(d,J=7.3Hz,1H),4.79-4.71(m,1H),4.67(d,J=4.0Hz,1H),4.56(d,J=5.0Hz,1H),4.33(ddd,J=10.8,5.6,1.8Hz,1H),4.25(ddd,J=10.8,5.8,2.2Hz,1H),4.11-4.06(m,1H),4.05-3.97(m,1H),2.39(q,J=7.6Hz,2H),2.26(qd,J=7.6,1.9Hz,2H),1.98(d,J=14.2Hz,1H),1.83-1.75(m,2H),1.68(t,J=8.1Hz,2H),1.55-1.28(m,6H),1.17(t,J=7.6Hz,3H),1.07(t,J=7.6Hz,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,氯仿-d)  $\delta$ -234.18(t,J=46.9Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,氯仿-d)  $\delta$ 2.73。LCMS:MS m/z=720.60[M+1], $t_R$ =1.63min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的

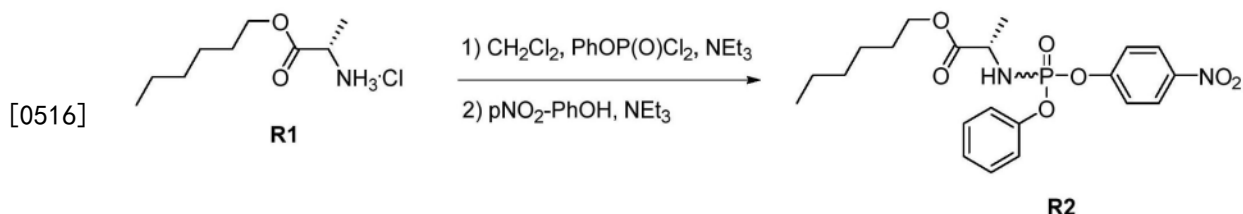


乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2μl/min。HPLC: $t_R=3.52\text{min}$ ;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5μC18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。

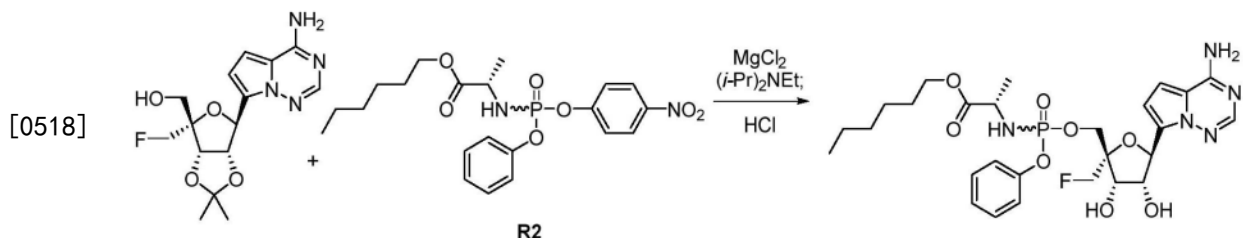
[0513] 实施例17. (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸己酯



[0515] L-丙氨酸己酯盐酸盐。将L-丙氨酸(4.45g,50mmol)与1-己醇(30mL)混合。滴加TMS-Cl(19.1mL,150mmol),并将反应在室温下搅拌16小时。添加更多的1-己醇(10mL)和TMS-Cl(5mL)。将反应混合物加热至80℃并搅拌20小时。将反应混合物减压浓缩。将所得的油在高真空下干燥,并使油缓慢凝固,得到中间体R1,为盐酸盐。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz,氯仿-d) $\delta$  8.77(s,3H),4.20(m,3H),1.71(m,5H),1.47-1.19(m,6H),1.01-0.78(m,3H)。



[0517] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸己酯。将二氯磷酸苯酯(3.7mL,25mmol)溶解于无水DCM(50mL)中,并在大气氮气下在冰浴中搅拌。一次性添加中间体R1(5.2g,25mmol)。将反应搅拌30分钟。滴加三乙胺(8.4mL,60mmol),然后搅拌60分钟。添加对硝基苯酚(3.1g,22.5mmol)和三乙胺(4.2mL,30mmol)。移除冰浴,并将反应混合物在室温下搅拌16小时。将反应用DCM(100mL)稀释,并用水(3×20mL)洗涤。将有机物经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物经由SiO<sub>2</sub>柱色谱法(120g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱,0-20%乙酸乙酯/己烷)纯化。将级分合并并减压浓缩,得到中间体R2(非对映体混合物)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz,氯仿-d) $\delta$  8.25(d,J=9.1Hz,2H),7.51-7.32(m,4H),7.32-7.15(m,3H),4.14(m,3H),3.93(m,1H),1.62(m,2H),1.44(m,3H),1.39-1.20(m,6H),0.99-0.82(m,3H)。 $^{31}\text{P NMR}$ (162MHz,氯仿-d) $\delta$ -3.03(s),-3.08(s)。

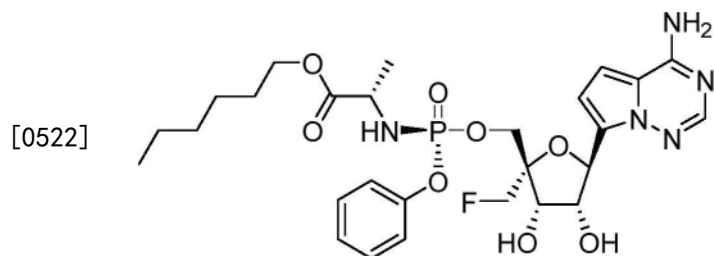


[0519] (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸己酯。在室温下将四氢呋喃(1mL)添加到中间体4(100mg,0.296mmol)、中间体R2(173mg,0.384mmol)和氯化镁(42mg,

0.443mmol)的混合物中。将混合物加热至50℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.129mL,0.739mmol)。在50℃下搅拌3小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并将所得混合物用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈(7mL)中,并在0℃下滴加浓盐酸水溶液(0.246mL)。在0℃下2小时后,在0℃下将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)和水(20mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.83(s,0.24H),7.83(s,0.76H),7.72(bs,2H),7.41-7.33(m,2H),7.26-7.14(m,3H),6.88-6.82(m,1H),6.70(d,J=4.5Hz,0.26H),6.68(d,J=4.5Hz,0.74H),6.13-5.99(m,1H),5.37-5.06(m,3H),4.74-4.44(m,3H),4.25-4.11(m,1H),4.06-3.93(m,4H),3.90-3.76(m,1H),1.58-1.44(m,2H),1.34-1.11(m,9H),0.87-0.74(m,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ -236.47(t,J=48.1Hz),-236.76(t,J=48.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 3.55,3.47。LCMS:MS m/z=610.16[M+1],t<sub>R</sub>=1.35min(次要异构体)和1.37min(主要异构体);LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ mXB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ L/min。HPLC:t<sub>R</sub>=3.02min(次要异构体)和3.06min(主要异构体);HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ mC18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC:t<sub>R</sub>=5.16min(次要异构体)和5.23min(主要异构体);HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$ m 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0520] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(Chiralpak AD-H 5 $\mu$ m,21X250mm;30%甲醇)将非对映体彼此分离,得到实施例18和实施例19。

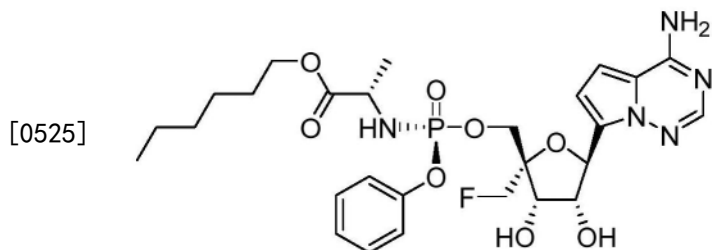
[0521] 实施例18。(R)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸己酯



[0523] 实施例17的第一洗脱非对映体:<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.83(s,1H),7.36-7.28(m,2H),7.23-7.09(m,3H),6.88(d,J=4.6Hz,1H),6.69(d,J=4.5Hz,1H),5.99(dd,J=13.0,10.1Hz,1H),5.22(d,J=8.6Hz,1H),4.69-4.57(m,1H),4.54-4.42(m,2H),4.17(d,J=5.2Hz,1H),4.03-3.90(m,4H),3.84-3.69(m,1H),1.53-1.40(m,2H),1.30-1.05(m,9H),0.82-0.73(m,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ -236.46(t,J=48.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,

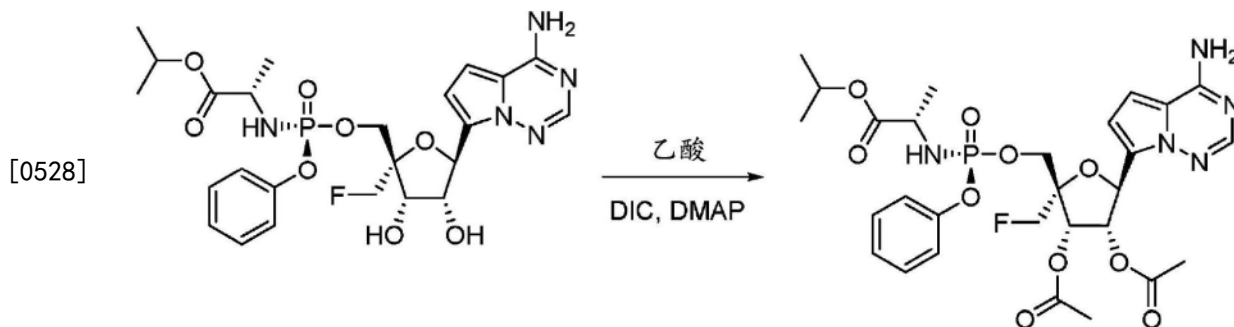
DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 3.54。LCMS:MS  $m/z=610.16[M+1]$ ,  $t_R=1.35\text{min}$ ;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ L/min。HPLC: $t_R=3.02\text{min}$ ;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC: $t_R=5.16\text{min}$ ;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0524] 实施例19. ((S) - (((2R, 3S, 4R, 5S) - 5- (4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基) - 2- (氟甲基) - 3,4-二羟基四氢呋喃-2-基) 甲氧基) (苯氧基) 磷酰基) -L-丙氨酸己酯



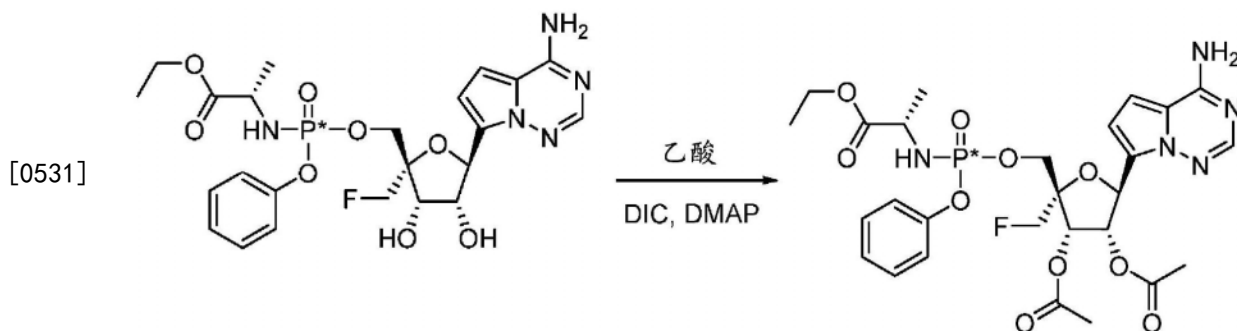
[0526] 实施例17的第二洗脱非对映体: $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 7.83 (s, 1H) , 7.73 (bs, 2H) , 7.45-7.27 (m, 2H) , 7.29-7.10 (m, 3H) , 6.86 (d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H) , 6.68 (d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H) , 6.06 (dd,  $J=13.2, 10.1\text{Hz}$ , 1H) , 5.28-5.19 (m, 2H) , 5.18-5.09 (m, 1H) , 4.70-4.57 (m, 1H) , 4.58-4.45 (m, 2H) , 4.23-4.17 (m, 1H) , 4.05-3.95 (m, 4H) , 3.88-3.79 (m, 1H) , 1.57-1.48 (m, 2H) , 1.30-1.18 (m, 9H) , 0.85-0.80 (m, 3H)。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ -236.75 (t,  $J=48.1\text{Hz}$ )。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 3.47。LCMS:MS  $m/z=610.16[M+1]$ ,  $t_R=1.37\text{min}$ ;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ l/min。HPLC: $t_R=3.06\text{min}$ ;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC: $t_R=5.23\text{min}$ ;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0527] 实施例20. (2R, 3S, 4S, 5S) - 5- (4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基) - 2- (氟甲基) - 2- (((S) - (((S) - 1-异丙氧基-1-氧代丙-2-基) 氨基) (苯氧基) 磷酰基) 氧基) 甲基) 四氢呋喃-3,4-二基二乙酸酯



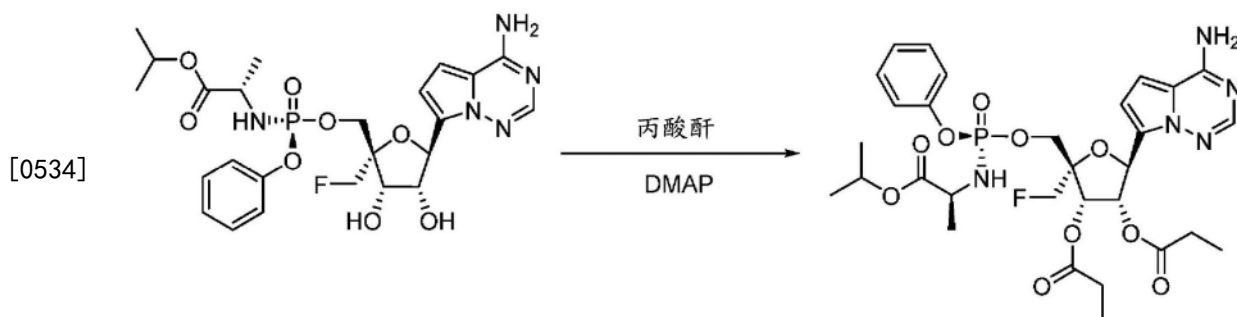
[0529] 在氩气下将N,N'-二异丙基碳二亚胺 (56mg, 0.44mmol) 和乙酸 (26mg, 0.44mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (2.0mL) 中, 并将混合物在室温下搅拌30分钟。添加实施例12 (50mg, 0.09mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (11mg, 0.09mmol), 并在室温下搅拌反应混合物。2小时后, 添加甲醇 (0.5mL), 并将混合物搅拌20分钟, 然后用乙酸乙酯 (10mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL) 洗涤两次, 并用盐水 (10mL) 洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱) 使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.86 (s, 1H), 7.80 (bs, 2H), 7.41-7.32 (m, 2H), 7.28-7.11 (m, 3H), 6.83 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.66 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.13 (dd, J=13.2, 10.1Hz, 1H), 5.75 (dd, J=8.7, 5.5Hz, 1H), 5.67 (d, J=5.4Hz, 1H), 5.53 (d, J=8.7Hz, 1H), 4.86 (hept, J=6.2Hz, 1H), 4.73-4.61 (m, 1H), 4.61-4.49 (m, 1H), 4.21-4.07 (m, 2H), 3.89-3.71 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.21 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.15 (dd, J=6.2, 2.8Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -234.62 (t, J=46.9Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.49。LCMS: MS m/z=652.41 [M+1], t<sub>R</sub>=1.38min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2 $\mu$ L/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.98min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%TFA的乙腈, 含0.1%TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98%ACN, 5.0min-6.0min 98%ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=5.03min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0530] 实施例21. (2R, 3S, 4S, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((S)-1-乙氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基二乙酸酯



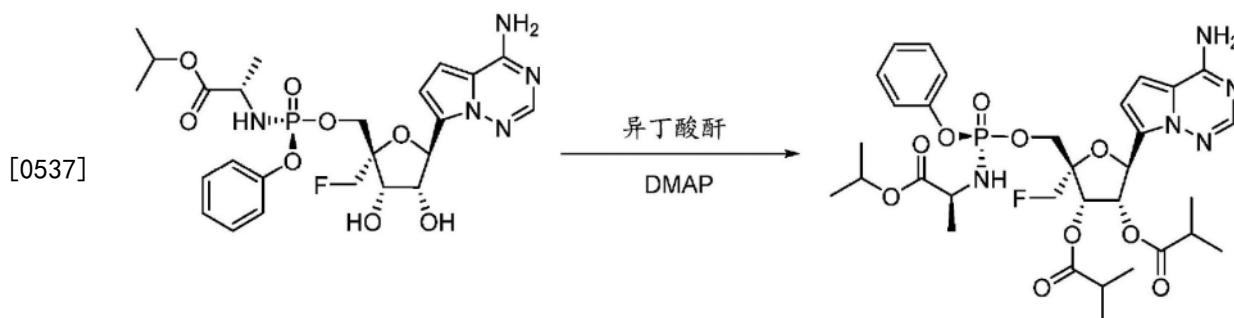
[0532] 在氩气下将N,N'-二异丙基碳二亚胺 (57mg, 0.45mmol) 和乙酸 (27mg, 0.45mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (2.0mL) 中, 并将混合物在室温下搅拌30分钟。添加实施例13 (50mg, 0.09mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (11mg, 0.09mmol), 并在室温下搅拌反应混合物。2小时后, 添加甲醇 (0.5mL), 并将混合物搅拌20分钟, 然后用乙酸乙酯 (10mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL) 洗涤两次, 并用盐水 (10mL) 洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱) 使用 10-100% 乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.86 (s, 1H), 7.80 (bs, 2H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.25-7.16 (m, 3H), 6.83 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.66 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.16 (dd, J=13.3, 10.1Hz, 1H), 5.75 (dd, J=8.7, 5.5Hz, 1H), 5.67 (d, J=5.4Hz, 1H), 5.53 (d, J=8.7Hz, 1H), 4.74-4.44 (m, 2H), 4.21-4.09 (m, 2H), 4.05-3.97 (m, 2H), 3.91-3.75 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.22 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.14 (t, J=7.1Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -234.59 (t, J=46.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.44。LCMS: MS m/z=638.26 [M+1], t<sub>R</sub>=1.32min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2 $\mu$ L/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.84min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1% TFA的乙腈, 含0.1% TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98% ACN, 5.0min-6.0min 98% ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=4.78min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0533] 实施例22. (2R, 3S, 4S, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二丙酸酯



[0535] 在氩气下将实施例12 (50mg, 0.09mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (2.0mL) 中。添加丙酸酐 (24mg, 0.19mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (1mg, 0.01mmol), 并在室温下搅拌反应混合物。30分钟后, 将反应混合物用乙酸乙酯 (10mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL) 洗涤两次, 并用盐水 (10mL) 洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x 30mm柱) 使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.85 (s, 1H), 7.80 (bs, 2H), 7.41-7.32 (m, 2H), 7.28-7.13 (m, 3H), 6.83 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.66 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.13 (dd, J=13.2, 10.1Hz, 1H), 5.78 (dd, J=8.5, 5.5Hz, 1H), 5.69 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.53 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.96-4.76 (m, 1H), 4.73-4.62 (m, 1H), 4.62-4.47 (m, 1H), 4.26-4.05 (m, 2H), 3.91-3.68 (m, 1H), 2.46-2.37 (m, 2H), 2.31-2.00 (m, 2H), 1.21 (d, J=7.1Hz, 3H), 1.14 (dd, J=6.2, 2.4Hz, 6H), 1.07 (t, J=7.5Hz, 3H), 0.93 (t, J=7.5Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -234.55 (t, J=46.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.50。LCMS: MS m/z=680.51 [M+1], t<sub>R</sub>=1.48min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2 $\mu$ l/min。HPLC: t<sub>R</sub>=3.23min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%TFA的乙腈, 含0.1%TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98%ACN, 5.0min-6.0min 98%ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=5.50min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

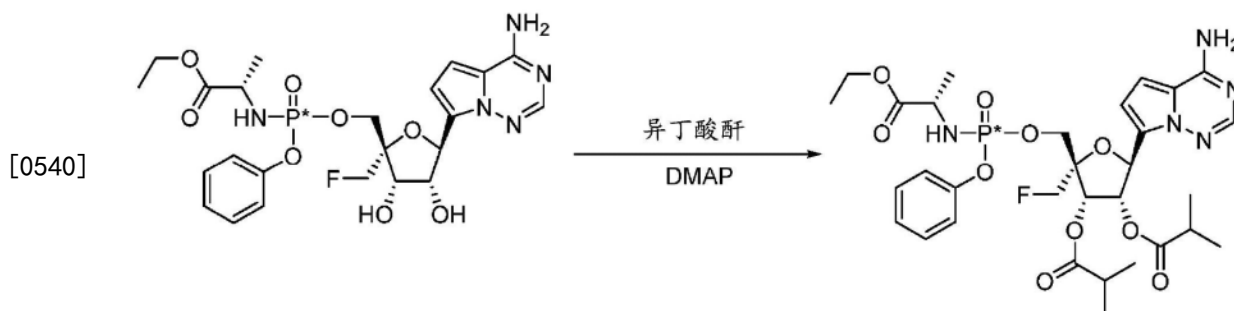
[0536] 实施例23. (2R, 3S, 4S, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-(((S)-((S)-1-异丙氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0538] 在氩气下将实施例12 (50mg, 0.09mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (2.0mL) 中。添加异丁酸酐 (29mg, 0.19mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (1mg, 0.01mmol), 并在室温下搅拌反应混合物。4小时后, 将反应混合物用乙酸乙酯 (10mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL) 洗涤两次, 并用盐水 (10mL) 洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱) 使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.85 (s, 1H), 7.78 (bs, 2H), 7.41-7.31 (m, 2H), 7.26-7.13 (m, 3H), 6.82 (d, J=4.5Hz, 1H),

6.64(d, J=4.5Hz, 1H), 6.13(dd, J=13.2, 10.0Hz, 1H), 5.75(dd, J=8.3, 5.4Hz, 1H), 5.69(d, J=5.5Hz, 1H), 5.53(d, J=8.3Hz, 1H), 4.86(hept, J=6.3Hz, 1H), 4.74-4.63(m, 1H), 4.63-4.51(m, 1H), 4.23-4.06(m, 2H), 3.90-3.70(m, 1H), 2.73-2.58(m, 1H), 2.41(hept, J=7.0Hz, 1H), 1.21(d, J=7.1Hz, 3H), 1.17-1.10(m, 12H), 0.95(dd, J=17.5, 7.0Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -234.04(t, J=46.7Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.53。LCMS: MS m/z = 708.42 [M+1], t<sub>R</sub> = 1.61min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2μl/min。HPLC: t<sub>R</sub> = 3.46min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5μC18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1% TFA的乙腈, 含0.1% TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98% ACN, 5.0min-6.0min 98% ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub> = 5.92min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

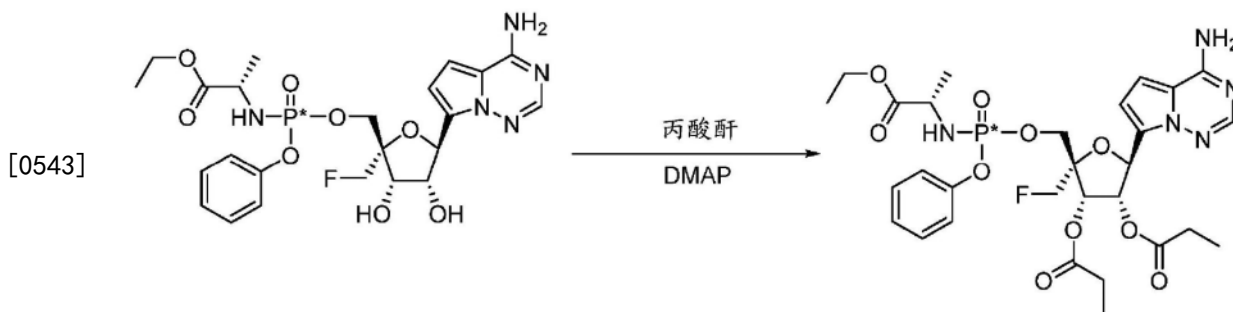
[0539] 实施例24. (2R, 3S, 4S, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((S)-1-乙氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0541] 在氩气下将实施例13(50mg, 0.09mmol)溶解于无水四氢呋喃(2.0mL)中。添加异丁酸酐(30mg, 0.19mmol)和4-二甲基氨基吡啶(1mg, 0.01mmol), 并在室温下搅拌反应混合物。4小时后, 将反应混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次, 并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5μm C18 110Å 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.85(s, 1H), 7.79(bs, 2H), 7.40-7.32(m, 2H), 7.26-7.14(m, 3H), 6.82(d, J=4.5Hz, 1H), 6.64(d, J=4.5Hz, 1H), 6.16(dd, J=13.3, 10.1Hz, 1H), 5.75(dd, J=8.4, 5.5Hz, 1H), 5.69(d, J=5.5Hz, 1H), 5.53(d, J=8.3Hz, 1H), 4.77-4.65(m, 1H), 4.62-4.51(m, 1H), 4.21-4.12(m, 2H), 4.10-3.96(m, 2H), 3.95-3.73(m, 1H), 2.65(hept, J=7.0Hz, 1H), 2.41(hept, J=7.0Hz, 1H), 1.22(d, J=7.0Hz, 3H), 1.18-1.03(m, 9H), 0.96(dd, J=17.6, 7.0Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -234.01(t, J=46.7Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.49。LCMS: MS m/z = 694.42 [M+1], t<sub>R</sub> = 1.55min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min

100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ l/min。HPLC: $t_R$ =3.34min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC: $t_R$ =5.70min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0542] 实施例25. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((((S)-1-乙氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基二丙酸酯

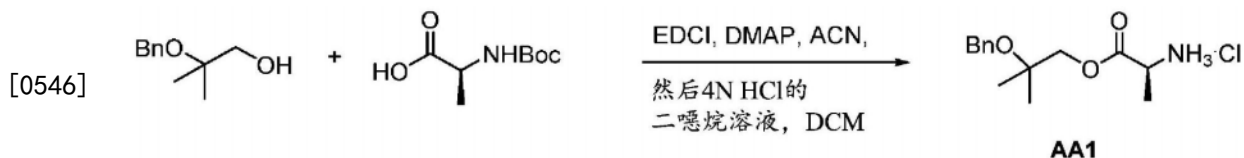


[0544] 在氩气下将实施例13(50mg,0.09mmol)溶解于无水四氢呋喃(2.0mL)中。添加丙酸酐(25mg,0.19mmol)和4-二甲基氨基吡啶(1mg,0.01mmol),并在室温下搅拌反应混合物。30分钟后,将反应混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 7.85(s,1H),7.79(bs,2H),7.41-7.31(m,2H),7.27-7.14(m,3H),6.83(d,J=4.5Hz,1H),6.66(d,J=4.5Hz,1H),6.16(dd,J=13.3,10.1Hz,1H),5.78(dd,J=8.6,5.5Hz,1H),5.69(d,J=5.5Hz,1H),5.53(d,J=8.5Hz,1H),4.73-4.62(m,1H),4.61-4.49(m,1H),4.21-4.11(m,2H),4.09-3.98(m,2H),3.91-3.74(m,1H),2.46-2.37(m,2H),2.29-2.12(m,2H),1.22(d,J=7.0Hz,3H),1.14(t,J=7.1Hz,3H),1.07(t,J=7.5Hz,3H),0.93(t,J=7.5Hz,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ -234.52(t,J=46.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 3.45。LCMS:MS m/z=666.35[M+1], $t_R$ =1.43min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ l/min。HPLC: $t_R$ =3.11min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。HPLC: $t_R$ =5.27min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

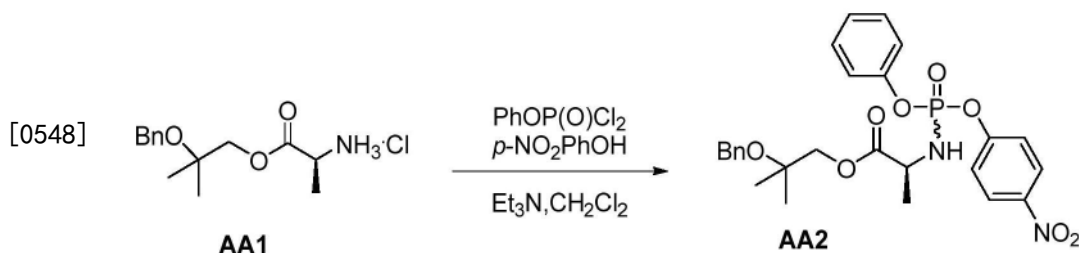
[0545] 实施例26. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-羟基-2-甲基



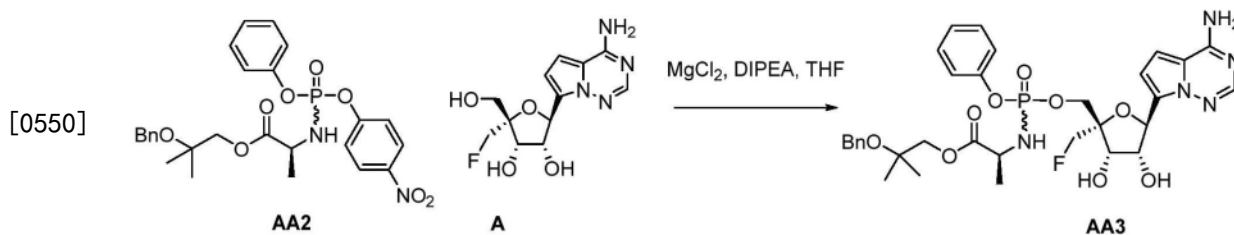
## 丙酯



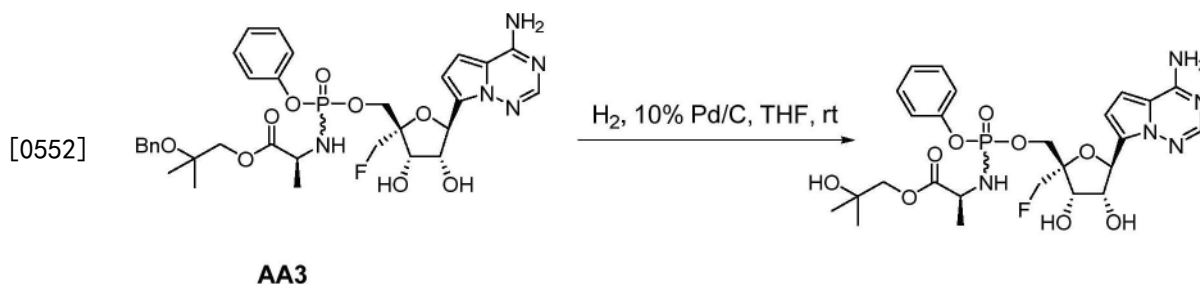
[0547] (S)-1-(2-(苄氧基)-2-甲基丙氧基)-1-氧代丙-2-氯化铵。向Boc-L-丙氨酸(1.26g, 6.66mmol)、2-苄氧基-2-甲基丙醇(1.0g, 5.55mmol)和EDCI(1.12g, 7.21mmol)在乙腈(20mL)中的混合物中添加DMAP(2.04g, 8.32mmol)。然后将混合物在室温下搅拌2小时,然后用EtOAc稀释,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并真空浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法(EtOAc 0至60%的己烷溶液)纯化,得到Boc-L-丙氨酸丙酯,将其溶解于DCM(10mL)中,并在室温下添加4N HCl的二噁烷溶液(5.5mL, 22.19mmol)。将所得混合物在室温下搅拌2小时,真空浓缩,再溶解于ACN(10mL)中,冻干过夜,得到中间体AA1并用于下一反应。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d)  $\delta$  8.82(s, 3H), 7.42-7.07(m, 5H), 4.44(s, 2H), 4.24(m, 2H), 4.08(d, J=11.2Hz, 1H), 1.70(d, J=7.0Hz, 3H), 1.28(d, J=2.4Hz, 6H)。LCMS m/z=251.97[游离碱M+1],  $t_R$ =0.85min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ B-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。



[0549] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-(苄氧基)-2-甲基丙酯。在-78℃下向中间体AA1(832mg, 2.89mmol)在DCM(20mL)中的溶液中一次性添加二氯磷酸苯酯(0.43mL, 2.89mmol),并且在-78℃下在5分钟内滴加三乙胺(0.80mL, 5.76mmol)。在移除干冰浴后,将所得混合物搅拌30分钟并冷却至-78℃,并且一次性添加对硝基苯酚(402mg, 2.89mmol),并在-78℃下在5分钟内添加三乙胺(0.40mL, 2.89mmol)。在移除干冰浴后,将所得混合物搅拌50分钟,然后用DCM稀释,用盐水洗涤,真空浓缩,并将所得残余物通过硅胶柱色谱法(EtOAc 0至60%的己烷溶液)纯化,得到中间体AA2(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d)  $\delta$  8.25-8.12(m, 2H), 7.41-7.14(m, 12H), 4.45(m, 2H), 4.31-4.12(m, 2H), 4.07(m, 1H), 3.89(m, 1H), 1.41(m, 3H), 1.27(m, 6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, 氯仿-d)  $\delta$  -3.10, -3.18。LCMS m/z=528.78[M+1],  $t_R$ =1.70min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ B-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。



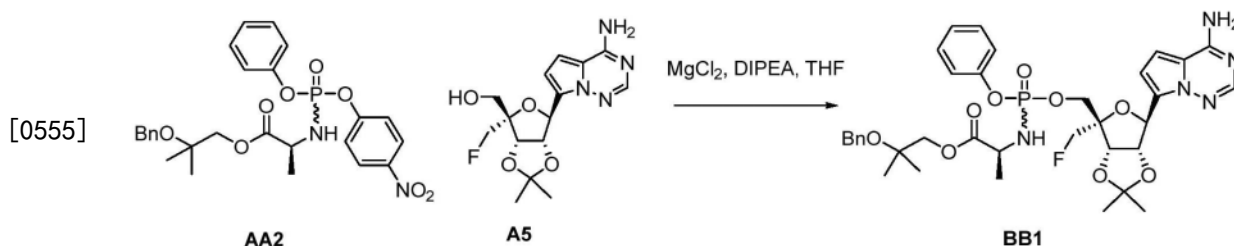
[0551] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-(苄氧基)-2-甲基丙酯。在室温下向中间体5 (0.04g, 0.134mmol)、中间体AA2 (0.081g, 0.153mmol) 和氯化镁 (0.064g, 0.671mmol) 的混合物中添加N,N-二甲基甲酰胺 (2mL), 然后添加N,N-二异丙基乙胺 (0.07mL, 0.402mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌3小时。然后将反应混合物通过制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 0-100%乙腈/水) 纯化, 得到中间体AA3。LCMS: MS  $m/z = 688.18 [M+1]$ ,  $t_R = 1.20\text{min}$  (主要异构体) 和  $1.22\text{min}$  (次要异构体); LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu\text{m}$ -C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。



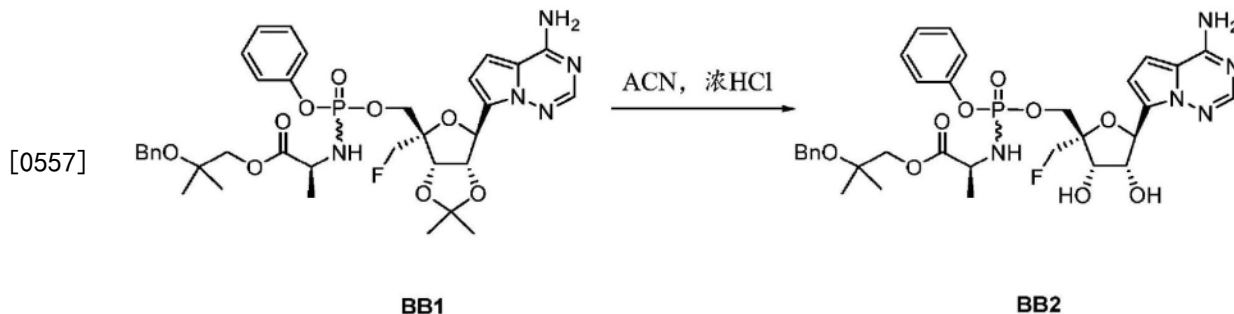
[0553] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-羟基-2-甲基丙酯。向中间体AA3 (14mg, 0.02mmol) 在THF (2mL) 中的溶液中添加10%Pd/C (11mg, 0.01mmol)。将所得混合物在室温下在H<sub>2</sub>气下搅拌15小时并过滤。将滤液真空浓缩, 溶解于ACN中, 并通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini-NX 10u C18 110Å 250x30mm柱, ACN 10%至100%水溶液) 纯化, 得到产物, 为非对映体混合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.79 (s, 1H), 7.39-7.27 (m, 2H), 7.28-7.13 (m, 3H), 6.85 (dd,  $J = 6.9, 4.5\text{Hz}$ , 1H), 6.74 (dd,  $J = 11.1, 4.5\text{Hz}$ , 1H), 5.36 (dd,  $J = 8.3, 5.9\text{Hz}$ , 1H), 4.83-4.68 (m, 1H), 4.73-4.64 (m, 1H), 4.69-4.56 (m, 1H), 4.36 (dd,  $J = 16.6, 5.2\text{Hz}$ , 1H), 4.30-4.15 (m, 2H), 4.05-3.92 (m, 1H), 3.96-3.86 (m, 2H), 1.32 (ddd,  $J = 19.2, 7.2, 1.1\text{Hz}$ , 3H), 1.18-1.19 (m, 6H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.78, 3.54。 <sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) -238.51--238.97 (m)。LCMS: MS  $m/z = 598.05 [M+1]$ ,  $t_R = 0.94\text{min}$ ; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu\text{m}$ -C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。HPLC:  $t_R = 3.697\text{min}$  (主要异构体), 3.734min (次要异构体); HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu\text{m}$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%

TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0554] 实施例27. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-((((S)-1-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)

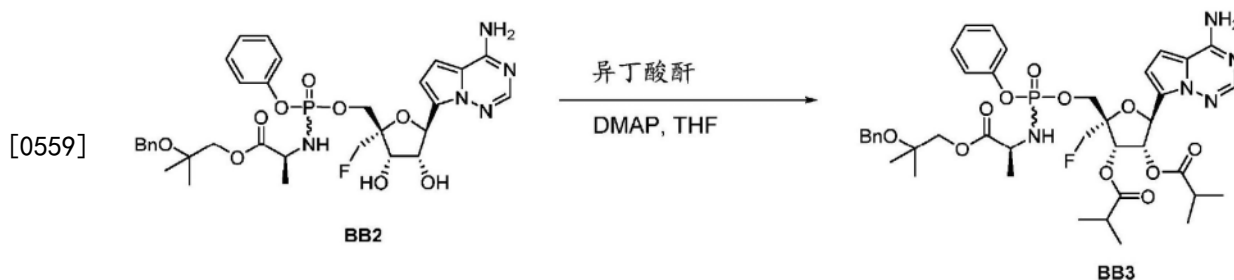


[0556] (((3aS,4R,6S,6aS)-6-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-4-(氟甲基)-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-(苄氧基)-2-甲基丙酯。在室温下向中间体4(0.2g,0.591mmol)、中间体AA2(0.375g,0.709mmol)和氯化镁(0.112g,1.182mmol)的混合物中添加四氢呋喃(2.5mL),然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.258mL,1.478mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌2小时。然后将反应混合物用EtOAc稀释,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并真空浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法(EtOAc 0至100%的己烷溶液)纯化,得到中间体BB1(非对映体混合物)。LCMS: MS  $m/z = 728.18 [M+1]$ ,  $t_R = 1.39\text{min}$ (次要异构体)和1.42min(主要异构体);LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800 $\mu$ L/min。

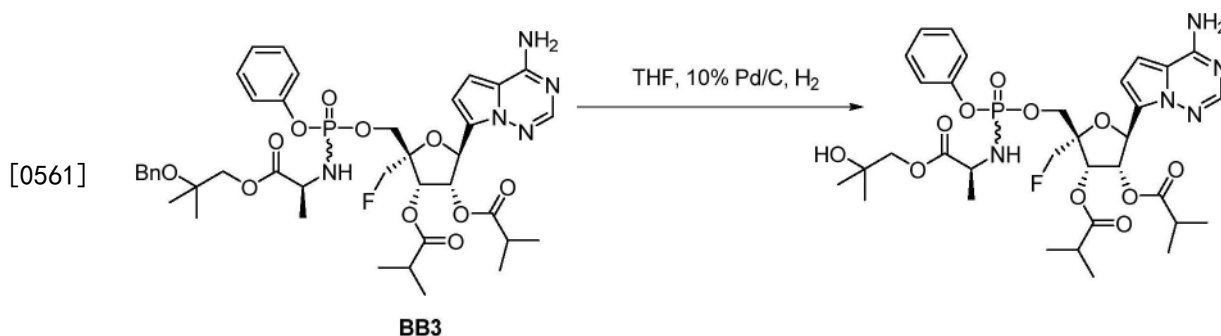


[0558] (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-(苄氧基)-2-甲基丙酯。向中间体BB1(0.35g,0.481mmol)在乙腈(14mL)中的冰冷溶液中滴加浓盐酸(0.35mL,9.6mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌4小时。然后将反应混合物用冰稀释并用饱和碳酸氢钠水溶液中和。将反应混合物用乙酸乙酯萃取,并将有机层分离,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法(0-20%甲醇/二氯甲烷)纯化,得到中间体BB2(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 7.78(d,J=1.1Hz,1H),7.38-7.12(m,10H),6.88-6.81(m,1H),6.74(dd,J=8.3,4.5Hz,1H),5.36(dd,J=8.3,6.6Hz,1H),4.82-4.67(m,1H),4.71-4.63(m,1H),4.67-4.55(m,1H),4.45(d,J=4.8Hz,2H),4.34(dd,J=16.4,5.2Hz,1H),4.29-4.12(m,3H),4.10-3.90(m,2H),1.35-1.21(m,9H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ -238.39--238.76(m)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 3.69,3.49。LCMS:MS  $m/z = 688.10 [M+1]$ ;  $t_R = 1.20\text{min}$ ;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:

Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ B-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。



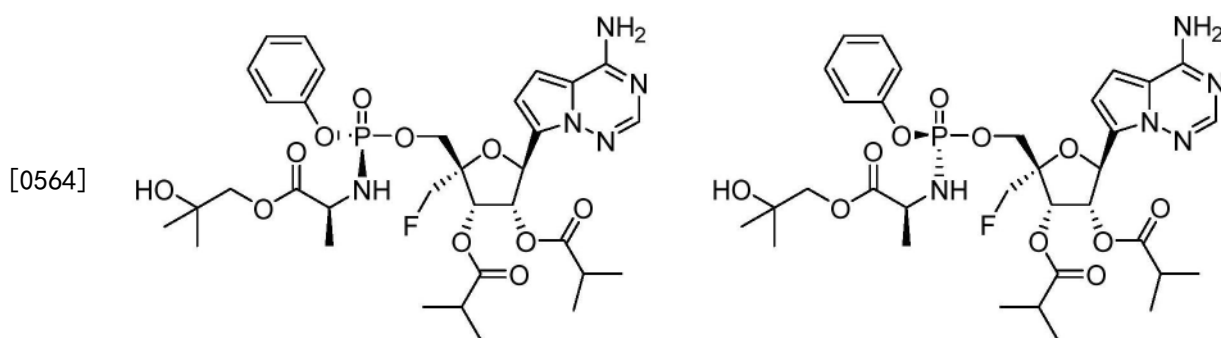
[0560] (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((((S)-1-(2-(苄氧基)-2-甲基丙氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)-氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)。在室温下向中间体BB2(0.05g, 0.073mmol)在THF(2mL)中的溶液中添加异丁酸酐(0.072mL, 0.436mmol), 然后添加DMAP(1.3mg, 0.011mmol)。将所得混合物搅拌30分钟, 用LCMS监测, 将反应混合物用甲醇淬灭并浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法(0-15%甲醇/二氯甲烷)纯化, 得到中间体BB3(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 7.79(d, J=4.1Hz, 1H), 7.36-7.12(m, 10H), 6.87-6.73(m, 1H), 6.60(d, J=4.6Hz, 1H), 5.87-5.76(m, 2H), 5.59(dd, J=7.8, 4.4Hz, 1H), 4.76-4.63(m, 1H), 4.65-4.51(m, 1H), 4.46(d, J=1.4Hz, 2H), 4.35(dt, J=9.1, 2.8Hz, 1H), 4.26(ddd, J=10.7, 5.4, 2.1Hz, 1H), 4.18(dd, J=11.5, 2.7Hz, 1H), 4.13-3.93(m, 2H), 2.73-2.59(m, 1H), 2.53-2.39(m, 1H), 1.34(dd, J=7.1, 1.1Hz, 2H), 1.31-1.18(m, 13H), 1.01-1.09(m, 6H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ -235.36(t, J=47.0Hz), -235.91(t, J=47.0Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 3.45, 3.33。LCMS: MS m/z=828.21[M+1]; t<sub>R</sub>=1.60min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ B-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。



[0562] (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-((((((S)-1-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)。向中间体BB3(40mg, 0.048mmol)在THF(2mL)中的溶液中添加10%Pd/C(26mg, 0.024mmol)。将所得混合物在室温下在H<sub>2</sub>气下搅拌15小时并过滤。将滤液浓缩, 并将获得的残余物通过硅胶色谱法(0-15%甲醇/二氯甲烷)纯化, 得到产物(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 7.79(d, J=4.2Hz, 1H), 7.35-7.29(m, 2H), 7.27-7.15(m, 3H), 6.79(d, J=4.6Hz, 1H), 6.62(d, J=4.6Hz, 1H), 5.86-5.76(m, 2H), 5.60-

5.56 (m, 1H), 4.76-4.53 (m, 2H), 4.37-4.21 (m, 2H), 4.07-3.88 (m, 3H), 2.67 (p, J=6.9Hz, 1H), 2.53-2.38 (m, 1H), 1.40-1.25 (m, 3H), 1.25-1.16 (m, 12H), 1.01-1.09 (m, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-235.56 (t, J=46.9Hz), -235.96 (t, J=46.9Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.50, 3.45。LCMS:MS m/z=738.17[M+1]; t<sub>R</sub>=1.29min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μl/min。HPLC: t<sub>R</sub>=5.31min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0563] S<sub>p</sub>和R<sub>p</sub>非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(SFC Chiralpak AD-H 5μm, 21X250mm; 30%异丙醇)将非对映体彼此分离。

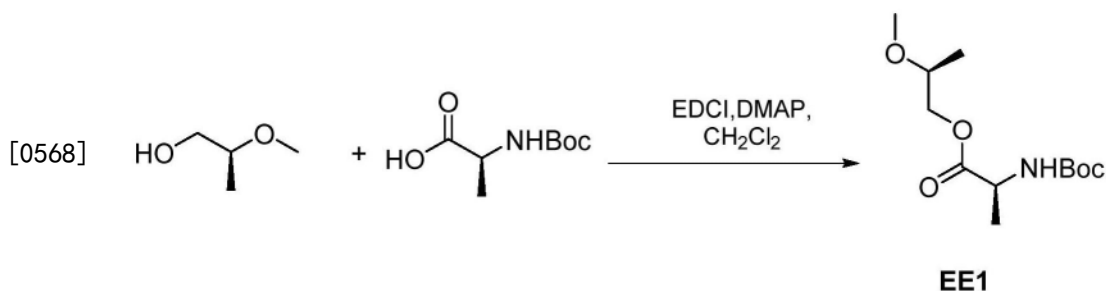


[0565] 实施例28. 实施例27的第一洗脱非对映体: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.80 (s, 1H), 7.36-7.27 (m, 2H), 7.25-7.12 (m, 3H), 6.85 (d, J=4.6Hz, 1H), 6.76 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.92 (dd, J=7.6, 5.6Hz, 1H), 5.84 (d, J=5.6Hz, 1H), 5.59 (d, J=7.5Hz, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 4.34 (d, J=4.5Hz, 2H), 4.04-3.87 (m, 3H), 2.73-2.58 (m, 1H), 2.48 (p, J=7.0Hz, 1H), 1.30 (dd, J=7.2, 1.2Hz, 3H), 1.25-1.16 (m, 12H), 1.03-1.10m, (6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-235.93 (t, J=47.0Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.49。LCMS:MS m/z=738.16 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.31min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=5.282min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

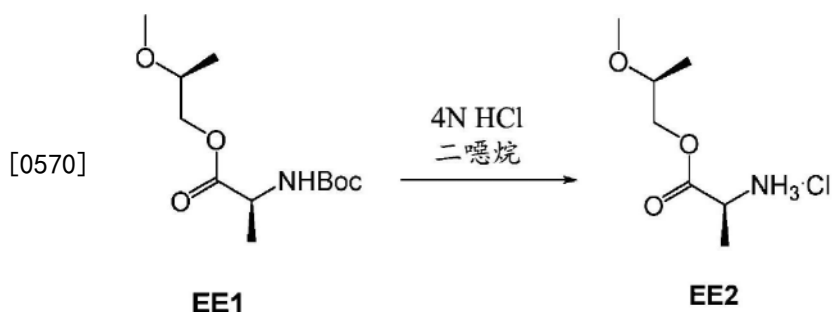
[0566] 实施例29. 实施例27的第二洗脱非对映体: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.79 (s, 1H), 7.37-7.28 (m, 2H), 7.25 (dt, J=8.7, 1.2Hz, 2H), 7.18-7.20 (m, 1H), 6.79 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.62 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.88-5.77 (m, 2H), 5.59 (d, J=7.8Hz, 1H), 4.78-4.65 (m, 1H), 4.66-4.53 (m, 1H), 4.34 (ddd, J=10.8, 4.8, 1.8Hz, 1H), 4.27 (ddd, J=10.7, 5.6, 2.1Hz, 1H), 4.09-3.92 (m, 2H), 3.91 (d, J=10.9Hz, 1H), 2.67 (hept, J=7.0Hz, 1H), 2.46 (hept, J=7.1Hz, 1H), 1.37 (dd, J=7.1, 1.0Hz, 3H), 1.26-1.10 (m, 12H), 1.02-1.08 (m, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-235.54 (t, J=46.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.44。LCMS:MS m/z=738.17[M+1]; t<sub>R</sub>=1.30min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ

Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ B-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800 $\mu$ L/min。HPLC: $t_R$ =5.277min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

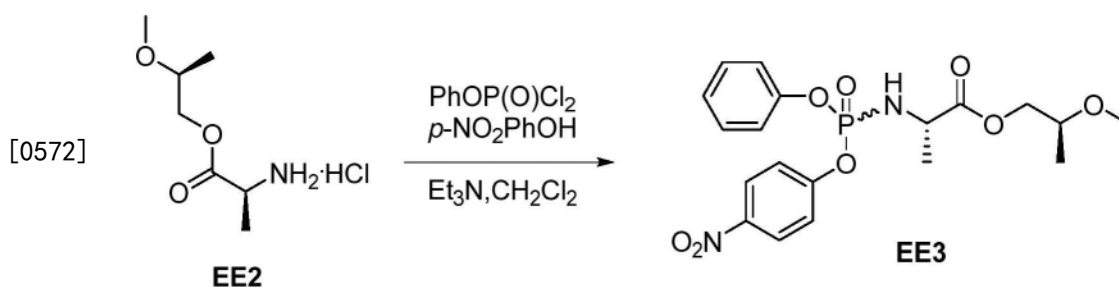
[0567] 实施例30. (S)-((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯



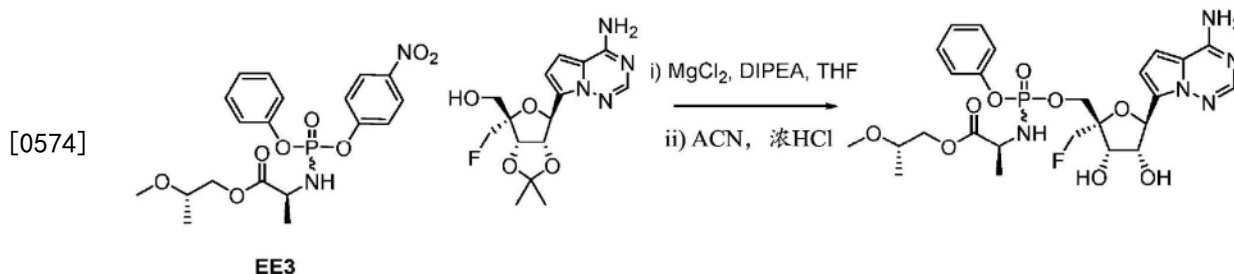
[0569] (S)-叔丁氧基羰基-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯。将叔丁氧基羰基-L-丙氨酸(2.519g,0.013mol)溶解在乙腈(12mL)中,并一次性添加(S)-2-甲氧基丙-1-醇(1g,0.011mol),然后添加EDCI(2.239g,0.014mol)和DMAP(2.033g,0.017mol)。将反应在室温下搅拌4小时。将反应用二氯甲烷和水稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,然后减压浓缩。通过硅胶色谱法用0-30%乙酸乙酯/己烷进行纯化,得到中间体EE1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.31(d,J=7.4Hz,1H),4.10-3.92(m,3H),3.50(td,J=6.3,4.2Hz,1H),3.26(s,3H),1.38(s,9H),1.25(d,J=7.4Hz,3H),1.07(d,J=6.4Hz,3H)。



[0571] (S)-2-甲氧基丙基-L-丙氨酸酯盐酸盐。将中间体EE1(2.165g,0.008mol)溶解在无水二氯甲烷(22mL)和4N HCl的二噁烷溶液(10.36mL,0.041mol)中。将反应在环境温度下搅拌4小时。将反应减压浓缩并与二氯甲烷共蒸发。将残余物置于高真空下过夜,并且中间体EE2无需纯化按原样用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.64(s,3H),4.17-3.99(m,3H),3.53(m,1H),3.24(s,3H),1.41(d,J=7.2Hz,3H),1.07(d,J=6.4Hz,3H)。



[0573] (S)-((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯。在0℃下在氩气氛下向中间体EE2 (1.5g, 7.589mmol) 和二氯磷酸苯酯 (1.129mL, 7.589mmol) 在无水二氯甲烷 (26mL) 中的溶液中添加三乙胺 (2.34mL, 16.66mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。然后添加4-硝基苯酚 (1.056g, 7.589mmol) 和三乙胺 (1.17mL, 8.33mmol)。在0℃下搅拌1小时后, 将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色谱发 (80g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱, 100%二氯甲烷, 然后是0-75%乙酸乙酯/己烷) 纯化, 得到中间体EE3 (非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.32-8.23 (m, 2H), 7.53-7.44 (m, 1H), 7.49-7.34 (m, 3H), 7.30-7.16 (m, 3H), 6.70 (ddd, J=13.6, 10.0, 7.9Hz, 1H), 4.08-3.89 (m, 3H), 3.48-3.36 (m, 1H), 3.19 (d, J=1.0Hz, 3H), 1.26-1.11 (m, 3H), 1.01 (dd, J=6.4, 1.5Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -1.26, -1.47。LCMS: MS m/z=438.99 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.43min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。

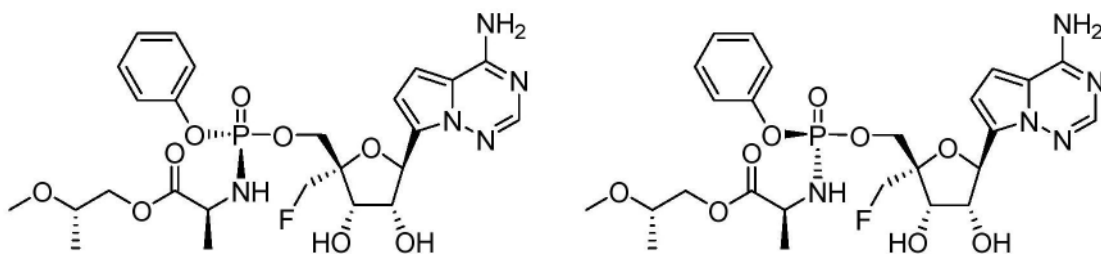


[0575] (S)-((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯。在室温下向中间体4 (0.15g, 0.443mmol)、中间体EE3 (0.214g, 0.488mmol) 和氯化镁 (0.063g, 0.665mmol) 的混合物中添加四氢呋喃 (1.5mL), 然后添加N,N-二异丙基乙胺 (0.193mL, 1.108mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩, 并将获得的残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 15%-85%乙腈/水) 纯化。将纯级分合并并减压浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈 (3mL) 中并在冰浴中冷却, 然后滴加浓盐酸 (0.2mL, 2.4mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。1小时后, 将反应混合物在冰浴中冷却并用冰稀释, 然后用碳酸氢钠水溶液中和。将所得混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 15%-85%乙腈/水梯度, 30分钟运行) 纯化, 得到产物 (非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.81 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.67 (s, 2H), 7.35 (dt, J=8.5, 6.9Hz, 2H), 7.24-7.11 (m, 3H), 6.83 (dd, J=

5.6, 4.5Hz, 1H), 6.67 (dd,  $J=8.0, 4.5$ Hz, 1H), 6.05 (td,  $J=13.9, 10.1$ Hz, 1H), 5.30-5.18 (m, 2H), 5.10 (dd,  $J=7.3, 2.6$ Hz, 1H), 4.67-4.55 (m, 1H), 4.50 (dd,  $J=14.2, 7.0$ Hz, 2H), 4.18 (q,  $J=5.2$ Hz, 1H), 3.96 (m, 4H), 3.83 (dd,  $J=10.5, 7.0$ Hz, 1H), 3.49-3.40 (m, 1H), 3.20 (d,  $J=2.0$ Hz, 3H), 1.20 (dd,  $J=15.3, 7.1$ Hz, 3H), 1.02 (dd,  $J=6.3, 3.8$ Hz, 3H)。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ -236.33--236.84 (m)。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 3.57, 3.44。LCMS:MS  $m/z=598.03$  [M+1];  $t_R=1.00$ min (次要异构体) 和 1.10min (主要异构体); LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min。HPLC:  $t_R=3.95$ min (次要异构体), 4.018min (主要异构体); HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为 2-98%B, 1.5mL/min。

[0576]  $S_p$ 和 $R_p$ 非对映体的拆分。通过手性制备型SFC (SFC Chiralpak AD-H 5 $\mu$ m, 21X250mm; 30%异丙醇) 将非对映体彼此分离。

[0577]



[0578] 实施例31. 实施例30的第一洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.78 (s, 1H), 7.33 (dd,  $J=8.5, 7.3$ Hz, 2H), 7.24-7.13 (m, 3H), 6.86 (d,  $J=4.6$ Hz, 1H), 6.75 (d,  $J=4.5$ Hz, 1H), 5.37 (d,  $J=8.2$ Hz, 1H), 4.82-4.71 (m, 1H), 4.71-4.59 (m, 2H), 4.38 (d,  $J=5.3$ Hz, 1H), 4.26 (dd,  $J=5.2, 1.7$ Hz, 2H), 4.07-3.99 (m, 2H), 3.98-3.85 (m, 1H), 3.58-3.49 (m, 1H), 3.32 (s, 3H), 1.26 (dd,  $J=7.2, 1.2$ Hz, 3H), 1.11 (d,  $J=6.4$ Hz, 3H)。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -238.62 (t,  $J=47.8$ Hz)。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.69。LCMS:MS  $m/z=597.94$  [M+1];  $t_R=1.11$ min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min。HPLC:  $t_R=3.939$ min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为 2-98%B, 1.5mL/min。

[0579] 实施例32. 实施例30的第二洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.79 (s, 1H), 7.39-7.29 (m, 2H), 7.27-7.14 (m, 3H), 6.85 (d,  $J=4.5$ Hz, 1H), 6.73 (d,  $J=4.6$ Hz, 1H), 5.36 (d,  $J=8.3$ Hz, 1H), 4.82-4.55 (m, 3H), 4.33 (d,  $J=5.2$ Hz, 1H), 4.21 (dt,  $J=5.8, 1.8$ Hz, 2H), 4.04 (d,  $J=5.0$ Hz, 2H), 3.93 (dq,  $J=9.8, 7.2$ Hz, 1H), 3.59-3.48 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 1.31 (dd,  $J=7.1, 1.0$ Hz, 3H), 1.10 (d,  $J=6.4$ Hz, 3H)。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -238.78 (t,  $J=47.8$ Hz)。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.44。LCMS:MS  $m/z=597.97$  [M+1];  $t_R=1.12$ min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6



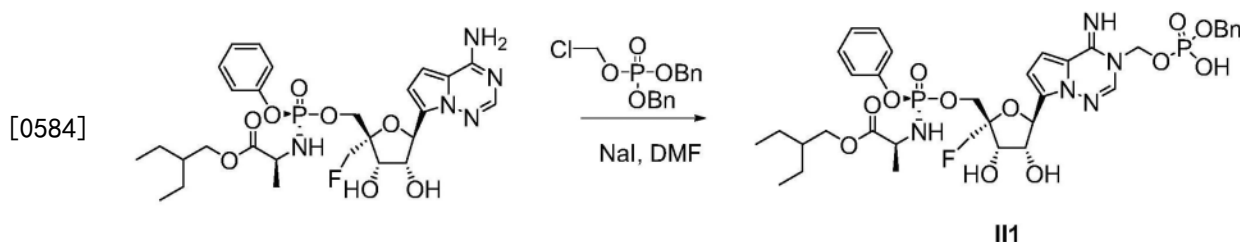
$\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$  = 4.005min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0580] 实施例33. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-((((((S)-1-甲氧基-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基二丙酸酯



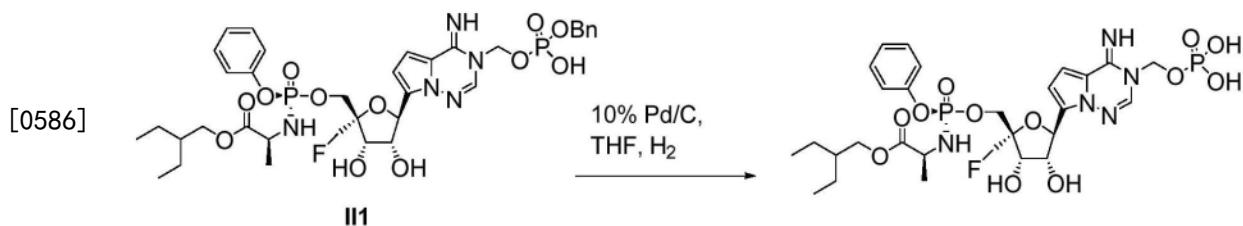
[0582] 在室温下向实施例10 (0.057g, 0.106mmol) 的THF (2mL) 溶液中添加丙酸酐 (0.041mL, 0.317mmol), 然后添加DMAP (2.58mg, 0.021mmol)。将所得混合物搅拌10分钟, 用LCMS监测, 将反应混合物用甲醇淬灭并用乙酸乙酯稀释。将有机层用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 分离, 经硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法 (0-15% 甲醇/二氯甲烷) 纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.79 (s, 1H), 7.38-7.29 (m, 2H), 7.33-7.21 (m, 2H), 7.23-7.14 (m, 1H), 6.79 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.62 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.91-5.78 (m, 2H), 5.58 (d, J=7.9Hz, 1H), 4.76-4.64 (m, 1H), 4.58 (q, J=10.0Hz, 1H), 4.37-4.28 (m, 1H), 4.25 (ddd, J=10.5, 5.5, 2.1Hz, 1H), 4.02-3.89 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.45 (qd, J=7.5, 1.0Hz, 2H), 2.26 (qd, J=7.6, 3.2Hz, 2H), 1.31 (dd, J=7.1, 1.0Hz, 3H), 1.16 (t, J=7.6Hz, 3H), 1.04 (t, J=7.5Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.37。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  -236.42 (t, J=46.6Hz)。LCMS: MS m/z = 652.09 [M+1];  $t_R$  = 1.23min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$  = 4.994min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0583] 实施例34. ((S)-((2R,3S,4R,5S)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基-5-(4-亚氨基-3-((磷酰基氧基)甲基)-3,4-二氢吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯



III

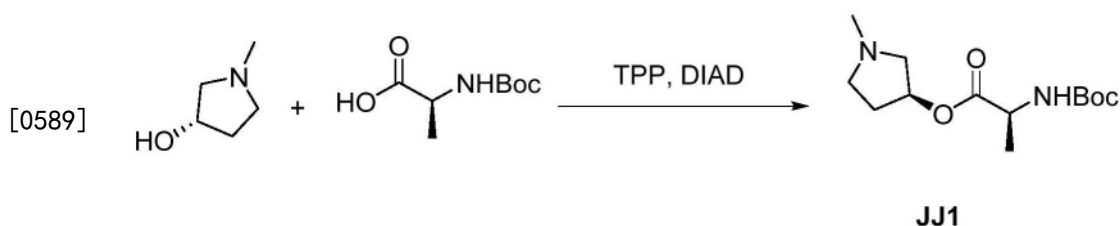
[0585] ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(3-(((苄氧基)(羟基)磷酰基)氧基)甲基)-4-亚氨基-3,4-二氢吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苄氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯。向实施例1 (0.125g, 0.205mmol) 在DMF (2.25mL) 中的溶液中添加磷酸二苄基氯甲酯和碘化钠。将反应混合物在室温下搅拌过夜, 并将所得反应混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm 柱, 0-100%乙腈/水) 纯化, 得到中间体II1。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.49 (s, 1H), 10.31 (d, J=10.5Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.45 (dd, J=4.8, 2.3Hz, 1H), 7.36 (t, J=7.9Hz, 2H), 7.26 (d, J=4.3Hz, 4H), 7.20 (dt, J=11.9, 6.6Hz, 4H), 6.91 (d, J=4.7Hz, 1H), 6.07 (dd, J=13.0, 10.1Hz, 1H), 5.64 (d, J=10.8Hz, 2H), 5.39 (d, J=4.7Hz, 1H), 5.29 (s, 1H), 5.20 (d, J=8.7Hz, 1H), 4.76 (d, J=6.9Hz, 2H), 4.68-4.58 (m, 1H), 4.59-4.48 (m, 1H), 4.40 (s, 1H), 4.19 (t, J=3.8Hz, 1H), 3.98 (ddd, J=19.0, 10.9, 5.6Hz, 3H), 3.93-3.79 (m, 2H), 1.43 (h, J=6.3Hz, 1H), 1.32-1.20 (m, 7H), 0.80 (t, J=7.4Hz, 6H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.59, 0.13。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -235.99 (t, J=47.6Hz)。LCMS: MS m/z=810.23 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.30min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。



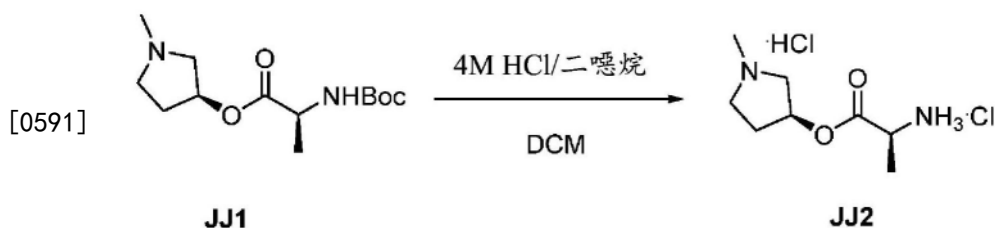
[0587] ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基-5-(4-亚氨基-3-((磷酰基氧基)甲基)-3,4-二氢吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苄氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯。向中间体II1 (47mg, 0.058mmol) 在THF (2mL) 中的溶液中添加10%Pd/C (6.17mg, 0.058mmol)。将所得混合物在室温下在H<sub>2</sub>气下搅拌1.5小时并过滤。将滤液浓缩, 并将获得的残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 含TFA改性剂的0-100%乙腈/水) 纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.33 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.48 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.40-7.30 (m, 2H), 7.24-7.13 (m, 3H), 6.90 (d, J=4.7Hz, 1H), 6.07 (dd, J=13.1, 10.1Hz, 1H), 5.67 (d, J=11.5Hz, 2H), 5.41 (s, 1H), 5.19 (d, J=8.7Hz, 1H), 4.63 (q, J=10.2Hz, 1H), 4.57-4.44 (m, 1H), 4.39 (dd, J=8.8, 4.9Hz, 1H), 4.18 (d, J=4.9Hz, 1H), 4.06-3.77 (m, 5H), 1.42 (h, J=6.2Hz, 1H), 1.33-1.19 (m, 7H), 0.80 (t, J=7.5Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -74.19 (s), -236.54 (t, J=47.9Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.59, 0.12。LCMS: MS m/z=720.16 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.21min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=4.854min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%

TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

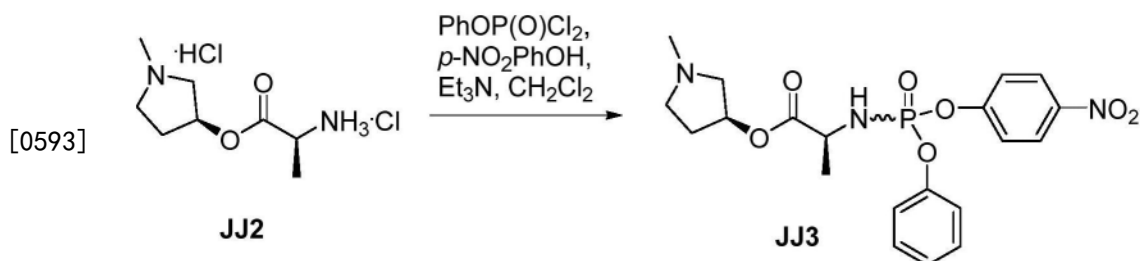
[0588] 实施例35. (R)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸1-甲基吡咯烷-3-基酯



[0590] (R)-((叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸1-甲基吡咯烷-3-基酯。向(S)-1-甲基吡咯烷-3-醇(1.0g,0.01mol)和(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(2.058g,0.011mol)在THF(20mL)中的溶液中一次性添加三苯基磷(3.63g,0.014mol)。向所得反应混合物中添加偶氮二甲酸二异丙酯(2.53mL,0.013mol),并将反应混合物在室温下搅拌2小时。将用反应EtOAc稀释并用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,然后用5%柠檬酸水溶液洗涤。将柠檬酸萃取物用EtOAc(2×)洗涤。将酸萃取物用2N NaOH水溶液碱化,得到pH为9,并用EtOAc(2×)萃取。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩,得到中间体JJ1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d)δ5.29-5.18(m,1H),5.02(s,1H),4.28(t,J=7.6Hz,1H),2.80(dd,J=9.6,5.4Hz,1H),2.69(d,J=3.6Hz,2H),2.42-2.19(m,5H),1.89-1.72(m,1H),1.43(s,9H),1.36(d,J=7.2Hz,3H)。

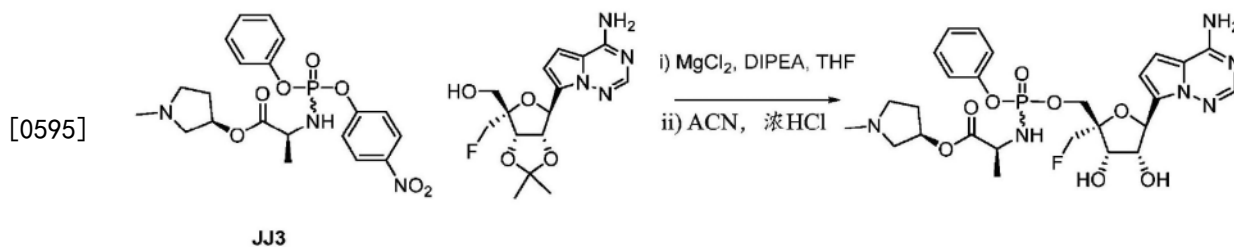


[0592] (R)-1-甲基吡咯烷-3-基-L-丙氨酸酯二盐酸盐。将中间体JJ1(2.27g,0.008mol)溶解在无水二氯甲烷(20mL)中,并添加4N HCl的二噁烷溶液(14.59mL,0.058mol)。在环境温度下搅拌4小时。减压浓缩并与二氯甲烷共蒸发。置于高真空下过夜,并且中间体JJ2原样用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ11.34(s,1H),8.81(s,3H),5.38(s,1H),4.06(q,J=7.1Hz,1H),3.44(d,J=78.6Hz,5H),2.84(s,3H),2.12(s,1H),1.43(d,J=7.1Hz,3H)。



[0594] (R)-((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸1-甲基吡咯烷-3-基酯。在0℃下在氩气氛下向中间体JJ2(1.5g,4.079mmol)和二氯磷酸苯酯(0.607mL,4.079mmol)在无水二氯甲烷(19mL)中的溶液中添加三乙胺(1.848mL,13.155mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。然后添加4-硝基苯酚(0.567g,4.079mmol)和三乙胺(0.616mL,4.385mmol)。在0℃下搅拌1小时后,将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色

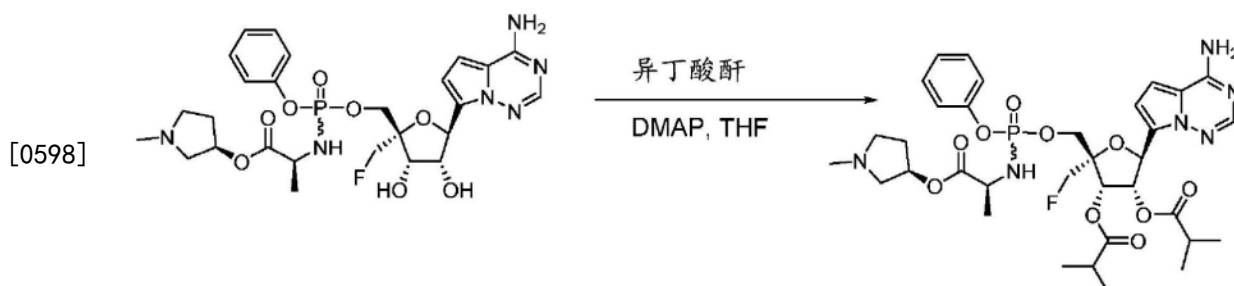
谱法(80g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱,0-10%甲醇/二氯甲烷)纯化,得到中间体JJ3(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.26-8.18(m,2H),7.44-7.30(m,4H),7.26-7.15(m,3H),5.20(d,J=8.5Hz,1H),4.24-3.89(m,1H),3.80(dd,J=11.5,8.8Hz,1H),2.97-2.80(m,1H),2.75(d,J=21.6Hz,1H),2.68-2.58(m,1H),2.39-2.18(m,5H),1.78(dd,J=14.6,7.8Hz,1H),1.45-1.34(m,3H)。LCMS:MS m/z=450.23[M+1];t<sub>R</sub>=1.07min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μm XB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μL/min。



[0596] (R)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸1-甲基吡咯烷-3-基酯。在室温下向中间体4(0.1g,0.296mmol)、中间体JJ3(0.5g,1.113mmol)和氯化镁(0.141g,1.478mmol)的混合物中添加四氢呋喃(3mL),然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.129mL,0.739mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌2小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将获得的残余物用饱和氯化钠溶液和乙酸乙酯稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法使用0-10%甲醇/二氯甲烷纯化。将获得的纯级分合并并浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈(3mL)中并在冰浴中冷却,然后滴加浓盐酸(0.257mL,3.086mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时并浓缩。将获得的残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱,含TFA改性剂的0-100%乙腈/水)纯化。将纯级分合并并减压浓缩。将获得的残余物用水稀释并用饱和碳酸氢钠水溶液中和。将水层用乙酸乙酯萃取。将有机层分离,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物溶解于乙腈和水中并冻干,得到产物(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.79(d,J=0.7Hz,1H),7.40-7.29(m,2H),7.28-7.15(m,3H),6.86(dd,J=6.7,4.5Hz,1H),6.75(dd,J=13.6,4.6Hz,1H),5.41-5.32(m,1H),5.14(ddt,J=8.1,5.4,2.6Hz,1H),4.82-4.55(m,3H),4.36(dd,J=14.7,5.3Hz,1H),4.28-4.18(m,2H),3.97-3.79(m,1H),2.87-2.76(m,1H),2.76-2.59(m,2H),2.34(s,3H),2.40-2.19(m,2H),1.79(ddt,J=14.5,7.6,3.9Hz,1H),1.28(ddd,J=17.1,7.1,1.1Hz,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ-238.41--238.79(m)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.72,3.44。LCMS:MS m/z=609.20[M+1];t<sub>R</sub>=0.80min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μm XB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μL/min;HPLC:t<sub>R</sub>=3.113min(主要异构体)和3.168min(次要异构体);HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6μm 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:

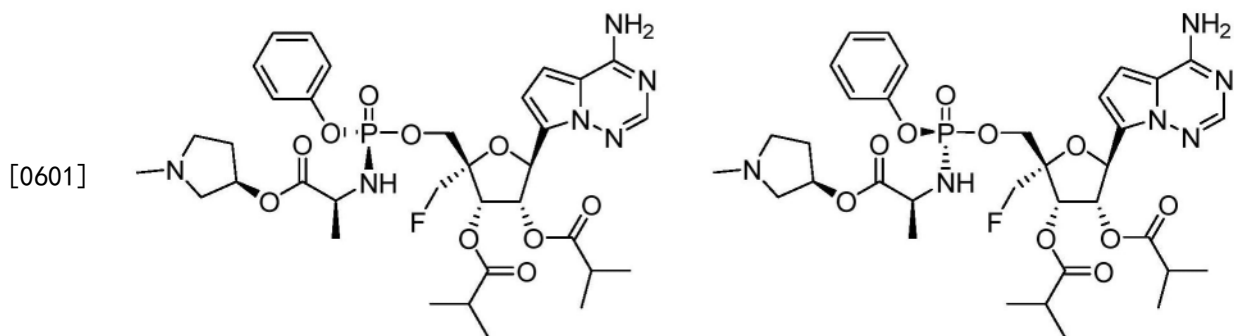
含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0597] 实施例36. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-((((((S)-1-((R)-1-甲基吡咯烷-3-基)氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0599] 在室温下向实施例35 (0.045g, 0.074mmol) 在THF (2mL) 中的溶液中添加异丁酸酐 (0.074mL, 0.444mmol), 然后添加DMAP (1.3mg, 0.011mmol)。将所得混合物搅拌30分钟, 用LCMS监测, 将反应混合物用甲醇淬灭并浓缩。将获得的残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 含TFA改性剂的0-100%乙腈/水) 纯化, 得到产物 (非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.80 (d, J=3.4Hz, 1H), 7.33 (dd, J=8.4, 7.4Hz, 2H), 7.28-7.15 (m, 3H), 6.87-6.58 (m, 2H), 5.96-5.71 (m, 2H), 5.59 (dd, J=7.9, 2.7Hz, 1H), 5.20 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.77-4.49 (m, 2H), 4.40-4.22 (m, 2H), 4.02-3.83 (m, 1H), 2.94-2.62 (m, 3H), 2.54-2.35 (m, 5H), 2.25 (dq, J=22.6, 7.4Hz, 2H), 1.89-1.72 (m, 1H), 1.32 (dd, J=7.1, 1.1Hz, 3H), 1.22 (dd, J=7.0, 1.1Hz, 6H), 1.06 (ddd, J=18.6, 7.0, 4.7Hz, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -235.33 (t, J=46.8Hz), -235.86 (t, J=46.7Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.38。LCMS: MS m/z=749.24 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.13min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。

[0600] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型SFC (SFC Chiralpak IA 5μm, 25X250mm; 25%异丙醇) 将非对映体彼此分离。

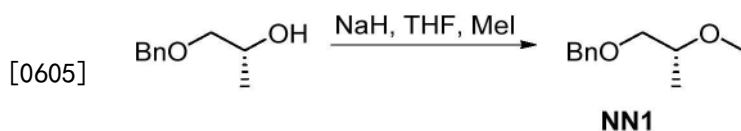


[0602] 实施例37. 实施例36的第一洗脱非对映体: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.81 (s, 1H), 7.38-7.29 (m, 2H), 7.27-7.14 (m, 3H), 6.84 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.76 (d, J=4.5Hz, 1H), 5.96-5.79 (m, 2H), 5.59 (d, J=7.8Hz, 1H), 5.22 (dq, J=6.8, 3.6Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 4.42-4.26 (m, 2H), 3.99-3.85 (m, 1H), 3.14-2.92 (m, 3H), 2.68 (dt, J=14.0, 7.0Hz, 2H), 2.58-2.42 (m, 4H), 2.32 (dq, J=14.7, 7.4Hz, 1H), 2.04-1.83 (m, 1H), 1.25 (ddd, J=

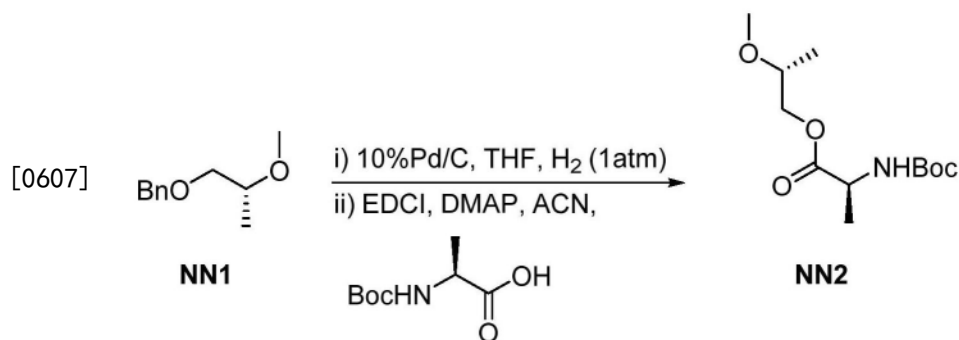
20.9, 7.1, 1.1Hz, 9H), 1.06 (dd,  $J=17.9, 7.0$ Hz, 6H)。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -235.85 (t,  $J=46.7$ Hz)。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.43。LCMS: MS  $m/z=749.24$  [M+1];  $t_R=1.16$ min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min; HPLC:  $t_R=4.614$ min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0603] 实施例38. 实施例36的第二洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.80 (s, 1H), 7.38-7.28 (m, 2H), 7.26-7.16 (m, 3H), 6.80 (d,  $J=4.6$ Hz, 1H), 6.63 (d,  $J=4.6$ Hz, 1H), 5.89-5.75 (m, 2H), 5.59 (d,  $J=7.9$ Hz, 1H), 5.19 (ddt,  $J=8.0, 5.4, 2.7$ Hz, 1H), 4.79-4.51 (m, 2H), 4.42-4.19 (m, 2H), 3.95 (dq,  $J=9.8, 7.1$ Hz, 1H), 2.96-2.60 (m, 4H), 2.53-2.37 (m, 5H), 2.32-2.17 (m, 1H), 1.82 (dtd,  $J=14.3, 7.2, 2.6$ Hz, 1H), 1.33 (dd,  $J=7.1, 1.1$ Hz, 3H), 1.22 (dd,  $J=7.0, 1.2$ Hz, 6H), 1.05 (dd,  $J=18.3, 7.0$ Hz, 6H)。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -235.32 (t,  $J=46.8$ Hz)。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.37。LCMS: MS  $m/z=749.23$  [M+1];  $t_R=1.13$ min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min。HPLC:  $t_R=4.553$ min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

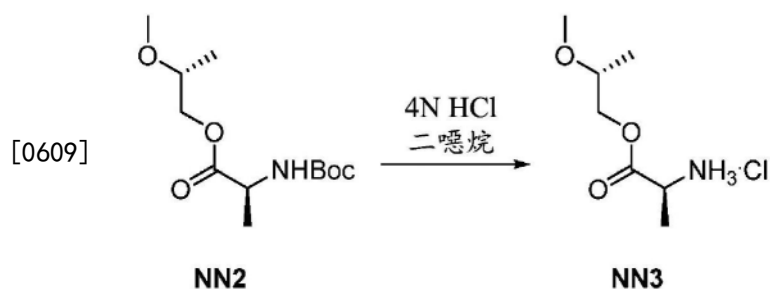
[0604] 实施例39. (R)-(((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯



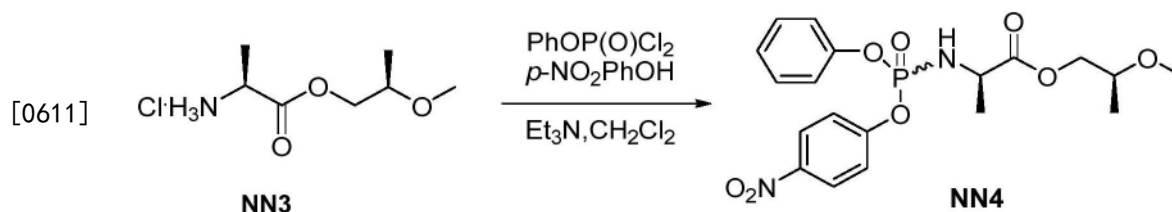
[0606] (R)-((2-甲氧基丙氧基)甲基)苯。向(R)-(-)-1-苄氧基-2-丙醇(3.0g, 0.018mol)在THF(20mL)中的冰冷溶液中分批添加氢化钠(0.866g, 0.036mol)。将反应混合物在0℃下搅拌30分钟,然后添加甲基碘(2.247mL, 0.036mol)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时,并用冰冷水和乙酸乙酯稀释。将有机层分离,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将获得的残余物通过硅胶色谱法使用0-40%乙酸乙酯/己烷纯化,得到中间体NN1。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 氯仿- $d$ )  $\delta$ 7.37 (d,  $J=4.3$ Hz, 4H), 7.31 (dd,  $J=10.5, 6.1$ Hz, 1H), 4.66-4.53 (m, 2H), 3.64-3.38 (m, 3H), 3.42 (s, 3H), 1.18 (d,  $J=6.3$ Hz, 3H)。



[0608] (R)-((叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯。向中间体NN1 (2.0g, 0.011mol) 在 THF (20mL) 中的脱气溶液中添加10%Pd/C (0.3g, 0.003mol), 并将反应混合物在氢气下搅拌过夜。将反应混合物过滤, 并向滤液中一次性添加(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸 (2.519g, 0.013mol)、乙腈 (10mL)、EDCI (2.5g, 0.016mol) 和DMAP (2.169g, 0.018mol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜, 并用乙酸乙酯和水稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。通过硅胶色谱法用0-30%乙酸乙酯/己烷进行纯化, 得到中间体NN2。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.26 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.10-3.93 (m, 2H), 3.91 (dd, J=11.4, 5.7Hz, 1H), 3.46 (td, J=6.2, 4.2Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 1.35 (s, 9H), 1.25-1.10 (m, 3H), 1.05 (d, J=6.4Hz, 3H)。

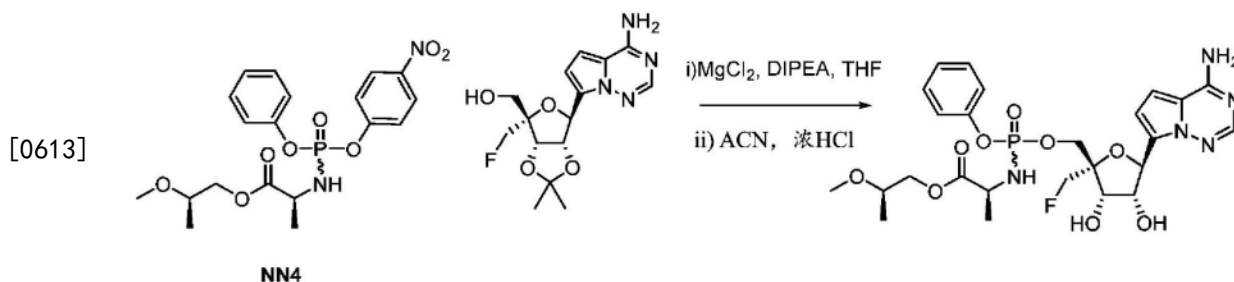


[0610] (R)-2-甲氧基丙基-L-丙氨酸酯盐酸盐。将中间体NN2 (2.5g, 0.010mol) 溶解于无水二氯甲烷 (25mL) 和4N HCl的二噁烷溶液 (11.96mL, 0.048mol) 中。将所得溶液在环境温度下搅拌4小时。将反应减压浓缩并与二氯甲烷共蒸发。将所得残余物置于高真空下过夜, 并且中间体NN3原样用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.63 (s, 3H), 4.19 (dd, J=11.4, 3.8Hz, 1H), 4.10-3.96 (m, 2H), 3.59-3.46 (m, 1H), 3.24 (s, 3H), 1.41 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.08 (d, J=6.4Hz, 3H)。



[0612] (R)-((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯。在0℃下在氩气氮下向中间体NN3 (1.95g, 9.865mmol) 和二氯磷酸苯酯 (1.468mL, 9.865mmol) 在无水二氯甲烷 (34mL) 中的溶液中添加三乙胺 (3.05mL, 21.71mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。然后添加4-硝基苯酚 (1.372g, 9.865mmol) 和三乙胺 (1.525mL, 10.85mmol)。在0℃下搅拌1小时后, 将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色谱法 (80g

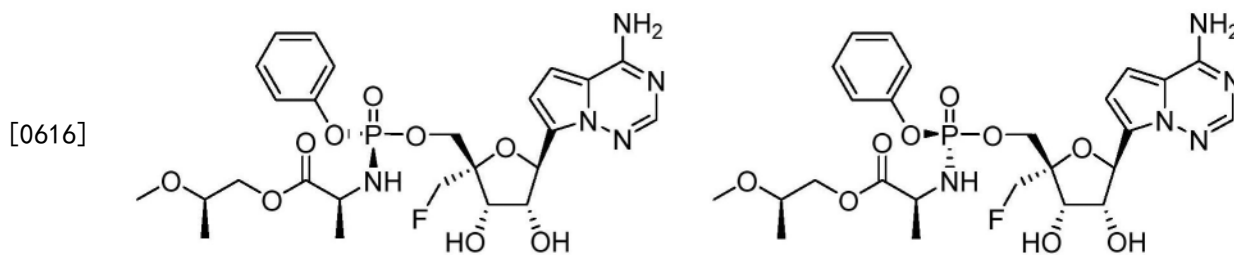
SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱,100%二氯甲烷,然后是0-100%乙酸乙酯/己烷)纯化,得到中间体NN4(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.33-8.23(m,2H),7.54-7.44(m,1H),7.49-7.33(m,3H),7.23(m,3H),6.70(ddd,J=13.7,9.9,8.3Hz,1H),4.09-3.94(m,2H),3.92(ddd,J=11.4,5.7,1.4Hz,1H),3.48-3.36(m,1H),3.20(d,J=1.5Hz,3H),1.23(ddd,J=7.2,4.0,1.2Hz,3H),1.01(dd,J=6.4,1.1Hz,3H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ-1.26,-1.48。LCMS:MS m/z=439.00[M+1];t<sub>R</sub>=1.43min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μL/min。



[0614] (R)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟氨基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸2-甲氧基丙酯。在室温下向中间体4(0.15g,0.443mmol)、中间体NN4(0.214g,0.488mmol)和氯化镁(0.063g,0.665mmol)的混合物中添加四氢呋喃(1.5mL),然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.193mL,1.108mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将获得的残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱,0-100%乙腈/水)纯化。将纯级分合并并减压浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈(3mL)中并在冰浴中冷却,然后滴加浓盐酸(0.2mL,2.4mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。1小时后,将反应混合物在冰浴中冷却并用冰稀释,然后用碳酸氢钠水溶液中中和。将所得混合物通过制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱,0-100%乙腈/水)纯化,得到产物(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.78(d,J=1.1Hz,1H),7.33(q,J=7.8Hz,2H),7.27-7.13(m,3H),6.85(dd,J=6.2,4.6Hz,1H),6.74(dd,J=10.6,4.6Hz,1H),5.36(dd,J=8.3,6.1Hz,1H),4.82-4.55(m,3H),4.35(dd,J=17.4,5.3Hz,1H),4.29-4.15(m,2H),4.10(ddd,J=11.5,4.0,2.6Hz,1H),4.06-3.86(m,2H),3.53(ddt,J=9.8,6.3,3.5Hz,1H),3.31(s,3H),1.29(ddd,J=19.7,7.2,1.1Hz,3H),1.11(dd,J=6.4,2.3Hz,3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ-238.52--238.94(m)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.70,3.41。LCMS:MS m/z=598.04[M+1];t<sub>R</sub>=0.99min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%ACN,1800μL/min;HPLC:t<sub>R</sub>=3.947min(次要异构体),4.011min(主要异构体);HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6u 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。



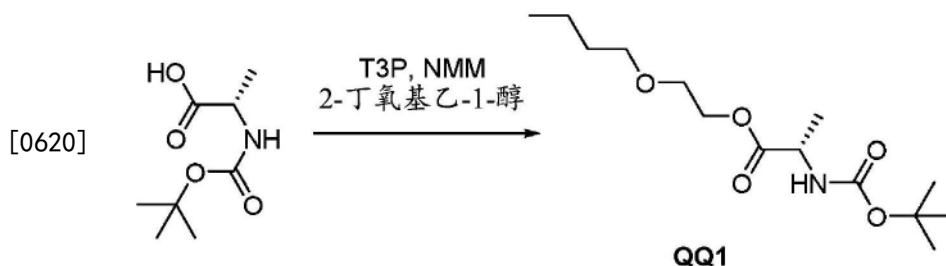
[0615] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(SFC Chiralpak AD-H 5 $\mu$ m, 21X250mm;30%异丙醇)将非对映体彼此分离。



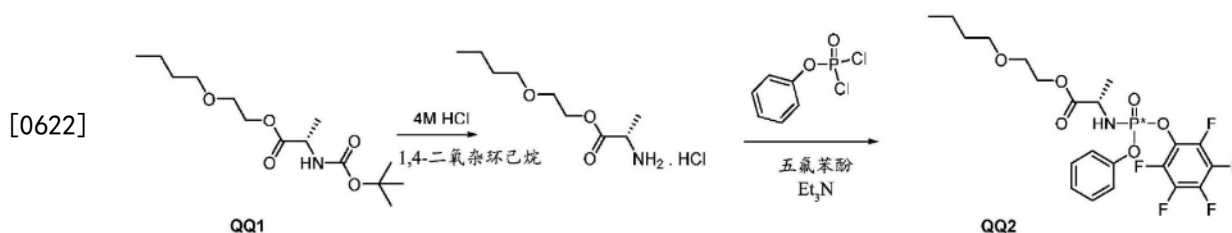
[0617] 实施例40. 实施例39的第一洗脱非对映体:<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 7.78(s, 1H), 7.37-7.28(m, 2H), 7.24-7.13(m, 3H), 6.86(d, J=4.5Hz, 1H), 6.76(d, J=4.5Hz, 1H), 5.37(d, J=8.2Hz, 1H), 4.83-4.71(m, 1H), 4.71-4.59(m, 2H), 4.37(d, J=5.3Hz, 1H), 4.26(dd, J=5.0, 1.7Hz, 2H), 4.09(dd, J=11.5, 4.0Hz, 1H), 4.06-3.86(m, 2H), 3.60-3.48(m, 1H), 3.31(s, 3H), 1.26(dd, J=7.2, 1.2Hz, 3H), 1.12(d, J=6.4Hz, 3H). <sup>19</sup>F NMR(376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ -238.68(t, J=47.9Hz). <sup>31</sup>P NMR(162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 3.71. LCMS:MS m/z=598.08[M+1]; t<sub>R</sub>=0.96min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min. HPLC: t<sub>R</sub>=3.938min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min.

[0618] 实施例41. 实施例39的第二洗脱非对映体:<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 7.78(s, 1H), 7.39-7.29(m, 2H), 7.27-7.14(m, 3H), 6.84(d, J=4.5Hz, 1H), 6.73(d, J=4.5Hz, 1H), 5.36(d, J=8.4Hz, 1H), 4.82-4.56(m, 3H), 4.33(d, J=5.2Hz, 1H), 4.21(tt, J=6.0, 3.6Hz, 2H), 4.10(dd, J=11.5, 3.9Hz, 1H), 4.03-3.88(m, 2H), 3.53(pd, J=6.3, 4.0Hz, 1H), 1.31(dd, J=7.2, 1.0Hz, 3H), 1.11(d, J=6.4Hz, 3H). <sup>19</sup>F NMR(376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ -238.81(t, J=47.6Hz). <sup>31</sup>P NMR(162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 3.42. LCMS:MS m/z=598.05[M+1]; t<sub>R</sub>=0.99min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800 $\mu$ l/min. HPLC: t<sub>R</sub>=4.004min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min.

[0619] 实施例42. (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-丁氧基乙酯

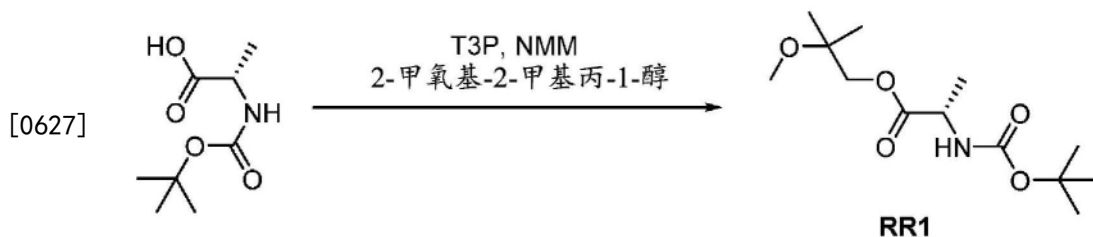


[0621] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸2-丁氧基乙酯。在0℃下在氩气氛下向(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(10.57g, 56mmol)和2-丁氧基乙-1-醇(6.00g, 51mmol)在无水二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中添加N-甲基吗啉(16.75mL, 152mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶(0.12g, 1mmol)和三丙基磷酸环酐(36.27mL, 61mmol, 50%的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用水(50mL)洗涤,用10%柠檬酸溶液(2×40mL)洗涤两次,用饱和碳酸氢钠水溶液(2×40mL)洗涤两次,并用盐水(50mL)洗涤一次,经硫酸钠干燥,通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用另外的二氯甲烷洗涤。将合并的有机物减压浓缩,与二氯甲烷共蒸馏并在高真空下干燥过夜,得到中间体QQ1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.27(d, J=7.4Hz, 1H), 4.26-4.14(m, 1H), 4.14-4.06(m, 1H), 4.05-3.93(m, 1H), 3.58-3.49(m, 2H), 3.39(t, J=6.5Hz, 2H), 1.50-1.42(m, 2H), 1.38(s, 9H), 1.35-1.27(m, 2H), 1.23(d, J=7.4Hz, 3H), 0.87(t, J=7.4Hz, 3H)。

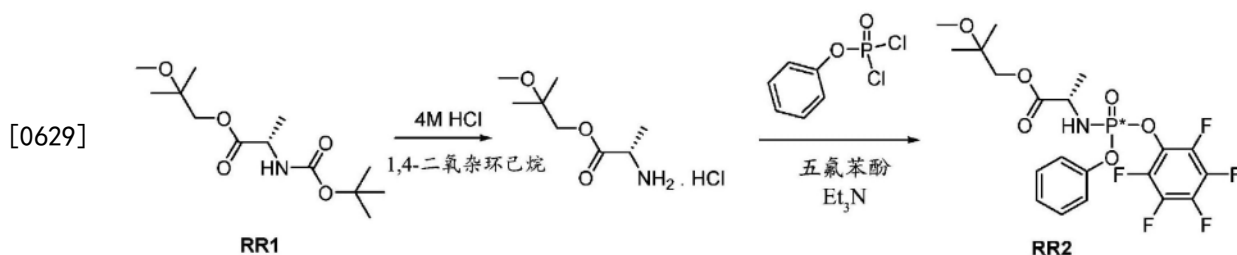


[0623] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-丁氧基乙酯。将中间体QQ1(14.2g, 49.07mmol)溶解于50mL 4M HCl的1,4-二噁烷溶液中,并将反应混合物在室温下搅拌2小时,减压浓缩并与甲苯共蒸馏,得到纯固体,将该纯固体在高真空下干燥1小时。将固体悬浮于二氯甲烷(200mL)中,并在-78℃下相继添加二氯磷酸苯酯(8.03mL, 53.98mmol)和三乙胺(14.96mL, 107.96mmol),并将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物冷却至0℃,然后相继添加五氟苯酚(9.03g, 49.07mmol)和三乙胺(8.84mL, 63.79mmol),然后使所得混合物升温至室温。3小时后,将反应混合物冷却至0℃并滤出固体,将滤液用饱和氯化铵水溶液(100mL)、水(100mL)和盐水(50mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥并通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用1:5乙酸乙酯和二氯甲烷混合物(100mL)洗涤。将合并的有机物减压浓缩,得到22.5g固体粗产物,基于NMR,该固体粗产物为两种磷上的异构体的混合物。将固体溶解于二异丙醚(6mL)和己烷(200mL)的沸腾混合物中,并将混合物在室温下剧烈搅拌过夜。通过过滤分离固体产物,并用己烷(3×40mL)洗涤,得到中间体QQ2。通过NMR光谱法确定中间体QQ2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.47-7.35(m, 2H), 7.31-7.16(m, 3H), 6.93(dd, J=14.2, 9.9Hz, 1H), 4.23-4.08(m, 2H), 4.07-3.90(m, 1H), 3.52(t, J=4.8Hz, 2H), 3.35(t, J=6.5Hz, 2H), 1.46-1.37(m, 2H), 1.36-1.18(m, 5H), 0.84(t, J=7.4Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.25(d, J=21.6Hz, 2F), -160.87(td, J=23.3, 3.2Hz, 1F), -163.70(td, J=24.0, 4.2Hz, 2F)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.42。LCMS:MS m/z=511.95[M+1], t<sub>R</sub>=1.70min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2μL/min。



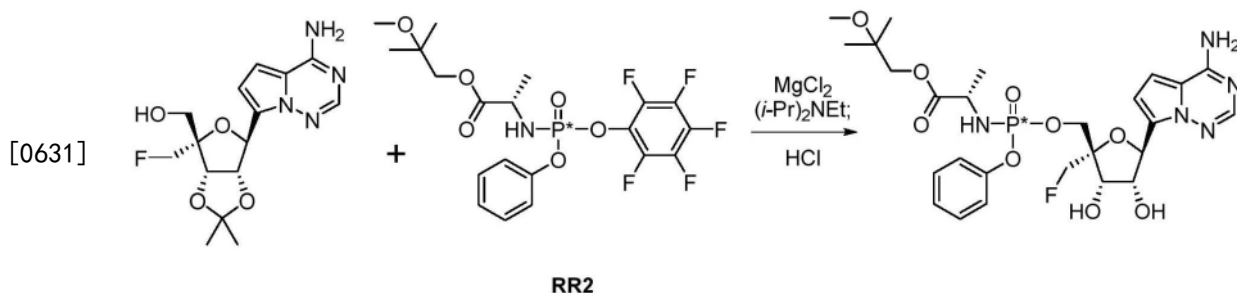


[0628] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸2-甲氧基-2-甲基丙酯。在0℃下在氩气氛下向(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(4.00g, 21mmol)和2-甲氧基-2-甲基丙-1-醇(2.00g, 19mmol)在无水二氯甲烷(50mL)中的搅拌溶液中添加N-甲基吗啉(6.33mL, 58mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶(0.05g, 0.4mmol)和三丙基磷酸环酐(13.72mL, 23mmol, 50%的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用水(30mL)洗涤,用10%柠檬酸溶液(2×20mL)洗涤两次,用饱和碳酸氢钠水溶液(2×20mL)洗涤两次,并用盐水(20mL)洗涤一次,经硫酸钠干燥,通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用二氯甲烷和乙酸乙酯的3:1混合物洗涤。将合并的有机物减压浓缩,与二氯甲烷共蒸馏并在高真空下干燥过夜,得到中间体RR1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.30(d, J=7.4Hz, 1H), 4.10-3.77(m, 3H), 3.11(s, 3H), 1.37(s, 9H), 1.24(d, J=7.4Hz, 3H), 1.10(s, 6H)。



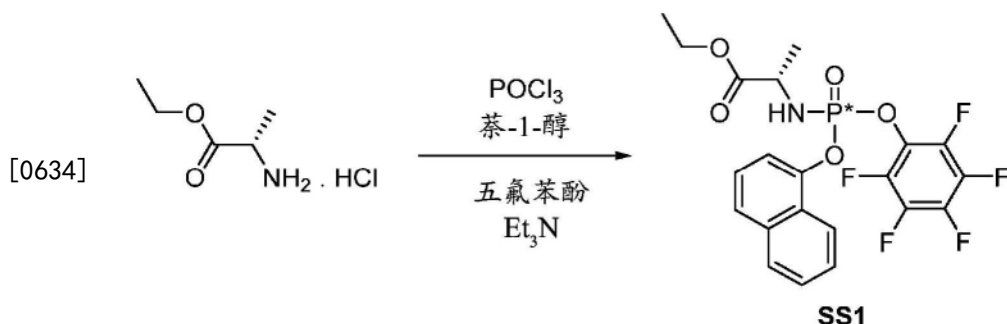
[0630] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-甲氧基-2-甲基丙酯。将中间体RR1(5.1g, 18.52mmol)溶解于15mL 4M HCl的1,4-二噁烷溶液中,并将反应混合物在室温下搅拌2小时,减压浓缩并与甲苯共蒸馏,得到纯固体,将该纯固体在高真空下干燥1小时。将固体悬浮于二氯甲烷(100mL)中,并在-78℃下相继添加二氯磷酸苯酯(3.03mL, 20.37mmol)和三乙胺(5.65mL, 40.75mmol),并将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物冷却至0℃,然后相继添加五氟苯酚(3.41g, 18.52mmol)和三乙胺(3.59mL, 25.93mmol),然后使所得混合物升温至室温。3小时后,将反应混合物冷却至0℃并滤出固体,将滤液用饱和氯化铵水溶液(100mL)、水(100mL)和盐水(50mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥并通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用1:3乙酸乙酯和二氯甲烷混合物(100mL)洗涤。将合并的有机物减压浓缩,得到6.23g粗产物,基于NMR,该固体粗产物为两种磷上的异构体的混合物。将固体溶解于沸腾的二异丙醚(50mL)中,并将混合物在室温下剧烈搅拌过夜。将固体产物滤出,并用冷二异丙醚(2×10mL)和己烷(3×20mL)洗涤,得到中间体RR2。通过NMR光谱法确定中间体RR2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.46-7.36(m, 2H), 7.29-7.16(m, 3H), 6.92(dd, J=14.2, 9.9Hz, 1H), 4.12-3.86(m, 3H), 3.09(s, 3H), 1.31(d, J=7.1Hz, 3H), 1.09(s, 6H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.22(d, J=21.4Hz, 2F), -160.89(td, J=23.4, 3.2Hz, 1F), -163.69(td, J=23.4, 4.0Hz, 2F)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.43。LCMS:MS m/z=497.86[M+1], t<sub>R</sub>=1.65min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:

0min-0.2min 2%乙腈,0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ L/min。

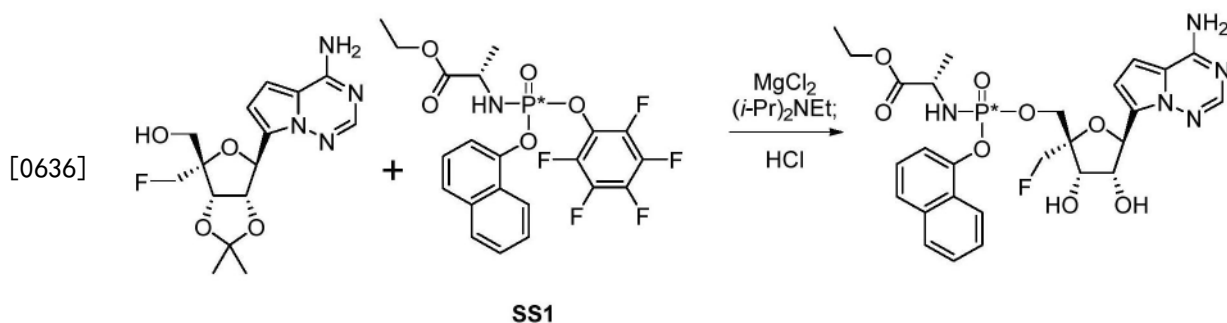


[0632] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-甲氧基-2-甲基丙酯。在室温下将四氢呋喃(0.7mL)添加到中间体4(100mg,0.296mmol)、中间体RR2(191mg,0.384mmol)和氯化镁(42mg,0.443mmol)的混合物中。将混合物加热至40℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.129mL,0.739mmol)。在40℃下搅拌2小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并将所得混合物用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈(5mL)中,并在0℃下滴加浓盐酸水溶液(0.246mL)。在0℃下4小时后,在0℃下将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)和水(20mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.83(s, 1H), 7.70(bs, 2H), 7.44-7.30(m, 2H), 7.26-7.14(m, 3H), 6.84(d, J=4.4Hz, 1H), 6.68(d, J=4.4Hz, 1H), 6.10(dd, J=13.1, 10.1Hz, 1H), 5.29-5.21(m, 2H), 5.13(d, J=7.3Hz, 1H), 4.72-4.43(m, 3H), 4.25-4.15(m, 1H), 4.03-3.95(m, 3H), 3.95-3.82(m, 2H), 3.08(s, 3H), 1.26(d, J=7.2Hz, 3H), 1.09(s, 6H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ -236.71(t, J=48.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 3.47。LCMS:MS m/z=612.03[M+1], t<sub>R</sub>=1.16min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈,1.5min-2.2min 100%乙腈,2.2min-2.4min 100%-2%乙腈,2.4min-2.5min 2%乙腈,2 $\mu$ L/min。HPLC:t<sub>R</sub>=2.47min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Gemini 5 $\mu$ C18 110A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%TFA的乙腈,含0.1%TFA的水;梯度:0min-5.0min 2-98%ACN,5.0min-6.0min 98%ACN,2mL/min。

[0633] 实施例44. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(萘-1-基氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯



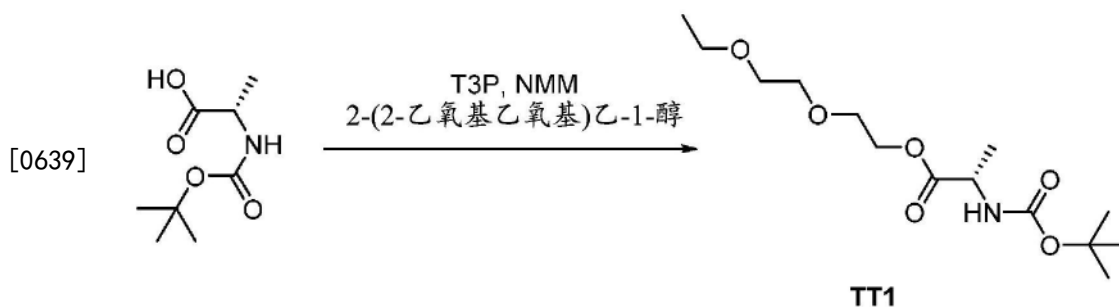
[0635] ((萘-1-基氧基)(全氟苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯。在-78℃下在氩气下向磷酸酰三氯(3.00g, 19.57mmol)在无水四氢呋喃(50mL)中的溶液中添加萘-1-醇(2.82g, 19.57mmol)。滴加三乙胺(6.00mL, 43.05mmol)。15分钟后,使反应升温至0℃。30分钟后,将反应再次冷却至-78℃,并添加L-丙氨酸乙酯盐酸盐(3.01g, 19.57mmol),然后添加三乙胺(2.73mL, 19.57mmol)。使反应物升温至室温并搅拌3小时。将反应冷却至0℃,并添加五氟苯酚(3.60g, 19.57mmol),然后滴加三乙胺(3.00mL, 21.52mmol)。使反应混合物升温至室温并搅拌2小时,用乙酸乙酯(100mL)稀释并用饱和氯化铵水溶液(100mL)、水(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。将粗残余物通过硅胶柱色谱法使用0至35%乙酸乙酯的己烷溶液的梯度纯化,得到4.9g粗产物,为非对映体的混合物。将固体溶解于沸腾的二异丙醚(70mL)中,并将混合物在室温下剧烈搅拌过夜。将固体产物滤出,并用冷二异丙醚(2×10mL)和己烷(3×20mL)洗涤,得到中间体SS1。通过NMR光谱法确定中间体SS1为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.14-8.08(m, 1H), 8.03-7.98(m, 1H), 7.82(d, J=7.7Hz, 1H), 7.67-7.44(m, 4H), 7.11(dd, J=14.3, 9.9Hz, 1H), 4.15-3.92(m, 3H), 1.33(d, J=7.1Hz, 3H), 1.09(t, J=7.1Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.19(d, J=21.6Hz, 2F), -160.70(t, J=23.4Hz, 1F), -163.61(t, J=21.9Hz, 2F)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.68。LCMS:MS m/z=489.95[M+1], t<sub>R</sub>=1.76min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2μL/min。



[0637] (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(萘-1-基氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯。在室温下将四氢呋喃(0.4mL)添加到中间体4(50mg, 0.148mmol)、中间体SS1(94mg, 0.192mmol)和氯化镁(21mg, 0.222mmol)的混合物中。将混合物加热至40℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.064mL, 0.369mmol)。在40℃下搅拌2小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。

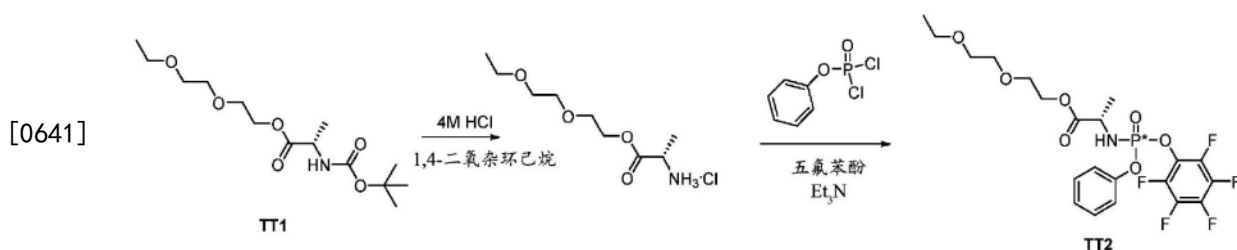
将粗残余物溶解于乙酸乙酯 (20mL) 中, 并将所得混合物用水 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层分离, 经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈 (5mL) 中, 并在 0°C 下滴加浓盐酸水溶液 (0.123mL)。在 0°C 下 4 小时后, 在 0°C 下将反应混合物用乙酸乙酯 (30mL) 和水 (20mL) 稀释, 并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型 HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm 柱) 使用 10-100% 乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过 NMR 光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.19-8.10 (m, 1H), 8.02-7.93 (m, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.80-7.72 (m, 1H), 7.62-7.55 (m, 2H), 7.52-7.43 (m, 2H), 6.91 (d, J=4.4Hz, 1H), 6.67 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.26 (dd, J=13.0, 10.1Hz, 1H), 5.38-5.11 (m, 3H), 4.74-4.46 (m, 3H), 4.22 (d, J=4.9Hz, 1H), 4.13-3.99 (m, 4H), 3.95-3.86 (m, 1H), 1.22 (d, J=7.1Hz, 3H), 1.12 (t, J=7.1Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -236.51 (t, J=47.7Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.98。LCMS: MS m/z = 604.02 [M+1], t<sub>R</sub> = 1.21min; LC 系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS 系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含 0.1% 乙酸的乙腈, 含 0.1% 乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2% 乙腈, 0.2min-1.5min 2-100% 乙腈, 1.5min-2.2min 100% 乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2% 乙腈, 2.4min-2.5min 2% 乙腈, 2 $\mu$ L/min。HPLC: t<sub>R</sub> = 2.69min; HPLC 系统: Agilent 1100 系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含 0.1% TFA 的乙腈, 含 0.1% TFA 的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98% ACN, 5.0min-6.0min 98% ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub> = 4.51min; HPLC 系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含 0.1% TFA 的水, B: 含 0.1% TFA 的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为 2-98% B, 1.5mL/min。

[0638] 实施例 45. (((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基) 甲氧基) (苯氧基) 磷酰基) -L-丙氨酸 2-(2-乙氧基乙氧基) 乙酯

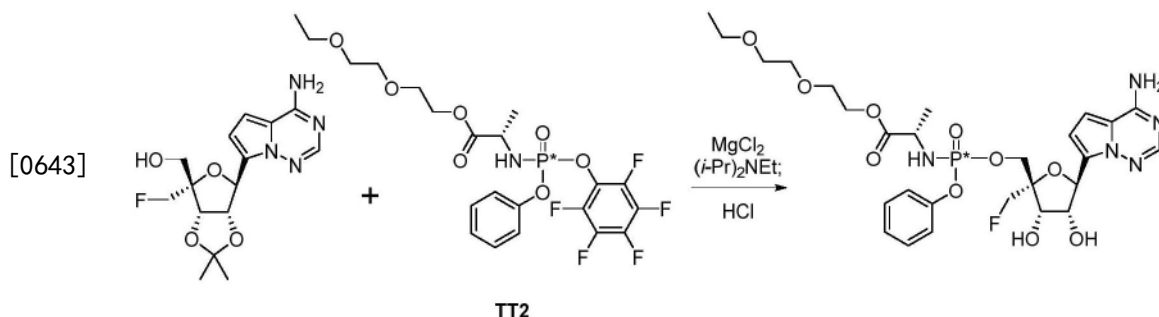


[0640] (叔丁氧基羰基) -L-丙氨酸 2-(2-乙氧基乙氧基) 乙酯。在 0°C 下在氩气氛下向 (叔丁氧基羰基) -L-丙氨酸 (12.41g, 66mmol) 和 2-(2-乙氧基乙氧基) 乙-1-醇 (8.00g, 60mmol) 在无水二氯甲烷 (100mL) 中的搅拌溶液中添加 N-甲基吗啉 (19.67mL, 179mmol)、4-(二甲基氨基) 吡啶 (0.15g, 1.2mmol) 和三丙基磷酸环酐 (42.6mL, 72mmol, 50% 的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌 2 小时。将反应混合物用水 (50mL) 洗涤, 用 10% 柠檬酸溶液 (2 $\times$ 40mL) 洗涤两次, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (2 $\times$ 40mL) 洗涤两次, 并用盐水 (50mL) 洗涤一次, 经硫酸钠干燥, 通过 3cm 硅胶层过滤, 将该硅胶层用另外的二氯甲烷洗涤。将合并的有机物减压浓缩, 与二氯甲烷共蒸馏并在高真空下干燥过夜, 得到中间体 TT1。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.27 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.23-4.14 (m, 1H), 4.14-4.06 (m, 1H), 4.05-3.94 (m, 1H),

3.64-3.56 (m, 2H), 3.55-3.49 (m, 2H), 3.49-3.39 (m, 4H), 1.38 (s, 9H), 1.23 (d, J=7.4Hz, 3H), 1.09 (t, J=7.0Hz, 3H)。



[0642] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-(2-乙氧基乙氧基)乙酯。将中间体TT1 (18.3g, 59.93mmol) 溶解于50mL 4M HCl的1,4-二噁烷溶液中,并将反应混合物在室温下搅拌2小时,减压浓缩并与甲苯共蒸馏,得到粗产物,将该粗产物在高真空下干燥1小时。将所得固体悬浮于二氯甲烷(100mL)中,并在-78℃下相继添加二氯磷酸苯酯(9.81mL, 65.92mmol)和三乙胺(18.28mL, 131.84mmol),并将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物冷却至0℃,然后相继添加五氟苯酚(11.03g, 59.93mmol)和三乙胺(10.80mL, 78.05mmol),然后使所得混合物升温至室温。3小时后,将反应混合物冷却至0℃并滤出固体,将滤液用饱和氯化铵水溶液(100mL)、水(100mL)和盐水(50mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥并通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用1:1乙酸乙酯和二氯甲烷混合物(100mL)洗涤。将合并的有机物减压浓缩,得到21.7g粗产物,为非对映体的混合物。将固体溶解于最少量的沸腾的二异丙醚中,并将混合物在室温下剧烈搅拌过夜。将固体产物滤出,并用冷二异丙醚(2×20mL)和己烷(3×40mL)洗涤,得到中间体TT2。通过NMR光谱法确定中间体TT2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.47-7.36 (m, 2H), 7.30-7.20 (m, 3H), 6.92 (dd, J=14.2, 9.9Hz, 1H), 4.21-4.08 (m, 2H), 4.07-3.92 (m, 1H), 3.62-3.56 (m, 2H), 3.53-3.47 (m, 2H), 3.45-3.36 (m, 4H), 1.29 (d, J=7.1Hz, 3H), 1.07 (t, J=7.0Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.24 (d, J=21.5Hz, 2F), -160.86 (t, J=23.1Hz, 1F), -163.68 (t, J=21.7Hz, 2F)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.40。LCMS: MS m/z=528.06 [M+1], t<sub>R</sub>=1.64min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2μL/min。

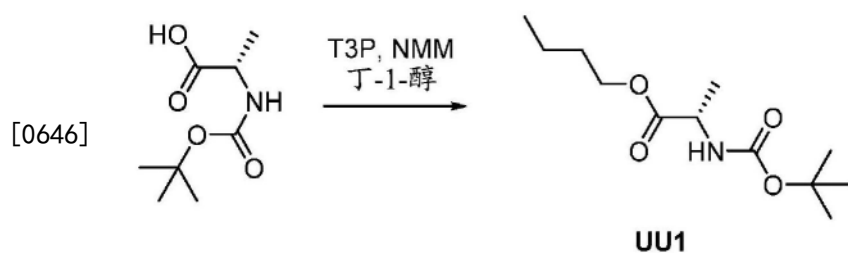


[0644] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-(2-乙氧基乙氧基)乙酯。在室温下将四氢呋喃(0.7mL)添加到中间体4(100mg, 0.295mmol)、中间体TT2(203mg,



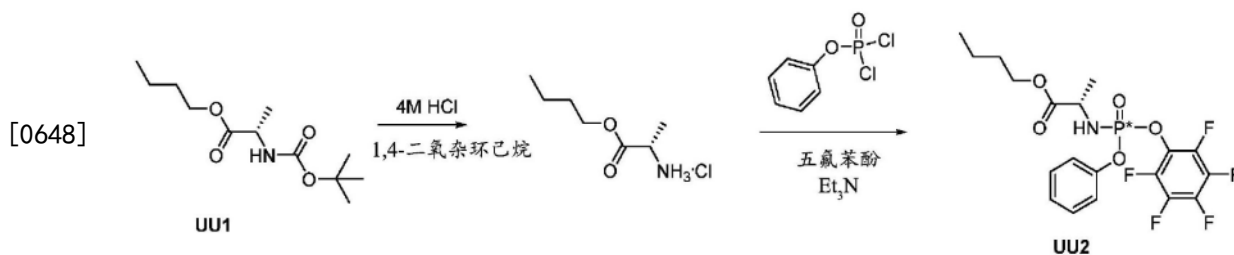
0.384mmol) 和氯化镁 (42mg, 0.443mmol) 的混合物中。将混合物加热至 40℃ 持续 10 分钟, 并添加 N,N-二异丙基乙胺 (0.129mL, 0.739mmol)。在 40℃ 下搅拌 2 小时后, 使反应混合物冷却至室温, 并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯 (20mL) 中, 并将所得混合物用水 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层分离, 经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈 (5mL) 中, 并在 0℃ 下滴加浓盐酸水溶液 (0.246mL)。在 0℃ 下 4 小时后, 在 0℃ 下将反应混合物用乙酸乙酯 (30mL) 和水 (20mL) 稀释, 并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型 HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm 柱) 使用 10-100% 乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过 NMR 光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.84 (s, 1H), 7.77 (bs, 2H), 7.42-7.34 (m, 2H), 7.28-7.13 (m, 3H), 6.86 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.69 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.11 (dd, J=13.3, 10.1Hz, 1H), 5.37-5.22 (m, 2H), 5.20-5.10 (m, 1H), 4.64 (q, J=10.2Hz, 1H), 4.57-4.43 (m, 2H), 4.24-4.14 (m, 2H), 4.12-4.05 (m, 1H), 4.03-3.97 (m, 2H), 3.92-3.79 (m, 1H), 3.59-3.54 (m, 2H), 3.51-3.45 (m, 2H), 3.43-3.38 (m, 4H), 1.24 (d, J=7.1Hz, 3H), 1.07 (t, J=7.0Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -236.74 (t, J=48.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.43。LCMS: MS m/z=642.08 [M+1], t<sub>R</sub>=1.13min; LC 系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS 系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含 0.1% 乙酸的乙腈, 含 0.1% 乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2% 乙腈, 0.2min-1.5min 2-100% 乙腈, 1.5min-2.2min 100% 乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2% 乙腈, 2.4min-2.5min 2% 乙腈, 2 $\mu$ l/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.43min; HPLC 系统: Agilent 1100 系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含 0.1% TFA 的乙腈, 含 0.1% TFA 的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98% ACN, 5.0min-6.0min 98% ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=4.05min; HPLC 系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含 0.1% TFA 的水, B: 含 0.1% TFA 的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为 2-98% B, 1.5mL/min。

[0645] 实施例 46. ((S)-((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸丁酯

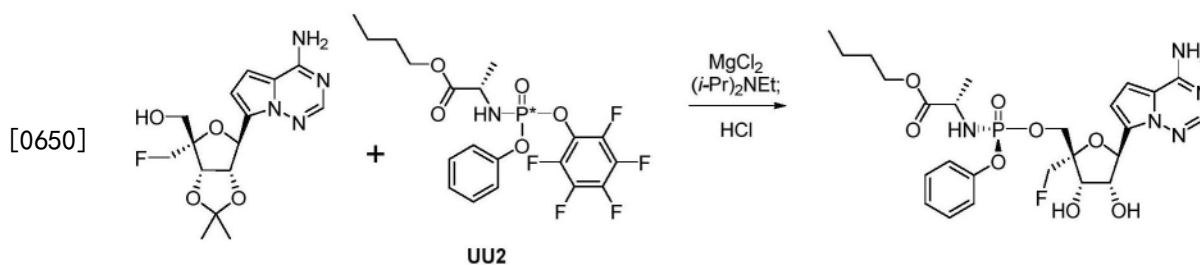


[0647] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸丁酯。在 0℃ 下在氩气氛下向 (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸 (14.04g, 74mmol) 和 丁-1-醇 (5.00g, 67mmol) 在无二氯甲烷 (100mL) 中的搅拌溶液中添加 N-甲基吗啉 (22.25mL, 202mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶 (0.17g, 1.4mmol) 和三丙基磷酰环酐 (48.19mL, 81mmol, 50% 的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌 2 小时。将反应混合物用水 (50mL) 洗涤, 用 10% 柠檬酸溶液 (2 $\times$ 40mL) 洗涤两次, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (2 $\times$ 40mL) 洗涤两次, 并用盐水 (50mL) 洗涤一次, 经硫酸钠干燥, 通过 3cm 硅胶层过滤, 将该硅胶层用另外的二氯甲烷洗涤。将合并的有机物减压浓缩, 与二氯甲烷共蒸馏并在高真空下干燥过夜, 得到中间体 UU1。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.27 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.19-3.89

(m, 3H), 1.60-1.48 (m, 2H), 1.42-1.28 (m, 11H), 1.22 (d, J=7.4Hz, 3H), 0.88 (t, J=7.4Hz, 3H)。



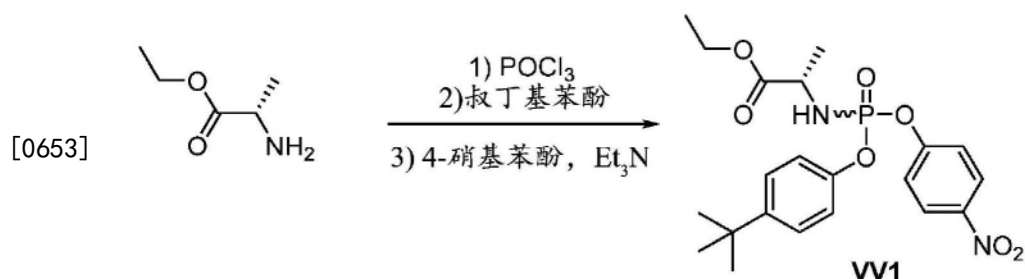
[0649] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸丁酯。将中间体UU1 (6.75g, 27.5mmol) 溶解于30mL 4M HCl的1,4-二噁烷溶液中,并将反应混合物在室温下搅拌2小时,减压浓缩并与甲苯共蒸馏,得到固化固体,将该纯固体在高真空下干燥1小时。将固体悬浮于二氯甲烷(30mL)中,并在-78℃下相继添加二氯磷酸苯酯(4.51mL, 30.3mmol)和三乙胺(8.39mL, 60.6mmol),并将所得混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物冷却至0℃,然后相继添加五氟苯酚(5.07g, 27.5mmol)和三乙胺(4.20mL, 30.0mmol),然后使所得混合物升温至室温。3小时后,将反应混合物冷却至0℃并滤出固体,将滤液用饱和氯化铵水溶液(50mL)、水(50mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥并通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用另外的二氯甲烷(50mL)洗涤。将合并的有机物减压浓缩,得到12.2g粗产物,为非对映体的混合物。将固体溶解于沸腾的己烷(120mL)中,并将混合物在室温下剧烈搅拌过夜。将固体产物滤出,并用己烷(3×30mL)洗涤,得到中间体UU2。通过NMR光谱法确定中间体UU2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.47-7.36(m, 2H), 7.30-7.17(m, 3H), 6.89(dd, J=14.2, 9.9Hz, 1H), 4.12-3.91(m, 3H), 1.59-1.45(m, 2H), 1.38-1.19(m, 5H), 0.85(t, J=7.3Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.24(d, J=20.7Hz, 2F), -160.88(t, J=23.1Hz, 1F), -163.70(t, J=21.6Hz, 2F)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.48。LCMS:MS m/z=467.92[M+1], t<sub>R</sub>=1.86min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%乙腈,2μL/min。



[0651] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸丁酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(70mg, 0.207mmol)、中间体UU2(126mg, 0.269mmol)和氯化镁(30mg, 0.310mmol)的混合物中。将混合物加热至40℃持续10分钟,并添加N,N-二异丙基乙胺(0.090mL, 0.517mmol)。在40℃下搅拌2小时后,使反应混合物冷却至室温,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙酸乙酯(20mL)中,并将所得混合物用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤。将有机层分离,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物溶解于乙腈(2mL)中,并在0℃下

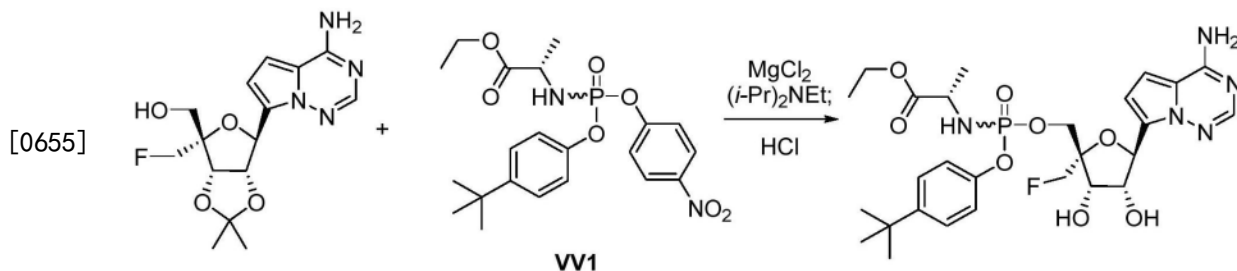
滴加浓盐酸水溶液 (0.172mL)。在0℃下4小时后,在0℃下将反应混合物用乙酸乙酯 (30mL) 和水 (20mL) 稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å 100x30mm柱) 使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.83 (s, 1H), 7.73 (bs, 2H), 7.43-7.32 (m, 2H), 7.25-7.13 (m, 3H), 6.85 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.69 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.08 (dd, J=13.2, 10.2Hz, 1H), 5.34-5.21 (m, 2H), 5.20-5.07 (m, 1H), 4.71-4.58 (m, 1H), 4.57-4.41 (m, 2H), 4.29-4.15 (m, 1H), 4.10-3.94 (m, 4H), 3.93-3.74 (m, 1H), 1.60-1.42 (m, 2H), 1.36-1.13 (m, 5H), 0.84 (t, J=7.4Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -236.73 (t, J=47.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  3.49。LCMS: MS m/z = 582.02 [M+1], t<sub>R</sub> = 1.22min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-0.2min 2%乙腈, 0.2min-1.5min 2-100%乙腈, 1.5min-2.2min 100%乙腈, 2.2min-2.4min 100%-2%乙腈, 2.4min-2.5min 2%乙腈, 2 $\mu$ l/min。HPLC: t<sub>R</sub> = 2.75min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%TFA的乙腈, 含0.1%TFA的水; 梯度: 0min-5.0min 2-98%ACN, 5.0min-6.0min 98%ACN, 2mL/min。HPLC: t<sub>R</sub> = 4.60min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0652] 实施例47. (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(4-(叔丁基)苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯



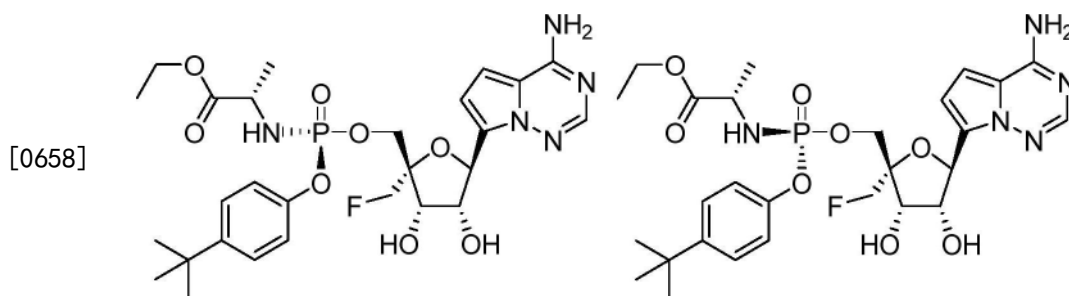
[0654] ((4-(叔丁基)苯氧基)(4-硝基苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯。在-78℃下在氩气氛下向三氯氧磷(V) (0.61mL, 6.52mmol) 在二氯甲烷 (20mL) 中的溶液中添加L-丙氨酸乙酯 (1.00g, 6.52mmol)。缓慢滴加三乙胺 (2.00mL, 14.35mmol)。15分钟后,使反应升温至0℃。30分钟后,将反应冷却至-78℃并添加4-叔丁基苯酚 (0.98g, 6.52mmol)。添加三乙胺 (0.91mL, 6.52mmol)。使反应升温至室温并搅拌3小时。将反应冷却至0℃。添加4-硝基苯酚 (0.91g, 6.52mmol), 然后滴加三乙胺 (0.91mL, 6.52mmol)。使反应升温至室温并搅拌2小时。将反应物用乙酸乙酯稀释,并用氯化铵、水、盐水洗涤。将有机物经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法 (使用0-50%乙酸乙酯的己烷溶液的梯度) 以油状物形式分离中间体VV1 (非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.31 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.57-7.36 (m, 4H), 7.24-7.09 (m, 2H), 6.76-6.57 (m, 1H), 4.12-3.77 (m, 3H), 1.30-1.21 (m, 12H), 1.11 (t, J=7.1Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -1.16, -1.24。LCMS: MS m/z = 451.00 [M+1], t<sub>R</sub> = 1.84min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18

100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min。



[0656] (((((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(4-(叔丁基)苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸乙酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(40mg, 0.12mmol)、中间体VV1(71mg, 0.16mmol)和氯化镁(17mg, 0.18mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52 $\mu$ L, 0.30mmol)。将反应加热至50 $^{\circ}$ C持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2mL)稀释。将有机物用水(2mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0 $^{\circ}$ C下向残余物在乙腈(2mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3mL, 3.6mmol, 12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸钠水溶液(5mL)和盐水(5mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ , 100x30mm, 梯度为5-100%乙腈的水溶液)纯化,得到实施例VV(非对映体混合物)。LCMS:MS m/z=609.96[M+1], t<sub>R</sub>=1.42min(次要), 1.44min(主要); LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min。

[0657] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(SFC chiralpack AD-H 5 $\mu$ m, 250 $\times$ 21mm; 甲醇25%)将非对映体彼此分离。

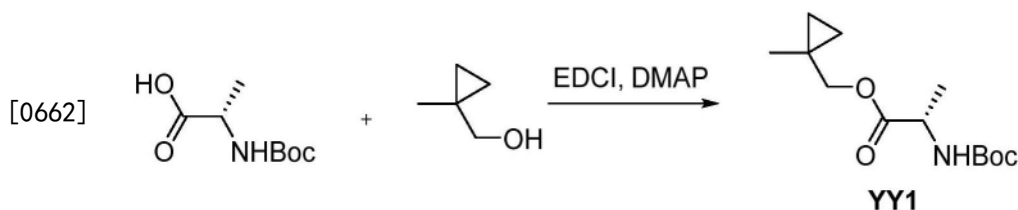


[0659] 实施例48. 实施例47的第一洗脱非对映体:<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 8.00(s, 1H), 7.40-7.33(m, 3H), 7.16-7.09(m, 2H), 6.99(d, J=4.8Hz, 1H), 5.40(d, J=8.1Hz, 1H), 4.82-4.72(m, 1H), 4.70-4.57(m, 2H), 4.39(d, J=5.2Hz, 1H), 4.34-4.20(m, 2H), 4.12(q, J=7.1Hz, 2H), 3.96-3.83(m, 1H), 1.33-1.26(m, 12H), 1.22(t, J=7.1Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 3.93。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ -238.56(t, J=47.8Hz)。LCMS:MS m/z=609.96[M+1], t<sub>R</sub>=1.42min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:

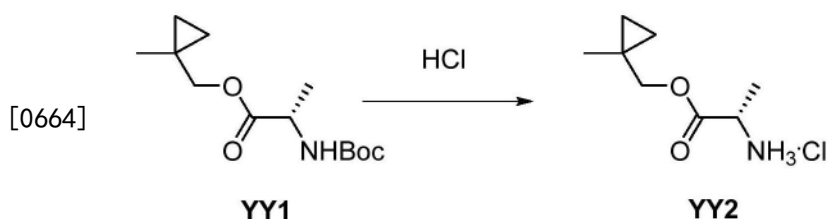
0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$ =2.91min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0660] 实施例49. 实施例47的第二洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.99 (s, 1H), 7.43-7.35 (m, 2H), 7.35-7.30 (m, 1H), 7.20-7.13 (m, 2H), 6.96 (d,  $J$ =4.7Hz, 1H), 5.39 (d,  $J$ =8.4Hz, 1H), 4.82-4.69 (m, 1H), 4.69-4.53 (m, 2H), 4.35 (d,  $J$ =5.2Hz, 1H), 4.28-4.15 (m, 2H), 4.15-4.07 (m, 2H), 3.99-3.84 (m, 1H), 1.35-1.26 (m, 12H), 1.22 (t,  $J$ =7.1Hz, 3H)。  $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  3.78。  $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  -238.79 (t,  $J$ =47.8Hz)。 LCMS: MS  $m/z$ =609.96 [M+1],  $t_R$ =1.45min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min。HPLC:  $t_R$ =2.94min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0661] 实施例50. (((((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢咪喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸(1-甲基环丙基)甲酯

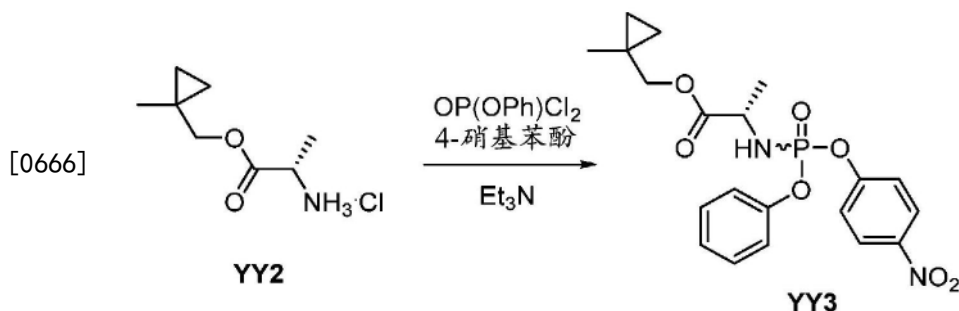


[0663] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(1-甲基环丙基)甲酯。在氩气氛下将1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(1.22g, 6.36mmol)添加到(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(1.00g, 5.29mmol)在10mL乙腈中的溶液中。15分钟后, 添加4-(二甲基氨基)-吡啶(0.71g, 5.81mmol), 然后添加(1-甲基环丙基)甲醇(0.51ml, 5.29mmol)。将反应在室温下搅拌2小时。将反应用乙酸乙酯(20mL)稀释, 并用5%柠檬酸水溶液(2 $\times$ 10mL)洗涤。将有机物用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)、水(5mL)、然后用盐水(10mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(使用0-10%乙酸乙酯的己烷溶液的梯度)纯化, 得到中间体YY1。  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.26 (d,  $J$ =7.4Hz, 1H), 4.09-3.69 (m, 3H), 1.38 (s, 9H), 1.25 (d,  $J$ =7.5Hz, 3H), 1.06 (s, 3H), 0.56-0.39 (m, 2H), 0.38-0.24 (m, 2H)。

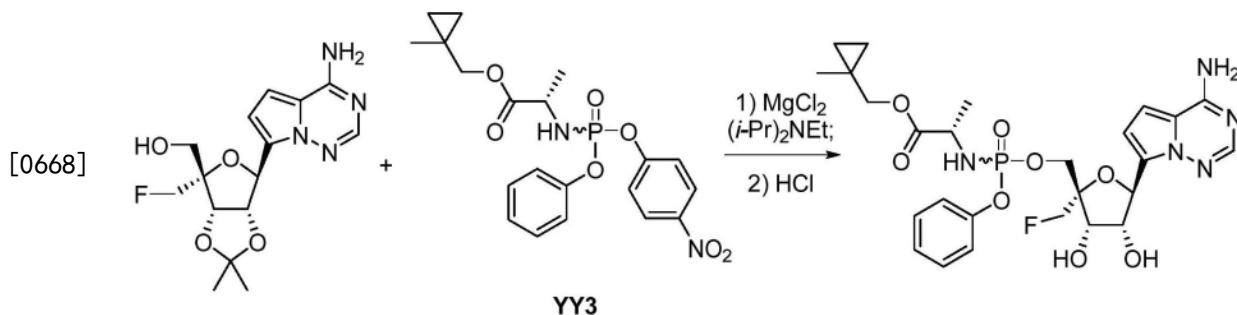


[0665] L-丙氨酸(1-甲基环丙基)甲酯盐酸盐。在0 $^{\circ}\text{C}$ 下将氯化氢4M的1,4-二噁烷溶液(3.7mL, 14.80mmol)添加到中间体YY1(1.85g, 7.19mmol)在二氯甲烷(10mL)中的溶液中。1

小时后,将反应浓缩。将残余物溶解在二氯甲烷(10mL)中并浓缩。重复前一步骤。中间体YY2 无需进一步纯化即用于下一反应。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.41 (s, 3H), 4.13 (q, J=7.2Hz, 1H), 4.07-3.91 (m, 2H), 1.43 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.10 (s, 3H), 0.56-0.47 (m, 2H), 0.39-0.33 (m, 2H)。



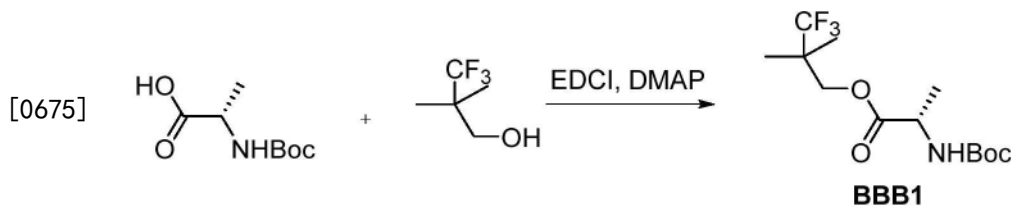
[0667] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸(1-甲基环丙基)甲酯。在0℃下将二氯磷酸苯酯(0.82mL, 5.45mmol)和三乙胺(1.58mL, 11.36mmol)相继添加到中间体YY2 (880mg, 4.54mmol)在二氯甲烷(15mL)中的悬浮液中。1小时后,然后在0℃下相继添加4-硝基苯酚(0.63g, 4.54mmol)和三乙胺(0.79mL, 5.8mmol),然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后,将反应混合物用二氯甲烷(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过硅胶色谱法(用0-100%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化,得到中间体YY3(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.34-8.27 (m, 2H), 7.55-7.37 (m, 4H), 7.31-7.17 (m, 3H), 6.78-6.65 (m, 1H), 4.13-3.97 (m, 1H), 3.89-3.76 (m, 2H), 1.31-1.21 (m, 3H), 1.02 (d, J=1.5Hz, 3H), 0.49-0.37 (m, 2H), 0.35-0.23 (m, 2H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -1.25, -1.44。LCMS: MS m/z = 433.02 [M-1], t<sub>R</sub> = 1.75min(次要), 1.77min(主要); LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min。



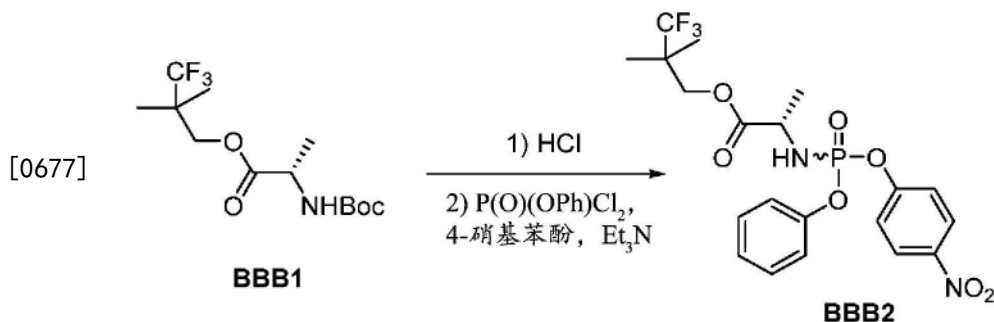
[0669] (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸(1-甲基环丙基)甲酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(40mg, 0.12mmol)、中间体YY3(67mg, 0.15mmol)和氯化镁(17mg, 0.18mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52μL, 0.30mmol)。将反应加热至50℃持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2mL)稀释。将有机物用水(2mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0℃下向残余物在乙腈(2mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3mL, 3.60mmol, 12M)。1小时后,将反应混合物用



## 2-二甲基丙酯

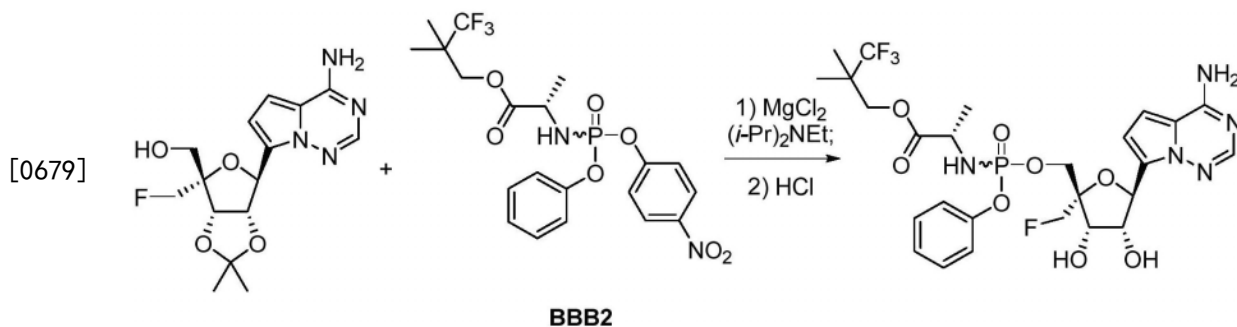


[0676] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酯。在氩气氛下将1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(2.43g,12.69mmol)添加到(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(2.00g,10.57mmol)在10mL乙腈中的溶液中。15分钟后,添加4-(二甲基氨基)-吡啶(1.42g,11.62mmol),然后添加3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙-1-醇(1.69mL,10.55mmol)。将反应在室温下搅拌2小时。将反应用乙酸乙酯(20mL)稀释,并用5%柠檬酸水溶液(2×10mL)洗涤。将有机物用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)、水(5mL)、然后用盐水(10mL)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(使用0-10%乙酸乙酯的己烷溶液的梯度)纯化,得到中间体BBB1。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.32(d,J=7.3Hz,1H),4.15(d,J=11.6Hz,1H),4.08-3.95(m,2H),1.37(s,9H),1.25(d,J=7.3Hz,3H),1.13-1.09(m,6H)。



[0678] ((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酯。将4M氯化氢的1,4-二噁烷溶液(10mL,40.00mmol)添加到中间体BBB1(1.88g,6.00mmol)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中。1小时后,将反应浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(15mL)并冷却至0℃。相继添加二氯磷酸苯酯(1.07mL,7.21mmol)和三乙胺(1.83mL,13.22mmol)。1小时后,然后在0℃下相继添加4-硝基苯酚(0.836g,6.00mmol)和三乙胺(0.92mL,7.00mmol),然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后,将反应混合物用二氯甲烷(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过硅胶色谱法(用0-100%乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化,得到中间体BBB2(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.30(d,J=8.9Hz,2H),7.56-7.36(m,4H),7.35-7.16(m,3H),6.85-6.64(m,1H),4.18-3.94(m,3H),1.30-1.23(m,3H),1.10(s,6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ-1.29,-1.46。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ-76.19,-76.19。

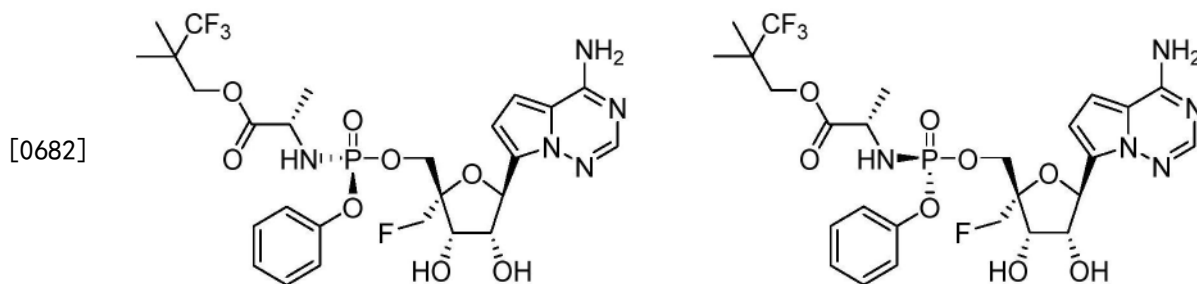




[0680] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸3,3,3-三氟-2,2-二甲基丙酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(40mg,0.12mmol)、BBB2(73mg,0.15mmol)和氯化镁(17mg,0.18mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52 $\mu$ L,0.30mmol)。将反应加热至50 $^{\circ}$ C持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2mL)稀释。将有机物用水(2mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0 $^{\circ}$ C下向残余物在乙腈(2mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3mL,3.60mmol,12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(5mL)和盐水(5mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ ,100x30mm,5-100乙腈的水溶液)纯化,得到产物。

LCMS:MS  $m/z=649.97$ [M+1],  $t_R=1.38$ min(次要),1.40min(主要);LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLCz;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min。

[0681] Sp和Rp非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(SFC chiralpack AD-H 5 $\mu$ m,250 $\times$ 21mm;异丙醇30%)将非对映体彼此分离。



[0683] 实施例54.实施例53的第一洗脱非对映体: $^1\text{H}$  NMR(400MHz,甲醇- $d_4$ ) $\delta$ 7.84(s,1H),7.38-7.30(m,2H),7.24-7.15(m,3H),7.00(d, $J=4.6$ Hz,1H),6.82(d, $J=4.6$ Hz,1H),5.38(d, $J=8.2$ Hz,1H),4.82-4.73(m,1H),4.70-4.62(m,2H),4.38(d, $J=5.3$ Hz,1H),4.31-4.24(m,2H),4.17(d, $J=11.5$ Hz,1H),4.09-4.03(m,1H),4.01-3.93(m,1H),1.37-1.26(m,3H),1.19-1.12(m,6H)。 $^{31}\text{P}$  NMR(162MHz,甲醇- $d_4$ ) $\delta$ 3.69。 $^1\text{H}$ 去耦 $^{19}\text{F}$  NMR(376MHz,甲醇- $d_4$ ) $\delta$ -78.76(s),-238.55(t, $J=47.8$ Hz)。LCMS:MS  $m/z=649.97$ [M+1],  $t_R=1.38$ min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$

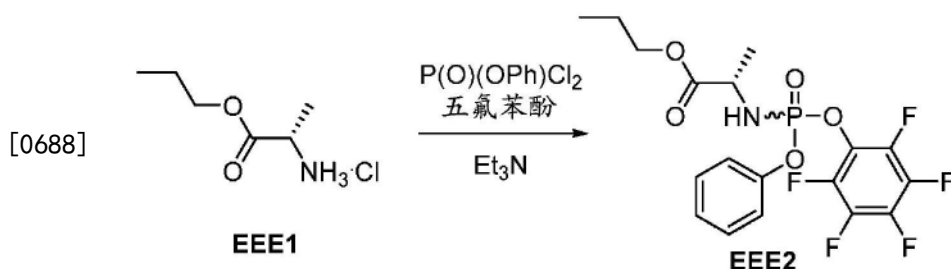
L/min。HPLC:  $t_R=2.88\text{min}$ ; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0684] 实施例55. 实施例53的第二洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.89 (s, 1H), 7.40-7.32 (m, 2H), 7.28-7.17 (m, 3H), 7.10 (d,  $J=4.6\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J=4.6\text{Hz}$ , 1H), 5.38 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 4.81-4.70 (m, 1H), 4.70-4.57 (m, 2H), 4.33 (d,  $J=5.2\text{Hz}$ , 1H), 4.29-4.14 (m, 3H), 4.07-3.91 (m, 2H), 1.34 (dd,  $J=7.2, 1.0\text{Hz}$ , 3H), 1.17-1.11 (m, 6H)。  $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  3.50。  $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  -78.77 (s), -238.67 (t,  $J=47.8\text{Hz}$ )。 LCMS: MS  $m/z=649.97$  [Mz+1],  $t_R=1.40\text{min}$ ; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ B-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1% 乙酸的乙腈, 含0.1% 乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100% 乙腈, 2.0min-3.05min 100% 乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2% 乙腈, 3.2min-3.5min 2% ACN, 2 $\mu$ L/min。 HPLC:  $t_R=2.89\text{min}$ ; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0685] 实施例56. (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸丙酯

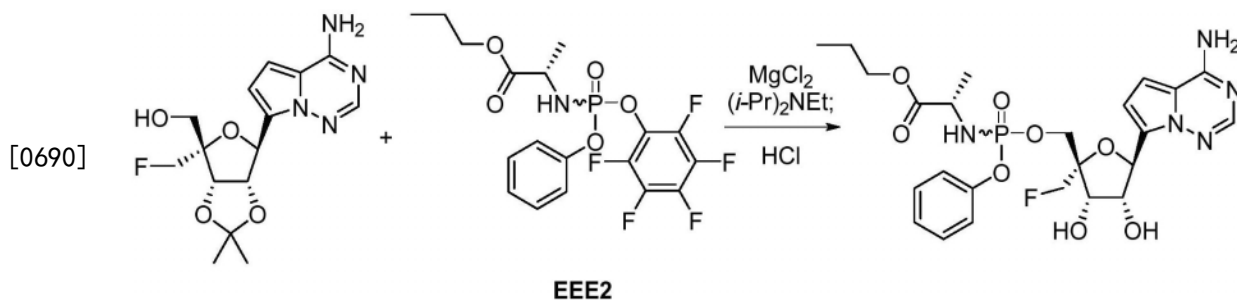


[0687] L-丙氨酸丙酯盐酸盐。向L-丙氨酸 (20.00g, 224.48mmol) 和1-丙醇 (200mL) 的混合物中添加三甲基氯硅烷 (30mL, 272.68mmol)。将所得混合物在70℃下在密封容器中搅拌15小时。将反应物减压浓缩。将固体压碎, 溶解在乙酸乙酯/己烷 (100mL, 50:50) 的混合物中并过滤。将滤饼用乙酸乙酯/己烷 (20mL, 50:50) 洗涤并在高真空下干燥, 得到中间体EEE1。  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.63 (s, 3H), 4.20-3.95 (m, 3H), 1.69-1.54 (m, 2H), 1.41 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H), 0.88 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 3H)。



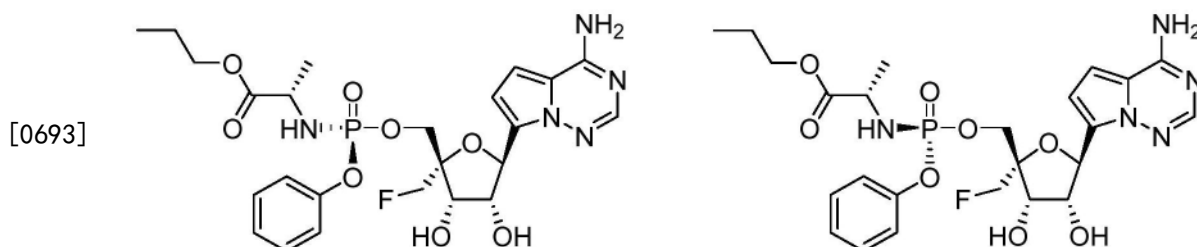
[0689] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸丙酯。在0℃下将二氯磷酸苯酯 (4.88mL, 32.81mmol) 和三乙胺 (9.12mL, 65.62mmol) 相继添加到EEE1 (5.00g, 29.83mmol) 在二氯甲烷 (50mL) 中的悬浮液中。1小时后, 在0℃下相继添加五氟苯酚 (5.49g, 29.83mmol) 和三乙胺 (4.55mL, 32.81mmol), 然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后, 将反应混合物用二氯甲烷 (100mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过硅胶色谱法 (使用0-30% 乙酸乙酯的己烷溶液的梯度) 纯化, 得到中间体EEE2 (非对映体混合物)。  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.46-7.38 (m, 2H),

7.30-7.18 (m, 3H), 6.89 (dd,  $J=14.1, 9.9$  Hz, 1H), 4.03-3.92 (m, 3H), 1.62-1.48 (m, 2H), 1.29 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 0.85 (t,  $J=7.4$  Hz, 3H).  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ -154.11--154.32 (m), -160.60--161.00 (m), -163.56--163.91 (m).  $^{31}\text{P}$  NMR (162 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 0.48. LCMS: MS  $m/z=453.9$  [M+1],  $t_R=1.81$  min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6 mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0 min-2.0 min 2-100%乙腈, 2.0 min-3.05 min 100%乙腈, 3.05 min-3.2 min 100%-2%乙腈, 3.2 min-3.5 min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min.



[0691] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸丙酯。在室温下将四氢呋喃(0.5 mL)添加到中间体4(40 mg, 0.12 mmol)、中间体EEE2(63 mg, 0.15 mmol)和氯化镁(17 mg, 0.18 mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52  $\mu$ L, 0.30 mmol)。将反应加热至50 $^{\circ}\text{C}$ 持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2 mL)稀释。将有机物用水(2 mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0 $^{\circ}\text{C}$ 下向残余物在乙腈(2 mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3 mL, 3.60 mmol, 12 M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5 mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(5 mL)和盐水(5 mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ , 100x30 mm, 5-100%乙腈的水溶液)纯化,得到实施例EEE(非对映体混合物)。LCMS: MS  $m/z=567.94$  [M+1],  $t_R=1.24$  min(次要), 1.26 min(主要); LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6 mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0 min-2.0 min 2-100%乙腈, 2.0 min-3.05 min 100%乙腈, 3.05 min-3.2 min 100%-2%乙腈, 3.2 min-3.5 min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min.

[0692]  $S_p$ 和 $R_p$ 非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(SFC chiralpack AD-H 5 $\mu$ m, 250 $\times$ 21 mm; 乙醇35%)将非对映体彼此分离。

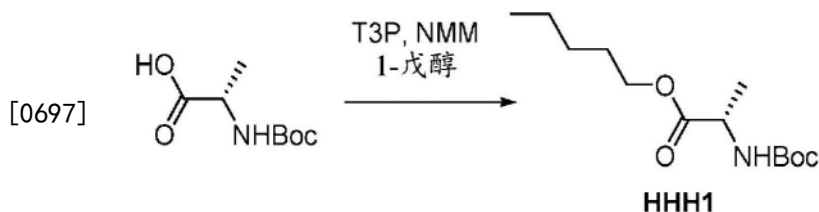


[0694] 实施例57. 实施例56的第一洗脱非对映体:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.96 (s, 1H), 7.36-7.28 (m, 2H), 7.25 (d,  $J=4.7$  Hz, 1H), 7.22-7.14 (m, 3H), 6.94 (d,  $J=4.7$  Hz, 1H), 5.39 (d,  $J=8.2$  Hz, 1H), 4.81-4.73 (m, 1H), 4.70-4.60 (m, 2H), 4.38 (d,  $J=5.2$  Hz, 1H), 4.33-4.21 (m, 2H), 4.11-3.99 (m, 2H), 3.97-3.87 (m, 1H), 1.70-1.57 (m, 2H), 1.33-1.27 (m, 3H), 0.93

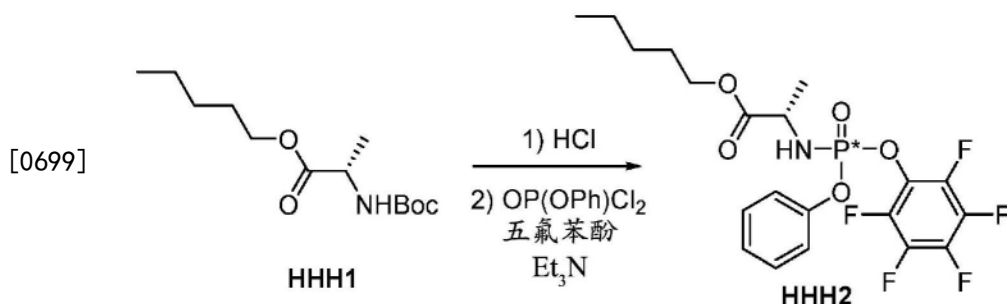
(t, J=7.4Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.59。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -236.94 (t, J=47.7Hz)。LCMS: MS m/z=567.94 [M], t<sub>R</sub>=1.24min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μl/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.53min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0695] 实施例58. 实施例56的第二洗脱非对映体: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.90 (s, 1H), 7.41-7.33 (m, 2H), 7.28-7.17 (m, 3H), 7.12 (d, J=4.6Hz, 1H), 6.85 (d, J=4.7Hz, 1H), 5.38 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.70-4.57 (m, 2H), 4.34 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.27-4.17 (m, 2H), 4.11-3.98 (m, 2H), 3.97-3.85 (m, 1H), 1.71-1.55 (m, 2H), 1.36-1.29 (m, 3H), 0.92 (t, J=7.4Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.59。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -237.39 (t, J=47.7Hz)。LCMS: MS m/z=567.94 [M+1], t<sub>R</sub>=1.26min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μl/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.57min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

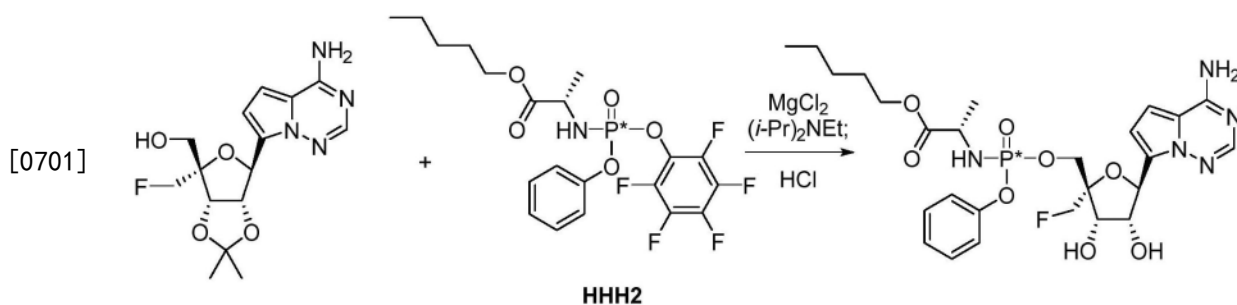
[0696] 实施例59. (((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸戊酯



[0698] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸戊酯。在0℃下在氩气氛下向(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(5.00g, 26mmol)和1-戊醇(2.12g, 24.05mmol)在100mL无水二氯甲烷中的搅拌溶液中添加4-甲基吗啉(7.93mL, 72.15mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶(59mg, 0.48mmol)和三丙基磷酸环酞(17.18mL, 28.86mmol, 50%的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用2×10%柠檬酸水溶液(20mL)洗涤, 用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)洗涤2次, 并用盐水(50mL)洗涤一次。将合并的有机物经硫酸钠干燥, 通过3cm硅胶层过滤, 将该硅胶层用另外的二氯甲烷(200mL)洗涤。将有机物减压浓缩, 与DCM共蒸馏并在高真空下干燥过夜。不进行进一步纯化, 中间体HHH1用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.26 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.25-3.80 (m, 3H), 1.65-1.48 (m, 2H), 1.41-1.18 (m, 16H), 1.00-0.74 (m, 3H)。



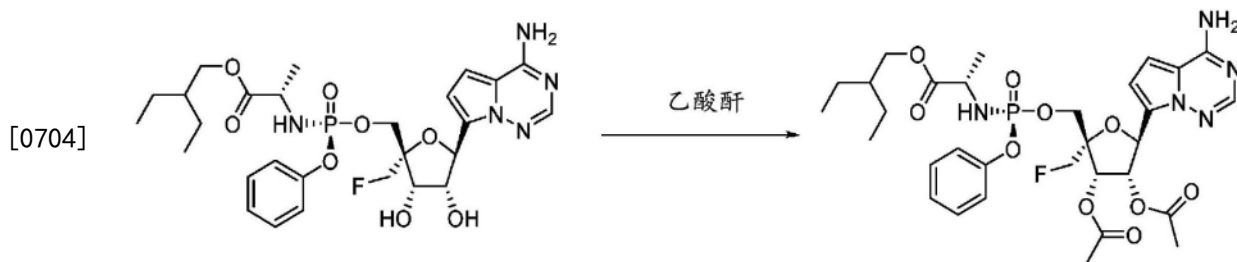
[0700] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸戊酯。将中间体HHH1 (6.11g, 22.3mmol) 溶解在二氯甲烷 (20mL) 中并冷却至0℃。添加氯化氢 (30.00mL, 120.00mmol, 4N的二噁烷溶液)。2小时后,将反应减压浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷 (30mL) 并冷却至0℃。相继添加二氯磷酸苯酯 (3.65mL, 24.53mmol) 和三乙胺 (6.80mL, 49.06mmol)。1小时后,然后在0℃下相继添加五氟苯酚 (4.0g, 22.30mmol) 和三乙胺 (3.40mL, 24.53mmol), 然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后,将反应混合物用二氯甲烷 (50mL) 稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液 (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤,经无水硫酸钠干燥,并通过3cm硅胶过滤。将垫用另外的二氯甲烷 (200mL) 洗涤。将有机物减压浓缩。将残余物溶解于热己烷 (30mL) 中,然后用己烷 (120mL) 稀释。将反应搅拌2小时,并通过过滤分离中间体HHH2。通过NMR光谱法确定中间体HHH2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.46-7.37 (m, 2H), 7.30-7.19 (m, 3H), 6.90 (dd, J=14.3, 9.9Hz, 1H), 4.07-3.93 (m, 3H), 1.58-1.48 (m, 2H), 1.33-1.20 (m, 7H), 0.88-0.77 (m, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -154.24 (d, J=21.5Hz), -160.86 (t, J=23.1Hz), -163.69 (dd, J=24.2, 20.4Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 0.47。LCMS: MS m/z=481.8 [M+1], t<sub>R</sub>=1.91min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min。



[0702] (((((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸戊酯。在室温下将四氢呋喃 (0.5mL) 添加到中间体4 (40mg, 0.12mmol)、中间体HHH2 (74mg, 0.15mmol) 和氯化镁 (17mg, 0.18mmol) 的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺 (52μL, 0.30mmol)。将反应加热至50℃持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯 (2mL) 稀释。将有机物用水 (2mL) 洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0℃下向残余物在乙腈 (2mL) 中的溶液中滴加盐酸水溶液 (0.3mL, 3.60mmol, 12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯 (5mL) 稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法 (Phenomenex Gemini 5μm C18

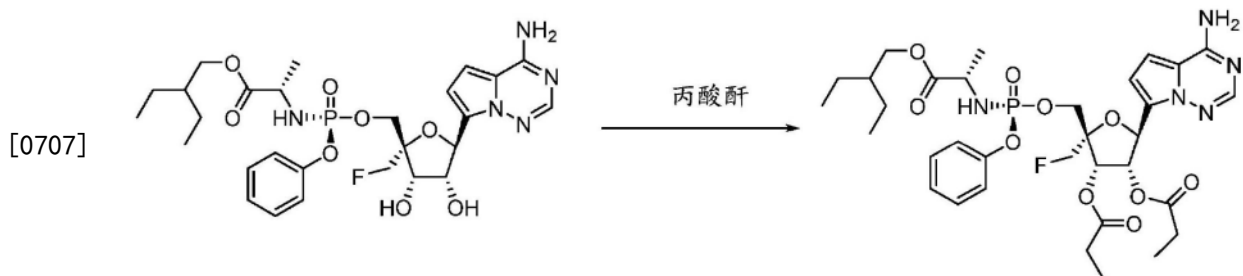
110Å, 100x30mm, 5-100乙腈的水溶液) 纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.80 (s, 1H), 7.39-7.31 (m, 2H), 7.29-7.15 (m, 3H), 6.87 (d, J=4.6Hz, 1H), 6.75 (d, J=4.5Hz, 1H), 5.36 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.81-4.57 (m, 3H), 4.34 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.21 (d, J=5.3Hz, 2H), 4.14-4.00 (m, 2H), 3.95-3.86 (m, 1H), 1.66-1.52 (m, 2H), 1.36-1.25 (m, 7H), 0.93-0.85 (m, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.59。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-238.85 (t, J=47.7Hz)。LCMS: MS m/z=595.97 [M+1], t<sub>R</sub>=1.43min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min HPLC: t<sub>R</sub>=2.87min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0703] 实施例60. (2R, 3S, 4S, 5S) - 5 - (4 - 氨基吡咯并 [2, 1 - f] [1, 2, 4] 三嗪 - 7 - 基) - 2 - (((S) - ((S) - 1 - (2 - 乙基丁氧基) - 1 - 氧代丙 - 2 - 基) 氨基) (苯氧基) 磷酰基) 氧基) 甲基) - 2 - (氟甲基) 四氢呋喃 - 3, 4 - 二基二乙酸酯



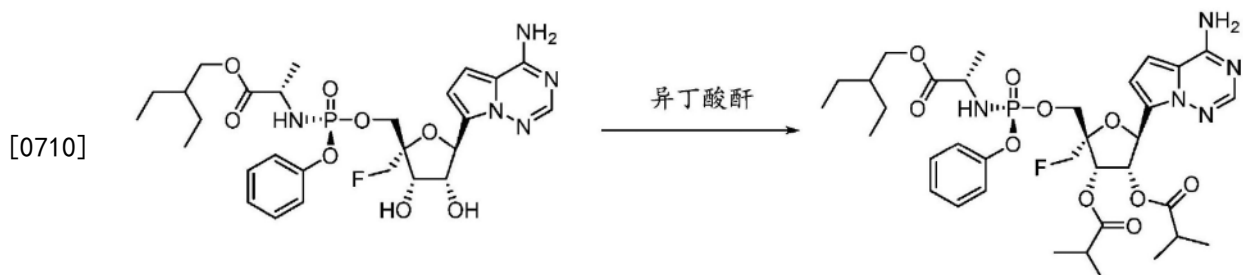
[0705] 在氩气下将乙酸酐 (11mg, 0.11mmol) 和实施例1 (33mg, 0.05mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (1.0mL) 中, 并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4 - 二甲氨基吡啶 (0.7mg, 0.005mmol), 并在室温下搅拌反应混合物。2小时后, 添加甲醇 (0.5mL), 并将混合物搅拌20分钟, 然后用乙酸乙酯 (10mL) 稀释, 并用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL) 洗涤两次, 并用盐水 (10mL) 洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5μm C18 110Å 100x30mm柱) 使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.82 (s, 1H), 7.38-7.31 (m, 2H), 7.28-7.23 (m, 2H), 7.22-7.17 (m, 1H), 6.86 (d, J=4.6Hz, 1H), 6.66 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.89-5.82 (m, 1H), 5.80 (d, J=5.5Hz, 1H), 5.59 (d, J=7.9Hz, 1H), 4.76-4.68 (m, 1H), 4.65-4.54 (m, 1H), 4.36-4.30 (m, 1H), 4.30-4.24 (m, 1H), 4.10-3.91 (m, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.57-1.43 (m, 1H), 1.41-1.28 (m, 7H), 0.88 (t, J=7.5Hz, 6H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.40。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-236.51 (t, J=46.9Hz)。LCMS: MS m/z=694.1 [M+1], t<sub>R</sub>=1.67min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min HPLC: t<sub>R</sub>=3.32min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0706] 实施例61. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(((S)-(((S)-1-(2-乙基丁氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基二丙酸酯



[0708] 在氩气下将丙酸酐(14mg,0.11mmol)和实施例1(33mg,0.05mmol)溶解于无水四氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4-二甲氨基吡啶(0.7mg,0.005mmol),并在室温下搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 7.83(s,1H),7.41-7.29(m,2H),7.29-7.23(m,2H),7.23-7.16(m,1H),6.89(d,J=4.6Hz,1H),6.67(d,J=4.6Hz,1H),5.92-5.79(m,2H),5.59(d,J=7.7Hz,1H),4.76-4.67(m,1H),4.65-4.54(m,1H),4.37-4.31(m,1H),4.29-4.24(m,1H),4.09-4.04(m,1H),4.03-3.94(m,2H),2.49-2.42(m,2H),2.31-2.23(m,2H),1.54-1.46(m,1H),1.40-1.31(m,7H),1.17(t,J=7.6Hz,3H),1.05(t,J=7.5Hz,3H),0.88(t,J=7.5Hz,6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 3.41。<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ -236.30(t,J=46.9Hz)。LCMS:MS m/z=722.0[M+1],t<sub>R</sub>=1.78min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min HPLC:t<sub>R</sub>=3.54min;Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

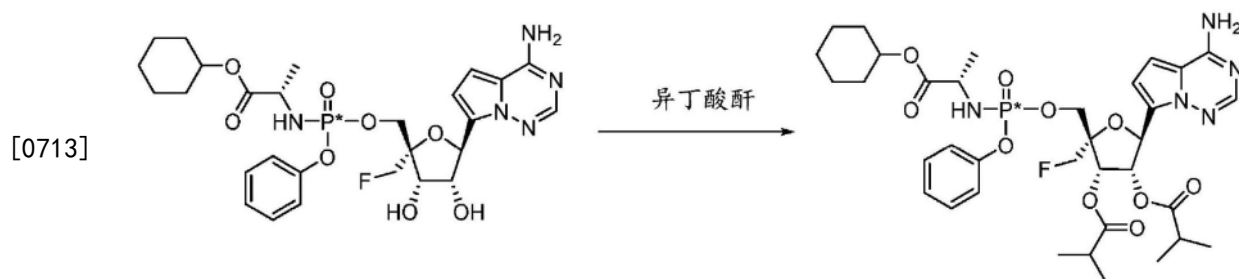
[0709] 实施例62. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(((S)-(((S)-1-(2-乙基丁氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0711] 在氩气下将异丁酸酐(18mg,0.11mmol)和实施例1(34mg,0.06mmol)溶解于无水四

氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4-二甲氨基吡啶(0.7mg, 0.006mmol),并在室温下搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 7.88(s, 1H), 7.37-7.28(m, 2H), 7.28-7.21(m, 2H), 7.21-7.16(m, 1H), 6.99(d, J=4.6Hz, 1H), 6.69(d, J=4.6Hz, 1H), 5.88-5.75(m, 2H), 5.66-5.53(m, 1H), 4.78-4.67(m, 1H), 4.63-4.54(m, 1H), 4.40-4.31(m, 1H), 4.31-4.23(m, 1H), 4.10-4.02(m, 1H), 4.02-3.89(m, 2H), 2.68(hep, J=7.0Hz, 1H), 2.47(hep, J=7.0Hz, 1H), 1.58-1.43(m, 1H), 1.39-1.30(m, 7H), 1.25-1.18(m, 6H), 1.08(d, J=7.0Hz, 3H), 1.03(d, J=7.0Hz, 3H), 0.87(t, J=7.5Hz, 6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 3.44。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ -235.60(t, J=46.8Hz)。LCMS:MS m/z =750.1[M+1], t<sub>R</sub>=1.88min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min HPLC:t<sub>R</sub>=3.73min;Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0712] 实施例63. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-((((((S)-1-(环己氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)-2-(氟甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)

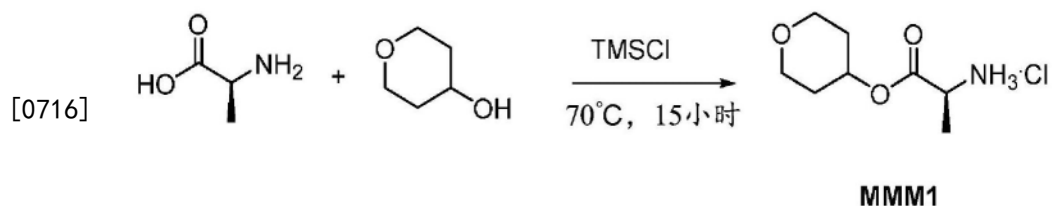


[0714] 在氩气下将丙酸酐(17mg,0.13mmol)和实施例14(40mg,0.07mmol)溶解于无水四氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4-二甲氨基吡啶(8mg,0.07mmol),并在室温下搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 7.83(s, 1H), 7.37-7.30(m, 2H), 7.29-7.23(m, 2H), 7.23-7.16(m, 1H), 6.87(d, J=4.6Hz, 1H), 6.65(d, J=4.6Hz, 1H), 5.88-5.79(m, 2H), 5.59(d, J=7.6Hz, 1H), 4.79-4.66(m, 2H), 4.66-4.55(m, 1H), 4.39-4.32(m, 1H), 4.31-4.25(m, 1H), 3.98-3.88(m, 1H), 2.68(hep, J=7.0, 1H), 2.47(hep, J=7.0, 1H), 1.85-1.76(m, 2H), 1.75-1.67(m, 2H), 1.58-1.49(m, 1H), 1.47-1.28(m, 8H), 1.24-1.21

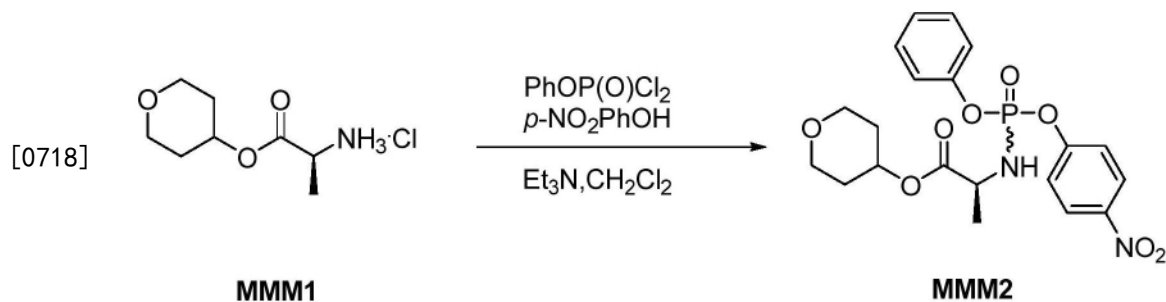


(m, 6H), 1.08 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.04 (d, J=6.9Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.45。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -235.50 (t, J=46.9Hz)。LCMS: MS m/z=748.1 [M+1], t<sub>R</sub>=1.85min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2% ACN, 2μL/min HPLC: t<sub>R</sub>=3.64min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

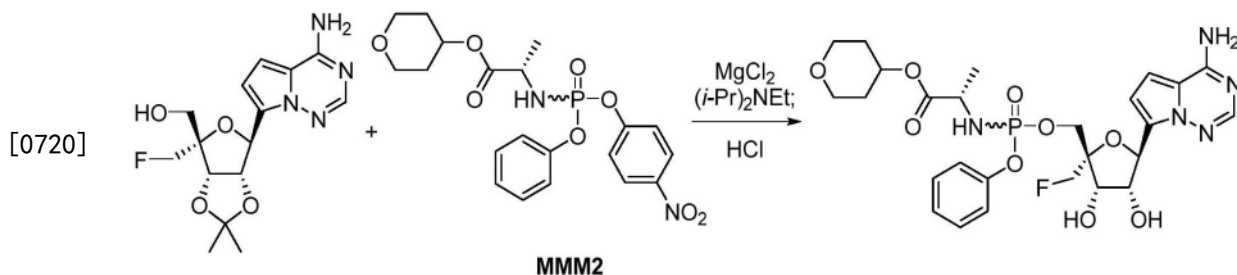
[0715] 实施例64. (((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸四氢-2H-吡喃-4-基酯



[0717] (S)-2-氨基丙氨酸四氢-2H-吡喃-4-基酯盐酸盐。向L-丙氨酸(500mg, 5.61mmol)和四氢-2H-吡喃-4-醇(5g, 49.0mmol)的混合物中添加TMSCl(2mL)。将所得混合物在70°C下搅拌15小时并真空浓缩,并将所得固体用5%EtOAc的己烷溶液萃取,过滤,并用5%EtOAc的己烷溶液洗涤几次。将所得固体在高真空下干燥15小时,得到中间体MMM1。由于固体的吸湿性质,将其原样用于随后的反应。



[0719] (2S)-2-(((4-硝基苯氧基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丙氨酸四氢-2H-吡喃-4-基酯。将中间体MMM1(1.33g, 6.34mmol)溶解于亚甲基氯(15mL)中,冷却至-78°C,并快速添加二氯磷酸苯酯(1.137mL, 7.61mmol)。在-78°C下在30分钟内添加三乙胺(2.2mL, 15.2mmol),并将所得混合物在-78°C下搅拌30分钟。然后一次性添加4-硝基苯酚(882mg, 6.34mmol),并在-78°C下在30分钟内添加三乙胺(1.1mL, 7.61mmol)。将混合物在-78°C下搅拌30分钟,用水(2×)、盐水洗涤,并经硫酸钠干燥。通过过滤除去硫酸钠,并将滤液真空浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法(EtOAc 0至70%的己烷溶液)纯化,得到中间体MMM2(非对映体混合物)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 8.22 (m, 2H), 7.49-7.06 (m, 7H), 4.95 (m, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.07-3.80 (m, 3H), 3.52 (m, 2H), 1.95-1.81 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 1.42 (m, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 氯仿-d) δ -3.09, -3.13。



[0721] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸四氢-2H-吡喃-4-基酯。在室温下将四氢呋喃(5mL)添加到中间体4(250mg,0.74mmol)、中间体MMM2(433mg,0.96mmol)和氯化镁(106mg,1.11mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(322 $\mu$ L,1.85mmol)。将反应加热至50 $^{\circ}$ C持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(20mL)稀释。将有机物用水(10mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0 $^{\circ}$ C下向残余物在乙腈(5mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.6mL,7.39mmol,12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(20mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)和盐水(10mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ ,100x30mm,5-100%乙腈的水溶液)纯化,得到产物(非对映体混合物)。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,甲醇- $d_4$ ) $\delta$ 7.86-7.82(m,1H),7.40-7.30(m,2H),7.28-7.15(m,3H),6.99-6.93(m,1H),6.83-6.77(m,1H),5.40-5.35(m,1H),4.95-4.88(m,1H),4.81-4.58(m,3H),4.40-4.31(m,1H),4.29-4.18(m,2H),3.97-3.78(m,3H),3.56-3.46(m,2H),1.92-1.82(m,2H),1.66-1.55(m,2H),1.34-1.25(m,3H)。 $^{31}\text{P}$  NMR(162MHz,甲醇- $d_4$ ) $\delta$ 3.75,3.56。 $^{19}\text{F}$  NMR(376MHz,甲醇- $d_4$ ) $\delta$ -238.53,-238.74。LCMS:MS  $m/z$ =610.01[M+1], $t_R$ =1.16min(次要),1.18min(主要);LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min HPLC: $t_R$ =2.32min(次要),2.37(主要);Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

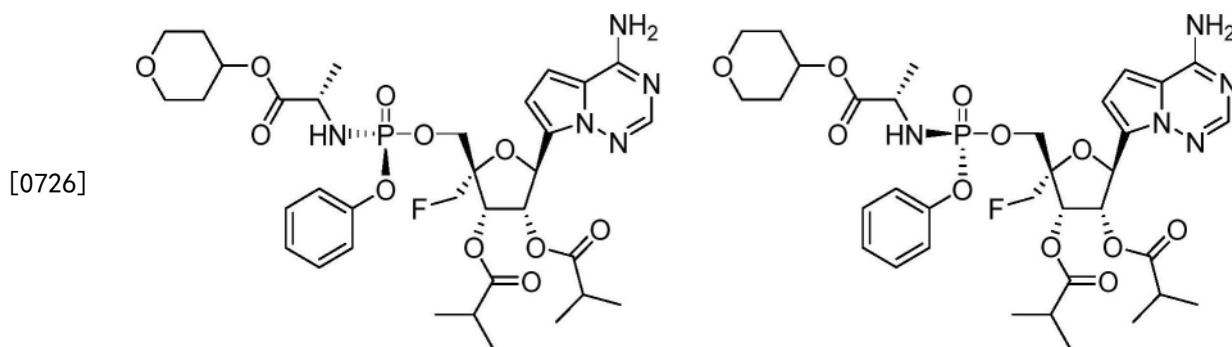
[0722] 实施例65. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-((((((S)-1-氧代-1-((四氢-2H-吡喃-4-基)氧基)丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0724] 在氩气下将异丁酸酐(26mg,0.16mmol)和实施例64(50mg,0.08mmol)溶解于无水四氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4-二甲氨基吡啶(8mg,

0.07mmol),并在室温下搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物(非对映体混合物)。LCMS:MS  $m/z=750.1[M+1]$ ,  $t_R=1.62\text{min}$ (主要),1.65(次要);LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ L/min。

[0725]  $S_p$ 和 $R_p$ 非对映体的拆分。通过手性制备型SFC(SFC chiralpack 1A 5 $\mu$ m,250 $\times$ 21mm;异丙醇30%)将非对映体彼此分离。



[0727] 实施例66. 实施例65的第一洗脱非对映体: $^1\text{H}$  NMR(400MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.81(s,1H), 7.39-7.30(m,2H), 7.26-7.16(m,3H), 6.85(d,  $J=4.4\text{Hz}$ , 1H), 6.77(d,  $J=4.6\text{Hz}$ , 1H), 5.96-5.90(m, 1H), 5.85(d,  $J=5.6\text{Hz}$ , 1H), 5.60(d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 4.95-4.89(m, 2H), 4.73(s, 1H), 4.62(s, 1H), 4.38-4.29(m, 2H), 3.96-3.80(m, 2H), 3.56-3.46(m, 2H), 2.73-2.64(m, 1H), 2.53-2.44(m, 1H), 1.91-1.83(m, 2H), 1.67-1.56(m, 2H), 1.35-1.20(m, 9H), 1.09(d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H), 1.05(d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H).  $^{31}\text{P}$  NMR(162MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.50.  $^1\text{H}$ 去耦 $^{19}\text{F}$  NMR(376MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -235.96。LCMS:MS  $m/z=750.08[M+1]$ ,  $t_R=1.62\text{min}$ ;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$  L/min HPLC: $t_R=3.23\text{min}$ ;Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

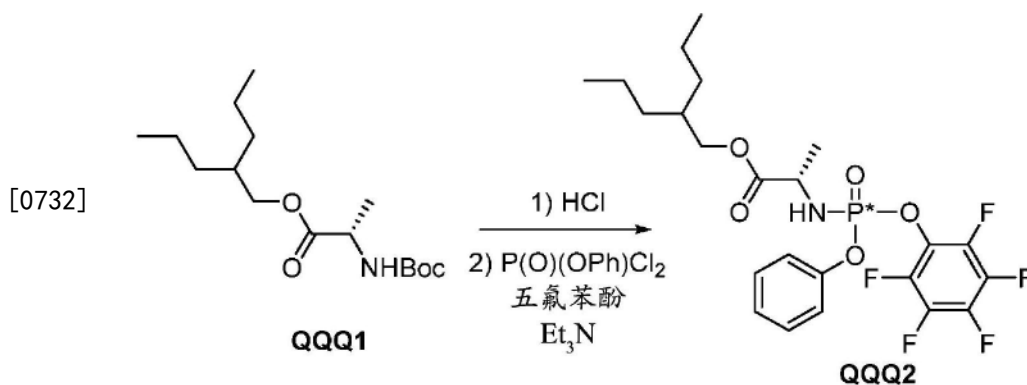
[0728] 实施例67. 实施例65的第二洗脱非对映体: $^1\text{H}$  NMR(400MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.80(s,1H), 7.38-7.30(m,2H), 7.29-7.23(m,2H), 7.22-7.17(m,1H), 6.80(d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H), 6.61(d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H), 5.87-5.79(m,2H), 5.60(d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 4.99-4.91(m,1H), 4.78-4.66(m, 1H), 4.66-4.54(m,1H), 4.40-4.32(m,1H), 4.32-4.25(m,1H), 4.02-3.92(m,1H), 3.90-3.82(m,2H), 3.57-3.46(m,2H), 2.74-2.64(m,1H), 2.51-2.42(m,1H), 1.95-1.83(m,2H), 1.69-1.56(m,2H), 1.37-1.28(m,3H), 1.23(d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H), 1.08(d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H), 1.03(d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H).  $^{31}\text{P}$  NMR(162MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.40.  $^1\text{H}$ 去耦 $^{19}\text{F}$  NMR(376MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -235.32。

LCMS:MS  $m/z=750.07[M+1]$ ,  $t_R=1.65\text{min}$ ; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min HPLC:  $t_R=3.24\text{min}$ ; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0729] 实施例68. (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-丙基戊酯

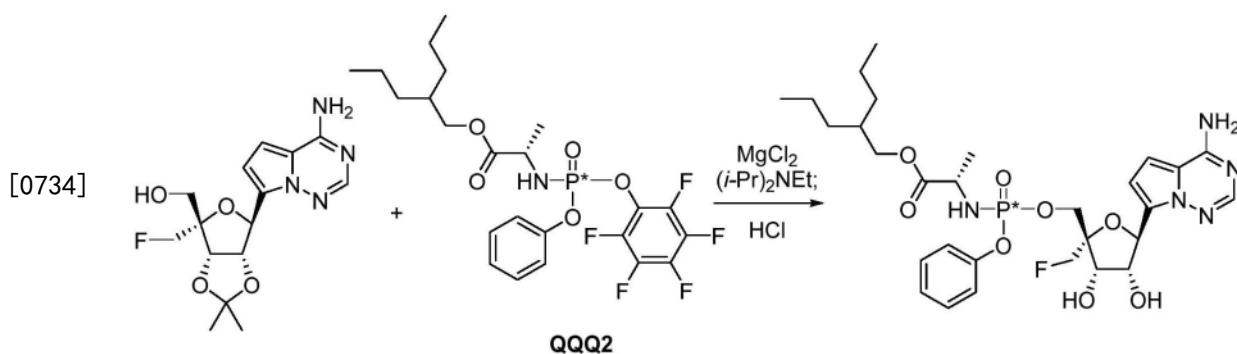


[0731] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸2-丙基戊酯。在0℃下在氩气氛下向(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(5.00g, 26.42mmol)和2-丙基戊-1-醇(3.13g, 24.02mmol)在100mL无水二氯甲烷中的搅拌溶液中添加4-甲基吗啉(7.92mL, 72.07mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶(59mg, 0.48mmol)和三丙基磷酸环酐(17.16mL, 28.83mmol, 50%的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用2×10%柠檬酸水溶液(20mL)洗涤, 用饱和碳酸氢钠水溶液(20mL)洗涤2次, 并用盐水(50mL)洗涤一次。将合并的有机物经硫酸钠干燥, 通过3cm硅胶层过滤, 将该硅胶层用另外的二氯甲烷(200mL)洗涤。将有机物减压浓缩, 与DCM共蒸馏并在高真空下干燥过夜。不进行进一步纯化, 中间体QQQ1用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.27 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 4.06-3.86 (m, 3H), 1.67-1.56 (m, 1H), 1.43-1.10 (m, 20H), 0.93-0.79 (m, 6H)。



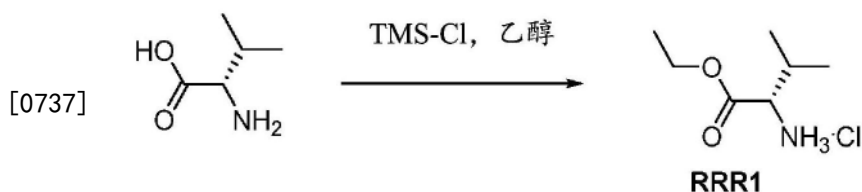
[0733] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-丙基戊酯。将4M氯化氢的1,4-二噁烷溶液(10mL, 40.00mmol)添加到中间体QQQ1(5.70g, 18.93mmol)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中。1小时后, 将反应浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(15mL)并冷却至0℃。相继添加二氯磷酸苯酯(3.10mL, 20.82mmol)和三乙胺(5.77mL, 41.64mmol)。1小时后, 然后在0℃下相继添加五氟苯酚(3.48g, 18.93mmol)和三乙胺(2.89mL, 20.82mmol), 然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后, 将反应混合物用二氯甲烷(50mL)稀释, 用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并通过3cm硅胶过滤。将硅胶饼用另外的二氯甲烷

(100mL) 洗涤。将有机物浓缩。将残余物溶解于30mL热己烷中,然后用120mL己烷稀释。将反应搅拌5小时,然后过滤以分离中间体QQQ2。通过NMR光谱法确定中间体QQQ2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.44-7.37 (m, 2H), 7.48-7.36 (m, 1H), 6.94-6.85 (m, 1H), 4.06-3.90 (m, 3H), 1.66-1.55 (m, 1H), 1.32-1.18 (m, 11H), 0.85-0.79 (m, 6H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.23 (d, J=22.6Hz), -160.88 (t, J=23.5Hz), -163.71 (t, J=22.0Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.44。LCMS:MS m/z=523.78[M+1], t<sub>R</sub>=2.04min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2% ACN, 2μl/min。

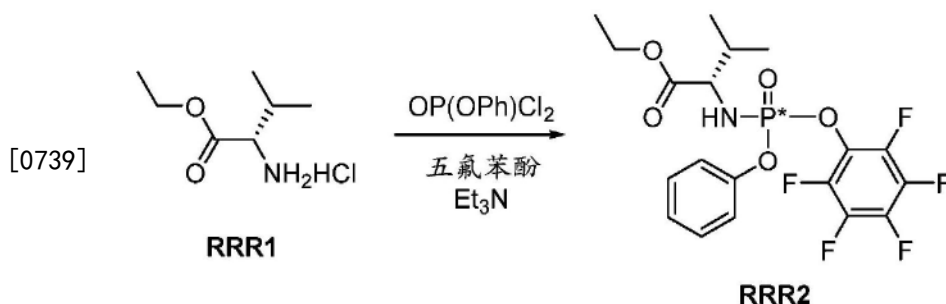


[0735] (((((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-丙基戊酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(40mg, 0.12mmol)、中间体QQQ2(80mg, 0.15mmol)和氯化镁(17mg, 0.18mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52μL, 0.30mmol)。将反应加热至50℃持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2mL)稀释。将有机物用水(2mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0℃下向残余物在乙腈(2mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3mL, 12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(5mL)和盐水(5mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5μm C18 110Å, 100x30mm, 5-100%乙腈的水溶液)纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.81 (s, 1H), 7.39-7.31 (m, 2H), 7.28-7.16 (m, 3H), 6.88 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.75 (d, J=4.5Hz, 1H), 5.36 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.81-4.57 (m, 3H), 4.34 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.26-4.17 (m, 2H), 4.07-4.01 (m, 1H), 3.98-3.88 (m, 2H), 1.69-1.61 (m, 1H), 1.38-1.20 (m, 11H), 0.94-0.83 (m, 6H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.55。<sup>1</sup>H去耦<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ-238.83。LCMS:MS m/z=638.03[M+1], t<sub>R</sub>=1.58min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2% ACN, 2μL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=3.29min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1%TFA的水, B: 含0.1%TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

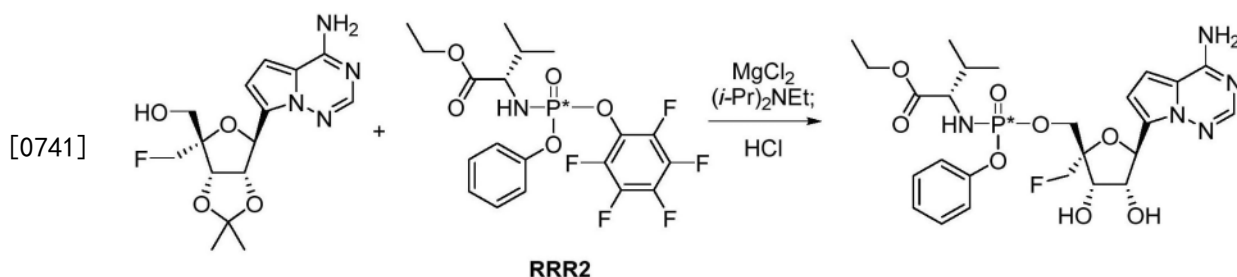
[0736] 实施例69. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-缬氨酸乙酯



[0738] L-缬氨酸乙酯盐酸盐。将三甲基氯硅烷(4.58mL, 36mmol)添加到L-缬氨酸(5.0g, 43mmol)在乙醇(20mL)中的溶液中。将反应在70℃下加热18小时。将反应减压浓缩。不进行进一步纯化,中间体RRR1用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.58(s, 3H), 4.31-4.14(m, 2H), 3.87-3.80(m, 1H), 2.24-2.13(m, 1H), 1.24(t, J=7.1Hz, 3H), 0.99(d, J=7.0Hz, 3H), 0.95(d, J=6.9Hz, 3H)。

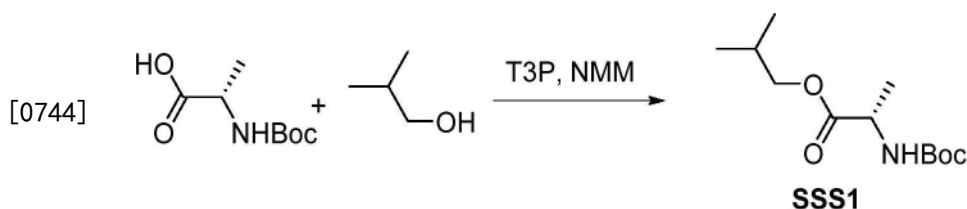


[0740] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-缬氨酸乙酯。将中间体RRR1(7.40g, 40.74mmol)溶解于二氯甲烷(15mL)中并冷却至0℃。相继添加二氯磷酸苯酯(6.67mL, 44.81mmol)和三乙胺(12.42mL, 89.62mmol)。1小时后,然后在0℃下相继添加五氟苯酚(7.50g, 40.74mmol)和三乙胺(6.21mL, 44.81mmol),然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后,将反应混合物用二氯甲烷(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并通过3cm硅胶过滤。将硅胶饼用另外的二氯甲烷(100mL)洗涤。将有机物浓缩。将残余物溶解于30mL热己烷中,然后用120mL己烷稀释。将反应搅拌5小时,然后过滤以分离中间体RRR2。通过NMR光谱法确定中间体RRR2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.48-7.34(m, 2H), 7.28-7.18(m, 3H), 6.81-6.71(m, 1H), 4.07(q, J=7.1Hz, 2H), 3.69-3.58(m, 1H), 2.01-1.88(m, 1H), 1.16(t, J=7.1Hz, 3H), 0.80(d, J=6.8Hz, 3H), 0.76(d, J=6.8Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.30(d, J=21.4Hz), -161.10(t, J=23.3Hz), -163.77(dd, J=24.0, 20.1Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ1.95。LCMS:MS m/z=467.87[M+1], t<sub>R</sub>=1.85min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min。



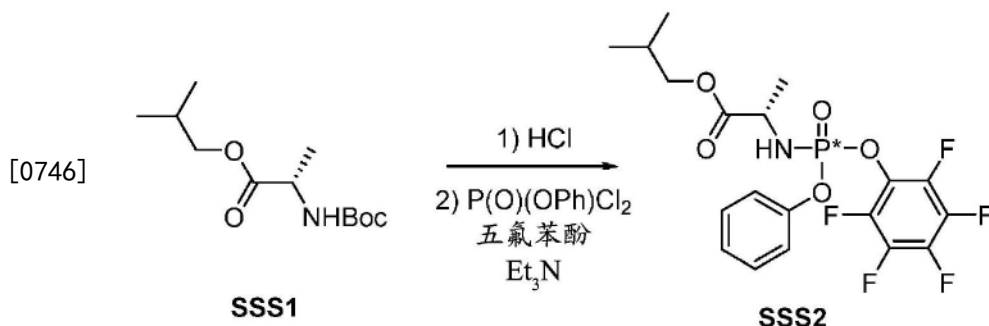
[0742] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-缬氨酸乙酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(40mg,0.12mmol)、中间体RRR2(72mg,0.15mmol)和氯化镁(17mg,0.18mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52 $\mu$ L,0.30mmol)。将反应加热至50 $^{\circ}$ C持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2mL)稀释。将有机物用水(2mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0 $^{\circ}$ C下向残余物在乙腈(2mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3mL,12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(5mL)和盐水(5mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ , 100x30mm,5-100%乙腈的水溶液)纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 7.84(s,1H),7.40-7.31(m,2H),7.27-7.15(m,3H),6.97(d,J=4.5Hz,1H),6.79(d,J=4.5Hz,1H),5.36(d,J=8.4Hz,1H),4.81-4.71(m,1H),4.70-4.59(m,2H),4.35(d,J=5.1Hz,1H),4.26-4.20(m,2H),4.16-4.05(m,2H),3.64(dd,J=9.9,6.2Hz,1H),2.05-1.95(m,1H),1.21(t,J=7.2Hz,3H),0.93(t,J=7.7Hz,6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ 4.41。<sup>1</sup>H去耦<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) $\delta$ -238.95。LCMS:MS m/z=581.94 [M+1], $t_R$ =1.30min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x4.6mm;溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水;梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈,2.0min-3.05min 100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ l/min HPLC: $t_R$ =2.64min;Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。

[0743] 实施例70. (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸异丁酯

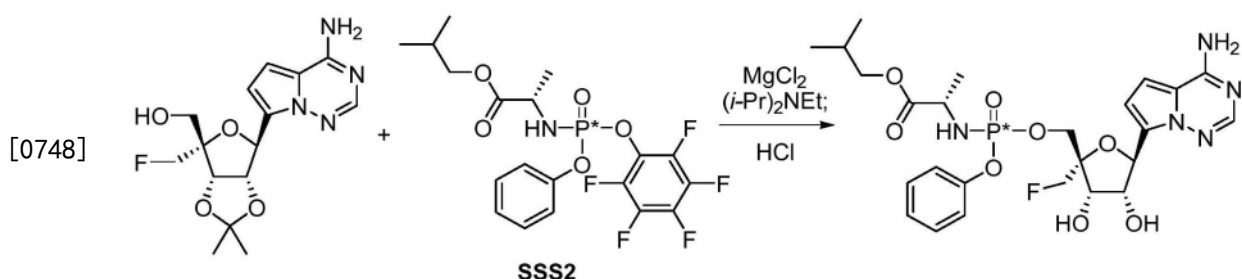


[0745] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸异丁酯。在0 $^{\circ}$ C下在氩气氛下向(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(1.00g,5.29mmol)和1-甲基丙-1-醇(0.60mL,6.34mmol)在10mL无水二氯甲烷中的搅拌溶液中添加4-甲基吗啉(1.74mL,15.86mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶(13mg,0.11mmol)和三丙基磷酸环酐(3.78mL,6.34mmol,50%的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物用2 $\times$ 10%柠檬酸水溶液(20mL)洗涤,用饱和碳酸氢钠水溶液

(20mL) 洗涤2次,并用盐水(50mL)洗涤一次。将合并的有机物经硫酸钠干燥,通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用另外的二氯甲烷(200mL)洗涤。将有机物减压浓缩,与DCM共蒸馏并在高真空下干燥过夜。不进行进一步纯化,中间体SSS1用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.26(d, J=7.4Hz, 1H), 4.08-3.94(m, 1H), 3.93-3.72(m, 2H), 1.93-1.78(m, 1H), 1.44-1.29(m, 9H), 1.24(d, J=7.4Hz, 3H), 0.88(d, J=6.7Hz, 6H)。



[0747] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸异丁酯。将4M氯化氢的1,4-二噁烷溶液(10mL, 40.00mmol)添加到中间体SSS1(12.15g, 49.54mmol)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中。1小时后,将反应浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(15mL)并冷却至0℃。相继添加二氯磷酸苯酯(8.11mL, 54.50mmol)和三乙胺(15.11mL, 108.99mmol)。1小时后,然后在0℃下相继添加五氟苯酚(9.12g, 49.54mmol)和三乙胺(7.55mL, 54.50mmol),然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后,将反应混合物用二氯甲烷(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并通过3cm硅胶过滤。将硅胶并用另外的二氯甲烷(100mL)洗涤。将有机物浓缩。将残余物溶解于30mL热己烷中,然后用120mL己烷稀释。将反应搅拌5小时,然后通过过滤分离中间体SSS2。通过NMR光谱法确定中间体SSS2为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.45-7.38(m, 2H), 7.23(dd, J=11.2, 7.8Hz, 3H), 6.91(dd, J=14.2, 10.0Hz, 1H), 4.07-3.94(m, 1H), 3.81(d, J=6.6Hz, 2H), 1.89-1.79(m, 1H), 1.29(d, J=7.1Hz, 3H), 0.86(d, J=6.7Hz, 6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 0.49。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -154.25(d, J=21.3Hz), -160.86(t, J=23.3Hz), -163.55--163.79(m)。LCMS:MS m/z=467.8[M+1], t<sub>R</sub>=1.88min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈,含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μL/min。

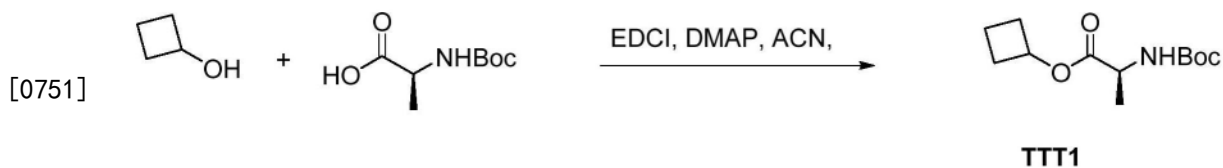


[0749] (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸异丁酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(40mg, 0.12mmol)、中间体SSS2(72mg, 0.15mmol)和氯化镁(17mg, 0.18mmol)的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺(52μ

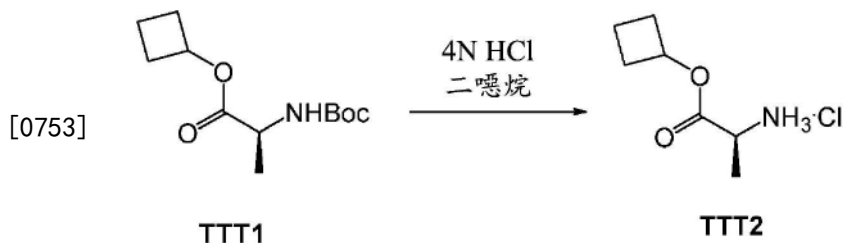


L, 0.30mmol)。将反应加热至50℃持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯(2mL)稀释。将有机物用水(2mL)洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0℃下向残余物在乙腈(2mL)中的溶液中滴加盐酸水溶液(0.3mL, 12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(5mL)稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液(5mL)和盐水(5mL)洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å, 100x30mm, 5-100%乙腈的水溶液)纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.84 (s, 1H), 7.39-7.32 (m, 2H), 7.27-7.17 (m, 3H), 6.96 (d, J=4.6Hz, 1H), 6.79 (d, J=4.6Hz, 1H), 5.37 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.81-4.70 (m, 1H), 4.70-4.58 (m, 2H), 4.34 (d, J=5.1Hz, 1H), 4.25-4.17 (m, 2H), 3.98-3.80 (m, 3H), 1.95-1.85 (m, 1H), 1.32 (d, J=7.1Hz, 3H), 0.91 (d, J=6.7Hz, 6H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.57。<sup>1</sup>H去耦<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  -238.78。LCMS:MS m/z=581.97 [M+1], t<sub>R</sub>=1.35min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ L/min HPLC: t<sub>R</sub>=2.73min; Agilent 1290II; 柱:Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂:A:含0.1%TFA的水, B:含0.1%TFA的乙腈; 梯度:8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0750] 实施例71. (((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环丁酯

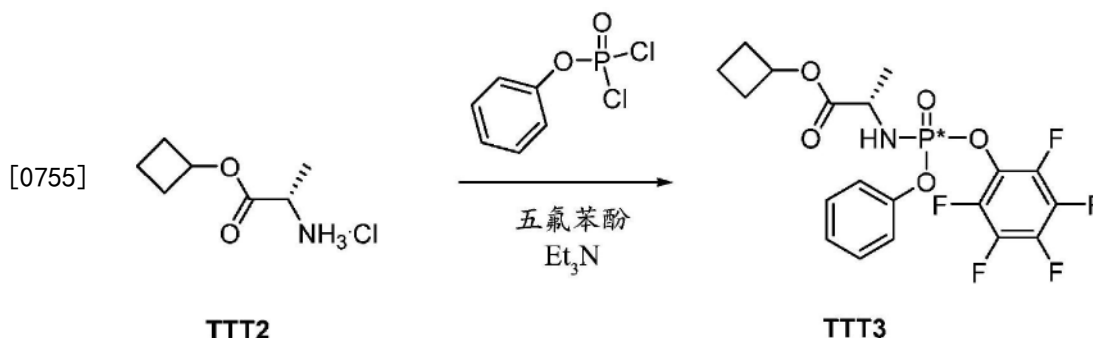


[0752] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸环丁酯。将(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸(9.447g, 0.05mol)溶解在乙腈(36mL)中,并一次性添加环丁醇(3g, 0.042mol),然后添加EDCI(8.396g, 0.054mol)和DMAP(7.624g, 0.062mol)。将反应在室温下搅拌4小时。将反应用二氯甲烷和水稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,然后减压浓缩。通过硅胶色谱法用0-30%乙酸乙酯/己烷进行纯化,得到中间体TT1。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.21 (d, J=7.3Hz, 1H), 4.87 (p, J=7.4Hz, 1H), 3.91 (h, J=7.3Hz, 1H), 2.20-2.28 (m, 2H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.78-1.65 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.19 (d, J=7.4Hz, 3H)。

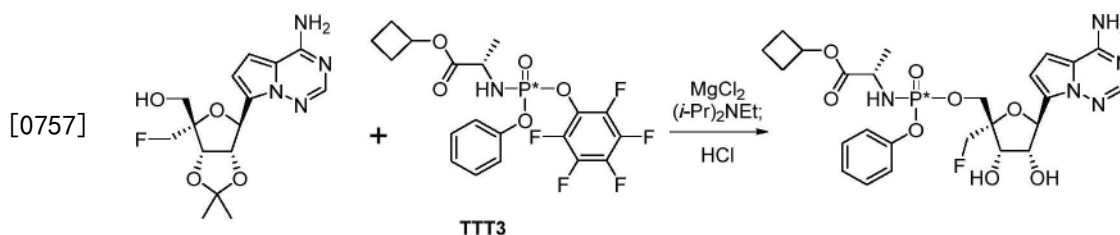


[0754] L-丙氨酸环丁酯盐酸盐。将中间体TTT1(8g, 0.033mol)溶解在无水二氯甲烷(88mL)和4N HCl的二噁烷溶液(41.1mL, 0.164mol)中。将反应在环境温度下搅拌4小时。将反应减压浓缩并与二氯甲烷共蒸发。将残余物置于高真空下过夜,并且中间体TTT2无需纯

化按原样用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.65 (s, 3H), 5.03-4.90 (m, 1H), 3.97 (q, J=7.2Hz, 1H), 2.34-2.21 (m, 2H), 2.04 (m, 2H), 1.82-1.68 (m, 1H), 1.68-1.51 (m, 1H), 1.39 (d, J=7.2Hz, 3H)。



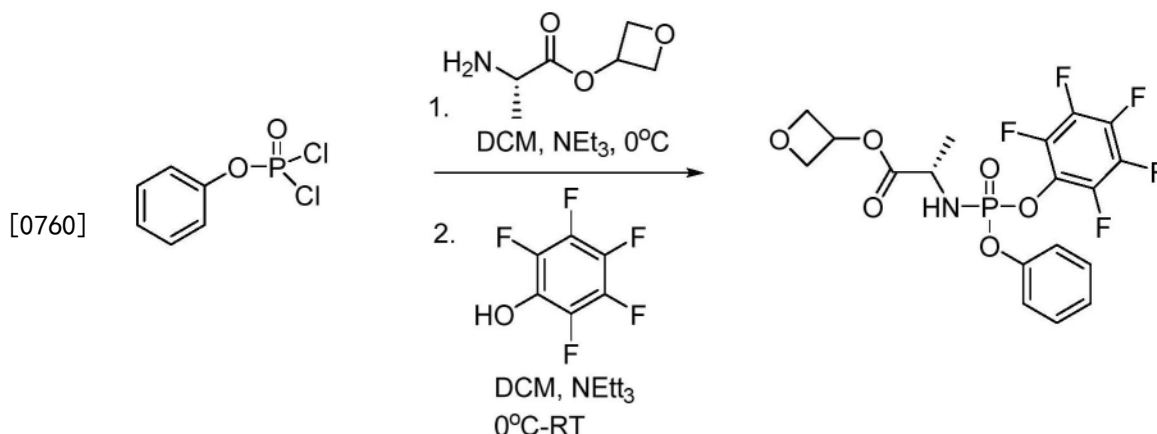
[0756] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环丁酯。在0℃下在氩气氛下向中间体TTT2(5.67g, 31.56mmol)和二氯磷酸苯酯(4.696mL, 31.56mmol)在无水二氯甲烷(100mL)的溶液中添加三乙胺(9.76mL, 69.44mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌1小时。然后添加五氟苯酚(5.81g, 31.56mmol)和三乙胺(4.88mL, 34.72mmol)。在0℃下搅拌1小时后,将反应混合物用Et<sub>2</sub>O稀释并滤出固体。将粗制品减压浓缩并通过硅胶色谱法使用0-100%乙酸乙酯/己烷的洗脱剂梯度纯化,得到所需化合物,为非对映体混合物。将获得的化合物在高真空中干燥,使得凝固。将二异丙醚添加到凝固的物质中,并超声处理,得到细固体。通过过滤分离固体。用二异丙醚进行另一轮超声处理并过滤,得到中间体TTT3。通过NMR光谱法确定中间体TTT3为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.40 (dd, J=8.8, 7.0Hz, 2H), 7.27-7.16 (m, 3H), 6.85 (dd, J=14.1, 9.9Hz, 1H), 4.91-4.78 (m, 1H), 4.00-3.82 (m, 1H), 2.28-2.15 (m, 2H), 1.99-1.84 (m, 2H), 1.76-1.63 (m, 1H), 1.56 (m, 1H), 1.25 (dd, J=7.1, 1.2Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ -154.11--154.31 (m), -160.88 (t, J=23.3Hz), -163.67 (t, J=23.6Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 0.45。LCMS: MS m/z=465.94[M+1]; t<sub>R</sub>=1.67min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100%乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2%乙腈, 1.85min-2.00min 2%ACN, 1800μL/min。



[0758] (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环丁酯。在室温下向中间体4(0.1g, 0.296mmol)、中间体TTT3(0.151g, 0.325mmol)和氯化镁(0.042g, 0.0443mmol)的混合物中添加四氢呋喃(1.5mL),然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.129mL, 0.739mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将获得的残余物用饱和氯化钠溶液和乙酸乙酯稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。使用制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150x30mm柱, 15%-85%乙腈/水)纯化

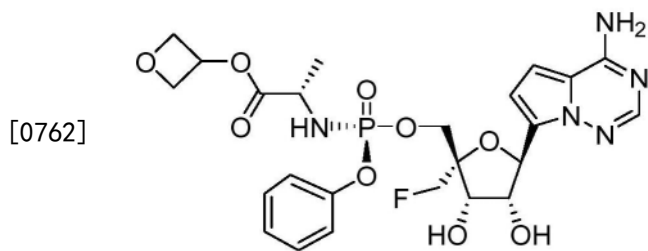
获得的残余物。将级分合并并减压浓缩。将获得的残余物溶解于无水乙腈 (3mL) 中并在冰浴中冷却, 然后滴加浓盐酸 (0.133mL, 1.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。1小时后, 将反应混合物在冰浴中冷却并用饱和碳酸氢钠水溶液中中和。将分离的固体通过过滤分离, 用水洗涤并通过硅胶色谱法用0-20% 甲醇/二氯甲烷纯化, 得到产物, 通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.78 (s, 1H), 7.39-7.30 (m, 2H), 7.27-7.14 (m, 3H), 6.84 (d, J=4.5Hz, 1H), 6.73 (d, J=4.5Hz, 1H), 5.36 (d, J=8.3Hz, 1H), 4.99-4.86 (m, 1H), 4.82-4.56 (m, 3H), 4.34 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.24-4.15 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 2.35-2.22 (m, 2H), 2.02 (m, 2H), 1.82-1.68 (m, 1H), 1.69-1.53 (m, 1H), 1.28 (dd, J=7.1, 1.0Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ -238.78 (dd, J=48.6, 46.9Hz)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.52。LCMS: MS m/z=580.05 [M+1]; t<sub>R</sub>=1.08min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1% 甲酸的乙腈, 含0.1% 甲酸的水; 梯度: 0min-1.8min 2-100% 乙腈, 1.8min-1.85min 100%-2% 乙腈, 1.85min-2.00min 2% ACN, 1800μL/min。HPLC: t<sub>R</sub>=4.415min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6u 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min 梯度为2-98% B, 1.5mL/min。

[0759] 实施例72. ((S)-((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸氧杂环丁烷-3-基酯



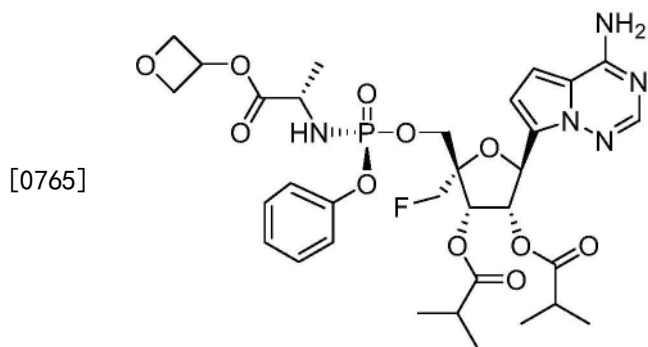
[0761] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酸基)-L-丙氨酸氧杂环丁烷-3-基酯。向L-丙氨酸氧杂环丁烷-3-基酯 (1.98g, 9.55mmol) 在DCM (50ml) 中的溶液中一次性添加二氯磷酸苯酯 (2.01g, 9.55mmol)。将所得混合物冷却至 $0^\circ\text{C}$ , 并滴加三乙胺 (0.97g, 9.55mmol)。在移除冰浴后, 将所得混合物搅拌30分钟并冷却至 $0^\circ\text{C}$ , 并且一次性添加2,3,4,5,6-五氟苯酚 (1.76g, 9.55mmol), 并滴加三乙胺 (0.97g, 9.55mmol)。在移除冰浴后, 将所得混合物搅拌30分钟, 用EtOAc稀释, 并用水和盐水洗涤, 将有机溶剂真空浓缩, 并将所得残余物通过硅胶柱色谱法 (用0-100% 乙酸乙酯的己烷溶液洗脱) 纯化, 得到中间体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.38-7.34 (m, 2H), 7.28-7.19 (m, 3H), 5.49-5.43 (m, 1H), 4.91-4.85 (m, 2H), 4.63-4.56 (m, 2H), 4.27-4.22 (m, 1H), 4.06-4.02 (m, 1H), 1.51-1.48 (m, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 氯仿-d) δ 0.38, 0.22。LCMS: MS m/z=468.01 [M+1], t<sub>R</sub>=1.63min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1% 乙酸的乙腈, 含0.1% 乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100% 乙腈, 2.0min-3.05min

100%乙腈,3.05min-3.2min 100%-2%乙腈,3.2min-3.5min 2%ACN,2 $\mu$ l/min。HPLC: $t_R$ =3.15min;HPLC系统:Agilent 1290II;柱:Phenomenex Kinetex C18,2.6 $\mu$  110A,100x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:8.5min梯度为2-98%B,1.5mL/min。



[0763] 在室温下向中间体4 (0.0345g,0.103mmol)、((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸氧杂环丁烷-3-基酯(0.626g,0.134mmol)和氯化镁(0.015g,0.155mmol)的混合物中添加四氢呋喃(1.0mL),然后添加N,N-二异丙基乙胺(0.063mL,0.361mmol)。将所得混合物在50℃下搅拌1.5小时。然后将反应混合物减压浓缩,并将获得的残余物用饱和氯化钠溶液和乙酸乙酯稀释。分层并将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。使用制备型HPLC(Phenomenex Synergi 4u Hydro-RR 80 $\text{\AA}$ 150x30mm柱,15%-85%乙腈/水)纯化获得的残余物。将级分合并并减压浓缩。LCMS:MS  $m/z$ =581.97[M]; $t_R$ =1.12min;LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.8min 2-100%乙腈,1.8min-1.85min 100%-2%乙腈,1.85min-2.00min 2%乙腈,1800 $\mu$ l/min。HPLC: $t_R$ =3.37min;Agilent Infinity 1290II;柱:Phenomenex Kinetex 2.8 $\mu$ C18 100A,100x4.6mm;溶剂:含0.1%三氟乙酸的乙腈,含0.1%三氟乙酸的水;梯度:0-0.55min 2%乙腈,0.55-8.55min 2-98%乙腈,8.55-9.25min 98%乙腈,1500 $\mu$ l/min

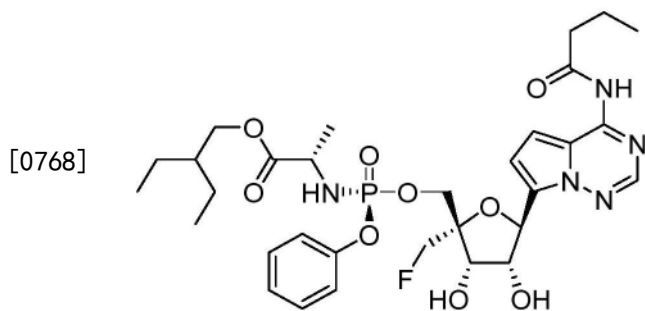
[0764] 实施例73. (2R,3S,4S,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-2-(((S)-((S)-1-(氧杂环丁烷-3-基氧基)-1-氧代丙-2-基)氨基)(苯氧基)磷酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3,4-二基双(2-甲基丙酸酯)



[0766] 在氩气下将异丁酸酐(8.2mg,0.05mmol)和实施例72(15mg,0.03mmol)溶解于无水四氢呋喃(1.0mL)中,并将混合物在室温下搅拌5分钟。添加4-二甲氨基吡啶(0.3mg,0.003mmol),并在室温下搅拌反应混合物。2小时后,添加甲醇(0.5mL),并将混合物搅拌20分钟,然后用乙酸乙酯(10mL)稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)洗涤两次,并用盐水(10mL)洗涤一次。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物通过制备型HPLC

(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ 100x30mm柱)使用10-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 8.14 (s, 2H), 7.37 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.31-7.18 (m, 4H), 6.98 (d, J=4.6Hz, 2H), 6.84 (dd, J=36.1, 4.5Hz, 1H), 5.45 (d, J=5.7Hz, 2H), 5.21 (t, J=6.1Hz, 2H), 4.97 (d, J=6.4Hz, 2H), 4.89-4.82 (m, 1H), 4.71 (d, J=47.0Hz, 1H), 4.62-4.54 (m, 1H), 4.37 (d, J=4.7Hz, 1H), 3.78 (d, J=11.4Hz, 2H), 3.67 (d, J=11.4Hz, 2H), 2.71 (p, J=7.0Hz, 1H), 2.52 (p, J=7.0Hz, 1H), 1.33-1.29 (m, 3H), 1.25 (d, J=7.0Hz, 6H), 1.12 (d, J=7.0Hz, 3H), 1.08 (d, J=7.0Hz, 3H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ 3.50。去耦<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ -235.96 (s)。LCMS:MS m/z = 722.1 [M+1], t<sub>R</sub> = 1.56min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ XB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ l/min。

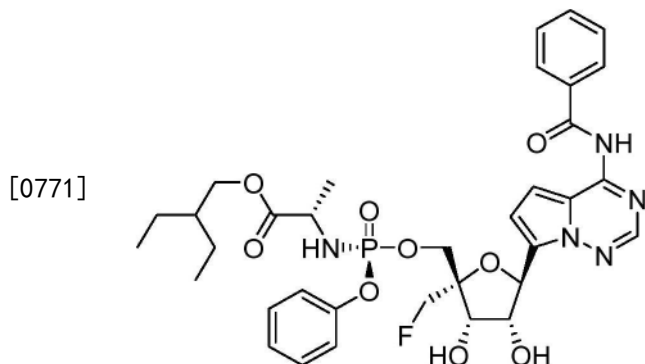
[0767] 实施例74. ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-丁酰氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯



[0769] 在室温下在氩气氛下向中间体6 (150mg, 0.231mmol) 在无水吡啶 (1mL) 中的溶液中滴加丁酰氯 (0.026mL, 0.254mmol)。30分钟后, 将反应混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ 100x30mm柱) 使用20-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到化合物。LCMS:MS m/z = 720.27 [M+1]; t<sub>R</sub> = 1.76min; LC系统: Dionex Ultimate 3000UHPLC; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-0.2min 40%乙腈, 0.2min-1.55min 40%-100%乙腈, 1.55min-2.80min 100%乙腈, 2.80-2.81min 100%-40%乙腈, 1100 $\mu$ l/min。将获得的化合物溶解在乙腈 (4mL) 中, 并在0 $^{\circ}$ C下滴加浓HCl (0.4mL)。将反应在环境温度下搅拌1小时。1小时后, 将反应混合物在冰浴中冷却并用碳酸氢钠水溶液中和。所得混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ 100x30mm柱) 使用20-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 10.73 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.40-7.31 (m, 2H), 7.24-7.13 (m, 4H), 6.93-6.92 (m, 1H), 6.08-6.02 (m, 1H), 5.34-5.32 (m, 1H), 5.19 (s, 2H), 4.65-4.63 (m, 1H), 4.58-4.45 (m, 2H), 4.21-4.20 (m, 1H), 4.03-3.92 (m, 3H), 3.93-3.76 (m, 2H), 2.69-2.65 (m, 2H), 1.65-1.60 (m, 2H), 1.44-1.41 (m, 1H), 1.32-1.18 (m, 7H), 0.94-0.91 (m, 3H), 0.79-0.77 (m, 6H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 3.54。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ -236.50 (t, J=47.9Hz)。LCMS:MS m/z = 680.22 [M+1]; t<sub>R</sub> = 1.37min; LC系统: Dionex Ultimate

3000UHPLC;柱:Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-0.2min 40%乙腈,0.2min-1.55min 40%-100%乙腈,1.55min-2.80min 100%乙腈,2.80-2.81min 100%-40%乙腈,1100 $\mu$ l/min。

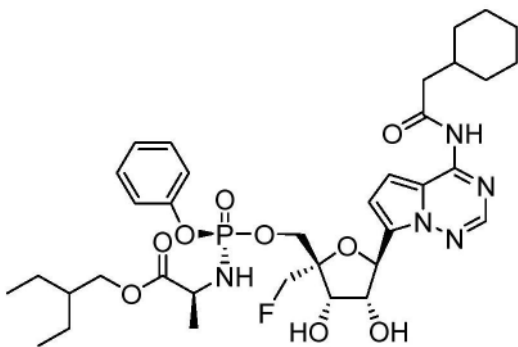
[0770] 实施例75. ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-苯甲酰氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯



[0772] 室温下在氩气氛下向中间体6(100mg,0.154mmol)在无水吡啶(1mL)中的溶液中滴加苯甲酰氯(0.018mL,0.154mmol)。30分钟后,将反应混合物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å100x30mm柱)使用20-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到化合物。LCMS:MS  $m/z=754.26[M+1]$ ;]; $t_R=1.88$ min;LC系统:Dionex Ultimate 3000 UHPLC;柱:Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-0.2min 40%乙腈,0.2min-1.55min 40%-100%乙腈,1.55min-2.80min 100%乙腈,2.80-2.81min 100%-40%乙腈,1100 $\mu$ l/min。将获得的化合物溶解在乙腈(3mL)中,并在0℃下滴加浓HCl(0.3mL)。将反应在环境温度下搅拌1小时。1小时后,将反应混合物在冰浴中冷却并用碳酸氢钠水溶液中和。所得混合物通过制备型HPLC(Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110Å100x30mm柱)使用20-100%乙腈的水溶液的梯度纯化,得到化合物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 13.15(s,0.3H),11.21(s,0.7H),8.33-7.99(m,3H),7.62-7.48(m,3H),7.38-7.34(m,2H),7.23-6.97(m,5H),6.09-6.03(m,1H),5.33-5.32(m,2H),5.23-5.21(m,1H),4.69-4.63(m,1H),4.57-4.49(m,2H),4.22-4.20(m,1H),4.02-3.79(m,5H),1.46-1.40(m,1H),1.32-1.19(m,7H),0.79-0.77(m,6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 3.55。LCMS:MS  $m/z=714.27[M+1]$ ;]; $t_R=1.85$ min;LC系统:Dionex Ultimate 3000UHPLC;MS系统:Thermo LCQ Fleet;柱:Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A,50x3.0mm;溶剂:含0.1%甲酸的乙腈,含0.1%甲酸的水;梯度:0min-1.6min 2-100%乙腈,1.6min-1.8min 100%乙腈,1.80min-1.90min 100%-2%乙腈,1.90min-2.20min 2%乙腈,1100 $\mu$ l/min。

[0773] 实施例76. ((S)-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-(2-环己基乙酰胺基)吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁酯

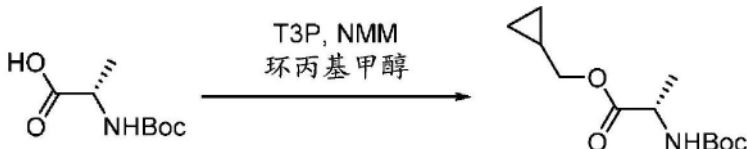
[0774]



[0775] 在室温下在氩气氛下向中间体6 (150mg, 0.231mmol) 在无吡啶 (1mL) 中的溶液中滴加环己基乙酰氯 (0.039mL, 0.254mmol)。30分钟后, 将反应混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱) 使用20-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到化合物。LCMS: MS  $m/z = 774.45 [M+1]$ ;  $t_R = 1.98\text{min}$ ; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Dionex Ultimate 3000 UHPLC; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-0.2min 40%乙腈, 0.2min-1.55min 40%-100%乙腈, 1.55min-2.80min 100%乙腈, 2.80-2.81min 100%-40%乙腈, 1100 $\mu$ l/min。将获得的化合物溶解在乙腈 (4mL) 中, 并在0 $^{\circ}$ C下滴加浓HCl (0.4mL)。将反应在环境温度下搅拌1小时。1小时后, 将反应混合物在冰浴中冷却并用碳酸氢钠水溶液中和。所得混合物通过制备型HPLC (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$  100x30mm柱) 使用20-100%乙腈的水溶液的梯度纯化, 得到化合物。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.71 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.37-7.34 (m, 2H), 7.23-7.13 (m, 4H), 6.94-6.93 (m, 1H), 6.08-6.02 (m, 1H), 5.34-5.30 (m, 2H), 5.19 (s, 1H), 4.68-4.48 (m, 3H), 4.20-4.19 (m, 1H), 4.00-3.78 (m, 5H), 2.55-2.53 (m, 2H), 1.87-1.56 (m, 5H), 1.45-1.38 (m, 1H), 1.31-1.07 (m, 11H), 1.04-0.92 (m, 2H), 0.81-0.77 (m, 6H)。 $^{31}\text{P}$  NMR (162MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.54。 $^{19}\text{F}$  NMR (376MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -236.47 (t,  $J = 48.1\text{Hz}$ )。LCMS: MS  $m/z = 734.20 [M+1]$ ;  $t_R = 1.23\text{min}$ ; LC系统: Dionex Ultimate 3000UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Phenomenex Kinetex 2.6 $\mu$ C18 100A, 50x3.0mm; 溶剂: 含0.1%甲酸的乙腈, 含0.1%甲酸的水; 梯度: 0min-1.6min 2-100%乙腈, 1.6min-1.8min 100%乙腈, 1.80min-1.90min 100%-2%乙腈, 1.90min-2.20min 2%乙腈, 1100 $\mu$ l/min。

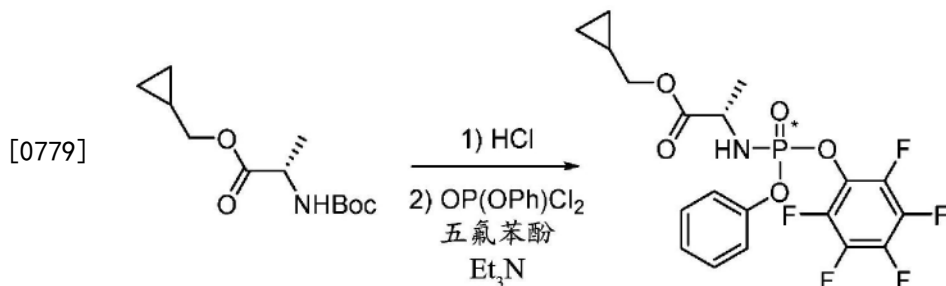
[0776] 实施例77. (((2R, 3S, 4R, 5S) -5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环丙基甲酯。

[0777]

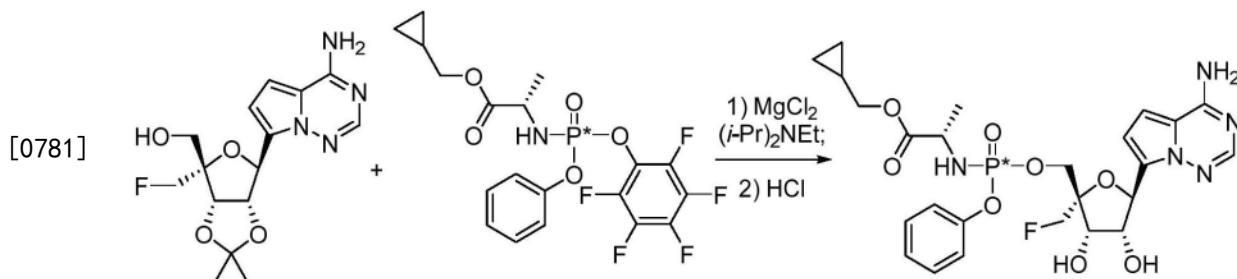


[0778] (叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸环丙基甲酯。在0 $^{\circ}$ C下在氩气下向boc-L-丙氨酸 (7.00g, 37.00mmol) 和环丙烷甲醇 (3.20g, 44.39mmol) 在50mL无水二氯甲烷中的搅拌溶液中添加N-甲基吗啉 (12.20mL, 110.99mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶 (0.094g, 0.74mmol) 和三丙基磷酸环酞 (26.43mL, 44.39mmol, 50%的乙酸乙酯溶液)。然后将反应混合物在室温下搅拌2小时 (难以通过TLC或LCMS监测转化)。将反应混合物用水 (20mL)、2 $\times$ 10%柠檬酸溶液

(20mL)、2×饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(20mL)洗涤,并用盐水(20mL)洗涤一次。将有机物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,通过3cm硅胶层过滤,将该硅胶层用另外的二氯甲烷洗涤。将有机物减压浓缩,与二氯甲烷共蒸馏,并在高真空下干燥过夜,得到中间体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.25(d, J=7.3Hz, 1H), 4.12-3.77(m, 3H), 1.38(s, 9H), 1.24(d, J=7.4Hz, 3H), 1.12-0.99(m, 1H), 0.57-0.42(m, 2H), 0.31-0.19(m, 2H)。



[0780] ((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环丙基甲酯。将(叔丁氧基羰基)-L-丙氨酸环丙基甲酯(8.26g, 33.96mmol)溶解在二氯甲烷(20mL)中并冷却至0℃。添加氯化氢(30.00mL, 120.00mmol, 4N的二噁烷溶液)。2小时后,将反应减压浓缩。将残余物溶解于二氯甲烷(30mL)并冷却至0℃。相继添加二氯磷酸苯酯(5.56mL, 37.35mmol)和三乙胺(10.36mL, 74.70mmol)。1小时后,然后在0℃下相继添加五氟苯酚(6.25g, 33.96mmol)和三乙胺(5.18mL, 37.35mmol),然后将所得混合物温热至室温。2.5小时后,将反应混合物用二氯甲烷(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,并通过3cm硅胶过滤。将垫用另外的二氯甲烷(200mL)洗涤。将有机物减压浓缩。将残余物溶解于温热的叔丁基甲醚(100mL)中,然后用100mL己烷稀释。将反应物搅拌2小时,并通过过滤分离中间体。通过NMR光谱法确定中间体为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.47-7.38(m, 2H), 7.30-7.18(m, 3H), 6.98-6.82(m, 1H), 4.06-3.93(m, 1H), 3.87(d, J=7.2Hz, 2H), 1.30(d, J=6.9Hz, 3H), 1.12-0.98(m, 1H), 0.53-0.43(m, 2H), 0.27-0.20(m, 2H)。<sup>19</sup>F NMR(376MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ-154.22(d, J=21.9Hz), -160.88(t, J=22.4Hz), -163.70(t, J=21.8Hz)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ0.47(t, J=12.5Hz)。LCMS:MS m/z=465.8[M+1], t<sub>R</sub>=1.80min; LC系统:Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统:Thermo LCQ Fleet; 柱:Kinetex 2.6μXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂:含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度:0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2μl/min。



[0782] (((((2R, 3S, 4R, 5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氟甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸环丙基甲酯。在室温下将四氢呋喃(0.5mL)添加到中间体4(10mg, 0.03mmol)、((全氟苯氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙



氨酸环丙基甲酯 (15mg, 0.03mmol) 和氯化镁 (4mg, 0.4mmol) 的混合物中。将混合物在室温下搅拌20分钟。添加N,N-二异丙基乙胺 (15 $\mu$ L, 0.09mmol)。将反应加热至50 $^{\circ}$ C持续2小时。使反应混合物冷却至室温,并用乙酸乙酯 (2mL) 稀释。将有机物用水 (2mL) 洗涤,经硫酸钠干燥,过滤并浓缩。在0 $^{\circ}$ C下向残余物在乙腈 (2mL) 中的溶液中滴加盐酸水溶液 (0.3mL, 3.60mmol, 12M)。1小时后,将反应混合物用乙酸乙酯 (5mL) 稀释,并将所得混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (5mL) 和盐水 (5mL) 洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物通过HPLC色谱法 (Phenomenex Gemini 5 $\mu$ m C18 110 $\text{\AA}$ , 100x30mm, 5-100乙腈的水溶液) 纯化,得到产物,通过NMR光谱法确定其为单一非对映体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.91 (s, 1H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.30-7.17 (m, 3H), 7.14 (d, J=4.7Hz, 1H), 6.86 (d, J=4.7Hz, 1H), 5.37 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.81-4.69 (m, 1H), 4.68-4.57 (m, 2H), 4.34 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.29-4.16 (m, 2H), 3.99-3.85 (m, 3H), 1.32 (d, J=7.1Hz, 3H), 1.17-1.04 (m, 1H), 0.56-0.48 (m, 2H), 0.29-0.22 (m, 2H)。<sup>31</sup>P NMR (162MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  3.53。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  -238.80 (t, J=48.0Hz)。LCMS: MS m/z=579.89 [M+1], t<sub>R</sub>=1.28min; LC系统: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS系统: Thermo LCQ Fleet; 柱: Kinetex 2.6 $\mu$ mXB-C18 100A, 50x4.6mm; 溶剂: 含0.1%乙酸的乙腈, 含0.1%乙酸的水; 梯度: 0min-2.0min 2-100%乙腈, 2.0min-3.05min 100%乙腈, 3.05min-3.2min 100%-2%乙腈, 3.2min-3.5min 2%ACN, 2 $\mu$ l/min。HPLC: t<sub>R</sub>=2.62min; Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$ m 110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

### [0783] C. 生物学实施例

#### [0784] 实施例78. 登革热NS5蛋白的表达和纯化

[0785] 合成编码登革热血清型2 (新几内亚C株) 的全长NS5序列的基因,并将其克隆到载体pET28b的NheI/XhoI位点中,得到N端HIS标记的NS5。将序列确定的质粒转化到大肠杆菌BL21 (DE3) 中,并使细胞在LB培养基中生长,直到OD<sub>600</sub>达到0.5。通过添加0.5mM IPTG来诱导蛋白表达,并在16 $^{\circ}$ C下以250rpm持续振荡培养物过夜。离心后,将来自1L细菌培养物的细胞沉淀重悬于含有50mM HEPES (pH 7.6)、500mM NaCl、10%甘油、0.5% TritonX100、2mM TCEP的缓冲液A中,该缓冲液补充有两片不含EDTA的完全蛋白酶抑制剂混合物 (Roche Diagnostics, Risch-Rotkreuz, Switzerland)。使用微流化器裂解细胞,然后离心。通过在缓冲液B [25mM HEPES 7.5、500mM NaCl、10% Gly、0.1% CHAPS和1mM TCEP] 中平衡的5mL Ni-NTA柱 (GE Healthcare) 纯化澄清的上清液。用含有40mM咪唑的缓冲液B洗涤柱,并用含有500mM咪唑的缓冲液B的梯度洗脱NHIS-NS5。合并含有NHIS-NS5的级分,并使用在缓冲液C [25mM HEPES 7.2、200mM NaCl、10%甘油、0.1% CHAPS、2mM DTT] 中平衡的120mL Superdex 200柱 (GE Healthcare) 通过尺寸排阻色谱法进一步纯化。通过质谱分析确认NHIS-NS5蛋白的质量和纯度。

[0786] 另选地,经Ni-NTA纯化的NHIS-NS5用于通过添加凝血酶蛋白酶去除N端NHIS标签,并在4 $^{\circ}$ C下用缓冲液B透析孵育过夜。将去除标签的NS5蛋白在第二Ni-NTA柱上与其他物质分离,并使用在缓冲液C [25mM HEPES 7.2、200mM NaCl、10%甘油、0.1% CHAPS、2mM DTT] 中平衡的120mL Superdex 200柱 (GE Healthcare) 通过尺寸排阻色谱法进一步纯化。通过质谱分析确认NS5蛋白的质量和纯度。

#### [0787] 实施例79. DENV Po1 IC50

[0788] 在DENV2-NS5聚合酶测定中,使用序列为5'-(UCAG) 20 (UCCAAG) 14 (UCAG) 20-3' (SEQ ID NO:1)的244个核苷酸的二级无结构杂聚RNA (sshRNA) 作为模板,引物为5'-CUG-3'。将化合物的从200nM开始的六个两倍稀释液和无抑制剂对照铺板于96孔板中。将100nM DENV2 NS5在含有40mM Tris-HCl (pH 7.5)、10mM NaCl、3mM DTT、0.2单位/ $\mu$ L RNasin Plus RNase抑制剂、200ng/ $\mu$ L sshRNA、20 $\mu$ M CUG和2mM MgCl<sub>2</sub>的反应混合物中在室温下预孵育5分钟。将酶混合物添加到化合物稀释液中,并通过添加含有20 $\mu$ M三种天然NTP加2 $\mu$ M类似物(含有1:100 $\alpha$ -33P-NTP的碱基匹配的竞争性天然NTP)的混合物来引发反应。在30 $^{\circ}$ C下90分钟后,将5 $\mu$ L反应混合物点在DE81阴离子交换纸上。将滤纸用Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (125mM, pH 9)洗涤三次,每次5分钟,用水和乙醇冲洗,然后风干并暴露于磷光成像仪。使用Typhoon Trio成像仪和Image Quant TL软件定量合成的RNA,并使用GraphPad Prism 5.0通过线性回归计算反应速率。使用以下剂量反应(可变斜率)方程(四参数逻辑方程)通过非线性回归分析在Prism中计算IC<sub>50</sub>值: $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))}$ 。

#### [0789] 实施例80. RSV RNP制备

[0790] RSV核糖核蛋白(RNP)复合物根据从Mason等人(1)中修改的方法制备。将HEp-2细胞以 $7.1 \times 10^4$ 个细胞/cm<sup>2</sup>的密度接种在MEM+10%胎牛血清(FBS)中,并使其在37 $^{\circ}$ C (5% CO<sub>2</sub>)下贴壁过夜。贴壁后,用35mL MEM+2%FBS中的RSV A2 (MOI=5)感染细胞。在感染后20小时,将培养基替换为补充有2 $\mu$ g/mL放线菌素D的MEM+2%FBS,并恢复到37 $^{\circ}$ C保持一小时。然后将细胞用PBS洗涤一次,并用35mL PBS+250 $\mu$ g/mL溶血卵磷脂处理一分钟,之后吸出所有液体。通过将细胞刮到1.2mL缓冲液A [50mM TRIS乙酸盐 (pH 8.0)、100mM乙酸钠、1mM DTT和2 $\mu$ g/mL放线菌素D]中收获细胞,并通过使其重复通过18号针(10次)来裂解。将细胞裂解物置于冰中10分钟,然后在4 $^{\circ}$ C下以2400g离心10分钟。除去上清液(S1),并将沉淀(P1)在补充有1% Triton X-100的600 $\mu$ L缓冲液B [10mM TRIS乙酸盐 (pH 8.0)、10mM乙酸钠和1.5mM MgCl<sub>2</sub>]中通过使其重复通过18号针(10次)来破碎。将重悬浮的沉淀置于冰中10分钟,然后在4 $^{\circ}$ C下以2400g离心10分钟。除去上清液(S2),将沉淀(P2)在补充有0.5%脱氧胆酸盐和0.1% Tween 40的600 $\mu$ L缓冲液B中破碎。将重悬浮的沉淀置于冰中10分钟,然后在4 $^{\circ}$ C下以2400g离心10分钟。收集含有富集的RSV RNP复合物的上清液(S3)级分,并通过280nm处的UV吸光度测定蛋白浓度。将等分的RSV RNP S3级分保存在-80 $^{\circ}$ C下。

#### [0791] 实施例81. RSV RNP测定

[0792] 转录反应在30 $\mu$ L反应缓冲液 [50mM TRIS-乙酸盐 (pH 8.0)、120mM乙酸钠、5%甘油、4.5mM MgCl<sub>2</sub>、3mM DTT、2mM乙二醇-双(2-氨基乙醚)-四乙酸(EGTA)、50 $\mu$ g/mL BSA、2.5U RNasin (Promega)、ATP、GTP、UTP、CTP和1.5 $\mu$ Ci [ $\alpha$ -32P]NTP (3000Ci/mmol)]中含有25 $\mu$ g粗RSV RNP复合物。选择用于转录测定的放射性标记核苷酸,以匹配被评估抑制RSV RNP转录的核苷酸类似物。添加冷的竞争性NTP,最终浓度为其K<sub>m</sub>的一半(ATP=20 $\mu$ M, GTP=12.5 $\mu$ M, UTP=6 $\mu$ M, CTP=2 $\mu$ M)。添加其余的三种核苷酸,最终浓度为100 $\mu$ M。

[0793] 为了确定核苷酸类似物是否抑制RSV RNP转录,使用6步连续稀释以5倍增量添加化合物。在30 $^{\circ}$ C下孵育90分钟后,用350 $\mu$ L Qiagen RLT裂解缓冲液终止RNP反应,并使用Qiagen RNeasy 96试剂盒纯化RNA。使纯化的RNA在RNA加样缓冲液(Sigma)中在65 $^{\circ}$ C下变性10分钟,并在含有2M甲醛的1.2%琼脂糖/MOPS凝胶上运行。将琼脂糖凝胶干燥并暴露于Storm磷光成像仪屏,并使用Storm磷光成像仪(GE Healthcare)显影。通过两次重复的非线

性回归分析计算使总放射性标记的转录物减少50%的化合物浓度(IC<sub>50</sub>)。

[0794] 实施例82.DENV-2moDC EC50

[0795] 人单核细胞衍生的树突细胞(moDC)衍生自在含有GM-CSF和IL-4的人Mo-DC分化培养基(Miltenyi Biotec)中培养的CD14+单核细胞(AllCells)。第7天,通过机械破碎收集moDC,洗涤并将其悬浮于无血清RPMI中。在无血清RPMI中用Vero衍生的登革热2新几内亚株(NGC)以MOI=0.1感染moDC两小时,同时在37℃下温和搅拌。洗涤细胞并将其重悬于含10%血清的RPMI(Gibco,补充有丙酮酸钠、NEAA、青霉素-链霉素)中。将10<sup>5</sup>个细胞一式三份接种在96孔板中,化合物以分级剂量分配(Hewlett-Packard D300数字分配器)。将所有孔标准化为0.25%DMSO。在第48小时,用1×PBS洗涤细胞,并除去所有上清液。使用RNEasy 96板(Qiagen)提取总RNA,并使用XLT cDNA 5x Supermix(QuantaBio)产生第一链cDNA。在特异于DENV2病毒和GAPDH基因表达的Taqman qPCR双链体反应中,使用该cDNA作为模板。使用Prism Graphpad软件测定EC<sub>50</sub>值,标准化为阳性对照和无化合物阴性对照孔。

[0796] 实施例83.moDC CC50

[0797] 人单核细胞衍生的树突细胞(moDC)衍生自在含有GM-CSF和IL-4的人Mo-DC分化培养基(Miltenyi Biotec)中培养的CD14+单核细胞(AllCells)。第7天,通过机械破碎收获moDC,洗涤并在96孔板中以1×10<sup>5</sup>-5×10<sup>4</sup>个细胞/孔一式三份培养,化合物以分级剂量分配(Hewlett-Packard D300数字分配器)。将所有孔标准化为0.25%DMSO。48小时后,添加CellTiter Glo(Promega)并在室温下孵育10分钟,然后在光度计上读数。相对于无化合物和无细胞对照孔计算%活力曲线。使用Prism Graphpad软件测定CC<sub>50</sub>值。

[0798] 实施例84.DENV-2Huh-7 EC50

[0799] 将Huh7(人肝癌7)细胞保持在含10%FCS的DMEM完全培养基中。在测定当天,将细胞用胰蛋白酶化(0.1%胰蛋白酶-EDTA),洗涤并在无血清DMEM中用登革热血清型2新几内亚C(NGC)株以MOI=0.1感染2小时,同时在37℃下温和搅拌。2小时后,用无血清培养基洗涤细胞并将其悬浮于含10%FCS的DMEM(Gibco,补充有丙酮酸钠、NEAA、青霉素-链霉素)中。将10<sup>5</sup>个细胞一式三份接种在96孔板中,化合物以分级剂量分配(Hewlett-Packard D300数字分配器)。将所有孔标准化为0.25%DMSO。在第48小时,用1×PBS洗涤细胞,并除去所有上清液。使用RNEasy 96板(Qiagen)提取总RNA,并使用XLT cDNA 5x Supermix(QuantaBio)产生第一链cDNA。在特异于DENV2病毒和GAPDH基因表达的Taqman qPCR双链体反应中,使用该cDNA作为模板。使用Prism Graphpad软件测定EC<sub>50</sub>值,标准化为阳性对照和无化合物阴性对照孔。

[0800] 实施例85.Huh-7 CC50

[0801] 将人肝癌7(Huh7)细胞保持在含10%FCS的完全DMEM中。在测定当天,将细胞用0.1%胰蛋白酶-EDTA胰蛋白酶化,洗涤并在96孔板中以1-2×10<sup>4</sup>个细胞/孔一式三份培养,化合物以分级剂量分配(Hewlett-Packard D300数字分配器)。将所有孔标准化为0.25%DMSO。48小时后,添加CellTiter Glo(Promega)并在室温下孵育10分钟,然后在光度计上读数。相对于无化合物和无细胞对照孔计算%活力曲线。使用Prism Graphpad软件测定CC<sub>50</sub>值。

[0802] 实施例86.RSV HEp-2 EC50

[0803] 在HEp-2细胞中使用感染性致细胞病变细胞保护测定法来测定对RSV的抗病毒活

性。在该测定中,抑制病毒感染和/或复制的化合物对病毒诱导的细胞杀伤产生细胞保护作用,可以使用细胞活力试剂对这种作用进行量化。这里使用的技术是公开文献(Chapman等人, *Antimicrob Agents Chemother.* 2007, 51 (9) :3346-53) 中描述的方法的新改编版。

[0804] HEp-2细胞从ATCC (Manassas, VI) 获得,将其保持在补充有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的MEM培养基中。细胞每周传代两次并保持在亚汇合阶段。在化合物测试前滴定RSV株A2 (Advanced Biotechnologies, Columbia, MD) 的商业原液,以确定在HEp-2细胞中产生所需致细胞病变作用的病毒原液的适当稀释度。

[0805] 对于抗病毒测试,使HEp-2细胞在大细胞培养瓶中生长至接近汇合,但不是完全汇合。将待测试的化合物以每个板8或40个样品的标准化剂量反应形式在384孔化合物稀释板中在DMSO中预稀释。在板中制备每种测试化合物的3倍连续稀释增量,并通过声学转移装置 (Echo, Labcyte) 将测试样品以每孔100nL转移到细胞培养测定384孔板中。将每种化合物稀释液以单个样品或一式四份样品转移到干燥测定板中,保存这些干燥测定板,直到准备进行测定。阳性对照和阴性对照以垂直块(1列)在板的两端相对布置。

[0806] 随后,使用通过用密度为50,000/mL的细胞滴定预先确定的病毒原液的适当稀释度来制备感染性混合物,并通过自动化(uFlow, Biotek)以20uL/孔添加到含化合物的测试板中。每个板包括阴性对照和阳性对照(各16次重复),分别产生0%和100%病毒抑制标准。用RSV感染后,将测试板在37°C细胞培养箱中孵育4天。孵育后,将细胞活力试剂Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI) 添加到测定板中,将测定板短暂孵育,并在所有测定板中测量发光读数(Envision, Perkin Elmer)。RSV诱导的致细胞病变作用即抑制百分比由剩余细胞活力的水平确定。相对于0%和100%抑制对照针对每种测试浓度计算这些数值,并且通过非线性回归将每种化合物的 $EC_{50}$ 值确定为将RSV诱导的致细胞病变作用抑制50%的浓度。各种强效的抗RSV工具化合物用作抗病毒活性的阳性对照。

#### [0807] 实施例87. HEp-2 CC50

[0808] 使用细胞活力试剂以与之前针对其他细胞类型描述的类似方式,在未感染的HEp-2细胞中与抗病毒活性平行地测定测试化合物的细胞毒性(Cihlar等人, *Antimicrob Agents Chemother.* 2008, 52 (2) :655-65)。用于测定抗病毒活性的相同方案用于测量化合物细胞毒性,不同的是未用RSV感染细胞。相反,将相同密度的未感染细胞混合物以20uL/孔添加到含有预稀释化合物(也为100nL/样品)的板中。然后将测定板孵育4天,随后通过添加相同的CellTiter Glo试剂进行细胞活力测试,并测量发光读数。未处理的细胞和用2μM嘌呤霉素(Sigma, St. Louis, MO)处理的细胞分别用作100%和0%细胞活力对照。相对于0%和100%对照针对每种测试化合物浓度计算细胞活力百分比,并且通过非线性回归将 $CC_{50}$ 值确定为使细胞活力降低50%的化合物浓度。

#### [0809] 实施例88. RSV NHBE EC50

[0810] 正常人支气管上皮(NHBE)细胞购自Lonza (Walkersville, MD, Cat#CC-2540),并将其在支气管上皮生长培养基(BEGM) (Lonza, Walkersville, MD, Cat#CC-3170)中培养。细胞每周传代1-2次以保持<80%汇合。培养6代后丢弃NHBE细胞。

[0811] 为了进行RSV A2抗病毒测定,将NHBE细胞以BEGM中7,500个细胞/孔的密度接种在96孔板中,并使其在37°C下贴壁过夜。贴壁后,取出100μL细胞培养基,并使用Hewlett-Packard D300数字分配器添加3倍连续稀释的化合物。将DMSO的最终浓度标准化为0.05%。

添加化合物后,通过添加100 $\mu$ L RSV A2感染NHBE细胞,滴度为BEGM中 $1 \times 10^{4.5}$ 组织培养感染剂量/mL,然后在37 $^{\circ}$ C下孵育4天。然后使NHBE细胞平衡至25 $^{\circ}$ C,并且通过取出100 $\mu$ L培养基并添加100 $\mu$ L Cell-Titer Glo活力试剂来测定细胞活力。将混合物在25 $^{\circ}$ C下孵育10分钟,并且在Envision发光板读数器上定量发光信号。

[0812] 表3.活性数据

实施例 编号	DENV-2 moDC EC50 (nM)	moDC CC50 (nM)	DENV-2 Huh-7 EC50 (nM)	Huh-7 CC50 (nM)	RSV Hep-2 EC50 (nM)	Hep-2 CC50 (nM)
[0813] 中间体 5					>50000	>50000
1	117	>5885.49	151	18003	119	>50000

[0814]

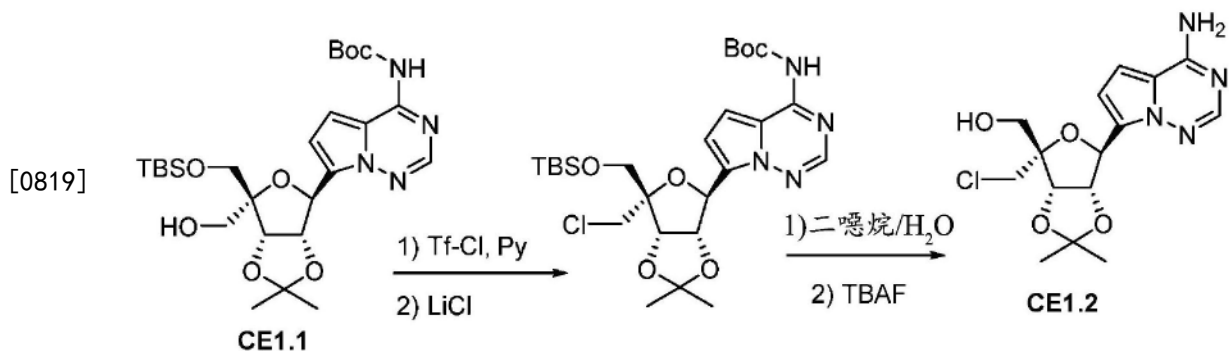
比较例 1			2333			
3	156	>11076.8	92	>25000	77	>100000
4	58	4776	132	17783	29	>100000
5			381	12232	575	>50000
6			157	7079	92	>50000
7	40	6693	159	>25000	24	>100000
8	45	6401	191	>25000	259	>50000
9	128	4880	191	>25000	179	>50000
10	679	>19512.1	843	>25000	909	>50000
11	380	16092	586	>18791.5	2042	12641
12	753	>25000	453	>25000	1367	>100000
13	274	>10206.4	487	>25000	844	>89407
14	165	>7759.4	205	>25000	187	>100000
15			1626	>25000	1459	>50000
16	214	3804	736	13441	1105	32973
17			510	>25000	516	>100000
18	264	>10465.2	384	>25000	1298	>100000
19	212	10913	416	>25000	722	>97053
20			2571	>25000	3183	>100000
21	1039	>17257.6	3063	>25000	1777	>100000
22	735	>23603.2	1026	>25000	2360	71734
23	387	10908	1803	>23226.5	4317	26334
24	257	18557	1556	16005	1833	16618
25	213	12186	291	>25000	919	69982
26			>24014.3	>25000	39293	>100000
28	>5000	>25000	1429	>21902.1		
29	951	>16922.7	1457	>20891.5	1750	21568
30					4133	>100000
31			951	>25000	1899	>100000
32			2596	>25000	3729	>100000
33			811	>25000	1224	43266
34	334	7655	165	6470		
35			>25000	>25000	42773	>100000
37	>5000	>25000	2700	>25000		
38	422	12170	2553	>24563.7		
39					2472	>100000
40	1596	>25000	519	>25000	3435	>100000
41	814	>21826.3	1458	>25000	1995	>100000
42	258	5330	667	21054	860	>100000
43	626	17947	1199	>25000	2155	>100000
44			191	17120	148	26465
45	>5000	>25000	4575	>25000	21760	>100000
46	158	3354	386	10249	236	37099
47			650	21429	389	65855
48			390	15405	215	30186
49			334	>25000	225	>100000

	51	131	4582	326	>25000	524	>100000
	52	71	7853	381	>15630.9		
	53			419	19747	565	>100000
	54	241	3255	409	>25000	180	>100000
	55	103	4185	611	>25000	150	>100000
	57	393	4121	626	>25000		
	58	124	2038	499	>20310.5		
	59	62	7039	153	11337	298	45067
	60			1208	>24810	1105	36218
	61			568	15027	855	19095
[0815]	62			662	8085	10097	16781
	63	321	5600	602	10677	2424	19101
	64			1995	>25000		
	66			802	>25000	1413	16778
	67			947	>25000	2999	17426
	68	169	6257	278	>25000	141	>100000
	69			>25000	>25000	>50000	>50000
	70	190	3567	245	10615	212	69409
	71	143	8798	298	13017	290	>100000
	72			12374	>25000	15627	>50000
	73			302	9337		
	75			175			

[0816] 表4. 活性数据

实施例编号	RSV NHBE EC50 (nM)	DENV Pol IC50 (nM)
中间体 5	>4832.18	
1	595	
比较例 2		7093
2		737
10	2108	
11	367	

[0818] 比较例1. (((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氯甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁基酯

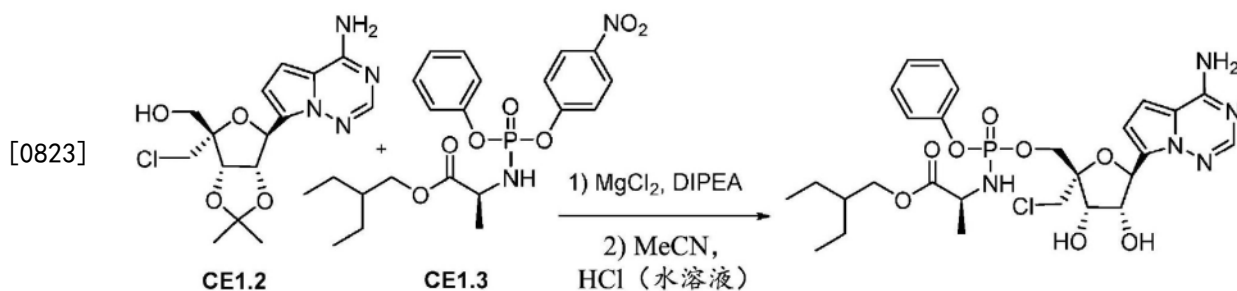


[0820] ((3aS,4R,6S,6aS)-6-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-4-(氯甲基)-2,2-二甲基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲醇。将CE1.1 (来自WO 2015/069939的中间体14j; 200mg, 0.363mmol) 溶解于5mL无水吡啶中。一次性添加三氟甲烷磺酰氯(58uL, 0.545mmol) 并搅拌60分钟。添加更多的三氟甲烷磺酰氯(58uL, 0.545mmol) 并搅拌30分钟。添加三氟甲烷磺酰氯(100uL) 并搅拌30分钟。将反应减压浓缩。将残余物溶解于5mL

无水DMF中,并一次性添加氯化锂(308mg,7.26mmol)。将反应搅拌16小时。

[0821] 将反应用EtOAc(15mL)稀释并用盐水(3×10mL)洗涤。将有机萃取物经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物经由SiO<sub>2</sub>柱色谱法(12g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱,0-20%乙酸乙酯/己烷)纯化。将级分合并并减压浓缩。将残余物溶解于二噁烷(8mL)和水(2mL)中,并在120℃下搅拌2小时。将反应减压浓缩。

[0822] 将残余物溶解于THF(5mL)中。添加四丁基氟化铵三水合物(97mg,0.307mmol),并将反应搅拌1小时。将反应用EtOAc(15mL)稀释并用盐水(5×5mL)洗涤。将有机萃取物经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将粗残余物经由SiO<sub>2</sub>柱色谱法(4g SiO<sub>2</sub> Combiflash HP Gold柱,0-100%乙酸乙酯/己烷)纯化。将级分合并并减压浓缩,得到中间体CE1.2。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.87(s,1H),6.65(d,J=4.5Hz,1H),6.54(d,J=4.5Hz,1H),6.12(bs,2H),5.33(dd,J=6.9,5.9Hz,1H),5.14(d,J=6.9Hz,1H),5.05(d,J=5.9Hz,1H),3.98-3.71(m,4H),1.63(s,3H),1.36(s,3H)。LCMS:MS m/z=355.3[M+1],353.4[M-1],t<sub>R</sub>=1.04min;LC系统:Thermo Dionex Ultimate 3000UHPLC;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μC18 100A,50x3mm;溶剂:A:含0.1%乙酸的水,B:含0.1%乙酸的乙腈;梯度:0min-0.3min 5%B,0.3min-1.5min 5-100%B,1.5min-2min 100%B,2min-2.2min 100-5%B,2mL/min。HPLC:t<sub>R</sub>=2.15min;HPLC系统:Agilent 1100系列;柱:Phenomenex Gemini 5μC18 110A,50x4.6mm;溶剂:A:含0.1%TFA的水,B:含0.1%TFA的乙腈;梯度:5min内为2-98%B,2mL/min。

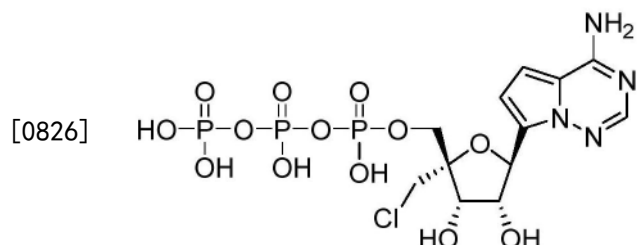


[0824] (((((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氯甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲氧基)(苯氧基)磷酰基)-L-丙氨酸2-乙基丁基酯。将CE1.2(47mg,0.132mmol)和CE1.3(72mg,0.159mmol)混合并溶解于2mL无水THF中。一次性添加氯化镁(38mg,0.396mmol)。添加DIPEA(57μL,0.33mmol),并将反应在40℃下搅拌16小时。将反应物用EtOAc(15mL)稀释并用水(5×10mL)洗涤,然后用盐水(5mL)洗涤。将有机萃取物经无水硫酸钠干燥,并减压浓缩。将残余物溶解于MeCN(5mL)中并在冰浴中搅拌。滴加浓盐酸水溶液(250μL)。将反应在冰浴中搅拌2小时。将1M碳酸氢三乙胺溶液添加到反应中,产生的pH为8,然后将反应减压浓缩。将粗残余物在中性条件下用制备型HPLC(5-100%MeCN/水)纯化。将级分合并并减压浓缩。将残余物溶解于MeCN和水中并冷冻干燥,得到产物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.77(m,1H),7.39-7.09(m,5H),6.84(m,1H),6.74(m,1H),5.36(m,1H),4.72(m,1H),4.41-4.23(m,3H),4.07-3.84(m,5H),1.53-1.40(m,1H),1.38-1.25(m,7H),0.89-0.81(m,6H)。<sup>31</sup>P NMR(162MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.46,3.59。LCMS:MS m/z=626.2[M+1],624.6[M-1],t<sub>R</sub>=1.30min;LC系统:Thermo Dionex Ultimate 3000UHPLC;柱:Phenomenex Kinetex 2.6μC18 100A,50x3mm;溶剂:A:含0.1%乙酸的水,B:含0.1%乙酸的乙腈;梯度:0min-0.3min 5%B,0.3min-1.5min 5-100%B,1.5min-2min 100%B,2min-2.2min 100-



5%B, 2mL/min。HPLC:  $t_R$  = 3.14min; HPLC系统: Agilent 1100系列; 柱: Phenomenex Gemini 5 $\mu$ C18 110A, 50x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 5min内为2-98%B, 2mL/min。HPLC:  $t_R$  = 5.247, 5.327min; HPLC系统: Agilent 1290II; 柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 $\mu$  110A, 100x4.6mm; 溶剂: A: 含0.1% TFA的水, B: 含0.1% TFA的乙腈; 梯度: 8.5min梯度为2-98%B, 1.5mL/min。

[0825] 比较例2. ((2R,3S,4R,5S)-5-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-(氯甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)四氢三磷酸甲酯



[0827] 参见W0 2015/069939中的化合物TP13(实施例33)。

[0828] 尽管为了理解清楚的目的已通过说明和实施例的方式相当详细地描述了前述发明内容,但本领域技术人员将理解,可在所附权利要求书的范围内实践某些变化和修改。此外,本文提供的每个参考文献全文以引用方式并入,其程度如同每个参考文献单独地以引用方式并入。在本申请与本文提供的参考文献之间存在冲突的情况下,本申请应占主导地位。